

삼릉, 황금, 살송편버섯 혼합추출물의 항종양 작용

신숙정 · 이정호*

전북대학교 의과대학 미생물학교실

Antitumor Effects of SKT (Skullcap - Knope sedge - Trametes) Mixture Extract

Sook-Jeong Shin and Jeong-Ho Lee*

Department of Microbiology, Chonbuk National University Medical School, Chonju 561-182, Korea

Abstract – SKT is consisted of skullcap radix, knope-sedge radix and trametes mushroom. SKT mixture extract has been used for curing breast cancer and cervical cancer as a folk medicine without any kind of experimental evidence to support the rationales for its clinical use. This study was undertaken to investigate the antitumor effects and toxicity of SKT. Tumor was induced by implantation of B16F10 melanoma cells (1×10^6 cells/mouse) into abdominal skin in ICR mice and SKT application (5 mg/mouse, p.o.) was initiated 4 days prior to tumor induction and lasted for 42 days. SKT significantly inhibited not only tumor growth but also metastasis of i.v. implanted melanoma cells into lung and showed prolonged life span of tumor bearing mice. The combined therapy of SKT with doxorubicin was more effective against tumor metastasis into lung. SKT almostly recovered serum SGPT to normal level of galactosamine/LPS-induced hepatitis mice. High dose of SKT did not show any acute side effects. But, *in vitro* SKT did not inhibit the growth of melanoma cells, which suggests that the antitumor effects of SKT might be manifested by indirect mechanisms.

Key words – SKT, BRM, MTT, metastasis, tumorigenesis, B16f10

동·서양을 막론하고 암은 사람들이 두려워하는 질병의 하나였으며 산업화와 문명의 발달에 비례한 평균수명의 연장, 환경오염의 악화 등으로 암에 대한 사망은 더욱 증가 추세에 있으며 우리나라에서도 사망원인 2위를 차지할 만큼 심각하다. 암의 치료방법으로는 외과적 수술법, 방사선요법, 화학요법(alkyl화제, 대사길항물질, 항생물질) 등이 시행되고 있으나,¹⁾ 수술시기, 암종에 대한 감수성의 한계점 및 부작용 등으로 그 사용에 있어 많은 제약을 받고 있다. 이에 인체에 무해하면서도 효과적으로 암을 치료할 수 있는 새로운 치료법을 개발하기 위한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 특히, 종양에 의해 유발된 면역억제로 인하여 저하되어 있는 암환자의 면역감시기구의 기능을 강화시킴으로써 암을 치료하는 면역요법, 즉, BRM(biological response modifier) 요법에 대한 관심이 고조되고 있다. 현재 버섯류를 포함한 진균류 효모, 고등식물 등에서 수많은 생리활성물질들이 정제되고 있으며, BRM 효과가 입증된 물질 중 천연물에서 추

출한 물질은 인체에 투여시 독성이 없으며 부작용 또한 극히 적음에도 불구하고 인체 면역능력을 변화시키거나 조절하는데 큰 효과를 보인다.²⁻⁴⁾ 특히, 표고버섯(*Linteus edodes*)에서 lentinan, 구름버섯(*Coriolus versicolor*)에서 krestin 치마버섯(*Sbizophyllum commune*)에서 sizofilan 등이 분리되는 등 버섯류에서 다양한 새로운 항암작용 물질이 검출되어 현재 치료에 이용하고 있거나 항암제로 개발중에 있다.⁵⁻⁸⁾ 또, 최근 우리나라를 비롯한 일본, 중국 등에서는 제3의 의학 또는 대체의학으로 알려진 한의학의 이론을 이용한 대체 항암제의 개발 및 새로운 항암제에 대한 관심이 크게 높아지면서 여러 종류의 약제를 혼합하여 추출한 탕제류(복합처방)에서 단독 사용시(단일처방)에는 보이지 않던 항암효과나 면역 증강 효과가 입증되어 이를 이용한 대체 항암제의 개발 및 새로운 암치료법의 개발에 대한 관심이 모아지고 있다.⁹⁻¹⁰⁾

본 실험에서 시료로 사용한 SKT는 황금(*skullcap*, *Scutellaria baicalensis*), 삼릉(knope-sedge, *Sparganium stoloniferum*), 살송편버섯(*trametes*, *Daedalea palisotii*)의 혼

