

# 消癌去痰益氣湯의 cyclophosphamide 부작용 형성 억제효과

홍종희, 류기원, 류봉하, 윤상협, 김진성

경희대학교 부속한방병원 3내과

## The Inhibitory Effects of Soamgudamikgitang on the Side Effects of Cyclophosphamide

Jong-Hee Hong, Ki-Won Ryu, Bong-Ha Ryu, Sang-Hyub Yoon, Jin-Seong Kim

Dept. of 3rd Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunghee University

**Objective** : It is well known that modern chemotherapy against cancer has side effects to a living body, especially hemopoietic and immunological disfunctions. However, there are no effective ways to reduce them.

Recently, traditional Korean herb medicine has been reported to have some biological modifying responses. Therefore, we hypothesized that additional application of herb medicine during chemotherapy is more effective to reduce its side effects. While we were studying the effects, we have observed the inhibitory effect of Soamgudamikgitang on formation of side effects derived from Cyclophosphamide, it has been used in clinical practice at Kyung Hee Medical Center.

**Methods** : We injected 200mg/kg of Cyclophosphamide, one time, to an experimental group, consisting of ten mice. We divided them into eight groups: normal, CPX, SAKT 2mg, SAKT 10mg, SAKT 50mg, SAKT 2mg+CPX, SAKT 10mg+CPX, SAKT 50mg+CPX.

We injected Soamgudamikgitang seven days, five days, three days, and one day before we injected CPX. One day, three days, and five days after CPX injection, we injected Soamgudamikgitang again and then killed all the mice.

The parameters determined in this experiment were daily body weight liver and spleen weight, RBC, WBC, and platelet for hemopoietic dysfunction and AST, ALT for hepatotoxicity, BUN, creatine for renal toxicity, lymphocyte proliferation activity and lymphocyte subsets for immunological toxicity.

**Results** : We have found that Soamgudamikgitang has inhibitory effects on the formation of Cyclophosphamide's side effects. Significant differences between the group, which contained Cyclophosphamide, and the other group, which contains Cyclophosphamide and 2, 10, 50mg of Soamgudamikgitang respectively were observed.

Platelets(2mg of Soamgudamikgitang,  $p<0.05$  ;10mg,  $p<0.01$  ;50mg,  $p<0.001$ ), liver weight(50mg,  $p<0.01$ ), spleen weight(10mg,  $p<0.05$ ), AST(all groups,  $p<0.01$ ), ALT(2mg,  $p<0.01$  ;10mg,  $p<0.05$  ;50mg,  $p<0.01$ ), BUN(2mg,  $p<0.01$  ;50mg,  $p<0.05$ ). Although immunological in both lymphocyte proliferation and its subsets were not observed, which shows that Soamgudamikgitang has a strong effect on T cell activities.

**Conclusions** : From the above results, we can expect that the combined therapy of Soamgudamikgitang and Cyclophosphamide is more effective for treating cancer patients.

**Key Words** : Soamgudamikgitang, Cyclophosphamide, side effects.

## I. 緒 論

암은 세계적으로 사망원인의 1, 2위를 차지하며, 발병기전이 불명확한 난치성 질병으로 기초적·임상적 연구가 꾸준히 진행되고 있다<sup>1,2</sup>.

암에 대한 최근의 치료는 외과적 수

술요법·방사선요법·항암 화학요법·면역요법 및 암의 특성에 따라 이들을 병용하는 방법에 의해서 이루어지고 있다. 지금까지의 이들 요법의 문제점은 치료의 부작용과 암세포에 대한 내성의 형성이다<sup>3,4</sup>. 특히 항암 화학요법제들은

암세포뿐만 아니라 정상세포에도 독성을 나타내어 다양한 부작용을 초래한다. 그중 가장 흔한 것이 조혈 및 면역기능의 억제인데, 이는 지속적인 항암치료를 저해하는 요인이 되기도 한다. 그래서 특이적이고 선택적인 효능을 지닌 항암제가 요구되지만 이러한 효능을 지닌 항암제의 사용은 아직도 요원한 실정이다. 따라서 이러한 문제점을 극복하기 위한 해결책의 하나로 동서협진에 의한

접수: 2002년 4월 9일 채택: 2002년 5월 6일  
교신저자: 홍종희 (서울특별시 중대문구 회기동 1 경희의료원 한방병원 3내과, 전화: 02)958-9140, FAX: 02)958-9136, E-mail: orient73@hanmail.net)

암치료를 모색하는 것이 의미가 있다고 하겠다.<sup>3,5</sup>

최근 한약의 항종양효과에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 연구 주제별로 살펴보면 한약의 항암작용에 관한 연구로는 敗醬<sup>6</sup>, 蓬朮<sup>7</sup>, 紫菀<sup>8</sup>, 靈芝<sup>9</sup>, 東風菜<sup>10</sup>, 枳實<sup>11</sup>, 黃芩<sup>12</sup>, 鬱金<sup>13</sup> 등이 있고, 항암제와 병용투여에 관한 연구로는 茯苓丸<sup>14</sup>, 歸朮破癥湯<sup>15</sup>, 穿山甲散<sup>16</sup>, 扶正解毒煎<sup>17</sup>, 十全大補湯<sup>18</sup>, 生白湯<sup>19</sup>, 防毒湯<sup>20</sup>, 消腫解毒方, 軟堅散結方, 化癥消滯方<sup>21</sup> 등이 있으며, 항암제에 의한 부작용 억제에 관한 연구로는 消積白朮散<sup>22</sup>, 蔘茸湯<sup>23</sup>, 少陰人 補中益氣湯<sup>24</sup>, 香砂養胃湯<sup>25</sup> 등이 있고, 방사선 치료의 부작용 억제에 관한 연구로는 蔘茸扶正湯<sup>26</sup>, 加味香砂六君子湯<sup>27</sup> 등이 있다. 대체로 항암작용이나 면역반응에 관한 연구가 많고 항암제나 방사선의 부작용 억제에 관한 연구는 상대적으로 적었다.

