

托裏和中湯이 癌細胞 및 免疫細胞에 미치는 實驗的 效果

이준현 · 박수연 · 김종한 · 최정화
동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과교실

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

Jun-hun Lee · Su-yeon Park · Jong-han Kim · Jung-hwa Choi

Objective : The purpose of this study was to investigate effects of Taklihwajung-Tang on the proliferation of cancer cells and immunocytes focusing around combined effects of anticarcinogen.

Materials and Method : We used Taklihwajung-Tang extract(THT) with freeze-dried, 8wks-old male balb/c mice and cancer cell lines(L1210, S-180) for this study. The proliferation of cells was tested using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay).

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

1. THT was significantly showed cytotoxicity on the L1210 cell lines and S-180 cell lines.
2. THT was significantly increased in the proliferation of thymocytes and splenocytes *in vitro*.
3. In combined effects of THT and vincristine(0.005mg/kg), THT was significantly inhibited proliferation of S-180 cell lines compared with positive control group.
4. In combined effects of THT and vincristine(0.005mg/kg), THT was significantly decreased in the weight of sarcoma compared with positive control group.
5. In combined effects of THT and vincristine, THT was significantly inhibited the hematological side reaction compared with positive control group.

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

Key words : Taklihwajung-Tang, Cancer Cell, Immunocyte

1. 서 론

교신저자: 이준현, 광주광역시 남구 월산동 377-13번지
동신대학교 부속한방병원 안이비인후피부과교실
E-mail: sr9206@haumail.net
· 접수 2006/02/23 · 수정 2006/03/17 · 채택 2006/03/27

托裏和中湯은 “瘡瘍中氣虛陽”을 치료하는 處方
으로 “人參 白朮 黃芪 白茯苓 乾薑 陳皮 半夏 木
香 甘草 生薑 大棗”로 구성되어 있으며 “癰疽潰

後 氣虛飲食少思 或嘔吐 泄瀉 俱不收斂” 에 쓰는 처방이다¹⁾.

癰疽는 瘡腫 중에서 가장 심한 것으로 腫脹의 大小, 陰陽, 內外, 虛實들로 癰疽를 구분하였다²⁾.

《黃帝內經》³⁾ 靈樞·癰疽篇에서는 肌肉이나 피부에 함몰되지 않고 骨髓가 마르지 않고 五臟도 상하지 않는 것을 癰이라 하고, 熱이 몹시 나서 肌肉이 꺼져 들어가고 皮膚와 筋 및 骨髓가 마르며 속으로는 五臟까지 미치고 血氣가 줄어들어 癰腫의 내면은 筋骨까지 良肉이 없는 것을 疽라고 하였다.

동양의학의 癰疽는 서양의학의 炎症性疾患과 腫瘍疾患에 해당하며⁴⁾, 따라서 癰疽에 사용되는 處方이나 藥物을 이용하여 항종양 실험이 이루어지고 있다. 특히 서양의학의 항암제에 의한 화학요법은 암종에 대한 감수성 이상, 치료 후의 부작용, 재발 및 합병증 등의 문제점을 안고 있다⁵⁾. 이러한 문제점을 해결하기 위해 부작용이 적은 새로운 항암제의 개발, 항암성을 나타내는 천연물질에 대한 연구, 새로운 약제학적인 연구⁶⁾ 등이 시도되고 있으며, 최근 처방을 통한 항암제 부작용 억제 효과에 대한 연구로는 消癥祛痰益氣湯⁷⁾, 加味十全大補湯⁸⁾, 八珍湯加減方⁹⁾, 健脾益氣湯¹⁰⁾ 등의 예가 있었다.

이에 저자는, 癰疽가 서양의학적으로 癌과 관련이 있으며, 癌에 한약과 항암제 병용했을 때, 癰腫에 대한 효과를 배가시키고, 이와 동시에 부작용을 감소시키는데 대하여 알아보고자 托裏和中湯과 vincristine을 병용 부여한 결과 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용한 托裏和中湯은 《東醫寶鑑》¹⁾에 준하였으며, 동신대학교 부속광주한방병원에서 구

입한 후 본초학교실에서 정선을 받아 사용하였다. 실험에 사용한 처방의 내용과 분량은 다음과 같다 (Table I).

