

# 足三里에 施術한 木香 藥鍼이 抗癌 및 免疫效果에 미치는 影響

안병수<sup>1</sup> · 이병렬<sup>1</sup> · 임윤경<sup>2</sup>

대전대학교 한의학과대학<sup>1</sup>침구학교실<sup>2</sup>경험학교실

## Immune response improvement induced by Herbal-acupuncture with Aucklandiae Radix infusion solution into Zusanli(ST36)

Byung-Soo Ahn<sup>1</sup>, Byung-Ryul Lee<sup>1</sup>, Yun-Kyoung Yim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Acupuncture & Moxibustion, <sup>2</sup>Meridianology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

### Abstract

To study the effects of anti-cancer, anti-metastasis and immune response improvement of herbal-acupuncture with Aucklandiae Radix diffusae herba infusion solution(AKL-HAS), we injected AKL-HAS into Zusanli(ST36) of C57BL/6 mice implanted intravenously with B16-F10 melanoma.

The results were obtained as follows :

1. In the experiment groups treated with Aucklandiae Radix(AKL) Herbal-Acupuncture, the spleen cell proliferation in Balb/c mouse was significantly increased compared with that of the control group.

2. In the experiment groups treated with Aucklandiae Radix(AKL) Herbal-Acupuncture, the percentage of CD25<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>, NK1.1<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup> cells in C57BL/6 mouse PBMCs was increased compared with that of the control group.

3. In the experiment groups treated with Aucklandiae Radix(AKL) Herbal-Acupuncture, the pulmonary colony number of C57BL/6 mice implanted intravenously with B16-F10 melanoma was decreased significantly compared with that of the control group.

4. In the experiment groups treated with Aucklandiae Radix(AKL) Herbal-Acupuncture, MST(Median Survival Time) and ILS(Increase of Life Span) of C57BL/6 mice implanted intravenously with B16-F10 melanoma were increased significantly compared with those of the control group.

**Key words** : Aucklandiae Radix(AKL), Herbal-Acupuncture, Zusanli(ST36), anti-cancer, immune response improvement

## I. 緒 論

腫瘍은 自律性을 가진 조직의 過剩한 發育<sup>1)</sup>으로, 임상 및 병리형태적인 소견으로 陽性腫瘍과 惡性腫瘍으로 구분하며, 일반적으로 腫瘍이라

하면 대개 惡性腫瘍인 癌을 지칭한다.

한의학에서는 腫瘍, 癰疽, 腫毒, 積聚, 癥瘕, 癥, 陰瘡, 癰瘤, 肺癰, 肝癰, 腸癰, 疝瘕, 石癰, 石疽, 疔疽 등이 腫瘍의 範疇에 該當하는데<sup>2)</sup>, 이의 발병기전으로는 氣滯血瘀, 痰結濕聚, 熱毒內蘊, 臟腑失調, 氣血虧虛, 經絡瘀阻 등이 있다<sup>3)</sup>.

藥鍼療法(Herbal acupuncture)은 經絡療法과

· 교신저자: 임윤경, 대전시 동구 용문동 96-3, Tel. 042-280-2610, Fax. 042-274-2600, E-mail: docwindy@djju.ac.kr

藥物療法の 원리를 바탕으로 연구된 新鍼治療 중의 하나이다. 질병과 유관한 부위인 經穴, 阿是穴 등의 陽性反應點에 精製한 各種 韓藥物을 選擇 注入함으로써 經穴과 藥物이 질병에 대해 종합적인 작용을 충분히 발휘하여 질병을 예방하고 치료하는 방법으로<sup>4)</sup> 免疫系疾患의 예방 및 치료 등에 유효하다는 보고가 최근에 많이 있으며, 임상에서도 각종 질환에 널리 응용되고 있다<sup>5)</sup>.

抗腫瘍 및 免疫效果에 대하여 한약의 투약 및 침구 등 다양한 보고가 있으며, 약침요법을 이용한 실험연구로는 人蔘, 魚腥草, 熊膽·牛黃, 薏苡仁, 金銀花, 苦參, 豬苓, 瓦松 등이 抗腫瘍 및 免疫機能 증진 효과가 있다고 보고되었으나, 木香藥鍼에 대한 연구는 접하지 못하였다.

이에 저자는 菊花科에 속하는 雲木香의 根으로 行氣止痛 溫中和胃 등의 效能이 있는 木香<sup>6)</sup>을 사용해 藥鍼液을 製造한 후, 理脾胃, 調中氣, 和腸消滯, 疎風化濕, 通調經絡氣血, 扶正培元, 祛邪防病하는 足三里에 藥鍼하여 항암, 항전이 작용 및 면역효과를 비교관찰하여 유의성있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 材料

#### 1) 動物

動物은 4-5週齡의 雌性인 C57BL/6 생쥐를 대한실험센터에서 공급받아 實驗 當日까지 固型飼料(抗生劑 無添加, 삼양사료)와 물을 充分히 供給하고, 室溫 22±2℃를 維持하여 2週日間 實驗室環境에 適應시킨 後 實驗에 사용하였다.

#### 2) 試藥 및 機器

##### ① 試 藥

試 藥 名	製造社	製造國
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diethyl pyrocarbonate (DEPC)</li> <li>• Cocanavalin-A</li> <li>• Isopropanol</li> <li>• RBC lysis solution</li> <li>• Ethidium bromide (EtBr)</li> <li>• Dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS)</li> <li>• Formaldehyde,amide, magnesium chloride (MgCl<sub>2</sub>)</li> <li>• D-phosphate buffer saline</li> <li>• Antibiotics (penicillinm 104 U/ml, streptomycin 10 mg/ml, amphotericin B 25 μg/ml)</li> <li>• 3-4,5-dimethylthiazol-2,5-carboxymethoxyphenyl-2,4-sulfophenyl-2H-tetrazolim (MTS)</li> <li>• 2,7,-dichlorodihydrofluorescin diacetate (DCFH-DA)</li> <li>• Lipopolysaccharide (LPS)</li> <li>• chloroform</li> <li>• RPMI-1640 배양액</li> </ul>	Sigma	USA
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Taq polymerase</li> <li>• Deoxynucleotide triphosphate (dNTP)</li> </ul>	Takara	Japan
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Moloey Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase ; M-MLV RT</li> <li>• RNase inhibitor</li> </ul>	Promega	USA
<ul style="list-style-type: none"> <li>• RNAzolB</li> </ul>	Tel-Test	USA
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fetal bovine serum, FBS</li> </ul>	Logan	USA
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agarose</li> </ul>	FMC	USA
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <sup>3</sup>H-Thymidine</li> </ul>	Amersham	USA
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antibody-CD3-PE</li> <li>• Antibody-CD4-FITC</li> <li>• Antibody-CD8-FITC</li> <li>• Antibody-CD25-PE</li> <li>• Antibody-CD28-PE</li> <li>• Antibody-B220-PE</li> <li>• Antibody-CD69-FITC</li> </ul>	Pharmingen	USA

② 機器

機器名	製造社	製造國
Spectrophotometer	shimadzu	Japan
Centrifuge	sigma	USA
Bio-freezer	sanyo	Japan
Primus 96 thermocycler system	MWG Biotech	Germany
Ice-maker	vision科學	Korea
Homogenizer	OMNI	USA
Plate shaker	Lab-Line	USA
Elisa Reader	molecular devices	USA
flow cytometer	Becton dickinson	USA
Digital thickness gauge	Mitutoyo Co.	Japan
Electric chemical balance	MC1	Germany

3) 藥劑

실험에 사용된 목향(Aucklandiae Radix, 이 하 AKL이라 표함.)은 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

4) 약침액의 선정

Acetone과 Methanol의 농도를 달리해서 추출한 木香 物質分劃 藥鍼液 중에서 cytokine 遺傳子 發顯에 미치는 影響을 살펴본 結果는 70% acetone 100 $\mu$ g/ml의 木香 物質分劃 藥鍼液이 cytokine 遺傳子(IL-2, IL-10, IFN- $\gamma$ ,  $\beta$ -actin) 發顯에 다른 것들보다 뛰어난 것으로 나타났다.

