

H-藥鍼의 急性·亞急性 毒性實驗 및 抗癌效果에 關한 實驗的 研究

김태희* · 권기록* · 이선구**

* 상지대학교 한의과대학 침구학교실 ** 상지대학교 한의과대학 병리학교실

The Study on Acute · Subacute Toxicity and Anti-cancer Effect of H Herbal-acupuncture.

Tae-Hui, Kim* · Ki-Rok, Kwon* · Seon-Goo, Lee**

* Dept. of Acupuncture & Moxibustion, Oriental Medical college Sangji University

**Department of Pathology, Oriental Medical college Sangji University

Objectives : The purpose of this study is to investigate Acute and Subacute Toxicity, and Anti-cancer Effect of H Herbal -acupuncture on mice and rats.

Methods : Balb/c mice were injected intraperitoneally with H Herbal-acupuncture for LD₅₀ and acute toxicity test. Sprague -Dawley rats were experimented in the same way for subacute toxicity test. H Herbal-acupuncture was injected into abdomen of mice having S-180 cancer cell line.

Result :

1. During the test, LD₅₀ could not be counted since there was no expired subjects.
2. In an acute toxicity test, the loss of motility and reflex action was observed, but weight increased in the treatment group, compared with those in the normal group ($p<0.05$).
3. In an acute toxicity test of serum biochemical values of mice, glucose increased in the treatment group II while total cholesterol was increased in the all treatment groups ($P<0.05$).
4. In a subacute toxicity test, a little loss of motility and reflex action was observed in the treatment group. Weight of mice in the treatment group decreased on the 28th day.
5. In a subacute toxicity test, liver weight was decreased but lung weight of mice increased in the all treatment groups ($P<0.05$).
6. As a result of measuring Complete Blood Count test (CBC) of rat, HCT was decreased in treatments even though it was not significant, compared with the normal group ($P<0.05$).
7. In a serum biochemical value test of subacute toxicity, total protein and albumin decreased in the all treatment groups. Creatinine, glucose, GOT increased in the treatment group I compared with the control group. Alkaline phos -phatase decreased in treatment II group, compared with the control group ($P<0.05$).
8. Median survival time that was measured in the rats treated with sarcoma-180 cancer cell Median decreased in the treatment group, compared with the control group ($P<0.05$).
9. Natural killer cell activity showed significant reduction at 100:1 and 10:1 E/T ratio while it increased at 50:1 E/T ratio. It is inferred that there was an error in the experiment ($P<0.05$).
10. In an interleukin-2 productivity test, even though it decreased in lung cancer, and increased in abdomen cancer, but it was only a small difference ($P<0.005$).
11. After injecting B16F10 cell into a capillary vessel of C57BL/6 mice and generating metastasized lung cancer, the lung was examined with the naked eye. It was not possible to see metastasized cancer in the all groups on the seventh day but the cancer was viewed on the fourteenth day. The number and volume of metastasized cancer in the treatment group enlarged in the treatment group, compared with the control group.

Conclusion : According to the results, H herbal-acupuncture took no effects in cancer.

Key word : H herbal-acupuncture, LD₅₀, acute toxicity, subacute toxicity, Natural killer cell activity, In interleukin-2 productivity.

I. 緒 論

최근 생활상의 변화로 질병에서도 각종 성인병과 중앙질환이 증가되고 있는 추세이다. 이러한 추세는 앞으로 인구구조의 노령화, 식생활습관의 변화, 흡연율의 증가 및 스트레스 등으로 더욱 심화될 것으로 전망된다¹⁾.

그 중 암의 발생 빈도는 지역, 인종, 생활양식에 따라 크게 다르나 일반적으로 인구 10만 명당 연간 300-400명 정도 발생한다. 그러나 현대의학의 발전에도 불구하고, 악성종양의 발생빈도는 날로 증가추세를 보여 이제 사망원인 중 순환기질환 다음으로 2위를 차지하고 있다²⁾.

藥鍼療法은 질병의 치료에 유관한 穴位나 壓通點 등에 氣味論을 따른 정제된 한약제재를 주입하여 刺針과 藥物의 효과를 동시에 구현한 新鍼療法으로³⁾, 최근에 들어서 藥鍼液을 이용한 宧癌效果和 免疫에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다^{4,5,6,7,8)}.

이에 저자는 실제 유럽에서 암환자를 치료하고 있으며, 항암효과가 우수하다고 주장하는 한동규씨의 항암 약침¹⁰⁾(이하 H 약침)을 구한 후 안전성을 실험적으로 규명하고자 식품의약품안전본부 고시(1998. 12.3 제정)의 '의약품 독성시험기준' 제 98-116호¹¹⁾에 준하여 급성 및 아급성 독성실험을 통해 독성을 평가하였고, 항암작용과 면역능력이 있는지 여부를 알아보고자 Sarcoma-180 복강암과 B16F10 폐암을 유발한 후, 생존율, NK cell 활성도 및 Interleukin-2 양을 측정하여 면역작용에 미치는 영향을 실험한 결과 유의한 결론을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗方法

1. 동물 및 재료

1) 동물

급성 독성실험과 항암능 측정을 위하여 체중 25 5g 내외의 ICR, Balb/c계 웅성 mouse를 사용하였고, 아급성 독성실험을 위하여 체중 220 30g 내외의 Sprague-Dawley계 웅성 rat를 사용하였다. 모든 동물은 대한실험동물센터에서 구입하여 2주간 고형사료와 물을 충분

히 주며 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 급성, 아급성 독성 및 항암능 실험에서 모든 실험군은 한 군에 각 10마리씩으로 시행하였다.

2) 약침

실험에 사용한 약침은 현재 임상에서 사용되고 있는 H 약침을 사용하였고, 독성을 완화하기 위한 base oil은 실험적으로 독성이 거의 없다고 보고된 호도유를⁴⁾ 약침조제지침에 준하여 조제한 후 적정 비율로 배합하여 사용하였다.

2. 방법

1) 약침의 시술

급성 독성실험의 경우는 H 약침을 호도약침액과 4:100, 1:100, 1:200, 1:1000, 1:2000으로 각각 희석한 후, 주사기에 0.1ml, 0.2ml로 준비하여 Balb/c mouse의 복강에 1회 주입하였다.

아급성 독성 실험의 경우는 Sprague-Dawley rat에 1:1000으로 희석한 약침액을 동일한 방법으로 매주 2회씩 4주 동안 0.1ml, 0.2ml씩 복강 주입하였고, 대조군의 경우 동량의 생리식염수를 사용하였다.

항암능 측정 실험의 경우는 암세포 주입 2일 후부터 매주 2회씩 1: 2500으로 호도약침과 희석한 후, 0.1ml씩 주입하였고, 대조군의 경우 동량의 생리식염수를 주입하였다.

2) 암세포의 배양

(1) 배지구성

① 기본배지의 준비

RPMI 1640(Gibco, U.S.A)에 sodium bicarbonate(Shinyo-pure Chemicals Co., LTD., Japan) 2g과 fungizone(Gibco, U.S.A) 4ml, penicillin G(100,000 units/ml) 1ml, streptomycin(100mg/ml, Sigma, U.S.A) 1ml을 증류수에 녹인 후 PH를 7.3으로 조정된 뒤, 1000ml로 맞추고, 0.22 μ m disposable sterile bottle top filter(Corning, U.S.A)로 여과하여 기본배지로 사용하였다.

② 혼합배지의 준비

FBS(fetal bovine serum, Gibco, U.S.A)를 56 에서 30분

간 inactivation시킨 후 RPMI 1640 기본배지에 10%의 농도가 되도록 조정하여 사용하였으며(이하 혼합배지라 칭함), 세포배양 전반에 사용되었다.

