大韓韓方腫瘍學會誌
J. of. Kor. Oriental. Oncology
Vol.1, No.1, 1995

痞氣丸이 抗腫瘍 免疫反應에 미치는 影響

圓光大學校 韓醫科大學 脾系內科學敎室
文炳河 · 文九 · 文錫哉

Ⅰ. 緖 論

過去에는 疾病으로 인한 死亡原因으로 傳染性 疾患이 首位를 차지하였으나, 오늘날에는 成人病과 惡性腫瘍이 增加하고 있는데[1], 특히 腫瘍發生의 頻度는 最近 50年間 增加되어 왔다[2].

惡性腫瘍은 癌이라고도 불리며, 그 進行速度가 빠르고 浸潤性의 成長과 體內 各 部位로 擴散과 轉移가 되는 潛在力을 지니고 있기 때문에 生命에 致死的인 危險을 招來한다[3].

韓醫學에서 癌에 대한 認識은, 衛濟寶書[4]에서 最初로 癌字를 使用하였으나 組織 病理學的 觀點에서 말하는 癌으로만 볼 수는 없고, 靈樞, 刺節眞邪論[5]에서 筋溜, 腸溜와 昔瘤 骨疽 肉疽 등의 記錄이 있으며, 難經[6]에는 五臟積에 대하여 詳細히 言及하였고, 吳[7]는 頸部 淋巴腺癌, 舌癌 등과 類似한 舌菌과 失榮에 대하여 記述하였다.

癌과 관련 깊은 疾病으로는, 肉眼으로 볼 수 있는 體表癌에 乳岩 腎岩 茧岩 舌菌 失榮 瘰癧 등이 있고, 內部臟器의 癌은 癥瘕 積聚 噎膈 反胃 崩漏 帶下 등이 있다[8~10].

癌을 治療하는 方法으로, 西洋醫學에서는 手術療法, 放射線療法, 化學療法, 免疫療法 등이 使用되고 있는데, 手術療法과 放射線療法은 局所性癌에만 適用되는 限界가 있고, 化學療法은 個體의 抵抗力이 너무 떨어진다는 副作用이 있으며, 全身療法인 免疫療法은 아직까지는 補助的인 療法이지만 將次는 免疫學的 豫防法과 治療法으로 기대되고 있다[9, 11, 12].

韓醫學的인 治療法에는 宿主의 抗癌能力을 增強하는 扶正培本法, 癌細胞를 攻擊하는 意味의 祛邪法과 扶正과 祛邪法을 結合한 扶正祛邪法 등이 있다[8, 10].

韓藥材의 抗癌效果에 대한 實驗的 報告로서, 複合處方의 抗癌效果에 대한 硏究로는 四君子湯[13], 六君子湯[14], 補中益氣湯[15], 十全大補湯[16], 六味地黃湯[17], 仙方活命飮[18], 升血湯[19], 四妙湯[20], 小柴胡湯[14], 大柴胡湯[20], 膈下逐瘀湯 膈下逐瘀湯合四君子湯[21], 肥氣丸 消積正元散 伏梁丸[22, 23], 痞氣丸[24, 25], 息賁丸[25], 增損五積丸[26], 半夏白朮天麻湯[27] 등이 報告되었다.

單一藥物의 抗癌效果에 대한 硏究로는 當歸 枸杞子 黨蔘 生地黃 甘草[16], 人蔘[28], 靈芝 山慈菇 仙鶴草 卷柏 瓦松[29, 30], 一枝黃花[31] 魚腥草[20, 32, 33] 枳實[32] 猪苓 穿山甲[32, 33] 地楡 鹿血 荊芥 金銀花 貫砂仁[33], 黃芩 白芍藥[20] 등이 報告되었다. 痞氣丸은 虞[34]에 의해서 立方되었으며, 脾積 積在于胃脘 大如盤 久不愈 令人 四肢不收 惑發黃疸 飮食不爲肌膚 食後腹脹 腹滿 嘔吐 泄瀉腸鳴의 證을 治療하는 處方으로 使用되어 왔다[35~41].

痞氣丸의 抗癌效果에 대하여 韓 등[24, 25]이

腫瘍細胞의 成長沮止에 관하여 報告하였으나 抗癌 免疫效果에 대하여는 硏究된 事例가 없었다.

이에 著者는 痞氣丸의 抗腫瘍 免疫作用을 究明하고자 마우스를 利用하여 細胞毒性實驗, 同種抗原에 대한 免疫反應, 赤血球 凝集素價 및 溶血素價, rosette 形成細胞, 接觸性 過敏反應, 自然致死細胞의 活性度, 大食細胞의 貪食能 및 大食細胞의 反應酸素 中間物質 生成能, 大食細胞의 反應窒素 中間物質 生成能에 미치는 影響을 觀察하여 有意性 있는 效果를 얻었기에 報告하는 바이다.

Ⅱ. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 動 物

8~10週 사이의 Balb/C 마우스(圓光大學校 醫科大學 實驗動物 飼育室)로 cage(18×20cm)당 6個體의 密度를 維持하였으며, 2週日間 室溫에서 물과 飼料(제일사료주식회사)를 충분히 供給하고, 낮과 밤의 週期를 12時間씩 調節하면서 可能한 한 스트레스를 받지 않도록 飼育한 다음 本 實驗에 使用하였다.

2) 藥 材

本 實驗에서 使用한 藥材는 市中에서 購入하여 精選한 후 使用하였다. 痞氣丸의 構成藥物과 分量은 許[35]에 依據하였으며, 그 內容은 다음과 같다.

韓藥名	生藥名	重量
黃連	Rhizoma Coptidis	30.000 g
厚朴	Cortex Magnoliae	15.000 g
吳茱萸	Fructus Evodiae	11.250 g
黃芩	Radix Scutellariae	7.500 g
縮砂仁	Fructus Amomi	3.750 g
白茯苓	Poria	3.750 g
人蔘	Radix Ginseng	3.750 g
澤瀉	Rhizoma Alismatis	3.750 g
茵蔯	Herba Artemisiae Capillaris	5.625 g
乾薑	Rhizoma Zingiberis Siccatum	5.625 g
川烏	Radix Aconiti	1.875 g
川椒	Pericarpium Zanthoxyli	1.875 g
桂皮	Cortex Cinnamomi	1.500 g
*巴豆霜	Semen Tiglii	1.500 g
白朮	Rhizoma Atractylodis Macrocephalae	0.750 g
Total amount		97.500 g

*巴豆霜은 함께 煎湯하지 않고 經口投與 直前에 添加하였다.

3) 抗 原[42~44]

胸腺 存在性 抗原으로 使用한 綿羊 赤血球(Sheep Red Blood Cell : SRBC)는 全北大學校 獸醫科大學에서 飼育하고 있는 綿羊의 頸靜脈으로 부터 採血한 後, 同量의 Alsever 氏液(pH 6.1)을 加하여 4℃에서 보관하면서 4周以內에서 使用하였으며, 보관 중인 綿羊 赤血球를 使用할 때는 使用直前에 滅菌한 PBS (Phosphate Buffered Saline, pH 7.2)로 2~3回 洗滌하여 1×10^8 cell의 濃度로 適定한 후 使用하였다.

2. 方 法

1) 檢液의 調製

上記 處方 1貼 分量(97.5 g)을 2,000mℓ round flask에 넣고 蒸溜水 620mℓ를 加하여 100℃로 4時間 동안 重湯하여 濾過布로 濾過

하였으며, 濾過液을 1,000rpm에서 20分間 遠心分離하여 얻은 上淸液을 다시 重湯하여 100mℓ(×1)씩으로 濃縮하여 檢液(以下 BKH라고 함)으로 使用하였다.

2) 檢液의 投與

(1) 生體內 實驗

각각의 檢液 投與群에서는 檢液을 마우스 1마리당 BKH 1群은 檢液(BKH : DW=1 : 10)을, BKH 2群은 檢液(BKH×1)을, BKH 3群은 檢液(BKH×10)을 0.5mℓ씩 1日 1回씩 14일 동안 經口投與 하였으며, 對照群은 同量의 生理食鹽水(0.85% NaCl)를 同一方法으로 投與하였다.

(2) 生體外 實驗

正常 마우스의 大食細胞를 分離하여, A群은 檢液 BKH : DW=1 : 100을, B群은 檢液 BKH : DW=1 : 10을, C群은 檢液 BKH×1을, 處理한 후 6시간 培養하였다.

3) 細胞 毒性實驗[45]

本 藥物의 投與가 抗腫瘍 作用에 미치는 影響을 알아보기 위하여, 癌細胞株인 K562 細胞를 培養하여 [^{3}H]-thymidine이 單位時間 내에 細胞내로 유입되는 정도를 測定하였다. 사람의 lymphoma cell인 K562 細胞를 RPMI 1640/10% FBS 培養液에서 5% $CO5_2$ 37℃ 條件을 맞춰 키워 96 well plate에 分注하고, 여기에 定量의 BKH액을 添加하여 24시간 培養한 후, 1μCi [^{3}H]-thymidine을 넣고 4時間 동안 培養하였다. 각 well로부터 細胞를 모은 후 放射性 同位元素 測定器에 의하여 測定하였다. 細胞의 增殖率은 CPM(count per minute)으로 나타내었다.

4) 同種抗原에 대한 免疫反應(allogenic immune response)의 測定[46, 47]

藥物의 投與가 마우스의 同種抗原에 대한 免疫反應에 미치는 影響을 알아보기 위하여, SJL(allogenic)이나 Balb/c(syngenic) 마우스의 脾臟細胞를 pH 7.2인 PBS에 1×10^7 cells/50μℓ로 適定한 다음 이를 14日간 藥物을 投與한 마우스의 왼쪽 膝窩部位에 注射하였다. 注入후 7일이 지난 다음 實驗群 마우스의 膝窩림프절을 摘出하여 림프절의 무게를 測定하였다. 각 마우스에 대한 同種抗原 免疫反應의 程度는 刺戟 測定度(stimulation index)로 나타내었으며, 다음 公式에 따랐다.

$$\text{Stimulation Index(S.I.)}=\frac{\text{Lymph node weight(allogenic)}}{\text{Lymph node weight(syngenic)}}$$

5) 赤血球 凝集素價 및 溶血素價 測定[48~50]

藥物 投與 14日째 모든 實驗群의 마우스에 1×10^8 cell의 SRBC를 腹腔內로 注入하여 免疫하고, 免疫후 8日 후에 眼球後靜脈으로 부터 pasteur pipette을 이용하여 採血한 다음 凝集素價 및 溶血素價를 測定하였다.

凝集素價의 測定은 實驗群으로 부터 얻은 血淸을 56℃에서 30分 동안 加熱하여 補體作用을 除去한 후에, microtitration trays (Lymbro chemical co.)에 滅菌한 PBS를 섞어 25μℓ씩 연속 稀釋한 후, 여기에 1×10^8 cell의 SRBC를 50μℓ씩 각각 分注시킨 후, 37℃에서 24時間 培養후 凝集이 發生한 最小 濃度의 값으로 決定하였다.

