

內托千金散 및 그 加味方이 마우스의 免疫細胞 및 癌細胞에 미치는 效果

梁起豪* · 鄭鉉雨* · 崔政和**

ABSTRACT

Effects of *Naetakcheonkeumsan* and It's Gamypang on the Lymphocytes and Cancer cells

Yang Gi-ho · Jeong Hyun-woo · Choi Jung-hwa

Naetakcheonkeumsan(NCS) was a drug that treated carbuncle and cellulitis. So, the purpose of this Study was to investigate effect of NCS on the anti-cancer and proliferation of lymphocytes in normal mouse group, L1210 cells-transplanted mouse group and anti-cancer drug(vincristine) 0.005mg/kg were injected mouse(L1210 cells-transplanted) group.

We used NCS extract with freeze-dried, 8wks-old male mice, and L1210 cell lines for this Study. The proliferation of cells was tested using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay).

The results of this Study were obtained as follow ;

Group C(NCS plus *Rehmanniae Radix* Preparat administered group) inhibited proliferation of lymphocytes in normal mouse group and L1210 cells transplanted mouse group. Group A(NCS administered group) and Group B(NCS plus *Cervi pantotrichum Cornu* administered group) inhibited proliferation of L1210 cells in L1210 cells-transplanted mouse group and anti-cancer drug were injected mouse(L1210 cells-transplanted) group. Group C incresed proliferation of L1210 cells in L1210 cells-transplanted mouse group, but inhibited in anti-cancer drug(vincristine) 0.005mg/kg were

* 東新大學校 韓醫科大學 病理學教室

**東新大學校 韓醫科大學 外官科學教室

injected mouse(L1210 cells-transplanted) group.

I. 緒 論

內托千金散은 明代 陳¹⁾의 『外科正宗』에 “治腦疽, 發背, 諸毒, 惡瘡已成不消者 服之易潰”라 최초로 收錄된 이래 『東醫寶鑑』²⁾에서는 “治一切癰疽惡瘡 能內托”이라 하였고, 歷代醫家³⁻⁵⁾들은 本方을 氣血不足과 함께 나타나는 癰疽에 扶正祛邪할 目的으로 사용하여 왔다.

癰疽는 癌의 範疇에 포함⁶⁻⁷⁾된 東醫學의 病名중의 하나로 그 治療法은 內消法과 內托法을 들 수 있다⁸⁻⁹⁾. ‘內托’의 意味는 元氣를 돕는다는 뜻이고, 內托法은 오랫동안 癰疽가 제거되지 않으면서 氣血이 점차 衰退해질 때 氣血을 補強해주면서 癰疽를 除去하는 扶正祛邪法을 말한다⁸⁻⁹⁾.

免疫은 人體內에 異物質의 침입이나 變異細胞가 발생하였을 때 이를 非自己로 인식하여 처리함으로써 항상성을 유지하려는 生體防禦機轉¹⁰⁻¹²⁾으로 東醫學에서는 이를 『素問』·「通評虛實論」에 “邪氣盛則實, 正氣奪則虛”¹³⁾라 하여 ‘正氣’로 표현하고 있다. 즉, ‘正氣’는 장부조직기관의 기능활동을 정상적으로 유지케함으로써 病邪에 대해 抗病力을 갖는 抵抗力, ‘邪氣’는 人體를 發病케하는 各種의 發病要因을 말하는 것으로 疾病의 發生이나 進展은 바로 이러한 正邪間의 相爭으로 설명할 수 있다¹⁴⁾.

癌은 지금까지 알려져 있는 死亡原因中 비교적 높은 비율을 차지¹⁵⁾하고 있으며, 이를 정복하려는 노력 또한 국내외적으로 다양하게 진행되고 있다. 治療法으로 東醫學에서는 補氣·補血을 爲主로 하면서 破積·活血·清熱·解鬱·行氣 등의 治法들을 兼用^{6,16-19)}하고 있고, 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 아직까지 治療方法이 定立되어 있지 않을 뿐더러 化學療法 自體도 化學 藥材의 毒性 및 副作用 問題를 해결하지 못하고 있는 실정

이다²⁰⁻²⁶⁾.

이에 著者는 이러한 化學療法의 副作用이나 限界性들을 考慮할 때 암환자의 抗病能力 增強·癌治療 및 항암제에 대한 副作用을 최소화하기에는 韓藥材의 투여가 좋은 方法이라 思料된다. 그러나 아직까지 內托千金散에 대한 研究報告를 접하지 못하였고, 또한 항암제의 副作用을 최소화하는 데는 扶正方²⁷⁻³⁰⁾들이 應用하고 있다는 점에 着眼하여 本方과 함께 壯元陽시키는 鹿茸³¹⁾과 補血滋陰시키는 熟地黃³¹⁾을 각각 加味하여 免疫細胞 및 癌細胞에 대한 效果, 항암제와 併用投與하였을 때의 免疫細胞 및 癌細胞에 대한 效果 등을 관찰한 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 內托千金散은 東醫寶鑑²⁾에 準하였으며, 東新大學校 附屬 韓方病院에서 購入한 후 本草學教室에서 精選을 받아 使用하였다. 內托千金散, 內托千金散加鹿茸 및 內托千金散加熟地黃의 1貼分量(45.0g, 48.75g, 48.75g)을 1,500ml 증류수로 상온에서 100℃ 2시간동안 煎湯한 다음 이 液을 1,500rpm으로 30분간 원심분리하였다. 그 후 rotary evaporator를 이용하여 100.0ml로 濃縮한 다음 freeze dryer로 凍結乾燥시킨 결과 각각 9.02g, 11.4g, 14.1g을 얻었다.

實驗에 사용한 處方의 內容과 分量은 다음과 같다.

構成藥物	生藥名	重量 (g)
內托千金散	金銀花 Lonicerae Flos	3.75
	人蔘 Ginseng Radix	3.75
	黃芪 Astragali Radix	3.75
	赤芍藥 Paeoniae Radix Rubra	3.75
	當歸 Angelicae Gigantis Radix	3.75
	川芎 Cnidii Rhizoma	3.75
	天花粉 Trichosanthis Radix	3.75
	桔梗 Platycodi Radix	3.75
	防風 Ledebourieliae Radix	3.75
	白芷 Angelicae Dahuricae Radix	3.75
加	桂皮 Cinnamomi Ramulus	3.75
	甘草 Glycyrrhizae Radix	3.75
總量		45.0
加	鹿茸 Cervi pantotrichum Cornu	3.75
	熟地黃 Rehmanniae Radix Preparat	3.75

2) 細胞柱

세포주는 한국세포주은행에서 구입한 급성백혈병세포주인 L1210세포주를 사용하였다.

