

원 저

補中益氣合大七氣湯과 Doxorubicin의 병용이 Colon-26의 항암효과에 미치는 영향

이윤희, 변준석

대구한의대학교 한의과대학 비계내과학교실

The Anti-tumor Effect of Bojungikkeehapdaechilkitang with Doxorubicin in Colon-26

Yun-Hee Lee, Joon-Seok Byun

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University, Daegu, Korea

Objectives : To evaluate the anti-tumor and synergic effect of *Bojungikkeehapdaechilkitang* (BJDC) with doxorubicin.

Methods : The inhibitory concentration (IC), IC₅₀ and IC₉₀ of single use of doxorubicin and BJDC with their concomitant treatment against Colon-26 (murine rectum carcinoma) cell line were observed using MTT (microculture tetrazolium test) assay. In addition, their anti-tumor effects were also observed in xenograft nude mice models against Colon-26 cell line.

Results : BJDC had only minimal direct anti-tumor effect against Colon-26 cell line but it reduced general depressed signs induced by implantation of the tumor cell lines and increased the total WBC and lymphocyte numbers.

Conclusions : It is considered or expected that BJDC extract is reducing the critical toxicity of doxorubicin and has favorable synergic anti-tumor effect when administered concomitantly with doxorubicin.

Key Words: *Bojungikkeehapdaechilkitang*, doxorubicin, anti-tumor effect, Colon-26

서 론

종양은 조직의 자율적인 과잉성장으로 정상조직에 대해서 파괴적인 것을 말하며^{1,2)}, 악성종양인 암은 현대의학의 계속적인 발전에도 불구하고 그 사망률과 이환 수준이 꾸준히 높아지는 추세에 있다^{3,4)}.

양방의 항암요법 중 화학요법에 사용되는 doxorubicin은 현재까지 항암치료제로 사용되고 있는 약물 중 효과가 가장 뛰어나 광범위하게 사용되고 있지만 이 약물이 가지고 있는 심한 독성 때문에 임상 적용범위가 극히 제한되고 있어^{5,6)} 이들의 사용량을 줄이기 위한 천연물이나 다른 약제와의 병용노력이 계속 진행되고 있는 실정이다^{7,8)}.

암에 대한 한방의 치법은 痘因, 痘位, 痘性 및 환자의 상태에 따라 阴陽氣血과 臟腑의 虛實에 근거하여 扶正固本法, 攻邪法 그리고 扶正祛邪法의 3가지로 大別되며^{9,10)} 실험연구도 대부분 이에 준하고 있는데, 이 중 扶正祛邪法은 '養正積自除'¹²⁾의 원칙 하에 正氣를

· 접수 : 2004년 2월 6일 · 논문심사 : 2004년 2월 21일
· 채택 : 2004년 3월 2일

· 교신저자 : 변준석 대구광역시 수성구 상동 165번지 대구한의대학교 부속 대구한방병원 비계내과
(Tel. 053-770-2113, Fax. 053-770-2169, E-mail: jsbyun@dhu.ac.kr)

補益하면서 邪氣를 제거하는 방법으로 扶正祛邪法을 이용한 많은 실험결과가 배출되었다.

그러나 한약을 이용한 항암효과연구에서 면역반응에 관한 연구는 많은 반면 항암제 부작용 억제나 항암제와의 병용투여에 관한 연구는 상대적으로 적은 편이다¹³⁾.

補中益氣合大七氣湯은 《東醫寶鑑·積聚門》¹²⁾에 수록되어 五積·六聚·癰瘕·積塊의 通治方으로 사용된 처방으로 補中益氣湯은 脾胃의 손상으로 발생된 제반 증상을 치료하는 대표적인 補益劑^[4]이며 大七氣湯은 辛溫消導의 방법으로 五積六聚를 치료하는 처방^[12]인데, 각각의 처방에 대해서는 여러 편의 실험논문이 발표되었으나^[5-8] 補中益氣合大七氣湯에 대한 연구로는 金 등^[9]이 扶正祛邪法의 대표처방으로 선정하여 일정정도의 종양감소와 면역증강의 효과가 있다고 한 보고 이외에는 항암제 부작용 억제나 항암제 병용투여에 관한 연구 등 종양에 관한 연구는 찾아볼 수 없었다.

이에 論者는 補中益氣合大七氣湯 자체의 항암효과를 평가하고, doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯의 병용효과를 관찰하기 위하여 대표적인 종양인 대장암(Colon-26)에 대한 시험관내 효력실험과 동시에 종양 세포주를 누드 마우스에 이식한 모델에서의 효력실험을 통해 종합적으로 평가하고자 본 연구를 수행하였으며, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험 종양세포주

대장암(Colon-26) 세포주를 Japanese Cancer Research Resource Bank (Tsukuba, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 종양세포주는 일반적인 방법을 통해 해동 후 3회 이상 계대하여 적절한 수인 confluence 80% 이상에 도달시킨 후 사용하였다. 또한 누드 마우스 이식실험에서는 계대한 각각의 세포주를 건강한 누드 마우스의 피부에 이식시켜 이식능력을 확인한 후 실험에 사용하였다.

2) 실험동물

생후 6주, 몸무게 21~26g의 성숙한 암컷 누드 마우스를 Charles River Laboratories (Yokohama, Japan)에서 구입하여 사용하였으며, 실험동물은 사료(삼양사, 서울)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 1주 일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 종양 세포 이식 시 실험동물의 체중은 23~28g 이었다. 실험동물은 온도(20~25°C)와 습도(30~35%)가 조절된 사육실에서 사육하였으며, 환기횟수는 11~12회/hr, 조명은 12hr/day를 유지하였다. 사료는 고형사료를 자유롭게 공급하였으며, 물은 수돗물을 자유롭게 공급하였다.