*교신저자(E-mail) : ljh0718@chonbuk.ac.kr
(FAX) : 063-270-3068

합추출물로 우리나라를 비롯한 아시아권에 많이 분포하고 있는 약재이다. 황금은 순형과(*Labiatae*)에 속하는 다년생 초본 식물의 뿌리로 항염(*antiinflammation*), 제독(*antidote*), 해열(*defeverescence*)에 사용되어져 왔고, 삼릉은 무궁화과에 속하는 여러해살이 풀의 뿌리로 한방에서는 항말라리아(*antimalaria*), 통경제(*emmenagogue*), 통제(*anodyne*)로의 효과가 있다고 전해져 왔다. 살송편버섯은 민주름버섯목(*Aphyllhoralea*) 구멍장이과(*Polyporaceae*)에 속하는 담자균의 일종으로 유방암(*breast cancer*), 자궁암(*cervical cancer*), 식도암(*esophagus cancer*), 폐결핵(*pulmonary tuberculosis*)에 효과가 있다하여 널리 사용되어져 왔다. 그러나, 이들의 효능에 관한 문헌적 고찰은 황금이 항균 및 면역반응 항진 효과가 있다는 신 등¹¹⁾의 보고, lymphosarcoma에 걸린 랫트에 황금 추출물을 투여하면 항종양 및 항종양전이 효과가 있다는 Razina TG 등¹²⁾의 보고를 제외하고는 이들의 약효를 뒷받침 해줄만한 실험적으로 입증된 문헌적 자료가 없으며, 더욱이 심신이 지쳐 있는 말기암환자들이 복용하기 때문에 무분별한 오용으로 인해 더 치명적인 결과를 초래할 가능성 또한 배제할 수 없다. 따라서 저자는 이들의 항암 효능의 정도와 독성여부를 밝힐 필요가 있다고 사료되어 본 연구를 수행하였으며, 민간요법에서 사용되어져 온 방식대로 3종류의 시료를 혼합 추출하였다. 이렇게 얻어진 추출물을 이용하여 마우스를 실험모델로 흑색종세포(B16F10 melanoma cell)를 이식하고 종양의 발생(*tumorigenesis*) 및 전이(*metastasis*)에 미치는 영향과 복용시 생체에 미치는 독성을 평가하였던 바, SKT가 항암제 및 항암보조제로 개발될 수 있는 가능성을 제시하는 몇 가지 유의한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시료 - 황금, 삼릉 및 살송편버섯을 한약재료상으로부터 구입하여 사용하였으며, 각 시료 50 g씩을 증류수 1000 ml에 넣고 민간에서 추출했던 방식대로 열수 추출(90°C, 10시간)한 후 동결건조시켜 냉동고에 보관하면서 실험에 따라 생리식염수 또는 RPMI 1640에 용해시켜 사용하였다(수율: 황금-3.52%, 삼릉-5.83%, 살송편버섯-6.90%).

실험동물 - 7~8주령의(체중 25 g 내외) ICR 마우스를 페렛 사료와 수돗물을 공급하면서 가능한 한 스트레스를 받지 않도록 사육하면서 실험군 및 대조군은 항상 동성(*sex-matched*)의 마우스를 사용하였다.

시약 - 본 실험에 사용한 마이트젠과 기타 시약들은 특별한 언급이 없는 한 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)로부터 구입하여 사용하였다.

공시 세포 - 흑색종 세포 암 발생 및 전이 실험에는 연세대학교 미생물학 교실에서 분양받아 본 교실에서 계대배

양중인 대수증식기의 흑색종세포(B16F10 melanoma cells)를 사용하였다.

B16F10 흑색종 세포의 시험관내 증식반응 측정 - MTT assay법¹³⁾에 의하여 측정하였다. 간기하면, 대수 증식기의 B16F10 melanoma cells를 10% FBS-RPMI 1640 배지에 2×10^5 cells/ml로 부유하여 round-bottomed microculture plate의 각 well에 100 μ 씩 분주하고 여기에 다양한 농도의 SKT 추출물을 넣어 20시간 배양하였다. 그 후, 10 μ l의 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide; 5 mg/ml in saline)을 각 well에 가하고 plate를 알류미늄 호일로 차광하여 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 4시간 방치하여 formazan crystal 형성을 유도하였다. 이어 plate를 275 \times g에서 5분간 원심하여 상층액을 조심스럽게 제거하고 150 μ l의 DMSO를 가하여 15분간 formazon crystal을 완전히 용해시킨 후, 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

종양유도 실험 - ICR 마우스를 대상으로 SKT 추출물(5 mg/mouse)을 B16F10 흑색종세포 이식전 4일부터 경구투여한 군과 SKT 추출물 대신 생리식염수를 처리한 대조군으로 나누어 Moorikawa 등¹⁴⁾의 방법대로 시행하였다. 간기하면, 대수증식기의 B16F10 흑색종세포(1×10^6 cells/mouse)를 각 마우스의 면도된 배부피하에 이식시킨 후, 7일 간격으로 형성된 종괴를 육안적으로 관찰하고 그 크기를 측정하였다. 종양의 크기는 Moorikawa 등¹⁵⁾의 방법에 따라 종양의 무게(*tumor weight(mg) = major axis(mm) of tumor \times minor axis(mm) of tumor/2*)로 환산하였다.

