

## 仙傳化毒湯이 癌細胞 및 免疫細胞 增殖에 미치는 實驗的 效果

### - 항암제 병용효과를 중심으로 -

강문여 · 김종한 · 최정화 · 박수연

동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

## Experimental Effects of Sunjeonhwadok-Tang on the Proliferation of Cancer Cells and Immunocytes

### - Focusing around Combined Effects of Anticarcinogen -

*Wen-Lih Chang · Jong-Han Kim · Jung-Hwa Choi · Su-Yeon Park*

Sunjeonhwadok-Tang was a drug that treated carbuncle and cellulitis. So, the purpose of this study was to investigate effects of Sunjeonhwadok-Tang on the proliferation of cancer cells and immunocytes focusing around combined effects of anticarcinogen.

We used Sunjeonhwadok-Tang extract(SHT) with freeze-dried, 8wks-old male balb/c mice and cancer cell lines(L1210, Sarcoma-180) for this Study. The proliferation of cells was tested using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay).

#### **The results :**

1. SHT was significantly showed cytotoxicity on the L1210 cell lines.
2. SHT was significantly increased proliferation of thymocytes and splenocytes in vitro.
3. In combined effects of SHT and vincristine(0.005 mg/kg), SHT was significantly inhibited proliferation of L1210 cell lines, but was not inhibited proliferation of Sarcoma-180 cell lines compared with positive control group.
4. In combined effects of SHT and vincristine(0.005 mg/kg), SHT was significantly increased proliferation of thymocytes and splenocytes compared with positive control group.
5. In combined effects of SHT and vincristine, SHT was significantly increased proliferation of thymocytes and splenocytes in normal mice.
6. In combined effects of SHT and vincristine, SHT was significantly inhibited proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice.
7. In combined effects of SHT and vincristine, SHT was significantly increased proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice.

The present author thought that SHT had action of anti-cancer and immuno-activity, and in combined effects of vincristine, SHT had recoverable effects on damage by anticarcinogen.

Key words : Sunjeonhwadik-Tang, Cancer Cells, Immunocytes, Anticarcinogen

## 서론

仙傳化毒湯은 《東醫寶鑑》<sup>1)</sup>에 “治癰疽 發背 乳癰 一切無名腫毒 未成立消 已成立潰”라고 기록된 處方으로 癰疽內托法에 사용된다.

癰疽는 癰과 疽를 합한 말로써, 《內經》<sup>2)</sup>에 “陰氣不足, 陽氣有餘, 營氣不行, 乃發爲癰疽”라 收錄된 이래, 크기와 형태에 따라서 癰·癰·疽·癩 등으로 구분되며<sup>3)</sup>, 癰疽의 原因에 대해 《黃帝內經》<sup>2)</sup>에서는 膏粱厚味·營氣不從·五臟不和·九竅不通 등에 의해, 劉<sup>4)</sup>는 火熱·風濕之所乘에 의해, 李<sup>5)</sup>는 濕熱에 의해, 朱<sup>6)</sup>는 六氣·七情·熱勝血·陰滯·陽滯에 의해 발생한다고 하였고, 宋代 《衛濟寶書》以後 病理的인 側面에서 炎症性 疾患이나 腫瘍性 腫塊, 즉 癌과 有關하다 認識하였다<sup>7,9)</sup>.

韓醫學에서는 모든 疾病의 發生과 病程을 “邪之所湊, 其氣必虛”, “邪氣盛則實, 正氣奪則虛”<sup>2)</sup>, 즉 邪氣가 머무르는 곳의 氣는 반드시 虛해진다는 正邪論으로 설명하고 있는데, 이는 西洋醫學의 免疫反應과 유사성을 가지고 있다<sup>10)</sup>. 따라서 질병의 병정에 따라 면역력을 기르는 扶正과 암의 발생요인 및 암을 제거하는 祛邪를 이용한 항암실험이 韓方에서도 安<sup>11)</sup>, 魯<sup>12)</sup>, 鄭<sup>13)</sup> 등에 의해 다양하게 이루어지고 있다. 그러나 아직까지 仙傳化毒湯을 통한 연구는 접하지 못하였다.

이에 저자는, 한의학의 癰疽는 현대의학적으로 암종과 관련이 있으며, 암종에 한약재와 함께 항암제를 사용하게 되면 항암제의 부작용을 최소화시키면서 면역기능을 증진시킬 수 있는 효과가 있는지에 대하여 검증하고자 癰疽에 사용되는 仙傳化毒湯을

항암제와 병용 투여한 결과 다음과 같은 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 약재

실험에 사용한 仙傳化毒湯은 《東醫寶鑑》<sup>1)</sup>에 준하였으며, 동신대학교 부속순천한방병원에서 구입한 후 본초학교실에서 정선을 받아 사용하였다. 실험에 사용한 처방의 내용과 분량은 다음과 같다<sup>14)</sup>(Table 1).

