

## 蜈蚣이 마우스에서 2段階 發癌化 過程에 미치는 影響

동국대학교 한의과대학 내과학교실 \*

동국대학교 의과대학 약리학교실 \*\*

한서대학 한방병원 내과 \*\*\*

김길섭 · 황영근 · 윤철호 · 서운교 · 김종대 · 정지천\*, 남경수\*\*, 강정준\*\*\*

### ABSTRACT

#### Effects of Scolopendrae corpus on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mice

Kim Kil-Sub · Hwang Young-Guen, Yoon Cheol-Ho · Seo  
Un-Kyo · Kim Jong-Dae, Jeong Ji-Cheon\*,  
Nam Kyung-Soo\*\*, Kang Jeong-Jun\*\*\*

\* Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine,  
Dongguk University

\*\* Dept. of Pharmacology, College of Medicine, Dongguk University

\*\*\* Dept. of Internal Medicine, Hospital of Oriental Medicine,  
Hanseu University

To clarify the effects of Scolopendrae corpus(S-C) on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mice was investigated. In vivo system, S-C were seen to

---

접수일 : 1999. 5. 10

심사일 : 1999. 7. 15

gave an inhibitory activity on TPA-induced mouse ear edema. In addition, the S-C were proved to have antitumor-promoting activity in two-stage mouse skin carcinogenesis induced by DMBA and two-stage mouse lung carcinogenesis induced by 4-NQO as a initiator plus TPA and glycerol as a promoter. Moreover, S-C significantly exhibited an cytolytic effect in HepG<sub>2</sub> cells and showed significant antitumor activity against Sarcoma-180 bearing mice by oral administration. These results suggest that S-C could be effective in adjuvant chemotherapy for human cancer.

Key Words : Scolopendrae corpus, two-stage carcinogenesis

## I. 緒論

생체에서 면역반응은 노화되어 갈수록 저하되어 간다는 것은 잘 알려져 있다.<sup>1-3)</sup> 또한, 나이가 들수록 면역반응의 저하로 인해 암에 걸릴 확률도 점차로 높아지며 특히 간장 및 호흡기 계통에서 암의 발생은 크게 증가하고 있다<sup>4)</sup>.

발암은 initiation과 promotion의 두 단계 과정을 거쳐 발생한다고 설명되고 있다. 즉, initiator가 DNA와 결합해서 돌연변이를 일으켜 정상세포를 잠복성 종양세포로 유도한 후, 여기에 promoter의 반복적 자극이 가해지면 비로서 종양세포의 분화가 이루어져 발암이 촉진된다는 것이다<sup>5)</sup>. 그러므로, initiation 혹은 promotion중 어느 한 과정이나 두 과정을 동시에 저해할 수 있다면 발암의 억제에 유도되어질 수 있다고 여겨진다.

한의학에서 암은 癥瘕, 積聚, 疝膈, 反胃, 腸覃, 石瘕 등으로 표현되며<sup>6,7)</sup>, 치료에는 健脾益氣, 健脾補腎, 益氣補血, 滋陰溫陽 등의 扶正法과 瀉熱解毒, 化痰軟堅, 行氣散結 및 活血化癥法 등의 祛邪法이 활용되고 있다<sup>8-10)</sup>. 특히, 活血化癥法은 암의 형성과 발전 과정에서 중요한 병리기체의 하나인 瘀血을 풀기 위하여 응용되는데<sup>11)</sup>, 면역증강 효과

<sup>12)</sup>, 항암<sup>13)</sup> 및 암 전이 억제<sup>14)</sup> 효과가 있다고 보고되며, 근래에는 蟲類약물도 活血化癥法에 활용되고 있다<sup>6,7,15)</sup>.

오공(蜈蚣, *Scolopendrae corpus*)은 攻毒散結의 효능으로 瘡瘍腫毒, 瘰癧潰爛, 毒蛇咬傷 등의 병증을 치료<sup>6,16)</sup>하는데 사용되는 곤충류의 일종으로 그외 고혈압<sup>17)</sup>과 혈전증<sup>18)</sup> 등에 대한 효과가 보고되어 있다. 그런데, 실제로 蜈蚣은 임상적으로 암환자의 치료에 활용되고 있으나<sup>6,15)</sup> 아직 이를 뒷받침할 만한 실험적 연구가 미비한 상태이다.