5) 약침액의 제조

木香 物質分劃 藥鍼液은 이<sup>7)</sup> 등의 방법에 따라 Diaion HP-20 수지를 이용하여 조제하였다. 물로 추출한 목향원액 100g을 수지가 들어 있는 흡착 크로마토그래피에 부어 그 폭이 약 25-30cm될 정도로 방치한다. 이 후 증류수 1000ml를 부어 Diaion HP-20 수지를 통과한 (pass층) 목향액을 분리하였다. 계속해서 30% MeOH 500ml, 70% MeOH 500ml, 30% Ace-

tone 500ml, 70% Acetone 500ml를 각각 통과시켜 분리된 분획중 생쥐의 PBMC세포에서 싸이토카인 유도에 활성이 있는 분획층을 약침액 제조하였다.

목향 70% MeOH층 분획을 3회 여별(3 M paper)한 후 rotary evaporator로 감압 농축하였다. 목향 농축액에 95% ethyl alcohol 30ml를 가하여 실온에서 교반한 후 방치하여 생성된 침전물을 여별하고, 여액을 다시 rotary evaporator로 감압 농축하여 생성된 침전물을 여별하였다. 여액을 다시 85% ethyl alcohol 30ml를 가하여 잠시 교반 후 방치하여 생성된 침전물을 여별하고 다시 여액을 75% ethyl alcohol 30ml를 가한 후 같은 조작을 2회 반복한 다음 여액중 ethyl alcohol을 감압 제거하여 잔사전량을 20g이 되게하고 1N NaOH로 pH6.8으로 조절하여 저온에서 12시간 방치한 후 미량의 부유액을 여별한 후 멸균하여 10%와 20% 목향 70% MeOH층 약침액으로 희석하여 사용하였다 (Scheme 1).

2. 方法

1) 비장세포의 측정

비장면역세포를 분리하여 96 well plate의 각 well에  $5 \times 10^5$  cells씩 첨가하고, 목향 70%Acetone층 약침액을 농도별로 처리한 후 세포를 37 $^{\circ}$ C에서 72시간 배양 후 50 $\mu$ Ci/ml의 [methyl- $^3$ H] Thymidine (Amersham, USA)을 첨가한 후 다시 8시간 배양하였다. 세포내로 흡수된 방사선 동위원소의 양을 측정하기 위하여 세포만을 세포수집기(Cell Harvester)를 사용하여 유리섬유여지(Glass microfiber filter, Whatman)위에 포획하고, 건조한 후 방사선 측정기(Liquid Scintillation Counter, LKB)를 이용하여 방사선 동위원소의 양을 측정하였다.

## 2) In vivo에서 면역세포 증진과 활성화 실험

### ① B16-F10 癌細胞株 移植

B16-F10 (ATCC, CRL-6475)을 C57BL/6 생쥐의皮下에 繼代培養하였고 實驗前에 形成된 腫瘍組織 部位를 分離하여 腫瘍組織 1g에 10ml의 cold D-PBS(Ca<sup>2+</sup>&Mg<sup>2+</sup>-free, Sigma)가 되게 調節한 後 100mesh (Sigma)로 腫瘍組織을 粉碎한 後 遠心分離(1,500r.p.m., 5min.)하였다. 이 pellet에 collagenase(1,700U/mg, Type-XI Sigma)를 B16-F10 0.1g/ml에 處理하여 30分間 water bath(37℃)에서 培養시킨 後 遠心分離(1,300r.p.m., 5min.)하였다. 上騰液을 除去한 다음 0.85% NH<sub>4</sub>Cl을 넣어 잘 섞은 것을 37℃ 培養器에서 5分間 放置하여 赤血球를 破壞시킨 後 遠心分離하여 B16-F10을 分離하였다. B16-F10 癌細胞株(2×10<sup>5</sup>cells/마리)의 尾靜脈에 移植한 후 木香 70% Acetone층 약침액을 足三里(St36)에 7일간 취혈하였다.

### ② 實驗群의 分類

실험군은 다음과 같이 분류하였다.

對照群-A(Control-A) : B16-F10 癌細胞柱를 移植한 群

對照群-B(Control-B) : 7日間 足三里에 1日 1回 刺鍼한 後 B16-F10 癌細胞柱를 移植하고 계속해서 15日間 足三里에 1日 1回 刺鍼한 群

對照群-C(Control-C) : 7日間 생리식염수(0.1ml)를 足三里에 1日 1回 注入한 後 B16-F10 암세포주를 移植하고 계속해서 15日間 생리식염수(0.1ml)를 足三里(St36)에 1日 1回 注入한 群

實驗群-A(Sample-A) : 7日間 足三里에 10% 木香 藥鍼液(70% Acetone층 0.1ml)을 施術한 後, B16-F10 암세포주를 移植하고, 계속해서 15日間 藥鍼施術한 群

實驗群-B(Sample-B) : 7日間 足三里에 1% 木香

藥鍼液(70% Acetone층 0.1ml)을 施術한 後, B16-F10 암세포주를 移植하고, 계속해서 15日間 藥鍼施術한 群

### ③ 取穴

人體의 足三里(St36)에 相應하는 實驗動物의 體表面의 鬚을 除去한 後 骨度分寸法에 依據하여 經穴探知器(D-J3型, 耳電鍼器 上海醫療器)를 使用하여 取穴하였다.

### ④ 藥鍼

藥鍼注入器로 1ml의 注射器를 使用하여 實驗始作 2日부터 15日까지 各各의 實驗群에 따라 족삼리에 0.1ml씩, 1日 1回, 總 15日間 藥鍼하였다.

### ⑤ CD3e<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>, N.K 1.1<sup>+</sup>, B220<sup>+</sup> 형광세포 분석

B16-F10세포주를 C57BL/6 생쥐에 이식한지 3일째 경추탈골법으로 치사시킨 후 비장을 분리하였다. 비장세포에 적혈구 용혈액을 처리하여 적혈구를 제거하고 4℃에서 면역 형광염색 (immunofluorescence staining)을 실시하였고, 각각에 PE-anti-CD3e, PE-anti-CD25, PE-anti-NK1.1, FITC-anti-CD69, FITC-anti-CD8, FITC-anti-CD4, PE-anti-B220을 넣고 30분간 얼음에서 반응시켰다. 반응 후 3회 이상 인산완충생리 식염수로 수세한 후 flow cytometer (Becton Dickinson, USA)의 CellQuest 프로그램을 이용하여 “CD25<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>, N.K.1.1<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>” 세포(%)를 분석하였다.

