

還魂散이 實驗的으로 誘發한 腫瘍에 미치는 影響

Influence of *Hwanhonsan* Extract against Chemically Induced and Xenografted Mice Tumor

송효원* · 류도곤** · 조동기** · 엄상섭** · 강성도** · 고정수** · 성은경** · 윤용갑* · 조남수** · 이춘우** · 김순수*

1. 緒論

還魂散은 明代 王¹⁾의 六科準繩에 「癰疽發背, 對口疔瘡, 乳癰, 無名腫毒, 一切惡瘡」등을 治療한다고 最初로 收錄된 以來 歷代醫書²⁻⁴⁾에서 癰疽治療에 活用되어 온 處方으로, 藥物은 知母, 貝母, 白芨, 半夏, 天花粉, 皂角刺, 乳香, 金銀花, 穿山甲 各一錢으로 構成되어 있다. 本 處方의 名稱에 있어서 六科準繩^{1,3-4)}에는 內消散으로 東醫寶鑑⁵⁾등²⁾에는 還魂散으로 記錄되어 있으나 그 藥物의 內容과 分量은 同一하게 構成되어 있다.

東洋醫學의 癰疽는 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 등의 樣相을 나타내는 症狀의 總括的 概念⁷⁾으로 認識되고 있으며; 西洋醫學의 으로는 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 등의 症狀를 隨伴하는 炎症性 疾患과 肌肉의 異常增殖으로 因한 腫瘍性 疾患의 範疇에 該當된다⁵⁻⁶⁾. 또한 癰疽와 癌의 關係에 있어서 腫根이 있고, 浮腫·發熱·疼痛하며 紅赤色을 띠고 肌肉

間에서 發生하는 것은 癰이고, 腫根이 堅固하고 深部に 있으며, 熱이 없고 白色이나 暗紫色을 띠고 瘡頭가 陷沒되었으면 疔이며, 紫黑色을 띠고 堅硬하며 潰瘍이 되면 陷沒하여 巖穴과 같은 狀態가 되는 것은 癌이라 하여 癌이 癰疽形態 中の 하나라고 分類하였다⁴⁾.

현재까지 많은 연구자들에 의해 微生物과 植物들로부터 抽出된 다양한 種類의 天然產物의 構造와 生物學의 特性이 밝혀졌으며, 이를 근거로 한 腫瘍治療物質이 研究되어지고 있다¹⁰⁻¹¹⁾. 특히 細胞分裂 및 機能의 變化와 관련된 一部の 天然產物은 중요한 生體反應調節物質(Biological Response Modifiers, BRM)로 취급되어 그 特性과 作用過程에 對해 研究되어 오고 있다¹²⁻¹³⁾. 天然產物이 연구자들의 關心의 對象이 되고 있는 理由는 一部の 天然產物에 抗腫瘍效果가 있다는 事實과 이들의 抗腫瘍效果가 腫瘍細胞의 分裂을 直接的으로 抑制하거나 또는 癌을 가진 動物(tumor-bearing animal)의 免疫能을 增加시켜 주는 것으로 밝혀지고 있기 때문이다. 아울러 癌治療를 위해 使用하고 있는 外科的 手術療法, 放射線治

療法, 抗癌化學療法, 免疫療法 등의 西洋醫學의 方法들은 아직도 癌腫에 따른 感受性, 治療 後의

* : 원광대학교 한의과대학 방제학교실.

** : 원광대학교 한의과대학 생리학교실.

經過와 副作用이 각기 다르며 이에 따른 많은 問題點을 안고 있기 때문에 副作用이 輕微하고 抗腫瘍效果가 優秀한 새로운 天然產物의 開發에 關心이 모아지고 있다¹⁴⁻¹⁵⁾.

특히 中國등에서는 西洋醫學的인 癌治療法과 并行하여 韓藥材를 活用함으로써 癌治療의 效率를 높이고 生存率을 增加시키며, 西洋醫學的인 癌治療로 因한 副作用을 줄이고 있다는 報告¹⁶⁻¹⁷⁾들을 접해 볼 때 우리 나라에서도 東洋醫學的인 癌治療法 및 補助療法이 開發되어야 할 것으로 보여진다.

最近에는 우리 나라에서도 癰疽에 活用된 處方들에 對한 實驗的 研究^{6,18-21)}가 活潑히 進行되고 있고 癰疽處方 中에서 內託羌活湯등¹⁸⁻²¹⁾의 抗癌效果에 對한 實驗的 研究가 報告되었으며 癰疽에 活用된 還魂散에 關하여는 消炎, 鎮痛, 抗菌作用에 關한 研究²²⁾가 있다.

