

十六味流氣飲의 抗癌 및 抗癌劑 副作用에 미치는 영향

심상희 · 김종한 · 최정화 · 정현우*²⁾

ABSTRACT

Influences on the Anticancer and Inhibitive Effects of the Secondary Effects by Anticarcinogen of Shibyukmiyouki-Eum

Shim sang-hee · Kim jong-han · Choi jung-hwa · Jeong hyun-woo

Shibyukmiyouki-Eum was a drug that treated carbuncle and cellulitis. So, the purpose of this study was to investigate effect of Shibyukmiyouki-Eum on the anticancer and inhibitive effects of the secondary effects by anticarcinogen

We used Shibyukmiyouki-Eum extract(SYE) with freeze-dried, 8wks-old male mice(balb/c, ICR) and cancer cell lines(L1210, S-180) for this Study. The proliferation of cells was tested using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay), and measurement of WBC, RBC, hemoglobin and platelet was tested by a automated hematology analyzer.

The results of this study were obtained as follow ; SYE was showed significantly cytotoxicity on the L1210 and S-180 cell lines, increased proliferation of thymocytes decreased by anticarcinogen. In combined effects of SYE and vincristine(0.005mg/kg), SYE was significantly inhibited proliferation of L1210 cells and significantly increased proliferation of thymocytes. Also SYE was significantly increased count of WBC, platelet and increased count of RBC, hemoglobin.

These results suggest that SYE has not only anticancer action but inhibitive effects of on the secondary effects by anticarcinogen.

2) * 東新大學校 韓醫科大學 眼耳鼻咽喉皮膚科學 教室

I. 緒 論

현대의학의 발전으로 난치성 질환들에 대한 많은 치료법들이 개발되어 왔지만, 아직도 완치되지 않는 많은 질병들이 존재한다. 특히 암은 최근 50년간 급격히 증가되어 높은 사망률을 나타내고 있는 질환중의 하나이다¹⁻²⁾.

현재 서양의학에서 활용되고 있는 항암요법으로는 수술요법·방사선요법·화학요법 및 면역요법과 유전자요법 등이 있으며, 그 중에서도 항암제에 의한 화학요법과 방사선요법이 가장 많이 응용되고 있다. 그러나 이들은 암세포 뿐만 아니라 정상세포까지 광범위하게 손상시켜 조혈계, 소화계, 면역계 등의 생리적 기능을 방해하므로 사용상에 많은 제한이 있어³⁻⁶⁾, 이러한 문제점을 해결하기 위해 새로운 항암제의 개발이 시도되고 있다⁷⁻⁹⁾.

최근 한약재를 이용하여 암을 치료하려는 연구들이 활발히 이루어지고 있으며¹⁰⁻¹⁴⁾, 또한 한약재를 이용하여 항암제의 부작용을 줄이기 위한 노력도 진행되고 있는데¹⁵⁻¹⁶⁾, 十六味流氣飲¹⁷⁾에 대한 항암작용 및 항암제 부작용 억제에 대한 보고는 아직 접할 수 없었다.

十六味流氣飲은 《醫學入門》¹⁷⁾에 수록된 處方으로 人蔘 黃芪 當歸 白芍藥 川芎 木香 枳殼 등으로 구성되어 있으며 “治無名惡腫 癰疽等疾 此表裏氣血也”라 하였다.

이에 저자는 十六味流氣飲을 이용하여 항암 및 항암제 투여로 나타나는 각종의 부작용에 대한 개선 효과를 살펴보기 위하여 암세포에 미치는 영향, 항암제와 十六味流氣飲의 병용투여시 나타나는 암세포의 증식 억제율, 면역세포의 증식율, 혈액학적 변화를 측정하였던 결과 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

실험에 사용한 十六味流氣飲¹⁷⁾(SYE)은 《醫學入門》에 준하였으며, 동신대학교 부속 광주 한방병원에서 구입한 후 본초학교실에서 정선을 받아 사용하였다. 실험에 사용한 처방의 내용과 분량은 다음과 같다(Table I).

Table I. Prescription of *Shibyukmiyouki*
-Eum(SYE)

구성약물	생 약 명	분량(g)
人 蔘	GINSENG RADIX	2.25
黃 芪	ASTRAGALI RADIX	2.25
當 歸	ANGELICAE SINENSIS RADIX	2.25
川 芎	CNIDIUM OFFINALE RADIX	2.25
桔 梗	PLATICODI RADIX	2.25
防 風	LEDEBOURIELLAE RADIX	2.25
木 香	SAUSSUREAE RADIX	2.25
枳 殼	AURANTIIMATURUS FRUTUS	2.25
肉 桂	CINNAMOMI CORTEX	2.25
白芍藥	PAEONIAE RADIX	2.25
檳 榔	ARECAE SEMEN	2.25
白 芷	ANGELICAE DAHURICAE RADIX	2.25
厚 朴	MAGNOLIAE CORTEX	2.25
紫蘇葉	PERILLAE FOLIUM	2.25
烏 藥	LINDERAE RADIX	2.25
甘 草	GLYCYRRHIZAE RADIX	2.25
總 計		36.00

2) 세포주

세포주는 한국세포주은행에서 구입한 급성백혈병세포주인 L1210 세포주와 복강암 세포주인 sarcoma-180(S-180) 세포주를 사용하였다.

3) 동물

본 실험에 사용한 mouse는 (주)대한실험동물에서 구입한 balb/c계 22±1(g) 수컷과 ICR계 20±1(g) 수컷을 온도 20±3(°C), 습도 55±5(%), light/dark 12(hr)의 사육조건에서 1주일 이상 적응시키면서 고형 pellet 사료(삼양주식회사, Korea)와 물을 자유로이 섭취케하였다.