溶血素價의 測定은 實驗群으로 부터 얻은 血淸을 56℃에서 30分 동안 加熱하여 補體作用을 除去한 후에, microtitration trays에 5% rabbit complement(PBS 19 : 1 RC)를 25μℓ씩 分注한 다음 여기에 1×10^8 cell의 SRBC를 각각 分注하여 37℃에서 1時間동안 培養한 후, 溶血이 發生한 最小 濃度의 값으로 決

定하였다.

6) rosette 形成細胞 測定[42~44, 51, 52]

Rosette 形成細胞(rosette forming cell : RFC)의 測定은 Bach等의 方法에 따라서 測定하였다. 單核細胞 浮遊液은 實驗群의 BALB/C 마우스로부터 腹腔을 切開하여 脾臟(2個體混合)을 摘出한 후 ficoll-paque을 利用하여 400g으로 遠心分離시켜 얻었다. 이렇게 얻은 單核細胞 混合浮遊液을 3×10^7개의 細胞로 準備한 다음 附着細胞를 除去하기 위해서 滅菌된 注射器(2mℓ)에 glass wool을 體積하여 2mℓ의 細胞 浮遊液을 添加한 후 37℃에서 30分동안 培養하였다. 그 후 冷却된 15mℓ의 HBSS를 계속해서 注射器에 注入하여 通過시켰다. 이와 같이 準備된 淋巴球를 1×10^6 細胞로 滴定한 후에 1×10^7 SRBC를 混合하여 37℃에서 1時間 동안 培養하였다. Rosette 形成細胞의 測定은 上記와 같이 培養된 細胞 浮遊液을 4℃의 暗冷狀態에서 12時間 以上 保管한 후, 400x 顯微鏡視野에서 淋巴球 한 개당 3개 以上의 SRBC가 附着된 것을 檢鏡하여 決定하였다.

7) 接觸性 過敏反應의 測定[44, 53~57]

接觸性 過敏反應(contact Hypersensitivity : CH)의 誘發을 위하여 DNFB(Sigma)를 抗原으로 使用하였다. Acetone과 Olive oil을 4 : 1의 比率(V/V)로 溶解한 후, 1.5% DNFB 溶液 20μℓ을 藥物 投與 8日된 實驗群 마우스의 腹部皮膚에 感作하고, 感作 후 4日에 0.2% DNFB 溶液 5μℓ을 耳輪內面에 각각 塗抹하여 惹起措置하였다. 腫脹 增加率은 Mitutoyo engineer's micrometer을 이용하여 惹起直前과 惹起 後 24時間 뒤에 각각 測定하여 10^{-4}inch로 나타냈으며, 抑制(Depression)의 百分率은 다음 公式에 의하여 計算하였다.

$$\text{Depression}(\%)=\frac{\text{Positive con.}-\text{Experiment}}{\text{Positive con.}-\text{Negative con.}}\times100$$

8) 自然致死細胞(Natural Killer cell : NK cell)의 活性度 測定[58~63]

(1) 標的細胞(Target cell)

마우스의 自然致死細胞에 感受性이 銳敏한 YAC-1細胞를 NK cell 活性度 測定에 使用하였다. YAC-1 細胞는 연속 浮遊培養法으로 維持 하였으며, 培養液은 10% fetal bovine serum과 Penicillin(100μg/mℓ), Streptomycin (100μg/mℓ), 및 Gentamycin(100μg/mℓ)이 添加된 RPMI 1640을 使用하였다.

(2) 效果細胞(Effector cell)

藥物이 投與된 實驗群 마우스로부터 腹部를 切開하여 spleen을 摘出한 다음 3mℓ의 HBSS가 들어 있는 petridish로 옮긴 후 slide glass로 으깨어서 細胞 浮遊液을 만들었다. 細胞 浮遊液을 mesh로 거른 다음 ficoll-paque를 使用하여 400g으로 遠心分離시켜서 單核 細胞層을 얻었다. 單核細胞는 HBSS로 3回 洗滌하여 Hemocytometer를 使用하여 4×10^6개의 細胞로 滴定한 후, 自然致死細胞 活性度 測定에 使用하였다.

(3) 自然致死細胞 活性度 分析

C'FDA의 working solution(150μg/mℓ)은 C'FDA stock solution(20μg/mℓ/acetone) 7.5μℓ를 1mℓ의 HBSS에 稀釋시켜서 15分 以內에 實驗에 使用하였다. 標的細胞의 라벨은 C'FDA의 working solution 1mℓ에 2×10^6개의 YAC-1 細胞를 浮遊시켜서 30分間 培養시켰다. 培養후 2mℓ의 HBSS로 3回 洗滌한 후 自然致死細胞 活性度 測定에 使用하였다. C'FDA에 라벨된 YAC-1 細胞는 200RPMI

1640 medium이 들어 있는 5mm round-bottomed polystyrene tube에 效果細胞와 함께 培養하였고 效果細胞와 標的細胞의 比率은 20 : 1로 하였으며, 融合을 向上시키기 위하여 200g으로 약 30초간 遠心分離시켜 5% CO_2 Incubater에 37℃에서 培養하였다. 培養은 3時間동안 수행하였으며, 流式細胞 分離分析器(FCM)로 測定할 때까지 4℃의 暗冷狀態에서 保管하였다. 또한 C'FDA에 라벨된 2 $\times 10^6$개의 YAC-1 細胞만 200 RPMI 1640 medium에서 實驗群과 동일한 時間으로 培養하였으며, 이것을 投與對照群으로 使用하였다. YAC-1 細胞의 生存率은 Trypan blue (Flowl Labs) exclusion 方法과 流式細胞 分離分析器로 測定하였으며, 90% 以上 이었다.

自然致死細胞에 의해 致死되는 標的細胞의 測定은 488nm 세기로 發光된 argon-ion laser beam 200mW 出力에서 分析되었으며, 綠色螢光物質(fluorescence isothiocynate)은 530nm의 band pass filter에서 選擇的으로 透過感知되었다. 感知된 情報는 BDIS의 consort 30 program에 의하여 百分率로 計算되었다. 自然致死細胞의 活性度는 다음 公式에 의해 計算되었다.

$$\text{NK cell Activity}(\%) = \frac{\text{TE 0} - \text{TE 3}}{\text{TE 0}} \times 100$$

TE 0=C'FDA로 label된 YAC-1 cell과 effector cell(1 : 20)을 混合하여 培養直前(0時間)의 C'FDA로 label된 YAC-1 cell의 數.

TE 3=C'FDA로 label된 YAC-1 cell과 effector cell(1 : 20)을 混合하여 培養 3時間 후의 C'FDA로 label된 YAC-1 cell의 數.

9) 大食細胞의 貪食能 分析[45, 64~74]

(1) 大食細胞의 誘導 및 分離

① 生體內 實驗

檢液 投與 14日된 實驗群 마우스의 上皮를 切開한 후에 腹腔에 滅菌된 HBSS(Ca^{2+}, Mg^{2+}-free)5mℓ를 注射하여 Pasteur pipette으로 腹腔內의 大食細胞를 分離하였다. 分離된 大食細胞는 HBSS로 3回 洗滌한 후 貪食能 分析에 使用하였다.

② 生體外 實驗

正常 마우스의 腹腔에 滅菌된 PBS(pH 7.2)로 腹腔을 洗滌하여 腹腔 大食細胞가 充分한 peritoneal exudate cell(PEC)을 얻었다. BKH液을 各各의 濃度로 添加하여 6時間 培養 후에 細胞를 harvest하여 차가운 PBS로 400g에서 10分間 遠心分離하여 2回 洗滌한 후 大食細胞 活性度 分析에 이용하였다.

(2) 大食細胞의 貪食能 分析

大食細胞의 貪食能 測定은 FITC로 라벨된 polystyrene latex particle(1.88㎛, Polysciences, Warrington)을 使用하였다. 5% fetal bovine serum이 添加되어 있는 RPMI 1640 medium에 1×10^6개의 大食細胞와 5×10^7개의 fluorescent latex particle 50㎕를 添加한 후, 95% O_2와 5% CO_2 및 濕氣가 充分한 培養器에 45分間 37℃에서 培養하였다. 培養 後 2mℓ의 cold HBSS를 添加한 후 400g으로 10分間 遠心分離하여 2回 反復 洗滌하였다. 綠色螢光을 나타내는 大食細胞의 貪食能은 流式細胞 分離分析器로 測定하였다. 488nm 세기로 發光된 argon-ion laser beam 200mW 出力에서 分析되었으며, 綠色螢光物質은 530nm의 band pass filter에서 選擇的으로 透過돼 感知되었다. 感知된 情報는 BDIS consort 30 computer program에 의하여 百分率로 計算되었다. 大食細胞의 貪食能 測定은 다음 公式에 따랐다.

$$\text{Phagocytic Activity}(\%) = \frac{\text{TE 0} - \text{TE 45}}{\text{TE 0}} \times 100$$

TE 0=FITC로 라벨된 latex particle(5×10^7)과 大食細胞(1×10^6)를 0時間 培養 후 latex particle의 數.

TE 45=FITC로 바벨된 latex particle(5×10^7)과 大食細胞(1×10^6)를 45分間 培養 후 latex particle의 數.

10) 大食細胞의 反應酸素中間物質(ROI : Reactive Oxygen Intermediate)生成能의 測定[69~71]

(1) 腹腔 大食細胞의 誘導

① 生體內 實驗

藥物이 投與된 마우스의 腹腔에 滅菌된 PBS(pH 7.2)로 腹腔을 洗滌하여 腹腔大食細胞가 充分한 peritoneal exudate cell(PEC)을 얻었다. PEC는 차가운 PBS로 400 g에서 10分間 遠心分離하여 2回 洗滌한 후, veronal buffered saline(Ca^{2+}, Mg^{2+}, albumin, glucose 包含)에 1×10^6 cells/300 μℓ 가 되도록 適定한 후 chemiluminescence(CL)을 測定하였다.

② 生體外 實驗

正常 마우스의 腹腔에 滅菌된 PBS(pH 7.2)로 腹腔을 洗滌하여 腹腔 大食細胞가 充分한 peritoneal exudate cell(PEC)을 얻었다. BKH液을 각각의 濃度로 添加하여 6時間 培養 후에 細胞를 harvest하여 차가운 PBS로 400 g에서 10分間 遠心分離하여 2回 洗滌한 후, veronal buffered saline(Ca^{2+}, Mg^{2+}, albumin, glucose 包含)에 1×10^6 cells/300 μℓ 가 되도록 適定한 후 chemiluminescence(CL)를 測定하였다.

(2) Lucigenin에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 이용해 1×10^6 cells/300 μℓ 로 적정된 PEC 單細胞 浮遊液을 Luminometer(LB 9509. Berthold)內에서 37℃로 15~30分 동안 preincubation시킨 후, O_2^-를 測定할 수 있는 chemiluminigenic probe인 10mM의 Lucigenin 10 μℓ 를 注入하고 安定化시킨 후, 大食細胞를 刺戟시킬 수 있는 5.3 μM phorbol myristate acetate(PMA) 10 μℓ 를 注入하고 37℃條件에서 約 60分間 CL를 測定했다.