이에 저자들은 蜈蚣이 발암물질에 의한 2단계 발암화 과정에 미치는 효과를 관찰한 후 실제로 *in vivo*에서 종양을 유발시킨 후, 효과를 조사하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 다음과 같이 보고한다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 약재

본 실험에 사용한 蜈蚣(*Scolopendrae corpus*)은 동국대학교 부속 한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였으며, 표준제품은 동국대학교

의과대학 내과학교실에 보관중이다.

## 2) 동물 및 세포

실험에 사용한 동물은 효창 사이언스에서 6주령의 웅성 ICR mouse를 구입한 후 본 대학 동물 사육실에서 일정한 조건하(온도 :  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도 : 40~60%)에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 한편, 본 실험에 사용한 HepG<sub>2</sub> 세포, Chang 세포, K562 및 Sarcoma-180은 한국과학기술연구원 생명공학연구소(대전, 한국)에서 분양받아 실험에 사용하였다.

## 3) 시약 및 기기

본 실험에 사용한 BSA(bovine serum albumin), 4-NQO(4-nitroquinoline N-oxide), DMBA(7,12-dimethylbenz[a]anthracene), TPA(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate), GSH(reduced glutathione), DMEM(Modified Eagle's Medium) 및 RPMI 1640은 Sigma사(Sigma Chem. Co., St. Louis, MO, U.S.A.)의 제품을 사용하였으며, 그 외의 모든 시약은 특급품을 사용하였다. 또한, 사용기기로는 rotary evaporator는 BUCHI사(BUCHI RE121, Switzerland), UV spectrophotometer는 Gilford사(Gilford, Response<sup>TM</sup>, U.S.A.)를 각각 사용하였다.

## 2. 方法

### 1) 蜈蚣 methanol 추출물의 제조

蜈蚣 14g을 세절하여 methanol 350ml를 넣고 회전 감압 증류기를 사용하여  $45^\circ\text{C}$ 에서 2시간 추출한 다음 methanol을 완전히 증발시키고 남은蜈蚣 엑기스를 평량하여 다시 ethanol에 용해하여 사용하였다.

2) TPA를 사용한 마우스의 귀 종양 측정 Okuyama 등<sup>19,20)</sup>의 방법에 따라 시행하였는데,

ICR 마우스 5마리씩을 한 군으로 하였다.蜈蚣 메탄올 엑기스 10mg을 ethyl alcohol 200 $\mu\text{l}$ 에 녹인 후 실험용액으로 하였다. 이 용액 20 $\mu\text{l}$ 를 micropipet을 이용하여 오른쪽 귀의 안쪽 및 바깥쪽에 도포한다. 실험용액을 도포한 지 30분이 지난 다음, TPA (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )를 acetone에 녹인 후 2  $\mu\text{g}$ 에 해당되는 양을 귀의 안쪽 및 바깥쪽에 각각 바른다. 귀의 두께는 TPA투여 5시간 후에 thickness gauge(Ozaki MFG. Co. Ltd, Japan)를 사용하여 측정하였다.

### 3) 발암화의 2단계 실험

본 실험에서는 mouse의 피부 및 폐에서 2단계로 tumor promotion 활성을 일으킨 다음,蜈蚣 추출액이 종양의 발현에 미치는 효과를 조사하였다.

#### ① 마우스 피부의 2단계 발암화 측정<sup>21)</sup>

6주령의 ICR계 웅성 마우스를 사용하여 각 마우스의 등을 면도날을 사용하여 털을 제거한다. 그 뒤 발암 개시 물질인 DMBA를 acetone 0.1ml에 150 $\mu\text{g}$ (585nmol)의 비율로 녹인 후 피부에 도포한다. 일주일 뒤 TPA(2 $\mu\text{g}$ , 3.25nmol)를 acetone에 녹인 다음 일 주일에 두 번씩 마우스의 같은 부위에 20주 동안 도포하였다.蜈蚣 추출물은 10배 희석하여 20주 동안 계속적으로 경구로 투여하였으며 tumor의 수는 일 주일에 한번 측정하였다. 한편, 대조군에서는蜈蚣 추출물 대신 물을 자유로이 먹도록 하였으며, 각각의 실험군은 마우스 20마리를 한 군으로 하였다.

#### ② 마우스 폐의 2단계 발암화 측정<sup>22)</sup>

실험동물로는 6주령의 웅성 ICR mouse를 사용하였으며, 각 실험군은 10마리씩으로 하였다. Initiator로는 4-NQO를 olive oil과 cholesterol(20:1)에 녹인 후 실험 첫날 subcutaneous injection으로 투여하여 initiation을 야기하였다.

