

托裏當歸湯이 抗癌 및 免疫作用에 미치는 실험적 효과

박인수 · 양승정 · 조성희 · 정현우^{1*} · 진천식

동신대학교 한의과대학 부인과학교실, 1: 한의과대학 병리학교실

Experimental Effects of Taklidanggui-tang on the Anti-Cancer and Immuno-Action

Park In Su, Yang Seung Joung, Cho Seong Hee, Jeong Hyun Woo^{1*}, Jin Cheon Sik

Department of Gynecology, College of Oriental Medicine,

1: Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Dongshin University

Taklidanggui-tang was a drug that treated carbuncle and cellulitis. So, the purpose of this Study was to investigate effect of Taklidanggui-tang on the anti-cancer and proliferation of immunocytes, nitric oxide(NO) production of peritoneal macrophages. We used Taklidanggui-tang extract(TDT) with freeze-dried, 8wks-old male mice, and L1210 cell lines for this Study. The proliferation of cells was tested using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay). The results of this Study were obtained as follow ; TDT was showed cytotoxicity on the L1210 cell lines, increased significantly proliferation of thymocytes and splenocytes in vitro. TDT inhibited significantly proliferation of L1210 cells, increased significantly proliferation of immunocytes in L1210 cells transplanted mice. And TDT was extended significantly mean survival days in S-180 cells transplanted mice, but TDT did not increased NO production from peritoneal microphages in L1210 cells transplanted mice. This results suggest that TDT has anti-cancer and immuno-action.

Key words : Taklidanggui-tang(托裏當歸湯), anti-cancer, proliferation of immunocytes, nitric oxide(NO), MTT assay.

서 론

托裏當歸湯은 齊의 《外科精義》¹⁾에 “治諸瘡潰後, 膿多內虛”라 기록된 이후 沈²⁾은 ‘腹癰’을 薛³⁾은 ‘婦人諸瘡’을 다스린다 하여 癰疽 치료시 內托를 목적으로 사용하여 왔다. 內托法은 癰疽 치료법의 하나로 오래된 癰疽가 제거되지 않아 氣血이 점차 쇠퇴해졌을 때 元氣를 복돋아주기 위해 사용되었던 방법이다⁴⁾. 癰疽는 인체 각 부위에 국부적으로 발열·발적·堅硬·종통 및 화농 등의 양상을 나타내는 것⁵⁾으로 宋代 《衛濟寶書》이후로는 병리적 측면에서 염증성 질환이나 종양성 종괴 등과 연관한다 인식하였다⁶⁻⁹⁾.

질병의 발생은 ‘正邪相爭’의 결과로, ‘正氣’는 장부조직기관의 정상적인 기능활동을 유지시켜 주는 것이고, ‘邪氣’는 인체를 발병케하는 요소이다⁹⁾. 이러한 ‘正氣’의 인식을 서의학적인 개념

에서 찾아보면 개체의 항상성을 유지하려는 면역이라는 개념과 가장 관련성이 있다^{10,11)}. 그러나 면역기능 중 감독기능이 저하되게 되면 변이된 세포를 제거하지 못하게 됨으로써 악성종양, 즉 암 등이 발생하게 된다¹²⁻¹⁵⁾. 암을 치료하기 위한 방법으로 한의학에서는 補氣·補血을 爲主로 하면서 破積·活血·清熱·解鬱·行氣 등의 치법들을 겸용하고 있고¹⁶⁻²⁰⁾, 서의학에서는 수술요법·방사선요법·화학요법·면역요법 및 유전자요법 등을 사용하고 있다²¹⁻²⁴⁾. 최근, 면역기능을 증강시키면서도 항암 효과가 있는 한방 치료제를 찾고자 消積補中丸²⁵⁾, 內托羌活湯²⁶⁾, 桃紅四物湯²⁷⁾, 扶正抗癌湯²⁸⁾ 등을 이용한 연구가 활발히 진행중에 있지만 아직까지 ‘腹癰’ ‘婦人諸瘡’ 등에 사용되었던 托裏當歸湯에 대한 연구보고는 접할 수 없었다.

이에 저자는 癰疽가 암과 연관하고, 內托法이 서의학적으로 면역기능을 활성화시키면서도 암을 제거하는 치료법이라 생각되어 癰疽의 內托法에 활용되는 托裏當歸湯을 이용하여 면역세포의 증식을 살펴보는 동시에 항암작용을 관찰한 결과 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

* 교신저자 : 정현우, 전남 나주시 대호동 252번지, 동신대학교 한의과대학
· E-mail : hwdolsan@dsu.ac.kr · Tel : 061-330-3524
· 접수 : 2003/09/19 · 수정 : 2003/10/31 · 채택 : 2003/11/17

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용한 托裏當歸湯은 《外科精義》¹⁾에 준하였으며, 동신대학교 부속광주한방병원에서 구입한 후 본초학교실에서 정선을 받아 사용하였다. 실험에 사용한 처방의 내용과 분량은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Prescription of Taklidanggui-tang