(3) Lunimol에 의해 誘導된 CL의 測定

Veronal buffered saline을 이용해 1×10^6 cells/300 μℓ 로 적정된 PEC 單細胞 浮遊液을 Luminometer(LB 9509. Berthold)내에서 37℃로 15~30分 동안 preincubation시킨 후, H_2O_2를 測定할 수 있는 chemiluminigenic probe인 10mM의 luminol 10 μℓ 를 注入하고 安定化시킨 후, 大食細胞를 刺戟시킬 수 있는 5.3 x μM phorbol myristate acetate(PMA) 10 μℓ 를 注入하고 37℃條件에서 約 60分間 C를 測定했다.

11) 大食細胞의 反應窒素 中間物質(reactive nitrogen intermediate : RNI)生成能 測定[45, 72, 73]

Reactive nitrogen intermediate(RNI)는 大食細胞 특히 마우스의 腹腔內 大食細胞에서 γ-IFN(Boehringer Mannheim, Germany)이나 LPS(Sigma, U.S.A.)또는 다른 微生物의 感染에 刺戟받아 L-arginine에 依存的으로 生成되며, 이들이 特異的 또는 非特異的 免疫反應에 重要한 役割을 하는 것으로 알려져 있다.

RNi는 NO_2^-, NO_3^-, NO 等이 있는데 이들은 細胞 培養液에 蓄積되기 때문에 蓄積된 RNI를 發色시켜 ELISA reader로 測定하였다.

藥物을 投與한 마우스의 腹腔 大食細胞를 分離한 後 96 well plate에 well당 $1-2\times10^5$개로 넣어 주었다. γ-IFN이나 LPS, 또는 RNI生成 沮害劑, BKH液을 各各의 濃度에

따라 培養細胞에 添加하고 48時間 동안 培養한 後에, 각 well로 부터 100㎕씩의 培養液을 取하여 ELISA titertek plate에 옮긴 후, 同量의 Griess reagent(1 : 1, v/v, N-1-naphthylethylendiamine 0.1% in H_2O, sulfanilamide 1% in 5% H_3PO_4)를 添加하고 10分간 室溫에 두었다. 全體 RNI titertek multiscan MCC/340(Flow Lab)으로 540nm에서 吸光度를 測定했다. 이때 RNI 濃度에 對한 標準 曲線은 $NaNO_2$를 連續 稀釋하여 얻었다.

Ⅲ. 實驗成績

1. 細胞 毒性에 미치는 影響

BALB/C 마우스에 있어서 痞氣丸의 投與가 抗癌作用에 미치는 影響을 알아보기 위하여 癌細胞株인 K562를 사용하여 實驗한 結果, 對照群은 30±3인데 比하여 BKH A群은 40.4±4, BKH B群은 77.9±3, BKH C群은 97±2로 全體的으로 增加하는 傾向을 나타냈으며, B와 C群에서는 높은 有意性을 나타내었다(Fig. 1).

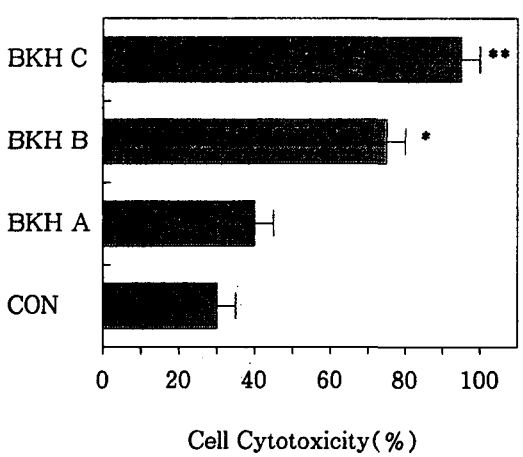

Fig 1. Effects of Bikiwhan administrations on the cytotoxicity in human lymphoma(k562). For the analysis of cytotoxicity, the cells were incubated with RPMI 1640/10% FBS and treated with various concentration of Bikiwhan. After 1 hour, the cells were labelled with 1㎍Ci [^{3}H]-Thymidine fot 4 hours. A significant increment was shown in two mouse groups(BKH B, BKH C). The above data shows mean ±S.E.*$P<0.05$, ** $P<0.005$ compared with the control group. The components of administered drug are as follows :

BKH A, 1×BKH : DW=1 : 100
BKH B, 1×BKH : DW=1 : 10
BKH C, 1×BKH : DW=1

2. 同種抗原에 대한 免疫反應에 있어서의 影響

BALB/C 마우스에 있어서 痞氣丸의 投與가 同種抗原에 대한 免疫反應에 미치는 影響을 알아보기 위하여, SJL이나 BALB/C 마우스의 脾臟에서 lymphocytes를 얻어내어 마우스의 膝窩部位에 注射하여 Fig 2.와 같은 結

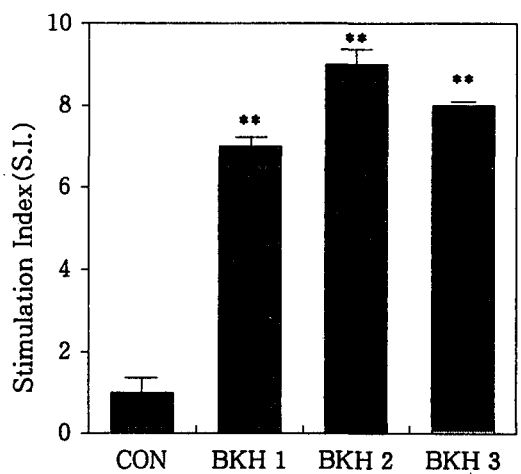

Fig 2. *In vivo* effects of Bikiwhan administrations on the allogenic immune response. Experimental mice were injected 107 splenocytes prepared from allogenic(SJL) donors in one foot-pad and syngenic(Balb/C) donors in the contralateral foot-pad. Seven days later, the popliteal nodes were removed and weighted. A stimulation index for each mouse was calculated as described in Materials and Methods. The above data shows mean±S.E. **P<0.005 compared with the control group. The components of administered drug are as follows :

CON, Normal saline(0.5mℓ/day)
BkH 1, BKH : DW=1 : 10
BKH 2, BKH×1(0.5mℓ/day)
BKH 3, BKH×10(0.5mℓ/day)

果를 얻었다.

對照群은 1.25±0.3인데 比하여 BKH 1, 2, 3群은 각각 7.0±0.1, 8.8±0.2, 7.7±0.1로서 對照群에 比하여 모두 크게 增加하며 有意性을 나타내었다(Fig 2).

3. 赤血球 凝集素價 및 溶血素價에 미치는 影響

BALB/C 마우스에 있어서 痞氣丸의 投與가 綿羊 赤血球에 대한 抗體 生成能 미치는 影響을 알아보기 위하여, 綿羊 赤血球에 대한 凝集素價와 溶血素價를 測定하여 log2값으로 計算하였던 바 Fig 3. 및 Fig 4.와 같았다.

凝集素價는 對照群이 4.0±1인데 比하여 BKH 1群이 5.0±0.5, BKH 2群은 6.2±0.4, BKH 3群은 6.0±1로 對照群에 比하여 모두 增加하였고, BH 2, 3群에서 有意性을 나타내었다(Fig 3). 溶血素價는 對照群이 4.0±1이며 이에 대하여 BKH 1群은 4.7±0.4, BKH 2群은 7.0±0.5, BKH 3群은 6.5±0.5로 모두 增加하였고, BKH 2, 3群에서 有意性을 나타내었다(Fig 4).

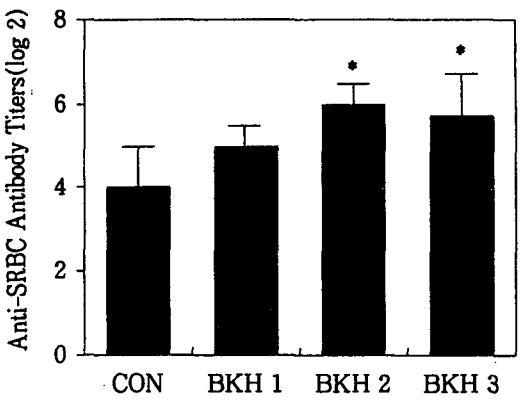

Fig 3. Effects of Bikiwhan administrations on the hemagglutinin titers. Mice were orally given Bikiwhan for 14 days before sensitization. Mice were sensitized with SRBC on day 0, and hemagglutinin titers were measured on the day 8. the components of administered drug are the same as in Fig 2. An increment was shown in two mouse groups(BKH 2, BKH 3). The above data shows mean±S.E. *P<0.05 compared with the control group.

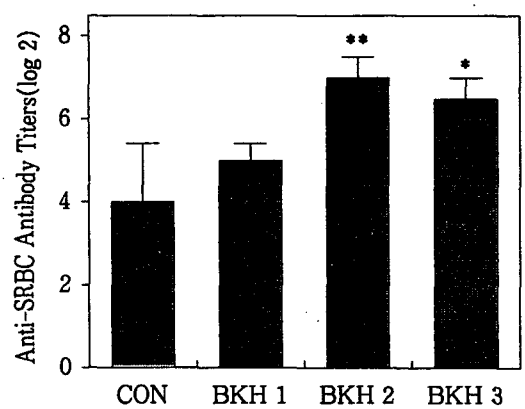

Fig 4. Effects of Bikiwhan administrations on the antibody formation against SRBC. Mice

were given orally Bikiwhan for 14 days before sensitization. Mice were sensitized with SRBC on the day 0, and hemolysin titers are measured on the day 8. The components of administered drug are the same as in Fig 2. An increment was shown in two mouse groups (BKH 2, BKH 3). The abobe data shows mean±S.E. *P<0.05, **P<0.005 compared with the control group.

4. rosette 形成細胞에 미치는 影響

BALB/C 마우스에 있어서 痞氣丸의 投與가 綿羊 赤血球에 대한 免疫反應細胞數를 比較하기 위해, 마우스로부터 脾臟을 摘出하여 rosette 形成細胞數를 測定하였던 바 Fig 5.와 같았다.

對照群의 10^6 脾臟細胞當 10^3 RFC의 數는 對照群이 40±4인데 比해, BKH 1群은 82±6, BKH 2群은 100±1, BKH 3群은 73±1로 對照群에 比하여 모두 增加하였고, BKH 1, 2群에서 有意性을 나타내었다(Fig 5).

