

## 葦莖湯 · 加味葦莖湯의 B16-Fo에 對한 抗腫瘍 效果와 組織 變化

김현수\* 김성훈\*

### ABSTRACT

#### Effects of Wekyungtang and Kami-Wekyungtang on Pulmonary Tumor Cells and the Changes of Tissues

In order to prove the antitumor effect of Wekyungtang(WKT) that was originated in Bigeubchunkeumyobang(備急千金要方), Wekyungtang with Houttuyniae Herba(WKT-I) and Wekyungtang with Oldenlandiae diffusae Herba(WKT-II) experimentally, the studies were done. We evaluated the cytotoxic activity against B16-Fo as well as the synergistic effects with anticancer drugs such as cyclophosphamide (CPM), cisplatin(CPT) and 5-fluorouracil (5-FU) in vitro, and measured body weight, survival time, hematological changes, changes of tissues in C57BL/6 implanted with B16-Fo.

The results were obtained as follows:

1. In vitro cytotoxic effect against B16-Fo was shown in all groups as compared with control group, but the concentrations showing inhibitory growth rate below 55% of control was recognized in all concentrations of Wekyungtang(WKT) against B16-Fo and also concentration of  $10^{-4}$  g/ml above in all group with cyclophosphamide (CPM), concentration of  $10^{-3}$  g/ml in Wekyungtang(WKT-I) with cisplatin(CPT) in synergistic effect,

\* 대전대학교한의과대학

※ 본 논문은 1995년 9월 22일 대한한의학회에 제출된 논문임.

2. In vivo body and tumor weight were significantly suppressed in all groups as compared with control group
3. The number of platelet, WBC, RBC were significantly increased in all groups, platelet aggregation was significantly increased in WKT-I and WKT-II as compared with control group.
4. In changes of tissues heavy infiltration oh cancer was shown in portal vein, pulmonary tissue, vein, peribronchiole, aveoli, while WKT-I was effective in antihepatic metastasis and WKT-II in pulmonary matastasis.

From above results it was concluded that wekyungtang(WKT), wekyungtang with Houttuyniae Herba(WKT-I) and wekyungtang with Oldenlandiae diffusae Herba(WKT-II) had antitumor effect, and also wekyungtang combined with Houttuyniae Herba or Oldenlandiae diffusae Herba were more effective than wekyungtang only and also cyclophosphamide (CPM), cisplatin(CPT) showed the more synergistic effect which suggests the necessity of continuous study on the mechanism of antitumor action of Houttuyniae Herba or Oldenlandiae diffusae Herba.

## I. 緒論

葦莖湯의 處方 內容은 《備急千金要方》에서 肺癰方으로 最初로 記載되었고<sup>1)</sup> 그 方名이 《外臺秘要》에서 처음 言及된 이래<sup>2)</sup> 後世 醫家들에 의해 肺癰 治療에 活用되어 왔다.<sup>3-10)</sup> 藥物 構成은 葦莖, 薏苡仁, 冬瓜仁, 桃仁등으로 主治 症은 “..咳吐腥臭, 黃痰膿血, 胸中隱隱作痛, 咳時 尤甚, 口乾咽燥, 脈浮數者” 등의 肺癰의 證狀에 應用되었는데, 오늘날 肺癰의 症狀이 肺癌과 類似한 境遇가 많아 清熱解毒藥과 配合하여 肺癌 治療에도 活用되고 있다<sup>11-14)</sup>.

最近 科學 및 産業의 發達로 인한 産業的 有害因子增加, 大氣汚染과 吸煙人口의 增加로 인해 肺癌의 發生이 增加하고 있는데, 統計廳의 “國民 健康의 變化”라는 發表에서도 85년에 肺癌의 死亡率은 8.2%이었으나, 1992년에는 17%로 거의 두배로 增加하였으며, 發生 年齡 分布를 보면 40-70代에 많고 50-60代에 好發하는 것으로 報告되어 肺癌의 治療는 중요한 課題로 擡頭되고 있다<sup>15-17)</sup>.

肺癌과 相關된 韓醫學 文獻으로 《靈樞·玉機眞藏論》<sup>18)</sup>에서 “大骨枯槁, 大肉陷下, 胸中氣滿, 喘息不便, 內痛引肩項, 身熱”, 《金匱要略》<sup>19)</sup>에서 “...咳, 口中喘滿, 咽燥不渴, 多唾濁沫,

時時振寒，若口中辟辟燥，咳即胸中隱隱痛，脈反滑數，此爲肺癰，咳唾膿血.”，《難經》<sup>20)</sup>에서 “肺之積，名曰息賁，……令人洒淅寒熱，喘咳，發肺癰.”，《三因方》<sup>21)</sup>에서 “久嗽勞傷，咳吐痰血，寒熱往來，形體消削，咯吐瘀膿，聲喉咽痛，其候傳爲肺痿“등으로 나타나 息賁，肺癰，肺痿 등이 肺癰의 證狀과 類似한 것으로 볼 수 있다.

肺疾患에 대한 韓方藥物을 利用한 實驗 研究로는 華蓋散，解表兩陳湯，滋陰降火湯 및 鹿補散 등을 利用하여 實驗의 肺損傷에 對한 影響을 檢討한 境遇가 主이며<sup>22-25)</sup>，肺癌에 對한 韓方臨床 研究로 牛登<sup>12)</sup>은 葦莖湯을 痰熱壅閉型 肺癌에，吳登<sup>12)</sup>은 葦莖湯에 小陷胸湯을 合하여 熱毒壅閉型 肺癌에，史登<sup>13)</sup>은 葦莖湯에 魚腥草와 白花蛇舌草등을 加하여 熱毒瘀阻型 肺癌에，陳登<sup>14)</sup>은 葦莖湯에 半夏，南星등을 加하여，張登<sup>15)</sup>은 葦莖湯에 清燥救肺湯을 合하여 肺癌에 일정한 抗癌效果가 있었음을 報告하여，葦莖湯이 肺癌에 有用한 處方으로 使用될 수 있음을 提示하였지만 葦莖湯의 肺癌株에 對한 抗癌效果를 實驗的으로 立證한 研究는 거의 없는 實情이다.

이에 著者는 肺癰의 代表 處方인 《備急千金要方》의 葦莖湯 本方에 清熱利濕，解毒消癰의 效能이 있는 白花蛇舌草<sup>26-31)</sup>를 加味한 葦莖湯 加白花蛇舌草 및 清熱解毒，消腫排膿의 效能이 있는 魚腥草<sup>26-31)</sup>를 加味한 葦莖湯加魚腥草 등의 抗癌效果를 實驗的으로 比較 檢討하기 위하여 in vitro에서 黑色種 肺癌株인 B16-Fo에 對한 抗腫瘍 效果와 抗癌劑 cyclophosphamide (CPM), cisplatin(CPT), 5-fluorouracil (5-FU) 等과의 相乘作用을 MTT法에 의해 살펴 보고,

動物 實驗에서는 C57BL/6생쥐에 B16-Fo를 i.v 注射하고 葦莖湯과 加味葦莖湯을 經口 投與하여 生命延長率，體重變化，血液檢査 및 組織檢査 등을 통해 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## II. 實驗

### 1. 材料

#### 1) 動物

動物은 雌雄 區分없이 4주령의 C57BL/6생쥐를 韓國化學研究所에서 供給 받아 實驗當日까지 固型飼料(抗生劑 無添加, 삼양사료Co.)와 물을 充分히 供給하고 室溫 22 ± 2 °C를 繼續 維持하고 2週日間 實驗室環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

#### 2) 藥物

實驗에 使用된 葦莖湯과 加味葦莖湯은 市中 乾材藥房에서 購入한 것을 精選하여 使用하였으며，處方은 《備急千金要方》<sup>1)</sup>에 收載된 葦莖湯 1貼의 處方內容과 分量은 다음과 같다.

