

원저

## 魚腥草 藥鍼이 B16黑色腫 癌모델에 대한 抗腫瘍效果 및 免疫反應에 미치는 影響

배원영 · 고흥균 · 김창환

경희대학교 한의과대학 침구학교실

### Abstract

## Experimental Study on the Effect of Houttuyniae Herbal Acupuncture on the Growth of Melanoma B16 in Mice

Bae, Won-Young · Go, Hyung-Gyun · Kim, Chang-Hwan

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine,  
Kyung-Hee University

**Purpose** ; In order to study the effect of Houttuyniae herbal acupuncture on growth of melanoma B16 and immunity in mice, the Control group with normal saline acupuncture after subcutaneous inoculation of B16BL6 cells, the Sample I with Houttuyniae herbal acupuncture manufactured by distilled water extraction method after subcutaneous inoculation of B16BL6 cells and the Sample II with Houttuyniae herbal acupuncture manufactured by alcohol extraction method after subcutaneous inoculation of B16BL6 cells were divided.

**Methods** ; To evaluate the effect of Houttuyniae herbal acupuncture on growth of melanoma B16 in mice, the weight of mouse melanoma, body weight, spleen index( $\sqrt{\text{Weight of spleen/Body weight}} \times 100$ ), lymphocytes numbers in mouse peripheral blood and spleen tissue, the percentage of CD4+ T cells, CD8+ and the ratio of CD4+/CD8+ in mouse peripheral blood and spleen tissue are measured.

**Results** ; In study of the weight of mouse melanoma, Houttuyniae herbal acupuncture groups(Sample I, Sample II) showed statistically significant inhibitory effect. And in study of effect of reduction of change in body weight of mouse, Sample I showed statistically significant inhibitory effect, too. In study of reduction of spleen index, lymphocytes numbers in mouse spleen tissue, and the percentage of CD4+ and the ratio of CD4+/CD8+ T cells in mouse peripheral blood, Houttuyniae herbal acupuncture groups(Sample I, Sample II) showed with statistically significant inhibitory effect. Also, Sample I showed

· 접수 : 1월 10일 · 수정 : 1월 16일 · 채택 : 1월 17일

· 교신저자 ; 김창환, 서울시 동대문구 회기동1번지 경희대학교 한의과대학 부속한방병원 침구과(Tel. 02-958-9192)

E-mail : kchacu@khmc.or.kr

inhibitory effect of reduction of the percentage of CD8+ T cells in mouse peripheral blood and spleen tissue and Sample II showed inhibitory effect of reduction of the percentage of CD4+ and the ratio of CD4+/CD8+ T cells in mouse spleen tissue with statistical significance.

**Conclusions ;** The inhibitory effect of reduction of lymphocytes numbers in mouse peripheral blood and IL-2 productivity, Houttuyniae herbal acupuncture groups(Sample I, Sample II) didn't show significant effect.

**key words :** Houttuyniae, Melanoma B16, CD4+, CD8+ T cell, lymphocyte, IL-2

## I. 서론

生命工學이 발달함에도 불구하고 아직까지 많은 疾病들이 難治病으로 分類되고 있다. 그중 癌은 주로 手術療法, 化學療法 및 放射線 療法으로 치료하고 있지만 癌의 豫防과 治療에 대한 내용은 醫學界의 큰 과제로 인식되고 있다.<sup>13)</sup>

皮膚에 발생하는 惡性腫瘍은 老人層의 증가와 生活環境의 변화에 따라 有害物質이나 紫外線에 노출될 기회가 많아지면서 發生頻도가 증가하고 있으며 內部臟器의 惡性腫瘍과 마찬가지로 治療時機를 놓치면 治療後 局所的인 後遺症과 內部臟器나 其他部位에 轉移를 일으켜 生命을 잃게 한다.<sup>15,28,29,30,33)</sup>

靈樞 癰疽編<sup>7)</sup>에서는 猛疽, 妖疽, 腦疽, 米疽, 甘疽 등 各種疽의 症狀과 治療法 및 豫後를 설명하였는데 이들은 癌과 비슷한 점이 많고, 皮膚에 나타나는 腫瘍은 翻花瘡, 石疔, 黑疔, 靑疔 등에 해당된다고 볼 수 있다.<sup>9)</sup>

韓醫學의 治療法은 正氣의 虛實에 따른 扶正法, 祛邪法 및 扶正祛邪法을 사용하는데 이 方法은 免疫力를 增強시켜 癌細胞의 成長을 억제하는 腫瘍免疫療法과 유사하여 韓藥<sup>16,18,28)</sup>, 鍼灸<sup>8,20,34)</sup>, 電鍼<sup>8,20,34)</sup> 및 藥鍼療法<sup>15,26,30,32,36)</sup>의 抗癌效果에 대한 研

究가 활발하게 進行되고 있다.

魚腥草<sup>2,4)</sup>는 약모밀(Houttuynia cordata Th - unb)의 帶根全草로 清熱解毒, 清利濕熱, 利尿通淋, 消癰腫하는 效能이 있고, 姜等<sup>10)</sup>은 魚腥草抽出液이 自然殺害細胞活性에 有意한 增強效果를, 林等<sup>36)</sup>은 魚腥草藥鍼이 腫瘍誘發抑制과 免疫機能增強 作用이 있음을 보고하였다.

惡性腫瘍과 免疫機能과의 관계가 細胞免疫學的 觀點에 입각한 T細胞亞群의 分布變化와 Inter-leukin-2를 비롯한 여러 가지 cytokine의 生産能 등을 통해 연구되고 있는데, 韓醫學에서 T細胞亞群의 變化를 관찰한 연구로는 高等<sup>11)</sup>이 十全大補湯, 金等<sup>19)</sup>이 六味地黃湯, 한等<sup>39)</sup>이 補中益氣湯과 手拈散, 李等<sup>33)</sup>이 海藻玉壺湯과 昆布, 柳<sup>28)</sup>가 陽和湯, 朱等<sup>38)</sup>이 쑥뜸자극, 권<sup>15)</sup>이 蜂毒藥鍼, 金等<sup>18)</sup>이 奔豚丸合冬蟲夏草抽出液, 이等<sup>32)</sup>이 覆盆子藥鍼을 이용한 研究가 있었으나 魚腥草藥鍼을 이용하여 T세포아군에 變化를 관찰한 研究는 보고된 바 없다.

이에 著者는 魚腥草藥鍼이 抗腫瘍 效果 및 免疫反應에 미치는 影響을 T細胞를 중심으로 하는 細胞性 免疫反應을 통해 알아보려고 BL16黑色腫을 생쥐에게 유발시키고 魚腥草藥鍼刺戟을 7일간 실시한 후 腫瘍의 무게 變化, 體重變化, 脾臟의 臟器指數를 측정하고, 末梢血液과 脾臟에서 淋巴球數, CD4+ T

細胞比率, CD8+ T細胞比率, CD4+/CD8+ T細胞比率과 Interleukin-2 生産能을 測定한 바 有意한 結果를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험

### 1. 材料

#### 1) 藥材

魚腥草는 시중에서 買入 精選하여 증류수로 세척시킨 후 사용하였다.

#### 2) 藥液 製造

##### (1) 水蒸氣蒸溜冷却法

반응조에 분쇄한 魚腥草 100g과 증류수 1ℓ를 넣고 藥材가 물위로 1cm 이상 정도의 높이로 떠 오르고 나서 충분히 물을 흡수할 수 있도록 1시간 가량 방치하였다. 가열기(Heating mantle, 한국)에 반응조를 넣고 냉각기 설치 후 2시간 정도 煎湯을 시킨 후 가열하여 증류, 냉각시켰다.

2~3시간 정도 차갑게 냉장고에 보관하여 무기염류들이 침강하면 아래 0.5cm 정도는 버리고 윗부분만 취하여 0.9% 등장액이 되도록 약전소금을 가하고 pH를 측정하여 중성으로 조절한 뒤 0.45 $\mu$ m 여과막, 0.1 $\mu$ m 여과막으로 2단계 여과한 후 20ml 바이얼병에 넣어 밀봉하였다. 완전히 밀봉된 藥液병을 고압멸균(121 $^{\circ}$ C, 2기압, 30분)한 뒤 사용하였다.

