

방사선 피폭 생쥐에서 생약제 혼합 조성물에 의한 면역계의 방호효과
Protection of Mouse Immune System by a Preparation of Herb Mixture
against Whole Body Irradiation

박혜란 · 조성기*
한국원자력연구소
대전시 유성구 덕진동 150

이성대
순천대학교 생물학과
전남 순천시 매곡동 315

요 약

방사선에 의한 위장관 및 조혈·면역계의 장애를 동시에 극복하기 위하여 개발한 생약제 혼합 조성물의 효과를 방사선 조사 생쥐에서 검정하였다. 생약제 혼합 조성물(P.P-I)은 당귀(Angelica gigantis Radix), 천궁(Cnidii Rhizoma), 백작약(Paeonia Radix)의 동량 혼합 열수추출물에 다당분획을 수율비 만큼 첨가하여 제조하였다. 본 실험에서는 방사선에 가장 민감한 조혈·면역계의 장애 경감 및 방호 회복효과를 관찰하였다. 방사선을 조사한 생쥐에서 생약제 혼합 조성물(P.P-I) 투여는 말초혈액내 혈구세포의 재생성이 촉진시켰고, 비장내 면역세포의 재생성이 증가시켰으며, 재생성된 면역세포의 아군별 분석 결과 방사선 조사후 47일째에는 B 세포와 T 세포 모두 정상 대조군 수준으로 회복시켰다. 또한 재생성된 비장면역세포의 활성을 증진시켰으며, 항체 생성능도 증가시켰다. 이 결과로 보아 생약제 혼합 조성물(P.P-I)은 방사선 피폭 시 조혈계 및 면역계를 방호할 뿐만 아니라, 면역기능을 증진시키는 것으로 생각된다. 이런 관점에서 생약제 혼합 조성물(P.P-I)은 독성이 적은 천연물로서 좋은 방사선 방호제로 실제 적용이 가능할 것이라고 사료된다.

Abstract

A preparation(P.P-I) of herb mixture was designed to protect gastrointestinal, hematopoietic organs and immune system against radiation damage. The herb preparation was water extract of herb mixture(Agelica gagantis Radix, Cnidii Rhizoma and Paeonia Radix) added with its polysaccharide fraction. In the present experiments, the ability of the preparation to protect hematopoietic and immune system was assessed in mice irradiated with ^{60}Co γ -rays. The administration of P.P-I increased regeneration of blood cells and splenic lymphocytes in irradiated mice. In the administration mice, both B and T cells of lymphocytes were repopulated to normal level following irradiation, the response of repopulated lymphocytes to mitogen was recovered and the production of antibody against injected antigen was increased. These results indicated that the preparation protect hematopoietic organs and immune system against radiation damage, and that enhanced immunity. Since the preparation is a relatively nontoxic natural product, it might be a useful radioprotector.

(Key words : radioprotector, herb mixture, immune, hematopoietic)

*Corresponding author

1. 서론

방사선 및 방사성 동위원소의 의학적 이용 및 원자력 시설의 이용이 증가되고 있다. 이에 따라 방사선 이용에 수반되는 부작용 또는 방사선 피폭 사고에 의해 발생하는 생체장해에 대한 관심도가 높아지고 있으며, 방사선 피폭에 의한 생체 손상의 예방 및 경감을 위한 방호제의 개발이 중요한 문제로 대두되고 있다.

방사선 방호제에 대한 연구는 1949년 Patt *et al* [1] 에 의해 cysteine의 방호효과가 보고된 이래 주로 thiol 복합체(WR2721 등) 등 합성물질들을 대상으로 수행되었다 [2~6]. 그러나, 이러한 물질들은 유효용량에서 수반되는 강한 독성 때문에 임상적으로 이용되지 못하였다. 그 후 1980년대부터 면역조절물질 및 면역·조혈인자(cytokines)가 알려지면서, 이들 중 interleukin-1, tumor necrosis factor, granulocyte colony-stimulating factor 및 glucan 이 단독투여로 방사선장해 방어 및 치료효과를 보였다 [7~9]. 그러나 이들의 임상적 이용에도 많은 문제점들이 제기되었다. 대표적인 예로 생체내에 대량의 cytokine을 투입하여도 혈중내 적절한 농도를 유지하기 어렵고 독성이 매우 심하며, 또한 이들 cytokine은 여러 종류가 상호간의 작용을 상승 또는 억제하기 때문에 하나 또는 두 종류의 cytokine을 대량 투여하더라도 생체내에서 효과는 크게 기대할 수 없다. 이에 많은 연구자들은 독성이 약하고 생체내에서 여러 면역세포를 자극하여 cytokine을 유도하는 물질에 재 초점을 맞추고 있다 [10, 11].

