

免疫細胞 및 腫瘍細胞에 미치는 加味十奇散의 效果

이명진 · 박수연 · 김종한 · 최정화
동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과교실

Effects of Gamisibgi-San on the Immunocytes and Cancer cell

Myung-jin Lee · Su-yeon Park · Jong-han Kim · Jung-hwa Choi

Objective : Gamisibgi-San was a drug that treated carbuncle and cellulitis. So, the purpose of this Study was to investigate effects of Gamisibgi-San on the anti-cancer and proliferation of immunocytes.

Materials and Method : We used Gamisibgi-San extract(GMSGs) with freeze-dried, 8wks-old male mice and cancer cell lines(L1210, S-180) for this Study. The cytotoxicity and proliferation of cells were tested using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay).

Results and Conclusion : The results of this Study were obtained as follow ;

1. GMSGs was significantly showed cytotoxicity on the L1210 cell lines and S-180 cell lines.
2. GMSGs was significantly increased in the proliferation of thymocytes and splenocytes in vitro.
3. GMSGs was significantly decreased in the proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice.
4. GMSGs was significantly decreased in the Weight of Sarcoma in S-180 cells transplanted mice.
5. GMSGs was significantly increased in the Period of Survive in S-180 cells transplanted mice.

The present author thought that GMSGs had action of anti-cancer by becoming immunocytes activity(proliferation of thymocytes and splenocytes).

Key words : Gamisibgi-San, Immunocyte, Cancer cell

1. 서 론

加味十奇散은 異名 固墨元帥이라고도 하며 《得效方》¹⁾에 최초 記載된 處方으로써 “治癰疽已成者” 하며, “當歸 桂心 人參 土芎 桔梗 香白芷 防

風 厚朴 甘草 乳香 沒藥” 로 구성되어 癰疽의 已成 未成에 關係없이 사용하는 처방이다.

癰疽란 人體 各 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 症狀이다²⁾. 癰疽에 대하여 《黃帝內經》³⁾靈樞·癰疽篇에서 天地運行的 異常이 人體에 影響을 미쳐, 寒邪가 人體의 血脈과 營衛의 循行을 阻害하면 癰腫이 생기고, 나아가 運行的 阻滯로 말미암아 내부에 熱이 생성되어 생기는 營衛循

교신저자: 이명진, 광주광역시 남구 월산동 377-13번지
동신대학교 부속한방병원 안이비인후피부과교실
(E-mail: annata00@hanmail.net)
·접수 2006/02/23 ·수정 2006/03/17 ·채택 2006/03/27

環에 관련된 病으로 정의하였고, 癰疽를 宋代《衛濟寶書》⁴⁾ 이후 病理的인 側面에서 炎症性 疾患이나 腫瘍性 腫塊, 즉 癰과 有關하다 認識하였다⁵⁾. 최근 면역기능을 활성화시키면서도 항암에 효과를 나타내는 연구들을 활발히 進行되고 있으며 그 中 癰疽에 사용되는 處方으로는 內托活命飲⁶⁾, 內托羌活湯⁷⁾, 托裏散⁸⁾, 內托沃雪湯⁹⁾ 등의 처방에 대한 연구가 있었다

이에 대한 실험적 연구의 일환으로 加味十奇散을 이용하여 항암작용 및 면역증강 작용을 관찰하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용한 加味十奇散은 《東醫寶鑑》¹⁰⁾에 準하였으며, 동신대학교 부속광주한방병원에서 구입한 후 본초학교실에서 정선을 받아 사용하였다. 실험에 사용한 처방의 내용과 분량은 다음과 같다 (Table I).

Table I. Prescription of Gamisibgi-San (GMSGs)

韓藥名	生藥名	用量(g)
當歸	Angelicae Gigantis Radix	4.0
肉桂	Cinamomi Cortex	4.0
人參	Ginseng Radix	4.0
黃芪	Astragali Radix	4.0
川芎	Cnidii Rhizoma	4.0
白芷	Angelicae Dahuricae Radix	4.0
防風	Ledebouriellae Radix	4.0
桔梗	Platycodi Radix	4.0
厚朴	Magnoliae Cortex	4.0
甘草	Glycyrrhizae Radix	4.0
乳香	Olibanum	4.0
沒藥	Myrrha	4.0
Totally		48.0

2) 세포주

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

3) 동물

본 실험에 사용한 동물은 balb/c 마우스와 ICR 마우스로 (주) 다물 사이언스에서 구입한 balb/c계 8 주령된 수컷을 온도 20±3 °C, 습도 55±5%, light/dark 12 hr의 사육조건에서 1 주일 이상 적응시키면서 고품질 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), 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. 방법

1) 검액의 조제

加味十奇散 (Gamisibgi-San, GMSGs)의 2 첩 분량 (96.0 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 22.9 g (23.85%)을 얻어 검액으로 사용하였다.

