

원저

胡桃藥鍼의 Sarcoma-180 抗癌效果에 關한 實驗的 研究

이선구* · 강계성** · 권기록** · 최성모***

* 상지대학교 한의과대학 병리학교실

** 상지대학교 부속 한방병원 침구과

*** 상지대학교 한의과대학

ABSTRACT

The Study on Sarcoma-180 Anticancer Effects of *Juglandis Semen* Herbal-acupuncture(JsD).

Seon-Goo, Lee* · Kye-Sung, Kang** · Ki-Rok, Kwon** · Sung-Mo, Choi***

* Dept. of Pathology College of Oriental Medicine, SangJi Univ.

** Dept. of Acupuncture and Moxibustion SangJi Oriental Medicine Hospital, SangJi Univ.

*** Oriental Medical College, SangJi Univ.

Objectives : This study was purposed to investigate the sarcoma-180 anticancer effects of Herbal acupuncture with *Juglandis Semen*(JsD) in mice.

Methods : The *Juglandis Semen* Herbal-acupuncture was injected on Chung-wan(CV12) of mice with S-180 cancer cell line.

Results : The results obtained were summarized as follows;

1. Median survival time of S-180 cancer cell treated with *Juglandis Semen* Herbal-Acupuncture was not significant.($P < 0.05$)
2. Natural killer cell activity was insignificant .for S-180 cell treated with *Juglandis Semen* Herbal-Acupuncture Herbal acupuncture. ($P < 0.05$)
3. Interleukin-2 productivity of S-180 cell treated with *Juglandis Semen* Herbal-Acupuncture was not significant.($P < 0.05$)

Conclusions : According to the results, we can conclude Herbal-acupuncture with *Juglandis Semen* caused no effects in S-180 cancer cell.

Key words : *Juglandis Semen*, Herbal-acupuncture, Sarcoma-180 cancer cell, Natural killer cell activity, Interleukin-2 productivity.

1. 緒 論

* 교신저자 : 이선구, 강원도 원주시 우산동 상지대학교
한의과대학 병리학교실

Tel. 033-730-0664, E-mail : omdtid@lycos.co.kr

藥鍼療法은 疾病의 治療에 有關한 穴位나 壓痛點 等
에 氣味論을 따른 淨製된 韓藥製材를 注入하여 刺鍼과
藥物의 效果를 동시에 구현한 新鍼療法¹⁾으로, 韓醫學의

독창적인 분야 중의 하나이다.

현재 藥鍼療法은 크게 經絡藥鍼, 八綱藥鍼 그리고 蜂藥鍼으로 大別할 수 있으며²⁾, 胡桃藥鍼은 經絡藥鍼 中の 대표적인 潤劑로 臨床에 多用되고 있는 藥鍼製材이다.

胡桃는 胡桃科에 속한 落葉喬木인 호두나무(*Juglans sinensis* DODE.)의 成熟한 果實을 乾燥한 것으로³⁾, 性味는 溫甘無毒하고 腎肺經에 歸經하여 補腎強腰膝, 斂肺定喘의 效能⁴⁾을 가지고 있다. 최근에 들어 胡桃藥鍼에 관한 연구보고로 吉寸永星 等⁵⁾은 鎮痛效果, 金 等⁶⁾은 抗酸化 效果, 李 等⁷⁾ 肝組織 損傷에 미치는 影響, 李⁸⁾는 急性腎不全에 미치는 影響에 대한 연구 등이 발표되었으며, 胡桃藥鍼의 안정성과 독성에 대한 연구는 姜 等⁹⁾이 발표한 안정성에 대한 규명이 전부이다. 또한, 扶正祛邪의 效能으로 항암효과에 대한 약침제재에 관한 연구발표가 많아지고 있으나, 胡桃藥鍼의 항암효과에 대한 보고를 접할 수 없었다.

