

當歸飲子加蟾酥가 皮膚癌細胞(A431)의 細胞毒性에 미치는 影響

崔政和*

I. 緒 論

當歸飲子は 宋代 嚴用和의 <濟生方>¹⁾에 처음記載된 處方으로 “心血凝滯 內蘊風熱 發於皮膚 偏身瘡疥 或腫 或疥 或膿水浸 或發赤疹”과 “疥疥, 風毒, 濕毒” 등의 病狀을 治療한다고 하였으며 其²⁾ 등은 乾燥性 皮膚疾患, 皮炎症, 皮膚瘙癢症, 慢性 濕疹 등에 應用된다 하였다.

翻花瘡이란 현대에서 살이 비섯 같이 빠져 나오거나 뱀 같이 생긴 살이 몇 지나 되게 빠져 나오는 것을 말하며³⁾, <諸病源候論>⁴⁾에 “反花瘡은 風毒이 相搏해서 發生하는데 初期에 그 形態는 飯粒 같고 瘡頭를 破하면 血出 되면서 惡肉이 자라고 점차 根이 形成되며 膿汁이 나오는데 그 惡肉의 形態가 꽃을 뒤집에 놓은 것 같다”고 最初로 記錄된 이래, 翻花瘡⁷⁻⁹⁾, 綿花瘡^{8,9)}, 廣東瘡^{5,9-11)}, 楊毒⁶⁻¹¹⁾ 등 惡肉의 모양에 따라 多樣하게 表現되었다. 陳⁸⁾은 “翻花瘡은 頭大而蒂小한데 작은 것은 豆와 같고 큰 것은 菌과 같으며 無苦無疹한다” 하여 翻花瘡의 形態를 보다 具體적으로 言及하였다.

翻花瘡의 發病原因에 대하여 諸家들은 多樣한 說을 提示하였지만 크게 外因으로는 風毒^{6, 12)}, 淫穢之毒¹¹⁾, 內因으로는 肝火血燥生風⁷⁾, 穢氣入于腸胃¹⁰⁾, 肝腎一經濕熱⁹⁾을, 不內外因으로는 色慾太過⁹⁾ 등으로 發生하며 最近 文獻¹³⁻¹⁵⁾에서는 濕熱與氣血凝結, 病久鬱而化火, 耗傷氣血, 陰虛內熱, 肌膚失養 등이 原因이 된다고

하였으며, 治療法은 調和氣血하고 化痰利濕하는 方法을 爲主로 하였다.

翻花瘡은 現代醫學의 扁平 上皮細胞癌으로 볼 수 있으며, 扁平 上皮細胞癌은 表皮癌의 一種으로 表皮 角質細胞의 惡性 腫瘍으로 細胞의 角化傾向이 많고 주로 日光에 露出되는 皮膚 또는 粘膜에 好發하는데 正常的인 皮膚 위에 突然히 나타나는 것은 적고 表皮의 慢性 營養 障礙를 招來하는 先行 病變위에 發生하는 경우가 많다^{14-18,20-22)}.

最近 皮膚癌의 治療方法으로는 抗癌劑 投與, 外科의 手術療法, 放射線療法, 化學療法, 免疫療法 등이 活用되고 있으나²³⁻²⁵⁾ 生體에 대한 副作用, 正常細胞에 대한 毒性作用이 問題點으로 提起되고 있는 바 韓藥과 抗癌劑의 併用 投與 및 韓藥劑를 利用한 體質改善 등의 方法이 試圖되고 있다²⁵⁻²⁹⁾.

抗癌作用 및 免疫反應에 대한 研究로는 金³⁰⁾은 加減生肝湯이, 白等³¹⁻³⁴⁾은 消積白朮散이, 金³⁵⁾은 一枝黃花가, 崔³⁶⁾은 仙方活命飲이, 金³⁷⁾은 四妙湯, 大柴胡湯이 각각 抗癌作用과 免疫反應에 效果的으로 作用한다고 報告하였고, 當歸飲子에 對한 研究로 盧³⁸⁾는 當歸飲子 水抽出液이 抗Allergy 反應과 Mouse의 免疫細胞機能에 미치는 影響을, 翻花瘡에 對한 實驗的 研究로는 金³⁹⁻⁴⁰⁾의 報告가 있으며, 安⁴¹⁾은 蟾酥에 對하여 報告하였으나 當歸飲子와 關聯된 實驗的 研究는 아직 接하지 못하였다.

이에 著者는 當歸飲子에 解毒, 消腫, 止痛의 效果가 있는 蟾酥를 加味하여 人體 皮膚癌細胞인 A431 細胞에 對한 細胞毒性을 觀察하였으

* 동신대학교 한의과대학 외관과교실

며, 當歸飲子加蟻酥(DESE)와 抗癌劑 Mitomycin C 및 Cisplatin을 併用하여 處理하였을 때의 細胞毒성을 觀察하였고, 正常細胞에 對한 細胞毒성을 檢索하기 위하여 마우스의 纖維腫細胞(Balb/c 3T3), 마우스의 胸腺細胞 및 脾臟細胞에 미치는 細胞毒성을 觀察하였으며, 마우스 腹腔 Macrophage에 미치는 影響을 觀察한 結果 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料 및 動物

1) 藥材

實驗에 使用한 藥材는 大田大學校 附屬韓方病院에서 購入한 후 精選하여 使用하였고, 處方 의 內容과 用量은 <濟生方>¹⁾에 準한 當歸飲子 에 蟻酥를 加하였다.

Prescription of Dangkwieumja ka Sumsoo (DESE)

韓藥名	生藥名	重量(g)
當 歸	Radix Angelicae Gigantis	37.5
白芍藥	Radix Paeoniae Lactiflorae	37.5
生地黄(洗)	Radix Rehmanniae	37.5
白茯苓(炒去尖)	Fructus Tribuli	37.5
防 風(去蘆)	Radix Ledebouriellae	37.5
前 芥	Herba Schizonepetae	37.5
何首烏	Radix Cynachi Wilfordii	18.7
黃 芪(去蘆)	Radix Astragali	18.7
甘 草	Radix Glycyrrhizae	18.7
蟻 酥	Bufois Venenum	1.00
Total amount		282.1

2) 動物

實驗動物은 Balb/c系 수컷 마우스(18±2g)를 大韓實驗動物에서 購入하여 一週日 以上 實驗 室에 適應시킨 후 使用하였고 飼育中 물과 飼 料를 자유롭게 攝取하게 하였다.

3) 試藥 및 器具

實驗에 使用한 試藥은 Dulbecco's modified Eagle's medium(DME, Sigma), RPMI 1640 (Gibco), mitomycin C(MMC, Kyowa), cisplatin (CPT, Ildong Pharm. Co.), fetal bovine serum (FBS, Gibco), trypsin(Gibco), penicillin-strep-tomycin(Sigma), Dulbeccos'phosphate buffer-ed saline(DPBS-A, Sigma), concanavalin A

(Con A, Wako), lipopolysaccharide (LPS, Sig-ma 026:B6), thioglycollate(Difco), interferon γ (γ -IFN, Sigma Hu γ -IFN), sulfanilamide (Sig-ma), N-Naphthylethylenediamine 2HCl (Sig-ma), 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphen-yltetrazoliumbromide(MTT, Sigma)등이며 기 타 試藥은 細胞培養用 및 1급 試藥을 使用하였 다. 使用器具는 culture flask(Nunc), multi-well plate (24-well, 96-well, Costar), micro-plate reader (Dynatech MR5000), CO₂ incub-ator(Vision scientific Co.), centrifuge(VS-6000 CF), inverted microscope(Nikon Co.), freeze dry apparatus (Labconco)등을 使用하였다.

