

蔘茸扶正湯의 放射線 照射로 損傷된 組織 恢復 및 造血促進 效果

Hemopoietic and Radioprotective Effects of Shenrong Fuzheng Tang(S.F.T.;蔘茸扶正湯)

金正洙 · 崔昇勳 · 安圭錫
慶熙大學校 韓醫科大學 病理學教室

ABSTRACT

Radiotherapy is an irreplaceable method of cancer treatment. But it has several side effects, especially damages to the hemopoietic and Immune system. Therefore radioprotectors are required to treat cancer successfully. A lot of Herbs and Herbal prescriptions are reported to have radioprotective effects. Above all, those to support the healthy energy and strengthen the body resistance are found more effective.

This study was performed to evaluate the radioprotective effects of prescription Shenrong Fuzheng Tang(S.F.T.), which consists of 16 kinds of herbs.

We investigated proliferation of murine splenocytes, secretion of colony-stimulating-factors(CSFs), immunocompetence after irradiation in-vitro, and Endogenous spleen colony assay, survival assay in-vivo.

When splenocytes were cultured with Shenrong Fuzheng Tang(S.F.T.)(500 μ g/ml), proliferation was enhanced 5.7 times compared to control cultured with medium alone($P<0.05$) and, showed highest proliferation at 4th day after incubation. In order to evaluate stimulation of hemopoiesis of Shenrong Fuzheng Tang(S.F.T.),the supernatant of splenocytes cultured with optimal concentration of Shenrong Fuzheng Tang(S.F.T.) was used to measure CSFs secretion. The result showed enhanced secretion of colony-stimulating-factors (CSFs) compared to control($P<0.05$). To evaluate the protective effect of lymphocytes from irradiation, proliferation of splenocytes stimulated by LPS and ConA after incubation with Shenrong Fuzheng Tang(S.F.T.) for 24h Prior to Irradiation(1~3 Gy) was measured. The results showed higher proliferation of Shenrong Fuzheng Tang(S.F.T.) treated cells than that of non-treated cells. And percentage increases of irradiated splenocytes per non-irradiated splenocytes were also higher in Shenrong Fuzheng Tang (S.F.T.)-treated cells than control.

Endogenous spleen colony assay, to evaluate the protection of hemopoietic cells from irradiation,

showed increased number of colonies($p=0.03$) in Shenrong Fuzheng Tang(S.F.T.) treated murine spleen(10.3 ± 1.9) compared to non-treated murine spleen(3.4 ± 0.8).

Survival time of mice irradiated with lethal dose of γ -ray(9Gy) was prolonged in Shenrong Fuzheng Tang(S.F.T.) treated group prior to irradiation as compared to non-treated group.

According to these results we can suggest that prescription Shenrong Fuzheng Tang(S.F.T.) has radioprotective effects and can be used to protect the hemopoietic and immune system from damages of anti-cancer radiotherapy.

Key Words : Shenrong Fuzheng Tang(參茸扶正湯), cancer treatment, hemopoietic system, Immune system, radioprotectors

국문 요약

현재 서양의학에서 활용되고 있는 항암 요법으로는 外科處置, 化學療法, 放射線療法 및 免疫療法 등이 있으며, 그 중에서도 抗癌劑에 의한 화학요법과 방사선요법이 가장 많이 응용되고 있다. 그런데 이들은 癌細胞뿐만 아니라 正常細胞까지도 殺傷함으로써 腫瘍細胞를 억제하는 동시에 骨髓造血器, 消化系統 및 免疫機能을 포함하는 인체의 정상적인 기능을 손상시키는 문제점으로 그 사용에 제한을 받고 있다. 따라서, 본 연구는 參茸扶正湯의 항암요법으로 손상된 조직의 회복 및 조혈촉진 효과를 규명하기 위해 생쥐를 대상으로 하여 실험하였다. 그 결과, 생쥐 비장세포에 대한 增殖效果, 造血促進因子的 分泌能, 방사선에 대한 임파구의 防禦效果, 방사선에 대한 조혈세포 防禦效果, 방사선(9Gy)을 조사받은 생쥐의 生存率 등에서 유의성있는 결과를 얻어내어 아래와 같이 보고하는 바이다.

찾아보기날말 : 參茸扶正湯, 항암 치료, 조혈계통, 면역계통, 방사선 방어제

I. 緒 論

의학의 발전은 한때 不治病으로 인정되었던 많은 질병들을 퇴치하게 하였지만, 아직도 完治되지 않는 많은 難治病들이 존재한다. 특히 癌은 최근 50년간 급격히 增加하여 국내의 경우는 물론 세계적으로도 가장 중요한 死亡 원인 중의 하나가 되고 있다^{6,19)}.

현재 서양의학에서 활용되고 있는 항암 요법으로는 外科處置, 化學療法, 放射線療法 및 免

疫療法 등이 있으며^{6,10)}, 그 중에서도 抗癌劑에 의한 화학요법과 방사선요법이 가장 많이 응용되고 있다. 이들은 癌細胞뿐만 아니라 正常細胞까지도 殺傷함으로써 腫瘍細胞를 억제하는 동시에 骨髓造血器, 消化系統 및 免疫機能을 포함하는 인체의 정상적인 기능을 손상시키는 문제점^{5,10,14)}으로 말미암아 사용에 제한을 받고 있다. 따라서, 효과적인 암치료를 위해서는 기존의 항암요법의 부작용에 대한 해결이 필요한 것이다⁴³⁾.

오래 전부터 방사선 및 화학요법의 부작용을 억제할 수 있는 물질을 개발하여 왔으나 개발된 약물들 중에는 또 다른 부작용을 유발하는 경우가 많기 때문에 이들을 대체할 수 있는 보다 효과적인 물질에 대한 연구가 진행되고 있다.⁵⁸⁾

한편, 한의학에서는 종양을 積聚, 癰疽, 癥瘕, 疝癰, 癭瘤 등의 病症과 관련시키고 있으며^{29,1,27)}, 주로 氣血阻滯, 血瘀, 痰飲, 濕熱 등에 의해서 발생하는 것으로 보고 있다.^{1,27,25, 29,30)}

또한, 癌의 證型을 대체적으로 肝鬱氣滯型, 氣滯血瘀型, 脾虛痰濕型, 陰虛內熱型 등으로 분류하고 있는데, 그 치료법으로 舒肝理氣 降逆止嘔, 活血化痰 理氣化結, 健脾燥濕 化痰散結, 養陰清熱 生津化痰 등의 治法을 사용하고 있다.^{29,30)}

최근에는 이러한 직접적인 종양치료에 관한 연구와 함께 항암요법의 부작용을 輕減시키고 환자의 抗癌免疫機能을 강화시키는 東西醫學 結合治療 方面으로 활발한 연구가 진행되고 있다.²⁹⁾ 항암요법 부작용을 치료하기 위한 처방으로는, 四君子湯, 十全大補湯, 六味地黃湯 등과 같은 기존 처방을 비롯하여 扶正增效方, 健脾益腎方 등과 같이 새로 창안된 처방들이 연구되고 있다.^{42,43)} 임상적 연구로 徐³⁸⁾는 降逆湯이, 吳³⁹⁾는 參射湯이, 金³⁷⁾은 防毒湯이 유효하다고 보고하였으며, 또 실험적 연구로서 李³⁴⁾은 補中益氣湯이, 浙江中醫學院⁴⁴⁾은 十全大補湯이, 白¹⁷⁾은 消積白朮散이 유효한 것으로 보고한 바 있다.

이상과 같은 항암요법 및 그 부작용 효능이 인정된 처방들은 대부분 補氣健脾, 滋補肝腎 위주의 扶正培本法을 중심으로 하여 구성되어 있다.¹⁶⁾

麥茸扶正湯은 中國의 臨牀腫瘤綜合治療大

술의 처방을 바탕으로 補氣健脾의 太子參, 白朮, 山藥, 黃芪, 茯苓, 木香, 陳皮, 甘草, 大棗 등과 滋補肝腎의 熟地黃, 山茱萸, 當歸, 鹿茸, 阿膠, 女貞子, 枸杞子로 구성되었으며, 항암요법의 부작용에 따른 脾胃氣虛, 肝腎의 陰血損傷에 대한 예방과 치료를 목표로 하고 있다.

본 연구는 麥茸扶正湯의 항암요법으로 손상된 조직의 회복 및 조혈촉진효과를 규명하기 위해 생쥐를 대상으로 하여 실험하였다.

부작용 유발을 위한 抗癌療法으로는 放射線을 선택하였고, 처방의 效能評價 項目으로는 조혈촉진효과에 대해서 造血促進因子 分泌能을, 방사선 방어효과에 대해서는 B, T림파구의 免疫適格性을 측정하였으며, 體內 실험으로 endogenous spleen colony assay와 生存率을 관찰한 바 유의성 있는 결과들을 얻었으므로 이에 보고하는 바이다.