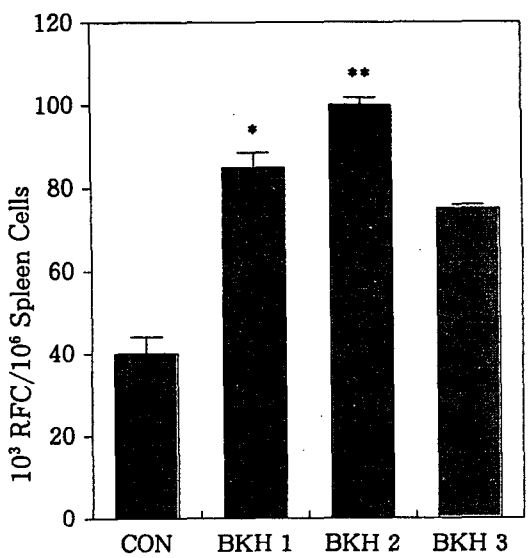

Fig 5. Effects of Bikiwhan administrations on the appearance of rosette forming cells (RFC) in mice. Mice were immunized with SRBC, and spleen cells were assayed for RFC at 8 days after immunization. Mice were orally given Bikiwhan for 14 days before sensitization. The components of administered drug are the same as in Fig 2. An significant increment was shown in two mouse groups(BKH 1, BKH 2). The above data shows mean±S.E. *P<0.05, **P<0.005 compared with the control group.

5. 接觸性 過敏反應에 미치는 影響

BALB/C 마우스에 있어서 痞氣丸의 投與가 DNFB에 대한 接觸性 皮膚 厥症反應을 알아보기 위하여, 1.5% DNFB용액으로 減作시키고 4일 후에 0.2% DNFB 溶液으로 反應을 惹起하여 測定한 結果 Fig 6.과 같았다. 對照群이 31.0.3±5인데 반해 BKH 1, 2, 3群은 각각 13.51±4, 8.3±4, 8.3±5로 對照群에 比하여 모두 크게 減少하며 有意性을 나타내었다(Fig 6).

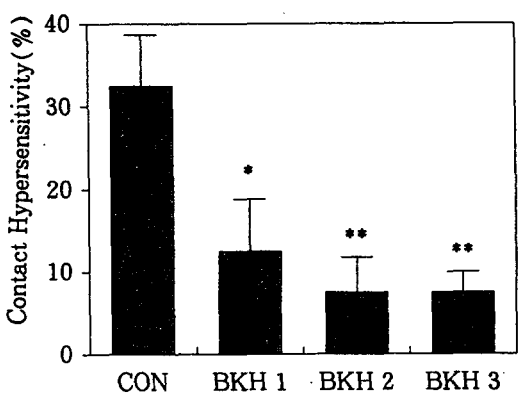

Fig 6. Effects of Bikiwhan administrations on contacat hypersensitivity responses in mice. Mice were contact-sensitized with 20 $\mu\ell$ of

1.5% DNFB on the day 0. Mice were challenged on the day 5 after sensitization on ear, and ear swellings were measured 24 hrs late. Significant inhibitions were shown in two mouse groups(BKH 1, BKH 2). The above data shows mean±S.E. *P<0.05, ** P<0.005 compared with the control group. The components of administered drug are the same as in Fig 2.

6. 自然致死細胞의 活性度에 미치는 影響

BALB/C 마우스에 있어서 痞氣丸의 투여가 NK cell의 活性에 미치는 影響을 알아보기 위하여, YAC-1 target cell을 對象으로 實驗한 結果, 對照群은 84.2±5인데 比하여 BKH 1群은 86±4, BKH 2群은 88.5±5, BKH 3群은 87.0±4로 對照群과 별다른 差異를 보이지 않았다(Fig 7).

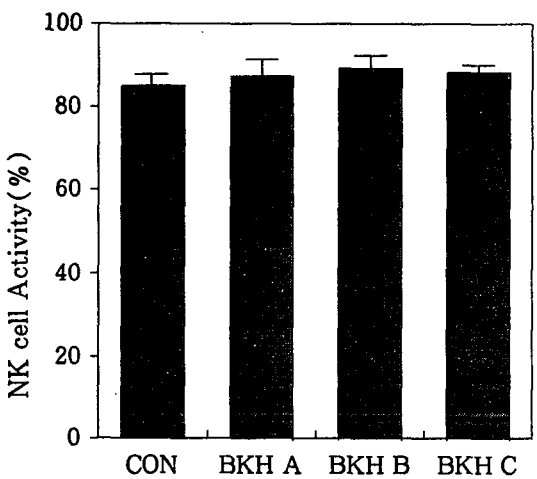

Fig 7. Effects of Bikiwhan administrations on NK cel activity. Effector cells are incubated with C'FDA labelled YAC-1 target cells at the ratio of 20 : 1 for 3 hrs. The components of administered drug are the same as in Fig 1. The activity of NK cells was calculate according to the Materials and Methods. The components of administered drug are the same as in Fig 1.

7. 大食細胞의 貪食能에 미치는 影響

1) 生體內 實驗

痞氣丸의 投與가 BALB/C 마우스의 大食細胞 貪食能에 미치는 影響을 살펴보기 위하여, 14日間 檢液을 投與한 實驗群 마우스에서 大食細胞를 分離한 후, FITC로 라벨된 polystyrene latex particle(1.88 μm)과 같이 培養한 다음, 流式細胞 分離分析器로 大食細胞가 latex particle을 貪食한 活性度를 測定하였던 바, 對照群은 24.7±2의 活性度를 보였으며, 이에 대하여 BKH 1, 2, 3群에서 각각 30.0±2, 50.7±3, 48.2±1로 對照群에 比하여 모두 增加하였고, BKH 2, 3群에서는 有意性을 나타내었다(Fig 8).

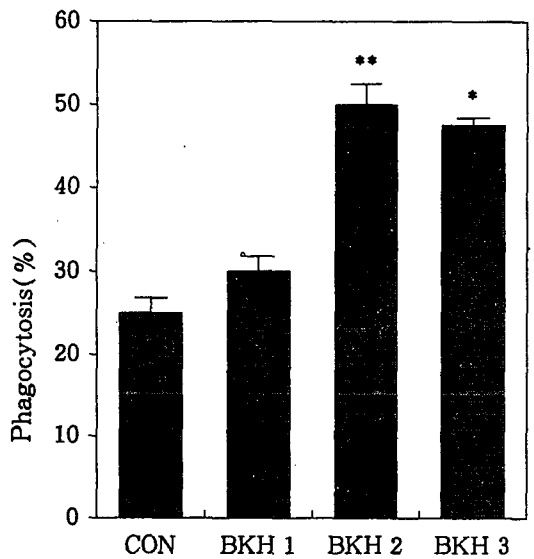

Fig 8. *In vivo* effects of Bikiwhan administrations on phagocytic activity. An incre-

ment of phagocytic activity was shown in two mouse groups(BKH 2, BKH 3). The phagocytic activity was calculated by means of Consort 30 program of FACStar. The above data shows mean±S.E. *P<0.05, **P<0.005 compared with the control group. The components of administered drug are the same as in Fig 2.

2) 生體外 實驗

痞氣丸을 生體外에서 處理했을 때 BALB/C 마우스의 大食細胞 貪食能에 미치는 影響을 살펴보기 위하여, Thioglycolate(T.G)를 注射한 正常 마우스의 腹腔 大食細胞를 分離하여 痞氣丸을 각 濃度로 處理한 후, 6시간 培養 後에 收穫한 細胞를 FITC로 라벨된 latex particle과 培養하여 活性度를 測定하여 던 바, 對照群(19.2±4)에 比하여 BKH A, B, C群에서 각각 40.1±5, 37.2±3, 33.7±3으로 모두 增加하며 有意性을 나타내었다(Fig 9).

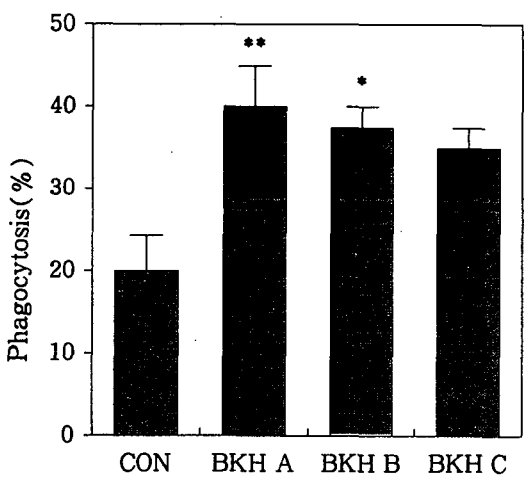

Fig 9. *In vitro* effects of Bikiwhan on phagocytic activvity. Thioglycolate-elicited macrophages were incubated with Bikiwhan for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for phagocytic activity. A significant increment of phagocytic activity was shown in two mouse groups (BKH A, BKH B). The phagocytic activity was calculated by means of Consort 30 program of FACStar. The above data shows mean±S.E. *P<0.05, **P<0.005 compared with the control group. The components of administered drug are the same as in Fig 1.

8. 大食細胞의 反應酸素 中間物質(Reactive Oxygen Intermediateds : ROIs)生成能에 미치는 影響

1) 生體內 實驗

痞氣丸의 投與가 BALB/C 마우스의 大食細胞의 ROI 生成에 미치는 影響을 살펴보기 위하여, 痞氣丸을 14일간 投與한 마우스의 腹腔 大食細胞를 分離한 다음 細胞 1×10^6 cell/300 $\mu\ell$ 에 lucigenin과 luminol을 各各 添加하여 chemiluminescence(CL)로 그 活性度를 測定하였던 바 Fig 10. 및 Fig 12.와 같다.

Fig 10.에서는 lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 活性度를 CMP×10^6 값으로 計算한 結果, 對照群은 $1.5\pm0.3\times10^7$인데 比하여 BKH 1群은 $5.3\pm0.4\times10^6$, BKH 2群은 $5.3\pm0.3\times10^6$, BKH 3群은 $2.2\pm0.4\times10^6$으로 對照群에 比하여 모두 크게 減少하며 有意性을 나타내었다(Fig 10).

Fig 12.에서는 luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 活性度를 CMP×10^6값으로 計算한 結果, 對照群은 $9.6\pm0.3\times10^6$인데 比하여 BKH 1, 2, 3群은 각각 $7.1\pm0.3\times10^6$, $4.5\pm0.2\times10^6$, $5.2\pm0.2\times10^6$으로 對照群에 比하여 모두 減少하며 有意性을 나타내었다(Fig 12).

2) 生體外 實驗

生體外에서 痞氣丸의 影響을 알아보기 위하여, 正常 마우스로부터 腹腔 大食細胞를 分離한 후, 1x의 痞氣丸을 1x, 1 : 10, 1 : 100으로 稀釋하여 細胞에 直接 處理하여 6時間 培養한 후, 細胞를 收穫하여 上記와 같은 方法으로 測定하였다(Fig 11, 13).

Fig 11.에서는 lucigenin에 의해 誘導된 大食細胞의 活性度를 CPM×10^6값으로 計算한 結果, 對照群은 1.6±0.1×10^7인데 比하여 BKH A群은 8.0±0.2×10^6, BKH B群은 3.4±0.4×10^6, BKH C群은 1.0±0.3×10^6으로 對照群에 比하여 모두 크게 減少하며 有意性을 나타내었다(Fig 11). Fig 13에서는 Luminol에 의해 誘導된 大食細胞의 活性度를 CMP값으로 計算한 結果, 對照群은 1.3±0.2×10^7인데 比하여 BKH A群은 7.8±0.2×10^6, BKH B群은 2.5±0.4×10^6, BKH C群은 1.0±0.3×10^6으로 對照群에 比하여 모두 크게 減少하며 有意性을 나타내었다(Fig 13).