Sample 1. Prescription of Wekyungtang(WKT)

韓藥	生藥名(學名)	重量(g)
葦莖	Rhizoma phragmitis	8g
薏苡仁	Semen coicis	4g
冬瓜仁	Semen benincasae	8g
桃仁	Semen persicae	4g
Total amount		24g

Sample 2. Prescription of Kamiwekyungtang(WKT-I)  
葦莖湯-I : 本 方에 加 魚腥草

魚腥草	Houttuyniae herba	8g
Total amount		32g

Sample 3. Prescription of KamiWekyungtang-II  
(WKT-II)

葦莖湯-II : 本 方에 加 白花蛇舌草

白花蛇舌草	Oldenlandiae diffusae herba	8g
Total amount		32g

### 3) 試藥 및 器機

實驗에 使用된 試藥은 RPMI1640(sigma), 10% fetal bovine serum (FBS, sigma), dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A, sigma), sodium dodecyl sulfate(SDS, sigma), 5-fluorouracil(sigma), adriamycin (sigma), cisplatin(CPT, Daewoong, Pharm. co.), cyclo-phosphamide, trypsin-EDTA (sigma), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide(MTT, sigma), ethanol(Merck, Germany), penicillin streptomycin (sigma), sodium bicarbonate (GIBCO), trypan blue(sigma), phenol red(sigma), sodium azide (sigma), isopropanol(sigma), HCl(Merck), acetic acid(Glacial), sulforhodamine B(SRB, sigma), sodium hydroxide(sigma) 등으로 一般試藥은 모두 特級 및 一級試藥을 使用하였다. 本 實驗에 使用된 器機는 CO<sub>2</sub> incubator(vision scientific Co., Model VS-9108MS), clean bench (vision scientific Co., KMC-14001), centrifuge (beckman Co., GS-6R), inverted microscope

(Nikon, co, Japan), bright microscope (UFX-DX, Nikon), ELISA-reader(Emax, U.S.A), autoclave (Hirayama, Japan), micro-pipet (Gilson, U.S.A), autostill WG25 (Japan) 및 titer plate shaker(Lab-line inst, U.S.A), culture flask (Falcon-3024), multi-well plate (96-well, Falcon), disposable pipet(5ml, 10ml, 25ml, Falcon) 및 syringe filter(0.25 $\mu$ m, Falcon) 등을 使用하였다.

## 2. 方法

### 1) 檢液의 造製

葦莖湯(WKT), 葦莖湯-I(WKT-I), 葦莖湯-II(WKT-II)의 二貼分量(48g, 64g, 64g)을 各 各 3,000ml round flask에 蒸溜水 2,000ml와 함께 넣은 다음 冷却器를 附着시키고 2 時間 동안 加熱하여 濾過한 濾液을 rotary vacuum evaporator(Büchi 461)에서 減壓濃縮하고 이 round flask를 -84 °C deep freezer(Sanyo, Japan)에서 1時間 동안 放置하고 freeze dryer (Eyela, Japan)로 4時間을 凍結乾燥하여 葦莖湯에서는 25.8g, 葦莖湯-I에서는 33.48g 그리고 葦莖湯-II에서는 34.1g의 粉末을 얻어 檢液으로 製造하여 使用하였다. 動物實驗時에는 生理食鹽水에 溶解시켜 使用하였으며 細胞毒性實驗時에 RPMI1640 free medium에 溶解시켜 syringe filter(0.25 $\mu$ m, Falcon)사용하여 濾過하였다.

### 2) In vitro

(1) B16-Fo melanoma 細胞株 및 細胞培養 條件

Mouse melanoma인 B16-Fo cell line을 本 實驗에서 使用하였다. 培養液은 RPMI1640-Hepes medium(sigma), 10% fetal bovine serum(GIBCO), penicillin streptomycin(100units/ml, 100 $\mu$ g/ml) 및 L-glutamine(sigma)에서 繼代 培養하였다. 葦莖湯에 의한 B16-Fo melanoma 을 in vitro에서 1週日 以上 繼代培養하였다. 그리고 75cm<sup>2</sup> culture flask에 B16-Fo cell이 monolayer 狀態로 70-80%를 차지하고 있을때 實驗을 實施하였다. 준비된 flask는 培養細胞 表面을 dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A, sigma)溶液으로 씻어준 trypsin-EDTA溶液 0.5ml을 넣고 37℃에서 3分間 放置 한 후 RPMI1640-10%FBS 5ml을 넣어 反應을 中止시키고 2회 RPMI1640 Free로 洗滌한 후 實驗에 使用하였다.

#### (2) MTT 法에 의한 葦莖湯과 加味葦莖湯의 細胞毒性 測定

本 實驗에 使用한 MTT 法은 Mosmann이 開發하여 Kotnik등이 變形시킨 方法<sup>32-33)</sup>을 利用하였다. 즉 96well plate의 각 well에 1x10<sup>4</sup>cells를 넣고 37℃의 CO<sub>2</sub> incubator에서 24時間 培養한 後, 稀釋된 葦莖湯 加味葦莖湯 抽出液 50 $\mu$ l을 넣고 37℃의 CO<sub>2</sub> incubator에서 48時間 培養하였다. 培養終了 4時間 前에 5 $\mu$ g/ml 濃度로 DPBS-A에 稀釋된 MTT溶液 20 $\mu$ l를 각 well에 添加하고, 培養終了時까지 銀薄 紙로 빛을 遮斷시켜 培養하였다. 培養終了時 培養液을 除去한 뒤, Eagle's MEM을 각 well 에 100 $\mu$ l씩 넣고 1000 rpm에서 3分間 遠心分離 한 뒤 上層液을 除去한 後 0.04N HCl-

isopropanol 100 $\mu$ l를 각 well에 添加하고 攪拌 시킨 다음, titer plate shaker(Lab-Line, U.S.A) 3.5 speed에서 5分間 shaking한 後 다시 遠心分離한다. 變色된 각 well의 吸光度를 ELISA-reader (Emax, U.S.A)를 利用하여 570nm에서 測定하고, 對照群의 吸光도와 比較 하여 細胞成長率을 %로 換算하였다.

#### (3) B16-Fo에 대한 抗癌劑의 IC<sub>50</sub> 測定

細胞附着을 50% 抑制할 수 있는 각 抗癌劑의 濃度(IC<sub>50</sub>)를 구하기 위해, 抗癌劑를 多樣한 濃度로 培養液에 稀釋하고 濾過滅菌시켜 앞서 言及한 바와 같은 MTT方法으로 實驗하였다. 細胞附着을 50% 抑制하는 각 抗癌劑 (cyclophosphamide, cisplatin, 5-fluorouracil)의 IC<sub>50</sub>을 算出하였다.

#### (4) B16-Fo 細胞毒性에 미치는 葦莖湯과 加味葦莖湯의 細胞毒性 測定

細胞附着을 50% 抑制할 수 있는 葦莖湯과 加味葦莖湯 濃度를 구하기 위해, 葦莖湯과 加味葦莖湯을 多樣한 濃度로 培養液에 稀釋하고 濾過滅菌시켜 앞서 言及한 바와 같은 MTT 法으로 實驗하였다. 細胞의 附着에 미치는 각 抗癌劑(cyclophosphamide, cisplatin, 5-fluorouracil)의 效果는 MTT 法으로 測定한 對照群의 吸光度에 대한 實驗群의 吸光度를 百分率로 換算하여 算定하였다.

#### (5) B16-Fo에 미치는 葦莖湯, 加味葦莖湯과 抗癌劑와의 相乘效果 測定

葦莖湯과 加味葦莖湯을 多樣한 濃度로 培養

液에 稀釋하고, 細胞附着을 50% 抑制할 수 있는 각 抗癌劑를 각각 濾過滅菌시켜 앞서 言及한 바와 같은 MTT 法으로 實驗하였다. 細胞의 附着能에 미치는 각 抗癌劑의 效果는 MTT 法으로 測定한 對照群의 吸光度에 對한 實驗群의 吸光度를 百分率로 換算하여 算定하였다.

### 3) In vivo

#### (1) B16-Fo 移植과 檢液投與

B16-Fo(American Type Culture Collection (ATCC), CRL6322)을 C57BL/6 생쥐의 皮下에 繼代 培養하였고 實驗前에 形成된 腫瘍部分을 分離하여 腫瘍 1g에 10ml의 Cold D-PBS( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ -Free, SIGMA, U.S.A)이 되게 調節한 後 100mesh(Sigma, U.S.A)로 腫瘍組織을 粉碎한 後 遠心分離(1500r.p.m, 5min.)한다. 이 pellet에 collagenase (1700units/mg, Type-XI Sigma, U.S.A)를 tumor 0.1g/ml을 處理하여 30分間 water bath(37 °C)에서 incubation시킨 後 遠心分離(1300 rpm, 5min.)한다. 上層液을 除去하고 0.85%  $NH_4Cl$ 을 넣어 잘 섞은 後 37 °C 培養基에서 5分間 放置하여 赤血球를 破壞시킨 後 遠心分離하여 B16-Fo cell을 分離한다. 최초 1g의 tumor당 10ml의 D-PBS로 調節한 後 18-20g인 C57BL/6 생쥐에 부유액 0.5ml을 各 i.v로 移植하였다. 檢液은 B16-Fo細胞를 i.v로 移植 後 24時間 經過한 後 1日 1回씩 WKT는 13mg/25g, WKT-I은 13.5mg/25g, 그리고 WKT-II는 14.3mg/25g을 服用시켰다. 24時間 後 부터 檢液을 21日間 連續 投與하고 14日 後 體重, 血小板凝集反應과 血液變化를 測定하였다.

