

加味夏枯草散이 抗癌劑의 抗腫瘍效果와 腫瘍細胞에 미치는 影響

圓光大學校 韓醫科大學* 方劑學教室, 病理學教室, 醫藥資源研究센터

*金均澤·田炳薰

I. 緒論

加味夏枯草散은 《東醫寶鑑》의 夏枯草散에 斑猫를 加한 處方으로 癰癤, 腫瘍 등에 臨床의 으로 使用되어 왔다¹⁾. 夏枯草散은 癰癤을 治療하고 結氣을 散하고 厥陰血脈을 補養하는 目的으로 活用되어 왔으며, 夏枯草와 甘草로 構成¹⁻³⁾되어 있다. 夏枯草는 脣形科에 屬한 多年生草本인 꿀풀이나 同科의 조개나물과 檀香科의 제비꽃의 地上部 全草이며⁴⁻⁶⁾, 性味는 苦, 辛, 寒, 無毒^{4,7-10)}하고, 歸經은 肝, 膽의 二經^{4,11-13)}이다. 神農本草經¹⁴⁾에는 “夏枯草는 癰癤, 鼠瘻, 頭瘡, 癥瘕, 癭瘤, 結氣 등을 다스린다”고 하였고, 또한 夏枯草는 血壓降下, 清熱解毒, 軟堅散結, 散瘀止血 등의 效能^{6,11-13,15-18)}이 있으며, 血壓降下, 痢疾菌抑制, 黃疸性肝炎, 腫氣, 肺結核, 子宮出血, 鼻血, 惡露不止 등에 治療效果^{6,11-13,15-18)}가 있고, 뿐만아니라 腫硬의 局部病巢를 軟化하고 消失시키는 作用^{6,11-13,15-18)}이 있으며, 沃素缺乏으로 인한 甲狀腺腫으로 觸手하여 質硬일 때에 使用하면 體內的 沃素를 증가시켜 硬病巢를 軟化하는 데 有效^{6,11-13,15-18)}하며, 婦人乳房에 腫塊가 있어 觸手하여 아프거나 혹은 不痛하는 陽性腫瘍에 使用하였다^{6,11-13,15-18)}. 斑猫는 芫青科에 屬한 참가되 및 同屬 近緣昆蟲의 蟲體이며, 性味는 辛, 寒, 有毒하고, 歸經은 大腸, 小腸, 肝, 腎의 4經이다⁹⁻²¹⁾. 斑猫는 攻毒蝕瘡 破瘀散結 등의 效能이 있어서 尋常性乾癬, 神經皮膚炎, 癌 등의 治療

에 使用되어 왔다¹⁹⁻²¹⁾. 斑猫는 Cantharidin을 함유하고 있어서 原發性肝癌, 肺癌, 食道癌, 乳癌의 경우에 一時的인 效果를 나타내며, 化學療法, 放射線療法을 併用하면 治療效果가 增進되는 동시에 患者의 白血球數의 급격한 減少를 방지할 수 있다고 하였다^{20,21)}.

本 處方의 構成藥物에 관한 實驗的 報告로는, 夏枯草에 관하여 李²²⁾는 高血壓에 미치는 影響을, 李²³⁾는 甲狀腺 機能亢進症에 미치는 影響을 報告하였고, 免疫에 對한 研究로 Yamasaki 等²⁴⁾은 抗 HIV作用에 대하여, Yao 等²⁵⁾은 夏枯草抽出液의 試驗管内 HIV-1感染의 抑制作用에 대하여, Zheng 等²⁶⁾은 ELISA法에 의한 抗HBs-Ag效果에 대하여, Zheng²⁷⁾은 대상포진 바이러스에 대한 抗바이러스效果에 대하여, Tappa 等²⁸⁾은 夏枯草抽出物인 Prunellin의 抗HIV作用에 대하여 報告하였다. Lee 等²⁹⁾은 夏枯草의 抗變異誘發性에 의한 抗癌效果를 研究報告 하였고, 中國醫藥學院 《中國醫藥抗癌研究中心報告》¹⁸⁾에서 夏枯草는 清熱, 解毒, 止血의 作用이 있고, 1兩~2兩을 使用할 경우 抗癌作用이 있다고 報告하였다. 斑猫에 관한 實驗的 報告로 《中草藥匯編》에는 小鼠의 肉腫 180에 對한 抑制作用, 皮膚에 對한 引赤發疱作用, 斑猫丹의 足關節炎에 對한 消腫效果, 絲狀蟲의 幼蟲을 殺하는 作用, 皮膚真菌에 對한 抑制作用 등을 報告하였고, 《中藥大辭典》에는 小鼠肉腫180에 對한 抗腫瘍實驗과 肝癌에 對한 臨床的 抗癌效果를 報告하였다²¹⁾. 그러나 加味夏枯草散의 實驗報告는 접한바 없었

다.

이에 著者는 腫瘍에 臨床的으로 應用되고 있는 夏枯草와 斑猫 등을 加한 加味夏枯草散을 利用하여 Colony 形成抑制實驗, SRB (sulforhodamine B) assay, Ehrlich carcinoma의 solid tumor와 ascites tumor에 대한 抗腫瘍效果 및 lysosomal enzymes의 活性에 대한 Mitomycin C(MMC), 및 MMC와의 併用投與時의 效果 등을 觀察하여 有意한 結果를 얻어 이에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 藥材

實驗에 使用한 藥材는 市中에서 購入하여 圓光大學校 附屬韓方病院에서 鑑定하고 嚴選하여 使用하였으며, 加味夏枯草散의 處方構成은 東醫寶鑑¹⁾에 準하였고, 重量은 臨床에서 多用하였던 經驗方에 準하였다(Table 1).

Table 1. Prescription of *Gamihagochosan* (加味夏枯草散)

本草名	生藥名	重量(g)
夏枯草	Herba Prunellae	3,000
斑猫	Mylabris	225
甘草	Radix glycyrrhizae	450
總計		3,675

2) 檢液調製

加味夏枯草散 1劑 分量의 1/10인 368g을 증류수 3000ml와 함께 환저플라스크에 넣고 냉각기를 부착하여 2시간동안 電熱器로 煎湯한 후 3000rpm에서 20분간 원심분리하여 上清液을 取한 다음, 濾過紙로 濾過한 濾液을 減壓回轉蒸發器를 利用하여 減壓濃縮한 후 냉동건조

기에서 완전히 건조하여 건조엑기스 66.2g을 製造하였다. 이 건조엑기스를 증류수로 재조정하여 使用하였으며, 試料를 細胞에 接種하기 전에 1.2, 0.8, 0.45, 0.2 μ m pore size의 micro filter(Milipore)를 利用하여 여과멸균하였다.

3) 腫瘍細胞

實驗에 使用한 腫瘍細胞柱는 韓國細胞柱銀行(Korea Cell Line Bank) 및 日本理研細胞銀行(Riken Cell Bank)에서 분양받아 使用하였다(Table 2).

Table 2. Human tumor cell lines used in this experiment

Name	Source	Reference
A 549	Lung Carcinoma, human	OCL 185
Caki-1	Clear cell carcinoma, consistent with renal primary, metastasis to skin, human	HTB 46
hep3B	Hepatocellular carcinoma	TB 8064
Erlch	Erlch Carcinoma cell	

4) 細胞培養 및 器具滅菌

實驗에 사용된 腫瘍細胞柱들은 Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640)과 Dulbecco's modification of Eagles's medium (GIBCO) 등의 培養液으로 1주일 1내지 2회씩 계대배양하면서 使用하였다. Medium은 5%의 heat-inactivated fetal bovine serum(FBS)이나 10% 또는 20%의 FBS를 보충하여 使用하였으며, antibiotic-antimycotic (GIBCO)을 처리하였다. 2 내지 3일에 1회씩 배지를 교환하였으며 약 1週日에 1회씩 0.25% trypsin EDTA(GIBCO) 溶液으로 處理하여 細胞를 탈착시키고 계대배양하였다. 餘分의 細胞는 nitrogen tank에 凍結保存한 다음 必要에 따라 解凍하여 使用하였다.