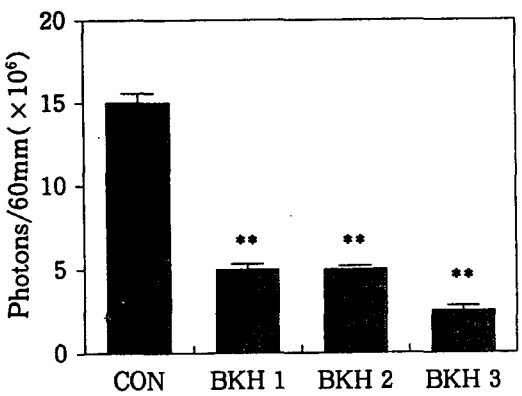

Fig 10. *In vivo* effects of Bikiwhan administ-rations on the superoxide radical formation. Mice were given the drug orally for 14 days. Chemiluminogenic probe was done with 10 mM of lucigenin(10, 10' dimethyl-9, 9-biacri-dinium : DBN2+), which is amplifying superoxide radicals. Murine peritoneal macrophages(1.0×10^6 cells/300 μℓ) were stimulated by 5.3 μM phorbol myristate acetate(PMA), and the measurement of superoxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 37℃. The components of administered drug are the same as in Fig 2. Inhibitions were shown in three mouse groups(BKH 1, BKH 2, BKH 3). The above data shows mean±S. E. *P<0.05, **P<0.005 compared with the control group.

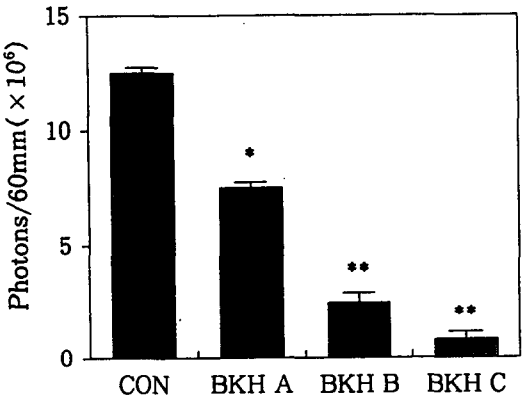

Fig 11. *In vitro* effects of Bikiwhan administrations on the superoxide radical formation. TG-elicited macrophages were incubated with Bikiwhan for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for superoxide formation. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of lucigenin(10, 10' dimethyl-9, 9-biacri-dinium : DBN2+), which is amplifying superoxide radicals. The cells were stimulated by 5.3 μM phorbol myristate acetate(PMA), and the measurement of superoxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 37℃. The components of administered drug are the same as in Fig 1. Significant inhibitions were shown in two mouse groups

(BKH B, BKH C). The above data shows mean±S.E. *P<0.05, **P<0.005 compared with the control group.

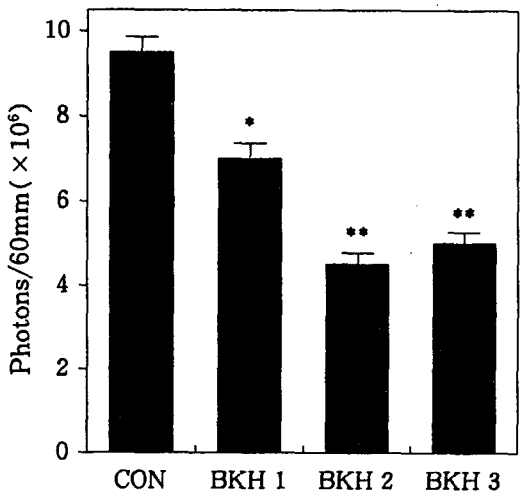

Fig 12. *In vivo* effects of Bikiwhan administrations on the hydrogen peroxide radical formation. Mice were given the drug orally for 14 days. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of luminol(5-amino-2, 3-dyhydro 1, 4-phthalazinedione), which is amplifying hydrogen peroxide radicals. Murine peritoneal macrophages(1.0×10^6 cells/300 $\mu\ell$) were stimulated by 5.3 μM phorbol myristate acetate(PMA), and measurements of hydrogen peroxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 37℃. The components of administered drug are the same as in Fig 2. Significant inhibitions were shown in two mouse groups(BKH 2, BKH 3). The above data shows mean±S.E. *P<0.05, **P<0.005 compared with the control group.

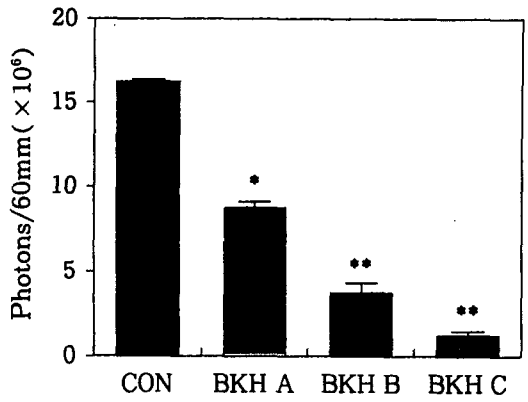

Fig 13. *In vitro* effects of Bikiwhan administrations on the hydrogen peroxide radical formation. TG-elicited macrophages were incubated with Bikiwhan for 6 hours. The cells were harvested, centrifuged and measured for hydrogen peroxide formation. Chemiluminogenic probe was done with 10mM of luminol(5-amino-2, 3-dyhydro 1, 4-phthalazinedione), which is amplifying hydrogen peroxide radicals. The cells were stimulated by 5.3 μM phorbol myristate acetate(PMA), and the measurement of superoxide radicals was carried out in the chemiluminometer for 60 minute at 37℃. The components of administered drug are the same as in Fig 1. Significant inhibitions were shown in two mouse groups(BKH B, BKH C). The above data shows mean±S.E. *P<0.05, **P<0.005 compared with the control group.

9. 大食細胞의 反應窒素 中間物質(Reactive Nitrogen Intermediates : RNIs) 生成能에 미치는 影響

痞氣丸이 腹腔 大食細胞의 RNI 生成에 미치는 影響을 調査해 보기 위하여, 培養中인 마우스의 腹腔 大食細胞(1×10^5 cell/200 $\mu\ell$)

에 痞氣丸을 各 濃度(A, B, C)에 따라 10㎕/well씩 넣은 후 48時間 培養한 다음 RNI의 生成程度를 測定한 結果, BKH A, B, C群은 각각 28±5, 30±4, 20±3으로 對照群(4>)에 比하여 모두 增加하였고, BKH A, B群에서 有意性을 나타내었다(Table 1).

Table 1. Effects of Bikiwhan on the secretion of Nitrite by murine peritoneal macrophages.

Treatment	Nitrite Concentration (micromole/ℓ)
none	4>
LPS	13±3
γ-IFN	22±4
γ-IFN+LPS	58±6
BKH A	28±5*
BKH B	30±4**
BKH C	20±3

*Murine peritoneal macrophages(1×10^6 cells/mℓ) were incubated for 48 hours with various concentration of BKH, LPS, γ-IFN or γ-IFN plus LPS. NO_2^- was measured spectrophotometically as described in the Materials and Methods. The values are expressed as micromoles of NO_2^- per liter. The above data shows mean±S.E. *P<0.05, **P<0.005 compared with the control group. The components of administered drug are as follows :

BKH A, 1×BKH : DW=1 : 100
BKH B, 1×BKH : DW=1 : 10
BKH C, 1×BKH : DW : 1 : 1

Ⅳ. 考 察

痞氣丸은 明代의 虞[34]에 의해서 立方되었으며, 積在于胃院 大如盤 久不愈 今人 四肢不收 或發黃疸 飮食不爲肌膚 食後脹滿 腹滿嘔吐 泄瀉腸鳴하는 脾積의 證을 治療하는 處方으로 使用되어 왔다[34~41].

痞氣丸을 構成하는 개개 藥物의 本草學的 效能을 살펴보면, 黃連은 淸熱燥濕 淸心除煩 瀉火解毒하고, 厚朴은 化濕導滯 行氣溫中 下氣 消痰平喘하고, 吳茱萸는 溫中散寒 理氣止嘔 疏肝下氣 燥濕 止瀉하고, 黃芩은 淸熱燥濕 止血安胎하고, 砂仁은 調中行氣 和胃醒脾 溫脾止瀉하고, 白茯苓은 利水滲濕 健脾補中 寧心安神하고, 人蔘은 大補元氣 補脾肺益氣 生津 寧神益智하고, 澤瀉는 利水 滲濕 淸火하고, 茵蔯은 淸利濕熱 退黃하고, 乾薑은 溫中回陽 溫肺化痰 溫經止血하고, 川烏는 祛風濕 散寒止痛하고, 川椒는 溫中散寒 除濕 止痛 解魚腥毒하고, 桂皮는 溫中補陽 散寒止痛 通血脈하고, 巴豆霜은 瀉下祛寒積 逐水退腫 祛痰蝕瘡하고, 白朮은 補脾益氣 燥濕利水하는 效能이 있다[80~85].

痞氣丸의 構成藥物의 抗癌效果를 살펴보면, 黃連에 관하여 常[86]이, 黃芩에 관하여 金 등[20, 86]이, 砂仁에 관하여 任[33]이, 白茯苓에 관하여 顔[85]이, 人蔘에 관하여 韓 등[85~88]이 茵蔯에 관하여 常[86]이, 川烏에 관하여 常[86]이, 白朮에 관하여 常[86]이 抗癌效果를 報告하였고, 巴豆에 관하여 顔 등[85, 86]이 癌誘發 및 抗癌作用을 報告하였다. 또한 免疫反應에 관한 效果는, 白茯苓에 관하여 顔이[85] 人蔘에 관하여 高 등[85~87, 89]이, 白朮에 관하여 羅[90]가 免疫增強 效果를 報告하였다.

積聚는 腹腔內에 結塊가 있어서 脹滿感이 있거나 疼痛이 나타나는 것으로 積은 그 位置가 固定되고 移動하지 않으며 疼痛과 脹滿이 一定한 位置에 있는 것이고, 聚는 痛症이 一定한 部位가 없이 移動되어서 나타나는 것을 意味한다[40, 41, 75, 76, 78, 79]. 이러한 積聚는

胃癌 肝癌 腸癌 子宮癌 卵巢癌 膵臟癌 등의 腹腔內 腫瘤를 意味한다고 하였다[8, 40, 41, 75~79].

脾積에 대한 詳細한 說明은 難經[6]에서 "五臟之積各有名…脾之積名曰痞氣 在胃脘 覆大如盤 久不癒 令人四肢不收 發黃疸 飮食不爲肌膚…"라 하여 脾積의 이름과 症狀에 대하여 說明하였다. 여기서 痞氣는 腹腔內 腫瘍으로 胃癌 肝癌 膽管癌 肝脾腫大 등을 包括하는 것으로 볼 수 있다[9, 77].