Ⅱ. 實 驗

1. 材 料

1) 動 物

8-10주령의 BALB/C 생쥐를 원자력 병원 실험동물 관리실에서 사육하여 사용하였다. 사육실의 온도는 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도는 55-60%로 유지하고, 12시간 단위의 명암주기의 환경에서 고형 사료와 물을 자유로이 공급하여 사육하였다.

2) 藥 材

실험에 사용한 처방은 太子參, 白朮, 熟地黃, 山藥, 黃芪, 山茱萸, 茯苓, 當歸, 鹿茸, 阿膠, 木香, 陳皮, 甘草, 女貞子, 枸杞子, 大棗로 구성되며, 각 약재를 절편 분쇄하여 사용하였다.

藥材名	生藥名	學名
太子參	Radix Pseudostellariae	(<i>Pseudostellaria heterophylla</i> (Miq.) Pax ex pax et hoffm)
白朮	Atractylodis Macrocephalae Rhizoma	(<i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz)
熟地黃	Rehmanniae Radix Preparat	(<i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch)
山藥	Dioscorae Radix	(<i>Dioscorea japonica</i>)
黃芪	Astragali Radix	(<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge)
山茱萸	Corni Fructus	(<i>Cornus officinalis</i> Sieb et Zucc)
白茯苓	Hoelen	(<i>Poris cocos</i>)
當歸	Angelicae Gigantis Radix	(<i>Angelica sinensis</i> (Oliv) Kiels)
鹿茸	Cervi Pantotrichum Cornu	(<i>Cervus elaphus</i> L)
阿膠	Gelatina Nigra	(<i>Bos taurus</i> Linne)
木香	Helenii Radix	(<i>Inula helenium</i> L)
陳皮	Citri Pericarpium	(<i>Citrus unshiu</i> Markovich)
甘草	Glycyrrhizae Radix	(<i>Glycyrrhiza uralensis</i>)
女貞子	Ligustri Lucidi Fructus	(<i>Ligustrum lucidum</i> Ait)
枸杞子	Lycii Fructus	(<i>Lycium chinense</i> Mill)
大棗	Zizyphi inermis Fructus	(<i>Zizyphus jujuba</i>)

2. 방 법

1) 藥材의 製造

10첩 분량인 太子參 200g, 白朮 120g, 熟地黃 120g, 山藥 150g, 黃芪 300g, 山茱萸 100g, 茯苓 120g, 當歸 100g, 鹿茸 120g, 阿膠 100g, 木香 40g, 陳皮 120g, 甘草 60g, 女貞子 150g, 枸杞子 150g, 大棗 50개를 3개의 round flask에 나누어 넣고, 증류수 1 l 에 넣어 2시간 30분간 전탕하여 얻은 추출액을 4겹의 거즈로 여과 시켰다. 그 여과액을 동결건조하여 분말 엑기스로 만들었다. 체내 실험에서는 분말엑기스를 증류수에 적정농도로 용해시켜 사용하였고, 체외 실험에

서는 적정량의 분말 엑기스를 세포 배양액에 용해시킨 다음, 0.450 m 공극의 필터(Milifor)로 여과하여 사용하였다.

2) 배지의 조제

(1) RPMI 1640 (GIBCO, Grand Island NY, USA)에 Sodium Bicarbonate 2g, 2-mercaptoethanol($5.5 \times 10^{-2}M$) 1 ml, L-Glutamine(200mM) 10 ml, Sodium Pyruvate (100mM) 10 ml, Non-essential amino acid(10mM) 10 ml, Penicillin-Streptomycin solution 5ml(이상 모두 GIBCO)을 첨가하여 3차 증류수 1 l 에 30분간 혼합한 후 여과하고, 5%-10%의 fetal bovine serum (Hyclone, Utah, USA)을 첨가하여 사용하였다.

(2) McCoy's 5A 배지에 Sodium Bicarbonate 2g, L-Glutamine(200mM) 10 ml, Sodium Pyruvate (100mM) 10 ml, serine 2.1%(이상 모두 GIBCO)를 첨가하여 3차 증류수 1 l 에 30분간 혼합하여 여과하고, 10% fetal bovine serum과 5%의 horse serum(Hyclone, Utah, USA)을 첨가하여 사용하였다.

3) 생쥐 비장세포 부유액 제조

BALB/C 생쥐를 CO₂ 가스에서 사망시킨 다음, 75% 에탄올로 멸균하고 무균벤치에서 복부를 절개하여 비장을 적출하였다. 패트리디쉬에 적정량의 HBSS(Hank's balanced salt solution)를 넣고 적출한 비장을 1 ml 주사기 뒷부분으로 세분하여 부유시켰다. 세포 부유액을 6겹의 거즈를 통과시켜 잡질을 제거하고, 50 ml 원심분리용 시험관(Falcon, LA, USA)에 옮겨 1400rpm에서 7분간 원심분리하였다. 침전된 세포를 제외한 나머지 상등액을 버리고, 0.5 ml의 FBS (Fetal Bovine Serum)와 4.5 ml의 ACK buffer(tris-buffered ammonium chloride)를 가하여 세포를 부유시키고 얼음에 30초간 방치하여 적혈구를

파괴한 후 30ml의 HBSS를 가하여 1400rpm에서 7분간 원심분리하여 세척하였다. 같은 방법으로 2회 더 세척하였다. 침전된 세포를 적당량의 조제한 RPMI 1640 배지를 넣어 재 부유시키고, 일정량을 취하여 Trypan Blue로 희석하여 염색한 다음, 현미경에서 Haemocytometer로 세포 수를 세고, 2×10^6 cells/ml이 되도록 배지로 희석하였다.

4) 생쥐 골수세포 부유액 제조

비장세포에서와 같은 방법으로 사망시킨 생쥐의 하지를 절개한 다음 대퇴골과 경골을 각 관절부위에서 절단하였다. 준비된 HBSS를 5ml의 주사기에 담아 주사기 바늘을 절단된 뼈의 내부로 삽입하여 골수내의 세포들을 씻어 내어 얼음에 꽂아 둔 50ml 시험관에 받았다. 하지의 모든 골수세포를 수집한 다음 시험관을 1400rpm에서 7분간 원심분리한 다음, 침전된 세포를 제외한 나머지 상등액을 버리고, 이하 비장세포에서와 같은 방법으로 하여 2×10^6 cells/ml이 되도록 세포 부유액을 준비하였다.

5) 비장세포의 증식능 실험

준비된 비장세포를 각각 96-well flat bottomed microplate(Falcon, Becton, Dickinson, New Jersey, USA)에 $100 \mu\text{l}$ (2×10^5 cells/well)씩 2배수(duplicate)로 분주하였다. 준비된 蔘茸扶正湯을 농도별로 첨가하여 37°C, 5%CO₂ 배양기에서 2일간 배양하였고, 그 결과로 생긴 최적농도에서 1-5일간 배양하였다. 배양후 2 ci/ml의 3[H]-Thymidine(NEN, Boston, MA, USA)을 가하여 4시간 더 배양한 다음 cell harvester(Flow lab, NOHI, USA)를 사용하여 glass fiber filter strip에 세포를 수집하였다. 건조시킨 glass fiber filter strip을 counter tube에 담고, scintillation cocktail(Luma Gel, Landgraaf, Netherland)을 3ml

씩 넣어 β -counter(Packard, Tri-carb 4530, USA)로 3[H]-Thymidine 포합정도를 측정하였다.

6) 방사선 조사

방사선은 60Co γ -ray를 사용하였다. 적정수의 세포를 배지에 부유시켜 cell culture tube에 일정량을 분주하고, 0.5cm 높이로 편평하게 유지하여 depth 0.5cm, 127.7cGy/min으로 1~3Gy의 60Co γ -rays를 조사하였다. 조사선량은 Capintec PR-06C farmer type Chamber와 Capintec 192 electrometer(Capintec, USA)로 측정되었다.

7) 비장 세포의 造血促進因子 分泌能 實驗

(1) 비장 세포 배양 상등액 준비

비장세포를 2×10^6 cells/ml로 조정 한 다음, 24well-plate(Costar, USA)에 1ml씩 넣고, 적정농도의 한약추출액을 1ml 넣어 37°C, 5%CO₂ 배양기에서 2일간 배양하였다. 배양된 세포와 배양액을 15ml의 원심분리용 시험관에 담아 3000rpm에서 10분간 원심분리한 다음, 상등액을 다른 시험관으로 옮겨 실험에 사용할 때까지 -20°C 냉동고에 보관하였다.

