

## 加味香砂六君子湯이 생쥐 小腸에서 放射線照射 後 保護效果와 Apoptosis에 미치는 影響

이태업\* · 김진성 · 윤상협 · 류봉하 · 박동원 · 류기원

### Effects of the Gamihyangsayukgunjatang on Radioprotection and Apoptosis in Small Intestines of Mice

Tae-Eob Lee\*, Jin-Sung Kim, Sang-heub Yoon, Bong-ha Ryu, Dong-won Park, Ki-won Ryu

*Dept. of Oriental Medicine, Graduate School, Kyung Hee University, Seoul, Korea*

The present study was performed in order to evaluate the effects of the gamihyangsayukgunjatang on radioprotection and apoptosis in small intestines of mice after whole body irradiation. Two hundred forty mice were divided into 40 groups according to the radiation dose and the gamihyangsayukgunjatang treatment. The extracts of the herbal medicines were orally administered to each group differently before and/or after irradiation. The gamihyangsayukgunjatang treated groups were divided into 3 groups. Sample I was the group treated with the gamihyangsayukgunjatang for 3 days before the radiation, sample II was the group treated with the gamihyangsayukgunjatang for 3 days after the radiation. Sample III was the group treated with the gamihyangsayukgunjatang for both 3 days before and after the radiation. To analyze the crypt survival, the microcolony survival assay was used according to the Withers and Elind's method. To analyze the apoptosis, the TUNEL assay was done.

The results obtained are as follows :

1. From the microcolony survival assay, the gamihyangsayukgunjatang treated groups showed the radioprotective effect with a statistical significance( $p < 0.05$ ), as compared to the control group. Comparing the radioprotective effect among the 3 groups, sample III was statistically more significant than sample I and II ( $p < 0.05$ ). Sample I showed no effect. In accordance with the research mentioned above, it is suggested that the radioprotective effect of the

---

\* 慶山大學校 附屬韓方病院 內科學教室

gamihyangsayukgunjatang is more useful for the treatment of the radiation injury rather than the prevention.

2. The results of the TUNEL assay showed that the apoptotic index in the gamihyangsayukgunjatang treated group was slightly decreased with no effectiveness, as compared to the control group.

According to the above results, it could be suggested that the gamihyangsayukgunjatang has a prominent protective effect in mice intestines against the radiation damage. However, the radioprotective effect does not seem to be related to inhibition of the apoptosis.

## I. 緒 論

腫瘍이란 生體組織의 一部가 끊임없이 非正常的이고 繼續的으로 過剩 發育하는 것<sup>5)</sup>으로 臨床 및 病理 形態學的으로 良性腫瘍과 惡性腫瘍으로 區分하며 惡性腫瘍을 癌이라고 한다<sup>9)</sup>. 癌은 最近 50年間 急激히 增加하여 世界的으로 가장 重要한 死亡原因 中の 하나가 되었고, 우리 나라에서도 疾病으로 因한 死亡原因 中 第 1位를 차지하고 있다<sup>4,8,19,22)</sup>.

最近 癌에 對한 治療法으로는 外科의 手術療法, 化學療法, 放射線療法 및 免疫療法 등을 活用하는데<sup>7,11)</sup>, 放射線 療法은 x線, α線, β線, γ線 등의 電離放射線을 利用하여 癌을 治療하는 方法으로 手術療法과 함께 가장 普遍的인 療法으로 使用되어져 왔다. 放射線療法은 照射部位에 만 治療效果가 期待되는 局所的인 治療 方法으로 넓은 意味에서는 根治切除術과 같지만, 手術療法과는 달리 外形 및 機能의 甚한 障礙없이 몸 어느 部位에 發生한 癌이라도 治療할 수 있다는 美容 上의 利點과 臟器 保存의 長點이 있다. 또한 手術療法이나 化學療法과는 달리 健康狀態나 年齡에 比較的 拘碍됨이 없이 最小限의 負擔으로 治療할 수 있다. 그리고, 手術前 放射線 治療는 癌의 크기를 줄여 手術을 쉽게 하기도 하고, 手術時 癌細胞의 移植 轉移를

減少시키기도 한다. 또한 早期 頭頸部癌, 喉頭癌, 子宮頸部癌, 惡性림프腫, 皮膚癌, 口唇癌, 舌癌 등은 放射線療法만으로도 높은 完治率을 나타내고 있다<sup>1)</sup>.

放射線療法은 이처럼 많은 長點이 있는 反面에 局所的 浸潤性 腫瘍에는 效果의이지만, 進行性 癌이나 轉移腫瘍의 境遇에는 治療에 制限性이 있고, 照射量의 增加에 따른 正常組織의 損傷과 合併症을 同伴하게 된다<sup>7,9)</sup>. 또한 照射部位에 따라 骨髓造血障害, 消化器障礙, 皮膚粘膜障害, 生殖器障害 등의 副作用을 惹起시키기도 한다<sup>10,17)</sup>. 이로 말미암아 治療 用量에 到達하지 못하고 制限된 治療를 하게 되어 完治率을 떨어뜨리고, 患者의 삶의 質을 低下시키기도 한다. 따라서 效果의인 癌 治療를 爲해서는 既存 放射線療法의 放射線 量을 增加시키고 副作用을 最小化하는 것이 必要하다<sup>31)</sup>.

이를 爲해 오래 前부터 放射線 防禦劑를 開發하여 왔으나 臨床의 效果가 적거나 또 다른 副作用을 誘發하는 境遇가 많기 때문에 보다 效果의인 藥物에 對한 研究가 進行되고 있다<sup>54,55,58,65,75)</sup>.

最近 들어 韓醫學에서도 癌의 治療效果를 極大化하고 放射線療法의 副作用을 輕減시키며 患者의 抗癌 免疫機能을 強化시키는 研究들이 活潑하게 이루어지고 있다<sup>24)</sup>.

放射線療法副作用을 輕減시키며 免疫機能을 強化시키는 藥物로는 人蔘<sup>56)</sup>, 靈芝<sup>42)</sup>, 鹿茸<sup>20)</sup>, 當歸<sup>12,18,24)</sup>, 茯苓多糖, 猪苓多糖<sup>24)</sup>, 黃芪, 白朮, 枸杞子<sup>18)</sup>, 沙參, 麥門冬, 天門冬, 地黃, 山茱萸<sup>27)</sup>, 鷄血藤, 女貞子, 羊乳<sup>25)</sup> 등이 效果가 있는 것으로 알려져 있고, 補中益氣湯<sup>21,50)</sup>, 四六湯<sup>21)</sup>, 小柴胡湯, 十全大補湯<sup>50)</sup>, 人蔘養榮湯<sup>51)</sup>, 歸脾湯<sup>52)</sup>, 黃蓮解毒湯, 滋陰降火湯<sup>33)</sup>, 扶正生津湯<sup>29)</sup>, 白蓮解毒湯<sup>26)</sup>, 蔘茸扶正湯<sup>16)</sup>, 加味四君子湯, 加味地黃湯, 加味君子地黃湯<sup>14)</sup> 등의 處方이 有效한 것으로 報告되고 있다. 加味香砂六君子湯은 吳<sup>23)</sup>의 香砂六君子湯에 補氣, 補脾胃 效能이 있는 黃芪, 山藥 등을 加味한 處方으로 健脾和胃, 理氣化痰, 止痛하는 效能이 있어 不思飲食, 消化不良, 噯氣, 脘腹脹滿而痛, 惡心嘔吐, 下痢泄瀉 등의 症狀을 治療한다.

抗癌治療時 消化器障礙에 關聯된 研究<sup>26,29,33)</sup>는 臨牀的 考察이 主流을 이루었고, 實驗的 研究는 未洽하였다. 이에 著者는 放射線療法の 副作用인 消化器障礙를 最小化하고 損傷된 機能을 恢復시키는데 適合하리라 생각되는 加味香砂六君子湯<sup>23)</sup>을 選擇하여 小腸 粘膜 損傷의 防禦에 미치는 影響을 研究하기 爲해 암컷 ICR 係 생쥐를 利用하여 放射線量의 變化에 따른 差異點과 apoptosis에 미치는 影響에 對해서 實驗하여 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 材 料

#### 1) 動 物

實驗動物은 大韓實驗動物센터에서 分讓받은 週齡 12週의 成熟 ICR系 암컷 생쥐를 實驗

群과 對照群으로 나누어 使用하였다. 생쥐는 各 群 當 6마리씩을 配定하여 總 240마리를 使用하였다. 實驗動物은 낮 時間을 午前 6時에서 午後 6時까지 調整하여 12時間 間隔으로 낮과 밤의 生活 리듬을 주었으며, 14日間 適應시켜 腸粘膜 細胞週期를 同期化하였다. 固形飼料(三 養油脂, 小動物用)와 물은 制限없이 供給하면 서 實驗室 環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

### 2) 藥 材

藥材는 慶熙大學校 附屬韓方病院 韓方藥劑科에서 購入하여 使用하였다. 加味香砂六君子湯은 吳<sup>23)</sup>의 醫宗金鑑에 準하였으며 1貼 用量은 아래와 같다.