종양전이 실험 - 이¹⁵⁾등의 방법을 변형하여 실시하였다. 황금, 삼릉, 및 살송편버섯 개별 추출물이 종양전이에 미치는 영향을 알아보기 위해서는 ICR 마우스를 대조군과 각 추출물을 단독 투여한 군(각 추출물, 5 mg/mouse/day)으로 나누고, SKT 복합 추출물이 종양전이에 미치는 영향을 알아보기 위해서는 대조군, SKT 단독 투여군, doxorubicin 단독투여군, 그리고 SKT와 doxorubicin을 병행투여한 군으로 나누어 대수증식기의 B16F10 흑색종 세포(5×10^5 cells/mouse)를 미정맥내로 주사한 다음, 주사 후 7일에 폐장을 적출하여 폐장 표면에 나타난 흑색종세포의 증식반 수를 측정하였다. SKT 추출물은 마우스당 5 mg 농도로 흑색종세포 주입 4일 전부터 주입 7일 후까지 경구투여하였고, doxorubicin은 마우스당 0.1 mg씩 흑색종세포 주입 후 1일에 정맥 주사하였다.

생존기간 측정 실험 - Ohno T 등¹⁶⁾의 방법을 참조하여 실시하였다. 흑색종 세포 부유액(2×10^5 cells/mouse/0.2 ml)을 대조군과 SKT 경구투여군으로 나누어 각 마우스의 미정맥내에 주사하였다. 대조군은 흑색종세포 주입 전 4일부터 세포주입 후 30일까지 생리식염수를, SKT 투여군은 대조군과 같은 기간에 SKT 추출물(daily, 5 mg/mouse)을 경구 투여하면서 매일 각 군의 마우스의 폐사 여부를 관찰하여

평균생존일수(mean survival time: MST)를 계산한 다음, 평균생존 백분율(T/C, %)으로써 생존기간에 미치는 시료의 효과를 평가하였다.

$$T/C (\%) = (T_s/C_s) \times 100$$

T_s : 시료 투여군의 평균 생존 일수

C_s : 대조군의 평균 생존 일수

급성 독성 실험 - 시료를 생리 식염수에 녹여 100, 500, 1000 mg/kg 농도가 되도록 조제한 후 암, 수 각각 5마리씩 대조군, 경구투여군, 복강 투여군 또는 정맥 주사군으로 나누어 투여한 후, 7일간 동물의 일반 상태변화를 관찰하였다.

혈청 GPT 량에 미치는 영향 - Tieg 등¹⁷⁾의 방법을 보완하여 실시하였다. 간단히하면, SKT 추출물(daily, 5 mg/mouse)을 3일간 경구투여한 군과 대조군의 마우스에 700 mg/kg의 galactosamine (GalN)과 5 µg/kg의 lipopolysaccharide (LPS)를 복강주사하여 간손상을 유발시킨 다음, 유발 후 9 시간에 안와부정맥으로부터 채혈하여 혈청을 분리한 후, 혈청내 SGPT의 양을 지퍼티 측정용 kit (신양화학약품, E-CT99, 서울)를 사용하여 측정하였다.

통계처리 - 각 실험군마다 5 - 10마리 이상의 마우스를 사용하였고, 실험에서 얻은 수치의 평균값과 표준오차(SE)를 구하고 유의성 검정은 Wilcoxon 표준검정법으로 실시하였고, P 값이 0.05 이하이면 유의하다고 판정하였다.

결과 및 고찰

암은 현대 의학의 눈부신 발전에도 불구하고 우리나라에서 사망원인 2위를 차지할 만큼 완치가 어려운 질병이다. 지금까지의 암 치료법은 수술시기 또는 정상조직이나 세포에 대한 독성, 암세포의 항암제에 대한 내성의 증가등의 부작용을 나타내고 있다. 이에 제3의 의학 또는 대체의학으로 알려진 한의학의 이론을 이용한 대체 항암제의 개발 및 새로운 항암제에 대한 관심이 크게 대두되고 있으며, 또 실제로 일본과 중국에서는 동양한방의학과 서양의학의 복합치료로 좋은 효과를 얻고 있다는 보고들도 늘어나고 있다^{18,19)} 본 연구는 민간에서 항암 효능이 있다고 전해 내려오는 SKT 추출물(단일처방 및 복합처방)을 가지고 항암효과의 정도를 밝히는 실험을 수행하였다.