Table I. Prescription of Taklihwajung-Tang (THT)

Herbal Name	Quantity(g)
人參 Ginseng Radix	6.0
白朮 Rhizoma Atractylodis Macrocephalae	6.0
黃芪 Astragali Radix	4.0
白茯苓 Poria Cocos	4.0
乾薑 Zingiberis Rhizoma	4.0
陳皮 Pericarpium Citri Reticulatae	4.0
半夏 Rhizoma Pinelliae	4.0
生薑 Zingiberis Rhizoma Recens	4.0
大棗 Jujubae Fructus	4.0
木香 Aucklandiae Radix	2.0
甘草 Glycyrrhizae Radix	2.0
Totality	44.0

2) 세포주

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

3) 동물

본 실험에 사용한 마우스는 (주) 다물 사이언스에서 구입한 balb/c계와 ICR계 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 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) 등으로 특급시약을 사용하였으며, 기기로는 Microplate reader (ELX800UV, U.S.A.) 등을 사용하였다.

2. 方法

1) 檢액의 調整

托裏和中湯 (Taklihwajung-Tang, THT)의 2 컵 분량 (88.00 g)을 1,500 ml 증류수로 상온에서 100 °C 2 시간동안 전탕한 다음 이 추출액을 1,500 rpm으로 30 분 원심분리기 (VS 6000CFN, vision, Korea)로 원심 분리하여 상청액을 얻었다. 그 후 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)를 이용하여 감압 농축한 다음 freeze dryer로 동결 건조시켜 15.2 g을 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 Mosmann¹¹⁾이 개발하고 Kotnik¹²⁾ 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 THT 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 흉선 세포 및 비장 세포의 분리

마우스의 흉선 및 비장 세포 분리는 Wysocki¹³⁾ 및 Mizel¹⁴⁾ 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 조심스럽게 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 증식율 측정

4) 와 같이 분리된 흉선 및 비장 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10^6 cells/ml 농도로 접종하여 흉선 세포에는 Con A 5 µg/ml와, 비장 세포에는 LPS 5 µg/ml와 함께 다양하게 희석된 THT의 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) 암세포주 대한 vincristine의 IC50 측정

암세포주의 증식을 50% 억제할 수 있는 vincristine의 농도 (IC₅₀)를 구하기 위해 각 well에 L1210 암세포주를 2×10^5 cells/ml로 접종하고 24

시간동안 배양한 후 vincristine을 다양한 농도로 암세포주에 처리하여 3)과 동일한 방법으로 IC₅₀을 계산하였다.

7) 세포 증식에 미치는 THT와 항암제 병용 처리 효과 측정

각각의 암세포에 미치는 THT와 항암제의 병용 처리 효과를 알아보기 위하여 각 well에 암세포를 2×10⁵ cells/ml 농도로 접종하고 24 시간 배양한 후 다양한 농도의 THT와 vincristine의 IC₅₀ 농도 (5×10⁻⁶ g/ml)를 병용 처리하여 3)과 동일한 방법으로 측정하였다. 또한 면역 세포는 각 well에 1.0×10⁶ cells/ml 농도로 접종한 후 흉선 세포에는 Con A 5 µg/ml와, 비장세포에는 LPS 5 µg/ml와 함께 다양하게 희석된 THT의 농도 (1, 10, 100 µg/ml)와 vincristine의 IC₅₀ 농도 (5×10⁻⁶ g/ml)를 병용 처리하여 3)과 동일한 방법으로 측정하였다.

8) S-180 암세포를 이식 마우스의 항암제 병용 투여시 항암 및 혈액 성상에 미치는 효과 측정

① 실험군

ICR 마우스 8 마리를 1 군으로 한 후 S-180 세포주를 2)와 같이 계대 배양하여 2×10⁶ cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 0.2 ml를 주입함으로써 암종을 유발시켰다. 항암제 vincristine 0.005 mg/kg은 실험개시 1 일 후 1 회 복강 주사하였다. 실험군은 15일 이상 증류수 0.2 ml씩을 투여한 Control, 15일 이상 THT 300 mg/kg 0.2 ml씩을 투여한 Sample A, 항암제 투여와 함께 15일 이상 THT 500 mg/kg 0.2 ml씩을 투여한 Sample B으로 분류하였다.

② 고형암 무게의 변화

8)-①의 방법으로 유발시킨 다음 약제 투여 15 일 후 경추탈골시켜 도살한 마우스의 복강에 있는 고형암을 적출하여 전자저울을 이용하여 측정하였다.