(2) 암세포의 배양

실험에 사용된 암세포는 B16F10(KCLB No, 80008)과 Sarcoma-180 (KCLB No, 40066)세포로, 모두 한국 세포주 은행(KCLB, Korean Cell Line Bank)에서 동결상태로 분양 받아 세포 부유법에 의하여 녹인 후 혼합배지에 부유시켜 5% CO₂ 배양기(존샘, 한국)안에서 배양시키면서 세포수가 지수증식기에 접어들었을 때 수거하여 실험에 사용하였다.

(3) 암 유발

ICR을 이용한 경우는 지수증식기의 sarcoma-180 세포를 수거하여 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.2)로 2회 원심세척한 후 2.5×10⁶cells/ml로 조정하여 생쥐의 복강에 0.2ml씩 주입하여 암을 유발시켜 생존율, IL-2 양을 측정하였다.

C57BL/6를 이용한 경우는 지수증식기의 B16F10 세포를 수거하여 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.2)로 2회 원심세척한 후 1.5×10⁶cells/ml로 조정하여 생쥐의 마정맥에 0.2ml씩 주입하여 암을 유발시켜, NL-세포 활성화, IL-2 양을 측정하였다.

3. 측정항목

1) 급성독성실험

(1) LD₅₀ 측정

약침을 희석된 농도별로 Balb/c mouse에 0.1ml, 0.2ml씩 주입한 후, 7일 동안 관찰하면서 사망하는 개체수를 측정하였다.

(2) 임상관찰 및 체중측정

희석비율에 따른 약침을 0.1ml, 0.2ml씩 Balb/c mouse의 복강에 주입한 실험군과, 생리식염수 0.2ml를 주입한 대조군으로 나누어 실험하였고, 약침주입 후부터 실험 종료일까지 1일 1회 mouse의 호흡, 행동, 자세, 반응성, 피모 및 안구 등의 상태를 관찰하였다. 체중은 실험 첫째 날과 종료일에 저울을 이용하여 측정하였다.

(3) 채혈 및 생화학 혈청검사

실험 종료일에 ether로 마취한 뒤, 심장해서 1ml의 혈액을 채취하였다. 채혈 직후 vacutainer tube(vacutainer, BECTON DICKINSON, U.S.A)에 넣었고, 원심분리기를 이용하여 3000rpm으로 5분간 혈청을 원심분리하여 실험에 사용하였다.

측정항목은 Biochemical Analyser(TBA-20R, Toshiba, Japan)으로 Total Protein, Albumin, BUN, Creatinine, Uric acid, Glucose, Triglyceride, Total cholesterol, GOT, GPT, Alkaline phosphatase 등이다.

2) 아급성 독성실험

(1) 임상관찰 및 체중측정

약침을 0.1ml, 0.2ml씩 Sprague-Dawley rat에 주입한 실험군과 생리식염수 0.2ml를 주입한 대조군으로 나누어 실험하였고, 실험개시일부터 종료시까지 1일 1회 1시간씩 행동, 자세, 반응성, 호흡, 피모 및 안구 등의 임상관찰을 시행하였다. 체중은 1주일에 1회씩 저울을 이용하여 측정하였다.

(2) 장기의 무게 측정

아급성 독성실험 종료일에 체중을 측정하고, 채혈한 뒤 간장, 심장, 비장, 폐장, 신장을 적출하여 저울(EB-200HU, SHIMADZU, Japan)을 이용하여 무게를 측정하였다.

(3) 채혈

실험 종료일에 ether로 마취한 뒤, 복대정맥을 통하여 5cc의 혈액을 채취하였다. 채혈 직후 1cc는 EDTA bottle(녹십자의료공업, 한국)에 넣고, 나머지는 vacutainer tube(vacutainer, BECTON DICKINSON, U.S.A)에 넣었고, tube에 넣은 혈액은 원심분리기를 이용하여 3000 rpm으로 5분간 혈청을 원심분리하여 실험에 사용하였다.

(4) Complete blood count

EDTA bottle에 보존한 혈액을 이용하여 자동혈구계수기(sysmex kx-21, Japan)을 이용하여 WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT를 측정하였다.

(5) 생화학 혈청검사

Vacutainer tube에 보존한 혈청을 이용하여 Biochemical Analyser (TBA-20R, Toshiba, Japan)로 Total Protein, Albumin, BUN, Creatinine, Uric acid, Glucose, Triglyceride, Total cholesterol, GOT, GPT, Alkaline phosphatase, A/G ratio, BUN/Cr ratio 등을 측정하였다.

3) 항암실험

(1) 생존율 측정

지수증식기의 sarcoma-180 세포를 ICR의 복강에 주입한 후, 30일동안 복강암의 유발 유무와 생존여부를 관찰하였다. 관찰 30일까지 복강암이 유발되지 않은 경우는 생존율 계산에서 제외하였다.

Geran¹²⁾ 등이 기술한 median survival time을 이용하여 생존증가율(increase of life span)을 산출하였다.

$$\text{Median Survival Time} = \frac{X+Y}{2}$$

$$\text{Increase of Life Span} = \frac{T-C}{C} \times 100$$

X : 생존수가 전체동물의 1/2이 되는 최초의 시간(일)

Y : 생존수가 전체동물의 1/2에서 1을 뺀 최초의 시간(일)

T : 실험군의 median survival time(일)

C : 대조군의 median survival time(일)

(2) 비장세포의 준비

생쥐를 경추탈골로 처사시킨 후 복부를 알콜로 완전히 도포한 후 무균적으로 비장을 적출한 뒤, 비장 주위의 조직들을 조심스럽게 제거하여 4°C 기본배지로 2회 세척한 다음 cell dissociation sieve-tissue grinder kit(Sigma, U.S.A)로써 잘게 으갠 후 조직파편을 제거하고 기본배지로 3회 세척하였다. 그 후 멸균된 증류수로써 hypotonic shock을 일으켜 적혈구를 완전히 용혈시킨 뒤 10 HBSS (Gibco, U.S.A)로 2회 세척하고 기본배지로 한번 더 세척한 다음 혼합배지에 비장세포를 재부유하였다.

(3) NK cell의 활성도 측정

① 표적세포의 준비

NK 세포의 살해능측정시의 표적세포는 한국세포주은행에서 분양받은 mouse의 YAC-1임파종 세포(KCLB 40160)를 사용하였다. 분양받은 후 본 실험실에서 FBS가 10% 첨가된 혼합배지로 계대배양하여 사용하였다.

② 작동세포의 준비

각 군에서 생쥐를 처사시켜 실험방법에 의해 준비한 비장세포를 작동세포로 사용하였다.

③ 세포 독성실험

세포독성실험은 Promega사의 51Cr assay를 대체하는 것으로 알려져 있는 cytotox96TM non-radioactive cytotoxicity assay KIT를 이용하여 실시하였다. 즉, 세포의 용해시에 방출되는 lactate dehydrogenase(이하 LDH라 칭함)가 효소반응의 결과로 나타나는 붉은 색의 결정을 ELISA 판독기(Emax, Molecular Devices, U.S.A)를 이용하여 가시광선영역의 파장(490nm)에서 흡광도를 측정함으로써 용해된 세포의 수를 추정하는 것이다.

오차를 보정하기 위하여 5종류의 대조 well을 두었다. 표적세포의 LDH 자연방출량을 나타내는 대조 well 1은 최적수의 표적세포 100μl와 배지 100μl로 구성하였고, 표적세포의 LDH 최대방출량을 나타내는 대조 well 2는 최적수의 표적세포 100μl와 배지 100μl로 구성하였고, 작동세포의 LDH 자연방출량을 나타내는 대조 well 3은 최적수의 작동세포 100μl와 배지 100μl로 구성하였고, 부피를 보정하기 위한 대조 well 4는 용해용액을 첨가하여 발생하는 부피의 변화에 의한 오차를 보정하기 위한 것으로 배지 200μl와 용해용액(10×) 20μl로 구성하였으며, 배지의 background로서 배지 내의 혈청이나 phenol red에 기인한 LDH의 활동능을 보정하기 위한 대조 well 5는 배지 200μl로 구성하였다.