이에 著者는 마우스를 대상으로 強力한 發癌性 化學物質인 MCA로 腫瘍을 誘發시키고, 또한 癌腫細胞(3LL cell, S180 cell, FsaII cell)를 背部皮下에 移植하여 腫瘍의 發生을 誘導하면서 癌發生과 그 經過에 미치는 還魂散 抽出液의 影響을 觀察하고, 同時에 그 作用機轉을 究明하기 위하여 還魂散 抽出液이 이들 癌腫細胞의 試驗管内 增殖에 미치는 影響을 測定하여 얻은 有意한 結果를 報告하고자 한다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

實驗에 使用한 還魂散의 內容과 分量은 東醫寶鑑²⁾에 準하였으며, 藥材는 圓光大學校 附屬 韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였다. 還魂散의 處方內容과 1貼 分量은 다음과 같다.

構成藥物	生藥名	分量(g)
知母	RHIZOMA ANEMARRHENAE	3.75
貝母	BULBUS FRITILLARIAE	3.75
白芨	RHIZOMA BLETILLAE	3.75
半夏	RHIZOMA PINELLIAE	3.75
天花粉	RADIX TRICHOSANTHIS	3.75
皂角刺	SPINA GLEDITSIAE	3.75
乳香	OLIBANUM	3.75
金銀花	FLOS LONICERAE	3.75
穿山甲	SOULAMA MANITIS	3.75
總分量		33.75

2) 動物

實驗 목적에 따라 生後 7-8週된 ICR 마우스 또는 C57BL/6 마우스를 암수 區別없이 使用하였으며 實驗群 및 對照群은 恒常 同性(sex-matched)으로 하였다. 이들 動物은 물과 飼料를 자유로이 供給하면서 1週 以上 實驗室 環境(溫度는 20±2℃, 濕度는 40-60%, 12時間 間隔의 明暗調節)에 適應시킨 後

2. 方法

1) 試料의 製造

還魂散 5貼 分量(168.75 g)을 3,000 ml round flask에 蒸溜水 1000 ml와 함께 넣은 다음, 冷却器를 附着시키고 重湯으로 2時間동안 加熱하여 濾過한 後 rotary vacuum evaporator에서 200 ml로 減壓濃縮하고 濃縮된 試料를 freeze dryer를 利用하여 乾燥한 後 21.4 g을 얻어 必要한 濃度로 溶解하여 使用하였다.

2) 細胞의 準備

單核細胞의 準備는 마우스로부터 扁桃腺 또는 脾臟을 各各 얻어 이를 Hank's balanced salt solution(HBSS, Irvin Scientific)에서 조심스럽게 teasing하여 細胞 浮遊液을 만든 다음, 通常의 Ficoll-Diatrizoate(Pharmacia) 濃度區配法에 의하여 單核細胞만을 分離하고, 이를 HBSS로 洗滌한 後 2 mM의 glutamine과 80 µg/ml의 gentamicin, 그리고 牛胎兒血清(FCS, Gibco)이 含有되어 있는 RPMI 1640(이하 RPMI라 略함)에 2×10⁶ cells/ml의 濃度로 浮遊하여 만들었다.

림프구 分離는 사람 扁桃腺으로부터 얻은 單核

細胞를 plastic culture dish (10×20 mm, costar)에 넣어 37℃에서 1時間씩 2회 放置하여 單核球의 附着을 誘導, 除去한 後 2-aminoethylisothiuronium bromide(AET, Sigma)로 處理된 綿羊赤血球(AET-SRBC)를 使用한 rosette 形成法으로 하였다. 이 때 SRBC와 rosette을 形成한 細胞를 T細胞로, 그리고 non-rosette 細胞를 B細胞로 看做하였다. 이와 같이 準備한 T 및 B細胞는 各各 RPMI에 1×10^6 cells/ml로 浮遊하여 使用하였다.

한편, 本 實驗에 使用한 細胞株는 繼代 中인 S180, 3LL, A431, Yac1 등의 細胞들로 이들 細胞를 RPMI에 浮遊하여 使用하였다.

3) 發癌誘導 및 腫瘍發生 測定

還魂散 抽出液(1 mg/ml)을 7日間 投與한 마우스群, 즉 實驗群과 同量의 生理食鹽水를 同一期間 投與한 마우스群, 즉 對照群으로 나누어 發癌物質로 誘導 - 腫瘍發生 實驗과 癌腫細胞 移植 - 하여 腫瘍發生 實驗에 使用하였다. 즉, 腫瘍發生 實驗은 Lee등²³⁾의 方法대로 acetone에 溶解시켜 製造한 0.4% 3-methyl- cholanthrene(MCA, Eastman Kodak)溶液 0.2 ml를 각 마우스의 면도된 背部皮膚에 週 3회씩 9週동안 局所塗布하여 癌發生을 誘導하였는데, 이 때 日週期 變動(diurnal variation)을 除去하기 위하여 午前 11-12時 사이에 實施하였다.

癌腫細胞 移植에 의한 腫瘍發生 實驗은 Moorikawa등²⁴⁾의 方法대로 對數增殖期의 leukemia cell line인 3LL 細胞, sarcoma cell line인 S180 細胞 및 FsaII 細胞(各各 1×10^6 cells/mouse)를 면도된 背部皮下에 移植시켜 腫瘍發生을 誘導하였다.