### ⑥ Pulmonary colonization assay

B16-F10 癌細胞株 移植 後 木香藥鍼液을 注入한 C57BL/6 생쥐에서 癌細胞株 移植 後 15日

에 colony assay를 實施하였다. Pulmonary colonization assay는 肺臟의 外部에 나타난 黑色의 colony 數를 顯微鏡(Nikon, Japan)으로 觀察하였다.

⑦ 病理組織檢査

B16-F10 癌細胞株를 移植하고 15日 後에 各群에서 肺를 分離하여 10% formaldehyde 溶液에 固定한 後 細切하여 흐르는 물에 8時間동안 水洗한 다음 scheme 2와 같은 과정을 거쳐 포매한다. 이것을 microtome으로 절편을 만들어 scheme 3과 같은 과정을 거쳐 Hematoxylin & Eosin染色을 하였다.

⑧ 생명연장곡선 측정

B16-F10세포주를 C57BL/6 생쥐에 이식한 날 부터 시작하여 당일 생존여부를 관찰하여 평균 생존일수 및 연명율을 구하였다.

MST (median survival time) : 생존일수중앙치

ILS (Increase in MST over control-3)

$$: \text{연명율} = \left\{ \frac{T-C}{C} \right\} \times 100 (\%)$$

T : 처치군의 MTS

C : 대조군의 MTS

3. 統計處理

統計는 student's t-test에 의해 處理하였다.

III. 成績

1. 木香 藥針液이 비장세포 增殖에 미치는 影響

70% acetone 100 $\mu$ g/ml의 木香 物質分劃 藥鍼液을 건강한 Balb/c mouse에서 추출한 비장 세포에 각각 10, 1, 0.1 %의 농도로 처리하여 비

장세포의 증식에 미치는 영향을 알아본 결과, 세포의 증식을 농도 의존적으로 유의성 있게 증가시키는 것으로 나타났다.(Table 1. Fig.1.)

Table 1. Effect of AKL-HAS extract on spleen cells proliferation in Balb/c mice

Group	Dose	Spleen cells production(cpm)
Media control	0	1,267 $\pm$ 146
Con-A( $\mu$ g/ml)	0	38,760 $\pm$ 5,194***
AKL-HAS(%)	10	12,809 $\pm$ 2,361***
	1	4,231 $\pm$ 570***
	0.1	2,314 $\pm$ 424*

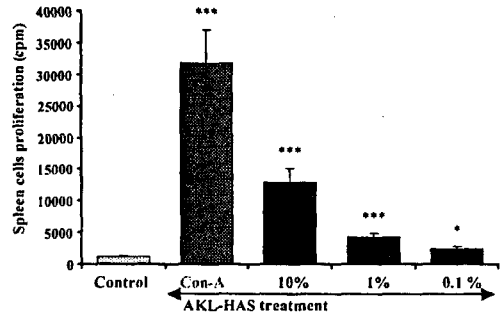


Fig. 1. Effect of AKL-HAS extract on spleen cells proliferation in Balb/c mice.

Table 1. Fig. 1. Mouse B cells from healthy Balb/c mice were treated with AKL-HAS extract(10, 1, 0.1 %). Spleen cells were cultured with Con-A (Positive control) and AKL-HAS extract for 48 hrs. After 40 hrs incubation, treated <sup>3</sup>H-thymidine uptake, the culture supernatants and spleen cells were collected using cell harvester (Cambridge Tee, UK). The cell proliferation were measured to liquid scintillation counter(LKB, USA) as described in Materials and Methods. Statistically significant value compared with control data by T test (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

2. PBMCs의 CD25<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>, NK1.1<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup> 比率에 미치는 影響(Table 2.)

Table 2. Effect of *Aucklandia lappa* aqua-acupuncture solution AKL-AAS) on the percentage of CD25<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>, CD3e<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>, NK1.1/CD3e<sup>+</sup> in mouse PBMCs.

Group	Dose	CD25 <sup>+</sup> /CD4 <sup>+</sup> (M)	CD3e <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> (M)	CD69 <sup>+</sup> /B220 <sup>+</sup> (M)	NK1.1/CD3e <sup>+</sup> (M)
Control-1	0	10.4±1.1	4.7±0.2	44.6±3.7	2.2±0.1
Control-1	0	12.7±2.2	7.9±0.5	49.6±2.6	2.6±0.2
Control-1	0	13.8±2.5	8.1±0.4	49.1±3.8	2.8±0.2
AKL-AAS (%)	10	18.5±2.2	10.7±0.2	57.5±3.5	4.7±0.4
	1	16.0±1.3	10.2±0.2	53.7±3.0	3.5±0.7

C57BL/6 mice were implanted intravenously with B16-F10 melanoma (2x10<sup>5</sup> cells) on day 7. The mice were treated with AKL-AAS on the Chok-Samni(S<sub>38</sub>) for 10 days beginning on the day after the first AKL-AAS injection. After 10day, C57BL/6 mouse PBMCs (5x10<sup>5</sup> cell/ml) were isolated, and the PBMCs were washed twice and analyzed by flow cytometer. Two group treated with AKL-AAS showed in creased number of CD25<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>, CD3e<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T cells, CD69<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup> and natural killer (NK<sup>+</sup>)CD3e<sup>+</sup>.

- Control-1 : B16-F10 melanoma + C57BL/6 mice group
- Control-2 : B16-F10 melanoma + only stimulated at Hind paw Chok-Samni (S<sub>38</sub>)
- Control-3 : B16-F10 melanoma + intradermal injection at Hind paw Chok-Samni (S<sub>38</sub>) with 0.1ml of saline
- AKL-AAS : B16-F10 melanoma + intradermal injection at Hind paw Chok-Samni (S<sub>38</sub>) with 0.1ml of 10% and 1% AKL-AAS.

(1) PBMCs의 CD25<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> 세포 比率

CD25<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>의 비율이 Control-1에서 10.4 ± 1.1 % 였고, Control-2에서 12.7 ± 2.2 %였으며, Control-3에서 13.8 ± 2.5 % 였고, 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각 18.5 ± 2.2 %, 16.0 ± 1.3 %로 나타났다.

(2) PBMCs의 CD8<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup> 세포 比率

CD8<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>의 비율이 Control-1에서 4.7 ± 0.2 % 였고, Control-2에서 7.9 ± 0.5 %였으며,

Table 3. Effects of AKL-HA on Pulmonary colony number of C57BL/6 mice implanted intravenously with B16-F10 melanoma.