③ 생존기간 연장효과

8)-①의 방법으로 유발시킨 다음 복강암이 유발 되지 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.

④ 혈액상의 변화

8)-①의 방법으로 유발시킨 다음, 혈액의 채취는 약물 투여 15 일 후 단두시켜 얻었다. 혈구수 (WBC, RBC), Hemoglobin 및 혈소판수는 Fonio¹⁶⁾법에 준하여 Hema Vet 5로 측정하였다.

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. THT가 암세포주에 미치는 세포독성 효과

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

THT를 투여하지 않은 Control의 L1210 세포주 증식율을 100.00±0.02%라 하였을 때, 1 µg/ml 투여시 84.65±0.04%로 유의성 (P<0.01)있게 감소하

였고, 10 $\mu\text{g/ml}$ 투여시 $85.97 \pm 0.03\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.001$)있게 감소하였고, 100 $\mu\text{g/ml}$ 투여시 $98.19 \pm 0.03\%$ 로 감소하였으나 유의성은 없었다.

THT를 투여하지 않은 Control의 S-180 세포주 증식율을 $100.00 \pm 0.01\%$ 라 하였을 때, THT 1 $\mu\text{g/ml}$ 투여시 $89.80 \pm 0.03\%$ 로 유의성 ($P < 0.01$)있게 감소하였고, 10 $\mu\text{g/ml}$ 투여시 $94.18 \pm 0.03\%$ 로 감소하였으나 유의성은 없었고, 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 $89.41 \pm 0.02\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.001$) 있게 감소되었다.

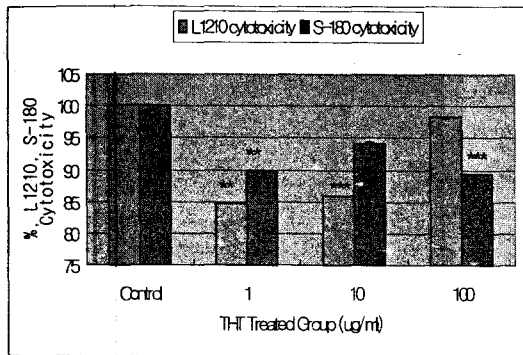


Fig. 1. Cytotoxicity of THT on the L1210 cell lines and S-180 cell lines.

L1210 ; lymphocytic leukemia cell lines, S-180 ; sarcoma cell lines,

THT ; Taklihwajung-Tang freeze dry powder, Control ; THT non-treated group, 1, 10, 100 ; THT 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 (** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$).

2. THT가 면역세포 증식율에 미치는 효과

흉선 세포 증식율과 비장 세포 증식율에 미치는 THT의 효과를 알아보기 위하여 THT를 각각 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 2).

THT를 투여하지 않은 Control의 흉선 세포 증

식율을 $100.00 \pm 0.02\%$ 라 하였을 때, THT 1 $\mu\text{g/ml}$ 투여하였을 때는 $111.07 \pm 0.01\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.05$)있게 증가되었고, 10 $\mu\text{g/ml}$ 투여시 $107.79 \pm 0.04\%$ 로 증가하였지만 유의성이 없었고, 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 $89.95 \pm 0.05\%$ 로 감소하였고 유의성은 없었다.

THT를 투여하지 않은 Control의 비장 세포 증식율을 $100.00 \pm 0.02\%$ 라 하였을 때, THT 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 각각 $129.41 \pm 0.30\%$ ($P < 0.05$), $117.22 \pm 0.04\%$ ($P < 0.01$), $122.35 \pm 0.04\%$ ($P < 0.01$)로 Control보다 유의성 있게 증가되었다.

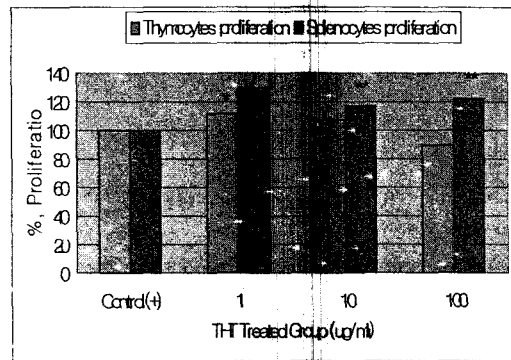


Fig. 2. Effects of THT on the proliferation of thymocytes and splenocytes in vitro.