Table 1. Prescription of Sunjeonhwadok-Tang(SHT)

|          | Herbal Name                    | Quantity(g) |
|----------|--------------------------------|-------------|
| 金銀花      | FLOS LONICERAE                 | 4.500       |
| 天花粉      | RADIX TRICHOSANTHIS            | 4.500       |
| 防風       | RADIX SAPOSHNIKOVIAE           | 3.750       |
| 黃芩       | RADIX SCUTELLARIAE             | 3.750       |
| 甘草節      | RADIX GLYCYRRHIZAE             | 3.750       |
| 白芍藥      | RADIX PAEONIAE ALBA            | 3.750       |
| 赤茯苓      | PORIA COCOS                    | 3.750       |
| 貝母       | BULBUS FRITILLARIAE THUNBERGII | 3.750       |
| 連翹       | FRUCTUS FORSYTHIAE             | 3.750       |
| 白芷       | RADIX ANGELICAE DAHURICAE      | 3.750       |
| 半夏       | RHIZOMA PINELLIAE              | 2.625       |
| 乳香       | OLIBANUM                       | 1.875       |
| 沒藥       | MYRRHA                         | 1.875       |
| Totality |                                | 45.375      |

## 2) 세포주

세포주는 한국세포주은행에서 구입한 급성백혈병 세포주인 L1210 세포주와 복강암세포주인 sarcoma-180(S-180) 세포주를 사용하였다.

## 3) 동물

본 실험에 사용한 마우스는 (주) 다물 사이언스에서 구입된 balb/c계 8 주령된 수컷을 온도 20±3 °C, 습도 55±5 %, light/dark 12 시간의 사육조건에서 1 주일 이상 적응시키면서 고형 pellet 사료(삼양주식회사, Korea)와 물을 자유로이 섭취하게 하였다.

## 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) 등으로 특급시약을 사용하였으며, 기기로는 microplate reader (ELX800UV, U.S.A.) 등을 사용하였다.

## 2. 方法

### 1) 검액의 조제

仙傳化毒湯(Sunjeonhwadok-Tang, SHT)의 2 첩분량(86.75 g)을 1,500 ml 증류수로 상온에서 100 °C 2 시간동안 전탕한 다음 이 추출액을 1,500 rpm으로 30 분간 원심 분리하여 상청액을 얻었다. 그 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)를 이용하여 감압 농축한 다음 freeze dryer로 동결 건조시켜 13.9 g(수득율 16.02 %)을 얻어 검액으로 사용하였다.

### 2) 세포 배양조건

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

### 3) MTT법에 의한 암세포 독성 측정

본 실험에 사용한 MTT법은 Mosmann<sup>15)</sup>이 개발하고 Kotnik<sup>16)</sup> 등이 변형시킨 방법으로, 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100 µl(2×10<sup>5</sup> cells/ml)를 접종하여 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 24 시간 동안 배양한 후 농도별(1, 10, 100 µg/ml)로 희석된 SHT 100 µl를 넣고 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48 시간 배양하였다. 배양 종료 4 시간 전에 5 mg/ml 농도로 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(DPBS)-A에 희석된 MTT용액 20 µl를 각 well에 첨가하고 배양 종료 시까지 은박지로 빛을 차단하였다. 배양 종료시 0.01 N HCl에 용해시킨 10 % SDS 100 µl를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18 시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570 nm에서 측정하여 대조군의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

### 4) 마우스의 흉선 세포 및 비장 세포의 분리

마우스의 흉선 및 비장 세포 분리는 Wysocki<sup>17)</sup> 및 Mizel<sup>18)</sup> 등의 방법을 이용하였다. Balb/c 마우스를 경추 탈골하여 도살시킨 후 적출한 흉선 및 비장을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2 회 세척한 다음 10 ml 주사기로 세포부유액을 취하여 1,500 rpm에서 10 분간 원심 분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3 회 반복 세척한 후 흉선 및 비장세포를

분리하였다.

5) MTT법에 의한 흉선 및 비장세포의 증식을 측정

4) 와 같이 분리된 흉선 및 비장 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에  $1.0 \times 10^6$  cells/ml 농도로 접종하여 흉선 세포에는 Con A  $5 \mu\text{g/ml}$ 와, 비장 세포에는 LPS  $5 \mu\text{g/ml}$ 와 함께 다양하게 희석된 SHT의 농도(1, 10, 100  $\mu\text{g/ml}$ )를 100  $\mu\text{l}$ 씩 첨가한 후 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48 시간 배양한 다음 3)과 동일한 방법으로 흉선 및 비장 세포의 증식을 측정하였다.

6) 암세포주 대한 vincristine의 IC50 측정

암세포주의 증식을 50 % 억제할 수 있는 vincristine의 농도(IC50)를 구하기 위해 각 well에 L1210 암세포주를  $2 \times 10^5$  cells/ml로 접종하고 24 시간동안 배양한 후 vincristine을 다양한 농도로 암세포주에 처리하여 3)과 동일한 방법으로 IC50을 계산하였다.

7) 암세포 증식에 미치는 SHT와 항암제 병용처리 효과 측정

각각의 암세포에 미치는 SHT와 항암제의 병용처리 효과를 알아보기 위하여 각 well에 암세포를  $2 \times 10^5$  cells/ml 농도로 접종하고 24 시간 배양한 후 다양한 농도의 SHT와 vincristine의 IC50 농도( $5 \times 10^6$  g/ml)를 병용 처리하여 3)과 동일한 방법으로 측정하였다. 또한 면역 세포는 각 well에  $1.0 \times 10^6$  cells/ml 농도로 접종한 후 흉선 세포에는 Con A  $5 \mu\text{g/ml}$ 와, 비장세포에는 LPS  $5 \mu\text{g/ml}$ 와 함께 다양하게 희석된 SHT의 농도(1, 10, 100  $\mu\text{g/ml}$ )와 vincristine의 IC50 농도( $5 \times 10^6$  g/ml)를 병용 처리하여 3)과 동일한 방법으로 측정하였다.

