

## 桂枝茯苓丸이 數種의 癌細胞柱 및 免疫機能에 미치는 影響

姜聲度 · 陳千植\* · 鄭鉉雨\*\*

\* : 東新大學校 韓醫科大學 婦人科學教室

\*\* : 東新大學校 韓醫科大學 病理學教室

### The effect of *KaegiBokryengHwan* on sereval cancer cell lines and immuno-function

The purpose of this Study was to investigate effects of *KaegiBokryengHwan*(KBH) on anti-tumor, immunocytes and nitric oxide(NO). This Study estimated the proliferation of L1210 cell lines, HeLa cell lines, SK-OV3 cell lines, MCF-7 cell lines, balb/c mouse 3T3 cell lines, mouse thymocytes and mouse splenocytes and NO production from peritoneal macrophages in vitro. and estimated the proliferation of L1210 cells, mouse thymocytes and splenocytes and NO production from peritoneal macrophages and body weight in L1210 cells-transplanted mice in vivo.

The result were obtained as follow ;

1. KBH inhibited significantly SK-OV3 cell lines in vitro.
2. KBH was accelerate significantly the proliferation of balb/c mouse thymocytes in vitro.
3. KBH increased significantly NO production from peritoneal macrophages in vitro.
4. KBH didn't effect the cytotoxicity of L1210 cells in L1210 cells-transplanted mice.
5. KBH was accelerate the proliferation of splenocytes in L1210 cells-transplanted mice.
6. KBH incresed NO production from peritoneal macrophages in L1210 cells-transplanted mice.
7. KBH increased the body weight as comparing with control group in L1210 cells-transplanted mice

## I. 結 論

桂枝茯苓丸은 漢代 張<sup>1)</sup>의 《金匱要略》에서 “婦人宿有癥病, …… 當下其癥, 桂枝茯苓丸主之”라 최초로 기록된 이래 催生<sup>4,7)</sup>, 癥瘕<sup>1-5)</sup>, 子死腹中<sup>46-9)</sup>등을 治療할 目的으로 사용하였으며, 桂枝茯苓丸<sup>2)</sup>, 奪命丹<sup>6)</sup>, 崔生湯<sup>4,7)</sup>, 奪命丸<sup>8-10)</sup>등의 異名으로 불리워져왔다.

癥瘕에 대하여 巢<sup>11)</sup>는 “一定한 部位에 항상 固定 癥着되어 나타나는 것을 癥이라 하고, 一定한 形體없이 聚散無根하여 時時로 堅塊가 發作하는 것을 瘕”라 하여 癥瘕에 대한 症候를 소개하였고, 楊<sup>12)</sup>은 “腸覃·石瘕가 癥瘕의 一種으로, 腸覃은 瘕와 石瘕는 癥과 비슷하다”라고 하였으며, 孫<sup>13)</sup>은 “腸覃 石瘕 血蠱 皆女子之疾 種種不同 乃痞塊之異名耳”라 하여, 女性의 下腹腔內에 發生하는 女性固有의 腫塊를 總稱하여 癥瘕라 하였다<sup>14)</sup>.

癥瘕는 西洋醫學的으로 特定 組織이 過剩 成長하여 正常的인 組織을 破壞하여 生體의 防禦 및 免疫機能에도 不拘하고 持續的으로 成長할 수 있는 惡性腫瘍인 癌<sup>17-19)</sup>中 특히 外陰部·子宮·卵巢·卵管과 그 주위에서 發生하는 모든 良性이나 惡性腫瘍인 卵巢囊腫·子宮筋腫·子宮頸部癌·卵巢癌·卵管癌·絨毛上皮腫·子宮肉腫 등의 病症을 포함<sup>14-16)</sup>하고 있다.

癥瘕의 治療法으로 韓醫學에서는 全身의 症狀이나 局所의 變化를 把握하여 清熱解毒하거나 以毒攻毒·活血化瘀·軟堅散結·補益氣血 등의 治法을 사용하는데<sup>20)</sup>, 正氣나 邪氣의 虛實與否에 따라 初期에는 正氣未傷으로 攻邪爲主하고, 中期에는 正氣已傷하여 攻補兼施하며, 末期에는 正氣大虛하니 扶正爲主로 治<sup>15,20-22)</sup>하여 正氣를 매우 重視하고 있으며, 西洋醫學에서는 手術療法·放射線療法·化學療法 및 免疫療法과 遺傳子療法 등을 活用하나 아직까지 癌腫에 따른 感受性이나 治療 後의 豫後, 副作用 등이 각기 多樣하여<sup>23-24)</sup> 그 限界性을 극복하지 못하

고 있어 韓藥材의 開發이 要求되고 있다.

癥瘕의 治療에 있어서 重視되는 正氣란 《素問》·「刺法論」<sup>25)</sup>에 “正氣存內 邪不可干”, 「評熱病論」<sup>26)</sup>에 “邪之所湊 其氣必虛”, 「通評虛實論」<sup>26)</sup>에 “邪氣盛則實, 精氣奪則虛”라 하고, 《靈樞》·「口問篇」<sup>26)</sup>에 “邪之所在, 皆爲不足”이라 하여 邪氣에 대한 相對的 用語이면서 人體生命活動力의 總稱으로 疾病의 成立過程中에서 生體의 抵抗性에 關여하는 것으로 個體가 自己와 非自己를 識別하여 非自己 物質을 除去함으로써 그 個體 內部的 正常狀態와 恒常性을 維持하는 現象인 免疫機能<sup>27-28)</sup>과 연관지어 생각할 수 있다.

抗癌作用 및 免疫反應과 關連된 實驗的 研究로 鄭<sup>29)</sup>은 內託羌活湯이 腫瘍 및 免疫調節機能에 效果가 있음을, 孫<sup>30)</sup>은 抗癌扶正湯이 抗癌劑 投與나 放射線治療 및 癌 自體에 의한 免疫機能 低下에 對하여 免疫調節劑로써 有用性이 있음을, 柳<sup>31)</sup>는 荊蓬煎丸料가 女性癌細胞에 抗癌 效果 및 마우스 免疫細胞를 增進시킴을, 趙<sup>32)</sup>는 消積白朮散이 抗癌 및 免疫增強效果가 있음을 報告하였다.

또한 桂枝茯苓丸을 이용한 研究들로는 鎮痛·抗炎·抗痙攣·筋弛緩 등의 變化에 關한 研究<sup>33)</sup>와 子宮筋의 運動變化 및 血液象의 變化에 關한 研究<sup>34)</sup>, 그리고 四鹽化炭素로 인한 肝損傷의 變化에 關한 研究<sup>35)</sup>들이 있었으나, 活血化瘀·消癥하는 效能이 있는 桂枝茯苓丸을 利用하여 抗癌 및 免疫機能과 關聯된 研究 報告를 아직까지 接하지 못하였다.