##### (2) 에탄올 抽出法

분쇄한 魚腥草 135g을 증류수로 잘 씻어 1ℓ의 증류수를 첨가한 후 magnetic stirrer(HOT&STIR, 한국)에 올려놓고 3시간 동안 분탕 추출한 후 전량이 200ml가 될 때까지 감압농축하였다. 95% 알콜을 50ml 가하여 다시 magnetic stirrer에서 교반

후 Wattman 여과지로 여과한 후 감압농축하여 약재가 카라멜 성상으로 될 때까지 가열하여 알콜을 완전히 휘발시킨 후 여기에 85%알콜을 50ml 가하였다. 앞의 과정과 동일한 과정을 거친 후 다시 75%알콜을 100ml 가하여 앞의 과정을 반복하고 생리식염수 1,000ml를 가하고 pH 7.3으로 조정하여 0.45 $\mu$ m, 0.2 $\mu$ m 여과지로 여과한후 고압 멸균하여 사용하였다.

#### 3) 實驗動物

대한실험동물센터에서 7週齡의 體重 21g 내외의 C57BL/6계 雄性 생쥐를 분양받아 抗生劑가 첨가되지 않은 고휘사료(삼양사료(주), 한국)를 수돗물과 함께 충분히 공급하면서 1주일간 實驗室 環境에서 적응시킨 뒤 實驗에 사용하였다.

#### 4) 腫瘍細胞

C57BL/6계 생쥐에 黑色腫을 誘發시키기 위한 암세포주는 서울대학교 내 한국세포주은행에서 분양받은 B16BL6 세포주(KCLB No.80006)로서 이를 繼代培養시켜 사용하였다.

#### 5) 培地의 構成

##### (1) 基本培地

RPMI 1640(GibcoBRL, USA)에 fungizone(GibcoBRL, USA) 4ml, penicillin G (100,000 units/ml)ml, streptomycin(100mg/ml Sigma, USA)1ml를 증류수에 넣고 1000ml로 조정후 pH를 7.2로 맞춘 다음 0.22 $\mu$ m disposable sterile bottle top filter(Corning, USA)로 여과하여 사용하였다.

##### (2) 混合培地

FBS(fetal bovine serum, GibcoBRL, USA)를 56 $^{\circ}$ C에서 30분간 inactivation시킨 후 기본배지에

10%의 농도가 되도록 조정하여 사용하였으며 이는 암세포의 배양전반에 사용되었다.

### 6) 藥鍼注入器

1.0ml 藥鍼 注入器(注射鍼 26gauge, 녹십자 의 료공급사, 한국)를 사용하였다.

## 2. 方法

### 1) 實驗群 設定

實驗 動物을 正常群, 對照群, 實驗群 I, II로 구분 하여 한 群에 6마리씩 分配하였다.

(1) 正常群: 흑색종을 유발시키지 않은 군으로 물과 고형사료를 충분히 공급하였다.

(2) 對照群: 정상군과 동일한 환경에서 흑색종을 유발시키고 생리식염수를 종양부위에 1주일간 하루 1회씩 일정시간에 주입하였다.

(3) 實驗群 I: 對照群과 동일한 방법으로 수중기 증류냉각법으로 제조한 魚腥草藥鍼液 을 腫瘍部位 에 1주일간 하루 1회씩 일정 시간에 주입하였다.

(4) 實驗群 II: 對照群과 동일한 방법으로 에탄 을 추출법으로 제조한 魚腥草藥鍼液을 腫瘍部位에 1주일간 하루 1회씩 일정 시간에 주입하였다.

### 2) 腫瘍의 誘導

Ershler 등<sup>40)</sup>이 사용한 방법에 따라 實驗群과 對照群의 C57BL/6계 생쥐의 背部를 소독된 면도기를 이용하여 腫瘍細胞 주입 하루 전에 털을 제거하고 포비딘(성광화학, 한국)으로 닦아 주었다. B16BL6 細胞를 hemocytometer로 cell counting하여  $1 \times 10^6$ 개/0.1ml의 비율로 조정하고 멸균된 1ml syringe(녹십자, 한국)를 이용하여 피하주입하였다. 이후 육안적으로 腫瘍의 성장을 관찰하여 腫瘍이 명확하게 이식된 생쥐만을 사용하였다.

### 3) 藥鍼液 注入

종양을 유발시킨 다음날부터 수중기 증류냉각법 및 에탄을 추출법으로 제조한 魚腥草藥鍼液 0.25ml /100g을 실험군의 腫瘍部位에 1주일간 하루 1회씩 일정 시간에 주입하였다.

### 4) 採血

종양유도후 7일간 약침액을 주입한 생쥐를 8일 째 되는 날 chloroform(덕산, 한국)으로 마취하고 心臟穿刺하여 血液을 EDTA(Ethylene Diamine Tetraacetic Acid Dipotassium Salt)가 들어있는 병에 넣어 잘 섞어서 응고를 방지한 뒤 사용하였다.

### 5) 脾臟細胞의 準備

생쥐를 chloroform으로 마취시킨 후 腹部를 70% 알콜로 완전히 도포한 후 무균적으로 脾臟을 적출한 뒤, 脾臟 周圍의 組織들을 조심스럽게 제거 하여 4℃ RPMI-1640(GibcoBRL, USA)배지로 2 회 세척한 다음, RPMI-1640이 들어 있는 petri 야노에서 작은 해부용 가위로 비장을 잘게 자르고 멸균된 유리막대로 조심스럽게 문질러 脾臟細胞를 부유시켰다. 이 부유액을 스테인레스 철망(청계상공사, 한국)에 여과하여 조직과편 및 유리되지 않은 세포덩이를 제거하고 RPMI-1640으로 1회, HBSS(Hanks Balanced Salt Solution, GibcoBRL, USA)로 2회 세척하였다. 그 후 멸균된 증류수로 hypotonic shock을 일으켜 赤血球를 완전히 용혈 시킨 뒤 10×HBSS로 2회 세척하고 RPMI-1640 배지로 한 번 더 세척한 다음 10% FBS가 첨가된 혼합배지에 脾臟細胞를 재부유하였다.

### 6) 腫瘍의 무게 測定

對照群과 實驗群의 생쥐를 致死시키고 BL16黑色 腫을 조심스럽게 分離, 摘出하여 腫瘍의 重量을 測定하였다.

7) 體重의 變化 觀察

腫瘍을 주입하기 前 體重과 檢液 처리 후 腫瘍의 무게를 變 體重을 비교하여 體重의 變化를 살펴 보았다.

8) 脾臟의 臟器指數 測定

心臟採血後 無菌狀態에서 생쥐의 脾臟을 摘出하여 PBS (Phosphate buffered saline ; sodium chloride 8g, potassium chloride 0.2g, disodium hydrogen phosphate 1.15g, potassium dihydrogen phosphate 0.2g) 2ml가 들어 있는 petri dish에 올려 놓고 무게를 잰 뒤 다음과 같은 식으로 臟器指數를 測定하였다.

$$\text{臟器指數} = \sqrt{(\text{脾臟무게}/\text{體重}) \times 100}$$

9) 末梢血液 및 脾臟內 淋巴球數 測定

EDTA를 使用하여 凝固防止한 血液에 同量의 PBS를 섞은 것과 脾臟세포부유액에 Lymphoprep (1.077±0.0001 g/ml, Nycomed Pharma As, Oslo, Norway)를 添加한 것을 각각 25 分 동안 2000 rpm에서 遠心分離하여 上層을 버리고, 중간에 하얗게 부유해 있는 임파구를 分離하였다. 分離된 lymphocyte를 PBS에 浮遊시켜서 2000 rpm에서 10 分間 2 回 遠心洗滌한 후 RPMI 1640 배지에 浮遊시키고, 光學顯微鏡을 利用하여 Trypan blue exclusion으로 細胞數를 관찰하였다.