#### (2) 體重 무게 測定 및 採血

體重 測定은 B16-Fo 移植한 C57BL/6 생쥐를 24時間 後부터 1日 1回씩 測定 하였고, 採血은 C57BL/6, S-180 생쥐를 pentothal sodium (30mg/kg, 중의제약)으로 痲醉하고 心臟穿刺를 하여 platelet aggregation을 測定하였고, 미리 heparin이 들어있는 1回用 注射器(23Gx1¼, Samwoo CO.)로 血液을 採血하여 血液 檢査에 使用하였다.

#### (3) 血素板數 測定

血素板數의 計算은 Fonio法<sup>34)</sup>에 準하여 Minos-ST로 測定하였다.

#### (4) 白血球數 測定

白血球數 計算은 Fonio法에 準하여 Minos-ST로 測定하였다.

#### (5) 赤血球數 測定

赤血球數 計算은 Fonio法에 準하여 Minos-ST로 測定하였다.

#### (6) Hemoglobin含量 測定

白血球數 計算은 Fonio法에 準하여 Minos-ST로 測定하였다.

#### (7) Platelet Aggregation 測定

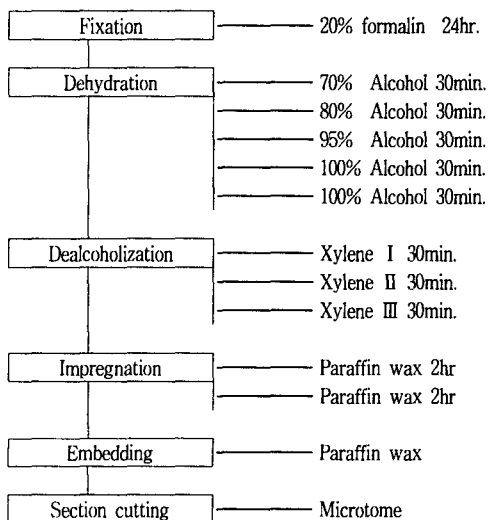
Platelet aggregation의 測定은 impedance aggregation 法<sup>35)</sup>에 準하여 2ml의 血液을 採血하여 3.8% sodium citrate가 들어있는 test tube에 血液을 1 : 9 (抗凝固劑 1 : 血液 9)의 比率로 넣고 잘 混合하여 血液凝固를 防止하였

다. 血小板 凝集效果는 Whole Blood Lumi-Aggregometer (Chrono-Log Co. Ltd., U.S.A) 를 사용하여 각 group間的 platelet aggregation 을 測定하였다. whole blood 450  $\mu$ l와 saline 450  $\mu$ l를 cuvettes에 넣고 micro-magnetic bar 를 넣은 後 37°C에서 1-2分間 放置한다. cuvettes에 electrode를 꽂고 thrombin(1U/ml) 이 final concentration이 되도록 90  $\mu$ l의 thrombin(10U/ml)을 cuvettes에 천천히 加하여 aggregation을 誘發시켰으며 凝集反應의 測定은 thrombin의 添加時부터 주어진 時間內的 aggregation ohms으로 計算된다.

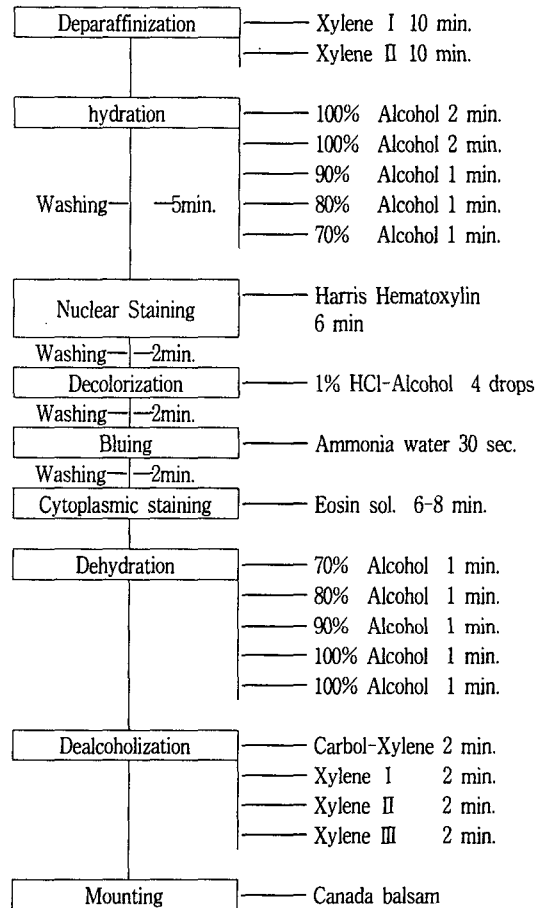
(8)組織學的 觀察

摘出した 肺, 肝, 脾臟, 腎臟을 10% 中性 formalin에 固定한 後 細切하여 흐르는 물에 8 시간 水洗한 다음 아래 scheme 1과 같은 過程을 거쳐 포매하였다. 이것을 microtome으로 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin염색 (scheme 2)을 하였다.

Scheme 1. Tissue processing



Scheme 2. Harris Hematoxylin & Eosin Staining



III. 實驗成績

1. In vitro

1) B16-F0 增殖을 50% 抑制하는 各 抗癌劑의 濃度

B16-Fo를 50% 抑制하는 各 抗癌劑의 濃度를 定하기 위하여 各 Well當 細胞 1 × 10<sup>4</sup>個를 넣고 cyclophosphamide(CPM), cisplatin

(CPT), 5-fluorouracil(5-FU)를 各 濃度로 加하고 培養하였을 때 16.24, 0.524 및 2.89 $\mu$ g/ml의 濃度에서 약 50%의 抑制效果가 나타났다. (Table 1).

Table 1. IC50( $\mu$ g/ml) of anti-cancer drugs on B16-Fo ( $1 \times 10^4$  cells/well)

Drugs	IC50
Cyclophosphamide	16.24 ( $\mu$ g/ml)
cisplatin	0.524 ( $\mu$ g/ml)
5-fluorouracil	2.89 ( $\mu$ g/ml)

2) B16-Fo에 미치는 葦莖湯과 加味葦莖湯의 細胞毒性 效果

B16-Fo에 미치는 葦莖湯(WKT)과 加味葦莖湯(WKT-I, WKT-II)의 直接的인 抗腫瘍效果를 알아보기 爲해 濃度를  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ g/ml로 調整하여, 吸光度를 測定하여 對照群의 吸光度를 100%로 했을 때 WKT는  $52.4 \pm 1.68$ ,  $87.5 \pm 2.53$ ,  $96.2 \pm 1.52$ ,  $97.0 \pm 4.29\%$ 로 나타났고, WKT-I에서는  $70.9 \pm 1.18$ ,  $79.9 \pm 1.77$ ,  $94.6 \pm 2.61$ ,  $98.9 \pm 2.36\%$ 로 나타났으며, WKT-II에서는  $74.8 \pm 1.77$ ,  $85.1 \pm 2.36$ ,  $96.4 \pm 1.60$ ,  $99.2 \pm 1.18\%$ 로 나타났다. NCI protocol에 따라 對照群에 비해 55% 以下の 成長率을 나타낸 濃度를 살펴 보면 葦莖湯의  $10^{-3}$ g/ml의 濃度에서만 나타났다.

3) B16-Fo에 미치는 葦莖湯(WKT), 加味葦莖湯(WKT-I, WKT-II)과 cyclo-phosphamide (CPM)와의 抗腫瘍效果

B16-Fo에 미치는 WKT, WKT-I 및 WKT-II와 CPM과의 抗腫瘍效果를 알아보기

爲해 濃度를  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ g/ml로 調整하고 CPM을 加하여 培養하여, CPM만 處理한 對照群의 吸光度를 100%로 하였을 때, WKT은  $42.9 \pm 2.52$ ,  $47.6 \pm 1.89$ ,  $59.1 \pm 1.71$ ,  $55.5 \pm 2.16\%$ 로 나타났고, WKT-I에서는  $42.3 \pm 1.62$ ,  $47.2 \pm 2.16$ ,  $56.6 \pm 1.62$ ,  $78.8 \pm 3.07\%$ 로 나타났으며, WKT-II에서는  $39.1 \pm 2.16$ ,  $49.9 \pm 1.62$ ,  $74.3 \pm 2.25$ ,  $78.9 \pm 2.83\%$ 로 나타났다. NCI protocol에 따라 對照群에 비해 55% 以下の 成長率을 나타낸 濃度를 살펴 보면 CPM과의 併用投與에서는 모든 實驗群의  $10^{-4}$ g/ml 이상의 濃度에서 나타났다.