이에 著者는 癥瘕에 應用되는 桂枝茯苓丸을 利用하여 各種의 癌細胞柱와 免疫細胞들에게 in vitro上으로 投與한 結果 有意性이 認定되었고, 또한 in vivo上에서도 L1210 癌細胞와 各種의 免疫細胞들의 反應에 있어서 有意性이 있었기에 報告하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 藥材

本 實驗에 사용한 桂枝茯苓丸의 構成藥物은 金匱要略<sup>1)</sup>에 準하였으며, 사용한 藥材는 東新大學校 附屬韓方病院에서 購入한 후 精選하여 使用하였고, 處方 1貼의 內容과 分量은 다음과 같다.

Prescription of  
KaegiBokryengHwan(KBH)

構成藥物	生藥名	重量(g)
桂 枝	Cinnamomi Ramulus	10.0
白茯苓	Poria	10.0
牡丹皮	Moutan Cortex	10.0
桃 仁	Persicae Semen	10.0
赤芍藥	Paeonia Radix Rubra	10.0
總 量		50.0

桂枝茯苓丸(50.0g)을 1,000ml 증류수로 상온에서 3시간동안 추출한 후 rotary evaporator로 농축한 다음 freeze dryer로 凍結乾燥하여 분말 10.6mg을 얻었다. 동물 실험시에는 생리식염수에 용해하여 사용하였고, 세포 실험시에는 3차 증류수에 용해하여 membrane filter로 여과필균하여 사용하였다.

#### 2) 動物

本 實驗에 사용한 mouse는 대한실험동물에서 구입한 balb/c계 22±1(g) 수컷을 온도 20±3(°C), 습도 55±5(%), light/dark 12(hr)의 사육 조건에서 1주일 이상 적응시키면서 고품질 pellet 사료와 물을 자유로이 섭취케하였다.

### 2. 方法

#### 1) In Vitro

##### (1) 細胞柱 및 細胞 培養條件

자궁암세포주인 HeLa cell line, 유방암세포주인 MCF-7 cell line, 난소암세포주인 SK-OV3 cell line, balb/c계 마우스 3T3 cell line는 Dulbecco's Modified Eagle Medium (이하 DMEM이라 함)배지를, 급성백혈병세포주인 L1210 cell line, 마우스 흉선 및 비장세포는 Roswell Park Memorial Institute 1640 (이하 RPMI 1640이라 함)배지를 사용하였으며, 배지에는 10% Fetal Bovine Serum(이하 FBS라 함)와 penicillin-streptomycin (100units/ml, 100µg/µl)을 첨가하여 사용하였다. 계대 배양은 1:10~1:20 비율로 3일 간격으로 하였고, 세포 증식에 미치는 약재의 영향을 관찰하기 위한 실험은 계대배양 2일째의 세포를 사용하였다.

##### (2) MTT assay에 의한 細胞 增殖率 變化

本 실험에 사용한 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay (이하 MTT法이라 함)은 Mosmann<sup>36)</sup>이 개발하여 Kotnik<sup>37)</sup>등이 변형시킨 방법으로 96-well plate의 각 well에 세포 부유액 100 µl(2×10<sup>5</sup>cells/ml)를 접종하여 37°C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 농도별로 희석된 藥材 1, 10, 100µg/ml씩 100µl를 넣고 37°C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48시간 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5mg/ml 농도로 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(이하 DPBS라 함)-A에 희석된 MTT용액 20µl를 각 well에 첨가하고 배양 종료시까지 은박지로 빛을 차단하였다. 부착세포의 경우는 배양 종료시 배양액을 제거한 후 생성된 formazan crystal을 Dimethyl Sulfoxide(이하 DMSO라 함) 100µl로 용출시킨 다음 發色된 각 well의 흡광도를 microplate-reader를 이용하여 570nm에서 측정하였고, 부유세포의 경우는 배양 종료시 0.01N Hcl에 용해시킨 10% Sodium Dodecyl Sulfate(이하 SDS라 함) 100µl를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 發色된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570nm에서 측정

하여 대조군의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

### (3) 마우스 胸腺 및 脾臟細胞의 分離

마우스의 흉선 및 비장세포 분리는 Wysocki<sup>38)</sup> 및 Mizel<sup>39)</sup> 등의 방법을 이용하였다. Balb/c 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후 적출한 흉선 및 비장을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음 10ml 주사기로 조심스럽게 세포부유액을 취하여 1,500rpm에서 5분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 흉선 및 비장세포를 분리하였으며, 분리한 흉선 및 비장세포의 생존율 및 총 세포수를 hemocytometer를 이용하여 측정하였다.

### (4) 胸腺 및 脾臟細胞의 增殖率 變化

흉선 및 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96-well plate에  $1.0 \times 10^6$  cells/ml 농도로 접종하여 흉선세포에는 Concanavalin A(이하 Con A라 함)  $5 \mu\text{g/ml}$ 와, 비장세포에는 Lipopolysaccharide(이하 LPS라 함)  $5 \mu\text{g/ml}$ 와 함께 약제 1, 10,  $100 \mu\text{g/ml}$ 를  $100 \mu\text{l}$ 씩 첨가한 후 37°C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48시간 배양한 다음 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하였다. 배양 종료시 0.01N HCl에 용해시킨 10% SDS  $100 \mu\text{l}$ 를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 發色된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 계산하였다.

### (5) 마우스 복강 macrophage의 분리 및 nitric oxide 생성에 미치는 영향

3% thioglycollate 2ml를 복강에 투여한 다음 3일후에 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 다음 복강에 cold PBS 10ml를 주입한 후 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4°C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리하고 RPMI 1640 배지로 2회 세척한 후 직경 120mm petri

dish에 분주하여 37°C CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양시키고 난 4시간후에 부착되지 않은 세포를 제거한 다음 부착한 macrophage를 cell scraper로 분리하여 24 well plate에 well당  $1 \times 10^6$  cells을 분주한 후 각 well에 농도별로 약제 1, 10,  $100 \mu\text{g/ml}$ 를  $100 \mu\text{l}$ 와 함께 LPS  $1 \mu\text{g/ml}$ 와 Interferon- $\gamma$ (이하 IFN- $\gamma$ 이라 함) 25units/ml를 첨가하지 않은 군과 첨가한 군으로 분류하여, 37°C CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양한 후 생성된 Nitric Oxide(이하 NO라 함)의 양을 Griess법<sup>40)</sup>으로 측정하였다.

세포부유액  $100 \mu\text{l}$ 와 Griess reagent(1% sulfanilamide + 0.2% N-naphthylethylenediamine 2HCl + 2.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)  $100 \mu\text{l}$ 를 혼합하여 96 well plate에 넣고 570nm에서 microplate-reader로 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO<sub>2</sub>의 검량선에 의해 NO의 양을 측정하였다.

## 2) In Vivo

### (1) 癌細胞의 移植

마우스 leukemia 세포주인 L1210 세포를 1)-(1)과 같이 계대를 하면서 계대배양 2일째 되는 세포를  $2 \times 10^6$  cells/mouse로 조제하여 복강에 1ml을 주사함으로써 암세포를 이식하였다.