8) 정상 마우스에 항암제 투여시 면역 세포의 증식에 미치는 효과 측정

① 실험군

Balb/c 마우스 7 마리를 1 군으로 하여 Control과 Sample 등으로 분류하였다. Control은 증류수 0.2 ml 씩을, Sample A는 SHT 300 mg/kg 0.2 ml 씩을, Sample B는 SHT 500 mg/kg 0.2 ml 씩을 각각 7 일동안 1 일 1 회 0.2 ml 씩 경구 투여하였다. 항암제 vincristine 0.005 mg/kg은 실험개시 1 일 후 1 회 복강 주사하였다.

② 정상 마우스의 흉선 및 비장세포 증식을 측정

8)-① 과 같이 실시한 후 4) 와 같이 흉선 및 비장 세포를 분리하였다. 이 후 분리된 흉선 및 비장 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에  $1.0 \times 10^6$  cells/ml 농도로 접종하여 흉선세포에는 Con A  $5 \mu\text{g/ml}$ , 비장세포는 LPS  $5 \mu\text{g/ml}$ 를 첨가한 후 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48 시간 배양한 다음 5) 와 동일한 방법으로 흉선 및 비장세포의 증식을 측정하였다.

9) L1210 암세포 이식 마우스에 항암제 투여시 암세포 및 면역 세포의 증식에 미치는 효과 측정

① 실험군

Balb/c 마우스 7 마리를 1 군으로 한 후 L1210 세포주를 2) 와 같이 계대 배양하여  $2 \times 10^6$  cells/mouse 로 조제한 다음 마우스의 복강에 1.0 ml를 주사함으로써 암증을 유발시켰다. 실험군은 1 일 1 회씩 7 일동안 증류수 0.2 ml 씩을 투여한 Control, 1 일 1 회씩 7 일동안 SHT 300 mg/kg 0.2 ml 씩을 투여한 Sample A, 1 일 1 회씩 7 일동안 SHT 500 mg/kg 0.2 ml 씩을 투여한 Sample B로 분류하였다. 항암제 vincristine 0.005 mg/kg은 실험개시 1 일 후 1 회 복강 주사하였다.

② 암세포 증식을 측정

9)-① 과 같이 실시한 후 마우스를 경추 탈골시켜 도살하였다. 도살 후 복강에 cold PBS 10 ml를 주입하여 잘 혼합시킨 다음 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4 °C에서 1,500 rpm으로 5 분간 원심

분리하고 RPMI 1640 배지로 2 회 세척한 후 직경 120 mm petri dish에 분주하여 CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양 시켰다. 4 시간 후에 부착한 세포를 제거하고 부착 하지 않은 세포를 모아 4 °C에서 1,500 rpm으로 5 분간 원심 분리하였다. 침전된 세포 분획을 모아 1×10<sup>6</sup> cells/ml로 조제하여 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100 μl를 분주하고 배지 100 μl를 채 워 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48 시간 배양하였다. 이식된 암세포의 증식율은 3)과 동일한 방법으로 측정하였다.

③ 면역세포 증식을 측정

9)① 과 같이 실시한 후 4) 와 같이 흉선 및 비장 세포를 분리하였다. 이 후 분리된 흉선 및 비장 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10<sup>6</sup> cells/ml 농도로 접종하여 흉선 세포에는 Con A 5 μg/ml, 비장 세포는 LPS 5 μg/ml을 첨가한 후 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48 시간 배양한 다음 5) 와 동일한 방법으로 흉선 및 비장 세포의 증식율을 측정하였다.

3. 統計處理

통계처리는 Student's paired and/or unpaired t-test에 의하였으며, p-value가 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다<sup>19)</sup>.

실험 성적

1. SHT가 암세포주에 미치는 세포독성 효과

암세포주에 미치는 SHT의 세포독성 효과를 알아보기 위하여 SHT를 각각 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml를 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 1).

SHT를 투여하지 않은 Control의 L1210 세포주 증식율을 100.00±0.02 %라 하였을 때, SHT 1 μg/ml, 10

μg/ml, 100 μg/ml를 투여하였을 때는 각각 88.74±0.02 %, 88.32±0.02 %, 80.27±0.03 %로 Control보다 유의성(P<0.01, P<0.001) 있게 세포 독성을 나타내었다.

SHT를 투여하지 않은 Control의 S-180 세포주 증식율을 100.00±0.02 %라 하였을 때, SHT 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml를 투여하였을 때는 각각 98.45±0.02 %, 95.36±0.02 %, 99.99±0.03 %로 Control과 유사하게 나타났다.

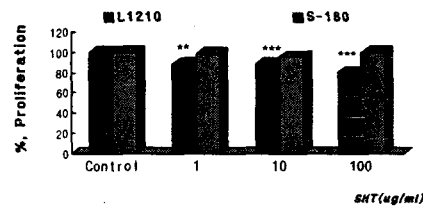


Fig. 1. Cytotoxicity of SHT on the L1210 cell lines and S-180 cell lines.

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

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

2. SHT가 면역세포 증식율에 미치는 효과

흉선 세포 증식율과 비장 세포 증식율에 미치는 SHT의 효과를 알아보기 위하여 SHT를 각각 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml를 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 2).

