

## Melanoma B-16에서 IL-1 $\beta$ 유발 GnT-III, V 활성에 대한 瓜蓼仁, 黃芩 추출물의 影響

徐雲教 · 鄭智天

### Effects of *Trichosanthes kirilowii* Maxim and *Scutellaria baicalensis* Georgi on IL-1 $\beta$ -induced GnT-III and V in Melanoma B-16

Woon-Gyo Seo, Ji-Cheon Jeong

*Dept. of Oriental Internal Medicine, the College of Oriental Medicine, Dongguk University, Korea*

The activity of N-acetylglucosaminyltransferase(GnT) III and V on a Melanoma B-16 was examined after incubation with interleukin 1 (IL-1 ). While augmenting cell proliferation, IL-1 resulted in a decrease of GnT-III activity and an increase of GnT-V activities. Consistant with this, Melanoma B-16 cultured with IL-1 showed an increased affinity to Daturam stramonium lectin, which recognizes asialo-tri- and asialo-tetra-antenary N-linked oligosaccharides. These results indicate that IL-1 modulates glycosyltransferase activity and the oligosaccharide structure of target cells.

On the other hand, to investigate whether or not TKM-SG affect GnT-V gene expression in lung metastatic carcinoma, we used RT-PCR methods. TKM-SG treated cell lines showed low levels of secretion of GnT-V mRNA transcription as elucidated by RT-PCR. Thus, with together lower GnT-V activity levels in the medium, TKM-SG was highly effective for lung cancer metastasis treatment and it was concluded that the medicine can be used as a potent anti-lung cancer metastasis medicine.

Key words : N-acetylglucosaminyltransferase(GnT) III and V, Melanoma B-16, interleukin 1 (IL-1 ), oligosaccharide, metastasis,

## I. 서 론

폐암은 최근 급격히 증가하여 중요한 보건문제가 되어 있는데, 우리나라에서도 폐암의 원인으로 알려진 흡연 인구의 지속적인 증가와 급격한 공업화에 따른 대기오염, 직업병 및 방사선 등의 노출로 인해 발생률이 증가되고 있는 실정이다<sup>1,2)</sup>.

이처럼 폐암은 꾸준히 증가하면서 악성질환의 상당부분을 차지하고 있으나 수술절제가 불가능한 비소세포암의 경우에는 고식적 치료 외에는 별다른 치료방법이 없는 경우가 많으며<sup>3,4)</sup> 수술 및 방사선 치료의 발전과 약물요법의 시도에도 불구하고 폐암의 5년 생존율은 전체적으로 15% 이하에 불과하다<sup>3,5)</sup>. 따라서 보다 효과적인 항암제나 치료법의 개발이 시급한 과제인데 근래에는 분자생물학 및 조직배양 기법의 발전으로 여러 가지 면역요법과 암의 발병 기전에 관련하는 여러 종류의 유전자가 밝혀지면서 이를 이용한 폐암의 유전자 치료법에 대하여 활발한 연구가 이루어지고 있다<sup>6,7)</sup>.

한의학 문헌에서 폐암이란 병명은 나타나지 않으나 <難經><sup>8-10)</sup> 등에 나오는 咳嗽, 咯血, 胸痛, 肺積, 肺癰 및 肺疽 등에서 유사한 증상을 찾아볼 수 있다.

이에 대해서는 潤肺化痰<sup>11)</sup>, 滋陰清熱<sup>12-14)</sup> 등 攻補兼施法과 化痰軟堅<sup>11,14)</sup>, 清熱解毒<sup>12,13,15-17)</sup>, 化癥消積<sup>12,13)</sup>, 清肺化痰<sup>11,14)</sup> 등 祛邪法 위주로 치료하는데 최근의 임상연구에서 沙蔘麥門冬湯, 清燥救肺湯, 加減二陳湯 등이 효과가 있는 것으로 보고되었다<sup>18-22)</sup>.

한편, 항암약물에 대한 실험적 연구로는 紫菀<sup>23)</sup>, 柴胡와 茵陳<sup>24)</sup>, 蒲公英<sup>25)</sup>, 敗醬<sup>26)</sup>, 東風菜<sup>27)</sup>, 枳實, 豬苓<sup>28)</sup>, 魚腥草<sup>28,29)</sup>, 瓦松, 靈芝, 山慈花, 仙鶴草<sup>30)</sup>, 半邊蓮<sup>31)</sup> 등이 있으며 폐암에 대한 항암효과를 실험적으로 입증한 연구로는 김

등<sup>32)</sup>이 폐암세포주인 B16-Fo에 대하여 葦莖湯 및 加味葦莖湯이 항종양 효과가 있다고 보고한 바 있다.

임상에서 瓜蒌仁과 黃芩은 폐암의 주요 치료법인 清熱解毒 軟堅散結 化痰潤肺法에 常用<sup>11-17)</sup>되고 있는데 瓜蒌仁은 寬胸散結 潤肺祛痰 消癥瘡毒 清上焦之火의 효능 이외에 敗毒抗癌 작용이 있어<sup>33-39)</sup> 抗癌活性을 가지며 直腸癌 등의 암세포에 대한 抗腫瘤作用, 肉瘤 및 腹水癌에 대한 生長억제 작용과 암세포 致死作用 등의 효능이 있다<sup>36-39)</sup>. 黃芩은 清熱燥濕 瀉火解毒 丁癩排膿 등의 효능<sup>33-36,40,41)</sup>으로 肺部感染 上氣道感染 등에 유효하며<sup>33,40)</sup>, 비교적 강한 抗癌活性이 있어 체외 실험에서 암세포와 백혈병세포의 억제작용이 있다고 보고되었다<sup>36,41)</sup>.

이에 저자는 瓜蒌仁과 黃芩의 폐암에 대한 항암효과를 실험적으로 구명하기 위하여 폐암세포주인 Melanoma B-16에서 recombinant human IL-1 (rhIL-1 $\beta$ )로 유발된 GnT-III, V 활성화에 대한 瓜蒌仁, 黃芩 및 瓜蒌仁과 黃芩의 병용투여에 의한 영향을 조사하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험

### 1. 재 료

#### 1) 시 약

Pyridylamine된 N-acetylglucosamine은 Takara Shuzo사(대판, 일본국)에서, Human transferrin은 Sigma Chemicals사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

#### 2) 세포주

흑색종양 세포주인 Melanoma B-16<sup>42)</sup>은 동국

대학교 한의과대학 생화학교실에서 계통 유지 및 보관중인 세포로서,  $1-2 \times 10^5$  cells/ml의 밀도 까지 배양시켜 배양 정지기(exponential growth)에서 세포를 원심분리로 모았다. 이하의 모든 실험에서 세포주의 80% 이상이 살아있는 상태에서 실험을 수행하였다. 효소활성 측정을 위해서는 rhIL-1 $\beta$  첨가시나 무첨가시 모두  $5-10 \times 10^6$  세포수를 사용하였으며 세포를 10 mM Tris-buffered saline(TBS, pH 7.4) 용액으로 세 번씩 세정한 뒤, 0.1-0.2 ml의 TBS로 현탁하여 초음파 처리로 파쇄하였다.

Melanoma B-16 고전이성 폐암세포주를 GnT-V 억제실험에 사용하였으며, 이들 세포주들은 10% fetal bovine serum, 100 units/ml penicillin, 그리고 100 units/ml streptomycin을 첨가시킨 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM배지)(Gibco, BRL, Bethesda, MD, USA)을 37 $^{\circ}$ C, 5% CO $_2$ /95% air 조건에서 배양하였다.

### 3) 실험 약재

실험에 사용한 약재는 시중에서 구입하여 정선한 瓜蒌仁(*Trichosanthes kirilowii* Maxim)과 黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)으로 각 500 g을 증류수로 열 추출한 뒤, 여과과정을 거친 후 동결건조로 농축하여 실험에 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) GnT-III 및 GnT-V 활성 측정을 위한 기질조제

Hase et al.<sup>43)</sup>의 방법으로 Fluorescence-labeled 기질을 bovine IgG로부터 sialidase,  $\beta$ -galactosidase 및 fucosidase 처리를 단계적으로 처리하여 조제된 것을 조(粗)기질로 사용하였다.

