

화학요법제 5-fluorouracil의 조혈 및 면역독성 억제를 위한 조성물 개발 연구

양동식 · 홍민영 · 성현제* · 윤유식

한국한의학연구원 의료연구부, * 세명대학교 한의과대학

Abstract

Inhibitive Effect of KH against Toxicity Induced by 5-Fluorouracil(FU)

Yang Dongsik · Hong Minyoung · Sung Hyunjea* · Yoon Yoosik

Dept of Medical R&D, Korea Institute of Oriental Medicine, *Oriental Medical School, Semyung University

The objective on this study was to investigate effect of KH, which was composed of 9 kinds of oriental herbs tonifying the blood, against toxicity of 5-fluorouracil(FU) through animal study. Reduction of WBC and platelet after treating 5-FU was significantly recovered by KH. KH also rehabilitated immune gene expression of interleukin-2(IL2) and interferon- γ (IFN- γ) by RT-PCR. In addition, *in situ* hybridization of spleen showed that KH treatment increased mRNA expression of IL2. In addition to the immune action, antitumor activity on 5-FU was not affected by KH treatment. In conclusion, our study demonstrated that KH alleviated damage of hematopoiesis system induced by 5-FU without loss of antitumor activity.

Key words : Chemotherapy, Hematopoiesis System, Melanoma Cell, Interferon- γ , Interleukin-2

I. 서론

수십 년 전부터 화학합성 또는 천연물 분리의 방법에 의해 많은 우수한 항암제 및 항암요법이 개발되어 왔고 이로 인하여 암의 치료율이 많이 향상되었다. 그러나 국소적인 암 병소의 제거에만 초점을 맞춘 기존 암 치료법은 환자의 삶의 질 저하라는 큰 문제를 야기하여, 최근에는 화학요법의 부작용으로 인한 삶의 질 저하를 개선해야할 필요성이 시급히 대두되고 있다. Pyrimidine 대사 저해제인 5-fluorouracil(FU)은 1957년 최초로 합성되었으며 아직까지도 임상에서 널리 쓰이고 있다.¹⁾ 암세포 내에서 활성 nucleotide로 전환되어 thymidylate synthetase를 억제함으로써 세포의 DNA 합성을 저해하는 항암제인 5-FU은 유방암, 대장암, 직장암, 위암, 췌장암, 식도암, 간암, 두경부암, 방광암에 임상적으로 광범위하게 쓰이며 피부암에도 국소적으로 사용되고 있다.¹⁾ 조절독성이 용량제한적(dose-limiting) 부작용으로 알려져 있으며 그 밖의 부작용으로는 심각한 위염, 식도염, 직장염, 설사 등의 소화기계 부작용이 강하며 또한 피부의 색소과다증도 종종 보고되고 있다.²⁾ 또한 실험동물들을 이용한 기초연구를 통하여 5-FU은 mouse에서 백혈구 수치의 감소 등의 조절독성과 소장점막 sucrase activity 감소, 설사유발 등의 소화기 독성, 비장중량감소, 입과구감소 등의 면역독성을 유발함이 보고되었다.³⁾

Kumura와 Okuda⁴⁾는 갑각류 껍질에서 추출한 Chitosan이 5-FU의 항암효능은 그대로 둔 채 부작용만을 감소시킴을 보고하였다. 그러나 전통적으로 활용되어 온 한약재는 월등히 다양한 활성물질을 포함하고 있어, 이에 대한 대규모의 장기적인 연구가 필요하다.⁵⁻⁷⁾

본 연구는 현재 임상적 활용범위가 가장 넓은 화학요법제 5-FU에 대하여 동물실험모델을 통해 dose에 따른 부작용을 평가하고, 한약재 조성물 KH의 5-FU 부작용 억제 효과를 평가하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

한약재는 규격품으로 산지가 명시된 것을 약재상으로부터 구입하였다. KH를 구성하는 한약재 중 국내에서 생산되지 않는 2종을 제외하고는 모두 국내 재배품을 구입하였으며, 나머지 2종은 중국 사천성에서 채배, 수확된 제품을 구입하였다. 구입한 한약재는 즉시 추출하여 사용하였다. 5-fluorouracil(FU)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입한 것을 사용 직전 0.9% saline에 매일 녹여서 사용하였다.

