

# 托裏消毒飲의 抗腫瘍 效果 및 免疫調節反應에 關한 研究

梁 起 鎬\*

## ABSTRACT

### Study on Effect of *Takrisodokyeum* Extract on Antitumoral Activity and Immune Response

Yang, Ki-Ho

Dept. of Oriental Medicine  
Graduate School of Wonkwang Univ.  
(Directed by Prof. Kang, Soon-Soo)

This study was carried out to evaluate the possible therapeutic or antitumoral effects of *Takrisodokyeum* extract against tumor, and immunomodulatory effect. Some kinds of tumor were induced by the typical application of 3-methylcholanthrene (MCA) or by the implantation(s.c) of malignant tumor cells such as leukemia cells(3LL cells) or sarcoma cells(S-180 and FasII cells). Treatment of the *Takrisodokyeum* water-extract (daily 1mg/mouse, i. p.) was continued for 7 days prior to tumor induction and after that the treatment was lasted for 15 days.

Against squamous cell carcinoma induced by MCA, *Takrisodokyeum* decreased not only the frequency of tumor production but also the number and the weight of tumors per

tumor bearing mice (TBM).

*Takrisodokyeum* also significantly suppressed the development of 3LL cell and S-180 cell by frequency and their size, and some developed tumors were regressed by the continuous treatment of *Takrisodokyeum* extract into TBM. However, when tumor was induced by FsaII cell-implantation, the growth of implanted cells in mice was delayed by the water extract of *Takrisodokyeum* until day 7 and then rapid growth ensued. In vitro, treatment of *Takrisodokyeum* extract had no effect on the growth of some kind of cell lines such as FsaII, A431 strain but significantly inhibited the proliferation of 3LL, S-180 cells. *Takrisodokyeum* also stimulated the migrative ability of leucocyte, the MIF and IL

\* 세명대학교 방재학 교실

2-production of T lymphocytes, but not IL 6 production of B cells. *Takrisodokyeum* enhanced Arthus reaction and DTH to sheep erythrocytes, and NK cells activities. These results demonstrated that *Takrisodokyeum* extract different results according to the type of tumor cells. And these results also suggested that antitumor effect of *Takrisodokyeum* might be chiefly due to nonspecific enhancement of NK cell activities and cell-mediated immune responses.

## I. 緒 論

托裏消毒飲은 明代 龔의 《萬病回春》<sup>9)</sup>에 “治一切癰疽六七日未消者 服此藥 瘡未成即消 已成即潰”라고 收錄된 以來로 東醫寶鑑等<sup>1-8, 11)</sup> 歷代醫書에서 癰疽治療에 活用되어 온 處方이다. 《靈樞·癰疽篇》<sup>67)</sup>에 “營衛稽留于經脈之中則血泣而不行 不行則衛氣從之而不通 壅遏而不得行 故熱 大熱不止 熱勝則肉腐 肉腐則爲膿 然不能陷 骨髓不爲焦枯 五臟不爲傷 故名曰癰. 熱氣淳盛 下陷肌膚 筋髓枯內連五臟 血氣竭 當其癰下 筋骨良肉皆無餘 故名曰疽. 疽者 上之皮夭以堅 上如牛領之皮. 癰者其皮上薄以澤. 此其候也”라 하여 癰疽는 韓醫學의으로 肌肉, 骨髓, 臟腑部位에서 局部的으로 發熱, 發赤, 堅硬, 腫痛, 患部の 陷沒突起 및 化膿 等の 樣相을 나타내는 症狀이며 西洋醫學의으로는 病原性 微生物의 感染으로 毛細血管의 擴張과 血液 및 體液의 貯溜로 發熱, 浮腫, 疼痛, 機能失調 等の 症狀을 隨伴하는 炎症性 疾患과 肌肉의 異常 增殖으로 인한 腫瘍性 疾患의 範疇에 該當된다.<sup>12-19)</sup>

腫瘍이란 組織의 自律的인 過剩的 成長이며 個體에 對하여 意義가 없거나 이롭지 않을 뿐더러 正常組織에 對하여 破壞的인 것으로, 臨床 및 病理形態學的 所見에 의하여 良性腫瘍과 惡性腫瘍으로 區分되며 惡性腫瘍을 通상 癌이라고 한다.<sup>20)</sup>

한편 最近까지 托裏消毒飲에 對한 實驗的 研究로는 洪<sup>25-26)</sup>의 托裏消毒飲의 抗菌作用, 生體의 綠膿菌에 對한 托裏消毒飲의 效果, 姜<sup>27)</sup>의 托裏消毒飲의 消炎作用에 對한 實驗的 研究, 安<sup>28)</sup>의 托裏消毒飲의 마우스의 緬羊赤血球에 對한 免疫反應에 미치는 影響에 對한 研究는 多數 있었으나 아직까지 腫瘍과 免疫調節反應에 對한 研究는 報告된 바 없었다.

현재 中國 等에서는 西醫學的인 癌治療과 병행하여 韓藥을 活用하므로써 癌治療의 效率을 높이고 生存率을 增加시키며, 西醫學的인 癌治療로 인한 副作用을 줄이는 治療法으로 많이 利用하고 있지만,<sup>79-83)</sup> 國內에서는 抗腫瘍 效果는 또는 生物反應變造製(BRM; biological response modifier)效果가 있을 것으로 알려진 藥物과 處方들이 있음에도 불구하고 이들에 對한 體系的인 檢討가 없었을 뿐만 아니라 실제로 그러한 藥物들이 어떤 種類의 生物學的인 特性을 가지고 있는지에 對한 研究가 거의 이루어지지 않은 실정인 것이다.

그리하여 癰疽의 治療方劑인 托裏消毒飲의 抗腫瘍作用과 그에 따른 BRM의 作用等을 살펴봄으로써 免疫調節機能이 있는지에 對하여 研究할 必要性이 있었던 것이다.

이에 著者는 托裏消毒飲이 細胞의 增殖과 機能에 影響을 주는 外部刺戟中의 하나로 알려진 BRM으로서 作用과 抗腫瘍 作用이 있는가를 알아보고자 하였다. 그리하여 本

實驗에서는 마우스를 대상으로 강력한 發癌性 化學物質인 3-MCA로 腫瘍을 誘導하고, 또한 leukemia cell line인 3LL cell과 sarcoma cell line인 S-180 cell, Fsa II cell을 皮下에 이식하여 腫瘍의 發生을 誘導하면서 癌發生 및 그 經過에 미치는 托裏消毒飲 抽出液의 影響을 평가하고, 아울러 그 免疫調節作用을 규명하기 위하여 癌腫細胞의 增殖에 미치는 影響과 生體免疫反應에 미치는 影響을 評價하였던 바 有意性이 있었기에 그 結果를 報告하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 藥材

實驗에 사용한 托裏消毒飲의 藥劑 구성과 분량은 東醫寶鑑에 준하였다. 藥材는 圓光大學校 附屬 韓方病院에서 구입한 후 精選하여 사용하였다. 托裏消毒飲의 處方 내용과 1貼 分量은 다음과 같다.

Drug name	Weight <sup>a)</sup>	
	chun <sup>b)</sup>	Gram
Lonicerae Flos(金銀花)	3.0	11.25
Aurantii nobilis Pericarpium(陳皮)	3.0	11.25
Astragali Radix(黃芪)*	2.0	7.50
Trichosanthes Radix(天花粉)	2.0	7.50
Phellopteri Radix(防風)	1.0	3.75
Angelicae gigantis Radix(當歸)	1.0	3.75
Cnidii Rhizoma(川芎)	1.0	3.75

Angelicae davuricae Radix(白芷)	1.0	3.75
Platycodi Radix(桔梗)	1.0	3.75
Machili Cortex(厚朴)	1.0	3.75
Manis Squama(穿山甲)**	1.0	3.75
Gleditschiae Spina(皂角刺)**	1.0	3.75
Total	18.0	67.50

a) One package of prepared Takrisodokyeum.

b) 1chun=3.75g

\* Parched herb medicine with salt water.

\*\* Parched herb medicine.

### 2) 動物

실험 목적에 따라 生後 7~8週된 ICR마우스와 C57BL/6마우스를 암수 구별없이 사용하였고 實驗群 및 對照群은 항상 同性(sex-matched)으로 하였다. 이들에 물과 사료를 자유로이 공급하면서 1週 이상 실험실 환경(온도는  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도는 40~60%, 12시간 간격의 명암조절)에 적응시킨 후 사용하였다.

## 2. 方法

### 1) 試料의 제조

托裏消毒飲 분말 400g을 5,000ml round flask에 증류수 3,000ml와 함께 넣고 냉각기를 부착시켜 重湯으로 2시간동안 가열하여 여과한 후 rotary vacuum evaporator에서 200ml로 減壓 濃縮하고 濃縮된 試料를 凍結 乾燥器(freeze dryer)를 이용하여 건조한 후 57.5g의 試料를 얻어 필요한 濃度로 溶解하여 사용하였다.

## 2) 細胞의 준비

單核細胞의 준비는 마우스의 扁桃腺 또는 脾臟에서 각각 얻어 이를 Hank's balanced salt solution(HBSS, Irvin Scientific)에서 조심스럽게 teasing하여 細胞 浮遊液을 만든 다음 통상의 Ficol-Diatrizoate(Pharmacia) 濃度區配法에 의하여 單核細胞만을 분리하고 이를 HBSS로 세척한 후 2mM의 glutamin과 80 $\mu$ g/ml의 gentamicin 그리고 牛胎兒血清(FCS, Gibco)이 함유되어 있는 RPMI 1640(이하 RPMI라 略함)에 2 $\times$ 10<sup>6</sup>cells/ml의 濃度로 浮遊하여 만들었다.

림프구 분리는 사람 扁桃腺으로부터 얻은 單核細胞를 plastic culture dish(10 $\times$ 20mm, costar)에 넣어 37 $^{\circ}$ C에서 1시간씩 2회 방치하여 單核球의 附着을 誘導, 제거한 후 2-aminoethylisothiuronium bromide(AET, Sigma)로 처리된 綿羊赤血球(AET-SRBC)를 이용한 rosette형성법을 사용하였다. 이 때 SRBC와 rosette를 형성한 細胞를 T細胞로, 그리고 non-rosette細胞를 B細胞로 간주하였다. 이와 같이 준비한 T 및 B細胞는 각각 RPMI에 1 $\times$ 10<sup>6</sup>cells/ml로 浮遊하여 사용하였다.

