

生地黃 乾地黃 熟地黃이 細胞性 免疫反應 및 體液性免疫反應에 미치는 影響

黃 永 明*

緒 論

地黃은 玄蓼科(Scrophulariaceae)에 屬하는 地黃 *Rehmanniae glutinosa*(Gaertner) Liboschite ex Fischer & Meyer^{7,22)}의 根莖으로 神農本草經²⁰⁾에 最初로 生地黃, 乾地黃에 對하여 收錄되어 있으며 熟地黃은 南北朝時期 宋代(AD 5C경)의 雷斅의 雷公炮炙論에 最初로 明示되었으며 그 以後 熟地黃의 製法이 널리 盛行되어 生地黃 乾地黃 熟地黃의 3種으로 나뉘어 使用된 것이다.

安⁴⁾은 人體에는 各種外部의 侵犯에 對抗하는 能力이 있으며 이러한 抗病能力을 正氣라 하였는데 疾病發生은 邪氣의 侵害와 正氣의 抵抗사이의 相互鬭爭으로 말미암아 人體의 生理機能障導로 發病된다고 하였다. 地黃은 正氣가 虛하여 外部로부터 들어오는 邪氣의 侵害를 받아 疾病이 發生되는 경우나 疾病後 正氣가 虛한 狀態에 正氣를 補하여줄 目的의 補養藥으로 使用되어 왔으며 李⁸⁾는 四象醫學에서 少陽人의 代表的 補養藥으로 使用하고 있다.

外部에서 들어오는 여러 病因에 對하여 抵抗力을 形成하는 것은 衛氣의 作用으로 觀察되는데^{18,28)} 이러한 作用은 外部로 부터 侵入하는 微生物, 同種의 組織이나 體內에서 생긴 不

必要한 產物등과 特異하게 反應하여 抗體를 產生하여 生體가 異物을 排除하여 個體의 恒常性을 維持하는 免疫理論^{6,9)}과 聯關이 있을 것으로 생각된다. 그러므로 補養藥으로 多用되는 地黃은 人體의 免疫反應에 密接한 影響을 미칠 것으로 思料된다.

免疫學的인 側面에서 地黃에 對한 效能을 檢討한 報告로는 蘇등³¹⁾이 生地黃이 포함된 養陰活血等複方이 抗體產生細胞에 미치는 影響을 報告하였고, 高¹²⁾가 熟地黃이 細胞性免疫反應 및 體液性免疫反應을 增強시킴을 報告하였고, 金이 熟地黃이 細胞性免疫反應 및 體液性免疫反應을 增強시키고 Methotrexate(MTX)로 유발된 免疫機能低下를 抑制함을 報告하였다.

그러나 藥物의 修治를 加함에 따라 攻效를 달리하는 生地黃, 乾地黃, 熟地黃의 免疫學的 效能을 比較한 報告는 없다.

이에 生地黃, 乾地黃, 熟地黃엑기스를 投與한 생쥐를 「細胞依存性抗原인 緬羊赤血球로 免疫시키고 細胞性免疫反應 및 體液性免疫反應을 測定하였던 바 有意性있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

* 서울 여남한의원 원장

材料 및 方法

1. 材 料

1) 藥 材

本 實驗에 使用한 韓藥材는 市中에서 購入하여 本 大學 本草學校室에서 藥材의 形態學的 眞僞를 鑑定받은 後 精選한 江原道 原州產 地黃의 根莖으로 生地黃, 乾地黃, 熟地黃을 各 187.5 g씩 使用하였다.

2) 動 物

體重 19~20 g의 ICR系 생쥐를 雌雄 區別없이 使用하였으며 固形飼料(삼양유지사료, 서울)와 물을 充分히 供給하면서 一週日間 實驗室 環境에 適應시킨 다음 實驗에 使用하였다.

抗原인 緬羊赤血球를 얻기 위해 메니노種 緬羊을 使用하였으며 赤血球溶血素價測定에 必要한 血清을 얻기 위해 家兔를 使用하였고 飼料와 물을 充分히 供給하면서 一週日間 飼育시킨 다음 實驗에 使用하였다.

2. 方 法

1) 乾燥엑기스調製

生地黃, 乾地黃 및 熟地黃 各 187.5 g을 round flask에 넣고 2000 ml의 精製水를 加하고 冷却器를 附着하여 直火上에서 2時間 煎湯한 後 濾過布로 濾過한 濾液을 rotary evaporator로 減壓 濃縮한 다음 40℃ 減壓 乾燥器에서 完全乾燥시켜 生地黃乾燥엑기스 13 g, 乾地黃乾燥엑기스 47 g, 熟地黃乾燥엑기스 74 g을 얻었다.

2) 檢液의 投與

생쥐 6마리를 1群으로 하여 對照群, 生地黃群, 乾地黃群 및 熟地黃群으로 나누고 生地黃群에는 生地黃乾燥엑기스 2.8 mg/20 g을, 乾地黃群에는 乾地黃乾燥엑기스 10.0 mg/20 g을, 熟地黃群에는 熟地黃乾燥엑기스 15.8 mg/

20 g을 1日 1回 14日間 經口投與하였으며 對照群에는 同量의 生理食鹽水를 經口投與하였다.