2. 方法

1) 檢液調製

當歸飲子加蟾酥 1帖 分量에 蟾酥 1g을 加하여 蒸溜水 1,000 ml로 加熱 抽出한 후, 濾過하여 濾液을 rotary evaporator로 濃縮한 다음, freeze dryer로 凍結乾燥하여 粉末 14.5g(수득률; 6.7%)을 얻었다(以下 DESE라 稱함). 細胞實驗時에는 蒸溜水에 溶解시킨 뒤, membrane filter(d 0.45 μ m)로 濾過 滅菌하여 使用하였다.

2) 細胞株 및 細胞 培養條件

A431 細胞株 및 Balb/c 3T3 細胞株은 DME 培地를, 마우스 脾臟細胞와 human lymphocyte는 RPMI 1640 培地를 使用하였으며 培地에는 10% FBS와 penicillin-streptomycin(100 units/ml, 100 μ g/ml)을 添加하여 使用하였다.

계대 배양은 1:10~1:20 比率로 3日 間격으로 하였다. 細胞 增殖에 미치는 當歸飲子加蟾酥 및 各 抗癌劑의 影響을 觀察하기 위한 實驗은 계대 배양 2日째의 細胞를 使用하였다.

3) 細胞生存率 測定

細胞生存率은 MTT法으로 測定하였다. 使用한 MTT法은 Mosmann⁴²⁾이 開發하여 Kotnik⁴³⁾이 變形시킨 方法으로, 96-well plate의 各 well에 A431 및 Balb/c 3T3 細胞 浮遊液 100 μ l(2×10^5 cells/ml)를 各 各 接種하여 37°C의 CO₂ incubator에서 24時間 培養한 후 濃度別로 稀釋된 DESE 100 μ l(抗癌劑와 併用時는 DESE, 50 μ l와 各 抗癌劑 IC₅₀ 濃度 50 μ l)를 넣고 37°C의 CO₂ incubator에서 48時間 培養하였다. 培養 終了 4時間전에 5mg/ml 濃度로 DPBS-A에 稀釋된 MTT溶液 20 μ l를 各 well에 添加하고 培養 終了時까지 은박지로 빛을 遮斷하였다. 培養 終了時 培養液을 除去한 후 生成된 formazan crystal을 DMSO로 溶출시킨 다음 발색된 各 well의 吸光度를 microplate reader를 利用하여 570nm에서 測定하고 對照群의 吸光도와 比較하여 細胞生存率을 百分率로 換算하였다.

4) 마우스 胸腺 및 脾臟細胞에 미치는 影響

마우스의 胸腺 및 脾臟細胞 分離는 Wysoc-ki⁴⁴⁾ 및 Mizel⁴⁵⁾등의 方法을 利用하였다.

Balb/c 마우스를 頸椎脫骨하여 도살시킨 후 摘出した 胸腺 및 脾臟을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 粉碎하고 stainless mesh로 濾過한 후 2回 洗滌한 다음 10ml 주사기로 조심스럽게 細胞浮遊液을 取하여 1,500rpm에서 10分間 遠心分離하였다. 얻어진 細胞를 DPBS-A에 再浮遊시켜 3回 反復 洗滌한 후 胸腺 및 脾臟細胞를 分離하였으며 分離한 胸腺 및 脾臟細胞의 生存率 및 總細胞數를 hemocytometer를 利用하여 測定하였다. 脾臟細胞 浮遊液을 RPMI 1640 培地로 稀釋하고 96-well plate에 1.2×10^6 cells/ml 濃度로 接種하여 mitogen(胸腺細胞; concanavalin A 1 μ g/ml, 脾臟細胞; lipopolysaccharide 10 μ g/ml) 및 各 濃度의 DESE를 添加한 후 37°C의 CO₂ incubator에서 48時間 培養한 다음 培養 終了 4時間 전에 MTT試藥을 加하였다. 培養 終了時 0.1N HCl에 溶解시킨 10% SDS 100 μ l를 各 well에 添加하고 遮光狀態에서 18時間 더 培養한 후 발색된 各 well의 吸光度를 microplate-reader로 570nm에서 測定하여 對照群의 吸光度에 對한 實驗群의 吸光度를 百分率로 換算하여 細胞生存率을 計算하였다.

5) 마우스 腹腔 Macrophage의 分離

및 nitric oxide 生成에 미치는 影響

In vitro 實驗에서는 마우스에 3% thioglycolate 2ml를 腹腔에 投與하고, 3日후에 마우스를 頸椎脫骨하여 도살시킨 후, 腹腔에 cold PBS 10ml를 注入하여 腹腔細胞를 收集하고, 4°C에서 1,300rpm으로 10分間 遠心分離하여 RPMI 培地로 2回 洗滌한 후, 直徑 120mm petri dish에 分주하여 2時間 후에 附着되지 않은 細胞를 除去하고, 附着한 Macrophage를 cell scraper로 모았다. 分離한 腹腔 Macrophage를 24 well plate에 well당 1×10^6 cells을 分주한 후, 各 well에 DESE 1, 10 및 100 μ g/ml 各 各 加하고, LPS 1 μ g/ml

와 ν -IFN 25units/ml를 添加하여, 37°C CO₂-incubator에서 24時間 培養한 후에 生成된 nitric oxide(NO)量을 Griess法⁴⁶⁾으로 測定하였다. 培地 100 μ l와 Griess reagent (1% sulfanilamide + 0.2% N-Naphthylethylenedia-mine 2HCl + 2.5% H₃PO₄) 100 μ l를 混合하여 96 well plate에넣고 570nm에서 microplate reader로 吸光度를 測定하여 미리 作成한 NaNO₂의 檢량선에 의해 NO量을 測定하였다.

In vivo 實驗에서는 DESE 500mg/kg을 마우스에 1日 1回씩 3日間 經口投與하고 8日째 3% thioglycollate 2ml를 腹腔에 投與하고 3日후에 마우스를 頸椎脫骨하여 도살시킨 후 同 한 方法으로 Macrophage를 分離하여, LPS 1 μ g/ml 와 ν -IFN 25units/ml를 添加하여, 37°C CO₂-incubator에서 24時間 培養한 후에 生成된 nitric oxide(NO)量을 測定하였다.

III. 實驗成績

1. A431 및 Balb/c 3T3 細胞株에

미치는 DESE의 效果

A431 및 Balb/c 3T3 細胞株에 미치는 DESE의 直接效果를 알아보기 위하여 A431 및 Balb/c 3T3 細胞株에 DESE를 1, 10 및 100 μ g/ml을 加하여 培養하였다. A431 細胞株에서는 DESE를 處理하지 않은 對照群의 細胞生存率을 100%로 하였을 때 각각 95.6 \pm 1.4, 92.6 \pm 0.7 및 88.2 \pm 1.2 %로 10 μ g/ml 以上の 濃度에서 A431 細胞의 增殖을 抑制하였으며(Fig.1), Balb/c 3T3 細胞株에서는 DESE를 處理하지 않은 對照群의 細胞生存率을 100%로 하였을 때 각각 97.8 \pm 1.2, 99.6 \pm 1.5 및 96.3 \pm 1.7%로 全濃度에서 Balb/c 細胞의 增殖에 別 影響을 주지 않았다(Fig.2).

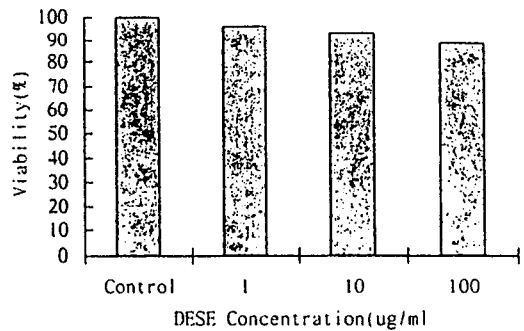


Fig.1. Effect of water extract of Dangkwil ka Sumsoo(DESE) on human epidermoid carcinoma, A431 cells.