구성약물	생약명	분량(g)
人參	RADIX GINSENG	3.75
當歸	RADIX ANGELICAE SINENSIS	3.75
黃芪	RADIX ASTRAGALI	3.75
熟地黃	RHIZOMA REHMANNIAE	3.75
川芎	RHIZOMA CNIDI	3.75
白芍藥	RADIX PAEONIAE LACTIFLORAE	3.75
甘草炙	RADIX GLYCYRRHIZAE	3.75
柴胡	RADIX BUPLEURI	3.75
總計		30.0

2) 세포주

세포주는 한국세포주은행에서 구입한 급성백혈병세포주인 L1210세포주와 복강암세포주인 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 고품질 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), Concanavalin A(Con A, Sigma C5275), Lipopolysaccharide(LPS, Sigma L2637) Brewer Thioglycollate Medium(TG, Difco 0236-17-7), Interferon γ (IFN- γ , Sigma I6507) 등으로 특급시약을 사용하였으며, 기기로는 Microplate reader(ELX800UV, U.S.A.) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 조제

托裏當歸湯 2첩분량(60.0g)을 1,500ml 증류수로 상온에서 10 0°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 23.2(g)을 얻었다.

2) 세포 배양조건

L1210세포주, S-180세포주, 마우스의 흉선세포 및 비장세포는 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 배지에는 10% FBS와 penicillin-streptomycin (100units/ml, 100 μ g/ μ l)을 첨가하여 사용하였다. 암세포주의 계대 배양은 1 : 10~1 : 20 비율로 3일 간격으로 하였고, 세포 증식에 미치는 약재의 영향을 관찰하기 위한 실험은 계대배양 2일째의 세포를 사용하였다.

3) In vitro

(1) 암세포 독성 측정

본 실험에 사용한 MTT법은 Mosmann²⁹⁾이 개발하고 Kotnik³⁰⁾ 등이 변형시킨 방법으로, 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100 μ l(2 \times 10⁵cells/ml)를 접종하여 37°C의 CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양한 후 농도별(1, 10, 100 μ g/ml)로 희석된 TDT 100 μ l를 넣고 37°C의 CO₂ 배양기에서 48시간 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5mg/ml 농도로 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(DPBS)-A에 희석된 MTT용액 20 μ l를 각 well에 첨가하고 배양 종료시까지 은박지로 빛을 차단하였다. 배양 종료 시 0.01N Hcl에 용해시킨 10% SDS 100 μ l를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 Microplate reader로 570nm에서 측정하여 대조군의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

(2) 흉선세포 및 비장세포의 분리

마우스의 흉선 및 비장세포 분리는 Wysocki³¹⁾ 및 Mizel 등³²⁾의 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 1,500 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 흉선 및 비장세포를 분리하였다.

(3) 흉선세포 및 비장세포의 증식율 측정

3)-(2)와 같이 분리된 흉선 및 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0 \times 10⁶cells/ml 농도로 접종하여 흉선세포에는 Con A 5 μ g/ml와, 비장세포에는 LPS 5 μ g/ml와 함께 다양하게 희석된 TDT의 농도(1, 10, 100 μ g/ml)를 100 μ l씩 첨가한 후 37°C의 CO₂ 배양기에서 48시간 배양한 다음 3)-(1)과 동일한 방법으로 흉선 및 비장세포의 증식율을 측정하였다.

4) In vivo

(1) 실험군

① L1210 세포주 이식 마우스

L1210세포주를 2)와 같이 계대배양하여 2 \times 10⁶cells/mouse로 조제한 다음 balb/c 마우스의 복강에 1.0ml를 주사함으로써 암세포를 이식하였다. Balb/c 마우스 7마리를 1군으로 하여 대조군과 실험군 등으로 분류한 다음 대조군에는 1일 1회씩 7일동안 증류수 0.2ml를 투여하였고, 실험군 A에는 TDT 300mg/kg 0.2ml를, 실험군 B는 TDT 500mg/kg 0.2ml를 1일 1회씩 7일동안 경구 투여하였다.

② S-180 세포주 이식 마우스

S-180세포주를 2)와 같이 계대배양하여 2 \times 10⁶cells/mouse로 조제한 다음 ICR 마우스의 복강에 0.2ml를 주사함으로써 암종을

유발시켰다. ICR 마우스 12마리를 1군으로 하여 대조군과 실험군 등으로 분류한 다음 대조군에는 격일간격으로 증류수 0.2ml를 경구투여하였고, 실험군 A에는 TDT 300mg/kg 0.2ml를, 실험군 B에는 TDT 500mg/kg 0.2ml를 격일간격으로 경구투여하였다.

(2) 흉선세포 및 비장세포 증식을 측정

4)-(1)-①과 같이 실시한 후 3)-(2)와 같이 흉선 및 비장세포를 분리하였다. 이후 분리된 흉선 및 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10^6 cells/ml 농도로 접종하여 흉선세포에는 Con A $5 \mu\text{g/ml}$, 비장세포는 LPS $5 \mu\text{g/ml}$ 를 첨가한 후 37°C의 CO₂ 배양기에서 48시간 배양한 다음 3)-(3)과 동일한 방법으로 흉선 및 비장세포의 증식율을 측정하였다.

