

柴胡, 茵蔯의 肝癌細胞에 대한 抗癌活性 및 抗癌劑와의 相乘作用

손갑호* 김성훈*

ABSTRACT

Antitumor Activity of Bupleuri Radix and Artemisiae capillaris Herba and Synergistic Effect with Anticancer Drugs

In order to prove the antitumor effect of Bupleuri Radix(BR) and Artemisiae capillaris Herba(ACH) experimentally, studies were done. The antitumor effect against hepatic cancer such as Hep G2, PLC & Hep 3B, and also the synergistic action was evaluated in the combined treatment with anticancer drugs using chiefly for liver cancer, such as mitomycin(MMC), cisplatin(CPT) and 5-fluorouracil(5-FU). The results were obtained as follows:

1. IC₅₀ against Hep G2, Hep 3B and PLC was 15.5ug/ml, 25.4 ug/ml, 31.25ug/ml in Mitomycin(MMC), 92.5ug/ml, 50.2ug/ml, 62.5ug/ml in cisplatin(CPT) and 125ug/ml in 5-fluorouracil(5-FU) respectively.
2. The antitumor effect was shown in the all concentrations of ACH, BR and below 55%-Cytotoxic effect against Hep G2 as compared with the data of control was shown in the concentration of 10⁻⁴ g/ml above of BR but not in ACH and also BR and ACH revealed the synergistic effect with MMC.

* 대전대학교 한의과대학

※ 본 논문은 1995년 8월 10일 대한한의학회에 제출된 논문임.

3. The antitumor effect was shown in the concentration of 10^{-5} g/ml above of ACH, BR and below 55%-Cytotoxic effect against Hep 3B as compared with the data of control was shown in the concentration of 10^{-5} g/ml above of ACH but not in BR and also BR & ACH revealed the synergistic effect with MMC.
4. The antitumor effect was shown in the all concentrations of ACH, BR and 55%-Cytotoxic effect against PLC as compared with the data of control was shown in the concentration of 10^{-5} g/ml above of ACH but not in BR and also ACH revealed the synergistic effect with MMC.

From the above results it was concluded that *Artemisiae capillaris* had antitumor effect against PLC, Hep 3B, *Bupleuri Radix* against Hep G2 and also MMC showed the most synergistic effect in the anticancer drugs

I. 緒 論

柴胡는 繖形科(Umbelliferae)에 속한 多年生 草本인 柴胡의 뿌리를 乾燥한 것으로 性味은 苦微寒하며, 肝·膽經에 入하여 解表退熱 疏肝 解鬱 升舉陽氣하므로, 傷寒邪熱 痰熱結實 心下 煩熱 諸瘧寒熱 頭眩嘔吐 目赤 胸痞 脇痛 口苦 耳聾 등의 治療에 活用되고,¹⁻⁵⁾ 茵陳은 菊花科 (Compositae)에 屬한 多年生 草本인 사철쑥의 全草를 乾燥한 것으로, 性味が 苦 微寒하고, 肝·膽·脾·膀胱經에 入하여 脾胃濕熱鬱結을 除去하고 發汗利水하므로, 黃疸 傷寒時疾 狂熱 瘴癘 頭痛 頭旋 등의 治療에 應用되고 있다.^{4,5,6,7)}

이와 같이 柴胡와 茵陳은 모두 肝·膽經에 들어가 疏肝退熱과 清熱利濕하는 效能이 있어, 肝炎, 肝硬化, 黃疸, 膽囊炎 및 膽石症 등의 疾

病外에 最近에는 肝癌에도 活用되고 있다.⁸⁻⁹⁾

肝癌中 原發性肝癌은 東南亞나 아프리카에서 發病頻도가 높은 癌으로 部位에 따라 肝細胞癌, 膽管細胞癌 및 混合型癌 등으로 나눌 수 있는데, 그 病因은 主로 aflatoxin, mycotoxin 및 cycasin 등의 肝癌誘發因子, 肝炎Virus 및 肝寄生蟲 등에 의하는 것으로 알려져 있다.^{10,11,12)}

一般的인 症狀은 右上腹部에 痛症이 있고 血性腹水가 차며 肝에 壓痛이 있고 덩어리를 觸知할수 있으며 檢査上 代謝障礙, 低血糖症, 高갈슘症 α -fetoprotein의 增殖가 뚜렷하게 나타나 難治癌으로 分類되고 있으며 우리나라에서도 胃癌에 이어 두번째 死亡率을 나타내는 癌으로 報告되고 있다.^{10,12)}

韓醫學에서는 《難經 56 難》¹³⁾에서 “脾之積 名曰痞氣 在胃脘 腹大如盤 久不愈則 令人四肢不遂 發黃疸 飲食不爲肌膚”라 하여 肝癌과 類

似한 症狀을 言及을 한 以來 歷代文獻에서 黃疸, 鼓脹, 脇痛, 積聚 및 蟲門 등의 範疇에서 肝癌과 類似한 症狀과 病理를 取扱하였다.¹⁴⁻³⁰⁾ 肝癌의 病因은 主로 氣血瘀滯, 火毒內蘊, 脾虛濕困 및 肝膽濕熱 등이며, 治法은 活血化瘀, 清熱解毒 및 清肝脾濕熱을 主로 하며 扶正培本法이 併用되기도 한다.³¹⁻⁴⁰⁾

이와 같은 治療原則下에 柴胡나 茵陳이 包含된 處方을 肝癌의 治療에 活用한 報告는 多數 있는데 肝癌治療에 柴胡나 茵陳이 包含된 處方을 活用한 例로 買⁴¹⁾의 茵金丸, 苡蓮湯 및 罔茵丸, 朴⁴²⁾의 加味十六味流氣飲, 裴⁴³⁾의 三禁湯 加減方과 逍遙散加減方, 張⁴⁴⁾의 小柴胡湯 등이 있으며, 단일 藥材에 대한 實驗的 報告로 林⁴⁵⁾은 柴胡의 抗腫瘍作用을, 白⁴⁶⁾은 柴胡에서 分離된 shikonin의 抗癌性을 報告한 바가 있지만, 茵陳과 柴胡의 抗腫瘍效果를 比較한 研究는 아직 없다.

이에 著者는 柴胡와 茵陳의 肝癌細胞에 對한 抗癌活性和 肝癌의 治療에 活用되는 抗癌劑와 의 相乘效果를 實驗的으로 立證하고자, 柴胡와 茵陳의 煎湯液과, 肝癌治療에 多用되는 mitomycin C(MMC), cisplatin(CPT), 5-fluorouracil (5-FU) 등을 人體 肝癌細胞인 PLC(ATCC No.CRL 8024) Hep3B(ATCC HB 8064) 및 Hep G2(ATCC HB 8065)에 處理한 後 MTT法에 의해 細胞毒性을 살펴 보았던 바 有意性 있는 結果를 報告하는 바이다.

II. 實驗

1. 材料

1) 藥物

實驗에 使用된 藥材인 柴胡(Bupleuri radix)와 茵陳(Artemisiae capillaris)은 市中 乾材藥房에서 購入한 것을 精選하여 使用하였다.

2) 癌細胞 및 培養條件

Human hepatoma인 PLC(ATCC No.CRL 8024) cell line과 human Hepatocellular carcinoma인 Hep3B(ATCC HB 8064), HepG2(ATCC HB 8065) cell line을 本 實驗에 使用하였다. 培養液은 Eagle's MEM(GIBCO), non-essential amino acid(GIBCO), 10% fetal bovine serum(GIBCO), Eagle's BBS, 90% penicillin-streptomycin (100units/ml, 100 μ g/ml) 에서 繼大培養 하였다. 2일 以上 繼代 培養한 후 75cm² culture flask에 각 hepatoma cell이 monolayer 狀態로 70-80%를 차지하고 있을때 實驗을 實施하였다. 準備된 flask는 培養細胞表面을 dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A, sigma) 溶液으로 씻어준 후 trypsin-EDTA溶液 0.5ml을 넣고 37 °C에서 3分間 放置한 후 Eagle's MEM-10%FBS 5ml을 넣어 反應을 中止시키고 2回 Eagle's MEM-free로 洗滌한 후 實驗에 使用하였다.