SHT를 투여하지 않은 Control의 흉선 세포 증식율을 100.00±0.01 %라 하였을 때, SHT 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml를 투여하였을 때는 각각 121.98±0.01 %, 124.14±0.02 %, 131.15±0.01 %로 Control보다 유의성(P<0.001) 있게 증가되었다.

SHT를 투여하지 않은 Control의 비장 세포 증식율을 100.00±0.02 %라 하였을 때, SHT 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml를 투여하였을 때는 각각 112.41±0.02 %, 114.46±0.02 %, 116.80±0.04 %로 Control보다 유의성(P<0.05, P<0.01) 있게 증가되었다.

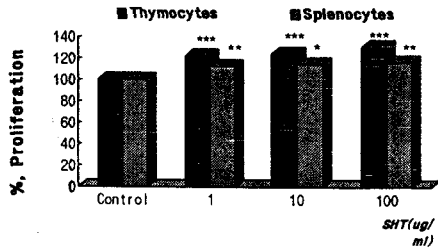


Fig. 2. Effects of SHT on the proliferation of thymocytes and splenocytes *in vitro*. Other legends are the same as Fig. 1.

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

### 3. SHT가 암세포 증식율에 미치는 항암제 병용투여 효과

암세포의 증식율에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 SHT 1  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제 vincristine의 IC50인  $5 \times 10^{-6}$  g/ml를 병용 투여하였을 때 암세포의 증식 억제 효과는 다음과 같았다(Fig. 3).

SHT와 항암제를 투여하지 않은 Control(-)의 L1210 세포주 증식율을 187.58 $\pm$ 0.03 %라 하였을 때, 항암제만을 투여한 Control(+)의 증식율은 100.00 $\pm$ 0.03 %로 감소되었고, SHT 1  $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제를 병용 투여하였을 때의 증식율은 90.14 $\pm$ 0.03 %로 Control(+)에 비하여 유의성(P<0.05) 있게 감소되었으며, SHT 10  $\mu\text{g/ml}$ 과 100  $\mu\text{g/ml}$ 를 항암제와 병용투여하였을 때의 증식율은 각각 80.27 $\pm$ 0.03 %와 79.05 $\pm$ 0.04 %로 나타나 Control(+)에 비해 유의성(P<0.001, P<0.01) 있게 감소되었다.

SHT와 항암제를 투여하지 않은 Control(-)의 S-180 세포주 증식율을 109.05 $\pm$ 0.02 %라 하였을 때, 항암제만을 투여한 Control(+)의 증식율은 100.00 $\pm$ 0.02 %로 감소되었고, SHT 1  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ 를 항암제와 병용투여하였을 때의 증식율은 각각 98.37 $\pm$ 0.03 %, 95.09 $\pm$ 0.01 %, 94.54 $\pm$ 0.02 %로 나타났다.

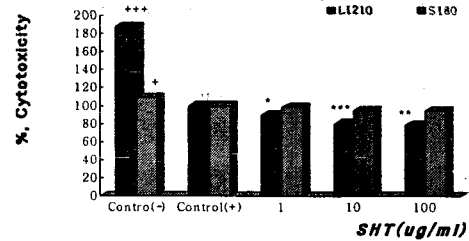


Fig. 3. The combined effects of SHT and vincristine on the cytotoxicity of L1210 cell lines and S-180 cell lines.

SHT ; Sunjeonhwadok-Tang extract, Control(-) ; SYE and vincristine non-treated group, Control(+); vincristine  $5 \times 10^{-6}$  g/ml treated group. 1, 10, 100 ; SHT 1.0  $\mu\text{g/ml}$ , 10.0  $\mu\text{g/ml}$ , 100.0  $\mu\text{g/ml}$  and vincristine  $5 \times 10^{-6}$  g/ml treated group.

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

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

### 4. SHT가 면역세포 증식율에 미치는 항암제 병용투여 효과

흉선 세포 및 비장 세포의 증식율에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 SHT 1  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제 vincristine의 IC50인  $5 \times 10^{-6}$  g/ml를 병용 투여하였을 때 면역세포 증식율은 다음과 같았다(Fig. 4).

SHT와 항암제를 투여하지 않은 Control(-)의 흉선 세포 증식율을 183.73 $\pm$ 0.02 %라 하였을 때, 항암제만을 투여한 Control(+)의 증식율은 100.00 $\pm$ 0.02 %로 감소되었고, SHT 1  $\mu\text{g/ml}$ 와 10  $\mu\text{g/ml}$ 를 항암제와 병용투여하였을 때의 증식율은 각각 104.20 $\pm$ 0.01 %와 112.94 $\pm$ 0.01 %로 Control(+)에 비하여 증가되었고, SHT 100  $\mu\text{g/ml}$ 를 항암제와 병용투여하였을 때의 증식율은 144.10 $\pm$ 0.05 %로 Control(+)에 비해 유의성(P<0.001) 있게 증가되었다.

SHT와 항암제를 투여하지 않은 Control(-)의 비장 세포 증식율을 151.37 $\pm$ 0.01 %라 하였을 때, 항암제만을 투여한 Control(+)의 증식율은 100.00 $\pm$ 0.01 %로 감소되었고, SHT 1  $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제를 병용투여하였을 때는 103.48 $\pm$ 0.01 %로 나타났으나 SHT 10  $\mu\text{g/ml}$

과 100  $\mu\text{g/ml}$ 를 항암제와 병용투여하였을 때의 증식율은 각각  $114.88 \pm 0.02\%$ ,  $139.88 \pm 0.02\%$ 로 Control(+)에 비하여 유의성( $P < 0.001$ ) 있게 증가되었다.