(3) 암세포 증식을 측정

4)-(1)-①과 같이 실시한 후 마우스를 경추탈골시켜 도살하였다. 도살 후 복강에 cold PBS 10ml를 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 incubator에서 배양시키고 4시간 후에 부착한 세포를 제거하고 부착하지 않은 세포를 모아 4°C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리를 하였다. 침전된 세포분획을 모아 1×10^6 cells/ml로 조제하여 96 well plate의 각 well에 세포부유액 100 μl 를 분주하고 배지 100 μl 를 채워 37°C의 CO₂ 배양기에서 48시간 배양하였다. 이식된 암세포의 증식율은 3)-(1)과 동일한 방법으로 측정하였다.

(4) 복강 macrophages 분리 및 Nitric oxide생성능 측정

4)-(1)-①과 같이 실시하면서 마우스를 경추탈골시키기 3일전에 3% TG 2.0ml를 복강주사하였다. 이 후 도살된 마우스의 복강에 cold PBS 10ml를 주입하여 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4°C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리하고 RPMI 1640배지로 2회 세척한 후 직경 120mm petri dish에 분주하여 CO₂ 배양기에서 4시간 동안 배양시킨 후 부착되지 않은 세포를 제거한 다음 부착한 macrophages만을 cell scraper로 분리하여 24 well plate에 각 well당 1×10^6 cells/ml로 분주한 후 LPS $1 \mu\text{g/ml}$ 와 IFN- γ 25units/ml를 첨가하여 37°C CO₂ 배양기에서 24시간 배양한 후 생성된 Nitric oxide(NO)의 양을 Griess법³³⁾으로 측정하였다.

세포부유액 100 μl 와 Griess reagent(1% sulfanilamide + 0.2% N-naphthyl- ethylene-diamine 2Hcl + 2.5% H₃PO₄) 100 μl 를 혼합하여 96 well plate에 넣고 Microplate reader로 570nm에서 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO₂의 검량선에 의해 NO 양을 측정하였다.

(5) 생명연장을 측정

4)-(1)-②와 같이 실시한 후 복강암이 유발되지 않은 경우는 생존기간 연장측정의 척도인 Median survival time 계산에서 제외시켰다. Median survival time은 R.I. Geran³⁴⁾ 등이 기술한 방법에 의하여 실시하였다.

$$\text{Median survival time} = \frac{X + Y}{2}$$

X : 생존수가 전체동물수의 1/20이 되는 최초의 시간(일)
Y : 생존수가 전체동물수의 1/2에서 1일 뺀 최초의 시간(일)

단, 전체동물의 수가 홀수인 경우는 Median survival time은 X/2가 된다.

3. 통계처리

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

결 과

1. L1210 세포주에 대한 세포독성

L1210세포주에 미치는 TDT의 세포독성을 알아보기 위하여 TDT를 각각 $1 \mu\text{g/ml}$, $10 \mu\text{g/ml}$, $100 \mu\text{g/ml}$ 를 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 1).

TDT를 투여하지 않은 대조군의 L1210 세포주 증식율을 $100.00 \pm 1.08(\%)$ 라 하였을 때, TDT $1 \mu\text{g/ml}$, $10 \mu\text{g/ml}$, $100 \mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 각각 $97.89 \pm 0.67(\%)$, $97.81 \pm 0.85(\%)$, $93.92 \pm 0.91(\%)$ 로 대조군보다 감소되었다. 특히 TDT $100 \mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 대조군에 비해 유의성(P<0.01)이 인정되었다.

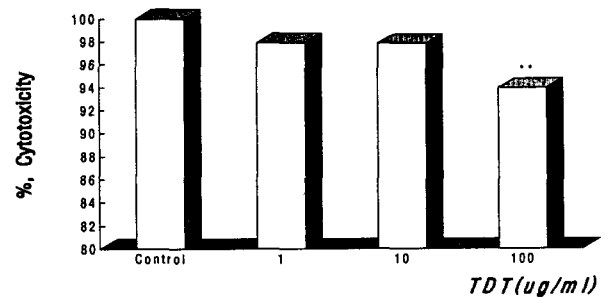


Fig. 1. Cytotoxicity of TDT on the L1210 cell lines in vitro. L1210 : lymphocytic leukemia cell lines, TDT : prescription of Taklidanggui-tang, 1 : TDT $1.0 \mu\text{g/ml}$ treated group, 10 : TDT $10.0 \mu\text{g/ml}$ treated group, 100 : TDT $100.0 \mu\text{g/ml}$ treated group. * : P-value vs Control group(** : P<0.01).

2. 면역세포의 증식율에 미치는 효과

흉선세포와 비장세포의 증식율에 미치는 TDT의 효과를 알아보기 위하여 TDT를 각각 $1 \mu\text{g/ml}$, $10 \mu\text{g/ml}$, $100 \mu\text{g/ml}$ 를 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 2).

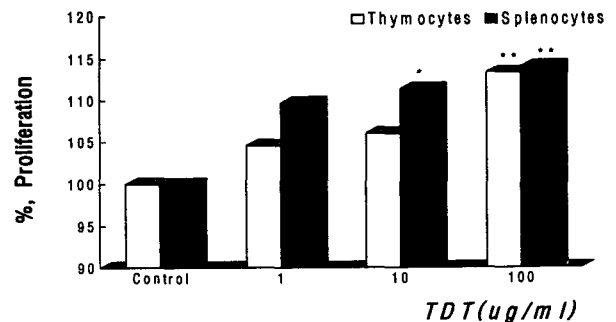


Fig. 2. Effects of TDT on the proliferation of thymocytes and splenocytes. Other legends are the same as Fig. 1. * : P<0.05, ** : P<0.01).

