

抗癌 및 免疫에 대한 托裡消毒散의 效果 -萬病回春方を 중심으로-

金弘振* · 崔政和*

ABSTRACT

The Effects of *Taklysodoksan* Extract on the Anti-cancer and Immunity

Kim Hong-jin · Choi Jung-hwa

Taklysodoksan(TSS) was a drug used in the treatment of carbuncle and cellulitis in oriental medicine. The purpose of this Study is to investigate the anti-cancer effect of TSS, the proliferation of immunocytes and nitric oxide(NO) production from peritoneal macrophages of mice.

This Study estimated the proliferation of L1210 cell lines, mouse thymocytes and splenocytes and NO production from peritoneal macrophages *in vitro* and *vivo*. The proliferation of cells was tested using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay).

From the *in vitro* and *vivo* Study of TSS treatment, it did not effect the proliferation of L1210 cells. It also did not have any positive production of NO in peritoneal macrophages.

This results suggest that TSS treatment in WanBingHuiChun(萬病回春) did not have significant anti-cancer effect and immuno-action comparing with TSS treatment of WaiKeZhengZhong(外科正宗).

* 東新大學校 韓醫科大學 外官科學教室

I. 緒 論

托裡消毒散은 「醫學入門」¹⁾에 “治癰疽腫痛, 俱慢, 色赤不甚, 元氣虛弱, 或行政伐不能潰散者”라 하였고 「萬病回春」²⁾에 “治一切癰疽, 六七日未消者, 瘡未成即消, …… 使毒氣不能內攻, 使毒膿易潰肌肉易生”라 하여 癰疽를 治療한다고 하였다. 癰疽란 「靈樞」·「玉版篇」³⁾에 “陰氣不足, 陽氣有餘, 營氣不行, 乃發爲癰疽”라 하여 最初로 收錄되었고, 근래에 金⁴⁾은 各種의 腫瘍을 通稱하는 것으로서 크기와 형태에 따라 癰, 癰, 疽, 癌 등으로 區分한다고 하였다.

癌은 特定 組織이 過剩 成長하여 正常的인 組織을 破壞하며 生體에 이롭지 못하게 作用하는 惡性 腫瘍을 말하며⁵⁻⁷⁾, 治療法은 手術療法, 放射線療法, 化學療法 및 遺傳子療法 등이 있으나 그 限界性을 克服하지 못한 실정이다^{8,9)}. 韓醫學에서는 癌을 氣滯血瘀, 痰結濕聚, 熱毒內蘊, 氣血虧虛 등의 病機에 따라 扶正法 및 消積, 活血, 清熱 등의 祛邪法을 함께 活用하여 왔다^{10,11)}.

托裡消毒散에 대한 研究로 姜¹²⁾ 등^{13,14)}은 消炎, 抗알레르기 및 免疫性疾患 등에 대해 研究를 했으며 腫瘍에 관한 研究로는 梁¹⁵⁾이 3-MCA로 誘發된 腫瘍의 크기, Leukemia cell line인 3LL, Sarcoma cell line인 S-180細胞의 增殖抑制 效果를 報告하였고 崔¹⁶⁾는 *In vitro*상으로 L1210細胞柱, Hep-G2細胞柱, A431細胞柱에 모두 增殖抑制 效果가 있으며 *In vivo*상으로도 癌細胞의 增殖抑制, 胸腺細胞와 脾臟細胞의 活性化 그리고 Nitric Oxide(NO)의 量을 增加시켰다고 報告하였다. 崔¹⁶⁾가 「外科正宗」¹⁷⁾을 出典으로 하고 있는 托裡消毒散을 研究하였기에 著者는 「萬病回春」²⁾를 出典으로 하고 있는 本 方劑의 效能을 同一한 方法으로 比較考察할 必要가 있었다. 本 方劑의 抗癌 및 免疫增進에는 미치는 實驗的 效果를 究明하고

자 急性白血病細胞柱인 L1210細胞柱에 대한 細胞 毒性 效果, 免疫細胞중 thymocytes와 splenocytes의 增殖能 그리고 腹腔 macrophages에서 生成되는 NO의 量 등을 *in vitro*상에서 觀察하고, 또한 L1210細胞柱를 移植한 *in vivo*상에서도 이를 反復 觀察한 結果 智見을 얻었기에 報告하는 바이다

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

本 實驗에 사용한 托裡消毒散은 「萬病回春」²⁾에 準하였으며, 構成藥物은 다음과 같다. 托裡消毒散 1貼分量(63.75g)을 1,000ml 증류수로 상온에서 3시간동안 추출한 후 rotary evaporator로 농축한 다음 freeze dryer로 동결건조하여 분말 20.8g을 얻었다. 동물 실험시에는 생리식염수에 용해하여 사용하였고, 세포실험시에는 3차 증류수에 용해하여 membrane filter로 여과멸균하여 사용하였다.

構成藥物	生藥名	重量(g)
金銀花	<i>Lonicerae Flos</i>	11.25
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	11.25
黃芪 <small>鹽水炒</small>	<i>Astragali Radix</i>	7.50
天花粉	<i>Trichosanthis Radix</i>	7.50
防風	<i>Ledebouriellae Radix</i>	3.75
當歸	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	3.75
白芷	<i>Angelicae dahuricae Radix</i>	3.75
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	3.75
厚朴	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	3.75
穿山甲 <small>炒焦</small>	<i>Gleditsiae Spina</i>	3.75
皂角刺 <small>炒</small>	<i>Manitis Squama</i>	3.75
總量		63.75

2) 動物

本實驗에 사용한 마우스는 대한실험동물에서 구입한 Balb/c계 22±1(g) 수컷을 온도 20±3(°C), 습도 55±5(%), light/dark 12(hr)의 사육조건에서 1주일 이상 적응시키면서 고형 pellet 사료(등록성분량 : 조단백질 22.1%이상, 조지방 3.5%이상, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 0.4%이상, 항생제·삼양프리믹스·무첨가 1.3%)와 물을 자유로이 섭취케 하였다.

