

芎歸托裏散의 L1210과 S-180이 이식된 마우스에 대한 抗癌作用研究

박용호 · 박수연 · 김종한 · 최정화
동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과교실

Study of Gungguitakli-San on the Anti-Cancer in L1210 and S-180 cells Transplanted Mice

Yong-ho Park · Su-yeon Park · Jong-han Kim · Jung-hwa Choi

Objective : The purpose of this study was to investigate effect of Gungguitakli-San(GTS) on the anti-tumor, immunocytes.

Methods : This study estimated the proliferation of L1210 and S-180 cell lines, mouse splenocytes and thymocytes in vitro, and estimated the proliferation of L1210 cell, S-180 cell, thymocytes and splenocytes and body weight in S-180 cells-transplanted mice. The cytotoxicity and proliferation of cells were tested using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay).

Results : The results of this study were obtained as follow ;

1. GTS was significantly increased in the proliferation of thymocytes and splenocytes in vitro.
2. GTS was significantly showed cytotoxicity on the L1210 cell lines and S-180 cell lines in vitro.
3. GTS was significantly showed cytotoxicity on the L1210 cell lines in vivo.
4. GTS was significantly increased in the weight of mice and decreased weight of sarcoma, in S-180 cells transplanted mice.
5. GTS was significantly increased in the period of survive, in S-180 cells transplanted mice.

Conclusions : The author thought that GTS had action of anti-cancer by becoming immunocytes activity and by cytotoxicity of cancer cells.

Key words : Gungguitakli-San, Anti-Cancer, L1210, S-180

1. 서론

교신저자: 박용호, 광주광역시 남구 월산동 377-13번지
동신대학교 부속한방병원 안이비인후피부과교실
(E-mail: yakiseka@paran.com)
· 접수 2006/02/23 · 수정 2006/03/13 · 채택 2006/03/21

芎歸托裏散은 宋 楊士瀛의 《直指方》¹⁾에 최초
記載된 處方으로써 托裏排膿散肌하며, 川芎 當歸

白芍藥 木香 白芷 茯苓 人參 辣桂 丁香 甘草로 구성되어 癰疽에 사용한다²⁾.

癰疽는 《內經·靈樞》³⁾ 癰疽篇에서 “疽者 上之皮天以堅 狀如牛領之皮, 癰者 其上皮薄以澤 此其候也” 라 하였으며 病因은 營氣가 經脈에서 停滯되어 循行하지 못하고 衛氣도 따라 疏通하지 못하는 병이라 하였고, 宋代 《衛濟寶書》⁴⁾에서 癰이 최초로 언급된 이후 癰疽를 炎症性 疾患이나 腫瘍性 腫塊, 즉 癰과 有關하다 認識하였다.

최근 처방을 활용한 항암 효과 연구가 활발히 진행되고 있는데, 消積保中丸⁵⁾, 桃紅四物湯⁶⁾ 등의 처방을 투여하여 종양의 성장 억제, 암세포의 세포 독성 완화, 항암제 부작용 완화 등에 서로 연관성이 있음을 보고하였으며, 그 외에 《東醫寶鑑》²⁾ 癰疽篇에서 癰疽에 활용한 內托活命飲⁷⁾, 內托羌活湯⁸⁾, 托裏散⁹⁾, 內消沃雪湯¹⁰⁾ 등의 처방을 투여한 실험 연구에서도 암세포에 세포 독성 및 면역세포 활성화에 유효한 효과가 있다는 보고가 있었으나 芎歸托裏散에 관한 연구가 없었다.

이에 急性白血病細胞인 L1210 細胞柱와 固形癌 및 腹水를 유발하는 S-180 細胞柱를 이용하여 芎歸托裏散의 항암작용 및 면역증강 작용을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용한 芎歸托裏散은 《東醫寶鑑》²⁾에 준하였으며, 동신대학교 부속광주한방병원에서 구입한 후 본초학교실에서 정선을 받아 사용하였다. 실험에 사용한 처방의 내용과 분량은 다음과 같다 (Table I)¹¹⁾.