Other legends are the same as Fig. 1.

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

3. THT가 암세포 증식율에 미치는 항암제 병용투여 효과

암세포 (S-180 세포주, L1210 세포주)의 증식율에 미치는 효과를 관찰하기 위하여, THT 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 와 항암제 vincristine 5×10^{-6} g/ml를 병용 투여하였을 때 암세포의 증식 억제 효과는 다음과 같았다 (Fig. 3).

S-180 세포주의 경우, 항암제만을 투여한 Control

의 S-180 cell line의 증식율을 100.00±0.01%라 했을 때, THT 1 µg/ml와 항암제를 병용투여하였을 때의 증식율은 90.82±0.01%로 Control에 비하여 유의성 (P<0.001) 있게 감소되었으며, THT 10 µg/ml과 100 µg/ml을 항암제와 병용투여 하였을 때의 증식율도 각각 89.11±0.01%와 89.16±0.01%로 Control에 비해 유의성 (P<0.001) 있게 감소되었다.

L1210 세포주의 경우, 항암제만을 투여한 Control의 L1210 cell line의 증식율을 100.00±0.01%라 하였을 때, THT 1 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml를 항암제와 병용투여 하였을 때의 증식율은 각각 99.22±0.01%, 98.14±0.02%, 94.548±0.00%로 나타났고, THT 100 µg/ml를 투여했을 때에는 Control에 비해 유의성 (P<0.001) 있게 증식율이 감소되었다.

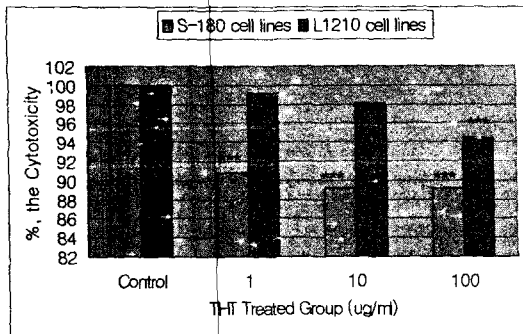


Fig. 3. The combined effects of THT and vincristine on the cytotoxicity of L1210 cell lines and S-180 cell lines.

Control ; vincristine 5×10⁻⁶ g/ml treated group. 1, 10, 100 ; THT 1.0 µg/ml, 10.0 µg/ml, 100.0 µg/ml and vincristine 5×10⁻⁶ g/ml treated group.

Other legends are the same as Fig. 1.

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

4. THT가 S-180 세포 이식 마우스의 복강암 무게에 미치는 항암제 병용 투여 효과

S-180 세포 (2×10⁶ cells/mouse)를 이식한 후

복강암에 미치는 효과를 알아보기 위하여 항암제 vincristine과 함께 THT을 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 4).

THT을 투여하지 않은 Control의 복강암 무게를 100.00±0.03 %라 하였을 때 THT을 투여한 Sample A와 항암제와 함께 THT을 투여한 Sample B의 복강암 무게는 각각 86.49±0.04%와 91.89±0.08%로 나타났고, Sample A의 복강암 무게가 Control에 비해 유의성 (P<0.05) 있는 감소를 나타내었다.

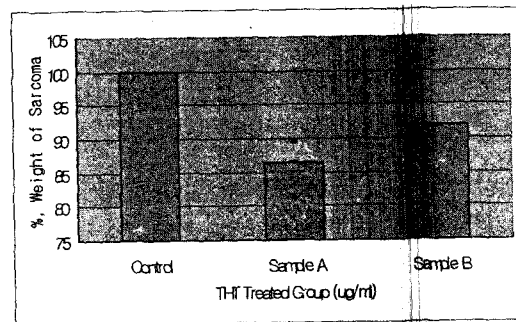


Fig. 4. The combined effects of THT and vincristine on the tumor weight in S-180 cells transplanted mice.

S-180 cells(2×10⁶ cells/mouse) transplanted to mice of all experimental group.

THT ; Taklihwajung-Tang freeze dry powder, Control ; DDW 0.2 ml administered group for 15 days, Sample A ; THT 300 mg/kg 0.2 ml administered group for 15 days, Sample B ; vincristine 0.005 mg/kg and THT 500 mg/kg 0.2 ml administered group for 15 days.

