



Original Article / 원저

항암제와 한약재의 병용투여 시 암세포 증식억제 효과에 대한 국내 실험연구 문헌고찰

이지은¹, 최진용^{1,2}, 한창우^{1,2}, 최준용^{1,2}, 박성하^{1,2}, 김소연^{1,2*}

¹부산대학교 한의학전문대학원 한의학과, ²부산대학교 한방병원 한방내과

A Review on Experimental Research about Anticancer Drug Combined Treatment with Herbal Medicine for Killing or Inhibiting Proliferation of Cancer cells in Korea.

Ji Eun Lee¹, Jin Yong Choi^{1,2}, Chang Woo Han^{1,2}, Jun Yong Choi^{1,2}, Seong Ha Park^{1,2}, So Yeon Kim^{1,2*}

¹ Department of Korean Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University

² Department of Korean Internal Medicine, Pusan National University Korean Medicine Hospital

ABSTRACT

Objective : In this study, we searched the experimental research about combined treatment of anticancer drug and herbal medicine for killing or inhibiting proliferation of Cancer cells searched in OASIS and KISS. This study aimed to analyze the experimental research paper about anticancer drug combined treatment with herbal medicine.

Methods : We collected the research paper including killing or inhibiting proliferation of Cancer cells in OASIS and KISS using keyword anticancer drug with herbal medicine, tumor suppressor with herbal medicine, inhibition of Cancer with herbal medicine and combined treatment with herbal medicine. Assorting by cancer cells, we analyzed experimental results cancer cell viability, anticancer drug dosage, tumor weight and survival rate. Also, we checked the effects of herbal medicine on cancer and additive effect reducing side effect of anticancer drug.

Results : Total 45 studies were selected. 38 studies reported combined treatment of anticancer drug and herbal medicine was more effective than only anticancer drug. The death of cancer cells was synergistically induced by the cotreatment of anticancer drug and herb extracts. The studies suggest that the cotreatment of anticancer drug

© 2017 The Korean Medicine Society For The Herbal Formula Study

This paper is available at <http://www.formulastudy.com> which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

and herb extracts could reduce side effect of anticancer drug. In addition, some studies reported cotreatment mechanism like apoptotic death signal processes. In combined treatment of anticancer drug and herb extracts, The expression of Fas/Fas L, Bax, Bcl2, Caspase-3 etc.. was markedly increased in cancer cells.

Conclusions : Our results suggest that anticancer drug combined treatment with herbal medicine could be efficient for killing or inhibiting proliferation of cancer cells. However, this paper had some limitation as follows: First, collected studies have been published only for korean journal. Second, results of research and effects of combined treatment are not collected objectively. To solve these problems, more objective and balanced studies should be performed.

Key words : combined treatment, cancer cell, anticancer effect, anticancer drug, herbal medicine.

I. 緒論

국내에서 2014년 모든 암의 발생자 수는 217,057명, 조발생율은 인구 10만 명당 427.6명이었으며, 2015년에 암으로 사망한 사람은 총 76,855명으로 전체 사망자의 27.9%, 사망원인 1위에 해당한다. 2005-2009년 발생한 암환자의 10년 생존율은 59.3%로 지속적으로 향상되고 있지만 항암치료를 통해 암을 극복하였다 하더라도 생존율과 삶의 질(Quality Of Life, QOL)이 낮은 것이 문제 되고 있다¹⁻⁵⁾.

서양의학에서의 암 치료법은 외과치치, 방사선요법, 화학요법, 호르몬요법, 면역요법 등이 사용되고 있지만 그에 수반되는 부작용과 한계점으로 보다 효과적이고 부작용이 적은 치료방법이 요구된다. 특히 항암화학요법의 경우 일반적으로 치료 횟수가 증가할수록 부작용이 증가하는 경향이 있기 때문에 항암치료의 효과보다 부작용이 더 크게 나타난다면 의료진은 항암제의 투여 용량을 조정하거나 약물을 변경 혹은 중단하는 등의 조치를 취하게 된다. 이러한 문제점을 해결하고 궁극적으로 항암효과를 높이기 위해 새로운 항암제 개발이나 기존에 사용하던 항암제의 병용투여에 대한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다.

한의학에서 암은 積聚 등의 병명과 噎膈, 反胃, 崩漏, 赤痢 등의 증상으로 인식되어 왔으며, 대체적으로 불치병으로 보았으나 이에 대한 치료법이 제시되어 왔다. 이에 근거하여 전통적으로 사용되던 처방 혹은 한약의 항암효과 및 다양한 기전이 입증되었고, 30년

간 개발된 항암제의 약 48.6%가 천연물에서 유래되었다⁶⁾. 한약은 직접적인 항암 효과 외에 암 증상 및 항암제 부작용을 완화하는데 효과적일 수 있기 때문에 항암제와의 병용 투여가 고려될 수 있다.

그러나 항암제와 한약 각각의 약물이 효과적이라고 해도 약물상호작용으로 인해 오히려 항암제의 효과를 저해하거나 부작용을 유발할 가능성이 있기 때문에 항암 치료 중 한약 복용을 금지시키는 경우가 대부분이다. 설문연구에 따르면 협진이 이루어지고 있는 2개소 한방병원에서 암환자의 한약 병용투여율은 각각 38.7, 53.8%였으나 한 종합병원에서는 0.6%에 그쳤다⁷⁾. 따라서 항암제와 한약의 병용투여를 위해서는 병용투여 효과에 대한 연구가 필요하며, 임상연구 이전에 기초적인 실험연구를 통해 근거를 마련할 수 있다. 본 연구에서는 암세포주 혹은 중앙 동물모델에 항암제와 한약을 병용투여한 실험 연구들을 살펴보고 결과 고찰을 통해 향후의 연구방향을 모색하고자 한다.

II. 방법

오아시스(<http://oasis.kiom.re.kr/>), KISS(<http://kiss.kstudy.com>)에서 항암, 생약, 병용 등의 검색어를 사용하여 검색하였다(Table 1). 모든 암에 대해 항암제 및 한약제의 병용투여를 시행한 연구를 대상으로 하였고, 검색 기간은 사이트에서 제공하는 최초 시점부터 2016년 7월까지 검색하였으며, 임상연구를 제외한 동물 또는 세포실험 연구만을 포함하였다.

* Corresponding Author : So Yeon Kim, School of Korean Medicine, Pusan National University, 49, Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yongsan-si, Gyeongsangnam-do, 50612, Republic of Korea.

Tel : +82-55-360-5954, Fax : +82-55-360-5736, E-mail : omdksy@gmail.com

• Received : Aug 09, 2017 / Revised : Aug 23, 2017 / Accepted : Aug 29, 2017

최종적으로 선별된 논문들은 암 세포주 별로 나누어 In vitro, in vivo 실험 방법에 따라 결과 지표를 분석하였다. 병용투여 효과 및 한약 단독투여 시의 항암효과와 면역 기능 상승, 항암제 부작용 완화 등의 부가적인 효과 및 작용 기전에 대한 고찰을 시행하였다.

Table 1. Search Strategy in the Study

1	anticancer
2	inhibition of cancer
3	#1 or #2
4	#3 and combined treatment
5	antitumor
6	inhibition of tumor
7	#5 or #6
8	#7 and combined treatment
9	#1 or #6
10	#9 and combined treatment
11	#1 and chemotherapy
12	#11 and combined treatment
13	crude drugs and #1 and combined treatment
14	anticancer drug and combined treatment

III. 결과

오아시스 및 KISS의 논문 검색 결과 오아시스 80건, KISS 93건의 논문을 찾을 수 있었고, 이 중 명확히 항암제와 한약재의 병용 투여실험이 이루어진 논문만을 선별하여 총 45편의 논문을 찾을 수 있었다. 그 중 38편의 논문에서는 항암제와 병용투여가 유의한 효과를 보였으며, 7편의 논문에서는 효과를 나타내지 않았다.

실험결과는 자궁암세포(HeLa cell), 간암세포(Hep G2, Hep 3B cell, PLC, Chang, Alexander cell), Ehrlich carcinoma, 혈액암세포(L1210, MOLT-4, K562, HL-60, P338D1), 피부암세포(B16-BL6, A431), Sarcoma 180, 폐암세포(H157, A549, H460, B16-Fo), 기타 암세포(Colon-26, Colon-38, MKN-45, A172, T98G)로 분류하였다.

실험은 In vitro의 경우 주로 MTT assay와 Semisolid

double layer agarose & SRB(Sulforhodamine B)assay를 실시하여 항암제 단독 투여군과 병용 투여군의 세포생존율이 비교되었다. In vivo 실험은 ICR mouse, BDF1 mice, Nude mouse, BALB/c mouse를 대상으로 종양세포를 피하 혹은 복강 내 이식하여 종양크기 혹은 중량 변화를 통한 종양 억제율, 생존율이 결과 지표로 비교되었다.

실험에 사용된 항암제는 adriamycin(이하 ADM), asperuloside, mitomycin C(이하 MMC), cisplatin(이하 CPT), 5-fluorouracil(이하 5-FU), chlorambucil, vincristine(이하 VCT), bleomycin, cyclophosphamide, doxorubicin, CPT-11, mercaptopurine, As₂O₃였다.

1. HeLa cell

HeLa cell은 인간 자궁 경부 상피암세포로 모두 In vitro로 MTT 혹은 Colorimetric assay를 통해 항암제와 한약의 병용 투여 효과가 실험되었다(Table 2). 총 9건의 논문에서 성분으로 Berberine¹³⁾, 단미로는 유근피⁸⁾, 금은화/어성초⁹⁾, 백선피/천산갑¹⁰⁾, 사향¹¹⁾, 생지황¹²⁾, 반지련¹⁴⁾, 복합제로는 방독탕¹⁵⁾, 반현환¹⁶⁾을 병용 투여하였다.

방독탕, 반현환, 사향, 유근피, 금은화/어성초, 백선피/천산갑은 모두 항암제 IC₅₀ 투여군의 세포생존율을 100%로 대조하여 효과를 살펴보았다. 반현환은 10⁻⁷g/ml 농도에서 세포생존율이 88.4%으로 단독 투여 시 약한 농도에서부터 항암 효과를 보였으며, MMC와의 병용 투여 시 10⁻⁴g/ml에서 13.0%로 HeLa cell 억제 효과가 가장 좋았고, CPT, 5-FU, 5-azacytidine 과도 병용 투여 시 항암 효과가 증가하였다. 다만 10⁻⁴g/ml 농도에서 mouse 섬유아세포인 3T3 cell, T 임파구, 사람 임파구 억제 효과를 보여 사용에 주의할 필요가 있다. 방독탕은 단독 투여 시 HeLa cell 억제 효과가 있었고, CPT와 mercaptopurine와 병용 투여 시 세포생존율이 감소하였으나 MMC와는 유의한 차이가 없었다. 사향은 단독 투여 시 세포생존율 88.2%(10⁻⁴g/ml)로 HeLa cell의 증식 억제 및 마우스 비장세포와 사람 림프구 세포 활성 증가 효과가 있었으며, MMC와의 병용 투여 시 88.3%(1μg/ml)로 세포생존율이 유의하게 감소하였다.

유근피는 단독 투여 시 HeLa cell의 세포생존율 39.4%(10⁻³g/ml)로 억제 효과가 있었으나, MMC,

CPT, 5-FU와의 병용 투여 시 유의한 차이는 없었다. 또한 10^{-5} g/ml 농도에서 T 임파구 증식 효과가 있었으나, 10^{-3} g/ml 농도에서는 3T3 증식을 억제하여 정상 세포 억제 가능성이 있으며, 정상 mouse에서 MMC와 병용 투여 시 간장 무게가 유의성 있게 감소하여 간장 독성 가능성이 있으므로 주의할 필요가 있다. 금은화, 백선피, 천산갑은 단독 투여 및 MMC와의 병용 투여 시 모두 유의한 차이가 없었으며, 어성초는 단독 투여시 $1\mu\text{g/ml}$ 농도에서 HeLa

cell이 125.3%로 오히려 증식되었다.