Group	Dose	No/ animal	Pulmonary Colony No.	Decrease (%)
Control-A	0	12	76.4±6.9	
Control-B	0	12	67.2±4.2	
Control-C	0	12	69.1±3.7	
Sample-A	10%	12	21.3±2.0***	69.2
Sample-B	1%	12	45.5±3.9***	34.2

C57BL/6 mice were implanted intravenously with B16-F10 melanoma (2x10<sup>5</sup> cells) on the 7th days. The mice were treated with AKL-HAS into Zusanli(St36) for 22 days beginning on the day of the first AKL-HAS injection. Pulmonary colony was observed 15days after the B16-F10 melanoma implantation.

- Control-A : B16-F10 melanoma only,
- Control-B : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36),
- Control-C : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline,
- Sample-A : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% AKL-HAS.
- Sample-B : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% AKL-HAS.

Each point represents the mean±S.E of 12 mice. Statistically significant value compared with control-3 data by T test(\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

Control-3에서 8.1 ± 0.4 %였고, 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서 각각 10.7 ± 0.2 %, 10.2 ± 0.2 %로 나타났다.

(3) PBMCs의 CD69<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup> 세포 比率

CD69<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>의 비율이 Control-1에서 44.6 ± 3.7 % 였고, Control-2에서 49.6 ± 2.6 %였으며,

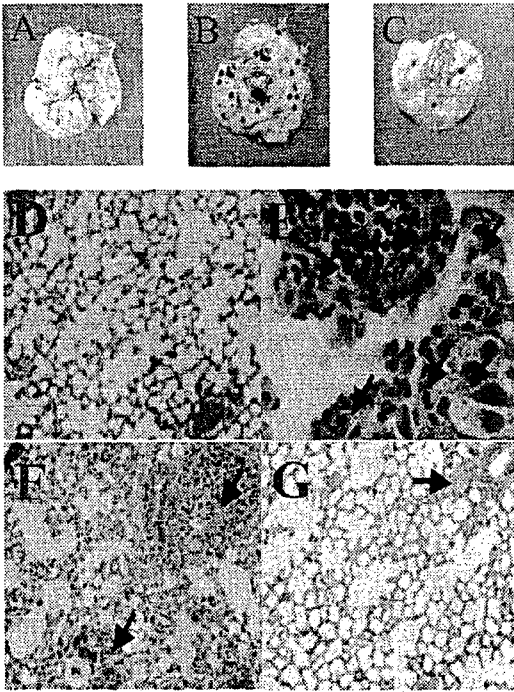


Fig. 2. Representative lungs to show inhibition of melanotic colony formation, and histological analysis of lung tissue of B16-F10 melanoma metastasis in C57BL/6 mice.

C57BL/6 mice were i.v. injected with  $2.0 \times 10^5$  cells B16-F10 melanoma 15 days later, tumor pulmonary colonization became palpable, they were sacrificed, fixed in 10% buffered formalin and embedded in paraffin. Paraffin sections were stained with hematoxylin/eosin. The panels are representative photomicrographs of each of these tumors (arrow) at bright microscope (Nikon,  $\times 100$ ).

- Normal group : not treated (A,D)
- Control-B : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36)(E)
- Control-C : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline.(B,F)
- Sample-A : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% AKL-HAS.(C,G)
- Sample-B : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% AKL-HAS.(C,G)

Table 4. Effects of AKL-HA on MST of C57BL/6 mice implanted intravenously with B16-F10 melanoma.

Group	Dose	No./ animal	MST (day)	ILS (%)
Control-A	0	12	17.1 $\pm$ 2.7	
Control-B	0	12	18.4 $\pm$ 3.4	
Control-C	0	12	17.6 $\pm$ 2.6	
Sample-1	10(%)	12	24.7 $\pm$ 2.9*	40.3
Sample-2	1(%)	12	22.6 $\pm$ 3.0	28.4

C57BL/6 mice were implanted intravenously with B16-F10 melanoma ( $2 \times 10^5$  cells) on the 7th day, treated with AKL-HAS into the Zusanli(St<sub>36</sub>) for 22 days beginning on the day of the first AKL-HAS injection.

MST(mean survival time); ILS(Increase in MST over Control-C) =  $\frac{(T-C)}{C} \times 100(\%)$

T : MST of Sample group

C : MST of Control-C

Control-A : B16-F10 melanoma only

Control-B : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St<sub>36</sub>)

Control-C : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St<sub>36</sub>) with 0.1ml of saline.

Sample-A : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St<sub>36</sub>) with 0.1ml of 10% AKL-HAS.

Sample-B : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St<sub>36</sub>) with 0.1ml of 1% AKL-HAS.

Each point represents the mean  $\pm$  S.E of 12 mice.

Statistically significant value compared with control-3 data by T test(\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

Control-3에서 49.1  $\pm$  3.8 %였고, 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각 57.5  $\pm$  3.5 %, 53.7  $\pm$  3.0 %로 나타났다.

#### (4) PBMCs의 NK1.1<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup> 세포 比率

NK1.1<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>의 비율이 Control-1에서 2.2  $\pm$  0.1 % 였고, Control-2에서 2.6  $\pm$  0.2 %였으며, Control-3에서 2.8  $\pm$  0.2 %였고, 10% AKL-

HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각  $4.7 \pm 0.4 \%$ ,  $3.5 \pm 0.7 \%$ 로 나타났다.

### 3. Lung colony number에 미치는 影響

Control-1에서는  $76.4 \pm 6.9$ 개였고, Control-2에서  $67.2 \pm 4.2$ 개였으며, Control-3에서  $69.1 \pm 3.7$ 개였고, 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각  $21.3 \pm 2.0$ 개,  $45.5 \pm 3.9$ 개로 나타났다.(Table 3, Fig 2)

### 4. 평균생존일수(MST) 및 연명률(ILS)에 미치는 影響

평균생존일수(MST)는 Control-1에서  $17.1 \pm 2.7$ 였고, Control-2에서  $18.4 \pm 3.4$ 였으며, Control-3에서  $17.6 \pm 2.6$ 였다. 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각  $24.7 \pm 2.9$ ,  $22.6 \pm 3.0$ 으로 나타나 연명률(ILS)은 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서 각각 40.3%, 28.4%였다.(Table 4)

## IV. 考 察

木香(Aucklandiae Radix)은 菊花科(Compositae)에 屬한 多年生 草本인 雲木香(Aucklandiae Radix)의 根으로, 가을과 겨울에 채취하여 건조한 것으로 行氣止痛 溫中和胃 能升降諸氣 泄肺氣 疎肝氣 和脾氣 建脾胃 消食積 去痰臭 實大腸 등의 效能을 가지고 있어서, 一切氣痛 九種心痛 中氣不消 嘔逆反胃 癩亂 瀉利後重 등에 臨床活用하고 있는 藥材이다<sup>6)</sup>.

《神農本草經》<sup>7)</sup>에 木香은 “氣味辛溫 無毒 主邪氣 辟毒疫溫鬼 強志 主淋露 久服不夢寤 癡寐”라 기재되어 있다.