황금, 삼릉, 살송편버섯의 단독 또는 혼합추출물(SK)이 흑색종세포의 시험관내 증식반응에 미치는 영향을 본 결과, Fig. 1에서 보는 바와 같이 단독 추출물로 처리하는 황금과 삼릉은 대조군에 비해 오히려 다소 증식반응이 항진되었고 살송편버섯은 증식이 다소 억제된 경향을 보였으나, SKT 혼합추출물을 첨가한 군에서는 대조군에 비해 흑색종 세포의 증식능이 유의하게 억제되었다. 따라서 흑색종세포의 증식억제작용은 단독추출물보다는 혼합추출물에서 우수하였

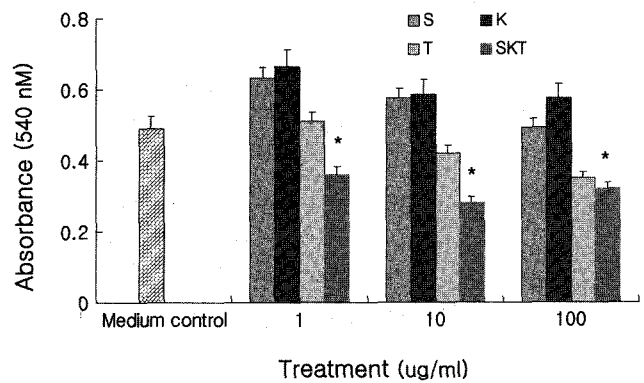


Fig. 1. Inhibitory effect of skullcap(S)-, knope sedge(K)-, trametes(T)-extract alone and skullcap-knope sedge-trametes (SKT) mixture extract on the proliferation of melanoma cells. B16 melanoma cells(2×10⁵ /ml) were cultured with indicated concentration of each extract for 24 hrs. Proliferation response was assayed by colorimetric MTT method. *p<0.05 vs control.

다(Fig. 1).

황금, 삼릉, 살송편버섯의 단독 또는 혼합추출물(SK)이 흑색종 세포의 폐로의 전이에 미치는 영향을 실험하였다. 그 결과 단독추출물의 투여시는 실험관내 반응에서와는 다르게 삼릉과 살송편버섯 추출물에서 대조군에 비해 15% 정도로 전이가 다소 억제되었으나, 혼합추출물의 투여시는 대조군에 비해 50%에 가까운 전이억제 효과를 보였다(Table I). 따라서 이후의 실험에서는 시료의 단독추출물을 사용하지 않고 혼합추출물만을 사용하였다. 이는 황금, 삼릉, 살송편버섯 단독추출물의 투여보다 혼합추출물의 투여가 흑색종세포의 전이 및 증식억제에 더욱 효과가 있음을 의미하며, 또한 Zee-Cheng RK의 Shi-Quan-Da-Bu-Tang을 이용한 보고²⁰⁾에서 보듯이 혼합 추출과정에서 시료간에 일어나는 일련의 화학반응으로 성분의 화학적 구조 자체가 변하여 나

Table I. Inhibitory effect of skullcap(S)-, knope sedge(K)-, trametes(T)-extract alone or skullcap-knope sedge-trametes (SKT) mixture extract on the metastasis of implanted melanoma cells into lung in mice

Treatment	No. of tumor spots	% of Control
Control	143.3 ± 29.8	-
S	151.2 ± 28.1	105.5
K	128.5 ± 21.8	89.5
T	121.0 ± 19.6	84.7
SKT	78.6 ± 11.9	54.8*

B16 cells(5×10⁵ /mouse) were i.v. implanted into mice on day 0 and the tumor spots of lung surface were counted on day 7. Each extract (daily, 5 mg/mouse) was orally administered from -4 day of implantation for 11 days. Data are expressed as mean values±SE from 10 mice.