Table I. Prescription of Gungguitakli-San (GTS)

韓藥名	生藥名	用量(g)
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	4.8
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	4.8
白芍藥	<i>Paeoniae Radix Alba</i>	4.8
白茯苓	<i>Poria Cocos</i>	4.8
木香	<i>Aucklandiae Radix</i>	4.8
白芷	<i>Angelicae Dahuricae Radix</i>	4.8
人參	<i>Ginseng Radix</i>	2.8
肉桂	<i>Cinamomi Cortex</i>	2.8
丁香	<i>Flos Caryophylli</i>	2.8
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2.8
Totality		37.2

2) 세포주

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

3) 동물

본 실험에 사용한 동물은 balb/c 마우스와 ICR 마우스로 (주) 다물 사이언스에서 구입한 8 주령된 수컷이다. 온도 20±3 °C, 습도 55±5%, light/dark 12 hr의 사육조건에서 1 주일 이상 적응시켰으며 고품질 pellet 사료 (삼양주식회사, Korea)와 물을 자유 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), Brewer Thioglycollate Medium (TG, Difco 0236-17-7), Interferon-γ (IFN-γ, Sigma I6507) 등으로 특급시약을 사용하였으며, 기기로는 microplate reader (ELX800UV, U.S.A.), rotary

vacuum evaporator (EYELA, Japan) 등을 사용하였다.

2. 方法

1) 검액의 조제

芎歸托裏散 (Gungguitakli-San, GTS)의 2 첩 분량 (63.2 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 evaporator를 이용하여 감압 농축한 다음 freeze dryer로 동결 건조시켜 17.9 g (수득율 28.32%)을 얻어 검액으로 사용하였다.

2) 세포 배양조건

암세포주 (L1210 세포주, S-180 세포주)와 면역 세포 (흉선 세포, 비장 세포)의 배지로는 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 배지에는 10% FBS와 penicillin-streptomycin (100 units/ml, 100 µg/µl)을 첨가하였다. 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) 마우스의 흉선세포 및 비장세포의 분리

마우스의 흉선 및 비장 세포 분리는 Wysocki¹²⁾ 및 Mizel¹³⁾ 등의 방법을 이용하였다. Balb/c 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후 적출한 흉선 및 비장을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2 회 세척한 다음 10 ml 주사기로 조심스럽게 세포 부유액을 취하여 1,500 rpm에서 10 분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3 회 반복 세척한 후 흉선 및 비장 세포를 분리하였다.

4) MTT법에 의한 흉선 및 비장 세포의 증식율 측정

3) 과 같이 분리된 흉선 및 비장 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10^6 cells/ml 농도로 접종하여 흉선 세포에는 Concanavalin A (Con A) 5 µg/ml와, 비장 세포에는 Lipopolysaccharide (LPS) 5 µg/ml와 함께 다양하게 희석된 GTS의 농도 (1, 10, 100 µg/ml)를 100 µl씩 첨가한 후 37 °C의 CO₂ 배양기에서 48 시간 배양한다. 배양 종료 4 시간 전에 5 mg/ml 농도로 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(DPBS)-A에 희석된 MTT용액 20 µl를 각 well에 첨가하고 배양 종료시까지 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 흉선 및 비장 세포의 증식율을 백분율로 환산하였다.

5) MTT법에 의한 암세포 독성 측정

본 실험에 사용한 MTT법은 Mosmann¹⁴⁾이 개발하고 Kotnik¹⁵⁾ 등이 변형시킨 방법으로, 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100 µl (2×10^5 cells/ml)를 접종하여 37 °C의 CO₂ 배양기에서 24 시간 동안 배양한 후 농도별 (1, 10, 100 µg/ml)로 희석된 GTS 100 µl를 넣고 37 °C의 CO₂ 배양기에서 48 시간 배양한 다음 3)과 동일한 방법으로 세포 증식율을 측정하였다.

6) L1210 세포를 이식한 병태모델의 암세포 증식율 관찰

① 실험군

Balb/c 마우스 6 마리를 1 군으로 한 후 L1210 세포주를 2) 와 같이 계대 배양하여 1×10^6 cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 1.0

ml를 주사함으로써 암종을 유발시켰다. 실험군은 Control과 Sample 등으로 분류하였다. Control은 증류수 0.2 ml를, Sample A는 GTS 300 mg/kg 0.2 ml를, Sample B는 GTS 500 mg/kg 0.2 ml를, 각각 7 일 동안 투여하였다.