이에 저자는 胡桃를 이용하여 藥鍼液을 조제한 후, 면역반응에 대한 연구로 복강내에 Sarcoma-180 복강암 세포를 이식하여 和胃氣, 利中焦, 調乘降, 寬中하는 中脘(CV12)¹⁰⁾에 胡桃藥鍼을 주입한 후, 생존율, NK cell 활성도 및 Interleukin-2양을 측정하여 면역작용에 미치는 영향을 보고하는 바이다.

II. 實驗方法

1. 실험동물 및 재료

1) 실험동물

항암능 측정을 위하여 체중 25±3g 내외의 Balb/c계 음성 mouse를 한 군당 8마리로 하여 사용하였으며, 대한 실험동물센터에서 구입하여 2주 동안 고형사료와 물을 충분히 주며 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 실험재료

(1) 호도약침의 조제¹⁾

실험에 사용한 약침제재는 시중에서 호도(*Juglandis semen*)를 구입하여 지저분한 씨앗을 기류시스템에 의해 깨끗한 씨와 불필요한 찌꺼기를 분리하였다. 깨끗한

씨는 박피기에 의해 피층을 제거하고 껍질이 제거된 씨의 알맹이는 분쇄롤로 분쇄하여 준비된 알맹이를 screw press에 넣어 열은 가하지 않은 상태에서 압력만 가해 기름성분을 추출하였다. 이때 거친 찌꺼기는 bin에 저장되어 버려지고, 착유된 윤제는 정치탱크에 보관하여 가라앉은 앙금은 제거한 상층액을 취하고 나서, 3일 정도 대한약침학회의 무균실에 보관하였다. 무균실에 보관된 상층액을 먼저 whatman 여과지로 2번 1차 여과를 한 뒤, 0.45µm, 0.2µm 여과막 순으로 3차 여과하였다. 여과된 윤제를 오염되지 않게 멸균된 용기에 일정 용량 주입하였고, 산화방지를 위하여 질소가스를 충전한 다음 밀봉하여 random sampling하여 시료를 준비하였다.(Fig 1.)

(2) 약침기

26 gauge 1ml insulin syringe(Becton Dickinson, U.S.A.)를 사용하였다.

2. 실험방법

1) 암세포의 배양

(1) 배지의 구성

① 기본배지의 준비

RPMI 1640(Gibco, U.S.A.)에 sodium bicarbonate(Shinyo-pure Chemicals Co., LTD., Japan) 2g과 fungizone(Gibco, U.S.A.) 4 ml, penicillin G(100,000 units/ml) 1 ml, streptomycine(100mg/ml, Sigma, U.S.A.) 1 ml를 증류수에 넣어 1,000ml로 조정하고 pH를 7.2로 맞춘 다음, 0.22µm 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°C에서 30분간 inactivation시킨 후 RPMI 1640 기본배지에 10%의 농도가 되도록 조정하여 사용하였으며(이하 혼합배지라 칭함), 이것으로 암세포의 배양전반에 사용하였다.

③ 암세포의 배양

복강암을 유발시키기 위한 암 세포주는 한국세포주은행(KCLB, Korean Cell Line Bank)에서 동결상태의 sarcoma-180 세포주를 분양받아 이를 녹인 후, 혼합배지