還魂散 抽出液의 癌發生 豫防效果 判定은 腫瘍 誘導에 의하여 形成된 腫塊(mass)를 肉眼的으로 觀察한 後 各 群別 腫瘍發生率, 腫瘍마우스 當發生된 腫瘍의 크기 등을 經時的으로 測定하였다.

4) 細胞株의 增殖能 測定

MTT assay法²⁵⁾으로 測定하였다. 즉 對數增殖期의 A431, S180, 3LL 및 FsaII 細胞를 RPMI에 各各 1×10^5 cells/ml가 되도록 浮遊하여 그 浮遊液의 0.1 ml를 round-bottomed microculture plate의 各 well에 넣은 後, 여기에 다시 여러 濃度의 還魂散 抽出液을 添加하여 well當 總量이 0.2 ml씩 되도록 調整한 다음 37℃, 5% CO₂ 培養器에 넣어 20時間동안 培養하였다. 그 後 10 μ l의 MTT (3-[4,5- dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma, 5 mg/ml in saline)를 各 well에 加하고 난 後, plate를 aluminium foil로 密閉하여 4時間동안 附置함으로써 formazan crystal 形成을 誘導하였다. 이어 plate를 275×g에서 5분간 遠心分離하여 上層을 조심스럽게 除去하고, formazan crystal을 溶解하기 위하여 150 μ l의 dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma)를 加하여 5-15분간 흔들어 完全 溶解시켰다. 이어 microplate spectrophotometer(TOYO)를 利用하여 540 nm 波長에서 吸光度를 測定하였다.

5) 統計處理

實驗結果의 統計處理은 unpaired test에 準하였고, 實驗值의 表現은 平均 \pm 標準誤差로 하였으며, p-value가 最大值 0.05 以下인 境遇를 有意한 것으로 判定하였다.

III. 實驗成績

1. 還魂散 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 마우스에 MCA를 背部皮膚에 局所塗布하여 squamous cell carcinoma의 發生을 誘導한 後 腫瘍發生率을 測定하였으며, 腫瘍마우스(TBM) 當 腫瘍의 數 및 腫瘍의 무게를 測定한 結果 Table 1과 같이 나타났다. 즉, 對照群의 腫瘍發生率(46%), TBM 當

腫瘍의 數(1.6개), 腫瘍의 무게(12.1 mg)에 비하여 實驗群에서의 腫瘍發生率(36%), TBM當 腫瘍의 數(1.3개), 腫瘍의 무게(9.9 mg)으로 各各 對照群에 비하여 MCA로 誘導된 癌發生 뿐만 아니라 發生한 癌腫의 增殖을 低下시킴을 보여주었다.

Table I. Effect of *Hwanhonsan* extract on the tumorigenicity observed after the initial MCA-application to Balb/c mice covering 9 weeks

Group	Saline	HHS-extract
No. of mice	50	50
Incidence of tumor(%)	23(46)	18(36)
No. of tumors per TBM	1.6	1.3
Wt. per tumor(mg)	12.1±2.2	9.9±1.7
Wt. per largest tumor(mg)	15.1±1.8	11.7±2.1

Typical application of 2 ml of 0.04% acetone solution of 3-Methylcholanthrene(MCA) on the shaved dorsal skin, three times a week for 9 weeks with or without concomitant intraperitoneal injection of 1 mg of *Hwanhonsan* extract. The tumor size was measured as follows : Tumor size = major axis(mm)×minor axis(mm)/2.

2. 還魂散 抽出液이 癌腫細胞 移植에 의한 腫瘍 發生에 미치는 影響

還魂散 抽出液(1 mg/ml)을 1週日間 投與한 實驗群과 對照群에 3LL, S180 및 FsaII 細胞를 면도된 背部皮下에 移植시킨 後 나타나는 腫瘍의 크기를 經時的으로 測定하였다. 그 結果 3LL 細胞를 移植하였던 경우에는 Table II에서 보는 바와 같이 還魂散 抽出液을 投與하지 않은 對照群에 비하여 實驗群에서 腫瘍發生率 뿐만 아니라 腫瘍의 크기가 減少되었는데, 그 減少의 程度는 還魂散 抽出液을 1週日間 前投與한 實驗群 A에서보다 還魂散 抽出液을 前投與하고 腫瘍誘導後에도 계속 投與한 實驗群 B에서 더욱 減少되었다. 한편, S180 細胞의 移植에 의한 腫瘍發生은 Table III에서 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 減少되었다. 그러나 FsaII 細胞 移植에 의한 腫瘍發生은 Table IV에서 보는 바와 같이 移植 5일까지는 對照群에 비하여 實驗群에서 腫瘍發生率 및 腫瘍의 크기가 減少되었으나, 移植 10日 以後에는 對照群과 實驗群을 比較

하여 큰 差異가 없었다.