조기질은 TSK-Gel ODS-80TM column(4.6  $\times$  150mm; Tosoh, CO., Japan)을 이용한 고속액체크

로 마 토 그 라 피 (high performance liquid chromatography) (HPLC)로 0.3% n-butanol 함유 0.1M ammonium acetate buffer, pH 4.0를 완충용액으로 하여 정제하였으며 320과 400nm 파장에서 fluorescence spectrophotometer(F-1000, Hitachi, Japan)로 검출하였다.

### 2) 세포주에서 GnT-III와 GnT-V 활성의 측정방법

약  $5-10 \times 10^6$ 개 세포를 세포배양기에 꼭 채운 듯이 배양시킨 뒤 원심분리로 모았다. 모아진 세포를 phosphate-buffered saline으로 2회 세정한 뒤, 0.2 ml의 phosphate-buffered saline 용액으로 현탁하고 초음파 처리하였다. 그 뒤, 초음파 처리된 세포를 GnT-III와 V 활성 측정에 그대로 사용하였다. 자세한 반응조성, 반응시간, HPLC 용출조건 등은 위 설명과 같으며, Taniguchi 등<sup>44)</sup>의 방법을 따랐다. 가열 3분 뒤에 곧바로 반응산물을 TSK-Gel ODS-80TM columns(4.6  $\times$  150mm; Tosoh, CO., Japan)을 이용한 HPLC에 걸어 각각의 피크를 fluorescence spectrophotometer (RF535 Shimadzu, Japan)로 측정하였다. 이때 반응생성물의 양은 표준물질로서 pyridylamine된 N-acetylglucosamine 잔기를 이용하여 형광강도로 추정하였다. 효소의 비활성은 전이된 pmol의 N-acetylglucosamine量/mg protein/h으로 표현하였다. 단백질의 농도는 bovine serum albumin을 표준물질로서 Bio-Rad protein assay kit(Bio-Rad, Richmond, California, USA)로 측정하였다.

### 3) Northern hybridization

세포내 전체 RNA를 Chomczynski과 Sacchi<sup>45)</sup>의 방법으로 분리하였다. 분리된 30  $\mu$ g의 RNA를 2.2M formaldehyde 함유-1.0% agarose gel로 전기영동하여 H-bond막(Amercham, Co.,

sweden)으로 blotting한 뒤, membrane filter를 <sup>32</sup>P-label된 GnT-V cDNA<sup>46)</sup>와 hybridization 시켰다. filter를 세정한 뒤, 현상시켰다<sup>47)</sup>. Membrane을 90℃에서 30분간 2회 0.1% sodium dodecyl sulfate가 함유된 0.1× standard saline citrate용액으로 dehybridization 반응시킨 뒤, β-actin cDNA와 rehybridization 시켰다.

#### 4) 逆轉寫효소를 이용한 DNA연쇄증합 반응(RT-PCR)

RT-PCR반응은 GeneAmp RNA PCR kit(Takara Shuzo, Co., Japan)를 사용하여 Perkin-Elmer thermocycler 기기로 수행하였다. 이때, 逆轉寫효소는 생쥐의 백혈병바이러스(MMLV, molony murine leukemia virus) reverse transcriptase를 사용하였다. 또한, PCR primer sets는

1) sense primer로서 GNN-1 (ATTA TCT AGA  
XbaI  
 GCC AAG GAC AGG TGAAGT TGC)과

2) antisense primer로서 GNN-8 (ATTA  
 GGT ACC TAT AGG CAG TCT TTG  
KpnI

CAG AGA GCC)를 사용하였다. 이들 primer들은 GnT-V DNA 염기배열의 5'와 3'말단에 해당하는 배열이다. 반응조건은 1 cycle에서 94℃, 3분간 반응한 뒤, 30 cycles에서는 94℃에서 1분간, 55℃에서 1분간, 72℃에서 2분간 반응시키고, 마지막 cycle에서는 72℃에서 4분간 반응시켰다. PCR 생성물은 1.5% agarose gel에서 전기영동으로 분리하였으며, ethidium bromide 염색으로 DNA를 측정하여 사진을 촬영하였다. 그림에서는 actin의 경우 538 base pairs(bp) 생성물을 나타내었다.

### III. 성 적

#### 1. Melanoma B-16에서의 rhIL-1β 유발 GnT-III 활성에 대한 瓜蒌仁, 黃芩 및 瓜蒌仁和 黃芩 병용투여의 효과

rhIL-1β 처리로 유발된 GnT-III의 활성억제에 대한 瓜蒌仁, 黃芩 및 瓜蒌仁和 黃芩 병용투여

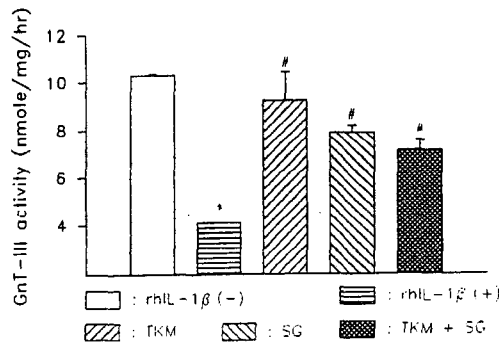


Fig. 1. GnT-III activity in the presence or absence of rhIL-1β, *Trichosanthes kirilowii* Maxim(TKM), *Scutellaria baicalensis* Georgi(SG) and TKM-SG. Each point represents the Mean ± SE. P value versus the absence of rhIL-1β as follows (\* : p<0.005) P value versus the presence of rhIL-1β as follows (# : p<0.005)

의 효과를 살펴보기 위하여 폐암 세포주인 Melanoma B-16에 대하여 각각 rhIL-1 $\beta$  100  $\mu$ g/ml를 투여한 후 瓜蒌仁, 黄芩 및 瓜蒌仁和 黄芩 추출물 300  $\mu$ g/ml를 투여하여 실험하였다. GnT-III 활성에 있어서 rhIL-1 $\beta$ 의 투여시 10.30 $\pm$ 0.05 nmole/mg/hr에서 4.10 $\pm$ 0.02 nmole/mg/hr로 현저히 감소하였으며, 瓜蒌仁, 黄芩 및 瓜蒌仁和 黄芩 병용투여는 rhIL-1 $\beta$ 의 처리로 억제된 GnT-III 활성을 각각 9.25 $\pm$ 1.20 nmole/mg/hr, 7.89 $\pm$ 0.30 nmole/mg/hr, 7.10 $\pm$ 0.45 nmole/mg/hr로 증가시킴으로써 통계적으로 유의한 회복을 나타냈다<Fig. 1>.

## 2. rhIL-1 $\beta$ 유발 GnT-V 활성에 대한 瓜蒌仁, 黄芩 및 瓜蒌仁和 黄芩 병용투여의 효과

rhIL-1 $\beta$  처리로 유발된 GnT-V의 활성증가에 대한 瓜蒌仁, 黄芩 및 瓜蒌仁和 黄芩 병용투여의 효과를 살펴보기 위하여 폐암 세포주인 Melanoma B-16에 대하여 각각 rhIL-1 $\beta$ 100  $\mu$ g/ml를 투여한 후 瓜蒌仁, 黄芩 및 瓜蒌仁和 黄芩 추

출물 300  $\mu$ g/ml를 투여하여 실험하였다. GnT-V 활성은 rhIL-1 $\beta$ 의 투여시 32.23 $\pm$ 6.12 nmole/mg/hr에서 92.12 $\pm$ 8.64 nmole/mg/hr로 현저한 증가를 보였으며, 瓜蒌仁, 黄芩 및 瓜蒌仁和 黄芩 병용투여시 모두 rhIL-1 $\beta$ 의 처리로 증가된 GnT-V 활성이 각각 39.59 $\pm$ 8.55 nmole/mg/hr, 54.01 $\pm$ 0.16 nmole/mg/hr, 61.42 $\pm$ 7.24 nmole/mg/hr로 나타나 유의성 있는 감소를 보였다<Fig. 2>.