3) 抗 原

抗原으로 使用된 緬羊赤血球는 緬羊의 頸動脈으로부터 heparin 處理된 注射器로 採血한 後 同量의 Alsever 氏液을 加하여 4℃에서 保存하였으며 保存한지 1週日 以內的 것만 使用 하였다.

4) 免 疫

檢液 및 生理食鹽水를 14日間 投與한 實驗群 및 對照群의 尾靜脈에 5×10^8 cells/ml의 濃度로 調整된 緬羊赤血球浮遊液 0.2 ml를 注射하여 免疫 시켰다.

5) 遲延性 過敏反應 檢査

遲延性 過敏反應 檢査(Delayed Type Hypersensitivity: DTH)의 測定은 Mitsuoaka 등⁴⁷⁾의 方法에 따라 免疫 4日 後 右側後肢 足蹠皮內에 2×10^9 cells/ml로 調整된 緬羊赤血球浮遊液 0.05 ml를 注射하고 24時間이 經過한 다음 足蹠腫脹反應檢査를 施行하였다. 足蹠腫脹程度는 생쥐를 ether로 가볍게 麻醉시키고 Digimatic Caliper(Code No. 500-100, Mitutoyo MFG Co., Tokyo, Japan)를 使用하여 생쥐의 左右側後肢足蹠 두께를 0.01 mm까지 測定하여 左右足蹠두께의 差異를 計算하였다.

6) 採血 및 血清分離

足蹠腫脹反應測定이 끝난 생쥐를 ether로 麻醉하여 解剖版위에 固定하고 1回用 注射器로 心臟에서 約 1 ml 採血한 다음, 12×75 mm plastic tube(Falcon No.2058, Oxnard, CA, USA)에 조심스럽게 옮긴 後 1時間동안 室溫에서 放置하여 작은 유리봉으로 凝固된 血液을 數回 저은 後 TJ-6R遠心分離器(Beckman Inc. Palo Alto, CA, USA)로 2,000 rpm

에 30分間 遠心分離시켜 上層의 血清을 다른 tube에 取하였다. 取한 血清은 56℃에 30分間 非動化시킨 後 凝集素價 및 溶血素價의 測定에 使用하였다.

7) 脾臟細胞 浮遊液의 準備

採血이 끝난 생쥐로부터 脾臟을 無菌的으로 摘出하여 Antibiotic-antimicrobial Solution (GIBCO, Gland Island, NY, USA)를 1% 添加한 Hank's Balanced Salt Solution (HBSS: GIBCO, Gland Island, NY, USA)로 洗滌한 後 HBSS가 들어있는 Petri-dish에서 작은 해부가위로 잘게 자른 다음 滅菌된 유리막대로 조심스럽게 문질러 脾臟細胞를 浮遊시켰다.

이 浮遊液을 nylon mesh로 濾過하여 組織片 및 遊離되지 않은 細胞덩어리를 除去하고 HBSS로 3回 遠心洗滌하였다.

8) Rosette 形成細胞의 測定

Rosette 形成細胞 (Rosette Forming Cells: RFC)의 測定은 Bach 등의 方法에 準하여 測定하였으며 遠心洗滌한 脾臟細胞浮遊液을 HBSS에서 3×10^6 cells/ml의 濃度로 調整한 것과 3×10^8 cells/ml의 濃度로 調整한 緬羊赤血球 浮遊液을 12×75 mm plastic tube (Falcon No. 2058)에 各各 0.5 ml씩 넣고 混合하여 遠心分離器로 1,000 rpm에서 5分間 遠心分離한 다음 4℃에서 30分間 放置한 後 HBSS 1 ml를 加하면서 조심스럽게 細胞를 再浮遊시킨 다음 PBS (Phosphate buffered solution)에 稀釋시킨 0.3% methylene blue한 방울을 加한 後 이 浮遊液을 Hemacytometer (American optica, Buffalo, NY, USA)의 Chamber 위에 Pasteur pipette를 使用하여 한 방울 떨어뜨리고 450×倍率로 檢鏡하였다. 脾臟細胞에 緬羊赤血球가

4個 以上 附着한 경우를 Rosette 形成細胞로 定하여 200個의 淋巴球를 세어서 10^6 脾臟細胞當 10^3 Rosette 形成細胞를 算定하였다.

9) 赤血球凝集素價의 測定

緬羊赤血球에 對한 凝集素價 (Hemagglutinin Titer)를 測定하기 위하여 Rosette 形成細胞數檢査를 위한 脾臟을 摘出하기 直前 생쥐의 心臟으로부터 採血하여 分離한 血清을 microtitration plate (Limbro, Hamden, Conn, USA)의 各 Well에 磷酸鹽緩衝食鹽液으로 2倍系列稀釋한 血清 25 μ l에 0.5% 緬羊赤血球浮遊液을 50 μ l씩 加하여 잘 混合한 다음 37℃ 5% CO₂ 培養器 內에서 18時間 放置한 後 赤血球凝集反應을 觀察 判讀하였으며 赤血球凝集反應을 일으키는 血清의 最高稀釋倍數를 凝集素價로 定했다.