Initiation을 유발한 후 4주가 지난 후부터, 실험 군을 나누어 한 군은 蜈蚣 추출물에 5% glycerol을 혼합하여 투여하고 다른 군은 5% glycerol만을 투여하였는데 그 기간은 20주 지속되도록 하였다. 그 뒤 마우스를 희생시키고 폐를 적출하여 formaldehyde로 고정하였다.

#### 4) 인간 간암세포(HepG<sub>2</sub>) 및 정상 간세포(Chang cell)에서 cytotoxicity 측정<sup>23)</sup>

Microfilter plate well에 HepG<sub>2</sub> 및 Chang cell의 수를  $1 \times 10^5$  cell로 조절한 다음, 10% FBS Dulbecco's DMEM 배지에 2시간 배양한 후, 蜈蚣 추출액 원액을 각각 10배, 50배, 100배 및 200배로 희석한 다음 well에 가하여 HepG<sub>2</sub>에 대한 cytotoxicity를 관찰하였다. 같은 조건으로 다시 22시간 배양한 뒤 살아있는 세포의 확인은 MTT assay로 시행하여 그 결과를 cell viability로 나타내었다<sup>24)</sup>. 한편, 대조군으로는 human normal liver cell line인 Chang cell을 사용하여 위와 같은 방법으로 활성을 측정하였다.

#### 5) 인간 간암세포 및 정상 간세포에서의 glutathione 함량 측정<sup>25)</sup>

Culture flask로부터 Chang cell 및 HepG<sub>2</sub> 세포를 회수한 후 PBS로 2회 세척하고 1.15% KCl를 포함하는 50mM potassium phosphate buffer에 suspension하였다. 그 후, chip type sonicator(Sonics & Materials 사, U.S.A.)를 사용하여 (10초간 3회) 세포막을 파괴한 다음 4℃, 10,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상정액을 microsomal fraction으로 사용하였다. GSH (reduced glutathione)의 양은 총 glutathione의 양에서 산화형 glutathione(GSSG)의 양을 뺀 값으로 나타내었으며, glutathione 생합성의 inhibitor인 L-buthionine-(S,R)-sulfoximine을 24시간 동안 50  $\mu$ M을 투여한 세포와 투여하지 않은

세포에서의 nonprotein SH-substance의 값을 빼고 나타내었다.

#### 6) Glutathion-S-transferase(GST) 활성 측정

Total GST activity의 활성 측정은 Habig의 방법<sup>26)</sup>에 의해 실시하였다. 활성 측정에 사용한 효소원은 간 homogenate를 105,000 rpm에서 원심분리한 다음 1mM GSH(reduced glutathione)를 포함하는 100mM potassium phosphate buffer(pH 6.5) 및 1mM 1-chloro 2,4-dinitrobenzene을 사용하였다.

#### 7) Sarcoma-180에 의한 마우스 복수암에 대한 실험<sup>27)</sup>

##### ① Sarcoma-180 (S-180)의 계대보존 및 복수암의 유발

S-180은 세포수가  $1 \times 10^7$  cells/ml되게 RPMI-1640배지에 유지시켜 ICR mouse의 복강에 0.1ml씩 주사하여 계대보존하였다. 실험에 사용할 때에는 ICR 마우스에 in vivo 계대중인 S-180세포를 멸균된 주사기로 채취하였다. 채취한 암세포를 다시 RPMI-1640 배지로 희석하여 S-180세포의 농도가  $1 \times 10^6$  cells/mouse되게 하였다. 이와 같이 희석한 S-180 세포액을 ICR 마우스의 복강에 주사하였다.

##### ② Sarcoma-180에 의해 유발된 복수암에 미치는 蜈蚣 추출물의 효과

S-180 복수암을 ICR마우스에 유발시킨 24시간 후부터 蜈蚣 추출물을 5배 희석하여 40일 동안 마우스에 경구 투여하였다. 각 실험군의 마우스는 8마리로 하였으며 암세포의 접종일로 부터 30일까지 매일 마우스의 생존여부를 관찰하였다.

#### 8) 단백질 함량 측정

단백질의 양은 bovine serum albumin을 표준

품으로 하여 BCA(Bicinchoninic acid, Sigma Chemicals)법으로 측정하였다.

### 9) 유의성 검정

실험 결과의 유의성 검정은 Student's t-test를 이용하여 상호 비교하여 관찰하였다.