3) 試藥 및 器機

實驗에 使用된 試藥은 Eagle's MEM(GIBCO), non-essential amino acid(GIBCO), 10% fetal bovine serum(GIBCO), dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS-A, sigma), sodium dodecyl sulfate(SDS, sigma), mitomycin C(MMC,sigma), cisplatin(CPT, Daewoong Pharm.

co.), 5-fluorouracil(sigma), trypsin-EDTA (sigma), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT, sigma), ethanol(Merck, Germany), penicillin-streptomycin (sigma), sodium bicarbonate(GIBCO), trypan blue (sigma), phenol red (sigma), sodium azide(sigma), isopropanol (sigma), HCl (Merck), acetic acid(Glacial), sulforhodamine B(SRB, sigma), sodium hydroxide (sigma)이며, 모두 特級 및 一級試藥을 使用하였다.

本 實驗에 使用된 器機인 CO₂ incubator (Model VS-9108MS, vision scientific co.), clean bench(KMC-14001, vision scientific co.), centrifuge(GS-6R, beckman co.), inverted microscope(nikon co, Japan), light microscope (UFX-DX, Nikon), ELISA-reader(Emax, USA), FACScan (Becton dickinson, USA), rotary vaccum evaporator(Büchi 461), autoclave (hirayama, Japan), micro-pipet(Gilson, USA), autostill WG25 (Japan), titer plate shaker (labline inst., USA), culture flask (falcon 3024), multi-well plate (96-well, falcon), conical tube, disposable pipet(5ml,10ml, 25ml, falcon) 및 sylinge filter (0.25um, falcon)등을 使用하였다.

2. 實驗

1) 檢液의 調製

柴胡와 茵陳 300g을 3,000ml round flask에 蒸溜水 2,000ml와 함께 넣은 다음 冷却器를 附着시키고 2時間 동안 加熱하여 濾過한 濾液을

rotary vaccum evaporator(Büchi 461)에서 減壓濃縮하고 이 round flask를 -84 °C deep freezer (SANYO,Japan)에서 1時間동안 放置한 후 freeze dryer(EYELA,Japan)로 4時間동안 凍結乾燥하여 粉末을 얻었다.

2) MTT 法에 의한 柴胡, 茵陳의 細胞毒性 測定

本 實驗에 使用한 MTT法은 Mosmann이 開發하여 Kotnik등이 變形시킨 方法⁵⁷⁻⁵⁹⁾을 利用하였다. 즉 96 well plate의 각 well에 肝癌細胞 2x10⁴cells를 넣고 37°C의 CO₂ incubator에서 24時間 培養한 柴胡와 茵陳, 蒲公英 및 蒲公英 EE層의 稀釋液 50μl을 넣고 37°C의 CO₂ incubator에서 48時間 培養하였다. 培養終了 4 時間 前에 5μg/ml 濃度로 DPBS-A에 稀釋된 MTT溶液 20μl를 각 well에 添加하고, 培養終了時까지 銀薄紙로 빛을 遮斷시켜 培養하였다. 培養終了時 培養液을 除去한 뒤, Eagle's MEM을 각 well에 100μl씩 넣고 1000rpm에서 3分間 遠心分離한 뒤 上層液을 除去한 後 0.04N HCl-isopropanol 100μl를 각 well에 添加하고 攪拌시킨 다음, titer plate shaker (Lab-Line, USA) 3.5 speed에서 5分間 shaking한 後 다시 遠心分離하였다. 變色된 각 well의 吸光度를 ELISA-reader(Emax, USA)를 利用하여 570nm에서 測定하고, 對照群의 吸光도와 比較하여 細胞成長率을 %로 換算하였다.

3) Human hepatoma cell 增殖에 대한 抗癌劑의 IC₅₀ 測定

細胞附着을 50% 抑制할 수 있는 각 抗癌劑

의 濃度(IC₅₀)를 구하기 위해, 抗癌劑를 多様な 濃度로 培養液에 稀釋하고 濾過滅菌시켜 앞서 言及한 바와 같은 MTT法으로 實驗하였다. 細胞毒性을 50% 抑制하는 각 抗癌劑의 IC₅₀을 算出하였다.

4) Human hepatoma cell의 增殖에 대한 柴胡, 茵陳의 細胞 毒性 測定

細胞附着을 50% 抑制할 수 있는 柴胡, 茵陳의 濃度를 구하기 위해, 柴胡, 茵陳, 蒲公英 및 蒲公英 EE層을 多様な 濃度로 培養液에 稀釋하고 濾過滅菌시켜 앞서 言及한 바와 같은 MTT法으로 實驗하였다. 肝癌細胞에 對한 對照群의 吸光度에 대한 實驗群의 吸光度를 百分率으로 換算하여 算定하였다.

5) Human hepatoma cell 增殖에 대한 柴胡, 茵陳과 抗癌劑와의 併用 投與時 細胞毒性 測定.

柴胡, 茵陳을 多様な 濃度로 培養液에 稀釋하고, 細胞附着을 50% 抑制할 수 있는 각 抗癌劑를 각각 濾過滅菌시켜 앞서 言及한 바와 같은 MTT法으로 實驗하였다. 細胞의 附着能에 미치는 각 抗癌劑의 效果 判定은 對照群의 吸光度에 대한 實驗群의 吸光度를 百分率로 換算하여 算定하였다.

III. 實驗成績

1. Hep G2, Hep 3B, 및 PLC에 대한 抗癌劑의 IC₅₀

HepG2, Hep 3B, 및 PLC를 50% 抑制할 수 있는 각 抗癌劑의 濃度를 定하기 위하여 각 Well에 細胞 2x10⁴個를 넣고 mitomycin C, cisplatin 5-fluorouracil을 각 濃度로 加하고 培養한 結果 Hep G2, Hep 3B, PLC에 대한 IC₅₀은 MMC에서 각각 15.5μg/ml, 25.4μg/ml, 31.25 μg/ml로 나타났고, CPT는 각각 92.5μg/ml, 50.2 μg/ml, 62.5μg/ml로 나타났으며, 5-FU는 모두 125μg/ml로 동일하게 나타났다(Table 1).

Table 1. IC₅₀ of Anti-Cancer Drugs on Hep G2, Hep 3B and PLC (2 x 10⁴ cells/well).

Drug	Hep G2	Hep 3B	PLC
mitomycin C	15.5	25.4	31.25
cisplatin	92.5	50.2	62.5
5-fluorouracil	125	125	125

2. Hep G2에 대한 茵陳의 抗腫瘍效果

Hep G2에 미치는 茵陳의 直接的인 作用效果를 알아보기 위해 茵陳을 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³g/ml을 各各 加하여 培養하고 吸光度를 測定한 結果 對照群의 吸光度를 100으로 했을 때 各各 66.5±0.545, 62.4±1.091, 59.8±0.655, 58.9 ±1.091로, 10⁻⁶g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.1).

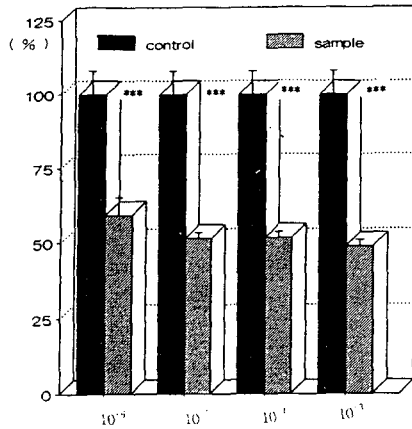


Fig.1. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract against HepG2
 Each line graph represents the mean±SE of 4 assays
 * Significantly different from the date of control group
 (: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

69.9±1.233, 69.0±1.109, 56.3±0.863, 54.2±0.493%로 나타났으며, 10⁻³g/ml에서만 有意性이 認定되었다(Fig.2).(Fig.3).

