

# 全蝎이 老化에 따른 2段階 發癌化 過程에 미치는 影響

정인채, 윤철호, 정지천

동국대학교 한의과대학 내과학교실

## Effects of *Buthus martensi* Karsch on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mice

Jeong In-Chae, Yoon Cheol-Ho, Jeong Ji-Cheon

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University

To clarify the activating effects of *Buthus martensi* Karsch (BMK) on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mice was investigated. In vivo system, BMK was seen to give an inhibitory activity on TPA-induced mouse ear edema. In addition, the BMK was 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, BMK significantly exhibited a cytolytic effect in HepG2 cells and showed significant antitumor activity against Sarcoma-180 bearing mice by oral administration. These results suggest that BMK could be effective in adjuvant chemotherapy for human cancer.

**Key Word** : *Buthus martensi* Karsch, two-stage carcinogenesis, initiator, promoter

## I. 緒 論

면역반응은 외부 침입물질에 대한 생체의 방어작용이며, 방어의 양상은 항체 생성을 통한 체액성 방어와 면역관련 세포들의 분화 및 성장을 촉진시키는 액성 인자를 분비하여 침입한 항원을 제거 혹은 활동을 약화시키는 세포성 방어로 구분하게 된다<sup>1,3)</sup>. 이러한 방어기전이 약해지거나 무력화될 때 생체는 자가면역질환을 비롯한 다양한 면역질환과 암에 걸릴 확률이 높아지게 된다<sup>2,4)</sup>.

우리 인체의 면역기능은 노화되어 갈수록 저하되어 간다는 것은 잘 알려져 있다<sup>2,5,6)</sup>. 이와 관련하여 나이가 들수록 암에 걸릴 확률도 점차로 높아지며 특히 간장 및 호흡기 계통의 암의 발생 빈

도는 가령(加齡)과 함께 크게 증가된다고 보고되고 있다<sup>4)</sup>.

한의학에서 活血化癥法은 암의 형성과 발전과정에서 중요한 병리기제의 하나인 瘀血을 풀기 위하여 응용되는데<sup>7)</sup>, 면역증강 효과<sup>8)</sup>, 항암<sup>9)</sup> 및 암 전이 억제<sup>10)</sup> 효과가 있다고 보고되며, 근래에는 蟲類 약물이 많이 활용되고 있다<sup>11,12)</sup>.

全蝎(*Buthus martensi* Karsch)은 解毒散結의 효능이 있어 瘡瘍腫毒의 치료에 활용되어 왔으며<sup>13)</sup>, 최근에는 위암, 간암 등의 치료에도 이용되며<sup>14)</sup>, 특히 생체내에서 암세포를 비특이적으로 파괴하는 natural killer 세포의 활성을 증가시킨다고 보고되고 있어<sup>15)</sup> 암세포에 일정한 작용을 나타낼 것으로 여겨진다.

그러므로, 저자는 全蝎 추출물이 노령

으로 저하된 면역기전에 미치는 영향을 알아보려고 각각 다른 주령의 생쥐를 대상으로 면역반응을 조사하였으며, 또한 화학적 발암물질에 의한 2단계 발암화 과정에 미치는 효과를 관찰한 후 실제로 암세포를 대상으로 세포독성에 미치는 영향을 조사한 바 유의성 있는 결과를 얻었기에 다음과 같이 보고한다.

## II. 實 驗

### 1. 材 料

#### 1) 약재

본 실험에 사용한 全蝎 (*Buthus martensi* Karsch, 이하 BMK로 약칭함)은 동국대학교 부속 한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였으며, 정선 표본 생약들은 동국대학교 한의과대학 내과학교실에 보관 중이다.

2) 동물 및 세포

생쥐는 효창 사이언스에서 구입하여 본 대학 동물사육실에서 일정한 조건 (온도 20±2℃, 습도 40~60%)하에서 적응시킨 5주령, 24주령, 78주령의 음성 Balb/c 생쥐를 사용하였다. 한편, 더욱 면적이 억제된 생쥐를 얻을 목적으로 인위적으로 12주령의 음성 Balb/c 생쥐에 glucocorticoid (1회 80mg/kg, i.p)를 1주일 투여하였으며 각각 14마리를 한 군으로 하여 실험에 이용하였다. 그리고, 항암 활성에는 6주령의 음성 ICR 생쥐를 사용하였다. 한편, HepG2 cell, Chang liver cell, K562 및 Sarcoma-180 (S-180)은 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, ResponseTM, U.S.A.)를 각각 사용하였다.