Table II. Effect of *Hwanhonsan* extract on the 3LL-implanted tumor induction in mice

Days after implantation	Group	% of induction	Tumor size
5	Control	77.1	53.1±3.1
	HHS-A	65.1	39.1±3.2
	HHS-B	54.6	34.1±3.1
10	Control	82.2	89.1±6.1
	HHS-A	71.2	83.1±5.1
	HHS-B	63.1	76.2±5.4
15	Control	88.4	167.3±12.1
	HHS-A	73.8	148.1±11.5
	HHS-B	64.4	121.5±10.4

Leukemia 3LL cells(1×10^6 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.

Control : non-*Hwanhonsan* control mice.

HHS-A : 7 days *Hwanhonsan* pretreated mice.

HHS-B : 7 days *Hwanhonsan* pretreated and for more 13 days of the treatment of *Hwanhonsan* to mice.

The tumor size was measured as follows : Tumor size = major axis (mm)×minor axis(mm)/2.

Table III. Effect of *Hwanhonsan* extract on the S180-implanted tumor production in mice

Days after implantation	HHS-treatment	% of induction	Tumor size
5	-	80	62.1±4.2
	.	70	54.5±3.3
10	-	100	126.7±6.8
	.	80	111.5±5.9
15	-	100	158.2±11.4
	.	90	117.8±11.5

Mice received *Hwanhonsan* extract(daily 1 mg/mouse for 7 days) or saline(as a control) were s.c. implanted S180 cells(5×10^6 cells/mouse) and then at the various time interval, the frequency of tumor induction was observed and the size of tumor was measured as follows : Tumor size = major axis(mm)×minor axis(mm)/2.

Table IV. Effect of *Hwanhonsan* extract on the FsaII-implanted tumor production in mice

Days after implantation	HHS-treatment	% of induction	Tumor size
5	-	100	47.3±3.2
	.	70	39.4±3.4
10	-	100	87.8±6.4
	.	90	82.5±5.7
15	-	100	122.3±8.4
	.	100	121.5±9.5

Hwanhonsan extract(daily 1 mg/mouse for 7 days) or the same volume of saline(control) received mice were s.c. implanted FsaII cells(2×10^6 cells/mouse). At 5, 10 and 15 days after implantation, the frequency of tumor induction was observed and the tumor size was measured as follows : Tumor size = major axis(mm)×minor axis(mm)/2.

3. 還魂散 抽出液(10 µg/ml)이 試驗管内 細胞株의 增殖에 미치는 影響

繼代 中인 對數增殖期의 各 細胞株를 還魂散 抽出液(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 投與下에서 培養하였던 바, 그 結果는 Table V와 같다. 즉 A431 細胞의 增殖은 還魂散 抽出液 投與下에서 97.3%로 影響을 받지 않았으나, FsaII 細胞는 還魂散 抽出液을 添加함으로써 그 增殖이 105.3%로 다소 增加되었다. 그러나 3LL 및 S180 細胞는 還魂散 抽出液을 培養器에 添加함으로써 그 增殖이 各各 76.1% 및 74.3%로 減少되었다.

Table V. Effect of *Hwanhonsan* extract on the in vitro proliferation of various cell strains

Cell strains	% of control
A431	97.3
FsaII	105.3
3LL	76.1
S180	74.3

Each cell strains(2×10^5 cells/ ml) was cultured in the presence of *Hwanhonsan* extract(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) for 20 hrs. The proliferation responses of each cultured cells were measured by MTT assay, and normalized as % of control.

IV. 考察

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의 所見에 의하여 良性腫瘍과 惡性腫瘍으로 區分된다⁸⁾. 통상 癌이라고도 하는 모든 惡性腫瘍은 빠른 成長, 浸潤性 成長, 體內 各 部位에의 擴散 및 轉移 등과 같은 特性이 있어 生命에 危險을 招來^{8,9)}하여 現在 人類의 健康을 위협하는 主要한 疾病의 하나로 心腦血管疾患과 더불어 死亡原因의 1, 2위를 차지하고 있으며 우리나라에서도 癌은 1988年 以來 全體 死亡原因 가운데 제 1위를 차지하였다⁹⁾.