4) B16-Fo에 미치는 葦莖湯(WKT), 加味葦莖湯(WKT-I, WKT-II)과 cisplatin(CPT)과의 抗腫瘍效果

B16-Fo에 미치는 WKT, WKT-I 및 WKT-II와 CPT와의 抗腫瘍效果를 알아보기 爲해 濃度를  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ g/ml로 調整하고 CPT를 加하여 培養하여, CPT만 處理한 對照群의 吸光度를 100%로 하였을 때 WKT은  $51.4 \pm 1.88$ ,  $53.1 \pm 2.37$ ,  $63.2 \pm 1.78$ ,  $64.2 \pm 2.47\%$ 로 나타났고, WKT-I에서는  $54.8 \pm 1.68$ ,  $61.2 \pm 2.08$ ,  $68.0 \pm 2.87$ ,  $72.3 \pm 4.45\%$ 로 나타났으며, WKT-II에서는  $62.1 \pm 1.78$ ,  $65.1 \pm 2.47$ ,  $72.5 \pm 2.77$ ,  $78.9 \pm 1.25\%$ 로 나타나 對照群에 비해 55% 以下の 成長率을 나타낸 濃度는 WKT의  $10^{-4}$  g/ml 이상 濃度, WKT-I의  $10^{-3}$ g/ml 濃度에서 나타났다.

5) B16-Fo에 미치는 葦莖湯(WKT), 加味葦莖湯(WKT-I, WKT-II)과 5-Flurouracil (5-FU)와의 抗腫瘍效果



B16-Fo에 미치는 WKT, WKT-I 및 WKT-II와 5-FU와의 抗腫瘍效果를 알아보기 위해 농도를  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ g/ml으로 조정하고 5-FU를 加하여 培養하여, 5-FU만 處理한 對照群의 吸光度를 100%로 하였을때 WKT은  $58.6 \pm 2.02$ ,  $85.2 \pm 1.87$ ,  $92.8 \pm 1.60$ ,  $96.7 \pm 2.58\%$ 로 나타났고, WKT-I에서는  $68.9 \pm 2.79$ ,  $84.4 \pm 1.94$ ,  $94.7 \pm 1.76$ ,  $97.2 \pm 1.25\%$ 로 나타났으며, WKT-II에서는  $75.1 \pm 2.19$ ,  $84.5 \pm 2.75$ ,  $90.9 \pm 2.82$ ,  $95.3 \pm 2.22\%$ 으로 나타나 對照群에 비해 55% 以下の 成長率을 나타낸 濃度는 나타나지 않았다.

## 2. In vivo

### 1) 體重의 變化

動物 實驗에서는 B16-Fo 腫瘍細胞를 i.v에 移植하여 體重變化를 보았는데 Normal, Control, WKT, WKT-I, WKT-II에서 15일째 最終 體重은 各各  $18.4 \pm 0.18$ ,  $22.6 \pm 0.11$ ,  $19.1 \pm 0.34$ ( $p < 0.01$ ),  $18.9 \pm 0.21$ ( $p < 0.01$ ),  $18.8 \pm 0.15$ ( $p < 0.01$ )로 나타나 對照群에 비하여 모든 實驗群에서 腫瘍細胞로 인한 體重的 增加가 有意性 있게 抑制 되었다.

### 2) 血液學的 變化

血液檢査에서는 血小板數의 變化는 Normal, control, WKT, WKT-I, WKT-II에서 각각  $704.0 \pm 38.9$ ,  $446.0 \pm 11.2$ ,  $660.0 \pm 27.9$ ,  $683.0 \pm 34.2$ ,  $619 \pm 51.9$ ( $10^4/\text{mm}^3$ )로 나타나 모든 實驗群에서 有意性 있는 增加를 나타내었고, Platelet aggregation에선  $69.2 \pm 0.90$ ,  $19.2 \pm 1.92$ ,  $21.3 \pm$

$0.66$ ,  $23.1 \pm 0.96$ ,  $27.1 \pm 0.24$ (ohms<sup>#</sup>)로 나타나 WKT-I, WKT-II에서만 有意性 있는 增加를 나타내었으며( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ), WBC 變化는  $6.7 \pm 0.09$ ,  $25.1 \pm 2.11$ ,  $14.3 \pm 1.05$ ,  $12.2 \pm 0.83$   $10.8 \pm 1.54$ ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )로 나타났고, RBC의 變化는  $9.52 \pm 0.12$ ,  $4.06 \pm 0.03$ ,  $5.58 \pm 0.39$ ,  $5.83 \pm 0.07$ ,  $8.07 \pm 0.36$ ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )로 나타났으며, Hemoglobin 値는  $14.0 \pm 0.17$ ,  $13.9 \pm 0.03$ ,  $12.9 \pm 0.47$ ,  $14.5 \pm 0.46$ ,  $13.7 \pm 0.32$  (g/dL)로 나타나 異常으로 增加, 減少되었던 血球變化가 어느 정도 恢復되었으나 큰 變化는 없었다.

### 3) 組織 變化

B16-Fo 腫瘍細胞를 생쥐의 尾精脈에 注射하여 WKT, WKT-I, WKT-II를 投與後 各 臟器의 組織學的 變化를 살펴 보았던 바 對照群에서는 肝臟의 肝細胞 周圍에 局所性(focal)으로 腫瘍細胞가 浸潤되어 있었으며, 주로 肝門脈 部位에 中等度(++: moderate)의 轉移가 이루어졌고 肺臟에 있어서는 全體 組織에 多發性의 組織結節이 觀察되었는데 血管, 氣管支 周圍, 肺胞壁등에 심하게(+++: severe) 轉移가 이루어졌고 癌細胞 轉移에 의한 炎症 反應도 中等度로(++) 나타났다. WKT群은 肝門脈에 小數의 腫瘍細胞가 浸潤되어 나타났고, 肝門脈 部位에 매우 적은(+: mild) 轉移가 이루어졌으며, 肺臟에 있어서는 肺臟의 實質 組織에 境界가 明確한 腫瘍 結節이 觀察되었고 肺臟의 血管과 氣管支 周圍에도 腫瘍細胞가 浸潤되어 있었으며 血管, 氣管支 周圍에는 中等度(++의) 轉移가 이루어졌고 肺胞壁에서는 심한(+++: severe) 轉移가 이루어졌고 癌細胞 轉移에 의한 炎症 反

應은 中等度로(++) 나타났다. WKT-I群은 肝臟에 있어서는 轉移에 의한 病變을 찾을 수 없었고, 葦莖湯과 마찬가지로 肺臟에 있어서는 肺臟의 實質 組織에 境界가 明確한 腫瘍 結節이 觀察되었고 肺臟의 血管과 氣管支 周圍에도 腫瘍細胞가 浸潤되어 있었으며, 血管, 氣管支 周圍, 肺胞壁 등에 매우 적은(+: mild) 轉移가 이루어졌고 癌細胞 轉移에 의한 炎症 反應도 매우 적은(+: mild) 것으로 나타났다.

WKT-II 群은 肝細胞 周圍에 局所的으로 적은 수의 腫瘍 細胞가 浸潤되어 있으며, 好中救의 浸潤이 觀察되었고 轉移 정도는 매우 적은(+:mild)것으로 나타났으며 肺臟에 있어서는 肺胞壁이 肥厚되어 있었고 局限性으로 腫瘍 細胞가 小數 浸潤되어 있었으며 血管과 氣管支 周圍에는 轉移가 이루어지지 않았고 炎症 反應도 나타나지 않았다. (Table 12.13)

Table 2. Effect of WKT, WKT-I and WKT-II extract on B16-F0 melanoma cell

Concentration	Survival fraction absorbance (% of control)		
	WKT	WKT-I	WKT-II
0	100 ± 1.01	100 ± 1.01	100 ± 1.01 <sup>a)</sup>
10-3	52.4 ± 1.18	70.9 ± 1.18	74.8 ± 1.77
10-4	87.5 ± 2.53	79.9 ± 1.77	85.1 ± 2.36
10-5	96.2 ± 1.52	94.6 ± 2.61	96.4 ± 1.60
10-6	97.0 ± 4.29	98.9 ± 2.36	99.2 ± 1.18

a): Mean ± Standard Error.