## 3. mRNA를 이용한 폐암전이 억제효과에 대한 PCR 분석

이상의 결과에서 瓜蒌仁和 黄芩 병용투여가 GnT-V 억제에 대해 瓜蒌仁, 黄芩 각각 단독처리 보다 효과적으로 판명되어 실제로 瓜蒌仁和 黄芩 병용투여가 암전이 촉진효소인 GnT-V의 유전자 발현에서 전사산물인 GnT-V mRNA의 생성에 대하여 억제효과가 있는지 검토하였다. 먼저 100  $\mu$ g/ml 과 500  $\mu$ g/ml의 瓜蒌仁和 黄芩 병용투여 처리군과 비처리군의 암세포로부터 전체 RNA(Total RNA)를 분리한 다음 GnT-V 유전자에 대한 primer인 GNN-1과 GNN-8을 반

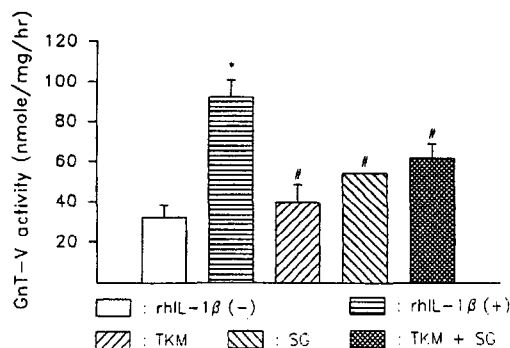
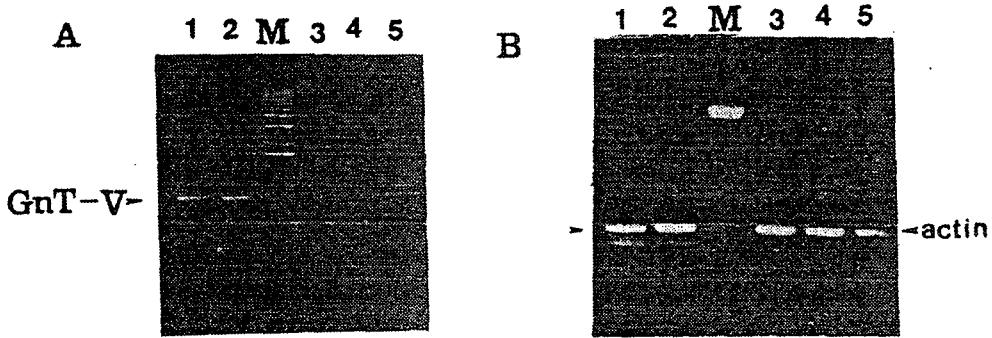


Fig. 2. GnT-V activity in the presence or absence of rhIL-1 $\beta$ , *Trichosanthes kirilowii* Maxim(TKM), *Scutellaria baicalensis* Georgi(SG) and TKM-SG.

Each point represents the Mean  $\pm$  SE.

P value versus the absence of rhIL-1 $\beta$  as follows (\* :  $p < 0.005$ )

P value versus the presence of rhIL-1 $\beta$  as follows (# :  $p < 0.005$ )



**Fig. 3.** Effect of TKM-SG on GnT-V gene expression of highly metastatic lung cancer. PCR amplification of GnT-V mRNA from metastatic B-16 melanoma cells following incubation with various concentrations of TKM-SG. Briefly, the cells were incubated in the absence or presence of the indicated amount ( $\mu\text{g/ml}$ ) of TKM-SG for 1 day. PCR was performed in a Perkin-Elmer thermocycler with primer sets of GNN-1 (ATTA TCT AGA GCC AAG GAC AGG TGA AGT TGC) as a sense primer and GNN-8 (ATTA GGT ACC TAT AGG CAG TCT TTG CAG AGA GCC). These primers are from regions conserved for all known GnT-V DNA sequences. Reaction conditions were 1 cycle of 3 min at  $94^\circ\text{C}$ , 30 cycles of 1 min at  $94^\circ\text{C}$ , 1 min at  $55^\circ\text{C}$ , 2 min at  $72^\circ\text{C}$ , and a final cycle of 4 min at  $72^\circ\text{C}$ . PCR products were resolved by gel electrophoresis through 1.5% agarose gels and visualized by ethidium bromide staining and the photgraph is shown.

- A) RT-PCR analysis for GnT-V mRNA expression  
 lane 1; untreated control  
 lane 2; TKM-SG-treated ( $2\mu\text{g/ml}$ )  
 lane 3; TKM-SG-treated ( $100\mu\text{g/ml}$ )  
 lane 4; TKM-SG-treated ( $250\mu\text{g/ml}$ )  
 lane 5; TKM-SG-treated ( $500\mu\text{g/ml}$ )
- B) RT-PCR analysis for  $\beta$ -actin mRNA expression  
 lane 1; untreated control  
 lane 2; TKM-SG-treated ( $2\mu\text{g/ml}$ )  
 lane 3; TKM-SG-treated ( $100\mu\text{g/ml}$ )  
 lane 4; TKM-SG-treated ( $250\mu\text{g/ml}$ )  
 lane 5; TKM-SG-treated ( $500\mu\text{g/ml}$ )  
 M; denotes a molecular marker

응시켜 유전자 증폭실험(PCR)을 수행하였다. 본 PCR 방법은 암세포에 대한 한약효과 특성을 해석하는데 있어서 매우 미량으로 그리고 감도 높은 결과를 나타내었다. 즉, 瓜蒌仁和 黄芩 병용투여 100, 250, 500  $\mu\text{g/ml}$  처리후 1일째에 각각 95, 96, 98%의 GnT-V mRNA 발현을 억제하였다<Fig. 3>.

그러나, 매우 미량( $2\mu\text{g/ml}$ )의 瓜蒌仁和 黄芩

병용투여의 처리에서는 melanoma에 의한 전이성 폐암에 대한 유전자 발현에 대해서 효과가 없었다. 대조군으로써 세포의 암화에 관계없이 발현되는  $\beta$ -actin mRNA의 경우에는 동량의 瓜蒌仁和 黄芩 병용투여를 처리해도 영향을 받지 않았다.

따라서, 이러한 결과는 瓜蒌仁和 黄芩 병용투여가 GnT-V 유전자 발현을 mRNA 수준에서

억제하는 것을 시사하였다.

## IV. 고 찰

폐암은 그 발병률과 사망률이 전세계적으로 선진국을 중심으로 점차 상승하고 있는 추세인데, 국내에서도 폐암 환자가 지속적으로 증가하고 있다<sup>1,48,49</sup>). 최근 조사에 따르면 폐암은 남성에게서 발생하는 암의 16.0%, 여성암의 5.6%를 차지 각각 전체암의 2위와 5위를 기록하고 있으며, 남녀를 통틀어 전체로는 2위로서 국내에서 처음 암 등록을 한 82년과 비교했을 때 해마다 점차 증가하고 있는 추세이다<sup>48</sup>). 더우기 폐의 가장 흔한 악성 종양은 폐의 전이성 암종(metastatic carcinoma)이며 여러 장기에서 출현되는 각종 원발성 암종(primary carcinoma)의 약 20%가 폐를 침범, 고형 종양의 장기 전이에서 폐가 제일 많은 전이부위로 지적<sup>1,49</sup>)되고 있기 때문에 그 발생의 급증을 예상케 하고 있다. 폐암으로 인한 사망자수도 매년 증가하여 인구 10만명당 사망자수가 83년의 5.7명에서 88년에는 11.8명으로 2배 이상 증가하였으며, 90년에는 14.5명, 92년에는 17.0명으로 점차 늘어나고 있다<sup>48</sup>).