### (2) 實驗群

Balb/c 마우스 7마리를 1군으로 하여 정상군, 대조군 그리고 실험군으로 분류하였다. 정상군은 암세포를 이식하지 않은 군으로 1일 1회씩 7일동안 증류수 0.2ml씩을 투여하였고, 대조군은 2)-(1)과 같은 방법으로 암세포를 이식한 후에 1일 1회씩 7일동안 증류수를 0.2ml씩을 투여하였으며, 실험군은 2)-(1)과 같은 방법으로 암세포를 이식한 후에 1일 1회씩 7일동안 약제 300mg/kg씩을 투여하였다.

### (3) 移植된 마우스의 癌細胞 增殖率 變化

2)-(1)과 (2)의 방법으로 실시한 후 경추탈골하여 도살시켰다. 도살 후 복강에 cold PBS 10ml를 주입하여 잘 혼화시킨 다음 복

강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4℃에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리하고 RPMI 1640 배지로 2회 세척한 후 직경 120mm petri dish에 분주하여 37℃ CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양시키고 4시간후에 부착한 세포를 제거하고 부착하지 않은 세포를 모아 4℃에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리를 하였다. 침전된 세포분획을 모아 1×10<sup>6</sup> cells로 조제하여 96 well plate의 각 well에 세포부유액 100 μl를 분주하고 배지 100μl를 채워 37℃의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48시간 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5mg/ml 농도로 DPBS-A(pH 7.4)에서 희석된 MTT용액 20μl를 각 well에 첨가하고 배양 종료시 0.01N Hcl에 용해시킨 10% SDS 100μl를 각 well에 첨가한 다음 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 發色된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 계산하였다.

(4) 移植된 마우스의 體重의 變化

2)-(1)과 (2)의 방법으로 실시한 후 경추탈골하여 도살시켰다. 체중의 측정은 도살시기 전에 실시하였다.

(5) 移植된 마우스의 胸腺 및 脾臟細胞의 增殖率 變化

2)-(1)과 (2)의 방법으로 실시한 후 1)-(3)의 방법으로 분리하였다. 분리한 다음 흉선 및 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10<sup>6</sup>cells/ml 농도로 접종하여 흉선세포는 Con A 5μg/ml, 비장세포는 LPS 5μg/ml을 첨가한 후 37℃의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48시간 배양한 다음, 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하였다. 배양 종료시 0.01N Hcl에 용해시킨 10% SDS 100μl를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백

분율로 환산하여 계산한다.

(6) 移植된 마우스 腹腔 macrophage의 分離 및 NO 生成

2)-(1)과 (2)의 방법으로 실시한 후 1)-(5)와 같은 방법으로 腹腔 macrophage를 분리하였다. 분리한 macrophage를 24 well plate에 well당 1×10<sup>6</sup> cells을 분주한 후 각 well에 LPS 1μg/ml와 IFN-γ 25units/ml를 첨가하지 않은 군과 첨가한 군으로 분류하여, 37℃ CO<sub>2</sub>-배양기에서 24시간 배양한 후에 생성된 NO양을 Griess법<sup>40)</sup>으로 측정하였다.

세포 부유액 100μl와 Griess reagent(1% sulfanilamide + 0.2% N-naphthyl-ethylenediamine 2Hcl + 2.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 100μl를 혼합하여 96 well plate에 넣고 570nm에서 microplate-reader로 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO<sub>2</sub>의 검량선에 의해 NO양을 측정하였다.

### 3. 통계처리

통계처리는 Student's t-test를 이용하였으며, p-value가 최대치 0.05이하인 경우에만 有意한 것으로 判定하였다.

## III. 實驗成績

### 1. In Vitro上에서 桂枝茯苓丸이 癌細胞柱에 미치는 影響

桂枝茯苓丸 煎湯液이 각종의 癌細胞柱에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 급성백혈병세포주인 L1210 cell line, 자궁암세포주인 HeLa cell line, 유방암세포주인 MCF-7 cell line, 그리고 난소암세포주인 SK-OV3 cell line에 동결 건조한 桂枝茯苓丸 煎湯液을 1, 10, 100μg/ml씩 투여하였다. 그 결과 각 癌細胞柱들에 대한 對照群의 세포증식율을 100(%)으로 하였을 때,

L1210세포주의 경우는 각 농도에서 對照群보다는 감소하는 추세를 보였으나, MCF-7세포주는 오히려 對照群보다 증가하는 경향을 나타내었다. 한편 HeLa세포주의 경우는 L1210세포주와 마찬가지로 對照群보다 감소하는 추세를 보였고, 특히 난소암세포주인 SK-OV3 경우에 있어서는 1, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 투여하였을 때 對照群보다 15%정도 유의성있게 감소하였다(Table I).

Table I. The cytotoxic effects of KBH on the cancer cell lines *in vitro*  
KBH : The prescription of

<i>In vitro</i>	L1210	SK-OV3	MCF-7	Hela
Control	100.3 $\pm$ 0.3	100.3 $\pm$ 1.3	100.1 $\pm$ 0.8	100.4 $\pm$ 0.9
1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	97.4 $\pm$ 1.0**	85.5 $\pm$ 1.0***	100.3 $\pm$ 0.7	89.1 $\pm$ 0.8
10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	96.7 $\pm$ 1.4'	85.8 $\pm$ 0.6***	110.5 $\pm$ 0.5	88.7 $\pm$ 0.9***
100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	93.6 $\pm$ 0.8	101.3 $\pm$ 0.9	105.5 $\pm$ 1.7'	97.8 $\pm$ 2.4

KaegiBokryengHwan

L1210 : lymphocytes, leukemia cell  
line(mouse)

SK-OV3 : ovary, adenocarcinoma(human)

MCF-7 : mammary gland,  
adenocarcinoma(human)

HeLa : uterine, adenocarcinoma(human)  
\* : Significantly different from control  
group(\* ; P<0.05, \*\* ; P<0.01, \*\*\* ;  
P<0.001)

## 2. In Vitro上에서 桂枝茯苓丸이 免疫細胞에 미치는 影響

桂枝茯苓丸 煎湯液이 각종의 免疫細胞에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 *in vitro*상에서 마우스의 섬유아세포주인 3T3 cell line의 증식율과 마우스의 흉선과 비장에서 적출한 thymocytes 및 splenocytes의 증식율, 그리고 마우스의 복강에서 분리한 macrophage가 생성하는 NO의 농도를 관찰한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

桂枝茯苓丸 煎湯液이 3T3세포주에 미치는 효과에 있어서 대조군의 증식율을 100(%)으로 하였을 때 桂枝茯苓丸 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 투여한 實驗群에서는 오히려 對照群보다 감소하는 추세를 보였지만, thymocytes의 proliferation 경우에 있어서는 桂枝茯苓丸 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 투여하였을 때는 對照群보다 20(%)정도 증가하였고, splenocytes의 증식에 있어서는 약물의 투여량이 증가할수록 증식율도 증가하는 경향이 있었지만 임상적인 유의성은 인정되지 않았다(Table II). 또한 복강 macrophage에서 생성되는 NO의 농도에 있어서는 對照群이 10.5 $\pm$ 0.3( $\mu\text{M}$ )인데 반하여 桂枝茯苓丸 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 투여한 實驗群에서는 각각 10.4 $\pm$ 0.2, 11.8 $\pm$ 0.2, 12.7 $\pm$ 0.2( $\mu\text{M}$ )로 유의성있게 증가하는 경향을 나타내었다(Table III).