C57BL/6를 사용한 경우는 YAC-1세포를 표적세포로 이용하여 FBS가 첨가된 혼합배지에 1×10⁶cells/ml의 농도로 재부유하고, 96 well microtitration plate에 well당 100μl씩 분주한 후, 작동세포와 표적세포의 비가 100:1, 50:1, 10:1이 되도록, FBS가 10% 첨가된 혼합배지에 각각 1×10⁶cells/ml, 5×10⁶cells/ml, 1×10⁶cells/ml의 농도로 조정된 비장세포를 well에 100μl를 분주하여 최종부피가 200μl/well이 되도록 한후 37°C CO₂ 배양기에서 4시간 배양하였다.

배양 종료 45분 전에 대조 well 2에 100 μ 당 10 μ 의 용해용액(10 \times)을 첨가하고 배양 종료시 250 \times g로 4분간 원심분리한 후 새로운 96 well plate에 상층액을 50 μ 옮긴 후, assay buffer 12ml을 substrate mix에 넣어 재조합 기질을 만든 후 각 well에 50 μ 씩 넣고 상온에서 30분간 배양하였다. 배양 후 50 μ 의 정지용액을 각 well에 넣은 후 주사기로 거품을 제거하고, 1시간 이내에 490nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 실험값, 표적세포 LDH 자연방출값, 표적세포 LDH 최대방출량, 작동세포 LDH 자연방출량에서 배지의 background값을 제하였고, 표적세포 LDH 최대방출량에서 부피보정값을 제하였다.

즉, 다음의 공식에 의하여 세포독성능을 측정하였다

$$\% \text{ 세포독성능} = \frac{(A-B)-C}{D-C} \times 100$$

- A: Experimental - culture medium background.
- B: Effect cell spontaneous LDH release - culture medium background.
- C: Target cell spontaneous LDH release - culture medium background.
- D: Target cell maximum LDH release - volume correction control.

(4) Interleukin-2 생산량 측정

Sarcoma-180 세포를 ICR계 생쥐에 주입하고 14일째에 생쥐를 치사하여 비장을 적출하였다. 비장세포를 FBS가 5% 첨가된 혼합배지에 5 $\times 10^6$ cells/ml의 농도로 (C57BL/6계 생쥐의 경우, 1 $\times 10^6$ cells/ml이 되도록 조정) 재부유한 후, 여기에 concanavalin-A(Sigma, U.S.A)를 100 μ g/ml의 농도로 가하고, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간동안 배양한 후 상층액을 수거하여 interleukin-2(이하 IL-2라 칭함)의 생산량을 측정하였다.

생쥐 IL-2의 생산량 측정은 Mouse IL-2 Quantikine M ELISA Kit(R&D system, U.S.A)를 이용하였다. Mouse IL-2 Quantikine M ELISA Kit는 고힘상 면역효소 측정법을 이용한 mouse Interleukin-2 측정용 kit로서 450nm 파장에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 검체내의 IL-2량을 산정할 수 있는 방법이다.

96well plate의 각 well에 50 μ 의 Assay Diluent solution을 분주하고 준비된 standard, control, 실험군의 비장세포 상층액 50 μ 첨가한 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 well을 미리 준비된 Wash buffer로 5회 세척한 후 물기를 깨끗이 제거하고 100 μ 의 Conjugate solution을 각 well에 분주하였다. 그 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난후 Wash buffer로 5회 세척하여 물기를 제거한 후, 100 μ 의 Substrate Solution을 각 well에 분주하여 빛이 차단된 장소에서 실온에서 30분간 배양하였다. 그 후 100 μ 의 Stop Solution을 각 well에 분주한 후 ELISA 판독기(Emax, Molecular device, U.S.A)로 450nm 파장에서 흡광도를 읽었다. 이 때 흡광도의 교정을 위하여 540nm에서 한 번 더 읽었다.

4. 통계처리

실험에 사용한 통계프로그램은 SPSS(Release 10.0.7)를 이용하였으며, student's T-test를 시행하여 각각의 경우 P-value가 0.05 미만인 경우 유의성이 있는 것으로 처리하였다.

III. 結 果

1. 급성독성

1) LD₅₀ 측정

Balb/c mouse를 이용한 LD₅₀의 측정에서 대조군에서는 사망한 개체가 발견되지 않아 LD₅₀은 산출할 수 없었다. H 약침을 호도약침과 4:100, 1:100, 1:200, 1:1000, 1:2000으로 희석한 후, 주사기에 0.1ml, 0.2ml로 준비하여 시술한 결과 4:100, 1:100, 1:200 시술군에서는 모든 개체가 24시간 이내에 사망하였고, 1:1000 0.1ml 시술군에서는 10마리 중 2마리가 생존하였으며, 1:2000에서는 사망하는 개체가 발견되지 않았다.

따라서 H 약침의 LD₅₀은 4 $\times 10^{-3}$ ml/kg \sim 2 $\times 10^{-3}$ ml/kg으로 추정할 수 있었으며, 이는 기존의 약침에 비해 매우 독성이 강함을 알 수 있었다.

2. 임상관찰

Balb/c mouse를 이용한 급성독성실험에서 약침을 2×10^{-3} ml/kg으로 복강내에 주입한 후 7일간 임상관찰을

한 결과, 약침 시술 후 대부분의 mouse들은 주입 즉시 현저한 운동성의 저하와 외부에 대한 반사작용도 떨어지며 움직이지 않고 있다가 사망하는 경우가 많았다 (Table 1).

Table 1. Clinical Findings of ICR Mice Treated with H Herbal-acupuncture 0.1cc in Acute Toxicity Test (Dose of H herbal-acupuncture: 2×10^{-3} ml/kg).

Clinical observation	Hours after treatment							
	1	12	24	48	72	96	120	168
Tachypnea	0*	0	0	0	0	0	0	0
Motor activities	10	10	10	10	10	10	10	10
Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflex	10	10	10	10	10	10	10	10
Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0
Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0
Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0
Analgesia	10	10	10	10	10	10	10	10
Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0
Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0
skin	0	0	0	0	0	0	0	0
others	0	0	0	0	0	0	0	0

※ Number of mouse

3. 체중 변화

H 약침을 0.1ml, 0.2ml를 주입한 각 군의 체중 변화는 Table 2와 같다.

실험 시작 1일째에는 정상군이나 대조군, 그리고 실험군 모두 체중의 차이가 유의성을 나타내지 않았으나 7일째에는 실험군 모두 대조군에 비하여 유의한 체중의 증가를 나타내었다 (Table 2).

Table 2. Body Weight of Mice Treated with H Herbal-acupuncture in Acute Toxicity Test (unit : g).

GROUP	Day 1	Day 7
Normal	25.66 ± 1.18*	25.91 ± 0.78
Control	26.93 ± 1.68	27.01 ± 1.94
Treat-1	26.83 ± 1.30	31.10 ± 1.64 ^{ab}
Treat II	26.41 ± 1.70	30.01 ± 1.86 ^b

※ Mean ± SD

Normal : Non-treated group.

Control : Treated with normal saline.

Treat I : Treated with H herbal-acupuncture(0.1 ml).

Treat II : Treated with H herbal-acupuncture(0.2 ml).

a : Control and treat group were compared with a normal group by students`two-tailed test(P<0.05).

b : Treat groups were compared with a normal group by students` two-tailed test(P<0.05).

4. 생화학 혈청검사

급성 독성실험의 생화학 혈청검사 결과를 시행한 결과 대조군에 비하여 실험군 II에서 BUN의 유의한 감소, Glucose의 유의한 증가를 나타내었고, Cholesterol은 모든 실험군에서 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다 (Table 3).

Table 1. Clinical Findings of ICR Mice Treated with H Herbal-acupuncture 0.1cc in Acute Toxicity Test
(Dose of H herbal-acupuncture: 2×10^{-3} ml/kg).