현재 경희의료원 동서 암센터에서 활용중인 消癆去痰益氣湯은 항암 및 면역기능 증강의 목적으로 투여중이나, 아직 이 방면에 대한 항암 및 종양면역학적 연구와 화학요법제와의 병용효능에 대한 기초적 연구는 시도된 적이 없다. 이에 著者は 消癆去痰益氣湯의 cyclophosphamide 부작용 억제에 미치는 영향을 마우스의 체중 측정, 조혈기능 측정, 간 및 신장 독성에 미치는 효과를 통해 관찰하였으며, 消癆去痰益氣湯의 비특이적 면역증강 효과를 조사하기 위해 비장세포의 proliferation assay를 실시하였고, 비장세포의 phenotype의 변화를 측정하기 위해 FACS 분석을 실시한 결과 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實驗

### 1. 材料

#### 1) 動物

동물은 음성 6주령의 ICR 마우스(28 ± 1.2g)를 대한실험동물(주)에서 공급받아 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하면서 2주일간 실험실 환경(실온 22 ± 2℃, 습도 40-60%, 12시간 간격의 명암 조절)에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

#### 2) 藥物

이 연구에 사용된 消癆去痰益氣湯은 慶熙韓方處方集에 수록되어 있으며 처방내용과 1첩 분량은 Table 1에 나타나 있다. 실험은 처방집 내용에 따라 慶熙醫療院 韓方病院 藥劑科에서 조제된 extract를 사용하였다. extract 1첩의 분량은 6g이다. (Table 1).

### 2. 方法

#### 1) Cyclophosphamide 및 검액 투여

Cyclophosphamide를 정상 대조군을 제외한 모든 실험군에 200mg/kg을 피하

주사하였으며, cyclophosphamide의 부작용을 억제하기 위하여 消癆去痰益氣湯을 마우스당 각각 2mg, 10mg, 50mg씩 경구투여하였다. 검액은 항암제를 투여하기 7, 5, 3, 1일 전에 미리 투여하였고, cyclophosphamide 처리후 각각 1, 3, 5일에 추가적으로 투여하였으며 6일째에 마우스를 희생시켰다. 실험에 사용한 마우스는 각 군당 10마리로 하였다.

#### 2) 마우스의 체중 측정

외형상의 변화를 조사하기 위해서 마우스의 체중을 실험종료 때까지 매일 측정하였다.

#### 3) 조혈기능 측정

실험 종료 후 실험에 사용한 마우스의 심장으로부터 혈액을 취하여 혈중 적혈구, 백혈구, 혈소판의 숫자를 Finio 법<sup>28</sup>에 준하여 Culter counter(Culter사, Germany)로 측정하여 조혈기능의 이상을 조사하였다.

#### 4) 간 및 신장 독성 측정

실험 종료 후 마우스로부터 간장의 무게를 측정하였고, 분리한 혈액에서 간

Table 1. Prescription of Soamgudamikgitang

韓藥名	生藥名	用量(g)	韓藥名	生藥名	用量(g)
半枝蓮	Portulacea Herba	20	天麻	Gastrodiae Rhizoma	6
白花蛇舌草	Oldenlandiae diffusae Herba	20	白朮	Atractylodis Macrocephalae Rhizoma	4
人蔘	Ginseng Radix	20	神麩炒	Massa Medicata Fermentata	4
黃芪	Astragali Radix	20	澤瀉	Alismatis Rhizoma	4
地榆(炭)	Sanguisorbae Radix	12	五靈脂	Trogopterus Faeces	4
白芍藥(炒)	Paeoniae Radix	12	乳香	Olibanum	4
海螵蛸	Os Sepiae	12	沒藥	Myrrha	4
牡蠣粉	Ostreae Testa	12	玄胡索	Corydalis Tuber	4
白茯苓	Poria	12	草果	Tsaoko Fructus	4
龍眼肉	Longanae Arillus	12	三稜	Sparganii Rhizoma	4
白茯苓	Hoelen	12	蓬朮	Zedoariae Rhizoma	4
半夏薑製	Pinelliae Tuber	6	乾薑(炒黑)	Zingiberis Rhizoma	2
陳皮	Auratii nobilis Pericarpium	6	黃柏	Phellodendri Cortex	1
麥芽(炒)	Hordei Fructus Germinatus	6	生薑	Zingiberis Rhizoma	6
蒼朮	Atractylodis Rhizoma	6			
Total			243g		

장독성 및 신장독성 유무를 조사하였다. 간장독성은 혈중 AST, ALT 농도로 평가하였고, AST, ALT 활성도 측정은 Reitman-Frankel법<sup>29</sup>을 이용한 혈청 transaminase 측정용 시약(Iatron, Japan)을 사용하였다. 신장독성은 혈중 BUN, creatinine의 농도로 평가하였으며, 혈중 BUN 함량 측정은 urease indophenol법<sup>30</sup>을, creatinine 함량 측정은 Jaffe의 반응을 이용한 비색정량법<sup>31</sup>을 사용하였다.

5) Lymphocyte proliferation assay

실험 종료 후 마우스로부터 비장을 취하여 무게를 측정하였고, 그 후 비장을 mono cell로 분쇄한 다음 in vitro에서 mitogen과 동시에 배양하면서 mitogen에 의한 비장세포의 반응성을 조사하였다. 실험법을 요약하면, 각 군의 비장세포를 96 well plate의 각 well에  $2 \times 10^5/100 \mu\text{l}$ 가 되도록 넣고 concanavalin-A(이후 Con-A) 및 lipopolysaccharide(이후 LPS)를 각 mitogen의 최종농도가  $5 \mu\text{g/ml}$ 이 되도록 조정하여 첨가하고 72시간 배양하였다. 각 mitogen의 반응성 측정은 배양 종료 6시간 전에 MTT 용액(3-[4,5-dimethyl thiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)을 넣고 형성된 formazan을 Dimetyl sulfoxide 용액으로 용해시켜 570nm에서 흡광도를 측정함으로써 구하였다.

6) FACS analysis

실험 종료후 마우스로부터 비장을 취하여 homogenizer를 이용하여 멸균적으로 lymphocytes를 만들고 형광 염색한다. 형광염색법을 요약하면, 비장 백혈구 현탁액을 FACS tube(Becton-

Dickinson, U.S.A)에  $5 \times 10^6$ cells/well이 되도록 조정한 후, 0.3ml의 staining buffer를 넣고 vortex한 후 원심분리(1300rpm, 5min)한다. FACS 분석을 위하여 각 세포에 대한 1차 항체-FITC 용액(fluorescein isothiocyanate)을  $100 \mu\text{l}$ 씩 넣고 vortex한 후 40분간 ice에서 반응시킨다. 반응 완료 후 Phosphate buffered saline(PBS)을 이용하여 3회 세척 후, FACScan(fluoresceine activated cell sorter)으로 분석한다. 결과의 분석은 forward scatter(FSC)와 side scatter(SSC)의 dual parameter를 이용한 dot plot상에서 전체 비장세포와 small lymphocyte 영역 및 lymphoblast 영역을 구분하여 그 중의 B cell(CD19<sup>+</sup>), T cell(CD3<sup>+</sup>), CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>의 비율(gated, %)을 산출한다.