반지련은 단독 투여 시 농도 의존적으로 HeLa cell의 세포생존율을 감소시켰으며, 항암제 병용 투여 시 CPT $25\mu\text{M}$ 단독 투여와 비교하여 70%로 세포생존율이 감소하였다. Berberine은 단독 투여 시 세포생존율 48%(10^{-4} g/ml)로 항암 효과가 높았으며, CPT와의 병용 투여 상승효과를 보였다. 생지황은 단독 투여 시 효과가 없었으나, ADM과의 병용 투여 시 상승효과를 보였다.

Table 2. Summary of Research paper about Anticancer Drug Combined Treatment with Herbal Medicine for Uterine Cancer

Ref. No.	Herb	Experimental Method	Assessment Method	Cell line	Result	
					Anticancer treatment	Combined treatment
8	Ulmi Cortex n-BuOH fraction(UBF)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HeLa	Not significant with MMC, CPT, 5-FU	
9	Flos Lonicerae	In vitro (MTT)	Viability (%)	HeLa	Not significant with MMC	
	Herba Houtluynrae					
10	Dictamni Cortex Radicis	In vitro (MTT)	Viability (%)	HeLa	Not significant with MMC	
	Manitis Squama					
11	Moschus (ME)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HeLa	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ MMC + ME($1\mu\text{g/ml}$) : 88.3 ± 1.5
12	Rhizoma Rehmanniae (RR)	In vitro (Colorimetric assay)	Viability (%)	HeLa	Synergistic cytotoxic effect of RR and adriamycin.	
13	Berberine	In vitro (MTT)	Viability (%)	HeLa	Synergistic effect of cisplatin and Berberine on the inhibition of cell growth by apoptosis.	
14	Scutellaria Barbata (SB)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HeLa	CPT($25\mu\text{M}$) : 100	CPT($25\mu\text{M}$)+SB 80 dilution factor : 70 CPT($25\mu\text{M}$)+SB 40 dilution factor : 60
15	Pangdok-tang (PDT)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HeLa	Not significant with MMC	
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + PDT(10^{-4} g/ml) : 71.14 ± 2.2
					IC ₅₀ of mercaptopurine : 100	IC ₅₀ of mercaptopurine + PDT(10^{-3} g/ml) : 90.4 ± 5.2
16	Banhyun-hwan (BHH)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HeLa	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ MMC + BHH(10^{-4} g/ml) : 13.0 ± 0.2
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + BHH(10^{-4} g/ml) : 31.9 ± 2.2
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + BHH(10^{-4} g/ml) : 24.7 ± 1.1
					IC ₅₀ of 5-azacytidine : 100	IC ₅₀ of 5-azacytidine + BHH(10^{-5} g/ml) : 75.1 ± 0.4

*, MMC : mitomycin C

†. CPT : cisplatin

‡. 5-FU : 5-fluorouracil

2. 간암세포

Human hepatocellular carcinoma인 Hep G2, Hep 3B cell, human hepatoma인 PLC, Chang, Alexander cell에 대해 모두 In vitro MTT assay를 통해 세포 생존율로 항암제와 한약의 병용 투여 효과가 평가되었다(Table 3). 총 8건의 논문에서 단미로는 유근피⁸⁾, 사향¹¹⁾, 인진^{17,19)}, 포공영¹⁸⁾, 시호¹⁹⁾를, 복합제로는 팔진항암단²⁰⁾, 팔진탕합화적환^{21,22)}을 병용 투여하였다.

Hep G2 cell에 대해 실험된 한약은 유근피, 사향, 인진, 포공영, 시호, 팔진항암단으로 단독 투여 시 모두 암세포 억제 효과가 있었으며 특히 사향은 저농도에서(10^{-7} g/ml) 85.9%로 효과를 보였고 인진, 포공영, 시호는 10^{-6} g/ml 농도에서 각각 66.5, 67.1, 75.9%로 효과가 높았다. MMC와 병용 투여 시 인진, 포공영, 시호가 IC₅₀ 대비 10^{-6} g/ml에서 25-35%로 효과가 좋았고 유근피, 사향도 세포생존율이 유의하게 감소하였다. CPT의 경우에도 같은 농도에서 포공영, 시호 병용투여가 IC₅₀ 대비 70%로 효과가 있었으며, 인진의 경우 10^{-4} g/ml 이상의 고농도에서 효과를 보였지만 송¹⁹⁾과 손¹⁷⁾번의 결과에 조금 차이가 있었으며 유근피는 93%로 차이가 적었다. 5FU는 포공영이 10^{-6} g/ml에서 53%로 병용 투여 효과가 가장 좋았고, 시호, 인진, 유근피도 유의한 효과가 있었다. ADM은 특히 팔진항암단에서 병용 투여시 뚜렷한 상승

효과를 나타냈으며, 인진도 유의한 효과를 보였다.

Hep 3B는 인진, 포공영, 시호, 팔진탕합화적환으로 실험되었으며 단독 투여 시 모두 세포생존율을 감소시켜 인진, 포공영, 시호가 10^{-6} g/ml에서 60-70%의 세포생존율을 보였다. 인진, 포공영, 시호는 MMC, CPT, 5-FU와 병용투여 실험이 이루어졌는데 IC₅₀ 대비 MMC는 60-71%(10^{-6} g/ml), CPT는 70-88%(10^{-3} g/ml)의 효과를 보였고 5-FU의 경우 시호, 인진은 10^{-5} g/ml에서 67-73%로 병용 투여 효과가 있었고 포공영은 10^{-3} g/ml에서 88%로 효과가 떨어졌다. ADM은 인진은 59.8%(10^{-6} g/ml)로 병용투여 효과가 있었으나 팔진탕합화적환은 유의성이 없었다.

PLC는 시호 단독 투여 시 세포생존율 65.6%(10^{-6} g/ml)로 시호의 암세포 억제 효과가 가장 좋았고, 포공영, 인진도 유의성은 있었으나 효과가 떨어졌다. 병용투여 효과는 시호, 포공영이 좋았는데 IC₅₀ 대비 10^{-6} g/ml에서 각각 MMC는 39.3, 53.0%, CPT는 69.9, 65.7%, 5FU는 75.7, 63.9%였다. 인진도 유의한 효과는 있었으나 두 논문의 결과에 약간 차이가 있었다.

Chang, Alexander cell은 팔진탕합화적환 단독 투여시 모두 고농도에서 세포생존율이 저하되었으나, ADM과의 병용투여 시 상승효과는 Chang cell에서만 나타났다.

Table 3. Summary of Research paper about Anticancer Drug Combined Treatment with Herbal Medicine for Liver Cancer

Ref. No.	Herb	Experimental Method	Assessment Method	Cell line	Result	
					Anticancer treatment	Combined treatment
8	Ulmi Cortex n-BuOH fraction (UBF)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HepG2	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + UBF(10^{-5} g/ml) : 79±1.7
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + UBF(10^{-5} g/ml) : 92.9±1.6
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + UBF(10^{-4} g/ml) : 70.1±4.9
11	Moschus(ME)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HepG2	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + ME(10^{-5} g/ml) : 85.9±1.9
17	Herba Artemisiae Capillaris (AC)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HepG2	IC ₅₀ of ADM : 100	IC ₅₀ of ADM + AC(10^{-6} g/ml) : 59.8±4.38
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + AC(10^{-6} g/ml) : 70.8±3.12
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + AC(10^{-6} g/ml) : 72.5±2.25
				Hep3B	IC ₅₀ of ADM : 100	IC ₅₀ of ADM + AC(10^{-6} g/ml) : 67.5±3.09
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + AC(10^{-6} g/ml) : 69.8±1.18
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + AC(10^{-6} g/ml) : 62.5±2.18

				PLC	IC ₅₀ of ADM : 100	IC ₅₀ of ADM + AC(10 ⁻⁶ g/ml) : 72.8±0.96
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + AC(10 ⁻⁶ g/ml) : 57.1±2.89
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + AC(10 ⁻⁵ g/ml) : 90.1±0.96
18	Taraxaci Herba (TH)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HepG2	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + TH(10 ⁻⁶ g/ml) : 24.7±0.88
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + TH(10 ⁻⁶ g/ml) : 69.5±3.67
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + TH(10 ⁻⁶ g/ml) : 53.0±1.17
				Hep3B	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + TH(10 ⁻⁶ g/ml) : 70.8±1.98
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + TH(10 ⁻³ g/ml) : 87.8±2.40
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + TH(10 ⁻⁶ g/ml) : 80.5±0.46
				PLC	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + TH(10 ⁻⁶ g/ml) : 53.0±1.79
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + TH(10 ⁻⁶ g/ml) : 65.7±0.81
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + TH(10 ⁻⁶ g/ml) : 63.9±1.89
19	Bupleuri Radix (BR)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HepG2	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + BR(10 ⁻⁶ g/ml) : 39.3±0.53
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + BR(10 ⁻⁶ g/ml) : 69.9±1.23
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + BR(10 ⁻⁶ g/ml) : 75.7±1.17
				Hep3B	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + BR(10 ⁻⁶ g/ml) : 59.3±5.95
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + BR(10 ⁻³ g/ml) : 85.1±0.48
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + BR(10 ⁻⁵ g/ml) : 66.6±1.53
				PLC	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + BR(10 ⁻⁶ g/ml) : 55.9±1.53
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + BR(10 ⁻³ g/ml) : 21.6±1.72
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + BR(10 ⁻⁵ g/ml) : 70.6±3.34
	Artemisiae capillaris (AC)			HepG2	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + AC(10 ⁻⁶ g/ml) : 28.1±0.53
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + AC(10 ⁻³ g/ml) : 75.9±1.23
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + AC(10 ⁻⁵ g/ml) : 70.9±0.12
				Hep3B	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + AC(10 ⁻⁶ g/ml) : 62.1±3.97
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + AC(10 ⁻³ g/ml) : 71.1±7.21
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + AC(10 ⁻⁵ g/ml) : 73.2±1.57
PLC	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + AC(10 ⁻⁵ g/ml) : 90.3±1.72				
	IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + AC(10 ⁻³ g/ml) : 85.1±1.03				

					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + AC(10 ⁻⁵ g/ml) : 88.1±1.71
20	Paljinhangahm-dan (ethanol extract, PJD)	In vitro (MTT)	Viability (%)	HepG2	ADM(0.25µg/ml) : 75 PJD(62.5µg/ml) : 84	ADM(0.25µg/ml) + PJD(62.5µg/ml) : 18
21	Paljintanghabhwajuck- hwan(ethanol extract, PHH)	In vitro (Crystal- violet staining)	Viability (%)	Chang (ATCC)	ADM(1µg/ml) : 72.4 PHH(31.25µg/ml) : 96.9	ADM(1µg/ml) + PHH(31.25µg/ml) : 20
22	Paljintanghabhwajuck- hwan(ethanol extract, PHH)	In vitro (Crystal- violet staining)	Viability (%)	Chang	ADM(0.5µg/ml) : 89 PHH(15.6µg/ml) : 98	ADM(0.5µg/ml) + PHH(15.6µg/ml) : 64
				Hep3B Alexander	Not significant with MMC	

*. MMC : mitomycin C

†. CPT : cisplatin

‡. 5-FU : 5-fluorouracil

§. ADM : adriamycin

3. Ehrlich carcinoma

Ehrlich carcinoma는 모두 in vivo 실험으로 solid와 ascites form을 대상으로 단미로는 만삼²³⁾, 단삼²⁴⁾, 황기²⁵⁾, 복합제로는 죽엽석고탕가감방²⁶⁾, 십전대보탕가미방²⁷⁾, 부정항암탕²⁸⁾, 가미하고초산²⁹⁾, 소요산가미방³⁰⁾이 총 8건의 논문에서 MMC와 병용 투여 실험되었다(Table 4).

Solid form의 경우 ICR mouse 피하로 종양을 이식하여, 16일 후 종양 중량의 Inhibition ratio(I/R=(1-tumor weight of treated mice/ tumor weight of control)×100, %)로 종양성장 억제효과를 측정하였다. 한약 50mg/kg 농도로 단독 투여 시 I/R 12.2-17.0%의 억제 효과를 보였으며, 황기 메탄올 추출물의 효과가 가장 높았다. MMC 0.2mg/kg 투여 시 I/R이 18.9-20.1%로 논문 간 결과가 유사하였으며, 한약과 병용 투여 시 소요산가미방이 37%로 효과가 가장 좋았고 부정항암탕이 24%로 가장 낮았으

나 모두 단독투여 보다 I/R이 증가하였다.

