

원 지

## 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯의 항암제에 의해 손상된 위장관의 회복효과에 관한 연구

권오희, 류기원, 류봉하, 윤상협, 백태현  
경희대학교 한의과대학 비계내과학교실

### Protective and Healing Effects of both *Jiguyangwi-tang* and *Gamijiguyangwi-tang* on Gastric Mucosa Injuries induced by Cyclophosphamide in Mice

Oh-Hee Kwon, Ki-Won Ryu, Bong-Ha Ryu, Sang-Hyub Yoon, Tae-Hyun Paek

Department of 3rd Internal Medicine, Oriental Medicine, Kyunghee University

This research was to find out the protective and healing effects of both the *Jiguyangwi-tang* and the *Gamijiguyangwi-tang* on the gastric mucosa injuries by cyclophosphamide.

At first, *Jiguyangwi-tang* and *Gamijiguyangwi-tang* extract were administered to the mice before one week, and then integral administration of those two drugs(each herbal extract and cyclophosphamide) were followed for another one week, respectively. After finishing those treatments, I have examined the state of the both ulcer and inflammation on the damaged gastric mucosa cell and watched the level of proliferating cell nuclear antigen(PCNA), Bcl-2, and apoptosis. These results were as follows,

1. Gastric mucosa inflammation have more significantly reduced in groups of integral administration of *Jiguyangwi-tang* plus cyclophosphamide, *Gamijiguyangwi-tang* plus cyclophosphamide and cyclophosphamide then in group of single cyclophosphamide.
2. Gastric ulcer have been reduced in groups of integral administration of *Jiguyangwi-tang* plus cyclophosphamide, *Gamijiguyangwi-tang* plus cyclophosphamide and cyclophosphamide then in group of single cyclophosphamide. But the significance have not shown.
3. PCNA level have more significantly elevated in integral administration of *Jiguyangwi-tang* plus cyclophosphamide and *Gamijiguyangwi-tang* plus cyclophosphamide and cyclophosphamide then in group of single cyclophosphamide.
4. The significance of both apoptosis induction and bcl-2 level have not noticed among all groups.
5. Between *Jiguyangwi-tang* and *Gamijiguyangwi-tang*, the difference of effect was not admitted in statistically

From these results, it is suggested that *Jiguyangwi-tang* and *Gamijiguyangwi-tang* are useful medicines in protecting gastric inflammation and ulcer, that is gastrointestinal side-effect of cyclophosphamide. The preventing effect of *Jiguyangwi-tang* and *Gamijiguyangwi-tang* may be through the "affecting the period of cell division", but not the inhibition of apoptosis. (*J Korean Oriental Med* 2001;22(2):84-93)

**Key Words:** *Jiguyangwi-tang*(zhiouyangwei-tang), *Gamijiguyangwi-tang*(jiaweizhiouyangwei-tang), cyclophosphamid, PCNA, anticancer

## 서론

종양은 “자율성을 가진 조직의 과잉한 발육”으로 정의된다. 임상 및 병리 형태학적으로 양성종양과 악성종양으로 구분되며<sup>2)</sup> 악성종양은 일반적으로 암으로 불리는데, 이 암은 발생초기에는 특별한 자각증상이 없으며 여러 가지 방사선, 화학적 진단방법으로도 초기 암을 진단하는데 어려움이 있다. 따라서 많은 환자가 진단 당시에 전이를 일으켰거나 적어도 진행성 암인 경우가 많다. 이는 암의 외과적인 완전 절제를 어렵게 하고 결국 화학적 또는 방사선 병합요법을 주된 치료법으로 선택하게 된다.

화학요법제의 부작용도 방사선 치료후에 나타나는 부작용과 유사하지만 공통적으로 나타나는 증상은 소화기 장애(86%), 골수조혈장애(72%) 등이 있으며 그밖에 탈모증, 신경증상, 피부증상, 간중독, 신장애, 심근증, 폐섬유증 등이 수반될 수 있는 것으로 나타나 있다<sup>3)</sup>.

한의학에서는 약 30 여년전부터 종양치료에 관한 객관화 연구가 시작되어 왔으며, 현재는 직접적인 항암효과뿐만 아니라 항암요법의 부작용을 경감시키고 환자의 체력을 강화시키는 방면으로 연구되고 있다<sup>4)</sup>.

항암요법 부작용을 완화시키기 위한 처방으로는 보중익기탕, 삼령백출산<sup>5)</sup>, 사물탕<sup>6)</sup>, 군리탕가감방<sup>7)</sup>, 소적백출산<sup>8)</sup>, 삼용탕<sup>9)</sup>, 사군자탕, 십전대보탕<sup>10)</sup>, 육미지황탕, 부정중효방, 건비익신방 등<sup>11)</sup>에 대한 연구가 진행되었는데 이 처방들에 대한 연구는 주로 골수세포, 비장세포, 임파구 등을 중심으로 한 조혈과 면역계에 대한 것들이었고, 임상에서 나타나는 부작용 중 가장 많은 비율을 차지하는 위장장애에 대한 연구는 미흡하였다.

이러한 사실에 근거하여 저자는 항암요법 중 화학요법에 의한 위장장애를 감소시킬 목적으로 古今醫鑑<sup>12,13)</sup>에 수록된 비화음<sup>14)</sup>에 복룡간을 가하여 경희의료원 한방병원<sup>15)</sup>에서 이용하고 있는 止嘔養胃湯과 이 처방에 半枝蓮, 白花蛇舌草<sup>16)</sup>를 추가한 처방을 선택하여 생쥐를 대상으로 항암제인 cyclophosphamide를 투여하여 손상된 위장점막의 변화에 대한 회복효

과를 규명하기 위하여 형태학적, 면역조직학적, 분자생물학적 방법을 이용하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 실험

### 1) 재료

#### (1) 동물

동물은 週齡 8-10주 사이의 balb/c mouse를 대상으로 정상군 20마리, cyclophosphamide 단독투여군 20마리, cyclophosphamide와 止嘔養胃湯 복합투여군 20마리, cyclophosphamide와 止嘔養胃湯加 半枝蓮, 白花蛇舌草 투여군 20마리를 이용하였다. 동물의 사육은 항온시설이 된 사육실에서 물과 고형사료를 충분히 공급하면서 낮 12시간, 밤 12시간의 생활리듬을 조절하여 사육하였다.