藥名	生藥名(學名)	用量(g)
人蔘	Ginseng Radix ( <i>Panax Schinseng Nees</i> )	8.00
白扁豆	Dolichi Semen ( <i>Dolichos loblav Linne</i> )	8.00
黃芪	Astragali Radix ( <i>Astragalus membranaceus Bunge</i> )	4.00
山藥	Dioscoreae Radix ( <i>Discourser batatas Decaisne</i> )	4.00
甘草	Glycyrrhizae Radix ( <i>Glycyrrhiza uralensis Fischer et. De Candolle</i> )	4.00
香附子	Cyperi Rhizoma ( <i>Cyperus rotun. dus Linne</i> )	4.00
白朮	Atractylis Rhizoma ( <i>Atractylis japonica koidzumi</i> )	4.00
白茯苓	Hoelen ( <i>Poria cocos Wolff</i> )	4.00
半夏	Pinelliae Tuber ( <i>Pinellia ternata Breitenbach</i> )	4.00
陳皮	Aurantii nobilis Pericarpium ( <i>Citrus nobilis Makino</i> )	4.00
白豆蔻	Amomi Cardamomi Fructus ( <i>Amomum cardamomum Linne</i> )	4.00

厚朴	Machili Cortex ( <i>Machilus rimosa</i> <i>Blume var. Thunbergii Nakai</i> )	4.00
砂仁	Amomi Semen ( <i>Amomum xanthoides Wallich</i> )	4.00
唐木香	Helenii Radix ( <i>Saussurea lappa Clarke</i> )	2.00
益智仁	Amomi Amari Fructus ( <i>Amomum amarum Lourerio</i> )	2.00
生薑	Zingiberis Rhizoma ( <i>Zingiber officinale Roscoe</i> )	6.00
大棗	Zizyphi inermis Fructus ( <i>Zizyphus</i> <i>jujuba Miller var. inermis Rehd.</i> )	6.00
總量		76.00

## 2. 方 法

### 1) 檢液의 調製

加味香砂六君子湯 5貼 分量을 5000ml round flask에 넣고 3000ml의 蒸溜水를 加하여 冷却器를 附着하고, 3時間 加熱煎湯한 뒤 濾過한 濾液을 rotary evaporator로 減壓濃縮한 後 完全乾燥시켜 加味香砂六君子湯액기스 95g(收得率 : 25%)을 얻어 檢液으로 使用하였다.

### 2) 檢液의 投與

생쥐 6마리를 1群으로 하여 對照群, 實驗群으로 나누었으며, 各 생쥐의 體重을 測定하여 實驗群에는 加味香砂六君子湯액기스 10mg/kg의 檢液을 蒸溜水로 稀釋하여 1日 2回 12時間 間隔으로 連續 經口投與하였다. 對照群에는 同量의 生理食鹽水를 經口投與하였다.

### 3) 放射線 照射

本 實驗에 使用한 放射線은  $^{60}\text{Co}$  遠隔 放射線 照射 裝置를 利用하여 線量率 1.1 Gy/min로 全身 照射하였다. 線量은 0, 8, 10, 12, 14, 16 및 18 Gy를 주었으며, 對照群에는 放射線을 照射

하지 않았다.

## 4) 實驗群 設定

### (1) 小囊細胞 生存率 分析 實驗群

實驗群을 放射線 照射量에 따라 group I (0 Gy), II (8 Gy), III (10 Gy), IV (12 Gy), V (14 Gy), VI (16 Gy), VII (18 Gy)로 區分하였고, group 內의 各 實驗群마다 생쥐 6마리를 配當하였다. Group 內의 各 實驗群은 加味香砂六君子湯액기스를 投藥하지 않은 對照群(以下 control 群), 放射線 照射前 3日間 加味香砂六君子湯액기스를 投藥한 群(以下 sample I 群), 放射線 照射後 3日間 加味香砂六君子湯액기스를 投藥한 群(以下 sample II 群), 放射線 照射 前後로 各各 3日間 總 6日間 加味香砂六君子湯액기스를 投藥한 群(以下 sample III 群)으로 나누어 實驗하였다(Table I).

Table I. Experimental Grouping for Crypt Cell Regeneration Analasys

Group	Radiation dose(Gy)	No. of animals			
		Control	Sample I	Sample II	Sample III
I	0	6	6	6	6
II	8	6	6	6	6
III	10	6	6	6	6
IV	12	6	6	6	6
V	14	6	6	6	6
VI	16	6	6	6	6
VII	18	6	6	6	6
Total		42	42	42	42

Control : The group treated with normal saline.

Sample I : The group treated with gamihyangsayukgunjatang for 3 days before radiation.

Sample II: The group treated with gamihyangsayukgunjatang for 3 days after radiation.

Sample III: The group treated with gamihyangsayukgunjatang for both 3 days before and after radiation.

(2) Apoptosis(TUNEL assay) 實驗群

Apoptosis 抑制 效果를 觀察하기 爲하여 實驗 群을 放射線 照射量에 따라 group I (0 Gy), II (8 Gy), III (10 Gy), IV (12 Gy), V (14 Gy), VI (16 Gy)로 區分하였으며, group 內의 各 實驗群마다 생쥐 6마리를 配當하였다. Group 內의 各 實驗群은 加味香砂六君子湯액기스를 投藥하지 않은 對照群(以下 control 群), 放射線 照射 前 3 日間과 照射 後 1日間 總 4日間 加味香砂六君子湯액기스를 投藥한 群(sample群)으로 나누어 實驗하였다(Table II).

Table II. Experimental Grouping for Apoptosis

Group	Radiation dose(Gy)	No. of animals	
		Control	Sample
I	0	6	6
II	8	6	6
III	10	6	6
IV	12	6	6
V	14	6	6
VI	16	6	6
Total		36	36

Control : The group treated with normal saline.

Sample : The group treated with gamihyangsayukgunjatang for 3 days before radiation and 1 day after radiation.

5) 放射線 照射 後 保護效果 分析

(1) 小囊細胞 生存率 分析과 生存 曲線  
放射線 照射 後 3日째에 생쥐에 클로르포름을 吸入시켜 犧牲시킨 後 小腸을 1 cm 길이로 6部分을 切取하고 10% 中性 緩衝 處理된 포르말린에 固定하였다. 固定된 組織을 파라핀에 포매하고 4-6 μm 두께로 잘라 슬라이드에 附着하고 一般 組織 標本의 觀察을 爲해서 헤마톡실린과 에오신 染色을 施行하였다.

放射線 線量反應曲線을 Withers와 Elkind의 microcolony survival assay를 利用하여 求하였다<sup>72)</sup>. 生存한 小囊의 區分은 最小한 10個 以上의 뚜렷한 核과 적은 細胞質을 갖는 基幹細胞가 10個 以上 存在하는 小囊을 生存한 小囊으로 判定하였고 각기 4곳 以上의 다른 標本을 세어 斷面 當 小囊의 숫자를 세어 平均을 내었다. 細胞 生存 曲線은 各各 該當하는 放射線量 當 生存하는 細胞의 숫자를 線型回歸分析法을 利用하여 作成하였다. 正常 對照群에서 小囊의 숫자가 平均 100個일 境遇 colony에 該當하는 再生 小囊의 숫자를 (x)라고 할 때 放射線에 依한 小囊의 消失率(f)은  $(100-x)/100$ 과 같다. 放射線에 依한 細胞의 消失은 Poisson 分布를 따므로 小囊 當 實際 生存하는 細胞의 平均 숫자는  $-\log_e f$ 이며 斷面 當 살아있는 細胞의 숫자(number of surviving cells per circumference)는  $100(-\log_e f)$  또는  $-100 \left( \log_e \frac{(100-x)}{100} \right)$  이 된다.

(2) Apoptosis(TUNEL assay) 分析

放射線 照射 後 1日에 생쥐를 犧牲시켜 組織切片을 作成하였다. 파라핀 除去와 含水化 過程을 거친 슬라이드에 apoptosis 檢索 키트(BMS Co, U.S.A.)를 利用하여 TUNEL assay를 하였다.