10) 赤血球溶血素價의 測定

緬羊赤血球에 對한 溶血素價 (Hemolysin Titer)를 測定하기 爲하여 各各의 생쥐 血清을 microtitration plate (Limbro, Hamden, Conn, USA)의 各 Well에 磷酸鹽緩衝食鹽液으로 2倍系列稀釋한 血清 25 μ l에 0.5% 緬羊赤血球浮遊液을 50 μ l씩 加한 다음 各 Well에 5倍 稀釋한 家兎의 血清을 25 μ l씩 加하여 37℃ 5% CO₂ 培養器 內에서 1時間 放置한 後 緬羊赤血球가 完全히 溶血을 일으키는 最高稀釋倍數를 溶血素價로 算定하였다.

成 績

1. 遲延性 過敏 反應에 미치는 影響

檢液을 14日間 經口 投與한 實驗群과 同量을 生理食鹽水를 投與한 對照群間의 遲延性 過反應을 比較하기 爲하여 緬羊赤血球 (SRBC)

로 免疫시킨 4日 後 緬羊赤血球을 右側後肢足蹠皮內에 注射한 다음 24時間 後 左右側後肢足蹠의 腫脹程度를 測定 比較하였던 바 對照群은 0.27 ± 0.03 mm였고, 生地黃엑기스投與群 (Sample I)은 0.40 ± 0.04 ($P < 0.05$), 乾地黃엑기스投與群 (Sample II)은 0.39 ± 0.03 ($P < 0.02$) 熟地黃엑기스投與群 (Sample III)은 0.46 ± 0.05 ($P < 0.02$)로 實驗群과 對照群間의 有意한 差를 알아보기 爲하여 t-test를 實施하였던 바 對照群에 比하여 有意性있게 增加한 것으로 나타났으며 增加率은 生地黃엑기스投與群이 48.2% 乾地黃엑기스投與群이 44.4%, 熟地黃엑기스投與群이 70.4%였다 (Table 1).

2. 脾臟細胞의 Rosette 形成細胞數에 미치는 影響

實驗群과 對照群間의 抗原인 緬羊赤血球에 對한 免疫反應細胞數를 比較하기 爲하여 足蹠反應檢査를 完了한 脾臟을 摘出하여 脾臟細胞의 Rosette 形成細胞數를 測定하였던 바 對照

群의 10^6 脾臟細胞當 10^3 Rosette 形成細胞數는 36.1 ± 2.8 個였으며, 生地黃엑기스投與群 (Sample I)은 51.7 ± 5.8 個 ($P < 0.05$), 乾地黃엑기스投與群 (Sample II)은 48.6 ± 3.6 個 ($P < 0.05$), 熟地黃엑기스投與群 (Sample III)은 51.6 ± 4.2 個 ($P < 0.02$)로 모두 有意性있는 增加를 나타냈으며 增加率은 生地黃엑기스投與群이 43.2%, 乾地黃엑기스投與群이 34.4%, 熟地黃엑기스投與群이 42.9%였다 (Table 2).

3. 赤血球凝集素價에 미치는 影響

實驗群과 對照群間의 緬羊赤血球에 對한 凝集素價를 測定하여 \log_2 값으로 計算하였던 바 對照群의 凝集素價는 5.33 ± 0.33 이었으며 生地黃엑기스投與群 (Sample I)은 6.50 ± 0.22 ($P < 0.02$), 乾地黃엑기스投與群 (Sample II)은 6.50 ± 0.34 ($P < 0.05$), 熟地黃엑기스投與群 (Sample III)은 6.67 ± 0.33 ($P < 0.02$)로 모두 有意性있게 增加를 나타내었다 (Table 3).

4. 赤血球溶血素價에 미치는 影響

實驗群과 對照群間의 緬羊赤血球에 對한 溶

Table 1. Effects of Solid Extracts of Raw, Dried and Steamed Roots of *Rehmanniae glutinosa* on DTH in Mice

Group	No. of animals	Dose(mg/20 g)	Footpad swelling(mm)	P value
Control	6		0.27 ± 0.03 a)	
Sample I	6	2.8	0.40 ± 0.04	< 0.05
Sample II	6	10.0	0.39 ± 0.03	< 0.02
Sample III	6	15.8	0.46 ± 0.05	< 0.02

The mice pretreated p.o. with each solid extract for 14 days were sensitized i. v. with 10^3 SRBC and challenged i. d. with 10^8 SRBC 4 days later. Footpad swelling was measured at 24 hours after challenge.

Sample I : Solid extract of raw roots of *Rehmanniae glutinosa* treated group.

Sample II : Solid extract of dried roots of *Rehmanniae glutinosa* treated group.

Sample III : Solid extract of steamed roots of *Rehmanniae glutinosa* treated group.

a) Mean \pm Standard error.