7) 통계처리

각 실험군과 대조군 사이의 유의성 검사는 Mann-Whitney U Test로 시행하였으며,  $p < 0.05$ 인 경우 유의성 있는 것으로 판단하였다.

III. 成 積

1. 마우스의 체중 변화

消癌去痰益氣湯이 cyclophosphamide의 부작용을 억제시키는 효과를 알아보기 위하여 마우스의 체중변화를 조사하였다. 실험에 사용한 시점의 6주령 웅성 ICR 마우스의 체중은  $28 \pm 1.2\text{g}$ 이었다. cyclophosphamide 투여 및 실험종결 시점에서의 각 군간의 체중 역시 유의한 차이를 관찰할 수 없었다. 하지만 cyclophosphamide를 투여 받은 모든 군은 정상 마우스군에 비하여 체중의 증가가 정체하는 경향을 나타내었다.(Figure 1)

2. 조혈 기능의 변화

消癌去痰益氣湯의 cyclophosphamide 부작용 억제 효과중, 조혈기능의 변화를 관찰하기 위하여 적혈구, 백혈구, 혈소판의 숫자를 측정하였다. cyclophosphamide 투여에 의한 조혈기능 이상은 적혈구의 감소로만 나타났다( $p < 0.05$ ). cyclophosphamide와 消癌去痰益氣湯을 투여한 군에서는

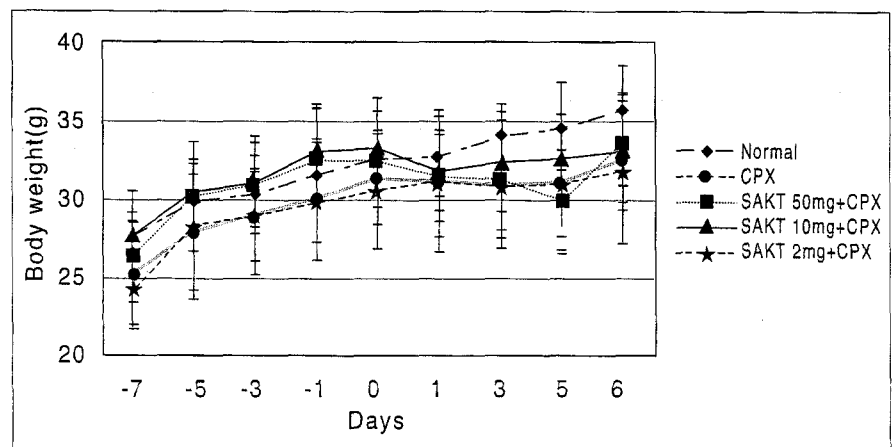


Fig. 1. Changes of Body Weight in Each of Normal, Cyclophosphamide Treated, and Cyclophosphamide Plus Soamgudamkigitant Treated Mice.

cyclophosphamide 단독 투여군과 비교하여 혈소판의 경우는 모든 용량에서 유의성 있게 수치가 증가하였다 ( $p < 0.05 \sim 0.001$ ). 그러나 적혈구와 백혈구에 대해서는 통계적 유의성이 관찰되지 않았다.(Table II).

### 3. 간 및 비장의 무게 변화

消癌去痰益氣湯의 항암제 cyclophosphamide 부작용 억제 효과중, 간 및 비장의 무게 변화를 관찰하였던 바 cyclophosphamide를 투여한 군에서는 간장( $p < 0.01$ ) 및 비장( $p < 0.01$ )의 무게

가 현저히 감소하여 간장과 비장에 독성을 나타냄을 알 수 있었다. 이에 비해 cyclophosphamide와 消癌去痰益氣湯을 함께 투여한 군들에서는 전반적으로 무게가 증가하는 경향을 보였으며, 간장의 경우 50mg 투여군에서( $p < 0.01$ ), 비장의 경우 10mg 투여군( $p < 0.05$ )에서 통계적인 유의성이 있었다.(Table III).

**Table 2.** Alterations of RBC, WBC, Platelet Count in Each of Normal, Cyclophosphamide Treated, and Cyclophosphamide Plus Soamgudamikgitang Treated Mice.

Groups	RBC( $10^6/\mu l$ )	WBC( $10^3/\mu l$ )	Platelet( $10^3/\mu l$ )
Normal	8.26 ± 0.56	7.4 ± 0.3	773 ± 56
CPX	6.80 ± 0.35*	7.4 ± 0.6	703 ± 86
SAKT 2mg +CPX	7.02 ± 0.45	7.6 ± 0.4	898 ± 62†
SAKT 10mg +CPX	7.02 ± 0.57	7.7 ± 0.5	1243 ± 125†
SAKT 50mg +CPX	6.73 ± 0.52	7.8 ± 0.4	1361 ± 147‡

All data is mean ± S.D.(n=10)

CPX: Cyclophosphamide 200mg/kg s.c./mouse

SAKT: Soamgudamikgitang extract

\* Statistical significance;  $p < 0.05$  compared with the normal group.

† Statistical significance; †:  $p < 0.05$ , ‡:  $p < 0.01$ , §:  $p < 0.001$  compared with the cyclophosphamide treated group.

**Table 3.** Changes of the Weight of Liver and Spleen in Each of Normal, Cyclophosphamide Treated, and Cyclophosphamide Plus Soamgudamikgitang Treated Mice

Groups	Liver weight(g)	Spleen weight(g)
Normal	1.98 ± 0.27	0.14 ± 0.04
CPX	1.30 ± 0.14*	0.06 ± 0.02*
SAKT 2mg +CPX	1.32 ± 0.04	0.08 ± 0.02
SAKT 10mg +CPX	1.40 ± 0.19	0.09 ± 0.02†
SAKT 50mg +CPX	1.72 ± 0.15†	0.05 ± 0.01

All data is mean ± S.D.(n=10)

CPX: Cyclophosphamide 200mg/kg s.c./mouse

SAKT: Soamgudamikgitang extract

\* Statistical significance;  $p < 0.01$  compared with the normal group.

† Statistical significance; †:  $p < 0.05$ , ‡:  $p < 0.01$  compared with the cyclophosphamide treated group.