4) 시약 및 기기

본 실험에 사용한 시약들은 Roswell Park Memorial Institute 1640(RPMI 1640, Sigma R4130), Fetal Bovine Serum(FBS, Gibco LOT. NO. 1006842), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT, Sigma M2128), Sodium Dodecyl Sulfate(SDS, Sigma L5750), Vincristine(Sigma, V8879), Concanavalin A(Con-A, Sigma C5275), Lipopolysaccharide(LPS, Sigma L2637) 등의 특급 시약을 사용하였으며, 기기로는 Microplate Reader(ELX800UV, U.S.A.)와 Automated hematology analyzer(Sysmex K-800, Japan)을 하였다.

2. 方法

1) 檢液 調製

SYE의 2첩분량(72.00g)을 1,500ml 증류수로 상온에서 100°C 2시간동안 전탕한 다음 이 추출액을 1,500rpm으로 30분간 원심분리기(VS 6000CFN,

vision, Korea)로 원심분리하였다. 그 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)를 이용하여 100.0ml로 농축한 다음 freeze dryer로 동결건조시킨 결과 18.9(g)을 얻었다.

2) 세포 배양조건

L1210 세포주, S-180 세포주, 마우스의 흉선세포 및 비장세포는 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 배지에는 10% FBS와 penicillin-streptomycin(100units/ml, 100µg/µl)을 첨가하여 사용하였다. 암세포주의 계대 배양은 1 : 10~1 : 20 비율로 3일 간격으로 하였고, 세포 증식에 미치는 약제의 영향을 관찰하기 위한 실험은 계대배양 2일째의 세포를 사용하였다.

3) MTT법에 의한 암세포주에 대한 세포독성 측정

본 실험에 사용한 MTT법은 Mosmann¹⁸⁾이 개발하고 Kotnik¹⁹⁾ 등이 변형시킨 방법으로, 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100µl(2×10⁵cells/ml)를 접종하여 37°C의 CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 농도별(1, 10, 100µg/ml)로 희석된 SYE 100µl를 넣고 37°C의 CO₂ 배양기에서 48시간 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5mg/ml 농도로 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(DPBS)-A에 희석된 MTT용액 20µl를 각 well에 첨가하고 배양 종료시까지 은박지로 빛을 차단하였다. 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 Control group의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

4) 암세포주 대한 vincristine의 IC₅₀ 측정

암세포주의 증식을 50% 억제할 수 있는 vincristine의 농도(IC₅₀)를 구하기 위해 각 well에 L1210 세포주를 2×10⁵cells/ml로 접종하고 24시간 동안 배양한 후 vincristine을 다양한 농도로 암세포주에 처리하여 3)과 동일한 방법으로 계산된 IC₅₀은 5×10⁻⁶g/ml였다.

5) 암세포주 증식억제에 미치는 SYE와 항암제 병용투여 효과 측정

각각의 암세포주에 미치는 SYE와 항암제 병용처리 효과를 알아보기 위하여 각 well에 암세포주를 2×10⁵ cells/ml 농도로 접종하고 24시간동안 배양한 후 다양한 농도의 SYE와 vincristine의 IC₅₀(5×10⁻⁶g/ml)를 병용처리하여 3)과 동일한 방법으로 측정하였다.

6) 마우스의 흉선세포 및 비장세포의 분리

마우스의 흉선 및 비장세포 분리는 Wysocki²⁰⁾ 및 Mizel 등²¹⁾의 방법을 이용하였다. Balb/c 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후 적출한 흉선 및 비장을 DPBS-A를 넣은 120mm petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음 10ml 주사기로 조심스럽게 세포부유액을 취하여 1,500 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 흉선 및 비장세포를 분리하였다.

7) 면역세포 증식율에 미치는 SYE와 항암제 병용투여 효과 측정

6)과 같이 분리된 흉선 및 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10⁶cells/ml 농도로 접종한 후 흉선세포에는 Con-A 5μg/ml와, 비장세포에는 LPS 5μg/ml와 함께 다양하게 희석된 SYE의 농도(1, 10, 100μg/ml)와 vincristine의 IC₅₀ 농도(5×10⁻⁶g/ml)를 병용처리

하여 3)과 동일한 방법으로 측정하였다.

8) Sample group 분류

(1) 항암효과 및 항암제 투여에 따른 면역기능 회복 Sample group

Balb/c 마우스 7마리를 1군으로하여 Control group과 Sample group으로 분류하였다. 이 후 L1210 세포주를 2)와 같이 계대배양하여 2×10⁶cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 1.0ml를 주사함으로써 암세포주를 이식하였고, 이식 후 1일째 항암제 vincristine 0.005mg/kg을 복강 주사하였다. Control group은 1일 1회씩 7일동안 증류수를 0.2ml씩을 투여하였고, Sample A group은 SYE 300mg/kg을, Sample B group은 SYE 500 mg/kg을 각각 7일동안 1일 1회 0.2ml씩 경구투여하였다.

(2) 항암제 투여로 변화된 혈액상의 회복 Sample group

ICR계 마우스 8마리를 1군으로 하여 Control group과 Sample group으로 분류하였다. 이 후 S-180 세포주를 2)와 같이 계대배양하여 2×10⁶cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 0.2ml를 주사함으로써 암종을 유발시켰고, 이식 후 1일째와 3일째 항암제 vincristine 0.005mg/kg씩 복강 주사하였다. Control group은 격일간격으로 증류수 0.2ml을 15일동안 경구투여하였고, Sample A group은 SYE 300mg/kg을, Sample B group은 SYE 500mg/kg을 격일간격으로 15일동안 경구투여하였다.