#### (2) 약제

실험에 사용한 약제는 경희대학교 한방병원 약제과에서 구입하여 정선한 후 사용하였다. 止嘔養胃湯의 처방구성 및 중량은 경희대학교 한방병원에서 사용되고 있는 처방집<sup>17)</sup>에 준하여 비화음에 복룡간 12g을 가미한 止嘔養胃湯과 止嘔養胃湯에 白花蛇舌草, 半枝蓮 각 12g을 가미한 처방(이하 加味止嘔養胃湯이라 칭함)을 사용하였으며 1첩 분량은 다음과 같다.

#### ① 止嘔養胃湯(Table 1)

#### ② 加味止嘔養胃湯

加味止嘔養胃湯은 상기의 止嘔養胃湯의 처방에 半枝蓮 (학명: *Scutellaria barbata* D. Don, 생약명: *Scutellaria barbata*), 白花蛇舌草(학명: *Oldenlandia diffusa* Willd, 생약명: *Oldenlandiae Diffusae herba*)를 각각 12g씩 가하여 총량 114g으로 하였다.

### 2) 방법

#### (1) 검액의 조제

Cyclophosphamide는 ethanol에 녹인 후 최종적으로 100mg/ml in 3% ethanol이 되도록 증류수로 희석하였으며, syringe filter로 여과 멸균하여 사용하였고, 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯은 각각 30g을 蒸溜水 1 l에 넣어 125℃에서 15분간 끓인 후 syringe filter

**Table 1.** The Component of Jiguyangwi-tang

藥名	學名	生藥名	用量(g)
人參	<i>Panax schinseng</i>	<i>Ginseng Radix</i>	6.00
白朮	<i>Atractylis japonica koidzumi</i>	<i>Atractylis Rhizoma</i>	6.00
白茯苓	<i>Poria cocos Wolff</i>	<i>Hoelen</i>	6.00
神曲	<i>Hordei fructus germinatus</i>	<i>Massa Medicata Fermentata</i>	6.00
藿香	<i>Agastache rugosa O.Kuntze</i>	<i>Pogostemonis Herba</i>	3.00
陳皮	<i>Citrus Reticulata Blanco</i>	<i>Aurantii nobilis Pericarpium</i>	3.00
砂仁	<i>Amomum Xanthioides Waii</i>	<i>Amomi Semen</i>	3.00
甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis Fischer</i>	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	3.00
陳倉米	<i>Oriza sativa L.</i>	<i>Rice</i>	30.00
伏龍肝		<i>Terra Flava Usta</i>	12.00
生薑	<i>Zingiber officinale Roscoe</i>	<i>Zingiberis Rhizoma</i>	6.00
大棗	<i>Zizyphus jujuba Mill</i>	<i>Zizyphi inermis Fructus</i>	6.00
總量			90.00

를 이용하여 고정성분을 걸러내고 사용하였다.

(2) 약물의 투여

대조군(Control Group)은 cyclophosphamide를 200 µg/g의 양을 2주간 zonde를 이용하여 경구투여하였다. 止嘔養胃湯(Sample A Group) 및 加味止嘔養胃湯(Sample B Group) 투여군은 cyclophosphamide 투여전 각각의 약물을 2ml/day씩 7일간 먼저 투여한 후 cyclophosphamide 와 함께 2 ml/day씩 2주간 복합 투여하였다. 정상군(Normal group)에는 동량의 생리식 염수를 경구투여하였다. 실험동물은 마지막 약물을 투여한 후 24시간 뒤에 경골 탈골법(cervical dislocation)을 이용하여 희생시켰다. 희생된 생쥐의 위장조직은 즉시 병리조직학적 검색 및 apoptosis 발현 검사를 위하여 10% 중성 포르말린에 고정하였다.

(3) 약물효과의 분석

희생된 생쥐로부터 위장을 적출한 후 일부는 면역조직화학적 검사 및 분자생물학적 검사를 위해 냉동 절편을 만들고, 일부는 광학현미경적 검사를 위해 10% 포르말린에 고정하였다

① 육안적 검색

절제된 장기를 대상으로 확대경으로 염증의 유무, 궤양의 형성, 출혈, 울혈 등의 상태를 관찰하고 이상 부위는 현미경적 관찰을 위해 표본을 제작하였다.

② 광학 현미경적 검색

육안적 검색을 마친 위장조직은 수축이 일어나지

않게 하기 위하여 틀에 고정한 후 10% 중성 포르말린에 24시간 고정하였다. 고정된 조직은 탈수, 파라핀 포매의 과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하였다. 파라핀 블록은 microtome을 이용하여 4µm 두께로 조직절편을 제작하여 xylene으로 탈 파라핀화 시킨 후 통상적인 hematoxylin & eosin (H&E) 염색을 시행하였다. 표본은 생쥐 한 마리 당 10장의 slide를 제작하였으며 製作된 조직표본은 광학현미경(BH-2, Olympus, Japan)을 이용하여 염증의 유무, 궤양의 유무, 출혈 및 울혈의 유무를 검사하였다.

형태학적 검사의 객관성을 높이기 위하여 염증은 염증세포의 침윤정도에 따라 4 단계 [정상(0점), 약간의 염증(1점), 중등도의 염증(2점), 심한 염증(3점)]로 구분 하였으며 궤양은 그 크기 및 수에 따라 4 단계 [정상(0점), 1개의 궤양이 있거나 그 크기가 1 mm 이하(1점), 2개의 궤양이 있거나 가장 큰 궤양의 크기가 2 mm 이하(2점), 3개 이상의 궤양이 있거나 가장 큰 궤양의 크기가 2 mm 이상(3점)]로 분류하였다.