2) 세포 배양조건

암세포주 (L1210 세포주, S-180 세포주)와 면역세포 (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) MTT법에 의한 암세포 독성 측정

본 실험에 사용한 MTT법은 Mosmann¹¹⁾이 개발하고 Kotnik¹²⁾ 등이 변형시킨 방법으로, 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100 µl (2×10⁵ cells/ml)를 접종하여 37 °C의 CO₂ 배양기에서 24 시간 동안 배양한 후 농도별 (1, 10, 100 µg/ml)로 희석된 GGTS 100 µl를 넣고 37 °C의 CO₂ 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 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 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

4) 마우스의 흉선세포 및 비장세포의 분리

마우스의 흉선 및 비장 세포 분리는 Wysocki¹³⁾ 및 Mizel¹⁴⁾ 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.

5) MTT법에 의한 흉선 및 비장 세포의 증식율 측정

4) 와 같이 분리된 흉선 및 비장 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10⁶ cells/ml 농도로 접종하여 흉선 세포에는 Concanavalin A (Con A) 5 µg/ml와, 비장 세포에는 Lipopolysaccharide (LPS) 5 µg/ml와 함께 다양하게 희석된 GMSG의 농도 (1, 10, 100 µg/ml)를 100 µl씩 첨가한 후 37 °C의 CO₂ 배양기에서 48 시간 배양한 다음 3) 과 동일한 방법으로 흉선 및 비장 세포의 증식율을 측정하였다.

6) L1210 세포를 이식한 병태모델의 암세포 증식율 관찰

① 실험군

Balb/c 마우스 8 마리를 1 군으로 한 후 L1210 세포주를 2) 와 같이 계대 배양하여 1×10⁶ cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 1.0 ml를 주사함으로써 암종을 유발시켰다. 실험군은 Control과 Sample 등으로 분류하였다. Control은 증류수 0.2 ml를, Sample A는 GMSG 500 mg/kg 0.2 ml를, Sample B는 GMSG 700 mg/kg 0.2 ml를, 각각 7 일 동안 동안 투여하였다.

② 암세포 증식율 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 증식은 3)과 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 GMSGs 300 mg/kg 0.2 ml를, Sample B는 GMSGs 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. Geran¹⁵⁾ 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-test¹⁶⁾에 의하였으며, p-value가 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다.

III. 실험성적

1. GMSGs가 in vitro 실험에서 암세포주에 미치는 세포독성 효과

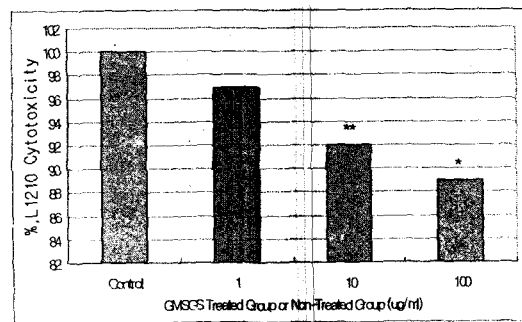


Fig. 1. Cytotoxicity of GMSGs on the L1210 cell lines. L1210 ; lymphocytic leukemia cell lines, GMSGs ; Gamisibgi-San freeze dry powder, Control ; GMSGs non-treated group, 1, 10, 100 ; GMSGs 1.0 μ g/ml, 10.0 μ g/ml, 100.0 μ g/ml treated group. * : P-value vs Control group (* : P<0.05, ** P<0.01).