한편, 최근에는 급·만성 질병의 치료 및 예방을 위하여 독성이 거의 없으면서 효과가 입증된 천연물을 이용하는 대체요법과 건강식품에 대한 관심이 고조되고 있다. 이와 같은 관점에서 생약재 등 천연물의 방사선 방호효과 연구도 부분적으로 진행되고 있다 [12~14].

본 연구에서는 방사선 장해에 있어서 위장관 점막, 조혈·면역계 조직 등 빠르게 재생하는 조직이 민감하며, 그 장해 및 회복 기작도 조직의 종류별로 서로 다르다는 점에 주목하여, 방사선 장해를 종합적으로 극복할 수 있는 생약재 복합물을 개발하고자 하였다. 한의학의 보기·보혈 당체에 사용되는 생약재들을 대상으로 [15, 16] 방사선 조사 마우스에서 장관 점막 하의 원줄기세포 생존, 골수 혈액 모세포 생존 및 면역세포 활성화 등의 실험결과를 바탕으로 당귀, 천궁, 백작약의 혼합 조성을 도출하였다. 본 실험에서는 본 생약재 혼합 조성물의 방사선방호 효과를 검증하기 위한 일환으로 중·저선량 피폭 시에 나타나는 골수 및 면역계 장해 극복 효과를 평가하기 위하여 4Gy의 방사선을 조사한 생쥐에서 혈구세포의 재생성, 비장림프구의 재생성, 림프구의 아군별 재생성, 재생성 비장림프구의 활성 및 항체생성능에 미치는 영향을 관찰하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험동물

실험에 사용한 C57BL/6 생쥐는 한국 대한실험동물센터에서 번식 사육한 특정병원체 부재(SPF) 생쥐를 구입하여 사용하였다. 생쥐 사육실은 온도가 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도가 55~60%로 유지되며 명암 순환이 12시간 단위로 조절되는 환경이 되게 하였으며, 고형사료와 물을 제한 없이 공급하였다.

2.2 시료제조

동량의 당귀(*Angelica gigantis Radix*), 천궁(*Cnidii Rhizoma*), 작약(*Paeonia Radix*)을 세절하여 혼합한 다음 10배량의 증류수를 가하고 2시간씩 열탕 추출한 뒤 고형분을 제거한 현탁액을 $200 \times \text{g}$ 에서 10분간 원심분리시키고 상층액을 여과하여 감압·농축 후 동결건조 시켰다. 열수 총 추출물에 20%의 조다당분획을 가하여 제조한 조성물을 P.P-I이라 하고 시료로 사용하였다.

2.3 실험동물의 방사선 조사

동물에 대한 방사선 조사는 한국원자력연구소 소재 Co-60 감마선 조사시설을 이용하여 4 Gy의 ^{60}Co γ -ray (선량을 : 0.5 Gy/min)를 실험목적에 따라 전신 조사하였다.

2.4 비장 림프구 분리

생쥐를 경추탈골로 희생시킨 다음 70% ethanol로 복부를 소독한 후 비장을 무균적으로 적출하여 멸균된 Hank's balanced salt solution(HBSS; GIBCO)이 담긴 petri-dish에서 세척 후, 5% FBS-HBSS가 담긴 petri-dish로 옮겨, 멸균된 수술용 칼로 칼집을 낸 뒤 핀셋으로 지분거려 세포를 부유시킨 후 약 1분간 정치시켜 조직파편을 제거한 후 1500 rpm에서 10분간 원심침전 시켰다. 혼입된 적혈구를 제거하기 위하여 cell pellet을 ACK buffer (Tris-NH₄Cl)에 현탁하여 1분간 정치한 뒤 FBS 10ml을 첨가하였다. 그리고 HBSS로 2회 세척하고 trypan blue 염색법으로 살아있는 세포수를 계수한 후 완전배지에 적정 농도로 조정하였다.