TDT를 투여하지 않은 대조군의 흉선세포 증식율을 $100.00 \pm 1.24(\%)$ 라 하였을 때, TDT $1\mu\text{g}/\text{ml}$, $10\mu\text{g}/\text{ml}$, $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 투여하였을 때는 각각 $104.54 \pm 2.63(\%)$, $106.01 \pm 2.52(\%)$, $113.31 \pm 2.79(\%)$ 로 대조군보다 증가되었다. 특히 TDT $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 투여하였을 때는 대조군에 비해 유의성($P < 0.01$)이 인정되었다. 한편, TDT를 투여하지 않은 대조군의 비장세포 증식율을 $100.00 \pm 2.60(\%)$ 라 하였을 때, TDT $1\mu\text{g}/\text{ml}$, $10\mu\text{g}/\text{ml}$, $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 투여하였을 때는 각각 $109.72 \pm 3.83(\%)$, $111.39 \pm 3.15(\%)$, $114.07 \pm 1.88(\%)$ 로 대조군보다 증가되었다. 특히 TDT $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 투여하였을 때는 대조군에 비해 각각 유의성($P < 0.05$, $P < 0.01$)이 인정되었다.

3. 암세포 이식 마우스의 암세포 증식율에 미치는 효과

암세포(L1210)를 이식한 후 암세포의 증식율에 미치는 TDT의 효과를 알아보기 위하여 TDT $300\text{mg}/\text{kg}$, $500\text{mg}/\text{kg}$ 을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 3). 대조군의 암세포 증식율을 $100.00 \pm 1.16(\%)$ 라 하였을 때 실험군 A의 증식율은 $96.61 \pm 0.83(\%)$ 로 대조군보다 유의성($P < 0.05$)있게 감소되었고, 실험군 B의 증식율도 $89.91 \pm 0.68(\%)$ 로 대조군보다 유의성($P < 0.001$)있게 감소되었다.

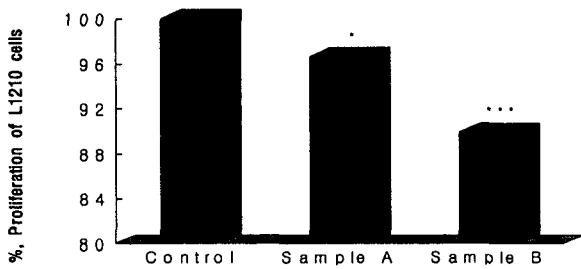


Fig. 3. Effects of TDT on the proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice. Control : DDW 0.2ml administered group for 7 days to L1210 cells transplanted mice, Sample A : TDT $300\text{mg}/\text{kg}$ 0.2ml administered group for 7 days to L1210 cells transplanted mice, Sample B : TDT $500\text{mg}/\text{kg}$ 0.2ml administered group for 7 days to L1210 cells transplanted mice. * : P-value vs Control group* : $P < 0.05$, *** : $P < 0.001$.

4. 암세포 이식 마우스의 면역세포 증식율에 미치는 효과

암세포(L1210)를 이식한 후 생체내 면역세포의 증식율에 미치는 TDT의 효과를 알아보기 위하여 TDT $300\text{mg}/\text{kg}$, $500\text{mg}/\text{kg}$ 을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 4).

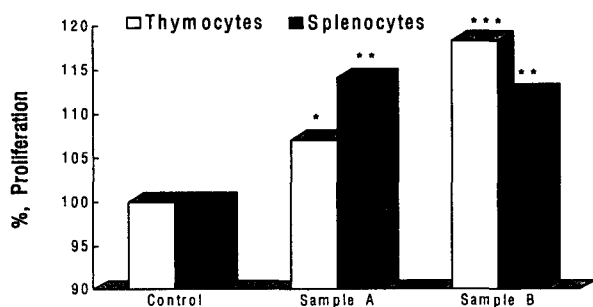


Fig. 4. Effects of TDT on the proliferation of thymocytes and splenocytes in L1210 cells transplanted mice. Other legends are the same as Fig. 3. * : P-value vs Control group* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$.

대조군의 흉선세포 증식율을 $100.00 \pm 1.16(\%)$ 라 하였을 때 실험군 A의 증식율은 $107.06 \pm 2.55(\%)$ 로 대조군보다 유의성($P < 0.05$)있게 증가되었고, 실험군 B의 증식율도 $118.44 \pm 1.18(\%)$ 로 대조군보다 유의성($P < 0.001$)있게 증가되었다. 한편, 대조군의 비장세포 증식율을 $100.00 \pm 3.34(\%)$ 라 하였을 때 실험군 A의 증식율은 $114.15 \pm 1.56(\%)$ 로, 실험군 B의 증식율도 $112.44 \pm 1.23(\%)$ 로 대조군보다 유의성($P < 0.01$)있게 증가되었다

5. 암세포 이식 마우스의 복강 macrophages에서 생성되는 NO의 양에 미치는 효과

암세포(L1210)를 이식한 후 마우스의 복강 macrophages에서 생성되는 NO의 양에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 TDT $300\text{mg}/\text{kg}$, $500\text{mg}/\text{kg}$ 을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 5). 정상군의 NO 양은 $2.95 \pm 0.12(\mu\text{M})$ 이었고, L1210 세포를 이식한 대조군의 NO 양은 $4.06 \pm 0.14(\mu\text{M})$ 이었다. 그러나 Sample A의 NO 양은 $7.19 \pm 0.18(\mu\text{M})$, Sample B의 NO 양은 $6.14 \pm 0.15(\mu\text{M})$ 로 대조군보다 증가되었다.