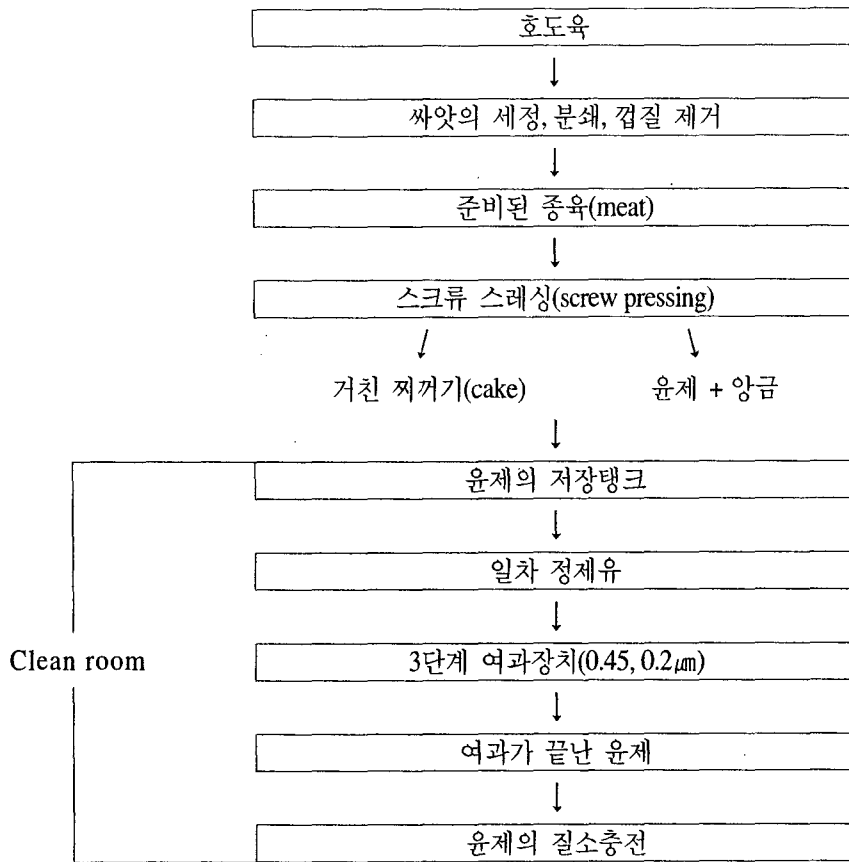


Fig 1. Manufacturing process of Juglandis Semen Herbal-Acupuncture

에 부유시켜 5% CO₂ 배양기(존샘, 한국)안에서 배양시켜 세포수가 지수증식기에 접어들었을 때 수거하여 Balb/c 계 생쥐에게 사용하였다.

④ 암세포 유발

생존을 측정의 경우 지수증식기에 접어든 sarcoma-180 세포를 수거하여 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.2)로 2회 원심세척한 후, 대조군과 호도약침 투여군 생쥐의 복강에 4×10⁶cells/0.2ml씩 주입하여 30일 동안 복강암의 유발 유무와 생존여부를 관찰하였다.

NK cell activity와 IL-2양의 측정에는 지수증식기에 이른 sarcoma-180 세포를 수거하여 생쥐의 복강에 4×10⁶cells/0.2ml씩 주입한 뒤 21일째 치사시켜 비장세포를 수거하여 사용하였다.

3. 실험항목 및 내용

1) Sarcoma-180에 대한 항암효과 실험

(1) 생존율 측정

지수증식기에 이른 sarcoma-180 세포를 수거하여 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.2)로 2회 원심세척한 후, 대조군과 실험군 복강에 4×10⁶cells/0.2ml씩 주입하여 30일 동안 복강암의 유발 유무와 생존여부를 관찰하였다. 관찰 30일까지 복강암이 유발되지 않은 경우는 생존을 계산에서 제외하였다. Geran 등¹⁰⁾이 기술한 median survival time을 이용하여 생존증가율(increase of life span)을 산출하였다.