西洋醫學에서 癌의 發生은 生體內 正常體細胞가 發癌物質 등의 環境의 要因과 바이러스 感染, 遺傳的 要因, 慢性 刺戟 및 突然變異 등에 의하여 어떤 過程을 거쳐 免疫監視機能이라는 一種의 個體防禦能力이 弱화되어서 癌細胞로 變形되고, 癌細胞化와 癌成長機轉을 거쳐 자라는데, 癌細胞化된 非正常細胞(非自己)의 破壞除去作用을 못하

게 되면 正常細胞가 가진 細胞增殖 調節機能을 잃고 제멋대로 成長하게 되는 것으로 說明되고 있다³⁰⁾. 癌의 4大 治療法으로는 外科의 手術療法, 放射線治療法, 抗癌化學療法, 免疫療法등⁸⁾이 利用되고 있다. 그러나 外科的 切除는 轉移된 腫瘍의 治療가 不可하다는 限界點을 가지고 있으며, 放射線 治療는 局所的 浸潤性 腫瘍의 治療에는 有效하나 全身的 轉移 腫瘍의 경우에는 治療에 制限性이 있고, 化學療法은 化學製劑의 腫瘍에 對한 選擇性, 正常細胞에 對한 毒性作用의 問題點이 있다. 이에 癌을 精確할 수 있는 可能性을 지닌 새로운 治療法으로 기대를 모으고 있는 治療方式이 免疫療法으로 알려져 있다^{8,30)}.

歷代 東洋醫學의 文獻에는 비록 '腫瘍'이라는 表現은 없지만²⁹⁾, 惡性腫瘍에 해당하는 病名은 噎膈, 反胃, 癥, 積, 上石疽, 乳岩, 妒乳, 石癭, 舌菌, 骨疽, 石癰, 緩疽, 石疔, 肉瘤 등으로 볼 수 있으며²⁹⁾, 蔡³¹⁾에 의하면 東洋醫學에서는 癌을 癰疽와 積聚에서 取扱하고 있다고 했다.

癌의 發生에 對한 東洋醫學的인 見解로 姜³²⁾은 正氣가 虛할 때 客邪가 留滯함으로써 氣滯血瘀하고 邪毒積聚가 塊를 이루어 形成된다 하였고, 李³³⁾도 “積之成也 正氣不足 而後邪氣踞之”라 하여, 發病의 原因이 역시 正氣가 虛함에 있음을 強調하고 있으며, 그 治法에 있어서도 初期에는 邪氣가 아직 깊게 들어가지 않아 正氣가 比較的 強한 편이므로 攻法을 爲主로 하되, 時日이 좀 더 經過하여 病邪가 더욱 깊이 浸透한 中期에는 相對的으로 正氣가 虛弱해지므로 攻法과 補法을 兼施하라 하였으며, 正氣가 消殘해져 버린 晚期에는 오직 補法만을 爲主로 하라고 하였고^{34,35)}, 金³⁶⁾은 歷代 文獻의 癌의 治法을 “健脾, 益氣, 扶正, 養陰, 生津, 理氣, 補腎, 清熱解毒, 軟堅散結, 活血化瘀, 化痰, 抗癌 등으로 要約하였다.

最近 韓藥材를 利用한 抗癌效果에 對한 활발한 研究가 進行되고 있는데 攻法을 爲主로 한 處方으로 金翹敗毒散²⁰⁾ 大柴胡湯³⁷⁾ 乾漆散³⁸⁾ 등, 攻補兼施를 爲主로 한 處方으로 內託羌活湯¹⁸⁾ 秘方奪命散¹⁹⁾ 仙方活命飲²¹⁾ 등, 補法을 爲主로 한 處方

으로 四君子湯³⁹⁾ 補中益氣湯⁴⁰⁾ 麥苓白朮散⁴¹⁾ 등의 抗癌에 對한 實驗의 報告가 있다. 還魂散을 構成하는 藥物의 抗癌效果에 關하여 金⁴²⁾은 金銀花가 癌細胞 感受性을 높인다는 것을, 任⁴³⁾은 穿山甲이 正常免疫細胞에는 거의 毒作用을 일으키지 않으면서 強力한 抗癌效果가 있음을, 沈⁴⁴⁾은 穿山甲의 抗癌效果에 關한 研究를 報告한 바 있다. 그러나 癰疽에 活用된 還魂散에 關하여는 消炎, 鎮痛, 抗菌作用에 關한 研究²²⁾만 있는 실정이다. 이에 著者는 癰疽疾患에 活用되는 還魂散의 抗腫瘍效果를 究明하고자 本 實驗을 시도하였다.

還魂散을 構成하는 藥物의 效能을 살펴보면 知母는 淸熱除煩 滋陰降火하여, 消炎 解熱 鎮靜 利尿作用이 있고, 天花粉은 淸熱生津 淸肺化痰 消腫排膿하여, 消炎作用이 있고, 金銀花는 淸熱解毒 涼血止痢 散風熱하여, 消炎作用이 있고, 白芨은 收斂止血 消腫生肌하여, 消炎 排膿 止血作用이 있고, 乳香은 (內服)活血止痛 伸筋 (外用)消腫 止痛 生肌하여, 殺菌 收斂 鎮痛作用이 있고, 穿山甲은 活血通經 下乳 消腫排膿 解鬱開孔하고, 皂角刺는 消腫排膿 治風殺蟲 解鬱開孔하고, 半夏는 降逆止嘔 燥濕祛痰 消痞散結하여, 消炎 鎮嘔 鎮吐 鎮靜作用이 있고, 貝母는 止咳化痰 淸熱散結 軟堅消腫하여, 消炎 鎮靜作用이 있다.⁴⁵⁻⁴⁶⁾ 따라서 還魂散은 癰疽初期에 淸熱解毒, 活氣, 活血에 重點을 두고 治療하는 內消法⁴⁾에 該當되는 處方으로 볼 수 있다.