本 實驗에 사용된 細胞培養液 및 試藥은

DDW(deionized distilled water)를 사용하여 製造하였으며 micro-filter(pore size $0.2\mu\text{m}$)를 利用하여 濾過滅菌하여 사용하였고, 器具는 121°C , 15psi 下에서 高壓濕熱滅菌하거나 160°C dry oven에서 2時間以上 乾熱滅菌하여 使用하였다.

5) 實驗動物

實驗動物은 18-20g의 ICR female mice를 使用하였으며, 腫瘍細胞는 Ehrlich carcinoma의 ascites tumor cells을 每 7일 間격으로 새로운 마우스의 腹腔에 정기적으로 移植하며 維持하였다.

2. 實驗方法

1) In vitro assay

① 腫瘍細胞의 colony 形成抑制實驗³¹⁾

加味夏枯草散抽出液의 시료가 腫瘍細胞에 미치는 cytotoxic effect를 알아보기 위하여 Hamburger 등의 方法을 變形한 semisolid double layer agarose法을 利用하여 實施하였다. 즉 0.5% agarose, 10% FBS(fetal bovine serum)를 함유한 RPMI 1640 배지 1ml씩을 $35\times 10\text{mm}$ plastic petri dish에 분주하여 응고될 때까지 室溫에 방치하여 기저아가층(basal soft agarose layer)을 준비하였다. 시험관내에서 계대배양시킨 腫瘍細胞를 5×10^5 cells/ml로 調整한 시험관에 加味夏枯草散 건조분말을 $1000\mu\text{g/ml}$, $500\mu\text{g/ml}$, $250\mu\text{g/ml}$, $100\mu\text{g/ml}$, 50mg/ml , $20\mu\text{g/ml}$, $10\mu\text{g/ml}$ 의 濃度로 넣어 37°C 6% CO_2 培養器에 넣어 培養하였다. 培養 2時間 後 培養液을 遠心分離하여 上清液을 버린 후 pellet을 잘 분산시켜 0.3% agarose, 10% FBS (fetal bovine serum)를 함유한 RPMI 1640배지 1ml에 腫瘍細胞柱들을 1×10^5 cells/ml로 調整하여 넣은 후 이미 응고된 0.5% basal soft agarose layer위에 중층하였다. 그 후 37°C 6% CO_2 培養器에 集락의 出現與否를 관찰하면서 약 10일간 培養하였다.

50개 이상의 腫瘍細胞가 모여있는 것을 細胞塊로 判定하여 colony數를 도립현미경 $\times 200$ 倍率下에서 計算하였다. 加味夏枯草散 抽出液의 각 濃度에서의 結果의 判定은 무처리 對照群의 colony數를 100%로 하여 藥劑에 反應시킨 腫瘍細胞柱의 colony數를 算出하였다. 各群의 colony數는 群當 4개의 petri dish의 colony數의 平均値를 利用하여 評價하였다.

② SRB(sulforhodamine B) assay^{32,33)}

Human epitheloid carcinoma(HeLa) cell line, Colon adenocarcinoma(HCT-15) cell line, Hepatocellular carcinoma(Hep3B) cell line 등을 25cm^2 250ml culture flask (Nunclon)를 利用하여 37°C 5% CO_2 배양기에서 subconfluent monolayers로 유지하면서 RPMI 1640과 Dulbecco's modification of Eagles's medium (GIBCO) 등의 培養液으로 1주일에 1 내지 2회씩 계대배양하면서 使用하였다. medium은 5%의 heat-inactivated fetal bovine serum(FBS)이나 10% 또는 20%의 FBS를 보충하여 使用하였다. contamination을 방지하기 위하여 antibiotic-antimycotic (GIBCO)을 처리하였다. 계대수는 분양받은 후 5 내지 20 차례의 범위에서 제한하여 細胞를 使用하였다.

배양한 細胞는 지수함수 배양기에 0.25% trypsin EDTA(GIBCO)溶液으로 trypsinization하여 細胞를 탈착시키고, trypan blue를 利用하여 hemocytometer chamber로 細胞數를 계산하고 medium에 잘 분산하여 5×10^5 cells/ml로 調整하고 96-well flat-bottomed microtitre plate(Nunclon)에 well당 $200\mu\text{l}$ 씩 細胞懸탁액을 분주하고 37°C 5% CO_2 배양기에서 배양하였다. 24시간 경과후 각 well의 medium을 제거하고 각각의 건조엑기스를 medium에 6.4mg/ml , 3.2mg/ml , 1.6mg/ml , 0.8mg/ml , 0.4mg/ml , 0.2mg/ml , 0.1mg/ml 의 濃度로 調整하여 각 well에 $200\mu\text{l}$ 씩 분주하여 다시 37°C 5% CO_2 배양기에서 48시간 배양하였다. 배양 후 cold trichloroacetic acid(TCA)를 最終濃度 10%가 되도록 50% TCA를 $50\mu\text{l}$ 씩 각 well에

분주하여 단백질을 침전시켜 細胞를 고정한 후 4℃에서 1시간동안 방치하였다. 常水로 5회 세척한 후 건조시켰다. 건조된 각 well에 1% acetic acid에 용해시킨 0.4% SRB용액을 50 μ l씩 가하여 常溫에서 20분동안 염색을 한 후 1% acetic acid로 4회 세척하여 細胞에 부착하지 않은 SRB를 제거하였다. plate를 잘 건조하여 150 μ l의 10m mol/l의 unbuffered tris base [tris(hydroxymethyl) amino methane]를 가하여 bound protein stain을 녹여냈다. 각 well의 OD는 510nm의 wave length에서測定하였다.

2) in vivo assay

① 抗腫瘍實驗

加味夏枯草散 抽出液의 抗腫瘍實驗은 Ehrlich carcinoma의 solid tumor와 ascites tumor에 대하여 실시하였다. ascites형은 마우스에 5 $\times 10^6$ 개의 細胞를 복강내에 주사하였으며, 加味夏枯草散 抽出液은 腫瘍細胞移植後 2일째부터 10일동안 날마다 50, 100, 200 mg/kg씩을 경구투여하였다. 抗腫瘍效果는 生存率로 판정하였으며, 30일 동안의 平均生存期間으로 판정하였다.

$$\text{survival rate} = \frac{\text{mean survival time of treated mice}}{\text{mean survival time of control}} \times 100$$

solid tumor의 경우에는 5 $\times 10^6$ 개의 腫瘍細胞를 마우스의 서혜부에 皮下移植하였다. 加味夏枯草散抽出液은 腫瘍細胞移植後 2일째부터 12일동안 날마다 50, 100, 200 mg/kg씩을 경구투여하였다. 移植後 16일째에 마우스를 희생시키고 腫瘍成長抑制效果는 대조군에 대한 實驗群의 腫瘍의 重量으로 결정하였다. 抗癌化學療法劑인 MMC는 腫瘍移植後 2일부터 6일동안 격일로 腹腔內 투여하였다.

② 酵素活性의 決定

5 $\times 10^6$ 개의 腫瘍細胞를 腹腔內에 移植하고 移植後 6일부터 10일동안 1일 1회씩 加味夏枯草散抽出液을 50, 100, 200 mg/kg씩을 경구투여

하였다. MMC는 移植後 6, 8, 10일에 1일 1회씩 腹腔內에 주사하였다. 移植後 10일에 각 實驗群의 ascites 腫瘍細胞를 수집하여 腫瘍細胞數가 1 $\times 10^7$ 개/ml가 되도록 조절한 후 균질화하였다. 細胞液은 10분동안 600g에서 원심분리하여 上層液을 취하였다. 이것을 40분동안 75,000g에서 원심분리하여 침전층과 불침전층을 분획하였다. 각각의 불침전층의 분획에서 acid deoxyribonuclease, β -glucuronidase, acid phosphatase 등의 酵素活性을 0.2% Triton X-100을 처리한 효소용액에서 Shimanoto 등의 방법을 이용하여 측정하였다. 酵素活性은 10⁷개의 細胞당 값으로 표현하였다.