*p<0.05 vs control

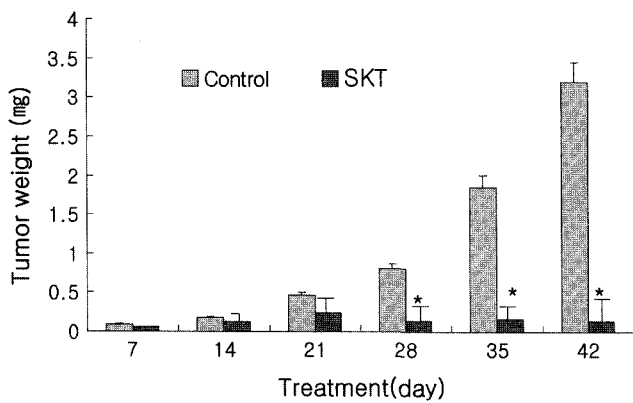


Fig. 2. Inhibitory effect of skullcap-knope sedge-trametes(SKT) mixture extract on the tumorigenesis observed for 6 weeks in B16 melanoma implanted mice. B16 cells(1×10^6 /mouse) were s.c. implanted into shaved abdominal skin of mice and then the frequency of tumorigenesis and tumor size were recorded at various time interval. SKT(daily, 5 mg/mouse) was orally administered from -4 day of implantation for 30 days. Results are expressed as mean values \pm SE from 10 mice. Tumor weight(mg) = major axis(mm) \times minor axis(mm)/2. * $p < 0.05$ vs control.

타나지 않았을까 하는 유추하에서 이에 대한 분석화학적 연구가 수행되어야 한다고 본다. 이러한 실험 결과로 이후의 실험에서는 민간에서 섭취했던 방식대로 황금, 삼릉, 살송편버섯의 혼합추출물을 사용하여 진행하였다.

SKT가 흑색종세포 이식에 의한 종양발생에 미치는 효과를 알아보기 위하여 흑색종세포 이식 전 4일부터 이식 30일까지 SKT를 경구투여한 군과 생리식염수만을 경구투여한 대조군 마우스에 흑색종세포를 이식하여 종양발생을 유도하고 경시적으로 종양 발생을 및 종양의 크기를 측정하였다. 그 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 대조군에 비해 SKT 투여군에서 종양발생 및 크기가 유의하게 억제되었으며, 특히 투여 14-16일을 기점으로 종양성장의 억제가 현저하였을 뿐만 아니라 SKT 투여군의 일부 마우스(40%)에서는 종양이 완전히 소멸하였다. 암 발생은 크게 유전인자, 면역학적 요인 같은 내적 요인과 화학물질, 방사선, 바이러스 감염등의 외적 요인에 의해 발생하지만 같은 환경에 노출되더라도 생체의 면역능력에 따라 발생과 진행의 정도가 달라진다. 따라서 위의 실험에서 얻어진 SKT의 종양발생과 전이 억제 효과는 SKT가 생체면역반응에 영향을 미칠 수 있다는 가능성을 시사하며 이에 대한 실험을 현재 진행중에 있다.

Doxorubicin은 암치료를 많이 사용되는 항암제로 림프구에 대한 독성, 주사부위의 조직괴사 등의 심각한 부작용을 나타내는 항암제이다. 본 실험에서 SKT가 doxorubicin의 흑색종 전이 억제 효과에 미치는 영향을 알아보았다. 마우스 폐장으로의 종양전이를 유도한 후, SKT와 Dox를 단독 또

Table II. Synergistic inhibitory effect of skullcap-knope sedge-trametes (SKT) mixture extract with doxorubicin on the metastasis of implanted B16 melanoma cells into lung in mice

Treatment	No. of tumor spots	% of Control
Control	138.3 \pm 30.7	-
SKT only	81.5 \pm 18.1	58.8*
Dox only	76.3 \pm 16.9	55.1*
SKT + Dox	33.3 \pm 7.4	24.0*

B16 melanoma cells(5×10^5 /mouse) were i.v. implanted into mice on day 0 and the tumor spots of lung surface were counted on day 7. SKT(daily, 5 mg/mouse) was orally administered from -4 day of implantation for 11 days. Doxorubicin(Dox, 0.1 mg/mouse) was singly i.v. injected on day 1. Data are expressed as mean values \pm SE from 10 mice. * $p < 0.05$ vs control

는 병행투여하고 종양세포 주사 후 7일에 마우스를 희생시켜 폐 표면에 형성된 흑색 종반수를 측정 한 결과, SKT 또는 Dox를 단독으로 투여한 경우 대조군에 비해 각각 55.8% 및 55%로 유의하게 전이 억제효과를 보였고, SKT와 Dox를 병행투여한 군에서는 SKT 또는 Dox를 단독 투여했을 경우보다 억제정도(대조군의 24% 정도)가 더 현저하였다 (Table II). 위 실험들의 결과로 볼때 SKT추출물은 그 자체로 항암 효과를 가질 뿐만 아니라 현재 항암치료에 사용되고 있는 Doxorubicin과 병행투여시 synergism 효과까지 기대할 수 있었다. 그러나, 위의 실험결과에서 보여 주듯이 SKT가 탁월한 항암효과를 가고 있다 할지라도 암으로 인해 기능이 쇠약해진 환자들에게 투여시 독성을 나타낸다면 이 실험 결과들은 아무 의미가 없다. 따라서 SKT로 인한 독성을 간접적으로 알아보기 위하여 급성독성 실험, 장기 복용시의 생존기간 및 실험적으로 유도한 간손상에 미치는 영향을 실험하였다.