2.5 방사선조사 후 재생성 혈액세포 수 측정

생약재 혼합 조성물의 골수 혈액 모세포 방호 효과를 측정하기 위하여 방사선조사 전 생쥐에 시료를 투여하였다. 생쥐를 실험군 당 5마리씩으로 하고, 시료 투여는 1 mg/mouse의 용량으로 방사선 조사 전 36시간 그리고 12시간 전에 복강내로 2회 주사하였다. 방사선 조사 후 3일, 1주, 2주, 3주, 5주, 7주에 생쥐의 꼬리정맥을 통해 약 100 μ l의 혈액을 항응고제가 첨가된 vacutainer에 채취하여 혈액내 각 혈액세포를 동물전용 혈구분석기(Hemavet 850+)로 계수하였다.

2.6 비장 내 림프구의 재생성 측정

8주령의 수컷 생쥐를 실험군당 5마리씩으로 하였다. 시료 투여는 1 mg/mouse의 용량으로 방사선 조사 전 36시간 그리고 12시간 전에 복강내로 2회 주사하였다. 그리고 방사선 조사 후 30분 이내에 시료를 복강주사하고, 격일로 한번씩 일주일간 시료를 추가로 복강내 주사를 하였다. 방사선 조사 후 4, 14, 21, 47일째에 생쥐를 희생시켜 비장을 적출하여 비장내 세포의 수를 광학현미경으로 측정하였다.

2.7 재생성된 림프구의 subset 분석 (Fluorescence-activated cell sorter; FACS 분석)

방사선 피폭 후 림프구의 아군(subset)별 회복 양상을 알아보기 위하여 방사선 조사 후 14일째 및 47일째에 생쥐의 비장림프구를 분리하여 FACS로 분석하였다. 림프구를 trypan blue로 염색하고 살아있는 세포수를 계수한 후, FACS medium(PBS에 0.1% bovine serum albumin과 0.1% sodium azide를 첨가한 것)으로 세척하여 각 tube에 10⁶개의 세포수로 조정하여 분주하였다. 표지 항체의 비특이적 결합을 막기 위해 Fc γ R III/II block으로 CD16/CD32 antibody(Parmingen)를 첨가하여 ice bath에서 5분간 정치하였다. 그 후에 각 tube에 표지 하고자 하는 표식자에 대한 단일 클론 항체를 각각 첨가하여 ice bath에서 40분간 정치하였다. 표지에 사용된 단일클론항체는 B 세포를 위해서는 anti-IgM antibody, 전체 T 세포를 위해서는 anti-Thy1.2 antibody, helper T 세포를 위해서는 anti-CD4 antibody, cytotoxic T 세포를 위해서는 anti-CD8 antibody를 사용하였으며, 모두 Pharmingen 제품으로서 FITC(fluorescence isothiocyanate)-conjugated antibody 이었다. 표지 후 FACS medium으로 2번 세척하여 FACStar(CULTER, USA)로 세포표면 표식자에 결합된 단일 클론항체의 양을 세포 당으로 분석하였다.

2.8 림프구의 활성화(proliferation) 측정

8주령의 수컷 생쥐를 실험군당 5마리씩으로 하였다. 시료 투여는 1 mg/mouse의 용량으로 방사선 조사 전 36시간 그리고 12시간 전에 복강내로 2회 주사하였다. 그리고 방사선 조사 후 30분 이내에 시료를 복강내 주사하고, 격일로 한번씩 일주일간 시료를 추가로 복강내 주사하였다. 방사선 조사 후 4, 14, 21, 47일째에 생쥐를 희생시켜 비장으로부터 분리한 림프구의 mitogen(LPS, ConA)에 대한 반응에 따른 증식(proliferation) 정도를 ^3H -thymidine (TdR) uptake 방법으로 측정하였다. 비장세포를 96-well flat-bottomed microplate(Corning)의 각 well에 2×10^5 개씩 완전배지로 희석하여 분주하고, LPS(Sigma) 그리고 ConA(Concanavalin A; Sigma)를 각각 3배수로 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 2일 동안 배양하였다. 배양 후 well 당 1.5 μCi 의 ^3H -TdR(Amersham)을 가한 후 4시간 더 배양한 다음 cell harvester (Inotech)를 이용하여 glass fiber filter strip에 세포를 수거하였다. 건조된 filter paper를 scintillation vial에 옮긴 후 scintillation cocktail을 넣고 β -scintillation counter로 ^3H -TdR incorporation 정도를 cpm으로 측정하였다.