2. 방법

1) 실험군의 구분

(1) 시험관내 효력 시험

발육억제농도(Inhibition Concentration; IC)를 측정하기 위하여 실험군을 각각 doxorubicin 단독 처리군 (Doxo 군), 補中益氣合大七氣湯 추출물 단독 처리군 (Bojungikkeehapdaechilkitang; BJDC 군), doxorubicin 처리 후 50 μ g/ml의 補中益氣合大七氣湯 추출물 처리군 (Mix50 군), doxorubicin 처리 후 100 μ g/ml의 補中益氣合大七氣湯 추출물 처리군 (Mix100 군) 및 doxorubicin 처리 후 200 μ g/ml의 補中益氣合大七氣湯 추출물 처리군 (Mix200 군)의 5개 군으로 구분하여 실험을 실시하였다.

(2) 마우스 피하 이식 모델에서의 효력 시험

Colon-26 세포주를 누드 마우스에 이식한 후 항암효과를 평가하기 위하여 각각의 세포주를 이식한 후 멀균된 생리식염수를 10ml/kg을 경구투여한 대조군 (Control 군) 및 이식 후 doxorubicin(Janvier CERJ, Le Genest-St-isle, France) 5mg/kg을 단독 복강 투여한 실험군(Doxo 군), 補中益氣合大七氣湯 100mg/kg을 단독 경구투여한 실험군(BJDC 군), 5mg/kg의 doxorubicin을 복강투여하고 50mg/kg의 補中益氣合大七氣湯 추출물을 동시에 경구투여한 실험군(Mix50) 및 5mg/kg의 doxorubicin을 복강투여하고 100mg/kg의 補中益氣合大七氣湯 추출물을 동시에 경구투여한 실험군 (Mix100)의 5개 군으로 구분하여 실험을 실시하였

다. 모든 실험물질의 투여는 10ml/kg의 용량으로 실험동물에 투여하였다.

2) 시험관내 시험에서 효력실험

MTT(Microculture Tetrazolium test)를 사용하였다. 즉 doxorubicin 및 BJDC 단독 처리군에서는 각각 100 μ g/ml에서부터 0.006 μ g/ml까지 2배씩 희석하여 사용하였으며(15단계), Mix50, Mix100 및 Mix200 군에서는 doxorubicin 100 μ g/ml에서부터 0.006 μ g/ml까지 2배씩 희석한 후 각각 50, 100 및 200 μ g/ml의 補中益氣合大七氣湯 추출물을 첨가하였다. 일반적인 MTT 방법을 통해 억제농도(Inhibition concentration, IC)를 산출하였다. 즉, 계대 중인 각각의 종양 세포를 1×104cell씩 96 well plate에 분주한 다음 24시간동안 배양하고 각각의 후보물질들을 처리한 후 37°C의 5% CO2 incubator에서 48시간 배양하였다. 이후 MTT 용액(25 μ l of 2g/ml in saline)을 첨가한 후 4시간동안 배양하고 배양액과 용액을 버린 후 crystal violet 염색 후 수세한 다음 plate를 건조시켰다. 이때 배양액은 RPMI medium에 2% sodium bicarbonate와 20ml/l의 streptomycin/penicillin을 첨가하여 사용하였고, 모든 후보물질은 멸균 생리식염수에 혼탁 또는 용해시켜 사용하였다. 발육 억제농도(IC)의 판정은 흡광도(absorbance; Ab) 값을 측정하여 무처치 대조군에 대한 억제율을 산출하고 positive 억제율이 관찰되는 농도를 IC로 결정하였으며, 얻어진 억제율을 이용하여 linear regression 방법인 Probit 방법으로 무처치 대조군에 비해 50%로 감소된 농도인 IC50과 90%로 감소한 농도인 IC90을 산출하였다. Ab 값은 540nm의 파장에서 ELISA 판독기(Bio-Tek, TV, USA)를 이용하여 측정하였다.

3) 補中益氣合大七氣湯 추출물의 조성 및 추출

(1) 補中益氣合大七氣湯의 조성

본 실험에 사용된 補中益氣合大七氣湯은 시중(동양한약유통, 서울)에서 매입한 것을 선정하여 《萬病回春》²⁰⁾ 및 《濟衆新編》²¹⁾에 기록된 조성으로 사용하였으며, 1貼 분량의 주요 조성은 Table 1과 같다.

(2) 補中益氣合大七氣湯 추출물의 추출

선정된 약제 10貼분량(376.10g)을 취하여 정제수

Table 1. Composition of "Bojungikkeehapdaechilkitang" Used in This Study

構成藥材	生藥名	用量(g)
黃芪	<i>Astragali Radix</i>	5.62
人蔘	<i>Ginseng Radix</i>	3.75
白朮	<i>Atractylodis Macrocephala Rhizoma</i>	3.75
甘草	<i>Glycyrrhiza Radix</i>	3.75
當歸	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	1.85
陳皮	<i>Aurantii nobilis Pericarpium</i>	1.85
三稜	<i>Scirpi Tuber</i>	1.85
蓬朮	<i>Zedoariae Rhizoma</i>	1.85
青皮	<i>Aurantii pericarpium</i>	1.85
香附子	<i>Cyperi Rhizoma</i>	1.85
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	1.85
藿香	<i>Agastachis Herba</i>	1.85
益智仁	<i>Amomi Amari Fructus</i>	1.85
肉桂	<i>Cinnamomi Cortex</i>	1.85
柴胡	<i>Bupleuri Radix</i>	1.12
升麻	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	1.12
Total	16 types	37.61

4000ml로 가열 추출한 후 흡인 여과액을 rotary vacuum evaporator(N-N type; LAB Camp, Dajeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(PVTFD10A; Ilshin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 1貼 당 8.80g, 총 87.99g(수율 23.39%)의 물 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

4) 종양이식모델의 확립

Colon-26 세포주를 피하 종괴 상태로 계대한 후 무균상태에서 절제하고 collagenase type VI와 DNase I (Sigma, USA)를 이용하여 단일 세포 부유액으로 만들었다. 이후 적절한 세포의 수(1×10^5 cell/mouse)를 확인한 후, 각 세포주를 마우스의 피하에 이식하였다. 이때 배양액은 RPMI medium에 2% sodium bicarbonate와 20ml/l의 streptomycin/penicillin을 첨가하여 사용하였다. 이식 2주 후, 일정한 크기의 종괴가 형성된 실험동물만 선정하여 실험에 사용하였다.