2. 方法

1) 全蠶 methanol 추출물의 제조

全蠶 18g을 細切하여 methanol 350 ml를 넣고 회전 감압증류기를 사용하여

45℃에서 2시간 추출한 다음 methanol을 완전히 증발시키고 남은 全蠶 엑기스를 평량하여 다시 ethanol에 용해하여 사용하였다.

2) TPA를 사용한 생쥐의 귀 종양 측정 Okuyama 등<sup>16,17)</sup>의 방법에 따라 시행하였는데, 음성 ICR 생쥐 5마리씩을 한 군으로 하였다. 全蠶 메탄올 엑기스 10 mg을 ethyl alcohol 200 μl에 녹인 후 실험용액으로 하였다. 이 용액 20 μl을 micropipet을 이용하여 오른쪽 귀의 안쪽 및 바깥쪽에 수차례 도포하였다. 全蠶 메탄올 엑기스 도포 30분 후, TPA (100 μg/ml)를 acetone에 녹인 다음, 2 μg에 해당되는 양을 귀의 안쪽 및 바깥쪽에 각각 도포하였다. 귀의 두께는 TPA 투여 5시간 후에 thickness gauge (Ozaki MFG. Co. Ltd, Japan)를 사용하여 측정하였다.

3) 화학발암물질에 의한 발암화의 2단계 실험

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

① 생쥐 피부의 2단계 발암화 측정<sup>18)</sup>

6주령의 ICR계 음성 생쥐를 사용하여 각 생쥐의 등을 면도날을 사용하여 털을 제거한다.

그 뒤 발암 개시 물질인 DMBA를 acetone 0.1 ml에 150 μg (585 nmol)의 비율로 녹인 후 피부에 도포한다. 일주일 뒤 TPA (2 μg, 3.25 nmol)를 acetone에 녹인 다음 일 주일에 두 번씩 생쥐의 같은 부위에 15주 이상 도포하였다. 全蠶 추출물은 10배 희석하여 15주 동안 계속적으로 경구로 투여하였으며 tumor의 수는 일 주일에 한번 측

정하였다. 한편, 대조군에서는 全蠶 추출물 대신 물을 자유로이 먹도록 하였으며 각각의 실험군은 생쥐 20마리를 한 군으로 하였다.

② 생쥐 폐의 2단계 발암화 측정<sup>19)</sup>

실험동물로는 6주령의 음성 ICR 생쥐를 사용하였으며, 각 실험군은 10마리씩으로 하였다.

Initiator로는 4-NQO (0.3 mg/마리)를 olive oil과 cholesterol (20:1)에 녹인 후 실험 첫날 subcutaneous injection으로 투여하여 initiation을 유발하였다. Initiation을 유발한 후 4주가 지난 후부터, 실험군을 나누어 한 군은 全蠶 추출물에 5% glycerol을 혼합하여 투여하고 다른 군은 5% glycerol만을 투여하였는데 그 기간은 20주 지속되도록 하였다. 그 뒤 생쥐를 희생시키고 폐를 적출하여 formaldehyde로 고정하였다.

4) 인간의 간암세포(HepG2 cell) 및 정상 간세포 (Chang liver cell)에서 cytotoxicity 측정<sup>20)</sup>

Microfilter plate well에 HepG<sub>2</sub> 및 Chang liver cell의 수를 1×10<sup>5</sup>cell로 조절한 다음, 10% FBS DMEM배지에 2시간 배양 한 후, 全蠶 추출액 원액을 각각 10배, 25배, 50배, 100배 및 200배로 희석한 다음 well에 가하여 HepG<sub>2</sub>에 대한 cytotoxicity를 관찰하였다. 같은 조건으로 다시 22시간 배양한 뒤 살아있는 세포는 MTT assay법으로 확인하여 그 결과를 cell viability로 나타내었다<sup>21)</sup>. 한편, 대조군으로는 human normal liver cell line인 Chang liver cell을 사용하여 위와 같은 방법으로 활성을 측정하였다.