Table 3. Effect of WKT, WKT-I and WKT-II extract and CPM on B16-F0 melanoma cell

Concentration	Survival fraction absorbance (% of control)		
	WKT + CPM	WKT-I + CPM	WKT-II + CPM
0	100.0 ± 2.83	100.0 ± 2.83	100.0 ± 2.83a)
10-3	42.9 ± 2.52	42.3 ± 1.62	39.1 ± 2.16
10-4	47.6 ± 1.89	47.2 ± 2.16	49.9 ± 1.62
10-5	59.1 ± 1.71	56.6 ± 1.62	74.3 ± 2.25
10-6	55.5 ± 2.16	78.8 ± 3.07	78.9 ± 2.83

a): Mean ± Standard Error.

Table 4. Effect of WKT, WKT-I and WKT-II and extract CPT on B16-Fo melanoma cell

Concentration	Survival fraction absorbance (% of control)		
	WKT + CPT	WKT-I + CPT	WKT-II + CPT
0	100 ± 2.08	100 ± 2.08	100 ± 2.08 <sup>a)</sup>
10 <sup>-3</sup>	51.4 ± 1.88	54.8 ± 1.68	62.1 ± 1.78
10 <sup>-4</sup>	53.1 ± 2.37	61.2 ± 2.08	65.1 ± 2.47
10 <sup>-5</sup>	63.2 ± 1.78	68.0 ± 2.87	72.5 ± 2.77
10 <sup>-6</sup>	64.2 ± 2.47	72.3 ± 4.45	78.9 ± 1.25

a) : Mean ± Standard Error.

Table 5. Effect of WKT, WKT-I and WKT-II extract and 5-FU on B16-Fo melanoma cell

Concentration	Survival fraction absorbance (% of control)		
	WKT + 5-FU	WKT-I + 5-FU	WKT-II + 5-FU
0	100.0 ± 3.20	100.0 ± 3.20	100.0 ± 3.20 <sup>a)</sup>
10 <sup>-3</sup>	58.6 ± 2.02	68.9 ± 2.79	75.1 ± 2.19
10 <sup>-4</sup>	85.2 ± 1.87	84.4 ± 1.94	84.5 ± 2.75
10 <sup>-5</sup>	92.8 ± 1.60	94.7 ± 1.76	90.9 ± 2.82
10 <sup>-6</sup>	96.7 ± 2.58	97.2 ± 1.25	95.3 ± 2.22

a) : Mean ± Standard Error.

Table 6. Effects of WKT, WKT-I and WKT-II extract on Body Weight of C57BL/6 Bearing B16-Fo melanoma.

Group	Primary body weight(g)	Final body weight(g)	No.of surviving mice for 28days post injection of B6-F0 Melanoma cells
Normal	17.7 ± 0.40	18.9 ± 0.22 <sup>a)</sup>	8 / 8
Control	17.6 ± 0.65	22.9 ± 0.33	5 / 8 (sacrificed)
Sample A	17.0 ± 0.88	19.5 ± 0.38*	6 / 8 (sacrificed)
Sample B	17.8 ± 0.38	18.0 ± 0.58*	6 / 8 (sacrificed)
Sample C	17.5 ± 0.79	18.3 ± 0.52*	6 / 8 (sacrificed)

a) : Mean ± Standard Error.

Normal : Untreated

Control : Normal saline was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells.

Sample A : Wekyungtang extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample B : Wekyungtang-I extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells  
 Sample C : Wekyungtang-II extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells  
 \* : Statistically significant value as compared with control data(\* : P<0.05, \*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001)

Table 7. Effects of WKT, WKT-I and WKT-II extract on the number of Platelet of C57BL/6 Mouse implanted I.V with B16-Fo melanoma cell.

Group	No.of animals	Platelet(x10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )
Normal	8	704.0 ± 38.9
Control	8	446.0 ± 11.2
Sample A	8	619.0 ± 51.9**
Sample B	8	683.0 ± 27.9***
Sample C	8	689.0 ± 34.2***

a) : Mean ± Standard Error.

Normal : Untreated group

Control : Normal saline was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells.

Sample A : Wekyungtang extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample B : Wekyungtang-I extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample C : Wekyungtang-II extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

\* : Statistically significant value compared with control data(\* : P<0.05, \*\* : P<0.01, \*\*\* : P<0.001)

Table 8. Effects of WKT, WKT-I and WKT-II extract on the Platelet Aggregation of C57BL/6 mouse implanted with B16-Fo melanoma cell.

Group	No.of animals	Impedance Change(ohms <sup>#</sup> )
Normal	8	69.2 ± 0.90a)
Control	8	19.0 ± 1.92
Sample A	8	21.3 ± 0.66
Sample B	8	23.1 ± 0.96**
Sample C	8	27.1 ± 0.24***

a) : Mean ± Standard Error.

Normal : Untreated group

Control : Normal saline was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells.

Sample A : Wekyungtang extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample B : Wekyungtang-I extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample C : Wekyungtang-II extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

# ohms : The measurement of electrical resistance.

Table 9. Effects of WKT, WKT-I and WKT-II extract on the number of White Blood Cells of C57BL/6 mouse implanted with B16-Fo melanoma cell.

Group	No.of animals	W B C ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )
Control	8	25.1 $\pm$ 2.11
Sample A	8	14.3 $\pm$ 1.05***
Sample B	8	10.8 $\pm$ 1.54***
Sample C	8	12.2 $\pm$ 0.83***

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

Normal : Untreated group

Control : Normal saline was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells.

Sample A : Wekyungtang extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample B : Wekyungtang-I extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample C : Wekyungtang-II extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Table 10. Effects of WKT, WKT-I and WKT-II extract on the Red Blood Cells of C57BL/6 mouse implanted with B16-Fo melanoma

Group	No.of animals	R B C ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )
Normal	8	9.52 $\pm$ 0.12
Control	8	4.06 $\pm$ 0.03
Sample A	8	5.58 $\pm$ 0.39***
Sample B	8	8.07 $\pm$ 0.36***
Sample C	8	5.83 $\pm$ 0.07***

a) : Mean  $\pm$  Standard Error.

Normal : Untreated group

Control : Normal saline was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells.

Sample A : Wekyungtang extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample B : Wekyungtang-I extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample C : Wekyungtang-II extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Table 11. Effects of WKT, WKT-I and WKT-II extract on the Hemoglobin of C57BL/6 mouse implanted I.V with B16-Fo melanoma cell.

Group	No.of animals	Hemoglobin(g/dL)
Normal	8	14.0 ± 0.17
Control	8	13.9 ± 0.03
Sample A	8	12.9 ± 0.47*
Sample B	8	14.5 ± 0.46
Sample C	8	13.7 ± 0.32

a) : Mean ± Standard Error.

Normal : Untreated group

Control : Normal saline was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells.

Sample A : Wekyungtang extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample B : Wekyungtang-I extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Sample C : Wekyungtang-II extract was treated orally one day after i.v injection with B16-Fo melanoma cells

Table 12. Effects of WKT, WKT-I and WKT-II extract on the pulmonary tissue of C57BL/6 mouse implanted I.V with B16-Fo melanoma cell.

病變	處置群	Lung				
		WKT	WKT-I	WKT-II	Control	Normal
Infiltration of B-16 melanoma cell line (癌細胞의 轉移程度)		++	++	+	+++	-
Infiltration site for B-16 melanoma (癌細胞의 侵潤部位)	Blood vessel	++	+	-	+++	-
	Peribronchiole	++	+	-	+++	-
	alveolar septa	+++	+	+	+++	-
Inflammation (癌細胞의 轉移에 의해 誘發되는 炎症反應)		++	+	-	++	-
Hemorrhage		-	-	+	-	-

- : Negative, + : mild, ++ : moderate, +++ : severve

Table. 13 Effects of WKT, WKT-I and WKT-II extract on the hepatic tissue of C57BL/6 mouse implanted I.V with B16-F0 melanoma cell.

病變		處置郡				
		Liver				
		WKT	WKT-I	WKT-II	Control	Normal
Infiltration of B-16 melanoma cell line (癌細胞의 轉移程度)		+	-	+	++	-
Infiltration site for B-16 melanoma (癌細胞의 侵潤部位)	Portal triad (肝門脈)	+	-	+	++	-

- : Negative, + : mild, ++ : moderate, +++ : severe

#### IV. 考 察

最近 여러 惡性 腫瘍中 産業의 發達로 인한 毒性 物質 排出, 大氣 汚染 및 吸煙 人口의 增加 등으로 肺腫瘍의 發生 및 死亡率이 날로 增加하는 趨勢에 있어 肺癌의 治療는 重要한 問題로 擡頭되고 있다<sup>16-17,36)</sup>.