5) 종양이식모델에서 약물의 투여

Colon-26 세포를 이식한 2주 후 일정한 크기의 종괴가 형성된 실험동물을 선정하여 Doxo군에서는 5mg/kg의 doxorubicin을 Massé 등²²⁾의 방법에 따라 3일에 한번씩 10ml/kg의 용량으로 1ml 멸균 주사기를 이

용하여 복강주사로 투여하였고, BJDC 군에서는 종괴 이식 2주 후부터 매일 100mg/kg의 補中益氣合大七氣湯 추출물을 gastric sonde가 부착된 1ml 주사기를 이용하여 10ml/kg으로 경구투여하였다. 또한 Mix50 및 Mix100 군에서는 각각 5mg/kg의 doxorubicin을 3일에 1회씩 10ml/kg의 용량으로 투여하는 동시에 50 및 100mg/kg의 補中益氣合大七氣湯 추출물을 10ml/kg으로 매일 경구투여하였다. 대조군에서는 補中益氣合大七氣湯 투여시와 동일한 방법으로 동일한 양의 생리식염수를 투여하였다.

Doxorubicin 및 補中益氣合大七氣湯 추출물은 멸균 생리식염수에 용해 또는 혼탁시켜 투여하였다. 약물 및 주사기는 투여 직전 멸균하여 사용하였다.

6) 체중의 변화 측정

모든 실험 동물의 체중은 각각의 세포주 이식 시와 이식 2주 후에 체중을 측정하였으며, 이와 함께 약물 처리 시작일(Day 0), 약물 처리 후 7, 14, 21, 27 및 희생일(Day 28)에 측정·기록하였으며, 실험 시작 시의 개체 차이에 의한 체중변화를 줄이기 위해 일정 기간동안의 체중 변화량인 증체량(body weight gain)을 계산하였다. 또한 부검 시 사료 섭취에 따른 체중 차이를 줄이기 위하여 최종 부검일에는 18시간 이상 절식을 실시하였다.

7) 사료 섭취량 측정

모든 실험동물의 사료 섭취량의 변화를 관찰하기 위하여 약물 투여 후 7, 14, 21 및 27일에 개체별로 사료 섭취량을 측정하였고, 4일간의 총 사료 섭취량을 계산하여 비교하였다.

8) 임상증상의 관찰

모든 실험동물에 대하여 실험기간 중 1일 1회 운동실조, 탈수, 식욕부진의 이상증상 및 사망유무를 관찰 기록하였으며, 투여기간 중에는 투여 전후 1일 2회 관찰하였다. 관찰된 임상증상은 개체별로 기록하였다. 임상증상은 아래의 5가지로 구분하여 평가하고 기록하였다.

Categories of Clinical Signs :

- | | |
|------------------------|---------------------|
| 0+ : Not detected | 1+ : Slight degrees |
| 2+ : Moderated degrees | 3+ : Severe degrees |

4+ : Very severe degrees

9) 종양중량의 측정

모든 실험동물은 최종 부검일에 ethyl ether로 마취한 후 피하에 형성된 종괴를 적출하여 주위 결합 조직과 피부 조직을 분리·제거하여 습중량(wet weight)을 g단위로 측정한 후 체중 차이에 따른 변화를 줄이기 위하여 체중에 대한 습중량의 비율인 상대 중량을 아래의 공식을 이용하여 측정하였다.

$$\text{Relative tumor weights (\%)} = (\text{wet tumor weight} / \text{body weight at sacrifice}) \times 100$$

또한 종양의 상대 중량을 이용하여 대조군에 대한 종양 발육억제율(Inhibition rate; IR)을 아래의 공식을 이용하여 각각 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \{ 1 - (\text{tumor wet or relative weight of test material treated-groups} / \text{tumor wet or relative weight of control}) \} \times 100$$

10) 종양체적의 측정

모든 실험동물은 최종 부검일에 ethyl ether로 마취한 후 피하에 형성된 종괴를 적출하여 주위 결합 조직과 피부 조직을 분리·제거한 후 vernier calipers를 이용하여 장경과 단경을 각각 측정·기록하였으며, 측정된 종양의 단경과 장경으로 아래의 공식을 이용하여 종괴의 습체적(wet volume)을 mm^3 단위로 계산하였다.

$$\text{Wet tumor volume} (\text{mm}^3) = 1/2 \times a \times b^2 \quad (a: \text{long axis} \text{ (mm)}; b: \text{short axis} \text{ (mm)})$$

또한 종양의 습체적을 이용하여 대조군에 대한 종양 발육 억제율 (Inhibition rate; IR)을 아래의 공식을 이용하여 각각 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \{ 1 - (\text{tumor wet volume of test material treated-groups} / \text{tumor wet volume of control}) \} \times 100$$

11) 혈중 백혈구 총수의 계산

모든 실험동물은 최종 희생일(Day 28)에 모든 실험동물의 복대정맥(Vena cava)에서 1ml의 혈액을 채취한 후 일반적인 방법²³⁾에 따라 Turk solution(100ml의 증류수에 2~5ml의 빙초산과 1% gentian violet 1ml이 첨가된 용액)으로 염색한 후 혈구 계산판

(counting chamber)과 희석 피펫(diluting pipette)을 이용하여 총 백혈구 수를 $\times 10^3/\text{mm}^3$ 단위로 계산하였다.