2. 方法

1) In Vitro

(1) 細胞柱 및 細胞 培養條件

癌細胞柱는 한국세포주은행에서 구입한 急性白血病細胞柱인 L1210細胞를 사용하였고, 免疫細胞는 마우스 胸線 및 脾臟細胞로 이는 Roswell Park Memorial Institute 1640 (이하 'RPMI 1640'이라함)배지를 사용하였으며, 배지에는 10% Fetal Bovine Serum(이하 'FBS'라 함)과 penicillin-streptomycin (100units/ml, 100µg/µl)을 첨가하여

사용하였다. 계대 배양은 1:10~1:20 비율로 3일 간격으로 하였고, 세포 증식에 미치는 托裡消毒散의 영향을 관찰하기 위한 실험은 계대배양 2일째의 細胞를 사용하였다.

(2) MTT法에 의한 癌細胞 增殖率 變化

本 실험에 사용한 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(이하 'MTT'이라 함)法은 Mosmann¹⁸⁾이 개발하여 Kotnik¹⁹⁾ 등이 변형시킨 방법으로, 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100µl(2×10⁵cells/ml)를 접종하여 37°C의 CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 1, 10, 100µg/ml로 희석된 托裡消毒散(Group A, Group B, Group C) 100µl를 넣고 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5mg/ml 농도로 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(이하 'DPBS'라 함)-A에 희석된 MTT용액 20µl를 각 well에 첨가하고 배양 종료시까지 은박지로 빛을 차단하였다. 배양 종료시 0.01N HCl에 용해시킨 10% Sodium

Demecyl Sulfate(이하 'SDS'라 함) 100 μ l를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 發色된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570nm에서 측정하여 對照郡의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

(3) 마우스 胸腺 및 脾臟細胞의 分離와 測定

마우스의 胸腺 및 脾臟細胞 분리는 Wysocki²⁰⁾ 및 Mizel²¹⁾ 등의 방법을 이용하였다. Balb/c 마우스를 경추 탈골하여 도살시킨 후 적출한 胸腺 및 脾臟을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음 10ml 주사기로 조심스럽게 세포 부유액을 취하여 1,500rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 胸腺 및 脾臟細胞를 分離하였으며, 分離한 胸腺 및 脾臟細胞의 생존율 및 총세포수를 hemocytometer를 이용하여 測定한 다음 胸腺 및 脾臟細胞 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하여 96 well plate에 1.0 \times 10⁶cells/ml 농도로 접종한 후 胸腺細胞에는 Concanavalin A(이하 'Con A'라 함) 5 μ g/ml, 脾臟細胞는 Lipopolysaccharide(이하 'LPS'라 함) 5 μ g/ml을 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음, 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하여 1)-(2)와 같은 MTT法으로 측정하였다.

(4) 마우스 腹腔 macrophages의 分離 및 NO 生成量

3% thioglycollate 2ml를 腹腔에 투여한 다음 3일 후에 마우스를 경추 탈골하여 도살시킨 다음 腹腔에 cold PBS 10ml를 주입한 후 腹腔細胞를 수집하였다. 수집한 細胞를 4 $^{\circ}$ C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리하고 RPMI 1640배지로 2회 세척한 후 직경 120mm petri dish에 분주하여 CO₂ incubator에서 배양시키고 4시간 후에 부착되지

않은 細胞를 제거한 다음 부착한 macrophages를 cell scraper로 분리하여 24 well plate에 well당 1 \times 10⁶ cells를 분주한 후 각 well에 농도별로 약제와 함께 LPS 1 μ g/ml와 Interferon- γ (이하 'IFN- γ '이라 함) 25units/ml를 첨가하지 않은 군과 첨가한 군으로 분류하여, 37 $^{\circ}$ C CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 生成된 NO량을 Griess法²²⁾으로 測定하였다.

세포부유액 100 μ l와 Griess reagent (1% sulfanilamide + 0.2% N-naphthylethylenediamine 2HCl + 2.5% H₃PO₄) 100 μ l를 혼합하여 96 well plate에 넣고 570nm에서 microplate-reader로 흡광도를 測定하여 미리 작성한 NaNO₂의 검량선에 의해 NO량을 측정하였다.

2) In Vivo

(1) 癌細胞의 移植

마우스 leukemia 細胞柱인 L1210 細胞를 1)-(1)과 같이 계대를 하면서 계대배양 2일째 되는 세포를 1 \times 10⁶cells/mouse로 조제하여 腹腔에 1.0ml를 주사함으로써 癌細胞를 이식하였다.

(2) 實驗群

Balb/c 마우스 7마리를 1군으로 하여 對照郡과 實驗郡 A, 實驗郡 B 그리고 實驗郡 C로 분류하였다. 對照郡은 2)-(1)과 같은 방법으로 癌細胞를 이식한 후에 1일 1회씩 7일 동안 증류수 0.2ml씩을 투여하였고, 實驗群 A, B, C는 2)-(1)과 같은 방법으로 癌細胞를 이식한 후에 1일 1회씩 7일 동안 托裡消毒散 300mg/kg, 500mg/kg 및 700mg/kg을 0.2ml씩 각각 투여하였다.

(3) 移植된 마우스의 癌細胞 增殖率 變化

2)-(1)과 (2)의 방법으로 실시한 후 경추 탈골하여 도살시켰다. 도살 후 腹腔에 cold PBS 10ml를 주입하여 잘 혼화시킨 다음 腹腔細胞를 수집하

었다. 수집한 細胞를 4°C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리하고 RPMI 1640배지로 2회 세척한 후 직경 120mm petri dish에 분주하여 37°C CO₂ incubator에서 배양시키고 4시간 후에 부착한 細胞를 제거하고 부착하지 않은 細胞를 모아 4°C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리를 하였다. 침전된 세포 분획을 모아 1×10⁶ cells/ml로 조제하여 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100μl를 분주하고 배지 100μl를 채워 37°C CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음 1)-(2)와 같은 MTT法을 실시하여 측정하였다.

(4) 移植된 마우스의 胸腺 및 脾臟細胞의 增殖率 變化

2)-(1)과 (2)의 방법으로 실시한 후 1)-(3)의 방법으로 分離하였다. 分離한 다음 胸腺 및 脾臟細胞 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10⁶cells/ml 농도로 접종하여 胸腺細胞에는 Con A 5μg/ml, 脾臟細胞는 LPS 5μg/ml을 첨가한 후 37°C CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음 1)-(2)와 같이 MTT法으로 측정하였다.