③ 면역조직화학적 검색

4µm 두께로 박절된 조직절편을 37℃에서 30분간 방치한 후 xylene에 5분간 2회 방치하여 파라핀을 제거하였다. 조직을 phosphate buffered saline (PBS)에 10 분간 세척한 후 3% hydrogen peroxide in methanol에 5분간 넣어 endogenous peroxidase activity를 제거하였다. 100% ethanol에 5분, 95% ethanol에 5분, 90%

ethanol에 5분, 70% ethanol에 5분간 rehydration시킨 후 다시 PBS에 2회 세척하였다. 여기에 blocking buffer (DAKO, Denmark)를 조직이 충분히 덮히도록 떨어 뜨린 후 30분간 37℃에 보관하였다. 이어 1:100-200으로 antibody diluent (DAKO, Denmark)에 희석된 primary antibody를 얹은 후 37℃에서 1시간 반응시켰다. 다시 PBS에 2회 세척한 후 peroxidase-labelled anti-mouse IgG antibody (Bcl-2), 또는 alkaline phosphatase-labelled anti-mouse IgG antibody (PCNA)를 1:200으로 희석하여 37℃에서 40분간 반응시켰다. Secondary antibody와의 반응이 끝난 후 PBS에 2회 세척하고 DAB (DAKO, Denmark) (Bcl-2) 또는 fast-red (PCNA)를 이용하여 발색시킨 후 Bcl-2는 hematoxylin으로 대조염색을 하여 70%, 90%, 95%, 100% ethanol에서 탈수시킨 후 광학현미경으로 관찰하였다. PCNA는 대조염색 없이 glycerin으로 mounting한 후 관찰하였다. 대조군으로는 primary antibody를 사용하지 않고 동일한 방법으로 염색한 slide를 이용하였다. 사용한 primary 및 secondary antibody는 Table 2와 같다.

#### ④ Apoptosis의 측정

절편조직을 60℃에서 30분간 방치한 후 xylene을 이용하여 파라핀을 제거하였다. 파라핀이 제거된 조직절편을 100%, 90%, 70% ethanol로 rehydration시킨 후 PBS에 5분간 방치하였다. 세척된 조직절편을 proteinase K (20 $\mu$ g/ml in 10 mM Tris/HCl, pH 7.4)에 37℃, 30분간 digestion한 후 PBS로 2회 세척하고 절편당 50 $\mu$ l의 TUNEL reaction mixture (Boehringer Mannheim, Germany)에 37℃, 1시간 반응시켰다. 이후 PBS에 3회 세척한 후 50 $\mu$ l의 Converter-AP (Boehringer Mannheim, Germany)와 37℃에서 30분간 반응시켰다. 다시 PBS에 3회 세척하고 100 $\mu$ l의 alkaline phosphatase substrate인 fast red in 0.1 M Tris-HCl, pH 8.8 (Boehringer Mannheim, Germany)와 10분간 실온에서 반응시키고 cover slip으로 mounting하여 광학현미경으로 관찰하였다. apoptosis에 대한 결과 판정은 광학현미경 100배의 배율로 20 field를 관찰하여 양성으로 염색되는 세포의 수를 세어

Table 2. Primary Antibodies Used in This Study

Antibody	Type	Dilution	Company
Bcl-2	Monoclonal	1:100	DAKO
PCNA	Monoclonal	1:200	Santa Cruz
HRP-anti-mouse	Polyclonal	1:200	Santa Cruz
AP-anti-mouse	Polyclonal	1:200	Santa Cruz

apoptosis index를 구하였다.

#### ⑤ 통계처리

검액투여후 위장점막의 염증 및 궤양의 정도는  $\chi^2$  검증을 실시하였고 PCNA와 apoptosis의 발현정도는 Kruskal-Wallis test를 사용하였으며 그 결과  $P<0.05$  수준인 경우 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

## 결 과

### 1) 위장점막의 염증성 변화

염증정도의 빈도와 그룹간에는 상호의존적인 것으로 나타나 止嘔養胃湯 및 加味止嘔養胃湯의 cyclophosphamide에 의한 염증유발에 억제효과가 있는 것으로 인정되었다. Cyclophosphamide를 200 $\mu$ g/g 씩 2주간 투여한 군(Control group)의 위장점막조직의 병리조직학적 검사에서 전체 20마리의 생쥐 중 정상군(Normal group)과 비교하여 염증의 변화를 보이지 않은 경우가 1예(5%), 경도의 염증반응(mild inflammation)을 보인 경우가 6예(30%), 중등도의 염증(moderate inflammation)을 보인 경우가 11예(55%), 심한 염증(severe inflammation)을 보인 경우가 2예(10%)였다. 이에 대하여 Sample A군에서는 각각 5예(25%), 8예(40%), 6예(30%), 1예(5%)로 중등도의 염증은 25%, 심한 염증은 5%정도 감소하였으며 Sample B군의 경우는 정상군의 경우가 6예(30%), 경도의 염증 7예(35%), 중등도의 염증 5예(25%), 심한 염증 2예(10%)였다. 반면 정상군(Normal group)의 경우는 염증이 없는 것이 18예(90%), 경도의 염증이 2예(10%)로 나타났다(Table 3, Fig. 1).