문용아의 논문도 수정해야 할 부분이 L1210 세포 이식시 복강에 1×10^6 cells/mouse로 주입했다고 전해주세요.

② 암세포 증식을 측정

6)-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 CO2 배양기에서 배양시켰다. 4 시간 후에 부착한 세포를 제거하고 부착하지 않은 세포를 모아 4 °C에서 1,500 rpm으로 5 분간 원심 분리하였다. 침전된 세포 분획을 모아 1×10^6 cells/ml로 조제하여 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100 μ l를 분주하고 배지 100 μ l를 채워 37 °C의 CO2 배양기에서 48 시간 배양하였다. 이식된 암세포의 증식율은 4)와 동일한 방법으로 측정하였다.

7) S-180 세포를 이식한 마우스의 체중, 고형암 무게의 변화 및 생존기간 측정

① 실험군

ICR 마우스 8 마리를 1 군으로 한 후 S-180 세포주를 2) 와 같이 계대 배양하여 2×10^6 cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 0.2 ml를 주사함으로써 암종을 유발시켰다. 실험군은 Control과 Sample 등으로 분류하였다. Control은 증류수 0.2 ml를, Sample A는 GTS 300 mg/kg 0.2 ml를, Sample B는 GTS 500 mg/kg 0.2 ml를, 각각 15 일 이상 투여하였다.

② 체중 및 고형암 무게의 변화

7)-①의 방법으로 유발시킨 다음 약제 투여 15 일 후 경추탈골시켜 도살한 마우스의 복강에 있는 고형암을 적출하여 전자저울을 이용하여 측정하였고, 체중은 복강암의 무게를 제외한 무게로 하였다.

③ 생존기간 연장효과

7)-①의 방법으로 유발시킨 다음 복강암이 유발되지 않은 경우는 생존기간 연장측정의 측도인 Median survive time 계산에서 제외하였고, Median survive time은 R.I. Geran¹⁶⁾ 등이 기술한 방법에 의하여 실시하였다.

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

X ; 생존수가 전체동물수의 1/2 이 되는 최초의 시간(일)
 Y ; 생존수가 전체동물수의 1/2 에서 1 일 뺀 최초의 시간(일)
 단, 전체동물의 수가 홀수인 경우는 Median survival time은 X/2가 된다.

3. 統計處理

통계처리는 Student's paired and/or unpaired t-test에 의하였으며, p-value가 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다¹⁷⁾.

III. 실험결과

1. GTS가 면역세포 증식율에 미치는 효과

흉선 세포 증식율과 비장 세포 증식율에 미치는 GTS의 효과를 알아보기 위하여 GTS를 각각 1 μ g/ml, 10 μ g/ml, 100 μ g/ml를 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 1).

GTS를 투여하지 않은 Control의 흉선 세포 증식율을 $100.00 \pm 0.02\%$ 라 하였을 때, GTS 1 μ g/

ml, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때의 증식율은 각각 $100.10 \pm 0.04\%$, $121.04 \pm 0.06\%$, $103.75 \pm 0.04\%$ 로 Control보다 증가하였으며, 10 $\mu\text{g/ml}$ 투여하였을 때만 유의성 ($P < 0.05$) 있었다. GTS를 투여하지 않은 Control의 비장 세포 증식율을 $100.00 \pm 0.04\%$ 라 하였을 때, GTS 1 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 $111.05 \pm 0.05\%$ 로 Control보다 증가되었으나 유의성은 없었고, GTS 10 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 $122.10 \pm 0.04\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.01$) 있게 증가되었으며, GTS 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 $101.21 \pm 0.02\%$ 로 나타났지만 유의성은 없었다.

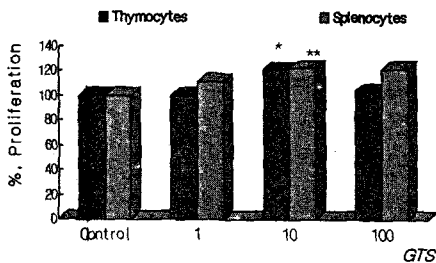


Fig. 1. Effects of GTS on the proliferation of thymocytes and splenocytes in vitro.