5) 인간의 간암세포 및 정상 간세포에서의 glutathione 함량 측정<sup>22)</sup>

Culture flask로부터 Chang liver cell 및 HepG<sub>2</sub> cell를 회수한 후 PBS로 2회 세척하고 1.15% KCl를 포함하는 50mM potassium phosphate buffer에 suspension하였다. 그 후, chip type sonicator (Sonics & Materials사, U.S.A.)를 사용하여 (10초간 3회) 세포막을 파괴한 다음 4°C에서 10,000 × g로 10분간 원심분리한 후 그 상정액을 microsomal fraction으로 사용하였다. GSH의 양은 총 glutathione의 양에서 산화형 glutathione (GSSG)의 양을 뺀 값으로 나타내었으며, glutathione 생합성의 inhibitor인 L-buthionine-(S,R)-sulfoximine을 24시간 동안 50 μM을 투여한 세포와 투여하지 않은 세포에서의 nonprotein SH-substance의 값을 빼고 나타내었다.

6) Glutathione-S-transferase (GST) 활성 측정

Total GST activity의 활성 측정은 Habig의 방법<sup>23)</sup>에 의해 실시하였다. 활성 측정에 사용한 효소원은 간 homogenate를 105,000×g로 원심분리한 다음 1mM GSH를 포함하는 100mM potassium phosphate buffer(pH 6.5) 및 1mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene을 사용하였다.

7) Sarcoma-180에 의한 생쥐 복수암에 대한 실험<sup>24)</sup>

① Sarcoma-180 (S-180)의 계대보존 및 복수암의 유발

S-180은 세포수가 1 x 10<sup>7</sup> cells/ml 되게 RPMI-1640배지에 유지시켜 ICR 생쥐의 복강에 0.1ml씩 주사하여 계대보존하였다. 실험에 사용할 때에는 ICR 생쥐에 in vivo 계대종인 S-180세포를 멸균된 주사기로 채취하였다. 채취

한 암세포를 다시 RPMI-1640 배지로 희석하여 S-180세포의 농도가 1 × 10<sup>6</sup> cells/마리 되게 하였다. 이와 같이 희석한 S-180 세포액을 ICR 생쥐의 복강에 주사하였다.

② S-180에 의해 유발된 복수암에 미치는 쏘꼬의 효과

S-180 복수암을 ICR 생쥐에 유발시킨 24시간 후부터 쏘꼬 추출물을 5배 희석하여 30일 동안 생쥐에 경구 투여하였다. 각 실험군의 생쥐는 10마리로 하였으며 암세포의 접종일로부터 30일 까지 매일 생쥐의 생존여부를 관찰하였다.

8) 단백질 함량 측정

단백질의 양은 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 BCA (Bicinchoninic acid)법으로 측정하였다.

9) 통계 처리

실험 결과의 유의성 검정은 Student

s t-test를 이용하여 상호비교하여 관찰하였다.

III. 成績

1) TPA를 사용한 생쥐의 귀 증양에 미치는 영향

생쥐에서 귀 증양에 대한 억제제는 쏘꼬 메탄올 엑기스의 도포량이 0.5mg에서는 31.10 ± 5.21 %이며, 1.0mg에서는 43.26 ± 6.21 %, 1.5mg에서는 52.90 ± 5.09 %, 2.0 mg에서는 59.21 ± 6.21 %로 나타나 생쥐의 귀 증양에 대한 억제는 쏘꼬 메탄올 엑기스의 농도에 비례하여 증가되는 것을 알 수 있었다. (Fig. 1)

2) 생쥐 피부의 2단계 발암화에 미치는 영향

DMBA에 의해 유발된 피부 증양은 대조군에서 5주째부터 나타나기 시작하였으며, 쏘꼬 추출물을 투여한 실험군에

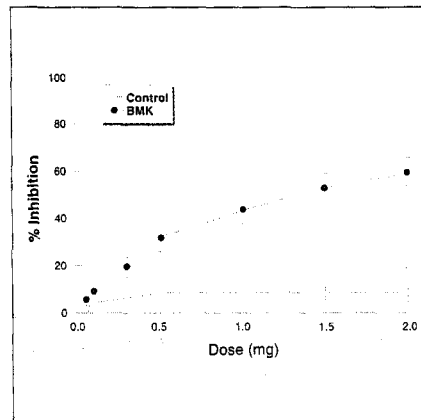


Fig. 1. The dose-dependent inhibition of *Buthus martensi* Karsch on TPA-induced mouse ear edema. BMK was applied for topical application to both inner and outer surfaces of the right ear in mice. After 30 min, 2 μg of TPA in acetone was treated on the same sites. The detail experimental procedure was described in materials and methods. BMK : *Buthus martensi* Karsch.