③ 細胞培養

Ehrlich ascites 細胞를 4 $\times 10^6$ 개/ml로 조절하여 EMEM에 부유시키고 37℃에서 加味夏枯草散抽出液을 첨가한 후에 30분 동안 MMC(0.05 μ g/ml)로 처리하였다. 처리한 細胞는 Hank's solution으로 세척한 후 10%의 FCS를 포함한 EMEM에 부유시키고 35mm petri dish를 이용하여 37℃에서 2일간 CO₂ 배양기에서 배양한다. 배양 후 살아있는 細胞는 0.2% trypan blue로 염색한다.

④ MMC 함량의 측정

細胞를 PBS에 용해시킨 각 농도의 加味夏枯草散抽出液으로 10분동안 37℃에서 처리한 후 MMC(10 μ g/ml)에 30분 동안 노출하였다. 노출 후 냉각시키고 원심분리하였다. 上層液에서 MMC의 함량은 microplate reader (Molecular devices)를 이용하여 360nm에서 MMC의 quinone form의 흡광도를 측정하여 결정하였다.

⑤ 統計處理

實驗結果의 統計處理는 Mac Stat View TM+512를 利用하여 unpaired t-test에 準하여 處理하였고, 實驗值의 表現은 Mean \pm SE으로 하였으며, p-value가 最大值 0.05(p<0.05)以下인 境遇를 有意한 것으로 判定하였다.

Ⅲ. 實驗成績

1. in vitro 抗腫瘍效果

1) 腫瘍細胞의 colony 形成抑制實驗

加味夏枯草散 抽出液이 Caki-1 cell 및 hep3B cell과 A549 cell의 成長에 미치는 影響을 colony形成抑制實驗을 통하여 觀察한 結果, 증류수를 投與한 對照群에서는 정상에 比하여 colony 形成이 각각 96.7%, 97.8%, 98.6%로 나타난 데 比하여, 加味夏枯草散 抽出液을 投與한 實驗群에서는 농도의 增加에 따른 腫瘍細胞의 colony 形成抑制效果가 나타났다. 加味夏枯草散抽出液 10^{-7} 에서 10^{-3} mg/ml의 投與는 colony 形成抑制 效果를 뚜렷하게 나타내지는 못하였지만, 0.05mg/ml 이상의 농도에서는 60.1%, 61.2%, 62.4%의 colony 形成抑制效果를 보였으며, 0.1mg/ml의 농도에서는 각각 53.1%, 56.3%, 55.6%의 colony 形成抑制效果를 나타내 농도증가에 따른 抗癌效果를 보인 것으로 나타났으며, 0.5mg/ml의 농도에서는 대략 60% 정도의 癌細胞成長抑制效果를 보였다.

2) SRB assay에 의한 實驗

加味夏枯草散抽出液이 Caki-1 cell, hep3B cell 및 A549 cell의 成長에 미치는 影響을 SRB assay 實驗을 통하여 觀察한 結果, 증류수를 投與한 對照群에서는 510nm에서 흡광도가 각각 99.1%, 98.5%, 98.7%로 나타났으나, 加味夏枯草散抽出液을 投與한 實驗群에서는 농도의 增加에 따른 腫瘍細胞의 成長抑制로 인하여 단백질 부착색소인 SRB 흡광도가 濃度依存的으로 減少하는 傾向을 뚜렷하게 나타냈다. 加味夏枯草散抽出液 10^{-7} 에서 10^{-3} mg/ml의 投與는 흡광도의 減少率이 현저하지는 않지만 減少하는 傾向을 보였으며, 0.1mg/ml의 농도에서는 각각 53.2%, 54.6%, 61.2%의 흡광도를 보여 癌細胞成長 抑制效果를 농도증가에 따라 현저하게 보였으며, 0.5mg/ml의 농도에서는 각각 대조군에 比하여 42.1%, 49.5%,

54.7%의 흡광도를 보여 抑制效果가 뚜렷하게 나타나는 結果를 보였다.

2. in vivo 抗腫瘍效果

1) ascites form of Ehrlich carcinoma에 대한 抗腫瘍效果

마우스에서 ascites form of Ehrlich carcinoma에 대한 加味夏枯草散抽出液과 MMC의 抗腫瘍效果에 대한 實驗을 실시하였다. 腹水癌細胞腫瘍의 경우에 加味夏枯草散抽出液만을 투여한 實驗群에서는 약간의 평균수명의 연장효과를 나타냈으나 뚜렷한 抗腫瘍效果를 나타내지는 못하였다(Table 3).

Table 3. Antitumor activities of the ethanol extract of GHS on ascites form of Ehrlich carcinoma in mice

Dose(mg/kg)	Ad. Route	Mean survival days ^a	T/C ^b	30 days survival/ No. of tested mice
0	P.O. ^c	19.5±0.8	100.0	0/12
50	P.O	20.3±0.9	104.1	0/12
100	P.O	20.8±0.8	106.7	0/12
200	P.O	22.1±0.8	113.3	0/12

Mice were inoculated intraperitoneally with tumor cells(5×10^6). GHS was orally administered daily for 10 days from the second day after the tumor transplantation.

GHS : aquous extract of Gamihagochosan

^a Each value represents the mean±SE of 12 mice

^b Mean survival time of treated mice/mean survival time of control × 100

^c Water was orally administered

化學抗癌療法劑인 MMC 0.5mg/kg을 투여한 결과 마우스의 평균생존기간을 25.1% 연장하는 效果를 나타냈으나, 30일 이상 생존한 마우스는 1마리도 나타나지 않았다(Table 4).

Table 4. Antitumor activities of MMC on ascites form of Ehrlich carcinoma in mice

Dose(mg/kg)	Ad. Route	Mean survival days ^a	T/C ^b	30 days survival/No. of tested mice
0	IP. ^c	19.1±0.8	100	0/12
0.01	IP.	19.5±1.0	102.1	0/12
0.1	IP.	21.9±1.1	114.7	0/12
0.5	IP.	23.9±1.6	125.1	0/12

Mice were inoculated intraperitoneally with tumor cells(5×10^6). MMC was administered intraperitoneally on alternate days for 6 days from the second day after the tumor transplantation.

MMC : mitomycin C

^a Each value represents the mean \pm SE of 12 mice

^b Mean survival time of treated mice/mean survival time of control \times 100

^c Saline was intraperitoneally administered

ascites form of Ehrlich carcinoma에 加味夏枯草散抽出液과 MMC을 병용투여한 후 30일 동안 관찰한 결과 加味夏枯草散抽出液에 의하여 MMC의 抗腫瘍效果가 약간 증가하는 경향을 보였으며, 30일 이상 생존하는 마우스도 늘어나는 결과를 나타냈다. 加味夏枯草散抽出液 200mg/kg와 MMC 0.05mg/kg를 투여한 群에서는 마우스의 평균생존기간이 29.9%以上 증가하였으며, 30일이상 생존한 마우스도 5/12로 증가하는 결과를 보였다. 또한 加味夏枯草散抽出液 200mg/kg와 MMC 0.1mg/kg를 투여한 群에서는 마우스의 평균생존기간이 34.9%以上 증가하였으며, 30일이상 생존한 마우스도 3/12로 증가하는 결과를 보였다(Table 5, 6).

Table 5. Antitumor activities of the ethanol extract of GHS and MMC on ascites form of Ehrlich carcinoma in mice

GHS + MMC Dose(mg/kg)	Ad. Route	Mean survival days ^a	T/C ^b	30 days survival/No. of tested mice
0 + 0	P.O + IP. ^c	19.4±0.9	100.0	0/12
0 + 0.05	P.O + IP.	20.5±1.0	105.8	0/12
50 + 0.05	P.O + IP.	22.1±1.5	113.9	0/12
100 + 0.05	P.O + IP.	23.4±1.1	120.6	3/12
200 + 0.05	P.O + IP.	25.2±1.6	129.9	5/12

Mice were inoculated intraperitoneally with tumor cells(5×10^6). GHS was orally administered daily for 10 days from the second day after the tumor transplantation. MMC was administered intraperitoneally on alternate days for 6 days from the second day after the tumor transplantation.