10) 末梢血液 및 脾臟內 CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T 細胞比率 測定

RPMI 1640에 浮遊시킨 各 淋巴球 細胞를 media A (pH 7.2 PBS + 5 % normal serum of host species + 2 M sodium azide)에 2×10<sup>7</sup> cells/ml의 농도로 細胞를 再浮遊시키고, 試驗管에 細胞浮遊液 50 μl씩 넣어서 試驗管마다 1×10<sup>6</sup>개의 細胞가 存在하게 했다. 各 試驗管에 FITC

(fluorescein isothiocyanate) Anti-mouse CD4+ Monoclonal Antibody (Pharmingen, USA)와 PE (phycoerythrin) Anti-mouse CD8+ Monoclonal Antibody (Pharmingen, USA)를 각각 0.5μg씩 加하고 Vortex mixer로 잘 섞는다. 이 混合液을 빛이 遮斷되도록 알루미늄호일로 씌우고 4 ℃에서 30 分間 培養한 뒤, 4 ℃에서 PBS로 2 回 洗滌하고, 50 μl의 ice cold media B (pH 7.2 PBS + 0.5 % Bovine serum albumin + 2 M sodium azide)에서 cell pellet을 再浮遊시킨 후 淋巴球에 의한 CD4+, CD8+ T 細胞率을 測定하였다.

11) Interleukin-2 生産量(Interleukin-2 productivity) 測定

準備된 脾臟細胞를 FBS가 10% 첨가된 RPMI-1640 혼합배지에 1×10<sup>6</sup>cell/ml의 농도로 재부유하고, 여기에 concanavalin-A(Sigma, USA)를 100μg/ml의 농도로 가한 후 37℃, 5% CO2 incubator에서 24시간동안 배양한 후 상층액을 수거하여 interleukin-2(이하 IL-2라 칭함)의 生産量을 측정하였다. 생쥐 IL-2의 測定은 免疫酵素 測定法을 利用하여 450nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 檢體內的 IL-2양을 산정할 수 있는 방법을 利用하였다. 96 well plate의 각 well을 coating buffer(phosphate buffered saline, pH7.4)로 희석된 anti-mouse IL-2(purified monoclonal, Endogen, USA) 100μl씩 분주하고 plate를 seal하여 상온(20~25℃)에서 overnight하여 coating한다. 다음 날 각 well 당 wash buffer(50mM TRIS, 0.2% Tween-20, pH 7.9~8.1) 300μl씩으로 1회 세척하고 각 well 당 200μl의 assay buffer(PBS with 4% bovine serum albumin, pH 7.2~7.4)로 plate를 blocking한다. 標準曲線을 구하기 위해 standard를 2배씩 serial dilution하여 2250pg/ml부터 0pg/ml까지 50μl씩

분주하고 mouse 脾臟細胞에서 준비한 sample도 50 $\mu$ l씩 각 well에 분주한 후 plate를 seal하여 상온에서 1시간 배양한다. Plate를 wash buffer로 3회 세척한 후 assay buffer에 희석된 biotin-labeled detecting antibody(Endogen, USA) 100  $\mu$ l씩 각 well에 분주한 후 plate를 seal하여 상온에서 1시간 배양한다. Plate를 wash buffer로 3회 세척한 후 assay buffer에 희석된 HRP-conjugated streptavidin(Endogen, USA) 100 $\mu$ l씩을 각 well에 분주하고 plate를 seal하여 상온에서 30분간 배양한다. Plate를 wash buffer로 3회 세척한 후 TMB substrate solution ((End - ogen, USA)을 각 well당 100 $\mu$ l씩 분주하고 상온에서 6~7분간 배양한다. Stop solution(0.18M H2SO4)을 각 well당 100 $\mu$ l씩 가하여 30분 이내에 ELISA 판독기(E-max precision microplate reader, Molecular Devices, USA)로 파장 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고 standard curve 상에서 측정된 흡광도에 해당하는 IL-2의 농도를 읽었다.

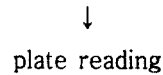
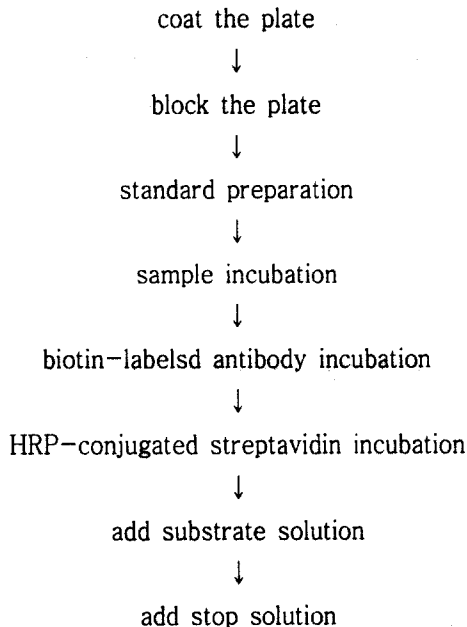


Fig. 1 The Measurement of Interleukin-2 productivity

### 12) 統計處理

統計處理는 SPSS (Statistical Package)를 利用하였으며 技術分析을 하고 먼저 ANOVA 方法에 의한 F 檢定을 하여 群間의 差異가 있는지를 確認하고 (p<0.05) 差異가 보이는 경우 事後檢定으로 Duncan 方法을 使用하여 有意水準 95% ( $\alpha=0.05$ )에서 群間比較하였다.

## III. 성적

### 1. 腫瘍의 무게에 미치는 影響

腫瘍의 무게를 測定한 結果 對照群은 3.57 $\pm$ 0.43g로 나타났으며 實驗群 I 과 II에서는 各各 1.10 $\pm$ 0.29g 및 0.53 $\pm$ 0.14g로 나타나 對照群에 비하여 有意한 腫瘍成長抑制效果(p<0.005)가 있었다(Table I).

Table I Effects of Houttuyniae Herbal Acupuncture on the Melanoma Weight of Mice

group	No. of animal	melanoma weight(g) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Control	6	3.57 $\pm$ 0.43	B
Sample I	6	1.10 $\pm$ 0.29	A
Sample II	6	0.53 $\pm$ 0.14	A
F-value		26.8***	

1) Mean  $\pm$  Standard Error

2) The different letters are significantly different at the  $\alpha=0.05$  level by Duncan test

\* : Statistically significant value by the analysis of variance procedure(\*\*: P<0.005, \*\*\*: P<0.001)

Normal : Normal group without inoculation

Control : Group with normal saline acupuncture after subcutaneous inoculation of B16BL6 cells

Sample I : Group with Houttuyniae herbal acupuncture solution manufactured by distilled water extraction method after subcutaneous inoculation of B16BL6 cells

Sample II : Group with Houttuyniae herbal acupuncture solution manufactured by alcohol extraction method after subcutaneous inoculation of B16BL6 cells

2. 體重變化에 미치는 影響

正常群의 體重變化는  $6.48 \pm 0.48g$ , 對照群은  $0.60 \pm 0.83g$ 로 나타나 正常群에 비해 對照群은 有意한 減少를 나타내었다. 實驗群 I의 體重變化는  $4.44 \pm 0.57g$ 로 나타나 對照群에 비하여 有意한 減少抑制效果 ( $p < 0.005$ )를 나타냈으나, 實驗群 II은  $2.22 \pm 0.32g$ 로 有意한 차이가 나타나지 않았다 (Table II).

Table II Effect of Houttuyniae Herbal Acupuncture on the Changes of Body Weight in Mice

Group	No. of animals	Changes in body weight(g) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	$6.48 \pm 0.48$	C
Control	6	$0.60 \pm 0.83$	A
Sample I	6	$4.44 \pm 0.57$	B
Sample II	6	$2.22 \pm 0.32$	A
F-value		19.57**	

3. 脾臟의 臟器指數에 미치는 影響

對照群의 脾臟指數는  $4.72 \pm 0.05\%$ 로 測定되어 正常群의  $9.01 \pm 0.48\%$ 에 비해 有意한 減少를 나타내었다. 實驗群 I과 II의 脾臟指數는 각각  $6.77 \pm 0.45\%$  및  $5.76 \pm 0.16\%$ 로 나타나 對照群에 비하여 有意한 減少抑制效果 ( $p < 0.005$ )가 나타났다 (Table III).