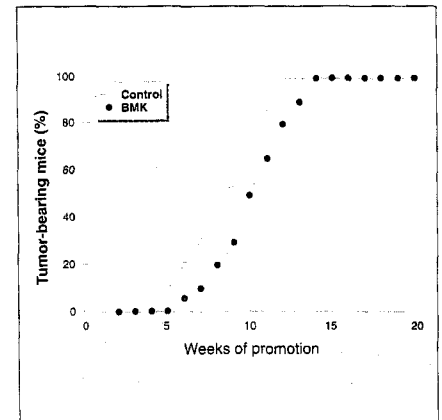
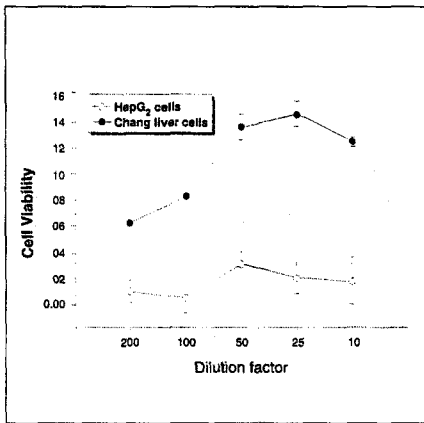
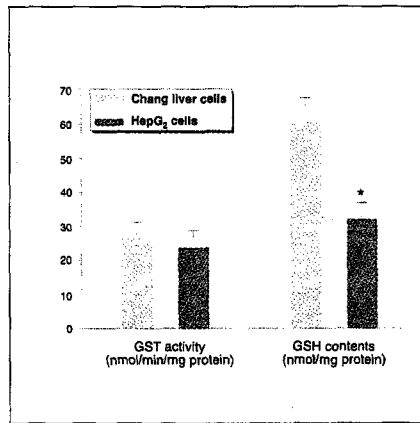


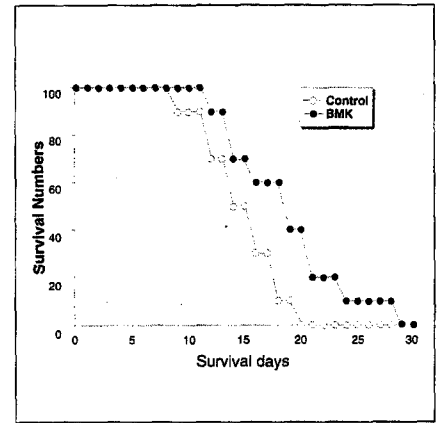
Fig. 2. Inhibitory effect of *Buthus martensi* Karsch on skin tumor formation induced by TPA in DMBA initiated mice. From 1 week after initiation by DMBA (150 μg), TPA (2 μg) was applied twice a week for 18 weeks. The incidence of papillomas was observed weekly. Each sample was prepared and treated as described in materials and methods. BMK : *Buthus martensi* Karsch.



**Fig. 3.** Cytotoxic effects of *Buthus martensi Karsch* on Chang liver cells and HepG<sub>2</sub> cells. Chang liver cells (1x 10<sup>5</sup> cells/well) and HepG<sub>2</sub> cells (1x10<sup>5</sup> cells/well) were incubated at 37°C for 2 hrs. Each diluted solution of BMK was added and further incubated for 22 hrs. The viable cells were detected by MTT assay. BMK : *Buthus martensi Karsch*



**Fig. 4.** GSH/GST related biochemical analyses in Chang liver cells and HepG<sub>2</sub> cells. Values represent the mean ± S.E. of three independent experiments done in triplicate. Significant differences from Chang liver cells at p < 0.05, respectively.



**Fig. 5.** Antitumor activity of *Buthus martensi Karsch* on Sarcoma 180-bearing mice. 24 hrs after tumor inoculation (1 x 10<sup>6</sup> S-180 cells/mouse), BMK was orally administered to 10 mice in a group once a day for 30 days. BMK : *Buthus martensi Karsch*

**Table I.** Inhibitory effect of *Buthus martensi Karsch* 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	90	8.9	-
II. 5% glycerol + 1/5 BMK solution**	69.6	4.3	51.7

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 weeks 4 to 20, water solution of *Buthus martensi Karsch* (BMK) was administrated as shown in materials and methods.