GHS : aquaous extract of Gamihagochosan

^a Each value represents the mean \pm SE of 12 mice

^b Mean survival time of treated mice/mean survival time of control \times 100

^c Water was orally and saline was intraperitoneally administered

Table 6. Antitumor activities of the ethanol extract of GHS and MMC on ascites form of Ehrlich carcinoma in mice

GHS + MMC Dose(mg/kg)	Ad. Route	Mean survival days ^a	T/C ^b	30 days survival/No. of tested mice
0 + 0	P.O + IP. ^c	19.5±1.0	100.0	0/12
0 + 0.1	P.O + IP.	21.5±1.1	110.2	0/12
50 + 0.1	P.O + IP.	24.2±1.3	124.1	1/12
100 + 0.1	P.O + IP.	25.4±1.7	130.3	2/12
200 + 0.1	P.O + IP.	26.3±2.1	134.9	3/12

Mice were inoculated intraperitoneally with tumor cells(5×10^6). GHS was orally administered daily for 10 days from the second day after the tumor transplantation. MMC was administered intraperitoneally on alternate days for 6 days from the second day after the tumor transplantation.

GHS : aquaous extract of Gamihagochosan

- ^a Each value represents the mean±SE of 12 mice
- ^b Mean survival time of treated mice/mean survival time of control × 100
- ^c Water was orally and saline was intraperitoneally administered

2) solid form of Ehrlich carcinoma에 대한 抗腫瘍效果

加味夏枯草散抽出液과 MMC의 抗腫瘍效果를 마우스의 solid form of Ehrlich carcinoma에 실시한 결과, 腫瘍細胞를 移植한 後 16일 後 腫瘍을 摘출하여 腫瘍의 重量을 측정한 결과 대조군에서는 2.72±0.21g이었으며, 加味夏枯草散抽出液의 투여량을 증가할수록 腫瘍의 크기가 감소하는 效果를 나타냈다. 특히 200mg/kg의 加味夏枯草散抽出液을 투여하였을 때 27.6%의 腫瘍크기減小率을 나타냈다. MMC의 단독투여시에도 0.2mg/kg에서 19.2%, 0.5mg/kg에서 30.3%의 腫瘍의 크기가 감소하는 결과를 보였다(Table 7).

Table 7. Antitumor activities of the ethanol extract of GHS or MMC on solid form of Ehrlich carcinoma in mice

Treatment	Dose(mg/kg)	Ad. Route	Average tumor weight(g) ^a
DDW	0	P.O ^b	2.72±0.21
GHS	50	P.O	2.34±0.15 ^c
GHS	100	P.O	2.13±0.10 ^c
GHS	200	P.O	1.97±0.12 ^{**}
DDW	0	IP. ^c	2.71±0.14
MMC	0.05	IP	2.45±0.16
MMC	0.1	IP	2.35±0.21
MMC	0.2	IP	2.19±0.13 ^c
MMC	0.5	IP	1.89±0.11 ^{**}

Tumor cells were inoculated subcutaneously into the right groin of mice. GHS was administered orally to the mice, daily for 12 days from the second day after the tumor inoculation. MMC was administered intraperitoneally on the alternate days for the 6 days from the second day after tumor transplantation.

GHS : aquaous extract of Gamihagochosan

- ^a Each value represents the mean±SE of 10 mice

^b Water was orally administered

^c Saline was intraperitoneally administered

*, ** : significant different from the control
p<0.05, p<0.01

加味夏枯草散抽出液과 MMC의 병용투여시는 이들 각자를 단독투여하거나 특히 MMC를 단독으로 투여하였을 때보다도 抗腫瘍效果가 뚜렷하게 나타나 腫瘍의 크기를 현저하게 減少하는 결과를 보였다. 특히 加味夏枯草散抽出液 100mg/kg와 MMC 0.1mg/kg를 투여하였을 때 31.8%, 加味夏枯草散抽出液 200mg/kg와 MMC 0.1mg/kg를 투여하였을 때는 42.6%의 腫瘍크기감소효과를 나타냈다. 또한, 加味夏枯草散抽出液 50mg/kg와 MMC 0.2mg/kg를 투여하였을 때는 30.3%, 加味夏枯草散抽出液 100mg/kg와 MMC 0.2mg/kg를 투여하였을 때 37.68%, 加味夏枯草散抽出液 200mg/kg와 MMC 0.2mg/kg를 투여하였을 때는 41.3%의 腫瘍크기감소효과를 나타냈다(Table 8).

Table 8. Antitumor activities of the ethanol extract of GHS and/or MMC on solid form of Ehrlich carcinoma in mice

Treatment	Dose(mg/kg)	Ad. Route	Average tumor weight(g) ^a
GHS + MMC	0 + 0	P.O ^b + IP. ^c	2.77±0.22
GHS + MMC	0 + 0.1	P.O + IP.	2.48±0.23
GHS + MMC	50 + 0.1	P.O + IP.	2.18±0.19
GHS + MMC	100 + 0.1	P.O + IP.	1.89±0.13 ^c
GHS + MMC	200 + 0.1	P.O + IP.	1.59±0.13 ^{**}
GHS + MMC	0 + 0	P.O ^b + IP. ^c	2.71±0.20
GHS + MMC	0 + 0.2	P.O + IP.	2.18±0.22
GHS + MMC	50 + 0.2	P.O + IP.	1.89±0.17 ^c
GHS + MMC	100 + 0.2	P.O + IP.	1.69±0.14 ^{**}
GHS + MMC	200 + 0.2	P.O + IP.	1.59±0.13 ^{**}

Tumor cells were inoculated subcutaneously into the right groin of mice. GHS was administered orally to the mice, daily for 12 days from the second day after the tumor inoculation. MMC was administered intraperitoneally on the alternate days for the 6 days from the second day after tumor transplantation.

GHS : aquaous extract of Gamihagochosan

^a Each value represents the mean \pm SE of 10 mice

^b Water was orally administered

^c Saline was intraperitoneally administered

^{*}, ^{**} : significant different from the MMC value, $p < 0.05$, $p < 0.01$

3) Lysosomal enzymes에 대한 效果

加味夏枯草散抽出液과 MMC의 투여로 인한 Ehrlich ascites carcinoma cell의 lysosomal enzymes에 대한 변화는 10^7 개의 細胞로부터 얻어진 결과로 표현하였다. 원심분리로부터 얻은 비침전층 분획에 나타난 acid deoxyribonuclease, β -glucuronidase, acid phosphatase의 총 활성도는 MMC의 단독투여보다 加味夏枯草散抽出液을 투여한 뒤에 현저하게 증가하였으며, MMC와 加味夏枯草散抽出液을 병용투여한 경우에는 증가하는 效果가 더욱 현저하게 나타났다. 특히 加味夏枯草散抽出液 200mg/kg를 단독 투여하였을 때는 acid deoxyribonuclease는 24.2%, β -glucuronidase는 23.6%, acid phosphatase는 22%의 활성도를 나타냈고, 加味夏枯草散抽出液 200mg/kg와 MMC 0.1mg/kg를 투여하였을 때는 acid deoxyribonuclease는 66.7%, β -glucuronidase는 71.5%, acid phosphatase는 42.5%의 활성도를 나타냈고, 加味夏枯草散抽出液 200mg/kg와 MMC 0.2mg/kg를 투여하였을 때는 acid deoxyribonuclease는 89.3%, β -glucuronidase는 71.5%, acid phosphatase는 57.9%의 활성도를 나타냈다.