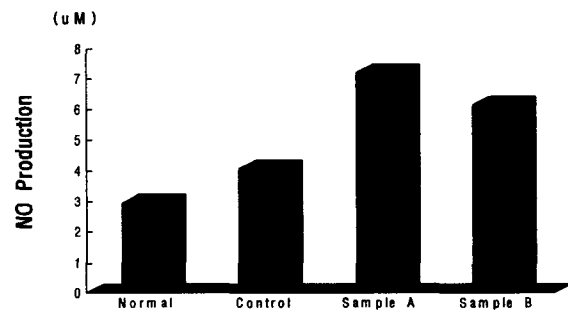


Fig. 5. Effects of TDT on the NO production from peritoneal macrophages in L1210 cells transplanted mice. Normal : DDW 0.2ml administered group for 7 days to L1210 cells non-transplanted mice, Other legends are the same as Fig. 3.

6. 암세포 이식 마우스의 생존율 연장에 미치는 효과

암세포(S-180)를 이식한 후 복강암이 유발된 마우스의 생존율에 미치는 효과를 알아보기 위하여 TDT $300\text{mg}/\text{kg}$, $500\text{mg}/\text{kg}$ 을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 6).

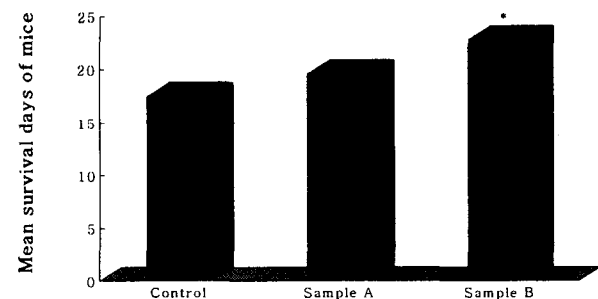


Fig. 6. Effects of TDT on the mean survival days of mice in S-180 cells transplanted mice. Control : DDW 0.2ml administered group for 1time/2days to S-180 cells transplanted mice, Sample A : TDT $300\text{mg}/\text{kg}$ 0.2ml administered group for 1time/2days to S-180 cells transplanted mice, Sample B : TDT $500\text{mg}/\text{kg}$ 0.2ml administered group for 1time/2days to S-180 cells transplanted mice. * : P-value vs Control group* : $P < 0.05$.

사망한 대조군의 숫자는 복강암 이식후 16일째에 1마리, 17일째에 3마리, 18일째에 3마리, 19일째에 1마리가 사망하여 평균 생존율이 $17.50 \pm 0.33(\text{day})$ 인데 반하여 Sample A는 16일째에 2마리, 17일째에 2마리, 18일째에 1마리, 20일째에 1마리, 25일째에 1마리, 28일째에 1마리가 사망하여 평균생존율이 $19.63 \pm 1.59(\text{day})$ 로 연장되었다. 또한 Sample B는 16, 18, 19, 21, 24, 27, 28, 30일째에 각각 1마리씩 사망하여 평균생존율이 $22.88 \pm 1.82(\text{day})$ 로 대조군에 비하여 유의성($P < 0.05$)있게 연장되었다.

고 찰

托裏當歸湯은 癰疽의 內托法에 사용되는 方劑로 《外科精義》¹⁾에서는 “治諸瘡潰後，膿多內虛。人蔘，黃芪，當歸，熟地黃，川芎，芍藥，甘草炙，柴胡 已上各等分 上爲粗末，每服五錢，水一盞，煎至六分，去粗，食前溫服”이라고 하였고, 《沈氏尊生書》²⁾에서는 “健脾胃壯氣血爲主，佐以排膿散口之方 宜托裏當歸湯 …… 治腹癰”이라 하였고, 《薛氏醫案·外科樞要》³⁾에서는 “治潰瘍。氣血俱虛 瘡口不斂 或哺熱內熱 寒熱往來 或婦人諸瘡 經候不調 小便頻數 大便不實等症”³⁾이라 하였다.