GROUP	Normal	Control	Treat-1	Treat II
Total Protein (g/dl)	4.89±0.19	5.01±0.29	4.91±0.19	4.90±0.16
Albumin (g/dl)	2.89±0.07	3.00±0.18	2.92±0.13	2.92±0.12
BUN (mg/dl)	24.46±4.46	33.74±1.90 ^a	30.44±2.83 ^{ab}	27.59±2.72 ^b
Creatinine (mg/dl)	0.49±0.04	0.54±0.02 ^a	0.53±0.05	0.50±0.03
Uric Acid (mg/dl)	2.80±0.72	3.34±0.80	3.30±0.85	3.65±1.17
Glucose (mg/dl)	216.88±23.87	248.75±37.08	229.88±8.92	264.50±26.18 ^a
Triglyceride (mg/dl)	157.88±44.27	125.13±33.22	171.00±64.18	123.80±37.07
T-Cholesterol (mg/dl)	103.88±43.51	78.63±25.38	71.88±29.99	64.60±13.35
GOT(U/L)	25.63±5.88	28.88±6.64	22.75±6.34	24.10±4.89
GPT(U/L)				
Al-phospha (U/L)	225.50±46.46	225.63±12.61	189.75±55.38	203.60±106.92

Normal : Non-treated group.

Control : Treated with normal saline.

Treat I : Treated with H herbal-acupuncture (0.1 ml).

Treat II : Treated with H herbal-acupuncture (0.2 ml).

a : Control and treat group were compared with a normal group by students`two-tailed test (P<0.05).

b : Treat groups were compared with a normal group by students` two-tailed test (P<0.05).

2. 아급성 독성

약침을 주입하고 관찰한 결과 운동성의 저하나 외부에 대한 반사작용은 떨어지지만 급성 독성실험과 같이 심하지 않았고 사망한 개체도 나타나지 않았다(Table 4).

1. 임상관찰

Sprague Dawley rat를 이용한 아급성 독성 실험에서,

Table 4. Clinical Findings of Rats Treated with H Herbal-acupuncture. 0.1cc in Subacute Toxicity Test (Dose of H herbal-acupuncture: 4×10^{-4} ml/kg).

Clinical observation	Days after treatment							
	1	4	7	11	14	18	21	28
Tachypnea	0*	0	0	0	0	0	0	0
Motor activities	10	10	10	10	10	10	10	10
Opisthotonus	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflex	10	10	10	10	10	10	10	10
Ocular signs	0	0	0	0	0	0	0	0
Cardiovascular signs	0	0	0	0	0	0	0	0
Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0
Analgesia	10	10	10	10	10	10	10	10
Muscle tone	0	0	0	0	0	0	0	0
Gastrointestinal signs	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin	0	0	0	0	0	0	0	0
Others	0	0	0	0	0	0	0	0

※ Number of rat

2. 체중변화

II 모두 실험 28일째에 정상군과 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다(Table 5).

아급성 독성실험에서 각 군의 체중변화는 실험군 I,

Table 5. Body Weight of Rats Treated with H herbal-acupuncture in Subacute Toxicity Test (unit :g).

GROUP	Day 7	Day 14	Day 21	Day 28
Normal	220.44±9.36	256.92±10.32	280.95±34.68	320.62±15.02
Control	213.61±6.74	253.32±7.02	277.63±30.00	310.15±9.56
Treat-I	219.43±15.38	260.41±14.99	268.04±15.53	276.08±15.24
Treat II	207.09±12.36	248.37±15.14	280.97±17.68	274.37±14.64

Normal : Non-treated group.

Control : Treated with normal saline.

Treat I : Treated with H herbal-acupuncture (0.1 ml).

Treat II : Treated with H herbal-acupuncture (0.2 ml).

a : Control and treat group were compared with a normal group by students` two-tailed test ($P<0.05$).

b : Treat groups were compared with a normal group by students` two-tailed test ($P<0.05$).

3. 장기의 무게 측정

실험 종료시에 개복하여 각 장기를 적출한 후 무게를 측정한 결과, 실험군 모두에서 정상군과 대조군에 비하여 간은 유의한 감소를, 폐는 유의한 증가를 나타내었다 (Table 6).

Table 6. Relative Organ Weights in Rats Treated Intraperitoneally with H herbal acupuncture in Subacute Toxicity Test (unit : %).

GROUP	Liver	Heart	Spleen	Lung	Kidney
Normal	3.99±0.18	0.37±0.02	0.23±0.02	0.44±0.07	0.70±0.02
Control	3.92±0.33	0.36±0.02	0.39±0.52	0.42±0.02	0.69±0.04
Treat-I	3.65±0.09 ^a	0.37±0.02	0.28±0.13	0.56±0.10 ^{ab}	0.74±0.07
Treat II	3.61±0.27 ^a	0.35±0.02	0.24±0.01	0.54±0.12 ^b	0.71±0.03

Normal : Non-treated group.

Control : Treated with normal saline.

Treat I : Treated with H herbal-acupuncture (0.1 ml).

Treat II : Treated with H herbal-acupuncture (0.2 ml).

a : Control and treat group were compared with a normal group by students` two-tailed test ($P<0.05$).

b : Treat groups were compared with a normal group by students` two-tailed test ($P<0.05$).

4. Complete blood count

아급성 독성실험에서 CBC를 측정한 결과, 대조군에 비하여 실험군I은 RBC의 유의한 감소와 MCH의 유의한 증가를 나타내었고, 실험군 II는 정상군에 비하여 MCV의 유의한 감소를 나타내었다. 실험군 모두 대조군에 비하여 HCT는 유의한 감소를, MCHC는 유의한 증가를 나타내었다 (Table 7).

Table 7. Complete Blood Count Values of Treated Intraperitoneally with H Herbal-acupuncture in Subacute Toxicity Test.

GROUP CBC	Normal	Control	Treat-1	Treat II
WBC(x103/ μ l)	8.85±1.34	7.34±1.76	8.26±2.41	9.15±2.42
RB(x106/ μ l)	7.37±0.21	7.65±0.27 ^a	7.34±0.25 ^b	7.36±0.36
HGB(g/dl)	14.88±0.19	15.08±0.39	14.96±0.38	14.70±0.55
HCT(%)	46.53±1.17	47.75±1.30	45.86±1.65 ^b	45.17±1.86 ^b
MCV(fL)	63.15±1.24	62.39±1.55	62.50±0.95	61.45±0.63 ^a
MCH(pg)	20.17±0.44	19.71±0.55	20.41±0.51 ^b	20.00±0.36
MCHC(g/dl)	31.98±0.59	31.58±0.40	32.64±0.62 ^b	32.55±0.41 ^b
PLT(x103/ μ l)	1012.00±68.64	974.60±292.05	1006.88±50.00	996.17±61.11

Normal : Non-treated group.

Control : Treated with normal saline.

Treat I : Treated with H herbal-acupuncture (0.1 ml).

Treat II : Treated with H herbal-acupuncture (0.2 ml).

a : Control and treat group were compared with a normal group by students' two-tailed test (P<0.05).

b : Treat groups were compared with a normal group by students' two-tailed test (P<0.05).

WBC : White blood cell.

MCV : Mean corpuscular volume.

MCH : Mean corpuscular hemoglobin.

MCHC : Mean corpuscular hemoglobin concentration.

5. 생화학 혈청검사

아급성 독성 실험의 생화학 혈청검사를 측정된 결과, 대조군에 비하여 실험군 모두에서 Total Protein과 Albumin의 유의한 감소를 나타내었다. 또한 실험군 I에서는 대조군에 비하여 Creatinine, Glucose, 그리고 GOT의 유의한 증가를, 실험군 II에서는 정상군에 비하여 Glucose의 유의한 증가와 T-G의 감소를, 그리고 대조군에 비하여 Alkaline-phosphatase의 유의한 감소를 나타내었다 (Table 8).

Table 8. Serum Biochemical Values of Treated Intraperitoneally with H Herbal-acupuncture in Subacute Toxicity Test.