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

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

5. THT가 S-180 세포 이식 마우스의 생존기간에 미치는 항암제 병용 투여 효과

S-180 세포 (2×10⁶ cells/mouse)를 이식한 후 생존기간에 미치는 효과를 알아보기 위하여 항암제 vincristine과 함께 THT을 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 5).

Control의 생존기간을 $100.0 \pm 0.06\%$ 라 하였을 때, Sample A의 생존기간은 $103.74 \pm 0.04\%$ 로 증가되었지만, Sample B의 생존기간은 $99.46 \pm 0.06\%$ 로 나타났다.

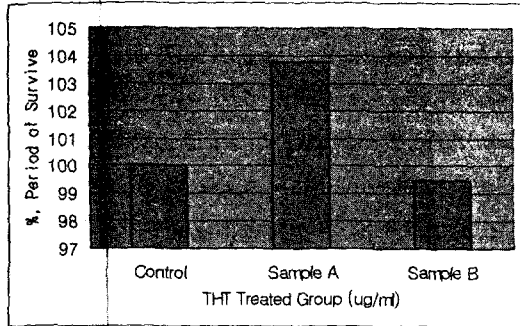


Fig. 5. The combined effects of THT and vincristine on the Period of Survival in S-180 cells transplanted mice.

Other legends are the same as Fig. 4. The present data were expressed as mean \pm SE of 8 samples.

6. THT가 S-180 세포 이식 마우스의 혈액 성분 변화에 미치는 항암 병용 투여 효과

S-180 세포 (2×10^6 cells/mouse)를 이식한 후 항암제 투여로 저하된 생체내 혈액상의 회복 효과를 알아보기 위하여 항암제 vincristine과 함께 THT를 투여한 후 WBC, RBC, HGB, PLT를 측정된 결과 다음과 같았다 (Fig. 6).

Control의 WBC 수치를 $100.0 \pm 0.05\%$ 라 하였을 때, Sample A의 WBC 수치는 $151.14 \pm 0.04\%$ 로 Control보다 유의성 ($P < 0.001$) 있게 증가되었고, Sample B의 WBC 수치도 $149.29 \pm 0.06\%$ 로 Control에 비하여 유의성 ($P < 0.001$) 있게 증가되었다.

Control의 RBC 수치를 $100.00 \pm 0.04\%$ 라 하였을 때, Sample A의 RBC 수치는 $148.97 \pm 0.03\%$ 이었고, Sample B의 RBC 수치도 $146.12 \pm 0.02\%$ 로 Sample A, B 모두 Control에 비하여 유의성

($P < 0.001$) 있게 증가되었다.

Control의 HGB 수치를 $100.00 \pm 0.06\%$ 라 하였을 때, Sample A의 HGB 수치는 $117.73 \pm 0.03\%$ 이었고, Sample B의 HGB 수치는 $114.31 \pm 0.02\%$ 로 나타나 Sample A에서만 Control에 비하여 유의성 ($P < 0.05$) 있게 증가되었다.

Control의 PLT를 $100.00 \pm 0.04\%$ 라 하였을 때, Sample A의 PLT는 $158.14 \pm 0.04\%$ 이었고, Sample B의 PLT는 $151.38 \pm 0.03\%$ 로 나타났고, Sample A, B 모두 Control에 비하여 유의성 ($P < 0.001$) 있게 증가되었다.

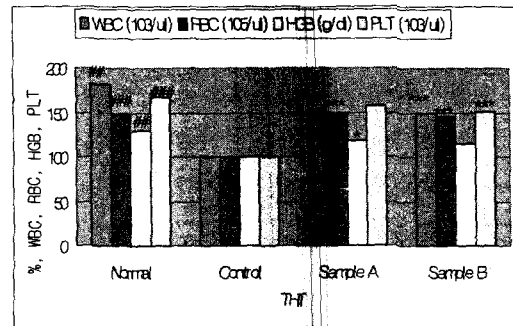


Fig. 6. The combined effects of THT and vincristine on the WBC, RBC, hemoglobin, platelet in S-180 cells transplanted mice.

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 (** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$).