The cells(2×10^5 cells/ml) were cultured in 5% CO₂-incubator at 37°C for 24 hours, and then DESE was added for 48 hrs. The OD of each well was measured at 570 nm with microplate reader. Each bar represents the mean \pm SE from 4 experiments.

Significantly different from control group(10 μ g/ml ; P < 0.01, 100 μ g/ml ; P < 0.001).

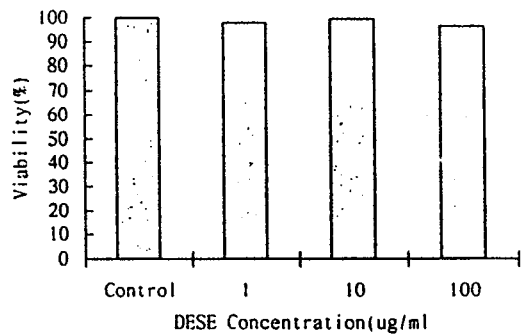


Fig.2. Effect of DESE on the proliferation of BALB/c 3T3 cells. Each bar represents the mean \pm SE from 4 experiments.

2. A431 및 Balb/c 3T3 細胞株에 對한 抗癌劑의 IC₅₀ 濃度

A431 細胞株의 增殖을 50% 抑制하는 Mitomycin C의 濃度는 1.4 μg/ml 이었으며, cisplatin의 濃度는 1.7 μg/ml 이었다. Balb/c 3T3 細胞株의 增殖을 50% 抑制하는 mitomycin C의 濃度는 12.5 μg/ml 이었으며, Cisplatin의 濃度는 26.5 μg/ml 이었다(Table I).

Table I. IC₅₀ of Mitomycin C and Cisplatin on A431 cells or Balb/c 3T3 cells

Drug	IC ₅₀ (μg/ml)	
	A431	BALA/c 3T3
Mitomycin C(MMC)	1.2	12.5
Cisplatin(CPT)	1.6	26.5

3. A431 및 Balb/c 3T3 細胞株에 미치는 DESE와 抗癌劑의 併用 處理 效果

A431 및 Balb/c 3T3 細胞株에 미치는 DESE와 Mitomycin C 및 Cisplatin의 併用處理 效果를 알아보기 위해 DESE를 1, 10 및 100 μg/ml을 추가하고 각 抗癌劑의 IC₅₀ 濃度를 添加하여 培養하였다. A431 細胞에서는 각 抗癌劑 IC₅₀ 濃度를 處理한 對照群의 細胞生存率을 100%로 하였을 때, Mitomycin C IC₅₀ 處理群은 100.2±0.8, 102.4±0.6 및 112.0±1.5%로, Cisplatin IC₅₀ 處理群은 104.5±1.2, 104.8±1.9 및 108.2±1.2%로 100 μg/ml의 濃度에서 A431 細胞 增殖이 抗癌劑 單獨 處理時 보다 增加되었다(Fig.3). Balb/c 3T3 細胞에서는 각 抗癌劑 IC₅₀ 濃度를 處理한 對照群의 細胞生存率을 100%로 하였을 때, mitomycin C IC₅₀ 處理群은 96.3±2.9, 94.5±1.6 및 87.1±1.6%로, Cisplatin IC₅₀ 處理群은 97.1±2.2, 97.5±2.1 및 87.8±1.5%로 100 μg/ml의 濃度에서 Balb/c 3T3 細胞 增殖이 抗癌劑 單獨 處理時 보다 抑制되었다(Fig.4).

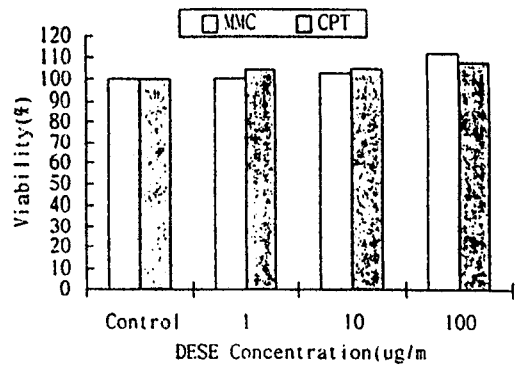


Fig.3. The combined effect of DESE and IC₅₀ of anti-tumor drugs on A431 cells.

The cells (2×10^5 cells/ml) were cultured in 5% CO₂-incubator at 37°C for 1 day, and then DESE was added for 2 days. The OD of each well was measured at 570 nm with microplate reader.

Each bar represents the mean ± SE from 4 experiments.

Significantly different from control group (100 μg/ml ; P<0.01).

Control: MMC; IC₅₀ of mitomycin C (1.2 μg/ml)

CPT; IC₅₀ of cisplatin (1.6 μg/ml)

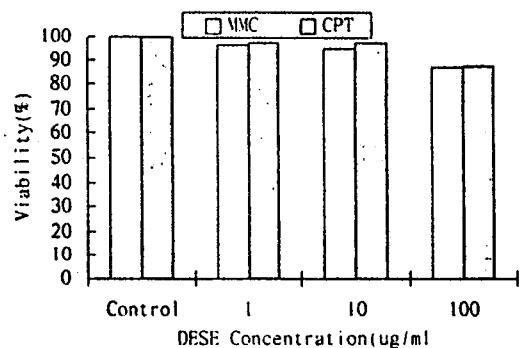


Fig.4. The combined effect of DESE and IC₅₀ of anti-tumor drugs on BALB/c 3T3 cells. The cells (2×10^5 cells/ml) were

cultured in 5% CO₂-incubator at 37°C for 1 day, and then DESE was added for 2 days.

The OD of each well was measured at 570 nm with microplate reader.

Each bar represents the mean ± SE from 4 experiments.

Significantly different from control group(100µg/ml ; P<0.001).

Control: MMT; IC₅₀ of mitomycine C(12.5µg/ml)
 CPT: IC₅₀ of cisplatin (26.5µg/ml)

4. 마우스 胸腺 및 脾臟細胞에 미치는 DESE의 效果

마우스 胸腺細胞 培養掖를 利用하여 T 림파구 mitogen인 concanavalin A를 添加하여 培養한 후 MTT法으로 測定한 結果, Con A를 添加한 對照群의 細胞生存率을 100%로 하였을 때, Con A를 添加하지 않았을 경우에는 79.2±1.7%로 T 림파구의 活性이 현저히 低下되었으며, DESE를 1, 10 및 100 µg/ml를 處理하였을 때, 각각 99.8±1.6, 99.1±2.2 및 93.2±1.1 %로 100 µg/ml의 濃度에서 마우스 胸腺細胞의 增殖이 抑制되었다. 마우스 脾臟細胞 培養掖를 利用하여 B 림파구 mitogen인 lipopolysaccharide를 添加하여 培養한 후 MTT法으로 測定한 結果, LPS를 添加한 對照群의 細胞生存率을 100%로 하였을 때, LPS를 添加하지 않았을 경우에는 83.4±1.2 %로 B 림파구의 活性이 현저히 低下되었으며 DESE를 1, 10 및 100 µg/ml를 處理하였을 때, 각각 100.9±0.9, 96.6±1.0 및 93.2±0.6%로 100 µg/ml의 濃度에서 마우스 脾臟細胞의 增殖이 抑制 되었다(Fig.5).