癰疽는 인체 각 부위에 국부적으로 발열·발적·堅硬·종통·환부의 함몰·돌기 및 화농 등의 양상을 나타내는 증상이다⁵⁾. 그 원인에 대해 《內經》³⁵⁾에서는 膏梁厚味·營氣不從·五臟不和·九竅不通 등에 의해, 劉³⁶⁾는 火熱·風濕之所乘에 의해, 李³⁷⁾는 濕熱에 의해, 朱³⁸⁾는 六氣·七情·熱勝血·陰滯·陽滯에 의해 발생된다 하였다. 그러나 癰疽는 宋代 《衛濟寶書》이후 병리적인 측면에서 염증성 질환이나 종양성 종괴, 즉 암과 유관하다 인식하였다⁶⁻⁸⁾. 癰疽를 치료하는 방법에는 內消法과 內托法이 있는데, 그 중 內托法¹⁵⁾은 元氣를 복돋아 줌으로써 오랫동안 癰疽가 제거되지 않으면서 氣血이 점차 衰退해졌을 때 사용하는 방법으로 肌寒肉冷·膿汁清稀·毒不出·瘡口不合·成聚積不赤·結核無膿·外證不明한 사람들에게 사용되기 때문에 암증 등에도 응용할 수 있는 치료법이라 생각된다.

암은 정상세포가 여러 가지 자극에 의해 세포의 형태학·생물학·면역학적인 행동들이 유전적으로 형질전환이 이루어지고, 이것들이 무절제하게 증식함으로써 형성된 변형세포들의 집단을 말한다¹²⁻¹⁴⁾. 이러한 암을 정복하려는 노력이 국내외적으로 다양하게 진행되고 있는데, 특히 서의학에서는 정상세포와 암세포를 선택적으로 명확히 구분하지 못해 원인에 입각한 근본적인 대책보다는 결과를 수습하려는 수술요법·방사선요법·화학요법·면역요법 및 유전자요법 등을 사용하고 있다²¹⁻²⁴⁾. 그러나 한의학에서는 원인과 결과를 동시에 치료하기 위하여 補氣·補血을爲 주로 하면서 破積·活血·清熱·解鬱·行氣 등의 치법들을 겸용하고 있다¹⁶⁻²⁰⁾.

면역은 인체내에 침입한 이물질이나 새로이 발생된 변이세포를 비자기로 인식하여 처리하는 능력을 발휘함으로써 개체의 항상성을 유지하려는 현상으로 방어기능, 항상성 유지기능, 감독기능 등이 있다^{15,39,40)}. 면역의 종류로는 식세포나 보체가 관여하는 선천성 면역과 T세포와 B세포 등이 반응의 주역인 후천성 면

역으로 나누어지고, 이 중 후천성 면역은 B세포 등이 생체를 감염으로부터 방어하는 체액성 면역과 T세포 등이 활성화되어 종양세포 등에 직접적인 손상을 주는 세포매개성 면역으로 분류된다^{24,39-40)}.

질병발생에 대해 한의학에서는 《素問》·「調經論」³⁵⁾에 “百病之生，皆有虛實”，「評熱病論」에 “邪之所湊，其氣必虛”，「通評虛實論」³⁵⁾에 “邪氣盛則實，正氣奪則虛”，《靈樞》·「口門篇」³⁵⁾에 “邪之所在，皆爲不足”이라 하여 장부조직기관의 기능활동을 정상적으로 유지케하는 ‘正氣’⁹⁾가 강하면 강할수록 인체를 발병하게하는 ‘邪氣’⁹⁾를 능히 물리칠 수 있는 항병력을 갖게 됨으로써 질병이 발생되지 않는다고 하였다. 이는 질병의 발병 및 발전 과정에서 ‘正氣’를 중요시하였다는 것을 알 수 있고, 이러한 한의학의 인식론은 서의학의 면역개념과 가장 관련성이 있다^{10,11)}. 이에 면역기능, 즉 ‘正氣’를 증강시키면서 종양, 즉 ‘邪氣’를 제거하는 방법이 동서의학론적 입장에서 볼 때 가장 효과적인 항암치료법이라 생각되고, 이러한 항암치료법은 癰疽의 內托法과 유사하여 ‘正邪’를 고려하는 한의학적 약물요법은 인체 기능을 조화롭게 하는데 있어서 가장 유효할 것으로 생각되었다. 최근 한약재를 이용하여 면역기능을 활성화시키면서도 항암효과가 있는지를 알아보기 위한 연구들이 활발히 진행되고 있는데, 그 중에서 魯 등²⁵⁾은 消積保中丸을 이용하여 종양세포의 성장, 발생율, 종양 크기의 억제, 생명연장효과 및 NK세포의 활성화에 대하여, 鄭²⁶⁾은 內托羌活湯을 이용하여 피하암종 세포에 대해 특이적인 세포독성 및 면역조절작용이 있음을, 趙 등²⁷⁾은 桃紅四物湯을 이용하여 암세포의 증식억제효과와 NO 생성능에 대하여 보고하였으며, 이 외에도 金²⁸⁾은 扶正抗癌湯을 이용하여, 韓⁴¹⁾은 榆根皮 추출액을 이용하여, Odajima⁴²⁾는 人蔘을 이용하여, Moon 등⁴³⁾은 蓬朮을 이용하여, 任⁴⁴⁾은 魚腥草·鹿血·猪苓·穿山甲 등을 이용하여 항암 및 면역작용에 미치는 효과를 보고하였다. 그러나 著者는 지금까지 癰疽에 사용되는 托裏當歸湯을 이용하여 항암 및 면역작용에 미치는 실험적 효과를 살펴본 연구 보고를 아직까지 접할 수 없었다.