$$\text{Median survival time} = \frac{X + Y}{2}$$

$$\text{생존증가율} = \frac{T - C}{C} \times 100$$

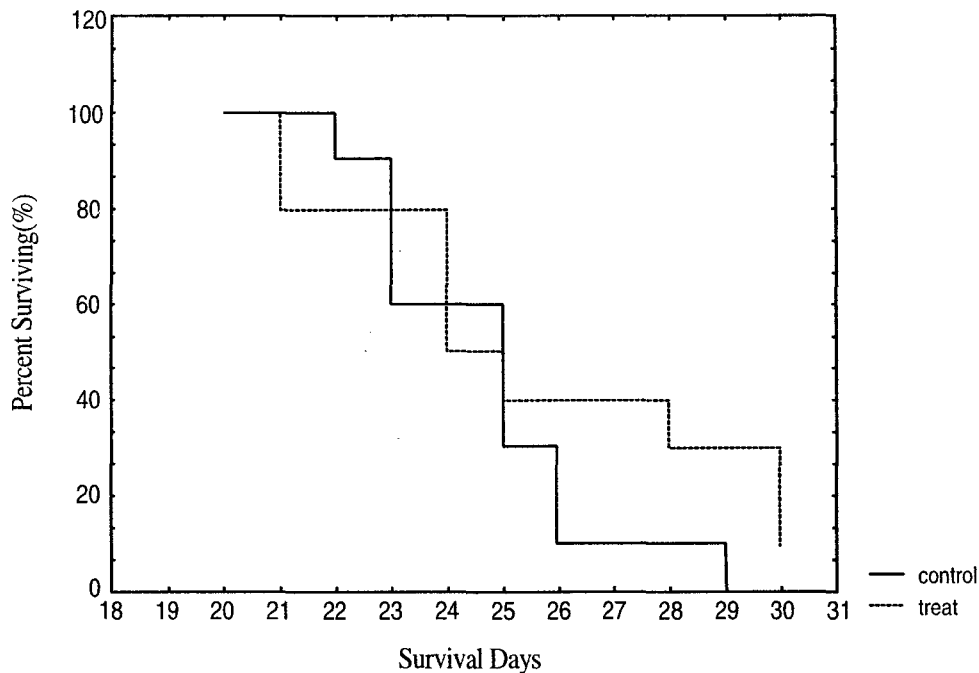


Fig 2. Median survival time of mice treated intraperitoneally with Juglandis Semen Herbal-Acupuncture in vivo.

Control : treated with normal saline

Treat : treated with Juglandis Semen Herbal-Acupuncture(0.2cc)

에 사용된다. 本草綱目¹³⁾에 “補氣養血, 潤燥化痰, 益命門, 利三焦, 溫肺潤腸”이라 하였듯이 補益의 效能이 강한 藥物이다. 胡桃의 성분으로는 지방유가 21-50%를 함유하고 있으며, 주성분은 glyceryl linoleate이고 소량의 linolenic acid와 glyceryloleate도 혼합되어 있다¹⁴⁾. 또한 단백질, 탄수화합물, 칼슘, 인, 철, 카로틴, 비타민 B2를 함유하고 있다.

藥鍼療法은 經絡學說의 原理에 의거하여 한약재를 선택하여 有關한 穴位, 壓痛點 및 陽性 反應點에 注入하여 刺針과 藥物作用을 통하여 生體의 機能을 調整하고 病理狀態를 개선시켜 질병을 치료하는 新鍼療法¹⁵⁾이다.

현재 藥鍼療法은 크게 經絡藥鍼, 八綱藥鍼 그리고 蜂藥鍼으로 大別할 수 있으며¹⁶⁾, 胡桃藥鍼은 經絡藥鍼中의 대표적인 潤劑로 咳嗽, 喘息, 氣管支炎, 腰痛, 頭痛, 項強痛, 神經精神疾患, 關節疾患뿐만 아니라 虛症의 補潤을 하는 慢性痛症性 疾患에 多用되고 있는 藥鍼製材이다¹⁷⁾.

현재까지 발표된 胡桃藥鍼에 대한 연구보고로는, 吉寸永星 等¹⁸⁾은 鎮痛效果, 金 等¹⁹⁾은 抗酸化 效果, 李 等²⁰⁾은 肝組織 損傷에 미치는 影響, 李²¹⁾는 急性腎不全에 미치

는 影響에 對한 研究 등이 있다.