TUNEL assay의 基本 概念은 apoptosis 因子가 DNA의 損傷을 일으키면 낮은 分子量의 DNA 分節體 또는 높은 分子量의 single strand break (nick)을 發生시키는데 DNA strand break을 認知하는 terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)는 template에 대해 獨立的인 方式으로 이러한 損傷된 鹽基序列의 끝 部分에 in situ 上에서 檢索이 可能하도록 造作된 free 3'-OH核酸을 置換한다. TdT를 利用한 tailing reaction은 ISEL (in situ end labeling) 또는

TUNEL (TdT mediated dUTP nick end labeling) 이라고 하며, DNA 重合酵素를 利用한 ISNT(in situ nick translation)에 비해 apoptosis 細胞에 對한 labeling intensity가 높아서 敏感度가 높고 nucleotide가 附着되는 反應 時間이 빠르다는 長點을 가지고 있다<sup>47)</sup>. 따라서 apoptosis에서 發生하는 DNA strand break을 選擇적으로 反應함으로써 apoptosis와 壞死(necrosis)의 區分이 可能하게 되고 cytostatic drug이나 放射線에 依해 誘導된 primary DNA strand break의 區分도 可能하다<sup>48)</sup>.

本 實驗에서는 Terminal deoxynucleotidyl transferase from calf thymus 50  $\mu$ l를 label solution 450  $\mu$ l에 섞은 mixture를 適用하고 37  $^{\circ}$ C에서 1時間 反應을 시켰다. TUNEL mixture 反應 後 PBS에 10分間 2回 洗滌하고 TUNEL-POD를 各各 50  $\mu$ l씩 適用한 後 37  $^{\circ}$ C에서 30分間 反應 시키고 PBS로 3회 洗滌하고 POD substrate를 100  $\mu$ l씩 올려 反應시켰다. PBS로 3회 洗滌하고 DAB substrate를 2-3分 適用하여 適切한 發色 反應이 나타나면 PBS에 담가 反應을 中止시키고 헤마톡실린으로 對照 染色 後 400倍 比率로 光學顯微鏡을 利用하여 觀察하였다. Apoptosis index는 쥐 한 마리 당 平均 500個의 細胞를 세어 平均을 내어 mean  $\pm$  SEM으로 表示하였다.

### 6) 統計 處理

各 群에서 小囊 生存率은 Oneway ANOVA Test를 利用하였고, apoptosis는 Oneway ANOVA test와 Post Hoc Test를 利用하였다.

## III. 成 績

### 1. 小囊細胞 生存率 分析과 生存 曲線

放射線 照射를 받지 않았던 group I에서는 各 群間의 差別性이 觀察되지 않았다. 그러나 放射線 照射를 받았던 group II ~ VII은 모두 有意性이 認定되었다( $p < 0.000 \sim p < 0.035$ ). 또한 放射線 照射量에 따른 各 群間의 有意性을 評價해 보면, group I에서는 各 群間의 差異가 없었고, group II에서는 sample III群이 有意性있는 差異를 보였고( $p < 0.05$ ), group III ~ VII에서는 sample II群과 sample III群이 有意性있는 差異를 나타냈으며, 특히 group V ~ VII에서는 sample III群이 sample II群에 비해 顯著한 差異를 보였다( $p < 0.05$ ).

Table III. Regeneration Jejunal Crypts per Circumference

Group	Radiation dose(Gy)	Crypts per Circumference(mean $\pm$ S.D.)				p value
		Control	Sample I	Sample II	Sample III	
I	0	103.9 $\pm$ 8.4	106.4 $\pm$ 6.8	105.5 $\pm$ 7.4	104.6 $\pm$ 7.5	.901
II	8	105.3 $\pm$ 8.3	98.3 $\pm$ 5.8	107.5 $\pm$ 7.3	111.7 $\pm$ 4.5	.035
III	10	88.6 $\pm$ 9.1	96.0 $\pm$ 10.2	95.4 $\pm$ 5.4	101.1 $\pm$ 13.8	.000
IV	12	55.6 $\pm$ 11.3	47.2 $\pm$ 10.2	76.1 $\pm$ 6.8	72.6 $\pm$ 10.2	.005
V	14	19.8 $\pm$ 2.3	21.1 $\pm$ 3.7	24.6 $\pm$ 3.2	33.4 $\pm$ 9.8	.000
VI	16	5.5 $\pm$ 2.1	8.0 $\pm$ 1.3	10.1 $\pm$ 2.2	12.2 $\pm$ 3.0	.000
VII	18	0.7 $\pm$ 0.6	1.3 $\pm$ 1.1	1.4 $\pm$ 0.9	2.27 $\pm$ 0.9	.000

放射線量이 增加함에 따라 生存하는 小囊의 數가 急激히 減少하며, 減少하는 趨勢는 모든 群에서 비슷하였으나 各 群間의 小囊의 數는 有意한 差異가 있었다( $p < 0.05$ , Fig. 1).

그리고 生存 小囊의 數를 Poisson 分布에 따른 로그 스케일로 變換하여 生存 曲線을 얻을 수 있는데, sample I群의 生存 曲線은 control

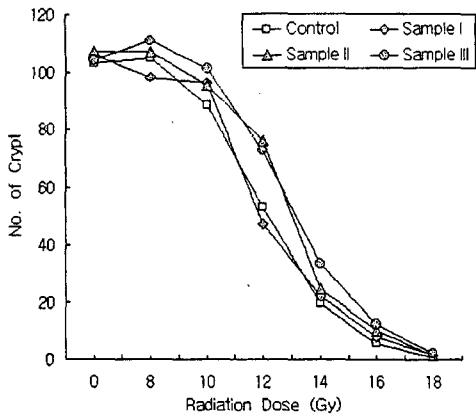


Fig. 1. Number of surviving crypt per circumference.

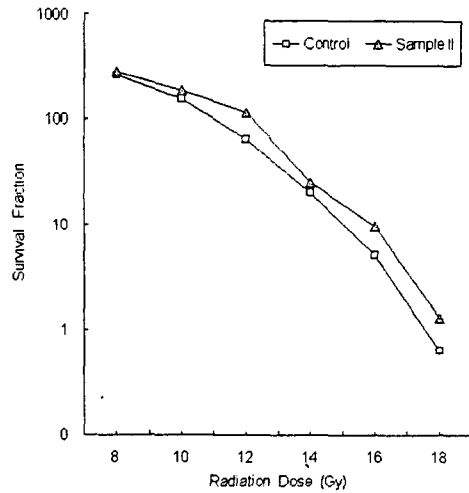


Fig. 3. Comparison of cell survival between control and sample I

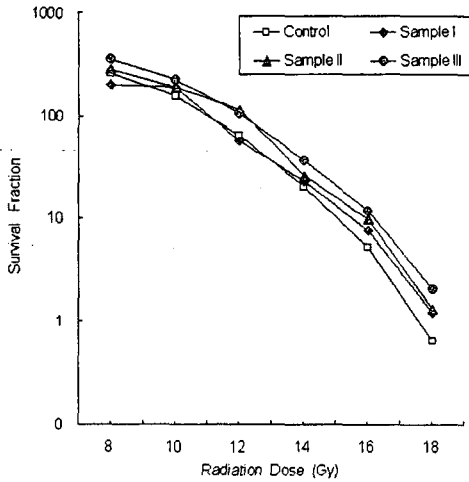


Fig. 2. Comparison of cell survival according to each treatment group

群에 비해 統計的으로 有意한 差異를 보이지 않았으며, sample II 群은 10 Gy 以上の 放射線 領域(group III ~ VII)에서 意味있는 差異를 보였고, sample III 群의 生存 曲線은 모든 線量 區間 (group I ~ VII)에서 統計的으로 有意한 差異를 보였다( $p < 0.05$ , Fig. 2).

Sample I 群의 生存 曲線은 control 群에 비해 統計的으로 有意한 差異를 보이지 않았다(Fig. 3).

Sample II 群은 control 群에 비해 8 Gy 以下

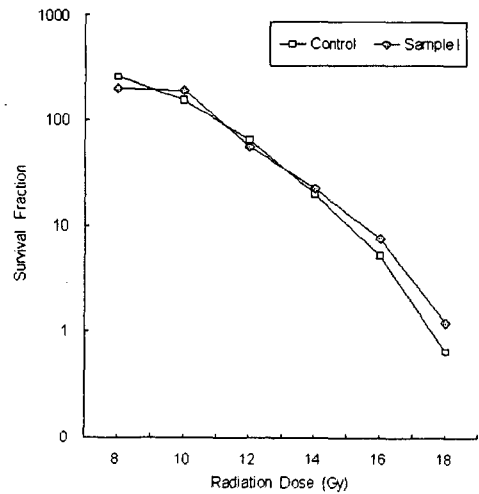


Fig. 4. Comparison of cell survival between control and sample II.