Ascites form은 종양 세포를 복강 내 이식 후 생존율의 T/C(Mean survival time of treated mice/mean survival time of control×100, %)로 항종양 효과를 판정하였다. 한약 200mg/kg 농도로 단독 투여 시 T/C 108-129.2%로 부정항암탕의 생존율이 가장 높았으며, 모두 생존율 증가로 항종양 효과가 있었다. MMC 0.1mg/kg 투여 시 T/C는 113.5-132.0%로 실험마다 차이를 보여 실험 간 결과 비교는 어려웠으나, 모두 MMC 단독 투여시보다 병용 투여 시 T/C가 증가하였고 특히 죽엽석고탕가감방, 가미하고초산, 소요산가미방의 증가율이 높았다.

모든 논문에서 병용 투여 시 lysosomal enzymes 활성 증가를 보였으며 그밖에 죽엽석고탕 가감방이 MMC의 uptake를 용량 의존적으로 증가시키고, 십전대보탕가미방은 NK cell 활성을 증가시켰다.

Table 4. Summary of Research paper about Anticancer Drug Combined Treatment with Herbal Medicine for Ehrlich carcinoma.

Ref. No.	Herb	Experimental Method	Assessment Method	Cell Type	Result	
					Anticancer treatment	Combined treatment
23	Radix Codonopsis (Methanol extract, RC)	In vivo (subcutaneous)	I/R (%)	solid	MMC(0.2mg/kg) : 20.1	MMC(0.2mg/kg) + RC(50mg/kg) : 33.2
		In vivo (intraperitoneal)	T/C (%)	ascites	MMC(0.1mg/kg) : 132	MMC(0.1mg/kg) + RC(200mg/kg) : 138
24	Radix Salviaemetiorrhizae (Ethanol extract, RSM)	In vivo (subcutaneous)	I/R (%)	solid	MMC(0.2mg/kg) : 20.1	MMC(0.2mg/kg) + RSM(50mg/kg) : 30.2
		In vivo (intraperitoneal)	T/C (%)	ascites	MMC(0.1mg/kg) : 132	MMC(0.1mg/kg) + RSM(200mg/kg) : 137
25	Radix Astragali (Methanol extract, RA)	In vivo (subcutaneous)	I/R (%)	solid	MMC(0.2mg/kg) : 20.1	MMC(0.2mg/kg) + RA(50mg/kg) : 29.1
		In vivo (intraperitoneal)	T/C (%)	ascites	MMC(0.1mg/kg) : 132	MMC(0.1mg/kg) + RA(200mg/kg) : 139

26	Jukyeopseokgo-tanggagambang(JST)	In vivo (subcutaneous)	I/R(%)	solid	MMC(0.2mg/kg) : 22.0	MMC(0.2mg/kg) + JST(50mg/kg) : 32.0
		In vivo (intraperitoneal)	T/C(%)	ascites	MMC(0.1mg/kg) : 113.8	MMC(0.1mg/kg) + JST(200mg/kg) : 135.1
27	Sipjeondaebo-tanggamibang (Ethanol extract, SDTG)	In vivo (subcutaneous)	I/R(%)	solid	MMC(0.2mg/kg) : 19.2	MMC(0.2mg/kg) + SDTG(50mg/kg) : 32.5
		In vivo (intraperitoneal)	T/C(%)	ascites	MMC(0.1mg/kg) : 124.0	MMC(0.1mg/kg) + SDTG(200mg/kg) : 138.3
28	Bujeonghangam-tang(BHT)	In vivo (subcutaneous)	I/R(%)	solid	MMC(0.2mg/kg) : 18.9	MMC(0.2mg/kg) + BHT(50mg/kg) : 24
		In vivo (intraperitoneal)	T/C(%)	ascites	MMC(0.1mg/kg) : 113.5	MMC(0.1mg/kg) + BHT(200mg/kg) : 130.9
29	Gamihagocho-san(GHS)	In vivo (subcutaneous)	I/R(%)	solid	MMC(0.2mg/kg) : 19.2	MMC(0.2mg/kg) + GHS(50mg/kg) : 30.3
		In vivo (intraperitoneal)	T/C(%)	ascites	MMC(0.1mg/kg) : 114.7	MMC(0.1mg/kg) + GHS(200mg/kg) : 134.9
30	Soyo-sangamibang(SYS)	In vivo (subcutaneous)	I/R(%)	solid	MMC(0.2mg/kg) : 21.9	MMC(0.2mg/kg) + SYS(50mg/kg) : 37.0
		In vivo (intraperitoneal)	T/C(%)	ascites	MMC(0.1mg/kg) : 132	MMC(0.1mg/kg) + SYS(200mg/kg) : 151

*. I/R : Inhibition ratio of tumor weight

†. T/C : Mean survival time of treated mice/control*100

‡. MMC : mitomycin C

4. 혈액암세포

mouse 급성 백혈병 세포주인 L1210, 인간 백혈병 세포주인 MOLT-4, 만성 골수성 백혈병 세포주 K562, 전골수성 백혈병 세포주 HL-60, mouse 림프종인 P338D1 cell을 대상으로 병용 투여 실험이 이루어졌다(Table 5). 총 8건의 논문에서 In vitro 실험으로 MTT 및 Cell proliferation assay로 세포 생존율을 측정하였고, 황기 투여 논문 1건은 In vivo 실험으로 생존율 비교가 동시에 이루어졌다. 단미로는 금은화/어성초⁹⁾, 백선피/천산갑¹⁰⁾, 황기³⁵⁾, 복합제로는 선전화독탕³³⁾, 팔진탕합화적환²²⁾, 탁리황기탕³¹⁾, 십육미유기음³²⁾, 양심탕³⁴⁾, 보중익기탕³⁴⁾, 사물탕³⁴⁾, 팔미지황탕³⁴⁾, 육미지황탕³⁴⁾, 사군자탕³⁴⁾, 십전대보탕³⁴⁾, 생맥산³⁴⁾, 귀비탕³⁴⁾이 항암제와 병용 투여되었다. L1210 cell은 십육미유기음, 선전화독탕 단독 투여시 1 μ g/ml에서 세포생존율이 각각 82.41, 88.74%, 탁리황기탕은 100 μ g/ml에서 78.83%로 세포독성을 나타냈고 VCT와 병용 투여시 십육미유기음, 선전화독탕은 유의한 감소, 탁리황기탕은 유의한 증가를 보였으나 세포 생존율은 거의 유사하였다.

MOLT-4 cell을 대상으로 복합제인 양심탕, 보중익기탕, 사물탕, 팔미지황탕, 육미지황탕, 사군자탕, 십전대보탕, 생맥산, 귀비탕이 1건의 논문에서 동시 실험되었는데, 단독 투여 시 대부분 저농도(10^{-7} - 10^{-6} g/ml)

에서는 세포 증식, 고농도(10^{-3} g/ml)는 세포 억제 효과가 있었으나 사물탕, 사군자탕은 고농도에서도 135-156%로 세포생존율이 유의하게 증가하였다. MMC와 병용 투여 시에도 고농도에서는 MMC 단독 투여에 비해 생존율이 감소하나 저농도에서는 오히려 증가하는 결과를 보였으며 사물탕은 고농도에서도 증가하였다. 다만, 십전대보탕, 생맥산, 귀비탕이 사람 임파구 증식 효과를 보여 MMC 부작용 완화에 대한 in vivo 실험이 이루어지고, 병용 투여 의미가 있는 것으로 평가하였다.

MOLT-4, K562 cell에 대해 금은화, 어성초, 백선피, 천산갑 연구가 이루어졌는데 MOLT-4에 대한 단독 투여는 모두 유의성이 없었고 MMC와 병용 투여 시 금은화, 백선피, 천산갑은 10-100 μ g/ml에서 IC₅₀ 대비 118-127.4%로 생존율이 오히려 증가하였고 어성초는 유의한 차이가 없었다. K562에 대해 금은화, 어성초는 10 μ g/ml에서 86%, 백선피, 천산갑은 100 μ g/ml에서 각각 89.8, 87.9%의 생존율로 증식 억제가 있었으며, MMC와의 병용 투여시 어성초, 백선피는 각각 66.1(10 μ g/ml), 40.3%(100 μ g/ml)로 생존율이 감소하였고, 금은화, 천산갑은 유의성이 없었다. HL-60에 대해 팔진탕합화적환은 단독 투여시 약한 증식 억제 효과를 보였으나, ADM과의 병용 투여 시 상승 효과가 나타났다. P338D1 cell에 황기 단독 투

여시 0.001–1mg/ml에서 50%이하 암세포의 증식 억제에 효과가 없었지만, chlorambucil과의 병용투여는 단독 투여보다 효과적이었으며 in vivo 실험에서도 생존율이 증가하였다.

Table 5. Summary of Research paper about Anticancer Drug Combined Treatment with Herbal Medicine for leukemia.

Ref. No.	Herb	Experimental Method	Assessment Method	Cell Line	Result				
					Anticancer treatment	Combined treatment			
9	Flos Lonicerae (FL)	In vitro (MTT)	Viability (%)	MOLT-4	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + FL(10μg/ml) : 123.7±2.1			
	K562			Not significant					
	MOLT-4			Not significant					
	K562			IC ₅₀ of MMC + HH(10μg/ml) : 66.1±2.6					
10	Dictamni Cortex Radicis(DCR)	In vitro (MTT)	Viability (%)	MOLT-4	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + DCR(100μg/ml) : 127.4±2.0			
	K562			IC ₅₀ of MMC + DCR(100μg/ml) : 40.3±2.7					
	MOLT-4			IC ₅₀ of MMC + MS(100μg/ml) : 118.0±1.6					
	K562			Not significant					
22	Paljintanghabhwajuck-hwan(ethanol extract, PHH)	In vitro (Crystal violet staining)	Viability (%)	HL-60	ADM(0.4μg/ml) : 87.5 PHH(10μg/ml) : 89	ADM(0.4μg/ml) + PHH(10μg/ml) : 63.4			
31	Taklihwangki-tang (THT)	in vitro (MTT)	Viability (%)	L1210	VCT : 45.67±0.52	VCT + THT(100μg/ml) : 47.15±0.33			
32	Shibyukmiyouki-eum(SYE)	in vitro (MTT)	Viability (%)	L1210	VCT : 45.78±0.53	VCT + SYE(10μg/ml) : 44.16±10.35			
33	Sunjeonhwadok-tang(SHT)	in vitro (MTT)	Viability (%)	L1210	IC ₅₀ of VCT : 100	IC ₅₀ of VCT + SHT(1μg/ml) : 90.14±0.03			
34	Yangsim-tang(YST)	In vitro (MTT-colorimetric assay)	Viability (%)	MOLT-4	MMC(4ng/ml) : 31.2±3.5	MMC(4ng/ml) + YST(10 ⁻⁷ g/ml) : 38.5±2.8			
	MMC(4ng/ml) : 32.4±2.7					MMC(4ng/ml) + YST(10 ⁻³ g/ml) : 18.8±0.5			
						MMC(4ng/ml) : 32.4±2.7	MMC(4ng/ml) + BYT(10 ⁻⁷ g/ml) : 59.4±6.3		
							MMC(4ng/ml) : 27.5±2.6	MMC(4ng/ml) + BYT(10 ⁻³ g/ml) : 16.6±0.9	
								MMC(4ng/ml) : 27.5±2.6	MMC(4ng/ml) + SMT(10 ⁻³ g/ml) : 87.2±1.6
									MMC(4ng/ml) : 27.5±2.6
MMC(4ng/ml) : 27.5±2.6		MMC(4ng/ml) + PJT(10 ⁻³ g/ml) : 10.5±0.6							
	MMC(4ng/ml) : 27.5±2.6	MMC(4ng/ml) + YJT(10 ⁻⁷ g/ml) : 50.5±4.3							
		MMC(4ng/ml) : 27.5±2.6	MMC(4ng/ml) + YJT(10 ⁻³ g/ml) : 10.5±0.6						
			Sakunja-tang(SKT)	Not significant with MMC					

	Sibjeondaebo-tang(SDT)				MMC(4ng/ml) : 40.8±4.8	MMC(4ng/ml) + SDT(10 ⁻⁷ g/ml) : 48.7±3.3 MMC(4ng/ml) + SDT(10 ⁻³ g/ml) : 23.8±0.9
	SaengMaec-San(SMS)				MMC(4ng/ml) : 40.8±4.8	MMC(4ng/ml) + SMS(10 ⁻⁷ g/ml) : 60.8±6.5 MMC(4ng/ml) + SMS(10 ⁻³ g/ml) : 16.2±1.4
	Kwibi-tang(KBT)				MMC(4ng/ml) : 40.8±4.8	MMC(4ng/ml) + KBT(10 ⁻⁷ g/ml) : 74.3±6.5 MMC(4ng/ml) + KBT(10 ⁻³ g/ml) : 15.9±1.0
35	Astragali Radix(AR)	In vitro (cell proliferation assay)	sigmoidal dose response (LOGIC ₅₀)	P388D1	CHL : -1.886 (R ² = 0.9983)	-1.912(+AR, R ² = 0.9967)
		In vivo (intraperitoneal)	Increase of life-span(%)		CHL : 2.63	11.61(+AR)

- *. VCT : vincristine
- †. MMC : mitomycin C
- ‡. ADM : adriamycin
- §. CHL : chlorambucil

5. 피부암세포

Skin cancer cell인 A431, B16-Fo, B16-BL6에 대해 In vitro MTT assay 또는 In vivo Antitumor experiment를 통해 세포생존율 및 종양크기를 측정하여 항암제와 한약의 병용 투여 효과가 실험되었다 (Table 6). 총 6건의 논문에서 단미로 금은화⁹⁾, 어성초⁹⁾, 백선피¹⁰⁾, 천산갑¹⁰⁾, 고삼³⁷⁻³⁹⁾, 복합제로 위경탕³⁶⁾이 항암제와 병용투여되었다.