한편, 本 실험에 사용한 細胞柱는 本 敎室에서 繼代中인 S180, 3LL, A431, Yac1 등의 細胞들로 이들 細胞를 RPMI에 浮遊하여 사용하였다.

## 3) 腫瘍의 誘導

托裏消毒飲 抽出液(1mg/ml)을 腹腔內로 7일간 투여한 마우스群(實驗群)과 托裏消毒飲 抽出液 대신 같은 양의 생리식염수를 동일 기간 투여한 마우스群(對照群)으로 나누어 發癌物質誘導-腫瘍發生 실험과 癌腫細胞 移植-腫瘍發生 실험에 사용하였다. 發癌

物質誘導-腫瘍發生 실험은 Lee 등<sup>99, 102</sup>의 방법대로 acetone에 용해시켜 제조한 0.4% 3-methylcholanthrene (MCA, Eastman Kodak)용액 0.2ml를 각 마우스의 면도된 背部 皮膚에 주 3회씩 2개월간 日週期 變動(diurnal variation)을 제거하기 위하여 오전 11~12시 사이에 局所塗布하여 癌 發生을 誘導하였다.

癌腫細胞 이식에 의한 腫瘍發生 실험은 Moorikawa 등<sup>100</sup>의 방법대로 對數增殖期の leukemia cell line인 3LL, sarcoma cell line인 S180細胞 및 Fsa II細胞(각각 1 $\times$ 10<sup>6</sup>cells/mouse)를 면도된 背部 皮下에 이식시켜 腫瘍發生을 誘導하였다.

托裏消毒飲 抽出液의 癌 發生 예방효과 판정은 腫瘍誘導에 의하여 형성된 응어리(mass)를 육안적으로 관찰한 후 各 群別 腫瘍 發生率, 마우스 당 發生된 腫瘍의 크기 등을 經時的 방법으로 측정하였다.

## 4) 細胞柱의 增殖能 측정

MTT assay법<sup>101</sup>으로 측정하였다. 즉 對數增殖期の A431, S180, 3LL 및 Fsa II細胞를 RPMI에 각각 1 $\times$ 10<sup>5</sup>cells/ml되도록 浮遊하여 그 浮遊液의 0.1ml를 round-bottomed microculture plate의 각 well에 넣은 후 여기에 여러 농도의 托裏消毒飲 抽出液을 첨가하여 well당 총량이 0.2ml씩 되도록 조정하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>培養器에 넣어 20시간 培養하였다. 그 후 10 $\mu$ l의 MTT(3-[4, 5-dimethyl thiazol-2-y]-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma, 5mg/ml in saline)를 각 well에 가하고 plate를 aluminium foil로 밀폐하여 4시간 동안 놓아두어 formazan crystal의 형성을 誘導하였다. 이어 plate를 275 $\times$ g에서 5분간 遠心分離하여 상층을 조심스럽

게 제거하고 formazan crystal을 용해하기 위하여 150 $\mu$ l의 dimethylsulphoxide(DMSO, Sigma)를 가하여 5~15분 동안 흔들어서 완전 용해시켰다. 이어 microplate spectrophometer(TOYO)를 이용하여 540nm파장에서 吸光度를 측정하였다.

### 5) NK細胞의 活性 측정

Lee 等<sup>99, 102)</sup>이 응용한 single cell level assay 방법에 準하여 실시하였다. 1% agarose (electrophoresis grade, Grand Island Biological Co)를 증류 고압멸균한 후 45°C 恒溫槽에 보관하고 여기에 2배 농도의 RPMI를 같은 양을 가하여 0.5% agarose액을 만들었다. 그 후 이를 2ml의 pyrex試驗管에 分注하여 40°C 恒溫槽에서 液狀을 유지하면서 실험에 사용하였다. 作動細胞로는 여러 농도의 托裏消毒飲 抽出液으로 1시간 동안 前處理한 마우스의 脾臟細胞를, 標的細胞로는 마우스의 lymphoma cell line인 Yac1 細胞를 사용하였는데 이들 細胞의 농도를 5 $\times$ 10<sup>6</sup>cells/ml가 되도록 하고 혼합한 후 즉시 0.2ml씩을 미리 0.2% agarose로 coating한 組織培養用 plastic plate(Falcon)에 分注하여 균등하게 퍼지도록 한 후 실온에서 약 2분간 방치하여 응고시켰다. 여기에 agarose가 마르지 않게 하기 위하여 RPMI 1640 1ml를 重層시켜 37°C, 5% CO<sub>2</sub>培養器에서 3시간 동안 恒溫 培養하였다. 아울러 作動細胞 또는 標的細胞만을 單순 分注한 뒤 對照 平板에 함께 培養하였다. 3시간 培養 후 agarose 平板에 重層시켰던 培紙를 제거하고 0.1% trypan blue sol 2ml을 부어 실온에서 5분간 염색한 다음 염색액을 제거하고 다시 5ml의 RPMI 1640을 각 平板에 加하여 5분 동안 탈색시켰다. 그 후 平板내의 RPMI를 제거하

고 2% formalin이 함유된 식염수 1ml을 가하여 細胞를 固定시킨 후 400배율로 檢鏡하여 conjugated cell에 대한 염색된 標的細胞의 백분율을 계산하였는데, 다음 공식에 의하여 NK細胞의 백분율을 구하였다.

$$\% \text{ of NK cells} = \% \text{ of conjugated lymphocytes} \times \% \text{ of conjugated target cells lysed} / 100$$

### 6) 足蹠腫脹反應 검사와 凝集素 力價 측정

本 실험에서는 綿羊赤血球(SRBC)를 抗原으로 사용하였다. SRBC는 綿羊의 頸靜脈으로부터 採血하여 같은 量의 Alsever's(pH 6.1)solution을 가하여 4°C에 보존하면서 2주일 이내의 것을 사용하였다. 免疫誘導는 SRBC浮遊液(1 $\times$ 10<sup>8</sup>cells/ml) 0.1ml를 마우스의 尾靜脈內에 注射하여 實施하였으며, 足蹠腫脹反應 검사는 免疫 4일에 20% SRBC浮遊液 0.03ml를 좌측 足蹠 皮內에 感作하고 24시간 및 48시간에 microcaliper로 측정하여 腫脹度を 평가하였다. SRBC에 대한 凝集素 力價측정은 SRBC로 感作한 7일에 마우스 眼窩部에서 採血하여 血清을 분리한 다음 微細滴定(microtitration)法<sup>97)</sup>으로 실시하였다. 이 때 托裏消毒飲 抽出液이 足蹠腫脹反應 및 抗體生産能에 미치는 영향을 평가하기 위해서 각 群의 마우스에 托裏消毒飲 抽出液(1mg/mouse)을 SRBC로 마우스를 感作하기 前, 後 4일간 腹腔內에 투여하였다.

### 7) 單核細胞 및 림프구 增殖能 측정

마우스의 脾臟에서 얻은 細胞와 사람의 扁桃腺에서 얻는 lymphocytes를 S. aureus Cowan 1(SAC, 0.0075% v/v, Calbio-chemical), PHA(5 $\mu$ g/ml, Sigma)로 각각 자극하여 flat bottomed 96 well culture plate의 각 well

에 分注하고 여기에 여러 농도의 托裏消毒飲 抽出液을 가하여 well당 총량이 0.2ml씩 되도록 조정하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>培養器에 넣어 72시간 동안 培養하였다. 이 때 培養細胞의 [3H]-thymine([3H]TdR, specific activity : 20Ci/mmol, New England Nuclear) pulse측정은 0.5uCi의 [3H]TdR를 각 well에 培養종료 12시간 전에 加하여 실시하였으며, [3H]TdR incorporation측정에는 multiple cell harvester로 glass fiber에 細胞를 收穫한 후 방사능 분포를 조사하는 장치인 liquid scintillation counter(Beckman)를 이용하였다. 한편, 托裏消毒飲 抽出液 첨가시간에 따른 細胞의 增殖能을 평가하기 위해서 上記한 유사분열 촉진물질인 mitogen을 刺戟細胞의 培養과 동시에 또는 培養 후 12,24시간에 托裏消毒飲 抽出液을 각각 加하였다.

#### 8) Lymphokine생산

준비된 單核細胞( $2 \times 10^6$  cells/ml)로부터 IL-2 및 MIF를 생산하기 위해서는 Con-A sepharose(10 $\mu$ g/ml, Sigma)로, IL-6생산을 위해서는 SAC(0.0075% v/v)으로 자극하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>培養器에서 40시간 동안 培養하였다. 이것을 500 $\times$ g로 원심분리하여 上清液을 取하였다. 托裏消毒飲 抽出液은 培養초기에 첨가하였으며, 上清液內의 力價 檢定은 後述한 바와 같은 방법으로 各 lymphokine에 대응하는 細胞를 標的細胞로 하여 실시하였다.

IL-2力價 檢定 : IL-2의존성 細胞는 本 교실에서 繼代保存中인 마우스로부터 얻은 T細胞柱인 CTLL2를 사용하였다. 力價 檢定은 繼代中인 이들 細胞를 RPMI로 3회 遠心分離하고 세척한 다음 RPMI에  $5 \times 10^4$  cells/ml의 농도로 浮遊하여 그 0.1ml을 flat bot-

tomed culture plate의 각 well에 넣었다. 이어 各 well에 系列 稀釋한 上記 Con-A자극 細胞 培養液을 0.1ml씩 加하여 총량이 well당 0.2ml되게 하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>培養器에서 24시간 동안 培養하였다. [3H]TdR의 pulse 측정은 培養 終了 4시간 전에 실시하였으며, pulse의 양, harvest 및 counting 방법은 單核細胞 增殖能 측정에서와 같은 방법으로 실시하였다.