**Table 4.** Alterations of AST, ALT, BUN and Creatinine in Each of Normal, Cyclophosphamide Treated, and Cyclophosphamide Plus Soamgudamikgitang Treated Mice.

Groups	Liver		Kidney	
	AST	ALT	BUN	Creatinine
Normal	151 ± 23	59 ± 7	14.4 ± 1.5	0.4 ± 0.1
CPX	186 ± 3*	67 ± 3*	30.0 ± 2.8†	0.5 ± 0.1
SAKT 2mg +CPX	111 ± 31‡	38 ± 12‡	18.8 ± 1.6‡	0.5 ± 0.1
SAKT 10mg +CPX	138 ± 5‡	56 ± 6*	24.8 ± 3.1	0.5 ± 0.1
SAKT 50mg +CPX	151 ± 6‡	41 ± 4‡	22.7 ± 2.7*	0.5 ± 0.1

All data is mean ± S.D.(n=10)

CPX: Cyclophosphamide 200mg/kg s.c./mouse

SAKT: Soamgudamikgitang extract

\* Statistical significance; \*, †:  $p < 0.05$ ; ‡:  $p < 0.001$  compared with the normal group.

† Statistical significance; †:  $p < 0.05$ , ‡:  $p < 0.01$  compared with the cyclophosphamide treated group.

### 4. 간 및 신장 독성의 변화

간장독성과 관련하여 cyclophosphamide 투여군에서 AST, ALT 수치가 증가하였고( $p < 0.05$ ), cyclophosphamide와 消癌去痰益氣湯을 함께 투여한 모든 군에서는 cyclophosphamide 투여군과 비교하여 AST, ALT 수치가 유의하게 감소하였다 ( $p < 0.05 \sim 0.01$ ).

신장독성과 관련하여 cyclophosphamide에 의한 신장기능의 이상은 BUN에서만 정상 마우스에 비하여 유의하게 높게 나타났다( $p < 0.001$ ). cyclophosphamide와 함께 消癌去痰益氣湯 2mg( $p < 0.01$ )과 50mg( $p < 0.05$ )을 투여한 군에서 cyclophosphamide 단독투여군보다 유의하게 BUN 수치가 낮아졌다. 그러나 creatinine 수치는 모든 군에서 유의한 차이를 나타내지 않았다. (Table IV).

### 5. Lymphocyte proliferation의 변화

消癌去痰益氣湯의 cyclophosphamide 부작용 억제 효과중, 임파구 증식능에 대한 변화를 관찰하기 위하여 media, LPS, Con-A 자극에 대한 정상군, cyclophosphamide 투여군, 消癌去痰益氣湯 2mg, 10mg, 50mg 투여군, 그리고 消癌去痰益氣湯 2mg, 10mg, 50mg에 cyclophosphamide를 병용투여한 군의

OD(optical density)값을 측정 한 결과, media의 경우 평균 0.16~0.47을, LPS에서는 평균 0.35~0.57을, Con-A에서는 평균 0.49~1.01을 보였으나 통계적 유의성은 각 군 모두에서 관찰되지 않았다. 그러나 T cell 특이성을 가지는 Con-A와의 동시 배양에서는 농도 의존적인 mitogenic response를 보였는데 50mg 투여군에서는 정상군에 비하여 약 2배 정도의 높은 T cell 증식활성을 나타내었다. 그러나 B cell 특이성을 나타내는 LPS 자극은 유효한 response를 보이지 않았다(Table V).

### 6. FACS analysis 결과

Lymphocyte의 FACS analysis 결과는 Table VII에 나타나 있다. 消癩去痰益氣湯은 cyclophosphamide에 의한 임파구 손상을 차단하는 효능이 있으며, helper T cell보다는 cytotoxic T cell의 활성을 촉진시키고, 상대적으로지만 B/T cell 비율을 유지시켰다.

정상군의 총 임파구는 121%이고 cyclophosphamide군은 49%, cyclophosphamide 처리된 마우스의 임파구 손상은 60%정도로 나타났다. 消癩去痰益氣湯을 투여한 경우 2mg, 10mg 투여군에서는 각각 104%, 121%로 나타나

정상군과 비슷한 수치를 보여 임파구 독성을 보이지 않았으나 50mg 투여군에서는 84%로 독성을 보였다. cyclophosphamide와 消癩去痰益氣湯을 병용 투여한 경우 2mg투여군은 82%, 10mg투여군은 92%, 50mg투여군은 83%로 消癩去痰益氣湯 단독 투여군보다는 임파구 손상을 더 받았지만 cyclophosphamide 단독 투여군에 비해서 임파구 손상 정도가 덜하였다.

B/T cell의 비율은 CD19/CD3로 표시하였는데, 정상군은 1.3이다. cyclophosphamide 처리군은 2.28로 비율이 높아져 상대적으로 B cell의 비율이 증가하였다. 消癩去痰益氣湯을 투여한 경우 2mg투여군은 1.3, 10mg투여군은 1.57로 나타나 정상군과 비슷한 수치를 보였으나 50mg투여군은 1.99로 증가하였다. cyclophosphamide와 消癩去痰益氣湯을 병용투여한 경우에는 消癩去痰益氣湯 단독 투여군과 비슷한 수치를 나타내었다.

Helper T cell과 cytotoxic T cell의 비율은 CD4/CD8로 나타내었다. 정상군의 경우 helper T cell이 cytotoxic T cell보다 2배 정도 많은 것으로 나타났다. cyclophosphamide 처리한 경우 전반적인 CD4, CD8 수치가 감소한 가운데 helper T cell의 감소가 cytotoxic T cell보다 더 뚜렷하게 나타났다. 消癩去痰益氣湯 단독 투여군의 CD4/CD8 비율은 2mg의 경우 1.90, 10mg의 경우 1.45, 50mg의 경우 1.15로 그 비율이 낮아지고 있으나, cyclophosphamide와 消癩去痰益氣湯을 병용투여한 군에서 cyclophosphamide 단독 투여군과 비교하여 2mg의 경우 0.64, 10mg의 경우 0.64, 50mg의 경우 0.92로 나타나 cyclophosphamide 단독 투여군보다는 높은 수치를 보였다(Table VI).