Table 9. Effects of the ethanol extract from GHS and/or MMC on the activity of lysosomal enzymes in Ehrlich ascites carcinoma cell

Treatment	Dose(mg/kg)	Activities of lysosomal enzymes ^a		
		acid deoxyribonuclease	β -Glucuronidase	Acid phosphatase
GHS+MMC	0 ^b + 0 ^b	6.6 \pm 0.4	12.3 \pm 0.8	21.4 \pm 1.6
GHS+MMC	100 + 0	7.7 \pm 0.5	13.6 \pm 0.9	25.1 \pm 1.4
GHS+MMC	200 + 0	8.2 \pm 0.4 ^c	15.2 \pm 0.8 ^c	26.1 \pm 1.1 ^c
GHS+MMC	0 + 0.1	7.2 \pm 0.9	13.1 \pm 1.1	24.3 \pm 1.1
GHS+MMC	100 + 0.1	9.1 \pm 0.9	17.2 \pm 0.9 [*]	27.1 \pm 1.1 [*]
GHS+MMC	200 + 0.1	11.0 \pm 0.7 [*]	21.1 \pm 1.0 ^{**}	30.5 \pm 1.2 ^{**}
GHS+MMC	0 + 0.2	8.3 \pm 0.8	14.5 \pm 1.2	25.1 \pm 1.4
GHS+MMC	100 + 0.2	10.1 \pm 1.1	17.6 \pm 1.1 [*]	27.7 \pm 1.10 [*]
GHS+MMC	200 + 0.2	12.5 \pm 0.7 ^{**}	21.1 \pm 0.9 ^{**}	33.8 \pm 1.1 ^{**}

Mice were inoculated intraperitoneally with tumor cells. GHS was orally administered to the mice once a day on days +6 to +10 after the tumor transplantation. MMC was intraperitoneally administered to the mice once two days on days +6, +8, +10 after transplantation.

GHS : aquaous extract of Gamihagochosan

^a Each value represents the mean \pm SE of 12 mice. Enzyme activity: acid deoxyribonuclease in μ g total P liberated/ 10^7 cells/15min, β -glucuronidase in μ g p-nitrophenol liberated/ 10^7 cells/15min, acid phosphatase in μ g inorganic P liberated/ 10^7 cells/15min.

^b Control was orally administered water and intraperitoneally administered saline.

^c Significantly different from the control value, $p < 0.05$

^{*}, ^{**} Significantly different from the MMC value, $p < 0.05$, $p < 0.01$

4) MMC uptake에 대한 效果

MMC를 단독으로 腫瘍細胞에 투여하였을 때, MMC는 서서히 腫瘍細胞內로 uptake되는 결과를 나타내며, 加味夏枯草散抽出液과 병용 투여하였을 때 용량의존적으로 MMC의 uptake

가 약간 증가하는 양상을 보였다.

MMC는 0.05 μ g/ml의 농도에서 細胞毒性效果를 나타냈으며, 같은농도의 加味夏枯草散抽出液은 단독으로는 거의 細胞毒性效果가 효과적으로 나타나지 않았다. 10분동안 加味夏枯草散抽出液으로 전처리한 다음 MMC에 노출하면 MMC의 細胞毒性效果가 증가하는 결과를 보였다.

IV. 考 察

東洋醫學에서는 疾病의 發生 및 進行을 正邪鬪爭의 過程으로 把握하였는데, 正은 正氣를 指稱하는 것으로 六淫 食積 痰飲 等の 邪氣에 對應하는 人體의 抗病力 및 正常的인 生理機能을 總稱하고, 邪는 邪氣로서 發病因子를 總稱하며, 衛氣, 元氣, 血氣, 脾, 肺, 腎 等の 臟腑之氣가 正氣에 屬한다⁴⁵⁻⁴⁹. 正氣의 作用을 西洋醫學의 免疫反應과 比較할 수 있는데, 免疫反應이란 生物體內에 存在하는 自己防禦體系로서 外部로부터 侵入해 오는 各種 異物質이나 生命體를 自己自身과 區別해 내어 侵入者를 防禦하는 生物學的 現象이다. 더욱이 癌細胞와 같이 個體內에서 생기는 것도 除去할 수 있는 監視機能을 免疫體系가 提供하고 있다⁵⁰.

東醫學에서 癌은 積聚, 腫瘍, 腫瘤, 癥瘕, 痞癖, 腸覃, 痞塊, 石瘕, 血蠱, 反胃, 石疽, 石癰 等과 關聯된 疾病으로 認識되고 있다⁵¹⁻⁵⁷. 原因은 風, 寒, 暑, 濕, 燥, 火의 六淫之邪에 해당하는 外因과 氣滯血瘀, 痰結濕聚, 邪毒鬱熱, 臟腑失調, 氣血虧虛의 內因 및 七情不舒, 飲食不節, 過度한 疲勞 等の 不內外因으로 發生한다⁵⁸. 東醫學에서 疾病이 發生하는 主要한 原因은 《黃帝內經》⁵⁹⁻⁶¹에서 “正氣存內 邪不可干”, “邪之所湊 其氣必虛”라 한 바와 같이 正氣가 虛함에 있다고 하였는데, 癌의 發生에 대한 韓醫學的인 見解로 姜⁶²은 正氣가 虛할 때 客邪가 留滯함으로써 氣滯血瘀하고 邪毒積聚

가 塊를 이루어 形成된다 하였고, 李⁶³도 “積之成也 正氣不足 而後邪氣踞之”라 하여, 發病의 原因이 역시 正氣가 虛함에 있음을 強調하고 있으며, 그 治療法으로는 辨證施治에 根據하여 初期의 積塊不大, 正氣未虛한 境遇에는 行氣活血, 軟堅消積法을, 中期의 積塊漸大, 正氣漸傷하여 邪盛正虛한 境遇에는 攻補兼施法을, 末期의 積塊堅硬, 正氣損傷이 甚한 境遇에는 扶正培本法을 使用하고 있고⁶⁴⁻⁶⁷, 金等⁶⁸은 歷代文獻의 癌의 治法을 “健脾, 益氣, 扶正, 養陰, 生津, 理氣, 補腎, 清熱解毒, 軟堅散結, 活血化瘀, 化痰, 抗癌”으로 要約하였고, 久保⁶⁹는 漢藥의 癌治療는 癌細胞에 대한 直接的인 作用을 기대하기보다는 免疫復活, 體力增強, 疼痛緩和 等を 目的으로 使用되는 例가 많다고 하였다. 따라서 東醫學的 治法과 免疫力과의 關係는 아주 密接하다고 볼 수 있다.

西醫學에서 癌이란, 組織의 自律的인 過剩性 成長이며, 이것은 個體에 대하여 意義가 없거나 이롭지 않을뿐더러 正常組織에 대하여 破壞的인 것이라고 定義하고 있다³⁴. 癌의 發生은 生體內 正常體細胞가 發癌物質 等の 環境的 素因과 바이러스 感染, 遺傳的要因, 慢性刺戟 및 突然變異 等に 의하여 어떤 過程을 거쳐 癌細胞로 變形되고 癌細胞化와 癌成長機轉을 거쳐 자라는데, 所謂 免疫監視機能이라는 一種의 個體防禦能力이 弱化되어서 癌細胞化된 非正常細胞의 破壞·除去作用을 못하게 되면 正常細胞가 가진 細胞調節機能을 잃고 제멋대로 成長하게 되는 것으로 說明되고 있다³⁷. 病理學的으로 腫瘍은 個體를 構成하는 正常細胞가 여러 가지 刺戟에 의하여 遺傳子의 形質轉換이 發生하고 그 結果 細胞의 形態學, 生物學, 化學, 物理學, 免疫學的 行動이 변한 變形細胞가 遺傳的으로 代를 이어 無節制한 增殖을 함으로써 形成된 變形細胞集團을 뜻하고, 이를 構成하는 細胞의 形態와 行動樣相에 따라 陽性腫瘍과 惡性腫瘍으로 區分하며, 그 中 惡性腫瘍을 癌이라 한다³⁸.

治療法으로는 外科的 手術療法, 放射線療法, 化學療法, 免疫療法 等이 주로 活用되고 있다.

그러나, 이 中 手術療法과 放射線療법은 局限的療法으로 癌細胞가 原發臟器나 局所 淋巴節까지에만 局限되어 있는 第 I · II 期일 때에 尤호하게 시행할 수 있는 治療法이며, 化學療法과 免疫療法은 全身療法으로 第 III · IV 期 癌의 主治療 方法으로 使用되고 있다. 그러나 外科的 手術療法은 轉移된 腫瘍의 治療가 不可하다는 限界點을 가지고 있으며, 放射線療法은 局所的 浸潤性 腫瘍의 治療에는 尤호하나 全身的 轉移腫瘍의 境遇에는 治療의 制限性이 있고, 化學療法은 化學製劑의 腫瘍에 對한 選擇性과 正常細胞에 對한 毒性作用의 問題點이 있기 때문에, 새로운 治療法으로 免疫療法이 利用되고 있다^{37,39-44)}.