A431 cell을 대상으로 실험된 한약은 금은화, 어성초와 백선피, 천산갑이 있고 In vitro MTT assay로 실험하였다. 백선피와 천산갑의 경우 저농도에서(1μg/ml) 단독 투여 시 세포생존율이 각각 78.1%, 78.0%로 항암효과를 보였고 백선피와 천산갑을 고농도(100 μg/ml)로 MMC와 병용투여 시 각각 45.25%, 45.4%로 암세포 성장을 억제하였다. 금은화와 어성초의 경우 단독투여 시와 항암제 MMC와 병용투여 시 A431 cell에 대하여 성장억제효과의 유의성이 없었다.

B16-Fo은 위경탕으로 In vitro MTT assay 실험이 이루어졌다. 위경탕을 10⁻³g/ml농도로 단독투여 시 세포생존율 52.4%로 세포증식이 억제되었다. 위경탕가감방인 위경탕-1과 위경탕-2에서 혈소판, WBC, RBC의 수가 상당히 증가하였고 혈소판의 응집

력 역시 증가하였다. 또한 위경탕-1에서는 간으로의 전이를 억제하는데 효과가 있었고 위경탕-2는 폐로 전이를 억제하는 효과가 있었다. 위경탕-1은 위경탕에 어성초를 가미한 것으로 어성초는 청열해독, 소종배농의 효능을 지니고 있어 현재 임상에서 폐용 및 대엽성 폐렴, 급성기관지염, 소아폐렴 등에 가감하여 사용되고 있다. 위경탕-2는 위경탕에 백화사설초를 가미한 것으로 백화사설초는 청열리습, 해독소용의 효능을 지니 최근 폐암, 식도암, 위암, 직장암 등에 다용되고 있다. 위경탕과 항암제 cyclophosphamide 병용투여 시 10⁻⁴g/ml농도에서 세포생존율 47.6%로 가장 높은 항암효과를 보였다.

B16-BL6은 In vivo 피하 이식 실험으로 고삼이 투여되었다. 고삼은 청열조습, 거풍살충, 리습의 효능을 지닌 한약재로서 하초습열로 인한 황달, 이질, 대하, 음부가려움증에 활용되며 열이 쌓여서 소변을 잘 못보고 아픈 증상에 효력을 보인다. 고삼 단독투여 시와 항암제 CPT와 병용투여 시 유의성 있는 결과가 없었으나, CPT 유도 혈중 뇨 질소(BUN)의 증가를 억제하여 CPT 투여에 의한 신장독성을 감소시켰다.

Table 6. Summary of Research paper about Anticancer Drug Combined Treatment with Herbal Medicine for Skin Cancer

Ref. No.	Herb	Experimental Method	Assessment Method	Cell Line	Result	
					Anticancer treatment	Combined treatment
9	Flos Lonicerae(FL)	In vitro (MTT)	Viability (%)	A431	Not significant with MMC	
	Herba Houtluynrae(HH)					
10	Dictamni Cortex Radicis (DCR)	In vitro (MTT)	Viability (%)	A431	IC ₅₀ of MMC : 100	IC ₅₀ of MMC + DCR(100μg/ml) : 90.5±1.2
	Manitis Squama(MS)					IC ₅₀ of MMC + MS(100μg/ml) : 90.8±1.2
36	Wekyung-tang(WKT), WKT-1, WKT-2	In vitro (MTT)	Viability (%)	B16-Fo	IC ₅₀ of CPP : 100	IC ₅₀ of CPP + WKT(10 ⁻⁴ g/ml) : 47.6±1.9
						IC ₅₀ of CPP + WKT-1(10 ⁻⁴ g/ml) : 47.2±2.2
						IC ₅₀ of CPP + WKT-2(10 ⁻⁴ g/ml) : 49.9±1.6
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + WKT(10 ⁻⁴ g/ml) : 53.1±2.4
					IC ₅₀ of 5-flurouracil : 100	IC ₅₀ of 5-flurouracil + WKT(10 ⁻³ g/ml) : 58.6±2.0
37	Sophora flavescens Aiton(SA)	In vivo (subcutaneous)	Tumor mass(g)	B16-BL6	Not significant with CPT	
38	Sophora flavescens Aiton(SA)	In vivo (subcutaneous)	Tumor mass(g)	B16-BL6	Not significant with CPT	
39	Sophora flavescens Aiton(SA)	In vivo (subcutaneous)	Tumor mass(g)	B16-BL6	Not significant with CPT	

*. MMC : mitomycin C
 †. CPP : cyclophosphamide
 ‡. CPT : cisplatin

6. Sarcoma 180

Sarcoma 180(S180)은 mouse cancer cell로 항암제와 한약의 병용 처리 효과를 알아보기 위해 In vitro 실험으로 MTT법에 의한 세포 생존율을 측정하는 논문이 4건, In vivo 실험으로 ICR mouse에 S180 세포주를 복강 내 이식하여 생존율을 비교한 논문이 1건 있었다.(Table 7). 단미로는 유근피⁸⁾, 복합제로는 선전화독탕³³⁾, 탁리황기탕³¹⁾, 십육미유기음³²⁾, 소적백출산⁴⁰⁾이 병용 투여되었다.

In vitro 실험에서 유근피 n-BuOH 분획물, 탁리황기탕, 십육미유기음은 단독 투여 시 유의성 있는 암세포 증식 억제 작용을 보였으며, 유근피는 MMC

와 십육미유기음은 VCT과 병용 투여 시 항암제 단독 투여 시보다 세포 증식이 억제되었다. 그밖에 십육미유기음은 CPT, 5-FU과 탁리황기탕, 선전화독탕은 VCT와 병용 투여 시 유의성 있는 차이가 없었다. 탁리황기탕, 십육미유기음, 선전화독탕은 항암제로 감소된 흉선 세포를 증식시키는 효과가 있었다.

In vivo 실험에서 소적백출산은 단독 투여 시 중간 생존 시간(increase in median survival time, ILS)을 31.8% 증가시켰으며, bleomycin과 병용 투여 시 단독 투여에 비해 생존 시간을 증가시켰다. 그밖에 bleomycin에 의한 폐 손상을 줄여주는 효과를 보였다.

Table 7. Summary of Research paper about Anticancer Drug Combined Treatment with Herbal Medicine for Sarcoma 180

Ref. No.	Herb	Experimental Method	Assessment Method	Cell Line	Result	
					Anticancer treatment	Combined treatment
8	Ulmi Cortex n-BuOH fraction (UBF)	In vitro (MTT)	Viability (%)	S180	IC ₅₀ of MMC : 100 Not significant with CPT Not significant with 5-fluorouracil	IC ₅₀ of MMC + UBF(10 ⁻⁵ g/ml) : 80.1±3.8
31	Taklihwangkitang (THT)	in vitro (MTT)	Viability (%)	S180	Not significant with VCT	
32	Shibyukmiyokium(SYE)	in vitro (MTT)	Viability (%)	S180	VCT : 85.96±0.51	VCT + SYE(10μg/ml) : 79.36±1.28
33	Sunjeonhwadok-tang(SHT)	in vitro (MTT)	Viability (%)	S180	Not significant with VCT	
40	Sojeokbaekchool-san(SBS)	In vivo (intraperitoneal)	ILS(increase in median survival time, %)	S180	BLM : 73.4	BLM +SBS : 79.2

*. MMC : mitomycin C
†. CPT : cisplatin
‡. VCT : vincristine
§. BLM : bleomycin

7. 폐암세포

폐암세포인 A549, H157, H460에 대해 In vitro MTT assay를 통해 병용처리 시의 세포증식율, In vivo 실험에서 종양의 크기를 측정하였다(Table 8). 총 5건의 논문에서 복합제로 위경탕⁴¹⁾, 길경탕⁴²⁾, 가미십전대보탕⁴³⁾, 가감중액탕⁴⁴⁾, 보중익기합대칠기탕⁴⁵⁾ 병용 투여하였다.

A549 cell에 대해 실험된 한약은 위경탕과 길경탕으로 위경탕은 10⁻³g/ml농도로 단독 투여시 세포생존율 45.0±1.3%로 세포증식이 억제되었다. 또한 혈소판, WBC, RBC의 수 및 혈소판의 응집력이 증가하였다. 5-FU와 위경탕(10⁻³g/ml) 병용투여 시 세포생존율 21.1%로 가장 높은 항암효과를 보였으며, cyclophosphamide, CPT, ADM의 항암효과도 증가시켰다. 길경탕의 경우 단독 투여시 유의성 있는 세포성장억제를 보였으며, CPT와 병용투여 시 caspase-3 활성화와 Fas/FasL의 발현이 증가되었고 항암 상승효과가 확인되었다.

H157 cell에 대해 실험된 한약은 길경탕과 가감중액탕으로 길경탕은 1mg/ml농도에 단독 투여시 세포생존율 86%로 항암효과를 보였다. 길경탕과 CPT 병용투여 시 64%로 CPT 단독 투여보다 세포생존율이 낮았다. 가감중액탕의 경우 단독 투여시 고농도에서 농

도 의존적으로 암세포 죽음을 유발하였고, As₂O₃ 병용투여 시 상승적인 세포독성효과가 있었다.

H460 cell을 대상으로 실험된 한약은 길경탕과 가감십전대보탕이 있다. 가감십전대보탕은 H460 cell에 단독 투여시 고농도에서 농도 의존적으로 암세포 죽음을 야기하였고 활성화산소와 BclXS의 유도에 의해 상승적인 apoptosis를 유발하였다. 또한 As₂O₃ 병용투여 시 상승작용으로 세포독성효과가 있었다. 길경탕의 경우 H460 cell에서 유의성 있는 결과를 얻지 못했다.

Lewis lung carcinoma(3LL)를 대상으로 실험된 한약은 보중익기합대칠기탕으로 In vitro MTT assay를 통해 IC(Inhibitory Concentration)값을 얻거나 In vivo Antitumor experiment를 통해 IR(Inhibition rate)로 항종양 효과를 판정하였다. In vitro에서 보중익기합대칠기탕과 doxorubicin의 병용투여 시 IC는 0.005로 Doxorubicin 단독투여 시 IC가 0.011인 것과 비교했을 때 상승효과가 나타났다. 뿐만 아니라 병용투여 시 부작용이 감소하고, 총 WBC와 림프구의 수가 유의하게 증가하였다. In vivo에서 병용투여 시 IR은 82.05로 doxorubicin 단독투여 시 IR인 57.35보다 증가하였다.