9) L1210 세포주가 이식된 마우스의 암세포 증식율에 미치는 SYE와 항암제 병용투여 효과 측정

8)-(1)과 같이 실시한 후 경추탈골시켜 도살하였다. 도살 후 복강에 cold PBS 10.0ml를 주입하여

잘 혼합시킨 다음 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4°C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리하고 RPMI 1640 배지로 2회 세척한 후 직경 120mm petri dish에 분주하여 CO₂ 배양기에서 배양시키고 4시간 후에 부착한 세포를 제거하고 부착하지 않은 세포를 모아 4°C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리하였다. 침전된 세포분획을 모아 1.0×10⁶ cells/ml로 조제하여 96 well plate의 각 well에 세포부유액 100μl를 분주하고 배지 100μl를 채워 37°C의 CO₂ 배양기에서 48시간 배양하였다. 이식된 암세포주의 증식율은 3)과 동일한 방법으로 측정하였다.

10) 항암제 투여로 저하된 면역세포 증식율에 미치는 SYE의 효과 측정

8)-(1)과 같이 실시한 후 6)과 같이 흡선 및 비장세포를 분리하였다. 이 후 분리된 흡선 및 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10⁶cells/ml 농도로 접종하여 흡선세포에는 Con-A 5μg/ml, 비장세포는 LPS 5μg/ml를 첨가한 후 37°C의 CO₂ 배양기에서 48시간 배양한 다음 3)과 동일한 방법으로 흡선 및 비장세포의 증식율을 측정하였다.

11) 항암제 투여로 변화된 혈액상의 회복에 미치는 SYE의 효과 측정

8)-(2)와 같이 실시한 후 단두대를 이용하여 혈액을 채취하였다. 혈구수(WBC, RBC), hemoglobin(HGB) 및 platelet(PLT)는 Fonio법²²⁾에 준하여 Automated hematology analyzer(Sysmex K-800, Japan)로 측정하였다.

3. 統計處理

통계처리는 Student's paired and/or unpaired t-test에 의하였으며, p-value가 0.05이하인 경우에만 유의성을 인정하였다.

III. 實驗成績

1. SYE의 암세포주에 대한 세포독성 효과

L1210 세포주와 S-180 세포주에 미치는 SYE의 세포독성 효과를 알아보기 위하여 SYE를 각각 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml를 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 1).

SYE를 투여하지 않은 Control group의 L1210 세포주 증식율을 100.00±2.26(%)라 하였을 때, SYE 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml을 투여하였을 때는 각각 82.41±2.34(%), 80.94±1.69(%), 81.01±0.98(%)로 Control group보다 유의성(P<0.001)있게 감소되었다. SYE를 투여하지 않은 Control group의 S-180 세포주 증식율을 100.00±1.23(%)라 하였을 때, SYE 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml을 투여하였을 때는 각각 83.80±0.82(%), 84.37±1.53(%), 86.28±1.56(%)로 Control group보다 유의성(P<0.001)있게 감소되었다.

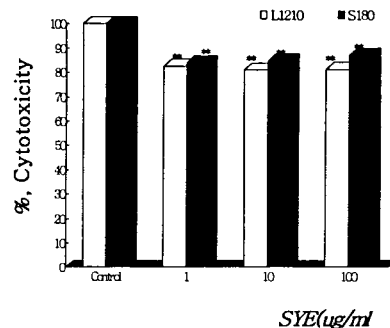


Fig. 1. Cytotoxicity of SYE on the L1210 cell lines and S-180 cell lines.

L1210 ; lymphocytic leukemia cell lines, S-180 ; sarcoma cell lines, SYE ; Shibyukmiyouki-Eum extract, Control ; SYE non-treated group, 1 ; SYE 1.0 μg/ml treated group, 10 ; SYE 10.0 μg/ml treated group, 100 ; SYE 100.0 μg/ml treated group.

* : P-value vs Control group(*** P<0.001).

2. SYE와 항암제 병용투여시 암세포주 증식 억제에 미치는 효과

암세포주의 증식억제에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 SYE 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제 vincristine의 IC₅₀인 5 $\times 10^{-6}\text{g/ml}$ 를 병용 투여하였을 때 암세포주의 증식억제 효과는 다음과 같았다 (Fig. 2).

SYE와 항암제를 투여하지 않은 Normal group의 L1210 세포주 증식율을 100.00 \pm 2.01(%)라 하였을 때, 항암제만을 투여한 Control group은 45.78 \pm 0.53(%)로 감소되었고, SYE 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제를 병용투여하였을 때 Sample group은 각각 45.04 \pm 0.47(%), 44.16 \pm 0.35(%), 44.26 \pm 0.54(%)로 나타났다. 그 중 SYE 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제를 병용투여하였을 때는 Control group에 비해 유의성(P<0.05)있게 감소되었다.

SYE와 항암제를 투여하지 않은 Normal group의 S-180 세포주 증식율을 100.00 \pm 2.24(%)라 하였을 때, 항암제만을 투여한 Control group은 85.96 \pm 0.51(%)로 감소되었고, SYE 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제를 병용투여하였을 때는 각각 82.47 \pm 1.24(%), 79.36 \pm 1.28(%), 83.88 \pm 1.14(%)로 나타났다. 그 중 SYE 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제를 병용투여하였을 때는 Control group에 비해 각각 유의성(P<0.05, P<0.001)있게 감소되었다.

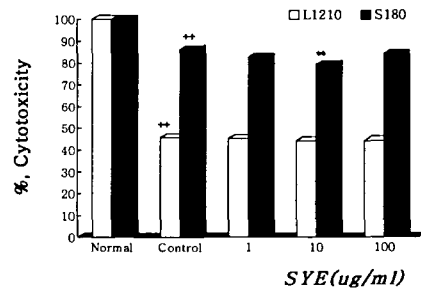


Fig. 2. The combined effects of SYE and vincristine on the cytotoxicity of L1210 cell lines and S-180 cell lines.