GTS ; Gungguitakli-san freeze dry powder, Control ; GTS non-treated group, 1, 10, 100 ; GTS 1.0 $\mu\text{g/ml}$, 10.0 $\mu\text{g/ml}$, 100.0 $\mu\text{g/ml}$ treated group.

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

2. GTS가 암세포주에 미치는 세포독성 효과

L1210 세포주와 S-180 세포주에 미치는 GTS의 세포독성 효과를 알아보기 위하여 GTS를 각각 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 2).

GTS를 투여하지 않은 Control의 L1210 세포주 증식율을 $100.00 \pm 0.02\%$ 라 하였을 때, GTS 1 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 $85.37 \pm 0.05\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.01$) 있게 감소되었고, GTS를 10 $\mu\text{g/ml}$

ml, 100 $\mu\text{g/ml}$ 로 투여하였을 때는 각각 $88.74 \pm 0.02\%$ 와 $87.13 \pm 0.02\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.001$) 있게 세포 독성을 나타내었다.

GTS를 투여하지 않은 Control의 S-180 세포주 증식율을 $100.00 \pm 0.03\%$ 라 하였을 때, GTS 1 $\mu\text{g/ml}$ 와 10 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 $88.10 \pm 0.02\%$ 와 $82.50 \pm 0.05\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.01$) 있게 감소되었고, GTS 100 $\mu\text{g/ml}$ 로 투여하였을 때도 $83.00 \pm 0.02\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.001$) 있게 세포 독성을 나타내었다.

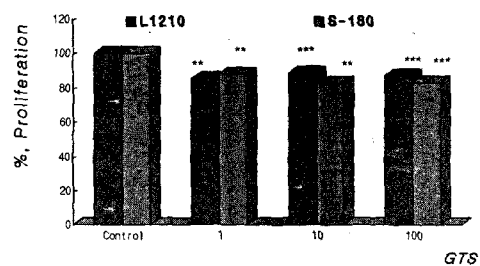


Fig. 2. Cytotoxicity of GTS on the L1210 cell lines and S-180 cell lines.

GTS ; Gungguitakli-san freeze dry powder, L1210 ; lymphocytic leukemia cell lines, S-180 ; sarcoma cell lines,

Other legends are the same as Fig. 1.

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

3. GTS가 L1210 세포 이식 마우스의 L1210 세포 증식에 미치는 효과

L1210 세포 (1×10^6 cells/mouse)를 이식한 마우스에서 L1210 세포 증식에 미치는 GTS의 효과를 알아보기 위하여 GTS 300 mg/kg, 500 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 3).

Control의 L1210 세포 증식율을 $100.00 \pm 0.02\%$ 라 하였을 때 Sample A의 L1210 세포 증식율은 $88.95 \pm 0.01\%$ 로 Control에 비하여 유의성 ($P < 0.001$) 있게 감소되었고, Sample B의 L1210

세포 증식율도 $95.14 \pm 0.01\%$ 로 Control에 비해 유의성 ($P < 0.05$) 있게 감소되었다.

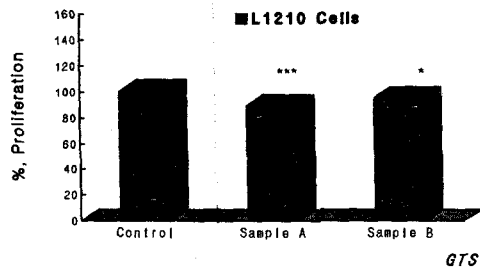


Fig. 3. Effects of GTS on the proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice.

L1210 cells (1×10^6 cells/mouse) transplanted to mice of all experimental group.

GTS ; Gungguitakli-san freeze dry powder, Control ; DDW 0.2 ml administered group for 7 days, Sample A ; GTS 300 mg/kg 0.2 ml administered group for 7 days, Sample B ; GTS 500 mg/kg 0.2 ml administered group for 7 days.

The present data were expressed as mean \pm SE of 6 samples.

* : P-value vs Control group

(* : $P < 0.05$, *** : $P < 0.001$).

4. GTS가 S-180 세포 이식 마우스의 체중 증가에 미치는 효과

S-180 (2×10^6 cells/mouse)을 세포를 이식한 마우스의 체중 증가에 미치는 GTS의 효과를 알아보기 위하여 GTS 300 mg/kg, 500 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 4).