(5) 移植된 마우스 腹腔 macrophages의 分離 및 NO의 生成

2)-(1)과 (2)의 방법으로 실시한 후 1)-(4)와 같은 방법으로 腹腔 macrophages를 分離하였다. 分離한 macrophages를 24 well plate에 well당 1×10⁶ cells를 분주한 후 각 well에 LPS 1μg/ml와 IFN-γ 25units/ml를 첨가하지 않은 군과 첨가한 군으로 분류하여, 37°C CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후에 生成된 NO의 量을 1)-(4)와 같은 방법으로 측정하였다.

3. 統計 處理

통계처리는 Student's t-test를 이용하였고, p-value의 값은 最大値 0.05이하인 경우에만 有意성을 認定하였다.

III. 實驗成績

1. In Vitro

(1) 癌細胞柱에 미치는 影響

托裡消毒散이 癌細胞에 미치는 細胞毒성을 관찰하기 위하여 L1210細胞柱를 계대배양하여 96 well plate에 2×10⁵cells/ml로 분주한 후 藥物을 각각 1, 10, 100μg/ml를 투여하였다. 그 결과 對照群의 細胞毒성을 100(%)로 하였을 때 Group A는 92.8(%)로 減少하였고, Group B는 91.4(%)로 有意性있게 減少하였으며, Group C도 92.6(%)로 有意性있게 減少하였다(Table 1, Fig. 1).

(2) 免疫細胞에 미치는 影響

托裡消毒散이 免疫細胞에 미치는 細胞毒성을 관찰하기 위하여 balb/c계 마우스의 thymocytes와 splenocytes를 分離한 후 96 well plate에 1×10⁶cells/ml로 분주한 후 托裡消毒散을 각각 1, 10, 100μg/ml를 투여하였다. 그 결과 對照群의 胸腺細胞 增殖率을 100(%)로 하였을 때 Con A를 처리하지 않은 對照群(-)은 31.4(%)를 나타내었고, Group A는 106.8(%), Group B는 109.5(%), 그리고 Group C도 107.3(%)로 對照群에 비하여 增加하는 경향을 나타내었다. 또한 對照群의 脾臟細胞 增殖率을 100(%)로 하였을 때 LPS를 투여하지 않은 對照群(-)은 57.2(%)를 나타내었고, Group A는 104.0(%), Group B는 103.7(%), Group C도 100.6(%)로 對照群의 增殖率에 비하여 別다른 增殖效果를 나타내지 못하였다(Table 2, Fig. 2).

(3) NO의 生成量에 미치는 影響

托裡消毒散이 腹腔 macrophages에서 生成되는 NO의 量에 미치는 影響을 관찰하기 위하여 balb/c계 마우스의 腹腔 macrophages를 分離한 다음 24 well plate에 1×10⁶cells/ml로 분주한 후

托裡消毒散을 각각 1, 10, 100 μ g/ml를 투여하였다. 그 결과 LPS와 IFN- γ 를 투여한 對照群(+)의 NO량은 4.0(μ M)인데 반하여 LPS와 IFN- γ 를 투여하지 않은 對照群(-)은 1.21(μ M)이었고, Group A는 3.7(μ M), Group B는 3.6(μ M) 그리고 Group C는 3.4(μ M)로 나타났다(Table 3, Fig. 3).

2. In Vivo

(1) 癌細胞에 미치는 影響

托裡消毒散이 癌細胞에 미치는 效果를 관찰하기 위하여 L1210細胞柱를 계대배양한 후 6~8주령이 된 balb/c계 마우스 腹腔에 이식한 다음 托裡消毒散을 각각 300mg/kg과 500mg/kg, 700mg/kg을 7일 동안 1일 1회씩 투여하였다. 그 결과 對照群의 癌細胞 抑制率을 100(%)로 하였을 때 實驗群 A는 123.7(%)로 對照群보다 癌細胞가 오히려 增殖하는 결과를 나타내었고, 實驗群 B는 101.8(%)를, 實驗群 C도 105.9(%)로 實驗群 A보다는 減少하였지만 오히려 對照群보다 癌細胞의 增殖率이 增加하는 경향을 나타내었다(Table 4, Fig. 4).

(2) 免疫細胞에 미치는 影響

托裡消毒散이 癌細胞가 이식된 마우스의 免疫細胞에 미치는 效果를 관찰하기 위하여 L1210細胞柱를 계대배양한 후 6~8주령이 된 balb/c계 마우스 腹腔에 이식한 다음 托裡消毒散을 각각 300mg/kg, 500mg/kg, 700mg/kg을 7일 동안 1일 1회씩 투여하였다. 그 결과 對照群의 胸腺細胞 增殖率을 100(%)로 하였을 때 Con A를 처리하지 않은 對照群(-)은 30(%)를 나타내었고, 實驗群 A는 106(%)를 나타내 增加하는 경향을 나타내었지만 實驗群 B는 98.4(%)를, 實驗群 C는 98.5(%)로 投與濃度가 增加할수록 thymocytes의 增殖率은 對照群에 비하여 減少하였다. 또한 對照群의 脾臟細胞 增殖率을 100(%)로 하였을 때 LPS를 투여하지 않은 對照群(-)은 72.9(%)를 나타내었고, 實驗

群 A는 118.8(%)로 20%정도 對照群에 비하여 有意性($P < 0.001$)있게 增加하였지만 實驗群 B는 108.4(%)를, 實驗群 C는 101.7(%)를 나타내 濃度가 增加할수록 增殖率이 減少하는 경향을 나타내었다(Table 5, Fig. 5).

(3) NO의 生成量에 미치는 影響

托裡消毒散이 癌細胞가 이식된 마우스의 腹腔 macrophages에서 生成되는 NO의 量에 미치는 效果를 관찰하기 위하여 L1210細胞柱를 계대배양한 후 6~8주령이 된 balb/c계 마우스 腹腔에 이식한 다음 托裡消毒散을 각각 300mg/kg, 500mg/kg 및 700mg/kg을 7일 동안 1일 1회씩 투여하였다. 그 결과 증류수만을 투여한 對照群의 NO의 生成量은 12.2(μ M)인데 반하여 實驗群 A는 12.8(μ M)로 有意性($P < 0.05$)있게 증가하였고, 實驗群 B는 12.0(μ M)으로 減少하였으며, 實驗群 C는 12.3(μ M)로 對照群보다 약간 增加하는 경향을 나타내었다(Table 6, Fig. 6).