### 2) 위장점막의 궤양성 변화

Cyclophosphamide만 투여한 Control군에서는 위장

**Table 3. Severity of Inflammation in Gastric Mucosa**

Group	normal	mild	moderate	severe
Normal	18	2	0	0
Control	1	6	11	2
Sample A	5	8	6	1
Sample B	6	7	5	2

P<0.05 by  $\chi^2$ -test

Normal: Group of normal saline administered

Control: Group of both cyclophosphamide administered

Sample A: Group of both cyclophosphamide and *Jiguyangwi-tang* administered

Sample B: Group of both cyclophosphamide and *Gamijiguyangwi-tang* administered

**Table 4. Ulcers Induced in Gastric Mucosa**

Group	normal	mild	moderate	severe
Normal	18	2	0	0
Control	8	6	4	2
Sample A	12	5	3	0
Sample B	13	4	2	1

P=0.137 by  $\chi^2$  test

Normal: Group of normal saline administered

Control: Group of both cyclophosphamide administered

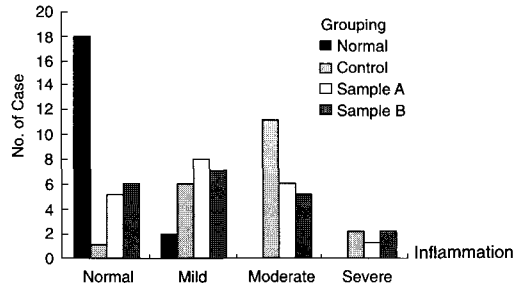
Sample A: Group of both cyclophosphamide and *Jiguyangwi-tang* administered

Sample B: Group of both cyclophosphamide and *Gamijiguyangwi-tang* administered

점막에서 다양한 크기의 궤양성 병변이 관찰되었다. 실험방법에 기술된 궤양의 정도에 관한 판단기준에 의하면 궤양이 없는 경우가 8예(40%), 경도가 6예(30%), 중등도가 4예(20%), 심한 궤양이 형성된 경우가 2예(10%)였다. 이에 대하여 Sample A군에서는 각각 12예(60%), 5예(25%), 3예(15%), 0예(0%)로 Control군에 비하여 정상으로 판정된 경우가 20%, 경도의 궤양은 5%, 중등도의 궤양은 5% 감소하였으며 심한 궤양은 관찰되지 않았으며 Sample B군은 정상 의 경우가 13예(65%), 경도의 궤양 4예(20%), 중등도의 궤양 2예(10%), 심한 궤양은 1예(5%)로서 Control 군에 비하여 궤양의 발생 숫자 및 그 정도가 감소하였으나  $\chi^2$  검증결과 P=0.137로서 유의성은 없었다 (Table 4, Fig. 2).

3) 기타 병리조직학적 소견

Cyclophosphamide만을 투여한 군에서는 점막하조직에서 혈관의 울혈이 6예(30%)에서 관찰되었으나



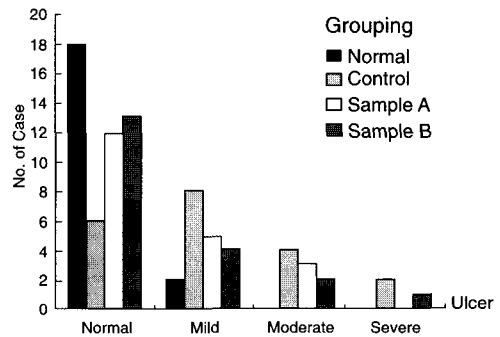
**Fig. 1. Severity of inflammation in gastric mucosa.**

Normal: Group of normal saline administered

Control: Group of cyclophosphamide administered

Sample A: Group of both cyclophosphamide and *Jiguyangwi-tang* administered

Sample B: Group of both cyclophosphamide and *Gamijiguyangwi-tang* administered



**Fig. 2. Ulcers induced in gastric mucosa.**

Normal: Group of normal saline administered

Control: Group of cyclophosphamide administered

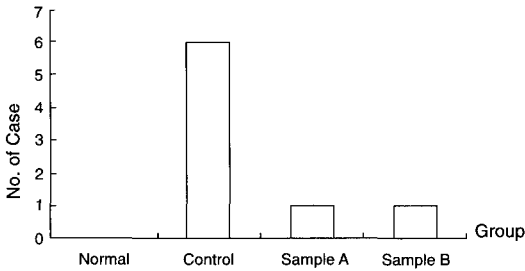
Sample A: Group of both cyclophosphamide and *Jiguyangwi-tang* administered

Sample B: Group of both cyclophosphamide and *Gamijiguyangwi-tang* administered

止嘔養胃湯, 加味止嘔養胃湯을 투여한 군에서는 각각 1예가 관찰되었다(Fig. 3).

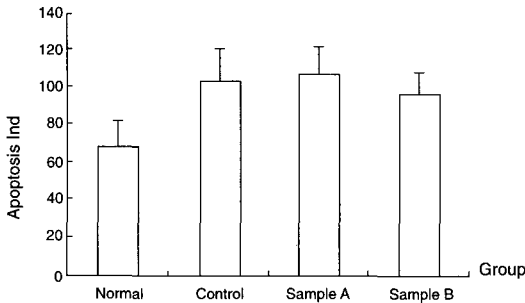
또한 加味止嘔養胃湯을 투여한 군에서는 궤양의 주변으로 재생되는 상피세포가 궤양이 형성된 7예중 3예 (43%)에서 관찰되었다.

4) 위장점막의 Bcl-2, PCNA의 표현에 미치는 영향  
각 군에서 궤양이 형성되지 않은 비교적 정상부위를 선정하여 Bcl-2에 대한 면역조직화학적 검사를 시행한 결과 정상군, Control군, Sample A군, Sample B군에서 모두 Bcl-2가 발현되었으며 그 발현강도도



**Fig. 3.** Number of cases with congestion in gastric mucosa.

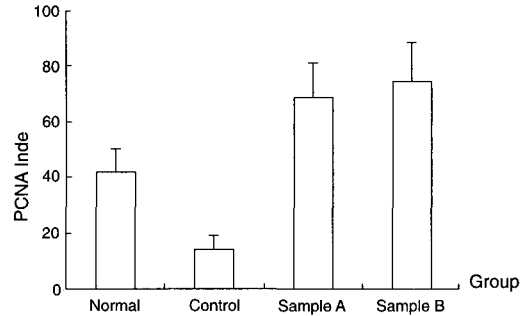
Normal: Group of normal saline administered  
 Control: Group of cyclophosphamide administered  
 Sample A: Group of both cyclophosphamide and *Jiguyangwi-tang* administered  
 Sample B: Group of both cyclophosphamide and *Gamijiguyangwi-tang* administered