Control의 체중 변화량 52.45 ± 2.04 g을 $100.00 \pm 0.04\%$ 라 하였을 때 Sample A의 체중증가는 $110.65 \pm 0.01\%$ 로 Control에 비해 유의성 ($P < 0.05$) 있게 증가되었고, Sample B의 체중증가도 $107.39 \pm 0.02\%$ 로 Control에 비해 유의성 ($P < 0.05$) 있게 증가되었다.

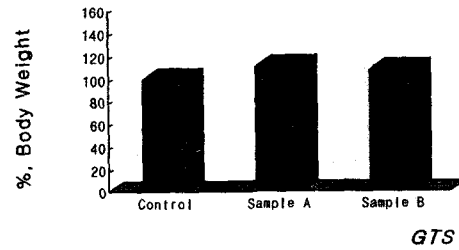


Fig. 4. Effects of GTS on body weight in S-180 cells transplanted mice

S-180 cells (2×10^6 cells/mouse) transplanted to mice of all experimental group.

GTS ; Gungguitakli-san freeze dry powder, Control ; DDW 0.2 ml administered group for 15 days, Sample A ; GTS 300 mg/kg 0.2 ml administered group for 15 days, Sample B ; GTS 500 mg/kg 0.2 ml administered group for 15 days.

The present data were expressed as mean \pm SE of 8 samples.

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

5. GTS가 S-180 세포 이식 마우스의 복강내 고형암세포 증식에 미치는 억제 효과

S-180 (2×10^6 cells/mouse)을 세포를 이식한 마우스에서 암세포의 증식 억제에 미치는 GTS의 효과를 알아보기 위하여 GTS 300 mg/kg, 500 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 5).

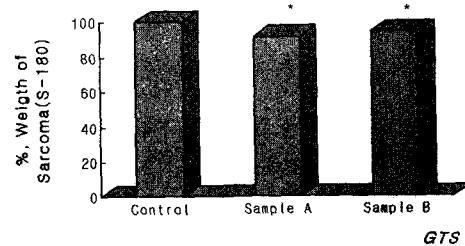


Fig. 5. Effects of GTS on Weight of Sarcoma in S-180 cells transplanted mice.

Other legends are the same as Fig. 4.

The present data were expressed as mean \pm SE of 8 samples.

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

Control의 암세포 무게 2.82 ± 0.09 g을 $100.00 \pm 0.03\%$ 라 하였을 때 Sample A의 증식율은 $91.15 \pm 0.03\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.05$) 있게 억제되었고, Sample B의 증식율도 $93.80 \pm 0.09\%$ 로 Control에 비해 유의성 ($P < 0.05$) 있게 억제되었다.

6. GTS가 S-180 세포 이식 마우스의 생존기간에 미치는 효과

S-180 (2×10^6 cells/mouse)을 세포를 이식한 마우스의 생존율에 미치는 GTS의 효과를 알아보기 위하여 GTS 300 mg/kg, 500mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 6).

Control의 생존기간 19.63 ± 0.71 일을 $100.00 \pm 0.04\%$ 라 하였을 때 Sample A와 Sample B의 생존율은 각각 $115.92 \pm 0.05\%$ 와 $111.47 \pm 0.06\%$ 로 Control에 비하여 유의성 ($P < 0.05$) 있게 증가되었다.

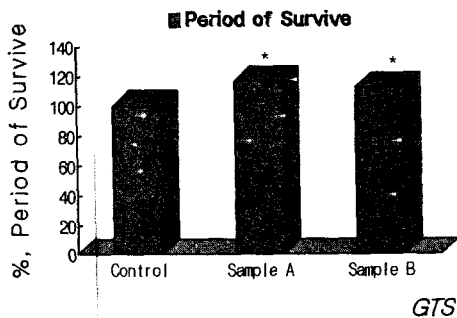


Fig. 6. Effects of GTS on Period of Survive in S-180 cells transplanted mice.

Control ; DDW 0.2 ml administered group more than 15 days, Sample A ; GTS 300 mg/kg 0.2 ml administered group more than 15 days, Sample B ; GTS 500 mg/kg 0.2 ml administered group more than 15 days.

Other legends are the same as Fig. 4.