3) 動物

本實驗에 사용한 mouse는 대한실험동물에서 구입한 balb/c계 22±1(g) 수컷을 온도 20±3(℃), 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.

4) 試藥 및 器機

本實驗에 사용한 시약들은 Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640, Sigma R4130), Fetal Bovine Serum(FBS, Gibco LOT. NO.1006842), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma M2128), Sodium Dodecyl Sulfate(SDS, Sigma L5750), Vincristine(Sigma, V8879), Concanavalin

A(Con-A, Sigma C5275), Lipopolysaccharide (LPS, Sigma L2637) 등으로 特級시약을 사용하였으며, 器機로는 Microplate Reader(ELX800UV) 등을 사용하였다.

2. 方法

1) 細胞 培養條件

L1210세포주 및 마우스의 흉선·비장세포들은 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 배지에는 10% FBS와 penicillin-streptomycin (100units/ml, 100 µg/µl)을 첨가하여 사용하였다.

2) MTT法에 의한 增殖率 測定

本 실험에 사용한 MTT法은 Mosmann³²⁾이 개발하고 Kotnik³³⁾ 등이 변형시킨 방법으로, 96 well plate의 각 well에 세포 부유액을 접종하여 37℃의 CO₂ incubator에서 48시간을 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5mg/ml농도로 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline- A(DPBS-A) (pH 7.4)로 희석된 MTT용액 20µl를 각 well에 첨가하고 배양 종료시 0.01N Hcl에 용해시킨 10% SDS 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

L1210세포주를 1)과 같이 계대배양하여 2×10⁶cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 1.0ml를 주사함으로써 암세포를 이식하였다.

4) 抗癌劑 投與

항암제는 vincristine을 이용하였으며, 투여량 및 투여기간은 0.005mg/kg씩으로 암이 이식된 다음날 부터 마우스의 복강에 1일째와 3일째 양일간 투여

하였다.

5) 實驗群

(1) 正常動物

Balb/c 마우스 7마리를 1군으로 하여 對照群과 實驗群 등으로 분류하였다. 對照群은 1일 1회씩 7일동안 증류수를 0.2ml씩을 투여하였고, 實驗群 A는 內托千金散을, 實驗群 B는 內托千金散加鹿茸을, 實驗群 C는 內托千金散加熟地黃을 각각 500mg/kg씩 7일동안 1일 1회 0.2ml를 경구투여하였다.

(2) 癌細胞 移植 動物

癌細胞의 移植은 3)과 같이 실시하였고, 對照群 및 實驗群들의 약물투여는 5)-(1)과 같이 실시하였다.

(3) 癌細胞 移植 後 抗癌劑 投與 動物

L1210세포의 이식은 3)과 같이 실시하였고, 항암제 vincristine의 투여는 4)와 같이 하였으며, 對照群 및 實驗群들의 약물투여는 5)-(1)과 같이 실시하였다.

6) 癌細胞 增殖率 變化

5)의 (1), (2), (3)과 같은 방법으로 실시한 후 경추탈골하여 도살시켰다. 도살 후 복강에 cold PBS 10ml를 주입하여 잘 혼합시킨 다음 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4℃에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리하고 RPMI 1640 배지로 2회 세척한 후 직경 120mm petri dish에 분주하여 CO₂ incubator에서 배양시키고 4시간후에 부착한 세포를 제거하고 부착하지 않은 세포를 모아 4℃에서 1,500rpm으로 5분간 원심분리를 하였다. 침전된 세포분획을 모아 1×10⁶ cells/ml로 조제하여 96 well plate의 각 well에 세포부유액 100μl를 분주하고 배지 100μl를 채워 37℃의 CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 증식율의 변화는 2)와 같

은 MTT방법을 사용하였다.

7) 胸腺 및 脾臟細胞의 分離

5)의 (1), (2), (3)과 같은 방법으로 실시한 후 마우스의 흉선 및 비장세포 분리는 Wysocki³⁴⁾ 및 Mizel³⁵⁾ 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.

8) 胸腺 및 脾臟細胞의 增殖率 變化

7)과 같이 분리한 흉선 및 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10⁶cells/ml 농도로 집중하여 흉선 세포에는 Con-A 5μg/ml, 비장세포는 LPS 5μg/ml을 첨가한 후 37℃의 CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음, 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하였다.

측정방법은 2)와 같은 MTT방법으로 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 0.05 미만일 때는 統計的으로 有意性이 있다고 認定하였다.

III. 實驗結果

1. 正常動物의 免疫細胞 增殖能

內托千金散 및 內托千金散加鹿茸 그리고 內托千金散加熟地黃이 면역세포의 增殖能에 미치는 效果를 관찰하기 위하여 마우스에 7일동안 1일 1회씩 증류수와 약제를 투여한 결과 다음과 같은 成績을 얻었다.

흉선세포의 경우 Con-A를 처리한 對照群(Control (+))의 증식율을 100(%)로 환산하였을 때 각 實驗群들중 實驗群 B만이 胸腺細胞의 증식율에 유의성($P < 0.001$)있는 증가현상을 보였을 뿐 다른 實驗群들은 오히려 증식이 억제되었다. 또한 비장세포의 경우에 있어서는 LPS를 처리한 對照群(Control (+))의 증식율을 100(%)로 환산하였을 때 각 實驗群들은 오히려 對照群에 비하여 비장세포의 증식율을 억제하였고, 그 중에서도 특히 實驗群 C의 경우는 對照群의 비장세포 증식율보다 15(%)정도 감소되었다(Table 1, Fig. 1).

2. 癌細胞를 移植한 動物의 免疫細胞 增殖能

內托千金散 및 內托千金散加鹿茸 그리고 內托千金散加熟地黃이 암세포가 이식된 마우스의 면역세포의 增殖能에 미치는 效果를 관찰하기 위하여 증류수와 약제를 투여한 결과 다음과 같은 成績을 얻었다.