Table 8. Summary of Research paper about Anticancer Drug Combined Treatment with Herbal Medicine for Lung Cancer

Ref. No.	Herb	Experimental Method	Assessment Method	Cell Line	Result	
					Anticancer treatment	Combined treatment
41	Wekyung-tang(WKT), WKT-1, WKT-2	In vitro (MTT)	Viability (%)	A549	IC ₅₀ of CPP : 100	IC ₅₀ of CPP + WKT-1 (10 ⁻⁶ g/ml) : 44.4±2.3
					IC ₅₀ of CPT : 100	IC ₅₀ of CPT + WKT-1 (10 ⁻⁶ g/ml) : 36.0±2.3
					IC ₅₀ of adriamycin : 100	IC ₅₀ of adriamycin + WKT-1(10 ⁻³ g/ml) : 29.4±4.1
					IC ₅₀ of 5-FU : 100	IC ₅₀ of 5-FU + WKT-1(10 ⁻³ g/ml) : 21.1±1.6
42	Gilkyeung-tang(GKT)	In vitro (MTT)	Viability (%)	H157	CPT(10μM) : 83	CPT(10μM) + GKT(1mg/ml) : 64
				A549	Synergistic effect with CPT	
				H460	Not significant with CPT	
43	Bojungikkeehapdaechilki-tang(BJDC)	in vitro (MTT)	IC of Doxo (μg/ml)	Lewis lung carcinoma (3LL)	Doxo : 0.011±0.004	Doxo+ BJDC(50mg/ml) : 0.005±0.001
		in vivo (subcutaneous)	Inhibition rate (tumor weight %)		Doxo(5mg/kg) : 57.35±11.9	Doxo(5mg/kg) + BJDC(100mg/kg) : 82.05±1.84
44	Gagamsibjeondaebotang(ethanol extract, GSD)	In vitro (MTT)	Viability (%)	H-460	As ₂ O ₃	The combination of GSD and As ₂ O ₃ synergistically augmented the cytotoxicity.
45	Gagamjengactang(ethanol extract, GGJAT)	In vitro (MTT)	Viability (%)	H-157	As ₂ O ₃	The combination of GGJAT and As ₂ O ₃ synergistically augmented the cytotoxicity.

*, CPP : cyclophosphamide
 †, CPT : cisplatin
 ‡, Doxo : doxorubicin
 §, 5-FU : 5-flurouracil

8. 기타

이 밖에도 대장암세포(Colon-26, Colon-38)⁴⁶⁻⁴⁸⁾, 위암세포(MKN-45)^{50,51)}, 신경교아세포종(A172, T98G)^{49,52)}의 실험에서 MTT assay를 통해 항암제와 한약재의 병용투여 시 항암제 단독처리군에 비해 유의성 있는 세포독성의 상승효과를 관찰하였다(Table 9).

대장암세포인 Colon-26, Colon-38에 대해 In vitro MTT assay를 통해 IC(Inhibitory Concentration)값을 얻거나 In vivo Antitumor experiment를 통해 IR(Inhibition rate)로 항종양 효과를 판정하였다. 총 3건의 논문에서 복합제로 순기화중탕⁴⁶⁾, 보중익기합대칠기탕⁴⁷⁾, 청폐사간탕⁴⁸⁾을 항암제와 병용 투여하

였다.

Colon-26에 대해 순기화중탕, 보중익기합대칠기탕이 실험되었는데, 순기화중탕은 단독투여 시 항암효과는 없었지만 총 백혈구수와 림프구 수의 증가를 유도하였다. 보중익기합대칠기탕은 단독투여 시 종양세포의 성장을 감소시켰고 총 백혈구수와 림프구 수의 증가를 유도하였다. In vitro MTT assay를 통해 IC값을 얻은 결과 순기화중탕과 보중익기합대칠기탕을 항암제 doxorubicin을 병용투여 시 모두 상승효과가 나타났다. In vivo 실험에서도 doxorubicin의 단독투여 시 IR은 57.52, 순기화중탕과 doxorubicin의 병용투여 시 82.42, 보중익기합대칠기탕과 doxorubicin

병용투여시 77.83로 두 한약재 모두 병용투여가 항암제의 항암효과를 증가시켰다.

Colon-38을 대상으로 In vivo 실험에서 청폐사간탕의 구성약재를 선별하여 제조한 YKK012를 투여하여 종양사이즈의 감소를 확인하였다. 청폐사간탕은 CPT-11 항암제와 병용 투여한 것보다 단독투여 시 더 좋은 암 증식억제효과를 보였으며, apoptosis의 발현에 있어서도 단독투여나 CPT-11과 병용투여한 결과가 다르지 않음이 관찰되었다.

위암세포인 MKN-45에 대해 보중익기합대칠기탕⁵⁰⁾과 순기화중탕⁵¹⁾으로 In vitro MTT assay를 통해 항암 효과를 나타내는 항암제 최소 IC값을 측정하였다. 보중익기합대칠기탕과 순기화중탕을 doxorubicin과 병용투여 시 doxorubicin 단독투여군에 비해 유의성 있는 IC 농도의 감소가 나타났다. 또한 총 WBC와 림

프구 수의 증가가 관찰되었다. In vivo 실험에서도 병용투여 시 doxorubicin 단독투여군에 비해 IR이 유의하게 증가하였다.

신경교아세포종인 A172 cell에 대해 생맥산⁴⁹⁾과 정지환⁵²⁾으로 In vitro MTT assay를 통한 IC값으로 항암효과를 알아보았다. 생맥산을 단독투여 시 세포독성효과는 없었지만 CPT와 병용투여 시 세포생존율 45%로 CPT 단독투여 시보다 항암효과를 증가시켰다. 또한 병용투여 시 caspase-9, caspase-3, p53 활성화가 확인되었다. 정지환은 단독투여 시 caspase-3, poly ADP-ribose polymerase를 활성화시켰고 Bcl-2 family의 발현을 조절하여 apoptosis를 유도하여 세포생존율이 감소하였다. 정지환과 CPT 병용투여 시 상승효과를 관찰할 수 있었다. T98G cell에 대해 한약 정지환을 투여하였으나 유의성은 없었다.

Table 9. Summary of Research paper about Anticancer Drug Combined Treatment with Herbal Medicine for Stomach Cancer, Spongioneuroblastoma etc.

Ref. No.	Herb	Experimental Method	Assessment Method	Cell Line	Result	
					Anticancer treatment	Combined treatment
46	Soonkiwhajung-tang (SKWJ)	in vitro(MTT)	IC of Doxo(μ g/ml)	Colon-26	Doxo : 0.037 \pm 0.011	Doxo + SKWJ(100mg/kg) : 0.010 \pm 0.001
		in vivo (subcutaneous)	I/R (%)		Doxo : 57.52 \pm 16.02	Doxo + SKWJ(100mg/kg) : 82.42 \pm 4.63
47	Bojungikkeehapdaechilki-tang(BJDC)	in vitro(MTT)	IC of Doxo(μ g/ml)	Colon-26	Doxo : 0.037 \pm 0.011	Doxo + BJDC(50mg/kg) : 0.018 \pm 0.009
		in vivo (subcutaneous)	I/R (%)		Doxo : 57.52 \pm 16.02 BJDC(100mg/kg) : 11.65 \pm 19.3	Doxo + BJDC(100mg/kg) : 77.83 \pm 10.15
48	Cheongpyesa-gantang(CST), YKK012	in vivo (intraperitoneal)	Tumor size	Colon-38	CPT-11 With simultaneous usage of CPT-11, contrary to that CST showed no synergistic effects, YKK012 reduced the size of tumor	
49	SaengMaec-San(SMS)	In vitro (MTT)	Viability (%)	A172	CPT(25 μ g/ml) : 83	CPT(25 μ g/ml) + SMS(600 μ g/ml) : 45
				T98G	CPT(25 μ g/ml)	Not significant
50	Bojungikkeehapdaechilki-tang(BJDC)	in vitro(MTT)	IC of Doxo(μ g/ml)	MKN-45	Doxo : 0.994 \pm 0.165	Doxo + BJDC(50mg/ml) : 0.665 \pm 0.194
		in vivo (subcutaneous)	Inhibition rate (tumor weight %)		Doxo(5mg/kg) : 56.53 \pm 15.3	Doxo(5mg/kg) + BJDC(100mg/kg) : 82.79 \pm 6.71
51	Soonkiwhajung-tang(SKWJ)	in vitro(MTT)	IC of Doxo(μ g/ml)	MKN-45	Doxo : 0.994 \pm 0.165	Doxo + SKWJ(50mg/ml) : 0.680 \pm 0.19462
		in vivo (subcutaneous)	Inhibition rate (tumor weight %)		Doxo(5mg/kg) : 56.53 \pm 15.3	Doxo(5mg/kg) + SKWJ(10mg/kg) : 77.60 \pm 7.28
52	Jeongji-hwan(JJH)	In vitro (MTT)	Viability (%)	A172	The combined use of CPT(25 μ g/ml) and JJH(1mg/ml) had synergistic effects on A172.	

*, Doxo : doxorubicin

†, CPT : cisplatin

IV. 고찰

본 논문에서는 In vitro 및 In vivo 실험을 통해 암세포주 혹은 이식된 동물에 항암제와 한약제를 병용 투여하여 세포의 증식 억제 및 종양 크기 감소 효과를 실험한 연구논문들에 대해 분석하였다. 2016년까지 발표된 논문 중 총 45편의 논문을 선별하여 암세포주별로 나누어 데이터를 분석한 결과 38편의 논문에서 한약과 항암제의 병용투여에 대한 긍정적인 결과 및 연구방향을 모색할 수 있었다.

기존에 한약의 항암효과에 대한 문헌고찰 논문은 십전대보탕의 항암효과에 대한 고찰과⁵³⁾ 한의학의 항종양 면역치료에 관한 연구⁵⁴⁾가 있으며 병용 투여 효과에 대한 내용은 없었다. 한약-양약 병용투여에 관한 논문 동향 분석 연구에서 암에 대한 연구가 포함되어 한약제와 항암제의 사용 빈도수, 실험연구방법에 대한 통계 및 연도별 추이를 비교하였으나 연구 결과에 대한 고찰은 이루어지지 않았다⁵⁵⁾. 암 환자의 한약, 양약 병용투여 논문은 3개 병원의 주치의와 환자를 대상으로 한약과 양약의 병용투여 현황 및 부작용 경험률 등의 실태에 대하여 조사하였다⁷⁾. 병용투여율이 높은 암종은 유방암(병용 투여율 85.0%), 위암(51.4%), 폐암(43.5%), 간암(41.7%)이었으며, 한방병원의 암환자 중 11.1%에서 부작용의 경험을 보고하였다. 그러나 이러한 부작용이 병용투여와 연관된 부작용인지 아니면 항암제 치료를 받는 중에 발생 가능한 증상인지를 확실하게 가리기 어렵다고 결론지었으며, 병용투여 효과에 대한 보고는 없었다.

항암제와 한약제의 약물 상호작용 및 병용 투여 효과에 대한 연구결과가 부족함에도 불구하고 4기 폐암 환자에서 항암제 단독 치료보다 한약 병행 치료의 생존율이 높음이 보고되었고, 위암, 대장암, 췌장암, 자궁암 등 타 암종에서도 병행치료의 상승 효과가 보고되어 왔다⁵⁶⁾. 또한 중국에서는 코호트 연구를 통해 중서의 결합치료가 대장암 수술 후 재발율을 낮추며⁵⁷⁾, 보조적 중의학 치료가 생존율을 높임을 지속적으로 보고하고 있다⁵⁸⁾.

그러나 한약제 혹은 처방 각각의 항암제와의 병용투여 효과와 부작용에 대한 정보 없이 환자에게 다양한 치료를 적용하기 어려운 것이 현실이다. 황금탕(PHY906)의 경우 실험적인 기전연구와 임상연구가 모두 잘 이루어진 사례로 mouse FasL과 human FasR

발현을 증가 시키고 종양의 미세환경을 변화시켜 Sorafenib 이 작용하기 좋은 환경을 만들어 주는 것이 실험적으로 밝혀졌다⁵⁹⁾. 임상에서 췌장암 환자를 대상으로 PHY906과 항암제 Capecitabine을 병용투여 하여 생존율을 높였으며⁶⁰⁾, 전임상연구에서 항암제로 인한 설사, 복통 등 부작용을 억제하면서 1상 연구에서 항암제와 병행시 약물약동학적 변화를 일으키지 않음이 확인되었다⁶¹⁾.