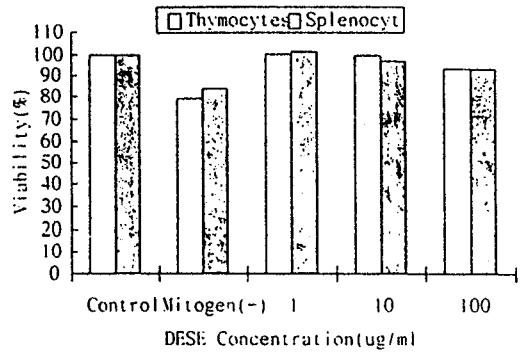


Fig.5. Effect of DESE on the proliferation of mouse thymocytes and splenocytes.

The cells obtained from BALB/c mice were cultured in RPMI1640 medium containing 10% FBS. DESE was added with Con A or LPS in 96-well plate at the beginning of the culture. The cells (1.2×10⁶ cells/ml) were cultured for 4 hours. At the termination of the cultures, added 100µl of 10% SDS and then the cells were cultured for 18 hours.

Each bar represents the mean ± SE from 4 experiments.

Significantly different from control group(100µg/ml ; P<0.01, Mitogen(-) ; P<0.001).

Control group: Thymocytes(Concanavalin A 1µg/ml treated group)
 Splenocytes(lipopolysaccharide 10µg/ml treated group)
 Mitogen(-) ; Con A or LPS non-treated group

5. 腹腔 Macrophage의 nitric oxide 生成量

마우스 腹腔 Macrophage에 lipopolysaccharide(LPS)와 γ-interferone(γIFN)을 處理하지 않은 群의 nitric oxide 生成量은 1.9±0.1µM

이었으며, LPS와 γ IFN을 처리한 군의 nitric oxide 생성량은 $9.6 \pm 0.2 \mu\text{M}$ 로 현저히 증가하였다. In vitro系에서 DESE 1, 10 및 $100 \mu\text{g/ml}$ 를 처리 하였을 때 nitric oxide 생성량은 9.5 ± 0.1 , 9.6 ± 0.1 및 $14.0 \pm 0.4 \mu\text{M}$ 로 LPS와 γ IFN을 처리한 군에 비해 $100 \mu\text{g/ml}$ 농도에서 nitric oxide의 생성이 증가되었다(Fig.6). DESE 500mg/kg 을 경구投與하고 分離한 Macrophage에 LPS와 γ IFN을 처리하였을 때는 nitric oxide의 생성량이 $4.2 \pm 0.2 \mu\text{M}$ 로 LPS와 γ IFN을 처리한 군에 비해 減少하였다(Fig.7).

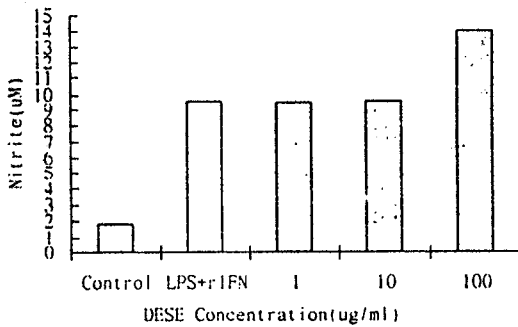


Fig.6. Effect of DESE on nitric oxide production from mouse peritoneal macrophages in vitro. Mouse was injected i.p. with 3% thioglycollate for 3 days.

Peritoneal macrophages obtained after 2 hours adherence period were cultured in RPMI1640 media alone(Control) or with LPS($1 \mu\text{g/ml}$) and γ -IFN(25 units/ml). Nitric oxide was determined with Griess reagents at 570 nm.

Each bar represents the mean \pm SE from 3 experiments.

Significantly different from control group(LPS+ γ IFN ; $P < 0.001$).

Significantly different from LPS+ γ IFN treated group($100 \mu\text{g/ml}$; $P < 0.01$).

LPS+ γ IFN(+); Lipopolysaccharide and γ -interferone treated group

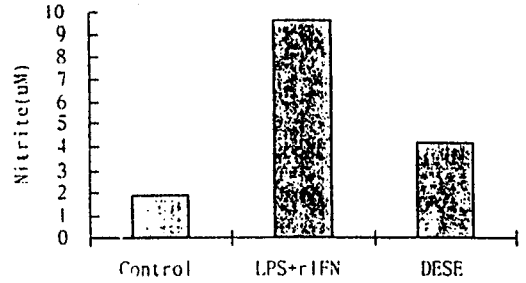


Fig.7. Nitric oxide production from peritoneal macrophages of DESE-treated mice.

DESE(500mg/kg) was administered orally for 3 days, and 3% thioglycollate was injected i.p. for 3 days.

Peritoneal macrophages obtained after 2 hours adherence period were cultured in RPMI1640 media with lipopolysaccharide (LPS, $1 \mu\text{g/ml}$) and γ -interferone (γ IFN, 25 units/ml).

Each bar represents the mean \pm SE from 3 experiments.

Significantly different from control group(LPS+ γ -IFN ; $P < 0.001$)

Significantly different from LPS+ γ -IFN treated group (DESE ; $P < 0.01$)

Control: LPS and γ IFN non-treated group

IV. 考 察

韓醫學에서 翻花瘡과 關係되는 內容으로는 <諸病源候論>⁶⁾에 “反花瘡은 風毒이 相搏해서 發生하는데 初期에 그 形態는 飯粒 같고 瘡頭를 破하면 血出 되면서 惡肉이 자라고 점차 根이 形成되며 膿汁이 나오는데 그 惡肉의 形態가 꽃을 뒤집에 놓은 것 같다.”라 하여 原因 및 瘡의 形態, 症狀에 대하여 言及하였고, 이후 惡

肉의 모양에 따라 翻花瘡⁷⁻⁹⁾, 綿花瘡^{5,8-9)}, 廣東瘡^{5,9-11)}, 楊梅⁸⁻¹¹⁾ 등 多樣하게 表現되었는데 이는 歷代 醫家들이 惡肉의 모양과 症狀의 類似性으로 翻花瘡과 梅毒의 病名을 混用하였다고 思慮된다. 이후 翻花瘡 治療에 대하여 多樣한 辨證施治가 提示되었는데 陳⁸⁾은 “翻花瘡은 頭大而 蒂小한데 작은 것은 豆와 같고 큰 것은 菌과 같은데 無苦無疼한다” 하여 翻花瘡의 形態를 보다 具體적으로 言及하면서 冰蠶散과 珍珠散을 使用하여 惡肉을 壞死, 脫落시키는 外科的인 方法을 使用하였다.

翻花瘡에 대한 病因病理를 살펴보면 巢^{6,12-13)}은 風毒과 氣血이 相搏하여 發生한다 하여 外因을 主된 原因으로 보았고, 寶¹⁰⁾은 臟腑之積毒과 脾家之濕熱을 主된 原因으로 보았는데 楊梅毒을 瘡의 形態로 보아 翻花瘡으로 表現하였고, 薛⁷⁾는 瘡瘍潰後에 肝火가 熾盛하여 血燥生風한 結果 發生한다고 하였다. 王⁹⁾은 肝腎二經濕熱, 色慾太過, 腎經虛損한데 邪氣가 侵犯하거나 下疳疔毒을, 張¹¹⁾은 淫毒이 傳染되어 發生한다고 하였는데 “淫穢之毒, 由精泄之後, 氣從精道, 乘虛則透命門, 以灌冲脈, 所以外而皮毛, 內而骨髓, 凡冲脈所到之處, 則無處不到”라 하여 보다 具體적으로 原因을 分析하고 그 經路를 밝혔으나 寶¹⁰⁾와 같이 翻花瘡의 症狀과 瘡의 形態로 보아 楊梅毒의 範疇에서 言及되었다고 思慮된다. 最近 文獻¹⁴⁻¹⁹⁾에서는 濕痰與氣血凝結, 病久鬱而化火, 耗傷氣血, 陰虛內熱, 肌膚失養 등이 原因이 되며 그 외 強烈的 햇빛에 露出되거나 有害物質의 長期間에 걸친 刺戟, 慢性潰瘍 같은 皮膚疾患에 併發하여 發生한다고 하였다.