12) 혈중 임파구수의 계산

최종 회생일(Day 28)에 모든 실험동물의 복대정맥(Vena cava)에서 1ml의 혈액을 채취한 후 일반적인 방법(23)에 따라 혈액도말 표본을 제작하고 Giemsa 염색을 실시한 후 1 mm^2 면적에 존재하는 임파구(lymphocyte)의 수를 자동영상분석장치(Auto-anlysis; SIS, Berlin, Germany)를 이용하여 계산·기록하였다.

13) 통계처리

MTT test는 3종의 세포주에 대하여 각각 5회 이상 반복하였으며, 모든 수치는 평균±표준편차로 계산하였고 대조군과 비교하여 Mann-Whitney Wilcoxon's Rank Sum(M-W) test로 유의성을 검증하였고, IC₅₀과 IC₉₀은 Probit 방법으로 계산하였다. Probit test 및 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 6.1.2, SPSS Inc., USA)를 이용하여 $p<0.05$ 미만인 경우 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 시험관내 효력의 변화 (MTT *In Vitro*)

IC는 Doxo 군의 경우 $0.037 \pm 0.011 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 관찰되었으나, BJDC 군에서는 $48.912 \pm 34.693 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 관찰되었다. 한편 Mix50, Mix100 및 Mix200 군에서는 각각 0.018 ± 0.009 , 0.009 ± 0.002 및 $0.006 \pm 0.002 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 관찰되어, Doxo 군에 비해 각각 유의성 있는 ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$) IC 농도의 감소가 인정되었다. IC₅₀은 Doxo 및 BJDC 군의 경우 0.082 ± 0.007 , $104.202 \pm 90.108 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 Mix50, Mix100 및 Mix200 군에서는 각각 0.032 ± 0.010 , 0.021 ± 0.011 및 $0.012 \pm 0.004 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 관찰되어, 모든 병용 처리군에서 Doxo 군에 비해 유의성 있는 ($p<0.01$) IC₅₀ 농도의 감소가 인정되었다. IC₉₀은 Doxo 및 BJDC 군의 경우 1.452 ± 0.579 및 $359.158 \pm 448.536 \mu\text{g}/\text{ml}$, Mix50, Mix100 및 Mix200 군에서는 각각 0.105 ± 0.021 , 0.067 ± 0.034 및 $0.025 \pm 0.007 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 관찰되어, 모든 병용 처리군에서 Doxo 군에 비해 유의성 있는

($p<0.01$) IC₉₀ 농도의 감소가 인정되었다(Table 2).

2. 체중의 변화

Doxo 군의 경우 투여 21일까지는 대조군과 유사한 체중이 나타났으나, 투여 27일 후부터는 대조군에 비해 유의성 있는 ($p<0.01$, $p<0.05$) 체중 증가가 관찰되었다. 또한 BJDC 군의 경우 투여 14일 후부터 대조군 ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$)과 Doxo 군 ($p<0.01$)에 비해 각각 유의성 있게 증가된 체중을 나타내었다. 한편 Mix50 군에서는 투여 7일 후부터는 대조군에 비해 ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$), 투여 14일 후부터는 Doxo 군에 비해 ($p<0.01$) 증가된 체중을, 또한 투여 14일, 27일 및 최종회생일에는 BJDC 군에 비해 ($p<0.05$) 유의성 있게 증가된 체중을 나타내었다. 또한 Mix100 군에서는 투여 7일 후부터 대조군과 Doxo 군에 비해 유의한 ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$) 체중증가를, 투여 21일 후부터는 BJDC 군에 비해 유의한 ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$) 체중증가를 나타내었다(Table 3).

3. 종체량의 변화

Doxo 군의 경우 투여 후 21-27일 동안에만 국한되어 대조군에 비해 유의성 있는 ($p<0.05$) 종체량의 증가가 인정되었다. BJDC 군의 경우 Day 0-7일 및 Day 21-27일 동안의 종체량이 대조군에 비해 유의성 있게 ($p<0.05$) 증가되었으며, 총 투여기간 동안의 종체량 역시 대조군에 비해 유의성 있게 ($p<0.01$) 증가되었다. 또한 Day 0-7일 동안에는 Doxo 군과 비교하여 유의성 있는 ($p<0.05$) 종체량의 증가가 인정되었다. 한편 Mix50 군에서는 Day 7-14, 21-27일 및 총 투여기간 동안 대조군에 비해 유의한 ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$) 종체량의 증가를, Day 0-7, 7-14일 및 총 투여기간 동안은 Doxo 군에 비해 유의한 ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$) 종체량의 증가를, Day 14-21일 동안은 BJDC 군에 비해 유의한 ($p<0.01$) 종체량의 증가를 나타내었다. 또한 Mix100 군에서는 전 기간동안 대조군에 비해 유의성 있는 ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$) 종체량의 증가가 인정되었으며, Doxo 군 및 BJDC 군에 비

해서도 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 증체량의 증가가 일부 기간에서 인정되었다(Table 4).

4. 사료 섭취량의 변화

Doxo 군에서는 대조군과 유사한 사료 섭취량을 나타내었고, BJDC 군의 경우 약물투여 21일 이후부터는 대조군과 Doxo 군에 비해 유의성 있는($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$) ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$) 사료 섭취량의 증가를 나타내었다. 한편 Mix50 군에서는 Day 7 일을 제외한 전 기간동안 대조군에 비해 유의성 있는($p<0.05$ 또는 $p<0.01$) 사료 섭취량의 증가가 인정되었고, Doxo 군에 비해서도 전 기간동안 유의성 있는($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$) 사료 섭취량의 증가가 인정되었으며, BJDC 군에 비해서도 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 사료 섭취량의 증가가 일부 기간에서 관찰되었다. 또한 Mix100 군에서는 Mix50 군에 비해 증가된 사료 섭취량을 나타내며 대조군에 비해 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 사료 섭취량의 증가가 Day 7일을 제외한 모든 측정일에 걸쳐 인정되었으며, Doxo 군에 비해서도 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 사료 섭취량의 증가가 전 기간동안 인정되었고, BJDC 군에 비해서도 투여 후 7일을 제외한 전 측정기간에서 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 사료 섭취량의 증가가 인정되었다 (Table 5).

