

神功內托散이 免疫細胞 및 腫瘍에 미치는 實驗的 效果

崔政和*

ABSTRACT

The Experimental Effects of *ShingongNaetakSan* Extract on Immunocytes and Cancer

Choi Jung-hwa

ShingongNaetakSan(SNS) was drugs used in treatment of carbuncle and cellulitis in Oriental Medicine. So, the purpose of this Study was to investigate effect of SNS on the proliferation of immunocytes and anti-cancer. This Study estimated the proliferation of L1210 cell lines and S-180 cell lines *in vitro*. and estimated the proliferation of L1210 cells, thymocytes and splenocytes, and tumor weight, body weight and mean survival rates *in vivo*. The proliferation and cytotoxicity of cells was tested using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay).

The results of this study were obtained as follow ; SNS had effect on the proliferation of L1210 cells *in vitro* and splenocytes *in vivo*, and SNS decreased significantly tumor weight, and increased significantly mean survival rates.

* 東新大學校 韓醫科大學 外官科學教室

I. 緒 論

神功內托散은 「醫宗金鑑」¹⁾에 최초로 “治癰疽日久 不腫不高 不能腐潰 脈細身涼者”라 하였으며, 그 構成藥物은 人蔘·白朮·當歸·黃芪·川芎·白芍藥·附子·陳皮·白茯苓·穿山甲·木香·炙甘草·煨薑·大棗로 구성되어 있어 癰疽가 있으면서 正氣가 虧虛한 虛證의 경우에 사용한다¹⁾하였다.

腫瘍은 지금까지 알려져 있는 死亡原因中 높은 비율을 차지하는 질환⁸⁾으로 東醫學에서는 各種의 原因으로 인해 발생한 腫塊등으로 指稱하였고, 西醫學에서는 組織의 자율적인 過剩 성장으로 個體에 대해 이롭지 않을 뿐만 아니라 정상조직에 대해서 파괴적인 것을 말하고 있다²⁻⁸⁾.

癌의 發生機轉으로는 氣滯血瘀·痰結濕聚·熱毒內蘊·經絡瘀阻 등⁹⁾이 있고, 症狀으로는 全身症狀과 더불어 백혈구감소, 혈소판감소등 骨髓造血障礙등이 발생하며, 疼痛이나 肢體麻木등의 신경손상 및 각 臟器·皮膚·毛髮등에도 영향^{3-4,10)}을 끼쳐 東醫學에서는 正氣補養 및 補血을 爲主로 하면서 破積·活血·解鬱·行氣등의 治法들을 兼用하고 있다^{3-4,9,11-12)}. 또한 서양의학에서는 手術療法, 放射線療法, 化學療法, 免疫療法 및 遺傳子療法 등¹³⁻¹⁷⁾을 使用하나 현재로서는 治療方法이 定立되어 있지 않은 상태이며, 최근에 이르러서는 apoptosis, 細胞分化誘導法, 血管形成阻害法등과 관련된 연구가 진행중¹⁸⁻²⁰⁾이다.

한편, 東醫學에서는 疾病의 發生에 대하여 「素問」·「刺法論」²¹⁾에 “正氣存內 邪不可干”이라 하였고, 「評熱病論」²²⁾에 “邪之所湊 其氣必虛”라 하여 正氣가 旺盛하면 邪氣의 侵犯을 防禦할 수 있지만 正氣가 虛弱하면 邪氣에 대한 對處能力이 低下되어 쉽게 發病된다하여 正氣의 重要性을 正邪鬪爭論의 觀點으로 說明하였다. 즉, 正氣란 生體의 抵抗力이고, 邪氣란 疾病의 誘發因子로써 東

醫學의 正氣는 西醫學의 免疫의 概念과 相通하며, 本 研究의 腫瘍은 邪氣와 관련이 있다라고 하겠다.

현재 抗癌 및 免疫에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 魯登²³⁻²⁴⁾은 消積保中丸 및 內托羌活湯을 이용하여, 金²⁵⁾등은 數種生藥을 이용하여 研究報告하였고, 黃²⁶⁾등²⁷⁾은 癌에 대한 東西醫學의 考察을 하였으며, 柳²⁸⁾등²⁹⁾은 L1210세포를 이용하여 四物湯과 桃紅四物湯을 투여한 결과 效果가 있었음을 보고하였고, 金³⁰⁾등³¹⁻³²⁾은 S-180細胞를 이용하여 研究한 결과 有意한 結果를 얻었다고 보고하였다.