Table 1. Effects of TSS on the proliferation of L1210 cell lines *in vitro*.

<i>In Vitro</i>	Control	Group A	Group B	Group C
L1210	100.0±0.2	92.8±0.9	91.4±1.7**	92.6±1.6**

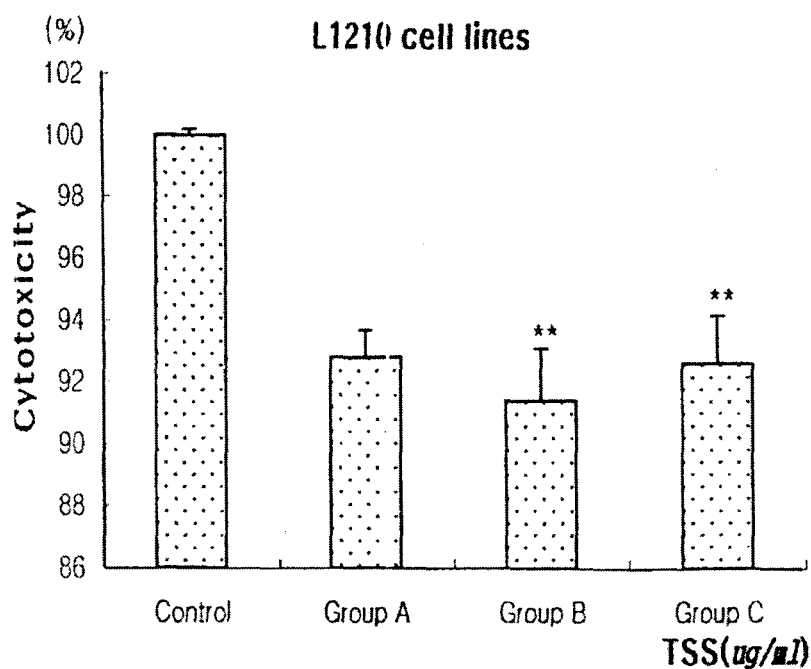


Fig. 1. Effects of TSS on the proliferation of L1210 cell lines *in vitro*.

TSS : *Taklyodoksan* extract.

Control : TSS non-treated group.

Group A : TSS 1ug/ml treated group.

Group B : TSS 10ug/ml treated group.

Group C : TSS 100ug/ml treated group.

* : Significantly different from control group(** : P<0.01).

Table 2. Effects of TSS on the proliferation of thymocytes and splenocytes *in vitro*.

<i>In Vitro</i>	Control(-)	Control(+)	Group A	Group B	Group C
Thymocytes	31.4±0.1	100.0±0.6	106.8±1.4***	109.5±0.3***	107.3±0.8***
Splenocytes	57.2±0.2	100.0±0.4	104.0±0.3	103.7±1.2*	1100.6±1.2

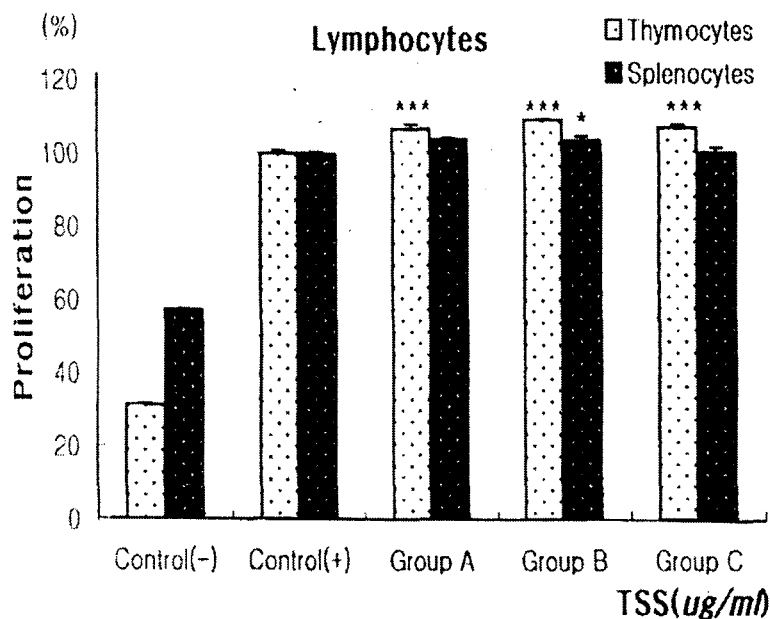


Fig. 2. Effects of TSS on the proliferation of thymocytes and splenocytes *in vitro*.

Control(-) : thymocytes - Concanavalin A 5ug/ml non-treated group.
 splenocytes - Lipopolysaccharide 5ug/ml non-treated group.

Control(+): thymocytes - Concanavalin A 5ug/ml treated group.
 splenocytes - Lipopolysaccharide 5ug/ml treated group.

Experimental Groups are the same as fig. 1.

* : Significantly different from control group(+)(* : P<0.05, *** : P<0.001).

Table 3. Effects of TSS on the NO production from peritoneal macrophages *in vitro*.

<i>In Vitro</i>	Control(-)	Control(+)	Group A	Group B	Group C
NO production	1.21±0.02	4.0±0.04	3.7±0.06**	3.6±0.01**	3.4±0.01***