**Table 5.** Alterations of Lymphocyte Proliferation Activity on Between Media, LPS, Con-A Stimulant and Each of Normal, Cyclophosphamide Treated, and Cyclophosphamide Plus Soamgudamikgitang Treated Mice

Groups	Media	LPS	Con-A
Normal	0.16±0.03	0.50±0.04	0.49±0.06
CPX	0.37±0.02	0.48±0.01	0.73±0.02
SAKT 2mg	0.21±0.02	0.40±0.04	0.60±0.04
SAKT 10mg	0.18±0.04	0.47±0.02	0.71±0.05
SAKT 50mg	0.25±0.02	0.57±0.01	1.01±0.04
SAKT 2mg +CPX	0.24±0.03	0.35±0.01	0.80±0.05
SAKT 10mg +CPX	0.36±0.05	0.43±0.03	0.73±0.04
SAKT 50mg +CPX	0.47±0.01	0.57±0.03	0.98±0.06

All data is mean±S.D.(n=10)  
 CPX : Cyclophosphamide 200mg/kg s.c./mouse  
 SAKT : Soamgudamikgitang extract

**Table 6.** Results of FACS Analysis on the Phenotype of Lymphocyte Among the Experimental Groups

Groups	CD3	CD4	CD8	CD19	Total sum of mean %	CD19 /CD3	CD4 /CD8
Normal	35.88±0.35	25.62±0.25	12.7±0.12	46.80±0.46	121	1.30	2.02
CPX	12.04±0.12	3.46±0.03	6.38±0.06	27.48±0.27	49	2.28	0.54
SAKT 2mg	33.04±0.3	18.7±0.1	9.86±0.09	42.86±0.42	104	1.30	1.90
SAKT 10mg	34.08±0.34	20.08±0.2	13.88±0.1	53.36±0.53	121	1.57	1.45
SAKT 50mg	21.86±0.12	10.02±0.1	8.74±0.08	43.6±0.43	84	1.99	1.15
SAKT 2mg +CPX	26.76±0.26	8.16±0.08	12.78±0.01	33.98±0.34	82	1.27	0.64
SAKT 10mg +CPX	29.98±0.29	8.88±0.08	13.98±0.02	38.84±0.3	92	1.30	0.64
SAKT 50mg +CPX	22.02±0.22	9.98±0.09	10.8±0.01	40.34±0.4	83	1.83	0.92

All data is mean±S.D.(n=10)  
 CPX : Cyclophosphamide 200mg/kg s.c./mouse  
 SAKT : Soamgudamikgitang extract

## IV. 考 察

종양의 정의는 R.A. Willis가 제창하고, E.T. Bell이 다소 수정한 다음의 정의를 많이 인용하고 있다. 즉, 종양이라는 것은 조직의 자율적인 과잉적 성장이며, 이것은 개체에 대해서 의의가 없거나 이롭지 않을뿐더러 정상조직에 대해서 파괴적인 것을 말한다<sup>3</sup>.

특히 암이란 악성 종양을 총칭하는 것으로 정상 조직에 대하여 파괴적인 것을 말하며 정상적인 성장과는 달리 독립적으로 자라 주위 조직을 침윤하고 다른 조직으로 전이되는 일종의 조직의 과잉적 성장으로 오늘날 인류가 극복해야 할 난치병의 하나이다<sup>30</sup>.

암의 발병원인에 대하여 韓醫學에서는 正氣가 부족한 상태에서 邪氣가 침범하여 氣滯血瘀, 痰飲膠結, 濕熱蓄毒이 이루어져 마침내 腫塊가 형성되는 것으로 보며<sup>31</sup>, 서양의학에서는 유전, 인종과 지리학적 요인, 연령 및 면역학적 인자 등의 내적 요인과 화학적 인자, 물리적 인자, 방사선 및 바이러스 등의 외적 요인에 의하여 유발된다고 한다.

암의 치료를 위하여 외과적 수술요법, 방사선요법, 화학요법 및 면역요법 등을 활용하고 있다. 이 중에서도 항암제에 의한 화학요법이 자주 응용되고 있는데 항암제는 대체로 5개 범주로 나눌 수 있으니 알킬화제, 대사길항제, 식물성 알칼로이드, 항생제 및 내분비계 약제이다. 화학요법은 1차 목적이 악성질환의 모든 임상소견을 제거하는 완전관해이고, 완전관해가 유도되면 2차 목적은 관해를 장기간 유지시키는 것이다. 완전관해 유지는 잔존종양세포의 감소유무에 좌우되나 항암제는 비교적 비특이성이므로 종양세포뿐만 아니라 정상세포가

지도 작용하게 되니 다량 투여시에는 독성으로 인하여 여러 가지 부작용을 나타내고 또한 약제에 대한 내성 증가로 완전관해 유지가 불가능해지면 재발과 합병증이 발생할 수 있다<sup>32</sup>.

韓醫學에서는 암의 치료방법으로 健脾益氣, 養血滋陰, 養陰生津, 溫補腎陽, 滋補強壯 등의 扶正培本法, 清熱解毒, 活血化瘀, 化痰散結, 疏肝理氣, 行氣散結, 攻堅破積, 消脹 등의 祛邪法, 扶正과 祛邪를 兼施하는 扶正祛邪法으로 大別되는데, 그 중 宿主의 항암능력을 강화시켜 주는 扶正培本法과 祛邪하되 인체의 正氣를 補益하고 正氣를 損傷시키지 않는 扶正祛邪法을 가장 효과적인 방법으로 보고 있다<sup>33</sup>.

이 실험에 사용한 消癥去痰益氣湯은 半夏白朮天麻湯을 기본으로 하여 清熱解毒, 補氣養血, 祛瘀止痛之劑를 加하여 抗癌의 효능을 강화시킨 處方으로, 현재 경희의료원 동서암센터에서 胃癌, 大腸癌 등 악성종양의 항암화학요법 및 방사선 요법과 병용하거나 악성종양의 수술요법 후 전신상태 개선을 목표로 활용중인 處方이다.