韓醫學에서 癌에 대한 認識은, 靈樞, 刺節眞邪論[5]에서 筋溜, 腸溜와 昔瘤 骨疽 肉疽 등의 記錄이 있으며, 張[91]은 "朝食暮吐 暮食朝吐…"라고 反胃에 대한 說明을 하였고, 難經[6]에서는 五臟의 積聚에 대하여 詳細한 記錄이 있으며, 葛[92]은 腹中有物如石刺晝夜하는 腹部내의 腫塊를 說明하였고, 巢[93]는 癥瘕에 對하여 說明하였으며, 吳[94]는 "瘤之爲義…氣血流行不失其常…或餘贅及鬱結壅塞則乘虛投隙瘤所以生…所治以治癰法同…"이라 하여 腫瘤의 臨床過程과 治療原則에 대하여 記述하였고, 陳[95]은 甲狀腺癌과 類似한 石癰에 대하여 記述하였고, 東軒居士[4]는 最初로 癌字를 使用하였으나 癰疽의 한 種類로 보았으며, 楊[96]은 "癌者上高下深嚴穴之狀…男則多發於腹挈則多發於乳…令人昏迷"라 하여 癌의 特徵에 대하여 記述아였고, 吳[7]는 頸部淋巴腺癌, 舌癌 등과 類似한 舌菌과 失榮에 대하여 記述하였다.

癌은 外因으로 風寒邪, 內因으로 七情內傷 飮食失調 등으로 생긴 痰結 濕聚氣滯 血瘀 熱鬱 食積 등의 病理的 所因에 의해서 招來된다[8, 10]. 이러한 原因들이 人體 臟腑의 陰陽氣血이 失調된 狀態와 합해져서 發生하는데[8], 이에 대해 羅[97]는 "凡人脾胃虛弱 或飮食過傷 或生冷過度 不能克化 致成積聚結塊"라 하였고, 張[98]은 "壯人無積 虛人則有之 脾胃怯弱氣血兩衰 四時有感 皆能成積"이라 하였으며, 李[36]는 "積之成者 正氣不足 而後邪氣踞之"라고 하여, 積의 誘因으로 正氣不足을 強調하였다.

正氣는 元氣 혹은 眞氣라고도 하며[99], 邪氣에 相對되는 槪念이며, 身體內에서 一切의 疾病에 抵抗하는 物質로, 臟腑經絡 營衛氣血의 正常的인 生理機能을 包括하는 것이다[100]. 이는 脾胃가 運化한 水穀의 氣와 肺에서 吸入된 淸氣가 先天의 腎氣와 結合되어 生成되므로, 脾 肺 腎이 正氣의 生成과 밀접한 關係가 있다[99]. 이 중에서 脾胃는 後天之本으로 水穀으로부터 後天之氣를 生成함으로써 氣血을 化生하는 根源이 되는 臟腑이며[36], 脾氣의 損傷은 衛氣의 生成 元氣의 充實正氣 強弱에 影響을 주므로, 脾는 抗病能力의 基本臟腑이다[100].

癌의 治療方法으로 宿主의 抗癌能力을 增強하는 益氣 養血 滋陰 溫陽의 扶正培本法, 癌細胞를 攻擊하는 意味의 淸熱解讀 活血化瘀 化痰散結 疏氣散結 通利攻遂 等의 祛邪法[8, 10]과 扶正과 祛邪를 結合한 扶正祛邪法이 있으며, 이 중에서 "使祛邪而不傷正 扶正耳不助邪"[10]라고 하여 祛邪하되 人體의 正氣를 補益하고 正氣를 損傷시키지 않는 扶正祛邪法이 良好한 效果를 얻을 수 있다. 이에 대하여 張[98]은 "養正則積自除" "眞氣實胃氣強積自消"라고 하였고, 李[36]는 "去積及半純與甘溫調養 使脾氣健運 則破殘之餘積"라고 하였다.

이와 같이 扶正培本法과 扶正祛邪法으로 正氣가 外邪의 作用을 防禦하고 內邪를 없애서 人體의 陰陽失調를 平衡케 하는데, 이는 防禦 自己安定 免疫監視의 三大 機能을 갖는 免疫 理論과 一致 된다고 볼 수 있다[100].

免疫系는 個體 內部에서 發生하는 異物質을 認識하여 除去하는 免疫監視機能을 通하

여 個體 內部의 恒常性은 維持시키는 바, 이러한 恒常性 維持를 위한 免疫反應을 크게 非特異 免疫反應과 體液性 및 細胞性 反應으로 이루어진 特異的 免疫反應으로 大別된다[12, 53, 101].

個體는 수많은 細胞로 이루어져 있는데, 이 중 어떤 細胞가 變異를 일으켜 正常 細胞와는 다르게 빨리 成長할 수 있는 癌細胞로 轉換될 수 있다. 그러나 實際的으로 癌細胞가 急成長을 하여 癌塊를 形成하지 못하는 理由는 癌細胞는 正常細胞와는 틀린 抗原性 文字를 가지게 됨으로써 宿主의 免疫系가 이러한 非自我的인 要素를 認識하여 免疫反應을 일으키므로 癌塊로 成長하기 전에 癌細胞가 體內에서 除去되기 때문이다[3, 12]. 이러한 免疫系의 癌의 發生에 대한 免疫監視(immunosurveillance)機能이 低下되던가 癌細胞가 免疫監視機能을 속였을 境遇에 個體에 癌이 頻繁히 發生되는 사실은 免疫缺乏症 患者에서 頻繁한 感染외에도 癌의 發生이 正常人에 比하여 越等히 增加되고 있음을 보아도 쉽게 알 수 있다[12].

免疫監視槪念은 前述한 바와 같이 癌細胞가 正常細胞와는 틀린 分子를 所有할 境遇, 그 分子를 宿主가 認識한 다음 免疫反應을 誘發하는 癌細胞를 個體 內部에서 除去한다는 것이다. 癌細胞가 所有한 正常細胞와는 다른 分子를 宿主의 免疫系는 抗原으로 認識하여 이에 대한 免疫反應을 惹起하여 癌細胞를 死滅시킨다는 槪念인데, 이때 宿主의 免疫系가 보이는 免疫反應에는 抗體에 의한 體液性 免疫反應과 T細胞에 의한 細胞性 免疫反應 및 自然致死細胞에 의한 自然的 抗癌作用이 있다[3, 12, 101]. 抗腫瘍 體液性 免疫反應의 境遇, 癌細胞 表面에 存在하는 抗原과 結合하면 여기에 輔體가 結合하여 癌細胞 表面에 決定的인 缺陷을 招來하여 死滅시키던가, 癌細胞 表面에 存在하는 抗原과 抗體가 結合하면 killer 細胞(K細胞)가 癌細胞를 死滅시킨다[3, 101]. 또한 抗腫瘍 細胞性 免疫反應의 境遇 癌細胞에 固有한 抗原으로 刺戟된 T細胞는 細胞毒性 T細胞(cytotoxic T cell)로 되어 癌細胞를 직접 死滅시킨다[3, 12, 101]. 그러나 NK cell의 境遇는 癌細胞나 바이러스에 感染된 細胞를 어떤 機轉인지는 아직 밝혀지지 않았지만 抗原으로 認識하여 細胞毒性을 나타낸다[101]. 이외에도 B細胞에서 生産된 抗體가 附着된 癌細胞는 好中球나 單核 大食細胞系(mononuclear phagocytic system : MPS)에 속하는 貪食細胞에 의하여 貪食될 수도 있고[3, 12, 45, 101], T細胞에서 分泌되는 림포카인에 의하여 活性化된 MPS系 細胞는 一酸化窒素(nitric oxide : NO)를 合成하여 癌細胞를 死滅시킬 수 있다[45, 72, 73].

本 實驗에서는 위와 같이 免疫監視를 擔當하는 免疫系의 여러 反應類型에 癌氣丸이 미치는 影響과 癌細胞에 미치는 試驗管內 作用을 調査하였다.

癌氣丸은 試驗管內에서 사람의 임파腫瘍細胞株인 K562細胞에 直接的인 細胞毒性을 나타내었다(Fig 1).

또한 癌氣丸 煎湯液이 投與된 마우스는 抗同種 免疫反應(Fig 2)과 綿羊 赤血球에 대한 抗體 形成反應(Fig 3, 4) 및 脾臟의 rosette 形成細胞 數(Fig 5) 등을 增加시켰는데, 이는 癌氣丸이 免疫系에 作用하여 細胞性 및 體液性 免疫反應을 두루 增加시킨 結果로 思料된다.

個體에 해롭게 作用하는 免疫反應 중의 하나인 dinitrofluorobenzene에 대한 接觸性 皮膚反應은 癌氣丸의 投與에 의하여 減少되었다(Fig 6).

그리고 生體內 및 試驗管內에서 先天的 免疫系의 가장 重要한 요소인 單核貪食細胞系(mononuclear phagocytic system : MPS)의 大食細胞의 貪食能(Fig 8, 9)을 亢進시켰다. 또한 貪食細胞가 貪食한 微生物이나 癌細胞를 死滅하는데 必要한 反應酸素 中間物質(reactive oxygen intermediateds : ROIs)의 生成은 抑制시켰으며 反應窒素 中間物質(reactive nitrogen intermediates : RNIs)의 生成은 亢進시켰는데, 이러한 實驗結果로 Robert[102]가 밝힌 바와 같이 RNI는 ROI의 形成에 抑制的으로 作用한다는 사실과 相應한 結果였다.

그러나 痞氣丸 煎湯液의 投與가 個體의 自然致死細胞의 機能(Fig 7)에는 아무런 效果를 미치지 못하였다. 自然致死細胞의 活性度에 관하여 正氣를 補益시키는 作用이 強한 鹿茸 등의 實驗에서 增加하였던 것으로 보아[87, 103] 痞氣丸이 祛邪爲主의 作用을 나타내기 때문인 것으로 볼 수 있다. 이 事實은 張[98]의 理論대로 扶正培本의 治法을 重視하여, 祛邪와 補正氣의 藥物을 混合하여 治療한다면 더욱 좋은 效果를 期待할 수 있을 것으로 思料된다.

本 實驗에서 痞氣丸의 抗腫瘍 免疫反應의 增強效果가 實驗的으로 밝혀졌으므로 過去에 文獻에서 脾積에 應用되던 痞氣丸이 腫瘍治療에 投與할 수 있는 客觀的인 證據가 確立되었다고 할 수 있다. 그러나 어느 藥物의 어떠한 成分이 主로 作用을 하였는지, 또는 複合的인 處方이 아니면 效果가 減少될 것인지에 대한 檢證은 此後에 繼續 硏究가 必要할 것으로 생각되며, 痞氣丸이 祛邪爲主의 處方이지만 人蔘 白朮 등의 扶正하는 藥物이 包含되었으므로, 純粹한 祛邪藥物로 構成된 處方의 免疫效果에 대한 實驗과 이에 對한 機轉은 앞으로 더 硏究 되어져야 할 것으로 思料된다.