(2) hard agar(under layer)의 준비

1.2g의 agar를 100ml의 3차 증류수와 혼합(1.2%)하고 고온 멸균이 가능한 시험병에 담아 132°C에서 15분간 멸균한 다음, 40°C의 수조에 넣어 온도를 유지시켰다. 2배의 농도로 만든 조제된 McCoy' 5A 배지에 적당량(20% v/v)의 비장세포 배양 상등액을 혼합하고, 40°C의 수조에 넣어 15분 정도 방치하여 온도를 유지시킨 다음 agar용액과 1:1로 혼합하고(0.6%) 24 well-plate에 500 μl 씩 분주하여 실온에 방치하여 굳게 만든 다음 밀봉하여 사용때까지 4°C에 보관하였다.

(3) soft agar (upper layer)의 준비
0.66g의 agar를 100ml의 3차증류수와 혼합(0.66%)하고, hard agar에서와 같이 준비하였다. 조정된 RPMI 1640 배지를 2배 농도로 만든 것을 40℃의 수조에 넣어 온도를 유지시켰다. 배지와 agar를 1:1로 혼합하였다(0.33%). 생쥐 골수세포를 위에서 기술한 방법으로 채취한 다음, 적정수의 침전시킨 골수세포를 소량의 배지에 다시 현탁시킨 후 agar배지를 가하여 5×10^5 cells/ml이 되게 하였다. 이 세포 혼합액을 재빨리 준비된 hard agar배지 위에 200 μ 씩 분주하고(1×10^5 cells/well), 실온에 방치하여 agar가 굳은 후 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 14일간 배양하였다.

(4) 세포군체의 측정

14일간 배양시킨 골수세포를 현미경 상에서 관찰하여, 50개 이상의 세포로 구성된 colony의 수를 측정하였다.

8) 비장세포의 免疫適格性 實驗

(1) 비장 세포배양 및 방사선 조사

비장세포를 2×10^6 cells/ml로 24well-plate에 1ml 분주하고 적정농도의 한약액 1ml을 첨가하여, 37℃, 5%CO₂ 배양기에서 1일간 배양하였다. 1-3Gy의 방사선을 조사하고 세척한 후 2ml의 배지에 다시 현탁시켜 두었다.

(2) 증식능 측정

비장세포 현탁액을 96well-plate에 100 μ 씩 3배수(triplicate)로 분주하고, Concanavalin A(ConA) 2.5 μ g/ml와 Lipopolysaccharide(LPS) 20 μ g/ml (모두 Sigma, USA)를 100 μ 씩 첨가하였다. 37℃, 5%CO₂ 배양기에서 1-2일간 배양하고, 2 ci/ml의 ³[H]-Thymidine을 가하여 4시간 더 배양한 다음 그 포함정도를 측정하였다.

9) endogenous spleen colony assay

생쥐 10마리를 한 군으로 하여, 대조군과 실험군으로 구분하고 실험군은 30mg의 분말액기스를 0.2ml의 용액으로 만들어 7일간 1일 1회 경구투여 하였고, 대조군은 동량의 생리식염수를 투여하였다. 7일째 9Gy의 방사선을 조사한 뒤, 다시 10일간 같은 방법으로 투약한 후 생쥐를 경추탈골법으로 사망시킨 뒤 복부를 절개하여 비장을 적출하고 Bouin's solution에 넣어 24시간 고정한 후 시각적으로 관찰가능한 colony의 수를 측정하였다.

10) 生存率 測定

생쥐 10마리를 한 군으로 하여, 실험군은 30mg의 분말액기스를 0.2ml의 용액으로 만들어 7일간 1일 1회 경구투여 하였고, 대조군은 동량의 생리식염수를 투여하였다. 7일째 9Gy의 방사선을 조사한 뒤, 10일간 같은 방법으로 투약하고 방사선 조사후 30일 까지 매일 사망하는 생쥐의 수를 측정하였다.

11) 통계처리

결과자료들은 Student's t-test에 의하여 통계처리하였고, P<0.05 수준인 경우 유의성 있는 것으로 간주하였다.

III. 實驗成績

1. 농도별 脾臟細胞 增殖能

蔘茸扶正湯의 비장세포 증식촉진효과를 알아보기 위하여 농도별로 2일간 비장세포를 배양하여 증식능을 측정한 결과 Table 1과 Fig 1에서 보는 바와 같은 결과를 얻었다. 최고의 증

식능을 보인 농도(이하 최적농도)는 500 $\mu\text{g/ml}$ 였으며, 대조군에 비해 5.7배의 유의성 있는 증가를 보였다($p < 0.05$).

蔘茸扶正湯의 최적농도는 이 후의 조혈촉진

인자 분비능 실험과 면역적격성 실험의 蔘茸扶正湯 농도로 하였다.

2. 시간별 脾臟細胞 增殖能

배양시간에 따른 증식능의 변화를 관찰하기 위하여, 비장세포를 蔘茸扶正湯의 최적 농도로 1일부터 5일까지 배양하면서 증식능을 측정하여, Table 2와 Fig 2에서와 같은 결과를 얻었다.

蔘茸扶正湯은 배양 4일까지 증가된 증식을 보이다가($p < 0.05$) 5일에는 감소하였다.

3. 造血促進因子 分泌能

蔘茸扶正湯이 비장세포로 하여금 조혈촉진 인자의 분비를 유도하는지 여부를 알아보기 위하여 최적 농도의 蔘茸扶正湯으로 비장세포를 2일간 배양한 후 그 상등액을 취하여 조혈촉진 인자의 함량을 측정한 결과 Fig 3과 같은 결과를 얻었다.

Table 1. Proliferation of Splenocytes in Response to Sample of Different Concentration

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	[^3H]-Thymidin uptake(cpm)	Stimulation Indexa)
Control	-	4,799	1.0
Sample	7	7,848*	1.6
	15	9,919	2.1
	31	11,993*	2.5
	62	15,199**	3.2
	125	18,446*	3.8
	250	22,393**	4.7
	500	27,190*	5.7
	1000	19,561*	4.0

a) : Stimulation Index = cpm of sample / cpm of control,

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, Control : Medium, Sample : Prescription Shenrong Fuzheng Tang

Control : Group cultured with medium alone.

Sample : Group cultured with Shenrong Fuzheng Tang of different concentration.

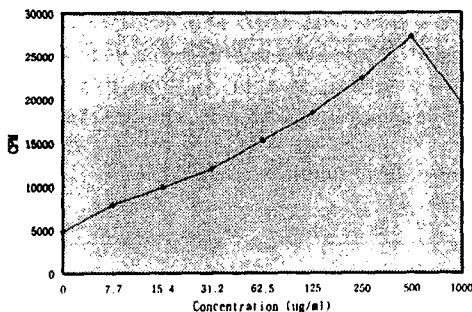


Fig 1. Proliferation of splenocytes in response to sample of different concentration

Table 2. Proliferation of Splenocytes in Response to Shenrong Fuzheng Tang at Different Culture Time

culture time	[^3H]-Thymidine uptake (cpm)		
	Control	ConA	Sample
1 day	875	26,792	920
2 day	1,392	215,756*	7,680*
3 day	3,306	264,327*	14,884*
4 day	5,659	58,062*	31,200*
5 day	6,327	-	30,898-

* : $p < 0.05$, - : Not Tested

Control : Group cultured with medium alone.

ConA : Group cultured with concanavalin A 2.5 $\mu\text{g/ml}$.

Sample : Group cultured with Shenrong Fuzheng Tang 500 $\mu\text{g/ml}$.

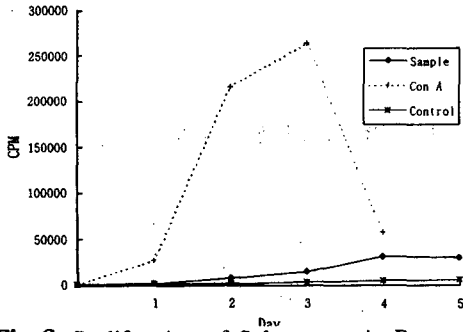


Fig 2. Proliferation of Splenocytes in Response to Sample at Different Culture Time

Control : Group cultured with medium alone.

ConA: Group cultured with concanavalin A 2.5 $\mu\text{g/ml}$.

Sample : Group cultured with Shenrong Fuzheng Tang 500 $\mu\text{g/ml}$.

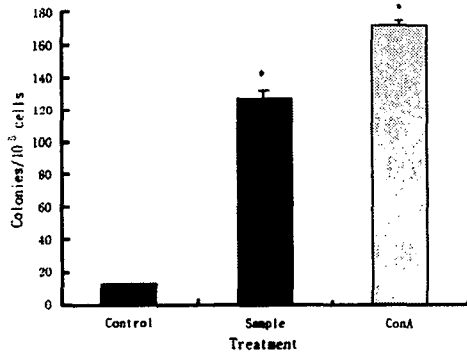


Fig 3. CSF Secretion of Splenocytes in Response to Sample

* : $p < 0.05$

Control : Group cultured with supernatant of splenocytes pre-cultured with medium alone.

ConA : Group cultured with supernatant of splenocytes pre-cultured with concanavalin A 2.5 $\mu\text{g/ml}$.