폐암의 임상증상은 그 發生部位 發展段階 併發證에 따라 달리 표현되며, 초기에는 대부분 분명한 증상의 발현이 없고 대다수의 病人이 반복 혹은 지속적인 咳嗽(乾咳或嗜咳) 咳吐白色泡沫狀粘液或痰涎으로 일상적인 抗感染治療時 效果가 없으며 부분적으로 胸悶 胸痛或咯血 呼吸急促 등이 있으나 감기 폐렴 천식 등과 비슷해 구별하기 힘들다<sup>1,3,33,49</sup>). 따라서 폐암은 초기단계에서 발견하기 힘들며 일단 폐암으로 진단받으면 수술조차 어려운 상태가 많다<sup>3,4</sup>). 이 때문에 폐암의 치유율은 아직도 5년 생존률

이 10-15% 정도에 불과한 실정이다<sup>3,5,33</sup>).

현재 암치료에 널리 쓰이는 방법은 의과적 수술과 방사선요법, 항암제투여 등<sup>1,4,5,49</sup>)이며, 암이 상당히 진행된 환자의 경우 암조직이 번져 있으면 몸의 일부분만 잘라내는 수술로는 완치가 어렵고 방사선요법과 항암제에 의존할 수밖에 없으나 치료효과가 탁월한 항암제의 등장은 요원한 실정이다. 최근에 생화학, 분자생물학 및 면역학의 발달로 인하여 새로운 차원에서 암의 기전을 규명하고 치료하려는 시도가 이루어지고 있는데, 우리 몸의 면역시스템을 이용해 암세포를 파괴하는 면역요법과 암의 발생기전에 직접 관련하는 유전자 치료법으로 세포가 특정한 유전자의 증폭, 변이, 염색체의 치환 및 결손 등을 초래하여 비정상적인 발현을 했을 때는 세포의 종양성 증식이 일어나게 된다는 암유전자의 개념이 Bishop(1983)에 의해 체계화된 이래 분자생물학적 및 조직배양 기법의 발전으로 암의 발생 및 진행과 암유전자의 관련성에 대하여 활발한 연구가 이루어지고 있다<sup>6,7</sup>).

유전자공학 기술의 진보로 인하여 다종의 유전자가 분리되고 이의 재조합 精製品의 대량생산이 가능해 짐으로써 호르몬과 유사한 가용성 단백질로서 조직 손상 효소들을 유리하는 세포간의 활동을 매개하는 물질로 알려진 cytokine<sup>50,51</sup>)에 관한 연구가 활발한데 특히 암치료에 있어서 Tumor necrosis factor(TNF), Interferon(IFN)과 같은 직접적인 항종양효과를 나타내는 것 이외에 숙주의 면역기능을 활성화 시킴으로써 간접적으로 항종양효과를 가지는 것으로서 Interleukin(IL) 등이 있다<sup>52</sup>).

이중 IL-2는 T세포 증식인자로 알려져 있는데 주로 T임파구의 활성화를 통해 간접적으로 항종양 효과를 발휘하는 것으로 미국 암연구소의 Rosenberg에 의해 처음 시도되어 경이적인

주효율을 보고<sup>53)</sup>한 이후 일본 등에서 이에 대한 많은 연구가 있었으며 이것의 항종양 효과는 신암, 악성흑색종, 악성림프종에 한하여 일부 유효성이 인정되고 있다<sup>52,54,55)</sup>. 반면, IL-1은 가장 처음 기록된 cytokine의 하나로 TNF와 같이 다양한 생리활성을 가지고 있기 때문에 다종의 암치료에 있어서 국소투여로써 효과가 기대되지만 지금까지 IL-1에 대한 연구로는 피부의 T세포림프종, 뇌종양, 유방암 등에서의 몇몇 유효한 예만 제시<sup>52,56)</sup>되고 있을 뿐이다.

현재까지 잘 알려진 여러가지 성장인자들 중에서도 면역역과 염증반응을 포함한 다기능 생물학적 활성을 가진 cytokine의 하나인 interleukin 1 (IL-1)<sup>50,51)</sup>가 다양한 세포계에서 분화촉진 활성이 있음이 알려져 있다. 예를 들어서 B lymphocyte 세포계에 대한 생물학적인 효과로서 활성화된 세포의 말단분화유도 활성을 들 수 있으며, plasma 세포의 악성암화 증식을 들 수 있다<sup>57)</sup>. 그래서, 이 cytokine은 분비단백질과 표면당단백질의 oligosaccharide 구조를 촉진하며 plasma 세포나 myeloma 세포에 있는 세포내 수식효소 활성들을 촉진한다. 그럼에도 불구하고, IL-1 와 세포의 당쇄부가경로에 대한 관련성 연구가 아직 정립되어 있지 않으며, 단 한가지의 예로서 간세포주에서의 IL-6의 경우만이 연구되어 있을 정도이다<sup>58)</sup>.

한편, 세포표면에 존재하는 당단백질과 당지질의 당쇄는 세포의 분화와 암화에 수반하여 그 구조를 변화시키는데 당단백질의 N-결합형 oligosaccharide의 연속적이고 특징적인 합성과 수식에는 trimannose core에 있는 branching oligosaccharide 생성에 관여하는 N-acetylglucosaminyltransferases(GnTs)가 직접 조절하는 것으로 알려져 있다<sup>59,60)</sup>. 즉, GnT-III는 bisecting N-acetylglucosamine 생성을 촉매하며<sup>61)</sup>, GnT-V 는 tri- 와 tetra-antennary 복합형

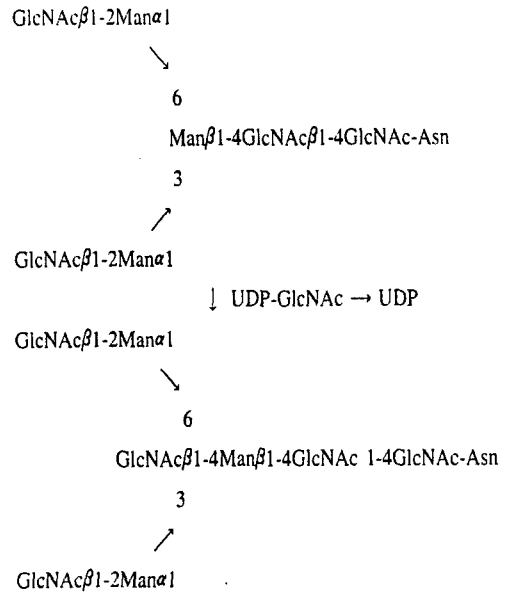


Fig. 4.

oligosaccharides의 생성을 촉매<sup>62)</sup>하는데 GnT-III와 GnT-V 활성의 증가 현상과 세포표면의 branching 또는 bisecting N-acetylglucosamine 발현증가 현상이 세포의 암화<sup>63-68)</sup>나 세포분화<sup>69)</sup>에 깊숙히 관여하고 있음이 알려져 있다.

GnT-III는 N-acetylglucosamine 잔기를  $\beta$ 1-4결합을 통하여 asparagine-결합 당쇄사슬의 trimannosyl core에 있는  $\beta$ -결합 mannose에 결합시키는 활성을 가지고 있다<sup>47)</sup>. 즉 다음 반응을 촉매하고 있다(Fig. 4).

이때 삽입되는 N-acetylglucosamine 잔기를 "bisecting N-acetylglucosamine"라 부른다. 이미 많은 연구를 통하여 GnT-III 활성을 위하여 재래식이며 간편한 방법이 형광성 표식인자인 당쇄사슬 pyridylamino 유도체를 수용체기질로 이용하여 개발되어 있으며 반응산물은 HPLC column으로 측정한다<sup>70)</sup>.