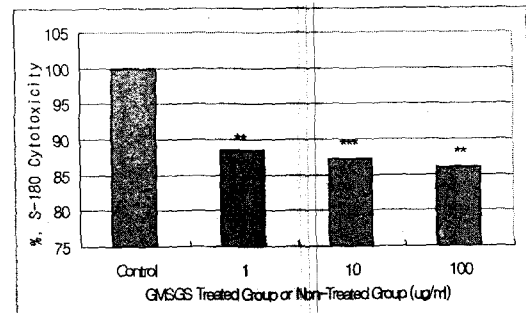


Fig. 2. Cytotoxicity of GMSGs on S-180 cell lines. S-180 ; sarcoma cell lines. Other legends are the same as Fig. 1. * : P-value vs Control group (** : P<0.01, *** P<0.001).

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

GMSGs를 투여하지 않은 Control의 L1210 세포주 증식율을 100.00 \pm 0.02%라 하였을 때, GMSGs 1 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 96.86 \pm 0.03 %로 Control보다 감소되었고, GMSGs를 10 $\mu\text{g/ml}$ 로 투여하였을 때는 91.99 \pm 0.02%로 Control 보다 유의성 (P < 0.01) 있게 감소되었고, 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 경우 88.96 \pm 0.04%로 Control보다 유의성 (P < 0.05)있게 세포 독성을 나타냈다.

GMSGs를 투여하지 않은 Control의 S-180 세포주 증식율을 100.00 \pm 0.01%라 하였을 때, GMSGs 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 각각 88.42 \pm 0.03%, 87.27 \pm 0.03%와 86.06 \pm 0.04%로 GMSGs 1 $\mu\text{g/ml}$ 와 100 $\mu\text{g/ml}$ 투여군에서 Control보다 유의성 (P < 0.01)있게 세포 독성을 나타냈으며 GMSGs 10 $\mu\text{g/ml}$ 투여군에서는 Control 보다 유의성 (P < 0.001)있게 세포 독성을 나타냈다.

2. GMSGs가 in vitro 실험에서 면역세포 증식에 미치는 효과

흉선 세포 증식율과 비장 세포 증식율에 미치는 GMSGs의 효과를 알아보기 위하여 GMSGs를 각각 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 3-4).

GMSGs를 투여하지 않은 Control의 흉선 세포 증식율을 100.00 \pm 0.01%라 하였을 때, GMSGs 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때의 증식율은 각각 114.27 \pm 0.05%, 110.49 \pm 0.05%, 100.69 \pm 0.04%로 Control보다 증가하였지만 GMSGs 1 $\mu\text{g/ml}$ 군에서만 유의성 (P < 0.5) 있게 증가하였다.

GMSGs를 투여하지 않은 Control의 비장 세포

증식율을 100.00 \pm 0.02%라 하였을 때, GMSGs 1 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 117.38 \pm 0.04%로 Control보다 유의성 (P < 0.01) 있게 증가되었고, GMSGs 10 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 110.26 \pm 0.06%로 Control보다 증가하였지만 유의성이 없었고, GMSGs 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 111.59 \pm 0.03%로 Control보다 유의성 (P < 0.5) 있게 증가하였다.

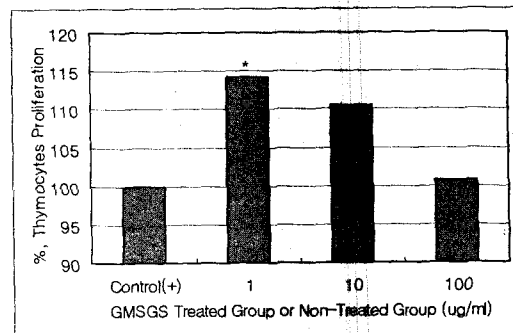


Fig. 3. Effects of GMSGs on the proliferation of thymocytes *in vitro*.

Other legends are the same as Fig. 1.

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

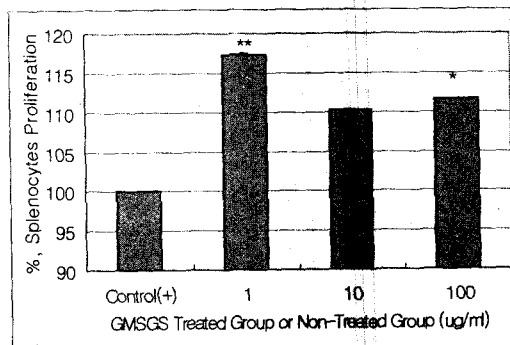


Fig. 4. Effects of GMSGs on the proliferation of splenocytes *in vitro*.

Other legends are the same as Fig. 1.