이에 저자는 癰疽가 암과 유관하고, 항암요법중 면역기능을 증강시킬 수 있는 면역요법이 있음에도 불구하고 癰疽 內托法에 사용되는 托裏當歸湯의 실험적 연구가 없었기에 托裏當歸湯을 이용하여 항암작용 및 면역세포 증식 작용을 관찰하고자 하였다. 암세포 및 면역세포에 미치는 TDT의 세포독성을 알아본 결과 TDT는 고농도를 투여하였을 때 대조군에 비해 L1210세포주에 대해 세포독성을 나타내었고, 면역세포의 경우도 고농도 투여시 흉선세포 및 비장세포의 증식율을 13(%)이상 증가시켰다. 이는 TDT가 선택적으로 암세포에는 세포독성을 나타내지만 면역세포에는 오히려 증식효과를 나타내 한의학에서 말하는 ‘扶正祛邪法’의 객관적인 지표를 보여주는 결과라 생각된다. 이를 바탕으로 항종양요법중 면역요법의 활용도를 한의학적으로 살펴보기 위하여 TDT를 in vivo하에서 투여한 후 면역세포의 증강에 미치는 효과와 항종양효과를 동시에 관찰하였다. L1210세포를 복강내 이식한 후에 TDT를 경구투여한 다음 암세포의 증식에 미치는 효과를 살펴본 결과 in vitro상과 같이 TDT는 고농도 투여시

10(%)이상 L1210세포의 증식을 유의성(P<0.001)있게 억제시켰고, 흉선세포의 증식율은 고농도 투여시 14(%)이상 유의성(P<0.001) 있게 증가되었으며, 비장세포의 증식율은 고농도 투여시 12(%) 정도 유의성(P<0.01)있게 증가되어 in vitro상의 결과와 유사하게 나타났다. 이는 TDT가 면역세포의 증식을 촉진시켜 L1210세포에 대해 항암작용을 나타낸 것으로 생각된다. NO중 inducible NOS(iNOS)는 macrophages 및 호중구 등과 같이 탐식작용 등에 관여하는 신체의 여러종류의 세포에서 분비되는 것으로 항암작용이 있다고 최초로 보고⁴⁵⁾된 이래 많은 연구자들^{46,47)}은 활성화된 macrophages가 정상세포보다는 tumor cell을 선택적으로 파괴할 수 있기 때문에 macrophages-mediated tumor cytotoxicity로 중요한 의미가 있다고 하였다.

이와 같은 보고들을 볼 때 NO가 생체내에서 암세포를 공격하여 상해시키는 항암면역의 effector로서 그 역할을 하고 있기 때문에 각종의 사이토카인을 생산하는 세포 매개성 면역을 담당하고 있는 T세포의 증식을 증가시키고 항암작용을 나타낸 TDT가 NO의 생성능에도 관여할 것으로 생각되었다. 그 결과 암세포를 이식한 마우스의 복강 macrophages에서 생성된 NO양을 측정할 결과 대조군에 비해 NO양은 오히려 감소되는 것으로 나타나 TDT는 면역세포의 증식에는 관여하지만 NO 생성에는 관여하지 않는 것으로 생각되어 항암작용에 관여하는 TDT의 작용기전은 NO보다는 다른 기전에 의한 것이라 생각된다. 그리하여 앞으로 TDT의 작용기전에 대한 연구는 더욱 진행해야 할 것으로 생각된다. 한편, S-180세포를 이식한 후 TDT를 투여하여 평균생존율에 미치는 효과를 관찰한 결과 TDT는 저농도 투여시보다 고농도 투여시 평균생존율을 대조군에 비해 유의성(P<0.05)있게 연장시켰다. 이와 같은 결과들을 종합하여 볼 때 TDT는 면역세포의 증식에 관여하여 면역기능을 활성화시킴으로써 항암작용이 있는 것으로 생각된다. 그러나 TDT에 대한 작용기전이 아직까지 밝혀지지 않았기 때문에 이에 대한 연구는 앞으로도 더욱 진행해야 될 것으로 생각된다.

결 론

이상과 같이 托裏當歸湯이 면역세포의 증식 및 항암작용에 미치는 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

托裏當歸湯은 in vitro상에서 암세포주에 대해 고농도 투여시 유의성있는 세포독성을 나타내었지만 흉선세포 및 비장세포에 대해서는 오히려 유의성있는 세포증식을 나타내었다. 암세포(L1210)를 이식한 상태에서 托裏當歸湯은 암세포를 유의성 있게 감소시켰다. 또한 흉선세포 및 비장세포의 증식율은 유의하게 증가되었으나, 복강 macrophages에서 생성되는 NO의 양은 오히려 감소되었다. 암세포(S-180)를 이식한 상태에서 托裏當歸湯은 평균생존율을 유의성있게 연장시켰다.

참고문헌

1. 齊德之 : 外科精義 外三種合本, p. 60, 105, 醫聖堂, 서울, 1999.