이에 著者는 神功內托散이 正氣가 不足한 환자에게서 發生하는 癰疽에 사용되는 方劑이기 때문에 *in vitro*上로 急性白血病細胞柱인 L1210細胞와 腹水癌細胞柱인 S-180細胞에 대한 細胞毒性을 살펴보고, *in vivo*上으로 L1210細胞를 移植한 動物의 免疫細胞 活性化 및 L1210細胞의 增殖能을 살펴보는 동시에 S-180細胞를 移植한 動物의 固形癌 무게 및 體重, 그리고 平均生命延長率에 대하여 觀察한 結果 有意性을 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

實驗에 사용한 神功內托散은 「醫宗金鑑」¹⁾에 準하였으며, 東新大學校 附屬 韓方病院에서 구입한 후 本草學教室에서 精選받아 사용하였다. 1貼分量(59.00g)을 1,500ml 증류수로 상온에서 100℃ 2시간동안 煎湯한 다음 煎湯液을 1,500rpm으로 30분간 원심분리하였다. 그 후 rotary evaporator를 이용하여 100ml로 농축한 다음 freeze dryer로 동

결건조시킨 결과 17.87g을 얻었다. 실험에 사용한 처방의 내용과 분량은 다음과 같다.

藥材名	生藥名	分量 (g)
人參	Ginseng Radix	6.0
白朮	Atractylodis macrocephalae Rhizoma	6.0
當歸	Angelicae gigantis Radix	6.0
黃芪	Astragali Radix	4.0
川芎	Cnidii Rhizoma	4.0
白芍藥	Paeoniae Radix Alba	4.0
附子	Aconiti iateralis preparata Radix	4.0
陳皮	Citri Pericarpium	4.0
白茯苓	Poria	4.0
穿山甲	Manitis Squama	3.0
木香	Aucklandiae Radix	2.0
炙甘草	Glycyrrhizae Radix	2.0
煨薑	Zingiberis Rhizoma	6.0
大棗	Jujubae Fructus	4.0
總量		59.0

2) 細胞柱

세포주는 한국세포주은행에서 구입한 급성백혈병세포주인 L1210세포주와 복수암세포주인 S-180 세포주를 사용하였다.

3) 動物

本實驗에 사용한 mouse는 대한실험동물에서 구입한 Balb/c계 22±1(g)과 ICR계 18±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 섭취케하였다.

2. 方法

1) 細胞柱 및 細胞培養條件

급성백혈병세포주인 L1210세포와 복수암세포주인 S-180세포, 그리고 마우스의 흉선세포 및 비장세포 모두 Roswell Park Memorial Institute 1640(이하 RPMI 1640이라함)배지를 사용하였으며, 배지에는 10% Fetal Bovine Serum(이하 FBS라함)과 penicillin-streptomycin (100units/ml, 100µg/µl)을 첨가하여 사용하였다. 계대 배양은 1:10~1:20 비율로 3일 간격으로 하였고, 세포 증식에 미치는 약제의 영향을 관찰하기 위한 실험은 계대 배양 2일째의 세포를 사용하였다.

2) MTT法에 의한 細胞增殖率變化

본 실험에 사용한 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(이하 MTT이라함)法은 Mosmann³³⁾이 개발하여 Kotnik³⁴⁾등이 변형시킨 방법으로, 96 well plate의 각 well에 세포 부유액(2×10⁵cells/ml)을 접종하여 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간을 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5mg/ml농도로 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline-A(이하 DPBS-A라함) (pH 7.4)에 희석된 MTT용액 20µl를 각 well에 첨가하고 배양 종료시 0.01N HCl에 용해시킨 10% Sodium Dodecyl Sulfate(이하 SDS라함) 100µl를 각 well에 첨가한 다음 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 發色된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 계산하였다.

3) 癌細胞의 移植

(1) 急性白血病細胞柱 移植

급성백혈병세포주인 L1210세포주를 1)과 같이 계대배양하여 1×10⁶cells/mouse로 조제한 다음 복강에 1.0ml를 주사함으로써 암세포를 이식하였다.

(2) 腹腔癌細胞柱 移植

복강암세포인 S-180세포를 1)과 같이 계대배양하여 2×10^6 cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 0.2ml를 주사하여 癌腫을 유발시켰다.

4) 實驗群

(1) 急性白血病細胞 移植 實驗群

Balb/c 마우스 7마리를 1군으로 하여 3)-(1)의 방법과 같이 실시한 후 대조군과 실험군 A, 실험군 B로 분류하였다. 대조군은 암세포를 이식한 후 1일 1회씩 7일 동안 증류수를 0.2ml씩을 투여하였고, 실험군 A와 B는 암세포를 이식한 후 神功內托散 500mg/kg과 700mg/kg을 각각 7일 동안 1일 1회씩 0.2ml 경구투여하였다.

(2) 腹腔癌細胞 移植 實驗群

ICR 마우스 8마리를 1군으로 하여 3)-(2)의 방법과 같이 실시한 후 대조군과 실험군 A, 실험군 B로 분류하였다. 대조군은 암세포를 이식한 후 격일간격으로 1회씩 증류수를 0.2ml씩을 투여하였으며, 실험군 A와 B는 암세포를 이식한 후 1일 1회씩 神功內托散 500mg/kg, 700mg/kg을 격일간격으로 1회씩 0.2ml 경구투여하였다.