Normal: SYE and vincristine non-treated group, Control ; vincristine 5 $\times 10^{-6}\text{g/ml}$ treated group, 1 ; SYE 1.0 $\mu\text{g/ml}$ and vincristine 5 $\times 10^{-6}\text{g/ml}$ treated group, 10 ; SYE 10.0 $\mu\text{g/ml}$ and vincristine 5 $\times 10^{-6}\text{g/ml}$ treated group, 100 ; SYE 100.0 $\mu\text{g/ml}$ and vincristine 5 $\times 10^{-6}\text{g/ml}$ treated group.

Other legends are the same as Fig. 1.

+ : P-value vs Normal group(+++ : P<0.001).

* : P-value vs Control group(* : P<0.05, *** : P<0.001).

3. SYE와 항암제 병용투여시 면역세포 증식율에 미치는 효과

항암제 투여로 감소된 면역세포의 증식율에 미치는 SYE의 효과를 알아보기 위하여 SYE 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제 vincristine의 IC₅₀인 5 $\times 10^{-6}\text{g/ml}$ 를 병용 투여하였을 때 면역세포의 증식율은 다음과 같았다(Fig. 3).

항암제를 투여한 Control group의 흉선세포 증식율을 100.00 \pm 0.90(%)라 하였을 때 SYE 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제를 병용투여하였을 때는 각각 120.76 \pm 2.77(%), 119.77 \pm 0.99(%)로 Control group보다 증가되었고, SYE 100 $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제를 병용투여하였을 때는 104.44 \pm 0.63(%)로 Control group보다 유의성(P<0.01)있게 증가되었다.

항암제를 투여한 Control group의 비장세포 증식율을 100.00 \pm 1.05(%)라 하였을 때, SYE 1 $\mu\text{g/ml}$,

10 μ g/ml, 100 μ g/ml와 항암제를 병용투여하였을 때는 각각 102.73 \pm 0.53(%), 100.41 \pm 0.67(%), 95.69 \pm 1.09(%로 나타났다. 그 중 SYE 1 μ g/ml, 100 μ g/ml와 항암제를 병용투여하였을 때는 각각 Control group에 비해 유의성(P<0.05, P<0.01)있게 나타났다.

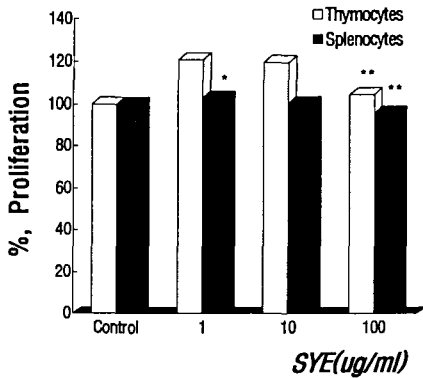


Fig. 3. The combined effects of SYE and vincristine on the proliferation of thymocytes and splenocytes.

Other legends are the same as Fig. 2.

* : P-value vs Control group(* : P<0.05, ** : P<0.01).

4. SYE와 항암제 병용투여시 이식된 암세포의 증식억제에 미치는 효과

암세포주(L1210 세포주)를 이식한 후 항암제를 투여한 다음 암세포의 증식억제에 미치는 SYE의 효과를 알아보기 위하여 SYE 300mg/kg, 500mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 4).

Control group의 암세포주 증식율을 100.00 \pm 0.81(%라 하였을 때 Sample A group의 증식율은 98.8 \pm 0.68(%로, Sample B group의 증식율은 97.0 \pm 0.37(%로 Control group에 비해 감소 현상을 나타내었고, 특히 Sample B group은 Control group에 비하여 유의성(P<0.01)있게 감소되었다.

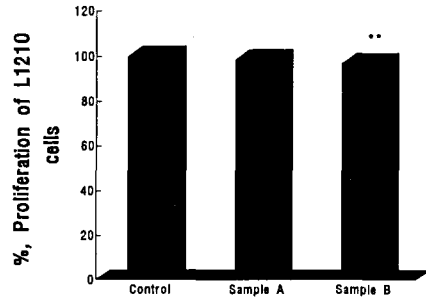


Fig. 4. The combined effects of SYE and vincristine on the proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice.

L1210 cells(2×10^6 cells/mouse) transplanted to mice of all experimental group, and vincristine 0.005mg/kg injected(i.p.) a first day.

SYE ; Shibuykmiyouki-Eum extract, Control ; DDW 0.2ml administered group for 7 days(1time/1day), Sample A ; SYE 300mg/kg 0.2ml administered group for 7 days(1time/1day), Sample B ; SYE 500mg/kg 0.2ml administered group for 7 days(1time/1day).

* : P-value vs Control group(** : P<0.01).

5. SYE의 암세포주 이식 마우스에 대한 항암제 투여로 저하된 면역세포 증식율에 미치는 개선효과

암세포주(L1210 세포주)를 이식한 후 항암제 투여로 저하된 생체내 면역세포의 증식율에 미치는 SYE의 효과를 알아보기 위하여 SYE 300mg/kg, 500mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 5).

Control group의 흉선세포 증식율을 100.0 \pm 2.68(%라 하였을 때 Sample A group의 증식율은 111.4 \pm 1.02(%로 Control group보다 유의성(P<0.01)있게 증가되었고, Sample B group의 증식율도 130.5 \pm 1.69(%로 Control group에 비해 유의성(P<0.001)있게 증가되었다.

Control group의 비장세포 증식율을 100.0 \pm 1.73(%라 하였을 때 Sample A group의 증

식율은 $100.0 \pm 1.86(\%)$ 이었고, Sample B group의 증식율은 $99.7 \pm 1.58(\%)$ 로 Control group과 유사하게 나타났다

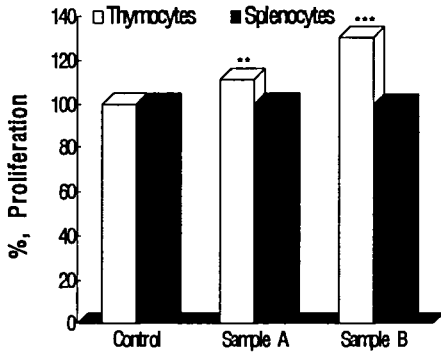


Fig. 5. The combined effects of SYE and vincristine on the proliferation of thymocytes and splenocytes in L1210 cells transplanted mice.