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

IV. 고 찰

托裏和中湯을 《東醫寶鑑》¹⁾에서는 《醫學入門》¹⁸⁾을 인용하여 “治癰疽潰後 氣虛飲食少思 或嘔吐泄瀉 俱不收斂” 이라 하였다. 처방 구성은

“人參 白朮 黃芪 白茯苓 乾薑 陳皮 半夏 木香 甘草 生薑 大棗”로 되어있어 六君子湯에 黃芪 乾薑 木香 生薑을 加한 처방으로 “治脾土虛寒, 水反侮土, 以致飲食少思, 或嘔吐泄瀉等證”이라 하였고, “不能下食, 服藥而嘔, 食不知味者, 胃氣虛弱”의 六惡를 치료한다고 하였다¹⁹⁾. 따라서 托裏和中湯은 癰疽가 발생한 후기, 瘡腫이 化膿되고 脾胃虛弱한 者의 瘡反 증상을 다스리는 처방이라 하였다.

癰疽는 瘡腫의 疾患중에서 가장 심한 것으로 癰疽를 癰과 疽로 구분하는데 기준은 腫脹의 大小, 陰陽, 內外, 虛實들로 구분하였다²⁾. 癰은 皮肉之間에 발생하는 일종의 急性化膿性疾患으로 局部가 光澤이 있고 軟하며 無頭이고, 紅腫熱痛이 있으며, 結塊의 범위가 6~9cm 이고 發病이 迅速하고, 易腫, 易膿, 易斂하며 혹은 惡寒, 發熱, 口渴 등의 전신증상을 수반한다. 일반적으로 筋骨은 傷하지 않고 陷症은 조성되지 않는다. 疽는 癰이 發病部位가 淺部이고 輕한데 비해 그 부위가 筋骨을 비롯한 深部이고 病이 重하여 肌肉이 下陷되고, 筋骨이 마르며, 筋骨의 정상조직이 파괴되는 질환을 말한다²⁰⁾.

《黃帝內經》³⁾靈樞·癰疽篇에서는 肌肉이나 피부에 함몰되지 않고 骨髓가 마르지 않고 五臟도 상하지 않는 것을 癰이라 하고, 熱이 몹시 나서 肌肉이 꺼져 들어가고 皮膚와 筋 및 骨髓가 마르며 속으로는 五臟까지 미치고 血氣가 줄어들어 癰腫의 내면은 筋骨까지 良肉이 없는 것을 疽라고 하였으며, 《外科精義》²¹⁾에서는 五發, 背疽, 腦疽, 背癰에 대해서 말하였고, 《諸病源候論》²²⁾에서는 癰腫의 脈에 대해서 설명하였고, 《外科正宗》²³⁾에서는 癰이 腑에서 생기고, 疽는 臟에서 생긴다는 외에 癰은 陽이고, 疽는 陰임을 말하였다. 《東醫寶鑑》1,11)에서는 東垣의 說을 인용하여 “癰疽, 腫高而軟者, 發於血脈, 腫下而堅者, 發於筋脈, 肉色不變者, 發於骨髓”라하여 癰疽의 증상에 따라 그 부위를 血脈, 筋肉, 骨髓로 나누어 설명하였다.

동양의학의 癰疽는 서양의학의 炎症性疾患과 腫瘍疾患에 해당한다. 이에 대해 구체적으로 노²⁴⁾는 원인균을 금황색포도상구균으로 急性化膿性淋巴腺炎, 一部分의 蜂窩織炎, 化膿性關節炎, 骨髓炎, 結核, 淋巴結核, 敗血症 등으로 보았으며 최⁴⁾는 癰은 한의학에서 積聚, 腫瘤, 疔, 癰, 反胃, 噎膈, 痞塊, 癰瘰, 疔瘻, 乳巖, 癰瘤, 癰疽, 疔 등의 병명이나 증상명에 해당한다고 하였고, 정²⁵⁾도 《東醫寶鑑》을 인용하여 癰疽가 癰의 일종임이라고 하였다.