호도의 효능이 補氣養血¹³⁾하므로 호도약침이 면역기능계에 어떤 영향을 미치는가를 알아보기 위해 Sarcoma-180 복강암 세포를 mouse의 복강내에 주입한 후 그 결과를 관찰하였다.

서양의학에서 말하는 암 혹은 악성종양은 ‘조직의 자율적인 과잉성장이며, 이것은 개체에 대하여 이롭지 않을 뿐더러 정상조직에 대해 파괴적인 것’이라고 정의되어 있다¹⁵⁾.

서양의학의 종양에 대한 치료법은 예방적인 면에서 일차예방으로 생활습관의 개선, 화학예방이며, 이차예방은 조기 진단을 들 수 있다¹⁶⁾. 진단이 된 암의 치료방법으로는 외과적 수술요법, 방사선 요법, 약물 요법, 항화학 요법, 면역 요법, 호르몬 요법 및 골수나 조혈모세포의 이식 등의 유전자 요법들이 있다.

韓醫學에서는 殷墟의 胛骨文에 ‘瘤’라는 病名이 나타나고¹⁷⁾, 內經¹⁸⁾에 石癥, 腸澼, 骨疽, 肉疽, 積聚, 瘤 등으로 표기를 하였다.

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된다¹⁹⁾. 최근에 들어 韓藥의 效果와 鍼의 效果를 이용한 藥鍼療法이 臨床에서 널리 應用되고 있으며, 藥鍼液을 이용한 抗癌效果와 免疫에 대

한 연구가 활발히 進行되고 있다. 현재까지 발표된 藥鍼液 抗癌研究로는 金²⁰⁾이 人蔘水鍼을, 權 等²¹⁾은 蜂毒藥鍼을, 李²²⁾는 四君子湯 및 四物湯 藥鍼을, 金²³⁾은 金銀花

Table 2. Natural Killer cell Activity of the sarcoma-180 cell bearing Mice treated with Juglandis Semen Herbal-Acupuncture according to E/T ratio.

Group	E/T ratio %	Cytotoxicity
Normal	100:1	40.80 ± 0.89
	50:1	39.96 ± 1.70
	10:1	38.02 ± 0.22
Control	100:1	43.18 ± 8.14
	50:1	40.11 ± 1.98
	10:1	34.60 ± 0.92 ^b
Treat	100:1	43.51 ± 5.62
	50:1	41.56 ± 1.00 ^{ac}
	10:1	37.44 ± 0.33 ^{ac}

Values are Mean Standard deviation.

Normal : Non-treated group

Control : treated with normal saline

Treat : treated with Juglandis Semen Herbal-Acupuncture(0.2cc)

a : Treat was compared with a normal by students' two-tailed t test. (P<0.05)

b : Control was compared with a normal by students' two-tailed t test. (P<0.05)

c : Treat was compared with a control by students' two-tailed t test. (P<0.05)