(group I, II)에서는 意味있는 差異를 보이지 않았으나, 10 Gy 以上の 放射線 領域(group III ~ VII)에서는 意味있는 差異를 보였다( $p < 0.05$ , Fig. 4).

Sample III 群의 生存 曲線은 모든 線量 區間 (group I ~ VII)에서 control 群에 비해 統計的으로 有意한 差異를 보였다( $p < 0.05$ , Fig. 5).

Sample II 群과 sample III 群을 比較하면 12 Gy

以下の低線量領域(group I ~ IV)에서는 두 群間的 意味있는 差異를 보이지 않았으나, 14 Gy 以上の 放射線 領域(group V ~ VII)에서는 統計的으로 意味있는 差異를 보였다( $p < 0.05$ , Fig. 6).

## 2. 組織 所見

放射線 照射 後 3日 째 廣範圍한 組織의 disorganization과 細胞 損失이 觀察되었다. 絨毛의 形態는 12 Gy의 線量까지는 各 群間에 큰 差異를 보이지 않았으나 높은 線量으로 가면서 絨毛의 形態의 差異가 두드러지게 나타나서 加味香砂六君子湯을 投與한 群에서는 絨毛가 比較的 길고 形態가 잘 維持되어 있는 反面 對照群에서는 絨毛가 짧고 不規則的인 形態를 보였다(Fig. 7, 8, 9).

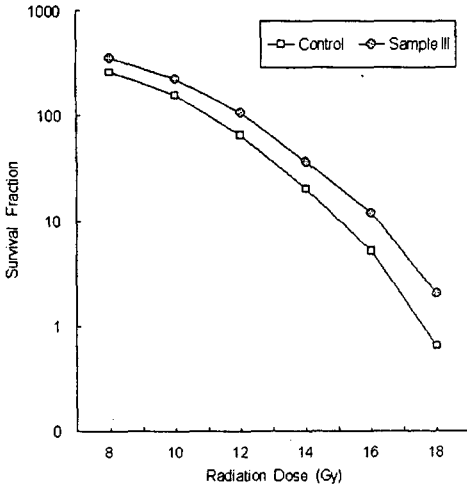


Fig. 5. Comparison of cell survival between control and sample III

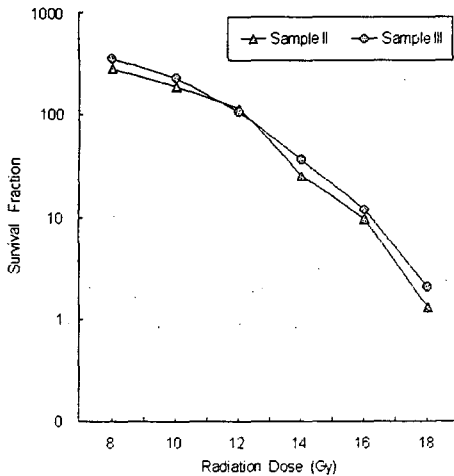


Fig. 6. Comparison of cell survival between sample II and sample III.

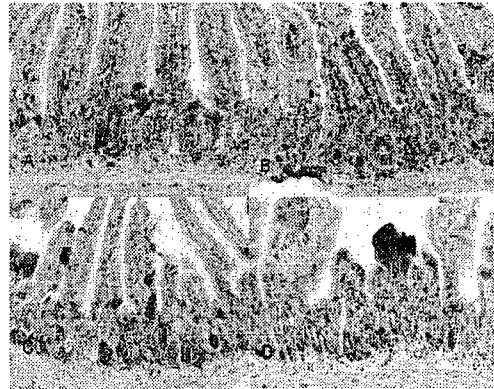


Fig. 7. The regenerating crypts after 12 Gy irradiation.

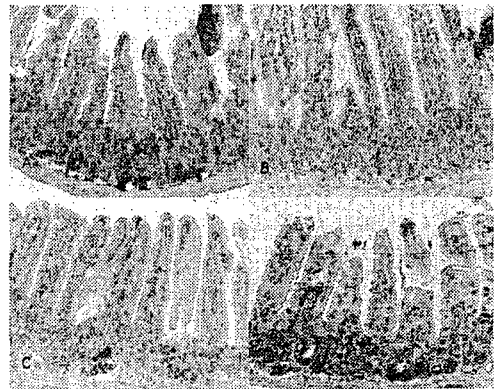


Fig. 8. The regenerating crypts after 16 Gy irradiation.



12 Gy로 照射했던 group IV에서 小囊의 數는 sample III群(D)과 sample II群(C)은 control 群(A)에 比해 統計的으로 有意하게 增加되었다 ( $p < 0.05$ ).

16 Gy로 照射한 group VI에서는 大部分의 小囊이 消失되어 觀察되지 않고 있다. Sample III群(D)에서는 낮은 線量群에 比해 小囊의 크기와 模樣이 萎縮되어 있으나 再生되는 小囊이 觀察되었다. Sample III群(D)과 sample II群(C)은 control 群(A)에 比해 統計的으로 有意한 差異를 보였다( $p < 0.05$ ).

### 3. Apoptosis 分析

Group I의 平均 apoptotic index는 1% 未滿이 었다. Apoptosis 細胞의 數는 放射線量이 增加함에 따라 比例하여 增加하다가 高線量 領域에서는 一定한 plateau를 이루는 것으로 알려져 있다. 本 實驗에서도 그러한 現象을 觀察 할 수 있었다.

Control 群과 sample 群間의 比較에서 group II ~ VI의 境遇 各各 control 群은 24.4, 43.8, 55.4, 60.0, 62.2% 이었고 sample 群은 23.6, 43.2, 54.0, 56.7, 62.0%로 control 群이 sample 群에 比해 若干 높은 傾向을 보이고 있으나 全 group에

Table IV. Change of Apoptotic Index on Radiation Dosage

Group	Radiation dose(Gy)	Apoptotic index(%)		Sample
		p-value	Control	
I	0	<1	<1	
II	8	24.4	23.6	0.745
III	10	43.8	43.2	0.785
IV	12	55.4	54.0	0.565
V	14	60.0	56.7	0.217
VI	16	62.2	62.0	0.940

서 두 群間의 統計的 差異는 없었다(Table IV, Fig. 9~10).

12 Gy 放射線 照射 後 TUNEL assay에 依해 小囊 細胞를 觀察한 結果, 多數의 細胞에서 apoptosis의 特徵的인 所見인 收縮된 核(condensed nucleus), 核을 둘러싼 空間(halo), 그리고 여러 個의 fragmented nucleoli들이 보였다. 그러나 이러한 形態的인 變化를 보이지 않는 細胞에서도 TUNEL 陽性 染色을 나타내고 있어 形態的인 變化를 基準으로 한 apoptosis 比較는 不正確함을 알 수 있었다.

Control 群(A)은 小囊의 全體 部位에서 散在되어 있는 染色 形態를 보여 apoptosis가 廣範

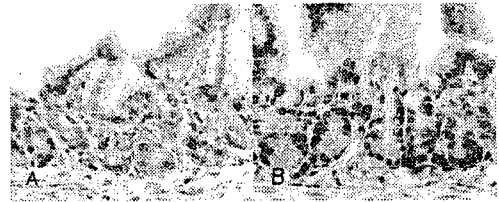


Fig. 9. Apoptotic cells after 12 Gy irradiation (TUNEL assay).

: Arrows indicate apoptotic cells.

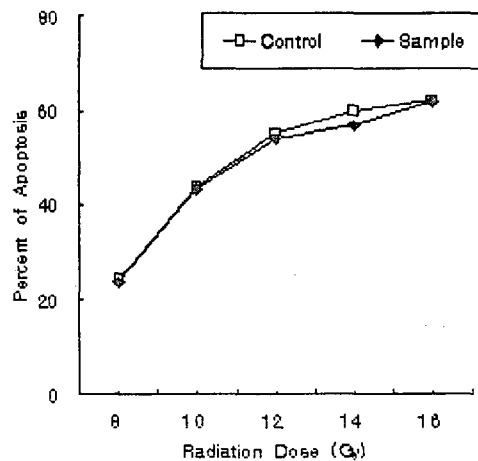


Fig. 10. Change of apoptotic index on radiation dosage.

圍하게 일어나고 있으나, sample 群(B)은 基底部의 stem cell은 apoptosis가 일어나지 않고 小囊의 上部에만 發生하고 있었다. Sample 群(B)이 control 群(A)에 비해 apoptotic index가 낮게 나타나는 傾向을 보이고 있으나 統計的인 差異는 보이지 않았다.