Table II. Effects of KBH on the proliferation of immunocytes *in vitro*

<i>In vitro</i>	control	1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	100 $\mu\text{g}/\text{ml}$
Thymocytes	100 $\pm$ 1.6	119.6 $\pm$ 0.8	113.4 $\pm$ 0.4	111.2 $\pm$ 0.6
Splenocytes	100 $\pm$ 0.4	104.3 $\pm$ 0.5	105.5 $\pm$ 0.6***	108.8 $\pm$ 1.1**
3T3 cell	100 $\pm$ 0.5	97.7 $\pm$ 0.9'	102.0 $\pm$ 1.3	87.5 $\pm$ 1.2***

\* : Significantly different from control group(\* ; P<0.05, \*\* ; P<0.01, \*\*\* ; P<0.001)

Table III. Effects of KBH on the Nitric Oxide production from mice peritoneal macrophages *in vitro*

<i>In vitro</i>	Control	1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	100 $\mu\text{g}/\text{ml}$
NO	10.5 $\pm$ 0.3	10.4 $\pm$ 0.2	11.8 $\pm$ 0.2'	12.7 $\pm$ 0.2**

\* : Significantly different from control group(\* ; P<0.05, \*\* ; P<0.01)

## 3. In Vivo上에서 桂枝茯苓丸이 癌細胞에 미치는 影響

桂枝茯苓丸 煎湯液이 癌腫이 유발된 마우스

의 癌細胞에 어떠한 영향을 미치는가에 대하여 알아보기 위하여 L1210 cell line을 마우스의 복강에  $2 \times 10^6$  cells/mouse씩 주입한 후 7일동안 1일 1회 桂枝茯苓丸 300mg/kg을 투여하였다. 그 결과 對照群의 복강내에 있는 L1210세포의 증식을 100(%)로 하였을 때 實驗群에서는 95.7(%) 정도로 감소하였다. 그러나 임상적인 유의성은 인정되지 않았다(Table IV).

Table IV. Effects of KBH on the proliferation of L1210 cells *in vivo*

<i>In vivo</i>	Control	Sample
L1210 proliferation	100.0±0.1	95.7±0.2**

Control : After L1210 cells-transplanted mice, DDW 0.2ml were administered p.o. for 7days

Sample : After L1210 cells-transplanted mice, KBH(300mg/kg) 0.2ml were administered p.o. for 7days

\* : Significantly different from control group(\*\*\*) ; P<0.001

#### 4. In Vivo上에서 桂枝茯苓丸이 마우스의 反應에 미치는 影響

桂枝茯苓丸 煎湯液이 癌腫이 유발된 마우스의 免疫細胞에 어떠한 영향을 미치는가에 대하여 알아보기 위하여 L1210 cell line을 마우스의 복강에  $2 \times 10^6$  cells/mouse씩 주입한 후 7일동안 1일 1회 桂枝茯苓丸 300mg/kg을 투여하였다. 그 결과 thymocytes의 경우 對照群의 증식율을 100(%)로 하였을 때 實驗群의 增殖率은 107.3(%)로 對照群에 비하여 thymocytes의 proliferation이 증가하였고, splenocytes의 proliferation은 118.1(%)로 對照群의 增殖率에 비하여 약 20(%) 정도가 증가하였다. 또한 腹腔 macrophage에서 생성되는 NO의 量은 對照群이  $16.6 \pm 0.1 (\mu M)$  인데 반하여 桂枝茯苓丸 300mg/kg을 1일 1회 투여한 實驗群의 NO 量은  $23.8 \pm 0.1 (\mu M)$ 로 증가하였다. 또한 桂枝茯苓丸 煎湯液이 癌腫이 유

발된 마우스의 체중에 미치는 영향을 알아보기 위하여 L1210 cell line을 마우스의 복강에  $2 \times 10^6$  cells/mouse씩 주입한 후 7일동안 1일 1회 桂枝茯苓丸 300mg/kg을 투여하였다. 그 결과 癌腫을 유발시킨 후 증류수만을 투여한 對照群의 체중을 100(%)로 하였을 때, 癌腫을 유발시키지 않고 증류수만을 7일동안 투여한 正常群의 체중은 109(%)였고, 癌腫을 유발시킨 후 桂枝茯苓丸을 투여한 實驗群의 體重은 正常群보다도 112(%)로 증가하는 경향을 나타내었다 (Table V).

Table V. Effects of KBH on the function of mice *in vivo*

<i>In vivo</i>	Normal	Control	KBH
Body weight	109.3±0.4	100.0±0.6	112.6±0.5
Thymocytes	132.4±0.2	100.0±0.2	107.0±0.8**
Splenocytes	123.6±1.0	100.0±0.2	118.1±0.4
NO production	16.7±0.2	16.6±0.1	23.8±0.1

\* : Significantly different from control group(\*\* ; P<0.01)

## IV. 考 察

桂枝茯苓丸은 漢代 張<sup>1)</sup>의 《金匱要略》에서 “婦人宿有癥病, …… 當下其癥, 桂枝茯苓丸主之”라 최초로 기록된 이래 癥瘕의 治療<sup>1-5)</sup>와 胞衣不下 혹은 小産이나 毒藥을 誤服하여 발생되는 子死腹中<sup>4,6-9)</sup>과 産母의 胞漿水を 下하는 催生<sup>4,7)</sup>의 目的으로 사용되어졌으며, 異名으로 桂枝茯苓圓<sup>2)</sup>, 奪命丹<sup>6)</sup>, 催生湯<sup>4,7)</sup>, 奪命丸<sup>8-10)</sup> 등으로 불리워지고 있다.

構成藥物을 보면 張<sup>1-4)</sup>등은 桂枝·茯苓·牡丹皮·桃仁·芍藥으로 構成하였으나 陳<sup>6)</sup>은 桂枝를 桂心으로 交替하고 茯苓과 芍藥을 各各白茯苓과 赤芍藥으로 細分하여 사용하였으며, 許<sup>9)</sup>는 茯苓을 赤茯苓으로 芍藥을 赤芍藥으로

使用하였다.

癥瘕에 대하여巢<sup>11)</sup>는 “一定한 部位에 항상 固定 癥着되어 나타나는 것을 癥이라 하고, 一定한 形體없이 聚散無根하여 時時로 堅塊가 發作하는 것을 瘕”라 하여 癥瘕에 대한 症候를 소개하였고, 李<sup>41)</sup>는 “癥瘕 疝瘕 石瘕 腸覃 食瘕 血瘕 食瘕 血瘕 種種不一 盡皆痞塊之異名耳”라 하였으며, 楊<sup>12)</sup>은 “腸覃·石瘕가 癥瘕의 一種으로 腸覃은 瘕와 石瘕는 瘕과 비슷하다”고 하였고, 孫<sup>13)</sup>은 “腸覃·石瘕·血瘕, 皆女子之疾 種種不同 乃痞塊之異名耳”라고 하였으며, 康<sup>42)</sup>은 “痞與疝瘕 胸膈間病 積聚肚腹內疾 多見男子 癥瘕獨見膈下 婦人常得 皆人痰飲 食積 死血而成 成其實一也”라 하여, 癥瘕·積聚·疝瘕의 形成 原因은 同一하지만 發生部位에 따라서 구분하였다. 즉, 積聚는 腹腔內 臟器 및 器官에 發生하는 有形的 病變을 總稱하지만 이 중 女性의 下腹腔內에 發生하는 女性固有的 腫塊를 總稱하여 癥瘕라 하였음을 알 수 있다.