따라서 近來 漢藥劑의 抗癌效果에 대한 研究가 活潑히 進行되고 있는데, 單一藥物의 抗癌效果에 대한 實驗的 研究로 金等^{70,71)}은 人蔘, 鹿茸의 抗體生産 抑制 緩和效果를, 任^{72,73)}은 魚腥草, 鹿血, 豬苓, 穿山甲 등이 正常免疫細胞에는 거의 毒作用을 일으키지 않으면서 強力한 抗癌效果가 있음을, 金等⁷⁴⁻⁷⁷⁾은 紫菀, 東風菜, 靈芝, 仙鶴草, 巴豆 등이 抗癌作用과 免疫反應에 效果를 미친다고 報告하였다.

複合製劑藥物에 대한 研究로는 姜等⁷⁸⁻⁸⁰⁾이 息賁丸, 肥氣丸 및 痞氣丸이 白血病과 淋巴腫患者에서 抽出한 癌細胞에 대한 抗癌效果를, 金等^{80,81)}은 伏梁丸, 痞氣丸 및 消積定元散이 各種 癌細胞柱의 成長阻礙效果를, 尹等^{73,82-86)}은 六君子湯, 小建中湯, 四妙湯, 大柴胡湯, 防毒湯, 半夏白朮天麻湯, 巴豆를 加한 四君子湯, 消積保中丸 및 四物湯 등의 抗癌作用 및 免疫反應에 대한 效果를 報告하였다. 한편 韓·洋方의 抗癌治療의 副作用 때문에 最近에는 東西醫結合에 의한 治療方法으로 抗癌效果가 있는 韓藥材 및 複合處方을 利用한 實驗的 研究가 많이 행해지고 있으며, 東醫와 西醫의 併用 治療가 單獨治療時보다 더 좋은 抗癌效果가 있음이 報告되고 있다⁸⁷⁻⁹⁰⁾.

夏枯草散은 《東醫寶鑑》에 처음 記載된 處方으로, “大治瘰癧 散結氣 有補養厥陰血脈之功”을 目的으로 使用되어 왔으며¹⁾, 瘰癧, 瘰癧,

乳癰, 乳癌 등에 活用되고 있다^{6,11-13,15-18)}. 개개의 藥物에 대한 性味, 歸經 및 效能과 具體的으로 實驗을 통해 報告된 藥物들의 藥理作用을 살펴보면 다음과 같다.

夏枯草는 性味는 苦, 辛, 寒, 無毒⁴⁷⁻¹⁰⁾하고, 肝, 膽의 二經^{4,11-13)}으로 歸經한다. 神農本草經에서 “夏枯草 味苦辛寒 寒熱瘰癧 鼠瘻頭瘡 破癥散癭結氣 脚腫濕痺輕身”¹⁴⁾하였고, 臨床적으로 夏枯草는 血壓降下, 清熱解毒, 軟堅散結, 散瘀止血 등의 效能이 있으므로, 血壓降下, 痢疾菌抑制, 黃疸性肝炎, 腫氣, 肺結核, 子宮出血, 鼻血, 惡露不止 등에 治療效果가 있고, 뿐만아니라 腫硬의 局部病巢를 軟化하고 消失시키는 作用이 있으며, 沃素缺乏으로 인한 甲狀腺腫으로 觸手하여 質硬일 때에 使用하면 體內的 沃素를 증가시켜 硬病巢를 軟化하는 데 有效하며, 婦人乳房에 腫塊가 있어 觸手하여 아프거나 혹은 不痛하는 陽性腫瘍에 使用한다^{6,11-13,15-18)}. 斑猫는 攻毒蝕瘡 破癥散結 등의 效能이 있어서 尋常性乾癬, 神經皮膚炎, 癌 등의 治療에 使用되어 왔다¹⁹⁻²¹⁾. 斑猫는 性味는 辛, 寒, 有毒하고, 大腸, 小腸, 肝, 腎의 4經으로 歸經한다¹⁹⁻²¹⁾. 斑猫는 Cantharidin을 함유하고 있어서 原發性肝癌, 肺癌, 食道癌, 乳癌의 경우에 一時的인 效果를 나타내며, 化學療法, 放射線療法을 併用하면 治療效果가 增強되는 동시에 患者의 白血球數의 급격한 減少를 방지할 수 있다. 原發性肝癌, 肺癌, 直腸癌 등의 경우에 複合으로하여 복용하는 일이 많다. 《中草藥匯編》과 《中藥大辭典》에서는 斑猫에 함유된 Cantharidin은 小鼠의 肉腫180에 대하여 抑制作用이 있고 腫瘍組織을 碎塊 및 糜爛狀으로 만들고, 臨床적으로는 肝癌에 有效하지만 副作用이 強하다고 하였다^{20,21)}.

이에 著者는 夏枯草散에 斑猫를 加한 加味夏枯草散의 抗腫瘍效果와 抗癌化學療法劑와 병용시 抗腫瘍效果에 대하여 實驗하였다.

本 實驗에서 加味夏枯草散抽出液을 腫瘍細胞에 대한 增殖抑制作用을 觀察한 결과, colony 形成抑制實驗과 SRB assay에서 濃度依存的으로 腫瘍細胞의 成長을 抑制하였다.

Ascites form of Ehrlich carcinoma에 대한 抗腫瘍效果 實驗에서 加味夏枯草散抽出液과 MMC를 병용투여한 결과, 加味夏枯草散抽出液에 의하여 MMC의 抗腫瘍效果가 增加하였다. Solid form of Ehrlich carcinoma에 대한 抗腫瘍效果 實驗에서 加味夏枯草散抽出液과 MMC를 병용 투여하였을 경우, MMC를 단독 투여하였을 경우보다 腫瘍의 크기가 현저하게 減少하는 결과를 보였다. Ehrlich ascites carcinoma cell에 加味夏枯草散抽出液과 MMC를 병용 투여하였을 경우, MMC를 단독 투여하였을 경우보다 lysosomal enzymes의 活性이 強하게 나타났다.

本 實驗을 통하여 加味夏枯草散의 ethanol 抽出液은 MMC의 抗腫瘍效果를 증가시키는 效果를 보였다. 또한 加味夏枯草散抽出液은 마우스에서 solid form of Ehrlich ascites carcinoma의 증가를 抑制시키는 效果를 나타냈으며, 생존기간 實驗에서는 加味夏枯草散抽出液과 MMC를 병용투여시 ascites tumor에 대하여 MMC를 단독으로 투여하였을 때와 비교하여 有意하게 抑制作用을 증가시키는 결과를 보였다. Shimanoto 等⁹¹⁾은 生存率實驗에서 plasmin이 抗腫瘍效果를 보이지는 않았지만 plasmin과 MMC를 병용투여하였을 때는 MMC를 단독으로 투여하였을 때보다도 생존기간을 더욱 연장하는 效果를 보였다. 이러한 작용의 기전에 대하여 plasmin은 in vivo상태에서 腫瘍의 lysosomes을 불안정화시키고, plasmin의 병용투여로 lysosomal enzymes의 유리를 증가시키므로써 MMC의 細胞毒性效果를 향상시키는 것으로 결론지었다. 또한, 加味夏枯草散抽出液이 腫瘍細胞의 lysosomal enzymes을 불안정화시킴으로, 加味夏枯草散抽出物과 MMC를 병용투여하였을 때 腫瘍細胞의 상층액부분에서 lysosomal enzymes활성이 MMC단독투여하여 얻어진 것보다 훨씬 強하게 나타났다. 결론적으로 加味夏枯草散抽出液과 MMC를 병용투여하였을 때 ascites tumor에 대한 抗腫瘍效果가 나타나는 것은 적어도 부분적으로는 加味夏枯草散抽出液의

lysosomal labilizing action에 기인한다고 생각된다. 加味夏枯草散抽出液과 MMC를 병용투여한 in vivo 實驗에서 加味夏枯草散抽出液이 MMC의 腫瘍細胞內로의 침투를 증가시켜 MMC의 細胞毒性效果를 強하게 하는 것으로 생각된다. 이러한 결과로부터 加味夏枯草散抽出液이 현저한 抗腫瘍效果가 없다고 할지라도 加味夏枯草散抽出液이 MMC의 效果를 향진시키는 것으로 생각된다. 앞으로 MMC의 副作用에 대한 加味夏枯草散抽出液의 效果와 加味夏枯草散抽出液의 活性機轉에 대한 연구가 계속 되어야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

