

生藥의 免疫強化에 對한 Cyclophosphamide의 影響

생물약품과 *기기분석과
강 은 미·*황 은 진·양 기 숙

Effect of Cyclophosphamide on the Immunopotenciation of Crude Drugs

Biopharmaceutical Division

Eun Mee Kang, Eun Jin Hwang, Ki Sook Yang

==Abstract==

The immunopotenciating effects of water extracts of EP, AR and AS on the immunosuppression of CY were investigated by the numbers of RBC and WBC, proportions of thymus W. and spleen W. per body W. and antibody titer to SRBC.

The numbers of WBC and RBC of CY treated group significantly increased and less increased than CY-nontreated group, respectively. The percentages of thymus W. and spleen W. of CY treated group decreased and increased than CY-nontreated group, respectively. But spleen W. of CY+1 treated group significantly decreased. Antibody titers were only shown at CY-nontreated group.

緒 論

사회구조가 점차 복잡해짐에 따라 藥物의 남용, 環境毒物性物質 및 virus感染 등은 생체의 恒常性(homeostasis) 유지에 影響을 주어 免疫機能의 異狀을 초래해 各種 感染症 및 癌 등의 발생빈도를 높게 된다. 癌과 免疫의 상호관계는 免疫藥物學, 免疫病理學 등에서 그 作用機轉이 상당히 研究되어져 있는 반면에 生藥의 抗癌 作用이나 免疫機能에 對한 影響은 아직 그 作用機轉面에서 불확실하다. 그러나 最近에 L1210, salcoma 180 등의 tumor cell 혹은 immunomodulator 등을 使用해서 그 生藥의 作用機轉 및 疾病의 治療目的에 응용하고자 하는 研究가 활발히 進行되고 있다.¹⁻⁴⁾

本 實驗에서는 민간에서 消炎 및 強臟劑 등으로 使用되며 免疫作用이 있을 것으로 추정되는 生藥 3種을 택하였다.

더위지기는 우리나라에서 그 莖葉을 茵陳蒿라 하여 消炎利尿, 肝炎治療 등에 使用되고 있다. 金⁵⁾은 이 植物 精油成分의 anticancerous activity, 姜⁶⁾ 등은 韓國 茵陳의 natural killer cell activity를 報告해 더위지기

의 抗癌效果를 示唆하고 있다.

麻黃은 알카로이드系 物質로서 그 주성분 ephedrine은 抗히스타민, 抗아드레날린性 作用으로 기관지천식에 使用되고 있다. Kasahara等⁷⁾은 prostaglandine E₂ 生合成抑制에 의한 抗炎症作用을 Adachi等⁸⁾은 guinea pig 大食細胞의 procoagulant activity 作用을 報告하고 있어 麻黃의 免疫機轉에 對한 作用과 抗炎症作用과의 關係를 示唆하고 있다.

黃耆는 古來로 부터 止汗, 利尿, 強壯劑로서 虛弱體質, 汗機能不全 및 腎炎 등에 使用되고 있으나 그 藥理機轉은 불확실하다. 最近 Kosuge,⁹⁾ 安,¹⁰⁾ Itokaw等¹¹⁾은 黃耆의 물 또는 에칠아세테이트 등의 분취추출물에 對한 研究에서 癌細胞 成長抑制 등 免疫強化作用을 報告하고 있다.

Cyclophosphamide는 抗癌劑로 wegener씨 육아종, 중증류마티양관절염, 장기이식 후 거부반응抑制劑로 使用되고 있다. Cyclophosphamide는 artificial immune suppression inducer로 간에서 분해된 후 핵산을 알킬화하여 細胞障害性을 나타낸다. 그래서 臨床적으로 使用時 感炎에의 노출, 造血機能의 低下, 肝障害 등이 일어날 수 있고, 實驗적으로 T림파구 보다