GROUP	Normal	Control	Treat-1	Treat II
Total Protein(g/ dl)	6.14±0.19	6.24±0.18	6.02±0.24 ^b	5.83±0.23 ^b
Albumin(g/ dl)	3.67±0.23	3.89±0.14 ^a	3.62±0.35 ^b	3.72±0.14 ^b
BUN(mg/ dl)	23.43±1.56	23.19±1.61	23.66±2.32	22.00±1.60
Creatinine(mg/ dl)	0.62±0.01	0.62±0.03	0.67±0.04 ^{ab}	0.67±0.08
Uric Acid(mg/ dl)	2.47±0.23	2.47±0.37	8.01±10.55	2.13±0.43
Glucose(mg/ dl)	190.00±17.19	197.40±28.52	240.25±26.89 ^{ab}	217.17±10.28 ^a
Triglyceride(mg/ dl)	119.67±21.07	85.73±33.83 ^a	50.13±7.72 ^{ab}	56.50±22.37 ^a
Total Cholesterol(mg/ dl)	88.33±6.25	84.53±8.83	76.63±31.30	89.83±9.09
GOT(U/L)	139.67±18.81	135.80±18.92	196.75±71.45	140.67±24.90
GPT(U/L)	55.33±0.52	54.60±3.83	86.88±67.41	49.83±20.13
Alkaline phosphatase(U/L)	530.83±45.04	541.60±72.39	540.00±92.29	473.5±50.25 ^b

Normal : Non-treated group.

Control : Treated with normal saline.

Treat I : Treated with H herbal-acupuncture (0.1 ml).

Treat II : Treated with H herbal-acupuncture (0.2 ml).

a : Control and treat group were compared with a normal group by students` two-tailed test (P<0.05).

b : Treat groups were compared with a normal group by students` two-tailed test (P<0.05).

3. 항암효과

1. 생존율

sarcoma-180으로 복강암을 유발하여 30일 동안 생존율을 측정 한 결과, 약침 0.1ml 처치의 경우 대조군은 median survival time이 19일, 실험군은 18.5일로 대조군에 비하여 2.63%의 생존 감소율을 나타내었다(Table 9, Fig. 1). 약침을 0.2ml 처치의 경우는 암세포 주입 후 15일경에 10마리 중 7마리가 갑자기 폐사되어 생존증가율을 산출할 수 없었다.

Table 9. Survival Time of the Sarcoma-180 cell Bearing ICR Mice Treated with H Herbal-acupuncture.

GROUP	Median survival time	ILS(%)a
Control	19	0
Treat	18.5	-2.63 vs control

Control : Treated with normal saline.

Treat : Treated with H herbal-acupuncture (0.1 ml).

$$a : \text{ILS : Increase of Life Span} = \frac{T - C}{C} \times 100$$

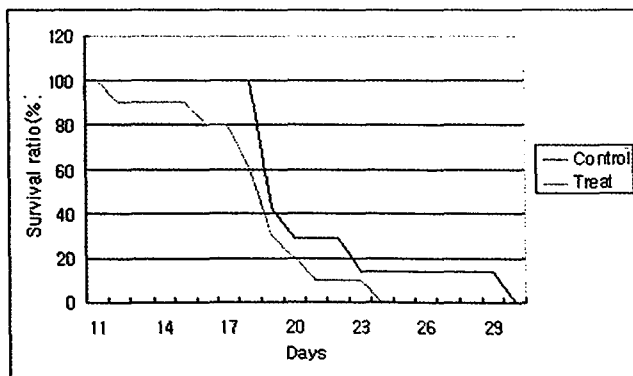


Fig. 1. Survival time of the sarcoma-180 cell bearing ICR mice treated with H herbal-acupuncture.

2. NK 세포 활성화도 측정

(1) B16F10 폐암

미정맥으로 B16F10 폐암을 전이시킨 C57BL/6계 생쥐를 실험 14일째 도살하여 NK 세포의 활성화도를 측정 한 결과 실험군은 대조군에 비하여 50:1에서는 유의한 증가를, 10:1에서는 유의한 감소를 나타내었다. 이러한 결과는 실험과정에서 어떠한 오류가 작용하지 않았나 추정된다 (Table 10, Fig. 2).

Table 10. Natural Killer Cell Activity of the B-16 Cell Bearing C57BL/6 Mice Treated with H Herbal-acupuncture according to E/T Ratio.

Group	E/T ratio	% Cytotoxicity
Normal	100:1	-154.57 ± 48.68
	50:1	-122.25 ± 36.68
	10:1	-239.72 ± 66.63
Control	100:1	26.81 ± 3.72 ^a
	50:1	-7.88 ± 2.82 ^a
	10:1	1.86 ± 3.79 ^a
Treat	100:1	-96.80 ± 7.22 ^{ab}
	50:1	93.00 ± 3.93 ^b
	10:1	-27.34 ± 2.51 ^b

Normal : Non-treated group.

Control : Treated with normal saline.

Treat : Treated with H herbal-acupuncture (0.1 ml).

E/T ratio : Effector cell/Target cell.

a : Control and treat group were compared with a normal group by students` two-tailed test (P<0.05).

b : Treat groups were compared with a normal group by students` two-tailed test (P<0.05).

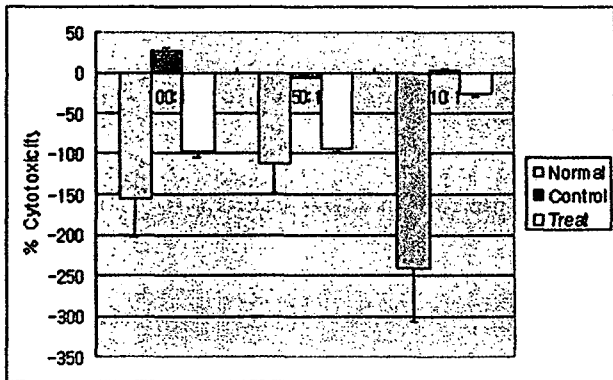


Fig. 2. Natural Killer Cell Activity of the B-16 Cell Bearing C57BL/6 Mice Treated with H herbal-acupuncture according to E/T Ratio.

3. Interleukin-2 양 측정

(1) B16F10 폐암

미정맥으로 폐암을 전이시킨 C57BL/6계 생쥐를 실험 14일째 도살하여 IL-2의 생산량을 측정된 결과 정상군은 619.40±62.95pg/ml, 대조군은 590.62±67.85pg/ml, 실험군은 548.55±55.34pg/ml를 나타내어 대조군에 비해 실험군은 7.12%의 유의한 감소를 나타내었다 (Table 11, Fig. 3).

Table 11. Interleukin-2 Productivity of the B-16 Cell Bearing C57BL/6 Mice Treated H herbal-acupuncture.

Group	Interleukin-2	Vs Control(%)
Normal	619.40 ± 62.95	
Control	590.62 ± 67.85 ^a	0
Treat	548.55 ± 55.34 ^{ab}	-7.12

Normal : Non-treated group.

Control : Treated with normal saline.

Treat : Treated with H herbal-acupuncture (0.1 ml).

a : Control and treat group were compared with a normal group by students` two-tailed test (P<0.05).

b : Treat groups were compared with a normal group by students` two-tailed test (P<0.05).

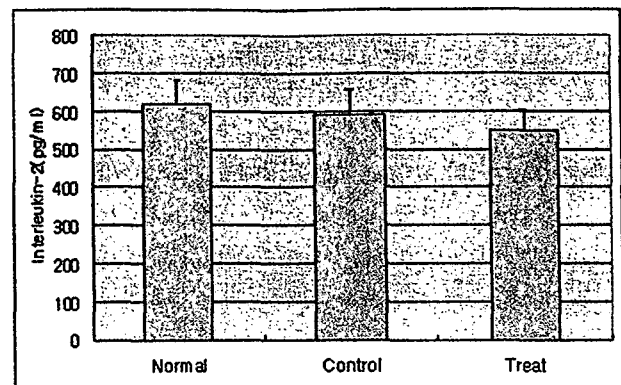


Fig. 3. Interleukin-2 Productivity of the B-16 cell Bearing C57BL/6 Mice Treated H herbal-acupuncture.