5. 임상증상의 변화

Colon-26 이식 후 대조군에서는 매우 심한 정도(4+)의 운동실조와 식욕부진이 모든 실험동물(100%)에서 인정되었으며, 심한 정도(3+)의 탈수 증상이 모든 실험동물(100%)에서 인정되었다. 한편 Doxo 군에서는 중등도 정도(2+)의 운동실조, 심한 정도(3+)의 탈수증상 및 식욕부진 소견이 모든 실험동물(100%)에서 인정되었다. 그러나 BJDC 군에서는 정상범위가 5마리 중 1마리(20%), 중등도 정도(2+)의 운동실조와 식욕부진 증상이 각각 5마리 중 3마리(60%)와 2마리(40%)에서 관찰되었으며, 심한 정도(3+)의 탈수 소견이 5마리 중 3마리(60%)에서 인정되었다. 한편

Mix50 군에서는 정상범위가 5마리 중 1마리(20%), 중등도 정도(2+)의 운동실조 및 탈수증상이 각각 5마리 중 3마리(60%)와 2마리(40%)에서 관찰되었으며, 경미한(1+) 식욕부진이 5마리 중 2마리(40%)에서만 국한되어 관찰되었다. 또한 Mix100 군에서는 정상범위가 5마리 중 2마리(40%), 경미한(1+) 정도의 운동실조와 식욕부진 소견이 각각 5마리 중 3마리(60%)와 2마리(40%)에서 인정되었으며, 2마리(40%)에 국한되어 중등도 정도(2+)의 탈수 소견이 관찰되었다(Table 6).

6. 종양 중량의 변화

1) 상대중량의 변화

Colon-26 이식 후 Doxo 군에서는 대조군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 종양 상대중량의 감소가 인정되었으나 BJDC 군에서는 대조군과 유사한 수치를 나타내었다. 한편 Mix50 군에서는 대조군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 종양 상대중량의 감소가 관찰되었고 Doxo 군에 비해서도 유의성 있는($p<0.05$) 종양 상대중량의 감소 역시 인정되었다. 또한 Mix100 군에서는 Mix50 군에 비해 감소된 중량을 나타내며 대조군, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 종양 상대중량의 감소를 나타내었다 (Table 7).

2) 상대중량에 대한 성장 억제율

Doxo 군에서는 대조군에 비해 $57.52 \pm 16.02\%$ 의 상대중량에 대한 성장 억제율을 나타내었으나, BJDC 군에서는 $11.65 \pm 19.30\%$ 의 억제율이 관찰되었다. 한편 Mix50 군에서는 $70.77 \pm 10.51\%$ 의 상대중량에 대한 억제율이 인정되어 Doxo 군에 비해 증가된 억제율을 나타내었으나, 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 Mix100 군에서는 $77.83 \pm 10.15\%$ 의 종양 상대중량에 대한 성장 억제율이 관찰되어, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는($p<0.05$, $p<0.01$) 상대 중량에 대한 억제율의 증가가 인정되었다 (Table 7).

7. 종양 체적의 변화

1) 습체적의 변화

Table 2. IC, IC₅₀ and IC₉₀ against Murine Rectum Carcinoma (Colon-26) after Doxorubicin, Bojungikkeehapdaechilkitang and their Concomitant Treatment

Group ID	IC($\mu\text{g}/\text{ml}$)	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	IC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Doxo	0.037±0.011	0.082±0.007	1.452±0.579
BJDC	48.91±34.69	104.20±90.11	359.16±448.54
Mix50	0.018±0.009*	0.032±0.010**	0.105±0.021**
Mix100	0.009±0.002**	0.021±0.011**	0.067±0.034**
Mix200	0.006±0.002**	0.012±0.004**	0.025±0.007**

Values are Mean±SD, * : $p<0.05$ compared to that of Doxo by M-W test, ** : $p<0.01$ compared to that of Doxo by M-W test

Table 3. Changes of Body Weight after Doxorubicin, Bojungikkeehapdaechilkitang and their Concomitant Treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Control	Doxo	BJDC	Mix50	Mix100
Day 0 ^a	23.10±1.15	23.14±1.62	22.78±0.86	23.14±0.86	23.14±1.03
Day 7	22.04±1.27	22.14±1.38	23.76±0.54	23.64±0.66*	24.34±1.48*,#
Day 14	21.76±1.42	21.72±1.59	24.04±0.78*,##	25.46±0.78**,##,\$	25.92±1.68**,##
Day 21	21.66±1.56	22.32±0.67	24.76±1.18**,##	26.16±1.69**,##	27.62±1.72**,##,\$
Day 27	20.82±0.76	23.92±1.06**	26.40±0.81**,##	28.04±0.64**,##,\$	30.04±1.96**,##,\$
Day 28 ^b	19.94±1.16	22.74±1.65*	23.86±1.43**,##	26.02±0.84**,##,\$	27.18±1.01**,##,\$

Values are Mean±SD (g), Day : days after treatment of test materials, a) : Day at initial dosing, b) : Day at sacrifice after about 18hrs of fasting, * : $p<0.05$ compared to that of Control, ** : $p<0.01$ compared to that of Control, # : $p<0.05$ compared to that of Doxo, ## : $p<0.01$ compared to that of Doxo, \$: $p<0.05$ compared to that of BJDC, \$\$: $p<0.01$ compared to that of BJDC