따라서 본 연구에서는 먼저 실험적으로 한약을 병용 투여했을 때 항암제의 종양억제효과에 미치는 영향을 문헌 고찰을 통해 살펴보고, 그 외에 한약 단독투여 시의 항암 효과 및 부작용 완화 등의 부가적인 효과와 작용 기전을 알아보고자 하였다. 이를 위해 문헌 검색을 통해 병용 투여 실험이 이루어진 논문들을 선별하여 암종별로 분류하였으며, 항암제 단독투여와 병용투여시의 결과를 살펴보고 병용투여 효과를 확인하였다. 이는 같은 처방이라도 대상 암종 및 항암제 종류에 따라 효과가 달라질 수 있기 때문이다. 본 연구에 포함된 논문에서 유근피, 금은화, 어성초, 백선피, 천산갑, 사향, 팔진탕합화적환, 탁리황기탕, 십육미유기음, 선진화독탕, 위경탕, 보중익기합대칠기탕, 순기화중탕이 여러 암종에 대해 동시에 실험되었다. 유근피는 단독투여로 Hela cell과 S180 세포주의 증식을 억제했지만, MMC, CPT, 5-FU와의 병용투여에는 영향을 미치지 못했던 반면, 간암세포주 HepG2에 대해서는 증식 억제 및 MMC, CPT, 5-FU와 병용투여 상승효과를 나타냈다⁸⁾. 금은화는 자궁암세포주인 Hela cell과 백혈병 세포주 K562 세포의 증식은 억제했지만, MOLT-4 및 피부암세포주 A431에는 효과가 없었고, MMC와 병용투여시 효과가 없거나 오히려 세포증식률을 증가시켰다⁹⁾. 어성초는 Hela cell의 생존율을 오히려 증가시키고 MOLT-4, A431에는 효과가 없었으나, K562 cell에 대해서는 단독 및 MMC 병용투여시 세포 증식을 억제하였다⁹⁾. 백선피는 Hela cell, MOLT-4에는 효과가 없었으나, K562, A431에는 세포 증식을 억제하고 MMC와의 병용투여 효과를 증가시켰다¹⁰⁾. 천산갑은 Hela cell, MOLT-4 cell 증식률에 영향을 미치지 못했고, K562 cell의 세포생존률은 감소시켰으나 MMC와의 병용투여 효과는 없었다¹⁰⁾. 반면 A431은 단독 및 MMC 병용투여시 모두 세포생존률을 감소시켰다. 사향은 Hela cell, HepG2 모두에서 세포증식을 억제하고,

MMC와의 병용투여로 억제 효과가 증가하였다¹¹⁾. 팔진탕합화적환은 간암세포주인 Chang, Hep3B, Alexander cell과 백혈병 세포주인 HL-60의 세포생존율을 모두 감소시켰으나 ADM과의 병용투여 효과는 Chang cell, HL-60에서만 나타났다²²⁾. 탁리황기탕은 백혈병 L1210 세포주와 S180에 증식 억제 효과를 보였으나, VCT와의 병용투여 효과는 없었고³¹⁾, 십육미유기음은 같은 세포주와 항암제에 대해 단독 및 병용투여에 모두 효과적이었다³²⁾, 선전화독탕은 L1210에만 단독 및 병용투여 효과를 보였다³³⁾. 또한 같은 암종이라도 세포주 종류에 따라 효과가 달라지는 경우가 대부분이었다.

병용투여 효과를 확인하기 위한 실험은 In vitro의 경우 주로 MTT assay와 Semisolid double layer agarose & SRB(Sulforhodamine B)assay가 실시되었고, In vivo 실험에서는 ICR mouse, BDF1 mice, Nude mouse, BALB/c mouse를 대상으로 종양세포를 피하 혹은 복강 내 이식하였다. 본 연구에 포함된 논문은 대체로 In vitro 실험으로 세포생존률 측정을 통해 병용투여 효과를 확인하였고, 일부 연구에서는 병용투여시 항암제가 독성 효과를 나타내는 최소 사용량을 측정하였다. Erlich carcinoma 대상 연구²³⁻³⁰⁾, 피부암세포주인 B16-BL6에 대한 고삼 연구³⁷⁻³⁹⁾, S180에 대한 소적백출산⁴⁰⁾, Colon-38에 대한 청폐사간탕 실험이⁴⁸⁾ In vivo로 이루어졌으며, 피하 이식은 크기 혹은 중량 변화로 억제율을 측정하고 복강 내 이식의 경우 생존율을 통해 병용투여 효과를 판정하였다. In vitro 실험에서 세포 독성 효과를 보여도 In vivo 연구에서는 효과를 보이지 못하는 경우가 많기 때문에 두 가지 실험이 동시에 실행되어야 정확한 효과 확인이 가능한데, 황기³⁵⁾, 보중익기합대칠기탕^{43, 47, 50)}, 순기화중탕^{46, 51)} 연구에서 동시 실험이 이루어졌으며 대체로 병용투여 상승효과를 보였다.

또한 일부 연구에서는 작용 기전에 대한 실험이 함께 이루어졌다. 1990년 이후 암연구 동향을 살펴보면 세포독성연구, 면역반응이 주를 이루고 있으며 최근 들어서는 apoptosis(FACS)연구에 관한 실험이 이루어지고 있다. 1990년대에는 한약제의 항암작용에 대한 기존의 약리작용연구는 실험동물의 수명이 연장됨을 확인하는 수준이었다. 그러나 이러한 단편적인 연구로 항암제의 작용기전을 밝히기는 매우 부족하였으며, 2000년대 이후부터 항암제와 한약의 약리작용에

대한 유전자 수준 및 세포 분열주기에 미치는 영향에 관한 논문들이 발표되고 있다^{12-16,20-22,42,44,45,48,49,52)}.

항암제의 작용은 주로 세포분열이 일어나는 S/M phase에서 DNA의 합성을 방해하여 세포분열주기를 연장함으로써 세포의 증식을 억제시키거나 또는 DNA에 복구할 수 없는 심한 손상을 가하여 세포를 살상하여 나타난다. 따라서 항암효과를 검증하고 그 작용기전을 밝히기 위해서 Staining assay, FACS(Fluorescence activated cell sorter), Flow cytometry, RT-PCR, Western blotting등의 실험이 적용되고 있었다.

항암작용의 주요기전인 Programmed cell death라고도 불리는 apoptosis는 손상된 세포들의 제거를 위한 중요한 수단으로써 개체의 발생단계나 DNA 손상, 바이러스 감염 등에 의한 유전적 조절 하에서 일어나는 정교한 개체의 생존을 위한 방어기전으로 알려져 있다. apoptosis를 유도하는 Intrinsic pathway는 anti-apoptotic 단백질인 Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1, Bcl-W, Bfl-1, Bcl-B와 pro-apoptotic 단백질인 Bax, Bak, Bcl-XS, Bok 및 BH3 only 단백질인 Bid, Bim, Bad, Puma, Noxa으로 조절된다. anti- 및 pro-apoptotic 단백질들은 서로 결합하여 복합체를 형성하는데 이들 사이의 균형이 깨어지게 되면 미토콘드리아 막 투과성에 변화가 유발되어 미토콘드리아 내부로부터 세포기질로 cytochrome c가 방출되고 cysteine-related proteases인 caspases, 종양억제 유전자인 p53, DNA의 단편화와 연관된 endonuclease 등의 활성이 조절되어 apoptosis가 유발된다. 특히 caspase protease는 apoptosis 유발 조절인자로서 세포가 정상적으로 성장 및 생존할 때에는 핵과 mitochondria의 외막에 불활성상태로 존재하다가 활성화되면 많은 기질 단백질을 분해함으로써 apoptosis를 유발한다⁴⁸⁾. 항암제와 병용투여 시 이러한 apoptosis와 연관된 유전자의 발현에 미치는 영향에 대한 기전 실험이 이루어지고 있었다.

자궁암세포관련 2000년대 이후 논문에서는 세포사멸에 관여하는 기전에 관한 실험들이 포함되어 있었다. Annexin V-FITC/PI assay, Cell morphological assessment, Flow cytometry, Western blotting의 실험들을 통해 apoptosis에 관여하는 효소발현, Cell cycle pattern, DNA fragmentation 및 염색체 응축현상을 관찰하였다¹²⁻¹⁴⁾. 발현되는 효소 종류는 연구마다 달랐지만 공통적으로 DNA fragmentation을 관찰할 수 있었다.



반지련과 cisplatin 병용투여 시 Annexin V 및 PI 양성을 보임으로써 late apoptosis 비율이 높음이 확인되었다¹⁴⁾. 생지황과 ADM 병용투여 시 HeLa cell에 대한 Fas & Fas L 발현이 증가하였고¹²⁾, Berberine과 CPT 병용투여 시 HeLa cell의 염색체 응축과 ROS 생성이 확인되었다¹³⁾.

간암세포인 HepG2에 팔진항암단과 ADM 병용투여 시 뚜렷한 DNA Fragmentation이 관찰되었고, Fas protein 발현이 현저히 증가하여 apoptosis에 Fas연관 pathway가 작용함을 확인하였다²⁰⁾. Crystal violet staining을 통해 Chang cell에 팔진항암화적환과 ADM 병용투여 결과 고농도에서 1.3%의 생존율을 보이는 현저한 세포죽음(apoptosis)이 관찰되었다²¹⁻²²⁾.

또한 Hoechst staining, DNA Electrophoresis, Western blotting의 실험을 통해 JNK1활성, Chromatin 응축과 DNA fragmentation, FasL and Bax 발현이 확인되었다²⁰⁻²²⁾.

폐암세포를 실험한 논문에서 JC-1 staining⁴²⁾ 과 Rhodamine-123 staining^{44,45)}을 통해 mitochondria의 막전위 변화를 관찰하였고 DAPI staining^{44,45)}을 통해 chromatin condensation 과 DNA fragmentation이 일어남을 알 수 있었다. FACS, Fluorospectrometer, Western blotting을 통해 길경탕과 CPT의 병용투여 시 sub-G1 DNA fragmentation, Fas protein, caspase-3 발현의 증가를 관찰하였고 Histone protein H2AX의 인산화가 유도됨을 관찰함으로써 Apoptosis가 일어남을 확인하였다⁴²⁾.

대장암 동물모델에 순기화중탕 또는 보중익기합대 철기탕 추출물과 doxorubicin을 병용 처리한 결과 농도 의존적으로 악액질성 임상증상이 경감되었고, 종양 중량 및 체적이 유의하게 감소하였다. 대장암의 경우 최근 2015년의 논문에서는 luciferase analysis 및 western blotting을 통해 결합하는 Estrogen Receptor 종류와 apoptosis 발현인자를 확인하여 세포사멸기전을 밝히고자 하였다⁴⁸⁾. Estrogen receptor와 결합을 확인한 결과 beta receptor에 더 선택적인 활성을 관찰할 수 있었고 갈근, 황금, 고본, 대황의 결합율이 높았다. 복합탕제인 YKK012가 Caspase-3의 발현을 증가시키고 항암제 CPT-11과 병용투여 시 Bax가 증가되어 Bax, Caspase-3가 관여하는 pathway에 의해 apoptosis 유도가 일어남을 확인할 수 있었다. 이 밖에 FACS, Hemocytometer, Auto-analysis,

Urease-Indophenol assay, Jaffe assay, Microscopic method를 통해 백혈구, 면역세포 수 증가와 Creatinine/BUN level의 유의한 상승억제로 면역체계 활성화와 신장 독성감소 효과를 보였다.

그밖에 항암제 부작용 감소에 대한 연구로 백혈구 암세포를 실험한 논문에서 Wysocki & Mizel etc. assay, FACS19 Auto-analysis2021을 통해 면역력 증강 및 병용투여 시 흉선세포수의 증가를 관찰하였다³¹⁻³³⁾. 금은화, 백선피, 천산갑, 귀비탕 각각을 MMC와 병용투여 시 백혈구수와 체중을 증가시켰고 치사독성에 대한 사망비율을 감소시켰다^{9,10,34)}. 또한 Shimanoto 방법을 이용한 생존율 실험을 통해 종양세포의 lysosomal enzymes 활성 증가를 관찰함으로써 항종양효과를 확인하였다³⁰⁻³⁷⁾.