5) L1210세포가 移植된 마우스의 癌細胞 增殖能

3)-(1)과 4)-(1)의 방법으로 실시한 후 경추탈골하여 도살시켰다. 도살 후 복강에 cold PBS 10 ml를 주입하여 잘 혼화시킨 다음 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4°C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리하고 RPMI 1640배지로 2회 세척한 후 직경 120mm petri dish에 분주하여 CO₂ incubator에서 배양시키고 4시간후에 부착한 세포를 제거하고 부착하지 않은 세포를 모아 4°C에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리를 하였다. 침전된 세포분획을 모아 1×10^6 cells/ml로 조제하여 96

well plate의 각 well에 세포부유액 100 μ l를 분주하고 배지 100 μ l를 채워 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 측정방법은 2)와 같은 MTT법을 사용하였다.

6) 胸腺 및 脾臟細胞의 分離

3)-(1)과 4)-(1)과 같은 방법으로 실시한 후 마우스의 흉선 및 비장세포 분리는 Wysocki³⁵⁾ 및 Mizel³⁶⁾ 등의 방법을 이용하였다. Balb/c 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후 적출한 흉선 및 비장을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음 10ml 주사기로 조심스럽게 세포부유액을 취하여 1,500rpm에서 5분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 흉선 및 비장세포를 분리하였으며, 분리한 흉선 및 비장세포의 생존율 및 총세포수를 hemocytometer를 이용하여 측정하였다.

7) 胸腺 및 脾臟細胞의 增殖率 變化

6)과 같이 분리한 흉선 및 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10^6 cells/ml 농도로 접종하여 흉선 세포에는 Concanavalin A(이하 Con A라 함) 5 μ g/ml, 비장세포는 Lipopolysaccharide(이하 LPS라 함) 5 μ g/ml을 첨가한 후 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음, 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하였다.

측정방법은 2)와 같은 MTT방법으로 실시하였다.

8) 마우스의 固形癌 抑制效果

3)-(2)와 4)-(2)의 방법으로 유발시킨 다음 약제 투여 20일 후 경추탈골시켜 도살한 마우스의 복강에 있는 고형암을 적출하여 전자저울을 이용하여 측정하였다.

9) 체중의 변화

3)-(2)와 4)-(2)의 방법으로 유발시킨 다음 약재 투여 20일 후 체중을 측정하였다. 그 후 복강암의 무게를 제외한 무게를 체중으로 하였다.

10) 마우스의 생존을 연장효과

3)-(2)와 4)-(2)의 방법으로 유발시킨 다음 복강암이 유발되지 않은 경우는 생존기간 연장측정의 척도인 Median survival time계산에서 제외하였고, Median survival time은 R.I. Geran³⁷⁾ 등이 기술한 방법에 의하여 실시하였다.

3. 統計處理

統計的 有意性 檢討는 對照群에 대한 變動을 “one way ANOVA test”로 하였으며, p값이 5% 미만일 때는 統計的으로 有意性이 있다고 判定하였다.

III. 實驗成績

1. 癌細胞柱의 增殖에 미치는 神功内托散의 效果

神功内托散이 癌細胞柱인 L1210細胞와 S-180細胞에 미치는 細胞毒性을 관찰하기 위하여 96 well plate의 각 well에 2×10^5 cells/ml로 조제한 세포부유액 100 μ l를 분주한 후 神功内托散 1, 10, 100 μ g/ml로 투여한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

급성백혈병세포주인 L1210세포의 경우 對照群의 增殖率을 100(%)로 환산하였을 때 神功内托散의 농도가 증가할수록 癌細胞의 增殖抑制率이 증가하여 100 μ g/ml을 투여하였을 때는 19(%)정도의 有意性(P<0.01)있는 抑制效果를 나타내었고, S-180세포의 경우는 神功内托散의 투여농도에

有意性있는 效果 및 臨床的인 有意性도 인정되지 않았다. 이러한 결과는 神功内托散이 腹水癌細胞보다는 白血病細胞에 有意한 效果가 있음을 시사해주는 부분이라 思料된다(Table I).

Table I. Effects of SNS on the proliferation of L1210 cell lines and S-180 cell lines.

In Vitro	Control	1 μ g/ml	10 μ g/ml	100 μ g/ml
L1210 cell lines	100.0 \pm 0.8	87.2 \pm 1.0***	86.1 \pm 0.8***	81.2 \pm 1.9**
S-180 cell lines	100.0 \pm 0.9	95.4 \pm 0.9*	96.0 \pm 0.3*	97.4 \pm 0.2

SNS : ShingongNaetakSan extract.

* : Significantly different from control group(*; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001)

2. L1210細胞를 移植한 마우스의 癌細胞 增殖에 미치는 神功内托散의 效果

神功内托散이 癌細胞가 이식된 마우스에 미치는 抗癌效果를 관찰하기 위하여 L1210細胞柱를 1×10^6 cells/mouse로 조제하여 balb/c계 마우스의 腹腔에 이식한 다음 神功内托散 500mg/kg, 700mg/kg을 각각 투여하였다. 對照群의 L1210세포 增殖率을 100(%)로 하였을 때 實驗群 A는 對照群과 비교하여 뚜렷한 增殖率 抑制效果를 나타내지 못하였고, 實驗群 B는 對照群보다 약 8(%)정도의 癌細胞 抑制效果를 나타내었으나 臨床的인 有意性은 認定되지 못하였다(Table II).