Sample : Group cultured with supernatant of splenocytes pre-cultured with Shenrong Fuzheng Tang 500 $\mu\text{g/ml}$.

蔘茸扶正湯의 조혈촉진인자 분비능은 ConA의 13.7배 보다는 낮았으나, 대조군에 비하여 10.1배의 유의성 있는 증가가 인정되었다. ($P < 0.05$)

4. 放射線 照射後의 免疫適格性

방사선을 조사 후 임파구 손상에 대한 蔘茸扶正湯의 방어효과를 알아보기 위하여, 비장세포를 최적 농도로 1일간 배양한 다음, 1~3Gy의 ^{60}Co γ -ray를 조사하고, B임파구 분화유도제인 LPS(20 $\mu\text{g/ml}$)와 T임파구 분화유도제인 ConA(2.5 $\mu\text{g/ml}$)로 다시 1일간 배양하여 각 임파구의 증식반응을 관찰하였다(Fig 4, Fig 5)

1) LPS자극후 B 임파구의 增殖反應

방사선 조사후 LPS로 자극했을 때, Fig 4에서와 같이 蔘茸扶正湯군의 cpm은 대조군의 cpm에 비하여 증가된 값을 보였는데, 3Gy에서 대조군에 비해 3.5배의 유의성 있는 증가가 인정되었다($p < 0.05$).

蔘茸扶正湯이 방사선 조사로 인한 임파구의 손상을 얼마나 방어하였는가를 알아보기 위하여, 대조군과 실험군 각각에서 방사선을 조사하지 않은 경우의 cpm에 대한 방사선을 조사한 경우의 cpm 백분율(percentage increase)²⁾을 계산하였다(Table 3). 蔘茸扶正湯으로 미리 배양한 실험군은 蔘茸扶正湯으로 배양하지 않은 대조군에 비하여 증가된 백분율을 보였으며 ($p < 0.05$), 대조군 백분율에 대한 증가비(enhancement ratio)²⁾는 1.4이었다.

1) Percentage Increase = (cpm of irradiation group/ cpm of non-irradiation group of The Sample group) \times 100

2) enhancement ratio = Percentage Increase of Sample / Percentage Increase of Control

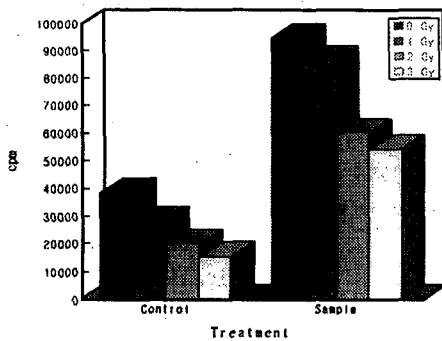


Fig 4. Proliferation of Splenocytes Stimulated by LPS after Incubation with Sample for 24h Prior to Irradiation.

Control : Group cultured with medium alone.
 Sample : Group cultured with Shenrong Fuzheng Tang 500 μ g/ml.

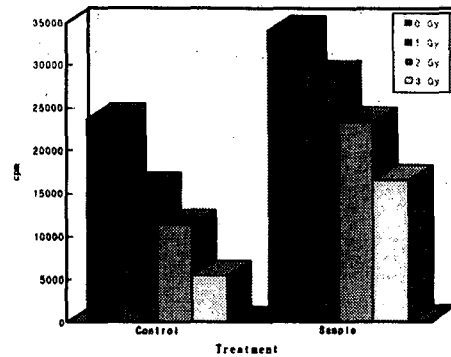


Fig 5. Proliferation of Splenocytes Stimulated by ConA after Incubation with Samples for 24h Prior to Irradiation.

Control : Group cultured with medium alone.
 Sample : Group cultured with Shenrong Fuzheng Tang 500 μ g/ml.

Table 3. Percentage Increase and Enhancement Ratio in LPS-stimulated Splenocytes after Irradiation Compared to Unirradiated Control

Treatment	Irradiation (Gy)	Percentage Increase(%) ^{a)}	Enhancement Ratio ^{b)}
Control	1	73.7 \pm 5.1	1.0
	2	52.8 \pm 3.2	1.0
	3	41.1 \pm 2.7	1.0
Sample	1	91.6 \pm 2.3*	1.2
	2	63.7 \pm 3.3*	1.2
	3	57.3 \pm 1.6*	1.4

a) : (cpm of irradiation / cpm of non-irradiation of the group) \times 100 Average \pm Standard Error

b) : Percentage Increase of Sample / Percentage Increase of Control

* : p < 0.05

Control : Group cultured with medium alone.

Sample : Group cultured with Shenrong Fuzheng Tang 500 μ g/ml.

2) ConA 자극후 T 임파구의 增殖反應

방사선 조사후 ConA로 자극했을 때는, Fig 5에서와 같이 蔘茸扶正湯군의 cpm이 대조군의 cpm에 비하여 蔘茸扶正湯군이 3Gy에서 3.1배의 유의성 있는 증가를 보였다(p<0.05).

대조군과 실험군 각각에서 방사선을 조사하지 않은 경우의 cpm에 대한 방사선을 조사한 경우의 cpm 백분율(percentage increase)은 Table 4와 같다. 실험군은 대조군에 비하여 증가된 백분율을 보였으며(p<0.05), 증가비(enhancement ratio)는 3Gy에서 2.2이었다.

5. Endogenous spleen colony assay

蔘茸扶正湯의 체내에서의 조혈세포에 대한 방사선 방어효과를 관찰하기 위해 Endogenous spleen colony assay를 실시하였다. 방사선 조사 7일 전부터 蔘茸扶正湯을 투여한 실험군에서는 대조군에 비해 증가된(P<0.03) spleen colony

Table 4. Percentage Increase and Enhancement Ratio in ConA-stimulated Splenocytes after Irradiation Compared to Unirradiated Control

Treatment	Irradiation (Gy)	Percentage Increase(% ^a)	Enhancement Ratio ^b)
Control	1	66.4±5.0	1.0
	2	47.8±2.9	1.0
	3	22.7±1.5	1.0
Sample	1	87.6±10.9*	1.3
	2	71.1±8.8*	1.5
	3	50.3±11.8*	2.2

a) : (cpm of irradiation / cpm of non-irradiation of the group) × 100 Average ± Standard Error

b) : Percentage Increase of Sample / Percentage Increase of Control

* : p < 0.05

Control : Group cultured with medium alone.

Sample : Group cultured with Shenrong Fuzheng Tang 500µg/ml.

Table 5. Endogenous spleen colony count.

colonies/spleen	control group	Sample group
	3.4±0.8	10.3±1.9*

Control group : Group of Saline administrated.

Sample group : Group of Prescription Shenrong Fuzheng Tang, 30mg/day administrated.

* : P=0.03

수를 보였다(Table 5).

6. 生存率 測定

치사량의 방사선(9Gy) 조사후 30일간 생존율을 관찰한 결과 Fig. 6에서와 같이 방사선 조사 전 7일부터 조사후 10일까지 蓼苻扶正湯을 투여한 실험군은 30일 까지 40%의 생존율을 보였으며, 대조군은 모두 사망하였다.

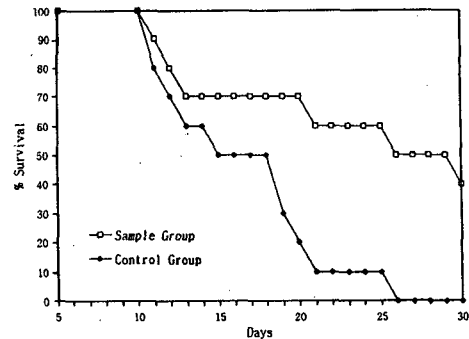


Fig. 6. Survival curves after lethal dose of irradiation.

Control group : Group of Saline administrated.

Sample group : Group of Prescription Shenrong Fuzheng Tang, 30mg/day administrated.

IV. 考 察

腫瘍은 아직도 그 發生原因과 기전이 명백히 밝혀져 있지 않고, 또 그 생물학적 성상이 복잡하기 때문에 적절한 정의를 내리기는 어렵지만, 일반적으로 인체에 불리하거나 파괴적인 조직의 자율적인 과잉성 성장으로 정의되며, 그 중에서 암은 주위조직을 침윤하고 전이를 일으켜 인체를 사망케 하는 악성종양을 의미한다¹³⁾.