Other legends are the same as Fig. 4.

* : P-value vs Control group(** : $P < 0.01$, ** : $P < 0.001$).

6. SYE의 암세포주 이식 마우스에 대한 항암제 투여로 저하된 혈구수에 미치는 개선효과

암세포주(S-180 세포주)를 이식한 후 항암제 투여로 변화된 생체내 백혈구수 및 적혈구수의 변화에 미치는 SYE의 효과를 알아보기 위하여 SYE 300mg/kg, 500mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 6).

Control group의 WBC는 $15.39 \pm 1.69(10^3/\mu\text{l})$ 인데 반하여 Sample A group의 WBC는 $16.46 \pm 0.87(10^3/\mu\text{l})$ 로 증가되었고, Sample B group의 WBC는 $19.35 \pm 0.72(10^3/\mu\text{l})$ 로 Control group에 비해 유의성($P < 0.05$)있게 증가되었다.

Control group의 RBC는 $6.85 \pm 0.27(10^6/\mu\text{l})$ 인데 반하여 Sample A group의 RBC는 $7.15 \pm 0.51(10^6/\mu\text{l})$ 로, Sample B group의 RBC는 $7.16 \pm 0.14(10^6/\mu\text{l})$ 로 Control group에 비해 증가되었다.

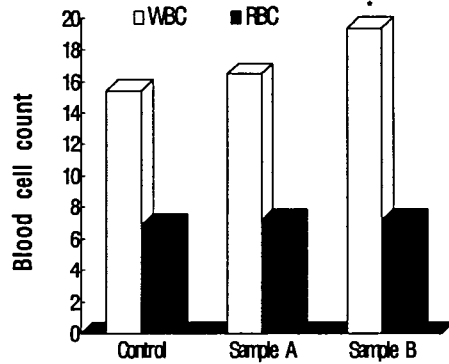


Fig. 6. Effects of SYE on the recovery of decreasing-WBC and RBC by anticarcinogen.

S-180 cells(2×10^6 cells/mouse) transplanted to mice of all experimental group, and vincristine 0.005mg/kg injected(i.p.) a first and third day. SYE ; Shibyukmiyouki-Eum extract, Control ; DDW 0.2ml administered for 15 days(1time/2days), Sample A ; SYE 300mg/kg 0.2ml administered for 15 days(1time/2days), Sample B ; SYE 500mg/kg 0.2ml administered for 15 days(1time/2days).

WBC : ($\times 10^3/\mu\text{l}$), RBC : ($\times 10^6/\mu\text{l}$).

* : P-value vs Control group(* : $P < 0.05$).

7. SYE가 암세포주 이식 마우스에 대한 항암제 투여로 저하된 HGB 및 PLT수에 미치는 개선효과

암세포주(S-180 세포주)를 이식한 후 항암제 투여로 변화된 생체내 HGB 및 PLT 수에 미치는 SYE의 효과를 알아보기 위하여 SYE 300mg/kg, 500mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 7).

Control group의 HGB은 $12.55 \pm 0.48(\text{g/dl})$ 인데 반하여 Sample A group의 HGB은 $13.13 \pm 1.10(\text{g/dl})$ 로, Sample B group의 HGB은 $12.76 \pm 0.33(\text{g/dl})$ 로 Control group에 비해 증가되었다.

Control group의 PLT는 $7.22 \pm 0.23(10^5/\mu\text{l})$ 인데 반하여 Sample A group의 PLT는 $7.30 \pm 1.06(10^5/\mu\text{l})$ 로 Control group에 비해 증가되었고, Sample

B group의 PLT도 $9.31 \pm 0.64 (10^5/\mu\text{l})$ 로 Control group에 비해 유의성($P < 0.01$)있게 증가되었다.

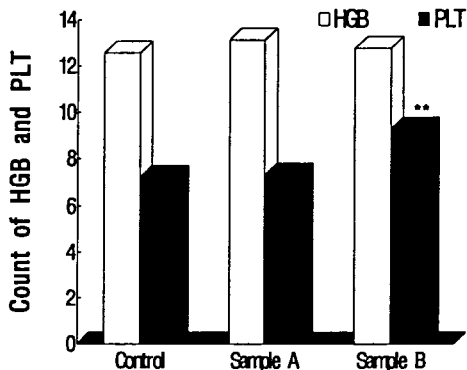


Fig. 7. Effects of SYE on the recovery of decreasing-HGB and PLT by anticarcinogen.

HGB ; Hemoglobin(g/dl), PLT : Platelet($\times 10^5/\mu\text{l}$).

Other legends are the same as Fig. 6.

* : P-value vs Control group(** : $P < 0.01$).

IV. 考 察

十六味流氣飲¹⁷⁾은 明代의 李梴의 《醫學入門》에 수록된 處方으로 人蔘 黃芪 當歸 白芍藥 川芎 木香 枳殼 厚朴 桔梗 防風 紫蘇葉 白芷 肉桂 檳榔 甘草로 구성되어 있으며 “治無名惡腫 癰疽等疾 此表裏氣血也”라 하였다.