Table 2. Effects of Solid Extracts of Raw, Dried and Steamed Roots of *Rehmannia glutinosa* on Appearance of RFC in Mice

Group	No. of animals	Dose(mg/20 g)	10^3 RFC/ 10^6 Spleen cell	P value
Control	6		36.1 ± 2.8^a	
Sample I	6	2.8	51.7 ± 5.8	< 0.05
Sample II	6	10.0	48.6 ± 3.6	< 0.05
Sample III	6	15.8	51.6 ± 4.2	< 0.02

The mice pretreated p.o. with each solid extract for 14 days were sensitized i.v. with 10^8 SRBC and challenged i.d. with 10^8 SRBC 4 days later. Quantification of RFC was measured at 24 hours after challenge.

Sample I : Solid extract of raw roots of *Rehmannia glutinosa* treated group.

Sample II : Solid extract of dried roots of *Rehmannia glutinosa* treated group.

Sample III : Solid extract of steamed roots of *Rehmannia glutinosa* treated group.

a) Mean \pm Standard error.

RFC : Rosette forming cell.

Table 3. Effects of Solid Extracts of Raw, Dried and Steamed Roots of *Rehmannia glutinosa* on Hemagglutinin titer in Mice

Group	No. of animals	Dose(mg/20g)	Hemagglutinin(\log_2 titer)	P vlaue
Control	6		5.33 ± 0.33^a	
Sample I	6	2.8	6.50 ± 0.22	< 0.02
Sample II	6	10.0	6.50 ± 0.34	< 0.05
Sample III	6	15.8	6.67 ± 0.33	< 0.02

The mice pretreated p.o. with each solid extract for 14 days were sensitized i.v. with 10^8 SRBC and challenged i.d. with 10^8 SRBC 4 days later. Hemagglutinin titer was tested at 24 hours after challenge.

Sample I : Solied extract of raw roots of *Rehmannia glutinosa* treated group.

Sample II : Solid extract of dried roots of *Rehmannia glutinosa* treated group.

Sample III : Solid extract of steamed roots of *Rehmannia glutinosa* treated group.

a) Mean \pm Standard error.

Table 4. Effects of Solid Extracts of Raw, Dried and Steamed Roots of *Rehmanniae glutinosa* on Hemolysin titer in Mice

Group	No. of animals	Dose(mg/20g)	Hemolysin(log ₂ titer)	P value
Control	6		5.17 ± 0.17 ^{a)}	
Sample I	6	2.8	6.33 ± 0.42	< 0.05
Sample II	6	10.0	6.17 ± 0.31	< 0.05
Sample III	6	15.8	6.33 ± 0.49	< 0.05

The mice pretreated p.o. with each solid extract for 14 days were sensitized i.v. with 10⁸ SRBC and challenged i.d. with 10⁸ SRBC 4 days later. Hemolysin titer was tested at 24 hours after challenge.

Sample I : Solid extract of raw roots of *Rehmanniae glutinosa* treated group.

Sample II : Solid extract of dried roots of *Rehmanniae glutinosa* treated group.

Sample III : Solid extract of steamed roots of *Rehmanniae glutinosa* treated group.

a) Mean ± Standard error.

血素價를 測定하여 log₂ 값으로 計算하였던 바 對照群은 5.17 ± 0.17 이었으며, 生地黃액기스 投與群 (Sample I)은 6.33 ± 0.42 (P < 0.05), 乾地黃액기스投與群 (Sample II)은 6.17 ± 0.31 (P < 0.05), 熟地黃액기스投與群 (Sample III)은 6.33 ± 0.49 (P < 0.05)로 모두 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 나타내었다 (Table 4).

考 察

地黃은 玄蓼科 (Scrophulariaceae)에 屬하는 多年生草本인 地黃의 根莖으로 地黃에 對하여 神農本草經²⁰⁾에 “味甘寒 主折跌絕筋傷 中逐血痺 填骨髓 長肌肉 作湯 除寒熱續聚 除痺 生者尤良 久服輕身不老”라고 하여 生地黃, 乾地黃에 對해서만 言及하였다. 熟地黃은 南北朝時期 宋代의 雷斅의 雷公炮炙論에 最初로 언급

된 後 滋腎水 補眞陰 填骨髓 生靜血 長肌肉 聰耳明目 등의 效能이 있어 陰虛血少 腰膝痿弱 勞嗽骨蒸 遺精 崩漏 月經不調 消渴 溲數 耳聾 目昏 五勞七傷胎產百病 臍腹痛 風痺 耳鳴 脛股 酸痛 등 여러 證候를 對象으로 使用되어 왔다. ^{7,22,24,26,29)} 地黃의 成分에 對하여 지금까지 밝혀진 것으로는 D-glucose, D-galactose, D-fructose, sucrose 등 糖類³⁷⁾, catapol, rehmannioside A, B, melittoside, leonuride, aucubin, dehydrocatapol 등 Iridoid 配糖 體系列物質^{36,37,43,45)} 그리고 campesterol, rehmannin, raffinose, manninotriose, stachyose, β-sitosterol 등 成分이 檢出되었다. ^{25,34)}

地黃은 修治方法에 따라 藥性和 主治가 差異가 있는데 本草綱目에서 生地黃은 地黃의 根莖을 鮮用하였고 乾地黃은 取地黃一百斤 擇肥者六十斤 肥者六十斤 洗淨 晒令微皺 以揀下者 洗淨 木臼中 搗紋汁盡 投酒更搗 取汁拌前