2. 한약재 조성물 KH의 제조

백작약, 산수유, 숙지황 등 건조시킨 한약재 180 g에 정제수 1.8 l를 가하여 3시간동안 100℃의 온도에서 추출하였다. 추출액을 망사로 거르고 침전물을 제거한 후 -70℃에서 동결 후, 동결건조기(일신, Bondiro)를 이용하여 -55℃, 10 mTorr의 조건에서 용매를 완전히 제거한 추출물을 얻었다. 얻어진 추출물의 중량은 59.01 g으로 수율은 32.8% 였다. 이렇게 얻어진 추출물을 약사발로 분쇄하여 분말 형태로 만들어 밀봉된 tube에 넣어 보관하였다.

3. 세포배양 및 실험동물

3-1. 세포배양

본 연구에서 사용된 세포주 B16-BL6는 MD Anderson Cancer Center(Texas, USA)의 I.J. Fidler 박사로부터 제공받았고, 5% fetal bovine serum을 포함한 DMEM 배지에서 배양되었으며 passage number가 30회 이내의 것이 사용되었다.

3-2. 실험동물

4 주령 된 C57BL/6 mouse 수컷을 대한바이오링크로부터 구입하여, 1 주일간 동물 사육실 환경에 순응시킨 후, 항암효능 및 부작용 억제효능 실험에 사용하였다.

4. 화학요법제 5-flurouracil(FU)의 dose별 효능 및 부작용 연구

각각의 실험군은 10마리로 구성되었다. C57BL/6 mouse를 군당 10마리씩으로 나누고 오른쪽 옆구리의 털을 깎은 후, B16-BL6 melanoma 세포를 한 마리당 $5 \times 10^5 \sim 10^6$ cell 씩 0.1 ml의 부피로 피하에 주사하였다. 7일 후 뚜렷한 종양이 피부에 형성된 것을 보고 각각의 마우스에 5-FU을 100, 200, 300, 400 mg/kg의 dose로 1회 i.p. 투여하고, 1주일 후 부검과 채혈을 수행하였다.

5. 화학요법제 부작용 억제 효능 측정

현재 임상적으로 가장 널리 쓰이는 항암제인 5-FU (FU)의 부작용 억제 효능을 Sugiyama 등 (1995a)의 방법을 변형하여 측정하였다.

종양세포 주입후 5-FU를 복강투여하는 것은 위 실험과 동일 하였다. 각각의 마우스에 5-FU을 1회씩 복강 투여한 후 oral zonde를 사용하여 한약재를 매일 1회 7~9일간 경구투여 하였고, 투여시 한약재 용량은 인간 용량(human dose)을 기준으로 각각 0.5배, 1배, 2배, 5배, 10배였다. 하루동안 절식시키고 다음날 마우스를 무게를 측정하고, ether로 마취시킨 후 심장으로부터 채혈하여 1.4% K₂EDTA 용액이 소량 담긴 tube에 혈액을 받은 후 Coulter counter (Coulter cooperation, USA)를 사용하여 적혈구(RBC), 백혈구(WBC), 혈소판(PLT)을 측정하였다. 비장을 비롯한 장기무게와 종양의 무게를 측정하였다.

실험결과와의 통계처리는 SPSS 프로그램(윈도우용 7.5)을 사용하여 일원배치 분산분석과 사후검정으로서 Duncan test에 의해 수행되었다.

5. 1. 해부 및 조직 처리

실험동물을 에테르로 전신마취 시킨 후 개복하여 심장에서 채혈 한 후, 비장을 적출하여 무게를 평량하고, 드라이아이스에서 급속동결한 뒤 동결박절기(cryostat, Leica, Germany)를 이용하여 16µm의 두께로 연속관상 절편을 제작하였다.

5. 2. In situ hybridization

동결절편기로 제작한 slide를 4% paraformaldehyde 용액으로 조직을 고정시킨 후, proteinase K를 10분간 반응시켰다. 0.2% RNase blocked DW로 2회 세척 후, 다시 후고정하였다. 미리 준비한 probe를 hybridization buffer에 희석한 뒤, 고정된 조직위에 도말하고, 85℃에서 10분간 반응시킨 후, 37℃에서 16시간 반응시켰다. 반응된 조직을 0.1%의 Tween 20이 함유된 PBS로 세척하고 Strepto-avidin Horseradish peroxidase conjugate로 20분간 반응시킨 뒤, biotinylated anti-fluorescein으로 다시 20분간 반응시켰다. 반응정도는 diaminobenzidine (DAB)에 의해 갈색으로 반응된 정도를 알아보았으며, IL2 probe는 5'-TGT GCT TCC GCT GTA GAG CT였다.