抗癌劑의 抗癌效果 程度를 檢査하는 方法으로는 藥劑에 의하여 惹起되는 細胞毒性을 測定하는 5가지 方法이 있는데²⁶⁻²⁷⁾, 本 實驗에서는 細胞를 藥劑에 露出시킨 後 soft agar에 single cell suspension으로 培養하여 그 細胞의 分裂·增殖 能力을 測定하는 stem cell assay(clonogenetic assay)法²⁷⁾을 使用하였다. 이 方法은 특히 成長 特性이 다른 腫瘍細胞의 경우 個個 細胞에 對한 藥劑效果를 反映할 수 있어서 腫瘍細胞의 異質性에 따른 差異點을 補整할 수 있으며, Park 등²⁸⁾이 마우스 骨髓腫細胞에 對한 stem cell assay를 施行한 後로 腫瘍細胞에 對한 抗癌劑의 藥劑 感受

性 檢査에 많이 使用되었다.

還魂散 抽出液이 MCA로 誘導한 腫瘍發生에 미치는 影響을 살펴본 結果 對照群에서는 腫瘍發生率(46%), TBM 當 腫瘍의 數(1.6개), 腫瘍의 무게(12.1 mg)이고 實驗群에서는 腫瘍發生率(36%), TBM 當 腫瘍의 數(1.3개), 腫瘍의 무게(9.9 mg)으로 對照群에 비하여 癌發生 뿐만 아니라 發生한 癌腫의 增殖을 抑制시켰다(Table I).

還魂散 抽出液이 癌腫細胞 移植에 의한 腫瘍發生에 미치는 影響을 살펴본 結果 3LL 細胞에서는 對照群에 비하여 實驗群에서 腫瘍發生率 뿐만 아니라 腫瘍의 크기가 減少되었으며, 減少의 程度는 還魂散 抽出液을 1週日間 前投與한 實驗群보다 還魂散 抽出液을 前投與하고 腫瘍誘導 後에도 계속 投與한 實驗群에서 더욱 減少되었다(Table II). 이러한 사실로 보아 還魂散 抽出液은 3LL 細胞에 對하여 抗癌效果 뿐만 아니라 癌發生 後에도 有效한 治療作用이 있음을 示唆하는 것으로 볼 수 있다. S180 細胞에서도 實驗群에서 腫瘍發生率 및 腫瘍의 크기가 減少되었으나(Table III), FsaII 細胞에서는 移植 5日까지는 對照群에 비하여 實驗群에서 腫瘍發生率 및 腫瘍의 크기가 減少되었고 移植 10日 以後에는 큰 差異가 없었다(Table IV).

還魂散 抽出液(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)이 試驗管內 細胞株의 增殖에 미치는 影響을 살펴본 結果 3LL 및 S180 細胞는 還魂散 抽出液을 添加함으로써 그 增殖이 各各 76.1% 및 74.3%로 減少되었으나, A431 細胞의 增殖은 97.3%로 影響을 받지 않았으며, FsaII 細胞의 增殖은 105.3%로 오히려 다소 增加되었다(Table V). 이러한 實驗結果로 미루어 볼 때 還魂散 抽出液의 抗腫瘍作用은 癌腫特異性을 보이고, 또한 感受性 있는 癌腫細胞에는 直接的으로 影響을 미쳐 그 增殖이 抑制되었을 可能性을 推論할 수 있다.

以上の 實驗結果를 總括하면 還魂散이 癌細胞에 作用하는 機轉은 不分明하나 還魂散 抽出液은 腫瘍細胞에 直, 間接적으로 作用하여 抗腫瘍作用을 보이고, 이와 같은 抗腫瘍作用은 癌腫에 따라

다르게 發顯됨을 알 수 있었다.

V. 結論

還魂散의 抗腫瘍效果를 觀察하기 위하여 MCA로 腫瘍을 誘發하고, leukemia cell line인 3LL 細胞와 sarcoma cell line인 S180 細胞 및 FsaII 細胞를 마우스의 背部皮下에 移植함으로써 發生되는 腫瘍의 發生率과 發生한 腫瘍의 크기 등을 觀察하였던 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 還魂散 抽出液은 MCA로 誘導한 腫瘍의 發生率과 發生한 腫瘍의 크기를 減少시켰다.

2. 還魂散 抽出液은 3LL 細胞 및 S180 細胞 移植에 의한 腫瘍發生을 減少시켰으나, FsaII 細胞 移植에 의한 腫瘍發生에는 有意한 影響을 미치지 못하였다.