## III. 成績

### 1. TPA를 사용한 마우스의 귀 종양에 미치는 영향

TPA가 유도하는 mouse의 귀 종양에 미치는 蜈蚣 메탄올 엑기스의 영향을 Fig. 1에 나타내었다. 그림에서와 같이 mouse 귀 종양의 억제는 蜈蚣 메탄올 엑기스의 투여량이 0.5mg에서는 35.20 ± 4.90%이었으나, 蜈蚣 엑기스의 투여량에 비례하여 증가하여 2mg에서는 80.10 ± 6.70%로 나타났다.

### 2. 마우스 피부의 2단계 발암화에 미치는 영향

DMBA에 의해 유발된 피부 종양은 대조군에서 5주째부터 나타나기 시작하였으며, 蜈蚣 추출물을 투여한 실험군에서는 6주째에 종양이 형성되기 시작했다. 그리고, 모든 실험 동물에 대한 종양의 발현은 Fig. 2에 나타난 바와 같이 대조군에서는 12주째에 모든 실험 동물에서 종양이 관찰되었으나, 蜈蚣 추출물을 투여한 실험군에서는 15주째에 종양이 완전히 발현되었다.

### 3. 마우스 폐의 2단계 발암화에 미치는 영향

NQO로 initiate된 mouse에 대하여 폐암의 발생을 살펴보면, 5% glycerol만을 투여한 대조군의 경우 실험 동물 모두에서 종양이 발생하였으나, 5% glycerol에 蜈蚣 추출물을 첨가하여 투여한 경우 실험 동물의 76%만이 종양이 발생되었

다. 그리고, 각 실험군에서 종양이 발생한 실험동물당 종양세포의 수는 대조군은 9.20 개였으나 蜈蚣 추출물을 투여한 실험군의 경우 3.56개로 나타나 蜈蚣 추출물은 NQO로 유도된 폐암의 발생을 약 61.3% 억제하는 것으로 나타났다(Table 1).

### 4. HepG<sub>2</sub>와 Chang cell의 활성에 미치는 영향

Fig. 3에 나타난 바와 같이, 蜈蚣 추출물의 농도가 증가함에 따라 사람 간암세포인 HepG<sub>2</sub>에 미치는 cytotoxicity는 증가하는 것을 알 수 있었다. 50배~10배 희석액에서 HepG<sub>2</sub>에 대한 cytotoxicity가 가장 효과가 큰 것으로 나타났다. 한편, 이러한 농도에서는 대조군인 사람의 정상 간세포 Chang cell과 비교해 볼 때 유의성 있게 cytotoxicity가 현저히 증가하는 것으로 나타나 蜈蚣 추출물은 어떠한 기전에 의해 간암세포의 증식을 억제하는 것으로 생각되었다.

### 5. HepG<sub>2</sub>와 Chang cell에서 GST 활성과 glutathione 함량에 미치는 영향

蜈蚣 추출물의 HepG<sub>2</sub> cell에 대한 cytotoxicity의 증가 원인을 알아보기 위해 HepG<sub>2</sub> cell 및 Chang cell의 total GST 활성을 측정하고 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다.

HepG<sub>2</sub> 세포에서 GST의 활성은 25.9 ± 2.1 nmol/min/mg protein으로 Chang liver cell에서의 28.7 ± 4.8 nmol/min/mg protein보다 약간 낮게 나타났다. 그러나, GSH의 함량은 Chang liver cell에서는 65.0 ± 6.0 nmol/mg protein으로 나타나 HepG<sub>2</sub>의 경우인 32.4 ± 4.9 nmol/mg protein보다 거의 2배정도 증가하는 것으로 관찰되었다.

### 6. Sarcoma-180에 의한 마우스 복수암에 미치는 영향

蜈蚣 추출물의 투여로 S-180에 의해 유도되는 복수암에 의한 life span이 Fig. 5에 나타난 바와 같이 대조군에서는 10일째부터 마우스가 사망하

기 시작하여 생존한 실험 동물의 수는 점차 감소하여 20일째는 실험에 사용한 8마리의 마우스가 모두 사망하였다. 한편, 蜈蚣 추출물을 투여한 군에서는 12일째부터 사망하기 시작하여 실험 개시 30일째에 실험 동물이 모두 사망하였다.