Table III Effects of Houttuyniae Herbal Acupuncture on Spleen Index

Group	No. of animals	Spleen index <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	$9.01 \pm 0.48$	C
Control	6	$4.72 \pm 0.05$	A
Sample I	6	$6.77 \pm 0.45$	B
Sample II	6	$5.76 \pm 0.16$	B
F-value		28.77**	

4. 末梢血液內 淋巴球數에 미치는 影響

正常群의 末梢血液內 淋巴球數는  $4.48 \pm 0.88 \times 10^6/ml$ 개로 測定되었고, 對照群은  $0.90 \pm 0.26 \times 10^6/ml$ 개로 測定되어 正常群에 비해 有意한 減少 ( $p < 0.005$ )를 나타내었다. 實驗群 I과 II에서의 淋巴球數는 各各  $1.47 \pm 0.13 \times 10^6/ml$ 개,  $0.96 \pm 0.10 \times 10^6/ml$ 개로 測定되어 對照群에 비해 有意한 減少抑制效果가 없었다. (Table IV).

Table IV Effects of Houttuyniae Herbal Acupuncture on the Number of Lymphocytes in Mice Peripheral Blood

Group	No. of animals	Blood lymphocyte count ( $\times 10^6/ml$ ) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	$4.48 \pm 0.88$	B
Control	6	$0.90 \pm 0.26$	A
Sample I	6	$1.47 \pm 0.13$	A
Sample II	6	$0.96 \pm 0.10$	A
F-value		13.37**	

5. 脾臟組織內 淋巴球數에 미치는 影響

正常群의 脾臟組織內 淋巴球數는  $14.95 \pm 2.41 \times 10^6/ml$ 개로 測定되었고, 對照群은  $6.45 \pm 0.92 \times 10^6/ml$ 개로 測定되어 正常群에 비해 有意한 減少 ( $p < 0.005$ )를 나타내었다. 實驗群 I의 淋巴球數는  $15.28 \pm 3.33 \times 10^6/ml$ 개로 측정되어 對照群에 비해 有意한 減少抑制 ( $p < 0.005$ )가 있었으나 實驗群 II에

서는  $8.70 \pm 0.71 \times 10^6 / \text{ml}$  개로測定되어 有意한 效果가 없었다(Table V).

Table V Effects of Houltuyniae Herbal Acupuncture on the Number of Lymphocytes in Mice Spleen Tissue

Group	No. of animals	Spleen lymphocyte count ( $\times 10^6 / \text{ml}$ ) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	14.95 $\pm$ 2.41	B
Control	6	6.45 $\pm$ 0.92	A
Sample I	6	15.28 $\pm$ 3.33	B
Sample II	6	8.70 $\pm$ 0.71	AB
F-value		4.34**	

### 6. 末梢血液內 CD4<sup>+</sup> T 細胞比率에 미치는 影響

正常群에서 末梢血液內 CD4<sup>+</sup> T 細胞比率은 24.00 $\pm$ 1.51%로 測定되었고, 對照群에서는 21.17 $\pm$ 1.11%로 正常群에 比하여 減少하였다. 實驗群 I, II에서 末梢血液內 CD4<sup>+</sup> T 細胞比率은 各各 28.50 $\pm$ 2.03% 및 33.00 $\pm$ 2.73%로 測定되어 對照群에 比하여 有意한 減少抑制 效果(p<0.005)가 나타났으나 實驗群 I, II간 有意한 차이는 나타나지 않았다 (Table VI).

Table VI Effects of Houltuyniae Herbal Acupuncture on the Percentage of CD4<sup>+</sup> T cells in Mice Peripheral Blood

Group	No. of animal	Blood CD4 <sup>+</sup> T cellcount (%) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	24.00 $\pm$ 1.51	AB
Control	6	21.17 $\pm$ 1.11	A
Sample I	6	28.50 $\pm$ 2.03	BC
Sample II	6	33.00 $\pm$ 2.73	C
F-value		7.15**	

### 7. 末梢血液內 CD8<sup>+</sup> T 細胞比率에 미치는 影響

末梢血液內 CD8<sup>+</sup> T細胞比率을 測定한 結果 正常群에서는 20.00 $\pm$ 1.46%, 對照群에서는 25.20 $\pm$ 2.12%, 實驗群 I에서는 17.67 $\pm$ 0.80%, 實驗群 II에서는 21.83 $\pm$ 2.32%로 나타나 實驗群 I에서만 對照群에 比해 有意性 있는 增加抑制效果(p<0.005)가 있었다(Table VII).

Table VII Effects of Houltuyniae Herbal Acupuncture on the Percentage of CD8<sup>+</sup> T Cells in Mice Peripheral Blood

Group	No. of animal	Blood CD8 <sup>+</sup> T cell count (%) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	20.00 $\pm$ 1.46	AB
Control	6	25.20 $\pm$ 2.12	B
Sample I	6	17.67 $\pm$ 0.80	A
Sample II	6	21.83 $\pm$ 2.32	AB
F-value		3.20**	

### 8. 末梢血液內 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 細胞比率에 미치는 影響

末梢血液內 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T細胞比率 測定한 結果 正常群은 1.22 $\pm$ 0.09%, 對照群은 0.87 $\pm$ 0.08%로 측정되어 對照群이 正常群보다 有意한 減少를 나타내었다. 實驗群 I 과 II의 末梢血液內 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T

Table VIII Effects of Houltuyniae Herbal Acupuncture on the Ratio of CD4<sup>+</sup> / CD8<sup>+</sup> T Cells in Mice Peripheral Blood

Group	No. of animal	Blood CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> T cell ratio (%) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	1.22 $\pm$ 0.09	B
Control	6	0.87 $\pm$ 0.08	A
Sample I	6	1.63 $\pm$ 0.13	C
Sample II	6	1.53 $\pm$ 0.06	C
F-value		13.2***	



細胞比率은 각각  $1.63 \pm 0.13\%$  및  $1.53 \pm 0.06\%$ 로 測定되어 對照群에 비하여 有意한 抑制減少( $p < 0.005$ )를 나타내었으나 實驗群間의 차이는 인정되지 않았다(Table VIII).

9. 脾臟組織內  $CD4^+$  T 細胞比率에 미치는 影響

脾臟組織內  $CD4^+$  T 細胞比率을 測定한 結果 對照群에서는  $24.92 \pm 0.67\%$ 로 나타나 正常群의  $30.67 \pm 1.09\%$ 보다 有意한 減少를 나타내었다. 實驗群 I 과 II에서는 각각  $25.80 \pm 1.68\%$  및  $28.83 \pm 2.01\%$ 로 나타나 對照群과 有意한 차이가 없었다(Table IX).

Table IX Effects of Houttuyniae Herbal Acupuncture on the Percentage of  $CD4^+$  T Cells in Mice Spleen Tissue

Group	No. of animals	Spleen $CD4^+$ T cell count (%) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	$30.67 \pm 1.09$	B
Control	6	$24.92 \pm 0.67$	A
Sample I	6	$25.80 \pm 1.68$	A
Sample II	6	$28.83 \pm 2.01$	AB
F-value		3.36**	

10. 脾臟組織內  $CD8^+$  T 細胞比率에 미치는 影響

脾臟組織에서  $CD8^+$  T細胞比率을 測定한 結果 正常群은  $19.33 \pm 1.12\%$ , 對照群은  $26.90 \pm 1.82\%$ 로 나타나 對照群이 正常群에 비해 有意한 增加를 나타내었다. 實驗群의 脾臟組織에서  $CD8^+$  T細胞比率은  $22.17 \pm 0.95\%$ 로 나타나 對照群에 비하여 有意한 增加抑制 效果가 있었으나 實驗群 II에서는  $23.50 \pm 1.31\%$ 로 나타나 有意성이 없었다(Table X).