(2) Sarcoma-180 복강암

복강암을 유발시킨 ICR 생쥐를 실험 14일 째 도살하여 IL-2 생산량을 측정된 결과, 정상군은 1315.58±244.32pg/ml, 대조군은 567.63±193.86pg/ml, 실험군은 583.18±63.35pg/ml로 측정되어 대조군에 비하여 약침 처리군이 2.74% 증가하는 경향을 나타내었다 (Table 12., Fig. 4).

Table 12. Interleukin-2 productivity of the Sarcoma-180 cell bearing ICR Mice Treated with H herbal-acupuncture.

Group	Interleukin-2	Vs Control(%)
Normal	1315.58 ± 244.32	
Control	567.63 ± 193.86 ^a	0
Treat	583.18 ± 63.35 ^a	2.74

Normal : Non-treated group.

Control : Treated with normal saline.

Treat : Treated with H herbal-acupuncture (0.1 ml).

a : Control and treat group were compared with a normal group by students` two-tailed test (P<0.05).

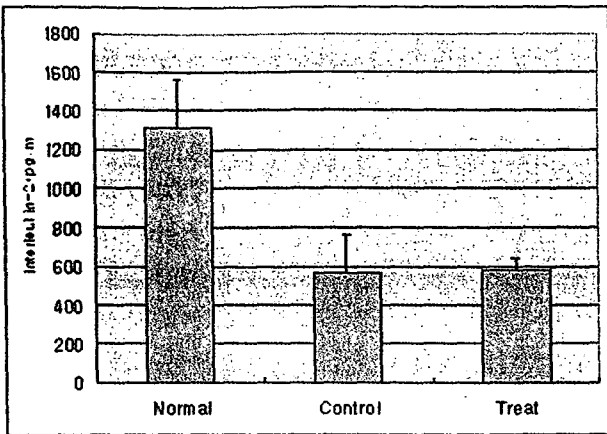


Fig. 4. Interleukin-2 Productivity of the Sarcoma-180 Cell Bearing ICR Mice Treated with H herbal-acupuncture.

4. B16F10 폐암에서 전이암의 군집 관찰

B16F10 세포를 C57BL/6 생쥐의 미정맥으로 주입하여 폐전이암을 일으킨 후 실험 7일째와 14일째 생쥐를 도살하여 폐를 육안적으로 관찰한 결과, 실험 7일째의 경우는 모든 군에서 육안적 관찰로 전이암을 볼 수 없었으나 14일째의 경우는 모든 군에서 전이암을 육안적으로 관찰할 수 있었다. 대조군에 비하여 실험군에서는 전이암의 크기가 크고 그 수도 많음을 알 수 있었다 (Fig. 5).

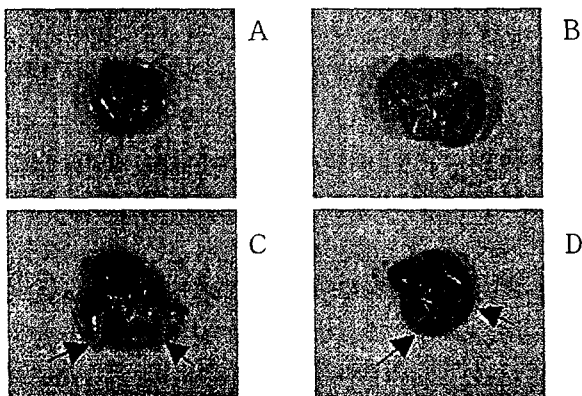


Fig.5. Representative Photographs Showing Melanoma Metastasized in the Lung of C57BL/6 Mice. The Photographs of Lung Treated with the H herbal-acupuncture at 7th Days Showed Non Melanoma Metastasized (A: Control, B: Treat).

But the Photographs of Lung Treated with the H herbal-acupuncture at 14th Days showed Melanoma metastasized (arrowheads) and the Group Treated with the H herbal-acupuncture Showed more Melanoma than the Control in the Numbers and Volume (C: Control, D: Treat).

IV. 考 察

약침요법은 경락학설의 원리에 의거하여 한약재를 선택하여 유관한 혈위, 압통점 및 양성 반응점에 주입하여 자침과 약물작용을 통하여 생체의 기능을 조정하고 병리상태를 개선시켜 질병을 치료하는 신침요법이다⁹⁾.

서양의학에서 말하는 암 혹은 악성종양은 ‘조직의 자율적인 과잉성장이며, 이것은 개체에 대하여 이롭지 않을 뿐만 아니라 정상조직에 대해 파괴적인 것’이라고 정의되어 있다¹³⁾. 서양의학의 종양에 대한 치료법은 예방적인 면에서 일차예방으로 생활 습관의 개선, 화학 예방이 될 수 있으며 이차 예방은 조기 진단을 들 수 있다¹⁴⁾. 진행된 암의 치료방법으로는 외과적 수술요법, 방사선 요법, 약물요법, 항화학요법, 면역요법, 호르몬 요법 및 골수나 조혈모세포의 이식 등의 유전자 치료방법들이 있다.

종양에 대한 한의학적 기원은 殷墟의 갑골문에 ‘瘤’라는 病名이 있고¹⁵⁾, 內經¹⁶⁾에서는 石癥, 腸癥, 骨疽, 肉疽, 積聚, 瘤 등으로 표기하였다.

韓醫學에서는 腫瘍은 양성과 악성으로 나누어지는데 癌瘤는 악성종양의 일종으로서 사람의 건강에 큰 영향을 미칠 뿐만 아니라 생명을 위태롭게 한다. 癌瘤는 정서적인 鬱結이나 피로의 축적, 음주과도, 병독의 침입, 어떤 특별한 자극 등으로 말미암아 생리기능의 이상이 일어나 국소조직이 변형, 변성되는 것이다⁹⁾.

韓醫學的 腫瘍 治療法은 扶正法, 祛邪法, 扶正祛邪法의 3種類로 크게 大別된다¹⁷⁾.

최근 여러 가지 약침에 대한 항암작용과 면역효과에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 金¹⁸⁾의 人蔘水鍼, 權¹⁹⁾의 蜂藥鍼, 李²⁰⁾의 四君子湯 및 四物湯 藥鍼, 金²¹⁾의 金銀花 藥鍼, 金²²⁾의 全蝎 藥鍼, 朴²³⁾의 益智仁 藥鍼,

李²⁴⁾의 兔絲子 藥鍼, 배²⁵⁾의 魚腥草 藥鍼, 安²⁶⁾의 紅花 藥鍼 등 많은 약침제제에 대한 抗癌效果和 免疫作用에 대한 연구가 보고되고 있으나, 이러한 연구 결과는 실험실 환경에서 진행된 것으로 실제 암 환자의 치료에 적용하기까지는 앞으로 많은 연구가 선행되어야 할 것으로 사려된다. 한편 약침을 이용하여 암을 치료할 수 있다고 주장하는 사람이 있고¹⁰⁾, 이에 대한 평가는 한의학계가 시행하는 것이 바람직하다고 생각하여 본 연구를 시행하게 되었다. 따라서 먼저 독성에 대한 유무와 강도를 평가하기 위해 '의약품 독성시험 기준'¹¹⁾에 의거하여 H 약침에 대한 급성·아급성 독성실험을 시행하였고 항암효과를 알아보기 위하여 Sarcoma-180 복강암 및 B16F10 폐암을 이용한 동물실험을 시행하였다.

그 중 독성실험은 의약품 등의 시험물질 안전성 평가를 하기 위하여 중요한 기초 자료이며, 필수적이라 할 수 있다¹²⁾. 독성연구의 주요목적은 신약의 안정성을 평가하여 임상적 용약의 안전을 확보하기 위해 시행하는 것으로, 독성실험은 크게 급성 독성실험(단회투여 독성시험), 아급성 독성실험(1개월 반복투여 독성시험), 그리고 만성독성실험(3개월 이상 반복투여 독성시험)으로 나누는데, 본 실험에서는 급성 독성실험과 아급성 독성실험을 시행하였다.