韓醫學에서 腫瘍에 대한 認識은 일찍부터 있었다. 이에 대한 記述은 殷墟의 甲骨文에서 “瘤

라 한 곳에서 처음 나타난다<sup>8)</sup>. 그 후 《黃帝內經》<sup>9,10)</sup>에서 積聚 蠱脹 腸覃 石瘕 息賁 石瘕 瘕病 伏梁 厥疝 癥聚와 이후 여러 醫書에서 보이는 癥瘕 癰疽 癭瘤 反胃 噎膈 失榮 乳癥 石疽 石癰 등이 오늘날의 癌과 가장 類似한 病症이다.

腫瘍의 原因은 《靈樞》<sup>11)</sup><刺節眞邪篇>에서 “虛邪之入於身也深, 久留而內著”이라 하여 正氣虛로 보았고, <五變篇>에서는 “皮膚薄而不澤 肉不堅而掉澤 如此則腸胃惡 惡則邪氣留止 積聚乃傷 脾胃之間 寒溫不次 邪氣稍至 蓄積留止 大聚乃起.....津液血氣 腸胃之所生也 腸胃惡則 邪氣留止而成積聚 內傷腸胃之間 若在飲食之寒溫不次 邪氣稍之則蓄積”이라 하여 飲食內傷과 外感을, 巢<sup>12)</sup>는 “積聚者 乃陰陽不和 臟腑虛弱 受于風邪 搏于臟腑之氣少爲也”라 하여 正氣虛와 外感風邪를, 王<sup>13)</sup>은 “憂鬱傷肝 思慮傷脾 積想在心 所願不得志者 致經絡滯澁 聚結成核 初如豆大 漸者棋子”, 陳<sup>14)</sup>은 “乳岩由于憂思鬱結 所願不遂 肝脾氣逆 以致經絡阻塞 結積成核”이라 하여 七情變化에 의해서도 誘發된다고 하였고, 崔<sup>15)</sup>는 原發性으로 七情, 六淫, 內傷을 續發性으로 痰飲과 瘀血을, 田<sup>16,17)</sup>은 風寒暑火濕등의 外邪를 感受하는 外因과 怒憂思悲恐鬱結에 의한 七情內傷의 內因과 辛鹹, 甘苦, 煎炒, 酒濕의 飲食失調와 過勞, 房勞過度의 不內外因으로, 張<sup>18)</sup>은 七情不舒, 飲食不節, 過度勞倦, 高年衰老, 氣血虧損으로 因한 內因과 外感六淫으로 因한 外因을 주장하였다.

腫瘍에 대한 韓醫學的인 治療法은 扶正法, 祛邪法, 및 扶正祛邪法의 3가지로 分類할 수 있는데<sup>16)</sup>, 張<sup>19)</sup>은 養陰生津法을 重視하였고, 王<sup>20)</sup> 등은 扶正爲主에 겸하여, 活血化瘀法을 活用하여야 한다고 하였으며, 徐<sup>21)</sup> 등은 補氣, 補血, 滋陰 補腎, 溫腎助陽의 扶正培本法을 주로 活用하였다. 이에 關하여 《素門》<sup>22)</sup><上古天眞論>에 “眞



氣從之 精神內守 病安終來”, <刺法論>에 “正氣存內 邪不可干”, <評熱病論>에 “邪之所湊 其氣必虛”, <四氣調神大論>에 “不治已病 治未病”이라 하여 體內的 正氣와 體外的 邪氣와의 抗爭이 病을 일으키는 主要 關鍵이며, 扶正祛邪가 治法의 原則이 됨을 提示하고 있다.

西洋醫學에선 腫瘍은 그 發生過程과 機轉이 밝혀져 있지 않고, 그 生物學的 性狀이 複雜하므로 그 正義를 적절하게 내린다는 것은 어렵지만, ‘腫瘍은 組織의 자율적인 過剩成長이며, 이것은 個體에 대하여 의의가 없거나 이롭지 않을뿐더러 正常 組織에 대해서 破壞적인 것<sup>23)</sup>’이라고 定義하고 있다.

癌이 生命에 威脅이 되는 가장 큰 原因은 癌細胞의 轉移能이다<sup>23)</sup>. 轉移란 惡性腫瘍이 가지는 가장 대표적인 特性으로서 腫瘍이 發生한 部位에서의 局所 浸潤能力과 遠隔部位로의 轉移能力을 同時에 가지고 있어서 全身 각 臟器나 組織에 轉移所를 만들어 終局에는 癌患者 死亡의 主된 原因이 된다<sup>24)</sup>. 즉, 어떤 部位에 發生한 癌이든지 生成部位만 찾으면 外科的 技術에 의하여 除去할 수 있으나, 癌細胞가 原發部位 이외의 여러 곳에 퍼져 나가기 때문에 극히 制限된 初期 時期에만 手術이 效果의이다<sup>23)</sup>.

韓醫學에서 腫瘍의 轉移에 대하여 <靈樞><sup>25)</sup> <百病始生篇>에 “是故虛邪之中人也, 始於皮膚, 皮膚緩則腠理開, 開則邪從毛髮入, 入則抵深, …… , 不可勝論”이라 하여 虛邪로 皮膚에서 始作된 疾病이 毛髮, 孫脈, 絡脈, 經脈, 濡脈, 伏衝之脈, 營筋, 腸胃之募原 등에 傳變이 되어 留而不去면 成積한다고 하여 腫瘍의 轉移를 言及하였고, 劉<sup>26)</sup>는 腫瘍의 轉移와 再發의 基本要素가 되는 殘存 癌細胞를 伏邪, 餘毒으로 表現하였고, 金<sup>27)</sup>은 腫瘍의 轉移와 再發은 殘存 癌細胞인 餘毒을 基礎로 瘀血, 熱毒, 痰濁, 正不抑邪, 氣滯가

相互膠着한 것이라고 하였다.

癌은 現代醫學의 發展에도 불구하고 아직도 그 原因이 명확히 밝혀지지 않은 바가 많으며 最近 첨단 진단기기와 手術, 放射線治療, 抗癌療法, 免疫療法 등의 계속적인 발전에도, 대부분 癌의 치료는 아직 기대할 만한 수준에 이르지 못하고 있는 실정이다<sup>28)</sup>.

西洋醫學에서의 이러한 癌의 治療法 中 手術療法과 放射線療法은 局所性癌에만 適用되는 限界가 있고, 化學療法은 全身性癌에 適用될 수 있지만 個體의 抵抗力이 너무 떨어진다는 副作用이 있기 때문에, 全身療法인 免疫療法은 아직은 輔助的인 療法으로 適用되고 있다<sup>29)</sup>.