B 림과구에 더 심한 障害를 일으켜 體液性免疫에 對한 抑制效果가 細胞性免疫의 그것보다 크다고 報告¹²⁾되고 있다. 또한 페로는 상반된 作用 즉, 免疫強化作用으로 T 림과구 依存性抗原인 sheep red blood cell과 2,4-dinitrofluorobenzene에 依한 delayed-type-hypersensitivity 반응에서 抗體生成의 抑制와 同時에 細胞性免疫反應의 增強作用이 報告¹³⁾되고 있다. 그래서 저자 등은 위와 같은 Cyclophosphamide의 細胞毒性作用機轉이 麻黃(Ephedra Sinica Stapf, Ephedraceae), 더위지기(Artemisia Messerschmidtiana Besser var. viridis, Compositae), 黃耆(Astragalus membranaceus, Fabaceae)의 免疫性復活作用에 미치는 상관관계를 알아보고자, 마우스에 sheep red blood cell 抗原感作前, 後 및 同時에 Cyclophosphamide (300mg/kg, i.p.)를 投與해서 나타난 血液狀 및 免疫反應性의 變化를 백혈구 및 적혈구수와 免疫壯器重量(%) 및 抗體價를 測定하여 結果를 報告하고자 한다.

實 驗

1. 實驗動物

體重 25~30g의 雄性 ICR 마우스를 구입하여 본 연구원 사육실에서 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 2주간 적응시킨 후에 使用하였다.

2. 抗原의 調劑 및 免疫

抗原은 50% alsever's solution과 绵양적혈구(sheep red blood cell: SRBC, 국립보건원에서 분양)를 1:1로 혼합한 액을 4°C에서 保存하면서 2주일 이내에 使用하였다. Alsever's solution 중의 SRBC로 免疫시킬 때는 使用直前に 그 溶液中의 SRBC에 phosphate buffered saline (PBS)을 가하여 3회 원심세척(10분간, 150 gravity)하여 SRBC를 분리한 후 다시 PBS를 가하여 2×10^9 cells/ml SRBC 현탁용액을 만들어 마우스의 腹腔에 0.2ml(4×10^8 cells)를 1회 注射한 후 7일간 免疫시켰다.

3. 生藥試料液의 調劑 및 投與

本 實驗에 使用한 生藥은 시중 견재한약방에서 구입하였으며 麻黃(Ephedrae Herba; EP), 더위지기(Artemisia messerschmidtiana Herba; AR), 黃耆(Astragali Radix; AS) 각각 300g을 round bottom flask에 넣고 증류수 5l씩 가하여 수욕상에서 5시간씩 3회 가온추출한 후 은시 여과한 여액을 감압농축시켜 麻黃(수득율; 30.1%), 더위지기(수득율; 32.0%), 黃耆(수득율; 32.0%) 물엑스를 얻었다. 각 물엑스를 1% carboxyl methyl cellulose-Na saline 溶液(CMC)에

현탁시켜 生藥試料液으로 하였으며 멸균한 후 마우스의 腹腔內에 100mg/kg을 일회 용량으로 하여 免疫日로부터 6日間 一定時間에 注射하였다.

4. 藥物的 投與

Cyclophosphamide(CY; 중의계약, 알키록산*)에 주 사용증류수를 가해 용해시킨 후 마우스 腹腔內에 免疫後 1日, 免疫前 1日, 3日 및 免疫과 同時에 300mg/kg씩을 1회 注射하였다.

5. 末梢循環 白血球 및 赤血球數의 測定

마우스의 안와정맥으로부터 heparinized capillary tube로 血液을 채취한 후 白血球(white blood cell; WBC)는 0.5% acetic acid solution에 赤血球(red blood cell; RBC)는 glower's soln에 희석한 후 haemocytometer(neubauer improved)를 使用하여 WBC, RBC 測定法에 따라 그 總數를 測定하여 계산하였다.

6. 血清의 分離 및 非動化

마우스의 頸動脈을 절단하여 血液을 채취하여 30分間 방치, 응고시킨 후 원심분리하여 血清을 分離하고 56°C에서 30分間 非動化시킨 후 4°C에서 保存하여 使用하였다.

7. 赤血球 凝集素價 및 溶血素價의 測定¹⁴⁻¹⁵⁾

赤血球 凝集素價(hemagglutination titer; HA)의 測定; SRBC의 凝集素價를 microtitration tray를 使用하여 다음과 같이 실시하였다. 즉, 各 實驗動物로 부터 얻은 各各의 非動化血清을 各 well에 PBS로 2배系列로 희석한 후 PBS에 부유한 0.5% SRBC 0.05ml를 잘 혼합한 후 37°C에서 18~24시간 방치하여 赤血球의 凝集類型을 관찰, 판독하였으며, 完全凝集을 일으키는 血清의 最高稀釋度를 그 血清의 凝集素價로 하였다.