加味夏枯草散 抽出液으로 colony 形成抑制實驗과 SRB assay 및 抗癌化學療法劑인 MMC의 抗腫瘍效果의 增進與否와 Ehrlich ascites carcinoma cell의 lysosomal enzymes에 대한 活性 等を 觀察하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 加味夏枯草散 抽出液을 Caki-1 cell, hep 3B 및 A549에 투여한 결과, colony形成抑制實驗과 SRB assay에서 濃度依存的으로 腫瘍細胞의 成長을 抑制하였다.
2. Ascites form of Ehrlich carcinoma에 대한 抗腫瘍效果 實驗에서 加味夏枯草散 抽出液과 MMC를 병용투여한 결과, 加味夏枯草散 抽出液에 의하여 MMC의 抗腫瘍效果가 약간 增加하는 경향을 보였다.
3. Solid form of Ehrlich carcinoma에 대한 抗腫瘍效果 實驗에서 加味夏枯草散 抽出液과 MMC를 병용 투여하였을 경우, MMC를 단독 투여 하였을 경우보다 腫瘍의 크기가 현저하게 減少하였다.
4. Ehrlich ascites carcinoma cell에 加味夏枯草散 抽出液과 MMC를 병용 투여하였을 경우, MMC를 단독 투여하였을 경우보다

lysosomal enzymes의 活性이 훨씬 强하게 나타났다.

以上の 결과로부터 加味夏枯草散 抽出液이 직접적으로 현저한 抗腫瘍效果가 없다고 할지라도 加味夏枯草散 抽出液이 MMC의 효과를 亢進시키는 것으로 보아 間接적인 抗腫瘍效果가 있는 것으로 思料된다.

參考文獻

1. 許 浚 : 國譯增補 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p. 879, 1992.
2. 孟華燮 : 方藥指針, 서울, 南山堂, p. 578, 1983.
3. 申載鏞 : 方藥合編解說, 서울, 新光文化社, pp. 187~188, 1989.
4. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林出版社, pp. 287~288, 1988.
5. 申吉求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, pp. 623~625, 1973.
6. 金晟壽 : 標準本草學, 서울, 進明出版社, pp. 414~415, 1974.
7. 李時珍 : 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, pp. 957~958, 1982.
8. 唐慎微 : 經史證類大觀本草, 서울, 崇文社, p. 325, 1976.
9. 許 浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p. 737, 1987.
10. 楊時秦 : 本草述鉤元, 上海, 上海科學技術出版社, p. 219, 1958.
11. 江蘇新醫學院 : 中藥大辭典(下), 上海, 上海科學技術出版社, pp. 1827~1829, 1977.
12. 戴克敏等編 : 常用中藥的藥理和應用, 江蘇科學技術出版社, pp. 201~202, 1981.
13. 李尙仁 外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp. 108~110, 1982.
14. 陳兆桓 : 神農本草經, 台北, 文光圖書, p. 235, 1982.
15. 洪元植 : 現代人的 癌治療, 서울, 英文社, pp. 348~349, 1980.
16. 陸昌洙 外 : 漢藥의 藥理, 成分, 臨床應用, 서울, 癸丑文化社, pp. 380~382, 1982.
17. Dan Bensky, Andrew Gamble : Chinese Herbal Medicine, Seattle, Eastland Press, pp. 82~83, 1986.
18. 陳存仁 : 漢方醫藥大事典, 서울, 松嶽出版社, pp. 98~101, 1988.

19. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林出版社, pp. 711~712, 1988.
20. 李尙仁 外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p. 573, 1982.
21. 陳存仁 : 漢方醫藥大事典, 서울, 松嶽出版社, pp. 200~203, 1988..
22. 李惠景 : 夏枯草, 玄胡索, 甘菊復方水針이 自發性高血壓 환자의 血壓 및 血清에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1986.
23. 李相坤 : 夏枯草가 甲狀腺機能亢進症의 代謝産物에 미치는 影響, 大邱韓醫科大學大學院, 1991.
24. Yamasaki K, Otake T, Mori H, Ueba N, Kurokawa Y, Shiota K, Yuge T : Screening test of crude drug extract on anti-HIV activity, Japan, Yakugaku Zasshi, 113(11), pp. 818~824, 1993.
25. Yao X.J., Wainberg M.A., Parniak M.A. : Mechanism of inhibition of HIV-1 infection *in vitro* by purified extract of *prunella vulgaris*, Canada, Virology, 187(1), pp. 56~62, 1992.
26. Zheng M.S., Zhngng Y.Z. : Anti-HBsAgherbs employing ELISA technique, Nanchang, Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih., 10(9), pp. 560~562, 518, 1990.
27. Zheng M. : Experimental study 427 herbs with antivital action against the herpes simplex virus, Nanchang, Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih., 10(1), pp. 39~41, 6, 1990.
28. Tabbu H.D., Chang R.S., Smith K.M. : Isolation, purification, and partial characterization of prunellin, an anti-HIV component from aqueous extracts of *prunella vulgaris*, Antiviral Res., 11(5-6), pp. 263~273, 1989.
29. Lee K.H., Lin Y.M., Wu T.S., Zhang D.C., Yamagishi T., Hayashi T., Hall I.H., Chang J.J., Wu R.Y., Yang T.H. : The cytotoxic principles of *prunella vulgaris*, *Psychotria serpens*, and *Hyptis capitata* : ursolic acid and related derivatives, Planta Med., 54(4), pp. 308~311, 1988.
30. 蔡禹錫 : 免疫疾患의 韓方概念과 治療에 關한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, 第11卷, 第2號, pp. 54~91
31. Lee N.K. : The response of human bladder cancer cell line to cytotoxic drug a comparison of colony formation assay and isotope uptake assay, JKMA, 31 : 435, 1988.
32. Ysukagoshi S. : Fundamental approaches to cancer immunotherapy using a protein bound polysaccharide Ps. K. with special reference to its clinical application in Mizuno D., Chihara G., Fukuoka F., Yamamura Y., eds "Host deference against cancer and its potentiation" University of Tokyo Press, Tokyo 365, 1975.
33. Rubinstein L.V., Shoemaker R.H., Paul K.D., Simon R.M. : Comparison of in vitro anticancer-drug-screening data generated with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines, J. Natl. Cancer Inst. 82 : 1113~1118, 1990.
34. 서울大學教 醫科大學 : 腫瘍學, 서울, 서울大學教 出版部, pp.1~2, 27, 1990.
35. 김정순 : 免疫原論, 서울, 新光出版社, pp.233~254, 1990.
36. 崔昇勳 : 韓醫學의 腫瘍에 對한 認識과 病理理論, 大韓韓方腫瘍學會誌, Vol.1, No.1, pp. 11~28, 1995.
37. 서울大學教 醫科大學 : 免疫學, 서울, 서울大學教 出版部, pp.1~2, 265~266, 271~272, 1990.