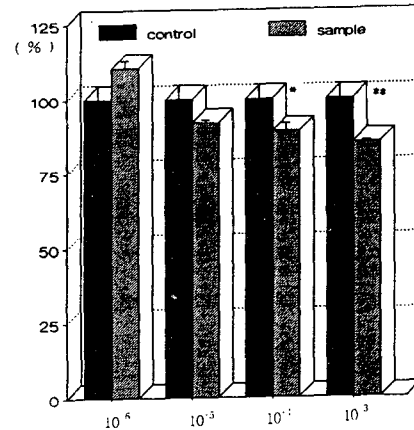


Fig.2. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract and mitomycin C against HepG2. Mitomycin C treated cells were incubated with various concentrations of Artemisiae capillaris Herba extract
 Each line graph represents the mean±SE of 4 assays.
 * Significantly different from the date of control group
 (: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

3. Hep G2에 대한 茵蕪과 各 抗癌劑의 相乘作用

1) mitomycin C의 併用投與 效果

HepG2에 미치는 茵蕪과 mitomycin C의 併用投與 效果를 알아보기 위해 茵蕪을 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³g/ml을 各各 加하고 mitomycin C 15.5μg/ml를 加하여 培養하고, mitomycin C 만 處理한 對照群의 吸光度를 100±5.29%로 하였을 때, 各各 39.3±0.529, 23.0±0.176, 21.3±0.881, 19.2±0.352%로 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10⁻³g/ml에서는 強하게 抑制되었다

2) cisplatin과 相乘作用

HepG2에 미치는 茵蕪과 cisplatin의 併用投與 效果를 알아보기 위해 茵蕪을 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³g/ml을 各各 加하고 cisplatin 92.5μg/ml를 加하여 培養하고, cisplatin만 處理한 對照群의 吸光度를 100±4.98%로 하였을때 各各

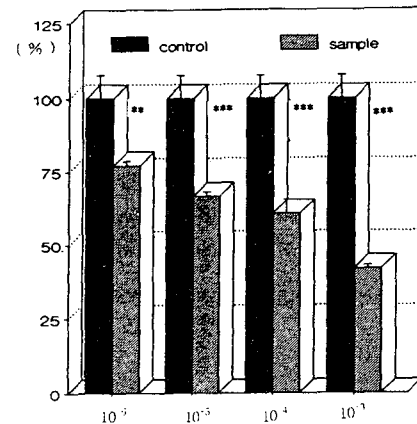


Fig.3. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract and cisplatin against HepG2. Cisplatin treated cells were incubated with various concentrations of Artemisiae capillaris Herba extract
 Each line graph represents the mean±SE of 4 assays
 * Significantly different from the date of control group
 (: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

3) 5-fluorouracil과 相乘作用

HepG2에 미치는 茵陳과 5-fluorouracil의 併用投與 效果를 알아보기 위해 茵陳을 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 5-fluorouracil 125 μ g/ml를 加하여 培養하고, 5-fluorouracil만 處理한 對照群의 吸光度를 $100 \pm 5.84\%$ 로 하였을때 各各 75.7 ± 1.168 , 64.8 ± 0.584 , 60.7 ± 1.168 , $32.8 \pm 0.584\%$ 로 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.4).

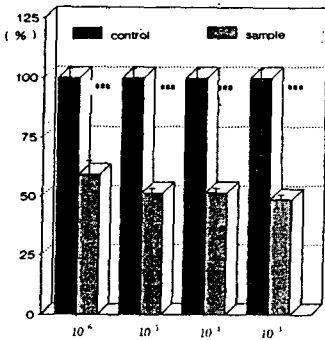


Fig.4. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract and 5-fluorouracil against HepG2. 5-fluorouracil treated cells were incubated with various concentrations of Artemisiae capillaris Herba extract. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (: P<0.05, *P<0.01, *** P<0.001)

4. Hep 3B에 대한 茵陳의 抗腫瘍效果

Hep 3B에 미치는 茵陳의 直接的인 作用效果를 알아보기 위해 茵陳을 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하여 培養하고, 吸光度를 測定하여 對照群의 吸光度를 $100 \pm 3.70\%$ 으로 했을 때 各各 59.3 ± 5.952 , 51.5 ± 1.984 , 51.7 ± 1.984 , $48.8 \pm 1.984\%$ 로, 10^{-6} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.5).

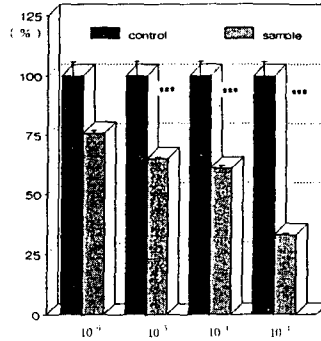


Fig.5. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract against Hep3B. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (: P<0.05, *P<0.01, *** P<0.001)

5. Hep 3B에 대한 茵陳과 各 抗癌劑의 相乘作用

1) mitomycin C와 相乘作用

Hep 3B에 미치는 茵陳과 mitomycin C의 併用投與 效果를 알아보기 위해 茵陳을 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 mitomycin C 25.4 μ g/ml를 加하여 培養하고, mitomycin C만 處理한 對照群의 吸光度를 $100 \pm 7.93\%$ 로 하였을 때, 各各 59.3 ± 5.952 , 51.5 ± 1.984 , 51.7 ± 1.984 , $48.8 \pm 1.984\%$ 로 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.6).

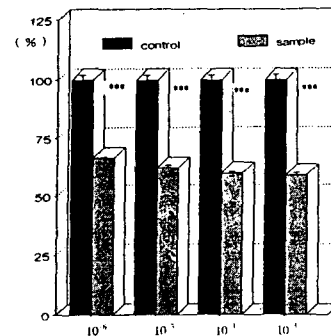


Fig.6. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract and mitomycin C against Hep3B. Mitomycin C treated cells were incubated with various concentrations of Artemisiae capillaris Herba extract. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (: P<0.05, *P<0.01, *** P<0.001)

2) cisplatin과 相乘作用

Hep3B에 미치는茵蕈과 cisplatin의 併用投與 效果를 알아보기 위해茵蕈을 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 cisplatin $50.2\mu\text{g/ml}$ 를 加하여 培養하고, cisplatin만 處理한 對照群의 吸光度를 $100\pm 4.80\%$ 로 하였을때 各各 110.5 ± 2.403 , 92.0 ± 0.961 , 89.1 ± 2.403 , $85.1\pm 0.480\%$ 로 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서만 有意性이 認定되었다(Fig.7).

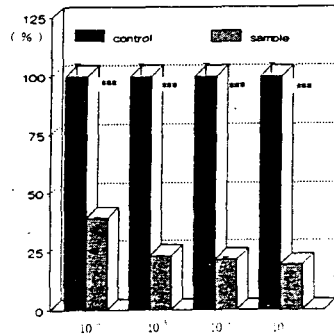


Fig. 7. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract and cisplatin against Hep3B. Cisplatin treated cells were incubated with various concentrations of Artemisiae capillaris Herba extract. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

3) 5-fluorouracil과 相乘作用

Hep3B에 미치는茵蕈과 5-fluorouracil의 併用投與 效果를 알아보기 위해茵蕈을 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 5-fluorouracil $125\mu\text{g/ml}$ 를 加하여 培養하고, 5-fluorouracil만 處理한 對照群의 吸光度를 $100\pm 7.65\%$ 로 하였을때 各各 77.1 ± 1.530 , 66.6 ± 1.530 , 60.6 ± 4.591 , $42.1\pm 1.071\%$ 로 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.8).