서양의학에서는 20세기 중반 부터 암에 대한 수술요법 외에도 화학요법 방사선 요법 등이 개발되어 치유율의 점진적인 향상을 가져 왔다. 최근들어서는 종양면역학 바이러스 종양학 세포생물학 분자생물학 등의 첨단기술의 발전에 힘입어 암에 대한 이해와 치료에 많은 진보를 이루고 있지만, 아직 기존의 화학요법과 방사선 요법이 항암요법의 주류를 차지하고 있다¹³⁾. 하지만 방사선요법과 화학요법은 암세포를 억제하는 효과가 뛰어난 장점이 있으나, 정상

조직에 대한 악영향도 적지 않다. 이들은 암세포 뿐만 아니라 細胞分裂이 旺盛한 正常細胞(骨髓細胞, 胃腸管細胞, 毛囊等)에도 損傷을 입혀 骨髓機能障礙, 胃腸障礙, 脫毛症 등의 副作用이 거의 모든 患者에게서 發生하며^{5,10,14,57}, 또한 耐性 增加로 再發과 合併症이 發生하는 단점이 있다⁵⁵). 이러한 問題點으로 말미암아 抗癌요법의 적용에는 여러가지 제한이 따르게 된다.

방사선에 가장 민감한 인체의 세포는 임파구, 미성숙 조혈세포 및 소장 상피세포 등으로 알려져 있다⁵¹). 일반적으로 이들 세포는 다른 조직세포에 비해 활발한 증식율을 가지고 있어서 방사선에 민감하다고 설명되지만, 예외도 있으므로 구체적인 기전은 아직 명확하지 않다. 방사선으로 조혈조직이 손상되면, 골수와 면역기능이 저하되어 백혈구 감소, 출혈, 빈혈과 감염이 증가하게 된다⁵⁹). Grande et al.은 성숙한 생쥐의 대퇴골과 비장의 CFU-S(spleen colony forming unit) 및 CFU-GM(colony forming unit for granulocyte/macrophage)를 실험한 결과 방사선 피폭 후에 이들의 조혈수입세포들(hemopoietic progenitor cells)의 지속적인 감소와 그에 따른 부작용이 유발됨을 보고하였다(48). 또한, 방사선 요법으로 인한 이러한 골수와 임파조혈기관의 급만성 발육부전은, 화학요법과 병행했을 때는 더욱 심해진다^{47,59}). 임상적인 경험에 의하면 성인 조혈세포는 3-4Gy 정도의 방사선량에서 50%치사량(LD50)이 형성된다고 추정되며, 4Gy의 방사선을 전신 조사했을 경우 혈구수치는 10주 후에 정상적으로 회복된다⁴⁶). 임파구는 0.05 Gy미만의 매우 낮은 방사선량에서는 오히려 증식반응을 보이지만(adaptive response)⁶²) 그 이상의 조사량에서는 임파구의 면역기능이 저하된다^{66,18}).

이와 같이 방사선요법으로 인한 조혈과 면역

기능의 억제는 암환자에게 여러 가지 이차적인 부작용을 유발하게 되어, 환자의 삶의 질을 저하시키고 심한 경우는 치명적인 결과를 가져오며, 아울러 암치료의 지속적인 시행과 효과적인 용량의 치료를 제한하게 된다. 하지만 조혈기계와 임파기계 억제를 방사선으로부터 효과적으로 방어할 수 있다면, 표준 치료용량으로 야기되는 여러 부작용들을 개선시킬 수 있고, 아울러 좀더 고용량의 치료를 환자에게 시행할 수 있게 된다.⁵⁰) 따라서 서양의학에서는 이러한 방사선요법의 부작용으로부터 정상조직을 보호하는 방사선 방어제에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다.

현재까지 발견된 방사선방어제(radioprotector)는 일반적으로 화학적 혹은 생물학적 약물로 구분된다⁵⁸). 화학적 약물은 대개 thiol 복합물로서 이는 방사선 조사로 인해 발생하여 세포에 심각한 손상을 야기하는 遊離基(free radicals)를 제거하여 세포를 보호하는 작용이 있다⁶⁴). 생물학적 약물은 bacterial LPS, muramyl dipeptide, Mycobacterium bovis계통의 bacillus Calmette-Guerin, glucan 등의 미생물의 화합물 및 cytokine 같은 면역조정성(immunomodulatory) 혹은 염증성(inflammatory) 물질 등이 있으며, 이들은 조혈 및 면역기능을 향상시켜 방사선에 대한 방어효과를 가지는 것으로 알려져 있다⁵⁸). 이들 중의 몇몇 약물은 임상실험 단계에 있지만, 여러 가지의 바람직하지 못한 부작용들에 의해 많은 약물들은 활용이 제한되고 있다. 그래서 최근에는 많은 연구가 독성이 낮은 새로운 약물을 발견하거나 몇 가지 약물을 저농도로 복합 사용하여 부작용을 경감시키려는 노력에 집중되고 있다^{61,65}).

한편 韓醫學에서는 종양을 積聚 癰疽 癥瘕 瘰癧 癭瘤 등의 병명으로 인식하여 왔다.^{1,12,27}). 이에 관한 記述은 殷墟의 甲骨文에서 “癰”라

한것이 처음이며³⁰⁾, 그 후 『內經』³¹⁾에서 積聚腸覃 石瘕 溜(瘤) 五臟之積 等に 대하여 구체적으로言及한 이래, 歷代 醫書에서 腫瘍의 位置와 病理의 特性에 따라 瘦瘤(石瘦 肉瘦 筋瘦 血瘦 氣瘦)의 五瘦 骨瘤 脂瘤 氣瘤 肉瘤 膿瘤 血瘤의 六瘤^{24,26,33)} 陰菌³²⁾ 石疽²⁸⁾ 失營³²⁾ 惡核²⁸⁾ 喉疔⁹⁾ (喉菌²³⁾) 芽菌³²⁾ 舌疔⁹⁾ (舌菌³²⁾) 兔脣³²⁾ 缺盆疽²⁴⁾ 등으로 다양하게 記述하고 있다.

20세기 초반에 들어 보다 명확한 인식과 더불어 각종 치료방법이 연구되었다. 한의학에서 인식하는 腫瘍은 外感六淫 七情內傷 飲食不節 過勞 및 邪毒 등에 의하여 個體의 臟腑功能과 氣血이 失調되어 氣滯血瘀 痰結濕聚 熱毒蘊結 正氣虛弱 經絡淤阻 등의 病理變化가 나타나고 이런 變化가 單獨 혹은 相互錯雜되면서 氣機不通하고 聚集日久하여 發生하는 慢性的인 疾患으로 理解되고 있다^{29,36)}. 腫瘍에 대한 治法은 이들이 나타내는 症狀에 따라 活血祛瘀 破積散結 清熱解毒 化痰軟堅 理氣化結 祛濕清熱 등의 攻邪法과, 益氣補血 養陰生津 補陽益陰 益氣健脾 등의 補法 및 이 두 가지 方法을 同時에 使用하는 扶正祛邪法으로 要約된다^{27,29,30,41)}.

그러나 이러한 한의학 단독의 종양치료도 역시 한계가 있는 까닭에, 최근에는 서양의학의 항암요법과 한의학을 결합하여 각각의 단점들을 보완하므로써, 치료효과를 향상시키려는 시도가 진행되고 있으며 이미 적지 않은 성과를 보이고 있다. 이는 한의학으로 기존의 항암요법의 정상조직에 대한 부작용을 경감시키고, 면역기능을 증강시켜 암치료를 받고 있는 환자의 저하된 삶의 질을 높이고 생존율을 연장시키는 것이다.

한의학에서는 방사선 요법 후에 체내의 熱毒이 성해서 津液이 손실되고, 氣血이 不和하고, 脾胃가 失調하며, 肝腎이 허약해지기 때문에

제반 부작용이 발생한다고 인식하고 있으며, 이를 치료하기 위해서 清熱解毒, 生津潤燥에 치중한 涼補氣血, 健脾和胃, 滋補肝腎 등의 方法을 적용한다⁴²⁾. 치료 처방으로는 기존에 존재하는 처방과 새로 창안한 처방들을 활용하고 있는데, 이에 대한 연구로 崔⁴³⁾는 補中益氣湯과 四六湯이 방사선 조사후의 생쥐 비장세포의 증식을 촉진함을, 貝³⁵⁾는 扶正培本の 藥과 抗癌劑와 배합하였을 때 放射線療法시 사용하였을 때 백혈구와 혈소판수가 현저히 증가하였으며 血漿皮質 hormone작용의 개선이 이루어졌음을, 白¹⁷⁾과 張²⁰⁾은 抗癌劑의 부작용에 消積白朮散과 蓼茸湯을 투여했을 때 cisplatin과 cyclo phosphamide에 의한 부작용이 호전됨을, 韓²²⁾은 蓼茶白朮散이 cyclo phosphamide로 유발된 말초혈구의 손상을 회복시키는 효과를, Hosokawa는 補中益氣湯 小柴胡湯 十全大補湯의 방사선 방어효과를⁵²⁾, Shu, et al은 人參養榮湯과 歸脾湯이 방사선에 조사된 생쥐의 회복을 촉진시키고 면역적격성(immunocompetence)을 증가시킴을 보고하였다^{53,54)}. 7.5Gy 선량의 방사선을 조사한 실험동물에게 養陰合劑를 투약한 경우 여타의 골수세포뿐만 아니라 多能幹細胞(pluripotent stem cell)들의 증식도 증가된다는 결과도 보고되었다²⁹⁾. 이 외에 扶正庶劑, 扶正增效方, 健脾益腎庶劑, 升血湯, 固本益氣湯, 扶正生津湯 등 다수의 처방들에 관한 연구가 있다^{40,42)}.