Table X Effects of Houttuyniae Herbal Acupuncture on the Percentage of  $CD8^+$  T Cells in Mice Spleen Tissue

Group	No. of animals	Spleen $CD8^+$ T cell count (%) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	$19.33 \pm 1.12$	A
Control	6	$26.90 \pm 1.82$	C
Sample I	6	$22.17 \pm 0.95$	AB
Sample II	6	$23.50 \pm 1.31$	BC
F-value		5.50**	

11. 脾臟組織內  $CD4^+/CD8^+$  T 細胞比率에 미치는 影響

脾臟組織內  $CD4^+/CD8^+$  T細胞比率을 測定한 結果 正常群은  $1.60 \pm 0.18\%$ , 對照群은  $0.96 \pm 0.08\%$ 로 나타나 對照群이 正常群에 비해 有意한 減少를 나타내었다. 實驗群 I에서는  $1.17 \pm 0.18\%$ 로 對照群과 有意한 차이가 없었으나, 實驗群 II에서는  $1.25 \pm 0.32\%$ 로 有意한 減少抑制效果( $p < 0.005$ )가 있었다(Table XI).

Table XI Effects of Houttuyniae Herbal Acupuncture on the Ratio of  $CD4^+ / CD8^+$  T Cells in Mice Spleen Tissue

Group	No. of animals	Spleen $CD4^+/CD8^+$ T cell ratio (%) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	$1.60 \pm 0.18$	C
Control	6	$0.96 \pm 0.08$	A
Sample I	6	$1.17 \pm 0.18$	AB
Sample II	6	$1.25 \pm 0.32$	B
F-value		9.89**	

12. IL-2 生産能에 미치는 影響

IL-2 生産能은 對照群에서  $2.09 \pm 0.03 \text{pg/ml}$ 로 測定되어, 正常群의  $3.47 \pm 0.09 \text{pg/ml}$ 보다 有意한 減少를 나타내었다. 實驗群 I 과 II에서는 각각  $2.00 \pm 0.07 \text{pg/ml}$  및  $2.32 \pm 0.17 \text{pg/ml}$ 로 나타나 對照群에 비해 有意한 차이가 없었다(Table XII).

Table XII Effects of Houttuyniae Herbal Acupuncture on IL-2 Productivity in Mice

Group	No. of animals	IL-2 concentration (pg/ml) <sup>1)</sup>	Duncan Grouping <sup>2)</sup>
Normal	6	3.47±0.09	B
Control	6	2.09±0.03	A
Sample I	6	2.04±0.07	A
Sample II	6	2.32±0.17	A
F-value		42.9***	

#### IV. 고찰

最近 생활상의 변화로 疾病에서도 各種 成人病과 腫瘍疾患이 증가되고 있는 추세이다. 이러한 추세는 앞으로도 人口構造의 老齡化, 食生活習慣의 變化, 吸煙率의 增加 및 스트레스의 增加 등으로 더욱 심화될 것으로 전망된다.<sup>24)</sup>

腫瘍은 組織의 自律的인 過剩成長으로 臨床 및 病理形態的인 所見에 의하여 良性腫瘍과 惡性腫瘍으로 區分하며 一般的으로 腫瘍이라하면 惡性腫瘍인 癌을 뜻한다.<sup>29)</sup> 腫瘍의 發生은 여러가지 要因과 原因에 의해서 일어나는데 代表的인 要因으로는 전리방사선, 담배, 음주, 약물 및 식이요인이 있으며 이러한 要因을 바탕으로 發癌原에 刺戟된 細胞가 癌으로 發展하게 되는 것이다.<sup>29)</sup>

癌의 治療法으로는 手術療法, 放射線療法, 化學療法, 免疫療法 등이 알려져 있으나 이 가운데 어느 것도 癌의 完전한 治療 效果를 보지 못하고 있으며 그 중 免疫療法는 아직까지 보조적인 단계이지만 차세대에 주목받고 있는 치료법으로 계속 연구 발전 중이다. 일반적으로 生體의 免疫反應은 抗原刺戟에 의해 抗體가 만들어지는 免疫反應인 抗體媒介性反應 또는 體液性 免疫反應과 抗原에 감작된 T淋巴球나 T淋巴球가 만들어 낸 여러 단백질에 의해 免

疫反應인 細胞媒介性 免疫反應 또는 細胞性 免疫反應이 있다.<sup>24)</sup>

癌患者의 경우 免疫機能이 저하된 老人이나, 臟器移植 등으로 불가피하게 免疫機能이 低下되었을 때 發病率이 높아지는 것으로 보아 그 發生에는 免疫機能과 밀접한 관계가 있다고 한다.<sup>24)</sup>

癌과 免疫機能의 相關性은 免疫抑制劑의 투여나 기타의 原因에 의하여 免疫機能이 低下되었거나, 先,後天性 免疫缺乏證 患者의 경우에 癌 發生率이 높아지며, 腫瘍患者의 경우 自然殺害細胞能이 低下되었으며, 癌 特異抗源의 존재 및 宿主의 抵抗性を 나타내는 腫瘍 淋巴球의 존재 의미 등을 고려해 볼 때 癌의 발생과 治療過程이 免疫系統과 관련이 있다는 증거로 받아들일 수 있다.<sup>24)</sup>

韓醫學에서는 腫瘍에 대해 甲骨文에 “瘤”라 표현되었으며 黃帝內經에서도 伏梁, 癭, 疝, 腸澼, 積, 聚, 癰, 癰疽, 瘤, 石瘕, 息賁, 腸覃으로 표현되었으며 이후로 積聚, 癥瘕, 疝瘕, 癰疽, 石瘕, 石癰, 疝, 反胃 등의 範疇에 屬한다 하였고, 주로 精氣虛로 인한 抗病能力 低下에 따른 氣血阻滯, 血瘀, 痰凝, 蓄毒 등에 의하여 發生된다고 하였다.<sup>8,9)</sup>

腫瘍의 治法으로는 行氣, 解鬱, 破積, 活血祛瘀, 理氣化痰, 清熱解毒의 祛邪法과 益氣補血, 滋陰溫陽의 扶正法과 두가지를 併用하는 扶正祛邪法등을 活用하였다.<sup>9)</sup>

皮膚에 發生하는 惡性腫瘍인 黑色腫은 皮膚癌의 一種으로 全體 癌中에서 2.4~4%를 차지하고 있으며 老人層의 增加와 生活環境의 變化에 따라 有害物質이나 紫外線에 노출될 기회가 많아지면서 發生 頻도가 증가하고 있으며 內部 臟器의 惡性腫瘍과 마찬가지로 治療 時機를 놓치면 治療 後 局所的인 後遺症과 內部 臟器나 其他 部位에 轉移를 일으켜 生命을 잃게 한다.<sup>15,28,29,30,33)</sup>

靈樞 癰疽編<sup>7)</sup>에서는 猛疽, 妖疽, 腦疽, 米疽, 甘疽 등 各種 疽의 症狀과 治療法 및 豫後를 설명하

었는데 이들은 癌과 비슷한 점이 많고, 皮膚에 나타나는 腫瘍은 翻花瘡, 石疔, 黑疔, 靑疔 등에 해당된다고 볼 수 있다.<sup>8)</sup>

韓醫學의 治療法은 正氣의 虛實에 따른 扶正法, 祛邪法 및 扶正祛邪法을 사용하는데 이 方法은 免疫力을 增強시켜 癌細胞의 成長을 억제하는 腫瘍免疫療法과 유사하여 韓藥<sup>16,18,28)</sup>, 鍼灸<sup>8,20,34)</sup>, 電鍼<sup>8,20,34)</sup> 및 藥鍼療法<sup>15,26,30,32,36)</sup>의 抗癌效果에 대한 研究가 활발하게 進行되고 있다.

腫瘍에 대한 鍼灸學的인 研究로는 金<sup>20)</sup>은 鍼·灸 및 電鍼의 抗腫瘍效果를 免疫學的으로 연구발표하였고, 李<sup>34)</sup>는 穴位에 따른 鍼의 抗腫瘍效果를, 金<sup>26)</sup>은 人蔘水鍼의 發癌 豫防을 免疫學的으로 연구보고하였다.