免疫이란, 生體가 自己와 非自己를 區別하는 機構로서 外部로부터 侵入하는 微生物, 同種의 組織이나 體內에서 생긴 突然變異產物등과 作用하여 非自己를 제거함으로써 個體의 恒常성을 維持하는 現象을 說明하는 것이며, 非自己를 認識하여 抗體를 形成하거나 細胞性 免疫反應을 보여 非自己를 除去하는 連鎖的 反應을 免疫反應이라 한다<sup>30)</sup>. 또한 免疫反應은 細菌에 대한 抗體를 生産하는 B細胞 形質細胞의 體液性 免疫反應과, 바이러스, 結核菌, 真菌에 대해 減作細胞와 cytokine을 生産하는 T細胞의 細胞性 免疫反應으로 나눌 수 있다<sup>31)</sup>. 이러한 免疫反應을 利用한 免疫療法은 癌組織의 交換移植, 交換輸血, 受動的 免疫療法등이 있으며, 이러한 免疫療法<sup>32)</sup>은 種類에 구애받지 않고, 모든 癌症治療에 사용할 수 있으며, 그 중에서도 網狀內皮系細胞 특히, 淋巴球의 活動性を 刺戟하여 免疫감시기구를 補強하는 非特異的 免疫療法이 注目받고 있다<sup>33)</sup>. 最近에는 腫瘍疫學, 腫瘍免疫學, 바이러스 腫瘍學, 細胞生物學, 分子生物學등의 發展에 힘입어 癌에 대한 理解 및 治療에 많은 發展을 이루고 있고, 이와 더불어 東西醫學을 併行治療하

는 방법이 시도되고 있다. 지금까지 연구된 보고서에 의하면 T helper 세포 중  $T_{H1}$  세포는 IL-2, IFN- $\gamma$ , lymphotoxin을 생산하고  $T_{H2}$  세포는 IL-4, IL-5, IL-6 및 IL-10을 생산하며 IL-3, TNF- $\alpha$  및 GM-CSF는  $T_{H1}$  및  $T_{H2}$  모두에서 생산되는 것으로 알려졌다<sup>34)</sup>. 이들의 기능적 차이를 연구한 결과,  $T_{H2}$  세포에서分泌되는 IL-4는 IgE의 생성을 증가시키고  $T_{H1}$ 에서分泌되는 IL-2 및 IFN- $\gamma$ 는 IgE의 생성을 억제하는 반면에,  $T_{H2}$  세포가 생성한 IL-10이  $T_{H1}$  세포의 cytokine 생성들을 억제하며, IFN- $\gamma$ 는  $T_{H2}$  세포의 cytokine 생성을 억제한다는 사실로 보아 이들은 서로 다른 cytokine 생성을 통하여 상호 억제 작용을 함으로써 면역조절에 관여하는 것으로 생각된다.

韓醫學의인 면역의 개념은 《素問》<sup>35)</sup> 〈刺法論〉의 “正氣存內，邪不可干”，〈上古天真論〉의 “真氣從之，精神內守，病安從來”，〈評熱病論〉의 “邪氣所滲，其氣必虛”，《靈樞》<sup>35)</sup> 〈口問〉의 “邪氣所在，皆爲不足”，〈百病始生〉의 “風雨寒熱不得虛，邪不能獨傷人” 등에 나타나며, 이들은 질병의 발생 및 진행을 正邪의 抗爭의 過程으로 認識하고 疾病發生을 正氣의 虛弱으로 보았다. 즉, 正氣는 人體 內에서 一切의 疾病에 抵抗하는 免疫과 類似한 概念으로 邪氣는 一切의 疾病을 일으키는 原因要素의 總稱으로 보아, 疾病을 豫防하고 健康한 狀態를 維持함에 있어서 가장 중요한 것은 正氣를 調養하는 것이라고 하였다<sup>36)</sup>. 그러므로 治法은 人體의 抵抗力을 調節하고 安定성을 增強하는 扶正法과 免疫機能을 破壞하는 要素를 除去하는 去邪法이 重要視되고 있다<sup>37)</sup>.

藥鍼療法은 經絡學說과 藥物療法の 原理를 바탕으로 患者의 疾病을 根據로 穴位의 治療作用과 藥物의 藥理作用을 살핀 다음 相應하는 腧穴과 藥物을 選擇하고 藥液을 腧穴 內에 注入하여

腧穴과 藥物이 疾病에 대해 綜合的인 作用을 충분히 發揮하게 하여 疾病을 治療하는 方法<sup>4)</sup>으로, 體液系統, 免疫系統, 神經系統의 調節作用이 있으며, 神經傳導, 協調陰陽, 通調經絡, 營衛氣血을 調和시켜<sup>38)</sup> 生體의 機能을 調整하고 病理形態를 變化시켜 鎮痛, 腫瘍誘發抑制 等の 治療效果가 있는 것으로, 藥物의 吸收가 빠르고, 經口投與가 不可能한 境遇 및 患處에 處置할 수 있는 等の 長點이 있다.<sup>39)</sup>

足三里(St36)는 “下陵，鬼邪，下三里，三里”라고도 하며<sup>39)</sup>, 足陽明胃經에 屬하고, 胃經의 合穴이며, 五行上土에 屬하고, 六腑下合穴, 回陽九針穴, 四總穴, 中風七處穴 中の 하나이며<sup>39)</sup>, 扶正培元, 祛邪防風하는 穴性으로 積聚, 癆腫, 胃癰, 乳癰, 蕁麻疹, 疥癬, 丹毒, 濕疹등에 使用되었고, 食不和, 腸鳴, 腹痛, 吐瀉, 便秘, 痢疾, 黃疸, 耳鳴, 頭痛, 眩暈, 帶下, 乳癰, 坐骨神經痛, 癲癩등의 活用範圍가 廣範圍한 效果를 지니고 있으며<sup>39)</sup>, 實驗的으로 抗腫瘍效果 및 免疫增強效果가 認定된 바 있다.

CD는 cluster of differentiation의 약자로 표식인자 특성에 따라 CD1, CD2, CD3 등으로 부른다.  $CD4^+$  T세포는 보조 T림프구이고,  $CD8^+$  T세포는 억제 T세포 또는 세포독성 T 세포로 CD4, CD8은 T림프구를 다시 세분하는 표식인자로 이용되고 있으나, 모든 T세포 표면에 표현되는 표식인자로  $CD3^+$ 가 있다. 말초 T림프구는 CD4와 CD8 중 하나만 가진다.  $CD4^+$  보조 T세포는 다시 제1형 보조 T세포( $T_{H1}$ )와 제2형 보조 T세포( $T_{H2}$ )로 구별된다. CD4는 MHC 제1항원을 인식하고 작용하며, CD8은 MHC 제1항원을 인식하고 작용한다.

CD3는 T cell에 분포하여, T 림프구 항원 수용체에 항원이 결합된 신호를 세포안으로 전달하고, CD25는 activated T & B cell에 분포하며

IL-2 수용체의 기능을 하며, CD69는 activated B & T cell, 대식세포, NK cell에 분포하고, B220은 사람에게엔 없지만 mouse의 B세포 표면에 있는 표식자이다<sup>40)</sup>.