2.9 방사선 조사 생쥐에서 항체 생성능 측정

방사선 조사 생쥐에 생약제 혼합 조성물을 처리하여 항체생성능에 미치는 효과를 검정하였다. 8주령 생쥐를 실험군 당 6마리씩으로 하고, 시료 투여는 1 mg/mouse의 용량으로 방사선 조사 전 36시간 그리고 12시간 전에 복강내로 2회 주사하였다. 그리고 방사선 조사 후 30분과 24시간 후에 시료를 추가로 복강 내 주사하였다.

방사선 조사 후 14일째의 생쥐에 T-dependent antigen인 DNP-KLH(100 μg /mouse)을 복강주사한 다음 4일, 7일 14일 후 안하정맥에서 채혈하여 혈청을 분리하였다. 혈청은 -70°C에서 보관하였다가 같은 날 ELISA로 혈청내 항체의 양을 측정하였다. 96-well에 항원을 coating 한 후 혈청(1/5 희석)을 각 well에 가하여 혈청내 항체가 항원과 결합하게 한 다음, peroxidase conjugated goat anti-mouse IgG를 넣고 ABTS substrate을 넣어 발색시킨 다음, ELISA reader로 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 결과

3.1 방사선 피폭에 대한 조혈계 방호 효과

방사선 피폭 후 혈액세포 수가 급격히 감소하였으며 그 후 느리게 회복하는 양상을 보였다. P.P-I 투여군의 경우 전체 백혈구의 농도(Fig. 1A)는 2주까지는 큰 차이를 보이지 않다가 3주 후부터 대조군에 비해 유의한 회복효과를 나타내었고 이러한 효과는 7주까지 지속되었다. 이러한 회복효과를 혈액내 각 혈액세포 종류별로 살펴보았을 때 호중구(neutrophil), 단핵구(monocyte), 호산구(eosinophil), 호염구(basophil) 모두 대조군에 비해 유의한 회복효과를 보였으며(결과미제시), 특히 림프구(Fig. 1B)는 3주까지 경미한 차이를 보이다가 5주 후 P.P-I 투여군에서 정상까지 회복됨을 확인하였다.

3.2 방사선 조사로 감소된 비장내 면역세포의 재생성 촉진효과

생쥐 비장내 면역세포 수는 방사선 조사 후 급격히 감소하였으며, 1주일 후부터 서서히 회복되는 양상을 보였다. Fig.2에서 보면 P.P-I을 복강주사한 군에서는 대조군에 비해 유의하게($p < 0.05$) 면역세포의 재생성이 촉진되었다.

3.3 방사선 조사 후 재생성 면역세포의 아군별 분포 분석

방사선 조사 후 재생성된 비장내 면역세포를 아군별로 분석한 결과, 방사선 조사 대조군의 경우 조사 후 47일까지도 B세포 및 T세포의 회복이 극히 저조하였다. 반면에 P.P-I 투여군에서는 대조군에 비해 B세포 및 T세포의 회복이 현저히 높았으며 47일째에는 거의 정상대조군 수준으로 회복되었음을 알 수 있었다(Table 1-1, Table 1-2). 그러나 T세포 중 CD8세포가 저조한 회복을 보였다.

3.4 방사선 조사 생쥐에서 면역세포 활성 회복 촉진효과

방사선 조사 후 재생성된 비장내 면역세포의 활성을 B세포 자극물질인 LPS 및 T세포 자극물질인 ConA에 대한 반응정도로 측정하였다. LPS에 대한 반응측정 결과 방사선 조사 후 4일, 14일째의 면역세포의 활성이 대조군에 비해 P.P-I 투여군에서 높게($p < 0.05$) 나타났다(Fig. 3A). ConA에 대한 반응측정 결과에서는 많은 차이를 보이지는 않았지만 방사선 조사 후 14일째의 면역세포의 활성이 대조군에 비해 P.P-I 투여군에서 높게($p < 0.05$) 나타났다.(Fig. 3B).

3.5 방사선 조사 생쥐에서 항체생성능 증진 효과

방사선 조사 후 14일째의 생쥐에 T-dependent antigen을 주사한 다음, 일정기간 후 혈액을 채취하여 항체생성 정도를 측정하였다. 그 결과, 항원주사 후 7일째의 IgG 농도가 대조군에 비해 P.P-I 투여군에서 유의하게($p < 0.05$) 증가되었다(Fig 4).