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

3. GMSGs가 L1210 세포 이식 마우스의 암세포 증식에 미치는 억제 효과

L1210 세포 (1×10^6 cells/mouse)를 이식한 후 암세포의 증식 억제에 미치는 GMSGs의 효과를 알아보기 위하여 Sample A, B 군으로 나누어 각각 GMSGs 300 mg/kg, 500mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 5).

Control의 암세포 증식율을 $100.00 \pm 0.01\%$ 라 하였을 때 Sample A의 증식율은 $83.54 \pm 0.02\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.001$) 있게 억제되었고, Sample B의 증식율도 $77.64 \pm 0.02\%$ 로 Control에 비해 유의성 ($P < 0.001$) 있게 억제되었다.

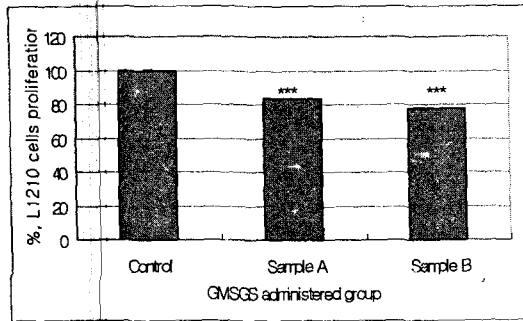


Fig. 5. Effects of GMSGs on the proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice.

L1210 cells (1×10^6 cells/mouse) transplanted to mice of all experimental group.
GMSGs ; Gamisibgi-San freeze dry powder, Control ; DDW 0.2 ml administered group for 7 days, Sample A ; GMSGs 300 mg/kg 0.2 ml administered group for 7 days, Sample B ; GMSGs 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 (*** : $P < 0.001$).

4. GMSGs가 S-180 이식된 마우스의 체중에 미치는 효과

S-180 (2×10^6 cells/mouse)을 이식한 후 마우스

의 체중에 미치는 GMSGs의 효과를 알아보기 위하여 GMSGs 300 mg/kg, 500 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 6).

Control의 체중을 $100.00 \pm 0.02\%$ 라 하였을 때 Sample A와 Sample B의 체중은 각각 $94.13 \pm 0.04\%$ 와 $88.91 \pm 0.02\%$ 로 Sample B에서 Control에 비하여 유의성 ($P < 0.01$) 있게 감소되었다.

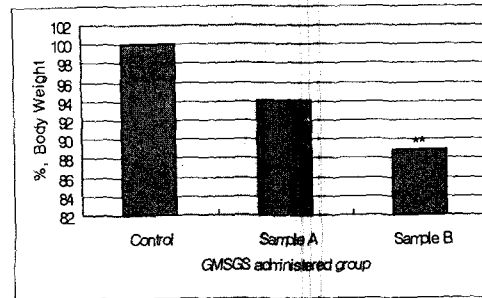


Fig. 6. Effects of GMSGs on the Body Weight in S-180 cells transplanted mice.

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

GMSGs ; Gamisibgi-San freeze dry powder, Control ; DDW 0.2 ml administered group for 15 days, Sample A ; GMSGs 300 mg/kg 0.2 ml administered group for 15 days, Sample B ; GMSGs 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 (** : $P < 0.01$).

5. GMSGs가 S-180 이식된 마우스의 고형암 억제에 미치는 효과

S-180 (2×10^6 cells/mouse)을 이식한 후 마우스의 고형암 억제에 미치는 GMSGs의 효과를 알아보기 위하여 GMSGs 300 mg/kg, 500 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 7).

Control의 고형암 무게를 $100.00 \pm 0.03\%$ 라 하였을 때 Sample A의 고형암 무게는 각각 $90.13 \pm 0.02\%$ 로 Control에 비하여 유의성 ($P < 0.05$) 있게 감소되었고, Sample B에서도 $84.30 \pm 0.04\%$ 로 Control에 비하

유의성 (P < 0.01) 있게 감소되었다.

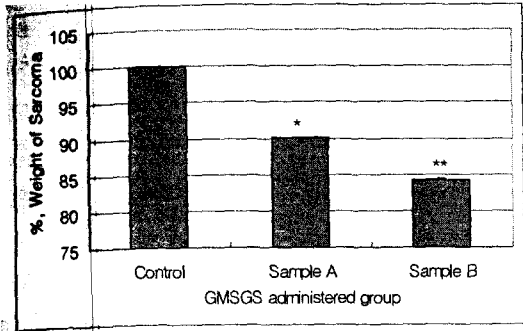


Fig. 7. Effects of GMSGs on the Weight of Sarcoma in S-180 cells transplanted mice.