肺癌의 症狀은 早期에는 輕度の 기침 또는 喫煙에 緣由되는 慢性 기침 외에 發熱, 惡寒, 咯痰產生, 限局性喘鳴, 또는 血痰 등의 局所的 氣管枝 閉塞이나 그 周圍의 炎症에 續發되는 症狀을 보일 때도 있으며, 晚期症狀은 번진 程度와 方向에 따라 體重減少, 食慾不振, 嘔逆, 嘔吐, 衰弱 등의 非特異的 全身症狀을 나타낼 때가 있으며 胸廓外 進展 또는 遠隔轉移의 症狀이 나타날 때도 있다<sup>36,37-40)</sup>.

韓醫學에서 肺癌에 관한 部分은 《素問 奇病論》<sup>18)</sup>에서 “病脇下滿 氣逆 … 病名曰息賁” <

素問·玉機眞臟論》<sup>18)</sup>에서 “大骨枯槁, 大肉陷下, 胸中氣滿, 喘息不便, 內痛引肩項, 身熱, …” 《素問·咳論》<sup>18)</sup> “… 咳而喘息有音, 甚則唾血” 《金匱要略》<sup>19)</sup>에서 “……, 口中喘滿, 咽燥不渴, 多唾濁沫, 時時振寒, ……若口中辟辟燥, 咳即胸中隱隱痛, 脈反滑數, 此爲肺痛, 咳唾膿血.” 《難經》<sup>20)</sup>에서 “肺之積, 名曰息賁, …… 令人洒淅寒熱, 喘咳, 發肺癰.” 《濟生方》<sup>41)</sup>에서 “息賁之狀, ……喘息奔溢, 是爲肺積.” 《三因方》<sup>21)</sup>에서 “久嗽勞傷, 咳吐痰血, 寒熱往來, 形體消削, 咯吐瘀膿, 聲喉咽痛, 其候傳爲肺痿, 如此者百死一生之病也” 《醫宗金鑑》<sup>42)</sup>에서는 “邪積胸中, 阻塞氣道, 氣不得通, 爲痰 …… 爲血, 皆邪正相搏, 邪既勝, 正不得制之, 遂結成形而有窠”이라 하였고, 《儒門事親》<sup>43)</sup>에서는 “息賁者 喘息賁而上行也”라 하여 모두 現在 肺癌의 症狀과 類似하게 表現 되었다.

肺癌에 대한 韓方 臨床으로 葦莖湯, 沙蔘麥門冬湯, 肺復方, 扶肺煎, 金岩丸, 麻黃附子細辛湯,

金匱腎氣丸, 六耳二百湯, 加減一二號方, 小薊飲子, 清燥救肺湯, 千金散, 消癌二號方, 加減桃紅四物湯, 加減二陳湯, 扶正攻癌湯, 生脈散合補肺湯, 化痰散結丸, 加減百合古今湯, 鶴蟾片, 清肺抑抗湯, 1,2,3號方, 勝利丹, 新稱煎, 疎肝抗癌湯, 麥味地黃丸合二母停水湯, 蛇根湯, 新症煎, 解鬱救肺湯, 三焦肺癌湯 및 蓼耆菝稜湯등이 臨床的으로 效果가 있는것으로 報告되었다<sup>12-15,44-48</sup>.

이 중 葦莖湯의 肺癌에 대한 臨床에서 牛登<sup>12)</sup>은 葦莖湯을 痰熱壅閉型 肺癌에, 吳登<sup>13)</sup>은 葦莖湯에 小陷胸湯을 合하여 熱毒壅閉型 肺癌에, 史登<sup>13)</sup>은 葦莖湯에 魚腥草와 白花蛇舌草등을 加하여 熱毒瘀阻型 肺癌에, 陳登<sup>14)</sup>은 葦莖湯에 半夏, 南星등을 加하여, 張登<sup>15)</sup>은 葦莖湯에 清燥救肺湯을 合하여 肺癌에 대하여 一定한 抗腫瘍 效果가 있음을 報告하여 葦莖湯이 肺癌에 有用한 處方으로 使用될 수 있음을 나타내었지만 아직까지 葦莖湯의 肺癌株에 對한 抗癌效果를 實驗的으로 立證한 研究는 없다.

肺癌에 대한 病因, 病機로 李<sup>49)</sup>는 “傷寒과 火氣의 合併”을 李<sup>50,51,52)</sup>, 蔡<sup>53)</sup>, 李<sup>54)</sup> 등은 “吸煙, 大氣污染, 職業性 障得 卽 크롬, 금속질, 산화철, 비소, 니켈, 베릴륨”을, 尙<sup>55)</sup>은 “內傷七情”을, 張<sup>56)</sup>은 “外感受邪, 七情飲食失調”를 각각 言及하였는데 이를 綜合하여 보면 正氣가 不足한 狀態에서 邪毒이 犯肺하여 肺氣가 臞郁에 이르게 되어 宣降機能과 統調 機能이 失調되어 氣機가 不利하여 血行이 不暢하고 津液이 不布하여 凝聚됨에 痰瘀가 形成되어 肺絡에 이르러 蘊熱火毒하게 되어 癌瘤를 形成하는 것으로 보고 있으며 癌瘤가 生成된 後에 더욱 肺氣가 不通되어 熱毒을 發生하여 耗傷氣陰하고 損傷血

脈하여 더욱 症狀이 惡化되는 것으로 보고 있다.

葦莖湯을 構成하는 藥物의 本草學的 效能을 살펴보면, 葦莖은 清肺胃熱, 止嘔除煩, 和胃降火, 生津止渴하여 熱病煩渴, 胃熱嘔吐, 反胃, 肺痿肺癰을 治하며<sup>26-30)</sup>, 薏苡仁은 利水滲濕, 除濕痺, 清肺排膿, 健脾止瀉하여 水腫, 筋脈拘攣, 肺癰肺痿, 脾虛泄瀉를 治하고<sup>26-30)</sup>, 冬瓜仁은 清利濕熱, 化痰排膿, 潤肺化痰, 消癰, 利水除煩滿하여 痰熱咳嗽, 肺癰腸癰, 淋病, 水腫을 治療하며<sup>26-30)</sup>, 桃仁은 破血祛瘀, 潤燥滑腸하여, 經閉, 跌打損傷, 瘀血腫痛, 肺癰腸癰, 血燥便秘를 治療하는 效能이 있다<sup>26-30)</sup>.

葦莖湯에 加味된 白花蛇舌草는 清熱利濕, 解毒消癰의 效能을 지녀 最近 肺癌, 食道癌, 胃癌, 直腸癌 등에 多用되고 있으며<sup>26-30)</sup>, 魚腥草는 清熱解毒, 消腫排膿의 效能을 지니고 있어 현재 臨床에서 肺癰 및 大葉性 肺炎, 急性氣管支炎, 小兒肺炎 등에 加減하여 使用되고 있다<sup>26-30)</sup>.

이에 著者는 葦莖湯과 清熱利濕 解毒消癰의 效能을 가진 白花蛇舌草와 清熱解毒 消腫排膿의 效能을 지닌 魚腥草를 各各 加味한 葦莖湯 加白花蛇舌草와 葦莖湯加魚腥草의 抗癌效果를 實驗的으로 比較 檢討하기 위하여 in vitro 에서 抗腫瘍效果와 抗癌劑 cyclophosphamide(CPM), cisplatin(CPT), 5-fluorouracil(5-FU) 등과의 相乘作用을 MTT 法에 의해 살펴 보고, 動物 實驗에서는 C57BL/6에 B16-Fo를 尾靜脈 注射하여 生命延長率, 體重變化, 組織檢査 및 血液檢査 등을 實施하여 抗癌 效果를 檢討하였다. 抗癌劑中 cyclophosphamide는 窒素原子에 cyclic phosphamide의 置換으로 鹽基性이



減少되어 chlorethyl基의 反應度가 減少된 誘導體로 肝에서 microsomal enzyme에 의해 活性型 中間代謝로 轉換되는 抗癌劑로 骨髓腫患者의 가장 效果的인 藥劑이며 急性 淋巴性 白血病에서 完全寛解를 誘導하고 維持하는 唯一한 알킬화제이다<sup>57-58)</sup>. cisplatin은 白金電極 사이에 電流가 흐를때 大腸菌의 成長이 抑制되는 現狀을 土臺로 DNA base내의 guanine과 結合하여 alkyl化 抗癌劑와 類似하게 DNA chain과 交叉結合(cross link)을 招來하여 窮極的으로 細胞毒성을 招來하고<sup>57-58)</sup>, 5-flourouracil은 抗代謝性 物質로서 purine의 生合成을 阻害하고 新陳代謝에 障害를 일으켜 細胞毒성을 나타내는 것으로 알려져 있다<sup>57-58)</sup>.