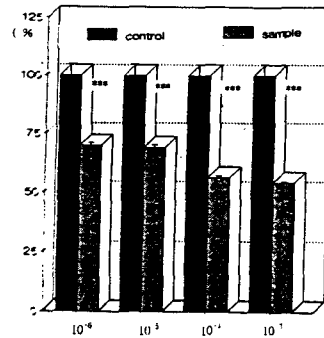


Fig. 8. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract and 5-fluorouracil against Hep3B. 5-fluorouracil treated cells were incubated with various concentrations of Artemisiae capillaris Herba extract. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

6. PLC에 대한茵蕈의 抗腫瘍效果

PLC에 미치는茵蕈의 直接的인 作用效果를 알아보기 위해茵蕈을 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하여 培養하고, 吸光度를 測定하여 對照群의 吸光度를 $100\pm 1.66\%$ 으로 했을 때 各各 65.6 ± 0.664 , 53.9 ± 1.495 , 50.9 ± 1.661 , $33.8\pm 1.495\%$ 로, 10^{-6} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.9).

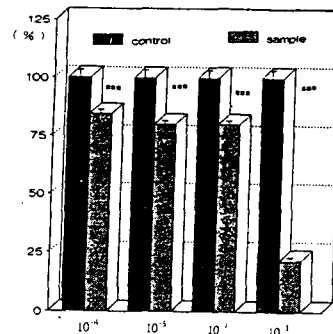


Fig. 9. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract against PLC. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

7. PLC에 대한 茵陳과 各 抗癌劑와의 相乘作用

1) mitomycin C와 相乘作用

PLC에 미치는 茵陳과 mitomycin C의 併用 投與 效果를 알아보기 위해 茵陳 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 mitomycin C 31.25 μ g/ml를 加하여 培養하고, mitomycin C만 處理한 對照群의 吸光度를 $100 \pm 3.43\%$ 로 하였을 때, 各各 55.9 ± 1.543 , 52.8 ± 1.715 , 51.6 ± 1.715 , $35.1 \pm 1.543\%$ 로 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다 (Fig.10).

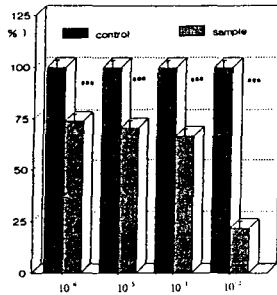


Fig.10. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract and mitomycin C against PLC. Mitomycin C treated cells were incubated with various concentrations of Artemisiae capillaris Herba extract
Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays
* Significantly different from the date of control group
(: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

2) cisplatin과 相乘作用

PLC에 미치는 茵陳과 cisplatin의 併用 投與 效果를 알아보기 위해 茵陳을 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 cisplatin 62.5 μ g/ml를 加하여 培養하고, cisplatin만 處理한 對照群의 吸光度를 $100 \pm 3.43\%$ 로 하였을 때 各各 84.4 ± 1.715 , 80.0 ± 1.715 , 80.2 ± 1.372 , $21.6 \pm 1.715\%$ 로 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서만 有意性이 認定되었다 (Fig.11).

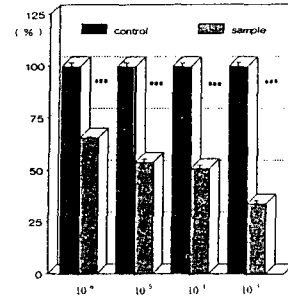


Fig.11. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract and cisplatin against PLC. Cisplatin treated cells were incubated with various concentrations of Artemisiae capillaris Herba extract
Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays
* Significantly different from the date of control group
(: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

3) 5-fluorouracil과 相乘作用

PLC에 미치는 茵陳과 5-fluorouracil의 併用 投與 效果를 알아보기 위해 茵陳을 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 5-fluorouracil 125 μ g/ml를 加하여 培養하고, 5-fluorouracil만 處理한 對照群의 吸光度를 $100 \pm 3.43\%$ 로 하였을 때 各各 73.9 ± 3.340 , 70.6 ± 3.340 , 66.7 ± 3.340 , $21.9 \pm 0.343\%$ 로 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다 (Fig.12).

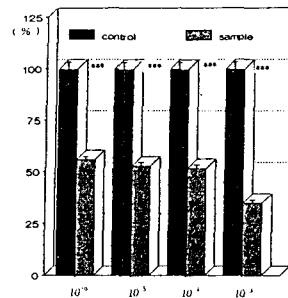


Fig.12. Antitumor effect of Artemisiae capillaris Herba extract and 5-fluorouracil against PLC. 5-fluorouracil treated cells were incubated with various concentrations of Artemisiae capillaris Herba extract
Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays.
* Significantly different from the date of control group
(: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

8. Hep G2에 대한 柴胡의 抗腫瘍效果

Hep G2에 미치는 柴胡의 直接的인 作用效果를 알아보기 위해 柴胡를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ,

10⁻³g/ml을 각각 가하여 배양하고, 흡광도를 측정하여 對照群의 흡광도를 100±2.18%으로 했을 때 각각 67.1±9.825, 61.8±2.183, 54.8±1.091, 54.1±1.091%로, 10⁻⁶g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.13).

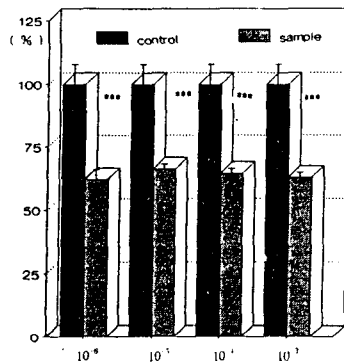


Fig.13. Antitumor effect of Bupleuri radix extract against HepG2
Each line graph represents the mean±SE of 4 assays
* Significantly different from the date of control group
(: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

9. Hep G2에 대한 柴胡와 各 抗癌劑와의 相乘作用

1) mitomycin C와 相乘作用

Hep G2에 미치는 柴胡와 mitomycin C의 併用投與 效果를 알아보기 위해 柴胡를 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³g/ml을 각각 가하고 mitomycin C 15.5μg/ml를 가하여 배양하고, mitomycin C 만 處理한 對照群의 흡광도를 100±0.05%로 하였을 때, 각각 28.1±0.529, 19.2±0.176, 17.2±0.881, 15.3±0.352%로 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10⁻³g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.14).

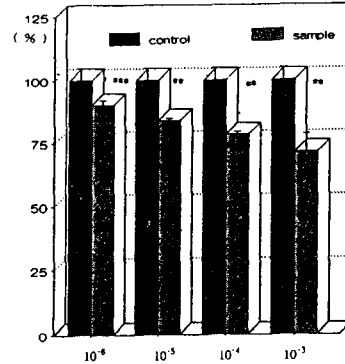


Fig.14 Antitumor effect of Bupleuri radix extract and mitomycin C against HepG2. Mitomycin C treated cells were incubated with various concentrations of Bupleuri radix extract
Each line graph represents the mean±SE of 4 assays
* Significantly different from the date of control group
(: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

2) cisplatin과 相乘作用

Hep G2에 미치는 柴胡와 cisplatin의 併用投與 效果를 알아보기 위해 柴胡를 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³g/ml을 각각 가하고 cisplatin 92.5μg/ml를 가하여 배양하고, cisplatin만 處理한 對照群의 흡광도를 100±4.93%로 하였을 때 각각 83.8±2.466, 78.5±1.233, 77.5±0.616, 75.9±1.233%로 나타났으며, 10⁻³g/ml에서만 有意性이 認定되었다(Fig.15).