各 構成藥物의 效能²³⁾으로 人蔘은 大補元氣, 固脫生津, 安神, 黃芪는 益胃固表, 利水消腫, 補中益氣, 當歸는 補血和血, 調經止痛, 潤燥滑腸, 白芍藥은 養血柔肝, 緩中止痛, 斂陰收汗, 川芎은 活血行氣, 祛風止痛, 木香은 行氣止痛, 溫中和胃, 枳殼은 破氣, 行痰 消積, 厚朴은 行氣燥濕, 降逆平喘, 桔梗은 宣肺利咽, 去痰排膿, 防風은 解表祛風, 勝濕, 止痛, 紫蘇葉은 解表散寒, 行氣寬中, 白芷는 散風除濕, 通竅止痛, 消腫排膿, 肉桂는 補元陽, 暖脾胃,

除積冷, 通血脈, 檳榔은 殺蟲, 破積, 下氣, 行水, 甘草는 和中緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥하므로 十六味流氣飲은 益氣補血 行氣止痛의 效能이 있어 諸般癰疽에 사용될 수 있다고 생각된다.

癰疽란 인체 각 부위에 局部的으로는 發熱·發赤·堅硬·腫痛·患部の 陷沒·突起 및 化膿 등의 양상을 나타내는 증상이다²⁴⁾. 그 원인에 대해 《內經》²⁵⁾에서는 膏粱厚味·營氣不從·五臟不和·九竅不通 등에 의해, 劉²⁶⁾는 火熱·風濕之所乘에 의해, 李²⁷⁾는 濕熱이라 하였고, 朱²⁸⁾는 六氣·七情·熱勝血·陰滯·陽滯에 의해 발생된다 하였고, 병리적인 측면에서는 염증성 질환이나 종양성 종괴, 즉 암과 유관하다 인식하였다²⁹⁻³¹⁾.

韓醫學에서 癌은 外感六淫, 七情內傷, 飲食不節, 過勞 및 邪毒 등에 의하여 個體의 臟腑機能과 氣血失調로 氣滯血瘀, 痰結濕聚, 熱毒蘊結, 正氣虛弱, 經絡瘀阻 등의 병리변화가 나타나고 이런 변화가 單獨 혹은 相互錯雜되면서 氣機不通하고 日久하여 발생하는 慢性的인 질환으로 이해되고 있으며³²⁾, 治法은 益氣補血, 養陰生津, 補陽益陰, 益氣健脾 등의 扶正法과 活血祛瘀, 破積散結, 清熱解毒, 化痰軟堅, 理氣化結, 祛濕清熱 등의 祛邪法 그리고 이 두가지 방법을 동시에 사용하는 扶正祛邪法으로 요약되는데^{31),33-37)}, 十六味流氣飲의 治法은 扶正祛邪法에 해당된다.

암은 지금까지 알려져 있는 사망원인중 비교적 높은 비율을 차지하고 있는 질환¹⁾으로 이를 정복하려는 노력 또한 국내외적으로 다양하게 진행되고 있는데, 서양의학에서는 수술요법·방사선요법·화학요법 및 면역요법과 유전자요법 등을 사용하고 있으나, 그 중 화학요법은 화학 약제의 독성 및 부작용으로 암세포 뿐만 아니라 정상세포까지 광범위 하게 손상시켜 조혈계, 소화계, 면역계 등의 생리적 기능을 방해하므로 사용상에 많은 제한이 있다³⁻⁶⁾.

항암제란 암세포의 각종 대사경로에 개입하여

주로 DNA와 직접 작용하여 DNA의 複製 轉寫나 翻譯 과정을 遮斷하거나 핵산전구체의 합성을 방해하고 세포분열을 저해함으로써 항암활성 즉 암세포에 대한 세포독성을 나타내는 약제를 총칭하는데, 항암제의 종류에는 그 작용기전과 화학구조에 의거하여 알킬화제(alkylating agents), 대사길항제(antimetabolites), 항암성항생제(antibiotics), 식물성 알칼로이드(plant alkaloids), 호르몬제(hormonal agents), 기타제제(miscellaneous agents) 등 6종으로 분류된다³⁸⁻⁴⁰. 공통적으로 항암제들은 정상세포의 손상이 필연적으로 동반되는데, 인체에서 세포분열이 왕성한 조직 즉 골수 구강 위장관의 점막 및 모발세포에서 항암제의 세포독성이 가장 많이 나타나게 되므로 항암제를 사용할 때 가장 흔히 발생하는 급성 부작용으로는 오심 구토 탈모증 구내염 설사 등의 위장관 독성과 골수독성이 있으며 그 외 각 약물의 특성에 따라 간중독, 신장애, 심근증, 피부변화, 폐섬유증 등이 수반될 수 있다³⁸⁻⁴¹. 이 중에서 가장 중요한 부작용인 골수독성이란 정상적으로 혈구(blood cell)를 생성하는 골수의 기능이 일시적으로 항암제에 의해 억제됨을 뜻하는데 그 결과 백혈구가 감소하면 감염증에 걸릴 위험성이 증가하고 혈소판이 심하게 감소하면 출혈증세가 나타나 항암제 사용상에 제한이 따르고 치료효과에 영향을 준다. 특히 vincristine은 식물성 알칼로이드제제로서 급성백혈병·림프종·일부고형종양 등에 사용되고는 있지만 말초나 자율신경의 독성과 함께 골수억제·탈모 등의 부작용을 나타낸다⁴⁰⁻⁴².

최근 한약재를 이용하여 암을 치료하려는 노력들이 활발히 이루어지고 있는데, 그 중 蓍 朮 散¹⁰은 消積保中丸이 종양세포의 성장, 발생을, 종양 크기의 억제 및 생명연장효과 그리고 NK세포의 활성도를 증가시켰음을, 鄭¹¹은 內托羌活湯이 MCA와 3LL세포 및 S-180세포로 유도된 피하암종 세포에 대해 특이적 세포독성 및 면역조절작용이 있음을

보고한 것 등¹²⁻¹³이 있다. 또한 한약재를 이용하여 항암제의 부작용을 줄이기 위한 노력도 진행되고 있는데, 金 등¹⁴은 補中益氣湯 및 少陰人 補中益氣湯이 S-180에 대한 항종양효과와 cyclophosphamide에 의한 부작용에 미치는 영향을, 梁 등¹⁵은 內托千金散 및 그 加味方이 암세포가 이식된 마우스에 항암작용이 있고, vincristine으로 저하된 면역세포의 기능을 활성화시켰음을 보고한 것 등¹⁶이 있다. 그러나 十六味流氣飲에 대한 연구는 갑상선 기능항진에 관한 보고⁴³⁻⁴⁴외에 항암작용 및 항암제 부작용에 대한 보고는 접할 수 없었다.

