

혼합한약재가 악액질이 유도된 생쥐의 Cytokine 분비 및 식이섭취와 영양대사에 미치는 영향*

왕수경[§] · 윤은영 · 박정민** · 임종순*** · 김승형***

대전대학교 이과대학 식품영양학과, 한국식품개발연구원, * 대전대학교 동서생명과학연구원**

The Effects of Korean Traditional Medicine Mixture on Cytokine Level, Food Intake and Nutrition Metabolism of the Cachexia Induced-Mice*

Wang, Soo-Gyoung[§] · Yoon, Eun-Young · Park, Jung-Min **

Lim, Jong-Soon *** · Kim, Seung-Hyung ***

Department of Food and Nutrition, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

Korea Food Research Institute,** Seongnam 462-420, Korea

Institute of Traditional Medicine and Bioscience,*** Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea

ABSTRACT

Cancer cachexia, characterized by weight loss and progressive tissue wasting, has been postulated to be mediated by cytokines. This study was conducted to evaluate the effect of Korean Traditional Medicine (KTM ; mokhyang, jisil, osooyu) mixture on food intake, blood cytokines level and blood nutrients status of the cachexia induced-mice. Thirty male Balb/c mice aged 6-8weeks were blocked into 3 groups that were Normal (no colon26 cells) Control (colon26 cells) and KTM (colon26 cells + KTM extract mixture) group. In Control and KTM groups, murine adenocarcinoma colon26 cells were injected subcutaneously to induce cachexia. KTM mice were given 200 ul KTM extract mixture (7%) per day. Half of each groups were sacrificed at the 14 th day to see serum cytokines & nutrients and the others were fed until almost of control group died to see life span. Food intake and body weight were decreased significantly in cachexia induced groups. Tumor weight of KTM group was significantly lower than control group. Serum cytokines (IL-1 β and TNF- α) level of cachexia induced groups were increased than those of normal group, and those of KTM group were significantly lower than the level of control group. Total serum protein and serum albumin were higher in KTM group than other groups. TG and fatty acid were lower in cachexia induced groups than normal group. HDL-cholesterol in serum was increased in KTM group. Effect of oral administration of KTM extract mixture on survival time of colon26 bearing mice showed extension of the life span. Overall, this study showed that KTM (mokhyang, jisil, osooyu) extract mixture inhibited the growth of cancer cell, changed the secretion of cytokines induced by colon26 adenocarcinoma in mice, and changed nutrition metabolism. (*Korean J Nutrition* 36(4) : 368 ~375, 2003)

KEY WORDS : cachexia, TNF- α , IL-1 β , colon26 cell, oriental medicine, cancer.

서 론

우리나라의 암사망률은 21.1%로 최근 10년간 계속 증가되어 왔으며 암은 인간의 삶의 질에 크게 악영향을 미치는 질병이므로 우리나라에서도 국가에서 관리를 시작한 질

병이다.¹⁾ 암의 발생을 예방하고 치료하는 방법에 대해 그동안 많은 역학조사 및 실험들이 진행되어 왔는데 Grant와 Ropka²⁾는 많은 암환자가 영양불량상태에 놓여 있으며, 말기 암환자는 80% 정도가 영양불량 상태라고 하였고, 암환자의 22% 정도가 영양불량으로 사망한다고 보고하였다. 이러한 영양불량 환자는 신체에 부담이 되는 화학요법이나 수술요법 등 암 치료를 충분히 할 수 없으며, 조직과 기능의 재생능력이 저하되고 면역능력이 상실되어, 합병증 발생이 증가되므로, 이러한 심각한 영양불량과 체중감소는 악액질을 초래하는데, 암 악액질 (cachexia)이란 암환자의 중앙 혹은 중앙 치료로 인하여 발생하는 오심, 구토와 음식

접수일 : 2002년 12월 4일

채택일 : 2003년 5월 15일

*This research was supported by grants from institute of traditional medicine & bioscience in Daejeon University.

[§]To whom correspondence should be addressed.

혐오감으로 인한 식사섭취 부족으로 일어나는 극심한 영양 불량 상태를 말한다.³⁻⁶⁾ 이런 영양불량은 면역력을 저하시켜 감염 위험이나 상처치유를 지연시키고 근육의 감소를 가져와 호흡기능을 저하시키고 사망까지 초래한다.⁷⁾ 그러므로 암으로 인한 사망률을 감소시키기 위해서는 암환자의 악액질을 억제시켜 적절한 영양지원을 실시하는 것이 필요하다고 하였다.⁸⁾

정상인의 경우 손상이나 감염에 대한 반응으로 분비되는 싸이토카인 (cytokine)은 상처 치유, 단백질 합성, 미생물 사멸 등의 기능을 갖고 있는 물질이다. 암환자의 경우 이러한 싸이토카인의 혈장수준이 정상인에 비하여 높아지는데,⁹⁾ 이 싸이토카인들은 암세포 자체에서 직접 생산되거나 또는 암세포와 반응하는 면역세포들에서 생산되는 물질이다.¹⁰⁻¹⁴⁾ 여기에는 IL-1 (Interleukin), IL-2, IL-6, 종양괴사인자 (tumor necrosis factor- α : TNF- α), interferon (IFN)- γ , leukemia inhibitory factor 등이 있다.¹⁵⁻¹⁸⁾ 이들 중 IL-1, IL-6 및 종양괴사인자 (TNF- α)는 악액질 유발과 관련이 있는 것으로 알려졌는데 이들은 체내 포도당, 근육, 체지방의 소비를 증가시키며, 그 외 기초대사율을 상승시키고 근육 및 간 내의 아미노산의 분비, 이동을 증가시킨다고 알려져 결과적으로 싸이토카인은 식욕을 억제시키고 영양대사를 악화시켜 체지방 (lean body mass)과 체지방을 동시에 고갈시켜 극심한 체중감량 및 체력소모를 유발하는 물질로 알려져 있어 싸이토카인의 분비량은 암환자에 있어 신체소모의 간접적 측정 방법이라고도 할 수 있겠다.¹⁸⁾