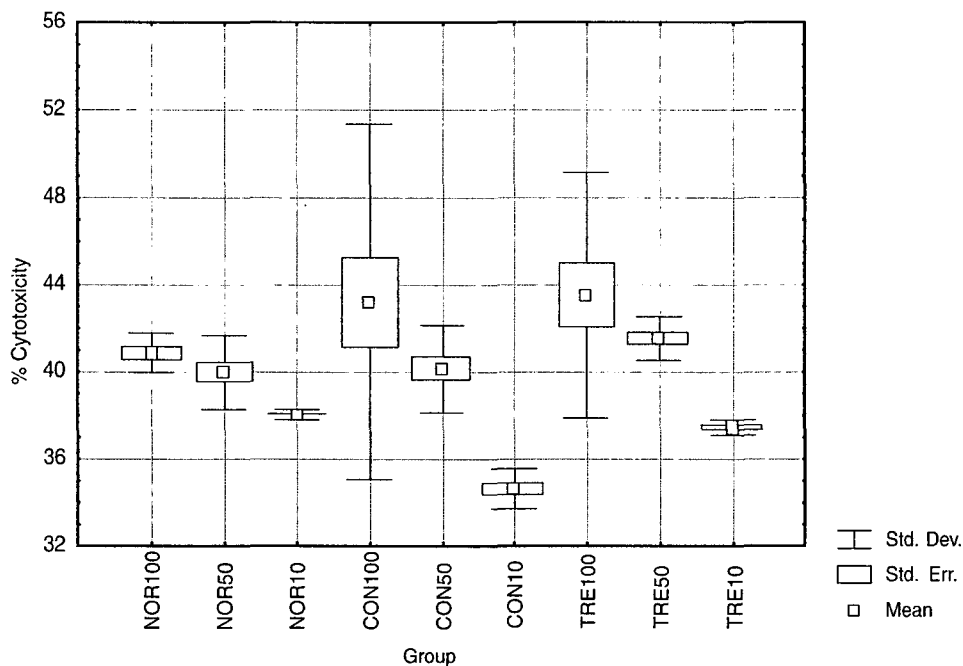


Fig 3. Natural Killer cell Activity of the sarcoma-180 cell bearing Mice treated with Juglandis Semen Herbal-Acupuncture according to E/T ratio.

藥鍼을, 金²⁴⁾은 全蝎 藥鍼液을, 朴²⁵⁾은 益智仁藥鍼을, 李²⁶⁾는 絲子藥鍼을, 배²⁷⁾는 魚腥草藥鍼으로 抗癌效果和 免疫作用에 대한 연구보고를 하였다. 그러나 補腎固精, 溫肺定喘, 潤腸의 效能³⁾을 가진 胡桃藥鍼의 抗癌效果和 免疫效果에 대한 보고는 접할 수가 없었다.

Sarcoma-180 복강암에서 호도약침의 생존율을 측정한 결과 median survival time은 대조군은 25일, 실험군은 26

일을 나타내었고, 생존 증가율은 실험군이 대조군에 비하여 3.85%를 나타내었으나, 유의성은 없었다.(Fig 2.) NK cell 활성화도 측정 검정결과 대조군은 작동세포와 표적세포의 비율이 100:1일때 43.18±8.14, 50:1일때 40.11 1.98, 10:1일때 34.60±0.92를 나타내었다. 실험군의 경우 100:1일때 43.51±5.62, 50:1일때 41.56±1.00, 10:1일때 37.44±0.33을 나타내었으나 유의성은 없었다.(Table 1.

Table 2. Interleukin-2 Productivity of the Sarcoma-180 Cell Bearing Mice Treated with Juglandis Semen Herbal-Acupuncture

Group	Interleukin-2(pg/ml)
Normal	62.97±17.56
Control	88.12±56.26
Treat	88.49±63.93

Values are Mean Standard deviation.

Normal : Non-treated group

Control : treated with normal saline

Treat : treated with Juglandis Semen Herbal-Acupuncture(0.2cc)