**Fig. 5.** Apoptosis index in gastric mucosa.

Normal: Group of normal saline administered  
 Control: Group of cyclophosphamide administered  
 Sample A: Group of both cyclophosphamide and *Jiguyangwi-tang* administered  
 Sample B: Group of both cyclophosphamide and *Gamijiguyangwi-tang* administered

특별한 차이가 관찰되지 않았다. 세포분열을 암시할 수 있는 cyclophosphamide의 PCNA 억제에 대한 면역조직화학검사에서 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯의 길항효과가 관찰되었다( $P < 0.05$ ). 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯간의 차별성은 인정되지 않았다. 정상군의 경우 PCNA가 주로 세포분열이 많은 기저층에서  $index = 42$  ( $SD = 7.8$ )로 관찰되었다. Control군에서는 PCNA에 양성반응을 보인 세포가  $index = 14$  ( $SD = 4.8$ )로서 정상군에 비해 감소되었다. Sample A군에서는 PCNA index가 69 ( $SD = 12.3$ ), 加味止嘔養胃湯을 투여한 Sample B군에서도 PCNA index가 75 ( $SD = 14.1$ )로 증가하였다(Fig. 4).



**Fig. 4.** PCNA Index in gastric mucosa.

Normal: Group of normal saline administered  
 Control: Group of cyclophosphamide administered  
 Sample A: Group of both cyclophosphamide and *Jiguyangwi-tang* administered  
 Sample B: Group of both cyclophosphamide and *Gamijiguyangwi-tang* administered

### 5) 위장점막의 apoptosis에 미치는 영향

cyclophosphamide에 의한 apoptosis 유도에 대하여 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯은 유도억제효과를 보이지 못했다. 정상군에서 apoptosis는 주로 표면 상피 세포에서 관찰되었으며 apoptosis index는 68 ( $SD = 13.5$ )였다. Control군에서는 표면상피뿐만 아니라 상피 진층에서 관찰되었으며 apoptosis index는 103 ( $SD = 17.9$ )였다. Sample A군에서는 apoptosis index가 107 ( $SD = 15.2$ ), Sample B군에서는 98 ( $SD = 11.4$ )이었다(Fig. 5).

## 고 찰

金<sup>7)</sup>은 1990년부터 1997년까지 국내한의학잡지에 발표된 암의 치료와 관계있는 실험논문 53편을 분석하여 항암실험연구의 방향을 주제별로 나누어 항암작용·면역반응·항암작용과 면역반응·항암제와의 병용요법 및 항암제 부작용 억제에 관한 연구로 분류하였다. 그 중 한약의 항암효과를 실험한 경우는 43편이며 항암제와의 병용투여에 관한 연구는 6편, 항암제 부작용 억제에 관한 연구는 4편이었다. 이 결과에서 항암효과와 면역반응에 관한 연구는 많은데 비해 항암제 부작용억제와 항암제와 병용투여에 관

한 연구는 상대적으로 적다는 것을 알 수 있다.

항암제는 암세포에만 선택적으로 작용하는 것이 아니라 분열이나 증식이 빠른 세포에는 모두 작용하므로 정상적으로 세포분열이 왕성한 골수세포, 위장관 상피세포, 모낭 등에도 손상을 입혀 골수기능장애, 위장장애, 탈모증 등의 부작용이 발생<sup>18,19)</sup>한다. 이와 같이 항암제의 작용은 비특이적이기 때문에 정상세포에 대한 손상으로 치료가 수반되는 부작용은 불가피하다.

史<sup>20)</sup> 등은 항암화학요법의 부작용을, 첫째 乏力 倦怠 氣短 心悸 등의 신체쇠약, 둘째 惡心 嘔吐 食慾不振 泄瀉 등의 위장장애 그리고, 셋째 백혈구 및 혈소판 감소증, 탈모 등의 골수 억제작용으로 분류하였다. 신체쇠약은 한의학적으로 기허의 범주에 속한다고 할 수 있고, 위장장애는 비위의 운화작용과 승강작용 실조에 의한 비위기허의 범주에 속한다고 할 수 있다. 따라서 한약과 항암제 병용투여시, 황기, 백출, 당삼, 인삼, 감초 등의 건비익기한 약물을 주로 한 사군자탕, 보중익기탕, 육군자탕을 사용하여 항암제 투여로 인한 氣脫을 방지하고 後天之力의 근간인 비위를 도움은 이러한 변증과 부합된다고 할 수 있다.

그러므로 焦<sup>21)</sup> 등은 降逆止嘔 健脾化胃法, 潘<sup>22)</sup> 등은 扶正配本法, 何<sup>23)</sup>는 扶正補益法, 馮<sup>24)</sup>는 健脾益氣, 化胃降逆, 補益氣血, 助陽肝腎法, 沈<sup>25)</sup>은 益氣養陰法, 張<sup>26)</sup>은 補氣生血滋陰, 兼 清熱解毒法을 부작용감소에 유효한 치료법으로 제시하였고 金<sup>27)</sup>도 항암제에 의한 부작용에는 益氣健脾法을 위주로 하여 滋養肝腎, 健脾養胃, 生津潤燥, 清熱解毒 등의 치료법을 병증에 따라 병행한다고 하였으며, 張<sup>28)</sup> 등은 蓼茸湯이, 李<sup>29)</sup> 등은 補中益氣湯이, 金<sup>30)</sup> 등은 少陰人 補中益氣湯이, 柳<sup>31)</sup> 등은 君理湯加減方이 항암제로 인한 부작용감소에 효과가 있다고 하였다.