Table 2. Effects of SNS on the proliferation of L1210 cells in L1210 cells-transplanted mice.

In Vivo	Control	Group A	Group B
L1210 proliferation	100.0 \pm 0.7	99.6 \pm 0.4	92.6 \pm 0.4

Control : After L1210 cells-transplanted to

mice, DDW 0.2ml administered p.o. for 7days.

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

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

* : Significantly different from control group(*; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001)

3. L1210細胞를 移植한 마우스의 免疫細胞의 增殖에 미치는 神功內托散의 效果

神功內托散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 balb/c계 마우스 腹腔에 이식한 다음 神功內托散을 각각 500mg/kg과 700mg/kg을 7일동안 1일 1회씩 투여하였다. 그 결과 Con A를 처리한 對照群의 胸腺細胞 增殖率을 100(%)로 하였을 때 神功內托散을 투여한 實驗群들은 오히려 增殖이 減少되었고, LPS를 처리한 對照群의 脾臟細胞 增殖率을 100(%)로 하였을 때 實驗群 A는 약 7(%)의 增殖效果를 나타내었지만 臨床的인 有意性은 認定되지 않았으며, 實驗群 B는 對照群과 비교하여 별다른 增殖效果를 나타내지 못하였다 (Table III).

Table III. Effects of SNS on the proliferation of immunocytes in L1210 cells-transplanted mice.

In Vivo	Control (-)	Control (+)	Group A	Group B
Thymocytes	31.4±0.1	100.0±0.5	93.5±0.5	97.3±0.5**
Splenocytes	79.6±0.4	100.0±0.5	107.0±1.4***	100.0±0.1

Experimental groups are the same Table II.

* : Significantly different from control group(*; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001)

4. S-180細胞를 移植한 마우스의 固形癌 및 體重에 미치는 神功內托散의 效果

神功內托散이 S-180細胞가 이식된 마우스에 미치는 抗癌效果를 관찰하기 위하여 S-180細胞柱를 2×10⁶cells/mouse로 조제하여 ICR계 마우스의 腹腔에 이식한 다음 神功內托散 500mg/kg, 700mg/kg을 20일동안 隔日간격으로 1회씩 0.2ml을 투여하였다. 그 결과 對照群의 固形癌 무게를 100%로 하였을 때 實驗群 A의 固形癌 무게는 對照群보다 오히려 增加한 반면 實驗群 B의 固形癌 무게는 對照群보다 70(%)이상 有意性(P<0.05)있게 감소시켰다. 또한 體重에 있어서도 對照群의 體重을 100%로 하였을 때 實驗群 A는 對照群보다 약 13(%)정도 증가하였고, 實驗群 B도 8(%)정도의 體重증가를 보여 有意性을 認定하지 못하였다 (Table IV).

Table IV. Effects of SNS extract on the Body weight and Tumor weight in S-180 cells-transplanted mice.

S-180 (In Vivo)		Control	500mg/kg	700mg/kg
Body weight	(%)	100.0±2.3	113.0±1.2	108.5±2.3*
	(g)	41.1±0.94	46.43±0.5	44.6±0.93
Tumor weight	(%)	100.0±20.6	215.2±25.7**	27.6±3.6*
	(G)	0.725±0.15	1.43±0.22	0.2±0.03

Experimental groups are the same Table II.

* : Significantly different from control group(*; p<0.05, **; p<0.01)

5. S-180細胞를 移植한 마우스의 平均生存延長率에 미치는 神功內托散의 效果

神功內托散이 S-180細胞가 이식된 마우스에 미치는 平均生存效果를 관찰하기 위하여 S-180細胞柱를 2×10^6 cells/mouse로 조제하여 ICR계 마우스의 腹腔에 이식한 다음 神功內托散 500mg/kg, 700 mg/kg을 隔日간격으로 1회씩 0.2ml을 투여하였다. 그 결과 對照群의 平均生存日數를 100(%)로 하였을 때 實驗群 A의 平均生存日數는 105.7(%)였고, 實驗群 B의 平均生存日數는 110.6(%)로 延長되었다(Table V).

Table V. Effects of SNS on the mice mean survival days in S-180 cells transplanted mice

Survival	Control	Group A	Group B
(%)	100.0±5.5	105.7±5.5	110.6±5.5
Days	17.6±0.96	18.6±0.96	19.5±0.96

Experimental groups are the same Table II.