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

\*\*1/5 BMK solution means 5 times diution of *Buthus martensi Karsch* water solution

서는 6주째에 종양이 형성되기 시작했다. 그리고, 대조군에서는 12주째에 모든 실험 동물에서 종양이 관찰되었으나, *全蝎* 추출물을 투여한 실험군에서는 14주째에 종양이 완전히 발현되었다. (Fig. 2)

3) 생쥐 폐의 2단계 발암화에 미치는 영향

4-NQO로 유도된 생쥐에 대하여 폐

암의 발생을 살펴보면, 5% glycerol만을 투여한 대조군의 경우 실험 동물 대부분에서 종양이 발생(90%)하였으나, 5% glycerol에 *全蝎* 추출물을 첨가하여 투여한 경우 실험 동물의 69.6%만이 종양이 발생되었다. 그리고, 각 실험군에서 종양이 발생된 실험동물당 종양 세포의 수는 대조군은 8.9 개였으나 *全蝎* 추출물을 투여한 실험군의 경우 4.3 개로 나타나 *全蝎* 추출물은 4-NQO로

유도된 폐암의 발생을 약 51.7% 억제하는 것으로 나타났다.(Table 1)

4) 인간 간암세포 (HepG<sub>2</sub> cell)와 Chang liver cell의 활성에 미치는 영향

*全蝎* 추출물의 농도가 증가함에 따라 사람 간암 세포인 HepG<sub>2</sub> cell에 미치는 cytotoxicity는 증가하는 것을 알 수 있었는데, 50배 ~ 25배 희석액에서 HepG<sub>2</sub> cell에 대한 cytotoxicity가 가장 효과가 큰 것으로 나타났다. 한편, 이러한 농도에서는 대조군인 사람의 정상 간세포인 Chang liver cell과 비교해 볼 때 유의성 있게 cytotoxicity가 현저히 증가하는 것으로 나타나 *全蝎* 추출물은 간암 세포의 증식을 억제하는 것으로 생각되었다. (Fig. 3)

5) HepG<sub>2</sub> cell과 Chang liver cell에서 glutathione-S-transferase (GST) 활성과 glutathione 함량에 미치는 영향

쫄쫄 추출물의 HepG<sub>2</sub> cell에 대한 cytotoxicity의 증가 원인을 알아보기 위해 HepG<sub>2</sub> cell 및 Chang liver cell의 total GST 활성을 측정하였을 때, HepG<sub>2</sub> cell에서 GST의 활성은  $23.6 \pm 5.1$  nmol/min/mg protein으로 Chang liver cell의  $26.2 \pm 4.6$  nmol/min/mg protein보다 약간 낮게 나타났다. 그러나, GSH의 함량은 Chang liver cell에서는  $60.8 \pm 6.9$  nmol/mg protein으로 나타나 HepG<sub>2</sub> cell의 경우인  $32.1 \pm 4.8$  nmol/mg protein 보다 약 1.9배 증가하는 것으로 관찰되었다. (Fig. 4)

#### 6) Sarcoma-180에 의한 생쥐 복수암에 미치는 영향

쫄쫄 추출물의 투여로 S-180에 의해 유도되는 복수암에 의한 life span은 대조군에서는 9일째부터 생쥐가 사망하기 시작하여 생존한 실험 동물의 수는 11일째에 7마리, 13일째에 5마리, 15일째에 3마리, 17일째에 1마리이며 19일째는 실험에 사용한 10마리의 생쥐가 모두 사망하였다. 한편, 쫄쫄 추출물을 투여한 군에서는 12일째부터 사망하기 시작하여 14일째에 7마리, 18.5일째에 5마리, 20.5일째에 3마리, 24일째에 1마리가 생존하여 실험 개시 28일까지 생존한 뒤 29일째 모두 사망하였다. S-180의 투여로 인해 10마리의 생쥐에서 1/2(5마리)이 살아남는데 걸리는 시간은 대조군에서는 13일, 그리고 쫄쫄 추출물을 투여한 군에서는 18.5일 걸리는 것으로 나타났다. (Fig. 5)

## IV. 考 察

암의 발생은 다양한 요소들이 관여하고 있으나, 지금까지 밝혀진 바로는 암 발생의 90% 이상이 환경 화합물과 밀

접한 관계가 있다고 보고되고 있다<sup>25)</sup>. 즉, 의약품, 살충제, 음식물, 화장품, 자외선, 마시는 물 및 호흡하는 공기 등 우리가 항상 접하는 주변의 많은 물질들이 생체내에서 암을 일으킬 수도 있으므로<sup>26)</sup> 우리 인간은 언제나 이러한 발암물질에 노출되어 있다고 해도 과언이 아니다.