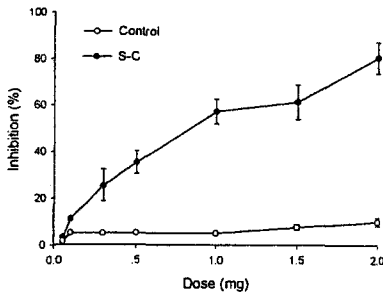


Fig. 1. The dose-dependent inhibition of *Scolopendrae corpus* on TPA-induced mouse ear edema. *Scolopendrae corpus* was applied for topical application to both inner and outer surfaces of the right ear in mice. After 30 min, 2  $\mu$ g of TPA in acetone was treated on the same sites. The detail experimental procedure was described in Materials and methods. S-C : *Scolopendrae corpus*

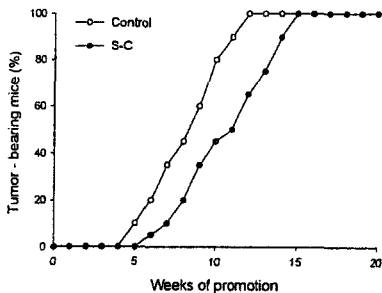


Fig. 2. Inhibitory effect of *Scolopendrae corpus* on skin tumor formation induced by TPA in DMBA initiated mice. From 1 week after initiation by DMBA(150  $\mu$ g), TPA(2  $\mu$ g) was applied twice a week for 18 weeks. The incidence of papillomas was observed weekly. Each sample was prepared and treated as described in Materials and methods. S-C : *Scolopendrae corpus*

Table I. Inhibitory effect of *Scolopendrae corpus* on the promotion of lung carcinogenesis by glycerol in 4-NQO-initiated mice.

Groups	Number of Tumors bearing mice(%)	Tumors per mouse	Inhibition (%)
I. 5% glycerol in tap water	100	9.20	
II. 5% glycerol + 1/5 S-C solution**	76	3.56	61.3

For initiation, 4-NQO dissolved in a mixture of olive oil and cholesterol(20:1), was given by single s.c injection on first experimental day(0.3mg/mouse). Glycerol as a tumor promoter, was dissolved in drinking water of concentration of 5%, and given *ad libitum* from experimental week 4 to 20, water solution of *Scolopendrae corpus* was administrated as shown in Materials and methods

\* The inhibition rate compared to group I (5% glycerol in tap water)

\*\* 1/5 S-C solution means 5 times diution of *Scolopendrae corpus* water solution

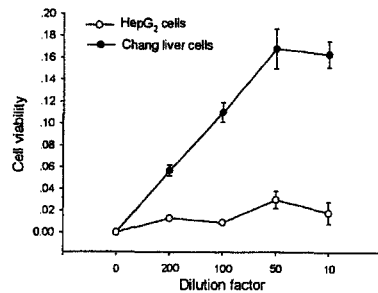


Fig. 3. Cytotoxic effects of *Scolopendrae corpus* on Chang cells and HepG<sub>2</sub> cells. Chang cells( $1 \times 10^5$  cells/well) and HepG<sub>2</sub> cells( $1 \times 10^5$  cells/well) were incubated at 37°C for 2 hrs. Each diluted solution of *Scolopendrae corpus* was added and further incubated for 22 hrs. The viable cells were detected by MTT assay.

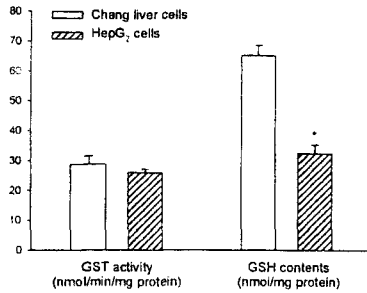


Fig. 4. GSH/GST related biochemical analyses in Chang liver cells and HepG<sub>2</sub> cells. Values represent the mean  $\pm$  S.E. of three independent experiments done in triplicate. Significant differences from Chang liver cells at  $p < 0.005$ , respectively.

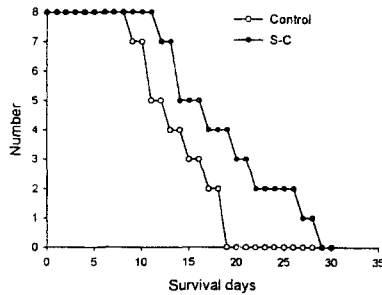


Fig. 5. Antitumor activity of *Scolopendrae corpus* on Sarcoma 180-bearing mice. 24 hrs after tumor inoculation ( $1 \times 10^6$  S-180 cells/mouse), *Scolopendrae corpus* was orally administered to 8 mice in a group once a day for 40 days. S-C : *Scolopendrae corpus*

#### IV. 考 察

암의 발생에는 다양한 요소들이 관여하고 있으나, 지금까지 밝혀진 바로는 암 발생의 90% 이상이 환경 요인과 밀접한 관계가 있다고 보고되고 있다<sup>28)</sup>. 즉, 의약품, 살충제, 음식물, 화장품, 자외

선, 마시는 물 및 호흡하는 공기 등 우리가 항상 접하는 주변의 많은 물질들이 생체내에서 암을 일으킬 수도 있으므로<sup>5)</sup> 우리 인간은 언제나 이러한 발암물질에 노출되어 있다고 해도 과언이 아니다.