먼저 抗癌劑의 感受性 및 50% 增殖 抑制濃度を 定하는 것이 重要하다고 보아 各 抗癌劑의 IC<sub>50</sub>을 測定하였는데 細胞에 대한 各 抗癌劑의 感受性 및 50% 增殖 抑制 濃度は 各各 CPM은 16.24ug/ml, CPT는 0.524ug/ml, 5-FU는 2.89ug/ml로 나타나 B16-Fo melanoma cell에 대하여 cisplatin이 가장 적은 濃度에서 效果的인 것으로 나타났다.

B16-Fo melanoma cell에 對한 細胞毒性效果를 살피기 위해 NCI protocol에 따라 對照群에 비해 55% 以下의 成長抑制率을 나타낸 濃度は 葦莖湯의 10<sup>-3</sup>g/ml 濃度이었고, CPM과의 併用 投與에서는 葦莖湯, 葦莖湯-I, 葦莖湯-II의 10<sup>-4</sup>g/ml-10<sup>-3</sup>g/ml 濃度, CPT와의 併用 投與에서는 葦莖湯의 10<sup>-4</sup>g/ml-10<sup>-3</sup>g/ml 濃度, 葦莖湯-I의 10<sup>-3</sup>g/ml 濃度등으로 나타났으며, 5-FU와의 併用 投與에서는 나타나지 않아 抗癌劑中 CPM, CPT와 相乘效果가 認定되며 5-FU와 相乘效果

는 미진했다. 이러한 점으로 볼 때 葦莖湯, 葦莖湯-I 및 葦莖湯-II의 B16-Fo에 대한 細胞毒性 效果는 주로 高濃度에서 나타났고, 抗癌劑와의 併用 投與에서는 CPM, CPT, 5-FU順으로 相乘效果가 있음을 알 수 있었다.

動物 實驗에서 B16-Fo 腫瘍細胞를 i.v에 移植하여 體重變化, 血液學的變化, 組織變化를 보았는데 最終 體重은 對照群이 22.6±0.18로 나타난 반면 葦莖湯이 19.1±0.38(p<0.01), 葦莖湯-I이 18.9±0.21(p<0.01), 葦莖湯-II가 18.6±0.15(p<0.01)로 나타나 모든 實驗群에서 有意性 있는 體重增加 抑制가 이루어졌다.

血液檢査에서는 血小板이 癌細胞周圍에 附着되어 오히려 癌細胞를 保護하는 役活을 하여 癌患者에 있어서 血小板數가 적어지고 凝集力이 떨어진다는 報告<sup>59)</sup>가 있어 특히 癌의 轉移與否를 判定하는데 있어 血小板의 數와 凝集力이 重要한 指標가 되어 이를 中心으로 檢査하였는데 血小板數는 對照群이 446.0±11.2, 葦莖湯은 660.0±27.9(P<0,001), 葦莖湯-I은 683.0±24.2(P<0,001), 葦莖湯-II는 689.0±51.9(P< 0,001)로 나타나 모두 對照群에 비하여 有意性 있는 增加를 나타내었고, platelet aggregation은 對照群이 19.0±1.92, 葦莖湯이 21.3±0.66로 有意性 없는 增加를 나타낸 반면 葦莖湯-I은 23.1±0.96(P<0,001), 葦莖湯-II는 27.1±0.24(P<0,001)으로 血小板에 比例하여 各各 有意性 있는 增加를 나타냈다. WBC는 異常的으로 增加된 對照群에 비해 有意性 있게 抑制 되었고, RBC는 對照群에 비해 有意性 있게 增加 하였지만, hemoglobin은 모든 實驗群에서 큰 變化가 없었다.

組織檢査를 통한 轉移 程度를 알아보는 實驗에서는 對照群에서 肝臟의 肝細胞 周圍에 局所性(focal)으로 腫瘍 細胞가 浸潤되어 있었으며, 주로 肝門脈 部位에 中等度(++: moderate)의 轉移가 이루어졌고 肺臟에 있어서는 全體 組織에 多發性的의 組織結節이 觀察되었는데 특히 血管, 氣管支 周圍, 肺胞壁 등에 심하게(+++: severe) 轉移가 이루어졌고 癌細胞 轉移에 의한 炎症 反應도 中等度로(++) 나타났다. 葦莖湯群은 肝門脈에 小數의 腫瘍細胞가 浸潤되어 나타났고, 肝門脈 部位에 매우 적은 (+: mild) 轉移가 이루어졌으며, 肺臟에 있어서는 肺臟의 實質 組織에 境界가 明確한 腫瘍 結節이 觀察되었고 肺臟의 血管과 氣管支 周圍에도 腫瘍 細胞가 浸潤되어 있었으며, 血管, 氣管支 周圍에는 中等度(++)의 轉移가 이루어졌고 肺胞壁에서는 심한(+++: severe) 轉移가 이루어졌고, 癌細胞 轉移에 의한 炎症 反應은 中等度로(++: moderate) 나타났다. 葦莖湯-I 群은 肝臟에 있어서는 轉移에 의한 病變을 찾을 수 없었고, 葦莖湯群과 마찬가지로 肺臟에 있어서는 肺臟의 實質 組織에 境界가 明確한 腫瘍 結節이 觀察되었고 肺臟의 血管과 氣管支 周圍에도 腫瘍細胞가 浸潤되어 있었으며, 血管, 氣管支 周圍, 肺胞壁 등에 매우 적은(+) 轉移가 이루어졌고 癌細胞 轉移에 의한 炎症 反應도 매우 적은 것으로 나타났다. 葦莖湯-II 群은 肝細胞 周圍에 局所的으로 적은 수의 腫瘍 細胞가 浸潤되어 있으며, 好中救의 浸潤이 觀察되었고 轉移 정도는 매우 적은 것으로 나타났으며 肺臟에 있어서는 肺胞壁이 肥厚되어 있었고 局限性으로 腫瘍 細胞가 小數 浸潤되어 있었으며 血管과 氣管支

周圍에는 轉移가 이루어지지 않았고 炎症 反應도 나타나지 않았다.

以上の 結果로 보아 모든 實驗群에서 癌細胞 轉移 抑制 效果가 있다고 할 수 있으며, 특히 葦莖湯-I, 葦莖湯-II에서 보다 效果的인 것으로 보여진다.

## V. 結 論

肺癰의 代表方인 《備急千金要方》의 葦莖湯(WKT)과 白花蛇舌草와 魚腥草를 各各 加味한 葦莖湯加白花蛇舌草(WKT-I)와 葦莖湯加魚腥草(WKT-II)의 抗癌效果를 實驗적으로 糾明하기 위하여 黑色種 肺癌株인 B16-F<sub>0</sub>를 이용하여 in vitro에서 抗腫瘍 效果 및 抗癌劑 cyclophosphamide(CPM), cisplatin(CPT), 5-fluorouracil(5-FU) 등과의 相乘作用을 MTT法에 의해 살펴 보고 動物 實驗에서는 C57BL/6에 尾靜脈 注射하여 生命延長率, 體重變化, 血液變化 및 組織變化 등을 通해 抗癌 效果를 檢討하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. B16-F<sub>0</sub>에 대한 細胞毒性的의 測定에서 對照群에 비해 55%以下의 細胞成長抑制를 나타낸 濃度는 葦莖湯 10<sup>-3</sup>g/ml 濃度, CPM과의 相乘 效果에서는 모든 實驗群의 10<sup>-4</sup>g/ml 以上 濃度, CPT와의 相乘 效果에서는 WKT의 10<sup>-4</sup>g/ml 以上 濃度, WKT-I의 10<sup>-3</sup>g/ml 濃度에서 認定 되었다.

2. B16-Fo가 移植된 C57BL/6의 體重變化는 對照群에 비해 모든 實驗群에서 有意性 있게 抑制 되었다.
3. 血小板數는 모든 實驗群이 對照群에 비하여 有意性 있는 增加를 나타냈고, 血小板凝集反應에서는 WKT를 除外한 모든 實驗群에서 有意性 있는 增加를 보였으며, WBC는 異常的으로 增加된 對照群에 비해 有意性 있게 抑制되었고, RBC, hemoglobin은 모든 實驗群에서 큰 變化가 없었다.
4. 組織變化에서 對照群은 肝門脈 部位와 肺臟 組織, 血管, 氣管支 周圍, 肺泡壁 등에 甚하게 轉移가 이루어졌으나 實驗群중 葦莖湯-I 群은 肝臟 轉移에서, 葦莖湯-II 群은 肺臟 轉移에서 보다 效果的인 것으로 나타났다.

以上の 結果로 보아 葦莖湯, 葦莖湯加魚腥草, 葦莖湯加白花蛇舌草등의 모든 實驗群이 肺癌株에 對해 抗腫瘍 效果를 나타냈으며, 抗癌劑와의 相乘 效果에서는 cyclophosphamide와 cisplatin과 併用 하거나 葦莖湯에 魚腥草나 白花蛇舌草를 加味하면 보다 效果的인 肺癌 治療를 할 수 있을 것으로 忖料된다.