Table 4. Changes of Body Weight Gains after Doxorubicin, Bojungikkeehapdaechilkitang and their Concomitant Treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Control	Doxo	BJDC	Mix50	Mix100
Day 0-7	-1.06±1.09	-1.00±0.80	0.98±0.51*,#	0.50±1.03#	1.20±0.87*,##
Day 7-14	-0.28±0.74	-0.42±0.89	0.28±0.51	1.82±1.01**,##,\$\$	1.58±0.43**,##,\$\$
Day 14-21	-0.10±1.11	0.60±0.94	0.72±1.33	0.70±1.32	1.70±0.83*
Day 21-27	-0.84±1.27	1.60±0.67*	1.64±1.67*	1.88±1.57*	2.42±1.04**
Total(a)	-3.16±1.68	-0.40±2.17	1.08±1.35**	2.88±1.22**,#	4.04±0.56**,##,\$\$

Values are Mean±SD (g), Day : days after treatment of test materials, a) : Total body weight gains during experimental periods(Day 0-28), * : $p<0.05$ compared to that of Control, ** : $p<0.01$ compared to that of Control, # : $p<0.05$ compared to that of Doxo, ## : $p<0.01$ compared to that of Doxo, \$\$: $p<0.01$ compared to that of BJDC

Table 5. Changes of Food Consumption after Doxorubicin, Bojungikkeehapdaechilkitang and their Concomitant Treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Control	Doxo	BJDC	Mix50	Mix100
Day 7	2.42±0.91	2.36±0.50	2.84±0.34	3.08±0.48#	3.22±0.41#
Day 14	1.80±0.62	1.84±0.46	2.40±0.40	2.74±0.23*,##	3.44±0.47**,##,\$
Day 21	1.70±0.45	1.64±0.48	2.52±0.19*,##	2.96±0.24**,##,\$	3.94±0.27**,##,\$\$
Day 27	1.86±0.35	1.66±0.40	2.42±0.31*,#	3.18±0.36**,##,\$\$	4.08±0.34**,##,\$\$
Total(a)	7.78±1.16	7.50±0.91	10.18±0.36**,##	11.96±0.43**,##,\$\$	14.68±0.69**,##,\$\$

Values are Mean±SD (g), Day : days after treatment of test materials, a) : Sum of food consumption during 4 times, * : $p<0.05$ compared to that of Control, ** : $p<0.01$ compared to that of Control, # : $p<0.05$ compared to that of Doxo, ## : $p<0.01$ compared to that of Doxo, \$: $p<0.05$ compared to that of BJDC, \$\$: $p<0.01$ compared to that of BJDC

Table 6. Clinical Signs Observed after Doxorubicin, *Bojungikkeehapdaechilkitang* and their Concomitant Treatment in Colon-26-implanted Mouse Model (Group Summary).

Group ID	Control	Doxo	BJDC	Mix50	Mix100
No of animal ^{a)}	5	5	5	5	5
Normal	0	0	1	1	2
% ^{b)}	0	0	20	20	40
Ataxia	5	5	3	3	3
%	100	100	60	60	60
Severity	4+	2+	2+	2+	1+
Dehydration	5	5	3	2	2
%	100	100	60	40	40
Severity	3+	3+	3+	2+	2+
Anorexia	5	5	2	2	2
%	100	100	40	40	40
Severity	4+	3+	2+	1+	1+

a) : Total numbers of animal observed, b) : Percentage vs total observed animal numbers

Table 7. Changes of Relative Tumor Weight and Inhibition Rate after Doxorubicin, *Bojungikkeehapdaechilkitang* and their Concomitant Treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Relative weight ^{a)}	Inhibition rate ^{b)}
Control	7.71±2.32	Not Calculated
Doxo	3.02±0.49**	57.52±16.02
BJDC	6.84±2.81##	11.65±19.30#
Mix50	2.06±0.26***,##,\$	70.77±10.51\$\$
Mix100	1.54±0.20***,##,\$\$	77.83±10.15##,\$\$

Values are Mean±SD (%), a) : Relative tumor weights(%) = (wet tumor weight/body weight at sacrifice) × 100, b) : Inhibition rate (%) = {1 - (tumor relative weight of test material treated-groups / tumor relative weight of control)} × 100, * : p<0.05 compared to that of Control, ** : p<0.01 compared to that of Control, # : p<0.05 compared to that of Doxo, ## : p<0.01 compared to that of Doxo, \$: p<0.05 compared to that of BJDC, \$\$: p<0.01 compared to that of BJDC

Colon-26 이식 후 Doxo 군에서는 대조군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 종양 체적의 감소가 인정되었다. BJDC 군에서는 대조군에 비해 감소된 종양 체적을 나타내었으나, 유의성은 인정되지 않았고 Doxo 군에 비해서는 유의성 있는($p<0.01$) 증가를 나타내었다. 그러나 Mix50 군에서는 대조군, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 종양 체적의 감소가 관찰되었고, 또한 Mix100 군에서도 대조군, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 각각 유의성 있는($p<0.01, p<0.05, p<0.01$) 종양 체적의 감소가 인정되었다(Table 8).

2) 습체적에 대한 성장 억제율

Doxo 군에서는 대조군에 비해 $35.19\pm14.61\%$ 의 종양 체적에 대한 성장 억제율을 나타내었으나, BJDC 군에서는 $13.26\pm19.88\%$ 의 억제율이 관찰되

었다. 한편 Mix50 군에서는 $55.09\pm11.58\%$ 의 종양 체적에 대한 억제율이 인정되어 Doxo 군에 비해 유의성 있는($p<0.05$) 억제율의 증가를 나타내었으며, Mix100 군에서는 $74.26\pm9.14\%$ 의 종양 체적에 대한 성장 억제율이 관찰되어, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 종양 체적에 대한 억제율의 증가가 인정되었다(Table 8).