환경중에서 다수의 발암물질 및 돌연변이원 물질 등의 initiator와 함께 다양한 promoter가 알려져 있다<sup>5)</sup>. 발암예방에는 이들 발암 관련 물질을 제거하는 것이 최상책이나 환경중에 널리 존재하는 각종 발암 물질을 완전히 제거하는 것은 불가능하다. 그래서, 발암을 방지 혹은 지연시키는 적극적인 수단으로 화학물질에 의한 발암억제나 생체에서 방어 기전을 증가시키는 방법이 검토되고 있다. 즉, initiation 혹은 promotion중 어느 한 과정 혹은 두 과정을 동시에 저해할 수 있다면 최종적으로 발암의 역제가 유도되어질 수 있다고 할 수 있다.

蜈蚣(*Scolopendrae corpus*)은 神農本草經<sup>29)</sup>에 '治鬼疰蠱毒 噉諸蛇蟲魚毒 殺鬼物 老精溫虐 去三蟲'이라고 최초로 기재된 이후 祛風鎮痙, 攻毒散結의 효능으로 痙攣, 抽搦, 口噤, 瘡瘍腫毒, 癰癤潰爛, 毒蛇咬傷 등의 병증을 치료하는데 사용되어 왔다<sup>16)</sup>.

蜈蚣에 대한 실험 연구로는 자발성 고혈압 실험 동물에서 angiotensin converting enzyme 저해 활성을 통하여 약 7% 정도의 혈압 강하 효과가 나타났으며<sup>17)</sup>, 실험적으로 유도된 혈전증에서 감소된 혈소판수를 증가시키고 prothrombin time을 단축시켜 혈전증의 치료에 효과가 있다고 보고되었다<sup>18)</sup>.

항암 효능에 대한 보고를 살펴보면, *in vitro*에서 간암, 위암 및 복수암 세포에 대하여 억제작용이 있으며, 임상적으로도 뇌종양, 골종양, 骨癌, 위암, 간암, 식도암, 자궁경부암 및 말기 암환자의 격렬한 통증에 활용되고 있다<sup>6,15)</sup>.

저자들은 이미蜈蚣 추출물이 생체내에서 macrophage의 탐식능력을 증가시키고 이에 따라 일차면역을 담당하는 IgM과 2차 면역을 담당하는 IgG의 항체 생성을 모두 증가시킨다는 것을 보고

<sup>30)</sup>하였다. 그리고, 이러한 효과는 노령화가 진행될 수록 그 상승폭이 증가되는 것으로 나타나 蜈蚣이 고령자의 면역기능 저하에 더욱 더 효과적임을 알 수 있었다. 또한, 蜈蚣 추출물이 암세포의 살해기전에 직접적으로 작용하는 NK 세포의 활성화도 증가시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과들로부터, 蜈蚣이 2차 면역기전인 암세포에 대한 억제작용을 증가시킬 수도 있을 것으로 추측되며, 蜈蚣을 사용한 면역 증강 및 항암 활성의 증강은 biological response modifier와 관련된 항암제 개발에 중요한 정보를 제공하리라 생각된다.

그러므로, 저자들은 蜈蚣의 항암효과를 살피기 위하여 initiator와 promoter를 활용하여 실험적으로 여러 장기에서 종양 발생을 유도한 후 蜈蚣 추출물이 각종 암의 2단계 발생에 미치는 영향에 대하여 관찰하였다.

먼저, TPA를 사용하여 mouse의 귀 종양에 미치는 영향을 살펴보았다. 본 연구에서 사용한 TPA는 가장 연구가 많이 진행된 promoter로서 바오 종자의 기름에서 얻어진 diterpene계 물질이다<sup>5)</sup>. 蜈蚣 추출물은 투여량에 비례하여 TPA로 유도된 귀 종양을 유의성 있게 억제하는 것으로 나타났는데, 대조군에서는 종양억제 효과에 별다른 변화가 없는 것으로 나타났다. 한편, 蜈蚣 메탄올 엑기스를 도포한 실험군에서는 IC<sub>50</sub>의 값이 약 0.8 mg인 것으로 나타나 유의성있게 귀 종양에 대한 감소효과가 있음을 알 수 있었다.