IV. 考 察

腫瘍, 즉 癌은 지금까지 알려져 있는 死亡原因中 높은 비율을 차지하는 질환³⁸⁾으로 宋代『衛濟寶書』에서 “一曰癌 … 五曰癰”이라고 최초로 인식^{2,39)}한 이래 東醫學에서는 飲食不節, 外邪, 七情鬱結 및 臟腑의 機能失調 등으로 인해 體內에서 發現한 腫塊·表面高低不平·質의 堅硬·岩石과 같은 腫塊등으로 指稱하였고, 積聚·癥瘕·痰癖·噎膈·反胃·癭瘤·石癰·石疽등에 포함^{3-4,10)}시켜 설명하였다. 西醫學의에서는 암에 대하여 組織의 자율적인 過剩 성장으로 個體에 대해 이롭지 않을

뿐만 아니라 정상조직에 대해서 파괴적인 것으로 이는 細胞분열을 지배하는 조절기능의 결함이나 惡性腫瘍遺傳子를 억제하는 능력이 상실됨으로써 발생하는 비정상적인 細胞의 增殖을 말하며, 惡性腫瘍과 良性腫瘍으로 분류³⁻⁵⁾하였다. 이 중 惡性腫瘍은 림프관, 혈관, 조직사이 및 장막강을 따라 전파하는 것으로 그 성장속도가 빠르며, 정상조직을 침습하여 파괴함으로써 腫瘍을 제거하여도 정상기능이 회복되지 않는 것을 말한다⁸⁾.

癌의 發生機轉은 氣滯血瘀·痰結濕聚·熱毒內蘊·經絡瘀阻등으로 인하는데, 이 중 氣滯血瘀는 ‘氣塞不通, 血壅不流’로 발생하고, 痰結濕聚는 ‘癌瘤者, 非陰陽正氣所結腫, 乃五臟瘀血濁氣痰滯而成’이라 하여 痰核·癭癧·結核등의 病症이 발생되며, 熱毒內蘊은 ‘瘡瘍者, 火之屬’이라 한 바와 같이 血이 熱毒을 만나면 凝集되고 津液이 熱毒을 만나면 痰이 됨으로써 氣血痰濁이 經絡과 臟腑를 壅阻시켜 발생되고, 經絡瘀阻는 經絡氣血運行이 阻滯되어 經氣가 鬱滯되거나 不足하게 됨으로써 腫瘍이 발생한다고 하였으며, 그 외에도 ‘脾腎不足及虛弱失調的人, 多有積聚之病’이라 하여 正氣가 虛弱해지면 抗病能力이 低下되어 腫瘍이 發生한다고 하였다⁹⁾. 또한 癌의 症狀으로는 頭暈, 失眠, 多夢, 大小便失調 등의 全身症狀과 胃腸障礙, 그리고 백혈구감소, 혈소판감소, 골수생성억제등 骨髓造血障礙등이 발생하며, 疼痛이나 肢體麻木 등의 神經 손상 및 각 臟器·皮膚·毛髮등에도 영향^{3-4,10)}을 끼치기 때문에 正氣補養 및 補血을 爲主로하면서 破積·活血·解鬱·行氣등의 治法들을 兼用하고 있다^{3-4,9,11-12)}. 한편 西醫學에서는 手術療法, 放射線療法, 化學療法 및 免疫療法과 遺傳子療法등을 使用하나 手術療法과 放射線療법은 局所인 治療法이기 때문에 限界性이 있고, 全身療法인 免疫療法도 현재로서는 治療方法이 定立되어 있지 않은 상태이기 때문에 化學療法の 發展만이 癌治療率을 向上 시킬수 있는 것이나 化學療法 自體도 化學

藥材의 毒性問題를 해결하지 못하고 있는 실정이다¹³⁻¹⁷⁾. 그리하여 최근에는 抗癌療法으로 apoptosis, 細胞分化誘導法, 血管形成沮害法등과 관련된 연구가 진행중¹⁸⁻²⁰⁾이지만 아직까지 癌腫에 따른 感受性과 治療 後의 經過 그리고 副作用이 각기 다르기 때문에 많은 문제점들을 안고 있는 것이 현 실정이다.

「素問」·「調經論」에 “百病之生, 皆有虛實”²¹⁾ 하였고, 「靈樞」·「口門篇」²¹⁾에서는 “邪之所在, 皆爲不足”이라 하였으며, 「素問」·「評熱病論」에서는 “邪之所湊, 其氣必虛”²²⁾라 하여 疾病의 發生을 ‘正邪相爭’의 觀點으로 인식하였다. 즉, 여기서 氣란 ‘正氣’ 로써 病邪에 대한 抵抗力이라 말할 수 있고, ‘邪氣’란 各種의 發病因子이며, 正氣가 强할수록 邪氣에 대한 抵抗力이 強化되어 비록 邪氣가 침범하여도 正氣가 이를 防禦하고, 正氣가 약하면 邪氣에 대한 對處能力이 저하되어 쉽게 發病하게 된다고 하여 正氣의 重要性을 설명하였다⁴⁰⁾.