#### IV. 考 察

抗癌治療 方法 中 放射線 療法에 利用되는 放射線은 x線,  $\alpha$ 線,  $\beta$ 線,  $\gamma$ 線, 陽子와 中性子 等을 들 수 있으며, 放射線의 照射量과 照射部位에 따라 腫瘍組織의 破壞뿐만 아니라 正常組織에 對한 副作用도 多樣하게 나타날 수 있다<sup>10,17</sup>. 放射線療法에 依한 副作用은 骨髓造血障害(白血球減少, 淋巴球減少, 血小板減少 等), 消化器障害(惡心, 嘔吐 等), 皮膚粘膜障害(紅斑, 脫毛, 潰瘍 等), 生殖器障害(不妊 等)와 遺傳因자의 變性和 染色體 變異 및 白內障, 壽命短縮이 나타나는 것으로 要約할 수 있다<sup>10,17</sup>.

全身 照射 時 發生되는 放射線 副作用은 照射量에 따라 多樣하며, 3-4 Gy의 放射線量에서는 惡心, 嘔吐, 疲勞感 等の 前驅症狀이 나타나고, 3-8 Gy에서는 循環하는 血液成分이 枯竭되어 3-4週 後에 死亡하게 되는 造血症候群이 發生되며, 10 Gy에서는 胃腸管 粘膜의 上皮細胞가 破壞되어 出血性 泄瀉 症狀이 나타나는 胃腸管 症候群으로 약 9日만에 死亡하게 된다. 그러나 100 Gy 以上의 高線量에서는 神經과 心血管係 破壞로 24-48時間 內에 死亡하는 神經血管症候群을 招來하게 된다<sup>15,35,62,67</sup>.

放射線으로부터 正常組織을 保護하는 放射線 防禦劑(radioprotector)에 對한 研究가 活潑히 進行되어 왔으며, 現在까지 알려진 放射線 防禦劑는 一般的으로 化學的 或은 生物學的 藥物

로 區分된다<sup>55</sup>. 化學的 藥物은 大蓋 thiol 複合物로서 이는 放射線 照射로 因해 發生하여 細胞에 深刻한 損傷을 惹起하는 自由基(free radical)를 除去하여 細胞를 保護하는 作用이 있다<sup>64</sup>. 生物學的 藥物은 bacterial LPS, muramyl dipeptide, Mycobacterium bovis 系統의 bacillus Calmette-Guerin, glucan 等の 微生物의 化合物 및 cytokine 같은 免疫調整性(immunomodulatory) 或은 炎症性(inflammatory) 物質 等이 있으며 이들은 造血 및 免疫機能을 向上시켜 放射線에 對한 防禦效果를 가지는 것으로 알려져 있다<sup>55</sup>. 이들 中의 몇몇 藥物은 臨床實驗 段階에 있지만, 여러 가지의 바람직하지 못한 副作用들에 依해 많은 藥物들은 活用이 制限되고 있다. 그래서 最近에는 많은 研究가 毒性이 낮은 새로운 藥物을 發見하거나 몇 가지 藥物을 低濃度로 複合 使用하여 副作用을 輕減시키려는 努力에 集中되고 있다<sup>58,65</sup>.

또한, free radical scavenger나<sup>45,70</sup> 局所的으로 血流을 減少 시키거나 酸素 濃度를 調節하는<sup>41</sup> 等の 實驗들이 試圖되었지만 臨床的인 有用성을 證明할 수 없었다.

그 外에도 手術의 方法<sup>61</sup>, 5-aminosalicylic acid<sup>38</sup>)나 indomethacin<sup>66</sup>) vitamin E and misoprostol<sup>45</sup>) loperamide-N-oxide<sup>74</sup>), sucralfate<sup>49</sup>), glutamine<sup>68</sup>) 等の 藥物 療法도 행해졌지만 放射線 障害 防禦의 根本的인 治療는 되지 못하였다.

그리고 生體學的인 物質의 適用도 試圖되었는데 Du 等<sup>43</sup>)은 IL-11을 處置하여 小腸 小囊의 恢復을 빠르게 하고 細胞의 增殖을 增加시키며 放射線과 抗癌 療法을 同時에 받은 생쥐에서 生存率을 意味있게 增加시켰다<sup>44</sup>). 그러나 IL-11은 副作用이 甚하고 經濟的인 理由로 臨床에 널리 適用되기 어렵다는 短點이 있다.

韓醫學에서는 放射線療法과 並行治療를 通

해 正常組織에 對한 副作用을 輕減시키고 免疫機能을 增強시켜 治療效果를 向上시키려는 試圖가 多樣하게 進行되고 있고 적지 않은 成果를 보이고 있다.

即, 放射線 治療中에 나타나는 症狀을 體內的 熱毒이 過盛하여 津液이 損傷되고 脾胃가 失調하며 肝腎이 虧損하여 發生한 것으로 보고 清熱解毒, 生津潤燥, 養陰清肺, 補氣養血法을 活用한다. 代表的 處方으로는 黃連湯, 黃連解毒湯, 養陰清肺膏, 二冬膏, 秋梨膏, 清肺湯, 滋陰降火湯 등을 들 수 있다. 清熱解毒法에는 金銀花, 連翹, 山豆根, 板藍根, 黃連, 蒲公英 등을 加味하고, 生津潤燥法에는 生地黃, 玄參, 麥門冬, 石斛, 天花粉, 蘆根 등을 加味하며, 養陰清肺法에는 沙參, 枇杷葉, 麥門冬, 桔梗, 杏仁, 阿膠, 百合 등을 加味하고, 補氣養血法에는 黃芪, 沙參, 西洋參, 生地黃, 丹參 등을 常用한다고 하였다<sup>33)</sup>.

臨床의 考察에 依하면 張代釗<sup>32)</sup>는 扶正培本을 爲主로 健脾補腎, 補氣養血, 清熱解毒, 生津潤燥 등의 治法을 使用하였다. 徐<sup>27)</sup>는 放射線皮膚炎, 放射線性 脊髓炎, 神經麻痺, 發熱, 咳嗽, 氣短 등의 症狀에 滋養肺陰하는 沙參, 麥門冬, 天門冬 등과 補腎填髓하는 地黃, 山茱萸 등을 利用하여 有效한 效果를 거두었다고 報告하고 있다. 周<sup>34)</sup>는 熱象이 重하고 熱毒傷陰의 症候에 清熱解毒, 生津潤燥, 清補氣血, 健脾和胃, 滋補肝腎의 治法을 爲主로 治療하였다. 또, 潘<sup>29)</sup>은 惡心, 嘔吐, 口腔粘膜糜爛, 盜汗, 發熱, 白血球減少 등의 症狀에 扶正生津湯을 投與하였고, 邱<sup>25)</sup>는 骨髓抑制, 白血球減少 등의 症狀에 鷄血藤, 女貞子, 羊乳 등을 主로 使用하였으며, 羅<sup>26)</sup>는 食慾不振, 口乾, 耳鳴, 頭痛 등의 症狀에 清熱養陰生津시키는 白蓮解毒湯으로 有意性 있는 效果를 얻었다고 報告하고 있다.

實驗의 研究로 崔<sup>21)</sup>는 補中益氣湯, 四六湯이

放射線照射 後 마우스 造血細胞 增殖 및 恢復에 效果가 있다 하였고, 李<sup>18)</sup>는 白朮, 黃芪, 當歸, 枸杞子 등의 免疫機能 保護 및 恢復 效果가 卓越하다 하였다. 또한, 金<sup>16)</sup>은 參茸扶正湯의 造血促進, 免疫系 防禦作用에 대하여, 李<sup>20)</sup>는 鹿茸, 黃芪, 當歸水鍼이 免疫系 防禦效果가 있음을, 金<sup>14)</sup>은 加味地黃湯, 加味四君子湯, 加味君子地黃湯이 癌治療, 轉移豫防과 더불어 放射線 副作用 減少效果가 있음을 報告하였다.

또한, 人蔘<sup>56)</sup>, 靈芝<sup>42)</sup>를 비롯한 많은 藥物들이 放射線損傷으로부터 恢復을 촉진하는 效果가 있다고 報告하고 있다. 특히 人蔘은 IL-2, IL-1 $\alpha$ , INF $\gamma$ , TNF $\alpha$ 와 같은 몇몇 cytokine을 誘導하는 效果가 있는 것으로 밝혀졌다<sup>13)</sup>. 또, 當歸 및 補腎健脾 效能이 있는 藥物들이 2.5Gy의 放射線 照射 後 마우스 白血球에 對한 增殖效果가 있다는 것을 證明하였다<sup>12,24)</sup>. 그리고 茯苓多糖, 豬苓多糖은 60Co $\gamma$ -ray 照射後의 개와 마우스의 生存率을 增加시키고 造血系를 恢復시켰다고 報告하고 있다<sup>24)</sup>.