38. 大韓病理學會編 : 病理學, 서울, 高文社, pp. 57, 225, 239~256, 1990.
39. 洪元植 : 現代中共의 癌治療, 서울, 英文社, pp. 81~85, 366~367, 372~375, 378~379, 1980.
40. 김재옥 外 : 子宮經部癌患者에서 放射線治療가 免疫機能에 미치는 影響, 서울, 大韓癌學會誌, 21(2) : 363~375, 1985.
41. 서울大學敎 醫科大學 : 腫瘍學, 서울, 서울大學敎 出版部, pp.1~3, 91~95, 126, 1990.
42. 朴文鎬 : 內科學, 서울, 博愛出版社, pp.2446~2450, 2466~2475, 1976.
43. 張代釗 : 中西醫結合治療癌症, 山西, 山西人民出版社, pp.1~20, 25, 1984.
44. 鄭顯明 : 扶正培本法在癌症治療的應用和地位, 雲南中醫雜誌(第14卷4期), 1994.
45. 鄭遇悅 : 韓方病理學, 裡里, 圓光大學校 韓醫科大學病理學敎室, pp. 94~106, 1985.
46. 蔡禹錫 : 免疫疾患의 韓方概念과 治療에 관한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, 第11卷, 第2號, pp. 54~91.
47. 宋驚永 : 中醫病因病機學, 人民衛生出版社, 北京, pp. 62~67, 1987.
48. 上海中醫學院編 : 中醫學基礎, 商務印書館香港分館, 香港, pp. 110~112, 1981.
49. 上海第一醫藥院 臟象專門研究組 : 大祖國醫藥腎本質的探討, 中華內科雜誌(22), pp. 80, 1976.
50. 김길현 外 : 免疫調節物質 探索의 實驗的 接近, 免疫調節醫藥品研究會, pp. 1, 1996.
51. 錢伯文 : 腫瘤的辨證施治, 上海, 上海科學技術出版社, pp.1~10, 161~162, 220~222, 1980.
52. 郁仁在 : 中醫腫瘤學, 北京, pp.2~11, 131~135, 166~171, 1992.
53. 顧伯康 : 中醫外科學, 上海, 上海科學技術出版社, p.105, 107, 1989.
54. 裴元植 : 癌의 東洋方併用治法에 對한 報告, 大韓韓醫學會誌, 2:53~57, 1986.
55. 許 浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p. 446~447, 1987.
56. 巢元方 : 巢氏諸病源候論, 台中, 昭人出版社, pp. 6~12(卷19), 11~16(卷37), 1958.
57. 金圭東 : 東醫內科學, 서울, 麗江出版社, pp.221~223, 1992.
58. 孫桂芝 : 常見腫瘤診治指南, 北京, 中國科學技術出版社, pp.1~12, 45, 1991.
59. 高士宗 : 黃帝素問直解, 北京, 河南科學技術出版社, pp. 530, 1982.
60. 馬元臺, 張隱庵 : 黃帝內經(素問), 臺北, 臺聯國風出版社, pp. 241, 1977.
61. 楊維傑 : 黃帝內經素問解釋, 서울, 成輔社, pp. 3, 266, 1980.
62. 姜廷良 外 : 六味地黃湯防治腫瘤的 實驗研究, 北京, 中醫雜誌, pp. 471, 1983.
63. 李仲梓 : 醫宗必讀, 臺南, 綜合出版社, pp. 255~256, 1976.
64. 程國彭 : 醫學心悟, 香港, 友聯出版社, pp. 28~29, 40~41, 1961.
65. 王龍寶 : 胃癌的辨證施治, 上海, 上海中醫藥雜誌, 10 : 6, 1987.
66. 李 岩 : 腫瘤臨症備要, 北京, 人民衛生出版社, pp.7~10, 15~17, 19, 25, 39, 1979.
67. 王龍寶 : 胃癌的辨證施治, 上海, 上海中醫藥雜誌, pp.6~7, 1987.
68. 金漢燮 : 癌의 治法, 治方 및 治療藥物에 관한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, 第10卷 第1號, pp. 161~166, 1989.
69. 久保道德 : 金一赫譯, 漢方醫藥學, 서울, 東南出版社, pp. 311, 1985.
70. 하대유 外 : 高麗人蔘이 3-Methylcholanthrene의 發癌能에 미치는 影響, 大50. 韓醫學會誌, 27(6) : 541, 1984.
71. 金光湖 外 : 數種 韓藥材가 制癌劑 및 Gluco-corticoid의 抗體生產抑制作用에 미치는 影響, 趙永植 博士 華甲記念論文集, pp. 1041~1050, 1981.
72. 任宰訓 : 數種의 韓藥物이 癌細胞 感受性에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院, 1986.

73. 尹相協 : 六君子湯, 小元柴胡湯, 魚腥草 및 加味方의 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, 1991.
74. 金尙勳 : 紫菀이 抗癌作用 및 免疫反應에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院, 1990.
75. 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, 1990.
76. 吳千植 : 靈芝 山慈姑 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, 1987.
77. 趙誠玉 : 修治巴豆 및 巴豆加黃連의 細胞 毒性和 抗腫瘍效果에 關한 實驗的 研究, 圓光大學校大學院, 1994.
78. 姜大根 : 息賁丸 및 肥氣丸이 白血病과 淋巴腫患者에서 抽出한 癌細胞에 미치는 效果, 圓光大學校大學院, 1992.
79. 金剛山 : 肥氣丸 및 消積正元散이 사람의 各種 癌細胞柱의 成長阻礙에 미치는 效果, 圓光大學校大學院, 1992.
80. 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, 圓光大學校大學院, 1991.
81. 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, 圓光大學校大學院, 1989.
82. 金漢燮 : 四妙湯 大元柴胡湯 및 構成藥劑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, 1989.
83. 李鳳雨 : 防毒湯의 抗腫瘍效果和 免疫反應에 關한 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1993.
84. 白泰鉉 : 半夏白朮天麻湯과 半夏白朮天麻湯加味方의 抗癌效果和 免疫反應에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院, 1994.
85. 李永燥 : 巴豆를 加味한 四君子湯 및 四物湯의 抗癌效果에 대한 研究, 圓光大學校大學院, 1993.
86. 魯勳政 : 消積保中丸의 抗腫瘍效果에 關한 研究, 圓光大學校大學院, 1995.
87. 陳長懷 外 : 養正消瘤湯伍用化療治療中晚期胃腸癌臨床觀察, 論文選集, 中國中醫研究院廣安門醫院, pp. 86~88, 1993.
88. 陳長懷 : 清開靈灌湯治療化療所致轉氨酶異常, 論文選集, 中國中醫研究院廣安門醫院, pp. 88~89, 1993.
89. 劉炳學中 外 : 二朮鬱靈丹伍用化療治療食管癌30例療效觀察, 中醫西醫結合腫瘤 新進展研討會論文集, 中國中西醫結合學會腫瘤專業委員會, 中國中醫研究院廣安門醫院, pp. 33~35, 1993.
90. 程劍華 外 : 芪苓湯豫防順鉑腎毒性和治療化療性腎功能衰竭的臨床研究, 中醫中西醫結合腫瘤新進展研討會論文集, 中國中西醫結合學會腫瘤專業委員會, 中國中醫研究院廣安門醫院, pp. 78~80, 1993.
91. Shimanoto M., Niitani H., Taniguchi T., Inagaki J., Kimura K. : Gann 60 : 33, 1069.

ABSTRACT

Influence of *Gamihagochosan* on The Antitumor effect of Anticancer Drug and The Proliferation of Tumor Cell Lines

In order to investigate the effects of Gamihagochosan Extract(加味夏枯草散抽出液) on antitumor effects after human cell lines(A549, hep3B, Caki-1, Ehrlich) transplantation into the peritoneal cavity or right groin in mice induced by RPMI1640 and GIBCO etc., the extracts of its herbal medicines were orally administered for 10 or 12 days.

Experimental studies were performed for measurement of antitumor effect of Mitomycin C(MMC) and lysosomal enzyme's activities using colony forming efficiency, SRB assay which were regarded as a valuable method for the measurement of antitumor effects of unknown compound on tumor cell lines.

The results obtained in this studies were as follows :

1. The change of colony-forming efficiency and SRB assay of Caki-1 cells, hep3B and A549 Cells after exposure to the extract of Gamihagochosan extract depressed the growth of tumor cells by concentration of Gamihagochosan.
2. Antitumor activity of the ethanol extract from Gamihgochosan extract and MMC on ascites form of Ehrlich carcinoma in mice is slightly improved. Especially the mean of survival times in the group of 200mg/kg and MMC 0.1mg/kg is improved over 34.9%.
3. When Gamihgochosan extract and MMC are administered together, the weight of tumor is more decreased than MMC alone.
4. The lysosomal enzyme's activities of the Gamihagochosan extract and MMC are more significantly improved than MMC alone.

According to the above result, it could be suggested that Gamihagochosan extract has indirect antitumor effect by the increase of MMC uptake.