서양의학에서는 암의 치료법으로 수술요법, 방사선요법, 화학요법 및 면역요법 등이 주로 활용되고 있다²⁶⁾. 항암제에 의한 화학요법은 주로 Alkylating 제제, 면역억제제, Antimetabolites, 그리고 기타 항암제 등으로 구분²⁷⁾되지만 공통적으로 항암제들은 소화기장애·골수조혈장애 및 탈모증·피부이상·간중독·신장애·심근증·폐섬유화 등의 부작용들이 초래된다. 특히 vincristine은 mitotic inhibitor로 급성백혈병·림프종·일부고형종양 등에 사용되고는 있지만 말초나 자율신경의 독성 등의 부작용을 나타낸다²⁸⁾. 최근 연구에서 癰疽에 사용되는 處方이나 藥物을 이용하여 항염증 및 항종양 실험이 이루어지고 있으며, 항암제와 병용투여했을 때 부작용 감소효과에 대한 실험도 이루어지고 있다. 이런 항암제 투여시 나타나는 부작용에 대한 한약병용 효과를 알아보기 위한 실험으로는 消痛祛痰益氣湯⁷⁾, 加味十全大補湯⁸⁾, 八珍湯加減方⁹⁾, 健脾益氣湯¹⁰⁾ 등의 처방을 활용한 예가 있었다.

이에 저자는, 癰疽가 서의학적으로 癰과 관련이 있으며, 癰에 한약과 항암제 병용했을 때, 癰腫에 대한 효과와 부작용을 감소시키는 효과가 있는지를 알아보고자 癰疽 處方인 托裏和中湯과 vincristine을 이용하였다.

托裏和中湯을 L1210 암세포주와 S-180 암세포주에 투여한 결과, L1210 세포주 증식율은 대조군보다 15% 정도 유의성 있게 세포 독성을 나타내었고, S-180 세포주 증식율은 대조군에 비해 10% 정

도 유의성 있게 세포 독성을 나타냈다. 이는 托裏和中湯이 암세포에 대한 세포 독성이 있음을 나타내 주는 결과라 생각된다. 그러나 흉선 세포의 증식율에 미치는 영향에서는 저농도에서만 약 10% 정도의 증식율을 나타냈으며 비장 세포의 증식율은 모든 농도에서 약 17% 이상 대조군보다 유의성 있게 촉진시킴을 보여주었다.

托裏和中湯을 항암제와 함께 병용 투여하였을 때에도 항암제만을 투여한 대조군에 비해 S-180 세포주 증식율은 대조군보다 약 10%의 유의성 있는 세포 독성을 나타내었고, L1210 세포주 증식율은 대조군에 비해 변화가 없어 고형암 세포주에만 선택적으로 세포독성을 작용하고 있음을 알 수 있었다.

托裏和中湯이 S-180 세포를 정상 마우스에 주입하여 병태 모델을 유발시킨 후 Control은 DDW만을 15 일 동안 투여하였고, Sample A는 托裏和中湯 300 mg/kg을 15 일 동안 투여하였으며, Sample B는 실험 개시 1 일 후 vincristine 0.005 mg/kg을 투여하면서 托裏和中湯 300 mg/kg을 15 일 동안 투여하였다.

실험 결과, 고형암의 무게는 대조군에 비해 Sample A의 무게가 15%정도 유의성 (P<0.05) 있게 감소되었지만 Sample B의 무게는 9%정도만 감소되었고, 생존율에 있어서는 Sample A와 B가 모두 대조군에 비해 유의성 있는 연장 효과를 나타내지 못하였다. 이는 항암제 병용투여로 인한 효과가 두드러지지 않았지만 托裏和中湯의 단독투여만으로도 고형암의 크기가 감소되었다. 그러나 생명연장에 있어서는 항암제와 병용 투여하였을 때 Control보다 단축된 것은 항암제의 투여로 인한 부작용이라 생각된다.

托裏和中湯과 vincristine 병용 투여시 혈액 성상의 변화를 관찰한 결과, 托裏和中湯 단독 투여시 WBC, RBC, HGB, PLT 수치가 약 50% 호전되었으며, 托裏和中湯과 vincristine 병용 투여시에는 托裏和中湯 단독 투여군에 비해 약 2~5% 정도

낮게 나와 항암제 부작용 억제효과가 있으나 단독 투여에 비해 큰 의의를 찾기 어려웠다.

이상의 결과 托裏和中湯이 in vitro상에서 암세포에 대한 세포 독성을 나타내었고, 면역 세포의 증식을 촉진시켰으며, 항암제 병용 투여시에는 S-180 세포주에서만 세포 독성을 나타내어 托裏和中湯이 선택적으로 작용하고 있음을 보여주었다. 또한 암세포를 이식한 마우스에서도 항암제 병용 투여보다 托裏和中湯만을 투여한 실험군에서 복강암 무게, 혈액 성상의 회복이 유의성 있게 나타나 托裏和中湯이 한의학적 항암 처방으로 개발될 수 있을 가능성을 나타내주었다. 향후 이에 대한 연구가 더욱 진행된다면 臨床에서 癌腫 치료와 抗癌治療의 부작용 개선에 유효한 처방이 될 것으로 생각된다.