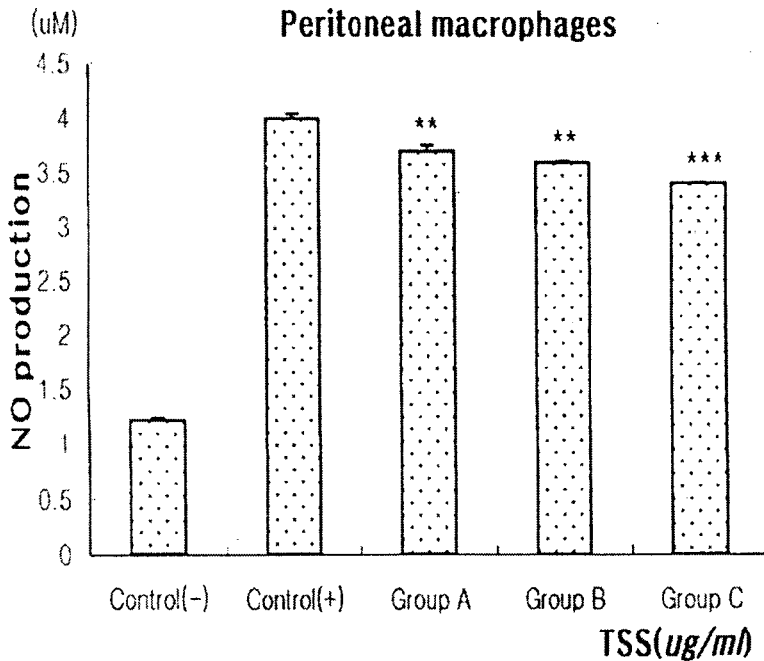


Fig. 3. Effects of TSS on the NO production from peritoneal macrophages *in vitro*.
 Control(-) : Interferon- γ 25units/ml and Concanavalin A 5ug/ml non-treated group.
 Control(+) : Interferon- γ 25units/ml and Concanavalin A 5ug/ml treated group.
 Experimental Groups are the same as fig. 1.
 * : Significantly different from control group(+)(** : P<0.01, *** : P<0.001).

Table 4. Effects of TSS on the proliferation of L1210 cells *in vivo*.

<i>In Vivo</i>	Control	Group A	Group B	Group C
L1210 cell	100.0±0.4	123.7±0.4	101.8±0.5*	105.9±0.6***

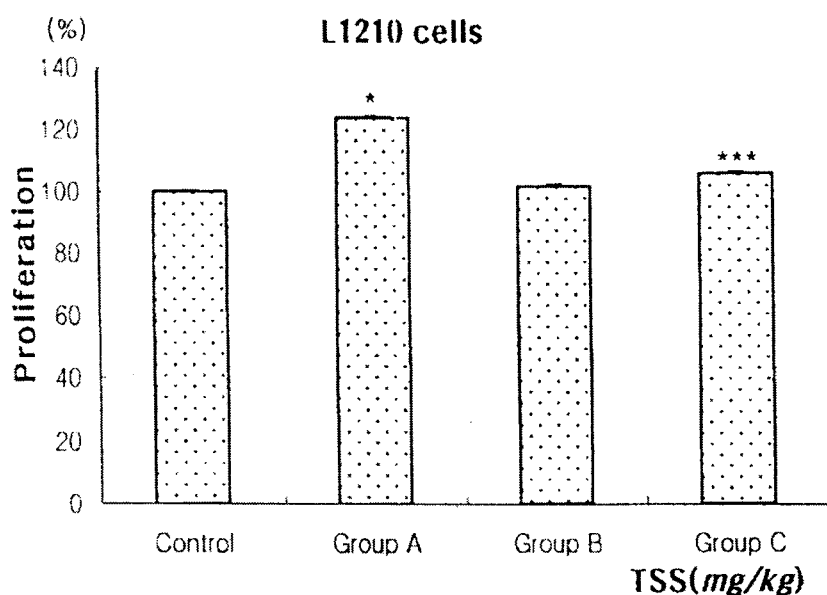


Fig. 4. Effects of TSS on the proliferation of L1210 cells *in vivo*.

Control : After L1210 cells-transplanted to mice, DDW 0.2ml administered p.o. for 7 days.

Group A : After L1210 cells-transplanted to mice, TSS 300mg/kg 0.2ml administered p.o. for 7 days.

Group B : After L1210 cells-transplanted to mice, TSS 500mg/kg 0.2ml administered p.o. for 7 days.

Group C : After L1210 cells-transplanted to mice, TSS 700mg/kg 0.2ml administered p.o. for 7 days.

* : Significantly different from control group(* : P<0.05, *** : P<0.001).

Table 5. Effects of TSS on the proliferation of thymocytes and splenocytes *in vivo*.

<i>In Vivo</i>	Control(-)	Control(+)	Group A	Group B	Group C
Thymocytes	30.0±0.1	100.0±3.8	106.0±0.8	98.4±1.3	98.5±1.0
Splenocytes	72.9±0.8	100.0±1.8	118.8±1.1***	108.4±0.8***	101.7±0.4***

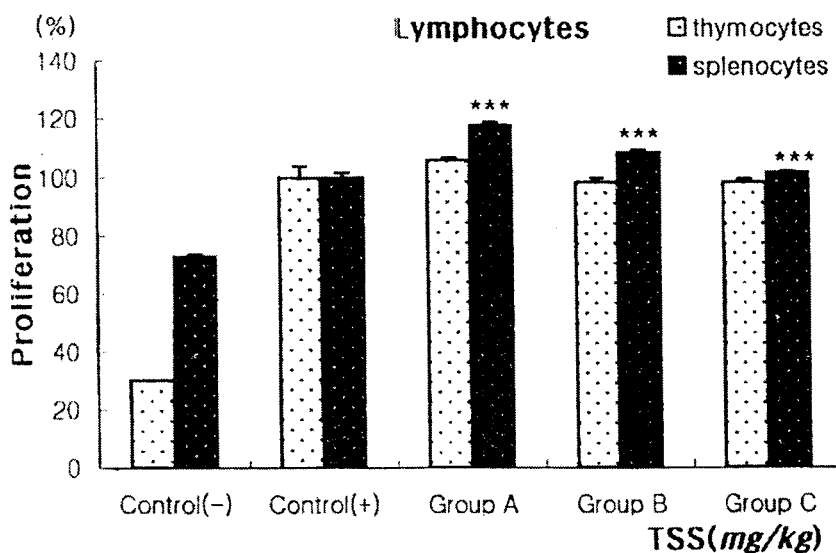


Fig. 5. Effects of TSS on the proliferation of thymocytes and splenocytes *in vivo*.

Control(-) : thymocytes - Concanavalin A 5ug/ml non-treated group.

splenocytes - Lipopolysaccharide 5ug/ml non-treated group.

Control(+) : thymocytes - Concanavalin A 5ug/ml treated group.

splenocytes - Lipopolysaccharide 5ug/ml treated group.

Experimental Groups are the same as fig. 4.

* : Significantly different from control group(+)(*** : P<0.001).

Table 6. Effects of TSS extract on the NO production from peritoneal macrophages *in vivo*.