半夏白朮天麻湯은 金元時代 李<sup>34</sup>의 脾胃論에 최초로 수록된 處方으로 半夏, 陳皮, 麥芽, 白朮, 神麩, 蒼朮, 人蔘, 黃芪, 天麻, 白茯苓, 澤瀉, 乾薑, 黃柏, 生薑으로 구성되어 있는데, 그 處方을 분석하여 보면, 補氣하는 四君子湯, 治痰하는 二陳湯, 溫中散寒하는 理中湯에, 胸滿의 염려로 甘草를 除하고, 補氣의 목적으로 黃芪를, 運脾去濕을 補助하기 위하여 蒼朮을, 痰滯를 消化하기 위하여 神麩, 麥芽를, 痰多水濕을 利하기 위하여 澤瀉를, 脾의 邪熱을 清하여 寒熱을 平定하고자 黃柏을, 頭目的 風을 散하고자 天麻를 加한 處方으로<sup>35</sup> “吐逆 食不能停 痰唾粘稠 湧出不止 眼黑頭旋 惡心

煩悶 氣短促上喘 無力不欲言 心身顛倒 兀兀不止 目不開眼 如在風雲中 頭苦痛如裂 身重如山 四肢厥冷 不得安臥”한 症候를 治療하고자 創方되었으며, 이후 많은 醫家들<sup>36</sup>에 의하여 惡心, 嘔吐, 眩暈, 痰厥頭痛, 手足厥冷한 症候에 補氣健脾, 溫中祛痰할 목적으로 頻用되었고, 최근에는 기능성 위장장애, 만성 위염, 위하수 등의 소화기계 질환뿐만 아니라 고혈압, 저혈압, 만성피로증후군 등에 폭넓게 쓰이고 있다<sup>37</sup>.

本方에 止痛生津을 위하여 海螵蛸, 白芍藥, 牡蠣粉, 龍眼肉, 山查子를 加한 半夏白朮天麻湯加味方은 소화성 궤양, 초기암 등의 질환에 투여하여 좋은 임상적인 효과를 거두고 있으며, 실험적으로는 항암효과와 면역증강효과가 있음이 밝혀졌다<sup>38</sup>.

특히 方劑中에 君藥으로 사용된 半枝蓮과 白花蛇舌草는 그 동안 임상적으로 胃癌을 비롯한 消化器系의 癌에 널리 사용되어지고 있다. 이 중 半枝蓮<sup>39</sup>은 辛苦寒하여 清熱解毒, 散瘀和血하고 吐血, 衄血, 血淋, 赤痢, 黃疸, 咽喉疼痛, 肺癰, 疔瘡, 癩癧, 瘡毒, 打撲刀傷, 蛇咬傷 등이 적응증이 되며 胃腸管癌, 肝癌, 肺癌, 子宮頸部癌, 乳腺癌 등에 응용할 수 있는 藥材이고, 白花蛇舌草<sup>39</sup>는 微苦甘寒하여 清熱利濕, 解毒消癰하여 肺熱喘咳, 扁桃腺炎, 咽喉炎, 痛腫疔瘡, 跌撲損傷, 泌尿器系 感染, 氣管支炎, 毒死咬傷 등이 적응증이 되고 각종 腫瘍에도 사용되는데, 消化器系의 癌에 많이 응용되며 특히 면역기능을 증강하는 작용이 있어 각종 림프계 종양에 많이 응용되고 있다.

이에 이 실험의 연구 목적인 消癥去痰益氣湯의 화학요법과의 병용시 효능에 대해 객관적으로 증명하기 위해서 消癥去痰益氣湯 2mg, 10mg, 50mg을 검액으로 하여 in vivo에서 cyclopho-

sphamide 부작용 억제 효과를 살펴본다. 구체적으로 체중 변화, 혈액 검사를 통해 전신 상태 및 조혈 기능 억제에 관한 영향을 살펴보고, 간장·비장의 무게 측정 및 혈중 AST, ALT, BUN, creatinine 수치를 측정하여 간 및 신장 독성에 미치는 효과를 검토하였으며, 消癌去痰益氣湯의 비특이적 면역증강 효과 및 구체적으로 비장세포의 phenotype의 변화를 측정하기 위해 lymphocyte proliferation assay와 FACS analysis를 시행, 분석하였다.

消癌去痰益氣湯이 cyclophosphamide의 부작용 억제에 미치는 영향을 체중 변화의 측면에서 살펴본 결과, cyclophosphamide 투여군은 정상 마우스에 비해 체중 증가가 정체하는 결과를 보였고, 消癌去痰益氣湯과 cyclophosphamide를 함께 투여한 군에서는 체중이 약간 증가하는 경향을 나타내었으나 통계적 유의성은 없었다.

Cyclophosphamide의 골수 억제 부작용에 대한 감소 효과를 검토하기 위하여 혈중 적혈구, 백혈구, 혈소판 수치를 측정된 결과, cyclophosphamide에 의해서는 적혈구의 숫자가 현저히 감소하여 조혈기능에 이상이 초래됨을 확인할 수 있었다. 消癌去痰益氣湯과 cyclophosphamide를 함께 투여한 군에서는 cyclophosphamide 단독 투여군과 비교하여 혈소판에서만 모든 용량의 군에서 유의성 있게 증가하여 消癌去痰益氣湯이 cyclophosphamide의 조혈기능에 미치는 부작용을 억제하는 활성이 있을 것으로 생각된다.

消癌去痰益氣湯의 투여가 간장과 비장에 미치는 영향을 무게를 측정하여 살펴본 결과, cyclophosphamide와 消癌去痰益氣湯을 함께 투여한 군들에서는 전반적으로 무게가 증가하는 경향을

보였고, 일부에서는 통계적 유의성이 있었다.

Cyclophosphamide의 부작용은 간장과 신장 장애가 심하게 나타나므로 검액의 간장과 신장에 대한 부작용에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 AST, ALT 활성도, BUN 및 creatinine 함량을 측정된 결과, cyclophosphamide 투여군에서 AST, ALT 수치가 증가하여 간장의 기능에 이상을 초래함을 알 수 있었고, cyclophosphamide와 消癌去痰益氣湯을 함께 투여한 모든 군에서 AST, ALT 수치가 유의하게 감소하여 간장독성을 억제하는 효과가 있는 것으로 보인다.

혈청중의 BUN과 creatinine 함량의 측정은 신장 기능을 살펴보는 하나의 지표가 되는데 cyclophosphamide에 의하여 신장의 기능에 이상현상이 나타나 BUN의 수치가 정상에 비하여 유의하게 높게 나타났다. cyclophosphamide와 消癌去痰益氣湯을 함께 투여한 군에서는 cyclophosphamide 단독 투여에 비해 BUN 수치가 낮아졌으며, 특히 2mg과 50mg군에서는 통계적 유의성이 있었다. 이상으로 보아 消癌去痰益氣湯은 cyclophosphamide의 신장 독성에 미치는 부작용을 억제하는 활성이 있는 것으로 사료된다.