症狀에 대하여 살펴보면 初期에 乳頭狀 또는 豆狀의 隆起가 있고 淡紅이나 淡黃色의 단단한 結節이 形成되는데 그 中央에 釘刺狀의 角化가 일어나 數週 혹은 數個月後 潰瘍을 形成한다. 그 基底部는 堅硬하며 表面은 乳頭狀 혹은 菜花狀으로 高底不平하며 乳白色의 顆粒이나 壞死組織이 附着되어 있고 腥臭가 나며 쉽게 出血이 된다. 發病部位는 頭, 面頰, 額, 眼鼻周圍, 耳, 手部 등 露出된 部位에 好發하며, 比較적

病的 進行이 빠르고 쉽게 부근의 淋巴節로 轉移 된다. 後期에는 內臟에도 轉移가 되어 劇烈疼痛, 夜眠不安, 口乾咽燥, 形瘦潮熱, 不思納食, 苔光剝, 脈弦細數 등의 陰虛火旺 症狀과 出血不止, 心神不寧, 低熱乏力, 頭昏眼花, 苔薄質淡, 脈沈細 등의 氣血兩虛 症狀이 나타난다 8-9,11,14-18,47-48)

治療로는 薛⁷⁾는 內治로는 滋肝補氣하고 外治로는 藜蘆膏를 使用하였고 만약 刀鍼이나 灸, 썩히는 藥을 誤用하여 熱毒이 甚해지고 出血不止하면 반드시 寒熱, 嘔吐 등의 症狀이 나타나므로 大補脾胃해야 한다고 하였고, 王⁹⁾은 邪毒을 主된 原因으로 보고 食毒物로 殘한 경우는 通聖散類를 使用하고 毒勢가 消失되면 補氣血하는 八珍湯이나 十全大補湯類를 活用하였는데 氣毒이나 濕毒으로 筋骨疼痛하고 乍作乍止하는 경우는 먼저 消風敗毒한 후 補劑를, 瘡勢가 盛하고 結毒이 深하면 반드시 熏藥을 使用하였다. 李⁴⁾은 翻花瘡의 治療에 주로 中品錠子를 使用하였고, 陳⁸⁾은 冰蠶散과 珍珠散을 使用하여 惡肉을 壞死, 脫落시키는 外科的인 方法을 使用하였다. 張¹¹⁾은 사람들이 그 毒을 두려워하여 攻擊의이고 峻烈한 藥을 大量 使用하여 邪毒을 除去하기 전에 元氣가 먼저 損傷되므로 正能勝邪의 治療原則을 提示하면서 初期에는 清利시키고 後期에는 病的 輕重을 살펴 補元氣해야 한다고 하였다.

翻花瘡은 現代醫學의 扁平 上皮細胞癌으로 皮膚癌의 範疇에 屬하는데, 皮膚癌은 惡性腫瘍의 一種으로 基底細胞癌, 扁平 上皮細胞癌, 惡性黑色素腫, 惡性淋巴腫, 特發性出血性肉腫, 汗腺癌, 隆起性 皮膚纖維肉腫 등을 포함하며 基底細胞癌과 扁平 上皮細胞癌이 90% 정도를 차지한다. 皮膚癌은 老年層에 好發하는데 基底細胞癌은 40代 이상, 扁平 上皮細胞癌은 50代 이상에서 發生하며 男子가 女子에 比하여 2倍 정도 發病率이 높고 發生部位는 약 80% 정도가 頭, 面, 頸, 手背部 등 身體 暴露部位에 發生하는데 一般的으로 手掌과 脚底에는 發生하지 않는다 13-19)) 이 중 扁平 上皮細胞癌은 表皮 角質細胞

의 惡性 腫瘍으로 細胞의 角化傾向이 많고 주로 日光에 露出되는 皮膚 또는 粘膜에 好發하는데 正常的인 皮膚위에 突然히 나타나는 것은 적고 表皮의 慢性 營養障礙를 招來하는 先行 病變위에 發生하는 경우가 많다^{14-18,20-22)}

原因으로는 日光, X線 照射, 癌 전구증, 慢性 皮膚疾患, 慢性 刺戟, 化學物質, 免疫器具 異常, 遺傳의 因子, 人種 등이 있으며, 病理組織學的 所見으로는 表皮와 眞皮內에 扁平上皮 細胞와 類似한 癌細胞로 되어 있는 不規則한 모양의 細胞 巢를 形成한다. 癌細胞는 크기가 크고 다 각형이며 진하게 染色되는 큰 核을 가지고 있고 有絲分裂, 細胞의 個別 角化現狀 및 上皮性 巨大細胞를 볼 수 있다. 惡性度는 異形細胞가 많을 수록 높으며 I度は 잘 分化된 細胞數가 75%이상, II度は 50%이상, III度は 25%이상, IV度は 25%이하인 것으로 區別된다^{14,18,21-22)}.

症狀은 皮膚와 粘膜에 發生하며 日光에 의한 損傷, 角化症, 潰瘍 등이 先行된 部位에서 흔히 發生한다. 처음에는 경계가 뚜렷하고 둥근 사마귀 같은 紅褐色 또는 皮膚色の 단단한 結節을 形成하며 表面에 母細血管 擴張을 볼 수 있다. 그 結節은 수개월 내에 빨리 커지면서 下部組織까지 浸潤하며 中心部에 潰瘍을 形成한다. 潰瘍은 痂皮로 덮여있어 이것을 除去하면 噴火口와 같이 周邊部가 隆起되고 底面은 꽃 양배추 모양으로 增殖되며 膿汁 또는 粘液으로 덮여 있고 癌의 特有한 惡臭가 난다. 初期에는 腫瘍이 局所的으로 隆起되고 下部組織과 癒着이 없으나 차차 進行되면 陷沒되어 下部組織까지 侵犯하는 것이 보통이다^{14-19,21-22)}.

癌의 治療法으로는 外科의 手術療法, 放射線療法, 化學療法, 免疫療法 등이 있으며, 癌細胞가 原發臟器나 局所 淋巴節에만 局限되어 있는 1·2期 癌일 때에는 局所的 療法인 手術療法와 放射線療法을, 3·4期 癌일 경우 全身療法으로 化學療法와 免疫療法을 使用하고 있으나 手術療法은 轉移된 腫瘍의 治療가 어려운 限界點을 가지고 있으며 放射線 治療는 全身性 轉移 腫瘍의 경우에는 治療의 制限性이 있고 化學療法

은 化學製劑의 腫瘍에 대한 選擇性, 正常細胞에 대한 毒性作用이 問題點으로 指摘되고 있다²³⁻²⁵⁾. 이러한 問題點을 克服하기 위하여 副作用이 적은 새로운 抗癌劑의 開發과 韓藥과 抗癌劑를 併用 投與함으로써 化學藥物의 副作用이나 毒性作用을 減少시키고 放射線 治療時 發生하는 副作用을 輕減하고 人體의 免疫能力을 增進시키려는 많은 研究가 이루어지고 있다^{25-29,30-37)}.