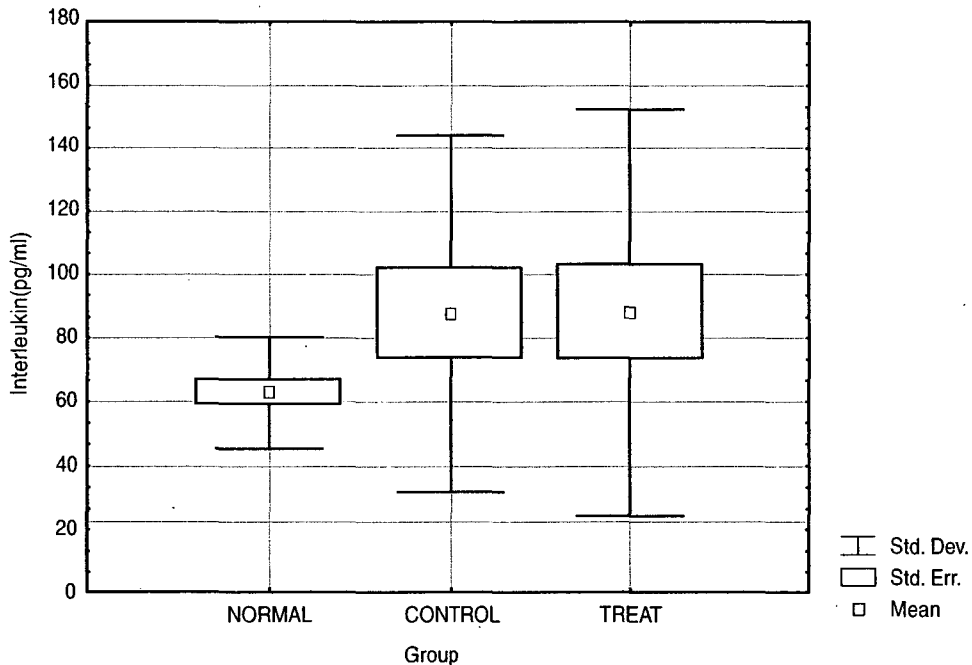


Fig 4. Interleukin-2 Productivity of the Sarcoma-180 Cell Bearing Mice treated with Juglandis Semen Herbal-Acupuncture

Normal : Non-treated group

Control : treated with normal saline

Treat : treated with Juglandis Semen Herbal-Acupuncture(0.2cc)

& Fig 3.) 대조군은 작동세포와 표적세포의 비율이 10:1에서 정상군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내어 NK 세포의 활성도가 저하되었으나, 실험군은 정상군에 비해 저하되지 않았음을 알 수 있었다. Interleukin-2의 생산능 검역 검사에서는 정상군이 $62.97 \pm 17.56 \text{pg/ml}$, 대조군은 $88.12 \pm 56.26 \text{pg/ml}$, 실험군은 $88.49 \pm 63.93 \text{pg/ml}$ 를 나타냈으나, 유의성은 없었다.(Table 2. & Fig 4.)

이상과 같은 실험결과로 보아 호도약침의 독성 반응은 나타나지 않아 임상적으로 안전한 약침제제를 알 수 있었고, sarcoma-180 복강암 세포를 이용한 항암효과에서는 대조군에 비해 NK cell의 활성도를 정상군과 같은 범위로 유지시키는 작용을 하는 것으로 나타났지만, 정상군에 비해 활성도의 상승을 나타내지 않아 항암효과가 있다고 판단하기는 어려웠다. 위의 결과를 종합해 볼 때, 호도약침은 독성의 반응이 없어 상당히 안전한 치료용 약침제제이며, 효능에 대한 규명은 앞으로 더욱더 많은 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다.

V. 結 論

호도약침액의 항암효과를 관찰하기 위해 Sarcoma-180 복강암 세포를 주입한 mouse에서 생존율, NK cell 활성도 및 IL-2양을 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Sarcoma-180 복강암 항암효과 실험에서 생존율을 측정된 결과, 유의성을 나타내지 않았다.
2. NK cell 활성도 측정 검정결과 대조군은 작동세포와 표적세포의 비율이 10:1에서 정상군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내어 NK 세포의 활성도가 감소하였으나, 실험군은 큰 변화가 없었다.
3. Interleukin-2의 생산능 측정결과 유의성을 나타내지 않았다.