현재 국내 암환자들의 대다수가 암 진단과 치료를 서양의료에 크게 의존하고 있지만, 최근에는 화학요법에 비해 부작용이 적고, 인체의 면역증강 효과가 있다고 인정되는 한약의 항종양 효과에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.¹⁹⁾ 이는 한약재 내의 유효한 성분이 식품내의 성분과 공존할 경우, synergistic effect를 나타내어 우리의 면역시스템 중 보체계의 활성화, 여러 가지 싸이토카인 의 활성화 등의 질병에 대한 생체방어 시스템의 보강에 유효하며, 식품이나 주위환경에 혼입 또는 잔류되어 있는 환경호르몬의 영향을 상쇄시키는 역할 등 즉, 우리 인체의 생체 항상성 (homeostasis)에 큰 영향을 미친다고 한다.²⁰⁾ 항암효과가 보고된 약재로는 시호, 오배자, 오수유, 지모, 건부자, 독활, 백굴채 세신 등으로 보고되고 있다. 이 중 오수유는 한방에서 자궁수축작용, 항진균작용 및 혈압강하 작용이 있는 것으로 알려져 있으며, 달이거나 환제 또는 산제로 하여 복용하는 것으로 널리 알려져 있다.¹⁹⁾ 그리고 이성우 등¹⁹⁾은 오수유의 성분 중 rutaecarpine은 항암제의 내성을 극복하는 활성을 나타내고 또다른 성분인 evodiamine은 여러 인체

조직 특이 암세포주에 대하여 강산 세포독성을 나타냄으로서, 앞으로 오수유가 항암생약으로 개발될 가치가 있는 중요한 자원생약중 하나라고 보고하였다. 목향도 소화불량, 복부팽만, 설사 이질 등의 치료목적으로 사용되어 왔으며,²¹⁾ 홍남두 등²²⁾은 지실의 항염증, 항히스타민 활성성분을 분석하였다. 따라서 오수유, 목향, 지실등은 암세포를 사멸하고 싸이토카인 의 분비를 억제시키고 소화기계에 도움을 주어 식욕을 증가시키고 암환자 혹은 암종을 가진 동물의 악액질 (cachexia)억제의 가능성을 보여주는 약물이라 할 수 있다.

그러므로 본 연구에서는 항암 및 암치료에 효과가 있다고 알려진 목향, 지실, 오수유 등의 혼합한약재가 악액질 억제 효과와 영양대사 변화가 있는지 알아보기 위하여 싸이토카인을 측정하고, 이와 더불어 식이섭취 및 혈액내 영양성분 등을 분석하여, 혼합한약재가 암환자 악액질 개선 가능성에 대해 조사하고자 하였다.

실험 방법

1. 실험재료

1) 동물 및 사육 조건

본 연구를 위하여 사용된 BALB/c 생쥐 (6~8주령)는 고형식으로 2주이상 적응시킨 후 실험식으로 사육하였다. 식이와 물은 충분히 공급하고 실온 22 ± 2°C를 유지하였다. 실험군은 정상군 (Normal)과 대조군 (Control : colon 26 cell 피하주사), 그리고 한약재군 [KTM : colon 26 cell 피하주사 + 혼합한약재 (목향 : 지실 : 오수유 = 1 : 1 : 1의 혼합액 200 μ l/animal)]으로 분류하였다.

2) 식이 조성

동물 식이는 American Institute of Nutrition (AIN-93)의 식이 조성을 참고하였으며 본 실험에 사용한 식이 조성은 Table 1과 같다. 실험기간 동안 물은 제한 없이 먹

Table 1. Experimental diet composition (g/kg diet)

Ingredients	Contents
Casein	200
D, L-methionine	3
Corn starch	400
Cellulose	50
Sucrose	200
Corn oil	95
Mineral mixture ¹⁾	40
Vitamin mixture ²⁾	10
Choline bitartrate	2

1) AIN93 mineral mixture

2) AIN93 vitamin mixture

도록 하였고, 식이는 일정한 시간을 정하여 일주일에 3번 공급하였다.

3) 한약 추출물 준비

본 실험에 사용한 약재는 구입한 후 정선하여 사용하였다. 한약 추출물 준비는 한약을 열탕 추출기에서 추출하여 얻은 액을 흡입 여과한 후 이를 감압 증류장치 (Rotary evaporator, BUCHI B-480, Switzerland)로 농축하였다. 이를 다시 동결 건조한 후 냉동 (-84℃) 보관하면서 7% 농도로 희석하여 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 약액질 유발 및 약물 투여

대조군과 혼합 한약재군은 약액질 유발을 위해 BALB/c 생쥐 (6~8주령)의 피하에 colon26 (5×10^5 세포)을 주사하여 약액질을 유도하였다. Colon26 adenocarcinoma (mouse C-26) 세포주는 National Cancer Institute (Frederick, MD)에서 공급받아 RPMI1640 배양액에 10% 우태아 혈청, penicillin (100 U/ml), streptomycin (100 µg/ml) 그리고 10 µg/ml의 gentamycin이 함유된 배양액에 95% air, 5% CO₂인 37℃ 배양기에서 배양하였다. 정상식이와 함께 한약재군은 한약재를 1회/일에 200 µg씩 (7%) 경구 투여하였다. 정상군과 대조군은 증류수를 같은 방법으로 투여하였다.