흉선세포의 경우 Con-A를 처리한 對照群(Control (+))의 증식율을 100(%)로 환산하였을 때 각 實驗群들은 흉선세포의 증식에는 별다른 영향을 미치지 못하였다. 특히 實驗群 C는 오히려 10(%)정도의 증식율이 감소되었다. 또한 비장세포의 경우에 있어서는 LPS를 처리한 對照群(Control (+))의 증식율을 100(%)로 환산하였을 때 각 實驗群들은 對照群에 비하여 비장세포의 증식

을 촉진시키는 것으로 나타났다(Table 2, Fig. 2).

3. 癌細胞 移植 後 抗癌劑를 投與한 動物의 免疫細胞 增殖能

內托千金散 및 內托千金散加鹿茸 그리고 內托千金散加熟地黃이 암세포를 이식한 후 항암제 vincristine 0.005mg/kg을 1일과 3일 투여한 마우스의 면역세포의 增殖能에 미치는 效果를 관찰하기 위하여 증류수와 약제를 투여한 결과 다음과 같은 成績을 얻었다.

Con-A를 처리한 對照群(Control (+))의 흉선세포 증식율과 LPS를 처리한 對照群(Control (+))의 증식율을 각각 100(%)로 환산하였을 때 각 實驗群들은 면역세포의 증식에 별다른 영향을 미치지 못하였다. 오히려 實驗群 C는 면역세포의 증식율이 감소되었다(Table 3, Fig. 3).

4. 癌細胞의 移植 및 抗癌劑를 投與한 動物의 癌細胞 增殖能

內托千金散 및 內托千金散加鹿茸 그리고 內托千金散加熟地黃이 암세포가 이식된 마우스의 암세포 增殖能과 암세포를 이식한 후 항암제를 투여하였을 때의 암세포 增殖能을 관찰하기 위하여 증류수와 약제를 투여한 결과 다음과 같은 成績을 얻었다.

암세포가 이식된 마우스에 약물을 투여한 결과 對照群의 증식율을 100(%)로 환산하였을 때 實驗群 A는 약 35(%)의 증식 억제 효과를 나타내었고, 實驗群 B도 약 40(%)정도의 증식 억제 효과를 나타내었으나 實驗群 C의 경우는 오히려 對照群보다 약 40(%)이상 증식을 촉진시키는 것으로 나타났다.

또한 암세포를 이식한 후 항암제 vincristine 0.005mg/kg을 암세포 이식 후 다음날부터 1일, 3일간 복강투여한 결과 對照群의 L1210세포 증식율을 100(%)로 환산하였을 때 實驗群 A는 약 50(%)정

도 증식 억제 효과를 나타내었고, 實驗群 B도 60(%)정도의 증식 억제 효과를 탁월하게 나타내었으며, 實驗群 C의 경우에 있어서도 약 20(%)정도의 증식 억제 효과를 나타내었다(Table 4, Fig. 4).

Table 1. Effects of *Naetakcheonkeumsan* and it's Gamypang on the proliferation of lymphocytes in normal mice.

	Cont(-)	Cont(+)	Sample A	Sample B	Sample C
Thymocytes	29.7±0.1	100.0±0.6	90.4±0.7***	107.4±0.6***	93.2±1.8*
Splenocytes	48.9±0.3	100.0±2.3	98.9±0.9	97.1±0.7	86.5±0.5**

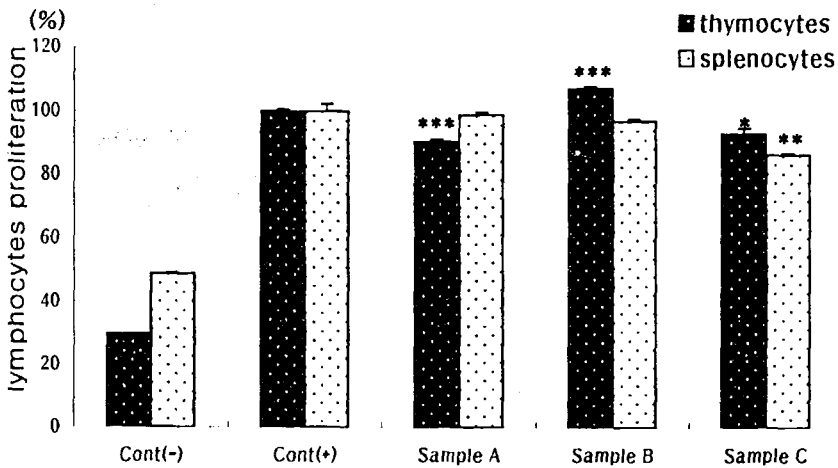


Fig. 1. Effects of *Naetakcheonkeumsan*(NCS) and it's Gamypang on the proliferation of lymphocytes in normal mice.

Cont(-) : thymocytes group is concanavalin A non-treated and DDW 0.2ml were administered p.o. for 7days, splenocytes group is lipopolysaccharide non-treated and DDW 0.2ml were administered p.o. for 7days.

Cont(+): thymocytes group is concanavalin A 5ug/ml treated and DDW 0.2ml were administered p.o. for 7days, splenocytes group is lipopolysaccharide 5ug/ml treated and DDW 0.2ml were administered p.o. for 7days.

Sample A : NCS 0.2ml were administered p.o. for 7days.

Sample B : NCS plus *Cervi pantotrichum* Cornu 3.75g 0.2ml were administered p.o. for 7days.

Sample C : NCS and *Rehmanniae Radix* Preparat 3.75g 0.2ml were administered p.o. for 7days.

* : Significantly different from control group(+)(* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001)

Table 2. Effects of *Naetakcheonkeumsan* and it's Gamypang on the proliferation of lymphocytes in L1210 cells-transplanted mice.