赤血球 溶血素價(hemolysin titer; HE)의 測定; SRBC의 量 및 血清의 희석은 凝集素價 測定時와 同一하게 실시하였으며, SRBC와 稀釋血清이 들어 있는 各 well에 guinea pig serum을 20배로 희석하여 0.025 ml씩 가한 다음 37°C에서 1時間 방치하여 溶血與否를 관찰하였다. 이때 完全溶血을 일으키는 血清의 最高稀釋度를 그 力價로 판독하였다.

8. 胸腺 및 脾臟重量의 測定

各 마우스로부터 血液을 채취한 후 胸腺 및 脾臟을 적출하여 體重에 對한 重量比(%)를 求하였다.

9. 實驗動物의 分類

실험에 使用한 실험동물의 분류는 Table 1과 같이 분류하였다.

10. 統計學的 分析

實驗 Data의 有意性 檢定은 student's t-test에 依하였으며 신뢰한도는 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 일 때 有意성이

Table 1. Groups were largely classified according to differential injection times of CY in SRBC immunized and 3 crude drugs administered mice.

Group	Treatment
Control	Administered CMC for 6 days
EP	Administered EP for 6 days
AR	Administered AR for 6 days
AS	Administered AS for 6 days
Each group was injected CY at 1 day after immunization (CY+1)	
Each group was injected CY at 1 day before immunization (CY-1)	
Each group was injected CY at 3 day before immunization (CY-3)	
Each group was injected CY at the same time immunization (CY+0)	
Each group was NO CY injection and immunization (CY+NO)	

있는 것으로 간주하였다.

結果 및 考察

麻黃, 더위지기, 黃耆의 물엑스가 末梢血液의 白血球數에 미치는 影響은 Table 2와 같다. 各 試料液 投與群은 SRBC抗原注射에 對해 CY投與時期에 상관없이 CMC投與群인 control群에 비해 대체로 白血球數의 增加를 나타내었으나 麻黃과 黃耆 投與群이 SRBC 抗原注射 후 1日에 CY가 投與된 境遇는 低下를 보였다. 그리고 Fig. 1은 CMC, 麻黃, 더위지기, 黃耆投與群에 對해 SRBC抗原注射에 따른 CY投與時期의 差異에 의한 白血球數의 變化를 본 것으로, CY를 投與하지 않은 群들(CY-NO)에 비해 SRBC 抗原注射 後 1日에 投與한 群들(CY+1)은 현저한 低下를 보이고 있는 반면에 1日, 3日 前 혹은 同時에 投與한 群들(CY-1) (CY-3) (CY+0)은 增加되었다. 특히 同時投與群들 (CY+0)의 境遇 현저한 白血球數의 增加를 보였다. 이 結果는 단순히 末梢血液의 白血球數를 測定한 것에

Table 2. Effect of cyclophosphamide on the numbers of WBC.

Group	Numbers of WBC in peripheral blood ($\times 10^3/\text{mm}^3$)				
	NO. CY-treatment Immunization	CY-treatment 1 day after Immunization	CY-treatment & Immunization at the same time	CY-treatment 1 day before Immunization	CY-treatment 3 day before Immunization
Control	7.42 \pm 0.73	2.15 \pm 0.45	16.81 \pm 1.57	18.69 \pm 3.77	10.50 \pm 1.64
EP	8.37 \pm 1.90	4.38 \pm 0.92**	18.82 \pm 3.29	11.06 \pm 0.68**	13.38 \pm 0.36**
AR	8.01 \pm 2.04	2.16 \pm 0.39	26.00 \pm 3.08**	21.20 \pm 4.23	11.46 \pm 3.32
AS	13.43 \pm 1.22**	3.42 \pm 0.28**	21.93 \pm 1.68**	11.86 \pm 2.13*	13.88 \pm 1.31**

Data represents the mean \pm S.E. for 4-5 mice.
Significant difference from control by student's t-test.
(*p<0.05, **p<0.01)

Table 3. Effect of cyclophosphamide on the numbers of RBC.