SKT가 종양마우스의 생존기간에 미치는 영향을 보기 위하여 마우스를 대조군, SKT를 경구 투여한 군 및 복강투여한 군으로 나누어 미정맥내로 흑색종세포를 이식하고 경시적으로 관찰하면서 종양세포 이식마우스의 생존기간을 측정하였다. 그 결과 Table III에서 보는 바와 같이 SKT 투여군 모두에서 대조군에 비해 생존기간이 연장되었으며, 그 연장의 정도는 복강투여군 보다 경구투여군에서 더 현저하였다. 이러한 실험 결과들은 SKT가 암종세포의 증식을 직접적으로 억제시킴과 아울러 면역계에 작용하여 면역감시 기구를 활성화시켜 발현되었을 간접적인 기전에 의한 가능성을 제시하여 차후 SKT추출물의 항암 작용 기작에 관한 실험을 할 필요성을 시사한다.

급성 독성(acute toxicity) 실험은 SKT의 투여가 마우스에 급성 독성을 유발하는지 또 LD50의 농도를 알아보기 위하여 SKT를 경구(p.o.), 복강(i.p.) 및 정맥(i.v.) 내로 투여하고

Table III. Effect of skullcap-knope sedge-trametes(SKT) mixture extract on the life span of B16 melanoma bearing mice

Group	Mean survival days	Ts/Cs (%)
Control	59.4 ± 16.37	100
SKT (p.o.)	91.4 ± 11.11	153.8
SKT (i.p.)	77.0 ± 16.20	129.6

Mice were i.v. injected with 2×10^5 of B16 melanoma cells, and SKT mixture extract(daily, 5 mg/mouse) was orally or i.p. treated from 4 day of implantation for 30 days. Control mice were given saline instead of SKT.

Ts/Cs(%)= Mean survival time of treated group/Mean survival time of control group $\times 100$

* $p < 0.05$ vs control

Table IV. Acute toxicity of high dose skullcap-knope sedge-trametes (SKT) mixture extract in mice

Dose (mg/kg)	Survival rate (%)		
	p.o.	i.p.	i.v.
100	100	100	100
500	100	100	100
1,000	100	90	90

Mice received varying dose of SKT by different route(p.o., i.p. or i.v.), were observed survival for 7 days after SKT.

마우스를 7일간 관찰한 결과 미정맥내로 1000 mg/kg의 고농도로 투여한 경우에도 한 마리만 사망하고 나머지 마우스에서는 약간의 움직임의 둔화만 있었을 뿐 특별한 행동 장애를 관찰할 수 없었으므로 모든 투여 경로에서 심각한 acute toxicity는 나타나지 않았다. 따라서 LD₅₀의 정확한 산출은 불가능하였으며 최소한 1000 mg/kg 이상인 것으로 생각된다(Table IV).

실험적으로 유도한 간손상에 미치는 영향을 알아보기 위하여 마우스에 GalN/LPS로 간손상을 유도하기 전 3일간 마우스당 매일 5 mg의 SKT 추출물을 경구투여하고 혈청내 SGPT량을 측정하여 실험적으로 유도한 간손상에 미치는 SKT 영향을 실험한 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 SKT의 경구투여는 실험적으로 유도한 간손상 마우스의 SGPT치를 정상 수준으로 회복시키 유의한 결과를 보였다. 이상의 실험 결과로 현재 사용되고 있는 많은 화학 항암제들이 실제로 암세포만을 공격하는 것이 아니라 생체내 면역기능을 담당하는 세포에도 독성을 나타내어 그 부작용으로 인해 암치료를 어려움을 겪고 있다는 사실²¹⁾을 감안할 때 SKT 추출물은 자체 부작용이 없으면서도 기존 항암제와 병용투여시 부작용을 경감시키고 항암작용 효과를 상승시킬 수 있는 항암제 및 생물학적 반응조절제로도 작용할 가능성을 유추할 수 있다. 생물학적 반응조절제의 생체내에서 항종양 작용은 1) 암 세포에 대한 직접적인 세포독성작용, 2) 숙주