	Cont(-)	Cont(+)	Sample A	Sample B	Sample C
Thymocytes	31.2±0.1	100.0±0.6	96.9±0.6*	100.0±0.1	91.2±0.7***
Splenocytes	68.9±0.2	100.0±0.7	107.3±0.8***	101.9±1.8	104.9±1.5*

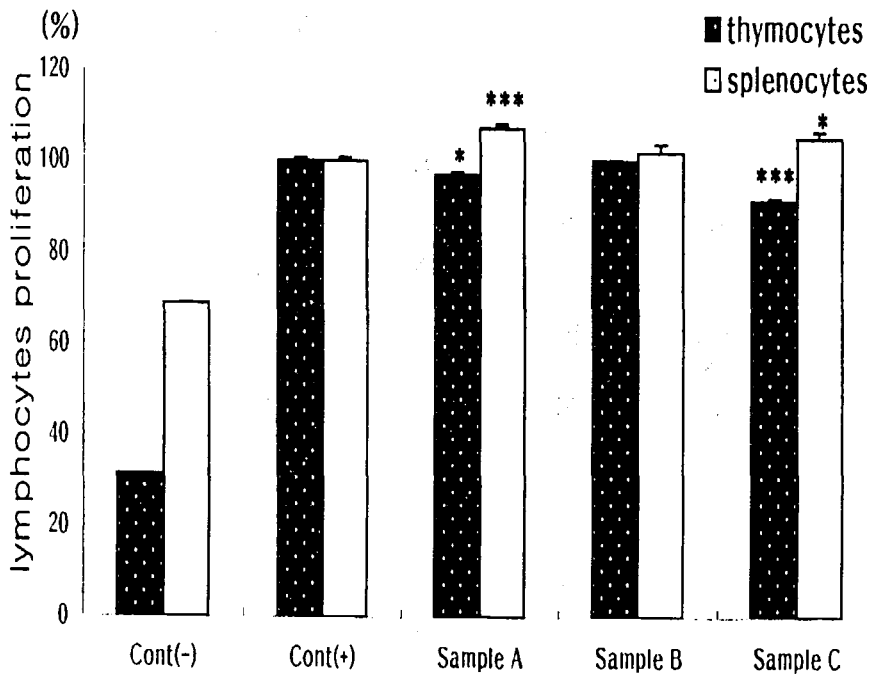


Fig. 2. Effects of *Naetakcheonkeumsan* and it's Gamypang on the proliferation of lymphocytes in L1210 cells-transplanted mice.

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

Table 3. Effects of *Naetakcheonkeumsan* and it's Gamypang on the proliferation of lymphocytes in anti-cancer drug were injected mice(L1210 cells-transplanted).

	Cont(-)	Cont(+)	Sample A	Sample B	Sample C
Thymocytes	24.3±0.04	100.0±0.6	102.3±1.7	99.9±1.2	89.1±1.3**
Splenocytes	69.5±0.6	100.0±2.5	105.9±1.0	101.0±0.6	91.8±1.5*

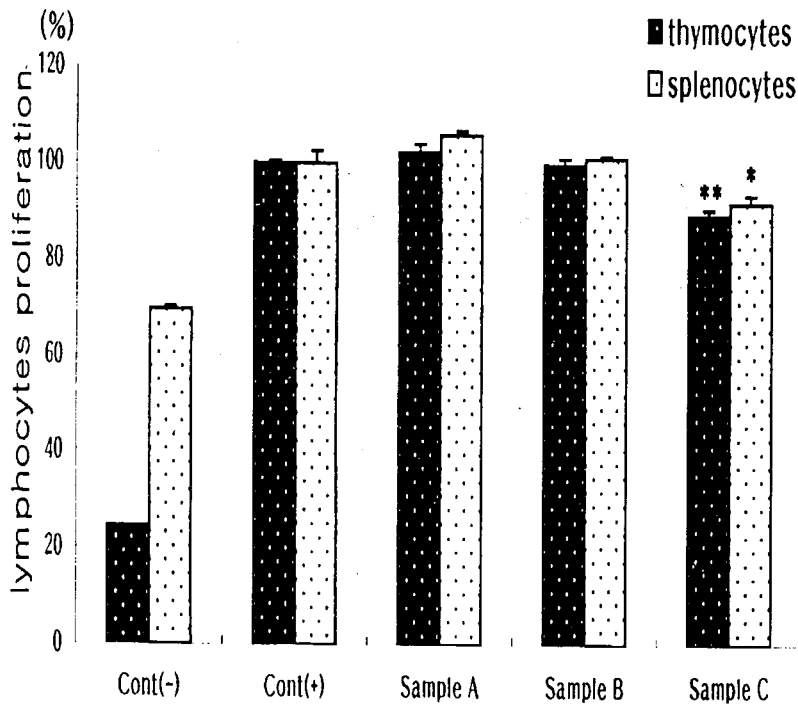


Fig. 3. Effects of *Naetakcheonkeumsan* and it's Gamypang on the proliferation of lymphocytes of anti-cancer drug were injected mice(L1210 cells transplanted).

Anti-cancer drug(vincristine) 0.005mg/kg were injected I.p. the first and third day.

* : Significantly different from control group(+)(* : P<0.05, ** : P<0.01)

Table 4. Effects of *Naetakcheonkeumsan* and it's *Gampyang* on the L1210 cells proliferation.

	Control	Sample A	Sample B	Sample C
L1210	100.0±0.5	65.1±0.3	61.1±0.2	143.2±0.6
Anti-cancer drug	100.0±0.6	52.0±0.3	42.7±0.5	81.4±0.7

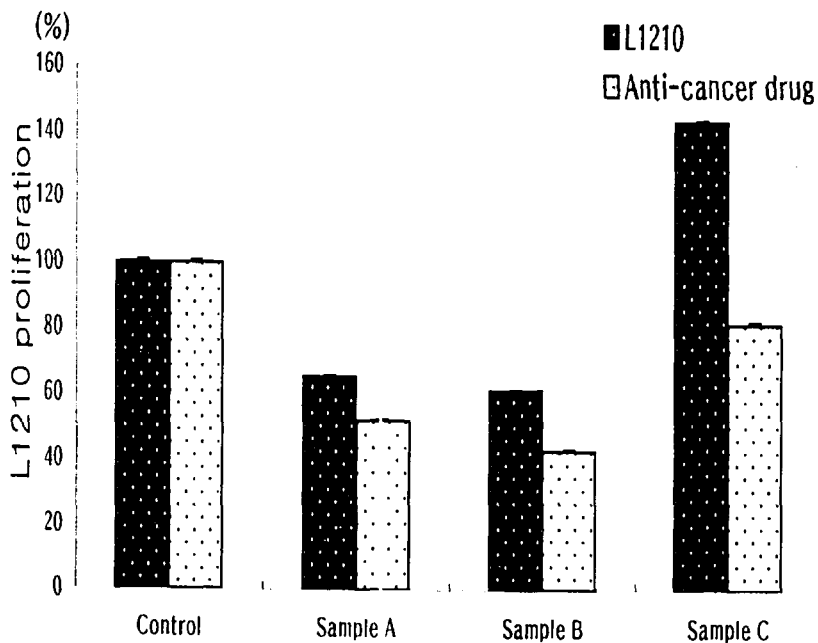


Fig. 4. Effects of *Naetakcheonkeumsan* and it's *Gampyang* on the proliferation of L1210 cells.