IL-6力價 檢定 : IL-6 의존성 細胞는 일본 Riken cell bank에서 분양받은 MH60BSF2 細胞를 사용하였다. SAC 자극細胞 培養液內의 IL-6 力價 檢定은 IL-2 力價 檢定에서와 동일한 수준으로 실시하였다. MIF 力價 檢定 : 白血球 流走試驗의 標的細胞는 닭의 白血球를 사용하였다. 標的細胞의 준비는 닭의 靜脈血을 얻어 80 $\times$ g(500rpm)으로 10분간 遠心分離하여 白血球 연층을 얻은 후 이를 500 $\times$ g으로 10분간 2회 HBSS로 세척하고 최종 농도가  $7 \times 10^6$  cells/ml가 되도록 RPMI 1640에 浮遊하여 사용하였다. 流走試驗은 70 $\mu$ l 微細試驗管에 미리 준비한 標的細胞 浮遊液을 채워넣고 그 한 끝을 불꽃으로 밀봉하여 10분간 500 $\times$ g으로 遠心分離한 후 細胞가 들어있지 않은 毛細試驗管 부분을 절단 제거하였다. 그 후 이를 plastic petri-dish에 넣어 silicon grease로 부착시킨 다음 系列 稀釋한 上記 Con A 刺戟細胞培養 上清液을 가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>培養器에 20시간 동안 培養하고 流走面積을 測面器(planimeter)로 측정하였다. 이 때 各 시료마다 5개의 毛細試驗管과 petri-dish를 사용하였다.

#### 9) 통계처리

통계처리는 unpaired student's test에 準하였고, 實驗值의 표현은 평균  $\pm$  표준오차로

하였으며, p-value가 최대치 0.05以下인 경우를 有意한 것으로 판정하였다.

### Ⅲ. 成 績

#### 1. 托裏消毒飲 抽出液이 MCA로 誘導한 腫瘍發生에 미치는 影響

實驗群의 마우스와 對照群의 마우스의 등쪽 皮膚에 MCA를 발라서 squamous cell carcinoma의 發生을 誘導한 후 腫瘍發生率을 측정하였다. 각각의 腫瘍마우스(TBM)마다 腫瘍의 수 및 腫瘍의 무게를 측정한 결과는 Table 1과 같았다. 즉, 對照群의 腫瘍發生率(42%), TBM당 腫瘍의 수(1.8개), 腫瘍의 무게(11.2mg) 비하여 實驗群에서의 腫瘍發生率(34%), TBM당 腫瘍의 수(1.2개), 腫瘍의 무게(10.3mg)가 각각 對照群에 비하여 MCA로 誘導된 癌 發生뿐만 아니라 發生된 癌腫의 增殖이 저하되어졌음을 보여주었다.

Table 1. Effect of *Takrisodokyeum*(托裏消毒飲) extract on the tumorigenesis 9 weeks after the first MCA-application to mice

Group	Saline	TSY extract
No. of mice	50	50
Incidence of tumor (%)	21(42)	17(34)
No. of tumor per TBM	1.8	1.2
Wt. per tumor(mg)	11.2±0.7	10.3±0.6
Wt. per largest tumor (mg)	15.4±0.6	12.6±0.7*

Smear of ml 3-methylcholanthrene(MCA) in 0.04% acetone on the shaved back skin, three times a week for 9 weeks with or without concomitant i.p. injection of 1mg of Takriso-

dokyeum extract.

\* means  $p < 0.05$  vs control group.

#### 2. 托裏消毒飲 抽出液이 癌腫細胞 移植에 의한 腫瘍發生에 미치는 影響

實驗群과 對照群 마우스에 3LL, S180 또는 Fsa II 細胞를 면도된 背部 皮下에 移植시킨 후 나타나는 腫瘍의 무게를 육안적으로 측정하였다. 그 결과 3LL 細胞를 移植하였던 경우에는 table 2에서 보는 바와 같이 對照群에 비하여 實驗群에서 腫瘍發生率 뿐만 아니라 腫瘍의 크기가 감소되었다. 특히 實驗群의 일부 腫瘍마우스에서는 관찰기간 동안 腫瘍이 소실되기도 하였다. 한편, S180 細胞 移植에 의한 腫瘍發生率은 Table 3에서 보는 바와 같이 實驗群에서 腫瘍發生率 및 腫瘍의 크기가 對照群의 腫瘍發生率과 腫瘍의 크기에 비하여 저하되었다. 그러나 Fsa II 細胞移植에 의한 腫瘍發生은 Table 4에서 보는 바와 같이 이식 1週까지는 對照群에 비하여 實驗群에서 腫瘍發生率 및 腫瘍의 크기가 감소되었으며, 이식 10일 이후에도 對照群 및 實驗群의 모든 마우스에서 腫瘍이 發生하였으나 크기에 있어서 實驗群이 對照群에 비하여 腫瘍의 크기가 감소하는 경향을 보였다.

Table 2. Effect of *Takisodokyeum*(托裏消毒音) extract on the implanted s.c. with 3LL tumor induction in mice

Days after implantation	Group	% of induction	Tumor size
5	CONT	79.6	52.6±3.2
	TSY-A	66.9	47.9±2.5
	TSY-B	51.5	37.9±2.9*

10	CONT	82.9	98.4±5.1
	TSY-A	68.7	87.1±4.2
	TSY-B	53.6	77.6±3.7*
15	CONT	89.8	215.9±6.2
	TSY-A	77.4	164.9±4.8*
	TSY-B	47.6	128.7±6.3*

Leukemia 3LL cells( $1 \times 10^6$  cells/mouse) were s.c. implanted into mice and then the frequency of tumor induction and tumor size were recorded at the various time interval after implantation. Group:

CONT : Saline treated mice bearing 3LL

TSY-A : *Takrisodokyeum* was treated for 7 days before implantation s.c of 3LL to mice.

TSY-B : *Takrisodokyeum* was treated for 7 days before and for 14 days after implantation s.c of 3LL to mice.

Tumor size was measured as follows:

Tumor Size = major axis(mm) × minor axis (mm)/2

\* means  $p < 0.05$  vs control group

Table 3. Effect of *Takrisodokyeum* (托裏消毒音) extract on the implanted s.c. with 3LL tumor induction in mice

Days after implantation	TSY-treatment	% of induction	Tumor size
5	-	90	69.6±39
	+	70	57.4±3.5
10	-	100	153.2±5.9
	+	80	116.4±5.7*
15	-	100	189.4±7.8
	+	80	138.3±6.2*

*Takrisodokyeum* extract(daily 1mg/mouse

for 7 days) or saline(as a control) were administered to mice bearing S-180 cells( $5 \times 10^6$  cells/mouse) and then at the various time interval, the frequency of tumor induction was observed and the size of tumors was measured as follows:

Tumor Size = major axis(mm) × minor axis (mm)/2

\* means  $p < 0.05$  vs control group

Table 4. Effect of *Takrisodokyeum* (托裏消毒音) extract on the Fsa II implanted s.c. on the back skin of mice

Days after implantation	TSY-treatment	% of induction	Tumor size
5	-	100	45.4±3.2
	+	80	39.6±3.3
10	-	100	89.7±4.2
	+	90	84.5±6.1
15	-	100	125.4±5.2
	+	100	121.6±5.1

*Takrisodokyeum* extract(daily 1mg/mouse for 7 days) or the same volume of saline(control) received mice were s.c. implanted Fsa II cells( $2 \times 10^5$  cells/mouse). At 5, 10 and 15 days after implanatation, the frequency of tumor induction was observed and the tumor size was measured as follows:

Tumor Size = major axis(mm) × minor axis (mm)/2

\* means  $p < 0.05$  vs control group

### 3. 托裏消毒飲 抽出液( $10 \mu\text{g/ml}$ )이 試驗管内 細胞에 대한 細胞毒性

繼代 중인 對數增殖期の 각 細胞柱를 托裏



消毒飲 抽出液(10 $\mu$ g/ml)의 존재하에서 20시간 동안 培養한 결과는 Table 5와 같았다. 즉 A431 細胞의 增殖은 托裏消毒飲 抽出液 존재하에서 92.6%로 큰 영향을 받지 않았으며, Fsa II 細胞는 托裏消毒飲 抽出液을 첨가함으로써 細胞毒性效果가 98.5%를 나타내므로써 큰 영향을 미치지 못했다. 그러나 3LL 및 S180 細胞는 托裏消毒飲 抽出液을 培養器에 첨가함으로써 그 增殖이 각각 73.1% 및 72.4%로 增殖이 억제되었다.

Table 5. Effect of *Takrisodokyeum*(托裏消毒飲) extract on the cytotoxicity against various cell strains in vitro.

Cell strains	% of control
A431	92.6
Fsa II	98.5
3LL	73.1
S-180	72.4

Each cell strains(2 $\times$ 10<sup>5</sup>cells/ml) was cultured in the presence of *Takrisodokyeum* extract(10 $\mu$ g/ml) for 20 hrs. The proliferation responses of each cultured cells were measured by MTT assay, and normalized as % of control.

#### 4. 托裏消毒飲 抽出液이 NK細胞 活性에 미치는 影響

마우스의 脾臟細胞(1 $\times$ 10<sup>6</sup>cells/ml)를 托裏消毒飲 抽出液(1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml, 100 $\mu$ g/ml)으로 1시간 동안 처리한 다음 세척하여 同量의 標的細胞(Yac1)와 혼합한 후 作動 脾臟細胞의 標的細胞에 대한 NK細胞 活性度를 측정한 결과는 Table 6과 같았다. 즉, 托裏消毒飲 抽出液을 처리함으로써 對照群에

비하여 作動細胞의 標的細胞와의 結合能 뿐만 아니라 결합된 標的細胞의 殺害能이 항진되어 NK細胞의 活性度는 증가되었다. 특히 10 $\mu$ g/ml의 托裏消毒飲 抽出液 농도를 투여한 實驗群에서 對照群의 NK細胞 活性度 보다는 더 증가되는 결과를 보였다.