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

Other legends are the same as Fig. 6.

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

* : P-value vs Control group (* : P<0.5, ** : P<0.01).

6. GMSGs가 S-180 이식된 마우스의 생존 기간에 미치는 효과

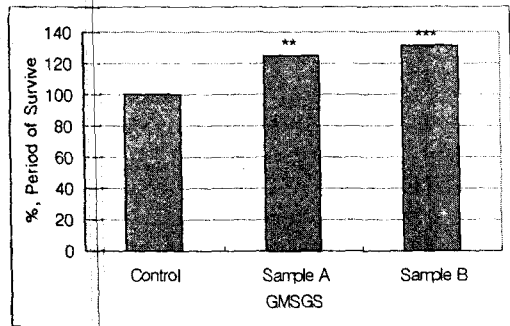


Fig. 8. Effects of GMSGs on the Period of Survive in S-180 cells transplanted mice.

Other legends are the same as Fig. 6.

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

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

S-180 (2×10⁶ cells/mouse)을 이식한 후 마우스의 생존 기간에 미치는 GMSGs의 효과를 알아보기 위하여 GMSGs 300 mg/kg, 500 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 8).

Control의 생존기간을 100.00±0.05%라 하였을 때 Sample A의 생존기간은 각각 126.66±0.04%로 Control에 비하여 유의성 (P < 0.01) 있게 증가되었고, Sample B에서는 130.82±0.03%로 Control에 비하여 유의성 (P < 0.001) 있게 감소되었다.

IV. 고 찰

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 症狀이다²⁾. 癰疽에 대하여 《黃帝內經》³⁾靈樞·癰疽篇에서 天地運行的 異常이 인체에 영향을 미쳐, 寒邪가 인체의 血脈과 營衛의 循行을 저해하면 癰腫이 생기고, 나아가 運行的 阻滯로 말미암아 내부에 熱이 생성되어 생기는 營衛循環에 관련된 病으로 정의하였고, 그 후 劉¹⁷⁾는 火熱·風濕之所乘에 의해, 李¹⁸⁾는 濕熱에 의해, 朱¹⁹⁾는 六氣·七情·熱勝血·陰滯·陽滯에 의해 발생된다 하였다. 癰疽를 宋代《衛濟寶書》⁷⁾이후 病理的인 側面에서 炎症性 疾患이나 腫瘍性 腫塊, 瘻癰과 有關하다 認識하였다⁹⁾.

최근에 한방적인 연구로는 강¹⁹⁾의 托裏消毒飲의 癰疽에 대한 연구에서 白鼠의 NO의 농도가 높아지고, iNOS 변화는 현저하게 낮아져 항염증 효과를 입증하였고, 金²⁰⁾은 奔豚丸合冬蟲夏草 抽出液으로 L1210, A431, Hep-G2 세포의 증식이 억제됨을 확인하였고, 특히 癰疽에 사용하는 처방을 이용한 실험으로는 內托活名飲⁶⁾, 內托羌活湯⁷⁾, 托裏散⁸⁾, 內消沃雪湯⁹⁾ 등의 처방에 대한 연구가 있었다. 하지만 加味十奇散에 대한 연구가 아직 없어 加味十奇散의 癌細胞에 대한 영향을 연구하고자 하였다.

加味十奇散은 宋 陳自明의 《得效方》¹⁾에 최초記載된 處方으로써 癰疽의 已成未成에 무방하게 사용하는 처방으로 異名인 固墨元帥는 “治癰發已成未成, 服內消藥三五日不效, 或年四十已上, 氣血衰弱, 成者速潰, 未成者速散, 服之瘡口合而止. 內能固濟, 去舊生新. 又名固墨元帥”이라 하여, 癰疽의 時機 상관없이 虛弱한 환자에서서 特効한 처방의 의미로 붙여졌다.