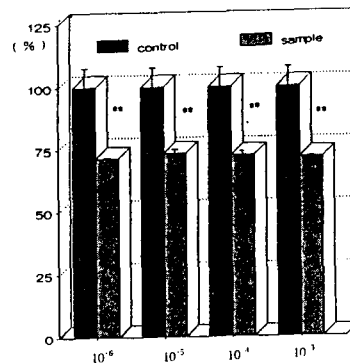


Fig.15. Antitumor effect of Bupleuri radix extract and cisplatin against HepG2. Cisplatin treated cells were incubated with various concentrations of Bupleuri radix extract
Each line graph represents the mean±SE of 4 assays
* Significantly different from the the date of control group
(: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

3) 5-fluorouracil과 併用投與 效果

Hep G2에 미치는 柴胡와 5-fluorouracil의 併用投與 效果를 알아보기 위해 柴胡를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 5-fluorouracil 125 μ g/ml를 加하여 培養하고, 5-fluorouracil만 處理한 對照群의 吸光度를 $100 \pm 5.84\%$ 로 하였을때 各各 70.6 ± 0.467 , 70.9 ± 0.116 , 64.4 ± 1.168 , $51.2 \pm 0.116\%$ 로 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.16).

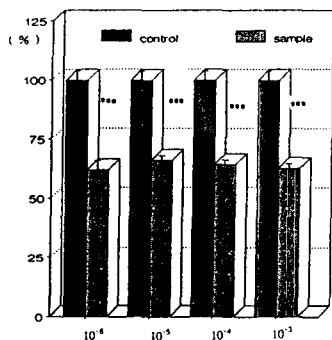


Fig.16. Antitumor effect of Bupleuri radix extract and 5-fluorouracil against HepG2. 5-fluorouraciltreated cells were incubated with various concentrations of Bupleuri radix extract. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

10. Hep 3B에 대한 柴胡의 抗腫瘍效果

Hep3B에 미치는 柴胡의 直接的인 作用效果를 알아보기 위해 柴胡를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하여 培養하고, 吸光度를 測定하여 對照群의 吸光度를 $100 \pm 3.96\%$ 으로 했을 때 各各 62.1 ± 3.97 , 66.2 ± 1.984 , 64.4 ± 1.984 , $62.8 \pm 1.190\%$ 로, 10^{-6} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.17).

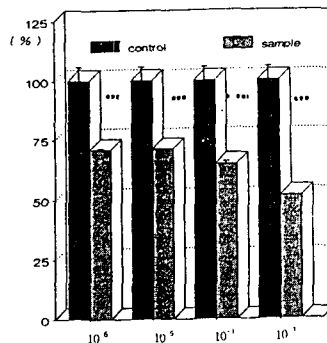


Fig.17. Antitumor effect of Bupleuri radix extract against Hep3B. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

11. Hep 3B에 대한 柴胡와 各 抗癌劑와 相乘作用

1) mitomycin C와 相乘作用

Hep 3B에 미치는 柴胡와 mitomycin C의 併用投與 效果를 알아보기 위해 柴胡를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 mitomycin C 25.4 μ g/ml를 加하여 培養하고, mitomycin C 만 處理한 對照群의 吸光度를 $100 \pm 7.93\%$ 로 하였을 때, 各各 62.1 ± 3.97 , 66.2 ± 1.984 , 64.4 ± 1.984 , $62.8 \pm 1.190\%$ 로 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.18).

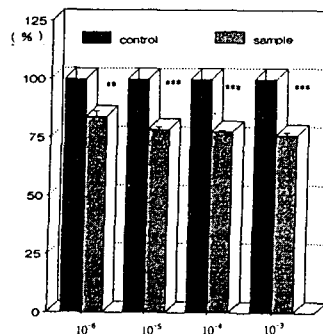


Fig.18. Antitumor effect of Bupleuri radix extract and mitomycin C against Hep3B. Mitomycin C treated cells were incubated with various concentrations of Bupleuri radix extract. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

2) cisplatin과 相乘作用

Hep 3B에 미치는 柴胡와 cisplatin의 併用投與 效果를 알아보기 위해 柴胡를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 cisplatin $50.2\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 加하여 培養하고, cisplatin만 處理한 對照群의 吸光度를 $100\pm 4.80\%$ 로 하였을때 各各 90.1 ± 1.923 , 83.8 ± 0.961 , 78.1 ± 1.201 , $71.1\pm 7.211\%$ 로 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서만 有意性이 認定되었다(Fig.19).

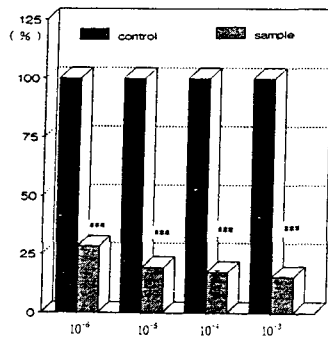


Fig.19. Antitumor effect of Bupleuri radix extract and cisplatin against Hep3B. Cisplatin treated cells were incubated with various concentrations of Bupleuri radix extract. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (∴ P<0.05, ∴∴ P<0.01, ∴∴∴ P<0.001).

3) 5-fluorouracil과 相乘作用

Hep 3B에 미치는 柴胡와 5-fluorouracil의 併用投與 效果를 알아보기 위해 柴胡를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하고 5-fluorouracil $125\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 加하여 培養하고, 5-fluorouracil만 處理한 對照群의 吸光度를 $100\pm 7.87\%$ 로 하였을때 各各 71.4 ± 0.472 , 73.2 ± 1.574 , 72.2 ± 1.574 , $71.4\pm 0.314\%$ 로 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.20).

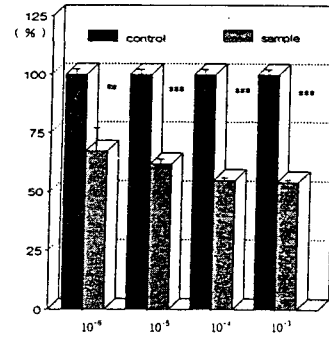


Fig.20. Antitumor effect of Bupleuri radix extract and 5-fluorouracil against Hep3B. 5-fluorouracil treated cells were incubated with various concentrations of Bupleuri radix extract. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (∴ P<0.05, ∴∴ P<0.01, ∴∴∴ P<0.001).

12. PLC에 대한 柴胡의 抗腫瘍效果

PLC에 미치는 柴胡의 直接的인 作用效果를 알아보기 위해 柴胡를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 各各 加하여 培養하고, 吸光度를 測定하여 對照群의 吸光度를 $100\pm 3.44\%$ 로 했을 때 各各 96.5 ± 0.862 , 90.3 ± 1.724 , $86.8\pm 1.724\%$, $84.8\pm 1.724\%$ 로, 10^{-6} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.21).

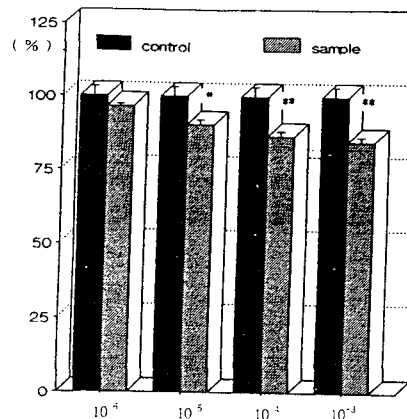


Fig.21. Antitumor effect of Bupleuri radix extract against PLC. Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays. * Significantly different from the date of control group (∴ P<0.05, ∴∴ P<0.01, ∴∴∴ P<0.001).

13. PLC에 대한 柴胡와 각 抗癌劑의 相乘作用

1) mitomycin C와 相乘作用

PLC에 미치는 柴胡와 mitomycin C의 併用 投與 效果를 알아보기 위해 柴胡를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 각각 加하고 mitomycin C $31.25\mu\text{g/ml}$ 를 加하여 培養하고, mitomycin C만 處理한 對照群의 吸光度를 $100\pm 3.44\%$ 로 하였을 때, 각각 96.5 ± 1.034 , 90.3 ± 1.724 , 86.8 ± 1.724 , $84.8\pm 1.724\%$ 로 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다 (Fig.22).