최근 cytokine 면역세포 활성화를 이용한 면역요법(immunotherapy)은 암치료에 새 장을 열고 있다. in vitro에서 면역세포를 활성화시켜 말초혈액에 주사한 후 암세포를 죽이든지, in vivo에서 활성화된 T세포, NK세포, DCs 세포 등이 암세포를 apoptosis로 유도하는 치료법이다. 이러한 연구<sup>41)</sup>에는 생쥐전이(Mouse melanoma)모델이 사용되는데, 이는 암연구에서 비교적 잘 정립되어 있는 면역요법, 전이를 연구하기에 적합한 모델이다. 본 연구에서 생쥐 melanoma 전이 모델에 木香 藥鍼을 足三里에 시술하여 면역세포구에 의한 natural killer cell cytotoxicity와 CD3<sup>+</sup> (T cell), CD4<sup>+</sup> (T helper cell) 및 CD8<sup>+</sup> (T suppressor cell) 및 NK cell 세포의 발현 빈도, 표면 분자 발현 유도를 관찰하였다. 정상 활성화상태에서는 CD8<sup>+</sup> Tc/s 반응과 CD4<sup>+</sup> T<sub>H1</sub> 세포에서 분비되는 IL-2와 IFN- $\gamma$  등에 의한 NK세포의 활성화를 통해 암세포를 퇴치하는 작용이 일어난다. 그래서 T세포의 활성화는 생체의 면역체계에서 가장 중요한 기전으로 T helper (CD4)와 s/c T (CD8)의 활성화를 의미한다. T 세포 면역증진은 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>의 활성화세포수의 증가와 IL-2, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$  발현증가 등의 특징 외에 T세포의 co-stimulation 인자인 CD28 등이 증가되면 T 세포활성화가 이루어지고, 이는 임파구 초기 활성화 표식 표면분자인 CD25<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>, CD44<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>의 증가로 알 수 있다. 최근 연구에서 T세포 수용체인 CD3e 만을 자극시키는 단일 신호시스템에 의존했지만, 두 번째 수용체인 CD28을 동시에 촉진할 수 있는 방법을 발견했

다고 말했다<sup>42)</sup>. 기존의 CD3 수용체만을 자극시키는 방법은 외부 침입자, 즉 종양세포에 대해 거의 반응을 나타내지 않았지만 CD3과 CD28을 동시에 자극시키면 면역시스템이 더 적극적으로 반응할 수 있게 한다는 것을 증명하였다.<sup>42)</sup> NK-T 세포는 인체에서 발생하는 암세포 제거에 중요한 역할을 하고 있음이 규명되고 있다.<sup>43)</sup>

Acetone과 Methanol의 농도를 달리해서 추출한 木香 物質分劃 藥鍼液 중에서 cytokine 遺傳子 發顯에 미치는 影響을 살펴본 結果는 70% acetone 100 $\mu$ g/ml의 木香 物質分劃 藥鍼液이 cytokine 遺傳子(IL-2, IL-10, IFN- $\gamma$ ,  $\beta$ -actin) 發顯에 다른 것들보다 뛰어난 것으로 나타났다.

이에 著者는 70% acetone 100 $\mu$ g/ml의 木香 物質分劃 藥鍼液을 건강한 C57BL/6 mouse에서 추출한 비장세포에 각각 10, 1, 0.1 %의 농도로 처리하여 비장세포의 증식에 미치는 영향을 알아본 결과, 세포의 증식을 농도에 의존하여 유의성 있게 증가시키는 것으로 나타났다(Table 1, Fig. 1).

생쥐의 In vivo에서 면역세포 증진과 활성화 실험에서는 CD25<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>의 비율이 Control-1에서는 10.4  $\pm$  1.1 % 이었고, Control-2에서는 12.7  $\pm$  2.2 %였으며, Control-3에서는 13.8  $\pm$  2.5 %이었고, 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각 18.5  $\pm$  2.2 %과 16.0  $\pm$  1.3 %로 현저히 증가되어 나타났다(Fig. 2).

CD8<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>의 비율이 Control-1에서는 4.7  $\pm$  0.2 % 이었고, Control-2에서는 7.9  $\pm$  0.5 %였으며, Control-3에서는 8.1  $\pm$  0.4 %이었고, 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각 10.7  $\pm$  0.2 %과 10.2  $\pm$  0.2 %로 유의성 있게 증가되어 나타났다(Fig. 3).

CD69<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>의 비율이 Control-1에서는 44.6  $\pm$  3.7 % 이었고, Control-2에서는 49.6  $\pm$  2.6 %

였으며, Control-3에서는  $49.1 \pm 3.8$  %이었고, 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각  $57.5 \pm 3.5$  %과  $53.7 \pm 3.0$  %로 유의성 있게 증가되어 나타났다(Fig. 4).

NK1.1<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>의 비율이 Control-1에서는  $2.2 \pm 0.1$  % 이었고, Control-2에서는  $2.6 \pm 0.2$  %였으며, Control-3에서는  $2.8 \pm 0.2$  %이었고, 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각  $4.7 \pm 0.4$  %과  $3.5 \pm 0.7$  %로 유의성 있게 증가되어 나타났다(Fig. 5).

위의 In vivo에서 PBMC에서의 면역세포 증진과 활성화 실험결과로 미루어 보아 足三里(St36)에 시술한 木香 藥鍼이 면역세포의 증진과 활성화에 유효함을 알 수 있었다.

Pulmonary colonization assay는 B16-F10 癌細胞株 移植 後 木香 物質分割 藥鍼液을 注入한 C57BL/6 생쥐에서 癌細胞株 移植 後 15日에 肺臟의 外部에 나타난 黑色의 colony 數를 顯微鏡(Nikon, Japan)으로 觀察하였다.

그 결과 Lung Colony Number는 Control-1에서는  $76.4 \pm 6.9$ 개였고, Control-2에서는  $67.2 \pm 4.2$ 개였으며, Control-3에서는  $69.1 \pm 3.7$ 개였고, 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각  $21.3 \pm 2.0$ 개와  $45.5 \pm 3.9$ 개로 나타나 Lung colony number의 감소율이 각각 69.2%, 34.2%로 나타났다.(Table 2, Fig. 6.)

病理組織檢査는 B16-F10 癌細胞株를 移植하고 15日 後에 各 群에서 肺를 分離하여 관찰해 본 결과 Control-1에서는 폐조직에 전이된 암세포가 많이 나타났고, Control-2에서는 Control-1에서 보다는 양호했으나 많은 수의 B16-F10 암세포주가 나타났으며, 10% AKL-HAS에서는 Normal한 폐세포에 근사할 정도로 B16-F10 암세포주가 현저하게 감소되어 나타났다.(Fig. 7.)

B16-F10세포주를 C57BL/6생쥐에 이식 후, 木香 物質分割 藥鍼液을 足三里(St36)에 취혈하

기 시작한 날부터 시작하여 당일 생존여부를 관찰하여 평균생존일수 및 연명율을 구하였다.

평균생존일수(MST)는 Control-1에서는  $17.1 \pm 2.7$  이었고, Control-2에서는  $18.4 \pm 3.4$  였으며, Control-3에서는  $17.6 \pm 2.6$  였고 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서는 각각  $24.7 \pm 2.9$ 와  $22.6 \pm 3.0$  로 나타나 연명율(ILS)은 10% AKL-HAS와 1% AKL-HAS에서 각각 40.3%와 28.4%로 나타났다.(Table 3, Fig. 8.)

이상의 실험결과를 종합해보면 木香 物質分割 藥鍼液이 면역세포의 증식뿐만이 아니라 면역세포를 활성화시켜 항암 및 항전이작용에 유의한 효과가 있음을 알 수 있었으며 앞으로 임상에서의 활용이 기대된다.