이러한 최신 연구동태에 따라 본 연구에서는 항암요법과 병행할 수 있는 처방을 구성하여 항암요법 중의 하나인 방사선으로 인한 정상조직의 손상 방지능력과 면역 및 조혈기능의 증강 효과를 관찰해 보게 되었다.

사용된 처방은 기존의 항암요법과 병행하기 위해 사용 및 개발된 다수의 처방들을 분석하고, 항암요법의 부작용에 대한 한의학적 치법

에 입각하여 구성되었다. 金¹⁶⁾ 등의 연구에 의하면, 방사선 및 화학요법에 공통적으로 黃芪, 人蔘, 白朮, 茯苓, 陳皮, 麥門冬, 當歸, 半夏, 生地黃, 山藥, 女貞子, 白芍藥, 太子蔘, 菟絲子, 枸杞子 등의 補氣健脾 滋補肝腎의 약재들의 사용 빈도가 특히 높음을 지적하였다. 본 연구에 사용한 蔘茸扶正湯은 補氣健脾의 太子蔘, 白朮, 山藥, 黃芪, 茯苓, 木香, 陳皮, 甘草, 大棗 등과 滋補肝腎의 熟地黃, 山藥, 當歸, 鹿茸, 阿膠, 女貞子, 枸杞子로 구성되어¹¹⁾ 항암요법의 부작용에 따른 脾胃氣虛, 肝腎의 陰血損傷을 효과적으로 예방하고 치료할 것으로 기대되었다.

蔘茸扶正湯의 조혈과 방사선 방어효과를 알아보기 위한 실험대상으로는 생쥐의 비장세포와 골수세포를 이용하였다. 비장은 생쥐와 기타 동물에서는 조혈기능(hematopoiesis)의 주요 부위이며, 면역세포를 위주로 한 혈구와 혈소판의 저장기관으로 알려져 있다. 사람에게 있어서는 성인의 경우 조혈기능이 대부분 골수에서 일어나지만, 胎兒期 때나 골수의 비정상적 확장에 의한 질환 시에는 비장에서도 조혈작용이 일어난다. 따라서 생쥐의 비장은 면역기능과 조혈기능의 실험재료로서 적절하다⁷⁾. 골수에는 原始造血幹細胞, 受任先祖細胞 및 분화되어 성숙된 血球 등이 다양하게 존재하고 있으며, 조혈기능은 造血幹細胞(stem cell)가 여러 조혈촉진인자(hematopoietic growth factors)와 세포간 상호작용(cellular interaction)에 의해 조절되면서 幹細胞(stem cell)에서 受任先祖細胞(committed progenitor stem cell) 혹은 母細胞(progenitor cell)를 거쳐 특정 임파구계열 및 기타 혈구계열의 순서로 분화하여 일어난다고 알려져 있다^{60,45)}.

본 연구에서는 먼저 비장세포를 대상으로 하여 蔘茸扶正湯의 증식촉진효과를 관찰하였다. 그 결과 2일 배양에서 대조군에 비해 5.7배의

증가된 증식촉진효과를 보였다(Fig.1, 2). 증식촉진효과는 4일째 까지 증가하다가 5일 부터 감소하였다. 이로 보아 蔘茸扶正湯은 비장세포에 대하여 일정기간의 증식촉진효과를 가지고 있으며 독성작용이 없음을 알 수 있었다.

조혈촉진인자는 조혈세포의 증식 분화에 필수적인 물질이다. 조혈촉진인자의 기능은 조혈세포의 증식과 분화뿐만 아니라 생존에도 영향을 미치며, 실험적으로는 조혈촉진인자가 없는 상황에서 조혈세포는 사망한다⁵⁶⁾. 지금까지 알려진 조혈촉진인자(colony stimulating factor)로는 erythropoietin(EPO), interleukin-3(IL-3), granulocyte/macrophage colony stimulating factor(GM-CSF), granulocyte colony stimulating factor(G-CSF), macrophage colony stimulating factor(M-CSF), stem cell factor(SCF)와 IL-1 α 등이 있는데, 이들은 骨髓基底細胞 뿐만 아니라, 腎臟, 內皮細胞, 纖維芽細胞, T임파구, 大食細胞 등의 여러 조직에서도 분비된다⁴⁵⁾. 따라서 비장세포를 약재로 배양하여 분비되는 물질들이 골수의 受任先祖細胞의 증식과 분화를 유도한다면, 이는 蔘茸扶正湯의 조혈촉진효과를 간접적으로 증명하는 것이다. 이를 규명해 보기 위해서 蔘茸扶正湯의 조혈촉진인자의 분비능을 측정하였으며, 그 결과 조혈촉진인자의 분비는 대조군에 비해 10.1배의 증가를 보였다(Fig. 3). 이로써 蔘茸扶正湯에는 조혈촉진인자의 분비를 유도하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 본 실험에 앞서, 처방 蔘茸扶正湯을 직접 hard agar에 첨가하여 골수세포를 배양해 보았는데, 그 경우 血細胞 群體(colony)는 아무것도 낳지 않은 대조군과 전혀 차이를 보이지 않았다(data not shown). 이는 蔘茸扶正湯 자체에는 조혈촉진인자나 조혈촉진인자를 대체할 만한 물질이 직접 존재하지는 않은 것을 의미한다. 따라서 蔘茸扶正湯의 조혈촉진효과는 조혈

세포에 대한 직접적인 효과가 아니라, 조혈 촉진인자의 분비를 유도하므로써 이차적으로 이루어지는 것으로 사료된다.

韓醫學³¹⁾에서는 血이 津液과 營氣로 구성된다고 인식한다. <靈樞 決氣篇>에서는 “中焦受氣取汁, 變化而赤, 是謂血”라 하였고, <靈樞 癰疽>에서는 “腸胃受穀,中焦出氣如霧, 上注谿谷, 而滲孫脈, 津液和調, 變化而赤爲血”라 하였는데, 中焦는 脾胃를 지칭하므로 脾胃가 혈액생성과정에서 차지하는 중요성을 알 수 있다. 또 <靈樞 邪客>에서 中焦亦并胃中, 出上焦之後, 此所受氣者, 泌糟粕, 蒸津液, 化其精微, 上注于肺脈, 乃化而爲血, 以奉生身, 莫貴于此故獨得行于經隧 命曰營氣라고 한 것처럼 혈액의 주요 구성성분이며, <靈樞 邪客> 營氣者, 泌其津液, 注之于脈, 化以爲血液에서 처럼 脈에 주입하여 혈액을 化生하는 기능을 가진 營氣도 中焦에서 생성되므로(<靈樞 營衛生會篇> 營出于中焦) 이 역시 脾胃에 해당한다. 이처럼 한의학에서는 脾胃가 혈액의 원료를 생산하고 혈액을 化生하는 중요한 작용을 하므로, 임상에서 血虛의 病證을 치료할 때는 먼저 脾胃의 調攝을 중시한다⁸⁾.

肝과 腎 역시 혈액생성과정에서 중요한 역할을 한다. 腎은 先天之本이고 脾는 後天之本으로서 脾의 氣血化生은 주로 腎에 저장된 精氣의 溫煦 蒸騰작용에 의존하며, 腎에 저장된 精氣는 後天的으로 水穀精微에서 化生된 氣血에 의존한다^{2,3)}. 한편 精은 腎에 저장되고 血은 肝에 저장되며, 肝腎同源說에 의하면 腎精과 肝血은 서로 資生 轉化한다⁴⁾. 이처럼 한의학 이론에 따르면 脾胃의 血液化生의 기능, 腎의 藏精기능과 肝의 藏血기능이 모두 조혈기능에 관여하고 있다. 본 연구에서도 脾胃와 肝腎의 기능을 강화하는 효능을 가진 蓼葦扶正湯이 조혈 촉진효과를 보인 점에 있어서 蓼葦扶正湯의 효

능과 한의학 이론이 기본적으로 일치함을 확인할 수 있었다.