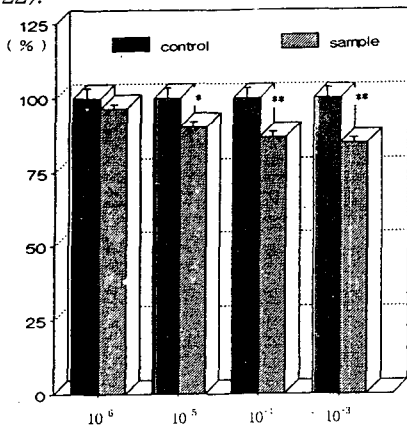


Fig.22. Antitumor effect of Bupleuri radix extract and mitomycin C against PLC. Mitomycin C treated cells were incubated with various concentrations of Bupleuri radix extract Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays * Significantly different from the date of control group (: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

2) cisplatin과 相乘作用

PLC에 미치는 柴胡와 cisplatin의 併用 投與 效果를 알아보기 위해 柴胡를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 각각 加하고 cisplatin $62.5\mu\text{g/ml}$ 를 加하여 培養하고, cisplatin만 處理한 對照群의 吸光度를 $100\pm 3.44\%$ 로 하였을 때 각각 91.7 ± 3.448 , 90 ± 1.379 , 86.0 ± 3.448 , $85\pm 1.034\%$ 로 나

타났으며, 10^{-3} g/ml에서만 有意性이 認定되었다 (Fig.23).

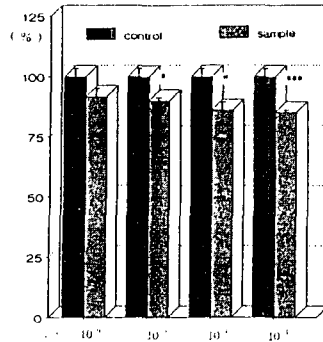


Fig.23. Antitumor effect of Bupleuri radix extract and cisplatin against PLC. Cisplatin treated cells were incubated with various concentrations of Bupleuri radix extract Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays * Significantly different from the date of control group (: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

3) 5-fluorouracil과 相乘作用

PLC에 미치는 柴胡와 5-fluorouracil의 併用 投與 效果를 알아보기 위해 柴胡를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml을 각각 加하고 5-fluorouracil $125\mu\text{g/ml}$ 를 加하여 培養하고, 5-fluorouracil만 處理한 對照群의 吸光度를 $100\pm 3.44\%$ 로 하였을 때 각각 88.3 ± 3.430 , 88.1 ± 1.715 , 85.0 ± 1.372 , $76.8\pm 1.715\%$ 로 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다(Fig.24).

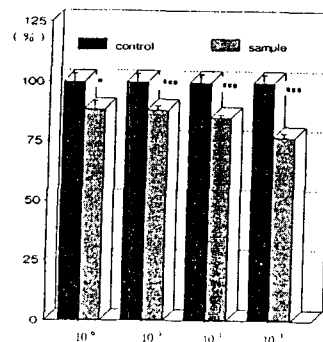


Fig.24. Antitumor effect of Bupleuri radix extract and 5-fluorouracil against PLC. 5-fluorouracil treated cells were incubated with various concentrations of Bupleuri radix extract Each line graph represents the mean \pm SE of 4 assays * Significantly different from the date of control group (: P<0.05, **:P<0.01, ***: P<0.001)

IV. 考 察

肝癌은 癌中の 癌으로 불리울 만큼 進行速度나 豫後가 불량한 疾患으로 原發性肝癌, 轉移性肝癌 및 良性肝癌 등으로 나눌 수 있는데, 이 중 原發性肝癌은 發生比率이 가장 높다. 轉移性肝癌은 다른 部位의 癌이 肝臟으로 轉移된 것을 말하며, 良性肝癌은 매우 드문 것으로 血管腫이 많다.^{10,11,12)}

原發性肝癌의 病因은 主로 aflatoxin, mycotoxin 및 cycasin 등의 肝癌誘發因子, 肝炎Virus 및 肝寄生蟲 등에 의하는 것으로 알려져 있는데, 證狀은 自覺症狀과 初期症狀이 특별한 것이 없고, 다만 食慾不振과 上腹部 不快感, 消化不良, 倦怠感, 肩背痛, 腹痛과 體重減少, 腹部腫瘤 및 腹部 膨滿感 등이 온다. 病이 조금 進展되면 肝腫大와 腫瘤가 觸知되며 惡寒이 오고 脇肋痛이 나기도 한다.^{11,47,48)} 때로는 肝硬化때 나타나는 脇下疼痛, 腹脹, 口乾口苦, 頭痛 衄血, 齒齦出血, 下肢浮腫, 食道出血, 蜘蛛樣血管擴張, 脾臟腫大 등도 볼 수 있고, 便秘가 있고 上腹部에 鈍痛을 느끼며, 점점 더 甚해지면 黃疸이 오기도 한다.^{11,47,48)} 診斷의 根據로는 첫째 上腹部 또는 右胸部에 局限된 疼痛이 患者의 半數 以上에서 보여지며, 둘째 約 20%에서 血性腹水 或은 腹腔內出血을 보이며, 셋째 肝에 壓痛이 있는 덩어리를 觸指할 수 있으며, 넷째 肝部位에서 摩擦音 或은 雜音을 들을 수 있다.^{11,47)} 治療는 化學療法이 多用되는데 여기에 利用되는 抗癌劑에는 mitomycin, cisplatin, 5-fluorouracil, adriamycin 등이 있고, 그 밖에 手術療法, 放射線療法, 免疫療法 등이 應用되고 있다.⁴⁹⁻⁵⁴⁾

韓醫學에서 肝癌의 辨證治療는 첫째, 氣滯血瘀型에 疏肝理氣와 活血化瘀의 治法을, 둘째, 脾虛濕困型에 益氣健脾와 化濕解毒하는 治法을, 셋째, 肝膽濕熱型에는 清利肝膽濕熱와 解毒하는 治法을 主로 應用하는 것으로 報告되고 있는데,³¹⁻⁴⁰⁾ 柴胡와 茵陳은 主로 肝膽濕熱을 除去하고 疏泄作用을 圓滑히 하는 藥物로 알려져 있다.

柴胡는 繖形科에 屬하는 多年生 草本인 柴胡의 뿌리로 異名은 茈胡, 山菜, 茹草, 柴草이고, 性味은 苦, 微寒하며 肝·膽經에 入하여 解表退熱 疏肝升陽하므로 肝炎, 膽道疾患, 膽囊炎, 胸滿脇痛, 月經不調, 子宮脫垂, 脫肛, 上呼吸道感染, 瘧疾, 寒熱往來 등에 應用되고 藥理學的으로 消炎, 解熱, 鎮痛 및 鎮靜作用이 있고 消化器系, 循環系, 新陳代謝 등에 有效한 作用을 하는 것으로 알려졌고¹⁻⁵⁾ 茵陳은 菊花科에 屬한 多年生 草本인 사철쑥의 全草를 乾燥한 것으로, 異名은 茵陳蒿, 馬先, 茵陳蒿, 綿茵陳 등이 있고, 性味는 苦辛, 微寒하고, 肝·膽·脾經에 들어가 清熱利濕하고 利膽退黃하므로 濕熱黃疸과 膽囊炎, 傷暑發熱, 小便不利, 瘙癢疹 및 濕瘡 등의 治療에 應用되고 있는데, 藥理學的으로 抗菌, 抗바이러스 및 抗真菌 등의 作用이 있는 것으로 報告되고 있다.^{4,5,6,7)}

柴胡나 茵陳이 包含된 韓方處方을 肝癌에 應用한 報告로는 買⁴¹⁾가 茵金丸에 茵陳 60g, 苡蓮湯에 茵陳 30g, 礪茵丸에 茵陳 200g를, 朴⁴²⁾이 十六味流氣飲에 柴胡를 加味한 方를, 襄⁴³⁾는 三禁湯加減方에 柴胡6g과 逍遙散加減方에 柴胡4g을 李⁵⁵⁾는 氣滯血瘀型에 柴胡를 加味하고 肝膽濕熱型에 茵陳과 柴胡를 加味한 處方 등이 臨床的으로 臨床的으로 效果가 있음을 報告 하였

고, 張⁴⁴⁾은 柴胡가 君藥인 小柴胡湯이 自然殺害細胞(NK)와 活性化한 殺害細胞(LAK)의 活性을 增殖하여 肝硬變 患者의 癌으로의 轉變을 豫防하고, 腫瘍 完全消退率이 58.3%이고 低力價의 腫瘍壞死因子를 產生한다고 報告하였으며, 實驗的 研究로는 林⁵¹⁾은 柴胡의 抗腫瘍作用을, 白⁴⁶⁾은 柴胡에서 分離된 shikonin의 抗癌性을, 金⁵⁶⁾은 柴胡淸肝湯이 CCl₄ 中毒 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響을 實驗的으로 立證한 바가 있지만, 아직까지 肝疾患에 자주 應用되는 茵陳과 柴胡의 肝癌株에 對한 抗腫瘍 效果 및 抗癌劑와의 相乘 效果를 實驗的으로 立證한 研究는 아직 없다.