비장 부위의 IL2 (Interleukin-2) mRNA는 DAB에 의해 갈색으로 나타났으며, Mayer's hematoxylin용액으로 counter staining하여, 광학현미경으로 관찰하였다.

5. 3. Total RNA 분리

비장 내에서 total RNA 분리는 Triazol Reagent (Gibco BRL, Gaithersburg, MD)를 이용한 guanidinium-

thiocyanate법으로 분리하였다. 먼저 추출된 비장조직을 액체질소 존재 하에 분쇄한 다음, 1 ml의 Trizol reagent와 200 ul의 chloroform을 첨가하여 완전히 혼합한 후 원심분리하여 상등액을 취했다. 취한 상등액에 동량의 phenol:chloroform(1:1)을 부가하여 혼합하고, 원심분리한 다음 상등액에 0.6배의 isopropanol을 첨가하여 침전시켜 total RNA를 분리하였다.

5. 4. RT-PCR에 의한 유전자 발현변화 측정

IL2 유전자와 IFN- γ 유전자의 발현양상의 변화를 관찰하기 위하여 아래의 Oligonucleotide primers를 이용한 reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) 방법을 이용하여 IL2 유전자 단편과 IFN- γ 유전자 단편을 증폭하였다. Internal control로는 β -Actin 유전자 단편을 사용하였다. 각각의 primer는 다음과 같았다.

Gene name	Primer site	Primer sequence
▶ IL2	sense	5' AGA TGA ACT TGG ACC TCT GCG 3'
	antisense	5' GGG CTT GTT GAG ATG ATG CTT TG 3'
▶ IFN- γ	sense	5' AGC GGC TGA CTG AAC TCA GAT TGT AG 3'
	antisense	5' GTC ACA GTT TTC AGC TGT ATA GGG 3'
▶ β -Actin	sense	5' GTG CTA TGT TGC TCT AGA CTT CGA G 3'
	antisense	5' AGG AGC AAT GAT CTT GAT CTT CAT G 3'

Oligonucleotide primer는 Bioneer(Korea)에서 제조하였으며, RT-PCR은 Accupower RT-PCR premix. (bioneer, Korea)을 사용하여 수행하였다. RT-PCR은 각각의 Total RNA 0.5 ug, sense primer 20 pmol, antisense primer 20 pmol을 RT-PCR premix에 부가한 후 PCR system 2700(Perkin-Elmer, U.S.A.)을 사용하였다.

RT-PCR 조건은 다음과 같다.

IL2

42 $^{\circ}$ C, 60min \rightarrow 94 $^{\circ}$ C, 5min \rightarrow (94 $^{\circ}$ C, 1min \rightarrow 63 $^{\circ}$ C, 1min \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 1min) (50cycle) \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 10min \rightarrow 4 $^{\circ}$ C

IFN- γ

42 $^{\circ}$ C, 60min \rightarrow 94 $^{\circ}$ C, 5min \rightarrow (94 $^{\circ}$ C, 1min \rightarrow 55 $^{\circ}$ C, 1min \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 1min) (30cycle) \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 10min \rightarrow 4 $^{\circ}$ C

β -Actin

42 $^{\circ}$ C, 60min \rightarrow 94 $^{\circ}$ C, 5min \rightarrow (94 $^{\circ}$ C, 1min \rightarrow 55 $^{\circ}$ C, 1min \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 1min) (30cycle) \rightarrow 72 $^{\circ}$ C, 10min \rightarrow 4 $^{\circ}$ C

PCR결과의 정량은 영상분석기(IMT (VT) Morphology Program)을 이용하여 밴드의 강도를 명도에 따른 gray scale 값으로 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 화학요법제 5-flurouracil(FU)의 dose별 효능 및 부작용 연구

1. 1. 체중과 비장 중량에 미치는 영향

동물실험에서 면역독성의 지표로 이용되는 비장 중량에 있어서는, 5-FU의 농도에 따라 유의적인 감소를 나타내었으며, 대조군 대비 최대 54.9%의 중량감소를 관찰 할 수 있었다(Table 1). 그러나 체중에 있어서 dose에 따른 유의적인 감소는 관찰되지 않았다.