### 參考文獻

1. 孫思邈 : 備急千金要方, 大成文化史, p.316, 1980.
2. 中醫學研究院 : 中醫大辭典, 人民衛生出版社, pp.88,1980.
3. 李尙仁譯 : 天真處方解說, 서울, 成輔社, p.292, 1987.
4. 李珩九, 鄭昇杞 : 東醫肺系內科學, 서울, 民瑞出版社, pp.34-35, 1990
5. 徐學山 : 醫學門徑, 臺北, 新文農出版公司, pp.264-265, 1984
6. 楊蘊祥, 劉翠榮 : 古今名方, 河南, 河南科學技術出版社, pp.835-841, 1985.
7. 程國彭 : 醫學心悟, 文光圖書有限公司, pp.226-227, 1988.
8. 魏之琇 : 續名醫類案, 北京, 人民衛生出版社, pp.835-841, 1982.
9. 張機 : 仲景全書, 서울, 大星文化社, pp. 373-378, 1988.
10. 丹波元堅 : 雜病廣要, 北京, 人民衛生出版社, p.237, pp.672-678, 1980.
11. 朴炳昆 : 韓方臨床40年, 서울, 大光文化史, p.82, 1990.
12. 吳玉生 : 如何診治原發性肝癌, 新中醫, No.9, Vol 21, p.55,1989.
13. 史恒軍 外 : 吳一純教授治療肺癌的經驗介紹, 新中醫, Vol 26, No.7, pp.4-5, 1994.
14. 陳玉琨, 吳玉生 : 除痰祛瘀法治肺癌的理論認識及臨床應用, 新中醫, Vol 25, No.1, pp.10-12, 1993.
15. 張民廣 主編 : 腫瘤良方大全, 安徽科學記述出版社出版, pp.57-58, p.68, 1994.
16. 朴재갑 : 人間生命科學, 서울, 서울대학교출판부, p.392, 394, 642, 644, 1994.
17. 金春元 : 病理學, 서울, 新光出版社, pp.137-138, 1989.

18. 洪元植：精校黃帝內經，서울，東洋醫學研究院出版部，p.44, 77, 94, 215, 1981.
19. 張機：金匱要略，中國醫學言書，p.339-400. 1987.
20. 扁鵲：難經，昭人出版社，pp.187-193, 1985.
21. 陳言：三因方，台聯國風出版社，pp.67-69, 1977.
22. 金光一 등：“華蓋散이 GUINEA PIG의 氣管支 平滑筋에 미치는 影響”，慶熙大學校韓醫科大學 論文集，Vol 9, pp.89-97.1986.
23. 朴忍秀：“解表兩陳湯 및 解表二陳湯이 GUINEA PIG의 氣管支 平滑筋에 미치는 影響”，慶熙大學校 韓醫科大學論文集，Vol.11, pp.23-35. 1988.
24. 鄭聖滿：滋陰降火湯 및 滋陰降火湯加減이 實驗的 肺損傷과 止血에 미치는 影響
25. 金聖洙：鹿補散의 呼吸器 疾患 豫防 效果에 관한 研究，慶熙大學校韓醫科大學論文集，Vol12, pp.163-178. 1989.
26. 李尙仁：本草學，서울，修書苑，pp. 54, 58-60, 101-103, 203-204, 221-222, 279-281, 288-289, 303-304, 329-330, 338-340, 352-354, 355, 461-467, 488-489, 490-491, 497-498, 514-515, 520-521, 545-546, 1981.
27. 唐慎微：經史證類備用本草，서울，大成文化史，pp.108, 148, 178-179, 197, 204-205, 210, 249, 271, 275, 301, 323, 472, 473, 1983.
28. 上海中醫學院：中草藥學，香港，商務印書館，pp. 32-34, 42-44, 96-97, 98-100, 103, 137-139, 139-140, 150-151, 155-156, 239, 242, 353-354, 378-381, 469-470, 476, 479, 494, 504-505, 518, 528, 565, 578, 1985.
29. 江蘇新醫學院：中藥大辭典，香港，商務印書館，pp.567-573, 592-594, p.761, p.856, pp.985-987, 1077-1079, 1100-1103, 1340-1341, 1366-1369, 1403-1441, 1439-1441, 1507-1508, 1782-1784, 1787-1789, 1968-1970, 2036-2040, 2645-2647, 1978.
30. 李時珍：本草綱目，서울，高文社，pp. 317-320, 403-405, p.415, pp.459-460, 484-487, 584-585, 614-615, 631-632, 735-738, p.857, pp.925-926, 952-953, p.996, p.421, pp.960-961, p.971, pp.988-991, p.1180, 1188, 1983.
31. 張隱庵，葉天士，陳修園：本草三家合註，서울，成輔社，p.16, 57, pp.56-57, p.62, p.115, pp.118-119, 127-128, p.131, pp.137-138, 141-142, 168-169, 1981.
32. Tada, H., Shiho, O., Kurshima, K., Koyama, M. and Tsukamoto, K. : An improved colorimetric assay for interleukin 2. J. Immunol. Methods 93,157(1986)
33. Carmichael, J., DeGraff, W. G., Gazdar, A. F., Minna, J. D. and Mitchell, J. B. : Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay : Assessment of chemosensitivity testing. Cancer Res. 47, 936(1987)
34. 金井泉 外：臨床検査法提要，서울，高文社，p.242, 298, 303, 1112, 1149, 1984.
35. P.Gresele, C. Zoja, H. Deckmyn, J. Arnount, J. Vermynen and M. Verstre: Dipyridamole Inhibits platelet aggregation

- in whole blood, Thrombo Hemostas(Stuttgart) 50(4), pp852-856,1983.
36. 대한 병리학회 : 病理學, 서울, 고문사, pp. 621~627, 1989.
  37. 서울대학교醫科大學 : 腫瘍學, 서울, 서울대학교出版社, pp.1-2, 91-95, p.126, 1990.
  38. 洪元植 : 現代中共의 癌治療. 英文社, p.175. 1980.
  39. 賈 堃 : 癌瘤方法研究, 서울, 成輔社, p.25, 1984
  40. 錢伯文 : 腫瘤的 辨證施治, 上海, 上海科學技術出版社, pp.1-10, 48-63.
  41. 嚴用和 : 濟生方, 人民衛生出版社, pp.542, 1985.
  42. 吳 謙 : 醫宗金鑑, 卷(下), 서울, 大星文化社, pp.255-259, 1983.
  43. 張從正 : 儒門事親, 서울, 高麗醫學, 3:4, 1985.
  44. 梁興才 : 健脾補氣常用藥防治癌症研究綜述, 中醫藥信息, 3:17-19, 1988.
  45. 劉敘儀 : 六味地黃丸或金櫃腎氣丸補助治療小細胞肺癌的療效觀察, 中西醫結合雜誌, 12:720-722, 1990.
  46. 陳紹東 : 治癌芻議, 上海中醫藥雜誌, 4:12-13, 1989.
  47. 姜延良 外 : 癌의 治法, 治方 및 治療藥物에 關한 文獻의 考察, 大韓漢醫學會誌, 10:161-166, 1989.
  48. 周國平 : 癌證秘方驗方偏方大全, 中國醫藥科技出版社, pp. 61, 76, 1994.
  49. 李東伯 : 流注寶鑑, 第一文化社, pp301-304, 1988.
  50. 李文鎬 外 : 內科學, 金剛文化社, pp.1613-1619. 1988.
  51. 서울대학교 醫科大學 : 呼吸器學, 서울대학교出版部, pp.263-278, 1988
  52. Mahlon H, Delp. M. D, Robert T, Manning M. D. : Physical Diagnosis, pp.222-223, 1981.
  53. 蔡炳允 : 韓方外科, 高文社, p.186.1988
  54. 李珩九 : 東醫肺系內科學, 民瑞出版社, pp.234-241, 1990.
  55. 尙德俊 : 實用中醫 外科學, 一中社, pp.478-481, 1986
  56. 張錦清. 遊士勳 : 實用中醫方劑學. 藥壁出版社. p.477. 1937.
  57. Gilman, A. G., Rall, T. W., Nies, A. and Tatlor, P. : Goodman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Maxwell Macmillan, 8th, p.1202, 1991.
  58. 朱王基 : 藥物學, 서울, 文聖社, p.624, 1992.
  59. K.Tanaka, S. Kohga et al. : Effect of ticlopidine on blood-borne metastasis, K, Hellmann, Matastasis(Clinical and experimental aspect), p.147, 1980.