이에 著者는 In vitro에서 MTT法으로 사람의 肝癌細胞株인 Hep G2, Hep 3B, PLC에 對한 抗腫瘍 效果를 檢定하였으며, 肝癌治療에 使用되는 抗癌劑中 Mitomycin C, Cisplatin, 5-fluorouracil과의 相乘의 抗腫瘍 效果를 살펴 보았다.

Mitomycin C 는 Streptomyces caepitosus 에서 由來된 抗癌性 抗生劑로서 體內에 吸收되어 quinone으로 還元된 後 alkyl化 作用을 나타내어 DNA chain과 交叉結合(cross link)을 通해 癌細胞에 細胞毒性을 나타내는 것으로 알려져 있으며, cisplatin은 白金電極 사이에 電流가 흐를때 大腸菌의 成長이 抑制되는 現狀을 土臺로 DNA base내의 guanine과 結合하여 alkyl化 抗癌劑와 類似하게 DNA chain과 交叉結合(cross link)을 招來하여 窮極的으로 細胞毒性을 招來하는 것으로 알려져 있으며, 5-fluorouracil은 抗代謝性 物質로서 purine의 生合成을 沮害하고 新陳代謝에 障害를 일으켜 細胞毒性을 나

타내는 것으로 알려져 있다.⁵⁷⁻⁵⁹⁾

韓藥과 抗癌劑의 併用投與 效果를 測定하고자 할때에는 抗癌劑의 濃度에 따라 달라질 수 있으므로 各 癌細胞에 對한 各 抗癌劑의 感受性 및 50% 增殖 抑制濃度를 定하는 것이 重要하다고 보아 各 抗癌劑의 IC₅₀을 測定하였던 바 HepG2, Hep3B, PLC 등에 對한 IC₅₀에서 MMC는 각각 15.5 μ g/ml 25.4 μ g/ml 31.25 μ g/ml로 나타났고, CPT는 각각 92.5 μ g/ml, 50.2 μ g/ml, 62.5 μ g/ml로 나타났으며, 5-FU는 125 μ g/ml로 同一하게 나타났다.

Hep G2에 對한 茵陳의 直接的인 細胞毒性效果는 10⁻⁶g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖抑制作用이 나타났으며, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³g/ml에서는 强하게 抑制되었고, MMC나 5-FU와의 併用投與 效果는 高濃度인 10⁻³g/ml에서 强하게 抑制되었으며 나머지 濃度에서는 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타내었으며, cisplatin과의 併用投與 效果는 10⁻³g/ml에서만 有意性 있는 癌細胞增殖 抑制作用이 나타났다.

Hep 3B에 對한 茵陳의 直接的인 細胞毒性效果는 10⁻⁶g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³g/ml에서는 强하게 抑制되었고, MMC와의 併用投與 效果는 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 있었으며, 10⁻³g/ml에서는 强하게 抑制되었고, CPT와의 併用投與 效果는 10⁻³g/ml에서만 有意性이 認定되었다. 5-FU와의 併用投與 效果에서는 10⁻⁵, 10⁻⁴g/ml일때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10⁻³g/ml

에서는 强하게 抑制되었다.

PLC에 미치는 茵蔯의 直接的인 細胞毒性作用은 10^{-6} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었고, MMC와의 併用投與 效果는 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었고, CPT와의 併用投與 效果는 10^{-3} g/ml에서만 有意性이 認定되었다. 5-FU와의 併用投與 效果는 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다.

Hep G2에 대한 柴胡의 直接的인 抗癌效果는 10^{-6} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었고 MMC와의 併用投與 效果는 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났고, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었으며, CPT와의 併用投與 效果는 10^{-3} g/ml에서만 有意性이 認定되었다. 5-FU와의 併用投與 效果는 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다.

Hep 3B에 대한 柴胡의 直接的인 抗癌效果는 10^{-6} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었으며, MMC와의 併用投與 效果는 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었고, CPT와의

併用投與 效果는 10^{-3} g/ml에서만 有意性이 認定되었다. 5-FU와의 併用投與 效果는 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다.

PLC에 대한 柴胡의 直接的인 抗癌效果는 10^{-6} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었고, MMC와의 併用投與 效果는 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났고, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었으며, CPT와의 併用投與 效果는 10^{-3} g/ml에서만 有意性이 認定되었다. 5-FU와의 併用投與 效果는 10^{-5} , 10^{-4} g/ml일 때 대체로 有意性 있는 癌細胞 增殖 抑制作用이 나타났으며, 10^{-3} g/ml에서는 强하게 抑制되었다.

NCI protocol⁶⁰⁾에 따라 對照群에 對하여 55% 以下の 成長抑制率을 나타낸 濃度는 茵蔯處理群中 Hep G2에 대해 모든 濃度에서 認定되지 않았고, Hep 3B와 PLC에 대해서는 10^{-5} g/ml 以上の 濃度에서 나타났으며, 抗癌劑와의 併用投與時 모든 肝癌細胞에서 MMC와 相乘的 抗腫瘍效果를 나타냈고, 柴胡處理群中 Hep G2에 대해 10^{-4} g/ml 以上の 濃度에서 나타났으며, Hep 3B, PLC에 대하여서는 모든 濃度에서 認定되지 않았으며 抗癌劑와의 併用投與時에는 Hep G2와 Hep 3B만 MMC와의 相乘的 抗腫瘍作用을 나타내었다.

以上の 結果를 綜合하면 茵蔯은 比較的 PLC와 Hep 3B에 對하여 抗腫瘍效果가 있고, 柴胡는 Hep G2에 對해 보다 效果的인 것으로 思料된다.

V. 結論

柴胡와 茵陳의 煎湯液이 사람의 肝癌細胞인 Hep G2, PLC, Hep 3B 에 대한 抗腫瘍效果와 肝癌治療에 주로 應用되는 mitomycin-C (MMC), cisplatin (CPT), 5-fluorouracil(5-FU) 등을 併用處理하였을 때의 相乘作用을 MTT법에 의해 測定하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Hep G2, Hep 3B, PLC에 대한 IC_{50} 은 등은 MMC에서 각각 $15.5\mu\text{g/ml}$, $25.4\mu\text{g/ml}$, $31.25\mu\text{g/ml}$ 로 나타났고, CPT는 각각 $92.5\mu\text{g/ml}$, $50.2\mu\text{g/ml}$, $62.5\mu\text{g/ml}$ 로 나타났으며, 5-FU는 모두 $125\mu\text{g/ml}$ 로 동일하게 나타났다.
2. Hep G2에 대해 柴胡와 茵陳은 모든 濃度에서 對照群에 비해 有意性있는 細胞毒性效果를 나타냈지만 55%이하의 細胞毒性效果는 柴胡가 10^{-4}g/ml 이상의 濃度에서 나타났고, 茵陳은 모든 濃度에서 認定되지 않았으며, 柴胡와 茵陳의 모든 濃度에서 MMC와 併用投與時 相乘作用이 있었다.
3. Hep 3B에 대해 柴胡와 茵陳은 10^{-5}g/ml 이상의 濃度에서 對照群에 비해 有意性 있는 細胞毒性效果를 나타냈지만 55%이하의 細胞毒性效果는 茵陳이 10^{-5}g/ml 이상의 濃度에서 나타났고 柴胡는 모든 濃度에서 認定되지 않았으며, 茵陳만이 抗癌劑와의 併用投與時에 MMC의 모든 濃度에서 相乘作用을 나타냈다.