Group	Numbers of RBC in Peripheral Blood ($\times 10^6/\text{mm}^3$)				
	NO. CY-treatment Immunization	CY-treatment 1 day after Immunization	CY-treatment & Immunization at the same time	CY-treatment 1 day before Immunization	CY-treatment 3 day before Immunization
Control	7.04 \pm 0.67	7.59 \pm 0.39	6.81 \pm 0.51	8.05 \pm 0.51	7.98 \pm 0.29
EP	5.43 \pm 0.43**	8.86 \pm 0.12**	7.36 \pm 0.78**	7.91 \pm 0.55	8.94 \pm 0.39**
AR	5.67 \pm 0.46**	8.74 \pm 0.54**	7.57 \pm 0.62	6.97 \pm 0.65*	8.42 \pm 0.51
AS	7.64 \pm 0.60	9.28 \pm 1.28	7.11 \pm 0.86	7.41 \pm 0.70	8.32 \pm 0.39

Data represents the mean \pm S.E. for 4-5 mice.
Significant difference from control by student's t-test.
(*p<0.05, **p<0.01)

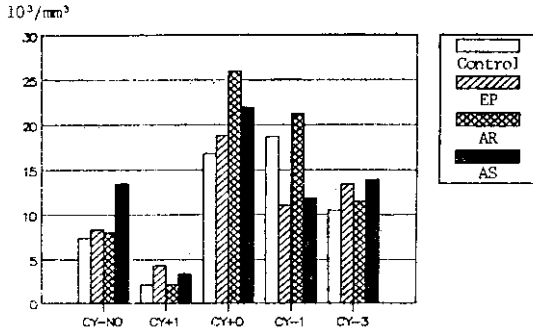


Fig. 1. Effect of cyclophosphamide on the numbers of WBC. Data represents the mean for 4-5 mice. Key: Table 1.

불과하므로 細胞性免疫反應의 增強作用으로 볼 수는 없으나 CY가 SRBC抗原注射 前에 投與되는 境遇 細胞性免疫反應을 強化하고 抗原注射 後에 投與되는 境遇 細胞性免疫反應이 抑制된다는 CY投與時期에 따른 CY의 細胞性免疫強化機轉과 유사한 結果를 보여, ^{13,16)} 이에 대한 實驗이 行해져야 할 것이다.

末梢血液의 赤血球數에 미치는 影響은 Table 3과 같다. 各 試料液投與群은 SRBC抗原注射에 對한 CY投與時期에 상관없이 control群에 비해 增加하거나 비슷한 수치를 나타내었다. 그러나 CY가 投與되지 않은 麻黃과 더위지기 投與群과 CY가 SRBC抗原注射 1日 前에 投與된 더위지기 投與群에서는 RBC數의 低下를 나타내었다. Fig. 2는 CY投與時期에 의한 赤血球數의 變化를 본 것인데 CY가 投與되지 않은 群들(CY-NO)에 비해 CY가 投與된 群들(CY+1) (CY+0) (CY-1) (CY-3)에서 增加현상을 보였으나 白血球數의 경우처럼 顯저한 變化를 보이지 않았다. 이는 CY의 白血球細胞에 對한 hematopoiesis¹⁷⁻¹⁸⁾ 作用이 RBC보다는 WBC

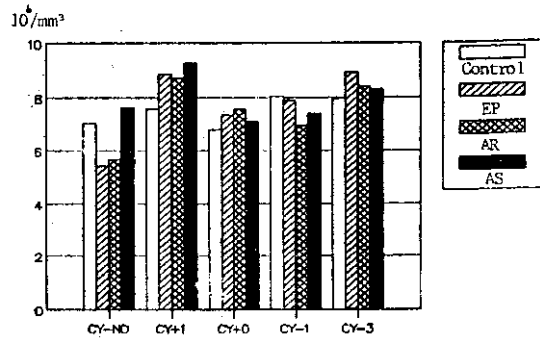


Fig. 2. Effect of cyclophosphamide on the numbers of RBC. Data represents the mean for 4-5 mice Key: Table 1.

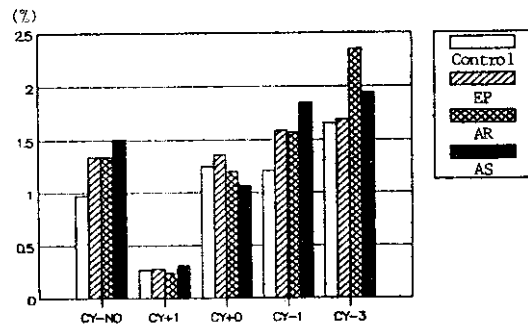


Fig. 3. Effect of cyclophosphamide on spleen weight. Data represents the mean for 4-5mice Key: Table 1.

에 주로 影響을 주어 나타난 結果로 思料된다.