《東醫寶鑑》¹⁰⁾에서는 본 처방을 十宣散에 乳香, 沒藥이 추가된 처방으로 補氣補血과 消腫이 적절히 배합된 처방이다 하였다. “當歸 桂心 人參 黃芪 土芎 桔梗 香白芷 防風 厚朴 甘草 乳香 沒藥”된 약물 구성은 《得效方》¹⁾, 《醫部全錄》²¹⁾에서는 黃芪가 빠져있는데, 《東醫寶鑑》¹⁰⁾에서는 黃芪가 첨가되어 있으며 黃芪는 溫無毒甘하며 “生用則益胃固表 利水消腫 托毒 生氣 治自汗 盜汗 血痺 浮腫 癰疽”, “灸用則補中益氣 治內傷勞倦 脾虛泄瀉 脫肛 氣虛血脫 崩帶 一切氣衰血虛之證”²²⁾라 하여 氣血虛弱의 의미를 더욱 확고히 하였으며 이는 처방의 意義에 부합되리라 사료된다.

黃芪에 대한 최근 연구로는 이²³⁾에 의해 암의 예방효과가 있는 항산화 효과와 김²⁴⁾에 의해 COX-2 활성 억제 효과등으로 항암 효과가 있다는 것을 밝혀졌고 또한 전²⁵⁾에 의해 항암화학요법의 병용에 대한 효과도 밝혀져 있으며, 황기에 대한 면역학적 실험으로는 송²⁶⁾의 면역세포 활성화 기능 등에 대한 연구가 있어 이러한 연구를 보더라도 加味十奇散에 黃芪를 첨가한 처방을 사용함이 유효하다 하겠다.

본 실험에서 癌에 있어 함께 발생하는 免疫力의 결핍에 미치는 영향을 함께 알아보는 실험도 병행하였다. 면역세포로는 흉선세포와 비장세포를 택하였다. 흉선세포는 중추성 림프 기관으로 직접적인 면역반응은 일어나지 않지만 말초성 림프 기관들의 발육을 촉진하며 immature thymocytes 를 T 림프구로 분화하여 혈액으로 배출하는 역할을 하고, 비

장세포는 말초성 림프 기관으로 백색수질에서 림프구를 생산하여 면역작용을 한다²⁷⁾. 이러한 비장세포와 흉선세포는 apoptosis와 sub-population을 통해 항암제의 조정작용이 있다는 보고²⁸⁾가 있지만 기전은 명확하지 않다.

加味十奇散이 면역 세포에 미치는 세포 증식율을 관찰한 결과를 in vitro상, 흉선 세포의 증식율은 加味十奇散을 저농도로 투여하였을 때 유의성 있게 14% 이상 세포 증식율이 증가되었고, 비장 세포에서도 加味十奇散을 저농도로 투여했을 때 비장세포의 증식율이 17%이상 유의성 있게 증가되었음을 볼 수 있었다. 이는 흉선세포와 비장세포를 모두 활성화 시킴을 알 수 있었다.

L1210 암세포주와 S-180 암세포주에 미치는 세포독성 효과를 관찰한 결과, in vitro상, L1210 암세포주에 加味十奇散을 투여했을 때, 고농도에서 저농도보다 유의성 있게 감소되었고 고농도에서는 대조군에 비해 12% 이상 유의성 있는 세포독성을 나타내었으며, 저농도에 비해 약 10%이상의 세포독성이 뚜렷하게 나타났다. S-180 세포주에 加味十奇散을 투여했을 때에는 모든 농도에서 세포독성이 약 12% 이상을 나타내 암세포에 대한 세포 독성은 혈액암과 고형암에 모두 유의성 있음을 알 수 있었다.

In vitro상, L1210 세포를 이식한 병태모델에 加味十奇散을 투여하여 L1210의 세포 증식율을 관찰한 결과에서는 고농도에서 L1210 세포 증식율이 대조군에 비해 23%정도 감소되었으며, 이는 저농도보다 증식율 억제 효과가 있음을 나타내었다. 이는 in vivo 실험에서도 L1210 세포에 본방이 유의한 항암 효과를 갖고 있는 것으로 생각된다.

加味十奇散은 이상과 같이 암세포에 세포독성을 갖고 있으며, 면역세포의 증식을 증가시키는 효과를 갖는 것으로 생각되어, 癰疽와 유사한 S-180 세포를 이식하여 圓形癰을 발생시킨 마우스에 미치는 본방의 효과를 관찰하였다.