급성 독성실험에서는 LD₅₀(반수치사량 측정)을 측정하기 위해 실험군에 약침을 다양한 농도로 제조하여 Balb/c mouse에 0.1ml, 0.2ml씩 주입 후 7일 동안 관찰하면서 사망하는 개체수를 측정하였다. H 약침은 임상적으로도 매우 독성이 강해 base oil과 희석하여 사용되므로, 부작용이나 독성이 거의 없다고 보고된 호도약침을 base oil로 하여 4:100, 1:100, 1:200, 1:1000, 1:2000으로 희석한 후 주사기에 0.1ml, 0.2ml로 준비하여 시술한 결과, 4:100, 1:100, 1:200 시술군에서는 모든 개체가 24시간 이내에 사망하였고, 1:1000 0.1ml 시술군에서는 10마리 중 2마리가 생존하였으며, 1:2000에서는 사망하는 개체가 발견되지 않았다.

따라서 H 약침의 LD₅₀은 4×10⁻³ml/kg~2×10⁻³ml/kg으로 추정할 수 있었으며, 이는 기존의 약침에 비해 매우 독성이 강함을 알 수 있었다.

급성 독성의 임상 관찰을 위해서 한씨의 약침을 2×10⁻³ml/kg으로 Balb/c mouse에 주입한 후, 실험 첫날부터 7일간 행동, 자세, 반응성, 호흡, 피모 및 안구 등의 임상관찰을 시행한 결과, 약침 시술 후 대부분의 실험

군은 즉시 현저한 운동성의 저하가 나타나고 외부에 대한 반사작용도 떨어지며 움직이지 않고 있다가 사망하는 경우가 많았다(Table 1). 또한 체중변화를 실험 전과 실험 후에 측정한 결과 실험군 모두가 유의하게 증가하였다(Table 2). 혈청학적 변화를 관찰하기 위하여 생화학 혈청검사를 시행한 결과, 대조군에 비하여 실험군 II에서 BUN의 유의한 감소를, Glucose의 유의한 증가를 나타내었고, Cholesterol은 모든 실험군에서 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다(Table 3). 이는 H 약침이 독성이 매우 강하여 장기에 상당한 영향을 미친 것으로 추정되나, 어떠한 독성으로 장기의 손상이 이루어지는가에 대한 기전을 유추하기는 어려웠다.

Sprague-Dawley rat을 이용한 아급성 독성실험은 매주 2회씩 4주 동안 약침을 4×10⁻⁴ml/kg씩 주입하여 실험 첫날부터 4주간 행동, 자세, 반응성, 호흡, 피모 및 안구 등의 임상관찰을 시행한 결과 실험군 모두 급성독성과 같이 반응이 뚜렷하지는 않았지만 역시 운동성의 저하와 반사작용의 둔화가 관찰되었다(Table 4). 또한 체중의 변화를 측정한 결과 실험개시 28일째에 실험군 모두 유의한 체중감소를 나타내었다(Table 5).

아급성 독성실험에서 장기의 무게를 측정한 결과 실험군 모두 간의 무게는 유의한 감소를 나타내었고 폐의 무게는 유의한 증가를 나타내었다(Table 6). 이러한 결과는 H 약침이 간의 손상이나 위축, 혹은 폐부종을 유발할 가능성이 있는 것으로 추정된다.

아급성 독성실험에서 CBC를 측정한 결과 대조군에 비하여 실험군 I은 RBC의 유의한 감소와 MCH의 유의한 증가를 나타내었고, 실험군 II는 정상군에 비하여 MCV의 유의한 감소를 나타내었다. 또한 실험군 모두 대조군에 비하여 HCT는 유의한 감소를, MCHC는 유의한 증가를 나타내었다(Table 7).

아급성 독성실험의 생화학 혈청검사에서는 대조군에 비하여 실험군 모두에서 Total Protein과 Albumin의 유의한 감소를 나타내었다. 또한 실험군 I에서는 대조군에 비하여 Creatinine, Glucose, 그리고 GOT의 유의한 증가를, 실험군 II에서는 정상군에 비하여 Glucose의 유의한 증가와 T-G의 감소를, 그리고 대조군에 비하여 Alk-phosphatase의 유의한 감소를 나타내었다(Table 8).

상기 내용을 종합해 볼 때 실험군에서 대사성 소모성

질환을 앓는 경우와 유사한 혈액학적 소견, 즉 Total Protein과 Albumin, 그리고 RBC와 HCT의 유의한 감소 등이 나타나는 것으로 보아 약침을 주입한 후 상당한 체력적 소모가 일어나는 것을 유추할 수 있었다. 또한 장기 무게의 측정에서 간실질의 감소나 폐실질의 증가 등이 나타나고 Creatinine, GOT, Alk-phosphatase 등의 수치에 변화가 나타나는 것으로 보아 장기의 손상유발도 의심이 된다.

H 약침이 항암능과 면역기능계에 어떤 영향을 미치는가를 알아보기 위해 Sarcoma-180 복강암 세포를 mouse의 복강 내에 주입하여 NK세포의 독성능과 IL-2의 생산능을 측정하였고, 암의 육안적 관찰을 위해 B16F10 폐암세포를 mouse의 미정맥에 주입하여 실험을 시행한 후 회복하여 관찰하였다.

이 중 NK cell은 주요 조직적 복합체(Major Histocompatibility Complex : MHC)의 제한현상도 없고, 항원 특이성도 없이 일부 암세포와 바이러스 감염 세포에 대하여 세포독성을 나타내는 일반적으로 자연 세포독성세포(NK cell : natural killer cell)라고 하고, 이는 일종의 자연면역 기능을 보이는 세포이다²⁷⁾.

IL-2는 T림프구 증식인자로 B 세포, Natural killer cell(NK 세포)에도 작용하는 것이 밝혀졌고²⁸⁾, AIDS와 같은 면역결핍증이나 종양의 치료에 이용되며, 면역반응의 항진과 저하에 중요한 역할을 하고, 림프구의 활성화, 증식 및 분화를 촉진하여 숙주의 면역능을 증가시킬 수 있다²⁹⁾. IL-2는 각종 cytokine을 생산하는 helper T 세포 증식을 촉진하는 것으로 면역응답능을 제어한다고 한다. 따라서 사람 말초혈중 IL-2 활성 측정이나 림프구의 IL-2생산능을 검토하는 것은 helper T 세포기능을 검토할 뿐만 아니라 각 개체에 있어서 면역응답능의 전도를 추측하여 질환을 상세하게 해석하기 위하여 유력한 수단이 되는 것이다²⁹⁾.

Sarcoma-180 세포를 ICR의 복강에 주입 한 후, 30일 동안 복강암의 유발 유무와 생존여부를 관찰한 결과, median survival time은 대조군은 19일, 실험군은 18.5일로 대조군에 비하여 2.63%의 생존 감소율을 보였다(Table 9, Fig. 1).

NK 세포 활성도 측정 검정결과, 실험군에 Effector Cell과 Target Cell의 농도 차에 따라 100:1과 10:1에서는 대조군에 비하여 유의한 감소를, 50:1에서는 유의한 증가를 나타내는 등 일관성있는 실험결과를 나타내지 않았는데 이는 아마도 실험과정에서 어떤 오류

가 작용한 것으로 추정된다(Table 10, Fig. 2).

IL-2의 생산능 검액 검사에서 폐암에서는 유의한 감소를(Table 11, Fig. 3), 복강암에서는 유의한 증가를 나타내었으나 차이는 크지 않았다(Table 12, Fig. 4).