V. 결 론

托裏和中湯이 암세포 및 면역세포의 증식율에 미치는 효과와 항암제 병용 투여 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 托裏和中湯은 L1210 세포주와 S-180 세포주에 대하여 유의성 있는 세포독성을 나타냈다.
2. 托裏和中湯은 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율을 유의성 있게 증가시켰다.
3. 托裏和中湯을 항암제와 병용 투여하였을 때 S-180 세포주의 증식율은 유의성 있게 억제되었다.
4. 托裏和中湯을 항암제와 병용 투여하였을 때 고형암의 무게를 유의성 있게 감소시켰다.
5. 托裏和中湯은 항암제와 병용 투여했을 때, 혈액학적인 부작용을 억제하는 효과가 있었다.

參考文獻

1. 許浚. 東醫寶鑑. 서울. 南山堂. 1987: 541.
2. 張介賓. 景岳全書. 서울. 圖書出版 한미의학. 2006: 2175-2203.
3. 黃帝內經 靈樞(中國醫學大系1卷). 서울. 圖書出版鼎談. 1988: 355,359,360.
4. 崔鍾百. 癰疽에 대한 文獻的 考察. 東洋醫學(영인합본). 서울. 동양의학연구원 제8권. 1994: 8-18.
5. 李文鏞 外. 內科學. 서울. 박애출판사. 1976: 2446-2450.
6. 안문생 외 7인. 항암제 Mitomycin C와 수종 복합생약의 병용투여 효과. 생약학회지. 1992: 23(3): 158-170.
7. 홍종희 외 4인. 소암거담의기탕의 cyclophosphamide 부작용 형성 억제효과. 대한한방내과학회지. 2002: 23(1): 123-131.
8. 한미숙 외 3인. 항암제 Mitomycin C의 부작용에 대한 가미십전대보탕의 영향. 동의생리병리학회지. 2001: 15(4): 599-604.
9. 오정진 외 3명. 팔진탕가감방이 항종양 면역반응과 항암제로 유발한 부작용에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1999: 19(2): 219-232.
10. 구입본 외 3명. 건비익기탕 및 가능실방의 cyclophosphamide 에 의한 부작용 억제에 관한 실험적 연구. 대한동의병리학회. 1997: 11(1): 1-11.
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., Schumacher, A.M and Abbott, B.J. Protocol for screening chemical Agents and Natural products againsts Animal Tumors and ather Biological system(Third edition). *Cancer chemotherapy Report*. 1972: 48, 59.
16. 김병천 외. 임상검사법개요. 서울. 高文社. 1984: 242, 298, 303, 1112.
17. Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical Methods*(6th ed). Iowa state Uni(ames). 1967.
18. 李梴. 醫學入門(編柱醫學入門 影印本). 서울. 南山堂. 1991.
19. 醫部全錄. 서울. 金泳出版社. 1979: 17638.
20. 정영섭 외 3명. 臟腑 癰疽의 형상의학적 고찰. 동의생리병리학회지. 2001: 637-644.
21. 齊德之. 外科精義. 大田大學校 韓醫科大學 11기 卒業準備委員會. 醫聖堂. 서울. 1999: 70-71.
22. 巢元方. 諸病源候論. 서울. 大星文化社. 1992: 230-235.
23. 陳實功. 外科正宗. 上海. 上海科學技術出版社. 1989: 1-5.
24. 盧鉉贊 외. 癰疽에 대한 文獻的 考察(病因·病機를 중심으로). 大田大學校 韓醫科大學 外官科學教室. 大韓外官科學會誌: 2000: 13(2): 20-50.

25. 정영섭 외. 臟腑 癰疽의 형상의학적 고찰. 동의대학교 한의과대학 생리학교실. 동의생리병리학회지. 2001; 15(5): 637-644.
- 26.李文鎭 外. 內科學. 서울. 박애출판사. 1976: 2446-2450.
27. 김경환 역음. 이우주의 약리학강의(제4판). 서울. 醫學文化社. 1997: 633-690.
28. 鞠永棟 篇. 고오스 藥理學. 서울. 汎文社. 1985: 701-710.