1. 2. 종양에 미치는 영향

종양크기에 있어서는 각각의 항암제 농도에 비례하여 유의적인 감소를 나타내었다(Table 1). 대조군과 비

교하여 볼 때, 100 mg/kg 농도에서 44.8%의 중앙감소 효과를 나타냈고, 400 mg/kg 농도에서 최대 75.3%의 중앙 감소효과를 관찰 할 수 있었으며 그 사이 용량에서도 용량-효과 비례적인 결과를 얻었다.

1. 3. 혈액학적 수치에 미치는 영향

다양한 항암제 부작용 중 가장 주된 부작용으로 지적 받고 있는 조혈독성을 조사하기 위해 WBC, RBC, PLT 수치를 각각의 항암제 농도에 따라 조사하였다(Table 2). 그 결과 WBC 수치에 있어서는 항암제 농도에 따라 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었고, 400 mg/kg의 농도에서 최대 80.1%의 감소를 확인할 수 있었다. PLT의 경우, 상대적으로 저농도인 100 mg/kg의 항암제에서 오히려 대조군에 비해 소폭 증가하였으며, 200, 300, 400 mg/kg의 상대적 고농도에서는 농도에 비례하여 유의적인 감소를 나타냄을 알 수 있었다. 100 mg/kg에서 대조군 대비 PLT 수치의 소폭 상승은 5-flurouracil(FU)에 의한 조혈기능억제에 대항하려는 생체 방어기능에 의한 것으로 사려되는 바, 5-FU의 용량이 증가함에 따라 5-FU의 자체적인 독성이 생체방어기능의 효과를 압도하여 혈소판 수의 감소를 초래한 것으로 생각된다.

5-FU 400 mg/kg 농도에서 최대 67.8%의 감소를 확인할 수 있었다. RBC 수치에 있어서는 모든 농도에 있어 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 이는 조혈기능 중에서 적혈구 생성기능이 항암제에 대한 가장 강한 저항성을 가지는 것으로 생각되어진다.

본 연구의 결과 5-FU의 항암효능은, 100 mg/kg의 농도에서부터 200, 300, 400 mg/kg의 농도에 이르기까지 유의적인 증가를 확인할 수 있었으며, 이에 정비례하여서 면역독성 및 조혈독성에 있어서는 농도에 따른 유의적인 증가를 확인할 수 있었다. 예외적으로, 상대적인 저농도인 100 mg/kg에서 PLT의 수치가 대조군에 비해 소폭 상승함을 확인할 수 있었으나, 이는 항암제의 조혈기능 억제에 대한 생체방어작용으로 생각되며, 이후 상대적으로 고농도인 200, 300, 400 mg/kg의 농도에 따라 PLT 수치의 유의적인 감소가 확인되었다. 5-FU의 항암효과 및 면역독성 및 조혈독성을 비교하여 볼 때, 항암효과를 나타내는 유효농도와 조혈독성을 나타내는 농도가 거의 일치함을 알 수 있다. 추후의 실험에 있어서는 충분한 항암효능을 나타내는 200 mg/kg 용량을 사용하였다.

Table 1. Effect of 5-FU on body, spleen and tumor weight in B16-BL6 melanoma cell inoculated mice

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Spleen weight (10 ⁻² g)	Tumor weight (g)
0	23.3 ± 2.2 a ^z	10.18 ± 1.81 a	2.19 ± 0.72 a
100	24.1 ± 1.3 a	6.38 ± 0.84 b	1.21 ± 0.37 b
200	23.9 ± 1.7 a	5.69 ± 0.28 bc	0.81 ± 0.16 c
300	22.9 ± 1.6 a	4.78 ± 0.76 cd	0.68 ± 0.28 c
400	22.9 ± 1.9 a	4.59 ± 1.18 d	0.54 ± 0.22 c

^z Values are mean ± S.E.M. Means in each column followed by the same letter are not significantly different (P < 0.05)

Table 2. Effect of 5-FU on WBC, RBC and PLT in B16-BL6 melanoma cell inoculated mice

Dose (mg/kg)	WBC ($10^3/\text{mm}^3$)	RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	PLT ($10^3/\text{mm}^3$)
0	3.66 ± 1.51 a ^z	5.60 ± 1.98 a	40.0 ± 39.6 a
100	1.88 ± 1.43 b	6.01 ± 0.62 a	56.2 ± 16.7 b
200	1.11 ± 0.44 b	5.53 ± 1.15 a	23.3 ± 5.6 c
300	1.57 ± 0.91 b	6.01 ± 0.46 a	14.9 ± 4.7 c
400	0.73 ± 0.52 b	6.46 ± 0.52 a	12.9 ± 5.5 c