3. 還魂散 抽出液은 試驗管内 A431 細胞의 增殖에는 影響을 미치지 못하였으나 FsaII 細胞의 增殖能은 先進시켰고, 3LL 細胞 및 S180 細胞의 增殖能은 低下시켰다.

以上の 結果로 還魂散 抽出液은 癌腫細胞 依存性 抗腫瘍作用을 보였으며, 이와 같은 還魂散 抽出液의 抗腫瘍作用은 腫瘍細胞에 直接 作用하여 發顯됨을 알 수 있었다.

= Abstract =

Influence of Hwanhonsan extract against chemically induced and xenografted mice tumor

Song, Hye-Won* · Ryu, Do-Gon** · Cho, Dong-ki** · Um, Sang-sub** · Kang, Sung-do** · Go, Jeoin-soo** · Sung, Yeun-Kyung** · Yun, Young-Gap* · Cho, Nam-su** · Lee, Chun-Woo** · Kang, Soon-soo*

*Dept. of Oriental Prescription, **Dept. of Physiology, college of oriental medicine, Won-Kwang Univ., Iksan, Korea.

Hwanhonsan has been used for curing tumor as a Oriental medicine without any experimental evidence to support the rational basis for their clinical use. This experiment was carried out to evaluate the possible therapeutic or antitumoral effects of *Hwanhonsan* extract against cancer, and to study some mechanisms responsible for its effect. Some kind of tumors were induced by the typical application of 3-methylcholanthrene(MCA) or by the implantation of malignant tumor cells such as leukemia cells(3LL cells) or sarcoma cells(S180 cells) and FasII cells. Treatment of the *Hwanhonsan* extract(daily 1 mg/mouse, i.p.) was continued for 7 days prior to tumor induction and after that the treatment was lasted for 20 hrs. Against squamous cell carcinoma induced by MCA, *Hwanhonsan* decreased. not only the frequency of tumor production but also the number and weight of tumors per tumor bearing mice(TBM). *Hwanhonsan* also significantly suppressed the development of 3LL cells and S180 cells implanted tumors by frequency and their size, and some developed tumors were regressed by the continuous treatment of *Hwanhonsan* extract into TBM. However, when tumor was induced by FsaII cells implantation, the growth of implanted cells in mice was delayed by the water extract of *Hwanhonsan* until 7 days and then rapid growth ensued. In vitro treatment of *Hwanhonsan* extract had no inhibitory effect on the tumor induced by some kind of cell lines such as A431 cells strain but it significantly inhibited the proliferation of 3LL cells, S180 cells. These results suggested that *Hwanhonsan* extract exhibited a significant prophylactic benefits against tumors and its antitumor activity was manifested depending on the type of tumor cells.

參考文獻

1. 王肯堂 : 六科準繩(四), 臺北, 新文豐出版 股彬有限公司, 瘍醫證治 卷一, p.65, 66, 1979.
2. 許 浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, 雜病篇 卷八, p.551, 1983.
3. 陳實功 : 外科正宗, 北京, 人民衛生出版社, p.30, 1983.
4. 蔡炳允 : 漢方外科, 서울, 高文社, p.38, 53, 330, 1983.
5. 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.
6. 蔡炳允 : 癰疽에 應用되는 仙方活命飲의 消炎 鎮痛 解熱作用에 關한 研究, 서울, 慶熙大學校 大學院, 1980.
7. 鄭善充 : 內託羌活湯 煎湯液이 實驗動物의 鎮痛 消炎 解熱 및 筋弛緩에 미치는 影響, 裡里, 圓光大學校 大學院, 1991.
8. 서울대학교 의과대학 편 : 종양학, 서울, 서울대학교출판부, pp.1-3, 91- 95, p.126, 1990.
9. 崔昇勳 : 東醫腫瘍學, 서울, 행림출판, pp.13-15, 1995.
10. Ysukagoshi S: Fundamental approaches to cancer immunotherapy using a protein bound polysaccharide PS, K with special reference to its clinical application. In Mizuno D, Chihara G, Fukuoka F, Yamamoto T, Yamamura Y, eds "Host Defence against Cancer and Its Potentiation" University of Tokyo Press, Tokyo, p.365, 1975.
11. Lee JH, Chung YS, Ha TY: Immunological studies on natural killer cells. J. Kor. Immunol. 6:15, 1984.
12. Dressor DR, Phillips JM: The orientation of the adjuvant activity of Salmonella typhosa lipopolysaccharide and lentinan. Immunology 27:895, 1974.
13. Miller TE, Mackaness SB, Lagange PH: Immunopotential with BCG. 2. Modulation of the response to sheep red blood cells. Natl Cancer Institute 51:1969, 1973.
14. Harsh EM, Eireish EJ: Host defence mechanisms and their modification by cancer chemotherapy. In Methods in Cancer Research, New York, Academic Press, p.335, 1986.
15. Stajerward JM, Vanky F: Lymphocytopenia and change in distribution of human B and T lymphocyte in peripheral blood induced by irradiation for mammary carcinoma. Lancet 1:1352, 1982.
16. 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.
17. 李先榮 等 : 梅花点舌丹抗腫瘤作用實驗研究, 中成藥研究, (6):28, 1982.
18. 鄭鉉雨 : 內託羌活湯이 腫瘍 및 免疫調節機能에 미치는 實驗的 研究, 裡里, 圓光大學校 大學院, 1996.
19. 姜惠永 : 秘方奪命散의 投與가 마우스의 先天的 및 特異 免疫反應에 미치는 影響, 裡里, 圓光大學校 大學院, 1991.
20. 朴世源 : 三種 癰疽處方의 動物腹水癌 細胞에 對한 抗癌作用研究, 裡里, 圓光大學校 大學院, 1994.
21. 崔仁和 : 仙方活命飲의 抗癌 및 免疫反應에 關한 實驗的 研究, 서울, 慶熙大學校 大學院, 1992.
22. 金鍾翰 : 還魂散(內消散) 물 엑스 및 20% 에탄올 엑스의 消炎, 鎮痛, 抗菌作用에 關한 研究, 裡里, 圓光大學校 大學院, 1993.
23. Lee JH, Ha TY: Effect of Panax ginseng on the tumorigenesis induced by 3-methylcholanthrene in mice. J. Kor. Med Assoc. 27:544, 1984.
24. 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.
25. Herberman RB, Ortaldo JR: Natural killer cell, their role in defence against disease. Science