Table 6. Effect of *Takrisodokyeum*(托裏消毒飲) extract on NK cell activity of mouse splenocytes to target cell (Yac1)

TSY extract ( $\mu$ g/ml)	% of conjugated lymphocytes	% of conjugated target cell lysed	% of NK cells
None	2.4 $\pm$ 0.3	55.1 $\pm$ 3.2	1.32
1	2.8 $\pm$ 0.3	56.8 $\pm$ 3.4	1.59
10	3.1 $\pm$ 0.2	59.6 $\pm$ 3.5	1.85
100	2.9 $\pm$ 0.2	62.8 $\pm$ 3.1	1.82

The results are the average percent and standard error of the value from ten to six experiments below for 1:1 effector-target ratio. Effector cells treated for 1 hr at 37 $^{\circ}$ C with above concentration of *Takrisodokyeum* extract just before the addition of target cells.

Percent of NK cells was calculated form % of conjugated lymphocytes $\times$  % of conjugated target cell lysed/100.

#### 5. 托裏消毒飲 抽出液이 足蹠腫脹 反應 및 抗體生産能에 미치는 影響

托裏消毒飲 抽出液이 생체내 免疫反應에 미치는 영향을 평가하기 위하여 마우스를 綿羊赤血球(SRBC)로 免疫하고 托裏消毒飲 抽出液을 免疫前 및 後 각각 4일 동안 투여한 후 足蹠腫脹度로 발현되는 Arthus 반

응과 DTH 반응을 측정하고 血清내의 赤血球凝集抗體를 측정하였다. 그 결과는 Table 7과 같았다. 즉, Arthus 반응, DTH 반응 및 抗體生産反應 모두 對照群에 비하여 實驗群에서 증가하는 경향을 보였다.

Table 7. Effect of Takrisodokyeum(托裏消毒飲) extract on footpad swelling reaction and antibody response of mice to sheep red blood cells

Group	Increase of thickness(1/1000mm)			
	Arthus reaction		DTH at	
			24hr	48hr
Saline	33.5±2.1	37.4±1.9	15.7±1.8	5.8
TSY-extract	41.2±2.2	41.9±2.1	23.6±1.2	6.7

Mice were sensitized i.v. with  $10^7$ SRBC on day 0 and challenged(s.c.) 4 days later. *Takrisodokyeum* extract(1mg/mouse) was administered i.p. for 4 days before and after sensitization.

\* Titer at 7 day after  $10^4$ SRBC(i.p.) sensitization

### 6. 托裏消毒飲이 脾臟單核細胞 및 扁桃림프구의 增殖能에 미치는 影響

마우스 脾臟細胞를 SAC 또는 PHA로 자극하거나 사람扁桃 B림프구를 SAC로, 그리고 사람扁桃 T림프구를 PHA로 자극하여 培養하고, 여러 농도의 托裏消毒飲 抽出液을 첨가하였던 바 그 增殖能은 Table 8에서 보는 바와 같았다. 즉 細胞 모두 mitogen으로 자극한 것과는 무관하게 托裏消毒飲 抽出液을  $256\mu\text{g/ml}$  이상의 고농도를 투여한 實驗群에서는 對照群에 비하여 그 증식이 약간

억제되었으나  $64\mu\text{g/ml}$ 를 투여한 實驗群에서는 對照群과 차이를 보이지 않았고 16, 4 및  $1\mu\text{g/ml}$ 를 투여한 實驗群에서는 증식이 약간 촉진되는 결과를 보였다. 특히  $1\mu\text{g/ml}$ 의 實驗群에서는 그 증식 촉진 정도가 다른 群보다 현저하게 향진되었다.

Table 8. Effect of *Takrisodokyeum*(托裏消毒飲) extract on the proliferation responses of mouse splenocytes and human tonsillar lymphocytes

TSY-extract ( $\mu\text{g/ml}$ )	[3H] TdR Uptake(cpm)			
	Mouse splenocytes		Human lymphocytes	
	SAC	PHA	SAC	PHA
None	2611	21478	24333	43571
1024	1214	12134	12357	24855
256	2328	17465	13436	31345
64	2786	22354	21542	36837
16	3375	24387	23761	42634
4	3198	27162	31353	46726
1	3254	33284	35625	49586

PHA or SAC activated lymphocytes were cultured in the presence of *Takrisodokyeum* extract for 72 hrs.

### 7. 托裏消毒飲 抽出液 첨가시간에 따른 T 및 B 림프구 增殖能

사람扁桃 T 및 B細胞를 각각 PHA 및 SAC로 자극하여 培養하면서 托裏消毒飲 抽出液을 培養과 동시에 또 培養 12시간, 培養 24시간 후에 첨가하였다. 托裏消毒飲 抽出液 첨가시간에 따른 이들 細胞의 증식반응은 Table 9과 같았다. 즉, SAC로 자극한 B細胞의 增殖能은 對照群의 細胞에 비하여 托裏消毒飲 抽出液을 培養과 동시에 첨가하였을

때에 가장 항진되었고, 培養 12시간 후에 첨가한 경우 實驗群에서는 다소 증가되었으며, 培養 24시간 후에 첨가한 實驗群에서는 對照群과 비슷한 양상을 보였다. 한편 PHA로 자극한 T細胞의 增殖能은 對照群에 비하여 實驗群에서 모두 항진되는 경향을 보였으며 그 항진의 정도는 托裏消毒飲 抽出液을 培養과 동시에 첨가하였을 때에 가장 현저하게 나타났다.

Table 9. Effect of *Takrisodokyeum*(托裏消毒飲) extract on the proliferation responses of T and B lymphocytes in human tonsil according to time interval

Adding time related to activation(Hrs)	[3H]TdR Uptake(cpm)	
	B cells to SAC	T cells to PHA
CONT	22716	41735
0	31625	52295
12	26435	45345
24	24324	43381

Human tonsillar B or T cells( $1 \times 10^6$ cells/ml) were activated with SAC(0.0075%v/v) or PHA( $5 \mu\text{g/ml}$ ), respectively and cultured for 72 hrs, *Takrisodokyeum* extract( $1 \mu\text{g/ml}$ ) was added into cultures at the above indicated time. [3H]TdR was pulsed 12 hrs before harvest.

#### 8. 托裏消毒飲 抽出液이 lymphokine생산에 미치는 影響

마우스 脾臟細胞 및 사람扁桃 單核細胞를 Con A-sepharose 또는 SAC로 자극 培養하여 IL-2, MIF 및 IL-6 생산을 誘導하면서

托裏消毒飲 抽出液을 첨가한 결과 托裏消毒飲 抽出液이 이들 細胞의 lymphokine생산에 미치는 영향은 Table 10과 같았다. 즉, 托裏消毒飲 抽出液은 Con A로 자극한 細胞의 IL-2 및 MIF생산능을 촉진시켰으나, SAC로 자극한 細胞의 IL-6 생산능에는 큰 영향을 미치지 않았다.

Table 10. Effect of *Takrisodokyeum*(托裏消毒飲) extract on mitogen induced lymphokine production in human tonsillar mononuclear cells and mouse splenocytes

Cell source	TSY extract ( $\mu\text{g/ml}$ )	% of control		
		IL-2	IL-6	MIF
Human	1	133	102	121
	10	141	107	129
Mouse	1	127	103	122
	10	136	109	145

Results are normalized as % of control.

## IV. 考 察

托裏消毒飲은 癰疽治療에 活用한 處方으로 癰疽의 原因은 內經等<sup>1, 9, 29~33</sup>)에는 膏梁厚味·八風·寒邪·鹹味·營氣不從·五臟不和·九竅不通 및 三陽經에 邪氣侵犯 等이라 하였고, 朱<sup>34</sup>)는 六氣와 七情 外에 熱勝血과 陰陽相滯라고 하였으며, 陳等<sup>23, 35~37</sup>)은 外因으로 外感六淫, 內因으로 七情內傷, 不內外因으로 飲食飢飽·房室過度·叫呼傷氣·虎狼毒蟲·金瘡 等이라 하였고, 劉<sup>38</sup>)는 心火라 하였으며, 李 瞻<sup>10, 39</sup>)은 濕熱로 보았다.

癰疽의 病機는 內經<sup>9, 29~30</sup>)에서는 “寒邪客於經絡之中即血泣 血泣即不通 不通即衛氣歸

之不得復反 故癰疽寒氣化爲熱 熱勝卽肉腐 肉腐卽爲膿 膿不瀉卽爛筋……經脈敗漏 熏於五臟 臟傷故死矣”라고 하였고, 中醫外科學等<sup>40~43)</sup>은 癰疽와 氣血凝滯·營衛不和·邪熱壅聚·經絡阻滯·六腑失調間的 機轉을 言及 하였고, 蔡<sup>44)</sup>는 氣가 病邪로 鬱滯되면 津液이 痰飲을 形成하고 이것이 蓄積되면 脈中으로 滲入하여 血液이 混濁하게 되어 癰을 形成하고 血이 病邪를 받아 鬱結되어 脈外로 滲出될 境遇 氣가 混亂해져 疽를 形成한다고 하였으며, 五臟六腑 또한 營衛循環에 影響을 미쳐 七情이나 飲食傷 등으로 五臟六腑가 不和하면 營衛가 虛해지고 癰疽를 形成한다고 하였다.

이러한 癰疽는 現代醫學의으로 各種 炎症性 疾患 및 腫瘍性 疾患의 範疇와 附隨의으로 부합되는 것이다. 腫瘍과 炎症性 疾患에 나타나는 生物學的인 機轉은 類似한 점이 많다. 韓醫學에서 腫瘍의 範疇에 屬하는 疾病은 積聚, 腫瘍, 腫瘤, 癥瘕, 疔瘡, 腸覃, 痞塊, 石瘕, 血蠱, 噎膈, 反胃, 石疽, 石癰 등을 고려해 볼 수 있을 것이며 각자의 病態에 정의는 틀리지만 현대의학적으로 염증성 질환과 腫瘍 등의 질환과 관련된 부분이 있을 것으로 생각된다.<sup>21~22, 52~53)</sup> 腫瘍의 一般的인 原因과 病理機轉은 瘀血, 憂愁忿怒의 情緒로 인한 氣鬱血瘀, 飲食不節로 인한 宿滯食積, 酒色亂用으로 인한 陰不足 陽有餘 등에 의하여 氣血이 不循環으로써 經絡과 血脈이 阻滯되어 氣聚血凝으로 腫塊가 形成된다고 하였다.<sup>53~55)</sup> 症狀으로는 주로 얼굴에 血色이 없고, 無氣力하며, 全身倦怠感, 食慾不振, 消化不良, 惡心嘔吐, 心窩部飽滿感, 不眠, 脈細無力, 上腹部에 腫塊物 觸知 등이 보인다.<sup>21~22)</sup>

韓醫學에서 나타나는 炎症性 疾患 및 腫

瘍性 疾患의 治療法에 對하여 朱<sup>34)</sup>는 積聚의 治療는 消積의 方法을 쓰되 正氣를 培養하고 清熱, 解毒, 散結시켜야 한다고 하였고, 張<sup>24)</sup>은 正氣의 培養으로 積을 除去할 수 있다 하였으며, 李<sup>56)</sup>는 攻伐之藥을 써서 治療할 때에도 破積藥을 適用하여 元氣를 傷하지 않는 範疇에서 治療를 行해야 한다고 하였다. 近來에는 清熱解毒, 化痰軟堅, 活血祛瘀, 行氣散結, 以毒除毒 등의 祛邪法과 健脾益氣, 健脾補腎, 益氣補血, 滋陰溫陽 등의 扶正法으로 大別<sup>57~59, 61)</sup>되는데, 姜 等<sup>62)</sup>은 病期에 따라 早期에는 攻法으로, 中期에는 攻補兼施를, 晚期에는 扶正法을 爲主로 治療한다 하였다.