地黃 日中晒乾 或火焙乾用하였고 熟地黃은 揀取沈水 肥大者 以好酒入縮砂仁末在內 拌勺 柳木甑於瓦鍋內 蒸令氣透 晾乾 再以砂仁酒拌蒸 晾如此 九蒸晾乃止²⁶⁾ 한다고 하였는데 이 論文에서는 위의 方法에 의거하여 生地黃, 乾地黃, 熟地黃을 만들어 使用하였다. 生地黃은 味甘苦 性寒無毒으로 清熱涼血 潤燥生津하고 乾地黃은 味甘苦 性寒無毒으로 清熱涼血 滋陰養血하고 熟地黃은 味甘微苦 性溫無毒으로 滋陰養血하는 作用이 있다.^{1,3,7,20,26,27,29)} 效能의 差異는 含有하고 있는 成分의 變化와 關係가 있는 것으로 보이는데 이에 對한 研究로 정¹⁷⁾은 九蒸過程에서 mannitol 含量이 感少하면서 遊離還元糖이 漸次 增加한다 하였고, 柳¹⁶⁾도 蒸熟回數에 따라 遊離還元糖이 增加한다고 하였으며, 金¹³⁾은 總脂質含量이 生地黃이나 乾地黃에 比하여 熟地黃에서 減少되고 燐脂質含量은 熟地黃이 乾地黃보다 增加한다고 報告하였고, 劉³³⁾는 生地黃은 多種의 糖類物質을 含有하고 있는데 數回에 걸쳐 蒸熟하는 過程에서 多糖이 分解되어 單糖의 含量이 높아지는 까닭에 體內吸收가 빠르고 그 作用을 發揮하는데 效果的이라 하였다. 免疫學的 側面에서의 연구로는 蘇³¹⁾의 生地黃이 包含된 복합방이 抗體生産細胞에 미치는 影響, 高¹²⁾의 鹿茸, 熟地黃, 人蔘, 五加皮가 免疫反應 및 NK細胞 活性도에 미치는 影響, 金¹⁴⁾의 人蔘과 熟地黃이 Methotrexate (MTX)로 誘發된 免疫反應低下에 미치는 影響이 있으나 生地黃, 乾地黃, 熟地黃의 免疫學的 效能을 比較한 報告는 찾아 볼 수가 없었다. 이에 生地黃, 乾地黃, 熟地黃의 免疫學的 效能을 實驗的으로 究明하였다.

免疫反應은 크게 細胞性免疫과 體液性免疫으로 나눈다.⁴⁰⁾ 細胞性免疫反應은 主로 T淋巴球에 의해 이루어지는데 경우에 따라서는 T細

胞나 B細胞가 아닌 淋巴球나 巨食細胞 等に 의하여 이루어지기도 한다.⁵⁰⁾ 體液性免疫反應은 抗原特異的 分子인 抗體에 의하여 이루어지는 것으로 T淋巴球의 도움을 얻어 B淋巴球에 의해 抗體가 生産되는 것으로 알려져 있다.⁴⁰⁾ 本 論文에서는 細胞性免疫反應을 檢討하기 爲하여 Mitsuoka 등⁴⁶⁾의 方法에 準하여 過敏性 遲延反應 (DTH)를 測定하였고, Bach 등³⁸⁾의 方法에 準하여 로젤形成細胞 (RFC)를 測定하였으며, 體液性免疫反應을 살피기 爲하여 赤血球凝集素價 (HA)와 赤血球溶血素價 (HL)를 測定하였다. 위와 같이 生地黃, 乾地黃, 熟地黃이 數種 免疫關係 反應에 미치는 影響을 檢討한 結果 第三章의 Table I~IV와 같은 成績을 얻었다. 各 免疫關係 反應別로 實驗結果를 評價하여 보면 다음과 같다.

緬羊赤血球에 의한 遲延性過敏反應은 抗原感作期나 反應誘導期에 있어서 T細胞依存性 現象이며, T細胞는 自身이 直接 過敏反應을 일으키는 것이 아니고 感作된 T細胞가 同種의 抗原에 다시 露出되면 淋巴球의 芽球化가 일어나 細胞가 肥大해지며 核酸과 蛋白質의 合成이 增大되고 分裂을 시작하게 되며, 이와 同時에 여러가지 活性物質을 放出하는데 그 중 可溶性 作用物質인 lymphokines는 大食細胞 및 多形核白血球를 誘引하여 이들 細胞로 하여금 炎症反應 및 組織破壞와 같은 遲延性過敏反應을 誘發하게 된다.⁵²⁾ 對照群의 DTH는 0.27 ± 0.03 mm였고, 生地黃엑기스投與群은 0.40 ± 0.04 (P < 0.05), 乾地黃엑기스投與群은 0.39 ± 0.03 (P < 0.02), 熟地黃엑기스投與群 0.46 ± 0.05 (P < 0.02)로 對照群에 比하여 모두 有意性이 認定되었고 增加率은 熟地黃엑기스投與群이 70.4%, 生地黃엑기스投與群이 48.2%, 乾地黃엑기스投與群이 44.4%였다. 따라서

Wing說⁵²⁾로 미루어 보아 生地黃엑기스, 乾地黃엑기스 및 熟地黃엑기스가 遲延性過敏反應을 增強시킨 作用機轉은 感作T淋巴球, 大食細胞 및 多形核白血球의 活性亢進이나 數的 增加로 생각되나 어느 成分이 어떻게 作用하였는지는 精確히 알 수 없었다.