Control : After L1210 cells-transplanted mice, DDW 0.2ml administered group.

L1210 : L1210 cells transplanted mice.

Anti-cancer drug : After L1210 cells-transplanted, vincristine 0.005mg/kg were injected i.p. the first and third day.

IV. 考 察

免疫은 인체내에 異物質의 침입이나 變異細胞가 발생하였을 때 면역계가 관여하여 異物은 물론 새로이 발생된 變異細胞를 非自己로 인식하여 처리하는 능력을 발휘함으로써 개체의 항상성을 유지하려는 현상을 말하는 것으로 식세포나 보체가 관여하는 선천적 면역과 T세포와 B세포가 관여하는 후천적 면역으로 나누어진다. 또한 면역반응에 따라 체액성 면역(humoral immunity)과 세포매개성 면역(cell-mediated immunity)으로 분류되는데, 체액성 면역은 B세포가 주로 담당하는 것으로 혈액 및 기타의 체액속에서 방출된 항체로 생체에 감염을 일으킨 세균이나 세균독소, virus 등과 직접 결합하여 용균 또는 독소, virus의 중화, 식균 현상을 나타냄으로써 생체를 감염으로부터 방어하는 기능을 담당하고, 세포 매개성 면역은 T세포가 주로 담당하는 것으로 알러지반응, 접촉피부염, 동종이식 거부 등을 나타내는 면역의 종류이며, 화학 전달물질(lymphokine)들을 분비함으로써 종양세포나 virus 감염세포에 대해 직접 손상을 준다¹⁰⁻¹².

東醫學에서는 「素問」·「調經論」¹³에 “百病之生, 皆有虛實”, 「評熱病論」에 “邪之所湊, 其氣必虛”, 「通評虛實論」¹³에 “邪氣盛則實, 正氣奪則虛”, 「靈樞」·「口門篇」¹³에 “邪之所在, 皆爲不足”이라 하여 ‘正氣’를 각종의 장부조직기관의 기능활동을 정상적으로 유지케함으로써 病邪에 대해 抗病力을 갖는 抵抗力이라, ‘邪氣’는 인체를 발병하게 하는 각종의 요인¹⁴이라 말하였다. 즉, 질병의 발생이나 進展을 東醫學에서는 正邪相爭論으로 설명하면서 ‘正氣’를 중요시하였기 때문에 西醫學의 免疫의 개념과 가장 關聯性이 있다³⁶⁻³⁷.

암은 지금까지 알려져 있는 死亡原因中 비교적 높은 비율을 차지¹⁵하고 있으며, 이를 정복하려는 노력 또한 국내외적으로 다양하게 진행되고 있다.

東醫學에서의 癌은 體內에서 發現되는 腫塊로 즉, 積聚·癥瘕·痰癖·噎膈·反胃·癭瘤·石癭·石疽 등을 포함⁶⁻⁷하고 있고, 癌이라는 用語가 최초로 收錄된 곳은 宋代 「衛濟寶書」였다⁷.

암의 치료법으로 東醫學에서는 補氣·補血을 爲主로 하면서 破積·活血·清熱·解鬱·行氣 등의 治法들을 兼用^{6,16-19}하고 있고, 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 放射線療法은 局所的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 상태이며, 化學療法 自體도 化學藥材의 毒性 및 副作用 問題를 해결하지 못하고 있는 실정이다²⁰⁻²³.

抗癌劑에는 주로 Alkylating製劑, 면역억제제, Antimetabolites, 그리고 기타 抗癌劑 등으로 구분²⁴⁻²⁵되지만 공통적으로 抗癌劑들은 소화기장애·골수조혈장애 및 탈모증·피부이상·간중독·신장애·심근증·폐섬유화 등의 부작용들이 초래²⁶되고 있고, 특히 vincristine은 급성백혈병·림파종·일부고형종양(근육종·폐암) 등에 사용되고 있지만 말초나 자율신경의 독성과 함께 골수억제·탈모 등의 부작용을 나타내고 있다²⁴⁻²⁵. 이러한 化學療法의 副作用이나 限界性들을 考慮할 때 암환자의 抗病能力 增強·癌治療 및 항암제에 대한 副作用을 최소화하기에는 韓藥材의 투여가 좋은 方法이라 思料된다.

최근 韓藥材를 이용한 항암 및 면역연구가 활발히 진행되고 있는데, 그 중 魯 등³⁸은 消積保中丸이 종양세포의 성장, 발생을, 종양 크기의 억제 및 생명연장효과 그리고 NK세포의 활성화도 증가를, 金 등³⁹은 자초 hexane층, 단삼 ethyl ether층, 아위 ethyl ether층이 모두 B16-Fo와 A549癌細胞에 대한 抗轉移 效果를 나타내었으며, 그 중에서도 아위의 ethyl ether층이 가장 유효한 효과가 있었음을, 鄭⁴⁰은 內托羌活湯이 MCA와 3LL세포 및

S-180세포로 誘導된 皮下癌腫 細胞에 대하여 抗癌性을 보였는데, 이는 腫瘍細胞에 대한 特異的 細胞毒性和 免疫調節作用에 의한 것임을 보고하였다. 또한 柳²⁷⁾가 四物湯을 이용하였을 때 L1210 암세포가 이식된 마우스의 T_H세포 증식은 촉진되었지만 macrophages의 증식과 NO는 변화가 없음을, 趙 등⁴¹⁾은 桃紅四物湯이 L1210세포의 증식억제효과와 NO의 양이 증가하여 서로 연관성이 있음을, 金 등⁴²⁾은 補中益氣湯 및 少陰人 補中益氣湯이 抗腫瘍效果和 cyclophosphamide에 의한 副作用에 미치는 影響을, 高⁴³⁾는 膽癌動物의 생명기간 延長, T cell과 B cell의 증식, 血清抗體價(凝集素價, 溶血素價), NK cell의 활성도를 관찰한 결과 膈下逐瘀湯과 膈下逐瘀湯合四君子湯이 항암효과가 있을 것으로 추정하는 동시에 그 중에서도 活血化瘀之劑와 補氣之劑를 合方하면 더욱 더 효과가 있었다고 보고하였다.