4. PLC에 대해 柴胡와 茵陳은 모든 濃度에서 對照群에 비해 有意性있는 細胞毒性效果를 나타냈지만, 55%이하의 細胞毒性效果는 茵陳은 10^{-5}g/ml 이상의 濃度에서 나타났으며, 柴胡는 모든 濃度에서 認定되지 않았고, 茵陳만이 MMC와의 相乘作用이 있었다.

以上の 結果로 보아 茵陳은 PLC와 HEG 3B에 대해, 柴胡는 Hep G2에 대해 抗腫瘍效果가 顯著하였지만, 茵陳이 柴胡보다 더 效果의이었으며 抗癌劑中 MMC와의 相乘的作用이 뚜렷하여 韓藥과 抗癌劑와의 併用投與가 可能할 것으로 思料된다.

參考文獻

1. 王學治 등 : 中藥大全呂炳奎題, 黑龍江科學技術出版社, p.160, 206, 1988.
2. 熊輔信 : 臨床韓藥辭典, 醫聖堂, p.21, 1994..
3. 陰健郭 : 中藥現代研究與臨床應用, 學苑出版社, p.540, 1993.
4. 黃宮繡 : 本草求真, 宏業書局, p.99, 151, 1987.
5. 陳嘉謨 : 本草蒙筌, 人民衛生出版社, p.56, 127, 1988.
6. 唐慎微 : 證類本草, 華夏出版社, p.205, 1993.
7. 孫星衍編註 : 神農本草經, 文光圖書有限公司印行, p.81, 1979.
8. 白南善 : 癌의 藥物治療, 서울, 臨床藥學, 6(1):74-82, 1986.
9. 金漢燮 등 : 癌의 治法, 治方 및 治療藥物

- 에 관한 文獻的 考察, 서울, 大韓韓醫學會誌, 10(1):161-166, 1989.
10. 서울大學校醫科大學 : 腫瘍學, 서울, 서울大學校出版社, p.28, pp.144-145, 1990.
11. 李文鎬 등 : 內科學, 서울, 博愛出版社, pp.2446-2450, 2466-2475, 1976.
12. 金秉云 등 : 肝系內科學, 東洋醫學研究院出版部, pp.274-280, 1989.
13. 扁鵲 : 難經, 昭人出版社, pp.187-193, 1985.
14. 葛洪 : 葛洪肘后備急方, 人民衛生出版社, p.102. 1988.
15. 王燾 : 外臺備要, 大星文化社, p.335. 1987.
16. 孫思邈 : 備急千金要方, 一中社 pp.309-315, 1986.
17. 陳言 : 三因極一病證方論, 一中社, p.100, 1991.
18. 張從正 : 儒門事親, 河南科學技術出版社, pp. 434-435. 1984.
19. 龔廷賢 : 萬病回春, 杏林書院, p. 49. 1975.
20. 李中梓 : 醫宗必讀, 文光圖書公司, p. 243. 1985.
21. 趙佶 등 : 聖濟總錄, pp.34-38, 1982.
22. 李用粹 : 證治彙補, 萬葉出版社, pp. 364-365, 371.1986.
23. 錢松 : 辨證寄聞全書, 大星文化社, p. 357, 1992.
24. 孫學威 : 筆花醫鏡, 中國書籍出版, pp. 96-97, 1987.
25. 程國彭 : 醫學心悟, 人民衛生出版社, p. 147. 1981.
26. 薛雪 : 醫經原旨, 上海中醫學院出版社, p. 307. 1992.
27. 秦景明 : 證因脈治, 旋風出版社, pp. 34-35. 1967.
28. 沈金鰲 : 沈氏尊生書, 自由出版社, p. 249. 1988.
29. 陳修園 : 醫學三字經簡釋, 四川醫學院, pp. 52-53, 1987.
30. 丹波元堅 : 雜病廣要, 人民衛生出版社, pp. 288-289, 300. 1989.
31. 徐龍生 등 : 扶正培本法在腫瘤臨床上的應用, 浙江中醫學院學報, 3:23, 1988.
32. 錢伯文 : 腫瘤的辨證施治, 上海, 上海科學技術出版社, pp.1-10, 48-63, 1980
33. 金永勳 : 晴崗醫鑑, 新光文化史, p.205, 1990
34. 周岱翰 : 兩例原發性肝癌治療報告, 新中醫, p.39, 1989.
35. 王壽生 : 肝硬化腹水辨治一得, 上海中醫藥雜誌, p.23, 1982.
36. 陳凭 : 扶政固本方藥治療惡性腫瘤的研究概況, 陝西中醫, 5:229-231, 1989.
37. 柯新橋 : 癌症效方, 臺北, 北京中醫大學出版, pp.71-74. 1993.
38. 楊維傑 : 癌症腫瘤醫論(醫話)精選, 樂郡文化事業有限公司, p. 351, 1989.
39. 王其飛 : 脾胃學, 科學技術文獻出版社, pp. 369-370, 1989.
40. 金定濟 : 診療要鑑, 東洋醫學研究員, P.563, 1974.
41. 賈堃 : 癌瘤中醫防治研究, 陝西科學技術出版社, pp 121-127, 1983.
42. 朴炳昆 : 韓方臨床40年, 大光文化社, p. 211, 1986.

43. 裴成植 : 癌寶鑑, 全日實業出版社, pp.155-156, 1990.
44. 張志軍 : 小柴胡湯의 抗癌效果, 陝西科學技術出版社, pp. 225-227, 1987.
45. 林俊清 : 生藥柴胡與柴胡劑研究, p.63, 中華 79년.
46. 白慶業 : SHIKONIN 유도체의 합성 및 항암성평가, 충남대학교 약학대학교 박사학위 논문, 1994.
47. 吳玉生 : 醫學咨詢, 新中醫, 9: 55, 1989.
48. 金定濟 : 肝臟病의 東醫診斷, 東洋醫學誌, 4:46-51, 1977.
49. 徐龍生 外 : 扶正培本法在腫留臨床上的應用, 浙江中醫學院學報3:23, 1988.
50. 金春元 : 病理學, 서울, 新光文化社, pp.84-92, 1989.
51. 陳貴廷 外 : 實用中西醫結合診斷治療學, 一中社, pp.476-486, 1992.
52. 洪元植 : 現代中國의 癌治療, 서울, 英文社, pp.81-85, 366-367, 372-375, 378-379, 1980.
53. 裴元植 : 癌의 韓·洋方 併用治療에 對한 報告, 서울, 醫林 175호, pp.6-13, 1991.
54. 沈學寧 : 腫瘤免疫抑制因子研究進展, 香港, 癌症, 10(2):160-162, 1991.
55. 李世俊 : 常見內科學, 黑龍江科學技術出版社, p.223, 1987.
56. 金德鎬 : 柴胡清肝湯이 CCl₄ 中毒 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響, 慶熙大學校論文集, 2:205-212, 1979.
57. Mosmann, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J.Immunol. Methods p.55, 65, 1983.
58. Tada, H., Shiho, O., Kurshima, K., Koyama, M and Tsukamoto, K: An improved colorimetric assay for interleukin 2, J.Immunol. Methods p.3,p.157, 1986. Carmichael, J., De Graff, W.G., Gazdar, A.F., Minna, J.D. and Mitchell, J.B.: Evaluation of atetrazolium based semiautomated colorimetric assay : Assessment of chemosensitivity testing. Cancer Res. 47, 936, 1987.
60. National Cancer Institute, U. S. A : Cell Culture, Technical Procedure, XX.100-XX. 800