이 실험에서는 消癌去痰益氣湯의 비특이적 면역증강 효과를 조사하기 위해 消癌去痰益氣湯을 투여한 마우스 비장세포의 proliferation assay를 실시하였다. 韓醫學에서도 면역은 病邪로부터 人體를 保護하는 正氣와 밀접한 상관성이 있으니 正氣 不足은 곧 免疫 機能 低下와 관련지어 생각할 수 있고, 腫瘍의 형성도 주로 正氣가 부족한 상태에서 邪氣가 침범하여 氣滯血瘀, 痰飲膠結, 濕熱蓄毒이 이루어져 마침내 腫塊가 형성

되는 것으로 인식하고 있다<sup>31</sup>. 분석 결과 B cell 특이성을 가지는 LPS와의 동시 배양 조건하에서는 유효한 mitogenic response를 나타내지 않았으나, T cell 특이성을 가지는 Con-A와의 동시 배양에서는 농도 의존적인 mitogenic response를 보여 50mg 투여군에서는 정상군에 비해 약 2배 정도 높은 T cell 증식 활성을 나타냈다. 이러한 효과는 cyclophosphamide 투여의 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 이상으로 보아 消癌去痰益氣湯의 투여는 생체에 이종 항원이 침입할 경우 T cell의 활성화를 유도하는 작용이 있을 것으로 기대된다.

消癌去痰益氣湯 투여에 의한 비장세포의 phenotype의 변화를 측정하기 위해 FACS 분석을 실시하였다. 오늘날 인체의 면역반응은 기능적으로 서로 다른 T cell의 subset들에 의해 수행된다고 생각되고 있다. 또한 이러한 subset들은 세포의 표면에 존재하는 특징적인 표식자(cell surface marker)에 의해 구분될 수 있으며 이는 단일클론항체를 이용하여 감지할 수 있다. T inducer/helper subset는 CD4<sup>+</sup> marker를 가지며 T 및 B 임파구, 대식세포와 조혈간세포(hematopoietic stem cell)를 포함하는 기타의 세포들의 활성을 촉진시키며, T suppressor/cytotoxic subset는 대부분 CD8<sup>+</sup> marker를 가지는데 이는 T inducer/helper population이나 다른 effector population의 활성을 억제한다. 이러한 inducer와 suppressor cell의 균형이 면역반응의 결과를 결정한다<sup>40</sup>. 분석 결과 消癌去痰益氣湯의 투여는 임파구 손상을 차단하는 효과가 있었으며 상대적으로 B/T cell ratio의 변화를 유지했고, helper T cell보다는 cytotoxic T cell의 활성을 촉진시키는

효능이 있음이 나타났다. cytotoxic T cell의 활성화는 농도 의존적인 경향을 보였지만 50mg 투여시에는 일부 독성이 관찰되었다.

이상의 실험 결과를 종합적으로 살펴볼 때 消癌去痰益氣湯은 cyclophosphamide의 부작용을 억제하는 효과가 있는 것으로 생각되며, 구체적인 기전을 밝히기 위해서는 추가적인 실험 및 임상 연구가 있어야 할 것으로 본다. 이 실험을 통해서 다음과 같은 문제점들을 발견할 수 있었다. 우선, 한약을 이용한 항암 실험 연구는 인간이 아닌 마우스와 암 세포주를 대상으로 하므로 한의학의 변증개념에 의한 처방선정에 한계가 있다. 또한 주로 복합제재를 투여하여 상호 협조작용으로 인해 전체적인 생리대사가 조절되어 나타난다고 추정되는 간접적인 효과를 관찰하는 것이 대부분이므로 구체적인 기전을 알 수 없다는 단점이 있다. 그러므로 실험결과 항암효과가 있다는 것이 증명되면 구체적인 기전을 밝히는 연구와 더 나아가 임상연구가 연계성을 가지고 진행되어야 할 것이다.

## V. 結 論

著者は 현재 임상에서 활용중인 消癌去痰益氣湯을 선택하여 cyclophosphamide의 부작용 억제효과를 마우스의 체중 측정, 조혈기능, 간 및 신장 독성에 미치는 효과를 통해 관찰하였으며, 消癌去痰益氣湯의 비특이적 면역증강 효과를 조사하기 위해 비장세포의 proliferation assay를 실시하였고, 비장세포의 phenotype의 변화를 측정하기 위해 FACS 분석을 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 마우스의 체중변화를 조사한 결과,

消癌去痰益氣湯의 투여가 cyclophosphamide에 의한 체중감소를 억제하는 경향성을 보였으나 유의성은 관찰되지 않았다.

2. 조혈기능에 미치는 영향을 조사한 결과, 消癌去痰益氣湯의 투여는 적혈구, 백혈구에는 유의성이 관찰되지 않았으나 혈소판 수치를 증가시켜 cyclophosphamide의 조혈기능 억제 부작용중 혈소판 감소를 유의하게 억제하였다.

3. 간장 및 비장의 무게 변화에 대하여, 간장의 경우 cyclophosphamide 단독 투여군보다 消癌去痰益氣湯 50mg을 병용 투여한 군에서  $p < 0.01$ , 비장의 경우 10mg을 병용 투여한 군에서  $p < 0.05$ 의 유의성 있는 무게 감소 억제 효과를 보였다.

4. 간·신장 독성의 변화에 대하여, 간독성의 경우 cyclophosphamide 단독 투여군보다 消癌去痰益氣湯 병용 투여군에서 모두 유의성 있는 AST, ALT의 감소가 있었고( $p < 0.05 \sim 0.01$ ), 신독성의 경우 BUN에서는 2mg( $p < 0.01$ ), 50mg( $p < 0.05$ ) 병용 투여군에서 유의성 있는 결과가 관찰되었다.

5. 비장세포의 임파구 증식능을 관찰한 바, 실험군간의 유의성은 인정되지 않았다. 다만 消癌去痰益氣湯의 T cell 증식을 활성화시키는 효과는 인정되었다.

6. FACS analysis 결과 消癌去痰益氣湯의 투여는 주로 T cell을 활성화시키는 결과를 보였으며, 그 중에서도 주로 CD8 type의 cytotoxic T cell을 활성화시키는 결과를 나타냈다. 또한 消癌去痰益氣湯은 cyclophosphamide에 의해 손상된 면역세포를 완전하게 회복시키지는 못하나 일부 회복시키는 활성이 있는 것으로 나타났다.

이상의 결과로 보아 消癌去痰益氣湯은 cyclophosphamide의 부작용 감소

효과와 비특이적 면역기능의 증강효과가 있는 것으로 보여지며, 향후 항암 화학요법과의 병합 요법으로서 임상 활용이 기대된다.