2) 체중변화 및 종양조직의 무게측정

체중변화는 2일 간격으로 14일간 측정하였으며, 14일 후에 에테르로 마취하여 cardiac puncture 방법을 이용해서 희생하였다. 종양조직의 무게는 캘리퍼를 이용하여 종양의 길이 (a ; length, mm)와 넓이 (b ; width, mm)를 측정하여 계산하였다 (종양조직의 무게 (mg) = $1/2 \times a \times b^2$).

3) 싸이토카인 및 영양성분 분석

쥐의 희생 후 분리된 혈청에서 IL-1β 와 TNF-α (EL-

ISA, Endogen, USA)을 측정하였다. 혈청에서 총단백질 알부민, 중성지방, 유리지방산 (FFA), 포도당, 콜레스테롤 HDL-콜레스테롤, 페리틴 등을 Chemical analyzer Model TBA-550FR (Toshiba, Japan)로 측정하였다.

4) 생명연장측정

Colon26 세포주로 약액질이 유도된 생쥐의 생명연장은 KTM 추출물을 경구투여하기 시작한 날부터 시작하여 생쥐가 사멸하는 마지막 날까지를 측정하였으며, 사멸시기를 수시로 기록하였다. KTM 추출물은 모든 생쥐가 희생시기 전까지 계속 경구투여 하였다.

결과 및 고찰

본 연구는 BALB/c 생쥐에게 murine adenocarcinoma colon26을 피하주사하여 약액질을 유도한 후, 목향, 지실, 오수유 등의 혼합한약재의 섭취가 약액질의 억제 및 영양 대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험한 결과는 다음과 같다.

1. 식이 섭취량 측정

정상군 (Normal), colon26 세포주로 약액질을 유도한 대조군 (Control), 약액질 유도 후, 목향, 지실, 오수유의 혼합한약재를 섭취한 한약재군 (KTM)의 식이섭취량을 살펴보았다 (Table 2). 정상군, 대조군, 한약재군 모두 실험 기간이 길어질수록 식이섭취량이 감소하는 경향을 보였다. 이는 모든 군이 증류수 혹은 혼합한약재를 경구 투여하였는 바 실험 조건이 쥐들에게 어느 정도 스트레스를 주었기 때문으로 사료된다. 실험 13~14일째는 정상군은 1.37 ± 0.00 g 섭취하였고, 대조군과 한약재군은 각각 0.64 ± 0.06 g, 0.77 ± 0.10 g 섭취하여 정상군에 비해 colon26 세포주로 약액질을 유도하였던 대조군과 한약재군이 유의적으로 식이 섭취량이 적었다. 암 조직은 약액질을 유도하여 식

Table 2. Food Intake of normal and colon26 bearing mice

Group	Food Intake (g/mouse/day)				
	Day 1 - 2	Day 3 - 4	Day 7 - 8	Day 10 - 11	Day 13 - 14
Normal	3.35 ± 0.00 ^b	2.85 ± 0.00 ^a	2.68 ± 0.311 ^{NS}	2.14 ± 0.49 ^a	1.37 ± 0.00 ^a
Control	3.46 ± 0.09 ^{ab}	2.31 ± 0.11 ^b	2.45 ± 0.30	2.04 ± 0.75 ^a	0.64 ± 0.06 ^b
KTM	3.60 ± 0.18 ^a	2.21 ± 0.11 ^b	2.67 ± 0.11	1.51 ± 0.74 ^b	0.77 ± 0.10 ^b

1) NS: not significant

2) Means with different superscript letters (a, b) within same column are significantly different from each other at p < 0.001 by Duncan's multiple range test

3) Normal: no colon26 cells, Control: colon26 cells subcutaneous injection (5×10^5), KTM: colon26 cells subcutaneous injection (5×10^5) + KTM extract mixture

4) KTM extract mixture = Korea Traditional Medicine (*Aucklandia lappa* + *Citrus aurantium* + *Evodia rutaecarpa*). Values are means ± SD of 8 mice

사섭취량을 저하시키고 심각한 오심, 구토, 음식 혐오감을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있는데⁴⁻⁶⁾ 본 실험에서도 암세포의 투여는 식욕을 감소시킨 것으로 보인다. 그리고 14 일동안 혼합한약재의 섭취가 대조군에 비해 식이 섭취량을 유의적으로 증가시키지는 못하였다. 본 실험기간인 14일간의 한약재의 투여는 암액질 개선 증상을 기대하기에는 충분하지 않은 기간이었으므로 좀더 장기간의 실험도 시도 해보아야 할 것이다.

2. 체중, 장기 및 종양조직의 무게 측정

체중은 처음부터 4일까지는 각 군 간에 유의적 차이가 없었다가 7일부터 14일까지는 정상군 체중이 다른 군보다 높았으며, 정상군에 비해 암세포주를 투여한 대조군과 한약재군은 체중이 감소하였다 (Table 3). 기간별 체중의 변화를 보면 8일 이후부터 체중의 변화가 심했으며, 13~14일째는 대조군이 한약재 군보다 체중감소가 훨씬 급격하였다 (Table 4). 특히 대조군과 한약재군은 암세포의 투여 후 3일 쯤부터 체중이 감소되는 현상을 보였으며, 이는 암세포에 의한 분해 대사의 증진으로 체조직이 소모되고 있음을 말해준다. 또한 FER (식이효율 = 체중증가율/식이섭취량)을 계산해 본 결과 정상군에 비해 대조군과 한약재군이 식이효율이 낮은 결과를 보여 정상군에 비해 암세포를 가지고 있는 대조군과 한약재군에서 체중소모가 많았음을 말해

주고 있다. 이는 대조군과 한약재군이 식욕저하로 인한 식이섭취가 적었던 것도 체중감소의 원인이었으며, 암세포가 투여된 군에서는 섭취한 식이도 효율적으로 체중증가를 시킬 수 없었고, 체조직의 분해가 증가되었으므로 말해주고 있다. 일반적으로 암세포는 체조직의 소모를 증가시키는 것으로 알려져 있으며 위의 결과도 다른 연구³⁻⁶⁾ 등에서의 같이 암조직이 체조직의 분해 증가, 식사섭취 억제를 시킨다는 연구결과와 일치하여 암은 심각한 악액질을 초래할 수 있음을 말해주었다.