Hosokawa<sup>50)</sup>는 補中益氣湯, 小柴胡湯, 十全大補湯 등이 放射線 防禦效果가 있음을 報告하였다. 또, 7.5Gy 線量의 放射線을 照射한 實驗動物에게 養陰合劑를 投藥한 境遇 餘他的 骨髓細胞 뿐만 아니라 多能幹細胞들의 增殖도 增加된다고 報告하기도 하였다<sup>24)</sup>. Hsu, et al.<sup>51,52)</sup>은 人蔘養榮湯과 歸脾湯이 放射線에 照射된 마우스의 恢復을 促進시키고 免疫適格性(immunocompetence)을 增加시킨다고 報告하였다.

以上에서 살펴본 바와 같이 放射線 保護效果에 對한 많은 研究가 있었으나, 實驗的 研究<sup>14,16,18,20,21,24)</sup>는 主로 免疫機能의 活性化와 造血機能의 恢復效果를 中心으로 한 考察이 大部分이었고, 放射線 障害中 흔히 接하게 되는 消化器障에 對해서는 研究實積이 微微하고 臨床的 考察이 大部分이었다.

이 연구에서는 방사선의 소화기 장애에 대한防禦效果를 實驗的으로 糾明하고자 加味香砂六君子湯을 마우스에 投與한 後 小腸粘膜炎의 損傷 및 恢復 與否를 觀察하였다. 卽, 放射線에 依한 腸 粘膜炎의 損失을 豫防하고 損傷된 腸 粘膜炎의 恢復에 도움이 되는지 確認하고, 그 機轉으로 가장 可能性이 높은 apoptosis와의 聯關性을 確認하고자 하였다.

放射線 照射 後 나타나는 消化器 障害로는 食慾不振, 惡心, 嘔吐, 泄瀉, 腹痛, 脘腹脹滿, 胃腸管出血, 口腔粘膜炎等을 들 수 있는데, 그 病理는 脾胃의 氣化機能의 失調로 脾胃가 不升하여 運化作用을 못하고 胃氣가 不降하여 上逆하는 脾胃氣의 升降出入이 失司한 것으로 볼 수 있다.<sup>3,6,28,30,34</sup> 그리고 이러한 症狀과 더불어 나타나는 疲勞, 倦怠, 食慾不振, 面色少華, 自汗, 無力, 舌淡 等은 氣虛에 屬하는 것으로 볼 수 있는데 脾虛와 氣虛의 關係는 “邪氣所湊其氣必虛” “脾胃後天之本”, “脾胃爲氣血生化之本” “脾旺而不受邪” 等の 原理에서 볼 수 있듯이 서로 密接한 關係를 가지고 있다<sup>2</sup>). 따라서 放射線 治療 後에 副作用 減少에 多用되는 黃芪, 人蔘, 白朮, 陳皮 等の 補氣健脾藥과 補中益氣湯, 四君子湯, 黃芪健中湯, 香砂六君子湯 等の 使用은 이러한 理論에 附合된다 할 수 있다.

本 實驗의 加味香砂六君子湯은 吳<sup>23)</sup>의 香砂六君子湯에 補氣, 補脾胃 效能이 있는 黃芪, 山藥 等を 加味한 處方으로 健脾和胃, 理氣化痰, 止痛하는 效能이 있어 脾胃氣虛와 濕痰이 中焦에 停滯됨으로써 나타나는 不思飲食, 消化不良, 噯氣, 脘腹脹滿而痛, 惡心嘔吐, 下痢泄瀉 等の 症狀를 治療한다. 이러한 效能은 放射線療法 後에 나타나는 胃腸管系統의 副作用을 最小化할 수 있고 또한 損傷된 機能을 恢復시키는 데 適合할 것이라고 思料된다.

腹部 放射線 治療를 받는 患者에서 가장 큰

問題點은 放射線에 依한 腸 粘膜炎의 損傷으로 因해 正常的인 放射線 治療가 어렵고 放射線 治療의 잦은 遲延으로 말미암아 完治率의 低下와 治療 失敗로 이어지는 것이다. 實際로 放射線 治療의 遲延은 全體的으로 略 20%의 患者에서 完治率을 減少시키는 要因이 된다<sup>37,46</sup>).

특히 小腸의 粘膜炎은 分化率이 매우 높고 細胞 週期가 빠르기 때문에 放射線에 매우 敏感하게 反應하는데 放射線에 依한 粘膜炎 細胞 損傷의 機轉은 放射線에 依해 二次的으로 發生하는 自由基(free radical)의 生成에 依한 것으로 알려져 있다.

放射線에 依한 小腸 粘膜炎의 損傷은 apoptosis 또는 necrosis가 主 現象이다. Apoptosis (programmed cell death=PCD)는 細胞自滅을 뜻하는 用語로서 necrosis(細胞壞死)와 對照를 이루는 細胞死의 樣式으로 알려져 있다. 卽, apoptosis<sup>36,53,71,73</sup>)는 不必要한 細胞를 除去하는 機轉으로 多細胞 生物의 發生過程과 恒常性 維持에 重要한 役割을 한다.

Apoptosis와 necrosis는 光學 顯微鏡 上에서 區分이 可能하지만 apoptosis의 境遇 apoptosis 때 特徵的으로 發生하는 DNA strand break을 in situ labeling上에서 酵素的으로 識別 可能하게 하는 TUNEL assay法이 光學 顯微鏡的인 形態 區分에 依한 方法보다 敏感度가 높다. TUNEL assay는 매우 簡單하면서도 빠르게 apoptosis를 檢索할 수 있는 方法이긴 하지만 組織에서 直接 施行하기에는 많은 制限點이 있으며 여러 著者들에 依해 그 有用性에 對해 疑問이 提起되어 왔던 것이 事實이다<sup>39</sup>). 그러나 apoptosis 細胞를 形態學的으로 直接 觀察 할 수 있으므로 壞死 狀態의 細胞에서 DNA breakage가 늦게 發生하는 境遇 TUNEL 染色으로 쉽게 區分이 可能하다는 長點이 있고<sup>47</sup>) 細胞 分裂 段階에 있는 細胞에서 細胞分裂(mitosis)의 進行이

停止되어 apoptosis와의 區分이 不可能해지는 “mitotic catastrophe” 現象<sup>59)</sup>과 telophase에서 chromatin condensation이 發生하여 類似性を 보이는 境遇에서도<sup>63)</sup> TUNEL 染色은 이들의 區分을 容易하게 할 수 있다는 長點이 있다. 또한 TUNEL 染色의 敏感度와 特異度を 向上시키기 爲하여 많은 研究들이 進行 되었고 最近에 파라핀 포매 組織에서 proteolytic 酵素와 microwave 處理 方法이 導入되어 apoptosis 細胞의 檢索率이 向上되었고<sup>69)</sup> Labat-Moleur 등이 TUNEL 染色法을 向上시키기 爲한 轉向의 研究 報告에서 낮은 pH의 citrate buffer와 microwave 處理를 통해 proteinase K의 處理와 같은 效果를 보아 70% 以上の apoptosis 細胞에서 label 되었다고 하였다<sup>57)</sup>. 最近의 報告들에서는 TUNEL法에 依한 檢索이 形態學的인 分類에 비해 一貫되게 더 많은 數의 apoptosis 細胞를 發見함으로써 더 높은 敏感度를 볼 수 있다고 하였다<sup>40)</sup>.

이에 著者は 加味香砂六君子湯이 放射線 損傷을 抑制할 수 있는지를 알아보기 爲해 Wither와 Wilkind의 方法<sup>72)</sup>을 利用하여 microcolony assay를 施行하였고 加味香砂六君子湯의 放射線 障礙 抑制의 機轉이 apoptosis와 聯關이 있는지를 確認하기 爲하여 Labat-Moleur의 方法<sup>57)</sup>을 利用한 TUNEL assay를 施行하였다.