S-180 세포가 이식된 마우스에 본방을 투여한

결과 저농도 투여시 대조군에 비해 체중은 6% 감소하였고, 圓形癌의 무게는 대조군에 비해 10% 감소하여 圓形癌의 크기와 함께 체중도 감소하는 효과를 나타냈고, 고농도 투여시에는 체중은 12% 감소하고 고형암은 16% 감소하여 고농도 투여시 圓形癌의 크기 감소와 체중감소가 커짐을 알 수 있었다. 이는 加味十奇散의 투여로 圓形癌의 크기가 감소되는 동시에 체중도 함께 감소되는 효과가 있어 향후 이에 대한 연구가 진행이 필요하리라 생각된다.

加味十奇散투여시 마우스의 생존기간에 미치는 영향은 고농도 투여시 대조군에 비해 약 30%의 생존기간이 연장되었으며 이는 저농도에 비해 약 6% 이상 높은 것으로 고농도에서 유효성 있는 생존기간 연장효과가 있을 것으로 생각되어진다.

V. 결 론

加味十奇散의 항암작용에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 加味十奇散은 L1210 세포주와 S-180 세포주에 대하여 유의성 있는 세포독성을 나타냈다.
2. 加味十奇散은 흉선 세포 및 비장 세포의 증식을 유의성 있게 증가시켰다.
3. 加味十奇散은 L1210 세포주를 이식한 마우스의 L1210 세포의 증식을 억제 하였다.
4. 加味十奇散은 S-180이 이식된 병태모델에서 고형암의 무게를 감소시켰다.
5. 加味十奇散은 S-180이 이식된 병태모델에서 생존기간을 연장시켰다.

이상의 결과, 加味十奇散은 면역 기능의 촉진하고 암세포의 증식을 억제하여 항암작용을 나타낸 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 陳自明, 世醫得效方, 편집부, 서울, 醫聖堂, 1990: 4.
2. 張介賓, 景岳全書, 서울, 圖書出版 한미의학, 2006: 2175-2203.
3. 裴乘哲, 黃帝內經 靈樞, 서울, 成輔社, 1992: 262, 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. 陳無擇, 三因論, 서울, 翰成社, 1977: 525-526.
6. 박세원, 三種 癰疽處方的 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.
7. 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.
8. 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, 2005: 18(1): 71-81.
9. 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.
10. 許浚, 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, 1987: 541.
11. 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.
12. 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.
13. 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.

14. 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.
15. Geran, R.I., Greenberg, N.H., Macdinald, M.M., Schumac -her, 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*, 1979: 48, 59.
16. Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical Methods*(6th ed). Iowa state Uni(ames), 1967.
17. 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.
18. 李東垣. 東垣十種醫書. 서울. 大成文化社. 1994: 532-533.
19. 강호건 외. The anti-Inflammatory Effects of Tarisodok-eum in Ong-juh, Department of Molecular Biology. *대한한의학회지*. 2000: 21(1): 45-52.
20. 김양중 외. 奔豚丸合冬蟲夏草 抽出液이 癌細胞 柱 및 Li210細胞가 移植된 마우스의 免疫系에 미치는 影響. *원광대학교 한의과대학 내과학교실. 대한침구학회지*, 1999: 16(3): 405-421.
21. 醫部全錄. 서울. 金泳出版社. 1979: 6245.
22. 本草學教授 共編. 本草學. 서울. 永林社. 1998: 534.
23. 이춘영 외1인. 黃芪추출물의 항산화 효과. 농업과학연구소. 강원대학교 농업과학연구소. 2004.
24. 김은정 외3인. 黃芪의 COX-2 활성 억제 효과. *생약학회지. 한국생약학회*. 2001.
25. 전병훈. 黃芪가 항암화학요법제로 유발된 세포독성에 미치는 영향. *대한동의병리학회. 동의병리학회지*. 1998.
26. 송봉근 외5인. 黃芪가 免疫細胞의 機能에 미치는 영향. *대한분초학회. 대한분초학회지*. 1988.
27. 고희광 외. 개정판 면역학. 서울대학교출판사. 1991: 9-11.
28. Fisher TC, Milner AE, Gregory CD, Jackman AL, Aheme GW, Hartley JA, et al. Bcl-2 modulation of apoptosis induced by anticancer drugs : resistance to thymidylate stress is independent of classical resitance pathways. *Cancer Res*. 1993: 53: 3321-3326.