화학물질에 의한 암의 발생은 initiation과 promotion의 2 단계로 독립된 과정에 의하여 이루어진다고 생각하는 발암 2단계설로 설명하고 있다. Initiation이란 발암물질(initiator)에 의해 DNA와 불가역적으로 결합해서 유전자 level에서 장애를 일으켜 정상세포를 잠복성 종양세포로 유도하는 단계이며, promotion이란 promoter의 반복 자극에 의해서 initiator로 유도된 잠복성 종양세포의 증식을 촉진시켜 종양세포의 분화 및 암화로의 유도를 촉진하는 과정이다. 이러한 기전이 발암 2단계설로 불리며 생쥐 모델실험을 통해 Berenblum에 의해 제창되어지고 있다<sup>27)</sup>.

환경중에서 다수의 발암물질 및 돌연변이원 물질 등의 initiator와 함께 다양한 promoter가 알려져 있다. 발암예방에는 이들 발암 관련 물질을 제거하는 것이 최상책이나 환경중에 널리 존재하는 각종 발암 물질을 완전히 제거하는 것은 불가능하다. 그래서, 발암을 방지 혹은 지연시키는 적극적인 방법으로 화학물질에 의한 억제나 생체에서 방어기전의 증가가 검토되고 있다. 즉, initiation 혹은 promotion 중의 어느 한 과정 혹은 양 과정을 동시에 저해할 수 있다면 최종적으로 발암의 억제와 관련되어 진다고 할 수 있다. 이러한 관점으로 볼때 쫄쫄을 사용한 면역증강 및 항암 활성의 측정은 biological response modifier와 관련된 항암제 개발에 중요

한 정보를 제공하리라 생각된다.

쫄쫄은 한의학에서 熄風鎮痙, 化痰祛瘀, 解毒散結의 효능이 있어 驚癇抽搐, 急慢驚風, 破傷風, 中風振顫, 諸瘡腫毒 등의 치료에 활용되어 왔으며<sup>7,28-32)</sup>, 약리 작용으로는 抗痙攣, 혈압강하, 鎮靜鎮痛 작용 등이 밝혀지고 있다<sup>8,32-34)</sup>.

최근에는 in vitro 실험에서 인간 간세포의 성장을 억제하는 효과가 있음이 보고되고 결장암, 위암, 간암, 골육종, 유방암 등의 치료에도 활용되고 있다<sup>35)</sup>. 특히, 李<sup>35)</sup>는 쫄쫄 추출물이 NK 세포의 활성을 증가시킴으로서 암세포인 K562 세포의 손상을 증가시키는 것으로 보고하였다.

저자들은 이미 쫄쫄 추출물이 생체내에서 macrophage의 탐식 능력을 증가시키고 이에 따라 일차면역을 담당하는 IgM과 2차면역을 담당하는 IgG의 항체 생성을 모두 증가시킨다는 것을 보고하였다<sup>35)</sup>. 그리고, 이러한 효과는 노령화가 진행될수록 그 상승폭이 증가되는 것으로 나타나 쫄쫄이 고령자의 면역기능 저하에 더욱 더 효과적임을 알 수 있었다. 또한 쫄쫄 추출물이 암세포의 살해기전에 직접적으로 작용하는 NK세포의 활성도 증가시키는 것으로 나타났다<sup>35)</sup>. 이러한 결과로 볼 때, 쫄쫄은 2단계의 발암화 과정을 억제시킬 것으로 추측된다. 그러므로, 저자들은 쫄쫄의 항암효과를 살펴보기 위하여 initiator와 promoter를 활용하여 실험적으로 여러 장치에서 종양 발생을 유도한 후 쫄쫄 추출물이 각종 암의 2단계 발생에 미치는 영향에 대하여 살펴보았다.

먼저, TPA를 사용하여 생쥐의 귀 종양에 미치는 영향을 살펴 보았다. 본 연구에서 사용한 TPA는 가장 연구가 많이 진행된 promoter로서 巴豆 종자의 기름에서 얻어진 물질이다<sup>36)</sup>. 쫄쫄 추출

물은 투여량에 비례하여 귀 증양을 유의성 있게 억제하는 것으로 나타났는데, 대조군에서는 증양억제 효과에 별다른 변화가 없는 것으로 나타났다. 한편, 全蠍 메탄올 엑기스를 도포한 실험군에서는 IC50의 값이 약 1.4 mg인 것으로 나타나 유의성 있게 귀 증양에 대한 감소 효과가 있음을 알 수 있었다.