癥瘕는 西洋醫學的으로 特定 組織이 過剩 成長하여 正常的인 組織을 破壞하여 生體의 防禦 및 免疫機能에도 不拘하고 持續的으로 成長할 수 있는 惡性腫瘍인 癌<sup>17-19)</sup>中 특히 外陰部·子宮·卵巢·卵管과 그 주위에서 發生하는 모든 良性이나 惡性腫瘍인 卵巢囊腫·子宮筋腫·子宮頸部癌·卵巢癌·卵管癌·絨毛上皮腫·子宮肉腫 등의 病症을 포함<sup>14-16)</sup>하고 있다.

癥瘕의 治療法으로 韓醫學에서는 全身의 症狀이나 局所的 變化를 把握하여 清熱解毒하거나 以毒攻毒·活血化瘀·軟堅散結·補益氣血 등의 治法을 사용하는데<sup>20)</sup>, 正氣나 邪氣의 虛實 與否에 따라 初期에는 正氣未傷으로 攻邪爲主하고, 中期에는 正氣已傷하여 攻補兼施하며, 末期에는 正氣大虛하니 扶正爲主로 治<sup>15,20-22)</sup>하여 正氣를 매우 重視하고 있다.

癥瘕의 治療에 있어서 重視되는 正氣란 《素問》·『刺法論』<sup>25)</sup>에 “正氣存內 邪不可干”, 『評熱病論』<sup>26)</sup>에 “邪氣所湊 其氣必虛”, 『通評虛實論』<sup>26)</sup>에 “邪氣盛則實, 精氣奪則虛”라 하고, 《靈樞》·『口問篇』<sup>26)</sup>에 “邪之所在, 皆爲不

足”이라 하여 邪氣에 대한 相對的 用語이면서 人體生命活動力의 總稱으로 疾病의 成立過程중에서 生體의 抵抗性에 關여하는 것으로 個體가 自己와 非自己를 識別하여 非自己 物質을 除去함으로서 그 個體 內部的 正常狀態와 恒常性(homeostasis)을 維持하는 現象인 免疫機能<sup>27-28)</sup>과 연관지어 생각할 수 있다.

疾病의 發生 및 進展을 人體의 元氣·眞氣·原氣로 指稱되는 正氣와 六淫·七情·飲食·痰飲·瘀血 등의 邪氣와의 相爭으로 본 韓醫學의 正邪相爭論은 西洋醫學의 免疫과 그 關聯性을 찾아 볼 수 있는데, 疾病의 發生 및 進行에 대한 病理理論은 正氣와 邪氣의 力量對備에 의하여 發病·轉歸·治療된다고 것이 免疫과 近接한 認識이라고 볼 수 있기 때문이다.<sup>43-45)</sup> 이러한 觀點에서 볼 때 癌의 發生을 하나의 邪氣 侵犯으로 看做한다면 이를 治療하기 위하여 正氣를 補強하는 治療法과 동시에 邪氣를 除去할 수 있는 方法을 摸索해야 될 것으로 思料된다.

西洋醫學的으로 免疫機能은 人體內에 異物質이 침입하거나 變異細胞가 發生하게 되면 免疫系(Immune system)가 關여하여 異物은 물론 새로이 發生된 變異細胞를 非自己로 인식하여 처리하는 能力을 발휘함으로써 個體의 恒常性을 維持하려는 現象을 말한다.<sup>27-28)</sup>

免疫의 종류로는 食세포나 보체가 關여하는 先天的 免疫과 T림프구 및 B림프구가 關여하는 適應性 免疫으로 나뉘어진다. 그 중 T cell은 血液 뿐만아니라 末梢림프組織에도 存在하는 것으로 胸腺의 T 전구세포로부터 성숙되어 B cell의 증식과 抗體生産을 조절하고 食細胞의 파괴작용을 도와주며, 직접적으로 세포를 살해하는 작용을 하고 있는데, 이 중 세포를 살해하는 작용을 가진 세포를 Tc cell(세포독성 T cell)이라고 하고, 나머지 두가지 기능을 하고 있는 세포를 Th cell(협조 T 세포)이라 한다. 또한 B cell은 血液·骨髓 및 림프組織에 分布하는 것으로 태생기때는 태아의 肝에서, 그리고 출생후에는 骨髓에서 분화되어 림프구의 10~20%를 차지하며, 면역글로블린을 갖고 있고,



항원을 인지한 후에는 항체를 유리시키는 기능을 갖고 있으며, macrophage는 면역활성물질을 생산하여 탐식작용을 하는 면역세포로서 NO를 생성한다<sup>46-47)</sup>.

또한 NO는 L-arginine에 NO-synthetase (NOS)가 작용하여 생성되는 것으로 NOS는 constitutive NOS (cNOS)와 inducible NOS(iNOS) 2 종류가 있고, cNOS는 vascular endothelium 및 brain에서, iNOS는 활성화된 macrophage 및 여러 세포에서 발견되었다<sup>48)</sup>. Macrophage가 생산하는 NO가抗癌作用이 있다고 최초로 보고한 것은 1987년 Hibbs등<sup>49-50)</sup>이 마우스에 BCG를 접종 후 macrophage를 분리하여 LPS를 첨가하여 배양하였을 때 腫瘍細胞의 增殖이 抑制되고, 여기에 N-MMA (N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine)를 가하면抗癌作用이 없어진다고 하였다. 이는 여러 자극제에 의해 活性化된 macrophage가 정상세포보다는 tumor cell을 선택적으로 파괴할 수 있기 때문에 macrophage-mediated tumor cytotoxicity에 중요한 의미가 있다<sup>51)</sup>.