8. 총백혈구수의 변화

총 백혈구 수는 Doxo 군에서는 대조군에 비해 유의성 있는($p<0.05$) 감소를 나타낸 반면 BJDC 군에서는 대조군 및 Doxo 군에 비해 유의성 있는($p<0.05, p<0.01$) 총 백혈구 수의 증가를 나타내었다. 또한 Mix50 군에서는 대조군, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 각각 유의성 있는($p<0.01, p<0.01, p<0.05$) 백혈구수의 증가가 인정되었으며, Mix100 군에서도 대조군,

Table 8. Changes of Tumor Volume and Inhibition Rate after Doxorubicin, Bojungikkeehapdaechilkitang and their Concomitant Treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Tumor volume(mm^3) ^{a)}	Inhibition rate(%) ^{b)}
Control	1579.25 \pm 304.93	Not Calculated
Doxo	994.12 \pm 112.24**	35.19 \pm 14.61
BJDC	1327.46 \pm 157.02##	13.26 \pm 19.88
Mix50	688.74 \pm 121.03***.##,\$\$	55.09 \pm 11.58%,\$\$
Mix100	386.85 \pm 85.04***.##\$\$	74.26 \pm 9.14###,\$\$

Values are Mean \pm SD (mm^3 or %), a) : Wet tumor volume(mm^3) = $1/2 \times a \times b^2$ [a : long axis(mm); b: short axis(mm)], d) : Inhibition rate(%) = {1- (tumor wet volume of test material treated-groups / tumor wet volume of control) } \times 100, * : $p < 0.05$ compared to that of Control, ** : $p < 0.01$ compared to that of Control, # : $p < 0.05$ compared to that of Doxo, ## : $p < 0.01$ compared to that of Doxo, \$: $p < 0.05$ compared to that of BJDC, \$\$: $p < 0.01$ compared to that of BJDC

Table 9. Changes of Blood Total WBC and lymphocyte Numbers after Doxorubicin, Bojungikkeehapdaechilkitang and their Concomitant Treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Total WBC number ^{a)}	Lymphocyte number ^{b)}
Control	4.80 \pm 1.48	11.20 \pm 1.79
Doxo	1.72 \pm 0.94*	6.00 \pm 1.00**
BJDC	7.20 \pm 1.30*.##	18.60 \pm 1.82**.##
Mix50	9.40 \pm 1.14***.##,\$	21.40 \pm 1.14***.##,\$
Mix100	12.20 \pm 1.92**.##,\$\$	25.60 \pm 3.44***.##,\$

Values are Mean \pm SD (%), a) : Relative tumor weights(%) = (wet tumor weight/body weight at sacrifice) \times 100, b) : Inhibition rate (%) = {1- (tumor relative weight of test material treated-groups / tumor relative weight of control) } \times 100, * : $p < 0.05$ compared to that of Control, ** : $p < 0.01$ compared to that of Control, # : $p < 0.05$ compared to that of Doxo, ## : $p < 0.01$ compared to that of Doxo, \$: $p < 0.05$ compared to that of BJDC, \$\$: $p < 0.01$ compared to that of BJDC

Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 백혈구수의 증가를 나타내었다(Table 9).

고찰

9. 임파구수의 변화
도말표본 단위 mm^3 당 출현하는 임파구의 총수는 Doxo 군에서는 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 감소를 나타낸 반면, BJDC 군에서는 대조군과 Doxo 군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 임파구수의 증가를 나타내었다. 또한 Mix50 군에서는 대조군, Doxo 및 BJDC 군에 비해 각각 유의성 있는($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.05$) 임파구수의 증가가 인정되었으며 Mix100 군에서도 대조군, Doxo 및 BJDC 군에 비해 각각 유의성 있는($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.05$) 임파구수의 증가가 인정되었다(Table 9).

악성종양, 즉 암종이란 인체 내에서 비정상 세포가 생체 기능에 불필요하게 증식하여 인접 조직을 파괴하거나 내분비적, 화학적 장애를 일으키고 다른 부위 까지 암세포가 옮겨가서 증식하는 능력을 가진 질환군을 말한다²⁴⁻⁵⁾.

Doxorubicin은 anthracycline계열의 항생제로, 유방암종(breast carcinoma) 및 소형 폐암(small cell carcinoma) 등의 치료에 주요 약물로 사용되고 항암치료의 거의 모든 화학요법에 포함되는 약물로 알려져 있다⁷⁾. 그러나 doxorubicin은 심한 독성 특히 심장독성(cardiotoxicity)을 나타내²⁶⁾ 이로 인해 그 탁월한 효과에도 불구하고 doxorubicin의 임상적 사용이 극히 제한되고 있다. 따라서 그 사용량을 줄이기 위한 노력으로 doxorubicin의 독성을 완화시킬 수 있는 다른 약과의 병용이나 어느 정도 항암효과를 가지고 있는 약물과의 병용 요법이 끊임없이 연구되고 있다

27-9.

암의 한의학적 치법은 痘因 · 痘位 · 性質 및 환자의 臟腑 · 陰陽 · 氣血의 虛實에 따라 益氣健脾, 滋陰補血, 養血生津 및 溫補脾腎 등을 위주로 하는 扶正培本法, 行氣理血, 活血化瘀, 清熱利濕, 軟堅散結하는 攻邪法, 그리고 이 두 가지 방법을 동시에 사용하는 扶正祛邪法으로 요약할 수 있다^[10-1].

이중 扶正祛邪法에 대하여 張^[30]과 李^[31]는 “養正則積自除”라 하여 扶正의 방법으로 積을 없애는 방법을 論하였고 《東醫寶鑑》^[12]에서는 이를 종합, 當先補虛하여 氣血이 壯해지면 積이 저절로 없어진다고 보고 《萬病回春》^[20]을 인용, 積聚의 치료에 補中益氣湯에 三棱, 蓬朮, 青皮, 香附子, 桔梗, 蕃香, 益智仁, 肉桂의 大七氣湯을 加하여 사용하였다.