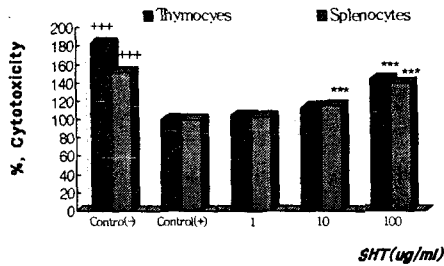


Fig. 4. The combined effects of SHT and vincristine on the proliferation of thymocytes and splenocytes. Other legends are the same as Fig. 1.

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

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

#### 5. SHT가 항암제 투여로 저하된 정상 마우스의 면역세포 증식에 미치는 개선 효과

정상 마우스의 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율에 미치는 SHT의 효과를 알아보기 위하여 SHT 300 mg/kg, 500 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 5).

Control의 흉선 세포 증식율을  $100.00 \pm 0.02\%$ 라 하였을 때 Sample A의 흉선 세포 증식율은  $109.20 \pm 0.01\%$ 로 Control에 비하여 유의성( $P < 0.01$ ) 있게 증가되었고, Sample B의 흉선 세포 증식율은  $133.35 \pm 0.01\%$ 로 Control에 비해 유의성( $P < 0.001$ ) 있게 증가되었다.

Control의 비장 세포 증식율을  $100.00 \pm 0.02\%$ 라 하였을 때 Sample A와 Sample B의 비장 세포 증식율은  $118.28 \pm 0.01\%$ 와  $133.10 \pm 0.02\%$ 로 Control에 비해 유의성( $P < 0.001$ ) 있게 증가되었다.

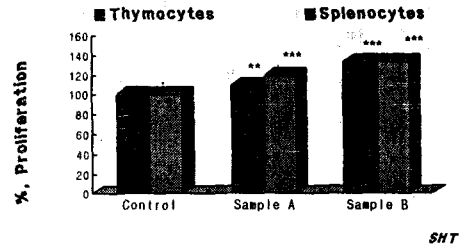


Fig. 5. Effects of SHT on the proliferation of thymocytes and splenocytes in normal mice. SHT ; Sunjeonhwadok-Tang extract, Control ; DDW 0.2 ml administered group for 7 days(1 time/1 day), Sample A ; SHT 300 mg/kg 0.2 ml administered group for 7 days(1 time/1 day), Sample B ; SHT 500 mg/kg 0.2 ml administered group for 7 days(1 time/1 day).

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

#### 6. SHT가 L1210 세포 이식 마우스의 복강내 암세포 증식에 미치는 항암제 병용투여 효과

암세포(L1210)를 이식한 후 항암제를 투여한 다음 암세포의 증식에 미치는 SHT와의 병용투여 효과를 알아보기 위하여 SHT 300 mg/kg, 500 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 6).

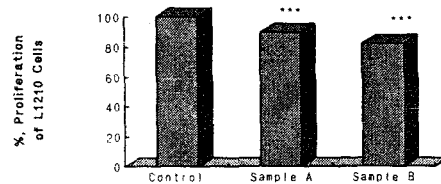


Fig. 6. The combined effects of SHT and vincristine on the proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice.

L1210 cells( $2 \times 10^6$  cells/mouse) transplanted to mice of all experimental group.

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

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

Control의 암세포 증식율을 100.00±0.01 %라 하였을 때 Sample A와 Sample B의 증식율은 89.50±0.01 %와 82.43±0.01 %로 Control보다 유의성(P<0.001) 있게 감소되었다.

### 7. SHT가 항암제 투여로 저하된 암세포 이식 마우스의 면역세포 증식율에 미치는 개선 효과

암세포(L1210)를 이식한 후 항암제 투여로 저하된 생체내 면역세포의 증식율에 미치는 SHT의 효과를 알아보기 위하여 SHT 300 mg/kg, 500 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 7).

Control의 흉선 세포 증식율을 100.0±0.03 %라 하였을 때, Sample A의 증식율은 111.33±0.03 %로 Control보다 유의성(P<0.05) 있게 증가되었고, Sample B의 증식율도 122.19±0.05 %로 Control에 비하여 유의성(P<0.01) 있게 증가되었다.

Control의 비장 세포 증식율을 100.00±0.02 %라 하였을 때, Sample A의 증식율은 106.56±0.03 %이었고, Sample B의 증식율은 113.82±0.05 %로 Control에 비하여 유의성(P<0.05) 있게 증가되었다.

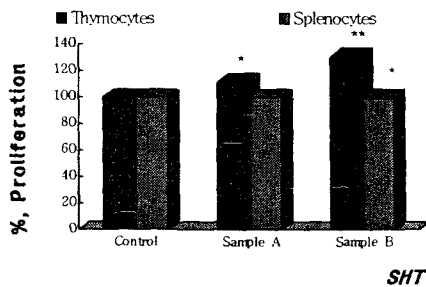


Fig. 7. The combined effects of SHT and vincristine on the proliferation of thymocytes and splenocytes in L1210 cells transplanted mice.

Other legends are the same as Fig. 6.

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

## 고찰

仙傳化毒湯은 癰疽의 內托法에 사용되는 方劑로 《萬病回春》<sup>20)</sup>과 《東醫寶鑑》<sup>1)</sup>에서 “治癰疽發背乳癰一切無名腫毒初起服之立消已潰服之立愈”이라고 하였다.