그리고, 구체적인 암세포 유발실험으로 피부암의 출현을 살펴본 결과, 蜈蚣 추출물을 투여한 경우 대조군에 비하여 피부암의 출현이 늦게 나타나며, 또한 모든 실험 동물에서의 종양 발현도 늦어져 蜈蚣은 DMBA가 유도하는 피부암화 과정을 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한, 폐암의 경우 promoter인 glycerol에 의한 폐암의 발생은 蜈蚣 추출물로 인하여 종양이 발생된 실험 동물의 수가 24% 억제되었다. 그리고, 종양이 발생된 실험동물당 종양세포의 수도 蜈蚣 투여군에서는 대조군에 비하여 절반 이하로 나타나 蜈蚣

추출물이 폐암의 발생을 현저히 억제하는 것으로 나타났다. 한편, promoter로서 glycerol을 투여하지 않은 군에서는 투여한 군에서 보다 종양의 발생율이 급격히 낮았다.

그리고, 蜈蚣 추출물이 인간의 간암 발생에 미치는 영향을 살펴보았을 때, 蜈蚣 추출물은 농도가 증가함에 따라 인간의 간암 세포인 HepG<sub>2</sub>에 대하여 cytotoxicity는 증가하였다. 이러한 결과는 glutathione이 방어기구 즉, 방사선 장애의 방어, 세포막의 유지, 효소의 SH기의 유지, 이물질의 해독 등 생명 유지에 중요한 역할을 한다는 보고<sup>31)</sup>를 상기할 때, HepG<sub>2</sub>에 대한 cytotoxicity의 증가 원인은 cellular protection에 관여하는 GSH의 함량이 저하됨에도 관련이 있음을 알 수 있었다.

또한, 이러한 蜈蚣 추출물의 발암억제 효과가 Sarcoma-180이 유발한 마우스 복수암에 의한 실험동물의 생존기간을 유의성 있게 증가시키는 것으로 나타났다.

이상의 결과들을 종합하여 보면, 蜈蚣 추출물은 생체 장기에서 initiator와 promoter로 유발되는 발암화를 억제하며 이와 함께 암 발생된 실험 동물의 생존기간을 증가시키는 것으로 나타나, 향후 다양한 종류의 암을 대상으로 한 실험과 蜈蚣 추출물에 의한 독성에 관한 연구 등이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## V. 結 論

功毒散結하는 蜈蚣이 2단계 발암화에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 DMBA가 유도하는 마우스 피부 및 4-NQO가 유도하는 마우스 폐의 종양발생에 미치는 영향을 검토하였다. 그 결과, 蜈蚣 메탄올 추출물은 각각 발암 promoter에 의해 야기되는 종양발생을 늦추거나 빨리 소멸시키는 것으로 나타났다. 또한, *in vitro*에서도 사람 간암 세포인 HepG<sub>2</sub>세포의 성장을 유의성 있게 억제시



켰으며 이는 glutathione의 함량 저하와 밀접한 관계가 있는 것으로 나타났다. 한편, Sarcoma-180에 의해 유도되는 마우스 복수암에서 실험동물의 생존기간을 상당기간 지연시킴을 알 수 있었다. 이상의 결과들을 요약해 볼 때, 蜈蚣 추출물은 2단계 발암화 과정을 억제함으로써 *in vivo* 및 *in vitro*에서 암세포의 증식을 유의성 있게 억제시킴을 알 수 있었다.