이와같이 항암제 부작용 억제에 관한 연구에서는 扶正法이 주로 사용되었는데 이는 서양의학의 암치료법에서 나타나는 정상조직의 파괴로 인한 현훈, 피로, 무력감 등의 신경계통의 증상이나 오심, 구토, 식욕부진 등의 소화기계통의 증상 등의 부작용이 한의학에서의 허증의 양상을 나타내기 때문이라고 생각된다<sup>32)</sup>.

반면에 張<sup>36)</sup>이 清熱解毒의 치료법을 제시한 것은 열독이 종양환자나 항암제로 인한 부작용이 있는 환자에게 있어서 자주 볼 수 있는 증후중 하나로서, 열독이 內蘊하면 음을 손상시키고 장부와 營血을 灼傷하며, 특히 화학요법 이후에 구강인후부 건조, 점막미란, 궤양, 大便乾燥, 舌紅少津, 脈細, 皮膚發赤, 發熱疼痛, 局部紅腫疼痛, 咳嗽少痰, 胸悶心悸, 煩燥不安 등의 변증상 熱毒過盛, 津液受傷이 초래되는 경우가 적지 않기 때문이다. 이처럼 암자체에 기인하건 항암화학요법제의 부작용으로 가중되건, 열독은 그 자체로나 2차적인 과급영향으로나 생체에 매우 불리한 요소임에 틀림없다고 하였다<sup>37)</sup>.

清熱利濕解毒하는 약물의 항암작용에 대한 연구로는 朴<sup>38)</sup>은 巴豆 加大黃의 항종양효과에 대해서, 田<sup>39)</sup>은 竹葉石膏湯加減方의 항암화학요법제의 세포독성에 미치는 효과에 대해서 실험한 결과 유의성이 있다고 보고하였다.

古中醫鑑<sup>42)</sup>, 壽世保元<sup>43)</sup>에 수록된 비화음은 健脾益氣의 대표적인 방제인 사군자탕에 消食下氣, 健脾暖胃, 養胃家하는 神曲, 化胃醒脾, 通行結滯하는 砂仁, 開胃止嘔, 快氣化中하는 藿香, 利氣燥中, 燥濕化痰하는 陳皮 및 養胃滲濕, 調腸胃하는 陳倉米를 가미하여 구성된 처방으로 胃虛嘔吐 久病人嘔吐 등의 嘔吐症狀과 不思飲食, 消化力低下, 脫力症의 치료 및 개선에 사용되었고 林<sup>41)</sup>이 비화음의 소화력 및 구토 억제작용에 대하여 검토한 결과 위·장관의 기능·기질적인 이상병변으로 유발된 구토의 치료제 및 소화제·항궤양치료제로서 가치가 있는 것으로 밝힌 바 있다. 이 비화음에 溫中燥濕, 止嘔止血, 溫中和胃하는 복용간 12g을 가미하여 止嘔養胃湯이라 명명하여 현재 경희의료원 한방병원에서 암치료제인 화학, 방사선요법의 소화기 부작용을 감소시키는 치료제로 사용하고 있다.

止嘔養胃湯에 清熱利濕, 解毒消癰<sup>42)</sup>, 消炎止痛<sup>46)</sup>하는 白花蛇舌草와 清熱解毒, 利尿消腫<sup>43)</sup>, 活血祛瘀, 抗癌<sup>46)</sup>하는 半枝蓮을 가하여 加味止嘔養胃湯이라 하였다. 이 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯의 화학요법시행후 발생되는 위장관점막의 손상에 대한 회복효과

를 관찰하기 위하여 생쥐에 화학적 항암제인 cyclophosphamide를 투여후 손상된 위장관점막의 변화를 분자생물학적 및 조직생리학적 관점에서 관찰함으로써 손상과 회복의 상태를 보다 정확하게 파악하고자 하였다. 위장점막조직의 염증 및 궤양의 상태와 apoptosis, bcl-2, PCNA의 발현정도를 검색한 결과, cyclophosphamide 만을 투여한 생쥐의 위장점막의 조직은 병리조직학적인 검사에서 20예 중 13예에서 중등도 이상의 염증을 나타내었으며 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯을 투여한 경우에는 각각 7예에서 중등도 이상의 염증을 나타내어 항암제만을 투여한 군에 비하여 유의성( $P<0.05$ )있는 감소를 보였다.

궤양형성에 대한 관찰에서는 cyclophosphamide를 투여한 군에서는 6예에서 중등도 이상의 궤양이 있었으며 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯을 투여한 군은 각각 3예로 항암제만을 투여한 군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다. 그리고 cyclophosphamide 만을 투여한 군에서는 7예에서 점막하조직의 혈관에서 울혈이 관찰되었으며 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯을 투여한 군에서는 각각 1예가 관찰되었으며 加味止嘔養胃湯을 투여한 군에서는 궤양이 형성된 7예 중 3예에서 궤양의 주변으로 재생되는 상피세포가 관찰되었다.

이러한 결과는 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯이 cyclophosphamide 의 부작용으로 인한 위장점막의 손상을 개선하는 효과가 있음을 시사하는 것이며, 止嘔養胃湯만을 투여한 경우보다는 加味止嘔養胃湯이 좀더 우수한 효과가 있는 것으로 사려된다.

Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA)은 DNA polymerase  $\delta$ 와 결합하여 polymerization 과정을 촉진시켜 주는 단백질로서 세포분열기에 많이 표현되어 세포의 proliferation index로 이용되고 있다<sup>33</sup>. 본 실험에서 얻은 결과에 의하면 정상군에서는 PCNA가 주로 세포분열이 많은 기저층에서 index=42 (SD=7.8)로 관찰되었고 cyclophosphamide 만을 투여한 대조군에서는 PCNA에 양성반응을 보인 세포가 index=14 (SD=4.8)로서 정상군에 비해 감소되었으나 止嘔養胃湯을 투여한 군에서는 PCNA index가 69

(SD=12.3)로 증가되었고 加味止嘔養胃湯을 투여한 군에서도 PCNA index가 75 (SD=14.1)로 증가되었다. Cyclophosphamide 투여로 인해 세포의 손상이 초래되어 PCNA의 발현이 감소되었으나 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯에서는 정상군의 PCNA index 보다 증가되었으며 이러한 결과는 止嘔養胃湯의 약리작용이 세포의 증식을 촉진시키는 효과가 있다고 판단할 수 있다. 그러나 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯간에는 유의한 차이는 없었다.