The present data were expressed as mean \pm SE of 8 samples.

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

IV. 고 찰

癰疽는 《內經·靈樞》³⁾ 癰疽篇에서 癰과 疽로 分類하여 설명하고 있다. 火熱이 그치지 않고 熱升하고, 內腐하면 癰疽가 되는데 骨髓에 침범되지 않고 五臟에 손상이 없는 것을 癰이라 하고, 熱氣가 旺盛하여 肌肉과 筋髓가 말라서 五臟과 연락되어 血氣枯渴로 癰疽가 생겨 正常筋骨과 肌肉이 없는 것을 疽라 하였고, 病因은 營氣가 經脈에서 停滯되어 循行하지 못하고 衛氣도 따라 疏通하지 못해 발생한다고 하였다¹⁸⁾.

病理적인 側面에서 癰疽를 1171년 宋代 《衛濟寶書》⁴⁾에서 癰疽의 證治와 癰, 癩, 疽, 癩, 癰으로 나누었고 치료법으로 瘡潰法, 長肉法, 潰膿法, 打針法, 灸惡瘡法 등을 설명하였고, 또한 최초로 癰이라는 단어가 나타나며, 40세 이상의 여성에게 乳癰으로 3년 안에 사망한다는 언급도 있다. 《直指方》¹⁾에는 癰疽를 癰과 유사하다 보고 “上高下深, 巖穴之狀, 顆顆累垂, 毒根深藏, 穿孔透理”라 하여 癰腫의 특징을 중요하게 敘述하였다¹⁹⁾.

항후 癰疽는 炎症性 疾患이나 腫瘍性 腫塊, 즉 癰과 有關하다 認識하였고, 구체적으로는 癰은 淺表膿腫과 急性化膿性淋巴結核에 해당한다고 하였고 疽는 有頭疽의 경우 癰과 유사하며 蜂窩組織炎에 속하고 無頭疽는 化膿性骨髓炎과 化膿性關節炎 淋巴結核과 胸部結核에 속한다고 하였다²⁰⁾.

芎歸托裏散은 宋 楊士瀛의 《直指方》¹⁾에 최초로 記載된 處方으로써 托裏排膿散肌하며, 川芎 當歸 白芍藥 木香 白芷 茯苓 人參 辣桂 丁香 甘草로 구성되어 癰疽에 사용한다. 《東醫寶鑑》^{1,11)}에서는 《醫學入門》²¹⁾을 인용하여 托裏排膿生肌法에 사용하는 처방으로 “癰疽潰後 氣血大虛”가 우려될 때 사용하였다. 托裏法은 瘡疽, 結核, 癩癧 등이 오랫동안 제거되지 않아서 氣血이 점차 쇠퇴하여 肌肉이 寒冷해지고 膿汁이 淸稀해지며 毒氣가 빠지지 않고 瘡口가 닫히지 않으며 腫을 이루지 못할 때

쓰는 方法²²⁾으로 평소 氣血이 虛한 者, 陰陽이 不和한 者는 托裏하여야 한다고 한다. 이러한 托裏法은 《素問·評熱病論》³⁾에 “邪之所湊, 其氣必虛”이라 하여 ‘正氣’를 증강시키면서 종양, 즉 ‘邪氣’를 제거하는 방법으로 이는 한의학적으로 효과적인 항암치료법이라 생각되고, 치료약물중에서는 ‘正邪’를 고려하여 치료하는 한의학적 약물요법이 인체기능을 조화롭게 하는데 있어서 유효할 것으로 생각된다.

癌의 발생 기전은 다양하지만 그 중의 하나는 면역계통의 이상으로 변이세포가 발생했을 때 自己와 非自己를 구분하여 처리하는 능력이 상실되어 발생하는 경우가 있다. 면역은 인체의 恒常性을 유지하는 현상을 말한다. 림프구 계통의 면역계통 T cell은 혈액뿐만 아니라 말초 림프조직에도 존재하는 것으로 흉선의 T 전구세포로부터 성숙되어 세포성면역기능과 면역반응을 조절하며 이는 종양에 대한 면역반응과 유관하다. 또한 B cell은 혈액, 골수 및 림프조직에 분포하여 면역글로블린을 갖는다²³⁾.