또한 GnT-V는 UDP-N-acetylglucosamine에 있는 N-acetylglucosamine 잔기를  $\alpha$ -D-6-



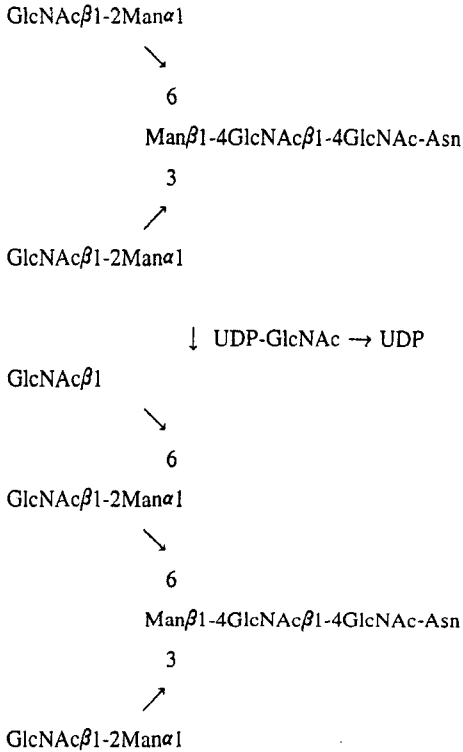


Fig. 5.

mannoside에 전이시키는 활성을 가지며 asparagine-결합 oligosaccharide의 branching에 있어서 가장 중요한 효소이다. 반응은 다음과 같이 이루어진다(Fig. 5).

본 효소는 세포의 암화와 악성화에 중요한 역할을 하고 있다. Rodent 세포의 악성종양화 과정에 본 GnT-V 유전자 및 효소가 활성화되며 몇가지 암세포의 암전이능은 바로 본 효소 반응과 효소함량에서 밀접한 관계를 가지고 있다<sup>71)</sup>. 게다가, GnT-V의 활성화가 쥐의 간암화(rat hepatocarcinogenesis)에 GnT-V mRNA 전사 수준에서 상관관계에 있다는 사실이 알려져 있다<sup>72)</sup>.

한의학 문헌에서 폐암이란 병명은 없으나 內經의 <素問·玉機眞藏論篇><sup>73)</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, 脫肉破”이라 하여 체중감소, 호흡곤란, 흉통, 발열 등 폐암말기의 증상과 유사한 증상을 언급하였고, <素問·奇病論篇><sup>73)</sup>에서 “病脇下滿氣逆……病名曰息積, 此不妨于食”이라 하였으며, <靈樞·邪氣藏府病形><sup>73)</sup>에서는 “肺脈……微急, 爲肺寒熱, 怠惰, 咳唾血, 引腰背胸,……滑甚, 爲息賁上氣”라고 하여 息賁에서 폐암의 증상과 유사한 표현을 찾아볼 수가 있다. 또한 <難經><sup>8)</sup>에서는 “肺之積, 名曰息賁, 在右脇下, 腹大如杯, 久不已, 令人漸寒熱, 喘咳, 發肺癰”이라 하여 증상 뿐만 아니라 폐암의 淋巴轉移로 인한 腫塊의 형성과 유사한 표현을 하고 있으며, <金匱要略><sup>9)</sup>에서는 “口中澀澀燥 欬即胸中 隱隱痛 脈反滑數 此爲肺癰”이라 하였고, <世醫得效方><sup>10)</sup>에서는 “息賁圓 治肺之積, 在右脇下, 大如覆杯, 久久不愈, 病洒洒寒熱, 氣逆, 喘嗽, 發爲肺癰”, “青金丹 治肺虛壅, 咳嗽, 喘滿, 咯痰血”이라 하였다. 그러므로 咳嗽, 咯血, 胸痛, 息賁 등과 폐에 유형의 病巢가 발생한 것으로서 肺積, 肺癰 및 肺疽<sup>74)</sup> 등에서 폐암에 常見되는 症狀를 찾아볼 수 있다.

病因 病理를 살펴보면, 體內 臟腑機能의 失調로 正氣가 內虛할 경우 外界의 邪毒이 쉽게 침입하여 氣血津液의 代謝機能에 이상을 초래함으로써 氣滯血瘀, 痰結濕聚, 熱毒鬱結 或 邪毒內決于肺, 肺氣陰虛 등의 病機를 통하여 有形의 腫塊를 형성한다고 하였다<sup>11,13,14,75-79)</sup>.

폐암에 대한 한약물 치료는 緩慢한 腫瘤抑制作用과 전체적인 人體機能의 調整을 통한 間接적인 抗癌效果로 生存期間을 延長시키고 症狀를 개선함으로써 生存의 質과 量을 提高시키며 治癒後 쉽게 再發하지 않는다는 것과 放射線, 化學療法 등의 副作用 輕減 및 사용後 毒副作用이 비교적 적고 가볍다는 등의 특징을 가지고 있다<sup>17)</sup>. 그러므로 실제 임상에서 기존의 항

암화학요법을 대체하거나 보조할 수 있는 새로운 항암제로써의 활용 가능성이 매우 높을 것으로 사료된다.

치료법은 일반적으로 환자의 臨床 症狀에 따라 初期에는 解毒祛邪 위주로 中期 이후에는 攻補兼施의 治法을 사용하는데<sup>75,80,81)</sup>, 益氣養陰, 滋陰潤肺 등<sup>12,14,82)</sup>의 補法 이외에 攻補兼施法으로써 益氣活血, 健脾燥濕 특히 潤肺化痰, 滋陰清熱 등<sup>11-14,83-86)</sup>의 治法과 化痰軟堅, 清熱解毒, 解毒散結, 化痰消積, 清熱宣肺, 寬胸散結, 清肺化痰 등<sup>11-17,79,83,87,88)</sup>의 祛邪 위주의 治療法을 사용함으로써 清熱潤肺法과 化痰散結法이 常用되고 있다.

最近의 臨床研究로는 滋陰潤肺抗癌法의 沙麥門冬湯加減, 益氣養陰抗癌法의 生脈散加味, 化痰消癥抗癌法으로 千金葦莖湯과 行氣瀉濁法의 平消丹, 痰濁內阻 氣化失司에 응용하는 二陳湯加味, 化痰散結丸과 養陰潤肺 清熱解毒하는 清燥救肺湯, 百合固金湯 등을 多用하며 이외에 六味地黃丸, 金匱腎氣丸 등이 臨床의으로 效果가 있는것으로 報告되었다<sup>12,13,18-22)</sup>.

국내에서 消積白朮散<sup>89)</sup>, 蓼茸湯<sup>90)</sup>, 息黃丸<sup>91)</sup>, 痞氣丸<sup>91,92)</sup>, 四物鼈甲青皮湯과 四物鼈甲青皮湯加味方<sup>93)</sup>, 防毒湯<sup>94)</sup>, 伏梁丸<sup>95)</sup>, 補中益氣湯과 手拈散<sup>96)</sup>, 膈下逐瘀湯과 膈下逐瘀湯合四君子湯<sup>97)</sup>, 藿香正氣散과 藿香正氣散合手拈散<sup>98)</sup>, 六君子湯과 小柴胡湯<sup>99)</sup> 등의 抗癌效能을 實驗의으로 立證한 研究報告는 있으나 肺癌에 관한 실험연구는 그다지 많지 않으며, 최근에 김 등<sup>32)</sup>이 葦莖湯 및 加味葦莖湯을 *in vitro*에서 폐암 세포주인 B16-Fo에 대한 항종양 효과와 항암제와의 상승작용을 MTT법에 의해 살펴 보고 동물 실험에서 B16-Fo를 정맥주사 후 葦莖湯의 경구 투여로 생명연장률, 체중변화, 혈액검사 및 조직검사 등을 통하여 유의성을 검증한 실험이 있다. 單一 藥材로써 항암효과를 실험한

것으로는 紫菀<sup>23)</sup>, 柴胡와 茵陳<sup>24)</sup>, 蒲公英<sup>25)</sup>, 敗醬<sup>26)</sup>, 東風菜<sup>27)</sup>, 枳實, 豬苓<sup>28)</sup>, 魚腥草<sup>28,29)</sup>, 瓦松, 靈芝, 山慈花, 仙鶴草<sup>30)</sup>, 半邊蓮<sup>31)</sup> 등이 있으며, 특히 최근에는 30여종의 약재로써 60여종의 인체암 세포주에 대한 항암활성 조사<sup>99)</sup>에서 각 한약재가 선택적으로 항암활성을 가지는 것으로 나타났다.