이에 저자는 十六味流氣飲을 이용하여 항암 및 항암제 투여로 나타나는 각종의 부작용에 대한 개선 효과를 살펴보기 위하여 암세포에 미치는 영향, 항암제와 十六味流氣飲의 병용투여시 나타나는 암세포의 증식 억제율, 면역세포의 증식율, 혈액학적 변화를 측정하였다.

그 결과 L1210 세포주와 S-180 세포주에 十六味流氣飲을 투여하였던 바 L1210 세포주의 증식율을 Control group에 비하여 20(%) 정도, S-180 세포주의 증식율을 17(%) 정도 유의성(p<0.001) 있게 억제시켰으며, vincristine의 IC₅₀인 5×10⁻⁶g/ml를 병용 투여하였을 때는 암세포주의 증식율을 항암제 투여로 억제된 것과 유사하였지만 유의성있게 감소되었다. 즉 十六味流氣飲은 암세포주에 세포독성을 나타내 항암작용이 있는 것으로 보이지만 항암제만큼은 강한 세포독성을 나타내지 않았다. 또한 항암제 투여로 감소된 면역세포의 증식율을 알아보기 위하여 vincristine과 병용 투여한 결과 十六味流氣飲은 비장세포의 증식율에 영향을 미치지 않았지만 흉선세포의 증식율에는 Control group보다 20(%)이상 증가시켜 항암제 투여로 저하된 면역기능을 十六味流氣飲이 회복시킬 수 있음을 나타내주었다.

암세포주를 이식한 마우스의 항암효과에서는 항

암제 vincristine을 투여한 group을 Control group으로 하였을 때 十六味流氣飲을 투여한 결과 암세포의 억제율은 *in vitro*상에서와 같이 Control group과 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 암세포주를 이식한 후 항암제를 투여하여 저하된 면역세포의 회복율을 관찰한 결과 비장세포의 증식율은 뚜렷한 변화가 없었고, 흉선세포의 증식율은 저농도에서 약 11(%)정도, 고농도에서는 30(%)이상 Control group에 비해 유의성있게 증가시키는 것으로 나타나 十六味流氣飲이 *in vitro*상의 결과와 같이 흉선세포에 선택적으로 작용해 저하된 흉선세포의 증식율을 회복시켜 줄 뿐만아니라 흉선세포의 증식을 촉진시켜 항암작용을 나타낸 것이라 생각된다.

또한 항암제를 투여하면 골수독성으로 인해 골수 기능이 억제되어 혈액상에 변화가 나타나게 되므로 암세포주가 이식된 마우스에 항암제를 투여하여 변화되는 혈액상을 관찰하였다. 그 결과 WBC와 RBC의 경우 항암제를 투여한 Control group에 비하여 十六味流氣飲을 투여한 Sample group 모두에서 WBC와 RBC가 증가되었고, 그 중에서 Sample B group은 WBC를 유의성($P<0.05$)있게 증가시켰다. 그리고 HGB과 PLT의 경우에서도 Control group에 비해 Sample group 모두에서 증가되었으며, 특히 Sample B group에서 PLT를 Control group보다 유의성($P<0.01$)있게 증가시켰다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때 十六味流氣飲은 암세포주에 대해 항암작용이 있을 뿐만아니라 면역세포 증식 억제, 골수 독성 등의 항암제 부작용들을 개선시키는 효과를 나타내었으므로 임상상扶正祛邪法을 적용시킬 수 있는 암환자나 항암제 부작용을 개선시킬 목적으로 활용될 수 있을 것으로 판단되며, 향후 정확한 기전에 대한 연구와 十六味流氣飲의 임상적 활용에 대한 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

V. 結 論

十六味流氣飲의 항암 및 항암제 부작용 개선효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 十六味流氣飲은 암세포주에 대해 유의성있게 세포독성을 나타냈다.
2. 十六味流氣飲은 항암제 병용투여시 암세포주에 대해 유의성있게 세포독성을 나타냈다.
3. 十六味流氣飲은 항암제 투여로 저하된 면역세포의 증식율을 회복시켰다.
4. 十六味流氣飲은 암세포주를 이식한 후 항암제를 투여한 마우스에서 Control group에 비해 L1210 세포의 증식율을 유의성있게 감소시켰다.
5. 十六味流氣飲은 암세포주를 이식한 후 항암제를 투여한 마우스에서 저하된 흉선세포의 증식율을 선택적으로 유의성있게 증가시켰다.
6. 十六味流氣飲은 항암제 투여에 의해 저하된 WBC, RBC, HGB 및 PLT를 모두 Control group보다 증가시켰고, 그 중에서도 WBC와 PLT를 Control group에 비해 유의성있게 증가시켰다.

參考文獻

1. 서울대학교의과대학 편 : 종양학, 서울, 서울대학교출판부, pp.1~3, 1992.
2. 이문호 등 : 최근 한국의 질병 변천, 대한의학협회지 32(3) : 283~290, 1989.
3. 이창혜외 3인 : 시험관 및 생체내 암세포

(S-180YS)의 adriamycin에 대한 내성세포의 염색체 분포특성, 연세대학교의과대학 논문집 16 : 180, 1983.