癌은 지금까지 알려져 있는 死亡原因中 가장 높은 비율을 차지하고 있으며<sup>68-69)</sup>, 이를 정복하려는 노력 또한 국내외적으로 다양하게 진행되고 있는 질환으로 韓醫學에서는 癌이 氣滯血瘀·痰結濕聚·熱毒內蘊·經絡瘀阻 등으로 발생한다. 氣滯血瘀는 '氣塞不通, 血壅不流'로 발생하고, 痰結濕聚는 '癌瘤者, 非陰陽正氣所結腫, 乃五臟瘀血濁氣痰滯而成'이라 하여 痰核·瘰癧·結核 등의 病症이 발생되며, 熱毒內蘊은 '瘡瘍者, 火之屬'이라 한 바와 같이 血이 熱毒을 만나면 凝集되고 津液이 熱毒을 만나면 痰이 됨으로써 氣血痰濁이 經絡과 臟腑를 壅阻시켜 발생되고, 經絡瘀阻는 經絡氣血運行이 阻滯되어 經氣가 鬱滯되거나 不足하게 됨으로써 腫瘍이 발생한다고 하였으며, 그 외에도 '脾腎不足及虛弱失調的人, 多有積聚之病'이라 하여 正氣가 虛弱해지면 抗病能力이 低下되어 腫瘍이 發生한다고 하였다<sup>17)</sup>. 그러므로 正氣補養 및 補血을 爲主로 하면서 破積·活血·解鬱·行氣 등의 治法들을 兼用하고 있고, 현재 中國 등에서는 各種

의 腫瘍 治療法으로 清熱解鬱法 등의 祛邪法과 함께 扶正培本法들을 利用하고 있다<sup>17,53-54,56-57)</sup>. 癌의 症狀으로는 頭暈·失眠·多夢·大小便失調·體重減少 등의 全身症狀과 胃腸障礙, 그리고 백혈구감소·혈소판감소·골수생성억제 등 骨髓造血障礙가 발생하며, 또한 疼痛이나 肢體麻木 등의 神經 손상 및 각 臟器·皮膚·毛髮 등에도 영향을 끼치게 되기 때문에<sup>52-57)</sup> 西洋醫學에서는 癌의 治療法으로 手術療法·放射線療法·化學療法 및 免疫療法와 遺傳子療法 등을 使用하나 手術療法와 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 현재로서는 治療方法이 定立되어 있지 않은 상태이기 때문에 化學療法의 發展만이 癌治療率을 向上시킬 수 있는 것이나 化學療法 自體도 化學藥材의 毒性問題를 해결하지 못하고 있는 실정이다<sup>23-24,55,58-61)</sup>. 이러한 상황들을 考慮할 때 韓藥材가 各種의 癌腫을 治療하는 藥材라 思料된다.

桂枝茯苓丸의 構成藥材를 살펴보면<sup>62-67)</sup> 桂枝는 溫經通脈·通瘀活血·散下焦蓄血하는 效能이 있어 下癥이나 月經痛 등에 사용되는 약물이지만 최근에는 皮膚血管을 확장하고 抗菌作用이 있기 때문에 內臟平滑筋 痙攣을 緩和시키는데 사용되며, 白茯苓은 健脾補中·滲濕利水·調理營衛하는 效能이 있어 心下結痛이나 少腹脹痛에 응용되고, 牡丹皮는 清熱涼血·活血行瘀하는 작용이 있어 血滯經閉·惡血積聚 疝痛과 瘀血로 인한 疼痛이나 吐衄血에 이용되며, 또한 鎮痛이나 鎮靜·降壓·抗菌作用에도 사용되고 있다. 桃仁은 破血祛瘀의 要藥으로 抗血凝作用과 活血祛瘀·潤腸하는 성질이 있기 때문에 血滯經閉나 痛經·産後의 瘀血腹痛·癥瘕積聚·打撲損傷 등에 이용하고, 赤芍藥은 清血涼血·散瘀止痛하는 작용이 있어 婦人月經閉塞을 疏通시키면서 産後瘀血積聚로 인한 疼痛에 사용되며, 또한 최근에는 鎮痛·鎮痙作用이 있다하여 腸平滑筋의 痙攣을 緩和시켜주는데 사용되고 있다.

桂枝茯苓丸을 이용한 研究들로는 河<sup>33)</sup>가 實驗動物의 鎮痛·抗炎·抗痙攣·筋弛緩 등에 있어서 有效한 效果가 있음을 밝혔고, 崔<sup>34)</sup>는 子宮筋의 運動變化와 血液像에 미치는 效果를 관찰하면서 子宮筋의 收縮力이나 內壓, 그리고 Prothrombin time등에는 有意한 效果를 나타내었지만 RBC·WBC·Hemoglobin·Hematocrit에는 效果를 나타내지 못했다고 報告하였으며, 또한 申<sup>35)</sup>은 四鹽化炭素(CCl<sub>4</sub>)로 인한 肝損傷에 있어서 S-GPT·S-GOT, S-ALP·LDH·LAP에 有意한 效果를 나타내어 肝疾患에 응용할 수 있다고 報告하였다.

또한, 抗癌作用 및 免疫反應과 관련된 實驗의 研究로는 鄭<sup>29)</sup>은 內託羌活湯이 腫瘍 및 免疫調節機能에 效果가 있었다고, 孫<sup>30)</sup>은 抗癌扶正湯이 抗癌劑 投與나 放射線治療 및 癌 自體에 의한 免疫機能 低下에 對하여 免疫調節劑로 有用性이 있었다고, 柳<sup>31)</sup>는 荊蓬煎丸料가 女性 癌細胞에 抗癌效果 및 마우스 免疫細胞를 增進시켰다고, 趙<sup>32)</sup>는 消積白朮散이 抗癌 및 免疫增強效果가 있었다고 報告하였으나, 活血化痰·消癥하는 效能이 있는 桂枝茯苓丸을 利用하여 抗癌 및 免疫機能과 關聯된 研究 報告는 아직 接하지 못하였다.

이에 著者는 최근 子宮筋腫이나 卵巢囊腫에도 活用되고 있는 活血化痰之劑인 桂枝茯苓丸이 下腹部에 發生하는 各種의 癥瘕와 癌腫 등에 유의한 效果가 있을 것으로 思料되어 各種의 癌細胞柱와 免疫細胞들에게 in vitro上으로 투여한 結果 有意性이 認定되었고, 또한 in vivo上에서 L1210 암세포주를 마우스의 腹腔에 注入한 후 數日동안 本 方劑를 투여한 結果 L1210 癌細胞와 各種의 免疫細胞들의 反應에 있어서 有意性이 있었기에 報告하는 바이다.

桂枝茯苓丸 煎湯液이 各種의 癌細胞柱에 미치는 影響을 알아보기 위하여 L1210 cell line, HeLa cell line, MCF-7 cell line, 그리고 SK-OV3 cell line의 cytotoxicity를 관찰한 結果 유방암세포주인 MCF-7은 對照群에 비하여 오히려 癌細胞柱의 증식을 촉진시켰으나 다른

癌細胞들은 억제되었다. 그 중에서도 卵巢癌細胞柱인 SK-OV3는 對照群보다 15% (P<0.001) 정도 증식이 억제되는 경향을 나타내 桂枝茯苓丸이 産後瘀積腹痛에 사용되는 方劑이지만 최근 발표되고 있는 研究결과들과 비교하여 볼 때 卵巢에 發病하는 癥瘕에 사용하면 우수한 效果를 거둘수 있을 것으로 思料된다.

또한 免疫細胞에 미치는 影響을 관찰하기 위하여 in vitro上으로 관찰한 結果 복강 macrophage에서 생성되는 NO의 양은 桂枝茯苓丸의 농도가 증가할수록 NO의 양도 증가 (P<0.01)하였고, 胸腺細胞들과 脾臟細胞들의 增殖의 경우도 對照群보다 증가하였다. 특히 胸腺細胞들의 增殖은 對照群보다 20(%)정도 증가하여 桂枝茯苓丸이 많은 면역세포중에서도 胸腺에서 분리한 T cell에 작용하는 것으로 思料된다.