부고환 지방을 측정 한 결과 정상군이 암세포를 투여한 대조군이나 한약재군보다 더 많았다. 이는 암세포에 의해 악액질이 유도되고 체내 지방이 소모되었음을 시사해주고 있다. 대조군과 한약재군을 비교해 볼 때 체중이나 식이효율, 부고환지방 등이 차이가 없어 (Table 3), 14일간의 한약재 공급은 암세포로 인한 체조직 소모나 악액질을 충분히 막을 수 없었음을 말해 주고 있다. 그러나 이는 단기간의 실험결과이므로 단기간의 한약재 섭취로 악액질 개선을 기대하기는 어려울 것으로 보여지며, 장기간의 결과를 볼 수 있는 후속 실험으로 한약재의 악액질 개선 효과를 검증하는 것이 필요하다고 보여진다.

각 장기의 무게는 신장, 비장, 간을 측정하였다 (Table 5). 본 실험 결과 신장과 비장 의 무게는 각 군 간에 차이가 없었으며, 간 무게는 한약재군을 섭취한 군에서 정상군이나

Table 3. Body weight, FER and Epididymal Fat of mice

Group	Body Weight (g)			FER*	Epididymal Fat (g)
	Day 2	Day 8	Day 14		
Normal	29.42 ± 0.44 ^{1)NS}	29.76 ± 0.41 ^a	26.88 ± 1.62 ^a	0.99 ± 0.58 ^a	1.92 ± 0.44 ^a
Control	28.67 ± 1.35	27.63 ± 1.47 ^b	23.39 ± 1.86 ^b	0.67 ± 0.28 ^b	0.59 ± 0.16 ^b
KTM	28.32 ± 1.81	27.85 ± 1.78 ^b	24.58 ± 1.86 ^b	0.68 ± 0.33 ^b	0.78 ± 0.22 ^b

1) NS: not significant
 2) Means with different superscript letters (a, b) within same column are significantly different from each other at p < 0.001 by Duncan's multiple range test
 3) Normal: No colon26 cells, Control: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵), KTM: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵) + KTM extract mixture
 4) KTM extract mixture = Korea Traditional Medicine (*Aucklandia lappa* + *Citrus aurantium* + *Evodia rutaecarpa*), Values are means ± SD of 8 mice

Table 4. Body weight gain of normal and colon26 bearing mice

Group	Body Weight Gain (g/day/period of 14 days)				
	Day 1 - 2	Day 3 - 4	Day 7 - 8	Day 10 - 11	Day 13 - 14
Normal	0.19 ± 0.13 ^{1)NS}	0.22 ± 0.18 ^a	0.11 ± 0.02 ^a	-1.15 ± 1.72 ^b	-1.71 ± 0.54 ^a
Control	0.42 ± 0.29	-0.14 ± 0.26 ^b	-0.90 ± 0.27 ^c	-0.57 ± 0.92 ^a	-3.65 ± 0.62 ^c
KTM	0.30 ± 0.22	-0.21 ± 0.31 ^b	-0.26 ± 0.18 ^b	-1.33 ± 1.32 ^b	-1.91 ± 0.62 ^b

1) NS: not significant
 2) Means with different superscript letters (a, b, c) within same column are significantly different from each other at p < 0.05 by Duncan's multiple range test
 3) Normal: No colon26 cells, Control: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵), KTM: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵) + KTM extract mixture
 4) KTM extract mixture = Korea Traditional Medicine (*Aucklandia lappa* + *Citrus aurantium* + *Evodia rutaecarpa*), Values are means ± SD of 8 mice

Table 5. Organs weight of normal and colon26 bearing mice

Group	Organ weight (g/100 g body weight)		
	Kidney (g)	Spleen (g)	Liver (g)
Normal	1.45 ± 0.26 ^{1)NS}	0.42 ± 0.14 ^{1)NS}	4.69 ± 0.89 ^b
Control	1.09 ± 0.18	0.29 ± 0.15	4.36 ± 1.15 ^a
KTM	1.32 ± 0.26	0.60 ± 0.08	5.71 ± 1.19 ^a

- 1) NS: not significant
- 2) Means with different superscript letters (a, b) within same column are significantly different from each other at p < 0.05 by Duncan's multiple range test
- 3) Normal: No colon26 cells, Control: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵), KTM: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵) + KTM extract mixture
- 4) KTM extract mixture = Korea Traditional Medicine, (*Aucklandia lappa* + *Citrus aurantium* + *Evodia rutaecarpa*), Values are means ± SD of 8 mice

Table 6. Weights of carcass and tumor of normal and colon26 bearing mice

Group	Carcass weight (g)	Tumor weight (mg)
Normal	25.40 ± 0.83 ^{1)NS}	-
Control	25.85 ± 5.44	24.22 ± 15.94 ^a
KTM	21.72 ± 1.79	1.15 ± 0.41 ^b

- 1) NS: not significant Duncan's multiple range test
- 2) Means with different superscript letters (a, b) within same column are significantly different from each other at p < 0.05 by T test
- 3) Normal: No colon26 cells, Control: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵), KTM: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵) + KTM extract mixture
- 4) KTM extract mixture = Korea Traditional Medicine, (*Aucklandia lappa* + *Citrus aurantium* + *Evodia rutaecarpa*), Values are means ± SD of 8 mice

대조군보다 높았다. 이는 한약재를 체내 대사시키는 과정으로 약물대사를 위한 간세포가 활성화 혹은 증대되었기 때문으로 사료된다. Carcass 무게는 각 군 간에 차이가 없었다.