Microcolony assay 方法<sup>72)</sup>을 利用하여 實驗한 結果, 對照群에 비해 加味香砂六君子湯을 使用한 群에서 放射線 損傷抑制 效果가 있음을 알 수 있었다. 그러나 이러한 放射線 損傷 抑制 效果는 放射線 照射 前 3日間 加味香砂六君子湯 藥액기스를 投藥한 群(sample I 群)에서 低調하여 豫防的인 投與만으로는 效果가 적음을 알 수 있었다. 放射線 照射 前 3日間 加味香砂六君子湯 藥액기스를 投藥한 群(sample I 群)에 비해 放射線 照射 後 3日間 加味香砂六君子湯 藥액기스

를 投藥한 群(sample II 群)의 小囊 數가 더 많아 서 豫防的 目的보다는 放射線에 依한 腸 粘膜炎의 損傷을 恢復 시키는데 더 有效함을 알 수 있었다. 放射線 照射 前後로 各各 3日間 總 6日間 加味香砂六君子湯 藥액기스를 投藥한 群(sample III 群)의 小囊 數가 投藥하지 않은 對照群(control 群) 뿐만 아니라 放射線 照射 前 3日間 加味香砂六君子湯 藥액기스를 投藥한 群(sample I 群)과 放射線 照射 後 3日間 加味香砂六君子湯 藥액기스를 投藥한 群(sample II 群)에 비해 損傷도가 낮게 나타나 放射線 照射 前後로 投與함이 더 바람직한 것으로 나타났다.

加味香砂六君子湯의 放射線 防禦 效果의 機轉으로 放射線 損傷의 主된 機轉인 apoptosis의 抑制와 關聯이 있는지 確認하기 爲하여 TUNEL assay를 放射線 照射前 3日間과 照射 後 1日間 總 4日間 加味香砂六君子湯 藥액기스를 投藥한 群(sample 群)과 投藥하지 않은 對照群(control 群)으로 나누어 比較하였다. Apoptosis는 放射線 照射 後 16時間에서 24時間에 最高值를 이루고 小囊의 再生이 始作되는 時期에는 顯著하게 減少하므로 放射線 照射 後 24時間째에 생쥐를 犧牲시켰다. TUNEL法을 利用한 apoptosis 細胞의 分布는 形態的인 變化를 보이지 않는 細胞에서도 TUNEL 陽性 染色을 나타내고 있어 形態的인 變化를 基準으로 한 apoptosis 比較는 不正確함을 알 수 있었다. 그러나 放射線 照射前 3日間과 照射 後 1日間 總 4日間 加味香砂六君子湯 藥액기스를 投藥한 群(sample 群)과 投藥하지 않은 對照群(control 群) 사이에서 apoptosis의 數値는 統計的인 差異를 보이지 않았다. 따라서 加味香砂六君子湯은 apoptosis의 抑制보다는 直接的인 抗酸化 效果나 自由基 除去에 關聯이 있을 것으로 生覺된다. 向後에 加味香砂六君子湯의 apoptosis 機轉 外에 放射線 障礙 防禦 效果에 對한 機轉을 確認하기 爲한

연구가 따라야 할 것으로 생覺된다.

## 參 考 文 獻

### V. 結 論

加味香砂六君子湯이 放射線 照射로 인한 小腸 粘膜 損傷의 防禦에 미치는 影響을 觀察하기 爲해 암컷 ICR係 생쥐를 利用하여 放射線 量의 變化에 따른 差異點과 apoptosis에 미치는 影響을 考察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 加味香砂六君子湯 投與群이 對照群(control 群)에 비해 顯著하게 小囊의 生存率이 높게 나타났다. 投藥群間에는 放射線 照射 前後 6日間 投與한 群(sample III 群)의 放射線 障礙 防禦 效果가 放射線 照射 前 3日間 投與群(sample I 群)이나 放射線 照射 後 3日間 投與한 群(sample II 群)에 비해 높았다( $p < 0.05$ ). 그러나 加味香砂六君子湯을 放射線 照射前 3日間 投與한 群(sample I 群)에서는 放射線 障礙 防禦 效果가 統計的으로 意味있는 差異를 보이지 않았다.
2. TUNEL assay 結果 加味香砂六君子湯 投藥群(sample 群)이 對照群(control 群)에 비해 apoptosis 細胞 發生 比率이 若干 적었지만 統計的 差異를 보이지는 않았다.

以上の 實驗結果로 보아 加味香砂六君子湯은 放射線 障礙 防禦 效果가 있음이 認定되어 實際 臨床에서 放射線 照射 後 消化管 粘膜의 損傷 恢復을 爲하여 使用될 수 있을 것으로 思慮된다.

1. 金東集 外 : 암백과, 서울, 民衆書館, pp. 45-48, 68-70, p. 136, pp. 222-230, 1999.
2. 金聖勳 外 : 東醫病理學, p. 135, 1993.
3. 金完熙, 崔達永 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, pp. 57-59, 63-65, 1985.
4. 김중대 : 보건복지백서, 과천, 보건복지부, pp. 70-77, 1995.
5. 金春元 : 病理學, 서울, 新光出版社, p.84, 1989.
6. 杜鎬京 編 : 東醫腎系內科學, 서울, 東洋醫學研究所, pp. 6-9, 1987.
7. 박재갑 : 인간생명과학, 서울, 서울대학교출판부, pp. 622-663, p. 666, 1994.
8. 서울대학교 의과대학 : 腫瘍學, 서울, 서울대학교출판부, pp.1-3, 137-143, 1992 ---
9. 서울대학교 의과대학 편 : 腫瘍學, 서울, 서울대학교출판부, pp.2-3, p. 91, 1989.
10. 李文鎬 外 : 內科學 卷下, 서울, 박애출판사, pp. 2246-2450, 2466-2475, 1976.
11. 이문호 외 : 내과학, 서울, 학림사, 권하, p. 2466, 2468, 2479, 1986.
12. 崔昇勳 : 東醫腫瘍學,杏林出版, 서울, pp. 142-165, 1995.
13. 김기환 : 抗癌免疫增強作用이 있는 人蔘多糖體에 依한 cytokine mRNA 發顯에 關한 研究, 梨花女子大學校 碩士論文, 1995.
14. 金東熙 : 加味地黃湯, 加味四君子湯, 加味君子地黃湯의 抗腫瘍活性과 放射線 副作用 減少 效果, 大田大學校 韓醫科大學 博士學位論文, 1998.
15. 金東熙 : 抗癌劑 및 放射線 副作用에 對한 韓方療法, 東醫病理學會誌, 9:242, 1994.
16. 金正洙 : 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, 大韓韓

- 方腫瘍學會誌, 3(1):129-147, 1997
17. 金韓燮 外: 癌의 治法, 治方 및 治療藥物에 關한 文獻의 考察, 大韓韓醫學會誌, 6(1):80, 1986.
  18. 李綾基: 數種 韓藥材가 생쥐의 骨髓 및 脾臟細胞의 造血促進과 放射線 防禦에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 19(2):157-173, 1996.
  19. 이문호 等: 최근 한국의 질병 변천, 대한의 학협회지, 32(3):283-290, 1989.
  20. 李栽東: 鹿茸, 黃芪, 當歸水鍼이 放射線 被曝에 의한 免疫機能 低下에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 17(2):119-140, 1994.
  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 국제심포지움 논문집, 1:110-239, 1995.
  22. 통계청: 사망원인 통계연감, 서울, 11:21-36, 1994.
  23. 吳謙 等編: 醫宗金鑑, 北京, 中國中醫藥出版社, p.335, 1994.
  24. 郁仁存: 腫瘤研究, 上海科學技術出版社, 上海, p. 117, 122, 1991.
  25. 邱琴珠: 治療癌症放療後血白細胞下降的 體驗, 浙江中醫雜誌, 1:36, 1991.
  26. 羅景光: 鼻咽癌的中西醫結合治療深討, 新中醫, 5:37-38, 1989.
  27. 徐龍生 外: 扶正培本法在腫瘤臨床上的應用, 浙江中醫學院學報, 3:23, 1988.
  28. 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.
  29. 潘明繼 外: 扶正生津湯配合放射治療鼻咽癌150例遠期療效觀察, 中西醫結合雜誌, 2:83, 1985.
  30. 張慶楨, 唐由君: 42例急性白血病化療後的 病機轉歸分析, 山東中醫雜誌, 6:28-29, 1990.
  31. 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.
  32. 張代釗: 中醫藥防治放化了的副反應的進展, 中日友好醫院學報, 1993.
  33. 張代釗: 中醫藥防治肺癌放化了的副反應, 中醫雜誌, 34(2):110-111, 1993.
  34. 周維順 外: 略論惡性腫瘤放化療後的中醫 治療原則, 浙江中醫學院學報, 3:11-12, 1990.
  35. E. J. Hall :Radiobiology for theradiologist, 4th edition, J.B. Lippincoff company, p. 321,1994.
  36. Alles, A.K. :Apoptosis, A generalcomment, FASEB. J., 5: 2127-2128, 1991.
  37. Amdur, R.J., Parsons, J.T., Fitzgerald,L.T., Million, R.R. : The effect of overall treatment time on local control in patients with adenocarcinoma of the prostate treated with radiation therapy, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 19(6):1377-1382, 1990.
  38. Baughan, C.A., Canney, P.A., Buchanan, R.B., Pickering, R.M. : A randomized trial to assess the efficacy of 5-aminosalicylic acid for the prevention of radiation enteritis, Clin. Oncol. (R Coll Radiol), 5(1):19-24, 1993.
  39. Cervos-Navarro, J., Schubert, T.E. :Pitfalls in the evaluation of apoptosis using TUNEL, Brain Pathol., 6(3):347-348, 1996.
  40. Cha, D.R., Feld, S.M., Nast, C., Lapage, J., Adler, S.G. : Apoptosis in mesangial cells induced by ionizing radiation and cytotoxic drugs, Kidney international, 50:1565-1571, 1996.
  41. Chen, W.C., Hau, D.M., Lee, S.S. : Effects