瓜蒌仁은 胡蘆科에 屬한 多年生 蔓草인 하늘타리의 乾燥, 成熟果實로 性味が 甘 微苦 寒無毒하고 寬胸散結 潤肺祛痰 消癰腫瘡毒 利咽喉 滑腸通便 清上焦之火의 效能이 있어 痰熱咳嗽 心胸悶痛 肺痿咳血 胸痺 肺癰 腸癰 乳癰 吐血 便秘 등에 사용한다<sup>33-35,100-104)</sup>. 有機酸 有機鹽類 樹脂 糖類 色素 등의 成分을 含有하고 있으며 臨床에서 呼吸系 疾患의 治療에 常用<sup>33)</sup>되는데 이외에 敗毒抗癌 작용이 있어<sup>36-39)</sup> 抗癌活性을 가지며 直腸癌 結腸癌 絨毛膜上皮癌 등의 암세포에 대한 抗腫瘤作用, 肉瘤 및 腹水癌에 대한 生長억제 작용과 암세포 致死作用 등의 效能이 있다<sup>36-39)</sup>.

黃芩은 唇形科에 屬한 多年生草인 黃芩의 根을 말하며 性味는 苦寒 或 平無毒하고 清熱燥濕 瀉火解毒 丁瘡排膿 瀉肺火上逆 養陰退陽 止血 安胎의 作用이 있으며, 특히 清上焦之火의 作用이 强하여 肺熱의 治療에 常用된다<sup>33-35,40,100,102-104)</sup>. 그리고 Baicalein, Baicalin, Wogonin, Wogonoside,  $\beta$ -Sitosterol 등의 成分을 含有하고 抗炎 抗微生物作用과 降壓 利尿 鎮靜作用 등을 가지며 肺部感染 및 上氣道感染 등에 有效하다<sup>33,40,101)</sup>. 또한, 비교적 강한 抗癌活性이 있어 체의 실험에서 암세포와 백혈병세포에 대한 억제작용이 있다<sup>36,41)</sup>.

임상에서 瓜蒌仁과 黃芩은 肺癌의 主要 治療法인 清熱解毒 軟堅散結 化痰潤肺法에 常用<sup>11-17,105,106)</sup>되고 있으나 肺癌에 대한 抗癌效果를 본자수준에서 實驗的으로 立證한 研究는 접하

지 못하였다.

이에 著者は 瓜蒌仁, 黃芩의 抗癌效果를 實驗的으로 구명하기 위하여 recombinant human IL-1 (rhIL-1 $\beta$ ) 및 瓜蒌仁, 黃芩에 의한 세포막 표면에서의 oligosaccharides의 변화를 포함하여 폐암 세포주인 Melanoma B-16의 세포내 GnT-III, V의 활성 측면에서의 변화를 관찰하였다.

먼저 rhIL-1 $\beta$ 의 세포의 암화 및 악성화 관련 GnT-III, V 활성에 대한 효과를 살펴 본 결과, rhIL-1 $\beta$ 는 암세포의 악성화과정 중 염증반응을 수반하는 작용이 있는바 rhIL-1 $\beta$ 의 투여시 폐암세포의 특성변화, 상태 등 거동해석은 매우 흥미로울 것으로 생각되어 본 실험에서는 rhIL-1 $\beta$ 가 폐암에서 암전이 표식자로 생각되는 GnT-III 및 GnT-V의 활성에 미치는 영향을 분석하였다. Melanoma B-16의 GnT-III 활성은 rhIL-1 $\beta$ 의 투여용량에 의존적으로 감소되었으나 GnT-V의 활성은 오히려 증가하였다. 이러한 결과는 GnT-V의 효소활성이 악성암전이를 수반한 염증반응에 있어서 rhIL-1 $\beta$ 매개성 염증반응과 깊은 관계가 있음을 시사하였다. 이상의 결과는 rhIL-1 $\beta$ 가 폐암세포인 Melanoma B-16의 GnT-V 활성화 및 GnT-III 활성을 억제함으로써 염증반응과 암전이능에 깊이 관여하고 있음을 시사하고 있다. 본 연구의 대상으로 사용된 한방제재인 瓜蒌仁, 黃芩은 rhIL-1 $\beta$ 의 처리로 억제된 GnT-III 활성을 증가시킴으로써 유의한 회복을 나타냈으며 rhIL-1 $\beta$ 의 처리로 증가된 GnT-V 활성은 瓜蒌仁, 黃芩 및 瓜蒌仁과 黃芩 병용투여시 모두 유의성 있는 감소를 보였다. 이상의 결과는 瓜蒌仁, 黃芩 등이 폐암전이 억제에 효과적임을 제시하는 것으로 평가된다.

최근의 생화학적 연구는 세포의 악성전이 또는 세포의 분화에 있어서 GnT-III, GnT-IV, GnT-V의 활성을 결합한 세포막 표면에서의 oligosaccharide의 변화에 초점이 맞춰져 왔다.

B 세포 계통에 있어서 rhIL-1 $\beta$ 는 골수종 세포의 말기의 분화와 증식에 작용하지만 rhIL-1 $\beta$ 의 작용에 관한 정확한 기전은 밝혀지지 않았다. 우리의 현 자료로부터 rhIL-1 $\beta$ 의 이러한 몇 가지의 생물학적 기능이 glycosyltransferase 활성과 그들의 생성물 측면에서 적절할 것으로 사료된다.

한편, 瓜蒌仁과 黃芩 병용투여가 폐전이암에 있어서 GnT-V 항원 표식에 미치는 영향에 관한 조사를 위하여 RT-PCR법을 사용하였다. 그 결과 瓜蒌仁과 黃芩 병용투여로 처리된 세포주는 RT-PCR법에 의하여 GnT-V mRNA의 전사가 낮은 수준으로 나타남을 확인하였다. 따라서 매개체에 있어서 瓜蒌仁과 黃芩 병용투여에 의한 낮은 수준의 GnT-V 활성도는 瓜蒌仁과 黃芩 병용투여가 폐암전이에 억제효과가 있을 것으로 생각된다.

## V. 결 론

본 연구는 염증성 사이토카인인 IL-1 처리를 통한 고전이성 폐암에서 瓜蒌仁, 黃芩 및 瓜蒌仁과 黃芩 병용투여에 의한 전이 억제효과에 대해 보고한다.

1) Melanoma B-16의 GnT-III 활성은 IL-1의 투여용량에 의존적으로 감소되었으나 GnT-V의 활성은 증가하였다.

2) 瓜蒌仁, 黃芩 및 瓜蒌仁과 黃芩 병용투여는 IL-1 $\beta$  처리로 억제된 GnT-III 활성을 회복시킨다.

3) 瓜蒌仁, 黃芩 및 瓜蒌仁과 黃芩 병용투여는 IL-1 $\beta$  처리로 증가된 GnT-V 활성에 대하여 유의성 있는 감소효과를 나타내었다.

4) 폐암전이에 있어서의 GnT-V 활성 억제 실험에서 瓜蒌仁과 黃芩 병용투여는 GnT-V 유전

자 발현을 mRNA 수준에서 억제하는 것으로 나타났다.

5) 瓜蒌仁, 黃芩은 암전이의 지표인 GnT-V의 활성과 효소단백질 발현을 억제함으로써 암전이에 효과적임을 시사하였다.