<i>In Vivo</i>	Control	Group A	Group B	Group C
NO production	12.2±0.2	12.8±0.03*	12.0±0.1	12.3±0.1

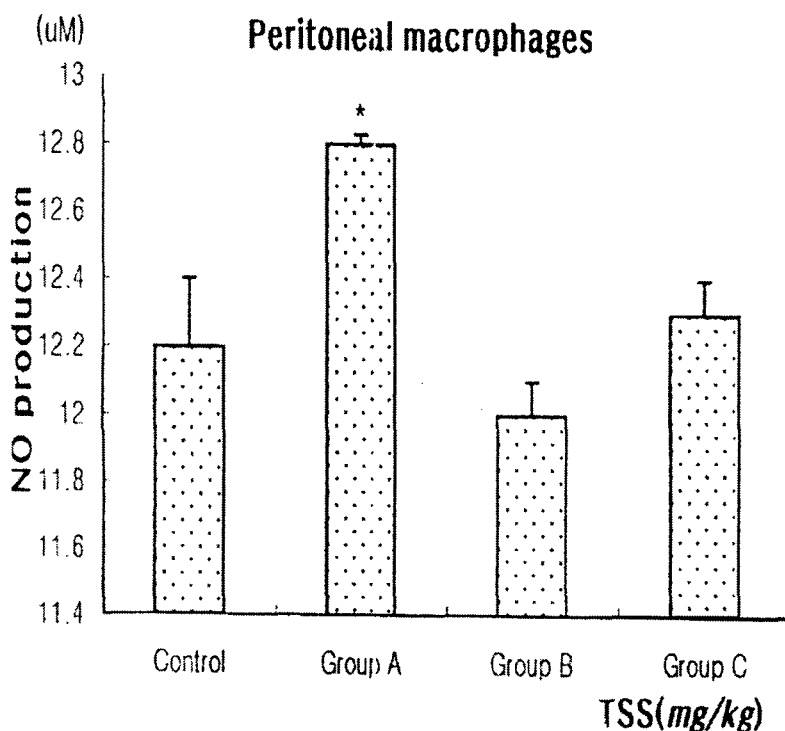


Fig. 6. Effects of TSS on the NO production from peritoneal macrophages *in vivo*.

Control : Interferon- γ 25units/ml and Concanavalin A 5 μ g/ml treated group.

Experimental Groups are the same as fig. 4.

* : Significantly different from control group(* : P<0.05).

IV. 考 察

托裡消毒散은 「醫學入門」¹⁾에 “治癰疽腫痛, 俱慢, 色赤不甚, 元氣虛弱, 或行政伐不能潰散者”, 「萬病回春」²⁾에 “治一切癰疽, 六七日未消者, 瘡未成即消, …… 使毒氣不能內攻, 使毒膿易潰肌肉易生”이라 하였고 「外科正宗」¹⁷⁾에 “治癰疽已成, 不得內消者, 未成即可消 …… 新肉易生”, 「醫宗金鑑」²³⁾에 “治癰疽已成, 內潰遲滯者, 因氣血不足不能助其腐化也”라 하여 모두 癰疽를 治療한다고 하였다. 黃²⁴⁾은 「萬病回春」²⁾의 處方을 托裏消毒散으로 표기하였고 尹²⁵⁾은 皮下膿瘍, 體表化膿性諸病, 癰癤, 淋巴腺炎 등을 治療하고 康⁸⁾은 癰疽瘡瘍의 虛證藥으로 元氣不足으로 不潰하거나 潰後 未收斂 할 때 또는 手術 후 回復이 더딜 때 使用한다고 하였다. 托裡消毒散의 處方內容은 文獻마다 조금씩 差異가 있으나 「外科正宗」¹⁷⁾과 「萬病回春」²⁾에 收錄된 處方으로 분류할 수 있다. 즉 모두 攻補兼施하는 藥物이나 「外科正宗」¹⁷⁾에 收錄된 處方은 人蔘, 川芎, 黃芪, 白芍藥 等 扶正爲主의 藥物로 構成되어 있고 「萬病回春」²⁾에 收錄된 處方은 甘草, 芍藥, 白朮, 人蔘, 茯苓 대신 天花粉, 防風, 厚朴, 穿山甲, 陳皮가 加해져 祛邪爲主의 藥物로 構成되어 있다(Table 7).

癰疽란 「靈樞」·「玉版篇」³⁾에 “陰氣不足, 陽氣有餘, 營氣不行, 乃發爲癰疽”라 하여 最初로 收錄되었고, 근래에 金⁴⁾은 各種의 腫瘍을 通稱하는 것으로서 크기와 형태에 따라 癰, 癰, 疽, 癌 等으로 區分한다고 說明하였다. 癰疽의 治法에 있어 李²⁷⁾는 攻伐之藥을 써서 治療할 때에도 扶正을 兼하여 元氣를 傷하지 않게 하여야 한다고 하였고 姜²⁸⁾은 病期에 따라 早期에는 攻法을, 中期에는 攻補兼施를, 末期에는 扶正의 爲主로 治療한다 하였다. 「外科正宗」¹⁷⁾과 「萬病回春」²⁾의 두 處方 모두 扶正祛邪하는 藥物로 構成되었으나 「萬病回春」²⁾의 托 裡消毒散이 「外科正宗」¹⁷⁾의 托裡消毒散에 비해 祛邪의 作用에 비중을 두고 있는 것으로 보아 癰疽의 初期에 使用해야 할 것으로 思料된다.

托裡消毒散에 대한 研究로 姜¹²⁾ 等^{13,14)}은 消炎, 抗알레르기 및 免疫性疾患 等에 대해 研究를 했으며 腫瘍에 관한 研究로는 梁¹⁵⁾이 3-MCA로 誘發된 腫瘍의 크기, Leukemia cell line인 3LL, Sarcoma cell line인 S-180細胞의 增殖抑制 效果 및 NK細胞의 活性化와 綿羊赤血球에 대한 마우스의 Arthus 反應 및 DTH 反應 그리고 赤血球 凝集素의 免疫反應들을 모두 亢進시켰다고 報告하였다. 崔¹⁶⁾는 托裡消毒散이 *In vitro*상으로 L1210細