최근 항암제의 작용기전으로 apoptosis에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. Apoptosis는 괴사와는 달리 세포가 죽더라도 주변조직에 염증반응을 일으키지 않으며 특정의 세포에게 선택적으로 유도할 수 있기 때문에 괴사를 유도하는 항암제보다 부작용이 적고 생체내의 생리적 현상을 고려할 수 있다는 점에서 이에 대한 연구가 그 의의를 갖는다. Apoptosis의 유도는 매우 다양한 유전자에 의해 조절되고 있다. 가장 대표적인 유전자에는 p53, bcl-2 family, caspase 등이 있는데 이들은 세포내에서 상호작용을 통하여 세포가 apoptosis로 진행될지 아니면 apoptosis를 차단시킬지를 결정하는 유전자이다<sup>34,36</sup>. p53은 주로 방사선 등에 의한 DNA에 손상이 생겼을 때 cell cycle을 정지시키거나 apoptosis의 유발에 관여하며, bcl-2는 apoptosis를 억제하여 세포수명을 연장시켜 세포의 생존기간 중 다른 암유전자의 추가적인 영향을 받을 수 있는 기회를 증가시킴으로써 암을 유발하는 것으로 알려져 있어<sup>37</sup> 여러 가지 apoptotic signal에 대하여 이를 차단시키는 역할을 하며 金<sup>38</sup> 등은 유방암에서 bcl-2는 과발현 될수록 apoptosis가 억제된다고 하였다<sup>39</sup>. 따라서 이들 유전자의 발현 정도는 특정세포의 사멸에 매우 중요한 영향을 미치며, 많은 항암제가 이들 유전자의 발현에 영향을 미치고 있다. 본 연구결과에서는 정상군, 대조군, 止嘔養胃湯 투여군, 加味止嘔養胃湯 투여군 모두에서 bcl-2의 발현에는 큰 변화가 관찰되지 않았다.

또한 항암제인 cyclophosphamide 단독 투여시에는 위장점막의 apoptosis가 103 (SD=17.9)으로 정상 대조군에서의 68 (SD=13.5)보다 증가되었으며 표면상



피뿐만 아니라 상피전층에서 관찰되었으며 이는 다른 항암제의 작용과도 一致하는 것이다<sup>40)</sup>. 止嘔養胃湯을 투여한 군에서는 apoptosis index가 107 (SD=15.2)이었으며 加味止嘔養胃湯을 투여한 군에서는 apoptosis index가 98 (SD=11.4)이었다. 대조군과 止嘔養胃湯, 加味止嘔養胃湯 투여군의 apoptosis index가 정상군과 비교하여 유의성있는 차이를 보였으나 加味止嘔養胃湯 투여군과 cyclophosphamide 단독 투여군 간에는 유의성있는 차이가 나타나지 않았다.

본 실험을 통해 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯은 항암제에 의한 염증과 瘰癧형성을 억제하는 효과가 있으며 이것은 항암제 등의 부작용으로 인한 생리적 손상을 회복하는 효과로 보이며 이는 apoptosis 과정을 억제하기보다는 세포분열주기에 영향을 미친 결과로 생각된다. 이러한 결과로부터 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯 추출액이 현저한 항종양효과는 없다고 할지라도 cyclophosphamide의 항암작용을 항진시키거나 세포증식을 촉진시킴으로서 cyclophosphamide 부작용을 억제시키는 것으로 판단된다.

止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯이 뚜렷한 차이를 보이지 않는 것은 실험군의 지표선정과 실험방법면에서 더욱 많은 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

## 결론

임상에서 항암제 투여로 야기되는 소화기계통의 손상을 회복시키는데 쓰여지고 있는 止嘔養胃湯과 止嘔養胃湯에 半枝蓮, 白花蛇舌草를 가미한 처방을 이용하여 cyclophosphamide를 투여한 후 손상된 생쥐의 위장점막의 보호효과와 회복효과를 규명하기 위하여 형태학적, 면역조직화학적, 분자생물학적 방법을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Cyclophosphamide에 의해 유발된 위장점막의 염증반응에서 cyclophosphamide와 止嘔養胃湯, cyclophosphamide와 加味止嘔養胃湯 투여군은 모두 cyclophosphamide 단독투여군에 비하여 유의성있는 염증억제효과를 보였다.

2. Cyclophosphamide에 의해 유발된 위장점막의

궤양형성에서 cyclo-phosphamide와 止嘔養胃湯, cyclophosphamide와 加味止嘔養胃湯 투여군은 모두 cyclophosphamide 단독투여군에 비하여 궤양의 형성을 감소시키는 경향을 보였으나 유의성은 인정되지 않았다.

3. Cyclophosphamide와 止嘔養胃湯, cyclophosphamide와 加味止嘔養胃湯 투여군은 cyclophosphamide에 의해 감소된 PCNA의 발현을 정상군에 비하여 증가시켰으며 통계적으로 유의성이 인정되었다.

4. Cyclophosphamide와 止嘔養胃湯, cyclophosphamide와 加味止嘔養胃湯 투여군은 cyclophosphamide에 의한 apoptosis 유도에 영향을 미치지 않았으며 또한 bcl-2 발현에도 변화가 없었다.

5. Cyclophosphamide와 止嘔養胃湯, cyclophosphamide와 加味止嘔養胃湯 투여군간의 효능은 통계적으로 유의성이 없었다.

이상의 결론으로 볼 때 止嘔養胃湯과 加味止嘔養胃湯은 cyclophosphamide에 의하여 손상된 위장점막을 회복시키는 효과가 있는 것으로 사려된다.