또한 韓藥材와 함께 항암제의 부작용을 연구한 보고들로는 柳²⁷⁾가 四物湯과 vincristine을 병용투여시 항암제로 인해 나타난 면역세포의 증식저하를 개선시켰음을, 곽 등²⁸⁾은 化學療法의 부작용을 개선시킬 수 있는 方劑들은 실험적으로 볼 때 四君子湯, 益氣補血健脾湯, 參茸湯, 補中益氣湯, 六味地黃湯 및 十全大補湯 등의 扶正方劑들임을, 인²⁹⁾은 四物湯이 cyclophosphamide에 의해 손상된 간(GOT 및 GPT활성도)·신(BUN 및 creatinine 함량)·골수(WBC, RBC 및 Hemoglobin 수)의 부작용을 개선시켰음을, 이³⁰⁾는 抗癌生血湯이 Methotrexate로 유발된 macrophages의 Fc 수용체 매개성 탐식능저하, 비장세포의 용혈반 형성 세포주 감소, 골수 macrophages와 neutrophil 전구세포 數감소, macrophages와 같은 세망내피계의 기능저하 및 간의 결합조직의 증식 등을 개선시킨다고 보고하였다.

內托千金散은 宋代 陳¹⁾의 『外科正宗』에 最初로 수록된 處方으로 “治腦疽, 發背, 諸毒, 惡瘡已成

不消者 服之易潰”이라 하였고, 그 構成은 白芍藥·黃芪·川芎·當歸·防風·桔梗·天花粉·金銀花·人蔘·肉桂·白芷·甘草로 되어 있으며, 痛症이 심할 경우는 乳香과 沒藥을 加味하여 사용^{1,3)}한다 하였다. 그러나 『東醫寶鑑』²⁾에서는 構成藥物에 있어 乳香과 沒藥에 대한 言及이 없이 다만 白芍藥이 赤芍藥으로 바뀌어져 있고, 그 效能은 “治一切癰疽惡瘡 能內托”^{2,5)}라 하였으며, 彭⁴⁾은 本方에 痛증이 심할 경우에는 乳香과 沒藥을 加味하여 사용하거나 當歸와 芍藥을 倍加하여 사용한다 하였다. 그러나 모두 歷代醫家들은 本方의 活用に 氣血不足과 함께 나타나는 癰疽에 扶正祛邪할 目的으로 사용한 것으로 思料된다.

本方의 명칭중 內托은 癰疽에 사용되는 치료법 중 하나를 의미하는 것으로, 癰疽의 治法은 內消法과 內托法으로 나뉘어진다⁸⁾. 內消法은 臟器機能·氣血·熱毒·濕痰·食積이 凝滯된 것을 疏通시켜주는 방법이며, 종류로는 消食化滯·消痞化積·軟堅散結·消腫潰堅 등이 있고^{8,44-45)}, 內托法은 元氣를 복돋아 줌으로써 오랫동안 癰疽가 제거되지 않으면서 氣血이 점차 衰退해졌을 때 사용하는 방법을 말하고, 肌寒肉冷·膿汁清稀·毒不出·瘡口不合·成聚積不赤·結核無膿·外證不明한 사람들에게 사용된다⁸⁻⁹⁾.

內托千金散을 構成藥物들의 個個 效能들을 살펴보면 白芍藥은 柔肝止痛·養血斂陰·平抑肝陽하는 효능이 있고, 黃芪는 補氣升陽·固表止汗·托毒排膿·利水退腫하는 효능이 있어 癰疽로 正氣가 부족하거나 潰久不斂한 證에 면역기능을 향진시킬 목적으로 응용되었으며, 川芎은 活血行氣·祛風止痛하는 효능이 있어 氣鬱로 인한 瘡瘍腫痛에 이용되고, 當歸는 補血和血·調經止痛·潤腸通便시키는 효능이 있어 創傷이나 癰腫 등에 응용되는 동시에 면역기능을 향진시킬 목적으로도 利用되며, 防風은 祛風解表·勝濕解痙·止瀉止血하는 효능이 있고, 桔梗은 宜肺祛痰·排膿理氣시키는 효능이

있어 咽喉腫痛과 肺癰 그리고 癰腫瘡癤 등에 이용된다. 天花粉은 淸熱生津·淸肺化痰·消腫排膿시키는 效能이 있어 瘡瘍이나 癰腫 등에 사용되고, 현재는 항암작용이 있다하여 絨毛上皮癌 등에도 응용되며, 金銀花는 淸熱解毒·涼血止痢·散風熱하는 효능이 있어 熱毒으로 인한 瘡癤 등에 이용되고, 人蔘은 大補元氣·補脾益氣·生津·寧神益智시키는 효능이 있어 각종의 心血管系나 虛證 및 腫瘤에도 응용되며, 桂皮는 溫中補陽·散寒止痛하는 效能이 있어 腹痛泄瀉나 氣管支喘息 등에도 이용되고, 白芷는 祛風解表·消腫止痛·通鼻之帶하는 효능이 있어 瘡瘍腫痛의 初期에 응용되며, 外科의 癰腫方劑에 活用되고 있다. 甘草는 補脾益氣·淸熱解毒·潤肺止咳하는 효능이 있어 瘡瘍腫毒에 內外服으로 사용하고, 현재는 免疫機能 亢進 및 抗腫瘤作用이 있다하여 널리 응용되고 있다^{31,46)}.

이와같이 內托千金散은 補氣血하면서 癰腫을 다스리는 人蔘·黃芪·川芎·當歸와 함께 淸熱化痰 및 消腫시키는 金銀花·天花粉·桔梗·白芷 등으로 구성되어 있어 扶正祛邪하는 方劑임을 알 수 있었다. 이에 著者는 아직까지 內托千金散에 대한 研究報告를 접하지 못하였고, 또한 항암제의 副作用을 최소화하는데는 扶正方²⁷⁻³⁰⁾들이 應用되고 있었기에 本方과 함께 壯元陽시키는 鹿茸³¹⁾과 補血滋陰시키는 熟地黃³¹⁾을 각각 加味하여 免疫細胞 및 癌細胞에 대한 效果, 항암제와 併用投與하였을 때의 免疫細胞 및 癌細胞에 대한 效果 등을 관찰한 結果 有意성을 얻었다.