## 參考文獻

- 1) 孔海云 : 現代自身免疫病學, 人民軍醫出版社, 1996:10~11, 21~25, 65~79.
- 2) Makinodan, T. and Petterson, W.J. : Growth and senescence of the primary antibody formation potential of the spleen. *J. Immunol.* 1964;93:889~896.
- 3) Kigukawa, K. : Age pigments : Relationship between lipid peroxidation and Formation of Fluorescent pigments, *衛生化學* 1984;30:333~343.
- 4) Makinodan, T., James, S.J., Inamizu, T. and Chang, M.P. : Immunologic basis for susceptibility to infection in the aged, *Gerontology* 1984;30:279~289.
- 5) 대한병리학회 : 병리학(제2판), 고문사, 1995:235~244.
- 6) 楊寶印 : 癌症的中藥治療, 河北科學技術出版社, 1992:110,123,149.
- 7) 方藥中 : 實用中醫內科學, 上海科學技術出版社, 1986:621~622, 627.
- 8) 錢伯文 : 腫瘤的辨證施治, 上海科學技術出版社, 1983:10~15.
- 9) 賈堃 : 癌瘤防治研究, 서울, 成輔社, 1984:25~28.
- 10) 鄭偉達 : 中醫治療腫瘤經驗, 北京, 中國醫藥科技出版社, 1994:6~10.
- 11) 中醫中西醫結合研究會 中國中醫研究院 編 : 惡性腫瘤中西醫結合研究的成就, *中西醫結合雜誌*, 1988;8(2):57.
- 12) 陳可冀 : 血瘀證與活血化癥研究, 上海科學技術出版社, 1990:488.
- 13) 應榮多 : 活血化癥治則與抗腫瘤研究, 全國第二次中西醫腫瘤防治研究協作會議資料, 1981.
- 14) 施永德 : 惡性腫瘤病人的紫舌觀察和血液流變學分析, *中華腫瘤雜誌*, 1981;3(3):222.
- 15) 錢伯文 : 抗癌中藥的臨床效用, 上海翻譯出版公司, 1987:112, 270~271, 276.
- 16) 辛民教 : 原色臨床本草學, 1991:665~666.
- 17) 이동희, 김호철, 안덕균 : 蜈蚣의 항고혈압 작용에 관한 연구, *大韓本草學會誌*, 1997;12(2):39~49.
- 18) 安圭錫 : 蚯蚓, 水蛭, 蟾蜍 및 蜈蚣이 血栓症에 미치는 影響, *大韓韓醫學會誌*, 1990;11(2):92~101.
- 19) Inoue, H., Mori, T., Shibata, S., Koshihara, Y. : Modulation by glycyrrhetic acid derivatives by TPA induced mouse ear edema. *Br. J. Pharmacol.* 1989;96: 204~210.
- 20) Okuyama, T : Studies on cancer biochemoprevention of natural resources. X. Inhibitory effect of spices on TPA enhanced <sup>3</sup>H-choline incorporation in phospholipids of C3H10T1/2 cells and on TPA-induced mouse ear edema. *Chin. Pharm. J.* 1995;47:421~430.
- 21) Fujiki, H., Mori, M., Nakayasu, M., Terada, M. and Sugimura, T. : A possible naturally occurring tumor promote teleocidin B from *Streptomyces*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1979;90:976~983.
- 22) Okuyama, T., Matsuda, M., Baba, M.,

- Okada, Y. and Nishino, H. : Studies on cancer chemoprevention by traditional folk medicines. XV. Antitumor-promoting effect of White pepper, *Piper nigrum* and piperine in vitro and in vivo carcinogenesis. *J. Trad. Med.* 1997;14: 89~95.
- 23) Moritani, S., Hasegawa, K and Miyamoto, K. : In vitro cytotoxicities of Shofudan and its ingredient *Bardanae Fructus*(Goboshi) extract on human cell lines, HepG<sub>2</sub> cells and Chang liver cells. *J. Trad. Med.* 1995;12:12~15.
- 24) Carmichael, J., DeGraff, W.G., Gazdar, A.F., Minna, J.D. and Mitchell, J.B. : Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay ; Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.* 1987;47:936~942.
- 25) Theodros, P.M. and Helmut, S. : Assay of glutathione, glutathione sulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Method. Enzymol.*, 1981;77: 373~375.
- 26) Habig, W., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B. : Glutathione S-transferases. *J. Biol. Chem.* 1974;249:7130~7139.
- 27) Maeda, Y.Y. and Chihara, G. : The effect of neonatal thymectomy on the anti-tumor activity of lentinan, carboxymethyl tachymaran and Zymosan and their effects various immune responses. *Inter. Cancer Research* 1993;11: 153~159.
- 28) Ames, B.N : Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science*, 1979;204:587~503.
- 29) 馬繼興 主編 : 神農本草經輯注, 人民衛生出版社, 1995:449.
- 30) 김길섭, 서운교, 정지천 : 蜈蚣이 老齡에 따른 mouse의 免疫機能에 미치는 影響, 대한한방내과학회지, 1998;19(1):477~487.
- 31) Sakamoto, Y. and Kinoshita, S. : *Glutathione*, 3rd Ed. Scientific, 1989:5.