免疫臟器인 胸腺重量(%)에 對한 影響은 Table 4와 같다. CY가 投與되지 않은 群에서 麻黃(p<0.01)과 더위지기(p<0.01)는 control群에 比해서 有意한 增加를 보였으며 SRBC抗原注射 3日 前에 CY가 投與된 群

Table 4. Effect of cyclophosphamide on thymus weight.

Group	Percentage of Thymus W. per Body W. (%)				
	NO. CY-treatment Immunization	CY-treatment 1 day after Immunization	CY-treatment & Immunization at the same time	CY-treatment 1 day before Immunization	CY-treatment 3 day before Immunization
Control	0.22±0.03	0.10±0.01	0.19±0.01	0.11±0.02	0.05±0.00
EP	0.20±0.03	0.06±0.00**	0.11±0.01**	0.11±0.02	0.15±0.02**
AR	0.27±0.03**	0.11±0.02	0.15±0.02*	0.13±0.02	0.15±0.02**
AS	0.22±0.02	0.11±0.03	0.13±0.03**	0.10±0.01	0.11±0.02**

Data represents the mean±S.E. for 4-5 mice.

Significant difference from control by student's t-test.

(*p<0.05, **p<0.01)

Table 5. Effect of cyclophosphamide on spleen weight.

Group	Percentage of spleen W. per body W. (%)				
	NO. CY-treatment Immunization	CY-treatment 1 day after Immunization	CY-treatment & Immunization at the same time	CY-treatment 1 day before Immunization	CY-treatment 3 day before Immunization
Control	0.97±0.12	0.27±0.03	1.25±0.16	1.21±0.30	1.66±0.15
EP	1.34±0.27	0.28±0.04	1.36±0.11	1.59±0.07*	1.69±0.22
AR	1.34±0.21*	0.24±0.02	1.20±0.06	1.57±0.12*	2.36±0.36**
AS	1.51±0.15**	0.31±0.03	1.07±0.15	1.85±0.07**	1.94±0.21

Data represents the mean±S.E. for 4-5 mice.
Significant difference from control (*p<0.05, **p<0.01) by student t-test.

Table 6. Effect of cyclophosphamide on the antibody formation to SRBC.

Group		Antibody titer (log 2)*				
		NO. CY-treatment Immunization	CY-treatment 1 day after Immunization	CY-treatment & Immunization at the same time	CY-treatment 1 day before Immunization	CY-treatment 3 day before Immunization
Control	HA	9.80±0.49	0	0	0	0
	HE	6.50±0.50	0	0	0	0
EP	HA	7.60±0.40	0	0	0	0
	HE	6.25±0.75	0	0	0	0
AR	HA	9.75±0.25	0	0	0	0
	HE	7.33±0.88	0	0	0	0
AS	HA	10.50±0.65	0	0	0	0
	HE	7.50±0.50	0	0	0	0

a. Data represents the mean±S.E. for 4-5 mice in log 2 unit.

은 麻黃, 더위지기, 黃耆投與群에서 모두 p<0.01로 有意한 増加를 관찰할 수 있다. Fig. 3은 CY投與時期에 의한 胸腺重量(%) 변화를 본 것으로 CY가 投與되지 않은 群들(CY-NO)에 비해 SRBC抗原에 對한 CY投與時期의 差異에 關係없이 거의 모든 群들(CY+1)

(CY+0) (CY-1) (CY-3)에서 胸腺重量(%)의 低下를 보였으며 특히 SRBC抗原注射後 1日에 CY가 投與된 群들(CY+1)에서 현저한 低下를 보였다. 이 結果는 高濃度の CY投與에 의한 胸腺萎縮 報告¹⁹⁾와 일치된다.

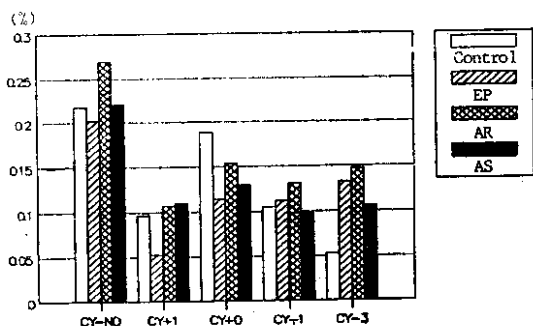


Fig. 4. Effect of cyclophosphamide on thymus weight. Data represents the mean for 4-5 mice. Key: Table 1.