4. 고찰

방사선 증감제 및 방호제는 암치료를 위한 방사선 및 화학요법시 효과증대 및 부작용 경감 목적으로 연구되어 왔으나, 정상세포에 대한 심한 독성 때문에 임상적 이용에는 한계를 보였다. 생약과 같은 천연물들은 독성이 적고 특별한 부작용을 나타내지 않으며, 각종 질병이나 상해 회복에 효과적이다. 따라서 방사선장해를 예방 또는 경감시키는 효과를 가진 천연물이 탐색되어 왔다. 단일생약제에 의한 방사선 방호 연구에서는 인삼을 비롯하여 당귀, 천궁, 영지, 가시오가피, 만삼, 자리공 및 황기 등의 효과가 보고되었으며 [10~14, 17~19], 당제를 비롯한 한방제에 대한 연구에서 사물탕 및 사군자탕, 소시호탕, 십전대보탕, 인삼영양탕, 귀비탕 및 육미지황 등의 효과가 단편적으로 보고되고 있다 [20~24]. 생약제제에 의한 방사선방호 효과는 조혈조직의 보호 및 회복, 면역증강 등의 관점에서 연구가 진행되고 있으며, 조혈기능의 장해극복효과에 관한 연구가 주를 이룬다.

본 연구에서는 방사선 장해로부터 재생조직과 면역·조혈계를 동시에 방호하기 위하여 당귀, 천궁, 백작약 등 세가지 생약제 혼합 조성물(P.P-I)을 개발하였으며, 본 실험결과 방사선을 조사한 생쥐에서 본 생약제 혼합 조성물은 말초혈액 내 혈구세포의 재생성 및 비장 내 면역세포의 재생성을 촉진시켰으며, 면역세포의 아군별 분석 결과, B 세포와 T 세포 모두 정상 대조군까지 회복을 촉진시켰다. 또한, 재생성된 비장면역세포의 활성을 증진시켰으며, 항체 생성능도 증가시켰다. 이 결과로 보아 본 생약제 혼합 조성물은 방사선 피폭 시 조혈계 및 면역계를 방호하며, 면역기능을 증진시키는 것으로 생각된다. 또한, 본 생약제 혼합 조성물이 위장관 점막 원줄기세포를 방호하는 결과도 얻었다(결과 미제시). 이런 관점에서 본 생약제 혼합 조성물은 독성이 적은 천연물로서 방사선장해를 종합적으로 경감시킬 수 있는 방호제로 실제 적용이 가능할 것이라고 사료된다.

감사의 글: 본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었음.

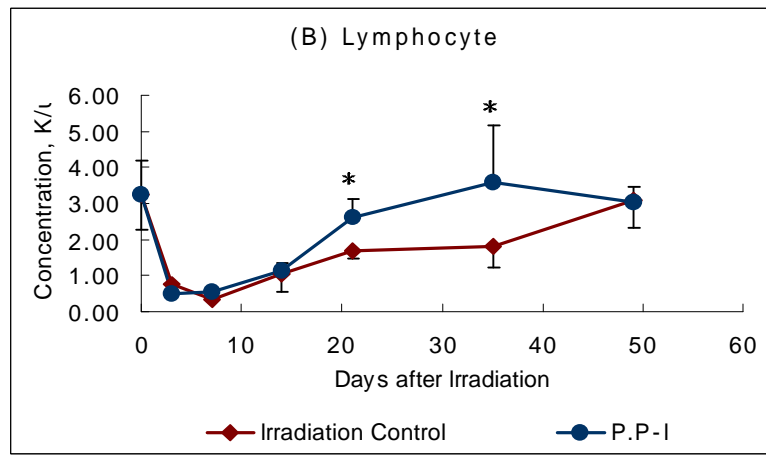
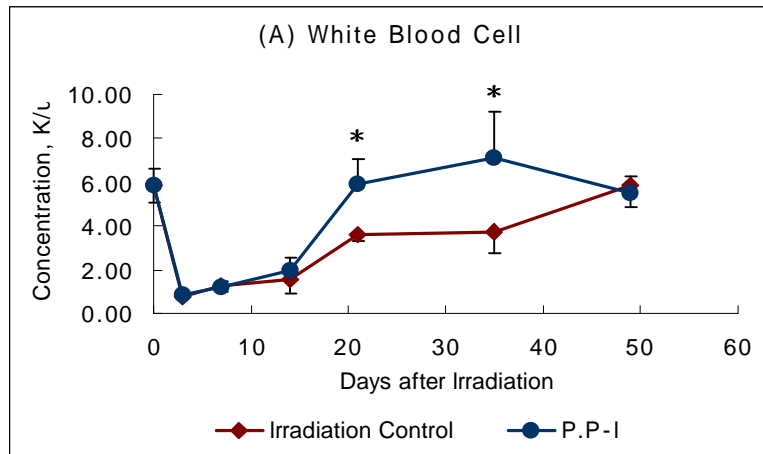


Fig 1. Effect of P.P-I on the regeneration of white blood cells and lymphocytes.