Table 7. 出典에 따른 托裏消毒散의 處方比較

出 典	主 治	處 方 構 成
萬病回春	治一切癰疽 六七日未消者 瘡未成即消, 已成即潰, 能壯氣血固脾胃, 使毒氣不能內攻, 使毒膿易潰肌肉易生	金銀花, 陳皮 各3錢, 黃芪, 天花粉 各2錢, 防風, 當歸, 川芎, 白芷, 厚朴, 桔梗, 穿山甲, 皂角刺 各1錢
外科正宗	治癰疽已成 不得內消者 未成者可消, 已成者即潰 腐肉易去, 肉易生	人蔘, 川芎, 白芍藥, 黃芪, 白朮, 當歸, 茯苓, 川芎, 金銀花 各1錢, 白芷, 甘草, 皂角刺, 桔梗 各5分

胞柱, Hep-G2細胞柱, A431細胞柱에 모두 增殖抑制 效果가 있는 동시에 免疫細胞의 增殖을 促進시켰으나 NO의 量은 增加시키지 못하였으며, *In vivo*상에서는 癌細胞의 增殖을 抑制하고 胸腺細胞와 脾臟細胞를 活性化하며 NO의 量도 增加시킨다고 하였다.

또한 최근 韓藥材의 抗癌作用이나 免疫機能에 관한 研究가 활발히 進行되고 있다²⁹⁻³⁵⁾.

이에 著者는 祛邪爲主의 本方劑와 『外科正宗』¹⁷⁾의 托裡消毒散의 效能을 比較考察하고자 崔¹⁶⁾의 研究와 同一한 方法으로 急性白血病細胞柱인 L1210細胞柱에 대한 細胞毒性 效果, 免疫細胞중 thymocytes와 splenocytes의 增殖能 그리고 腹腔 macrophages에서 生成되는 NO의 量 등을 *in vitro*상에서 觀察하고, 또한 L1210細胞柱를 이식한 *in vivo*상에서도 이를 反復觀察하였다.

*In Vitro*상에서 托裡消毒散의 細胞毒性을 측정 한 결과 癌細胞柱의 경우 對照群의 細胞毒性을 100%로 하였을 때 實驗群들은 對照群에 비하여 91.4%까지 有意性있게 減少하였지만 臨床的인 有意性은 없었다. 이는 托裡消毒散이 癌細胞에 直接的으로 作用을 하지 않은 것으로 思料된다. 이는 崔¹⁶⁾가 報告한 L1210細胞柱에서 投與濃度가 增加할수록 약 15%정도까지 有意性있게 細胞增殖을 抑制했던 報告와는 다른 結果로 癌細胞에 대한 直接的인 細胞毒性은 『外科正宗』¹⁷⁾의 托裡消毒散이 效果가 있는 것으로 思料된다. 免疫細胞의 增殖率도 對照群의 增殖率을 100%로 하였을 때 胸腺細胞에서만 약간의 增殖率 促進效果를 나타내었을 뿐 脾臟細胞에서는 癌細胞의 增殖率과 마찬가지로 큰 차이를 나타내지 않았으며, 腹腔 macrophages에서 生成되는 NO의 量은 오히려 對照群에 비하여 減少하는 傾向을 나타내었다. 이는 崔¹⁶⁾가 胸腺細胞와 脾臟細胞에서 托裡消毒散 100 μ g/ml을 투여했을 때 각각 23, 25%까지 有意性있게 活性化되었다는 報告와는 相反되는 내용으로 『萬病回春』

²⁾의 托裡消毒散이 免疫細胞 및 NO의 生成量에 미치는 效能은 細胞에 直接的으로 作用하지 않고 있음을 나타내는 부분이라 思料된다. 따라서 托裡消毒散이 癌細胞柱인 L1210細胞柱에 效果가 나타나지 않는 것도 腹腔 macrophages에서 生成되는 NO의 量과 有關한 것으로 思料된다.

한편, 托裡消毒散이 生體內에서는 어떠한 效果를 나타내는지에 대해 알아보고자 L1210細胞柱를 balb/c계 마우스의 腹腔에 직접 주입한 후 托裡消毒散을 7日동안 1日 1回씩 投與한 결과 癌細胞는 촉진되고, 胸腺細胞의 增殖率은 抑制되는 傾向을 나타내었지만 脾臟細胞의 增殖率은 약간 增加하는 傾向을 보였다. 또한 腹腔 macrophages에서 生成되는 NO의 量을 측정한 결과는 托裡消毒散 300mg/kg을 投與한 實驗群에서 增加하였으나 500mg/kg을 투여한 實驗群은 오히려 對照群에 비하여 生成된 NO의 量이 減少한 반면 700mg/kg을 투여한 實驗群은 對照群보다 약간의 增加를 나타내었을 뿐 아주 微弱하였다. 이는 *in vitro*상과 마찬가지로 崔¹⁶⁾의 研究報告와는 相反되는 內容들이었지만 崔¹⁶⁾의 研究가 *in vivo*상에서 300mg/kg만 投與한 結果로서 앞으로 用量 增加時의 結果도 比較考察이 必要할 것으로 思料된다.

『外科正宗』¹⁷⁾의 托裡消毒散은 胸腺細胞와 NO의 生成量을 促進시킴으로써 直·間接的으로 抗癌 效果가 있는 것이라 思料되지만 『萬病回春』²⁾의 托裡消毒散은 위의 結果로 볼 때 免疫細胞의 活性化에는 關與하지 않는 것으로 思料된다. 또한 『萬病回春』²⁾의 托裡消毒散은 『外科正宗』¹⁷⁾의 托裡消毒散에 비해 金銀花, 桔硬, 皂角子의 藥物이 增量되고 陳皮, 天花粉, 防風, 穿山甲의 藥物이 添加되었으므로 疾病의 初期段階, 즉 正氣가 毀損되지 않은 狀態에서 使用해야 마땅하고 白血病細胞와 같은 血液內의 疾患보다는 皮膚나 腹腔 등에 散在해 있는 腫瘍爲主의 治療에 더 有效할 것으로 思料된다. 또한 『東醫寶鑑』³⁶⁾에 收錄된 또 다른

方劑인 托裡消毒飲과도 그 效能 比較 및 臨床的 活用範圍를 究明할 수 있는 研究들이 進行되어야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

托裡消毒散이 免疫細胞의 活性化와 抗癌作用에 어떠한 영향을 미치는가에 대하여 알아보기 위하여 *in vitro*상으로는 L1210細胞柱의 細胞毒性, 免疫細胞의 增殖能, 腹腔 macrophages에서 생성되는 NO의 量 등을 측정하고, *in vivo*상으로는 L1210細胞柱를 마우스에 이식한 후 托裡消毒散을 일정기간 투여한 다음 L1210세포 및 免疫細胞의 增殖能과 腹腔 macrophages에서 생성되는 NO의 量 등을 측정한 결과 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 托裡消毒散은 *in vitro*상에서 L1210細胞柱에 毒性을 나타냈으나 臨床的인 有意性은 認定되지 않았다.