정상군은 종양이 없었으며 종양이 발견된 대조군과 한약재군에서 종양조직의 무게는 한약재군에 비해 대조군이 유의적으로 컸다. 이것으로 미루어 목향, 지실, 오수유 등의 혼합한약재의 경구투여는 종양형성을 억제시켰다고 사료된다 (Table 6). 이성우 등¹⁹⁾은 오수유의 항염증 효과와 암세포에 대한 항암성을 보고하였고, 홍남두 등²²⁾은 지실의 항염증성을 보고하였으며, 목향 등도 감염에 치료 목적으로²¹⁾ 사용되었는 바 오수유, 목향, 지실은 항균 항염, 면역반응을 활성화시키고, 항암 성분으로 활용할 수 있다고 사료된다. 또한 정 등²⁵⁾에 의하면 단삼의 에탄올 추출물로 고형암 억제 실험에서 대조군에 비해 에탄올 추출물 처리군이 35%의 고형암 형성억제를 시킨다고 한 바 한약재가 암치료를 위한 좋은 재료가 될 수 있는 가능성을 시사해주고 있다.

3. 싸이토카인 생산량 측정

Colon26 세포주에 암액질을 유도한 생쥐에게 목향, 지실,

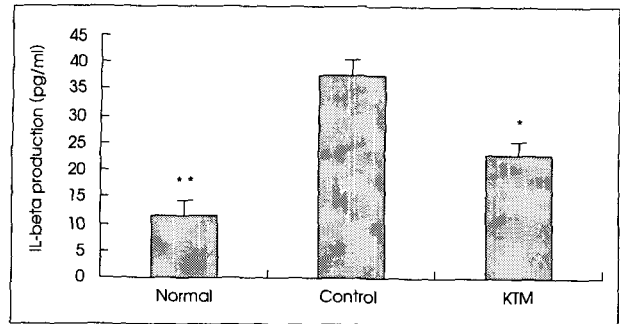


Fig. 1. Serum IL-1β level of normal and colon26 bearing mice.

- 1) Statistically significant value compared with control group data by T test (*p < 0.05, **p < 0.01).
- 2) Normal: No colon26 cells, Control: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵), KTM: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵) + KTM extract mixture.
- 3) KTM extract mixture = Korea Traditional Medicine, (*Aucklandia lappa* + *Citrus aurantium* + *Evodia rutaecarpa*).

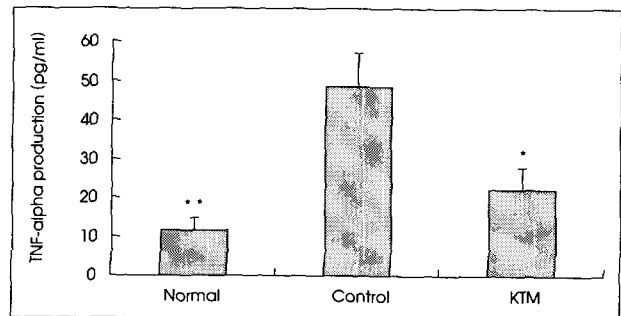


Fig. 2. Serum TNF-α level of normal and colon26 bearing mice.

- 1) Statistically significant value compared with control group data by T test (*p < 0.05, **p < 0.01).
- 3) Normal: No colon26 cells, Control: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵), KTM: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵) + KTM extract mixture.
- 4) KTM extract mixture = Korea Traditional Medicine, (*Aucklandia lappa* + *Citrus aurantium* + *Evodia rutaecarpa*).

오수유 등의 혼합한약재를 경구 투여하여 싸이토카인 생산량을 분석한 결과 정상군에 비해 대조군과 한약재군에서 싸이토카인 분비량이 증가하였다. 또한 대조군에 비해 한약재군이 IL-1β와 TNF-α 생산량이 유의적으로 낮았다 (Fig. 1, 2). IL-1β와 TNF-α는 감염, 부상, 암 등에 의해 분비되는 polypeptide cytokine으로 패혈증이나 암액질에 큰 영향을 주는 물질이다.^{9-14,26,27)} TNF의 분비량의 증가는 조직의 손상이나 감염, 암액질의 정도를 나타내며 TNF를 감소시키는 것은 관련 증상을 가볍게 할 수 있는 가능성을 제시하고 있다.²⁶⁾ 그러므로 IL-1β와 TNF-α의 과잉생산은 생체내의 물리적 조직손상, 감염 및 염증반응이 심함을 의미하므로 한약재군에서 이런 염증 유발 싸이토카인의 생산량이 암세포만 투여된 대조군보다 적다는 것은 한약재군이 암세포 생성을 억제시켜 면역반응과 관련된 싸이토카인의 분비량을 낮추었음을 의미해 주고 있다. Yeh와

Schuster의 연구²⁷⁾에 의하면 싸이토카인의 감소는 체중 증가와 관련이 있다. 그러므로 악액질의 원인이라고 알려진 싸이토카인의 분비의 저하는 식욕억제감소, 체조직 소모의 완화 효과를 기대해 볼 수 있으나¹⁸⁾ 본 실험 결과는 한약재의 투여가 싸이토카인의 분비는 억제시켰으나 앞에서 언급한 바와 같이 식욕억제 감소나 체조직 소모 완화의 효과가 보이지 않았으므로 이와 관련된 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

5. 혈액내 영양성분 분석

Table 7은 혈청 영양 성분을 분석한 결과이다. 총단백질과 알부민은 한약재군이 다른 군에 비해 유의적으로 높았다. 암세포만의 투여는 정상군에 비해 혈청 단백질 수준에는 영향을 미치지 않았으나 암세포와 혼합한 약재의 투여는 단백질 대사에 영향을 미쳤음을 알 수 있다. 따라서 한약재의 경구투여는 단백질 대사를 변경시킬 수 있음을 시사한다.