Ⅴ. 結 論

古代로부터 積聚의 治療處方으로 活用되어진 痞氣丸의 抗腫瘍 免疫作用을 究明하고자 마우스를 利用하여 細胞 毒性實驗, 同種抗原에 대한 免疫反應, 赤血球 凝集素價 및 溶血素價, rosette 形成細胞, 接觸性 過敏反應, 自然致死細胞의 活性度, 大食細胞의 貪食能 및 大食細胞의 反應酸素 中間物質 生成能, 大食細胞의 反應窒素中間物質 生成能에 미치는 影響을 測定한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 사람의 임파암 細胞株인 K562에 대하여 痞氣丸 A, B, C群 모두 濃度依存的으로 直接的인 細胞毒性作用이 나타났고, 痞氣丸 B, C群에서 有意性이 認定되었다.

2. 마우스의 同種免疫反應에 대하여 痞氣丸 1, 2, 3群 모두 對照群에 比하여 有意性이 認定되었다.

3. 마우스의 赤血球凝集素價 및 溶血素價에 대하여 痞氣丸 1, 2, 3群 모두 增加하였고, 痞氣丸 2, 3群에서 有意性이 認定되었다.

4. 마우스의 Rosette 形成細胞數에 대하여 痞氣丸 1, 2, 3群 모두 增加하였고, 痞氣丸 1, 2群에서 有意性이 認定되었다.

5. 마우스의 遲延形 過敏反應에 대하여 痞氣丸 1, 2, 3群 모두 對照群에 비하여 有意性이 認定되었다.

6. 마우스의 自然致死細胞 活性度에 대하여 痞氣丸 1, 2, 3群 모두 影響이 없었다.

7. 마우스의 大食細胞의 貪食能에 대한 生體內 實驗에서 痞氣丸 1, 2, 3群 모두에서 增加하였고, 痞氣丸 2, 3群에서 有意性이 認定

되었다. 生體外 實驗에서는 痞氣丸 A, B, C群 모두 有意性이 認定되었다.

8. 마우스의 大食細胞의 反應酸素 中間物質 生成能에 대하여 生體內와 生體外 實驗에서 痞氣丸 1, 2, 3, A, B, C群 모두 有意性을 나타내며 抑制시켰다.

9. 마우스의 大食細胞의 反應窒素 中間物質 生成能에 대하여 痞氣丸 A, B, C群 모두에서 增加하였고, 痞氣丸 A, B군에서 有意性이 認定되었다.

以上의 實驗結果를 綜合하여 보면 痞氣丸은 抗腫瘍 免疫反應 增強效果가 認定되었으므로 腫瘍疾患에 應用될 수 있을 것으로 思料된다.

Ⅵ. 參考文獻

1. 이문호, 최강원, 오명돈 : 최근 한국의 질병변천, 대한의학협회지, 32(3) : 283~290, 1989.
2. 김준택 外 : 屈曲性 氣管支鏡을 利用한 肺癌의 臨床的 考察, 서울, 大韓內科學會誌, 27(9) : 1093, 1984.
3. 서울大學校 醫科大學 : 腫瘍學, 서울, 서울大學校 出版部, p.2, 1993.
4. 東軒居士 : 衛濟寶書, 서울, 驪江出版社, 中國醫學大系, 卷9 741 : 817, 1987.
5. 洪元植 : 精校黃帝內經靈樞, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, p.316, 317, 1985.
6. 未詳 : 難經本義, 서울, 驪江出版社, 中國醫學大系, 卷1 733 : 491, 492, 1987.
7. 吳 謙 : 醫宗金鑑(下), 北京, 人民衛生出版社, p.150, 207, 1982.
8. 方約中 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.486~487, 621~629. 1986.
9. 郁仁存 : 中醫腫瘤學(上), 北京, 科學出版社, pp.1~10, 120, 121, 176, 177, 306, 1991.
10. 楊寶印 : 癌症的中藥治療, 河北, 河北科學技術出版社, pp.4~24, 1992.
11. 李文鎬 외 : 內科學(下), 서울, 學林社, p. 2466, 2467, 2378, 2479, 1986.
12. 김진복 : 암면역학과 면역요법, 大韓免疫學會誌 8(1) : 73~79, 1986.
13. 寶駿 外 : 四君子湯對小鼠巨噬細胞毒功能的影響, 中西醫結合雜誌, 10(10) : 612~613, 1990.
14. 尹相協 : 六君子湯, 小柴胡湯, 魚腥草 및 加味方의 抗癌作用과 免疫反應에 관한 實驗的 研究, 서울, 慶熙大學校大學院 博士學位論文, 1991.
15. 廣州中醫學院 虛證 및 老年醫學 第4次學術會議 內容概要, 서울, 한글판 中西醫結合雜誌, p.99, 1993.
16. 鳳海茵 外 : NK, LAK 細胞 및 IL-2活性에 대한 中藥의 影響, 서울, 한글판 中西醫結合雜誌, pp.94~98, 1993.
17. 趙良輔 外 : 六味地黃湯對誘變和自發腫瘤的抑制作用, 中西醫結合雜誌, 10(7) : 433~435, 1990.
18. 崔仁和 : 仙方活命飮의 抗癌 및 免疫反應에 관한 實驗的 研究, 서울, 慶熙大學校大學院 碩士學位論文, 1992.
19. 郁仁存 外 : 升血湯對腫瘤脾虛患者免疫功能的觀察, 中西醫結合雜誌, 11(4) : 218~222, 1991.
20. 金漢燮 : 四妙湯, 大柴胡湯 및 構成藥材들의 抗癌作用과 免疫反應에 관한 實驗的 研究, 서울, 慶熙大學校大學院 博士學位論文, 1989.

21. 高光錫：膈下逐瘀湯과 膈下逐瘀湯合四君子湯의 抗癌 및 免疫調節作用에 관한 實驗的 硏究, 서울, 慶熙大學校大學院 博士學位論文, 1994.
22. 金剛山：伏梁丸이 白血病과 肝癌患者에서 抽出한 癌細胞에 미치는 抗癌效果, 이리, 圓光大學校大學院 碩士學位論文, 1990.
23. 金剛山：肥氣丸 및 消積正元散이 사람의 各種 癌細胞柱의 成長沮碍에 미치는 效果, 이리, 圓光大學校大學院 博士學位論文, 1993.
24. 韓相日：痞氣丸이 白血病과 淋巴腫 患者에서 抽出한 癌細胞에 미치는 抗癌效果, 이리, 圓光大學校大學院 碩士學位論文, 1991.
25. 姜大根：息賁丸 및 痞氣丸이 白血病과 淋巴腫 患者에서 抽出한 癌細胞에 미치는 抗癌效果, 이리, 圓光大學校大學院 碩士學位論文, 1990.
26. 李竝求：增損五積丸(脾積方)이 사람의 各種 癌細胞柱의 成長沮碍에 미치는 效果, 이리, 圓光大學校大學院 碩士學位論文, 1994.
27. 白泰鉉：半夏白朮天麻湯과 半夏白朮天麻湯加味方의 抗癌效果와 免疫反應에 관한 實驗敵 硏究, 서울, 慶熙大學校大學院 博士學位論文, 1994.
28. 한만동 外：人蔘 抽出物이 N-mehtyl-N'-nitro-Nnitrosoguanidine에 의한 Wistar쥐의 胃癌發生에 미치는 影響에 관한 實驗的 硏究, 大韓醫學協會誌 26(11)：1126～1140, 1983.
29. 吳千植：靈芝, 山慈菇, 仙鶴草, 卷柏, 瓦松이 癌細胞 感受性에 미치는 影響, 서울 慶熙大學校大學院 碩士學位論文, 1987.
30. 梁緖賢：靈至, 山慈菇, 仙鶴草, 卷柏, 瓦松이 흰쥐의 自然殺害細胞 活性에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院 碩士學位論文, 1987.
31. 金在亭：一枝黃花가 抗癌作用 및 免疫反應에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院 碩士學位論文, 1990.
32. 沈載然：白鼠를 利用한 枳實, 魚腥草, 穿山甲 및 猪苓의 抗癌效果에 關한 硏究, 서울, 慶熙大學校大學院 博士學位論文, 1988.
33. 任宰訓：數種의 漢藥物이 癌細胞 感受性에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院 博士學位論文, 1986.
34. 虞天民：醫學正傳, 서울, 醫藥社, p.304, 305, 1973.
35. 許 浚：東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.489, 490, 1983.
36. 李中梓：醫宗必讀, 서울, 書苑堂, pp.22, 23, 254～258, 1976.
37. 汪 昂：國譯醫方集解, 서울, 大星文化社, pp.534～536, 1984.
38. 周命新：醫門寶鑑, 서울, 杏林書院, pp. 221～123, 1975.
39. 朴炳昆：漢方臨床四十年, 서울, 大光文化社, pp.202～204, 1979.
40. 文錫哉 外：東醫脾系內科學, 서울, 一中社, pp.164～167, 1988.
41. 柳基遠 外：脾係內科學, 서울, 그린文化社, pp.134～137, 1991.
42. Biozzi, G., Stiffel, C., Mounton, D., Bouthiller, Y. and Decrusefound, C.：A Kinetic Study of Antibody Producing Cells in the Spleen of Mice Immunized Intravenously with Sheep Erythrocytes, Immunology, 14：7, 1968.

43. Miller, T. E. et al. : Immunopotentiation with BCG Ⅱ, Modulation of the Response to Sheep Red Blood Cells, J. Nat. Cancer Inst., 51 : 1669, 1973.
44. Mitsuoka, A. et al. : Delayed Hypersensitivity in Mice Induced by Intravenous Sensitization with Sheep Erythrocytes : Evidence for Tuberculin Type Delayed Hypersensitivity of the Reaction, Immunology, 34 : 363, 1987.
45. Hibbs, J. B. Jr., Taintor, R. R., Chapman, H. A. Jr., and Weinberg, J. B. : Macrophage Tumor Killing : Influence of the Local Environment, Science, p.197, 1977.
46. Umezawa, H., Ishizuka, M., Takeuchi, T., Abe, F., Nemoto, K. : Suppression of Tissue Graft Rejection by Spergualin, J. Antibiot., 38 : 283~284, 1985.
47. Suzuki, S., Kanashiro, M. and Amemiya, H. : Effect of a New Immunosuppressant, 15-deoxyspergualin, on Heterotropic Rat Heart Transplantation, in Comparison with Cyclosporine, Transplantation, 44 : 483~487, 1987.
48. Claman, H. N., Chaperon, E. A. and Triplett, R. F. : Thymus marrow Cell Combination Synergism in Antibody Production, Soc. Exp. Biol. Med. Proc., 59 : 83~87, 1966.
49. Nowotny, A. : Antigen-Antibody Interactions in Basic Exercise in Immuno-chemistry, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, N. Y., pp.217~271, 285~287, 1979.
50. Zaalberg, O.B. : A Simple Method for Detecting Single Antibody Forming Cells, Nature, 202 : 123, 1964.
51. Avrames, L., Bach, J. F. and Preud Homme, J. L. : Antibody Formation at the Cellular Level in Immunology, New York, John Wiley & Son's Ins., pp.503~513, 1982.
52. Bach, J. F., Dardenne, M. : Antigen Recognition by T Lymphocytes I, Thymus and Narrow Dependence of Spontaneous Rosette Forming Cells in Mouse, Cellular Immunology, 3 : 1~10, 1972.
53. Chung, H. T., Samlowski, W. E., and Daynes, R. A. : Modification of the Murine Immune System by Glucocorticosteroids of Circulation Lymphocytes, Cell, Immunol., 101 : 571~585, 1986.
54. Kakayuki, H. et al. : Ferritin Selectively Sup-presses Delayed-type Hypersensitivity Responses at Induction of Effector Phase, Cell. Immunol., 109 : 75~78, 1987.
55. Lynch, D. H., Daynes, R. A. : The Effects of Ultraviolet Irradiation on the Generation of Anti-tumor Cytotoxic Effector Cell Response *in vitro*, J. Immunol., 127 : 1163, 1981.
56. Mekori, Y. A. et al. : Inhibition of Delayed Hypersensitivity Reactions in Mice by Colchicine : Mechanism of Inhibition of Contact Hypersensitivity *in vivo*, Cell. Immunol., 120 : 330~340, 1989.
57. Visser, J. M. and Vom Den Engh, G. J. : Immunofluorescence Measurements by Flow Cytometer : In Immunofluorescence Technology, Selected Theoretical and Clinical Aspects(eds, Wick, G., Traill, K. N. and Schauenstein, K.), Elsevier Biomedical Press, p.95, 1982.