## 참 고 문 헌

1. 서울대학교 의과대학 편 : 호흡기학, 서울, 서울대학교출판부, pp. 255-278, 1986.
2. Hottton AW. : Indoor tobacco smoke pollution. A major risk factor for both breast and lung cancer?, *Cancer* 62 : 6, 1988.
3. 강대송, 조진웅, 김상균, 김미애, 양성욱, 이태관, 이태현, 김귀완 : 폐암에서 각종 진단수기에 따른 진단율에 관한 연구, *결핵 및 호흡기질환* 40(6) : 700-708, 1993.
4. 이기형, 강원기, 장정순, 윤성수, 임영혁, 이재용, 박영석, 서창인, 허 대석, 방영주, 심영수, 김노경, 김건열, 한용철, 김시영, 윤희중, 조경삼 : 진행비소세포성 폐암 환자에서의 Cisplatin 단독화학요법 및 PEV(Cisplatin, Etoposide, Vinblastine) 복합 화학요법의 치료효과에 관한 제3상 비교 연구, *J. of Korean Cancer Association* 24(2) : 256-267, 1992.
5. 최진혁, 정현철, 김동립, 오제열, 장 준, 고은희, 김주향, 노재경, 김성규, 이원영, 김귀언, 노준규, 김병수 : 진행성 비소세포성 폐암에서 FEP(5- Fluorouracil, Etoposide, Cisplatin) 3제 병용 약물요법의 제2상 임상 시험, *J. of Korean Cancer Association* 23(1) : 120-139, 1991.
6. Parada, L.F., Land, H., Weinberg, R.A., Wolf, D. and Rotter, V. : Cooperation between gene encoding p53 tumor antigen and ras in cellular transformation. *Nature* 312 : 649-651, 1984.
7. 박연섭, 박용욱, 유재형 : 폐암중에서의 H-ras p21과 p53종양유전자 발현에 관한 면역조직화학적 연구, *Chung-Ang J. of Medicine* 18(4) : 457-465, 1993.
8. 扁鵲 : 難經, 臺中, 昭人出版社, pp.187-193, 1985.
9. 段光周 等編 : 金匱要略手冊, 重慶, 科學技術文獻出版社重慶分社, p. 20, 1988.
10. 危亦林 : 世醫得效方, 서울, 도서출판 醫聖堂, p.120, 164, 1990.
11. 錢伯文 : 腫瘤的辨證施治, 上海, 上海科學技術出版社, pp.93-97, 1980.
12. 李岩 : 腫瘤病, 北京, 人民衛生出版社, p.1, pp.60-63, 1986.
13. 郁仁存 : 中醫腫瘤學(上), 北京, 北京科學出版社, pp.274-281, 1983.
14. 李家庚 外 : 中醫腫瘤防治大全, 北京, 科學技術文獻出版社, pp.291- 292, 1994.
15. 賈莖 : 癌瘤中醫防治研究, 西安, 陝西科學技術出版社, p.55, 1983.
16. 李岩 : 腫瘤臨證備要, 北京, 人民衛生出版社, pp.161-163, 1983.
17. 邵夢揚 外 : 中西醫結合臨床 腫瘤內科學, 天津, 天津科技翻譯出版公司, pp.150-155, 616-645, 1994.
18. 唐文秀 外 : 中醫藥治療晚期原發性非小細胞肺癌臨床觀察, *中醫雜誌* 35(5) : 283-285, 1994.
19. 史恒軍 外 : 吳一純教授治療肺癌的經驗介紹, *新中醫* 26(7) : 4-5, 1994.
20. 邢雲梅 外 : 抗癌中藥的生物治療效應研究近, *中醫雜誌* 35(3) : 177- 179, 1994.
21. 劉筱儀 : 六味地黃丸或金匱腎氣丸補助治

- 療小細胞肺癌的療效觀察, 中西醫結合雜誌 12 : 720-722, 1990.
22. 周國平 : 癌證秘方驗方偏方大全, 北京, 中國醫藥科技出版社, pp.82- 91, 1994.
  23. 金尙勳, 金光湖 : 紫菀이 抗癌作用 및 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙 韓醫大論文集 13 : 317-330, 1990.
  24. 손갑호, 김성훈 : 柴胡 茵陳의 肝癌細胞에 對한 抗癌活性 및 抗癌劑와의 相乘作用, 大韓韓醫學會誌 16(2) : 414-432, 1995.
  25. 김동희, 김성훈 : 蒲公英 分割의 肝癌細胞에 對한 抗癌活性과 抗癌劑와의 併用投與效果, 大韓韓醫學會誌 16(2) : 386-413, 1995.
  26. 朴春赫, 金光湖 : 黃花敗醬과 白花敗醬이 抗癌作用 및 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙 韓醫大論文集 14 : 1-26, 1991.
  27. 李學喆, 金光湖 : 東風菜가 抗癌作用 및 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙 韓醫大論文集 13 : 189-201, 1990.
  28. 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, 慶熙 大學校大學院, 博士學位論文, 1990.
  29. 尹相協, 林成祐, 柳逢夏, 朴東源, 柳基遠 : 六君子湯 小柴胡湯 魚腥草의 膽癌 生存期間延長效果와 免疫反應에 關한 實驗的 研究, 慶熙醫學 7(3) : 342-357, 1991.
  30. 吳千植, 金秉雲 : 靈芝 山慈花 仙鶴草 瓦松이 癌細胞 感受性에 미치는 影響, 慶熙 大學校博士學位論文集, p.39, 1988.
  31. 張逸鎮 : 半邊蓮의 抗腫瘍效果에 對한 考察, 大田大學校大學院, 博士學位論文, 1993.
  32. 김현수, 김성훈 : 葶藶湯 · 加味葶藶湯의 B16-Fo에 對한 抗腫瘍 效果 와 組織 變化, 大韓韓醫學會誌 16(2) : 365-385, 1995.
  33. 歐陽忠興 外 : 中醫呼吸病學-中華臨床醫學系列, 北京, 中國醫藥科技出版社, pp.130-131, 154-155, 733-745, 1994.
  34. 李尙仁 : 本草學, 서울, 圖書出版 修書院, pp.303-304, 505-507, 1981.
  35. 李時珍 : 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, pp.780-783, 1267-1271, 1982.
  36. 盛展能 : 抗癌治驗本草, 重慶, 重慶出版社, pp.268-269, 531-533, 1994.
  37. 楊玉印 : 癌症的中藥治療, 礫莊, 河北科學技術出版社, pp.136-137, 1992.
  38. 楊今詳 : 臨床抗癌中草藥, 서울, 成輔社, pp.71-73, 1990.
  39. 馬卓隆 : 抗癌中草藥秘方, 臺南, 新時代出版社, pp.96-97.
  40. 中國藥物大全編委會編 : 中國藥物大全(中藥卷), 北京, 人民衛生出版社, p.39, 244, 1991.
  41. 常敏毅 : 抗癌本草, 湖南, 湖南科學技術出版社, pp.258-259, 1987.
  42. Katagiri, S., Yonezawa, T., Kuyama, J., Kanayama, Y., Nishida, K., Abe, T., Tamaki, T., Ohnishi, M. and Tarui, S. : Int. J. Cancer 36 : 241-246, 1985.
  43. Hase, S., Ibuki, T. and Ikenaka, T. : J. Biochem. 95 : 197-203, 1984.
  44. Taniguchi, N., Nishikawa, A. Fujii, S. and Gu, J. : Methods Enzymol. 179 : 397-409, 1989.
  45. Chomczynski, S., Sacchi, R. : Anal. Biochem. 162 : 156-159, 1987.
  46. 김철호, 강봉석, 이영춘, 정태화 : 인체 암 전이, 악성화관련 당쇄 전이효소 GnT-V 유전자에 관한 연구, 과학기술처 추천연구프로젝트 연구보고서, 과학기술처, 1996.5.1.
  47. Harpaz, N., and Schachter, H. : J. Biol.