癰疽는 癰과 疽를 합해서 이르는 말로 癰疽의 原因에 대해 《黃帝內經》<sup>2)</sup>에서는 膏粱厚味·營氣不從·五臟不和·九竅不通 등에 대해, 劉<sup>3)</sup>는 火熱·風濕之所乘에 의해, 李<sup>5)</sup>는 濕熱에 의해, 朱<sup>6)</sup>는 六氣·七情·熱勝血·陰滯·陽滯에 의해 발생한다고 하였고, 宋代《衛濟寶書》以後에는 病理的인 側面에서 炎症性 疾患이나 腫瘍性 腫塊, 즉 癌과 有關하다 認識하였다<sup>7,9)</sup>. 癰疽는 發熱·發赤·堅硬·腫痛·患部の 陷沒·突起 및 化膿 등을 나타내는 것으로, 初期에 祛邪爲主의 內消法(清熱解毒·和營行瘀·行氣·解表·溫通·通裏·利濕)을 使用하고, 中期에는 扶正祛邪의 內托法(補益氣血·排膿托毒)을 使用하며, 後期에는 扶正爲主(生肌·補氣養血)의 治法을 使用한다<sup>21-22)</sup>.

仙傳化毒湯에 使用된 藥物의 效能을 살펴보면 金銀花는 連翹와 함께 清熱解毒하여 風濕 및 腫毒, 癰疽, 疥癬 등 각 종 惡瘡를 치료하며, 天花粉은 清熱生津, 消腫排膿하여 癰腫과 腫毒을 치료하고 咳血을 멎게 한다. 防風은 祛風解表, 勝濕止痛, 解壓하고, 黃芩은 清熱燥濕, 瀉火解毒, 止血安胎하며, 甘草는 補脾益氣, 潤肺止咳, 緩和藥性하여 解毒作用으로 癰疽瘡毒을 치료한다. 白芍藥은 養血斂陰, 柔肝止痛하고, 赤茯苓은 利水滲濕, 健脾安神하며 貝母는 化痰止咳, 清熱散結하고, 白芷는 解表, 消腫排膿, 止痛하며, 半夏는 燥濕化痰, 消痞散結한다. 乳香과 沒藥은 活血止痛, 消腫生肌하는데 모두 外科疾患의 托裏排膿에 일정한 作用이 있다<sup>23)</sup>.

疾病의 發生과 病程에 대해 《黃帝內經》<sup>2)</sup>에서는 “邪之所湊, 其氣必虛”, “邪氣盛則實, 正氣奪則虛”라



하여, 邪氣가 머무르는 곳의 氣는 반드시 虛하다는 正邪論으로 설명하고 있는데, 이는 癌의 發生과 成長에 있어서 西洋醫學의 免疫反應과 유사성을 가지고 있다<sup>10</sup>. 즉, 正氣는 각종의 장부조직기관의 기능을 정상적으로 유지하게 하는 病邪에 대한 저항력이라 할 수 있고, 邪氣는 인체를 발병하게 하는 각종의 발병요인과 병리적 손상인자라 말할 수 있다. 따라서, 疾病의 治療方法은 人體의 正氣를 補養하거나(扶正固本法), 邪氣를 물리치기 위한 방법(祛邪法) 또는 補養과 祛邪를 併用(扶正祛邪法)하는 방법을 사용한다<sup>24</sup>.

일반적으로 扶正의 方法은 低下된 免疫反應에 대하여 免疫 促進作用을 갖고 있기 때문에 免疫性 疾患의 治愈, 抗腫瘍의 역할을 하고, 免疫機能이 亢進되고 免疫反應이 지나치게 높아지면 生體에 큰 障礙를 일으키므로 지나치게 높아진 反應을 억제하고 過激한 反應을 정상으로 되돌려 免疫의 平衡狀態를 回復시킬 필요가 있는데 祛邪의 方法이 주로 免疫抑制作用을 가지고 있다. 반면 어떤 경우에는 T 細胞를 주로 한 細胞性 免疫의 機能이 低下하고 있으면 동시에 B細胞를 주로 한 體液性 免疫의 反應은 亢進되게 하는데, 이를 虛實錯亂이라 하고, 이때는 扶正祛邪의 方法을 사용한다<sup>25</sup>.

免疫은 인체내에 이물질의 침입이나 병리세포가 발생되었을 때 면역계가 관여하여 이물은 물론 새로이 발생된 변이세포를 비자기로 인식하여 처리하는 능력을 발휘함으로써 개체의 항상성을 유지하려는 현상을 말한다<sup>26</sup>. 만약에 免疫反應이 不足하게 되면 各種 感染性 疾患 내지 惡性腫瘍에 걸리기 쉽고, 반대로 免疫反應이 지나친 경우 각종 알레르기나 스트레스 또는 自己免疫疾患을 일으킨다<sup>27</sup>. 免疫의 種類는 식세포나 보체가 관여하는 先天的 免疫과 T細胞와 B細胞가 관여하는 後天的 免疫으로 나누어지며, 면역반응에 따라 體液性 免疫과 細胞媒介性 免疫으로 分類되는데, 體液性 免疫은 B細胞가 주로 담당하는 것으로 血液 및 기타의 體液속에서 방출된 抗體로 生體에 感染을 일으킨 細菌이나 細

菌毒素, virus 등과 직접 결합하여 용균 또는 독소, virus의 중화, 식균현상을 나타내 生體를 感染으로부터 防禦하는 것이고, 細胞 媒介性 免疫은 T細胞가 주로 담당하는 것으로 알리지반응, 接觸性皮膚炎, 동종이식거부 등을 나타내는 면역의 종류이며, 화학 전달물질들을 분비함으로써 腫瘍細胞나 virus 감염 세포에 대해 직접 손상을 준다<sup>28-30</sup>. 이 중에서 腫瘍에 대한 免疫 反應은 특히 細胞 媒介性 免疫에 의해 이루어지는 것으로 알려져 있다<sup>31</sup>.