현대 癌의 治療에 사용되는 化學的 藥물은 약 40여종에 이르고 있으나²⁴⁾ 완치를 보이는 경우는 없는 형편이며 副作用이 심한 약물이 대부분이다. 따라서 副作用이 없으면서 강력한 抗癌劑를 찾는 일이 무엇보다 중요한 일이다. 天然物로부터 이러한 항암제를 찾는 것은 세계적인 추세로 식물에 대한 임의적인 검색방법에 의해 *Vinca rosea*로부터 항암성분인 *vinblastin*, *vincristine* 이 분리된 것이 한 예이다²⁵⁾.

한약재를 이용하여 면역기능을 활성화시키면서 항암효과를 밝힌 연구중 鄭²⁶⁾은 內托羌活湯이 MCA와 3LL세포 및 S-180세포로 유도된 피하암종 세포에 대해 특이적 세포독성 및 면역조절작용에 있음을, 趙²⁷⁾ 등은 桃紅四物湯이 L1210세포의 증식 억제효과와 NO의 양이 증가하여 서로 연관성이 있음을, 高²⁸⁾는 膽癌動物의 생명기간 延長, T cell과 B cell의 증식, 血清抗體價(凝集素價, 溶血素價),

NK cell의 활성도를 관찰한 결과 膈下逐瘀湯과 膈下逐瘀湯合四君子湯이 항암효과가 있음을 보고하였다.

특히 《東醫寶鑑》^{2,11)}癰疽篇에 사용되는 처방에서 內托活命飲⁷⁾, 內托羌活湯⁸⁾, 托裏散⁹⁾, 內消沃雪湯¹⁰⁾등의 처방을 투여하여 종양의 성장 억제, 암세포의 세포독성 완화, 항암제 부작용 완화 등에 유효한 효과가 있다는 보고가 있었다. 그러나 芎歸托裏散의 실험적 연구를 아직 접하지 못하였기에 芎歸托裏散을 이용하여 항암작용 및 면역증강 작용을 관찰하고자 하였다.

芎歸托裏散이 흉선세포와 비장세포에 미치는 세포 증식율을 in vitro 관찰한 결과, 흉선 세포의 증식율은 중간농도 투여되었을 때 약 20% 이상 세포 증식율을 유의성 있게 증가시켰고, 비장 세포의 증식율에 있어서는 중간농도 투여시 약 22% 정도 유의성 있는 세포 증식을 나타내 芎歸托裏散은 비장 세포 즉, B-cell과 흉선세포, 즉 T-cell에 작용하여 면역력을 증진시키는 것으로 생각된다.

芎歸托裏散이 암세포주에 미치는 세포독성 효과를 관찰한 결과, L1210 암세포주에 본방을 투여할 때, 모든 농도에서 대조군에 비하여 12% 이상 유의성 있는 세포독성을 나타내었고, S-180 세포주 증식율에도 약 12% 이상의 유의성 있는 세포독성을 나타내었다. 이는 芎歸托裏散이 암세포주에 미치는 세포독성이 혈액암과 고형암에 모두 있음을 보여주는 결과라 생각된다.

L1210 세포가 이식된 마우스의 암세포 증식에 미치는 芎歸托裏散의 효과를 관찰한 결과 in vitro 상과 같이 본방은 고농도 투여시 10% 정도 유의성 있게 L1210 세포를 감소시켜 芎歸托裏散이 암세포주 세포독성에 관여하고 있음을 확인시켜 주었다.

芎歸托裏散이 고형암인 S-180 세포를 이식한 마우스의 체중과 고형암의 무게 및 수명에 미치는 효과를 관찰한 결과, 체중에 있어서 약 10%의 유의성 있는 증가를 보였고, 고형암의 무게는 7%정도의 유의성 있는 감소를 보여, 암의 크기는 줄이는

동시에 암으로 인한 체중의 감소도 막을 수 있음을 확인시켜 주었으며 마우스의 생존기간에 있어서도 약 12% 이상의 유의성 있는 증가를 보였다.

이상의 결과, 芎歸托裏散은 면역 기능의 촉진작용과 혈액암 및 고형암에 세포 독성을 통한 항암작용이 있는 처방으로 보이기 때문에 향후 이에 대한 연구가 더욱 진행된다면 臨床에서 癌腫 치료에 유효한 처방이 될 것으로 생각된다.