^z Values are mean ± S.E.M. Means in each column followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$)

2. 5-fluorouracil(FU)의 부작용에 대한 한방처방 KH의 효과

량에서는 유의적으로 회복됨이 관찰되었다(Table 3). 이는 Wang 등의 결과와 유사하였다.⁸⁾

2. 1. 체중과 비장 중량 감소에 미치는 영향

5-FU 처리에 따라 체중은 개체간의 차이에 의해 통계적으로 의미있는 변화를 보이지 않았으며 KH도 유의적인 변화를 보이지 않았으나, 조절면역기관인 비장의 중

2. 2. KH가 항암효능에 미치는 영향

중양무게 측정에 의한 항암효능에 있어서, 5-FU 단독 투여군과 차이를 보이지 않은바 KH는 5-FU의 항암효능에 영향을 미치지 않음이 판명되었다(Table 3).

Table 3. Effect of KH on body, spleen and tumor weight against 5-FU side effect in B16-BL6 melanoma cell inoculated mice

Treatment	Body weight (g)	Spleen weight (10^{-2} g)	Tumor weight (g)
Control	19.8 ± 0.4 a ^z	4.96 ± 0.36 a	2.57 ± 0.65 a
FU	20.5 ± 1.1 a	3.76 ± 0.50 b	1.47 ± 0.27 b
FU+1KH	20.8 ± 0.8 a	4.45 ± 0.21 c	1.58 ± 0.40 b
FU+5KH	20.5 ± 0.5 a	4.25 ± 0.21 bc	1.54 ± 0.36 b

^z Values are mean ± S.E.M. Means in each column followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$)

2. 3. 조혈독성에 미치는 영향

혈소판(PLT) 수치에 있어서 5-FU 단독 투여시 대조군의 60%까지 감소함이 관찰되었다(Table 4). 5-FU와 KH의 병용처리지 혈소판 수치는 5-FU 단독 처리군에 비해 KH의 dose에 따라 1 HD(Human Dose; 인간용량) KH에서 13.9%, 10 HD KH에서 42.6%의 회복을 보여, KH의 농도에 따라 혈소판 수치가 회복됨을 확인 할 수 있었다. 통계처리 결과에 있어서도 5-FU 단독 처리군에 대해 통계적인 유의성 나타났다.

백혈구(WBC) 수치에 있어서는 5-FU의 단독 투여시

대조군의 48.3%까지 감소함이 관찰되었다. 5-FU와 KH의 병용처리지의 백혈구 수치는 5-FU 단독 처리군에 비해 KH의 dose에 따라 1HD KH에서 51.2%, 10HD KH에서 68.9%의 회복을 보여, KH의 농도에 따라 백혈구 수치가 회복되는 경향을 보여주었다(Table 4). 적혈구(RBC) 수치에 있어서는 5-FU 단독 처리군과 비교하였을 때, 차이를 발견 할 수 없었다(Table 4).

위와 같은 결과로 볼 때, KH는 5-FU 투여에 따른 조혈독성에 있어, 혈소판과 백혈구를 유의적으로 회복시키는 경향이 있음을 알 수 있다.⁹⁾

Table 4. Effect of KH on WBC, RBC and PLT against 5-FU side effect in B16-BL6 melanoma cell inoculated mice

Dose (mg/kg)	WBC (10 ³ /mm ³)	RBC (10 ⁶ /mm ³)	PLT (10 ³ /mm ³)
Control	3.47 ± 0.64 a	8.99 ± 0.39 a	87.3 ± 19.4 a
FU	1.68 ± 0.86 b	7.69 ± 0.25 b	52.3 ± 7.0 b
FU+1KH	2.54 ± 1.06 ab	7.84 ± 0.43 b	59.5 ± 8.6 ac
FU+5KH	2.83 ± 1.30 ab	8.06 ± 0.26 b	74.5 ± 1.9 ac

^z Values are mean ± S.E.M. Means in each column followed by the same letter are not significantly different (P < 0.05)

2. 5. KH 투여에 따른 IL2 및 IFN-γ의 발현양상 변화 관찰

KH의 면역독성 억제 효과가 유전자 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여 주요 면역조절인자(Cytokine)로 알려진 IL2 (Interleukin-2)와 IFN-γ(Interferon-γ)의 발현양상변화를 RT-PCR 방법을 이용하여 관찰하였다. Internal control로는 β-actin 유전자를 사용하였다.