免疫動物에 있어서 免疫反應에 關與하는 T細胞 및 大食細胞가 모두 로젤을 形成하였다고 Biozzi 등³⁹⁾ 및 Wilson과 Miller⁵¹⁾는 報告하였으나 正常 마우스의 脾臟細胞와 SRBC와의 로젤形成은 約 66%가 T細胞이고 나머지 34%가 B細胞였다는 Bach와 Dardenn³⁸⁾의 報告로 미루어 脾臟細胞의 로젤形成 檢査는 어느 程度 T細胞數의 測定方法이라고 볼 수 있다. 따라서 脾臟內의 T細胞數를 測定하므로써 細胞性免疫反應檢査를 하였던 바 對照群의 로젤形成細胞數는 36.1 ± 2.8 個였으며, 生地黃엑기스投與群은 51.7 ± 5.8 ($P < 0.05$), 乾地黃엑기스投與群은 48.6 ± 3.6 ($P < 0.05$), 熟地黃엑기스投與群은 51.6 ± 4.2 ($P < 0.02$)로 모두 有意性이 있었으며 增加率은 生地黃엑기스投與群이 43.2% 熟地黃엑기스投與群이 42.9% 乾地黃엑기스投與群이 34.8%의 順이었다. 이와같은 結果는 effect T cell이 로젤形成細胞일 것이라는 Wybran 등⁵³⁻⁵⁵⁾의 報告로 미루어 熟地黃, 生地黃, 乾地黃이 effect T cell을 增加시켰거나 또는 antigen specific T lymphocyte의 作用力을 높여주어 SRBC에 對한 細胞膜受用體(membrane receptor)의 親和性을 높였을 可能性을 생각할 수 있다.

生地黃엑기스, 乾地黃엑기스 및 熟地黃엑기스投與가 體液性免疫反應에 미치는 影響을 알아보기 위하여 SRBC로 免疫한 後 血清中 SRBC에 對한 凝集素價와 溶血素價를 測定하

였던 바 HA-titer는 對照群이 5.33 ± 0.33 이었으며 生地黃엑기스投與群은 6.50 ± 0.22 ($P < 0.02$), 乾地黃엑기스投與群은 6.50 ± 0.34 ($P < 0.05$), 熟地黃엑기스投與群은 6.67 ± 0.33 ($P < 0.02$)으로 모두가 有意性 있는 增加를 나타냈으며 HL-titer는 對照群이 5.17 ± 0.17 이었으며 生地黃엑기스投與群은 6.33 ± 0.42 ($P < 0.05$), 乾地黃엑기스投與群은 6.17 ± 0.31 ($P < 0.05$), 熟地黃엑기스投與群은 6.33 ± 0.49 ($P < 0.05$)로 實驗群 모두가 對照群에 比하여 有意性 있는 增加를 나타냈다. 이와같은 實驗結果는 Claman 등⁴⁰⁾, Mitchell과 Miller 등⁴⁶⁾의 SRBC에 對한 體液性免疫反應은 T細胞와 B細胞의 相互作用으로 된다는 報告로 미루어 實驗群이 T cell을 強하게 活性化시켜 이 活性化된 helper T cell이 直接 B cell에 作用했을 可能性을 추측케하나 明確한 機轉은 本 實驗만으로는 알 수 없었다.

以上の 結果로 보아 正確한 機轉은 알 수 없으나 DTH는 熟地黃, 生地黃, 乾地黃의 順으로 RFC는 生地黃, 熟地黃, 乾地黃의 順으로 HA-titer는 熟地黃, 生地黃, 乾地黃의 順으로 HL-titer는 生地黃, 熟地黃, 乾地黃의 順으로 모두 細胞性免疫反應 및 體液性免疫反應을 增加시키는 것으로 思料된다.

結 論

生地黃, 乾地黃, 熟地黃이 ICR系 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響을 알아보고자 生地黃엑기스, 乾地黃엑기스 및 熟地黃엑기스로 各各 前處理한 생쥐를 10^8 緬羊赤血球를 免疫시킨 4日 後 10^8 緬羊赤血球를 後肢

足 蹠皮內에 注射하고 2時間後 細胞性免疫反應으로 遲延性過敏反應과 Rosette 形成細胞數의 測定, 體液性免疫反應으로 赤血球凝集素價를 測定하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) 遲延性過敏反應은 熟地黃역기스投與群, 生地黃역기스投與群, 乾地黃역기스投與群의 順으로 對照群에 比하여 有意하게 增加되었다.

2) Rosette 形成 細胞數는 生地黃역기스投與群, 熟地黃역기스投與群, 乾地黃역기스投與群의 順으로 對照群에 比하여 有意하게 增加되었다.