## 參考文獻

1. 大韓病理學會編. 病理學. 서울:高文社;1990, pp.183-90, 225-6, 239-56
2. 김정순. 우리나라 사망원인의 변천과 현황. 대한의학협회지 1993;36(3):271-84
3. 서울대학교 의과대학. 중앙학. 서울:서울대학교 출판부;1996, pp.1-3, 137-43, 193-205, 225-34
4. Geoffrey M. cooper. Elements of human cancer. Jones and bartlett publishing Inc;1992, p.7, pp.240-59
5. 김현아 외. 한약을 이용한 항암 실험연구의 경향에 관한 고찰. 대한한방중앙학회지 1998;4(1):211-32
6. 朴春赫. 黃花敗醬과 白花敗醬이 抗癌作用 및 免疫反應에 대한 影響. 慶熙大學校 大學院 博士學位論文;1991
7. 鄭鎮鴻. 蓬莪茂丸, 煎湯液과 抗癌劑 併用 投與時 子宮癌細胞에 대한 效果. 大田大學校 大學院 博士學位論文;1992
8. 金尙勳. 紫菀이 抗癌作用 및 免疫反應에 대한 影響. 慶熙大學校 大學院 碩士學位論文;1990
9. 吳千植 外. 靈芝, 山慈花, 仙鶴草, 瓦松이 癌細胞 感受性에 대한 影響. 慶熙大學校 大學院 博士學位論文集;1988
10. 李學喆. 東風菜가 抗癌作用 및 免疫反應에 대한 影響. 慶熙大學校 碩士學位論文;1990
11. Kang KS, Ryu SH, Ahn BZ. Antineoplastic natural products and the analogues IV: Aurapten, the cytotoxic coumarin from *Poncirus trifoliata* against L1210 cells. *Arch Pharm Res*



- 1985;8:187
12. Ryu SH, Ahn BZ, Park MY. The cytotoxic principle of *Scutellaria Radix* against L1210 cells. *Planta Medica* 1985;4:355
  13. Ahn BZ, Lee JH. Cytotoxic and cytotoxicity potentiating effects of the Curcuma Root L1210 cell. *Kor. J. Pharmacognosy* 1989;20:223-6
  14. 金剛山. 茯苓丸이 白血病과 肝癌患者에서 抽出한 癌細胞에 대한 抗癌效果. 圓光大學校 碩士學位論文;1991
  15. 李延華. 歸朮破癥湯이 子宮癌 細胞에 대한 影響. 大田大學校 碩士學位論文;1994
  16. 沈龍燮. 子宮細胞에 대한 穿山甲散 煎湯液과 抗癌劑의 併用投與 效果. 大田大學校 博士學位論文;1992
  17. 魏育林 外. 扶正解毒煎劑和環磷胺對小鼠腹腔巨噬細胞產生腫瘤壞死因子的影響. *中西醫結合雜誌* 1990;10(6):353-5
  18. 李嚴. 中西醫結合治療晚期胃癌研究. *浙江中醫雜誌* 1981;12:54
  19. 胡久望. 放療後白細胞減少的療效觀察. *雲南中醫雜誌* 1990;11(4):21
  20. 金光 外. 中藥方治腫瘤化療毒副反應509例 臨床觀察. *陝西中醫* 1990;11:485
  21. 王寇庭. 談中醫防治癌症的思路方法. *中醫雜誌* 1989;7:45
  22. 趙成基. 消積白朮散的 抗癌, 免疫增強 效果 및 cisplatin의 腎臟毒性 抑制에 대한 影響에 관한 研究. 大田大學校 博士學位論文;1993
  23. 張中植 外. 參茸湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 cyclophosphamide에 의한 副作用 減少에 대한 影響. 大田大學校 碩士學位論文;1991
  24. 金수진. 補中益氣湯 및 少陰人 補中益氣湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 cyclophosphamide에 의한 副作用에 미치는 影響. 大田大學校 碩士學位論文;1993
  25. 송효정 외. 香砂養胃湯과 加味香砂養胃湯의 抗癌 및 cyclophosphamide에 의한 부작용 감소 효과에 관한 연구. *慶熙醫學* 1995;11(3-4):320-38
  26. 金正洙, 崔昇勳, 安圭錫. 參茸扶正湯의 放射線 照射로 損傷된 組織 恢復 및 造血促進 效果. *대한한방중앙학회지* 1997;3(1):129-48
  27. 李太業. 加味香砂六君子湯이 생쥐 小腸에서 放射線 照射 후 保護效果와 Apoptosis에 미치는 영향. *경희대학교 대학원 박사학위논문*;2000
  28. 金井泉 外. 臨床檢査法提要. 서울:高文社;1984, p.242, 298, 303, 1112, 1149
  29. 理工産業編輯部. 헨디 臨床檢査法. 서울:理工産業;1973, p.222, 225-31, 264-7, 353, 367
  30. 김춘원. 병리학. 서울:신광문화사;1989, p.84, 99
  31. 金韓燮 外. 癌의 治法, 治方 및 治療藥物에 관한 文獻的 考察. *大韓韓醫師協會誌* 1989;10:161-6
  32. James. B. Lyoyd H.. *Cecil textbook of medicine*. Philadelphia:W. B. Saunders Co.;1985, pp.1090-100
  33. 方藥中 外. 實用中醫內科學. 上海:上海科學技術出版社;1984, pp.621-3, 630-1
  34. 李杲. 東垣十種醫書. 臺北:五州出版社;1973, p.67, 75, 108
  35. 尹吉永. 東醫臨床方劑學. 서울:明寶出版社;1985, p.103, 569
  36. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:南山堂;1981, p.205
  37. 柳基遠. 診療와 優秀處方. 서울:成輔社;1985, p.145, 195, 197, 216, 230-1, 374
  38. 白泰鉉 外. 半夏白朮天麻湯과 半夏白朮天麻湯加味方의 항암효과와 면역반응에 관한 실험적 연구. *대한한방중앙학회지* 1995;1(1):141-65
  39. 劉春安, 彭明 主編. 抗癌中草藥大辭典. 湖北洪湖市:湖北科學技術出版社;1994, pp.398-401, 367-9
  40. 윤식, 김진경. Cyclophosphamide가 흰 쥐 비장에 미치는 영향에 대한 조직학적 연구. *부산의대학술지* 1988;28(3):1-9