결론적으로 병용투여에 의한 항암 효과 기전은 주로 Annexin V-FITC/PI assay, Cell morphological assessment, Flow cytometry, Hoechst staining, DAPI staining, DNA Electrophoresis, Western blotting의 실험들을 통해 apoptosis에 관여하는 효소발현, Cell cycle pattern, DNA fragmentation 및 염색체 응축현상을 관찰하여 Apoptosis의 어느 단계를 조절하는지를 확인하여 설명되었다^{12-14,20-22,44,45)}. 또한 JC-1 staining⁴²⁾ 과 Rhodamine-123 staining^{44,45)}을 통해 mitochondria의 막전위 변화를 관찰하여 mitochondria내의 cytochrome C의 방출과 미세한 환경변화가 apoptosis에 관여함을 보였다.

특히 Fas ligand related pathway, Common pathway, P53 related pathway의 3가지 pathway중 하나를 조절하여 apoptosis를 일으키는 것이 확인되었다. Fas ligand related pathway는 생지황과 ADM¹¹⁾, 반지련과 CPT¹⁴⁾, 팔진항암단과 ADM²⁰⁾, 팔진항암화적환과 ADM^{21,22)}, 길경탕과 CPT⁴²⁾를 병용처리시 연관됨을 확인할 수 있었다. Common pathway는 가미 십전대보탕과 As₂O₃⁴⁴⁾, 청폐사간탕과 CPT-11⁴⁸⁾, 생맥산과 CPT⁴⁹⁾ 병용투여 시의 apoptosis 유도과 관련되었다. p53 related pathway는 정지환과 CPT⁵²⁾, 가감중액탕과 As₂O₃⁵⁵⁾ 병용 처리시 p53 발현이 증가되어 apoptosis 유도과 관련됨을 확인할 수 있었다.

본 연구를 통해 살펴본 병용 투여에 대한 세포 및 동물 실험 결과들을 그대로 환자에게 적용하기에는 무리가 있지만 보다 객관적인 지표를 세워나갈 수 있

는 방법으로 의미를 가질 수 있다. 항암제와 한약제의 병용투여에 대한 실험 결과는 투여량, 투여방법 및 투여시기, 암세포, 실험 동물 및 항암제 종류, 실험방법에 따라 서로 차이를 나타낼 수 있지만 전반적으로 병용투여가 면역증강 및 항암효과, 항암제 효과 증대 및 부작용 감소, 항산화 작용 등을 나타낸다고 결론지을 수 있다. 이러한 결과를 바탕으로 추가적인 임상연구가 시행되어야 하겠지만, 향후 암환자의 치료 효율성을 높이는 수단이 될 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구는 몇 가지 제한점이 있다. 첫째, 항암제와 한약제의 병용투여에 관한 논문 검색 과정에서 검색포털을 KISS, Oasis,로 제한하였고, 국내 논문만을 대상으로 하였다. 이는 먼저 국내 논문을 통해 연구현황 및 결과를 살펴보고자 한 것이며, 향후 국외 저널의 연구 결과에 대한 고찰이 이루어질 필요가 있다. 둘째, 실험연구 결과 및 병용투여 효과를 객관적인 방법으로 취합하지 못하였다. 둘 이상의 약제를 함께 투여하였을 때의 효과는 결합 효과에 따라 상승효과(synergistic effect), 상가효과(additive effect), 부상가효과(subadditive effect), 방해효과(interference effect), 반대효과(antagonistic effect)로 구분할 수 있으며 상호작용을 밝히기 위한 통계적 모형 설정이 필요하다⁶²⁾. 본 연구 결과에서 상승효과라고 표현한 것은 실험 논문 결과를 인용한 것이나 통계적 검정이 시행된 논문은 없었다. 또한 실험 방법, 대조군 및 결과 값 설정이 연구마다 달라 일정한 기준으로 취합하는 것이 불가능하였다. 향후에는 병용 투여 효과 확인을 위한 실험 및 연구 방법론이 적용될 필요가 있다.

현대 사회에서 사망원인 부동의 1위는 암이다. 나날이 발전하는 의학기술로 인해 생존율이 많이 향상되었지만 여전히 남겨진 문제로 항암치료를 통해 암을 극복하였다 하더라도 삶의 질(QOL)이 낮은 것이 있다. 이에 보다 효과적으로 암세포를 제거하고 부작용을 최소화 하기위한 치료방법으로 항암제와 한약의 병용투여는 계속 증가할 것으로 예측된다. 따라서 병용투여시 발생하는 약물의 다양한 상호작용에 대한 연구를 통해 새로운 임상지침을 마련하여 항암제와 한약의 병용 투여에 대한 안전성의 근거를 마련할 필요가 있다. 본 연구는 이상의 제한점에도 불구하고 항암제와 한약의 병용투여에 대한 긍정적인 효과를

확인할 수 있었으며, 이를 통해 향후 추가적인 연구 방향 제시 및 임상 근거 도출을 할 수 있을 것으로 기대한다.

V. 결론

항암제와 한약제의 병용투여를 통한 암세포증식 억제 및 사멸에 관하여 2016년까지의 실험 연구논문들 OASIS와 KISS를 중심으로 검색한 결과 최종적으로 45편의 논문을 선별하였으며, 자궁암세포(HeLa cell), 간암세포(Hep G2, Hep 3B cell, PLC, Chang, Alexander cell), Ehrlich carcinoma, 혈액암세포(L1210, MOLT-4, K562, HL-60, P338D1), 피부암세포(B16-BL6, A431), Sarcoma 180, 폐암세포(H157, A549, H460, B16-Fo), 기타 암세포(Colon-26, Colon-38, MKN-45, A172, T98G)로 나누어 분석한 결과 다음과 같다.

1. Hela cell의 경우 mitomycin C는 사향, 반현환, adriamycin은 생지황, cisplatin은 Berberine, 반지련, 방독탕, 반현환, mercaptopurine은 방독탕, 5-fluorouracil, 5-azacytidine은 반현환과 병용투여 시 항암제의 세포 독성이 증가하였다.
2. 간암세포인 Hep G2 cell은 mitomycin C를 유근피, 사향, 포공영, 시호, 인진, cisplatin은 포공영, 시호, adriamycin은 팔진항암단, 팔진탕합화적환과 병용투여 시 항암제의 세포 독성이 증가하였다. Hep 3B cell의 경우 mitomycin C, cisplatin, 5-fluorouracil은 시호, 인진, mitomycin C, cisplatin은 포공영, adriamycin은 인진과 병용투여 시 항암제의 세포 독성이 증가하였다. PLC에서는 mitomycin C, cisplatin, 5-fluorouracil은 시호, 포공영과 병용투여 시 항암제의 세포 독성이 증가하였다.
3. Ehrlich carcinoma 동물모델에 mitomycin C와 만삼, 단삼, 황기, 죽엽석고탕가감방, 십전대보탕가미방, 부정항암탕, 가미하고초산, 소요산가미방 각각을 병용투여했을 때 종양억제율이 증가하였다.
4. 백혈병세포인 L1210 cell의 경우 vincristine과 십육미유기음, 선전화독탕 각각을 병용투여 시 세포 독성이 증가하였다. MOLT-4 cell에 대해 mitomycin C는 양심탕, 보중익기탕, 팔미지황탕, 육미지황탕, 십전대보탕, 생맥산, 귀비탕과 병용투여 시 고농도에서만 세포독성에 증가하였다. K562 cell에서



- 는 mitomycin C를 어성초, 백선피와 병용투여 시 세포독성이 증가하였고, HL-60 cell은 adriamycin을 팔진탕합화적환과 병용투여 시 상승효과가 나타났다. P338D1에 chlorambucil과 황기를 병용투여 시 세포독성 및 종양동물모델 생존율이 증가하였다.
5. 피부암세포인 A431 cell에 mitomycin C와 백선피, 천산갑을 각각 고농도로 병용투여 시 세포독성이 증가하였다. B16-Fo cell의 경우 cyclophosphamide와 위경탕을 병용투여 시 항암효과가 증가되었다.
 6. Sarcoma 180에 대해 mitomycin C는 유근피, vincristine은 십육미유기음과 병용투여 시 세포독성이 증가되었고, bleomycin과 소적백출산을 병용투여 시 생존 시간이 늘어났다.
 7. 폐암세포인 A549 cell의 경우 5-fluorouracil과 위경탕, H157 cell은 cisplatin과 길경탕, H460 cell은 As₂O₃와 가미집전대보탕을 병용투여 시 세포독성이 증가하였다. Lewis lung carcinoma에 doxorubicin과 보중익기합대칠기탕을 병용투여 시 종양억제율이 증가하였다.
 8. 그밖에 Colon-26 및 MKN-45 cell에 doxorubicin과 순기화중탕, 보중익기합대칠기탕 각각을 병용투여 시 종양억제율이 증가하였다. Colon-38을 대상으로 CPT-11과 YKK012를 병용투여 시 상승효과가 확인되었다. A172 cell의 경우 cisplatin과 생맥산, 정지환을 각각 병용투여 시 항종양 효과가 증가하였다.

감사의 글

본 연구는 2016년도 부산대학교병원 임상연구비 지원으로 이루어졌음

References

1. National Cancer Information Center. Cancer Statistics. 2014: http://www.cancer.go.kr/mbs/cancer/subview.jsp?id=cancer_040101000000
2. National Cancer Information Center. Major Cancer Death Rate. 2014: http://www.cancer.go.kr/mbs/cancer/subview.jsp?id=cancer_040201000000
3. National Cancer Information Center. 10 years Survival Rate. http://www.cancer.go.kr/mbs/cancer/subview.jsp?id=cancer_040305000000
4. National Cancer Information Center. Cure Principle. http://www.cancer.go.kr/mbs/cancer/subview.jsp?id=cancer_020401020000
5. National Cancer Information Center. Anti-cancer Chemotherapy. http://www.cancer.go.kr/mbs/cancer/subview.jsp?id=cancer_020403020000
6. Koreanoncology Textbook Publish Committee. Integrative Oncology of Korean Medicine. 1st ed. Kunja Publisher. 2013:17-18.
7. Kim CB, Yoo JS, Park JK, Koh KW, Choi SY. Combined Treatment of Oriental Herbal Medicine and Prescribed Drugs among Cancer Patients. The Journal of Korean Oriental Medicine. 2007;28(2):205-212.
8. Eun JS, Song WY. The Combined Effects of n-BuOH Fraction of Ulmi Cortex and Anticancer Drugs on Cancer Cell Lines. The Korean Journal of Pharmacognosy. 1994;25(2):144-152.
9. Jeong HW, Choi JH, Jin CS. Effects of Flos Lonicerae and Herba Houtluynrae on Human Cancer Cells. The Korean Journal of Oriental Medical Pathology. 1996;10(1):126-132.
10. Jeong HW, Jeon BH. Cytotoxic Effects of Dictamni Cortex Radicis and Manitis Squama on Human Cancer Cells. The Korean Journal of Oriental Medical Pathology 1997;11(1):58-64.
11. Eun JS, Kim DK, Song JM. The Combined Effect of Moschus and Anti-tumor drug mitomycin C. The Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology. 2003;17(6):1404-1408.
12. Kim JY, Jo OH, Choe CM, Cho HB. Rhizoma Rehmanniae induced Apoptosis in Human Cervical Carcinoma HeLa cells. The Journal of Oriental Obstetrics & Gynecology. 2006;19(1):069-080.
13. Cho HJ. Synergistic Effect of cisplatin and Berberine on Inhibition of Cell Growth and Induction of Apoptosis involving Oxidative Stress in HeLa cells. The Korean Journal Of