전이암의 육안적 관찰에서는 폐 전이암에서 실험군이 대조군에 비해 전이암의 수나 용적이 더 커짐을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

이상의 실험 결과를 종합해 보면, H 약침은 매우 강력한 독성이 있고, 시술 후에는 소모성 과정이 발생하며 간이나 폐 등의 장기에 손상을 줄 수 있다고 추정된다. 또한 항암효과가 있는가에 대해서는 신뢰성 있는 실험적 결과가 나타나지 않았다. 따라서 이에 대한 연구는 보다 광범위하고 심도 있게 진행되어야 할 것으로 사려된다.

V. 結論

H 약침의 독성을 규명하기 위하여 mouse와 rat을 이용한 LD₅₀, 급성·아급성 독성실험을 시행하고, 항암효과를 관찰하기 위해 Sarcoma-180 복강암 및 B16F10 폐암을 유발하여 생존율, NK cell 활성도 및 IL-2양을 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 급성 독성실험에서 LD₅₀은 $4 \times 10^{-3} \text{ml/kg} \sim 2 \times 10^{-3} \text{ml/kg}$ 으로 추정 할 수 있었으며, 이는 기존의 약침에 비해 매우 독성이 강함을 알 수 있었다.
2. 급성 독성실험에서 실험군의 현저한 운동성과 반사작용의 저하가 관찰되었으며 체중은 유의한 증가를 나타내었다.
3. 급성 독성실험에서 생화학 혈청검사를 시행한 결과, 실험군 II에서 Glucose는 유의한 증가를, BUN은 유의한 감소를 나타내었고, Total cholesterol은 실험군 모두에서 유의한 증가를 나타내었다.
4. 아급성 독성실험 중 임상관찰에서는 약간의 운동성과 반사작용의 저하가 관찰되었으며, 체중의 변화는 실험 개시 28일째 유의한 감소를 나타내었다.

VI. 參考文獻

5. 아급성 독성실험에서 장기의 무게를 측정한 결과 실험군 모두간의 무게는 유의한 감소를, 폐의 무게는 유의한 증가를 나타내었다.
6. 아급성 독성실험에서 CBC를 측정한 결과 정상 군에 비해 실험군 모두 HCT의 유의한 감소를 나타내었으나 큰 변화는 없었다.
7. 아급성 독성실험의 생화학 혈청검사에서는 실험군 모두에서 Total Protein과 Albumin의 유의한 감소를 나타내었다. 또한 실험군 I 에서는 대조군에 비하여 Creatinine, Glucose, 그리고 GOT의 유의한 증가를, 실험군 II 에서는 대조군에 비하여 Alk-phosphatase 의 유의한 감소를 나타내었다.
8. Sarcoma-180 복강암에서 생존율을 측정한 결과, 실험군이 대조군에 비하여 유의한 생존율 감소를 나타내었다.
9. NK cell 활성화도 측정 결과 100:1과 10:1에서는 대조군에 비하여 유의한 감소를, 50:1에서는 유의한 증가를 나타내었는데 이는 실험과정에서 어떤 오류가 작용한 것으로 추정된다.
10. Interleukin-2의 생산능 측정 결과 폐암에서는 유의한 감소를, 복강암에서는 유의한 증가를 나타내었으나 차이는 크지 않았다.
11. 전이암의 육안적 관찰에서는 폐전이암에서 실험군이 대조군에 비해 전이암의 수나 용적이 더 커짐을 확인할 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 H 약침은 독성이 매우 강하여 간과 폐와 같은 장기에 손상을 줄 수 있으며 항암효과가 있다고 인정할만한 실험적 결과는 나타나지 않았다.

1. 김진복, 암면역학과 면역요법, 대한면역학회지, 1986 ; Vol 8, No.1 : 73-83.
2. 대한병리학회. 병리학 I. 서울 : 고문사. 1994 : 213-26.
3. 대한약침학회. 약침요법 시술 지침서. 서울 : 대한약침학회, 1999 : 13-4, 112-8, 138-203.
4. 강계성 외, 호도약침의 급성·아급성 독성에 관한 실험적 연구, 대한약침학회지, 2001.12 ; Vol. 4, No.3 : 85-92.
5. 이선구 외, 호도약침의 Sarcoma-180 항암효과에 관한 실험적 연구, 대한약침학회지, 2002. 6 : Vol. 5, No.1 : 43-52.
6. 안창석 외, 홍화자약침의 급성·아급성 독성 및 Sarcoma-180 항암효과에 관한 실험적 연구, 대한약침학회지, 2002.12 ; Vol. 5, No.1 : 7-26.
7. 유창길 외, 파두약침의 급성·아급성 독성 및 Sarcoma-180 항암효과에 관한 실험적 연구, 대한약침학회지, 2002. 6 ; Vol. 5, No.1 : 27-42.
8. 김옥 외, 행인약침의 급성·아급성 독성 및 Sarcoma-180 항암효과에 관한 실험적 연구, 대한약침학회지, 2002. 6 ; Vol. 5, No.1 : 61-80.
9. 賈堃. 癌瘤防治研究. 서울 : 성보사. 1984 : 25-9
10. 한동규. 대통령 각하! 암을 정복했습니다. 유림출판사. 1999 : 4-40.
11. 식품의약품안전본부. '의약품 독성시험기준' 제 98-116호. 1998.12.
12. R. I. Geran, N. H. Greenberg, M. M. Macdinald, A. M. Schumacher, and B. J. Abbot : Protocol for screening chemical Agents and Natural products against Animal Tumors and other Biological system(3rd Edition), Cancer chemotherapy Reports, 1972 : 48-59.
13. 서울대학교 의과대학. 종양학. 서울 : 서울대학교 출판부. 1992 : 1-3, 137-43, 225-34.
14. 전국의과대학교수 역. Current Medical Diagnosis and Treatment. 서울 : 도서출판 한우리. 1999 : 69-107.
15. 崔昇勳. 東醫腫瘍學. 서울 : 杏林書院. 1995 : 13-42.
16. 楊維傑 編. 황제내경 소문영추해석. 서울 : 성보

- 사. 1980 : 41, 45, 97, 168, 243, 295-6, 407, 447, 469, 473, 577.
17. 田炳旭 外, 암종의 병인병리에 관한 문헌적 고찰, 대한한방증양학회지, 1988 ; Vol. 9, No. 2 : 33-44.
 18. 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, 1988 ; Vol. 9, No. 2 : 33-44.
 19. 權奇祿 外, 蜂毒藥鍼刺戟이 3-MCA 誘發 上皮腫에 對한 亢癌 및 免疫反應에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 1997 ; Vol. 14, No. 2 : 151-72.
 20. 李秉烈, 四君子湯 및 四物湯 藥鍼이 免疫反應에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 1997 ; Vol. 18, No. 1 : 357-74.
 21. 金중완, 金銀花 藥鍼液이 亢癌 및 癌豫防 效果에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 1999 ; Vol. 16, No. 2 : 261-84.
 22. 金소형, 진갈 약침액의 항돌연변이 및 항암효과, 大韓韓醫學會誌, 2000 ; Vol. 17, No. 3 : 151-67.
 23. 朴祥鎔, 益智仁 藥鍼이 亢癌 및 免疫機能에 미치는 實驗的 研究, 大韓韓醫學會誌, 2001 ; Vol. 18, No. 3 : 79-93.
 24. 이재복, 兔絲子藥鍼이 亢癌作用 및 免疫效果에 對한 實驗的 研究, 大韓韓醫學會誌, 2001 ; Vol. 18, No. 3 : 94-104.
 25. 배원형 외, 魚腥草藥鍼이 B16 흑색종 癌모델에 對한 亢腫瘍效果 및 免疫反應에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 2001 ; Vol. 18, No. 1 : 186-201.
 26. 김양강. 독성학. 서울 : 동화기술 .1994 : 15-8.
 27. 김세중. 면역학. 서울 : 고려의학. 1994 : 134-6.
 28. Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo RC : Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrow. Science 1976 ; 193 : 1007-8.
 29. 이귀녕 외. 임상병리파일(제3판). 서울 : 의학문화사. 2000 : 722-4.