많은 研究들중에서도 注目할 만한 것은 植物중에서 새로운 抗癌性이 있는 物質들이 많이 發見되고 있는 것이다. 장춘화(Vinca minor)에서 분리된 vinblastin, vincristin 및 주목나무에서 분리된 taxol 등은 代表的인 藥物이라 할 수 있다⁴⁹⁻⁵²⁾. 最近 癌에 使用되고 있는 抗癌劑의 副作用 때문에 새로운 抗癌劑의 開發을 위한 많은 노력들이 進行되고 있지만 아직까지 正常細胞에 對한 毒性이 적은 物質을 찾지 못하고 있다. 그 동안 抗癌劑 開發 方法들이 主로 細胞毒性이 強力한 物質을 찾는 것이었지만 最近에는 細胞毒性은 弱하지만 既存 抗癌劑와 併用하여 抗癌性을 增加시키고 副作用을 줄일 수 있는 物質을 찾기 위한 노력들을 進行하고 있으며⁵¹⁻⁶²⁾, 이 方法에 對한 많은 관심을 가지고 있다.

이러한 一連의 實驗들은 주로 수천년 동안 使用되어 온 韓方製劑들을 選擇하여 實驗하고 있는데, 癌 治療時 既存 抗癌劑와 併用處理하여 抗癌劑의 副作用인 白血球數 및 體重의 減少와 免疫能低下 등을 減少시킬 수 있고, 癌을 이식한 實驗動物의 生命을 延長시킬 수 있다는 報告가 있으며⁶³⁻⁶⁹⁾, 韓方製劑들 중 補益劑만을 單獨으로 癌 治療時에 使用할 경우 癌細胞의 增殖을 더욱 促進할 수 있다는 報告⁷⁰⁾ 등은 이러한 可能性을 더욱 確實하게 證明하고 있다고 할 수 있다.

常歸飲子是 宋代 嚴用和¹⁾의 <濟生方>에 처음 記載된 處方으로 “心血凝滯 內蘊風熱 發於皮膚 偏身瘡疥 或腫 或疥 或膿水浸 或發赤疹”과 “瘡疥, 風癩, 濕毒” 등의 病症을 治療한다고 하였다. 本方劑를 構成하는 個別藥物의 效能을

살펴보면 當歸는 肝心脾經에 作用하여 補血和 血 潤腸止痛 潤腸通便의 效能이 있고, 白芍藥은 肝脾經에 作用하여 養血斂陰 柔肝止痛 平抑肝 陽의 效能이 있으며, 生地黃은 心肝腎經에 作用 하여 清熱涼血 生津止渴의 效能이 있으며, 川芎은 肝膽經에 作用하여 活血行氣 祛風止痛의 效能이 있고, 何首烏는 肝腎經에 作用하여 能補肝 腎 解毒의 效能이 있으며, 薊芥는 肺肝經으로 作用하여 祛風解表 宣毒透疹의 效果가 있으며, 防風은 肺脾膀胱經에 作用하여 祛風解表 勝濕 解痺의 效果가 있으며, 黃耆는 脾肺經에 作用하여 補氣升陽 固表止汗 托毒排膿의 效果가 있으며, 白芍藥은 肝肺經에 作用하여 平肝柔肝 祛風 明目的 效能이 있으며, 甘草는 十二經에 作用하여 調和諸藥하는 效能⁷¹⁾이 있어서 熟地黃 대신 生地黃을 加한 四物湯에 瘡疥를 다스리는 藥材로 構成되어 있어 血虛, 血熱, 血燥로 인하여 오래도록 낫지 않는 皮膚搔痒症에 使用하였다²⁾. 그리고 本 處方에 解毒, 消腫, 止痛하여 癰腫疔瘡, 瘰癧, 咽喉腫痛 등을 治하는 蟾酥를 加함으로써 翻花瘡 같은 癰疽, 惡性疾患에 活用할 수 있을 것이라 생각된다.

本 論文에서는 當歸飲子加蟾酥로 人體 皮膚 癌細胞인 A431 細胞에 對한 細胞毒성을 觀察 하였으며, 當歸飲子加蟾酥(DESE)와 抗癌劑인 Mitomycin C 및 Cisplatin을 併用하여 處理하였을 때의 細胞毒성을 觀察하였고, 正常細胞에 對한 細胞毒성을 檢索하기 위하여 마우스의 纖維啞細胞(Balb/c 3T3), 마우스의 胸腺細胞 및 脾臟細胞에 미치는 細胞毒성을 觀察하였으며, 마우스 腹腔 Macrophage에 미치는 影響을 觀察하였다.

當歸飲子加蟾酥(DESE)의 人體 皮膚癌 細胞株인 A431 細胞에 對한 細胞毒성을 測定한 結果, 100 μg/ml의 濃度에서 약 12% 정도의 細胞毒성을 나타냈다. 그러나 癌細胞株에 對한 細胞毒성을 나타내는 物質들은 正常細胞에 대하여도 細胞毒성을 나타낼 수 있기 때문에, 正常細胞의 모델로 가장 흔히 使用되는 Balb/c 3T3 細胞株에 對한 細胞毒성을 觀察한 結果, DESE

自體는 Balb/c 3T3 細胞株에 對한 細胞毒성을 나타내지 않았다. 이는 當歸飲子加蟾酥가 皮膚癌細胞의 增殖을 약간 抑制하며, 正常細胞에 對해서는 細胞毒성을 나타내지 않는 바람직한 結果라 思料된다.

A431 細胞에 對해 기존 抗癌劑인 Mitomycin C 및 Cisplatin과의 併用處理를 實施하여 既存 抗癌劑의 作用을 增加시킬 수 있는 可能性을 檢討한 結果 DESE와 Mitomycin C 및 Cisplatin을 併用하였을 때, 抗癌劑 單獨 處理時보다 A431 細胞株에 對한 細胞毒성이 減少되었으며, Balb/c 3T3 細胞에 對해 Mitomycin C 및 Cisplatin과 併用處理한 結果 100 μg/ml의 濃度에서 抗癌劑 單獨 處理時보다 Balb/c 3T3 細胞株에 對한 細胞毒성이 增強되었다. 이러한 結果는 DESE와 抗癌劑인 MMC와 CPT를 併用 使用하는 것이 바람직하지 않다는 것을 의미하는 것이다.

一般的으로 抗癌劑들은 免疫細胞에 對한 副作用이 있는 것으로 알려져 있기 때문에 DESE가 마우스 胸腺 및 脾臟細胞에 미치는 細胞毒성을 測定함으로써 免疫細胞에 對한 副作用을 檢索한 結果, 100 μg/ml의 濃度에서 胸腺 및 脾臟細胞의 增殖이 抑制되었다. 이는 DESE가 免疫細胞에 細胞毒성을 나타낼 수 있음을 시사하는 것이다.

1987年 Hibbs⁷²⁾은 마우스에 BCG 接種 후, Macrophage를 分離하여 LPS를 添加하여 培養時 腫瘍細胞의 增殖이 抑制되고, 여기에 N-MMA를 加하면 抗癌作用이 없어진다고 하였다. 이것은 Macrophage가 産生하는 nitric oxide가 抗癌作用이 있다는 最初의 報告였으며, Isobe⁷³⁾은 Macrophage에 의해 生成된 nitric oxide는 mitochondria function 및 DNA synthesis를 抑制하여 多様な cytostatic 및 cytotoxic effect를 나타낸다고 報告하였다. Thomsen⁷⁴⁾은 BCG 處理 마우스 腹腔 Macrophage는 in vitro에서 抗癌劑인 flavo-8-acetic acid를 添加하여 培養하면 nitric oxide를 生成하고, in vivo 實驗에서도 colon38 固形

癌의 增殖을 抑制한다고 報告하였다.