- Oriental Physiology & Pathology. 2007;21(4): 992-997.
14. Nam JY, Sung JS, Jun HI, Lee JW, Kwon SK, Kim DI. Increasing Effects of Apoptosis When Co-treated *Scutellaria barbata* D.Don. with Anti-cancer Drugs. The Journal of Oriental Obstetrics & Gynecology. 2009;22(1):125-139.
 15. Lee HW, Song HJ, Kim SH. experimental Effects of Bangdoktang on the anti-cancer and Immuno-action. The Korean Journal of Oriental Medicine. 1994;15(1):263-281.
 16. Cho YD, Jin CS, Jeong JH, Reu DR. The Combined Effect of Banhyun-hwan and Anticancer Drug in Human Cervical Carcinoma HeLa cells. The Journal of Oriental Gynecology. 1995;8(1): 49-62.
 17. Song HJ, Kim JW, Kim SH. The Anti-tumor Effect of Herba Artemisiae Capillaris in Liver cancer cells and S-180. The Journal of Oriental Medical Pathology. 1995;10: 129-162.
 18. Kim DH, Kim SH. The Anti-tumor activity of Taraxaci Herba in Liver cancer cells and The Combined Effect of Taraxaci Herba and Anti-cancer drug. The Korean Journal of Oriental Medicine. 1995;16(2):386-413.
 19. Son GH, Kim SH. Antitumor Activity of Bupleuri Radix and Artemisiae capillaris Herba and Synergistic Effect with Anticancer Drugs. The Korean Journal of Oriental Medicine. 1995;16(2): 414-432.
 20. Baek EK, Moon G, Won JH, Kim DU, Baek DG, Yoon JC, et al. Anticancer Effect of Combination with Paljinhangahm-dan and adriamycin on HepG2 Human Malignant Hepatoma Cell Line. The Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology. 2003;17(5):1243-1250.
 21. Kim SJ, Song BG, Lee GU, Won JH, Moon G, Moon SJ, et al. experimental Studies on Antitumor Effects of Paljintanghabhwajuck-hwan. The Korean Journal Oriental Internal Medicine. 2000;21(1):65-73.
 22. Lee BG, Moon G, Moon SJ, Won JH, Cho JY, Park SG, et al. Study on Synergistic Anti-tumor Effect of Combination with adriamycin and Palginhonhapwhajucwhan. The Korean Journal of Internal Medicine. 2000;21(3):443-452.
 23. Jeon BH, Jeong WY. The Cytotoxicity of Methanol extract of Radix Codonopsisitis and mitomycin C. The Journal of Traditional Korean Medicine. 1997;7(2):5-10.
 24. Nam WY, Jeon BH. Effects of Ethanol extract of Radix Salviaemetiorrhizae on Anti-tumor Chemotherapeutic Cytotoxicity such as mitomycin C. The Korean Journal of Oriental Medical Pathology. 1997;11(2):113-117.
 25. Jeon BH. Effects of Methanol extract of Radix Astragali on Anti-tumor Chemotherapeutic Cytotoxicity. The Korean Journal of Oriental Medical Pathology. 1998;12(1):55-59.
 26. Jeon SH, Jeon BH, Won TH, Moon G, Moon SJ. Effects of Jukyeopseokgo-tanggagambang on Anti-tumor Chemotherapeutic Cytotoxicity and Lysosomal Enzymes of Tumor cell. The Journal of Korean Oriental Oncology. 1997;3(1):149-167.
 27. Lee DJ, Moon SJ. Effects of Sipjeondaebotanggambang on Anti-tumor Chemotherapeutic Cytotoxicity and Lysosomal Enzymes of Tumor cell. The Journal of Traditional Korean Medicine. 1997;7(2):116-123.
 28. Moon G, Kim BJ, Jeon BH, Won TH, Moon SJ. experimental Studies on the Anti-tumor Effects of Bujeonghangam-tang. The Journal of Korean Oriental Medical Pathology. 1997;11(2):16-26.
 29. Kim GT, Jeon BH. Effects of Gamihagochosan on Anti-tumor Cytotoxicity and Tumor cell. The Journal of Korean Internal Medicine. 1997;18(1):175-190.
 30. Cho HJ, Won TH, Moon G, Moon SJ, Jeon BH. Effects of Soyosangamibang on antitumor chemotherapy and lysosomal enzymes of tumor cell. The Korean Journal of Oriental Medicine. 1997;18(2):119-136.
 31. Jeong DH, Choi JH, Kim JH, Jeong HW. experimental Effects of Taklihwangkitang on



- the anti-cancer and Immuno-action. The Journal of Oriental Medical Surgery, Ophthalmology & Otolaryngology. 2002;15(2):118-131.
32. Shim SH, Kim JH, Choi JH, Jeong HW. Influences on the anticancer and inhibitive effects of the secondary effects by Anticarcinogen of Shibyukmiyoukieum. The Journal of Oriental Medical Surgery, Ophthalmology & Otolaryngology. 2002;15(2):302-314.
 33. Chang WL, Kim JH, Choi JH, Park SY. experimental Effects of Sunjeonhwadoktang on the Proliferation of Cancer Cells and Immunocytes - Focusing around combined Effects of Anticarcinogen - The Journal of Korean Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology. 2005;18(1):104-115.
 34. Ahn MS, Kim SG, Eun JS, Lim JP, Yum JY, Suh ES, et al. Studies on the combined Effect of Several Combined Preparation of Crude Drugs and mitomycin C(I). The Korean Journal of Pharmacognosy. 1992;22(3):158-170.
 35. Jeon JH, Ryu KW, Kim JS, Yoon SH, Ryu BH. Combined application of Astragali Radix and chlorambucil on anticancerous effect and host safety in Lukemia Cell(P388D1 cell) and its Bearing mice. The Korean Journal of Oriental Internal Medicine. 2005;26(2):291-301.
 36. Kim HS, Kim SH. Effects of Wekyungtang and Kami-Wekyungtang on Pulmonary Tumor Cells and the Changes of Tissues. The Journal of Oriental Medical Pathology. 1995;10:217-245.
 37. Seong HJ, Yoon YS. experimental Studies on the Kidney Cytotoxicity of Mouse by cisplatin and Liver Function of Sophora flavescens Aiton Effects. The Journal of Oriental Medical Surgery, Ophthalmology & Otolaryngology. 2001;14(1):167-172.
 38. Kim JC, Lim SC, Jung TY, Jung CS, Han SW. Inhibitory Effects of Sophora flavescens Aiton on the Pancreatic & Cardiac Side Effects of Chemotherapy by cisplatin. The Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 2005;19(4):945-949.
 39. Kim JC, Lee KM, Byun BH, Lim SC, Jung TY, Seo JC, et al. Inhibitory Effects of Sophora flavescens Aiton on the Hepatic & Renal Side Effects of Chemotherapy by cisplatin. The Korean Journal of Meridian & Acupoint. 2005;22(3):165-174.
 40. Kim TW, Son CK, Cho CK. Studies on the effects of Sojeokbaekchoolsan on the bleomycin induced pulmonary fibrosis and the anti-tumor activity. The Journal of Korean Oriental Oncology. 1999;5(1):77-101.
 41. Park KS, Park JH, Kim DH, Kim SH. Effects of Wekyungtang and KamiWekyungtang on Cytotoxicity of A549 cells and Antitumor Effect of S-180. The Journal of Oriental Medical Pathology. 1995;10:217-245.
 42. Ko YC, Lee SE, Park JY. Study on Anticancer Mechanism of Gilkyeungtang in Lung Cancer Cells. The Journal of The Korea Institute Of Oriental Medical Informatics. 2003;9(2):94-114.
 43. Lee YH, Kim BS, Oh JH, Lim HY, Kim DW, Choi BH, et al. The Anti-tumor Effect of Bojungikkeehapdaechilkitang with doxorubicin in 3LL. The Korean Journal of Oriental Medical Prescription. 2004;12(1):131-148.
 44. Hur JC, Won JH, Kim DW, Han SH, Moon G. Antitumor Effect of the Cotreatment of Gagamsibjeondaebotang and As₂O₃ in Human Lung Cancer Cell Line H-460. The Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology. 2004;18(4):1089-1097.
 45. Lee BH, Won JH, Kim DW, Lee JD, Moon G. Antitumor Effect of Gagamjengactang and As₂O₃ in Human Lung Cancer Cell Line H-157. The Korean Journal of Oriental Medicine. 2004;25(3):191-202.
 46. Shin MK, Kim BS, Oh JH, Lim HY, Kim DW, Choi BH, et al. The Anti-tumor Effect of Soonkiwhajungtang with doxorubicin in Colon-26. The Korean Journal of Oriental Medical Prescription. 2004;12(2):119-137.
 47. Lee YH, Byun JS. The Anti-tumor Effect of

- Bojungikkeehapdaechilkitang with doxorubicin in Colon-26. *The Journal of Korean Oriental Medicine*. 2004;25(2):9-21.
48. Ahn HM, Han SY, Kim JH, Rho TW, Chong MS, Kim YK. Effects of Cheongpyesagan-tang and YKK012 on in vitro and in vivo Colon Cancer Cell Growth with and without CPT-11. *The Korean Journal of Medicine Herbology*. 2015;30(1):33-42.
49. Kim SM, Yun JM, Lee KS, Lee YU, Na HS, Yoo BS, et al. Study on Apoptosis Inducement of Human Glioblastoma Cells by SaengMaecSan. *The Korean Journal of Oriental Internal Medicine*. 2003;24(4):870-881.
50. Lee YH, Kim BS, Oh JH, Lim HY, Kim DW, Choi BH, et al. The Anti-tumor Effect of Bojungikkeehapdaechilkitang with doxorubicin in MKN-45. *The Korean Journal of Oriental Internal Medicine*. 2004;25(1):92-105.
51. Shin MK, Byun JS. The Anti-tumor Effect of Soonkiwhajungtang with doxorubicin in MKN-45 Conclusion. *The Korean Journal of Oriental Medicine*. 2004;25(2):98-109.
52. Shin HS, Lee SW, Lee MG, Yun JM, Lee I, Sin SH, et al. Mechanisms of Apoptosis by Combination with Jeongjihwan and cisplatin in Human Glioblastoma Cells. *The Korean Journal of Oriental Medicine*. 2005;26(2):1-12.
53. Choi SH, Oh MS, Song TW, Nam GY. Immunopotentiating Effects and Antitumor activities of Sipjundaebo-tang. *The Journal of Daejeon University College of Korean Medicine*. 2002;11(1):257-238.
54. Kang YI, Kim TL, Park JO, Kim SH, Park JD, Kim DH. Compilation of 104 Experimental Theses on the Antitumor and Immunoactivating Therapies of Oriental Medicine. *The Korean Journal Oriental Physiology & Pathology*. 2003;17(1):1-24.
55. Kim JH, Kim C, Kim SK, Jang HC, Han JM, Yea SJ, et al. Analysis of Studies on Combined Medication of the Oriental and the Western Medicines. *Korean Journal Oriental Preventive Medical Society*. 2009;13(3):1-18.
56. Donald Abrams, Andrew Weil, *Integrative Oncology*. 1st ed. E public. 2009:19
57. YANG YF1, GE JZ, WU Y, XU Y, LIANG BY, LUO L, et al. Cohort study on the effect of a combined treatment of traditional Chinese medicine and Western medicine on the relapse and metastasis of 222 patients with stage II and III colorectal cancer after radical operation. *Chin J Integr Med*. 2008;14(4):251-256.
58. Liao YH1,2, Lin CC3,4,5, Lai HC4,6, Chiang JH7,8,9, Lin JG1, Li TC. Adjunctive traditional Chinese medicine therapy improves survival of liver cancer patients. *Liver Int*. 2015;35(12):595-602.
59. Wing Lam, Zaoli Jiang, Fulan Guan, Xiu Huang, Rong Hu, Jing Wang, et al. PHY906(KD018), an adjuvant based on a 1800-year-old Chinese medicine, enhanced the anti-tumor activity of Sorafenib by changing the tumor microenvironment. *Scientific Reports* 2015;5:9384.
60. Muhammad Wasif Saif, Jia Li, Lynne Lamb, Kristin Kaley, Kyle Elligers, Zaoli Jiang, et al. First-in-human Phase II trial of the Botanical Formulation PHY906 with Capecitabine as Second-line Therapy in Patients with Advanced Pancreatic Cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2014;73(2):373-380.
61. Donald Abrams, Andrew Weil, *Integrative Oncology*. 1st ed. E public. 2009:276.
62. Kim BS, Kim JH, Kim KM, Choi JJ. Statistical Method for Testing Synergism among Several Compounds. *The Korean Journal of Applied Statistics*. 1993;6(2):383-391.