58. Stewart, C. C. and Lin, H. : Macrophage Growth Factor and Its Relationship to Colony Stimulation Factor, Reticuloendothel. Soc., 23 : 269, 1978.
59. Kubo, M. and Archi, S. : G. L. Antihypertensive Component, Jpn. Kokai Tokyo Koho, 81 : 57801, 1981.
60. McGrinnes, K. M., Chopman, G., Marks, R. and Penny, R. : A Fluorescence NK Assay Using Flow Cytometry, J. Immunol., Meth., 86 : 7~15, 1986.
61. Mufti, S. I., Prahhala, R., Moriguchi, Sipes, I. G. and Watson, R. R. : Functional and Numerical Alterations Induced by Ethanol in the Cellular Immune System, Immunopharmacol., 15 : 85~94, 1988.
62. Soerskaar, D., Foerre, Oe., Albrechtsen, D. and Slavem, P. : Naturalcyto toxicity in Adult Acute Leukemia, Int. Arch. Allergy Apple. Immunol., 86 : 190~195, 1988.
63. Schmid, D. S. : The Human MHC-restricted Cellular Response to Herpes Simplex Virus Type 1 is Mediated by CD4 Helper(+), CD8 Suppressor(+) T Cells and Restricted to the DR Region of the MHC Complex, J. Immunol., 140 : 3610~3616, 1988.
64. Davis, A. F. S. et al. : The Failure of Thymus-derived Cells to Produce Antibody, Transplantation, 5 : 222, 1967.
65. Hume, D. A., Perry, V. H. and Gordon, S. : The Mononuclear Phagocyte System of the Mouse Defined by Immunohistochemical Localization of Antigen F4/80 : Macrophages Associated with Epithelia, Anant. Rec., 201 : 503, 1984.
66. Hume, D. A., Loutit, J. F. and Gordon, S. : The Mononuclear Phagocyte System of the Mouse Defined by Immunohistochemical Localization of Antigen F4/70 : Macrophages of Bone and Associated with Connective Tissue, J. Cell. Sci., 66 : 189~194, 1984.
67. Shepherd, V. L., Comphell, E. J., Sienior, R. M. and Stahl, P. D. : Characterization of the Mannose Fucosyl Receptor on Human Mononuclear Phagocytes, J. Res., 32 : 423~432, 1982.
68. Suny, S. S. J., Nelson, R. S. and Silverstein, S. C. : Yeast mannose Inhibits Binding and Phagocytosis of Zymosan by Mouse Peritoneal Macrophages, J. Cell. Bio. p.106, 1983.
69. Walker, W. S., Hester, R. B. and Beelen, R. H. J. : Persistent Expression of IgA-antigen on a Subpopulation of Murine Resident Peritoneal Macrophages, Cell. Immunol., 79 : 125, 1983.
70. Winter, M. and Buschmann, H. G. : Measuring Phagocytic Capacity in Polymorphonuclear Cell of the Pig : A Comparison Between Different Assay, J. Vet. Med., 834 : 504, 1987.
71. Winy, E. J., Gardner, I. D., Ryminy, F. W. and Reminyton, J. S. : Dissociation of Effector Functions in Populations of Activated Macrophages, Nature, 268 : 642, 1977.
72. Hibbs, J. B. Jr., Lambert, L. H. Jr., and Remington, J. S. : Possible Role of Macrophage-mediated Nonspecific Cytotoxicity

in Tumor Resistance, Nature, New Biol., 235 : 48, 1972.

73. Drapier, J. C., and Hibbs, J. B. Jr. : Differentiation of Murine Macrophages to Express Nonspecific Cytotoxicity for Tumor Cells Results in L-argine-dependent Inhibition of Mitochondrial Iron-sulfer Enzymes in the Macrophage Effector Cells, J. Immunol., 140 : 2689~2838, 1988.
74. Austyn, J. M. and Gordon, S. : F4/80 : Monoclonal Antibody Directed Specifically Against the Mouse Macrophage, Eur. J. Immunol., pp.805~815, 1981.
75. 上海中醫學院 : 中醫內科學, 香港, 商務印書館, pp.90~93, 1975.
76. 上海中醫學院 : 內科學(上), 上海科學技術出版社, pp.123~126, 1983.
77. 王顯明 : 中醫內科辨證學, 北京, 人民衛生出版社, pp.531~535, 1984.
78. 楊醫業 : 中醫學問答(下), 北京, 人民衛生出版社, pp.64, 1985.
79. 張伯臾 : 中醫內科學, 北京, 人民衛生出版社, pp.401~414, 1988.
80. 廣東中醫學院 : 中醫方藥學, 廣東, 廣東人民出版社, pp.126~129, 234~240, 266, 267, 303~307, 311, 488, 490, 594, 595, 600, 601, 1976.
81. 李尙仁 外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp.130~133, 171~178, 230~236, 243, 244, 249, 250, 345, 358, 359, 1982.
82. 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 商務印書館, pp.195~199, 221~223, 226~230, 236, 237, 292~303, 520, 1983.
83. 辛民敎 : 臨床本草學, 서울, 南山堂, pp. 166, 167, 172, 250~253, 259~261, 271, 308~311, 393, 394, 399, 489, 500, 602, 1986.
84. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, pp.8~10, 13, 21, 318, 357, 367, 384, 416, 576, 583, 589, 590, 607, 642, 649, 661, 1988.
85. 顔正華 : 中藥學, 北京, 人民衛生出版社, pp.134~140, 258~260, 316~318, 321, 322, 327~329, 331, 332, 350, 351, 366~379, 721~728, 742~746, 1991.
86. 常敏毅 : 抗癌本草, 湖南省, 湖南科學技術出版社, pp.7, 8, 72~74, 84, 85, 122, 123, 213~215, 258~261, '987.
87. 宋一炳 : 水蔘, 白蔘 및 紅蔘이 細胞性 免疫反應 및 體液性 免疫反應에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院 碩士學位論文, 1986.
88. 韓大錫 : 生藥學, 서울, 東明社, pp.110~113, 133, 152, 153, 156~162, 174, 175, 182, 183, 221~223, 235, 236, 283, 284, 290, 291, 311, 312, 323, 343, 344, 356, 357, 1993.
89. 高炳熙 : 鹿茸, 熟地黃, 人蔘, 五加皮가 免疫反應 및 NK細胞 活性度에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院 博士學位論文, 1986.
90. 羅瑛杰 : 白朮과 枸杞子가 생쥐의 細胞性 및 體液性 免疫反應에 미치는 影響, 서울 慶熙大學校大學院 碩士學位論文, 1987.
91. 張仲景 : 仲景全書, 서울, 大星文化社, p. 166, 349, 1984.
92. 葛洪 : 肘後備急方, 서울, 驪江出版社, 中國醫學大系, 卷2 734 : 439, 440, 1998.
93. 巢元方 : 巢氏諸病源候總論, 서울, 驪江出版社, 中國醫學大系, 卷2 734 : 823~826, 1987.

94. 吳錫璜：聖濟總錄, 서울, 翰成社, 卷10 p. 12, 1977.
95. 陳 言：三因極一病證方論, 서울, 驪江出版社, 中國醫學大系, 卷11 743：365, 366, 1987.
96. 楊士瀛：人齊直指方, 서울, 驪江出版社, 中國醫學大系, 卷12 744：451, 1987.
97. 羅天益：衛生寶鑑, 서울, 大星文化社, 醫部全錄, 12卷 p.130, 131, 1986.
98. 張元素：活法機要, 서울, 大星文化社, 醫部全錄, 12卷 p.129, 130, 1986.
99. 崔虎錫：漢方臨床入門, 서울, 成輔社, pp. 25～28, 1985.
100. 駱和生：免疫과 韓方, 서울, 열린 책들, pp.15～48, 1992.
101. 윤정구：종양에 대한 생체방어기전, 대한의학협회지, 32(10)：1073～1077, 1989.
102. Robert, M. C., Joanna, J. P. and Steven, B. A.：Nitric Oxide, an Endothelial Cell Relaxation Factor, Inhibits Neutrophil Superoxide Anion Production Via a Direct Action on the NADPH Oxidase, J. Clim. Invest, pp.1116～1121, 1992.
103. 李栽東：鹿茸, 皇基, 當歸水鍼이 放射線被曝에 의한 免疫反應 低下에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院 博士學位論文, 1993.

ABSTRACT

Effects of Bikiwhan on the Anti-tumor Imune Responses in the Mouse.

Moon, Byung-Ha
Dept. of Oriental medicine Graduate School of Won Kwang University
(Directed by Prof. Moon, Goo, O. M. D., Ph. D.)

Bikiwhan is one of the oriental medicines that have been used for the treatment of tumors since ancient times. However, the mechanism of the drug action is not closely surved. This study was made to investigate the effects of Bikiwhan on the innate immunity were analysed by measuring the functions of phagocytes, and those of specific immunity were analysed by measuring T and B cells activities.

The followings are the results obtained from this study :

1. Bikiwhan has direct cytotoxic effects against human lymphoma cell lines(K562) in a dose dependent manner.
2. An administration of Bikiwhan increased allogenic immune response in the mouse.
3. An administration of Bikiwhan increased the antibodies formation against SRBC.
4. An administration of Bikiwhan enhanced the apperance of rosette forming cells in the spleen.
5. An administration of Bikiwhan decreased the delayed-type hypersensitivity against dinitrofluorobenzene.
6. An administration of Bikiwhan has no effect on natural killer cells.
7. Bikiwhan increased the phagocyte activity of peritoneal macrophages *in vitro* and in *in vivo* as well.
8. Bikiwhan depressed the formation of reactive oxygen intermediated *in vitro* and *in vivo* as well.
9. Bikiwhan has the capacity to make peritoneal macrophages secrete nitric oxide.

The above results demonstrate that Bikiwhan has enhancing effects of immune responses against tumors by decreasing tissue demages caused by immune responses.