內托千金散 및 內托千金散加鹿茸 그리고 內托千金散加熟地黃이 胸선세포와 비장세포의 增殖能에 미치는 효능을 관찰한 결과 胸선세포의 경우 Con-A를 처리한 對照群(Control (+))의 증식율을 100(%)로 환산하였을 때 實驗群 B만이 胸선세포의 증식율을 유의성(P<0.001)있게 증가시켰고, LPS를 처리한 對照群(Control (+))의 비장세포 증

식율을 100(%)로 환산하였을 때는 각 實驗群들은 오히려 對照群에 비하여 증식이 억제되는 것으로 나타났다. 특히 實驗群 C는 對照群보다도 15(%) 정도 감소되었음을 보여주었다. 또한 암세포가 이식된 마우스의 胸선세포와 비장세포의 增殖能에 미치는 효능을 관찰한 결과 각 實驗群들은 胸선세포의 증식에는 별다른 영향을 나타내지 않았으나 實驗群 C는 약 10(%)정도의 증식율이 감소되었고, 비장세포의 증식율에 있어서는 實驗群들이 對照群에 비하여 증식을 촉진시켰으나 임상에서 활용될 수 있는 결과는 아니었다. 한편, 암세포를 이식한 후 항암제 vincristine 0.005mg/kg을 투여한 마우스의 胸선세포와 비장세포의 增殖能에 미치는 효능을 관찰한 결과 각 實驗群들은 면역세포의 증식에는 별다른 영향을 미치지 못하였으며, 오히려 實驗群 C의 경우 10(%)이상 비장세포의 증식율을 감소시켰다. 이러한 결과는 元氣를 복돋아주면서 癰疽를 다스리는 內托千金散이 정상동물내에서는 면역세포의 증식효과를 나타내지 않으면서도 암세포가 이식한 동물에서만 면역세포의 증식효과가 나타나기 시작해 內托千金散은 癰疽와 같은 異物質이 體內에 發顯될 때만 그 效能이 나타나는 것으로 思料된다. 또한 內托千金散에 鹿茸과 熟地黃을 각각 加味하여 실험한 결과 오히려 熟地黃을 加味하였을 때 면역세포의 증식율이 감소하는 성적을 나타내었다. 이는 선천적 면역은 先天之氣에 해당되고, 후천적 면역은 後天之氣에 해당된다⁴⁷⁾라고 한 報告를 볼 때 熟地黃의 效能이 T세포나 B세포가 관여하는 후천적 면역보다는 macrophages가 관여하는 선천적 면역에 그 效能을 발휘하는 것이라 思料된다. 그렇기 때문에 內托千金散에 鹿茸을 加味하였을 때보다 熟地黃을 加味하였을 때 T세포 및 B세포의 증식이 감소한 것으로 思料된다.

內托千金散 및 內托千金散加鹿茸 그리고 內托千金散加熟地黃이 암세포가 이식된 마우스의 암세포

増殖能을 관찰한 결과 實驗群 A는 약 35(%)의 증식 억제 효과를 나타내었고, 實驗群 B에 있어서도 약 40(%)정도의 증식 억제 효과를 나타내었으나 實驗群 C는 오히려 약 40(%)이상 癌細胞의 증식을 촉진시키는 것으로 나타났다. 또한 암세포를 이식한 후 항암제 vincristine 0.005mg/kg을 암세포 이식 다음날부터 1일, 3일간 복용투여한 결과 實驗群 A는 약 50(%)정도의 증식 억제 효과를 나타내었고, 實驗群 B도 60(%)정도의 탁월한 증식 억제 효과를 나타내었으며, 實驗群 C의 경우는 암세포를 이식한 동물과는 달리 약 20(%)정도의 증식 억제 효과를 나타내었다. 그리하여 內托千金散이나 鹿茸을 加味하였을 때는 癌細胞의 증식이 有效하게 억제되었고, 항암제와 병용투여하였을 때에도 억제효과가 倍加되는 것을 알 수 있었다. 그러나 熟地黃을 加味하였을 때는 오히려 癌細胞의 증식이 촉진되었으나 항암제와 병용투여하였을 때에는 억제되는 것으로 나타나 이는 內托千金散加熟地黃의 效能이 아니고 抗癌劑의 效能이라 思料된다.

이상의 結果들을 살펴볼 때 內托千金散과 內托千金散加鹿茸을 투여한 實驗群들은 면역세포의 증식에는 별다른 영향을 주지 않았지만 항암효과는 有效하게 나타났고, 內托千金散加熟地黃을 투여한 實驗群은 정상동물이나 항암제를 투여한 동물에서 면역세포의 증식이 오히려 감소되면서 암세포의 증식을 촉진시켰다. 이는 임상적으로 볼 때 內托千金散에 熟地黃을 加味하는 것보다는 鹿茸을 加味하여 활용하는 것이 더욱 有效적일 것이라 思料되지만 암의 종류, 그 반응성, 개체의 특이성 및 方劑의 효능이 각기 다르기 때문에 韓藥材를 이용하여 항암, 면역 그리고 항암제의 부작용을 최소화하려는 노력들은 앞으로도 계속 진행되어야 할 것이다.

V. 結 論

以上과 같이 內托千金散 및 內托千金散加鹿茸 그리고 內托千金散加熟地黃을 투여하여 면역세포의 増殖能과 암세포의 増殖能을 觀察한 결과 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 정상동물의 면역세포 増殖能에서 內托千金散加鹿茸을 投與한 實驗群은 흉선세포의 증식을 촉진시켰다.
2. 정상동물의 면역세포 増殖能에서 모든 實驗群들은 비장세포의 증식을 감소시켰다.
3. 암세포를 이식한 동물의 면역세포 増殖能에서 모든 實驗群은 비장세포의 증식을 촉진시켰다.
4. 암세포를 이식한 동물의 면역세포 増殖能에서 內托千金散과 內托千金散加熟地黃을 투여한 실험군은 흉선세포의 증식을 감소시켰다.
5. 암세포를 이식한 후 항암제를 투여한 동물의 면역세포 増殖能에서 內托千金散을 투여한 실험군은 면역세포의 증식을 촉진시켰다.
6. 암세포를 이식한 후 항암제를 투여한 동물의 면역세포 増殖能에서 內托千金散加熟地黃을 투여한 實驗群은 비장세포의 증식을 감소시켰다.
7. 암세포를 이식한 동물과 암세포를 이식 후 항암제를 투여한 동물의 암세포 増殖能에서 內托千金散加鹿茸을 투여한 實驗群은 암세포 증식을 有效하게 감소시켰다.
8. 암세포를 이식한 동물의 암세포 増殖能에서 內托千金散加熟地黃을 투여한 實驗群은 암세포의 증식을 촉진시켰다.