V. 결 론

芎歸托裏散의 항암작용에 미치는 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 芎歸托裏散은 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율을 유의성 있게 증가시켰다.
2. 芎歸托裏散은 L1210과 S-180 세포주에 대하여 유의성 있는 세포독성을 나타냈다.
3. 芎歸托裏散은 L1210 세포가 이식된 마우스의 L1210 세포의 증식율을 유의성 있게 억제하였다.
4. 芎歸托裏散은 S-180 세포가 이식된 마우스의 체중을 증가시키고, 고형암의 무게는 감소되었다.
5. 芎歸托裏散은 S-180 세포가 이식된 마우스의 생존기간을 연장시켰다.

참고문헌

1. 楊士瀛. 仁齊直指(中國醫學大系). 서울. 麗江出版社. 1987: 423-426.
2. 許浚. 東醫寶鑑. 서울. 南山堂. 1987: 541.
3. 裴乘哲. 黃帝內經 靈樞. 서울. 成輔社. 1992: 623-633.
4. 東軒居士. 衛濟寶書(中國醫學大系). 서울. 鼎談出版社. 1987: 817-818.
5. 노훈정 외. 消積保中丸의 항종양효과에 대한 실험적 연구. 韓方腫瘍學會誌. 1996: 2(1): 43-56.
6. 조영림 외. 桃紅四物湯이 L1210細胞가 이식된 마우스의 면역계에 미치는 효과. 大韓東醫病理學會誌. 1999: 13(1): 132-140.
7. 박세원. 三種 癰疽處方의 動物腹水癌 細胞에 대한 抗癌作用研究. 方劑學會誌. 1996: 4(1): 27-52.
8. 정현우 외. 중앙면역반응조절에 미치는 內托羌活湯의 항암 및 면역기능. 大韓東醫病理學會誌. 1997: 11(2): 81-91.
9. 유미경 외4인. 托裏散의 抗癌에 미치는 作用機轉 研究. 韓方眼耳鼻咽喉皮膚科學會誌 18(1). 2005: 71-81.
10. 고흥개 외4인. 內消沃雪湯의 抗癌效果. 韓方眼耳鼻咽喉皮膚科學會誌. 2005: 18(1): 82-93.
11. 許浚. 東醫寶鑑. 서울. 법민문화사. 1999: 1426.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Kotnic, V., Fleischmann, W.R.Jr. A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. *J.*

- Immunol. Methods*, 1990: 129(1) : 23-30.
16. Geran, R.I., Greenberg, N.H., Macdinald, M.M., Schumacher, A.M and Abbott, B.J. Protocol for screening chemical Agents and Natural products againsts Aniaml Tumors and ather Biological system(Third edition), Cancer chemotherapy Report, 1972: 48, 59.
 17. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods(6th ed), Iowa state Uni(ames), 1967.
 18. 顧伯康. 東洋醫學叢書(中醫外科學). 上海. 上海科學技術出版社. 1991: 63-64.
 19. 晋世芑 主編. 宋代醫家學術思想研究. 上海. 上海中醫學院出版社. 1993: 101-103.
 20. 顧伯華. 實用中醫外科學. 上海. 上海科學技術出版社. 1985: 79-81.
 21. 李挺. 醫學入門. 서울. 大星文化社. 1990: 216-219.
 22. 齊德之. 外科精義. 醫聖堂. 서울. 대전대학교 한의과대학 11기 졸업준비위원회. 1999: 60-61.
 23. 하대유 외. 免疫學. 서울. 고문사. 1994: 1-31.
 24. 유연숙 외. 인삼의 세포독성분획의 작용기전에 대한 연구. 한국생화학학회지. 13(4). 1980: 203-217.
 25. Irving S.Johnson, Plant Alkaloids. Cancer Medicine Halland, J.F. etc. Lea & Febriger. Philadelphia. 1974: 840-849.
 26. 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.
 27. 趙鈴林의 1인. 桃紅四物湯이 L1210세포가 이식된 마우스의 면역계에 미치는 효과. 東醫病理學會誌. 1999: 13(1): 132-140.
 28. 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. 1994: 9(1): 21-45.