韓醫學에서의 논의되는 腫瘍의 治療법 중 大部分의 治療機轉이 免疫力의 回復을 통한 治法으로 傳來되어 왔으며 韓藥의 免疫抑制 및 調節效果에 對한 實驗報告<sup>14, 27~28, 63~64)</sup>가 있으며, 久<sup>65)</sup>는 韓方의 癌治療劑는 癌細胞에 對한 直接的인 作用을 期待하는 것이 아니라 免疫復活, 體力增強, 疼痛緩和 등을 目的으로 使用되는 例가 많다고 했으며, 腫瘍의 治療에 關하여 金<sup>66)</sup>은 歷代文獻의 治法을 健脾, 益氣, 扶正, 養陰, 生津益氣, 補腎, 清熱解毒, 軟堅散結, 活血祛瘀, 化痰 및 抗癌으로 包括한다고 하였다. 그러므로 韓醫學의 治法과 免疫力은 매우 밀접한 聯關性이 있다고 볼 수 있다.

腫瘍의 現代적인 治療法으로는 手術療法, 放射線療法, 化學療法 및 免疫療法 등을 活用하고 있으나 手術療法과 放射線療法은 局所的인 治療法이기 때문에 限界性이 있고, 全身療法인 免疫療法도 현재로는 治療方法이 定立되어 있지 않은 狀態이다.<sup>47~48)</sup> 그러므로 현재의 狀況에서는 化學療法의 重要性이 強調되고 있는데, 化學藥材의 毒性問題

및 各種 副作用 때문에 完全한 治療效果를 期待하기 어려운 事實이다. 이에 抗癌劑의 作用으로 나타나는 各種 副作用을 防止하고 感受성이 높은 藥物의 開發 및 效果的인 治療法의 開發이 要求되고 있다.<sup>49)</sup>

그러나 化學療法劑는 治療效果는 優秀하지만 惡心, 嘔吐, 泄瀉, 腹痛을 비롯하여 骨髓抑制效果와 肝, 心, 腎, 肺의 損傷을 招來하는 副作用을 나타내며,<sup>50~51)</sup> 頻繁한 化學療法劑의 投與로 인한 癌細胞의 藥劑抵抗性 出現 등<sup>20)</sup>이 洋方抗癌劑의 問題點으로 提示되었다. 따라서 扶正祛邪하여 免疫機能을 향상시키면서 消腫하는 作用이 藥物로 構成된 托裏消毒飲을 使用하여 BRM의 效果를 觀察하고자 實驗을 하였다.

托裏消毒飲의 構成藥物은 《萬病回春》<sup>9)</sup>에 의하면 金銀花·陳皮 各 3錢, 天花粉·黃芪(鹽水炒) 各 2錢, 防風·當歸(酒洗)·川芎·白芷·桔梗·厚朴(薑汁炒)·穿山甲(炒成珠)·皂角刺(炒) 各 1錢으로 되어 있다. 各 藥物의 氣味와 效能을 살펴보면, 金銀花는 甘寒無毒하고 清熱解毒하며 抗菌, 抗바이러스, 利尿作用이 있고, 陳皮는 辛苦溫無毒하고 理氣健脾, 燥濕化痰하며 健胃, 整腸, 止嘔作用이 있고 天花粉은 甘酸寒無毒하고 清熱潤燥, 排膿消腫, 生津止渴하며 抗腫瘍作用이 있고, 黃芪는 甘微溫無毒하고 補氣升陽, 固表止汗, 利尿消腫, 托裏排膿하며 利尿, 強心, 抗菌作用이 있고, 防風은 甘辛微溫無毒하고 祛風解表, 祛濕解痙, 止瀉止血하며 解熱, 鎮痛, 利尿, 抗菌作用이 있고, 當歸는 辛甘溫無毒하고 補血行血, 潤腸, 調經하며 鎮靜, 利尿, 抗菌作用이 있고, 川芎은 辛溫無毒하고 活血行氣, 祛風止痛하며 鎮痙, 鎮靜, 抗菌作用이 있고, 白芷는 辛溫無毒하고 祛風解表, 消腫排膿, 燥濕止帶하며 鎮痙, 抗菌作用이 있고, 桔

梗은 辛苦平無毒하고 清肺提氣, 祛痰排膿하며 鎮咳, 抗真菌作用이 있고, 厚朴은 辛苦溫無毒하고 燥濕除滿, 行氣降逆하며 抗菌, 鎮靜, 健胃作用이 있고, 穿山甲은 鹹微寒無毒하고 活血通經, 下乳, 消腫排膿하고, 皂角刺는 辛溫無毒하고 消腫排膿, 祛風殺蟲作用이 있다. 이를 정리하면 清熱解毒, 消腫排膿 作用을 가지고 있는 藥物이 12種 藥物 중 金銀花·天花粉·黃芪·白芷·桔梗·穿山甲·皂角刺 7種으로 主를 이루고 있으며, 여기에 活血祛瘀藥인 當歸·川芎, 順氣 健脾藥인 陳皮·厚朴, 解表勝濕藥인 防風이 補佐하고 있음을 알 수 있다. 또한 이를 癰疽瘡瘍 治療部分을 중심으로 處方構成藥物과 配合에 따른 상승작용을 살펴보면 金銀花에 黃芪가 配伍되면 解毒排膿 消癰腫에 效果的이고, 黃芪에 穿山甲이 配伍되면 托瘡排膿하는 作用이 있고, 穿山甲에 皂角刺가 配伍되면 消腫하고 癰瘡를 治療하는데 顯著한 效能이 있으며, 穿山甲에 當歸가 配伍되면 消腫止痛하고 行血散瘀하며, 當歸에 川芎이 配伍되면 血을 補養하고 瘀血을 除去하며 止痛하는 效能이 있으므로 癰疽瘡毒을 治療하고, 川芎에 防風이 配伍되면 行氣, 活血, 止痛하는 效能이 增強되고, 皂角刺에 白芷가 配伍되면 托瘡排膿, 消腫하는 效能이 顯著해지며, 白芷에 桔梗이 配伍되면 排膿作用이 있으며 특히 白芷의 活血作用과 桔梗의 氣血을 昇提하는 作用으로 腫瘍을 除去할 수 있다고 하였다.<sup>71~76)</sup>

托裏消毒飲은 補氣劑인 黃芪가 포함되어 있다. 黃芪는 人蔘과 같은 補氣藥類로서 免疫機能을 增進시키며, 抗體生成을 促進하고, 各種 血球細胞들의 生成을 促進하는 作用을 한다. 따라서 放射線療法이나 化學療法으로 損傷된 骨髓의 造血機能을 補強하고 抗腫瘍

免疫機能을 亢進한다는 것이다. 그러므로 原發性 肺癌이나 胃癌같은 腫瘍의 治療에 利用되는 藥物이다.<sup>60)</sup> 따라서 本 實驗에서 수행한 NK細胞의 活性이나 임파구의 活性度 增加 및 免疫機能을 促進과 IL-2, IL-6 등의 分泌亢進은 이러한 補氣劑인 黃芪의 效果로 나타난 것으로 추측할 수 있는 것이다.

또한 腫瘍治療의 중요한 基本原則인 活血化癥法도 腫瘍의 抑制에 중요한 역할을 할 것이다.<sup>84~92)</sup> 惡性腫瘍患者 중에는 血癥證을 보이는 사람이 많으며, “結塊者 必有形之血也”라 하여 腫瘍의 形成과 氣滯血癥 사이에 밀접한 관계가 있음을 설명하였다. 活血化癥의 治療 原則을 惡性腫瘍에 應用하는 目的은 通經活絡, 化癥散結, 祛瘀生新하는 作用에 있다. 郁等<sup>86, 92, 93)</sup>은 活血化癥藥物을 利用하여 惡性腫瘍의 治療에 일정한 效果가 있음을 報告하였으며, 川芎·當歸 등의 抗腫瘍效果를 報告하였고, 楊은 川芎·當歸 등의 藥物은 T-임파구의 轉화를 促進하고 serum opsonin의 活力을 높이며 大食細胞의 貪食作用을 增加시켜 免疫效果를 亢進시키는 結果를 보인다고 하였다. 따라서 앞에 서술한 바와 같이 補氣藥類와 함께 托裏消毒飲에 配合된 當歸·川芎 등의 活血藥類와 桔梗·厚朴 등의 利氣藥類와 穿山甲, 皂角刺 등의 活血祛瘀의 藥物의 抗腫瘍效果를 豫상할 수 있으며, 本 實驗에서도 이러한 점에 근거하여 實驗적으로 誘導한 腫瘍에 對한 抑制效果와 試驗管內의 腫瘍細胞 成長抑制에 對한 實驗 및 免疫機能 促進作用은 이러한 補血劑 및 活血祛瘀 藥物로 이루어진 것으로 생각된다. 이밖에 金銀花·天花粉·白芷·防風 등의 清熱解毒藥類 및 消腫藥類 등도 托裏消毒飲의 抗腫瘍效果와 關聯되어 있을 것으로 생각된다. 清熱解毒藥類는 일반적으로 抗

菌, 消炎, 清熱 등의 效果를 보이며 金銀花 등에 대한 이러한 研究보고는 많이 되어 있는 실정이다. 따라서 本 實驗研究에서 實施한 抗腫瘍效果에 대한 實驗과 免疫作用에 미치는 托裏消毒飲의 效果는 이러한 研究結果를 토대로 한 것이며 本 實驗의 研究結果도 托裏消毒飲의 構成藥物의 效果를 충분히 반영한 것으로 생각된다.