藥鍼療法은 鍼刺戟과 藥物을 結合시킨 새로운 治療法으로, 經絡學說의 原理에 근거한 刺鍼效果와 藥物이 가지고 있는 特異的인 效能을 동시에 利用하여 生體 機能을 調整하고 疾病狀態를 개선시키는 것이다.<sup>3)</sup>

藥鍼製劑方法에는 여러 가지가 있다. 그 중에 본 實驗에서 사용한 方法으로는 水蒸氣冷却式과 에탄올抽出式으로 水蒸氣冷却式은 藥材를 끓여 여과한 여액을 浸漬, 煎煮, 濃縮한 후 다시 에탄올로 雜質을 沈澱除去하는 方法으로 製法方法이 比較적 간편하고 alkaloid염, glycoside류, 유기산염, amino acid, 당당류 등물과 ethanol에 쉽게 녹는 成分을 가진 藥材에 주로 사용하며, 蒸溜·에탄올抽出法은 어떠한 약재에 성질이 다른 各종 的 有效成分이 함유되어 있어 증류법으로 그 중 휘발성 成分을 뽑아내고 다시 에탄올抽出法으로 비휘발성 成分을 추출해야 할 때에 사용된다고 하였다.<sup>4)</sup>

藥鍼에 대한 免疫學的 效能의 研究<sup>35)</sup>와 毒性 및 安全性<sup>22)</sup>에 관한 研究는 免疫機能의 異常으로 因하여 發生되는 여러 疾患의 治療에 다양하게 응용할 수 있는 可能性을 제시하였다. 藥鍼의 適應症은 주로 鎮痛作用<sup>21)</sup>이며, 腰脚痛, 肩背痛, 關節痛 및 軟部組織의 捻挫傷, 纖維組織炎, 良性關節炎<sup>23)</sup>, 氣管支炎<sup>17)</sup>, 高血壓<sup>27)</sup>, 消化性潰瘍<sup>25)</sup>, 免疫機能增強<sup>28)</sup>, 解毒作用<sup>22)</sup>, 抗癌效果<sup>18,26,30,33)</sup> 等이다.

最近 癌의 免疫學的 治療方法으로 腫瘍浸潤 淋巴球를 利用한 入養免疫療法이 활발히 研究되고 있는데 이는 T 淋巴球의 癌에 연관된 기전을 밝히거나 임상치료에 직접 利用할 수 있음은 물론 腫瘍백신 및 遺傳子療法 등의 研究 등에도 밀접한 연관이 있어서 중요한 研究분야로 주목되고 있다. 癌에 대한 T 淋巴球의 反應은 惡性黑色腫, 腎臟細胞癌, 卵巢癌 등에서 확인되고 있다.<sup>31)</sup>

腫瘍浸潤 淋巴球는 腫瘍特異性 細胞毒性 T 淋巴球를 포함하고 있으며 그 特性이 광범위하게 研究되어 왔다. 이들 細胞를 실험실에서 배양하여 宿主 內로 투입하는 入養免疫療法의 治療效果는 매우 고 무적이어서 癌의 除去를 위한 癌特異性 細胞毒性 淋巴球의 역할의 중요성을 증명하고 있다. 특히 末期 惡性黑色腫 및 腎臟細胞癌 등에서 비교적 높은 치료효과가 보고되고 있다.<sup>31)</sup>

實驗室에서 활성화되고 배양된 T 細胞를 利用한 入養免疫療法은 과거 5~10년간 여러 癌의 治療에서 실험적으로 혹은 임상적으로 연구되어왔으며 실제로 惡性黑色腫 혹은 腎臟細胞癌 등 몇몇 癌腫에서 는 末期 患者의 경우에서 20~40%의 比較적 양호한 治療反應率을 보이고 있다. T 淋巴球는 細胞毒性 T 細胞(CD8<sup>+</sup>) 및 보조 T 細胞(CD4<sup>+</sup>)로 크게 나눌 수 있는데 이들의 상호 연관성 및 상승효과 등에 관한 研究는 이러한 형태의 免疫治療法의 발전 및 기전 研究에서 필수적인 요소라고 할 수 있다. 쥐에서의 T 보조 細胞는 싸이토카인 생성

에 따라 Th1 및 Th2로 구분되고 Th0細胞는 Th1 혹은 Th2 細胞로 분화될 수 있는 未成熟 細胞로 간주되고 있다. 인체에서도 Th1 및 Th2의 구분이 보고되어 왔으나 Th0가 未成熟 細胞인지 이미 分化된 細胞인지에 관해서는 아직 분명하지 않다. 이러한 T 輔助淋巴球의 구분 및 기능의 중요성은 후천성 면역결핍증에서 이 질병의 진행이 Th1세포에서 Th2세포로의 분포변화와 연관성이 있다는 연구 및 자가면역질환이나 일부 미생물 감염에서의 Th1/Th2 변화와의 연관성 등에서 주목되어왔다. 그러나 固形 腫瘍浸潤 T輔助淋巴球의 역할 및 기능에 관해서는 거의 연구된 바가 없다. 最近 腎臟細胞癌에 침윤된 淋巴球의 클론을 배양, 분석한 결과 CD4<sup>+</sup> 細胞의 80%가량이 다량의 IL-4를 생성하지만 IL-2 및 IFN-gamma 등은 거의 분비되지 않는 Th2로 이루어져 있었다는 사실은 惡性黑色腫에서의 CD4<sup>+</sup> 腫瘍浸潤淋巴球의 대부분이 IL-2 및 IFN-gamma를 분비하는 Th0 및 Th1 세포로 구성되어 있는 것과 대조를 보이고 있다. 즉 惡性黑色腫에서의 CD4<sup>+</sup> 腫瘍浸潤細胞의 대부분이 IL-2 및 IFN-gamma를 생성할 수 있다는 사실은 이 腫瘍이 腎臟細胞癌 등 다른 腫瘍과 비교하여 入養免疫療法에 더욱 높은 반응을 보이는 것과 긴밀한 연관성이 있다고 생각할 수 있다.<sup>31)</sup>

惡性黑色腫에서 CD8<sup>+</sup> 腫瘍浸潤淋巴球의 癌細胞殺害能에 관한 CD4<sup>+</sup> 腫瘍浸潤淋巴球의 免疫調節機能을 알아보기 위하여 transwell실험을 시행한다. 이 방법은 CD8<sup>+</sup> 및 CD4<sup>+</sup> 細胞들의 細胞間 접촉을 배제하도록 고안된 것으로서 수립된 CD4<sup>+</sup> 淋巴球를 싸이토카인의 생성 종류에 따라 Th0, Th1 및 Th2로 구분한 뒤 이들의 機能을 연구하는 것이다. 실험 결과는 Th0 및 Th1 세포는 CD8<sup>+</sup> 淋巴球의 癌細胞殺害能을 亢進시킨 반면 Th2細胞는 殺害能을 減少시켰으며 동시에 시행된 抗體遮斷實驗에 의하면 Th0 및 Th1細胞가 생성하는 IL-2는 CD8+

細胞의 殺害能 亢進에 긴밀한 관련이 있고, IL-4는 殺害能 減少에 부분적으로 연관성을 가지고 있음을 시사해준다.<sup>31)</sup>

魚腥草 藥鍼 刺戟의 抗腫瘍 效果를 알아보기 위해 CD4<sup>+</sup> T細胞, CD8<sup>+</sup> T細胞를 이용하였다. 最近 研究<sup>42)</sup>에 의하면 腫瘍과 관련된 免疫抑制는 CD4<sup>+</sup> T細胞의 機能의 低下와 CD8<sup>+</sup> T細胞의 機能의 유지에 의한다고 한다.