* P < 0.05 as compared with irradiation control group.

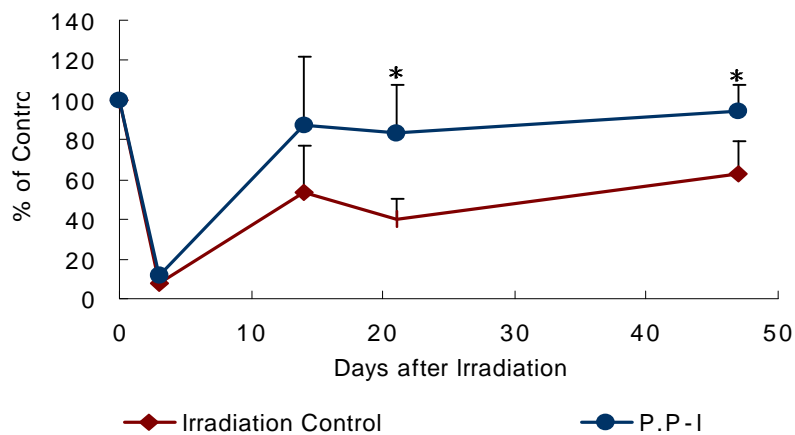


Fig 2. Effect of P.P-I on the repopulation of lymphocytes in spleen of mice after irradiation(4Gy).

* P < 0.05 as compared with irradiation control group.

Table 1-1. Number of lymphocyte subsets of spleen cells of mice in flow cytometric analysis at 14 days after total-body irradiation with 4 Gy of Co-60 γ -rays

Group	No(%) of spleen cells ($\times 10^6$)	No(%) of lymphocyte subset($\times 10^6$)			
		IgM	Thy1.2	CD4	CD8
Normal Control	76.2(100)	44.7(100)	29.1(100)	15.9(100)	9.98(100)
Irradiation Control	43.7(57.3)	25.96(58)	8.3(28.5)	4.59(28.9)	3.5(35.1)
P.P-I	66.4(87.1)	41.4(92.6)	11.3(38.8)	6.97(43.8)	4.65(46.6)

Table 1-2. Number of lymphocyte subsets of spleen cells of mice in flow cytometric analysis at 47 days after total-body irradiation with 4 Gy of Co-60 γ -rays

Group	No(%) of spleen cells ($\times 10^6$)	No(%) of lymphocyte subset($\times 10^6$)			
		IgM	Thy1.2	CD4	CD8
Normal Control	55.0(100)	32.2(100)	22.3(100)	11.9(100)	10.0(100)
Irradiation Control	34.5(62.7)	19.1(59.3)	11.5(51.6)	7.2(60.5)	4.2(42.0)
P.P-I	52.0(94.5)	30.8(95.7)	18.0(80.7)	10.2(85.7)	5.7(57.0)