抗癌劑의 抗癌效果 정도를 檢査하는 方法으로는 藥劑에 의하여 야기되는 細胞毒性을 測定하는 5가지 方法이 있지만,<sup>104~108)</sup> 그 중 stem cell assay방법은 clonogenetic assay법이라고도 칭하는 것으로 이는 細胞를 藥劑에 노출시킨 후 soft agar에 single cell suspension으로 培養하여 그 細胞의 분열증식 能力을 測定하는 方法이다. 이 方法은 1971年 Park<sup>109)</sup> 등이 마우스 骨髓腫 細胞에 대한 stem cell assay법을 시행해 본 결과 in vivo에서의 結果와 일치하여 그 이후로는 腫瘍細胞에 대한 抗癌劑의 藥劑 檢査성검사에 많이 사용되어 本 實驗에서도 癌腫細胞의 성장억제 실험인 MTT assay와 동시에 免疫學的 方法인 NK cell의 活性度, 單核細胞의 增殖能 및 lymphokine의 生成도를 관찰하였다.

最近 抗腫瘍 效果에 대한 韓醫學的 研究報告로는 金<sup>68~70, 94~96)</sup> 등이 人蔘과 鹿茸 그리고 白朮·甘草·魚腥草 등의 單一藥物을 사용하여 抗體生產 抑制의 緩和와 抗癌 效果가 있었음을 研究하였을 뿐만 아니라 정상적인 免疫細胞에 대해서도 毒作用을 나타내지 않는다고 報告하였고, 또한 金<sup>45~46)</sup>은 伏梁丸과 肥氣丸 등이 各種 癌細胞柱의 成長에 阻礙가 되어 抗癌效果가 있었음을 밝혔으며, 韓<sup>77)</sup>은 痞氣丸이 白血病과 淋巴腫 환자에서 추출한 癌細胞에 치사효과가 현저하였다고 報告하였고, 厲<sup>78)</sup>는 癌의 中醫治療

에 대한 報告에서 扶正이 主이고, 祛邪는 보조적인 治療法이라고 하였다.

이에, 本 研究에서는 韓方診療에서 腫瘍治療 등에 사용할 수 있을 것으로 思料되는 托裏消毒飲의 實驗的 效果를 보고자 水溶性 抽出液을 얻은 후 抗腫瘍 作用과 免疫調節 作用을 평가하여 韓方의 腫瘍 治療劑로서의 科學的 證據를 제시하고, 臨床活用을 높이고자 本 實驗을 실시하였다.

本 實驗에서 托裏消毒飲 抽出液을 마우스에 투여한 實驗群이 MCA로 誘導한 腫瘍과 3LL細胞 및 S180細胞의 이식에 의한 腫瘍의 發生率, 그리고 이식에 의하여 發生된 腫瘍의 크기 등에 있어서는 감소되었으나(Table 1, 2, 3) Fsa II細胞 이식에 의한 腫瘍 發生은 초기에만 약간 抑制作用을 보였으며 전반적으로 다른 악성腫瘍細胞에 의한 腫瘍 유발보다 약한 抗腫瘍 억제작용을 보였다(Table 4). 이와같은 결과를 살펴보면 托裏消毒飲 抽出液의 존재하에서 3LL 細胞 및 S180 細胞의 試驗管内 增殖이 억제되면서 Fsa II cell의 실험에서는 증식이 약하게 감소되었고, A431 細胞의 增殖에 있어서는 약간 腫瘍성장을 억제하는 효과를 보인 결과(Table 5) 등으로 미루어 볼 때 적어도 托裏消毒飲 抽出液의 抗腫瘍 작용은 약간의 癌腫特異성을 보이고, 또한 感受性 있는 癌腫細胞에는 직접적으로 영향을 미쳐 그 증식이 억제되었을 가능성이 있다고 사료된다.

細胞性 免疫反應에서 중요한 역할을 하는 作動 細胞 중 NK細胞는 여러 腫瘍에 대해서 自然殺害能을 보이는데, 그 중 T細胞의 비의존성 免疫감시기전에서는 바이러스 및 세균에 감염된 細胞를 파괴하는 活性을 가지고, IL-2 및 interferon 등에 의해서는 活性이 증가된다.<sup>101, 103)</sup> NK細胞가 標的細胞를

파괴하는 기전에 관해서는 아직 확실히 알려져 있지 않으나, 첫째로 標的細胞를 인식하는 시기, 둘째로 融解 기전을 活性化시키는 시기, 셋째로 NK cell의 lymphotoxin이 遊離되는 시기, 넷째로 標的細胞의 死滅期로 나눌 수 있다.<sup>110)</sup> 本 실험에서 托裏消毒飲 抽出液으로 前處理하였을 때 NK細胞에 있어서 標的細胞와의 結合能은 물론 결합된 標的細胞의 融解能이 촉진된 성적(Table 6)들을 볼 때, 이와같은 결과는 托裏消毒飲 抽出液이 NK細胞의 標的細胞를 파괴하는 기전 전체에 영향을 끼친다고 추측할 수 있을 것이다.

托裏消毒飲 抽出液이 생체내에서 特異 抗原에 대한 細胞性 및 體液性 免疫反應에 미치는 직접적인 영향을 평가하고자 마우스를 대상으로 T細胞의 의존성 抗原인 綿羊赤血球로 免疫하고 足趾腫脹反應으로 발현되는 DTH반응과 Arthus반응 그리고 血清內 抗體의 體液性 免疫反應을 측정하였다. 그 결과(Table 7)를 고찰하면 Arthus반응, DTH반응 그리고 抗體生産 반응 모두 托裏消毒飲 抽出液을 투여한 實驗群에서 항진되었다. 이와같은 결과로 볼 때 生體免疫反應은 大食細胞, T 및 B細胞, 그 외 數種의 細胞, 그리고 여러 因子에 의하여 좌우되는 복잡한 현상이기 때문에 이번 實驗의 성적만으로는 托裏消毒飲 抽出液의 免疫反應 亢進機轉을 설명할 수는 없지만 托裏消毒飲 抽出液이 림프구의 增殖能을 촉진시킨 결과(Table 8)와 T림프구로부터 IL-2 및 IL-6, MIF 생산을 항진시킨 결과(Table 10), 그리고 托裏消毒飲 抽出液이 림프구 培養初期에서 T 및 B림프구의 增殖能을 항진시켰다가 mitogen 자극 후 24시간이 지나 托裏消毒飲 抽出液을 가하였을 때 T 및 B림프구의 增殖能이 완만

히 항진되어지는 결과(Table 9) 등으로 미루어 볼 때 托裏消毒飲 抽出液의 免疫反應 亢進作用이 주로 항원감작기에서 나타났으리라고 생각되며 이에 대한 研究가 요망된다. 또한 托裏消毒飲 抽出液의 抗腫瘍 작용기전에 대하여서는 托裏消毒飲 抽出液이 NK細胞의 活性에 미치는 영향(Table 6), 생체내 Arthus반응, DTH반응 및 赤血球 凝集 抗體의 免疫反應(Table 7), 그리고 림프구의 增殖 및 lymphokine 生産能(Table 8, 9, 10) 등을 항진시킨 결과들로 미루어 볼 때 托裏消毒飲 抽出液이 腫瘍마우스에 非特異的인 免疫 活性를 촉진시켰음은 물론 腫瘍에 대한 作用이 發顯될 가능성도 생각할 수 있는 것이다.

Nowell<sup>11)</sup>에 의하여 유사분열 誘導物質인 mitogen에 의한 림프구 增殖能이 최초로 보고된 이래 림프구 增殖能 측정은 免疫 지표로 응용되고 있는데, 그 이유는 抗原特異的인 反應 및 非特異的인 刺戟에 의해서 IL-2 의존성 및 T림프구의 增殖能이 발현되기 때문이다. 結果(Table 8, 9)와 같이 托裏消毒飲 抽出液이 非刺戟 細胞의 增殖能에는 영향을 미치지 못하여 托裏消毒飲 抽出液 자체내의 mitogen effect를 검출할 수는 없었으나, 既 活性細胞에는 영향을 미쳐 活性化 初期에서 강한 增殖促進作用을 보였다. 이는 托裏消毒飲 抽出液이 림프구 前驅細胞의 活性化 단계에는 작용하였음을 시사한다고 사료된다.

Morgan 등<sup>9)</sup>에 의해서 최초로 발견된 IL-2는 T림프구 增殖因子로서 주로 抗原特異的인 및 非特異的인 자극을 받은 CD4細胞 및 large granular lymphocyte(대과립성 임파구)에서 생산되는 lymphokine의 一種이며, 그 기능은 T림프구의 성장 이외에도 B細胞의 분열인자 誘導, 細胞毒性림프구와 NK細胞

및 大食細胞 등의 增殖과 活性 등에도 관여하고, 또 生産 機轉에서는 IL-2 수용체의 發顯活性和 autocrine system에 의하여 증폭된다. 本 實驗에서 림프구를 Con A로 자극 培養시켜 托裏消毒飲 抽出液을 가하면 IL-2의 生成能이 촉진되었는데, 이와 같은 결과는 托裏消毒飲 抽出液이 T細胞의 특정 아집단에 작용하여 細胞柱를 IL-2에 感受性이 높은 細胞柱로 변화시켜서 IL-2의 autocrine system이 증폭되거나 또는 托裏消毒飲 抽出液에 의하여 T細胞의 표면이 수식되어 IL-2 및 타 lymphokine에 대한 感受性이 촉진되었으리라 생각할 수 있다. 또한 IL-2의 생성은 calcium mobilization과 protein kinase C의 活性이 동시에 이루어질 때 최대의 活性을 보인다고 보고<sup>9)</sup>한 것을 미루어 볼 때 托裏消毒飲 抽出液이 IL-2의 생성에 관여하는 細胞의 signal transduction을 變造시킴으로써 活性化되었다 라고는 생각할 수 있으나 本 結果만으로는 이를 입증할 수 없어 이에 대한 研究가 요망된다.