CD4<sup>+</sup> T細胞, CD8<sup>+</sup> T細胞는 T細胞의 分化이며, 그 分類 方法은 淋巴球와 기타 白血球의 細胞表面에는 分子量이 다른 수 많은 分子들이 있는데 이러한 세포집단을 식별할 수 있는 分子를 細胞表面 標識(marker)이라 하며 이러한 命名法은 CD(cluster of differentiation)이라 하고, T細胞를 表面標識者에 의해 OKT4 양성인 helper T細胞, OKT8 양성인 suppressor T細胞 및 OKT10 양성인 cytotoxic T細胞 등으로 나누는 것이다.<sup>1)</sup>

이 중 helper T細胞는 細胞表面에 CD4+ T分化抗原이 발현되며 각종의 lymphokine을 생성하고, cytotoxic T細胞는 細胞表面에 CD8+ T分化抗原이 발현되며 virus感染時에 활성화되어 細胞傷害活性을 나타내게 된다.<sup>1)</sup>

특히 CD4<sup>+</sup> T細胞는 抗原을 인식하면 免疫分泌物質을 分泌하여 T細胞의 생산근거인 클론(clone)을 자극하여 T細胞 分化를 활발하게 하고 B細胞를 자극하여 抗體를 많이 만들어 분비하게 하는 중요한 免疫機能을 발휘하며 CD8<sup>+</sup> T細胞는 CD4<sup>+</sup> T細胞의 도움을 받아 細胞表面에 표현된 抗原만을 인지하여 공격하므로 CD8<sup>+</sup> T細胞率의 增加를 통해 免疫機能의 上昇與否를 알 수 있다.<sup>31)</sup>

魚腥草<sup>2,4)</sup>는 三白草科(Saururaceae)에 속하는 多年生 草本인 약모밀(Houttuynia cordata T-hunb)의 帶根全草로 氣味는 辛微溫有小毒하며 多食令氣喘한다 하였고, 清熱解毒, 清利濕熱, 利尿通淋, 消癰腫하는 效能과 抗菌作用, 抗바이러스 作用, 利

尿作用, 鎮痛 및 止血 作用과 鎮咳作用, 抗腫瘍 效果 및 免疫機能 增強作用<sup>11,32)</sup>이 있어 肺炎, 肺膿瘍, 肺癌, 慢性氣管支炎, 化膿性關節炎, 皮膚科疾患, 慢性子宮炎, 尿道炎, 膀胱炎 等の 治療에 應用하고 있다.<sup>5)</sup>

姜 等<sup>10)</sup>은 22種의 韓藥物을 대상으로 試驗管内에서 自然殺害細胞活性에 미치는 影響을 실험한 결과 魚腥草抽出液이 自然殺害細胞 活性에 유의한 增強效果가 있음을 보고하였다. 自然殺害細胞는 사전 感作없이도 腫瘍細胞를 파괴할 수 있는 淋巴球의 一種으로 腫瘍免疫에 있어 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려지고 있으며 自然殺害細胞 活性和 癌誘發과의 相關關係가 有意한 것<sup>41)</sup>으로 보고된 바 있다.

自然殺害細胞의 生物學的 機能은 非特異的으로 tumor cell을 破壞하는 效果, microbial agents (virus infected targets, parasites, fungi or bacteria etc.)의 自然殺害效果, 轉移의 防禦, 骨折移植片의 拒否 등에 관여하고 있다. 그러나 自然殺害細胞의 抗腫瘍性 效果는 獲得免疫이 형성되기 전에 腫瘍發生病巢에 있어서의 1차적인 防禦의 성질을 갖는다고 할 수 있다.<sup>14)</sup>

林 等<sup>36)</sup>은 3-methylcholanthrene(MCA)와 p-rostaglandin-F2 $\alpha$  (PG)로 白鼠 背部에 유발시킨 腫瘍에 대한 魚腥草藥鍼의 腫瘍誘發抑制과 免疫機能增強 作用이 인정되고, 穴位에 따라 效果에 차이가 있다고 하였다.

本 實驗은 魚腥草藥鍼이 抗腫瘍免疫에 미치는 影響을 T細胞를 중심으로 하는 細胞性 免疫反應을 통해 알아보고자 BL16黑色腫을 생쥐에게 피하주사하여 피부암을 유발시키고 魚腥草藥鍼刺戟을 7일간 실시한 후, 腫瘍의 무게 變化, 體重變化, 脾臟의 臟器指數를 측정하고, 末梢血液과 脾臟에서 淋巴球數, CD4<sup>+</sup> T細胞比率, CD8<sup>+</sup> T細胞比率, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T細胞比率와 Interleukin-2 生産能을 測定하였다.

실제적인 腫瘍의 變化를 살펴보고, 體重變化는 腫瘍발생으로 인한 체중감소에 대한 억제능력을 살펴 기 위하여 측정하였고, 末梢血液과 脾臟에서 淋巴球數, CD4<sup>+</sup> T細胞比率, CD8<sup>+</sup> T細胞比率, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T細胞比率등은 직접적으로 腫瘍과 관련된 면역억제를 알아보기 위하여 측정하였다.

本 實驗에서 實驗群은 藥鍼 抽出 方法에 따라 實驗群 I, II으로 나누었다. 實驗群 I은 水蒸氣溜冷却式 藥鍼液을 腫瘍 細胞 注入 1週日後부터 1週日間 1日 1回씩 주입하였고, 實驗群 II은 에탄올抽出式 藥鍼液을 腫瘍 細胞 注入 1週日後부터 1週日間 1日 1回씩 주입하였다.

本 實驗에서 전체적으로 魚腥草藥鍼이 抗癌作用과 免疫抑制 減少效果가 있는 것으로 나타났다. 하지만 세부적으로 水蒸氣蒸溜冷却式 藥鍼液을 사용한 實驗群 I과 에탄올 抽出式藥鍼液을 사용한 實驗群 II에서 약간의 차이를 나타냈다. 脾臟組織에서의 淋巴球數(Table V), 血液에서의 CD4<sup>+</sup> T細胞比(Table VI), 血液에서의 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T細胞比(Table VIII), 脾臟指數(Table III)에서는 水蒸氣蒸溜冷却式 藥鍼液을 사용한 實驗群 I과 에탄올 抽出式藥鍼液을 사용한 實驗群 II 모두에서 유의한 減少抑制效果가 나타났고, 腫瘍무게에서는 水蒸氣蒸溜冷却式 藥鍼液을 사용한 實驗群 I과 에탄올 抽出式藥鍼液을 사용한 實驗群 II 모두에서 減少效果가 나타났다.(Table I) 또한 血液에서의 CD8<sup>+</sup> T細胞比(Table VII), 脾臟組織에서의 CD8<sup>+</sup> T細胞比(Table VIII), 實驗群 무게변화(Table II)에서는 水蒸氣蒸溜冷却式 藥鍼液을 사용한 實驗群 I에서만 減少抑制效果가 나타났고, 脾臟組織에서의 CD4<sup>+</sup> T細胞比(Table IX), 脾臟組織에서의 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T細胞比(Table XI)에서는 에탄올 抽出式藥鍼液을 사용한 實驗群 II에서만 減少하였다.

이런 結果로 볼 때 魚腥草藥鍼의 抗癌作用과 免疫抑制 減少效果가 抽出方法에 따라 일정한 變化가

있다는 것을 알 수 있었다. 앞으로 이에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## V. 결론

魚腥草藥鍼이 抗腫瘍效果 및 免疫反應에 미치는 影響을 알아보고자 수증기 증류냉각법으로 추출한 魚腥草藥群(實驗群 I)과 에탄올 추출법으로 추출한 魚腥草藥鍼群(實驗群 II)에 BL16黑色腫을 誘發시킨 생쥐에게 각각 魚腥草藥鍼刺戟을 7일간 실시한 후 腫瘍의 무게 變化, 體重變化, 脾臟의 臟器指數를 測定하고, 末梢血液과 脾臟에서 淋巴球數,  $CD4^+$  T細胞比率,  $CD8^+$  T細胞比率,  $CD4^+/CD8^+$  T細胞比率와 Interleukin-2 生産能을 測定한 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 腫瘍의 무게는 實驗群 I 과 II 모두에서 對照群에 비하여 有意한 減少效果가 나타났다.
2. 體重變化는 實驗群 I 에서만 對照群에 비해 有意한 減少抑制 效果가 나타났다.
3. 脾臟指數는 實驗群 I 과 II 모두에서 對照群에 비하여 有意한 減少抑制 效果가 나타났다.
4. 末梢血液內 淋巴球數는 實驗群 I 과 II 모두에서 對照群에 비하여 有意한 차이가 없었다.
5. 脾臟組織內 淋巴球數는 實驗群 I 에서만 對照群에 비해 有意한 減少抑制 效果가 나타났다.
6. 末梢血液內  $CD4^+$  T 細胞比率는 實驗群 I 과 II 모두에서 對照群에 비하여 有意한 減少抑制 效果가 나타났다.