## V. 結 論

足三里(St36)에 施術한 木香 物質分割 藥鍼液이 免疫增進을 통한 抗癌效果에 關하여 實驗的으로 究明하고자 C57BL/6 생쥐에 B16-F10 암세포주를 이식한 후 木香 藥鍼하여 PBMC에서 Cytokine 遺傳子 發顯과 PBMC의 流細胞 螢光分析, Lung colony 수, 평균생존일수 및 연명율을 구하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 脾臟細胞의 增殖은 실험군에서 대조군보다 증가하였다.
2. PBMC의 CD25<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>, NK1.1<sup>+</sup>/CD3e<sup>+</sup> 比率이 全 實驗群에서 對照群에 比해 增加하였다.
3. 실험군의 pulmonary colony number가 대조군보다 감소하였다.
4. 실험군의 생존일수와 연명율이 대조군보다 증가하였다.

## VI. 參考文獻

1. 서울대학교 의과대학. 腫瘍學. 서울 : 서울대학교출판부. 1996 : 1-5, 43-93.
2. 申天浩. 癌瘤防治研究. 成輔社. 1984 : 25-29, 31-8.
3. 孟琳升. 中國治癌大成. 北京科學技術出版社. 1995 : 18-9.
4. 大韓藥鍼學會 編纂. 藥鍼製劑와 臨床應用. 大韓鍼灸學會. 1997 : 1-5.
5. 김대수. 삼종의 제법에 따른 人蔘水鍼이 Methotrexate를 투여한 생쥐의 면역반응에 미치는 영향. 경희의학. 1989 ; 5(1) : 97-105.
6. 전국한의과대학 본초학교수. 본초학. 서울 : 영림사. 1991 : 353.
7. 孫星衍, 孫馮翼. 神農本草經. 山西科學技術出版社. 1991.
8. 이은용. 肉蓯蓉 藥鍼의 抗癌作用 및 免疫效果에 대한 實驗的 研究. 大田大學校大學院 博士學位論文. 2000.
9. 崔昇勳. 東醫腫瘍學. 서울 :杏林書院. 1995 : 13-42,
10. 河北醫學院. 靈樞經校釋(上). 人民衛生出版社. 1982 : 37, 48, 142, 255, 326, 391.
11. 王洪圖. 黃帝內經素問. 春秋出版社. 1988 : 71, 237, 271.
12. 洪元植. 精校黃帝內經靈樞. 東洋醫學研究院出版部. 1985 : 38, 104, 211, 249, 287, 331.
13. 巢元方. 諸病源候論. 人民衛生出版社. 1979 : 576, 644.
14. 王背堂. 六科證治準繩. 大星文化社. 1993 : 164.
15. 陳實功. 外科精要. 上海科學技術出版社. 1987 : 75, 80.
16. 崔昇勳. 韓醫學의 腫瘍에 대한 認識과 病理論. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995 ; 1(1) : 11-28.
17. 田炳旭 외. 癌腫의 病因病理에 대한 文獻的 考察. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995 ; 1(1) : 83-101.
18. 田炳旭 외. 癌에 대한 韓醫學의 認識 및 實驗的 研究에 관한 考察. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995 ; 1(1) : 29-54.
19. 張代釗. 中西醫結合治療癌症. 山西 : 山西人民出版社. 1984 : 11-9.
20. 張毓玲. 養陰生津法在腫瘤病治療中的應用. 浙江中醫學院學報. 1990 ; 14(1) : 20.
21. 王濟民, 王俊茹. 中醫藥防治癌症的體會. 浙江中醫雜誌. 1991 ; 15(1) : 32-3.
22. 徐龍生, 王珏. 扶正培本法在腫瘤臨床上的應用. 浙江中醫學院學報. 1988 ; 12(3) : 22-4.
23. 洪元植 篇. 精校黃帝內經. 東洋醫學研究院出版部. 1981 ; 61, 69, 137, 169, 336, 340.
24. 서울대학교의과대학 편. 腫瘍學. 서울 : 서울대학교출판부. 1992. 1-3, 137-43, 203, 204, 213-5, 225-34.
25. Filder, I.J. Review biologic heterogeneity of cancer metastasis. Breast Cancer Res. treat. 1987 ; 9 : 17.
26. 洪元植 篇. 精校黃帝內經靈樞. 東洋醫學研究院. 1985 : 211, 286, 317.
27. 劉宇龍 外. 癌症復發與轉移的病機及中醫治療探討. 山東中醫雜誌. 1995 ; 14 : 435-6.
28. 金鍾昊. 腫瘍의 轉移 및 再發 抑制에 關한 考察. 大韓韓方內科學會誌. 1997 ; 19(2) : 53-63
29. 安敦姬. 암등록 사업과 암으로 인한 사망-연도별 추이. 大韓醫學協會誌. 36(3) : 292.
30. 文炳河 外. 痞氣丸이 抗腫瘍 免疫反應에 미치는 影響. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995 ; 1(1) : 231.
31. 양용태. 體液免疫機轉에 의한 宿主防禦. 대한 의학협회지. 1978 ; 21(7) : 74-8.
32. 李鍾訓. 病院微生物學. 高文社. 1973 : 133-83.
33. 서울대학교의과대학 편. 腫瘍의 발생원인 및 위험요인. 서울대학교출판부. 1989 : 31-44.
34. 정태호. 면역학 강의. 대구 : 경북대학교출판부. 1993 : 309-17.
35. Myaska N, Sato K, Hashimoto J, et al: Constitutive production of Interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 from inflammatory synovium. Clin Immunol Immunopath. 1989 ; 52 : 238-47.

36. 洪元植. 精校黃帝內經素問. 서울 : 東洋醫學研究院出版部. 1985 : 11, 124, 159, 211, 249, 285, 286-7, 317, 331.
37. 裴元永. 黃芪水鍼이 Methotrexate를 투여한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響. 慶熙大學校大學院 碩士學位論文. 1993.
38. 安德均. 免疫과 韓方. 서울. 열린책들. 1992 : 45-8.
39. 苗顏霞. 水鍼療法. 北京 : 人民衛生出版社. 1993 : 2.
40. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室. 鍼灸學(上, 下). 서울 : 集文堂. 1991 : 214-34, 699-701, 730-2, 1457-67.
41. 김세중. 면역학. 서울 : 고려의학. 1994 : 3, 8, 25, 26, 28, 31, 32, 134, 157, 158.
42. Seigler HF. Vaccination with irradiated autologous melanoma cells engineered to secrete human granulocyte-macrophage colony stimulating factor generates potent antitumor immunity in patients with metastatic melanoma. Proc Natl Acad Sci USA. 1998 ; 95 : 13141-6.
43. Sobol RE. A phase I clinical trial of immunotherapy with interferon-gene-modified autologous melanoma cells. Cancer. 1997 ; 80 : 401-12.
44. Gansbacher B. Immunization with HLA-A2 matched allogenic tumor cells that secrete interleukin-2 (NK cells) of patients with metastatic melanoma or metastatic renal cell carcinoma. Proc ASCO. 1997 : 441.