脾臟의 重量變化에 對해 Simmons²⁰⁾은 免疫反應性의 程度를 測定할 수 있는 중요한 방법이라고 報告하였다. 麻黃, 더위지기, 黃耆가 脾臟重量(%)에 미치는 影響은 Table 5에서 보는 바와 같이 SRBC抗原注射에 對한 CY投與時期에 상관없이 control群에 비해 거의 增加현상을 나타내고 있다. Fig. 4는 CY投與時期에 따른 脾臟重量(%)의 變化를 본 것으로 CY가 投與되지 않은 群들(CY-NO)에 비해 CY가 SRBC抗原注射後 1日에 投與된 群들(CY+1)은 현저한 低下를 나타내었으며 CY가 SRBC抗原注射 1日 및 3日 前에 投與된 群들(CY-1) (CY-3)은 脾臟重量(%)의 增加 현상을 보였다. 이는 림파계의 增殖性 異狀 또는 生藥의 多糖類性 物質에 의한 大食細胞의 異狀反應의 結果

로 思料된다.²¹⁾ 그러므로 SRBC抗原注射 後 1日에 CY가 投與된 群들(CY+1)에서 脾臟重量의 低下는 CY에 의한 異狀反應의 抑制로 思料된다.

赤血球 凝集과 溶血反應은 體液性免疫을 나타내는 指標로써 感作抗原에 對한 特異抗體와 抗原과의 직접 또는 間接적인 反應으로 凝集 또는 溶血을 일으키는 현상이며 抗原-抗體反應을 쉽게 判定할 수 있는 簡便한 方法으로 血中免疫抗體를 測定하는데 널리 利用되고 있다. CMC, 麻黃, 더위지기, 黃耆가 投與된 마우스血清의 SRBC에 對한 抗體價를 測定한 바 Table 6에서 보는 바와 같이 溶血素價는 CY가 投與되지 않은 群에서 더위지기, 黃耆投與群이 Control群에 비해 약간의 增加를 보였다. 그러나 凝集素價는 黃耆投與群에서만 약간의 增加를 나타냈다. CY가 投與된 群은 SRBC 投原注射에 의한 CY投與時間의 差에 關係없이 凝集素價와 溶血素價는 보여지지 않았다. 이는 CY가 T림파구 보다 B림파구에 感受성이 크므로 B림파구에 對한 細胞障害가 커지므로 B림파구의 分化가 抑制되어 抗體의 生成이 안된다는 報告¹²⁾와 CY에 의한 體液性免疫反應이 SRBC抗原 前, 後에 關係없이 抗體生成은 抑制된다는 報告¹⁶⁾와 일치되었다.

結 論

人間에서 消炎, 強臟劑等으로 使用되는 麻黃, 더위지기, 黃耆의 물엑스에 對한 免疫強化作用을 알아보기 위해서 抗原으로 SRBC, 免疫抑制劑로 CY를 使用하여 SRBC抗原注射에 對한 CY의 投與時間에 따른 末梢血液中的 白血球 및 赤血球數의 변화 그리고 免疫臟器重量(%) 및 SRBC에 對한 抗體價를 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 末梢血液의 白血球數는 CMC를 投與한 control群에 비해 麻黃, 더위지기, 黃耆 投與群에서 일부 增加되었으며, CY의 投與時期에 따라서는 CY가 投與되지 않은 群들(CY-NO)에 비해 CY가 SRBC抗原感作 後 投與된 群들(CY+1)이 현저한 低下를 보인 反面 CY가 SRBC 感作前과 특히 同時에 投與된 群들(CY-1) (CY-3) (CY+0)은 현저한 增加를 보였다.

2. 末梢血液의 赤血球數는 CMC를 投與한 control群에 비해 麻黃, 더위지기, 黃耆 投與群에서 대체로 增加되었으며 CY의 投與時期에 따라서는 CY가 投與되지 않은 群들(CY-NO)에 비해 CY가 投與된 群들에서 약간의 增加현상을 보일 뿐 CY投與時期에 따른 현저한 差이는 나타나지 않았다.

3. 胸腺重量(%)는 各各 CMC를 投與한 control群

에 비해 麻黃, 더위지기, 黃耆 投與群은 대체로 增加되었으나, CY投與時期에 따라서는 CY가 投與되지 않은 群들에 비해 CY가 投與된 群들은 그 CY投與時期에 關係없이 減少되었다.