參考文獻

- 1) 陳實功 : 外科正宗, 天津, 天津科學技術出版社, p. 78, 1993.
- 2) 許 浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p. 538, 1987.
- 3) 孫震元 撰 : 瘍科會粹, 北京, 人民衛生出版社, pp. 142~143, 323, 1987.
- 4) 彭怀仁 主編 : 中華名醫方劑大全, 北京, 金盾出版社, p. 126, 1990.
- 5) 康舜洙 : 바른 方劑學, 서울, 大星文化社, pp. 202~203, 1996.
- 6) 郁仁存 : 中醫腫瘤學, 北京, 北京科學技術出版社, pp. 1~10, 1983.
- 7) 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.
- 8) 蔡炳允 : 漢方外科, 서울, 高文社, pp. 52~53, 1987.
- 9) 齊德之 撰 : 外科精義, 서울, 醫聖堂, p. 60, 1999.
- 10) 김상호의 4인 : 일반병리학, 서울, 고문사, pp. 51~54, 348~349, 1995.
- 11) 하대유의 25인 : 免疫學, 서울, 高文社, pp. 1~32, 1994.
- 12) 이중달의 8인 譯 : 그림으로 보는 병리학, 서울, 고려의학, pp. 99~124, 1990.
- 13) 楊維傑 : 黃帝內經素問靈樞譯解, 서울, 成輔社, (素問) pp. 235, 266, 455, (靈樞) p. 262, 1980.
- 14) 鄭遇悅 : 韓方病理學, 裡里, 서울공판사, pp. 5~34, 1985.
- 15) 대한의학협회 분과학회협의회 편저 : 암의 진단과 치료, 서울, 麗文閣, 1992.
- 16) 李 岩 : 腫瘤臨證備要, 北京, 人民衛生出版社, pp. 11~26, 1983.
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 崔昇勳 : 東醫腫瘍學, 서울, 杏林出版, pp. 37~42, 1995.
- 20) 이창혜의 3인 : 시험관 및 생체내 암세포 (S-180YS)의 adriamycin에 대한 내성細胞의 염색체 분포특성, 연세의대 논문집 16 : 180, 1983.
- 21) Kim, S.H. : Clinical comparison with drug sensitivities by the human tumor clonogenic assay, *J. Kor. Cancer Assoc.* 21 : 11, 1989.
- 22) Park, C.G., Lim, D.K., Kook, Y.H., Cha, C.R. and Paik, C.G. : In vitro chemsensitivity of doxorubicin on human cancer cell lines, *J. Kor. Cancer Assoc.* 22 : 61, 1990.
- 23) Willson, J.K.V., Bittner, G.N., Oberley, T.D., Meisner, L.F., & Weese, J.L. : Cell culture human colon adenomas and carcinomas. *J. Cancer Res.* 47(10) : 2704~2713, 1987.
- 24) 김경환 역음 : 이우주의 약리학강의(제4판), 서울, 의학문화사, pp. 633~690, 1997.
- 25) 鞠永棕篇 : 고오스 藥理學, 서울, 汎文社, pp. 701~710, 1985.
- 26) James, B., Lyoyd, H. : Cecil textbook of medicine, *W. B. Saunders Co.* pp. 1090~1100, 1985.
- 27) 柳東和 : 사물당이 L1210세포 및 항암제를 투여한 마우스의 면역세포에 미치는 영향, 우석대학교 대학원(碩士), 1998.
- 28) 광계호의 2인 : 腫瘍의 화학요법과 放射線療法の 副作用에 대한 韓方藥物療法, 東醫病理學會誌 9(2) : 45~87, 1995.

- 29) 안희덕 : 四物湯의 抗癌劑 副作用 抑制에 관한 實驗的 研究, 東醫病理學會誌 9(2): 341~359, 1995.
- 30) 李峻溶의 1인 : 抗癌生血湯이 Methotrexate 로 誘發된 副作用과 免疫機能低下에 미치는 影響, 大田大學校 大學院(碩士), 1997.
- 31) 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 三光印刷社, pp. 166~171, 175~177, 183~185, 219~224, 249~250, 261~262, 283~284, 392~393, 506~508, p. 321, 1986.
- 32) 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.
- 33) 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.
- 34) 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.
- 35) 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.
- 36) 康命吉 : 濟衆新編, 서울, 杏林書院, p. 182, 1982.
- 37) 傅 芳 : 中醫免疫思想及成就, 新中醫 25(11): 55~57, 1984.
- 38) 魯勳政의 3인 : 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 2(1): 43~56, 1996.
- 39) 金聖勳의 1인 : 抗癌活性 數種生藥의 B16-Fo와 A549癌細胞에 대한 抗轉移 效果(II), 大韓韓醫學會誌, 17(1): 132~145, 1996.
- 40) 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.
- 41) 趙鈴林의 1인 : 桃紅四物湯이 L1210세포가 이식된 마우스의 면역계에 미치는 효과, 東醫病理學會誌 13(1): 132~140, 1999.
- 42) 金秀鎭의 2인 : 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 8(1): 119~136, 1993.
- 43) 高光錫 : 膈下逐瘀湯과 膈下逐瘀湯合四君子湯의 抗癌 및 免疫調節作用에 관한 實驗的 研究, 東醫病理學會誌 9(1): 21~45, 1994.
- 44) 楊醫亞 : 中醫學問答(上), 北京, 人民衛生出版社, p. 572, 1985.
- 45) 中國大百科全書編輯委員會 : 中國大百科全書, 北京, 中國大百科全書出版社, pp. 525~523, 1992.
- 46) 王浴生 : 中藥藥理與應用, 北京, 人民衛生出版社, pp. 15~29, 119~128, 149~161, 264~277, 424~438, 442~446, 460~462, 703~709, 866~869, 983~991, 1983.
- 47) 史知洪 : 淺談祖國醫學中正氣與現代免疫學的關係, 新中醫 9: 1~2, 1988.