혈당은 정상군에 비해 대조군과 한약재군이 유의적으로 높았는데 ($p < 0.0001$), colon26 adenocarcinoma의 투여로 암액질을 유도한 결과 고혈당증이 발생된 것으로 추측된다. 이는 Kawamura 등²⁹⁾의 연구결과와 마찬가지로 colon26 세포주로 악액질을 유도 한 경우 고혈당을 유발한 것과 같다. 이는 암세포주의 투여는 당대사를 변화시킬 수 있으며 암세포주가 투여된 군에 한약재의 공급은 대조군에 비해 큰 차이가 없었으므로 당대사에 큰 영향을 주지 않았음을 알 수 있다. Yamamoto 등³⁰⁾에 의하면 colon26 세포

주로 악액질을 유도시켜 FR1434430 (A novel cytokine suppressive agent)가 미치는 영향을 살펴본 결과 혈당은 저하되었고, 알부민 등의 함량이 변화하지 않았다고 하여 본 실험의 결과와 차이가 있었다.

Table 8은 혈장지질을 분석한 결과, 중성지방과 유리지방산의 경우는 정상군에 비해 암세포가 투여된 대조군과 한약재군은 감소되었으며, 암세포주의 투여 후 한약재의 섭취는 통계적 유의차는 없었으나 어느 정도 혈중 중성지방과 유리지방산이 회복되었음을 보여주고 있어 암세포와 한약재가 지질대사에 영향을 줄 수 있었다. 콜레스테롤의 경우 총 콜레스테롤은 한약재군과 대조군이 정상군보다 높았으며, 암세포주의 투여는 생체내 콜레스테롤의 대사를 교란시킴을 알 수 있었다. HDL-콜레스테롤은 대조군은 정상군과 차이가 없었으나 한약재군은 대조군이나 정상군보다 유의적으로 높게 나타났다. 대조군의 경우 총 콜레스테롤이 높음에도 불구하고 HDL-콜레스테롤이 낮았으며, 한약재군은 총콜레스테롤의 증가와 함께 HDL-콜레스테롤도 증가하였는데 대조군의 총콜레스테롤 : HDL-콜레스테롤의 비가 65.6 : 8.17 \approx 8 : 1 인데 반해 한약재군은 3 : 1 로 정상군과 유사한 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤의 비율로 유지시킨 것으로 보인다. Yamamoto 등³⁰⁾에 의하면 colon26 세포주로 악액질을 유도시킨 결과 중성지방은 저하되었으나 유리지방산과 총 콜레스테롤은 변화하지 않았다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 암세포주인 colon26의 투여가 중성지방과 유리지방산은 낮추었으나 총 콜레스테

Table 7. Serum parameters of normal and colon26 bearing mice

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Ferritin (ng/ml)
Normal	1.60 ± 0.73 ^b	0.55 ± 0.16 ^b	31.50 ± 16.57 ^b	0.10 ± 0.01 ^{1)NS}
Control	1.25 ± 0.69 ^b	0.60 ± 0.30 ^b	59.00 ± 11.75 ^c	0.13 ± 0.03
KTM	2.70 ± 0.00 ^a	1.81 ± 0.00 ^a	68.00 ± 0.00 ^a	0.17 ± 0.03

1) NS: not significant

2) Means with different superscript letters (a, b) within same column are significantly different from each other at $p < 0.001$ by Duncan's multiple range test

3) Normal: No colon26 cells, Control: colon26 cells subcutaneous injection (5×10^5), KTM: colon26 cells subcutaneous injection (5×10^5) + KTM extract mixture

4) KTM extract mixture = Korea Traditional Medicine, (*Aucklandia lappa* + *Citrus aurantium* + *Evodia rutaecarpa*), Values are means ± SD of 8 mice

Table 8. Plasma lipids level of normal and colon26 bearing mice

Group	Triglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	HDL-Cholesterol (mg/dl)	Free fatty acid (mEq/L)
Normal	45.33 ± 9.56 ^a	26.50 ± 15.50 ^b	8.83 ± 2.69 ^b	3.12 ± 4.31 ^a
Control	24.75 ± 3.49 ^b	65.50 ± 24.50 ^b	8.17 ± 4.66 ^b	1.61 ± 1.26 ^b
KTM	32.66 ± 11.32 ^{ab}	72.00 ± 0.00 ^b	24.00 ± 5.72 ^a	2.28 ± 5.53 ^{ab}

1) Means with different superscript letters (a, b) within same column are significantly different from each other at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

2) Normal: No colon26 cells, Control: colon26 cells subcutaneous injection (5×10^5), KTM: colon26 cells subcutaneous injection (5×10^5) + KTM extract mixture

3) KTM extract mixture = Korea Traditional Medicine, (*Aucklandia lappa* + *Citrus aurantium* + *Evodia rutaecarpa*), Values are means ± SD of 8 mice

Table 9. Survival rate and time of normal and colon26 bearing mice

Group	Mean of survival days	Survival rate (%) at last day	Survival time (day)
Normal		100	
Control	20	5	37 ± 0.9 ^a
KTM		25	44 ± 1.5 ^b

1) Means with different superscript letters (a, b) within same column are significantly different from each other at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

2) Normal: No colon26 cells, Control: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵), KTM: colon26 cells subcutaneous injection (5 × 10⁵) + KTM extract mixture

3) KTM extract mixture = Korea Traditional Medicine, (*Aucklandia lappa* + *Citrus aurantium* + *Evodia rutaecarpa*), Values are means ± SD of 8 mice

를 증가시켰으며 암의 진행정도에 따라 체내 영양대사가 매우 달라지므로 앞으로도 이 분야의 많은 연구가 필요할 것이다. 저장형 철분인 페리틴은 유의적 변화가 없었다.