4. Kim, S.H. : Clinical comparison with drug sensitivities by the human tumor clonogenic assay, J. Kor, Cancer Assoc. 21 : 11, 1989.

5. 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.

6. Willson, J.K.V., Bittner, G.N., Oberley, T.D., Meisner, L.F., & Weese, J.L. : Cell culture human colon adenomas and carcinomas. J. Cancer Res. 47(10) : 2704~2713, 1987.

7. Ito, N and Shimura, K. : Studies on antitumor activity of traditional Chinese medicines, Japan J. Cancer Chemother. 12 : 2149, 1985.

8. Komiyama, K and Hirokawa, Y. : Potentiation of chemotherapeutic activity by a Chinese herb medicine Juzen-Tai-Ho-Tho, Japan J. Cancer Chemother. 15 : 1715, 1988.

9. Masaki Aburada : Protective effects of Juzen-Tai-Ho-Tho against adverse reactions associated with mitomycin C, Recent Advances in the pharmacology of Kampo medicine, p.275, 1988.

10. 魯勳政의 3인 : 消積保中丸의 抗腫瘍效果에 대한 實驗的 研究, 大韓韓方腫瘍學會誌 2(1) : 43~56, 1996.

11. 鄭鉉雨 : 內托羌活湯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), 1996.

12. 趙鈴林의 1인 : 桃紅四物湯이 L1210세포가 이식된 마우스의 면역계에 미치는 효과, 東醫病理學會誌 13(1) : 132~140, 1999.

13. 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, 東醫病理學會誌 9(1) : 21~45, 1994.

14. 金秀鎭의 2인 : 補中益氣湯 및 少陰人 補中益氣湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 Cyclophosphamide에 의한 副作用에 미치는 影響, 東醫病理學會誌 8(1) : 119~136, 1993.

15. 양기호, 정현우, 최정화 : 내탁천금산 및 그 가미방이 마우스의 면역세포 및 암세포에 미치는 효과, 대한외관과학회지 13(1) : 44~59, 2000.

16. 柳東和 : 사물탕이 L1210세포 및 항암제를 투여한 마우스의 면역세포에 미치는 영향, 우석대학교 대학원(碩士), 1998.

17. 李 梃 : 新校編註 醫學入門, 서울, 大星文化社, pp.700~701, 1994.

18. Mosmann, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxic assays. J. Immunol. Methods 65(1-2) : 55~63, 1983.

19. Kotnic, V. and Fleischmann, W.R.Jr. : A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. J. Immunol. Methods 129(1) : 23~30, 1990.

20. Wysocki, L.J. and Sato, V.L. : "Planning" for lymphocytes : A method for cell selection. Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 75(6) : 2844~2848, 1978.

21. Mizel, S.B., Rosenstreich, D.L. : Regulation of lymphocyte-activating factor(LAF) production and secretion in P388D1 cells : identification of high molecular weight precursors of LAF. J. Immunol. Methods 122(6) : 2173~2179, 1979.

22. 金井泉外 1인 : 臨床檢査法提要, 서울, 高文社, p.242,298,303,1112,1149, 1984.

23. 康兼秀의 15인 : 本草學, 서울, 영림사, p.125, 129, 131, 336, 351, 353, 378, 460, 531, 534,

578, 581, 1999.

24. 宋孝元 : 還魂散이 實驗的으로 誘發한 腫瘍 및 免疫學的 反應에 미치는 影響, 益山, 圓光大學校 大學院, 1996.

25. 楊維傑 : 黃帝內經素問靈樞譯解, 서울, 成輔社, (素問) p.235, 266, 455, (靈樞) p.262, 1980.

26. 聰甫外 1人 : 金元四大醫家 學術思想研究, 서울, 成輔社, pp.36~37, 1985.

27. 李東垣 : 東垣十種醫書, 서울, 大成文化社, pp.532~533, 1994

28. 方 廣 : 丹溪心法附與, 臺灣, 五州出版社, (卷十六) p.10, (卷十八) p.1, 1963.

29. 陳無擇 : 三因論, 서울, 翰成社, pp.525~526, 1977

30. 揚醫竝 : 中醫學問答(下), 北京, 人民衛生出版社, pp.356~357, pp.369~370, 1985.

31. 郁仁存 : 中醫腫瘤學, 北京, 北京科學技術出版社, pp.1~10, 1983.

32. 郁仁存 : 腫瘍研究, 上海, 上海科學技術出版社, p.1, 25, 65, 74, 1994.

33. 李 岩 : 腫瘤臨證備要, 北京, 人民衛生出版社, pp.11~26, 1983.

34. 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.

35. 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.

36. 崔昇勳 : 東醫腫瘍學, 서울, 杏林出版, pp.37~42, 1995.

37. 李爲祿 : “扶正培本”與“活血化癥”治療腫瘍的原理, 癌症腫瘤醫論醫話精選, pp.83~85, 1989.

38. 김경환 역음 : 이우주의 약리학강의(제4판), 서울, 의학문화사, pp.633~690, 1997.

39. 鞠永棕篇 : 고오스 藥理學, 서울, 汎文社, pp.701~710, 1985.

40. James, B., Lyoyd, H. : Cecil textbook of medicine, W. B. Saunders Co. pp.1090~1100,

1985.

41. 김동희외 1인 : 항암제 및 방사선 부작용에 대한 한방요법, 東醫病理學會誌 9(1) : 239~264, 1994.

42. Charles, R.C. and Robert, E.S. : Modern Pharmacology(4th), p.687, pp.693~694, 1994.

43. 정연희 : 十六味流氣飲이 甲狀腺 機能에 미치는 影響, 경희대학교 대학원, 1988.

44. 김호규 : 十六味流氣飲 및 海藻玉壺湯이 甲狀腺機能亢進症에 미치는 影響, 경산대학교 대학원, 1991.