In vivo上에서 L1210 cell line을 마우스의 복강에 2×10<sup>6</sup>cells/mouse씩 주입한 후 7일동안 1日 1回 桂枝茯苓丸 300mg/kg을 투여한 結果 對照群보다 95.7(%)정도로 감소하여 특별히 白血病細胞에는 桂枝茯苓丸이 影響을 미치지 않는 것으로 보이며, 免疫細胞에 있어서는 in vitro와 달리 對照群을 100(%)로 하였을 때 胸腺細胞와 脾臟細胞의 增殖率이 각각 110(%) (P<0.01), 120(%)정도 촉진되었다. 이는 桂枝茯苓丸 煎湯液이 胸腺細胞들과 脾臟細胞들에 모두 參與함은 물론 毒性的인 측면에서도 다른 藥材들에 비하여 훨씬 더 毒性이 적은 方劑라 思料된다. 그러므로 桂枝茯苓丸은 瘀血로 인하여 發生하는 卵巢系統의 癥瘕에 活用하면 임상적으로 탁월한 效果가 있을 것으로 思料된다.

또한 복강 macrophage에서 생성되는 NO의 양은 對照群에 비하여 增加되었고, 體重도 正常群보다도 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 NO가 抗癌作用이 있다라는 研究發表와는 相反되는 結果로써 桂枝茯苓丸이 L1210세포에 직접적인 毒性作用이나 生體內에서의 抗癌作用이 없는 상태에서 復강 macrophage에서 생성되는 NO가 증가하였다는 것은 이 NO의 작용이 抗

癌이 아닌 다른 부분에 작용하고 있음을 시사해주는 것으로 思料되지만 in vitro상에서 卵巢癌細胞柱의 增殖을 억제한 것으로 보아 腹腔 macrophage에서 생성되는 NO가 白血病細胞가 아닌 卵巢癌細胞등에 작용할 수 있는지에 대한 연구는 더 진행되어야 할 것으로 思料된다.

한편, 癌腫이 발생되면 正氣의 부족과 함께 體重이 減少되기 때문에 體重의 增減은 免疫力과도 相關性이 있다고 思料된다. 그리하여 桂枝茯苓丸 300mg/kg을 7日 1日 1回씩 投與한 결과 實驗群이 正常群보다도 體重이 增加되어 本方劑가 免疫細胞들의 活性化와 함께 病邪에 대한 抗病能力回復에 有意한 藥物이 될 것이라 思料된다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 婦人科에서 多用되고 있는 桂枝茯苓丸이 많은 질환중 卵巢系統에서 발생하는 癥瘕에 적합한 處方이라 思料되며, 또한 癥瘕의 後期나 恢復期에 免疫機能을 活性化시키는데 있어서 臨床적으로 活用하면 우수한 效果가 있을 것으로 思慮된다.

## V. 結 論

桂枝茯苓丸이 in vitro상에서 各種의 癌細胞柱와 免疫細胞의 增殖에 미치는 影響을 알아보고, 또한 L1210細胞柱를 마우스의 腹腔에 移植한 후 桂枝茯苓丸 300mg/kg을 7일간 경구투여한 다음 L1210細胞의 增殖率과 마우스의 胸腺 및 脾臟에서 분리한 胸腺細胞와 脾臟細胞의 增殖率을 觀察하였다. 또한 腹腔 macrophage에서 생성되는 nitric oxide의 量과 마우스의 體重을 測定한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 桂枝茯苓丸은 in vitro상에서 난소암세포주인 SK-OV3 cell line에 有意性있는 增殖率 減少를 나타내었다.
2. 桂枝茯苓丸은 in vitro상에서 마우스의 복강 macrophage에서 생성되는 NO量과 胸腺細胞

增殖에 有意性있는 증가현상을 보였다.

3. 桂枝茯苓丸은 癌腫이 이식된 마우스의 L1210 cell proliferation에 有意性을 나타내지 않았다.
4. 桂枝茯苓丸은 癌腫이 이식된 마우스의 胸腺細胞의 增殖을 촉진시켰다.
5. 桂枝茯苓丸은 癌腫이 이식된 마우스의 脾臟細胞의 增殖을 有意性있게 촉진시켰다.
6. 桂枝茯苓丸은 癌腫이 이식된 마우스의 복강 macrophage에서 생성되는 NO의 量을 有意性있게 촉진시켰다.
7. 桂枝茯苓丸은 癌腫이 移植된 마우스의 體重을 증가시켰다.

이상의 결과들을 볼 때 韓醫學으로 癥瘕나 積塊에 사용되고 있는 桂枝茯苓丸이 婦人科에서 다발되고 있는 癌腫中 卵巢癌에 사용하는 것이 臨床적으로 有意할 것으로 思料되며, 이와 동시에 少腹에 발생한 癥瘕로 인해 正氣가 損傷되었을 때 免疫細胞들의 活性化를 목적으로 사용한다면 臨床上 우수한 效果가 있을 것으로 期待된다.

## 參 考 文 獻

1. 李克光 主編：金匱要略, 北京, 人民衛生出版社, pp.562~565, 1989.
2. 徐靈胎：徐靈胎醫書全集, 臺北, 五洲出版社, 三卷, pp.10~11, 1981.
3. 吳謙 외：醫宗金鑑, 서울, 大星文化社, pp.591~592, 1994.
4. 武之望：濟陰綱目, 臺中, 晨星出版社, p.307, 423, 446, 1976.
5. 陳無擇：陳無擇三因方, 臺北, 臺聯國風出版社, 卷17, pp.6~7, 1978.
6. 陳自明：婦人良方大全, 許潤三 외, 『校注婦人良方』 注釋, 江西, 江西人民出版社, p.254.