이 報告들은 抗癌作用을 나타내는 韓藥材 中에도 癌細胞에 對한 直接的인 細胞毒性 보다는 生體에서 Macrophage를 活性化시켜 nitric oxide를 分泌하게 함으로서 抗癌作用을 하는 藥材들이 있을 수 있음을 시사하는 것이기에, Macrophage의 nitric oxide 生成에 對한 DESE의 作用을 觀察하였다. DESE를 Macrophage에 直接 處理한 in vitro系에서는 DESE가 100 μ g/ml의 濃度에서 Macrophage를 活性化하여 nitric oxide의 生成을 LPS와 vIFN을 處理한 群에 比해 약 46% 增加시켰으나, DESE를 經口投與하고 分離한 Macrophage에서는 nitric oxide 生成이 약 56% 抑制되었다. 이는 DESE가 生體內에서 nitric oxide synthetase의 生成을 抑制하여 nitric oxide 生成을 抑制하는 것이 아닌가 推定되나, Macrophage에서 分泌되는 cytokine의 種類가 多樣하기 때문에 자세한 것은 追後 더 研究되어야 할 것이다.

V. 結 論

當歸飲子加蟾酥(DESE)의 人體 皮膚癌 細胞株인 A431 및 마우스 纖維啞細胞주인 Balb/c 3T3 細胞에 對한 細胞毒性, 抗癌劑와 併用時의 細胞毒性, 마우스 胸腺 및 脾臟細胞에 對한 細胞毒性, 마우스 腹腔 Macrophage의 nitric oxide 生成에 對한 影響을 觀察한 結果, 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. DESE는 10 μ g/ml 以上の 濃度에서 皮膚癌 細胞株인 A431 細胞에 細胞毒性을 나타냈으며, 纖維啞細胞株인 Balb/c 3T3 細胞에는 細胞毒性을 나타내지 않았다.
2. DESE는 100 μ g/ml의 濃度에서 Mitomycin C 또는 Cisplatin과 併用處理時 A431 細胞에 對한 抗癌劑의 細胞毒性을 減少시켰으며, Balb/c 3T3

細胞에 對한 抗癌劑의 細胞毒性을 增加시켰다.

3. DESE는 100 μ g/ml의 濃度에서 마우스 胸腺 및 脾臟細胞에 細胞毒性을 나타내었다.
4. DESE는 100 μ g/ml의 濃度에서 마우스 腹腔 Macrophage의 nitric oxide의 生成을 促進하였으나, DESE를 經口投與하고 分離한 마우스 腹腔 Macrophage에서는 nitric oxide의 生成을 抑制하였다.

參 考 文 獻

1. 嚴用和：嚴氏濟生方, 北京, 人民衛生出版社, 卷二, p.19, 1980.
2. 具本泓：新漢方處方解說, 서울, 保健新報, pp.91-95, 1985.
3. 康泰換：漢方處方解說, 서울, 東亞出版社, p.245, 1967.
4. 李挺：醫學入門, 서울, 大坡文化社, pp.520-521, 1989.
5. 許浚：東醫寶鑑, 서울, 麗江出版社, pp.2125-2126, 1994.
6. 南京中醫學院 校釋：諸病源候論校釋, 北京, 人民衛生出版社, p.975, 1982.
7. 薛己：薛氏醫案, 서울, 麗江出版社, pp.128-129, 1992.
8. 陳實功：外科正宗, 人民衛生出版社, 北京, pp.224-225, 1983.
9. 王肯堂：證治準繩, 北京, 人民衛生出版社, pp.250-252, 1989.
10. 陳夢雷：醫部全錄, 北京, 人民衛生出版社, 卷374, p.351, 1985.
11. 張介賓：景岳全書, 上海, 上海科學技術出版社, pp.889-890, 1984.
12. 王燾：外臺秘要, 서울, 成輔社, p.789, 1975.
13. 趙信：聖濟總錄, 北京, 人民衛生出版社, pp.2223-2224, 1987.
14. 顧伯華：實用中醫外科學, 上海科學技術出版

- 社, 上海, pp.553-554, 1985.
15. 李連生, 白俊昆 : 皮膚竊鍼灸療法, 天津科學技術出版社, 天津, pp.418-420, 1993.
 16. 劉永生 : 治癌處方大全, 天津, 天津科學技術出版社, pp.331-333, 1994.
 17. 孟立春 : 抗癌中藥一千方, 北京, 中國醫藥科技出版社, pp.441-442, 1994.
 18. 李家庚, 屈松柏 : 中醫腫瘤防治大全, 北京, 科學技術文獻出版社, pp.185-194, 1994.
 19. 楊柱星, 林中昌, 譚紹珍 : 名醫治癌良方, 南寧, 廣西科學技術出版社, pp.218-225, 1993.
 20. 牛孺子 : 癌症治驗錄, 北京, 中醫古籍出版社, pp.235-238, 1994.
 21. 대한피부과학회 간행위원회 : 피부과학, 서울, 龍文閣, pp.277-279, 1992.
 22. 西山茂夫 : 圖解 皮膚科學, 서울, 第一醫學, p.223, 1991.
 23. 서울대학교 醫科大學 : 腫瘍學, 서울, 서울대학교출판부, pp.1-3, 91-95, p.126, 1990.
 24. 서울대학교 醫科大學 : 免疫學, 서울, 서울대학교출판부, pp. 1-2, 265-266, 271-272, 1991.
 25. 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.
 26. 襄元植 : 癌의 韓洋方併用治療에 대한 報告, 大韓韓醫學會, 7(2) : 53-57, 1986.
 27. 張代釗 : 中醫藥對腫瘤放射治療的 增敏減毒作用, 中國中西醫結合雜誌, 12(3):135-138, 1992.
 28. 孫華麗, 余桂清 : 中醫中藥配合放射治療癌症 概況, 中醫雜誌, 31(1):44-46, 1991.
 29. 王濟民, 王俊茹 : 中醫藥防治癌症的體會, 浙江中醫雜誌, 26(1):32-33, 1991.
 30. 金東佑 외 : 加減生肝湯을 投與한 肝癌患者에 關한 研究, 大韓韓醫學會誌, 12(2) : 233-249, 1991.
 31. 白承學 : 消積白朮散의 抗癌效果 및 Cisplatin 副作用에 미치는 影響, 大田, 大田大學校 大學院 碩士學位論文, 1991.
 32. 趙成基 : 消積白朮散의 抗癌·免疫增強效果 및 Cisplatin의 腎臟毒性抑制에 미치는 影響에 關한 研究, 大田, 大田大學校 大學院 博士學位論文, 1993.
 33. 朴太瑄 : 消積白朮散이 免疫細胞의 動態, 大食細胞의 走化性 및 附着性에 미치는 影響에 關한 研究, 大田, 大田大學校 大學院, 碩士學位論文, 1994.
 34. 梁緒賢 : 消積白朮散이 생쥐의 細網內皮系 遮斷 및 體液性 免疫抑制에 미치는 影響, 大田, 大田大學校 大學院 博士學位論文, 1994.
 35. 金在亨 : 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.
 36. 최인화 : 仙方活命飲의 抗癌 및 免疫反應에 關한 實驗的 研究, 서울, 慶熙大學校 大學院 碩士學位論文, 1992.
 37. 김한섭 : 四妙湯, 大柴胡湯 및 構成藥材들의 抗癌作用과 免疫反應에 關한 實驗的 研究, 서울, 慶熙大學校 大學院 博士學位論文, 1989.
 38. 盧石善 : 當歸飲子 水抽出液이 抗 Allergy 反應과 Mouse의 免疫細胞機能에 미치는 影響, 어리, 圓光大學校 大學院 博士學位論文, 1990.
 39. 金喜澤 : 清熱消毒散加蟾酥가 皮膚癌細胞(A431)에 미치는 影響, 大田, 大田大學校 大學院 碩士學位論文, 1995.
 40. 宋格鎬 : 仙方活命飲加蟾酥가 皮膚癌細胞(A431)에 미치는 影響, 大田, 大田大學校 大學院 碩士學位論文, 1995.
 41. 安貞瑯 : 蟾酥에 대한 考察, 大韓韓醫學會誌, 3(4) : 26-31, 1965.
 42. Mosmann, T.: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays. J. Immunol. methods. 65, 55-63, 1983.
 43. Kotnik, V. and Fleischmann, W.R.Jr.: A simple and rapid method to determine