IL-2와 IFN-γ 유전자의 발현은 5-FU 만을 처리한 군

의 경우 5-FU를 처리하지 않은 군보다 각각 50.0% 이하로 감소하였으며, 5-FU가 IL-2와 IFN-γ 유전자의 발현을 악화 시켜서 면역력을 감소시킴을 관찰할 수 있었다.

KH의 면역독성의 억제 효과를 알아보기 위하여 각 농도별로 처리한 군에서 비장을 추출한 후 IL-2와 IFN-γ 유전자 발현의 회복 정도를 관찰하였다. 그 결과 IL-2는 KH의 투여시에 뚜렷하게 회복되었으나 (Fig. 1) IFN-γ의 발현 역시 KH의 투여 용량이 증가함에 따라 회복되는 경향을 보였다 (Fig. 2).

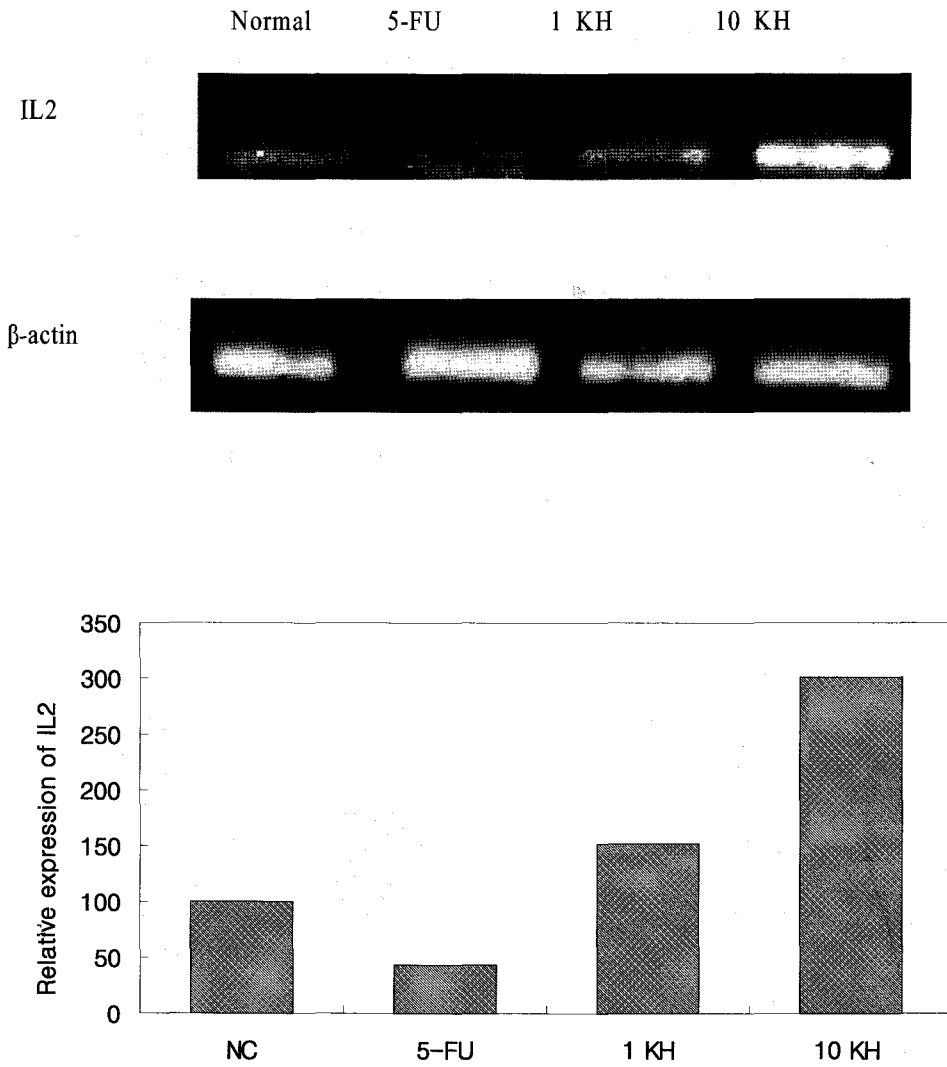


Fig. 1. Interleukine-2 gene expression in spleen of C57BL/6 mice

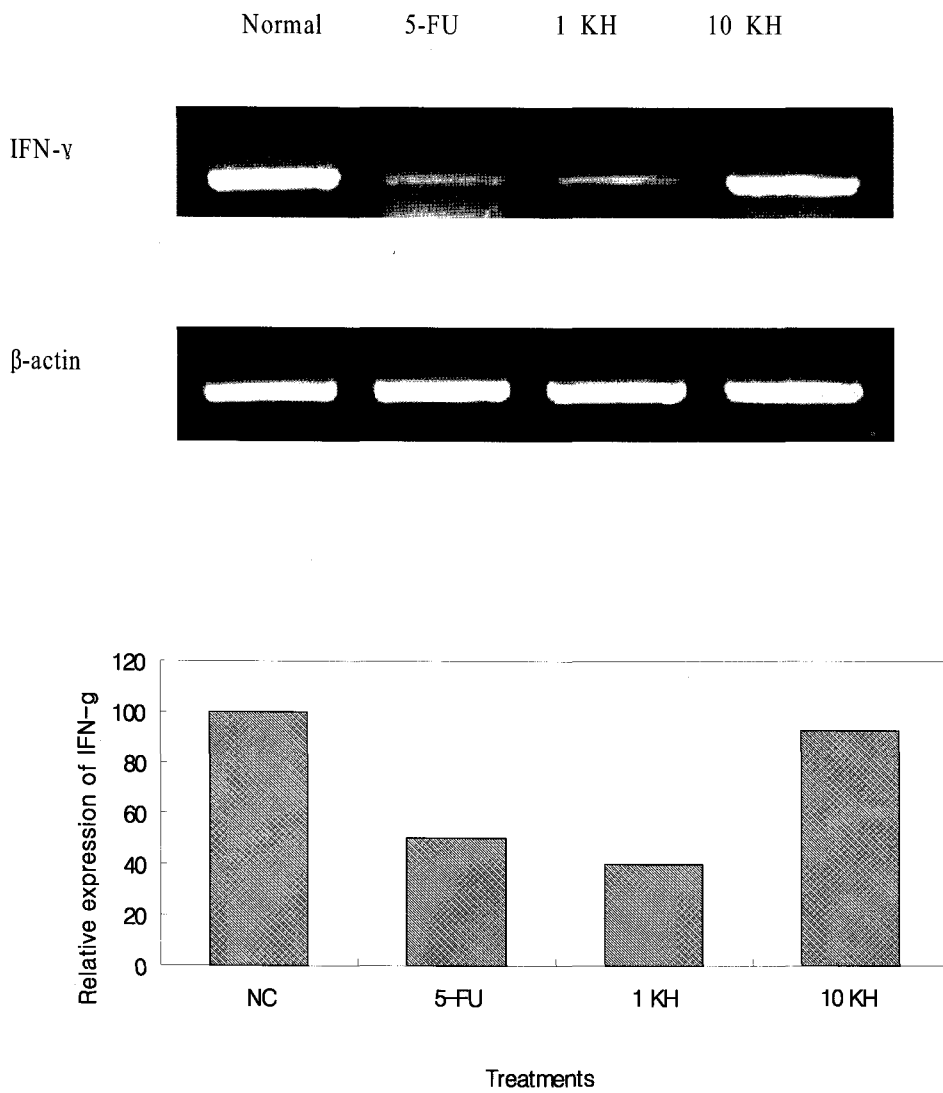
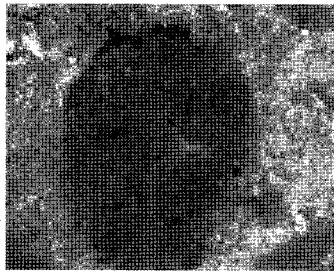


Fig. 2. IFN- γ gene expression in spleen of C57BL/6 mice

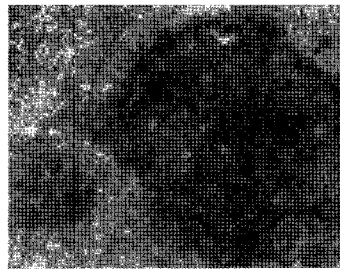
2. 6. *In Situ* hybridization을 통한 IL-2 mRNA 발현 부위의 변화