7. 末梢血液內  $CD8^+$  T細胞比率는 實驗群 I 에서만 對照群에 비해 有意한 增加抑制 效果가 나타났다.

8. 末梢血液內  $CD4^+/CD8^+$  T細胞比率는 實驗群 I 과 II 모두에서 對照群에 비하여 有意한 減少抑制 效果가 나타났다.

9. 脾臟組織內  $CD4^+$  T細胞比率는 實驗群 I 과 II 모두에서 對照群에 비하여 有意한 차이가 없었다.

10. 脾臟組織內  $CD8^+$  T細胞比率는 實驗群 I 에서만 對照群에 비해 有意한 增加抑制 效果가 나타났다.

11. 脾臟組織內  $CD4^+/CD8^+$  T細胞比率는 實驗群 II 에서만 對照群에 비해 有意한 減少抑制 效果가 나타났다.

12. IL-2 生産能은 實驗群 I 과 II 모두에서 對照群에 비하여 有意한 차이가 없었다.

## VI. 참고문헌

1. 오찬호: 신면역학 입문, 서울, 지구문화사, pp. 16~24, 46~65, 1997
2. 江蘇新醫學院: 中藥大辭典, 香港, 上海科學技術出版社, pp.1439~1441, 1978
3. 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學教室: 鍼灸學, 서울, 集文堂, pp.1457~1468, 1993
4. 泗聯中心衛生院: 中草藥製劑方法, 香港, 商務印書館, pp.120~184, 1978
5. 謝惠民: 常用藥物知識, 北京, 科學出版社, pp. 129~130, 1980

6. 新文豐出版公司編: 新編中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, 2卷, pp1920~1923, 1971
7. 洪元植: 黃帝內經靈樞, 서울, 高文社, pp.3 4 5~346, 1985
8. 郁仁存: 中醫腫瘤學 上冊, 北京, 北京科學出版社, pp.1~11, 65~74, 82~90, 1983
9. 錢伯文: 腫瘤的辨證施治, 上海科學技術出版社, pp.1~10, 48~63, 1980
10. 姜允皓: 數種의 韓藥物이 白鼠의 自然殺害細胞活性에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 9:217~240, 1987
11. 고영권, 류봉하, 박동원, 류기원: 十全大補湯이 CD4+ 및 CD8+ T세포수에 미치는 영향, 대한한방중앙학회지, 4(1): 111~129, 1998
12. 吉村永星: 魚腥草 및 桑菊飲이 免疫機能에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 16(1):295, 1995
13. 공현식, 류봉하, 박동원, 유기원: 한국한의학의 중앙연구에 대한 현황, 대한중앙학회지, 1(1): 55~81, 1995
14. 곽주희: 영지를 투여한 마우스 복강암세포 (Sarcoma 180)에 대한 NK세포의 활성화, Korean J. Immunol. 16:115~126, 1994
15. 권기록: 蜂毒藥鍼刺戟이 3-MCA 誘發 上皮腫에 대한 抗癌 및 免疫反應에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 11(1):157~172, 1997
16. 金秉雲: 10種의 韓藥物이 癌細胞 感受性 및 自然殺害細胞活性에 미치는 影響, 慶熙醫學, 2(4):503~524, 1986
17. 金洋植: 防風水鍼이 흰쥐의 氣管上皮細胞에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 7(1):335~344, 1984
18. 金楊中, 金綱山: 奔豚丸合冬蟲夏草 抽出液이 癌細胞柱 및 LI210 細胞가 移植된 마우스의 免疫系에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 16(3): 405~421, 1999
19. 김영권, 류기원, 류봉하, 박동원: 六味地黃湯이 생리활성지표와 임파구세포수에 미치는 영향, 대한한방중앙학회지, 4(1): 111~130, 1998
20. 金泳敦: 鍼·灸 및 電鍼刺戟이 3-methylcholanthrene에 의한 癌腫誘發抑制 및 免疫에 미치는 影響, 慶熙大博士學位論文, 1988
21. 金榮振: 鹿茸水鍼이 鎮痛效果에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 4(1):63~74, 1987
22. 金在圭: Ethanol中毒에 대한 鍼, 灸 및 人蔘水鍼이 解毒效果에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 9(1):1~28, 1986
23. 金正坤: 鍼灸 및 秦朮水鍼이 흰쥐의 Adjuvant 關節炎에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 6(1):51~62, 1989
24. 김진복: 암면역학과 면역요법, 대한면역학회지, 8(1):73~83, 1986
25. 金昌煥: 木香水鍼이 indometacin으로 유발된 白鼠胃潰瘍에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 10(1):84~92, 1989
26. 金泰潤: 人蔘水鍼 前處置가 發癌豫防에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 9(2): 33~44, 1988
27. 盧昇奎: 防風水鍼이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 8:57~170, 1985
28. 柳慧定, 蔡炳允: 陽和湯의 B16흑색腫 암모델에 대한 抗腫瘍效果와 細胞性免疫反應에 미치는 影響, 23(1):89~120, 2000
29. 박찬열: 발암원인에 대한 고찰, 大韓鍼灸學會誌, 16(1):147~160, 1999
30. 박찬열: 藥鍼用 蜂毒液이 黑色腫細胞에 미치는 抗癌效果에 대한 分子生物學的 研究, 大

- 韓鍼灸學會誌, 17(2)169~186, 2000
31. 이경영: 인체 악성흑색종에서 종양침윤 CD 4<sup>+</sup> T 보조임파구의 분류 및 암독성 淋巴球에 관한 면역조절기능, 서울, 암연구의 최신지견, pp.161~174, 1995
  32. 이선희, 이병렬: 抗癌 및 免疫효과에 覆盆子藥鍼이 미치는 영향, 大韓鍼灸學會誌, 17(1):189~219, 2000
  33. 이종률, 채병윤: 3-MCA 誘發上皮腫에 대한 海藻玉壺湯과 昆布의 抗腫瘍效果와 免疫反應에 미치는 영향, 東醫學會誌, 2(1):1~28, 1998
  34. 李鍾賢: 鍼刺戟이 3-methylcholanthrene으로 誘發된 實驗動物의 腫瘍發生抑制에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 6(1):21~40, 1988
  35. 李鍾屹: 人蔘, 白朮藥鍼이 免疫調節作用에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 14(1):449~463, 1997
  36. 林사미나: 魚腥草水鍼의 抗腫瘍效果에 관한 研究, 慶熙韓醫大論文集, 12:467~483, 1989
  37. 任宰訓: 數種의 韓藥物이 癌細胞 感受性에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 9:241~266, 1986
  38. 주태청, 최용태: 썩뜸자극이 寒冷스트레스로 誘發된 免疫 및 甲狀腺 機能低下에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 15(2):157~171, 1998
  39. 한성규, 최승훈, 안규석: 補中益氣湯, 手拈散 및 補中益氣湯合手拈散의 抗癌과 免疫調節作用에 관한 실험적 연구, 慶熙韓醫大論文集, 18(1):15~29, 1995
  40. Ershler WB, Gamelli RL, Moore AL, Hacker MP, Blow AJ: Experimental tumors and aging: local factors that may account for the observed age advantage in the B16 murine melanoma model Exp Gerontol, 19(6):367~76, 1984
  41. Herberman RB, Holden, HT: Natural killer cells as antitumor effector cells, J. Natl. Cancer Inst., 62:441, 1978
  42. Shimizu M, Iwaguchi T: Effects of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in tumor-bearing mice on antibody production. Cancer Immunol Immunother, 38:272~276, 1994