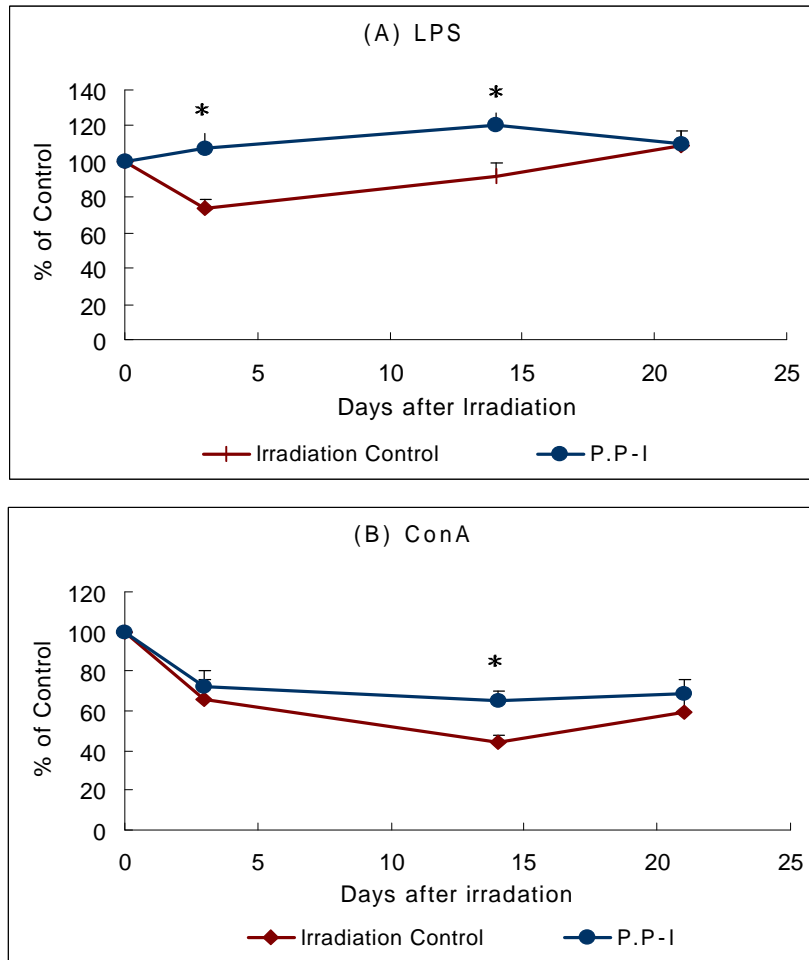


Fig 3. Effects of P.P-I on response of spleen lymphocytes to mitogen in irradiated(4Gy) mice.

* P < 0.05 as compared with irradiation control group.

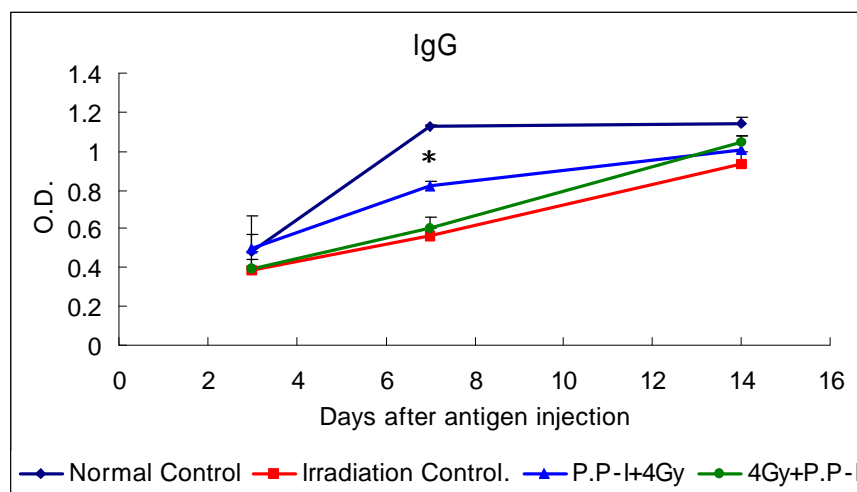


Fig 4. Effects of P.P-I on antibody production in irradiation(4Gy) mice

* P < 0.05 as compared with irradiation control group.