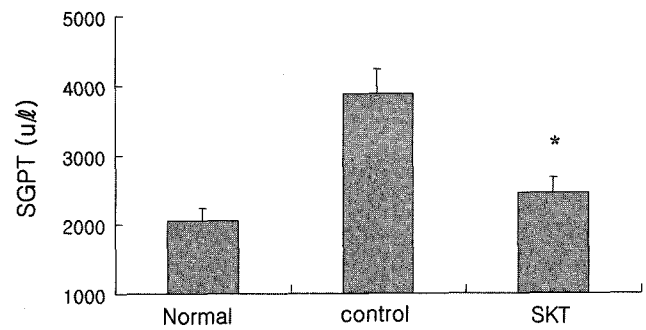


Fig. 3. Effect of skullcap-knope sedge-trametes(SKT) mixture extract on the galactosaine(GalN)/endotoxin(LPS)-induced hepatitis in mice. The mice received i.p. a dose of 700 mg/kg GalN together with 5 µg/kg of LPS. SKT(daily, 5 mg/mouse) was orally administrated on day -2, -1 and 0 before induction of liver injury. Liver injury was assessed by measurement of SGPT levels of serum on 9 hr after GalN/LPS. Each column and bar represent as mean values \pm SE from 5 mice.

* $p < 0.05$ vs control

의 방어체계를 활성화하는 면역기능을 담당하는 세포나 매개물질을 활성화시켜 면역기능을 향진시키는 작용, 3) 종양의 전이에 필요한 신생혈관 생성(angiogenesis)을 억제시키거나, 4) 타 항암제와 상승작용 또는 부작용 억제 작용 등으로 이루어진다. 따라서 본 실험의 SKT의 흑색종세포의 전이억제효과(Table I), 종양발생 및 증식 억제 효과(Fig. 2, Table III), 항암제와의 상승효과(Table II), 단독성 완화 효과(Fig. 3)등의 실험 결과로 미루어 SKT 추출물의 항종양 작용은 위의 모든 기작에 대한 가능성을 제시한다. 따라서 SKT 항종양작용에 대한 기작을 밝히기 위하여 면역반응에 관한 실험(T 및 B세포 증식능, 싸이토카인 생산능, 세포성 및 체액성 면역반응, 대식세포 및 NK 세포의 활성화에 미치는 영향)을 수행하여 SKT가 면역기능을 향진효과가 있음을 확인하였고(투고예정) 또 다른 항종양작용 기작으로 angiogenesis에 미치는 영향에 관한 실험을 진행하고 있다.

결론

황금(skullcap), 삼릉(kenope-sedge), 살송편 버섯(trametes)은 항균 및 항종양 작용이 있다고 알려져 많은 말기암 환자들이 이 추출물을 복용하고 있지만 실제로 실험적으로 입증된 자료는 거의 찾아볼 수 없다. 따라서 본 연구는 이들의 항암 효능의 정도와 그 작용기작을 밝혀 이의 사용에 대한 과학적 증거를 제시하고자 민간에서 사용했던 방식대로 열수 추출물을 사용하여 마우스를 실험 모델로하여 흑색종 세포(B16f10 melanoma cell)를 이식하고, 종양의 발생 및 전이에 미치는 영향과 복용으로 인한 독성을 여부를 알아 보았다.

실험의 결과로 SKT 혼합 추출물의 처리는 단독 추출물

보다 흑색종세포의 시험관내 증식반응 및 전이에 유의한 억제 효과가 있으며, doxorubisin과 병합 투여시 흑색종세포의 전이억제에 synergism 효과가 있을 뿐만 아니라, tumor bearing 마우스의 수명을 유의하게 연장시킴을 알 수 있었다. 또, SKT는 어떤 투여경로에서도 급성 독성 작용을 나타내지 않았으며, GalN/LPS로 유도한 마우스의 간손상을 정상수준으로 회복시켰다.

이상의 실험 성적은 SKT가 실험적으로 이식한 흑색종 세포의 증식과 폐장애로의 전이를 현저히 억제 시킴을 제시하여 SKT로부터 우수한 항암제가 개발될 수 있을 가능성을 시사한다.