‘正氣’는 生體內 防禦體系인 免疫과 관련이 깊은데, 이러한 免疫은 體內에 異物質의 침입이나 變異細胞가 발생하면 免疫係가 관여하여 異物은 물론 새로이 발생된 變異細胞를 非自己로 인식하여 처리하는 能力을 발휘함으로써 個體의 恒常性を 維持하려는 현상을 말하고, 그 種類는 先天的 免疫과 後天的 免疫으로 나뉘어지는데, 先天的 免疫은 식세포나 보체가 관여하며, 後天的 免疫은 T cell이나 B cell들이 관여한다. 즉, 세포매개성 면역을 담당하는 T cell은 骨髓의 幹細胞(stem cell)가 胎生期에 胸腺으로 들어가 분열증식하여 분화된 림프구를 말하는 것으로 세포막의 표면에 抗體 모양의 수용체인 Ig T를 가지고 있으며, 胸腺의 T 전구세포로부터 성숙되어 細胞性免疫機能(臟器移植時의 拒否反應 및 腫瘍에 대한 免疫反應, 遲延型過敏症 등)들을 조절한다. 또한 T세포에는 세포독성 T cell이 있는데, 이 세포는 食細胞의 과

과작용을 도와 세포를 살해하는 작용을 가진 세포로 항암효과를 관찰하는데 널리 활용되고 있는 세포의 apoptosis를 촉진시켜준다. 한편 체액성 면역을 담당하는 B세포는 血液·骨髓 및 림프組織에 分布하는 세포로 태생기때는 태아의 肝에서, 출생후에는 骨髓에서 분화되어 림프구의 10~20%를 차지하고 있으며 면역글로블린(Ig)을 갖고 있어 항원을 인정한 후에는 항체를 유리시키는 기능을 담당한다^{7,41)}. 또한 Macrophage는 結合組織 뿐만 아니라 肝臟과 骨髓등의 血管에서 특수한 內皮細胞로서 존재하는 것으로 自他的 認識으로 老化하거나 傷害를 받은 自己細胞·侵入 微生物 또는 異物을 탐식하여 生體의 恒常性を 유지시켜 주고, 免疫活性物質을 생산하여 自然免疫反應에 중요한 기능을 하고 있으며, 다른 임파구와는 달리 癌의 抗原性的 認識이 불가능한 대신 逆으로 非特異的인 여러종류의 腫瘍細胞를 공격할 수 있는 특징도 갖고 있어 腫瘍免疫에서는 가장 중요한 細胞로 알려져 있다⁴²⁻⁴⁴⁾.

현재 抗癌 및 免疫에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 그 중 魯²³⁾등은 消積保中丸을 이용하여 腫瘍에 미치는 效果를 보고하였고, 金²⁵⁾은 抗癌活性이 기대되는 數種生藥을 이용하여 B16-Fo와 A549癌細胞에 대한 抗轉移 效果를 살펴보았으며, 黃²⁶⁾등²⁷⁾은 肺癌에 대한 東西醫學的 文獻的 考察을 하였고, 鄭²⁴⁾은 內托羌活湯을 이용하여 腫瘍 및 免疫調節機能에 미치는 研究를 보고하였다. 또한 L1210세포를 이용한 연구로는 柳²⁸⁾가 四物湯을 이용하여 L1210세포 및 항암제를 투여한 마우스의 면역세포에 미치는 영향을 보고하였고, 趙²⁹⁾이 桃紅四物湯을 이용한 연구를 보고하였으며, S-180세포를 이용한 연구로는 金³⁰⁾이 補中益氣湯 및 少陰人 補中益氣湯이 S-180에 대한 抗腫瘍 效果와 Cyclophosphamide에 의한 副作用에 미치는 影響을 보고하였고, 宋³¹⁾은 肝癌柱와 S-180에 대한 茵蔯 分割이 미치는 抗腫瘍效果를 보고하

였으며, 朴登³²⁾은 葦莖湯과 加味葦莖湯이 A549에 대한 細胞毒性 및 S-180에 대한 抗癌效果를 보고 하였다.

神功內托散은 『醫宗金鑑』¹⁾에 “治癰疽日久 不腫不高 不能腐潰 脈細身涼者”라 最初로 收錄된 處方으로 人蔘·白朮·當歸·黃芪·川芎·白芍藥·附子·陳皮·白茯苓·穿山甲·木香·炙甘草·煨薑·大棗로 構成되어 있어 氣血虧虛와 함께 癰疽를 다스릴 때 사용되는 扶正祛邪의 方劑이다⁴⁵⁾.

그리하여 本 著者는 神功內托散이 正氣가 不足한 환자에게서 發生하는 癰疽에 사용되는 方劑이기 때문에 *in vitro*上으로 急性白血病細胞柱인 L1210細胞와 腹水癌細胞柱인 S-180細胞에 대한 細胞毒性을 살펴보고, *in vivo*上으로 L1210細胞를 移植한 동물의 免疫細胞 活性化 및 L1210細胞의 增殖能을 살펴보는 동시에 S-180細胞를 移植한 동물의 固形癌 무게 및 體重, 그리고 平均生命延長率에 대하여 觀察한 結果 有意한 結果를 얻었다.