조혈촉진효과에 이어 蓼葦扶正湯의 면역세포에 대한 방사선 방어효과를 알아보기 위하여 비장세포의 免疫適格性(immunocompetence)을 관찰하였다. 면역적격성 즉 체외에서의 분열 촉진인자 자극에 의한 반응(mitogen stimulated response)은 특정 임파구를 활성화시키고 증식시키는 반응으로서, 임상적으로 면역저하질환, 암, 자가면역질환을 가지고 있거나 면역요법을 받고 있는 환자의 세포성 면역을 평가하는데 이용된다. 또 사람과 동물의 약물 혹은 방사선에 의한 면역독성효과를 평가하는데도 이용되고 있다⁴⁹⁾. 분열촉진인자로는 1960년에 Nowell⁶³⁾이 red kidney bean의 추출물을 발견한 이래로 여러 종류의 식물로부터 phytohemagglutinin (PHA:T임파구), concanavalin A(ConA: T임파구), soybean agglutinin(SBA), peanut agglutinin (PNA), pokeweed mitogen(PWM:T,B임파구) 등이 추출되었고, 식물 lectin외에 박테리아 산물 중에서도 이러한 효과를 가진 lipopolysaccharide (LPS: B임파구), purified protein derivative (PPD:B 임파구) 등이 발견되어 활용되고 있다⁴⁹⁾.

이상의 분열촉진인자들은 특정 B 혹은 T임파구와 결합하고 증식을 촉진시키기 때문에 임파구의 결손정도와 기능을 동정하는데 유용하게 활용된다.

본 연구에서는 생쥐의 비장세포를 蓼葦扶正湯으로 미리 배양한 후 0~3Gy의 방사선을 조사하고, T임파구의 분화촉진제인 conA (concanavalin A)와 B임파구 촉진제인 LPS (lipopolysaccharide)를 사용하여 그 임파구의 증식능을 관찰하였다.

방사선 조사전에 蓼葦扶正湯으로 미리 1일간 배양하면, 방사선 조사후 비장세포의 증식

능이 蔘茸扶正湯으로 배양하지 않은 대조군에 비하여 높을 뿐 아니라, B림과구는 정상대조군보다도 상회하였다(Fig. 4, 5). 이러한 이유는 1일 배양으로 증식된 백혈구가 量的으로 많기 때문에, 방사선 조사후 생존한 백혈구의 수도 상대적으로 많은 까닭이라고 볼 수 있다. 하지만 실험군과 대조군의 cpm을 각각의 방사선을 조사하지 않은 경우의 cpm에 대한 백분율로 계산해 보면, 실험군의 경우가 대조군에 비하여 방사선 조사 후 낮은 감소율(percentage increase)를 가진다(Table 3, 4). 이는 방사선 조사 전에 蔘茸扶正湯을 투약하므로써 비장세포가 양적인 증가 뿐만 아니라 방사선에 대한 내성도 강화된 때문이라고 볼 수 있다. 그러므로 蔘茸扶正湯은 T및 B림과구에 대한 증식 유도와 방사선에 대한 방어효과가 있음을 알 수 있었다.

림과구에 대한 방사선 방어효과에 이어 蔘茸扶正湯의 조혈세포에 대한 방사선 방어효과를 관찰하기 위하여 endogenous spleen colony assay를 시행하였다.

endogenous spleen colony assay는 체내의 조혈세포들의 손상과 회복정도를 측정하는 효과적인 방법이다. 이 방법은 일반적으로 치사량의 방사선을 조사하여 체내의 대부분의 조혈세포를 살상시킨 다음 생존한 조혈세포가 비장에 착상하여 여러 혈세포로 증식분화하면서 형성된 군체 수를 측정하여 방사선 조사시 생존한 정상적 조혈세포를 정량하는 것이다. 만일 실험물이 방사선 방어효과가 있는 물질이라면 조혈세포를 방사선으로부터 보호하여 생존 확률을 증가시켜 많은 수의 군체를 형성하게 될 것이다. 본 실험에서 蔘茸扶正湯으로 7일간 투약시킨 실험군에서 대조군에 비해 현저하게 증가된 군체를 관찰할 수 있었으며($P < 0.03$), 이로써 蔘茸扶正湯은 조혈세포를 방사선으로부터 보호하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다(Table 5).

이상의 체내 및 체외 실험결과는 蔘茸扶正湯이 면역세포와 조혈세포를 증식시키고, 방사선으로부터 면역세포와 조혈세포를 방어하는 효과가 있음을 보여주는 결과였으나, 국소적인 관찰이었으므로, 생쥐의 생체 전체에 미치는 효과를 관찰하기 위하여, 최종적으로 마우스의 생존율을 측정하였다. 9Gy의 치사량 방사선을 조사한 후 11일째 부터 실험군과 대조군에서 공히 사망하기 시작하여 26일째 대조군은 모두 사망하였으나, 실험군에서는 30일째 까지 40%의 생존율을 보였다(Fig. 6). 이는 蔘茸扶正湯이 생쥐의 생존에 필요한 정도의 정상조직에 대한 방어와 회복에 일정한 효과가 있음을 알수있는 결과로 사료된다.

이상의 모든 실험결과를 종합해 볼때, 蔘茸扶正湯은 생쥐 비장세포의 증식촉진효과, 조혈촉진인자 분비효과, 림과구와 조혈세포에 대한 방사선 방어효과에 있어 모두 유의성 있는 효과를 나타내고 생존율의 향상을 보여, 방사선 요법으로 인한 조혈 및 면역기계의 손상을 방어하고 회복시키는 효과가 인정되며, 항암요법 중 방사선 요법과 병행 할 수 있는 한의학 처방으로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

V. 結 論

抗癌療法 副作用 輕減을 목적으로 구성된 蔘茸扶正湯의 造血促進 및 放射線 防禦效果를 알아보기 위하여 생쥐의 비장세포와 골수세포를 體外에서 배양하여, 비장 및 골수세포증식능, 造血促進因子 分泌能, 방사선 조사후의 비장세포 免疫適格性을 측정하고, 體內 실험으로 endogenous spleen colony assay와 生存率을 관찰하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 蔘茸扶正湯의 생쥐 비장세포에 대한 增殖效果는 2일간 배양한 경우 最適濃度에서 5.7배의 增殖促進效果를 가졌으며, 4일에 최고 증식능을 보였고 毒性反應은 없었다.

2. 造血促進因자의 分泌能을 측정하기 위해 蔘茸扶正湯으로 생쥐 비장세포를 배양한 후 상등액을 취해 골수세포를 semi-solid agar에서 배양한 결과, 對照群에 비해 10.1배 有意性 있는 增加를 보였다.

3. 蔘茸扶正湯의 방사선에 대한 임파구의防禦效果를 알아보기 위해, 생쥐 비장 세포를 蔘茸扶正湯液으로 미리 배양한 다음 1-3 Gy의 방사선 조사 후 LPS와 ConA로 자극하여 免疫適格性을 실험한 결과, 각 조사량에서 증식능은 蔘茸扶正湯군이 對照群보다 有意性 있게 높았고, 百分率 增加도 對照群에 비하여 有意性 있는 향상을 보였다.

4. 蔘茸扶正湯의 방사선에 대한 조혈세포防禦效果를 알아보기 위하여 endogenous spleen colony assay를 실시한 결과 방사선 조사 7일 전부터 蔘茸扶正湯을 투여한 實驗群에서 3배의 有意性 있는 增加를 보였다.

5. 蔘茸扶正湯이 致死量의 방사선(9Gy)을 조사받은 생쥐의 生存率에 미치는 영향을 알아보기 위해 방사선 조사 후 30일 동안 생쥐의 生存率을 관찰한 결과, 對照群은 기간 내에 모두 사망하였으나 實驗群에서는 40%의 生存率을 보였다.

이상의 실험 결과로 보아 蔘茸扶正湯은 造血을 促進시키고, 放射線으로부터 造血 및 免疫細胞를 보호하며 回復을 促進시키는 효과가 있다고 평가되며, 앞으로 지속적인 연구를 통해 臨床에 活用할 수 있을 것으로 사료된다.

參考文獻

1. 康命吉 : 濟衆新編, 서울, 杏林書院, p.12, 87, pp.136 137, 150 151, 1971
2. 金完熙, 崔達永 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, pp57-59, 63-65, 1985.
3. 杜鎬京編 : 東醫腎系內科學, 서울, 東洋醫學研究所, pp6-9, 1987.
4. 朴贊國 編譯 : 臟象學, 서울, 成輔社, pp28-67, pp 214, 1992.
5. 백남선 : 암의 약물치료, 임상약학, 6(1):74 82, 1986
6. 서울대학교 의과대학 : 종양학, 서울대학교 출판부, pp. 1-3, 137-143, 1992.
7. 성호경 이상돈 : 생리학 제5판, 서울, 도서출판 의학문화사, pp 94-106, 1991.
8. 安圭錫 崔昇勳 文滄典 外 : 東醫病理學, 서울, 古文社, 1990.
9. 吳謙 : 醫宗金鑑, 서울, 大星文化社, pp.215 217, p.222, 346, 779, 1983
10. 李文鎬 外 : 內科學, 서울, 박애출판사, pp.2446 2450, 2466 2475, 1976
11. 全國韓醫科大學 本草學教室 : 本草學, 永林社, 1991
12. 周命新 : 醫門寶鑑, 서울, 杏林書院, p. 93, 1971
13. 崔昇勳 : 東醫腫瘍學, 행림출판, 서울, pp.142-165 1995.
14. 홍사석 : 이우주의 약리학강의, 의학문화사, pp.632 641, 1993
15. 金韓燮 등 : 癌의 治療, 治方에 關한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, 10 : 161 166, 1989
16. 김동희, 김성훈 : 항암제 및 방사선 부작용에 대한 한방요법, 병리학회지, 9권 p.239-264, 1994.