5. 참고문헌

1. Patt, H., Tyree, M. and Straube, R. L. : Cystein protects against x-irradiation. *Science*, 110, 213-214 (1949).
2. Milas, L., Hunter, N. Reid, B. O. and Thames, Jr. H. D. : Protective effects of S-2-(3-aminopropylamino) ethylphosphorothioic acid against radiation damage of normal tissues and a fibrosarcoma in mice. *Cancer Res.*, 42, 1888-1987 (1982).
3. Milas, L., Murray, D., Brock, W. A. and Meyn, R. E. : Radioprotectors in tumor radiotherapy: Factors and settings determining therapeutic ratio. *Pharmacol. Ther.*, 39, 179-189 (1988).
4. Kligerman, M. M., Shaw, M. T., Slavid, M. and Yudas, J. M. : Phase I clinical studies with WR2721. *Cancer Clin. Trials*, 3, 217-221 (1980).
5. Washburn LC, Carlton JE, Hayes RL. Distribution of WR-2721 in normal and malignant tissue of mice and rats bearing solid tumors: dependence on tumor type, drug dose and species. *Radiat. Res.*, 59:483-575, 1974.
6. Cairnie AB. Adverse effect of radioprotector WR2721. *Radiat. Res.*, 94:221-226, 1983.
7. Neta, R., Douches, S. and Oppenheim, J. J. : Interleukin 1 is a radioprotector. *J. Immunol.*, 136, 2483-2485 (1986).
8. Neta, R. : Role of cytokines in radioprotection. *Pharmacol. Ther.*, 39, 261-266 (1988).
9. MacVittie, T. J., Monroy, R. L., Patchen, M. L. and Souza, L. M. : Therapeutic use of recombinant human G-CSF (rhG-CSF) in a canine model of sublethal and lethal whole body irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 57, 723-736 (1990).
10. Mei, Q. B., Tao, J. Y. and Cui, B. : Advances in the pharmacological studies of *Radix Angelica sinensis(oliv.) Diels*(Chanese Danggui). *Chin. Med. J.*, 104, 776-781 (1991).
11. Wang, H. B., Zheng, Q. Y., Ju, D. W. and Fang, J. : Effects of *Phytolacca acinosa* polysaccharides II on lymphocyte proliferation and colony stimulating factor production from mice splenocytes *in vitro*. *Yao Hsueh Hsueh Pao*, 28, 490-493 (1993).
12. Kim, S. H., Cho, C. K., Yoo, S. Y., Koh, K. H., Yun, H. G. and Kim, T. H. : *In vivo* radioprotective activity of Panax ginseng and diethyldithiocarbamate. *IN VIVO*, 7, 467-470 (1993).
13. Ohta, S., Sakurai, N., Sato, Y., Inoue, T. and Shinoda, M. : Studies on chemical protectors against radiation. XXX. Radioprotective substances of *cnidii rhizoma*. *Yakugaku Zasshi*, 110, 746-754 (1990).
14. Hsu, H. Y., Lian, S. L. and Lin, C. C. : Radioprotective effect of *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex. Fr.) Karst after X-ray irradiation in mice. *Am. J. Chin. Med.*, 18, 61-69 (1990).
15. 한약위원회, 조제지침연구소위원회 : 한약조제 지침서 해설, 사단법인 대한약사회(1995).
16. 약대 한약학 교재연구회 : 한약방제학, 도서출판 정담 (1993).
17. Miyanomae, T. and Frindel, E. : Radioprotection of hemopoiesis conferred by *Acanthopanax senticosus* Harms (Shigoka) administered before or after irradiation. *Exp. Hematol.*, 16, 801-806 (1988).
18. Zneg, X. L., Li, X. A. and Zhang, B. Y. : Immunological and hematopoietic effect of *Codonopsis pilosula* on cancer patients during radiotherapy. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 12, 607-608 (1992).
19. Quan, H. X. and Li, H. S. : Effects of *radix Astragali* on hemopoiesis in irradiated mice. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, 19, 741-743 (1994).
20. Fujii, Y., Imamura, M., Han, M., Hashino, S., Zhu, X., Kobayashi, H., Imai, K., Kasai, M., Sakurada, K and Miyazaki, T. : Recipient-mediated effect of a traditional Chinese herbal medicine, ren-shen-yang-rong-tang (Japanese name: nunjin-youei-to), on hematopoietic recovery following lethal irradiation and syngeneic bone marrow transplantation. *Int. J. Immunopharmacol.*, 16, 615-622 (1994).
21. Hsu, H. Y., Ho, Y. H., Lian, S. L. and Lin, C. C. : Preliminary study on antiradiation effect of kuei-pi-tang. *Am. J. Chin. Med.*, 19, 275-284 (1991).
22. Ohnishi, Y., Yasumizu, R., Fan, H. X., Liu, J., Takao, Liu F., Komatsu, Y. Hosoya, E., Good, R. A. and Ikehara, S. : Effects of juzen-taiho-toh (TJ-48), a traditional Oriental medicine, on hematopoietic recovery from radiation injury in mice. *Exp. Hematol.*, 18, 18-22 (1990).
23. Hsu, H. Y., Ho, Y. H. and Lin, C. C. : Protection of mouse bone marrow by Si-Wu-Tang against whole body irradiation. *J. Ethnopharmacol.*, 52, 113-117 (1996).
24. Lu, G., Yang, M., Shen, Y. and Meng, J. : The absorption of Fe, Zn, Cu in siwu, sijunzi, and Liuwei dihuang decoction by small intestine in rats. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, 16, 297-298 (1991).