## 참고문헌

1. 서울대학교의과대학 편. 腫瘍學. 서울:서울대학교출판국. 1989:1-2.
2. 손태중 편. 病理學概論. 서울:高文社. 1979:227-229.
3. 金東熙, 金聖勳. 抗癌劑 副作用에 대한 韓方療法. 大田大學校 韓醫學研究所 韓醫學 編. 1993;12(1):46-49.
4. 郁仁存. 中醫腫瘍學(上冊). 北京:北京科學技術出版社. 1991:1-74.
5. 韓承燮. 蓼芩白朮散의 抗癌劑 副作用 抑制에 관한 實驗的 研究. 慶熙大學校大醫院 博士學位論文. 1995.
6. 安熙應. 四物湯의 抗癌劑 副作用 抑制에 관한 實驗的 研究. 慶熙大學校大醫院 碩士學位論文. 1995.
7. 尹敬태 外. 君理湯加減方이 抗腫瘍 免疫反應과 抗癌劑로 誘發한 作用에 미치는 影響. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1998;4(1):71-87.
8. 李淵月 外. 消積白朮散을 投與한 各種 癌患者 242例에 대한 臨床的 考察. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1996; 2(1):101-112.

9. 張中植 外. 蓼茸湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 cyclophosphamide 에 의한 副作用 減少에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1992;13(1):313-323.
10. 黃奎東. 十全大補湯, 瓦松 및 十全大補湯加瓦松의 抗癌效果와 免疫反應에 關한 研究. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1996;2(1):1-23.
11. 張代釗. 中醫藥對腫瘤放化了的增敏減毒作用. 中國中西醫結合雜誌. 1992;12(3):135-138.
12. 洪元植. 中國醫學史. 서울:東洋醫學研究院. 1984:230.
13. 全國韓醫科大學 本草學教授 共著. 本草學. 서울:永林社. 1991:223-406.
14. 龔廷賢. 壽世保元(上). 臺北:廣業書局有限公社. 1982:183.
15. 慶熙醫療院韓方病院. 新규제재해설집(초보판). 2000:5.
16. 常毅敏. 抗癌本草. 서울:도서출판 바람과 물결. 1992:171-197.
17. 金賢兒 外. 韓藥을 利用한 抗癌 實驗研究의 傾向에 關한 考察. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1998;4(1):211-232.
18. 이문호. 내과학. 서울:박애출판사. 1976:2446-2475.
19. 백남선. 암의 약물치료. 임상약학. 1986;6(1):74-82.
20. 史恒軍. 化療伐生氣放療傷眞陰. 實用中西醫結合雜誌. 1995;18(4):218.
21. 焦中華 外. 中西醫結合治療高白細胞型急性白血病19例臨床分析. 中西醫結合雜誌. 1989;8:502.
22. 潘明繼. 中西醫結合治療269例慢性胃癌的療效分析. 福建中醫學. 1982;1:24.
23. 何 任. 腫瘤扶正祛邪治法測. 浙江中醫學院學報. 1989;1:1-4.
24. 歐陽汝忠. 中醫藥減少抗癌藥毒副作用的臨床觀察. 上海中醫藥雜誌. 1989;4:14.
25. 沈力. 肺癌手術後併發症125例治療體會. 浙江中醫雜誌. 1990;6:272.
26. 張慶楨. 42例急性白血病化療後的病機轉歸分析. 山東中醫雜誌. 1990;6:28-29.
27. 李宇彬 外. 補中益氣湯對cyclophosphamide抗癌活性和毒性的影響. 中國中藥雜誌. 1989;3:50.
28. 金秀鎮 外. 補中益氣湯 및 少陰人 補中益氣湯이 S-180 에 대한 抗腫瘍效果와cyclophosphamide 에 의한 副作用에 미치는 影響. 東醫病理學會誌. 1993;8:119-136.
29. 田承勳 外. 竹葉石膏湯加減方이 抗癌化學療法劑의 細胞毒性和 腫瘍細胞의 라이소솜에 미치는 影響. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1997;3(2):149-168.
30. 朴鍾郁 外. 巴豆加大黃이 抗腫瘍作用과 自然殺害細胞의 活性에 미치는 영향에 對한 實驗的 研究. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1996;2(1):43-56.
31. 林種源. 比和飲의 效能에 關한 實驗的 研究. 慶熙大學校大學院 碩士學位論文. 1990.
32. 上海中醫學院. 中草藥學(新編中醫學教材). 香港:商務印書館. 1983:186-190.
33. Cann IK, Ishino S, Hayashi I, Komori K, Toh H, Morikawa K, Ishino Y. Functional interactions of a homolog of proliferating cell clear antigen with DNA polymerases in Archaea. J Bacteriol, 1999;181:6591-6599.
34. Rosse T, Olivier R, Monney L, Rager M, Conus S, Fellay I, Jansen B, Borner C. Bcl-2 prolongs cell survival after bax-induced release of cytochrome c. Nature. 1998;391:496-499.
35. Lopes UG, Erhardt P, Yao R, Copper GM. p53-dependent induction of apoptosis by proteasome inhibitors. J Biol Chem. 1997;272:12893-12896.
36. Kawahara A, Ohsawa Y, Matsumura H, Uchiyama Y, Nagata S. Caspase-independent cell killing by fas-associated protein with death domain. J Cell Biol. 1998;143:1353-1360.
37. Korsmayer SJ. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. BLOOD. 1992;80:879-886.
38. 김동원. 유방암에서 apoptosis와 bcl-2 및 p53 단백질 발현에 관한 研究. J. Korea Cancer Assoc. 1997;29(3):412-421.
39. Kastan M, Onyekwere O, Sidransky D, Volgenstein B, Craig R. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. Cancer Res. 1991;51:6304.
40. 한운복 외. 암환자. 서울:壽文社. 1990:30-72.