17. 白承學：消積白朮散이 白鼠의 抗癌障礙에 미치는 影響, 大田大學校 碩士 學位論文, 1991.
18. 윤택구：방사선에 의한 인체장해연구, 한국에너지연구소 (과기처시행특정연구 개발사업 연구결과문), 대전, 1988.
19. 이문호 등：최근 한국의 질병 변천, 대한의학협회지, 32(3), : 283 290, 1989
20. 張中植：蔘茸湯이 S-180에 對한 抗腫瘤 效果와 cyclophosphamide에 依한 副作用減少에 미치는 影響, 大田大學校 碩士學位論文, 1992.
21. 崔昇勳：放射線 照射後의 N:GP(S) mouse 脾臟細胞 增殖에 미치는 補中益氣湯과 四六湯의 效果, 제1회 동양의학 국제심포지움논문집, p 110-239, 1995.
22. 韓承燮：蔘苓白朮散의 抗癌劑 副作用 抑制에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 大學院, 博士學位論文, 1995. 8.
23. 顧世澄：瘍醫大全, 北京, 人民衛生出版社, pp.545 546, 571 574, p.600, pp.651 653, 1987
24. 薛己：薛氏醫案, 上海, 上海古籍出版社, 全2券 中 : p.315, 1980
25. 巢元方：諸病源候論, 臺北, 文光圖書有限公司, pp.78 80, p.129, 137, 1979
26. 孫思邈：備急千金要方, 北京, 人民衛生出版社, pp.211 215, 291 293, 441 442, 1982
27. 王錦雲：扶正培本法治療惡性腫瘤積研究, 癌症腫瘤醫論醫話精選, pp101 - 104, 1989.
28. 王維德：外科證治全生集, 北京, 人民衛生出版社, p.9, 1989
29. 郁仁存：腫瘤研究, 上海科學技術出版社, 上海, p117, 1 22, 41 44, 95 133 1991.
30. 郁仁存：中醫腫瘤學(上冊), 北京, 科學出版社, pp.1 25, 65 74, 1991
31. 任應秋 外：黃帝內經章句索引, 北京, 人民衛生出版社, 1986.
32. 張璐：張氏醫通, 上海, 上海科學技術出版社, pp.132 136, p.486, pp.579 580, 1963
33. 陳言：三因極一病證方論, 臺北, 臺聯出版社, 券8 : pp. 11 14, 券13 : p.8, 券15 : pp.3 4, 1978
34. 季宇彬：補中益氣湯對環磷腺苷抗癌活性和毒性的影響, 中國中藥雜誌, 3:50, 1989
35. 貝潤浦：中醫配合化學藥物治療腫瘤的體會, 癌症腫瘤醫論醫話精選 pp586 - 587, 1989.
36. 邱佳信：在惡性腫瘤治療中如何合理應用活血化瘀藥物, 中醫雜誌, 5:384~387, 1987
37. 金光外：中藥防治腫瘤化療毒副反應509例臨床觀察, 陝西中醫, 11:485, 1990
38. 徐梅文：降逆湯防治腫瘤化療消化道反應三十七例, 浙江中醫雜誌, 1:5, 1989
39. 吳敬亮：參射湯治療鼻咽癌中不良反應的臨床觀察, 新中醫, 2:40, 1991
40. 吳廣寧, 余桂清, 朴炳奎, 孫桂芝：扶正增效合劑對食管癌治療增效的臨床和實驗研究, 中國中醫研究院廣安門醫院腫瘤科論文選集, 1993.
41. 李爲祿：“扶正培本”與“活血化瘀”治療腫瘤的原理, 癌症腫瘤醫論醫話精選, pp83 - 85, 1989.
42. 張代釗：中醫藥防治放化療副反應的新進展, 中西醫結合防治腫瘤, 抗癌中藥藥學術會議資料編, pp14-20, 1987.
43. 張代釗：中醫藥對腫瘤放化了的增敏減毒作用, 中國中西醫結合雜誌 12(3) : 135-138, 1992.
44. 浙江中醫學院學報編輯委員會：腫瘤十全大補湯能減輕絲裂毒素副反應, 浙江中醫學院學報, 6:50, 1986

45. Clark,S, Kamen,R. : The human colony stimulating factors. *Science* 236:1229-1237, 1987.
46. D. W. van Bekkum : Radiation sensitivity of the hemopoietic stem cell, *Radiation research*,128,s4-s8, 1991
47. Fajardo,L.F. : Morphology of radiation effects on normal tissues. *Principles and practice of radiation oncology*, 2nd Edn, Philadelphia, Lippincott, PP 114-123
48. Gray,R.,Burluson, Jack, H. Dean, Albert,E.Munson : *Methods in immunotoxicology:volume 1*,New York, USA, Wiley-Liss, pp 197-210, 1995.
49. Grande, T., S.Gaitan, C.Tejero and J.A.Bueren. : Residual hemopoietic damage in adult and 8-day-old mice exposed to 7Gy of X-rays. *Inter.J.Radiat.Biol.*, 63(1):59-67, 1993.
50. Griswold,D.P.,Jr.,Trader, M. W.,Frei,E., III,Peters, W. P.,Wolper,M.K.,and Laster, W. R.,Jr. : Response of drug sensitive and resistant L1210 Leukemias to high-dose chemotherapy. *Cancer Research.*, 47:2323-2327, 1985.
51. Hill RP. : *The basic science of oncology*, (eds) Tannock IF and Hill EP.New York: Pergamon Press, pp.259-301, 1992.
52. Hosokawa, Y. : Radioprotective effects of Chinese medicinal prescriptions in mice. *J. Medical and Pharmaceutical Society for Wakan-Yaku*, 3:164-169, 1986.
53. Hsu,H.Y., Hau,D.M.,Lin,C.C. : Effects of Jen-Sheng-Yang-Yung-Tang on Cellular Immunocompetence of γ -irradiated Mice. *American J. Chinese medicine*, Vol.11,No.3-4:269-277,1993.
54. Hsu,H.Y., Hau,D.M.,Lin,C.C. : Effects of Kuei-Pi-Tang on Cellular Immunocompetence of γ -irradiated Mice. *American J. Chinese medicine*, Vol.11,No.2:151-158,1993.
55. James. B. Lyoyd H. : *Cecil textbook of medicine*, W.B.Saunders Co. pp.1090 1100, 1985
56. Jan W.M.Visser, Dries H.Mulder. : Culture of hematopoietic stem cells purified from murin bone marrow, *Seminars in Hematology*, 28(2):117-125, 1991.
57. Jurgen Kiefer : *Biological Radiation Effect*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 1990.
58. Kalechman,Y., Albeck.M., Oron.M., Sobelman.D., Gurwith.M., Seghal.S.N. and Sedni.B. : Radioprotective Effects of The Immunomodulator A101, *J.Immunol.*, 145:1512-1527, 1990.
59. Lichtman,M. : The ultrastructure of the hemopoietic environment of the bone marrow: A review. *Exp. Hematol.* 9:391-410, 1981.
60. Laver J. : Radiobiological properties of human hematopoietic and stromal marrow cells, *Int. J. Cloning.* 7:203, 1989.
61. LiebMann,J.,DeLuca,A.M.,Epstein A., Steinberg, S. M.,Morstyn,G. and Mitchell B. : Protection from Lethal Irradiation by the Combination of Stem cell Factor and Tempol, *Rad. Res.*, 137, 400-404, 1994.
62. Makinodan,T. and James, S. J. : T cell potentiation by low dose ionizing radiation: possible mechanisms. *Health Physics*, 59:29-34, 1990.
63. Nowell, P.C. : Phytohemagglutinin:an

- inhibitor of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res.* 20:462-466, 1960.
64. Neta R, Vogel, S.N., Oppenheim, J. J., Douches, S. D. : Cytokines in radioprotection: comparison of the radioprotective effects of IL-1 to IL-2, GM-CSF and IFN- γ . *Lymphokine Res* 5:S105, 1986(supp11) .
65. Olden, K., Breton, P., Grzegorzewski, K., Yasuda, T., Gause, B., Oredipe, O.A., Newton, S. A., White, S. L. : The potential importance of Swanisonine in therapy for cancers and immunology, *Pharmac.Ther.*, 50:285-290, 1991.
66. Yarilin, A.A. : Action of ionizing radiation on lymphocytes (inhibition and activation effects). *Immunology*, 5:5-11, 1988.