그리고, 피부암의 출현은 全蠍 추출물을 투여한 경우 대조군에 비하여 늦게 나타나며, 또한 모든 실험 동물에서의 증양 발현도 늦어져 全蠍이 DMBA가 유도하는 피부 암화 과정을 억제하는 효과가 있음을 나타내고 있다.

또한, 폐암의 발생에서 promoter에 미치는 全蠍의 영향을 살펴 보았을 때, promoter인 glycerol에 의한 폐암의 발생은 全蠍 추출물로 인하여 증양이 발생된 실험동물의 수가 약 20% 억제되었다. 그리고, 증양이 발생된 실험동물 당 증양세포의 수도 全蠍 투여군에서는 대조군에 비하여 절반수준으로 줄어들어 全蠍 추출물이 폐암의 발생을 현저히 억제하는 것으로 나타났다. 한편, promoter로서 glycerol을 투여하지 않은 군에서는 투여한 군에서 보다 증양의 발생율이 급격히 낮아져 있어 발암 2 단계설을 뒷받침 해준다.

그리고, 全蠍 추출물이 인간의 간암 발생에 미치는 영향을 살펴 보았을 때, 全蠍 추출물은 농도가 증가함에 따라 인간 간암 세포인 HepG<sub>2</sub> cell에 대하여 cytotoxicity는 증가하였다.

한편, 친전자성의 발암성 활성대사물의 해독 작용을 담당<sup>37)</sup>하는 glutathione-S-transferase 활성을 측정하였을 때, HepG<sub>2</sub> cell과 Chang liver cell 사이에 특별한 변화가 없었다. 그러나, glutathione 함량에서는 HepG<sub>2</sub> cell의 경우가 Chang liver cell 보다 거의 절반

에 불과하였다. 이러한 결과는 glutathione이 방어기구 즉, 방사선 장애의 방어, 세포막의 유지, 효소의 SH기의 유지, 이물질의 해독 등 생명 유지에 중요한 역할을 한다는 보고<sup>38)</sup>를 상기할 때, HepG<sub>2</sub> cell에 대한 cytotoxicity의 증가 원인은 cellular protection에 관여하는 GSH의 함량이 저하됨에도 관련이 있음을 알 수 있었다.

이러한 全蠍 추출물의 발암 억제 효과가 생쥐 복수암으로 인한 실험동물의 수명에는 실제 어떠한 영향이 있는지를 살펴 보았다. Sarcoma-180으로 유도되는 복수암으로 대조군은 9일째부터 사망하기 시작하여 19일째는 실험 동물이 모두 사망하였다. 그러나, 全蠍 투여군에서는 12일째부터 사망하기 시작하여 실험 개시 29일째에 실험 동물이 모두 사망한 것으로 나타나, 全蠍 추출물은 실험 동물의 life span을 유의성 있게 증가시킴을 알 수 있었다.

이상의 결과들을 종합하여 보면, 全蠍 추출물은 생체 장기에서 initiator와 promoter로 유발되는 발암화를 억제하며 이와 함께 암 발생된 실험 동물의 life span을 증가시키는 것으로 나타나, 향후 다양한 암종류를 대상으로 한 실험과 全蠍 추출물에 의한 독성에 관한 실험이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## V. 結 論

解毒散結의 효능이 있어 瘡瘍腫毒의 치료에 활용되고 있는 全蠍이 2단계 발암화 과정에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 DMBA가 유도하는 생쥐 피부 및 4-NQO가 유도하는 생쥐 폐의 증양발생에 미치는 영향을 검토하였다. 그 결과, 全蠍 메탄올 추출물은 발암 promoter에 의해 야기되는 증양 발생을 늦추거나 발

리 소멸시키는 것으로 나타났다. 또한, in vitro에서도 사람 간암세포인 HepG<sub>2</sub> cell의 성장을 유의성 있게 억제시켰으며 이는 glutathione의 함량 저하와 밀접한 관계가 있는 것으로 나타났다. 한편, Sarcoma-180에 의해 유도되는 생쥐 복수암에 대한 실험에서도 실험 동물의 생존기간을 연장시킴을 알 수 있었다.

이상의 결과들을 요약해 볼 때, 全蠍 추출물의 투여는 생쥐의 면역반응을 증강시키고 이에 따른 TPA가 유도하는 2 단계 발암화 과정을 억제함으로써 in vivo 및 in vitro에서 암세포의 증식을 유의성 있게 억제시키는 것으로 나타났다.