2. 沈金鰲 : 沈氏尊生書, pp. 468-470, 中國中醫藥出版社, 北京, 1997.
 3. 薛己 : 薛氏醫案, pp.1014, 1046, 中國中醫藥出版社, 北京, 1997.
 4. 蔡炳允 : 韓方外科, pp. 38-39, 52-53, 高文社, 서울, 1987.
 5. 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, 圓光大學校 大學院, 1996.
 6. 陳無擇 : 三因論, pp. 525-526, 翰成社, 서울, 1977.
 7. 楊醫竝 : 中醫學問答(下), pp. 356-357, 369-370, 人民衛生出版社, 北京, 1985.
 8. 郁仁存 : 中醫腫瘤學, pp.1-10, 北京科學技術出版社, 北京, 1983.
 9. 鄭遇悅 : 韓方病理學, pp. 5-34, 서울공판사, 益山, 1985.
 10. 康命吉 : 濟衆新編, p. 182, 杏林書院, 서울, 1982.
 11. 傅 芳 : 中醫免疫思想及成就, 新中醫 25(11) : 55-57, 1984.
 12. 대한병리학회 : 병리학, pp. 201-222, 231-258, 고문사, 서울, 1997.
 13. 송계용 외 : 핵심병리학, pp. 147-189, 고려의학, 서울, 1998.
 14. 서울대학교 의과대학편 : 종양학, pp. 137-148, 193-205, 서울대학교 출판부, 서울, 1998.
 15. Roitt, I., Brostoff, J., Male, D. : Immunology(4th Ed), pp. 1-18, Mosby Publishing, U.K., 1998.
 16. 대한의학협회 분과학회협의회 편저 : 암의 진단과 치료, 麗文閣, 서울, 1992.
 17. 李 岩 : 腫瘤臨證備要, pp. 11-26, 人民衛生出版社, 北京, 1983.
 18. 張代釗 : 中西醫結合治療癌證, pp. 11-19, 山西人民出版社, 山西, 1984.
 19. 錢伯文 : 腫瘤的辨證施治, pp. 1-10, 上海科學技術出版社, 上海, 1980.
 20. 崔昇勳 : 東醫腫瘤學, pp. 37-42, 杏林出版, 서울, 1995.
 21. 이창혜 : 시험관 및 생체내 암세포(S-180YS)의 adriamycin에 대한 내성세포의 염색체 분포특성, 연세대학교 대학원, 1983.
 22. Kim, S.H. : Clinical comparison with drug sensitivities by the human tumor clonogenic assay, J. Kor. Cancer Assoc. 21 : 11, 1989.
 23. 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.
 24. 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.
 25. 李東垣 : 東垣十種醫書, pp. 532-533, 大成文化社, 서울, 1994.
 26. 朱丹溪 : 丹溪心法附與, 臺灣, 五州出版社, (卷十六) p. 10, (卷十八) p. 1, 1963.
 27. 조영림, 정현우 : 桃紅四物湯이 L1210세포가 이식된 마우스의 면역계에 미치는 효과, 東醫病理學會誌 13(1) : 132-140, 1999.
 28. 김병주 : 扶正抗癌湯의 抗腫瘍效果에 관한 實驗的 研究, 원광대학교 대학원, 1996.
 29. 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.
30. 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.
 31. 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.
 32. 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.
 33. Rockett, K.A., Awburn, M.M., Cowden, W.B. and Clark, I.A. : Killing of *Plasmodium falciparum* in vitro by nitric oxide derivatives. *Infect. Immun.*, 59(9) : 3280-3283, 1991.
 34. Geran, R.I., Greenberg, N.H., Macdinald, M.M., Schumacher, A.M. and Abbott, B.J. : Protocol for screening chemical Agents and Natural products against Animal Tumors and ather Biological system(Third Edition), *Cancer chemotherapy Reports* 48 : 59, 1972.
 35. 楊維傑 : 黃帝內經素問靈樞譯解, (素問) pp. 235, 266, 455 (靈樞) p.262, 成輔社, 서울, 1980.
 36. 張從正 著 구병수 · 이동원 옮김 : 儒門事親, pp. 232, 260, 동국대학교 출판부, 서울, 2001.
 37. 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.
 38. 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, 1996.
 39. 김상호의 4인 : 일반병리학, pp. 51-54, 348-349, 고문사, 서울, 1995.
 40. 하대유의 25인 : 免疫學, pp. 1-32, 高文社, 서울, 1994.
 41. 韓相日 : 榆根皮 抽出液이 HepG2 肝癌細胞에 미치는 抗癌效果 및 機轉에 대한 研究, 원광대학교 대학원, 1998.
 42. Odajima Yoshio : Effects of Ginseng on cancer cell, *Yakuyo Ninjin sono Kenkyu to Shinpo*. pp. 198-209, 1981.
 43. C.K, Moon, B,G, Lee, S,W, Lee and T.L. Kang : Effect of antiyumor polysaccharides from *Albizza julibrissin* on Immune function, *Arch. Pharmacol. Res.* 8(4) : 277-282, 1985.
 44. 임재훈 : 수종의 한약물이 암세포 감수성에 미치는 영향, *경희한의대논문집* 9 : 242-266, 1986.
 45. 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.
 46. Nakabo, Y., Harakawa, N., Yamamoto, K., Okuma, M., Uni, K. and Sasada, M. : Mechanism of leukemic cell lysis by activated human macrophages ; leukemic cells can be lysed without direct contact, *Int. J. Hematol.* 60(1) :51-57, 1994.
 47. Grisham, M.B., Ware, K., Gilleand, 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.