7. 龔廷賢：增補萬病回春(卷下)，대구，東洋綜合通信教育部，p.107，1885.
8. 王肯堂：女科準繩，臺北，集文書局，p.350，1979.
9. 許浚：東醫寶鑑，서울，南山堂，p.614，1976.
10. 沈金鰲：婦科玉尺，臺北，自由出版社，p.101，1969.
11. 巢元方：諸病源候論，서울，大城出版社，pp.734~735.
12. 楊醫亞 主編：中醫學問答(下)，北京，人民衛生出版社，pp.258~260，1985.
13. 孫思邈：備急千金要方，北京，人民衛生出版社，pp.59~62，211~214，1982.
14. 宋炳基：漢方婦人科學，서울，杏林出版社，pp.249~257，1986.
15. 原安徽中醫學院 編：中醫臨床手冊，서울，成輔社，pp.151~152，1983.
16. 李鍾華：韓方婦人科臨床診療，서울，癸丑文化社，pp.264~287，1982.
17. 崔昇勳：東醫腫瘍學，서울，杏林出版社，p.13，32~34，1995.
18. 서울대학교의과대학：腫瘍學，서울대학교출판부，pp.1~3，91~95，1989.
19. 孫泰重：病理學，서울，高文社，p.84，99，1989.
20. 止錢輯：治癌中草藥，臺北，華聯出版社，pp.1~5，1978.
21. 黃文東 등：實用中醫內科學，上海，上海科學技術出版社，pp.486~493，621~623，627~631，634，1988.
22. 廣東中醫學院 編：新編中醫學概要，香港，商務印書館，p.705，706，716，718，725，1973.
23. Hersh, E. M. and Ereish, E. J. : Host defence mechanism and their modification by cancer chemotherapy. In methods in Cancer Research, New York Academic Press, 335, 1986.
24. Madewell, B. R. : Tumor immunology and immunotherapy. Tumor Immunol., 69: 213, 1982.
25. 高士宗 著：黃帝素問直解(第二版)，北京，科學技術文獻出版社，p.530，1982.
26. 楊維傑：黃帝內經素問靈樞譯解，서울，成輔社，(素問) p. 235, 266, (靈樞) p. 262, 1980.
27. 具本泓：免疫과 알레르기，서울，大韓韓醫學會誌，11(2): 9~10，1990.
28. 菊地浩吉 외：最新免疫學，李淵臺 譯，서울，集文堂，pp.31~35，1985.
29. 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，圓光大學校大學院 博士學位論文，1996.
30. 孫彰奎：抗癌扶正湯이 Silica alc 5-FU에 의해 誘發된 免疫抑制에 미치는 影響，大田大學校大學院 博士學位論文，1997.
31. 柳浩粉：荊蓬煎丸料가 女性癌細胞 및 마우스 免疫細胞에 미치는 影響，大田大學校大學院 博士學位論文，1998.
32. 趙成基：消積白朮散의 抗癌，免疫增強效果 및 Cisplatin의 腎臟毒性抑制에 미치는 影響에 관한 研究，大田大學校大學院 博士學位論文，1993.
33. 河東鈺：桂枝茯苓丸이 實驗動物의 鎮痛·抗炎·抗痙攣·筋弛緩 및 正常體溫에 미치는 影響，圓光大學校大學院 碩士學位論文，1992.
34. 崔奎燮：桂枝茯苓丸 煎湯液이 白鼠 子宮筋의 諸運動과 血液像에 미치는 影響，圓光大學校大學院 碩士學位論文，1986.
35. 申鎮湜：桂枝茯苓丸이 四鹽化炭素로 因한 白鼠肝損傷에 미치는 影響，慶熙大學校大學院 碩士學位論文，1981.
36. Mosmann, T. : J. Immunol. methods. pp.55~63, 65, 1983.
37. Kotnic, V. and Fleischmann, W. R. Jr. : J. Immunol. methods. p. 23, 129, 1990.
38. Wysocki, L. J. and Sato, V. L. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA. p. 75, 2844, 1978.
39. Mizel, S.B., Openheim, J. J. and Rosensteich, D. L. : J. Immunol. p.120, 1497

- 1979.
40. Rockett, K. A., Awburn, M. M., Cowden, W. B. and Clark, I. A. : Killing of *Plasmodium faciparum* in vitro by nitric oxide derivatives. *Infect. Immunity*, 59(9): 3280, 1991.
  41. 李槿 : 懸吐醫學入門, 서울, 翰成社, pp.680~682, 1983.
  42. 康命吉 : 濟衆新編, 서울, 杏林書院, p.182, 1982.
  43. 傅芳 : 中醫免疫思想及成就, 新中醫, 25(11): 55~57, 1984.
  44. 章育正 : 虛證和實證病因的免疫狀態, 上海中醫雜誌, 6: 44~45, 1984.
  45. 方藥中 외 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.12~16, 1988.
  46. 김상호 외 : 일반병리학, 서울, 고문사, pp.51~54, 348~349, 1995.
  47. 하대유 외 : 免疫學, 서울, 高文社, pp.13~32, 1994.
  48. Okamoto, A., Okabe, M. and Gomi, K. : Analysis of DNA Fragmentation in Human Uterine Cervix Carcinoma HeLa Cells treated with Duocarmycins or other Antitumor agents by Pulse Field Gel Electrophoresis. *Jpn. J. Cancer Res.*, 84, 93~98, 1993.
  49. Grisham, M. B., Ware, K., Gilleland, H. E. Jr., Gilleland L. B., Abell, C. L. and Yamada, T. : Neutrophil-mediated nitrosamine formation : Role of nitric oxide in rats. *Gastroenterology*, 103(4), 1260~1266, 1992.
  50. Hibbs, J. B., Taintor, R. R. and Vavrin, Z. : Macrophage cytotoxicity role for L-arginine deaminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science*, 235, 473, 1987.
  51. Nakabo, Y., Harakawa, N., Yamamoto, K., Okuma, M., Uno, K. and Sasada, M. : Leukemic cell lysis by activated human macrophages. *Jpn. J. Cancer Res.*, 84, 1174~1180, 1993.
  52. 金完熙·崔達永 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, pp.140~142, 168~170, 281~284, 1985.
  53. 郁仁存 : 中醫腫瘤學, 北京, 北京科學技術出版社, pp.1~10, 1983.
  54. 李 岩 : 腫瘤臨證備要, 北京, 人民衛生出版社, pp.11~26, 1983.
  55. 이창혜·이봉기·이원형·김주덕 : 시험관 및 생체내 癌細胞(S-180YS)의 adriamycin에 대한 내성細胞의 염색체 분포특성, 연세의대 논문집, 16: 180, 1983.
  56. 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.
  57. 錢伯文 : 腫瘤的辨證施治, 上海, 上海科學技術出版社, pp.1~10, 1980.
  58. Fish B : Clinical trials for the evaluation of cancer therapy, *Cancer*, 54: 2609, 1984.
  59. Kim, S H : Clinical comparison with drug sensitivities by the human tumor clonogenic assay, *J. Kor. Cancer Assoc*, 21 : 11, 1989.
  60. Park C G, Lim D K, Kook Y H, Cha C R, and Paik C G : In vitro chemsensitivity of doxorubicin on human cancer cell lines, *J. Kor. Cancer Assoc*, 22: 61, 1990.
  61. Willson J K, V, Bittner G N, Oberley T D, Meisner L F, & Weese J L : Cell culture human colon adenomas and carcinomas. *Cancer Res*, 47: 2704, 1987.
  62. 辛民教 : 本草維新, 서울, 慶苑文化社, pp.91~92, p.110, 182, 207~208, 1979.
  63. 李尙仁 : 本草學, 서울, 醫藥社, pp.189~190 455~456, 507~508, 1975.
  64. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, p.86, 357, 521, 563, pp.215~216, 1973.
  65. 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 商務印書館 pp.27~28, 226~228, 379~380, p.127, 1977.
  66. 江蘇新醫學院 : 中藥大辭典(上·下), 香港,

- 商務印書館, pp.706~709, 1093~1097,  
1127~1130, 1771~1773, 1787~1789, 1977.
67. 陳存仁 : 圖說漢方醫藥大辭典, 東京, 講談社,  
(第一卷) pp.21~22, 178~179, 206~207,  
(第二卷) pp.136~137, (第三卷) pp.138~139,  
1982.
68. 대한의학협회 분과학회협의회 편저 : 암의  
진단과 치료, 서울, 麗文閣, 1992
69. 한국원자력연구소 : 약성중양의  
중양생물학적 연구, 대전, 동화사, 1994