이상의 결과 그 작용 機轉은 불분명하나 托裏消毒飲 抽出液이 腫瘍 細胞에 직·간접적으로 작용하여 抗腫瘍 작용을 보이고, 이와 같은 抗腫瘍 작용은 癌腫에 따라 다르게 나타남을 알 수 있었다. 또한 托裏消毒飲 抽出液은 生體免疫反應 뿐만 아니라 試驗管內에서 免疫關與細胞의 活性에도 작용하는 중요한 免疫調節劑임을 알 수 있어 그 유효성분 구명은 물론 구체적인 작용기전이 밝혀진다면 앞으로 腫瘍을 치료하려는 임상가들에게 기여하는 바가 크리라고 생각되며, 또한 앞으로 다양한 癌腫 細胞에 대한 托裏消毒飲 抽出液의 抗腫瘍 작용과 腫瘍 동물에서의 托裏消毒飲 抽出液 투여에 의한 生體生理現象의 변화, 生理活性物質의 本態 등을



밝히기 위한 보다 구체적이고 광범위한 연구가 수행되어야 하리라 생각되며, 새로운 抗腫瘍 치료제로써 韓醫藥의 가능성을 탐색하여야 할 것이다.

## V. 結 論

托裏消毒飲의 抗腫瘍 효과 및 免疫調節作用을 입증하고자 MCA로 腫瘍을 유발하고 leukemia cell line인 3LL 細胞와 sarcoma cell line인 S-180 細胞 및 Fsa II 細胞를 마우스의 背部 皮下에 이식함으로써 發生되는 腫瘍의 發生率 및 크기 등을 평가하고, 동시에 생체내 免疫過敏性 반응인 Arthus 반응 및 DTH 반응, 그리고 抗體 生産能, 試驗管内 NK細胞의 活性度, 정상림프구와 mitogen으로 자극한 癌腫細胞의 增殖 반응, 림프구의 lymphokine 生産能 등을 관찰하였던 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 托裏消毒飲 抽出液은 MCA로 誘導한 腫瘍의 發生率과 크기를 감소시켰다.
2. 托裏消毒飲 抽出液은 3LL 細胞 및 S-180 細胞 이식에 의한 腫瘍 發生을 감소시켰으나, Fsa II 細胞 이식에 의한 腫瘍發生의 억제에는 큰 영향을 미치지 못하였다.
3. 托裏消毒飲 抽出液은 試驗管内 A431 細胞의 증식에는 큰 영향을 미치지 못하였으며, Fsa II 細胞의 增殖의 억제에도 큰 영향을 미치지 못하였으나, 3LL 細胞 및 S180 細胞의 增殖은 저하시키는 결과를 보였다.
4. 托裏消毒飲 抽出液은 NK細胞의 活性度を 증가시켰다.
5. 托裏消毒飲 抽出液은 綿羊赤血球에 대

한 마우스의 Arthus 반응 및 DTH 반응, 그리고 赤血球 凝集素의 免疫 반응을 모두 항진시켰다.

6. 托裏消毒飲 抽出液은 mitogen자극 림프구의 增殖能을 항진시켰으며 그 항진은 mitogen으로 細胞를 자극함과 동시에 托裏消毒飲 抽出液에 노출시켰을 때 더욱 항진되었다.
7. 托裏消毒飲 抽出液은 림프구의 IL-2 및 MIF 生産能을 촉진시켰으나 IL-6 生産能에서는 큰 영향을 미치지 못하였다.

## 參 考 文 獻

1. 許 浚: 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, 卷二 p. 725, 卷三 p.726, 728, pp.733~734, p. 741, 745, 1986.
2. 杏林書院編: 古今實驗方, 서울, 杏林書院, p.205, 1958.
3. 金定濟: 東醫診療要鑑, 서울, 東洋醫學研究院, 上 p.618, 626, 下 pp.446~447, 1974.
4. 金定濟外: 東醫臨床要覽, 서울, 書苑堂, p.218, 314, 1977.
5. 南采祐: 靑囊訣, 서울, 漢城圖書株式會社, p.92, 1949.
6. 陳憲定: 丸散膏丹集成, 中國, 大新書局, p.732, 1967.
7. 康命吉: 濟衆新篇, 서울, 通文館, p.108, 1968.
8. 襲廷腎: 增補萬病回春, 台北, 大中國圖書公社, pp.176~182, 1959.
9. 陣夢雷外: 醫部全錄, 서울, 大星文化社, 三百五十九, pp.91~96, 900, 1986.
10. 李 挺: 醫學入門, 上海, 上海錦章圖書

- 局, pp.574~575, 1984.
11. 吳克潛：古今醫方集成, 서울, 翰成社(重刊), p.688, 1980.
  12. 熊純生：辭海, 臺北, 中華書局, p.90, 1933, 1974.
  13. 朱仁康：實用外科中藥治療學, 中國, 文光圖書公司, pp.1~3, 15~28, 1957.
  14. 蔡炳允：癰疽에 應用되는 仙方活命飲이 鎮痛, 消炎, 解熱에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院 論文集 三卷, pp.67~90, 1980.
  15. 黃德讚：清熱消毒飲이 實驗動物의 鎮痛·消炎에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1989.
  16. 金在百外：病態生理學, 서울, 圖書出版社, p.14, 1984.
  17. 金聖培：大黃牡丹皮湯이 實驗動物의 鎮痛, 消炎, 鎮靜 및 正常體溫에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1991.
  18. 鄭善充：內托羌活湯 煎湯液이 實驗動物의 鎮痛, 消炎, 解熱 및 筋弛緩에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1990.
  19. 吉仁浩：營衛返魂湯이 實驗動物이 鎮痛, 消炎, 解熱 및 筋弛緩에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1990.
  20. 서울대학교 의과대학編：腫瘍學, 서울, 서울대학교 出版部, pp.1~3, 9, 26~43, 91~95, 126, 1990.
  21. 錢伯文：腫瘤的辨證施治, 上海, 上海科學技術出版部, pp.1~10, 1980.
  22. 郁仁存：中醫腫瘤學, 北京, 北京科學技術出版部, pp.1~11, 1983.
  23. 巢元方：諸病源候論, 北京, 人民衛生出版社, p.575, 879, pp.623~625, 871~873, 885~886, 1981.
  24. 張景岳：景岳全書, 서울, 大星文化社, p. 479, 1988.
  25. 洪元植：托裏消毒飲의 抗菌作用, 月刊杏林 2:12~15, 1976.
  26. 洪元植：生體內 綠膿菌에 對한 托裏消毒飲의 效果, 月刊杏林 8:30~32, 1977.
  27. 姜允皓：托裏消毒飲의 消炎作用에 對한 實驗的 研究, 圓光大學校 大學院, 1982.
  28. 安大宗：托裏消毒飲의 마우스의 緬羊赤血球에 對한 免疫反應에 미치는 影響, 圓光韓醫大 論文集, 卷2, 1980.
  29. 楊維傑註：黃帝內經素問譯解, 서울, 一中社, pp.25~26, p.70, 104, 141, 420, 535, 1991.
  30. 楊維傑註：黃帝內經靈樞譯解, 서울, 一中社, p.190, 419, 548, 611, 1991.
  31. 陳實功：外科正宗, 北京, 人民衛生出版社, pp.1~21, p.30, 1983.
  32. 周命新：醫門寶鑑, 서울, 杏林書院, pp. 413~414, 1975.
  33. 辛民教外：鄉藥集成方(中), 서울, 永林社, pp.903~904, 1989.
  34. 朱丹溪：丹溪心法附餘, 臺灣, 五州出版社, 권16 p.10, 권18 p.1, 1963.
  35. 陳無擇：三因方, 서울, 翰成社, pp.903~904, 1989.
  36. 揚醫竝：中醫學問答(下冊), 北京, 人民衛生出版社, pp.356~357, 369~370, 1985.
  37. 危亦林：世醫得效方, 北京, 人民衛生出版社, pp.619~620, 1990.
  38. 李聰甫：金元四大家 學術思想研究, 서울, 成輔社, pp.36~37, 1985.
  39. 孫世道外：中醫內科護理, 上海, 上海科學技術出版社, pp.66~67, 1984.
  40. 林珮琴：類證治裁, 서울, 成輔社, pp.585~586, p.588, 1980.
  41. 顧伯華：實用中醫外科學, 上海, 上海科學