3) 赤血球凝集素價는 熟地黃역기스投與群, 生地黃역기스投與群, 乾地黃역기스投與群의 順으로 對照群에 比하여 有意하게 增加되었다.

4) 赤血球溶血素價는 生地黃역기스投與群, 熟地黃역기스投與群, 乾地黃역기스投與群의 順으로 對照群에 比하여 有意하게 增加되었다.

以上の ICR系 생쥐를 實驗한 結果로 보아 生地黃, 乾地黃, 熟地黃 모두 細胞性免疫을 增強시키는 作用이 있는데 生地黃, 熟地黃에 比하여 더 큰 增強作用을 보였고 體液性免疫反應도 實驗群 모두 增強시키는 作用이 있었고 生地黃, 熟地黃이 乾地黃에 比해 더 큰 增強效果가 있는 것으로 認知되었다.

參 考 文 獻

- 1) 金定濟：東洋醫學概要, 서울, 東洋醫學研究院 p.125~126, 1977.
- 2) 文滄典 등：東洋病理學(I), 서울, 韓醫科大學病理學教室 p.127, 1985.
- 3) 世宗命選：鄉藥集大成, 서울, 杏林書院 p.603-4, 1977.
- 4) 安圭錫：東醫病理學總論, 大邱韓醫科大學病理學教室 p.10, 1984.
- 5) 元持常：增補東醫四象新篇, 서울, 綜合醫苑社 p.17, 57, 1974.
- 6) 李文鎬：內科學, 서울, 博愛出版社 p.1989~1999, 1977.
- 7) 李尙仁：本草學, 서울, 醫藥社, p.105, 1975.
- 8) 李濟馬：東醫壽世保元, 서울, 信一文化社 p.4~11, 93~96, 1964.
- 9) 李鍾訓：病原微生物學, 서울, 壽文社, p.133~183, 1976.
- 10) 洪元植：精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院出版部 p.124, 285, 1985.
- 11) 洪元植：精校黃帝內經靈樞, 서울, 東洋醫學研究院出版部 p.286, 1985.
- 12) 高炳熙：鹿茸, 熟地黃, 人蔘, 五加皮가 免疫反應 및 NK細胞活性度에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 p.33, 34, 1986.
- 13) 金大器：地黃의 總脂質 및 磷脂質에 關한 研究, 慶熙大學校大學院 p.13, 14, 1974.
- 14) 金聖洙：人蔘 및 熟地黃이 Methotrexate (MTX)로 誘發된 생쥐의 免疫反應低下에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 p.24, 25, 1986.
- 15) 金鎮福：臟器移植免疫學 및 腫瘍免疫學, 大韓醫學協會誌 21:7, p.599~607, 1978.
- 16) 柳庚秀：地黃의 修治에 關한 研究, 慶熙大學校論文集 Vol.4, p.233~252, 1966.
- 17) 정용순：生地黃과 熟地黃 제조과정에서의 Mannitol 과 환원糖의 소장에 關하여, 梨花女子大學院論文 p.5~16, 1957.
- 18) 趙鍾寬：免疫에 關한 東洋醫學의 考察, 東洋醫學 12:1, p.19~23, 1986.
- 19) 河大有外：緬羊赤血球 感作量이 Mice의 遲延性過敏反應과 抗體生産에 미치는 影響, 全北醫大論文集 3:1, p.95~100, 1979.
- 20) 未 詳：神農本草經(孫星衍選), 臺北, 集

- 文書局, 一卷, 13, 1976.
- 21) 上海中醫學院: 中醫學基礎, 香港, 商務印書館 p.101, 1977.
 - 22) 新文豐出版公司: 新編中藥大辭典, 臺北, p.1688~1691, 2445~2447, 2659~2660, 1980.
 - 23) 吳儀洛撰: 本草從新, 서울, 杏林出版社 p.47, 48, 1972.
 - 24) 汪昂撰: 增批本草備要, 臺北, 大中國圖書公司 p.41, 42, 1970.
 - 25) 王浴生: 中藥藥理與應用, 北京, 人民衛生出版社 p.400~406, 1983.
 - 26) 李時珍: 本草綱目, 서울, 高文社 p.1205, 1975.
 - 27) 李中梓: 醫宗必讀, 臺北, 大方出版社 p.73, 74, 1977.
 - 28) 張隱庵, 馬元臺: 黃帝內經素問靈樞, 臺北, 臺聯國風出版社 p.15, 241, 384, 1974.
 - 29) 中華人民共和國衛生部 藥典委員會編: 中華人民共和國藥典, 北京, 人民衛生出版社 p.203, 1977.
 - 30) 段功操: 略談炮制與醫療的關係, 中藥通報 9:1, p.16, 1984.
 - 31) 蘇祥扶外: 養陰活血等複方對動物抗體形成影響的研究, 中醫雜誌 p.65, 66, 1983.
 - 32) 嚴宗正: 正邪論新釋, 新中醫 6:5, 1984.
 - 33) 劉中煜: 生理黃與熟地黃含單糖比較, 中藥通報 9:1, p.17~18, 1984.
 - 34) 高木敬次郎外: 和漢藥物學, 東京, 南山堂, p.74~79, 204~205, 1982.
 - 36) 大鹽春治外: 地黃のイリドイド配糖體の定量分析, 生藥學雜誌 35:4, p.291~294, 1981.
 - 37) 北川 勳外: 懷慶地黃根莖の成分, 藥學雜誌, 91:5 p.593~596, 1971.
 - 38) Bach JF, Dardenne M: Antigen Recognition by T. Lymphocytes, Cellular Immunology, Vol.3, pp.1-10, 1972.
 - 39) Biozzi G, et al: A Rinetic study of antibody producing cells in the Spleen of Mice Immunized Intravenously with Sheep Erythrocytes, Immunology Vol.14, pp.7-20, 1968.
 - 40) Claman HN, et al: Thymusmarrow cell combinations, synergism in antibody production. Soc Exp Biol Med Proc, Vol 59, pp.83-87, 1966.
 - 41) Clark WR: Hypersensitivity reactions in the experimental foundations of modern immunology. John Wiley & Sons Inc New York pp.166-167, 1983.
 - 42) Felsburg PJ, Edelman R: The active E-rosette test: A sensitive in vitro correlate for human delayed type hypersensitivity, J Immunol, 118:62, 1977.
 - 43) Haruji Oshio, et al: Iridoid glycosides of Rehmannia glutinosa, phytochemistry 21:1, pp.133-138, 1981.