- Chem. 255 : 4894-1902, 1980.
48. 保健新聞社 : 保健年鑑, 서울, pp.293-295, 1995.
  49. 연세대학교 의과대학 : 호흡기학, 연세대학교 의과대학 내과학교실, pp.326-328, 1995.
  50. Masabumi, M., Yasushi, K., Takashi, Y., Satoru, N., Yoshikatsu, H. and Masamichi, S. : Biochemical and biophysical research communications 171(2) : 832-837, 1990.
  51. Dinarello, C.A. : Rev. Infect. Diseases. 6 : 51-59, 1984.
  52. 伊藤 克禮, 新津 洋司郎, 渡辺 直樹 : サイトカインのがん治療への應用, Biomedica 7(11) : 18-22, 1992.
  53. Rosenberg, S. A., et al : N. Engl. J. Med. 313 : 1485-1492, 1985.
  54. 鄧偉吾 : 呼吸系統疾病, 中華醫學雜誌 74(12) : 718, 1994.
  55. 이종원 : Retinoviral vector에 cloning된 IL-2를 이용한 암의 치료, 암연구의 최신 지견, 서울대학교, 암연구센터(CRC), pp.328-344, 1995.
  56. 北村 聖 : Biotherapy 5 : 73-78, 1991.
  57. Muraguchi, A., Hirano, T., Tang, B., Matsuda, T., Horii, Y., Nakajima, K. and Kishimoto, T. : J. Exp. Med. 167 : 332-344, 1988.
  58. Mackiewicz, A. and Kushner, I. : Scand. J. Immunol. 29 : 265-271, 1988.
  59. Hubbard, S.C. and Ivatt, R.J. : Ann. Rev. Biochem. 50 : 555-583, 1981.
  60. Brockenhausen, I., Hull, E., Hindsgaul, O., Schachter, H., Shah, R.N., Michnick, S.W. and Carver, J.P. : J. Biol. Chem. 264 : 11211-11221, 1989.
  61. Narasimhan, S. : J. Biol. Chem. 257 : 10235-10242, 1982.
  62. Yamashita, K., Tachibana, Y., Ohkura, T. and Kobata, A. : J. Biol. Chem. 260 : 3963-3969, 1985.
  63. Warren, L., Buck, C.A. and Tuszynski, G.P. : Biochem. Biophys. Acta 516 : 97-127, 1978.
  64. Yamashita, K., Hitoi, A., Taniguchi, N., Yokosawa, N., Tsukada, Y. and Kobata, A. : Cancer Res. 43 : 5059-5063, 1983.
  65. Narashimhan, S., Schachter, H. J. and Rajalakshmi, S. : J. Biol. Chem. 263 : 1273-1281, 1988.
  66. Nishikawa, A., Fujii, S., Sugiyama, T., Hayashi, N. and Taniguchi, N. : Biochem. Biophys. Res. Commun. 152 : 107-122, 1988.
  67. Ishibashi, K., Nishikawa, A., Hayashi, N., Kasahara, A., Sato, N., Fujii, S., Kamada, T. and Taniguchi, N. : Clin. Chim. Acta 185 : 325-332, 1989.
  68. Hubbard, S.C. : J. Biol. Chem. 262 : 16403-16411, 1987.
  69. Koenderman, A.H.L., Wijermans, P.W. and Eijnden, D.H. : FEBS letters 222 : 42-46, 1987.
  70. Taniguchi, N., Nishikawa, A., Fujii, S. and Gu, J. : Methods in Enzymology 179 : 397-398, 1989.
  71. Dennis, J.W., Laferte, S., Waghorne, C., Breitman, M.L. and Kerbel, R.S. : Science 236 : 582-585, 1987.
  72. Miyoshi, E., Nishikawa, A., Ihara, Y., Gu, J., Sugiyama, T., Hayashi, N., Fusamoto, H., Kamada, T. and Taniguchi, N. : Cancer Res. 53 : 3899-3902, 1993.

73. 洪元植 編：精校黃帝內經, 서울, 東洋醫學研究院出版部, p.44, 77, 94, 215, 1981.
74. 한재수, 권혁성, 정승기, 이형구: 肺積 肺癰 肺疽 肺癌에 관한 文獻의 考察(原因·症狀 中心으로), 大韓韓醫學會誌 15(1): 26-35, 1994.
75. 方葯中 外: 實用中醫內科學, 上海科學技術出版社, pp.621-624, p. 627, 1986.
76. 賈望: 中醫癌瘤證治學, 西安, 陝西科學技術出版社, p.8, 59, 1989.
77. 羅凜: 癌症病因病機與辨治芻議, 河南中醫 14(5): 306, 1994.
78. 具本泓 外: 東醫內科學, 富川, 書苑堂, p.270, 1985.
79. 박정희, 김병탁, 김성훈: 肺癌의 韓醫治療에 관한 文獻의 考察, 大韓韓醫學會誌 16(1): 71-95, 1995.
80. 吳泰煥, 鄭昇杞, 李珩九: 肺癌에 관한 東西醫學의 文獻考察, 大韓韓醫學會誌 12(2): 52-65, 1991.
81. 黃忠淵: 肺癌의 東西醫結合治療에 관한 文獻의 考察, 大韓韓醫學會誌 16(2): 177-194, 1995.
82. 郁仁存 外: 中西醫結合治療97例晚期非小細胞肺癌的臨床分析, 北京中醫 第6期, pp.13-14, 1994.
83. 王笑民 外: 晚期非小細胞肺癌患者氣虛血瘀證的研究, 中西醫結合雜誌 14(12): 724-726, 1994.
84. 李東建, 吳泰煥, 鄭昇杞, 李珩九: 肺癰의 治療에 관한 文獻의 考察, 大韓韓醫學會誌 13(1): 9-22, 1992.
85. 楊勤建 外: 中醫藥治療支氣管肺癌近, 湖北中醫雜誌 第5期, pp. 52-53, 1994.
86. 李修武: 中醫, 中西醫結合治療原發性非小細胞肺癌的進展, 河南中醫 13 (6): 287-290, 1993.
87. 范忠澤 外: 中醫中藥對晚期原發性肺腺癌的療效觀察, 中國中西醫結合雜誌 14(9): 561-562, 1994.
88. 史蘭陵 外: 癌症中醫治驗, 山東, 山東科學技術出版社, pp.104-105, 1990.
89. 趙鍾寬: 消積白朮散의 抗癌效果 및 Cisplatin副作用 減少에 미치는 影響, 大田大學校韓醫學研究所論文集 4(2): 255-272, 1996.
90. 張中植, 宋孝貞, 金聖勳: 蔘茸湯이 S-180에 對한 抗腫瘍效果와 Cyclophosphamide에 依한 副作用 減少에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌 13(1): 313-323, 1992.
91. 姜大根: 息賁丸 및 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, 碩士學位論文, 1990.
92. 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, 碩士學位論文, 1989.
93. 金東烈: 四物鼈甲青皮湯과 四物鼈甲青皮湯加味方의 抗癌作用과 免疫反應에 미치는 影響, 大韓韓方內科學會誌 15(2): 174-196, 1994.
94. 李鳳雨, 宋孝貞, 金聖勳: 防毒湯의 抗腫瘍效果와 免疫反應에 관한 實驗的研究, 大韓韓醫學會誌 15(1): 263-281, 1994.
95. 金剛山, 姜秉淇: 伏梁丸이 白血病과 肝癌患者에서 抽出한 癌細胞에 미치는 抗癌效果, 원광한의학 1(1): 153-167, 1991.
96. 韓晟圭, 崔昇勳, 安圭錫: 補中益氣湯 手拈散 및 補中益氣湯合手拈散의 抗癌과 免疫調節作用에 관한 實驗的 研究, 慶熙韓醫大論文集 18(1): 15-29, 1995.
97. 高光錫: 膈下逐瘀湯과 膈下逐瘀湯合四君

- 子湯의 抗癌 및 免疫調節作用에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院, 博士學位論文, 1994.
98. 金義泰：藿香正氣散과 藿香正氣散合手拈散의 抗癌 및 免疫調節作用에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院, 博士學位論文, 1994.
99. 康坼林：數種 韓藥材의 抗癌活成 研究, 大田大學校韓醫學研究所, 論文集 韓醫學編 3(2) : 315-321, 1995.
100. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編：本草學, 서울, 永林社, pp.178- 179, 461-462, 1991.
101. 辛民教：原色臨床本草學, 서울, 永林出版社, pp.308-309, 563-564, 1988.
102. 黃宮綉：本草求真, 北京, 人民衛生出版社, p.155, pp.179-180, 1987.
103. 唐慎微：證類本草, 上海, 上海古籍出版社, pp.347-349, 372-373, 1991.
104. 吳普 等：神農本草經, 北京, 人民衛生出版社, p.63, 69, 1982.
105. 徐振曄：劉嘉湘重舌苔論治肺癌, 中醫雜誌 34(6) : 334-336, 1993.
106. 劉如秀：劉志明治療惡性腫瘤驗案3則, 中醫雜誌 35(7) : 397-399, 1994.