6. 생명연장측정

In vivo에서 항암 활성을 조사하기 위해 희생될 때까지 생존율을 조사한 결과 대조군에서는 37일 이내 모두 사망하였으며 평균 생존율은 20일 이었으며 희생 시 생존율은 5%였다. 그러나 한약재군은 대조군에 비해 희생 시 생존율이 25%였으며 최대 생존일수는 44일 이었다. 정상군은 희생 시까지 모두 생존하였다 (Table 9). 이런 결과는 이 등³¹⁾이 sarcoma 180을 복강 내에 이식하여 만든 복수암 생쥐에 대한 항암효과를 관찰하였을 때 상황버섯의 물추출물과 acetone 침전분획이 생명연장효과와 생존율을 높인 결과와 일치하였다. 따라서 한약재 경구투여가 악액질이 유발된 군의 생명연장에 도움을 줄 수 있다고 사료된다.

본 실험결과 암세포주의 투여는 쥐의 성장을 저지시켰으며 체조직과 체지방의 감소, 싸이토카인 분비량과 영양대사의 변화를 초래하였다. 암세포를 투여한 쥐에 한약재인 목향, 지실, 오수유 등의 혼합한약재의 경구투여는 종양조직의 성장을 억제시키고, 혈당, 단백질, HDL-콜레스테롤 대사 등 영양대사에 영향을 주었다. 또한 암악액질과 관련있는 싸이토카인의 분비량에도 영향을 주었으나 암세포주가 투여된 쥐에서 체조직의 감소 억제나 식이섭취량의 증가는 보이지 않았다. 따라서 암 악액질 시의 혼합한약재의 투여는 암 증상 호전 및 발암 억제 가능성을 보여주었으나 암악액질 개선 여부는 뚜렷하지 않았다.

결 론

기존의 항암 치료제로 사용되는 합성항암제는 부작용이

심하므로 천연물질과 생약을 대상으로 항암성에 관한 검색이 많이 시도되고 있다.^{23,25)} 본 연구는 목향, 지실, 오수유 등의 혼합한약재가 암세포를 투여한 생쥐의 싸이토카인 수준과 식이섭취 및 혈액성상에 미치는 영향을 살펴보았다. 실험결과 암세포를 투여한 생쥐의 식이섭취량과 체중 등은 감소하였다. 그리고 종양조직의 무게가 한약재군에 비해 대조군이 2배나 커져 혼합한약재의 경구투여가 종양형성을 억제시키고 생명을 연장시킬 수 있었다. 싸이토카인 생산량 분석 결과, 대조군에 비해 한약재군이 IL-1β와 TNF-α 생산량이 유의적으로 낮아, 한약재가 면역반응에 관여하며 종양형성 억제 가능성이 있음을 시사하였다. 암세포의 투여는 혈당과 총 콜레스테롤은 증가시켰고, 중성지방과 유리지방산은 감소시켰다. 암세포주가 투여된 쥐에 한약재를 섭취시킨 한약재군은 혈청단백질과 알부민 HDL-콜레스테롤이 증가되었다. 따라서 암세포와 혼합한약재의 투여는 영양대사에 영향을 미침을 알 수 있었다. 결론적으로 암세포를 가진 쥐에서 한약재의 투여는 종양 조직을 감소시켰으며, 발암 시 유도되는 싸이토카인의 분비량을 감소시켜 종양 억제 가능성을 보였으며 체내 영양대사에도 변화를 가져왔다. 그러나 암세포 투여로 인한 체중감소나 식이섭취량의 감소에는 영향이 없었으므로, 혼합한약재가 암 악액질을 억제시켰다고 보기는 어려우며, 종양 발생시 영양대사와 악액질에 관련된 많은 연구가 필요할 것이다.

Literature cited

- 1) Ministry of health and welfare. National nutrition survey report, 2000
- 2) Grant M, Ropka ME. Alterations in nutrition. in McCorkle R, Grant M, Frank Stromborg M and Baird (Eds). S.B. Cancer Nursing, a comprehensive textbook (2nd ed.), Saunders, Philadelphia london, 1996
- 3) Kim YO, Han B. Association of Nutritional Status with Clinical Outcome of Stomach Cancer Patients. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29(6): 1185-1189, 2000
- 4) Burtis G, Caviw J, Martin S. Applied nutrition and diet therapy. W.B. Saunder Company. Philadelphia, pp.484-487, 1988
- 5) Rivadeneria DE, Denis E, Thomas JF, Micheael DL, John MD. nutritional support of the cancer patients. *CA Cancer J Clin* 48: 69-80, 1998
- 6) Shiels ME, Olson JA, Shike M. Modern nutrition in health and disease. Lea & Feriger, Philadelphia, pp.1319-1326, 1994
- 7) McWhirter JP, pennington CR. Incidence and recognition of malnutrition in hospita. *BMJ* 308: 945-948, 1994
- 8) Kim EK, Yang YH, Choi SM. Nutritional Status of Cancer Patients upon Admission. *J Korean Nurses Association* 29(2): 271-280, 1999
- 9) Bruera E, Higginson I (eds). Cachexia-Anorexia in Cancer Patie-