- 214:24, 1981.
26. 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.
 27. Lee, NK: The response of human bladder cancer cell line to cytotoxic drug A comparison of coloney formation assay and isotope uptake assay, JKMA, 31:435, 1988.
 28. Park CH, Bergasgel DE, McCulloch EA: Mouse myeloma tumor stem cells. A primary cell culture assay. J Natol Cancer Inst 28:844, 1971.
 29. 崔昇勳 : 한의학의 종양에 대한 인식과 병리론, 大韓韓方腫瘍學會誌, Vol. 1, No.1, pp.11-28, 1995.
 30. 서울대학교 의과대학 편 : 면역학, 서울, 서울대학교출판부, p.1, 2, 265, 266, 271, 272, 1991.
 31. 蔡禹錫 : 免疫疾患의 韓方概念과 治療에 關한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, 第11卷 第2號, pp.54-91, 1990.
 32. 姜廷良外 7人 : 六味地黃湯防治腫瘤的 實驗研究, 北京, 中醫雜誌, p.471, 1983.
 33. 李仲梓 : 醫宗必讀, 臺南, 綜合出版社, p.255, 256, 1976.
 34. 程國彭 : 醫學心悟, 香港, 友聯出版社, p.28, 29, 40, 41, 1961.
 35. 王龍寶 : 胃癌的辨證施治, 上海, 上海中醫藥雜誌, 10:6, 1987.
 36. 金漢燮 : 癌의 治法, 治方 및 治療藥物에 關한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, 第10卷 第1號, pp.161-166, 1989.
 37. 金漢燮 : 四妙湯 大柴胡湯 및 構成藥劑들의 抗癌作用과 免疫反應에 關한 實驗的 研究, 서울, 慶熙大學校 大學院, 1989.
 38. 李俊成 : 乾漆散 煎湯液이 女性癌 細胞株에 미치는 影響, 大田, 大田大學校 大學院, 1996.
 39. 林圭庠 : 四君子湯 煎湯液이 家兔의 生體活性에 미치는 影響, 裡里, 圓光大學校 大學院, 1988.
 40. 閔勇泰 : 補中益氣湯의 投與가 紫外線照射로 低下된 마우스의 免疫機能의 恢復에 미치는 影響, 裡里, 圓光大學校 大學院, 1990.
 41. 李漢哲 : 蓼苓白朮散 煎湯液 投與가 Mouse의 生體 및 試驗管內 免疫反應에 미치는 影響, 裡里, 圓光大學校 大學院, 1992.
 42. 金秉雲 : 10種의 漢藥物의 癌細胞 感受性 및 自然殺害細胞 活性에 미치는 影響, 慶熙醫學, 2(4) : 503-524, 1986.
 43. 任幸訓 : 數種의 韓藥物이 癌細胞 感受성에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校 大學院, 1986.
 44. 沈載然 : 白鼠를 利用한 枳實 魚腥草 穿山甲 및 豬苓의 抗癌效果에 關한 研究, 서울, 慶熙大學校 大學院, 1988.
 45. 辛民教 : 原色臨床本草學, 서울, 永林社, p.277, 283, 321, 432, 453, 472, 473, 556, 636, 1991.
 46. 李尙仁 外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p.103, 140, 281, 325, 339, 497, 502, 515, 528, 1982.