IL-2는 면역을 담당하는 임파구의 조절 및 발현에 관여하는 주요 면역조절물질로, 백혈구 사이의 정보 전달을 매개하는 분자이다. 본 연구에서는 항암제 처리에 따른 IL-2 발현량의 감소로 면역능이 저하되고, 한방제

제인 KH에 의해 회복되는 정도를 *In situ* hybridization 방법을 이용하여 마우스 비장 조직에서의 IL-2 mRNA 발현양상을 통해 알아보았다. 그 결과, 5-FU 단독처리군에 비해 5-FU 및 10 HD KH 병용처리군에서, IL-2 mRNA 발현량이 급격히 증가함을 확인 할 수 있었다 (Fig. 3).



(A) 5-FU



(B) 5-FU+10KH

Fig. 3. Interlukin-2 gene expression in spleen of C57BL/6 mice in situ hybridization

화학요법과 KH를 병용한 동물실험에서는 5-FU의 부작용에 대한 한약재 KH의 효과가 확인되었다. 5-FU 처리후에 감소된 백혈구 및 혈소판 수치에 있어서 KH의 경구투여에 의해 유의적으로 회복됨을 확인 할 수 있었다. Interleukin-2(IL2)와 Interferon- γ (IFN- γ)의 발현량을 RT-PCR 방법으로 분석한 결과, KH가 5-FU에 의해 감소된 이들 면역인자들의 발현을 회복시킴을 나타내었다. *In situ* hybridization을 통해 알아본 비장에서의 IL2의 mRNA 발현량에 있어서도, KH 처리시 발현량의 현격한 상승을 보였다. 반면에 항암효능에 있어서는 5-FU 단독처리시와 비교하여 여러 용량의 KH 처

리시에도 동일한 효과를 보였다. 위의 결과들로 미루어 볼 때, KH는 5-FU의 항암효능을 그대로 유지하면서 조절계의 부작용을 선별적으로 억제하는데 유용하다고 사료된다.

<색인어> 화학요법, 조절계, 흑색종, 인터페론 감마, 인터류킨 2

참고문헌

1. Duschinsky R, Plevin E, Heidelberg C, The synthesis of 5-fluorouracil. *J. Am. Chem. Soc.* 1957. 79, 4559-4560.
2. Skeel RT, *Handbook of Cancer Chemotherapy* Fifth Ed. 1999, Lippincott Williams & Wilkins, pp. 108-109.
3. Sugiyama,K., Ueda,H., Ichio,Y., and Yokota,M., Improvement of cisplatin toxicity and lethality by Juzen-taiho-to in mice. *Biol. Pharm. Bull.* 1995. 18(1), pp. 53-58.
4. Kumura Y, Okuda H, Prevention by chitosan of myelotoxicity, gastrointestinal toxicity, and immunocompetent organic toxicity induced by 5-fluorouracil without loss of antitumor activity in mice. *Jpn. J. Cancer Res.* 1999. 90: 765-774.
5. Cheng JH. Clinical study on prevention and treatment to chemotherapy caused nephrotoxicity with jian-pi yi-qi li-shui Decoction. *Chung-Kuo Chung Hsi i Chieh Ho Tsa Chih.* 1994. 14:331-3.
6. Liu JQ, Wu DW. 32 cases of postoperative osteogenic sarcoma treated by chemotherapy combined with Chinese medicinal herbs. *Chung-Kuo Chung Hsi i Chieh Ho Tsa Chih.* 1993. 13:150-2.
7. Ning CH, Wang GM, Zhao TY, Yu GQ, Duan FW. Therapeutical effects of jian pi yi shen prescription on the toxicity reactions of postoperative chemotherapy in patients with advanced gastric carcinoma. *Journal of Traditional Chinese Medicine.* 1988. 8:113-6.
8. Wang GM, Chen CH, Sun GZ. Clinical and experimental study in treating gastric cancer with replenishing qi and invigorating spleen oral liquid combined with chemotherapy. *Chung-Kuo Chung Hsi i Chieh Ho Tsa Chih.*1994. 14:661-3.
9. Yu G, Ren D, Sun G, Zhang D. Clinical and experimental studies of JPYS in reducing side-effects of chemotherapy in late-stage gastric cancer. *Journal of Traditional Chinese Medicine.* 1993. 13:31-7.