癌이란 조직의 독립적인 혹은 자율적인 과잉성장을 말하며, 이것은 개체에 전혀 유익하지 않을 뿐만 아니라 일반적으로 정상조직에 대하여 파괴적인 것으로<sup>32</sup>, 서양의학에서는 주로 수술요법, 방사선요법, 화학요법 및 면역요법 등으로 치료한다. 화학요법에 활용되는 항암제는 주로 Alkylating제제, 면역억제제, Antimetabolites, 그리고 기타 항암제 등으로 구분<sup>33-34</sup> 되지만 공통적으로 항암제는 소화기장애·골수조혈장애 및 탈모증·피부이상·간중독·신장애·심근증·폐섬유화 등의 부작용을 초래한다<sup>35</sup>. 특히 vincristine은 mitotic inhibitor로 급성백혈병·림파종·일부 고형종양 등에 사용되고는 있지만 말초나 자율신경의 독성 등의 부작용을 나타낸다<sup>33-34,36</sup>. 이 같은 부작용 때문에 질병의 병정에 따라 면역력을 기르는 扶正과 암의 발생요인 및 암을 제거하는 祛邪를 이용한 연구들이 활발히 진행되고 있는데, 그 중에서 安<sup>11</sup> 등은 補益劑를 사용하여 항암제로 인한 백혈구수의 감소가 반대로 증가하였고, 체중감소가 줄었으며, 항체생산이 증가되었음을, 翕<sup>12</sup> 등은 消積保中丸이 腫瘍細胞의 성장, 발생을, 종양 크기의 억제 및 생명연장효과 그리고 NK세포의 활성화도 증가되었음을, 鄭<sup>13</sup>은 內托羌活湯이 MCA와 3LL세포 및 S-180세포로 유도된 皮下癌腫 細胞에 대해 특이적 細胞毒性 및 免疫調節作用에 있음을, 趙<sup>37</sup> 등은 桃紅四物湯이 L1210세포의 증식억제효과와 NO의 양이 증가하여 서로 연관성이 있음을 보고하였다. 그러나 癰疽에 사용되는 仙傳化毒湯에 대한 항암 및 항암제 부작용 억제 효과 등에 관련된 연구 보고는

접할 수 없었다.

이에 저자는 仙傳化毒湯을 이용하여 암세포주 및 면역 세포(흉선 세포와 비장 세포)에 미치는 증식을 살펴본 이 후 본방과 함께 항암제를 병용 투여하여 항암 및 면역 세포 증식에 미치는 효과를 실험적으로 알아보고자 하였다.

仙傳化毒湯을 L1210 암세포주와 S-180 암세포주에 투여한 결과, L1210 세포주 증식율은 대조군보다 20 % 정도 유의성 있게 세포 독성을 나타내었지만 S-180 세포주 증식율은 대조군에 비해 변화가 없어 세포 독성을 나타내지 않았다. 이는 仙傳化毒湯이 암세포 중에서 선택적으로 세포 독성을 나타내고 있음을 보여주는 결과라 생각된다. 그러나 흉선 세포와 비장 세포의 증식율에 있어서는 본방이 대조군보다 유의성 있게 면역 세포 증식율을 촉진시킴을 보여주었다.

仙傳化毒湯을 항암제와 함께 병용 투여하였을 때에도 항암제만을 투여한 대조군에 비해 L1210 세포주 증식율은 대조군보다 유의성 있게 세포 독성을 나타내었지만 S-180 세포주 증식율은 대조군에 비해 변화가 없었고, 흉선 세포와 비장 세포의 증식율은 본방만을 투여하였을 때와 같이 대조군에 비해 유의성 있는 면역 세포 증식을 촉진시켜 본방은 그 자체만으로도 면역 기능 항진 작용이 있을 뿐만 아니라 항암제 투여로 인해 손상된 면역 세포의 기능을 회복시킴을 알 수 있었다. 또한 본방은 암세포에 선택적으로 작용함도 알 수 있었다.

仙傳化毒湯이 *in vivo*상에서도 *in vitro*상과 같은 효과를 보이는데 대하여 알아보고자 항암제와 병용 투여한 결과, *in vitro*상과 같이 본방은 정상 마우스의 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율을 유의성 있게 촉진시켰다. 이는 仙傳化毒湯이 면역 세포의 증식을 뚜렷하게 촉진시키고 있음을 보여주는 결과라 생각된다. 그리하여 암세포에 선택적 세포 독성을 나타낸 L1210 암세포를 정상 마우스에 주입하여 병태 모델을 유발시킨 후 仙傳化毒湯을 투여한 결과 복강내 암세포의 증식은 대조군보다 유의성 있

게 감소되었고, 병태 모델의 면역 세포 증식율도 대조군보다 유의성 있게 촉진되었다.