인용문헌

- Schmidt, J. D., Gibbons, R. P., Johnson, D.E., Prout, G. R., Scott, W. W. and Murphy, G. P. (1976) Chemotherapy of advanced prostatic cancer. Evaluation of response parameters. *Urology*. **7**: 602-610.
- Roland, J. F., Chmielewicz, Z. F., Weiner, B. A., Gross, A. M., Boening, O. P., Luck, J. V., Bardos, T. J., Really, H. C., Sugiura, K., Stock, C. C., Lucas, E. H., Byerrum, R. U., and Stevens, J. A. (1987) Calvacine, a new antitumor agent. *Science*. 132-141.
- Ortaldo, J. R. and Longo, D.L. (1988) Human natural lymphocyte effector cell, Definition, analysis of a activity and effectiveness. *J Natl. Can. Inst.* **80**: 999-1008.
- Nielsen, H. J., Moesgaard, F., and Kehlet, H. (1989) Ranitidine for prevention of postoperative suppression of delayed hypersensitivity. *Am. J. Surg.* **157**: 291-294.
- Franz G. (1989) Polysaccharides in pharmacy; current application and future concepts. *Planta. Med.* **55**: 493-497.
- Ikekawa, T., Uehara, N., Maeda, Y., Nakanishi, M., and Fukuoka, F. (1969) Antitumor activity of aqueous extract of edible mushrooms. *Cancer Res.* **9**: 734-736.
- Hamuro, J., Maeda, Y. Y., Arai, Y., Fukuoka, F., and Chihara, G. (1971) The significance of the higher structure of the polysaccharides lentinan and pachyman with regard to their anti-tumour activity. *Chem. Biol. Interact.* **3**: 69-71.
- Hirata, N., Tsuzuki, A., Ohno, N., Saita, M., Adachi, Y., and Yadomae, T. (1998) Cytokine synthesis of human monocytes stimulated by triple or single helical conformer of an anti-tumour (3)-beta-D-glucan preparation, sonifilan. *Zentralbl. Bakterio.* **288**: 403-413.
- Kiyohara, H., Matsumoto, T., and Yamada, H. (2004) Combination effects of herbs in multi-herbal formula: Expression of juzen-tai-ho-to's immuno-modulatory activity on the intestinal immun system. *Evid Based Complement Alternat Med.* **1**(1): 83-91.
- Yano, H., Mizoguchi, A., Fukuda, K., Haramaki, M., Ogasawara, S., Momosaki, S., and Kojiro, M. (1994) The herbal medicine sho-sai-ko-to inhibits proliferation of cancer cell lines by inducing apoptosis and arrest at the G0/G1 phase. *Cancer Res.* **15**:54(2): 118-154.
- 신숙정, 이정호, 문용(1989) 황금 추출물이 면역기능, 미생물증식 및 세균번식에 미치는 영향. *대한면역학회지*, **20**: 343-348.
- Razina, T. G., Udintsev, S.N., Tiutrin, I.I., Borovskaia, T.G., and Iaremenko, K.V. (1989) The role of thrombocyte aggregation function in the mechanism of the antimetastatic action of an extract of Baikal skullcap. *Vopr. Onkol.* **35**: 331-342.
- Hansen, M.B., Nielsen, S. E., and Berg, K. (1989) Reexamination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. *J. Immunol. Methods.* **119**: 203-210.
- Moorikawa, K., Takeda, R., and Yamazaki, M. (1985) Induction of tumoricidal activity of polymorphonuclear leukocytes by a linear beta-1,3-D-glucan and other immunomodulators in murine cells. *Cancer Res.* **45**: 1496-1501.
- 이정호, 김학근, 하대유(1993) 화살나무의 항종양 작용과 그 기전. *대한면역학회지*, **15**: 243-253.
- Ohno, T., Inoue, M., and Ogihara, Y. (2002) Suppressive effect of hichimo tsukokato(Kampo medicine) on pulmonary metastasis of B16 melanoma cells. *Biol. Pharm. Bull.* **25**: 880-884.
- Tiegs, G., Wolter, M., and Wendel, A. (1989) Tumor necrosis factor is terminal mediator in galactosamin/endotoxin-induced hepatitis in mice. *Biochem. Pharmacol.* **38**: 627-631.
- Tan, C., Etcubanas, E., Wollner, N., Rosen, G., Gilladoga, A., Showel, J., Murphy, M.L., and Krakoff, I.H. (1973) Adriamycin, an antitumor antibiotic in the treatment of neoplastic disease. *Cancer.* **32**: 9-17.
- Maeda, N. (2004) Kampo medicine and new immunological parameter. *Rinsho. Byori.* (Article in Japanese) **52**(5): 448-451.
- Ikegami, F., Fujii, Y., ishihara, K., and Satoh, T. (2003) Toxicological aspects of Kampo medicines in clinical use. *Chem. Biol. IN-teract.* **15**(3): 235-240.
- Zee-Cheng, R.K. (1992) Shi-quan-da-bu-tang(ten significant tonic decoction),SQT. A potent Chinese biological response modifier in cancer immunotherapy, potentiation and detoxification of anticancer drugs. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **14**(9): 725-736.

(2004년 11월 4일 접수)