- of *Ganoderma Lucidum* and Krestin on Cellular Immunocompetence in  $\gamma$ -ray irradiated Mice, *American J. Chinese medicine*, 13(1):71-80, 1995.
42. Delaney, J.P., Bonsack, M., Hall, P. : Intestinal radioprotection by two new agents applied topically, *Ann Surg.*, 216(4):417-422, 1992.
  43. Du, X.X., Doerschuk, C.M., Orazi, A., Williams, D.A.: A bone marrowstromal-derived growth factor, interleukin-11, stimulates recovery of small intestinal mucosal cells after cytoablative therapy, *Blood*, 83(1):33-37, 1994.
  44. Du, X.X., Williams, D.A., Interleukin-11: A multifunctional growth factor derived from the hematopoietic microenvironment, *Blood*, 83(8): 2023-2030, 1994.
  45. Empey, L.R., Papp, J.D., Jewell, L.D., Fedorak, R.N. : Mucosal protective effects of vitamin E and misoprostol during acute radiation-induced enteritis in rats, *Dig. Dis. Sci.*, 37(2):205-214, 1992.
  46. Fyles, A., Keane, T.J., Barton, M., Simm, J. : The effect of treatment duration in the local control of cervix cancer [see comments], *Radiother. Oncol.*, 25(4):273-279, 1992.
  47. Gold, R., Schmied, M., Giegerich, G., Breitschopf, H., Hartung, H.P., Toyka, K.V., Lassmann, H. : Differentiation between cellular apoptosis and necrosis by the combined use of in situ tailing and nick translation techniques [see comments], *Lab. Invest.*, 71(2):219-225, 1994.
  48. Gorczyca, W., Bigman, K., Mittelman, A., Ahmed, T., Gong, J., Melamed, M.R., Darzynkiewicz, Z. : Induction of DNA strand breaks associated with apoptosis during treatment of leukemias, *Leukemia*, 7(5):659-670, 1993.
  49. Henriksson, R., Franzen, L., Littbrand, B. : Effects of sucralfate on acute and late bowel discomfort following radiotherapy of pelvic cancer, *J. Clin. Oncol.*, 10(6):969-975, 1992.
  50. Hosokawa, Y. : Radioprotective effects of Chinese medical prescriptions in mice, *J. Medical and Pharmaceutical Society for Wakan-Yaku*, 3:164-169, 1986.
  51. Hsu, H.Y., Hau, D.M., Lin, C.C. : Effects of Jen-Sheng-Yang-Yung-Tang on Cellular Immunocompetence of  $\gamma$ -irradiated Mice, *American J. Chinese medicine*, 11(3):269-277, 1993.
  52. Hsu, H.Y., Hau, D.M., Lin, C.C. : Effects of Kuei-Pi-Tang on Cellular Immunocompetence of  $\gamma$ -irradiated Mice, *American J. Chinese medicine*, 11(2):151-158, 1993.
  53. Jacobson, M.D., Weil, M. and Raff, M.C. : Programmed cell death in animal development, *Cell*, 88:347-354, 1997.
  54. Kalechman, Y., Albeck..M., Oron.M., Sobelman. D., Gurwith.M., Seghal.S.N. and Sedni.B. : Radioprotective effects of the immunomodulator and stromal marrow cells, *Int. J. Cloning*. 7:203, 1989.
  55. 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.
  56. Kim, S.H., Cho, C.K., Yoo, S.Y., Koh, K.H., Yun, H.G., and Kim, T.H. : In Vitro



- Radioprotective Activity of Panax Ginseng and Diethylthiocarbamate, *in vivo*, 7:467-470, 1993.
57. Labat-Moleur, F., Guillermet, C., Lorimier, P., Robert, C., Lantuejoul, S., Brambilla, E., Negoescu, A. : TUNEL apoptotic cell detection in tissue sections : critical evaluation and improvement, *J. Histochem. Cytochem.*, 46(3):327-334, 1998.
  58. 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.*, p. 137, pp. 400-404, 1994.
  59. Martin, S.J., McGahon, A.J., Nishioka, W.K., LaFace, D., Guo, X., Th'ng, J., Bradbury, E.M., Green, D.R. : P34cdc2 and apoptosis [letter; Comment], *Science*, 269(5220):106-107, 1995.
  60. Mennie, A., Dalley, V., Dinneen, L., Collier, H. : Treatment of radiation-induced gastrointestinal distress with acetylsalicylate, *Lancet*, 2:942-3, 1975.
  61. Meric, F., Hirschl, R.B., Mahboubi, S., Womer, R.B., Goldwein, J., Ross, A.J.3rd, Schnauffer, L. : Prevention of radiation enteritis in children, using a pelvic mesh sling, *J. Pediatr. Surg.*, 29(7):917-921, 1994.
  62. Merrill, A.H., Sereni, A.M. : Inhibition of phorbol ester dependent differentiation of HL-60 by spingonine and other long chain bases, *J. Biol. Chem.* 261(27):12610, 1985.
  63. Migheli, A., Cavalla, P., Marino, S., Schiffer, D. : A study of apoptosis in normal and pathologic nervous tissue after *in situ* end-labeling of DNA strand breaks. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 53(6):606-616, 1994.
  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- $\gamma$  . *Lymphokine Res.* 5:105, 1986.
  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. Rose, P.G., Halter, S.A., Su, C.M. : The effect of indomethacin on acute radiation induced gastrointestinal injury : a morphologic study, *J. Surg. Oncol.*, 49(4):231-238, 1992.
  67. Rovera, G., Santoli D. : Human promyelocytic leukemia cells in culture differentiate into macrophage like cells when treated with a phorbol diester, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* p. 76, 2799, 1979.
  68. Souba, W.W., Klimberg, V.S., Hautamaki, R.D., Mendenhall, W.H., Bova, F.C., Howard, R.J., Bland, K.I., Copeland, E.M. : Oral glutamine reduces bacterial translocation following abdominal radiation. *J. Surg. Res.*, 48(1):1-5, 1990.
  69. Strater, J., Gunthert, A.R., Bruderlein, S., Moller, P. : Microwave irradiation of paraffin-embedded tissue sensitizes the TUNEL method for *in situ* detection of apoptotic cells. *Histochem. Cell. Biol.*, 103(2):157-160, 1995.
  70. Tomas-de la Vega, J.E., Banner, B.F..

- Hubbard, M., Boston, D.L., Thomas, C.W., Straus, A.K., Roseman, D.L. : Cytoprotective effect of prostaglandin E2 in irradiated rat ileum, *Surg. Gynecol. Obstet.*, 158(1):39-45, 1984.
71. Tomei, L.D., Cauter, P. and Wenner, C.E. : Inhibition of radiation induced apoptosis in vitro by tumor promoters, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 155:324, 1988.
72. Withers, H.R., Elkind, M.M. : Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa exposed to radiation, *Int. J. Radiat. Biol.*, 17:261-267, 1970.
73. Wyllie, A.H. : Apoptosis, *Br. J. Cancer*, 67:205-208, 1994.
74. Yeoh, E.K., Horowitz, M., Russo, A., Muecke, T., Robb, T., Chatterton, B.E. : Gastrointestinal Function In Chronic Radiation Enteritis--effects of loperamide-N-oxide, *Gut.*, 34(4):476-482, 1993.
75. Zsabo, K.M., Smith, K.A., Hartley, C.A., Greenbolt, M., Cooke, K., Rich, W. and McNiece, I.K. : Radioprotection of mice by recombinant rat stem cell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:9464-9468, 1992.