4. 脾臟重量(%)은 CMC를 投與한 control群에 비해 麻黃, 더위지기, 黃耆 投與群은 대체로 增加되었으나 CY의 投與時期에 따라서는 CY가 投與되지 않은 群들에 비해, SRBC抗原感作 1日 後에 投與된 경우 현저한 低下를 보인 반면에 CY가 1日 혹은 3日 前에 投與된 경우는 增加현상을 보였다.

5. SRBC에 對한 抗體價는 CY가 投與되지 않은 群에서만 나타났으며, control에 비해 더위지기, 黃耆投與群의 凝集素價에서 약간의 增加를 보였다.

References

1. 系川秀治, 渡邊謹三, 三橋進: 生藥의 抗腫瘍性スクリーニングテスト (第2報). 生藥學雜誌. 36:145 (1983).
2. 任宰訓, 禹弘楨, 金秉雲, 河潤文, 李承蕪, 南相潤 崔龍默: 數種의 生藥에 對한 抗癌效果의 實驗的研究(II). 生藥學會誌. 18:127 (1987).
3. Ryu, S.H., Moon, K.H. and Pack, M.Y.: Primary Screening for Growth Inhibitors of L1210 cells from oriental Herbs. Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng. 10:53 (1982).
4. 東海林洋子, 水島裕, 龜谷哲治: 數種의 免疫調節劑의 免疫增強效果. 藥學雜誌. 106:609 (1986).
5. 金一赫: 中央大學校論文集, 12:489 (1967).
6. Kang, Y.H., Kim, B.W., Ha, Y.M., Park, J.K., Nam, S.Y., Choi, K.C., and Choi, Y.M.: Experimental Studies on Antitumor Activity of Herb Drugs (I). Kor. J. Pharmacogn. 18:118 (1987).
7. Kasahara, Y., Hikino, H., Tsurufuji, S., Watanabe, M. and Ohuchi, K.: Antiinflammatory Actions of Ephedrine in Acute Inflammations. Planta Medica, 325 (1984).
8. Adachi, I., Yasuta, A., Matsubara, T., Ueno, M., Terasawa, K. and Horikoshi, I.: Effect of Hot water Extracts of Several Kanpo-Prescriptions on Macrophage Procoagulant Activity I. Yakugaku Zasshi 104:959 (1984).
9. Kosuge, T., Yokota, M., Sugiyama, K., Yamamoto, T. Ni, M.Y. and Yan, S.C.: Studies on Antitumor Activities and Antitumor Principles

- of Chinese Herbs. I. Antitumor Activities of Chinese Herbs. *Yakugaku Zasshi* 105:791 (1985).
10. 이정형, 강석균, 안병준: 함암성 천연물 및 그 유사체(XI) 한약재 및 민간약의 L1210 세포에 대한 세포독성. *생약학회지*. 17:286 (1986).
 11. Itokawa, H. Watanabe, K. and Mihashi, S.: Screening test for Antitumor Activity of Crude Drugs (I). *Shoyakugaku Zasshi*. 33:95 (1979).
 12. Dale, M.M. and Foreman, J.C.: *Textbook of Immunopharmacology*. Blackwell Scientific Pub. p.325 (1984).
 13. Lagrange, D.H., Mackaness, G.B. and Miller, T.E.: Potentiation of T-cell-Mediated Immunity by Selective Suppression of Antibody Formation. *J. Exp. Med.* 139:1529 (1974).
 14. Ha, T.Y. and Rhee, H.K.: Effect of Inosiplex on cellular and Humoral Immune Response, *J. Kor. Soc. Microbiol.* 16:57 (1981).
 15. Ha, T.Y. and Kim, K.K.: Effect of Cyclophosphamide administration after Stimulation with PHA on Immune Response in Mice. *J. Kore. Soc. Microbiol.* 14:71 (1979).
 16. Ha, T.Y. and Chung, H.T.: Effect of Cyclophosphamide on Humoral and Cellular Immune Response in Mice. *J. Kore. Med. Associ.* 20:985 (1977).
 17. Wagner, H., Chanana, P., Cottier, H. Cronkites, E.P., Gassman, A. and Joel, D.D.: Effect of Single Cyclophosphamide Doses on the Kinetics of Thoracic Duck Lymph and Blood Leukocytes in Calves. *Cancer Research.* 36:3011 (1976).