神功內托散이 癌細胞柱에 미치는 細胞毒性을 관찰하기 위하여 L1210細胞와 S-180細胞에 神功內托散 1, 10, 100 μ g/ml로 투여한 結果 對照群의 增殖率을 100(%)로 환산하였을 때 L1210細胞의 增殖率은 神功內托散의 농도에 의존하여 19(%)정도까지 有意性($P<0.01$)있는 抑制效果를 나타낸 반면 S-180細胞는 有意성이 認定되지 않아 神功內托散은 腹水癌細胞보다는 白血病細胞에 有意한 效果가 있음을 나타내었고, *in vivo*상에서는 L1210細胞柱를 1×10^6 cells/mouse로 調整하여 balb/c계 마우스의 腹腔에 이식한 다음 神功內托散 500mg/kg과 700mg/kg을 각각 투여하였을 때의 抗癌效果를 관찰한 結果 癌細胞의 抑制效果를 나타내었으나 臨床的인 有意성은 認定되지 못하였다. 또한 癌細胞가 이식된 마우스의 免疫細胞에 미치는 效果를 관찰한 結果 胸腺細胞의 增殖率은 오히려 增殖이 減少되었고, 脾臟細胞의 增殖率은 약간의 增殖效

果를 나타내었지만 臨床的인 有意성은 認定되지 않았으며, S-180細胞가 이식된 마우스에 미치는 抗癌效果를 관찰한 結果는 神功內托散 700mg/kg을 투여하였을 때 약 70(%)이상 有意性($P<0.05$)있게 감소한 반면 體重의 變化는 없었다. 또한 神功內托散이 S-180細胞가 이식된 마우스에 미치는 平均生存效果를 관찰한 結果 實驗群 A의 平均生存日數는 105.7(%)였고, 實驗群 B의 平均生存日數는 110.6(%)로 延長되었다.

以上과 같은 結果들을 살펴볼 때 神功內托散은 直接的인 細胞毒性은 急性白血病細胞에 影響을 미친 반면 腹水癌細胞에는 影響을 끼치지 못하였으나 生體內 實驗에서는 이와 반대로 急性白血病細胞를 移植한 동물의 抗癌 및 免疫細胞의 增殖에는 影響을 보이지 않은 반면 腹水癌細胞를 移植한 동물의 경우 固形癌 무게의 減少와 平均生存率을 增加시켜 神功內托散은 癰疽에 사용되는 方劑임을 考慮할 때 固形物質의 腫塊에 有意할 것으로 思料되고, 또한 投與濃度는 本 實驗結果와 神功內托散의 效能을 볼 때 長期間 投與해야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

神功內托散이 正氣가 不足한 환자에게서 發生하는 癰疽에 사용되는 方劑인 관계로 *in vitro*上으로 急性白血病細胞柱인 L1210細胞와 腹水癌細胞柱인 S-180細胞에 대한 細胞毒性을 살펴보고, *in vivo*上으로 L1210細胞를 移植한 동물의 免疫細胞 活性化 및 L1210細胞의 增殖能을 살펴보는 동시에 S-180細胞를 移植한 동물의 固形癌 무게 및 體重, 그리고 生命延長率을 觀察한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 神功內托散은 *in vitro*상에서 L1210細胞의 增殖을 抑制하였다.
2. 神功內托散은 *in vitro*상에서 S-180細胞의 增殖을 抑制하지 못하였다.
3. 神功內托散은 *in vivo*상에서 L1210細胞의 增殖을 有意性있게 抑制하지 못하였다.
4. 神功內托散은 癌細胞가 이식된 마우스의 胸腺細胞 增殖을 促進시키지 못하였다.
5. 神功內托散은 癌細胞가 이식된 마우스의 脾臟細胞 增殖을 促進시켰다.
6. 神功內托散은 固形癌의 무게를 有意性있게 減少시켰다
7. 神功內托散은 體重의 變化에는 影響을 미치지 못하였다.
8. 神功內托散은 腹水癌細胞가 移植된 實驗動物의 平均生存日數를 延長시켰다.

參 考 文 獻

1. 吳 謙 : 醫宗金鑑, 北京, 人民衛生出版社, p. 1608, 1614, 1982.
2. 厲 暢 : 癌의 中醫治療, 東洋醫學 18卷 1號, p. 56, 1992.
3. 郁仁存 : 中醫腫瘤學, 北京, 北京科學技術出版社, pp. 1~10, 1983.
4. 錢伯文 : 腫瘤的辨證施治, 上海, 上海科學技術出版社, pp. 1~10, 1980.
5. 大韓病理學會編 : 病理學, 서울, 高文社, p. 225, 1990.
6. 李文鎬 外 : 內科學(下), 서울, 金剛出版社, pp. 2446~2550, 1979.
7. 김상호 외 : 일반병리학, 서울, 高文社, pp. 51~54, 108~109, 348~49, 1995.
8. 이중달 외 譯 : 그림으로 설명한 병리학, 서