## VI. 參考文獻

1. 서울대학교 의과대학 : 면역학, 서울: 서울대학교 출판부, 1992: 9-22, 29-35, 100-102, 121-127.
2. 孔海云 : 現代自身免疫病學, 北京: 人民軍醫出版社, 1996:10-11, 21-25, 65-79.
3. 김구자 : 生理學, 서울: 고려의학, 1986:60-62.
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. Makinodan, T. and Petterson, W.J. : Growth and senescence of the primary antibody formation potential of the spleen., J. Immunol., 1964;93:889-896.
6. Kigukawa, K. : Age pigments, Relationship between lipid peroxidation and Formation of Fluorescent pigments, 衛生化學, 1984;30:333-343.
7. 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.
8. 陳可冀 : 血瘀證與活血化癥研究, 上海: 上海科學技術出版社, 1990:488.
9. 應榮多 : 活血化癥治則與抗腫瘤研究, 全國第二次中醫腫瘤防治研究協作會議資料, 1981.
10. 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.

11. 楊寶印 : 癌症的中藥治療, 河北科學技術出版社, 1992:110,123,149.
12. 錢伯文 : 抗癌中藥的臨床效用, 上海: 上海翻譯出版公司, 1987:112, 270-271, 276.
13. 辛民教 : 原色臨床本草學, 서울: 永林社, 1991:502-503.
14. 郝麗莉, 劉淑蘭, 張貴君, 葛風新, 李影 : 中藥全蝎的研究進展, 中醫藥學報, 1994;5:49-55.
15. 이원훈, 정지천, 김종대 등 : 전갈이 마우스 Natural killer 세포 활성화에 미치는 영향, 생약학회지, 1998;29(4):293-299.
16. Okuyama, T. : Studies on cancer biochemoprevention of natural resources. X., Inhibitory effect of spices on TPA-enhanced 3H-choline incorporation in phospholipids of C3H10T1/2 cells and on TPA-induced mouse ear edema., Chin. Pharm. J., 1995;47:421-430.
17. Inoue, H., Mori, T., Shibata, S. and Koshihara, Y. : Modulation by glycyrrhetinic acid derivatives by TPA-induced mouse ear edema., Br. J. Pharmacol., 1989;96:204-210.
18. 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.
19. 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.
20. Moritani, S., Hasegawa, K. and Miyamoto, K. : In vitro cytotoxicities of Shofu-dan 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.
21. 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.
22. Theodros, P.M. and Helmut, S. : Assay of glutathione, glutathione sulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples, Method. Enzymol., 1981;77:373-375.
23. Habig, W., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B. : Glutathione S-transferases. J. Biol. Chem., 1974;249:7130-7139.
24. 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.
25. Ames, B.N : Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer, Science, 1979;204:587-503.
26. 해리슨내과학 편찬위원회 : Harrison's principles of internal medicine 13th Edn. Korean language edition, 서울: 정담, 1997:1663-1679.
27. Berenblum I, Armuth V. : Effect of colchicine injection prior to the initiating phase of two-stage skin carcinogenesis in mice, Br. J. Cancer., 1977;35(5):615-20.
28. 吳儀洛 : 本草從新, 北京: 人民衛生出版社, 1990:345.
29. 黃宮綉 : 本草求真, 臺北: 宏業書局, 1987: 89.
30. 李時珍 : 本草綱目, 서울: 醫聖堂, 1993: 2282-2285.
31. 凌一揆 : 中藥學, 上海: 上海科學技術出版社, 1996:201, 202.
32. 顏正華 : 中藥學, 北京: 人民衛生出版社, 1995:694, 695.
33. 新文豐出版公司編 : 中藥大辭典, 臺北: 新文豐出版公司, 1995:709-711.
34. 신현철, 윤철호, 김종대, 정지천, 신억섭, 허근 : 全蝎 抽出物の 抗癲癇效果에 關한 研究, 韓國韓醫學研究院論文集, 1997;3(1):199-213.
35. 정인채, 정지천 : 全蝎이 老齡에 따른 mouse의 免疫 機能에 미치는 影響, 대한한방내과학회지, 1998;19(2):208-218.
36. 대한병리학회 : 병리학(제2판), 서울: 고문사, 1995:235-244.
37. Vos, R.M.E. and Van Bladeren, P. : Glutathione S-transferase in relation to their role in the biotransformation of xenobiotics, Chem. Biol. Interact., 1990;75:241-265.
38. Sakamoto, Y. and Kinoshita, S. : Glutathione, 3rd Ed. Scientific, 1989:5.