- 44) Lonal P, Steinman L: Physiological regulation of antigen binding to T cells: Role of a soluble macrophage factor and of interferon, Proc Nat Sci USA 74:5662, 1977.
- 45) Masashi T, et al: Water-soluble constituents of Rehmanniae Radix(II) Chem. Pharm Bull 19:11, pp.2411-2413, 1971.
- 46) Mitchell GF, Miller JFAP: immunological activity of thymus and thoracic-duct lymphocytes, Proc Nat Acad Sci(Wash) 59:296, 1968.
- 47) Mitsuoka AT, et al: Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous sensitization with SRBC, evidence for tuberculin type delayed hypersensitivity of the reaction, Immunology Vol.34, pp.363-370, 1978.
- 48) Nowotny A: Antigen-antibody interactions in basic exercise in immunochemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, NY pp.217-271, 285-287, 1979.
- 49) Revillard JP: Investigation of delayed hypersensitivity in man in Immunology, John Wiley & Sons Inc New York pp.393-394, 1982.
- 50) Sell S: Cell-mediated immunity in vitro in immunology, immunopathology and immunity. Harper & Row Pub. Hagerstown, Maryland pp.144-171, 1980.
- 51) Wilson TD, Miler JFAP: T and B rosette forming cells. Eur J Immunol 1:501, 1971.
- 52) Wing EJ, et al: Delayed hypersensitivity reaction in basic and clinical immunology. Lange Med Pub California pp.129-134, 1980.
- 53) Wybran J, Fudenberg HH: Rosette forming A test for cellular immunity. Trans Assoc Am Physicians 84:239, 1971.
- 54) Wybran J, Carr MC, Fudenberg HH: The human rosette-forming cell as a marker of population of thymus derived cells. J Clin Invest 51:2537, 1972.
- 55) Wybran J, Levin AS, Splitler LE, Fudenberg HH: Rosette-forming cells, immunologic deficiency diseases and transfer factor. N Engl J Med 288:710, 1973.

ABSTRACT

An Experimental Study on the Effects of Raw, Dried and Steamed Roots of *Rehmanniae glutinosa* on cell-mediated and Humoral Immune Response in Mice

Yong Myong Whang. O.M.D.

In order to investigate the effects of Raw, Dried and Steamed Roots of *Rehmanniae Radix* (R.R.: from Wonju province, Korea) on cell-mediated and humoral immune response, the author performed this experimental study.

Delayed type hypersensitivity (DTH) and rosette forming cells (RFC) for cell-mediated immune response, hemagglutinin (HA) titers, hemolysin (HL) titers were measured in ICR mice.

The results were summarized as follows:

- 1) DTH was increased with the order of Steamed Roots of R.R., Raw Roots of R.R., Dried Roots of R.R.-treated group, as compared with the control group, with statistical significance.
- 2) RFC were increased with the order of Raw Roots of R.R., Steamed Roots of R.R., Dried Roots of R.R.-treated group, as compared with the control group, with statistical significance.
- 5) HA titers were increased with the order of Steamed Roots of R.R., Raw Roots of R.R., Dried Roots of R.R.-treated group, as compared with the control group, with statistical significance.
- 4) HL, titers were increased with the order of Raw Roots of R.R., Steamed Roots of R.R., Dried Roots of R.R.-treated group, as compared with the control group, with statistical significance.

Through in the experimental study in ICR mice, these findings suggest that all of the treated group was increased in cell-mediated immune response, Raw, Steamed Roots of R.R. were increased more as compared with the Dried Roots of R.R., and all of the treated group was increased in humoral immune response, Raw, Steamed Roots of R.R. were increased more as compared with the dried Roots of R.R.