- 技術出版社, pp.79~81, 1985.
42. 上海中醫學院：中醫外科學，商務印書館香港分館，p.3, pp.9~14, 24~27, 43~45, 1981.
  43. 北京中醫學院：中醫外科學，北京，人民衛生出版社，pp.37~40, 1983.
  44. 蔡炳允：漢方外科，서울，高文社，pp.22~24, 36~38, 52~53, p.330, 1983.
  45. 金剛山：伏梁丸이 白血病과 肝癌患者에 게 抽出한 癌細胞에 미치는 抗癌效果，圓光大學校 大學院，1989.
  46. 金剛山：肥氣丸 및 消積正元散이 사람의 各種 癌細胞柱의 成長沮碍에 미치는 效果，圓光大學校 大學院，1992.
  47. 劉正村·尤煥文：中醫免疫，重慶出版社，p.57, 1983.
  48. 張代釗：中西醫結合治療癌證，山西，山西人民出版社，pp.11~19, 1984.
  49. 朴鍾郁：巴豆加大黃의 抗腫瘍效果와 自然殺害細胞의 活性에 미치는 影響，圓光大學校 大學院，1995.
  50. 金東集外：癌百科，端音出版社，pp.242~245, 1989.
  51. 金鎮福：臟器移植免疫學 및 腫瘍免疫學，大韓醫學協會誌，21卷，1978.
  52. 馬元臺·張隱庵合註：黃帝內經素門靈樞合編，台北，臺聯國風出版社，p.33, 393, 1972.
  53. 賈 旁：癌瘤中醫防治研究，陝西，陝西科學技術出版社，pp.1~3, 1983.
  54. 李 岩：腫瘤學，北京，人民衛生出版社，pp.1~9, 1982.
  55. 裴元植：癌의 韓洋方併用治療에 對한 報告，大韓醫學會誌，7卷，2：53~57, 1986.
  56. 李仲梓：醫宗必讀，서울，醫學社，pp.254~257, 1976.
  57. 顧伯康外：中醫外科學，北京，人民衛生出版社，pp.203~210, 1987.
  58. 白洪龍：辨證診治概要，서울，醫聖堂，pp.502~507, 1986.
  59. 洪元植：現代中國의 癌治療法，서울，英文社，pp.17~35, 81~84, 361~388, 1980.
  60. 劉春安·彭明：抗癌中草藥大辭典，湖北，湖北科學技術出版社，p.905~906, 1994.
  61. 邱佳信外：惡性腫瘤服藥方法的 實驗研究，中國，浙江中醫雜誌，第7號 p.985.
  62. 姜廷良外：六味地黃湯防治腫瘤的實驗研究，中醫雜誌，24(6)：71~74, 1983.
  63. 申正植外：消腫湯加味方의 解熱，鎮痛，消炎作用에 關한 實驗的 研究，慶熙大韓醫大 論文集，7卷 pp.198~209, 1984.
  64. 徐毅錫：仙方活命飲이 마우스 로제트形成에 미치는 影響，圓光大學校學位論文集，6卷 pp.301~318.
  65. 久保道德：金一赫譯，漢方醫藥學，서울，東南出版社，p.311, 1985.
  66. 김한섭：癌의 治法 治方 및 治療藥物에 關한 文獻的 考察，大韓醫學會誌 10(1)：161~166.
  67. 洪元植：精校黃帝內經靈樞，서울，東洋醫學研究院出版部，p.38, 249, 294, 317, 318, 337, 347, 1985.
  68. 金光湖外：各種 韓藥材가 制癌劑 및 Glucocorticoid의 抗體生產 抑制作用에 미치는 影響，趙永植 博士 華甲紀念論文集，pp.1041~50, 1981.
  69. 任宰訓：各種의 韓藥物이 癌細胞 感受性에 미치는 影響，慶熙韓醫大 論文集，Vol.9, pp.242~66, 1989.
  70. 沈載然：白鼠를 利用한 枳實 魚腥草 穿

- 山甲 및 猪苓의 抗癌效果에 關한 研究, 서울, 慶熙大學校 大學院, 1988.
71. 李尙仁外：漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp.50~55, 140~142, 243~245, 253~256, 299~302, 339, 353~356, 399~402, 502~503, 525~526, 528, 1982.
  72. 全國韓醫科大學 本草學校授共著：本草學, 서울, 永林社, pp.129~132, 165, 166, 198~199, 291~292, 347~349, 409~410, 428~430, 440~441, 460~461, 534~536, 578~580, 1991.
  73. 康秉秀外編著：臨床配合本草學, 서울, 永林社, pp.112~116, 151~154, 230~233, 314~316, 363~365, 406~412, 459~464, 569~572, 596~598, 1994.
  74. 辛民教：本草維新, 서울, 慶苑文化社, pp. 57~58, 80, 90, 118~119, 137~138, 145~146, 186~187, 201~202, 210, 1979.
  75. 東醫學研究所編著：東藥學概論, 서울, 驪江出版社, pp.124~125, 136~138, 164~166, 191~192, 244~245, 295~296, 316~317, 346~348, 358~359, 1993.
  76. 張相文外：韓藥資源植物學, 서울, 學文出版(株), pp.208~212, 215~218, 224~225, 233~235, 276~280, 320~322, 418~420, 471~473, 507~509, 1996.
  77. 韓相日：痞氣丸이 白血病과 淋巴腫 患者에서 抽出한 癌細胞에 미치는 抗癌效果, 圓光大學校 大學院, 1991.
  78. 厲 暢：癌의 中醫治療, 서울, 東洋醫學, 第18卷, 第1號, 通卷 51號, pp.51~63, 1992.
  79. 宋慕玲 等：中藥復方抗瘤粉治療腦膠質瘤效的初步觀察, 中西醫結合雜誌, 4(1)：10, 1984.
  80. 李先榮 等：梅花點舌丹抗腫瘤作用實驗研究, 中成藥研究, (6)：28, 1982.
  81. 孫關林 等：蟾酥劑對免疫功能作用的初步研究, 中西醫結合雜誌, 4(5)：259, 1984.
  82. 潘明繼 等：理胃化結湯結合手術與化療治療320例胃癌患者療效分析, 中西醫結合雜誌, (5)：268, 1986.
  83. 蔡偉民 等：活血祛瘀中藥并用放射療法治療鼻咽癌前瞻性對照試驗的觀察報告, 中醫雜誌, (9)：36, 1983.
  84. 余桂清：90년대 中西醫結合防治癌症 研究概況及展望, 腫瘤 1994년 5월(14:3) 166~169.
  85. 張代釗：中西醫結合治療中晚期癌症, 研究思路, 中國腫瘤 1993년 3월(2:3) 7~8.
  86. 郁仁存 等：中西醫結合癌症研究進展, 中西醫結合雜誌, 1988년 10월(8:2) 56~59.
  87. 余桂清：惡性腫瘤中醫治療·韓銳主編腫瘤化學豫防及藥物治療, 北京醫大出版社, 1991년 12월 53장 719~727.
  88. 丁 瑞：中醫藥防治癌症實驗研究, 建國40年 中醫科技成就, 中國古籍出版社, 1989년 8월, 488:493.
  89. 余桂清 等：健脾益腎方減輕晚期胃癌化療毒付反應的臨床及實驗研究, 中醫雜誌, 1993년 3월(13:1) 31:37.
  90. 張代釗：中西道法會治分癌症, 山西人民出版社, 1984.
  91. 張代釗·余桂清·李倫文：癌症癥化分副反應的中醫藥, 防治研究, 1994, 8.
  92. 郁仁存：惡性腫瘤中署結合研究的成就, 中署結合雜誌, 56~59, 1988.
  93. 王緒繁：腫瘤治療運用扶正培本法則的幾

- 個問題, 浙江中醫雜誌 9(3), 3~5, 1985.
94. Tang, Defang; Hao, Yonung; Liu, Zuoya; Miao, Shulin, Wei, Hua, Wu, Jian: Constituents of the essential oil from rhizome of *Attactylodes macrocephala* produced in pingjiang(China) and their antitumor effects, *Yaoxue Tongbao*, 19(9), pp.555~58, 1984.
  95. Sasaki S: Antitumor agents from medicinal plants, *Jpn. Kokai Tokyo koho Jp*, p.58, 118, 820, 1983.
  96. Odajima Yoshio: Effects of Ginseng on cancer cell, *Yakuyo Ninjin Sono Kenkyu to Shinpo*, pp.198~209, 1981.
  97. Kotani S, Watanabe Y, Shimono T: Immuno-adjvant activity of cell wall, their water-soluble fractions and peptidoglycan subunits, prepared from various gram-positive bacteria and of synthetic N-acetylmuramyl peptides. *Immunitätsforshung and Experimentelle The rapie* 149 : 302, 1975.
  98. Morgan DA, Rusecetz FW, Galla RCY: Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrow. *Science* 193 : 1007, 1976.
  99. Lee JH, Ha TY: Effect of Panax ginseng on the tumorigenesis induced by 3-methylcholanthrene in mice. *J. Kor. Med Assoc.* 27 : 544, 1984.
  100. Moorikawa K, Takeda R, Yamazaki M: Induction of tumoricidal activity of polymorphonuclear leukocytes by a line B(1-3)-D-glucan and other immunomodulators in murine cells. *Cancer Res.* 45 : 1496, 1985.
  101. Herberman RB, Ortaldo JR: Natural killer cell, their role in defence against disease. *Science* 214 : 24, 1981.
  102. Van de Loosdrecht AA, Nennie E, Ossenkoppele GJ, Beelen RHT, Langenhuijsen MAC: cell-mediated cytotoxicity against U937 cells by human monocytes and macrophages in a modified colorimetric MTT assay. *J. Immunol. Methods* 141 : 15, 1991.
  103. Suzuki R, Handh K, Itoh, K: Natural killer cells as a responder to interleukin 2 proliferative response and establishment of cloned cell. *J. Immunol.* 130 : 2051, 1983.
  104. Wrigth JC, Plummer-Cobb J, Gumpport S, Golomb FM, Sfadi D: Investigation of the relation between clinical and tissue culture response to hemotherapeutic agents on human cancer. *N Engl J Med* 257 : 1207, 1957.
  105. Fass L, Fefer A: The application of an in vitro cytotoxicity test to studies the effects of drugs on the cellular immune response in mice: 1. Primary response. *J Immunol* 109 : 749, 1972.
  106. Brunner KT, Maelj, Cerotorn JC, Chapuis B: Quantitative assay of the lytic action of immune lymphoid cells on <sup>51</sup>Cr labeled allogenic target cells in vitro inhibition by isoantibody and by drugs. *Immunol* 14 : 181, 1968.
  107. Laszlo J, Stengle J, Wight K, Vurk D: Effects of chemotherapeutic agents on metabolism of human acute leukemia cells in vitro. *Proc Soc Exp Biol Med* 97

- : 127, 1958.
108. Bickis IJ, Henderson MD, Quastel JH:  
Biochemical studies of human tumors  
II. In vitro estimation of individual  
tumor sensitivity to anticancer agents.  
Cancer 19 : 103, 1966.
  109. Park CH, Bergsagel DE, McCulloch EA  
Mouse myeloma tumor stem cells. A  
primary cell culture assay. J Natl Cancer  
Inst 28 : 844, 1971.
  110. Targan S, Brivan L, Dorey E: Acti-  
vation of human NKCA by moderate  
exercise: Increased frequency of NK cell  
with enhanced capability of effector-  
target lytic interactions. Clin. Exp.  
immunol. 45 : 452, 1981.
  111. Nowell PL: Phytohemagglutinin and  
indicator of mitosis in cultures of  
normal human leucocytes. Cancer Res.  
20 : 462, 1960.