- hematopoietic growth factor activity, *J. Immunol Methods*, 129, 23, 1990.
44. Wysocki, L.J. and Sato, V.L.: "Panning" for lymphocytes: A method for cell selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75, 2844, 1978.
 45. Mizel, S.B., Openheim, J.J. and Rosenstreich, D.L.: Characterization of lymphocyte-activating factor(LAF) produced by the macrophage cell line, P 388D₁. *J. Immunol.* 120, 1497, 1979.
 46. Rockett, K.A., Auburn, M.M., Cowden, W.B. and Clark, I.A.: Killing of *Plasmodium faciparum* in vitro by nitric oxide derivatives. *Infect. Immunity*, 59(9), 3280, 1991.
 47. 朴炳昆: 漢方臨床四十年, 서울, 大光文化社, pp.463-465, 1979.
 48. 謝觀: 中國醫學大辭典, 臺北, 臺灣商務印書館, p.4369, 中華民國 70年.
 49. Perdue R.E.: KB cell culture. Role in discovery of antitumor agent from higher plants. *J. Nat. Prod.* 45, 418, 1982.
 50. Hersh, E.M. and Ereish, E.J.: Host defence mechanisms and their modification by cancer chemotherapy. In *methods in Cancer Research*, New York Academic Press. 335, 1986.
 51. Xu B.: The influence of several anticancer agents on cell proliferation, differentiation and the cell cycle of murin erythroleukemia cells. *Am. J. Chin. Med.(U.S.A.)* 9(4), 268, 1981.
 52. Ito, N. and Shimura, K.: Studies on antitumor activity of traditional Chinese medicines. *Japan J. Cancer Chemother.* 12, 2149, 1985.
 53. J.S. Eun, H.J. Cho and J.H. Yang: Cytotoxicity of reaction-precipitate from *Coptidis Rhizoma* and *Glycyrrhizae Radix* aqueous mixture. *Kor.J. Pharmacogn.*, 25(3), 356, 1994.
 54. J.S. Eun and W.Y. Song: The combined effect of n-BuOH fraction of *Ulm*i cortex and anticancer drugs on cancer cell lines. *Kor. J. Pharmacogn.*, 25(2), 144, 1994.
 55. J.S. Eun: Studies on the combined preparation of crude drugs on the adverse effects of anticancer agent-Mitomycin C. *Kor. J. Pharmacogn.*, 23 (4), 248, 1992.
 56. Iwao, U. and Kanki, K.: Potentiation of the chemotherapeutic activity of antineoplastic agents by Juzen-Taiho-To. *Recent Advances in the Pharmacology of Kampo Medicine.* p.320, 1988.
 57. 安文生: 抗癌劑 Mitomycin C와 數種 補益劑의 併用投與 效果에 관한 研究, 이리, 圓光大學校 大學院 博士學位論文 (1991).
 58. Oldham, R.K.: Biological Response Modifiers. *J. Natl. Cancer Inst.*, 70, 789, 1983.
 59. 鄭鎮鴻: 蓬莪茂丸 煎湯液과 抗癌劑의 併用投與時 子宮癌細胞에 미치는 效果, 大田, 大田大學校 大學院 博士學位論文 (1992).
 60. 沈龍燮: 子宮癌細胞에 미치는 穿山甲散煎湯液과 抗癌劑의 併用投與 效果, 大田, 大田大學校 大學院 博士學位論文 (1993).
 61. 金龍基: 牡丹散 煎湯液과 抗癌劑 併用時 女性癌細胞에 미치는 影響, 大田, 大田大學校 大學院 博士學位論文 (1995).
 62. 李學喆: 東風菜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).
 63. Komiyama, K., Hirokawa, Y. and Yang, Z.B.: Potentiation of chemotherapeutic activity by a Chinese herb medicine Juzen-Tai-Ho-Toh. *Japan J. Cancer Chemother.* 15, 1715, 1988.
 64. Masaki Aburada: Protective effects of Juzen-Taiho-Toh against adverse reacti-

- ons associated with mitomycin C. Recent Advances in the pharmacology of Kampo Medicine. 275, 1988.
65. Hitoshi Ito and Keishiro Shimura: Anti-tumor effects of Juzen-taiho-to and other Kampo Medicines. Recent Advances in the pharmacology of Kampo Medicine. 281, 1988.
 66. Ruriko H., Hideyuki O., Ritsuko H., Song Ja H., Ai Min L., Shigeki N., Nobuko S., Akiko S. and Katsuyuki H.: Antitumor activity of combination therapy with Kampo prescriptions and anticancer agents. Recent Advances in the pharmacology of Kampo Medicine. 304, 1988.
 67. Iwao U. and Kanki K.: Potentiation of the chemotherapeutic activity of anti-neoplastic agents by Juzen-taiho-to. Recent Advances in the pharmacology of Kampo Medicine. 320, 1988.
 68. Osamu T., Yuichi F., Masaki A. and Eikichi H.: Protective effects of Juzen-taiho-to against the adverse effects of some antitumor agents. Recent Advances in the pharmacology of Kampo Medicine. 353, 1988.
 69. Makoto H., Yumiko M., Shohei H., Shoji S., Yihchi T. and Nobuo Y.: Effect of Juzentaihoto on various immune responses in tumor bearing mice. Recent Advances in the pharmacology of Kampo Medicine. 328, 1988.
 70. Ahn, M.S., Kim, S.G., Eun, J.S., Lim, J.P., Yum, J.Y., Suh, E.S. Oh, C.H. and So, J.N.: Kor. J. Pharmacogn. 23(3), 1992.
 71. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 南山堂, pp.169-170, 175-177, 219-221, 297-298, 521-523, p.659, 1986.
 72. Isobe, K. and Nakashima, I.: Abundant production of nitric oxide from murine macrophages by directed stimulation of tumor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 192(2), 499, 1993.
 73. Hibbs, J.B., Taintor, R.R. and Vavrin, Z.: Macrophage cytotoxicity role for L-arginine deaminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science*, 235, 473, 1987.
 74. Thomsen, L.L., Ching, L.M. and Baguley, B.C.: Evidence for the production of nitric oxide by activated macrophages treated with the antitumor agents flavone-8-acetic acid and xanthenone-4 acetic acid. *Cancer Res.* 51, 6073-6078, 1991.

ABSTRACT

Cytotoxicity of water extract of Dangkwicumja ka Sumsoo on A431 cells

The purpose of this research was to investigate effect of water extract of Dang Kwi-Eum-Ja ka Sumsoo(DESE) on the cytotoxicity of human epidermoid cell, A431 cells.

The effects of DESE on the proliferation of A431 cells, Balb/c 3T3 cells, mouse thymocytes and splenocytes were estimated by MTT colorimetric assay, and nitric oxide production from mouse peritoneal macrophage was estimated by Griess method.

DESE inhibited the proliferation of A431 cells at 10 μ g/ml, and did not affect the proliferation of Balb/c 3T3 cells. DESE decreased the cytotoxicity of mitomycin C or cisplatin on A431 cells, increased the cytotoxicity of mitomycin C or cisplatin on Balb/c 3T3 cells. DESE inhibited the proliferation of mouse thymocytes and splenocytes at 100 μ g/ml. DESE did not affect the nitric oxide production from mouse peritoneal macrophage in vitro, but decreased the nitric oxide production from DESE-treated mouse peritoneal macrophage.