9. 崔昇勳 : 東醫腫瘍學, 서울, 杏林出版社, p.13, 32~34, 1995.
10. 金完熙·崔達永 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, pp. 140~42, 168~70, 281~84, 1985.
11. 李 岩 : 腫瘤臨證備要, 北京, 人民衛生出版社, pp. 11~26, 1983.
12. 張代釗 : 中西醫結合治療癌證, 山西, 山西人民出版社, pp. 11~19, 1984.
13. 이창해·이봉기·이원형·김주덕 : 시험관 및 생체내 암세포(S-180YS)의 adriamycin에 대한 내성세포의 염색체 분포특성, 연세의대 논문집, 16:180, 1983.
14. Fish B : Clinical trials for the evaluation of cancer therapy, Cancer, 54:2609, 1984.
15. Kim, SH : Clinical comparison with drug sensitivities by the human tumor clonogenic assay, J. Kor, Cancer Assoc, 21:11, 1989.
16. Park CG, Lim DK, Kook YH, Cha CR, and Paik CG : In vitro chemsensitivity of doxorubicin on human cancer cell lines, J. Kor. Cancer Assoc, 22:61, 1990.
17. Willson JK,V, Bittner GN, Oberley TD, Meisner LF, & Weese JL : Cell culture human colon adenomas and carcinomas. Cancer Res, 47:2704, 1987.
18. New York Oxford : Cancer Biology, Oxford Universith Press, pp. 395-401, 1995.
19. 서울대학교 의과대학편 : 면역학(전정판), 서울, 서울대학교 출판부, pp. 135-147, 149-155, 199-209, 1993.
20. 서울대학교 의과대학편 : 종양학(전정판), 서울, 서울대학교 출판부, pp. 8-21, 23-42, 199-205, 1993.

21. 高士宗著 : 黃帝素問直解, 北京, 科學技術文獻出版社, p. 530, 1982.
22. 楊維傑 : 黃帝內經素問靈樞譯解, 서울, 成輔社, (素問) p. 266, (靈樞) p. 262, 1980.
23. 魯勳政外 3人 : 消積保中丸의 抗腫瘍效果에 대한 實驗的 研究, 大韓韓方腫瘍學會誌, Vol. 2, No. 1, p. 43, 1996.
24. 鄭鉉雨 : 內托羌活湯이 腫瘍 및 免疫調節機能에 미치는 實驗的 研究, 圓光大學校 大學院(博士), 1996.
25. 金聖勳外 1人 : 抗癌活性 數種生藥의 B16-Fo와 A549癌細胞에 대한 抗轉移 效果(I), 大韓韓醫學會誌, Vol 17, No. 1, p. 111, 1996.
26. 黃忠淵 : 肺癌의 東西醫結合治療에 관한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, Vol. 16, No. 2, p. 177, 1995.
27. 박정희外 2人 : 肺癌의 韓醫治療에 관한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, Vol. 16, No. 1, p. 71, 1995.
28. 柳東和 : 사물탕이 L1210세포 및 항암제를 투여한 마우스의 면역세포에 미치는 영향, 우석대학교 대학원(석사), 1998.
29. 趙鈴林外 1人 : 桃紅四物湯이 L1210세포가 이식된 마우스의 면역계에 미치는 효과, 東醫病理學會誌, 第 13卷 1號, pp. 132~140, 1999.
30. 金秀鎮外 2人 : 補中益氣湯 및 少陰人 補中益氣湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 Cyclophosphamide에 의한 副作用에 미치는 影響, 東醫病理學會誌, Vol. 8, No. 1, p. 119, 1993.
31. 송효정의 2人 : 肝癌柱와 S-180에 대한 菌 藻 分割의 抗腫瘍效果, 東醫病理學會誌, Vol. 9, No. 2, p. 129, 1995.
32. 박경식外 3人 : 葦莖湯, 加味葦莖湯의 A549에 대한 細胞毒性 S-180에 대한 抗癌效果, 東醫病理學會誌, Vol. 9, No. 2, p. 217, 1995.
33. Mosmann T. : J. Immunol. methods. pp. 55~63, p. 65, 1983.
34. Kotnic V. and Fleischmann W.R.Jr. : J. Immunol. methods. p. 23, 129, 1990.
35. Wysocki L. J. and Sato V. L. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA. p. 75, 2844, 1978.
36. Mizel S. B., Openheim, J. J. and Rosensteich, D. L. : J. Immunol. p. 120, 1497, 1979.
37. Geran R.I., Greenberg N.H., Macdinald M.M., Schumacher A.M. and Abbott B.J. : Protocol for screening chemical Agents and Natural products against Animal Tumors and ather Biological system(Third Edition), Cancer chemotherapy Reports, p. 48, 59, 1972.
38. 대한의학협회 분과학회협의회 편저 : 암의 진단과 치료, 서울, 麗文閣, 1992.
39. 白洪龍 : 辨證診治概要, 雲南, 人民出版社, p. 502, 1984.
40. 鄭遇悅 : 韓方病理學(裡里), 서울공판사, pp. 5~34, 1985.
41. 하대유의 25人 : 免疫學, 서울, 高文社, pp. 1~32, 1994.
42. Biozzi G., Stiefel C., Mouton Bouthillier Y., Deceusefound G.A. : Kinetic study of antibody producing cells in the spleen of mice immunized intravenously with sheep erythrocytes, J. Immunol., 14 : 7~15, 1968.
43. Yamazaki M. : Anti-tumor effect of macrophage, Medical Immunology, 12 : 1, 1986.
44. Roitt I. : Essential immunology, 7th

edition, Black Scientific publications,
London, p. 4, 1991.