- nts. New York, Oxford University Press, pp.1-197, 1996
- 10) Orosz P, Echtenacher B, Falk W, Ruschoff J, Weber D, Mannel DN. Enhancement of experimental metastasis by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 177: 1391-1398, 1993
 - 11) Collini PL, De Giovanni C, Nioletti G, Bontadni A, Tazzari PL, Landuzzi L, Scotlandi K, Nanni P. Engancement of experimental metastatic activity by tumor necrosis factor-alpha alone or in combination with interferon-gamma. *Cli Exp Metastasis* 8: 215, 1992
 - 12) Iizumi T, Yazaki T, Umeda T, Soma GIC. Promotion of metastasis by tumor necrosis factor in rats bearing Dunning R3327 MAT-LyLu prostatic tumor. *Urologia Internationalis* 51: 85, 1990
 - 13) Giavazzi R, Garofalo A, Bani MR, Abbate M, Grezzi P, Boraschi D, Mantovani A, Dejana E. Interleukin-1-induced augmentation of experimental metastasis from a human melanoma in nude mice. *Cancer Res* 50: 4771-4775, 1990
 - 14) Chirivi RG, Garofalo A, Padura IM, Mantovani A, Givazzi R. Interleukin-1 receptor antagonists inhibits the augmentation of metastasis induced by IL-1 or LPS in a human melanoma/nude mouse system. *Cancer Res* 55: 505, 1993
 - 15) McNamara JM, Alexander R, Norton JA. Cytokines and their role in the pathophysiology of cancer cachexia. *Journal of parenteral and Enteral Nutrition* 16: 505, 1992
 - 16) Moldawer LL, Rogy MA, Lowry SF. The role of cytokines in cancer cachexia. *J Parenteral and Enteral Nutrition* 16(6 supp 1) : 43s-49s, 1992
 - 17) Tisdale MJ. Cancer cachexia. *Anti-cancer Drugs* 2: 115-125, 1993
 - 18) Watanabe S, Bruera E. Anorexia and cachexia, asthenia, and lethargy. *Hematology/Oncology Clinics of North America* 10(1) : 189-206, 1996
 - 19) Lee SW, Hwang BY, Kim SE, Kim HM, Kim YH. Isolation of Modulators for Multidrug Resistance from the Fruits of *Evodia officinalis*. *J Kor Pharmacogn* 26(4) : 344-348, 1995
 - 20) Wasser SP, Weis AL. Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms. A modern perspective. *Crit Rev Immunol* 19: 65-96, 1999
 - 21) Kang SS, Kim JS, Chi HJ, Chang SY, Ha KW. Isolation and Quantitative Determination of Costunolide from *Saussurea* Root. *J Kor Pharmacogn* 30(1) : 48-53, 1999
 - 22) Hong MD, Kim NJ, Kim DH, Yoon WG. Studies on the Anti-inflammatory Constituents of *Ponciri Fructus*. *J Kor Pharmacogn Abstracts of the 21st Annual Convention*. p.64, 1991
 - 23) Park SY, Kim JW. Screening and Isolation of the Antitumor Agents from Medicinal Plants (1). *J Kor Pharmacogn* 23(4) : 264-267, 1992
 - 24) Tanaka Y, Eda H, Tanaka T, Udagawa T, Ohiwa T, Tatsuno K, Tanaka Y, Ishitsuka H. Cytokines induce uridine phosphorylase in mouse colon 26 carcinoma cells and make the cells more susceptible to 5-deoxy-5-fluorouridine. *Jpn J Cancer Res* 84: 341-347 1993
 - 25) Cheng GC, Lee JY, Kim DC, Suh SO, Hwang WI. Inhibitory Effect of *Salvia miltiorrhiza* Extract on Growth of Some Cancer Cells. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 29(4) : 726-731, 2000
 - 26) Tracy KU, Cerami A. Tumor Necrosis factor: A pleiotropic cytokine and therapeutic target. *Annu Rev Med* 45: 491-503, 1994
 - 27) Cederholm T, Wretling B, Hellstrom K, Andersson B, Engstrom L, Brismar K, Scheynius A, Forshid J, Palmblad J. Enhanced generation of interleukin 1 beta and 6 may contribute to the cachexia of chronic disease. *Am J Clin Nutr* 65: 876-882, 1997
 - 28) Ydh S, Schuster MW. Geriatric cachexia: the role of cytokine. *A J Clin Nutr* 70(2) : 183-197, 1999
 - 29) Kawamura I, Lacey E, Yamamoto N, Sakai T, Takeshita S, Inami M, Nishigaki F, Naoe Y, Tsujimoto S, Manda T, Shimomura K, Goto T. Ponalrestat. an aldose reductase inhibitor, inhibits cachexia syndrome induced by colon26 adenocarcinoma in mice. *Anticancer Res* 19: 4105-4112, 1999
 - 30) Yamamoto N, Kawamura I, Nishigaki F, Tsujimoto S, Naoe Y, Inami M, Elizabeth L, Manda T, Shimomura K. Effect of FR-143430, a Novel Cytokine Suppressive Agent, on Adenocarcinoma Colon26-Induced Cachexia in Mice. *Anticancer Research* 18: 139-144, 1998
 - 31) RHee YK, Han MJ, Park SY, Kim DH. In vitro and in vivo antitumor activity of the fruit body of *phellinus linteus*. *J Kor Food Sci Technol* 32(2) : 477-480, 2000