이와 같은 결과를 통해서 볼 때, 仙傳化毒湯은 선택적으로 백혈병 세포주인 L1210세포의 증식을 억제하는 동시에 면역 세포 즉, 림프구 계통의 후천성 면역 기능을 촉진시킴을 알 수 있었다. 또한 항암제와 병용 투여하게 되면 항암 작용과 함께 항암제로 손상된 면역 세포의 기능도 활성화되기 때문에 임상상 암 환자에게 활용될 수 있는 처방이라 생각된다.

## 결론

仙傳化毒湯이 암세포 및 면역세포의 증식율에 미치는 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 仙傳化毒湯은 L1210 세포주에 대하여 유의성 있는 세포독성을 나타냈다.
2. 仙傳化毒湯은 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율을 유의성 있게 증가시켰다.
3. 仙傳化毒湯을 항암제와 병용 투여하였을 때 L1210 세포주의 증식율은 유의성 있게 억제되고, 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율은 유의성 있게 증가되었다.
4. 仙傳化毒湯은 항암제 투여로 손상된 정상 마우스의 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율을 증가시켰다.
5. 仙傳化毒湯을 항암제와 병용 투여하였을 때 L1210 세포를 이식한 병태 모델의 암세포 증식율은 유의성 있게 억제되고, 손상된 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율은 유의성 있게 증가하였다.

## 참고 문헌

1. 許俊 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, 1987:583.
2. 楊維傑 : 黃帝內經素問靈樞經譯解, 서울, 成輔社, 1980(素問):235, 266, 455 (靈樞) 262.
3. 蔡炳允 : 韓方外科, 서울, 高文社, 1983:52-53, 61, 330.
4. 李聰甫外 1人 : 金元四大醫家 學術思想研究, 서울, 成輔社, 1985:36-37.
5. 李東垣 : 東垣十種醫書, 서울, 大成文化社, 1994:532-533.
6. 朱丹溪 : 丹溪心法附與, 臺灣, 五洲出版社, 1963: (卷十六) 10, (卷十八) 1.
7. 陳無擇 : 三因論, 서울, 翰成社, 1977:525-526.
8. 揚醫竝 : 中醫學問答(下), 北京, 人民衛生出版社, 1985:356-357, 369-370.
9. 郁仁存 : 中醫腫瘤學, 北京, 北京科學技術出版社, 1983:1-10.
10. 董黎明 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, 1988:12-16.
11. 임종필, 은채순, 오찬호, 안문생, 김세길, 강정열, 서은실, 소준노 : 항암제 Mitomycin C와 수종 복합생약의 병용투여 효과, 생약학회지, 1992;23(3): 158-170.
12. 전병훈, 문석재, 문구, 노훈정 : 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), 1996:43-56.
13. 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.
14. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著 : 本草學, 서울, 永林社, 1999:165-166, 198-201.
15. Mosmann, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxic assays. J. Immunol. Methods, 1983; 65(1-2):55-63.
16. Kotnic, V. and Fleischmann, W.R.Jr. : A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. J. Immunol. Methods, 1990; 129(1):23-30.
17. Wysocki, L.J. and Sato, V.L. : "Planning" for lymphocytes ; A method for cell selection. Proc. Natl. Acad. Sci., USA., 1978;75(6):2844-2848.
18. 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, 1979;122(6):2173-2179.
19. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods(6th ed). Iowa state Uni(ames). 1967.
20. 龔廷賢 : 萬病回春, 북경, 人民衛生出版社, 1998:436.
21. 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, 1996.
22. 上海中醫學院編 : 中醫外科學, 香港, 商務印書館, 1981:24-30.
23. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林社, 1997:175, 223, 250, 283, 308, 321, 322, 453, 454, 506, 522, 556, 636.
24. 신천호 역, 癌瘤防治研究, 서울, 成輔社, 1984:252.
25. 郁仁在外 : 癌症診治康復350問, 北京, 金循出版社, 1980:98-105.
26. 하대유 외 25인 : 면역학, 서울, 高文社, 1994:1-32.
27. 東西醫學研究會 : 臨床東西醫學, 서울, 永林社, 1997:546-547, 550, 552-553.
28. 김상호외 4인 : 一般病理學, 서울, 高文社, 1995: 51-54, 348-349.
29. 하대유의 25인 : 免疫學, 서울, 高文社, 1994:1-32.
30. 김길영 : 免疫不全疾患과 惡性腫瘍, 연세의대는 문집 1978;11(1):61-64.

강문여 외 3인 : 仙傳化毒湯이 癌細胞 및 免疫細胞 增殖에 미치는 實驗的 效果 - 항암제 병용효과를 중심으로 -

31. 대한병리학회 : 병리학 제3판, 서울, 고문사, 1998:159-161.
32. 문 구 外 : 암 동서의 결합치료 1, 원광대학교출판국, 1999:35.
33. 김경환 역음 : 이우주의 약리학강의(제4판), 서울, 醫學文化社, 1997: 633-690.
34. 鞠永棕篇 : 고오스 藥理學, 서울, 汎文社, 1985: 701-710.
35. James, B., Lyoyd, H. : Cecil textbook of medicine, W. B. Saunders Co. 1985:1090-1100.
36. Charles, R.C. and Robert, E.S. : Modern Pharmacology(4th), 1994:687, 693-694.
37. 정현우, 조영림 : 桃紅四物湯이 L1210세포가 이식된 마우스의 면역계에 미치는 효과, 東醫病理學會誌 1999,13(1):132-140.