2. 托裡消毒散은 *in vitro*상에서 免疫細胞의 增殖을 增加시켰지만 臨床的인 有意性은 認定되지 않았다.

3. 托裡消毒散은 *in vitro*상에서 腹腔 macrophages에서 생성되는 NO의 量에 影響을 주지 못하였다.

4. 托裡消毒散은 *in vivo*상에서 L1210細胞의 增殖을 抑制하지 못하였다.

5. 托裡消毒散은 *in vivo*상에서 免疫細胞의 增殖에 影響을 주지 못하였다.

6. 托裡消毒散은 *in vivo*상에서 腹腔 macrophages에서 생성되는 NO의 量을 촉진시키지 못하였다.

參考文獻

1. 李 槿 : 新校編註醫學入門(卷上), 서울, 大星文化社, p.606, 1996.
2. 龔廷賢 : 增補萬病回春(卷下), 大邱, 東洋綜合通信教育院出版社, p.182, 1985.
3. 河北醫學院 : 靈樞經校釋(下冊), 北京, 人民衛生出版社, p.166, 1982.
4. 金永勳 : 晴崗醫鑑, 서울, 新光文化社, p.370, 1990.
5. 孫泰重 : 病理學, 서울, 高文社, p.84, 99, 1989.
6. 金春元 : 病理學, 서울, 新嶺文化社, p.84, 1989.
7. 서울대학교의과대학 : 腫瘍學, 서울, 서울대학교출판부, pp.1~3, 1989.
8. 박재갑 : 인간생명과과학, 서울, 서울대학교출판부, pp.645~651, 663~673, 1994.
9. 이문호 외 : 내과학, 서울, 금강출판사, pp.2458~2482, 1979.
10. 郁李存 : 中醫腫瘤學, 北京, 北京科學技術出版社, pp.1~10, 1983.
11. 孫桂芝 : 常見腫瘤診治指南, 北京, 中國科學技術出版社, p.14, 15, 1991.
12. 金京善 外 : 托裏消毒飲이 抗알레르기 效果에 관한 實驗的 研究, 大韓韓方小兒科學會誌, 8(1):24~36, 1994.
13. 姜允皓 : 托裏消毒飲의 消炎作用에 대한 實驗的 研究, 大韓韓醫學會誌, 3(1):24~38, 1982.
14. 安大宗 : 托裏消毒飲이 마우스의 綿羊赤血球에 대한 免疫反應에 미치는 影響, 益山, 圓光大學校大學院, 1980.
15. 梁起鎬 : 托裏消毒飲의 抗腫瘍 效果 및 免疫調節反應에 관한 研究, 益山, 圓光大學校大學院, 1997.

16. 崔雄外 : 托裏消毒散이 抗腫瘍 및 免疫作用에 미치는 效果, 大韓外官科學會誌, 12(1):79~98, 1999.
17. 陳實功 : 外科正宗, 北京, 人民衛生出版社, p.32, 1983.
18. Mosmann, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays. *J. Immunol. Methods*, 65(1-2):55~63, 1983.
19. Kotnic, V. and Fleischmann, W. R. Jr. : A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. *J. Immunol. Methods*, 129(1):23~30, 1990.
20. Wysocki, L. J. and Sato, V. L. : "Planning" for lymphocytes; A method for cell selection. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 75(6):2844~2848, 1978
21. Mizel, S. B., Rosenstreich, D. L. : Regulation of lymphocyte-activating factor (LAF) production and secretion in P388D1 cells: identification of high molecular weight precursors of LAF. *J. Immunol. Methods*, 122(6):2173~2179, 1979.
22. Rockett, K. A., Awburn, M. M., Cowden, W. B. and Clark, I. A. : Killing of *Plasmodium falciparum* in vitro by nitric oxide derivatives. *Infect. Immun.*, 59(9):3280~3283, 1991
23. 吳謙 : 醫宗金鑑, 北京, 人民衛生出版社, p.61, 62, 1982.
24. 黃度淵 : 方藥合編, 서울, 南山堂, pp.222~224, 1989.
25. 尹吉榮 : 東醫臨床方劑學, 서울, 明寶出版社, p.83, 1985.
26. 康舜洙 : 바른方劑學, 서울, 大星文化社, p.214, 215, 1996.
27. 李仲梓 : 醫宗必讀, 서울, 醫學社, pp.254~257, 1976.
28. 姜廷良外 : 六味地黃湯方治腫瘤的實驗研究, 中醫雜誌, 24(6):71~74, 1983.
29. 金在燮 : 逍遙散煎湯液이 Stress負荷 생쥐의 免疫抑制에 미치는 影響, 大韓韓方內科學會誌, 19(1):247~264, 1998.
30. 韓周錫外 : 太陰人 葛根解肌湯이 免疫反應 및 NK細胞活性化도에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 12(1):362~370, 1980.
31. 趙鍾寬外 : 消積白朮散을 投與한 各種 癌患者 242例에 대한 臨床的 考察, 大田, 惠和醫學, 5(1):55~71, 1996.
32. 田承勳外 : 竹葉石膏湯加減方이 抗癌化學療法劑의 細胞毒性和 腫瘍細胞의 成長抑制에 미치는 研究, 大韓韓方內科學會誌, 18(1):191~206, 1997.
33. 金東熙外 : 抗癌劑 副作用에 대한 韓方療法, 大田, 大田大學校韓醫學研究所論文集, 2(1):33~51, 1993.
34. 黃忠淵 : 肺癌의 東西醫結治療에 관한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, 16(2):177~194, 1995.
35. 余柱清 : 中國 傳統醫學에 의한 癌 治療의 方法 및 研究近況, 第1回 東洋 醫學國際 Symposium發表論文集, pp.10~23, 1995.
36. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.538, 541, 1987.