參考文獻

1. 대한약침학회 : 약침요법 시술 지침서. 대한약침학회. 서울. pp13-14, 112-118, 140-141. 1999.
2. 강대인, 권기록 : KGMP를 대비한 국내약침제제의 조제현황과 미생물 검사보고. The 1'st Journal of

- International Congress of KIHA. Vol. 4. No. 1. pp49-62. 2001.
3. 全國韓醫科大學 本草學教授 編 : 本草學. 永林社. 서울. pp566-567. 1994.
4. 上海中醫學院 編 : 中草藥學. 商務印書館香港分館. 香港. pp540-541. 1983.
5. 吉寸永星, 姜成吉 : 荏油 및 胡桃油水鍼이 鎮痛效果에 미치는 影響. 서울. 慶熙韓醫大論文集. Vol. 10. pp151-168. 1987.
6. 金永海, 金甲成 : 胡桃藥鍼液의 抗酸化 效果에 對한 研究. 大韓韓醫學會誌. Vol. 17. No.1. pp9-20. 1996.
7. 李京泰, 宋春浩 : 胡桃藥鍼液이 水銀에 의한 肝組織 損傷에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. Vol. 16. No. 3. pp221-230. 1999.
8. 李炳薰 : 胡桃藥鍼이 Glycerol에 急性腎不全 誘發時 家兔의 尿濃縮能의 障礙에 대한 影響. Vol. 18. NO. 3. pp114-122. 2001.
9. 崔容泰 : 鍼灸學(上. 下). 集文堂. 서울. pp1457-1467. 1993.
10. 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, pp48-59. 1972.
11. Daniel, W. W : A foundation for analysis in the health sciences. New York:Wiley 3rd edition. pp136-146. 1983.
12. 黃宮繡 : 本草求真. 宏業書局有限公司. 台北. p49. 1981. 13. 湖北省中醫藥研究院醫史文獻研究室 : 本草綱目精要. 廣東科技出版社. 廣東省. pp325-327. 1990.
14. 金昌玖 外 : 完譯 中藥大辭典. 圖書出版 鼎談. 서울. pp4826-4829. 1997.
15. 서울대학교 의과대학 : 종양학. 서울대학교 출판부. 서울. pp1-3, 137-143, 225-234. 1992.
16. 전국의과대학교수 역 : Current Medical Diagnosis & Treatment. 도서출판 한우리. 서울. pp69-107. 1999.
17. 崔昇勳 : 東醫腫瘍學. 杏林書院. 서울. pp13-42. 1995.
18. 楊維傑 編 : 黃帝內經素問靈樞譯解. 成輔社. 서울. p41, 45, 97, 168, 243, 407, 447, 469, 473, 577, pp295-296. 1980.

19. 田炳旭 外 : 癌腫의 病因病理에 關한 文獻的 考察. 大韓韓方腫瘍學會誌. Vol. 1. No. 1. pp83-101. 1995.
20. 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. Vol. 9. No. 2. pp33-44. 1988.
21. 權奇祿 外 : 蜂毒藥鍼刺戟이 3-MCA 誘發 上皮腫에 對한 抗癌 및 免疫反應에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. Vol. 14. No. 2. pp151-172. 1997.
22. 李秉烈 : 四君子湯 및 四物湯 藥鍼이 免疫反應에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. Vol. 18. No. 1. pp357-374. 1997.
23. 金중완 : 金銀花 藥鍼液이 抗癌 및 癌豫防 效果에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. Vol. 16. No. 2. pp261-284. 1999.
24. 김소형 : 全蝎 藥鍼液의 抗突然變異 및 抗癌 效果. 大韓鍼灸學會誌. Vol. 17. No. 3. pp151-167. 2000.
25. 朴祥鎔 : 益智仁藥鍼이 抗癌 및 免疫機能에 미치는 實驗的 研究. 大韓鍼灸學會誌. Vol. 18. No. 3. pp79-93. 2001.
26. 이재복 : 菟絲子藥鍼이 抗癌作用 및 免疫效果에 對한 實驗的 研究. 大韓鍼灸學會誌. Vol. 18. No. 3. pp94-104. 2001.
27. 배원형 외 : 魚腥草藥鍼이 B16黑色腫 癌모델에 對한 抗腫瘍效果 및 免疫反應에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. Vol. 18. No. 1. pp186-201. 2001.