본 실험에 사용된 補中益氣合大七氣湯은 《東醫寶鑑》^[12]과 《濟衆新編 · 積聚門》^[21]의 ‘養正積自除’에 기재되어 있으며, 《廣濟秘笈》의 養正除積湯^[32]과 비교하면 본 처방에 祛柴胡 升麻, 加生薑, 大棗 한 차이만 있는 유사한 처방으로 積聚 치료의 扶正祛邪法으로 많이 활용되었음을 알 수 있다.

Colon-26은 BALB/c 마우스에서 유래된 직장 carcinoma cell로서 항암제 약효 시험에 가장 널리 사용되는 설치류 유래의 세포주 중의 하나^[33-4]로 doxorubicin은 Colon-26 세포에 대해 비교적 강한 성장 억제효과를 나타내는 것으로 알려져 있다^[35-6].

본 연구에서도 doxorubicin 단독 투여군에서 강한 성장 억제 효과가 MTT 방법으로 입증되어 이전의 보고들^[35-6]과 유사하게 관찰되었으나, 補中益氣合大七氣湯 추출물을 단독 처리한 군에서는 미약한 성장 억제 효과만이 인정되었다. 그러나, doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯 추출물을 병용 처리한 경우에는 병용 처리한 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량의 증성으로 doxorubicin의 항암효과가 유의성 있게 증가되는 것으로 관찰되어 Colon-26에 대해 補中益氣合大七氣湯 추출물과 doxorubicin이 서로 상승 효과를 나타내는 것으로 생각된다.

일반적으로 종양이 생체 내에 존재하면 현저한 식욕부진과 함께 탈수 증상이 수반되며 이로 인한 만

성적인 체중감소가 초래되므로 종양은 만성 악액질 성 질환으로 분류된다^[23].

본 연구의 결과 종양 이식 후 현저한 체중 감소가 대조군과 doxorubicin 단독 투여군에서 관찰되었으며, 이와 함께 운동실조, 탈수 및 식욕부진 소견이 인정되었다. 그러나 이러한 체중 및 임상증상의 정도가 補中益氣合大七氣湯 추출물 투여군에서는 대조군 및 doxorubicin 단독 투여군에 비해 경감되어 補中益氣合大七氣湯 추출물이 Colon-26 세포의 이식에 의해 초래되는 체중의 감소 및 임상증상을 경감시키는 것으로 관찰되었다. 또한 사료 섭취량 역시 補中益氣合大七氣湯 추출물 투여에 의해서 증가되는 것으로 관찰되어 종양 세포의 이식에 따른 체중 감소가 억제되는 것으로 관찰되었다. Doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯 추출물 병용 투여군에서는 이러한 체중 변화, 사료 섭취량의 변화 및 임상증상들이 병용한 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량의존적으로 경감되었다.

Doxorubicin은 Colon-26 세포를 이식한 동물모델에서도 강력한 종양 성장억제 효과가 인정되고 있는데^[37-8] 본 연구에서도 이전의 보고들과 유사하게 doxorubicin의 비교적 강한 항암효과가 Colon-26을 이식한 모델에서 확인되었으나, 補中益氣合大七氣湯 투여군에서는 종양 체적 및 중량, 그리고 억제율에서 대조군에 비해 약한 활성만 인정되어 補中益氣合大七氣湯 자체는 Colon-26 이식 마우스에서 항암효과를 나타내지 않는 것으로 관찰되었다. 그러나 doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯 추출물을 병용 처리한 경우 병용 처리한 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량의존적으로 종양 중량과 체적이 유의성 있게 감소되고 각각의 억제율 또한 유의성 있게 증가되는 것으로 관찰되어, Colon-26 이식 모델에서 補中益氣合大七氣湯 추출물과 doxorubicin이 상승 효과를 나타내는 것으로 생각된다.

일반적으로 종양이 존재할 경우 총 백혈구 수와 임파구 수는 다소 감소되는데^[23], 특히 doxorubicin과 같은 항암제 치료 시 더욱 현저히 감소되는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서도 doxorubicin 단독 투여군에서는 현저한 백혈구 및 임파구의 감소가 초래되었다. 그러나 補中益氣合大七氣湯 추출물 투여군에서는 종양을 이식한 모든 모델에서 대조군에 비해 유의성 있는 백혈구 및 임파구의 증가가 관찰되어 補中益氣合大七氣湯 자체가 종양 이식에 따른 골수억압 현상을 경감시키는 것으로 관찰되었으며, 특히 doxorubicin과 병용 투여군에서는 투여한 補中益氣合大七氣湯 추출물 용량의 존적으로 총 백혈구 및 임파구의 증가가 관찰되어 doxorubicin에 의한 백혈구 감소증이 경감되는 것으로 관찰되었다. 따라서 doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯의 병용은 효과적인 상승 효과를 초래할 것으로 기대되었다.

이상의 연구결과를 종합해 보면 補中益氣合大七氣湯 추출물 자체의 항암효과는 낮은 것으로 평가되었으나 補中益氣合大七氣湯 추출물의 투여로 악액질성 증상이 경감되었으며 백혈구 수의 증가와 같은 면역력 증가 효과가 인정되어 doxorubicin에 의해 초래되는 독성을 경감시키는 것으로 관찰되었고, 항암효과 역시 강한 상승 효과를 나타내는 것으로 관찰되어 기존의 항암제와 한약처방을 병용 투여하면 항암제의 부작용 감소와 함께 항암효과의 상승을 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

補中益氣合大七氣湯의 항암효과를 평가하고 doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯의 병용효과를 관찰하기 위하여 대장암(Colon-26)에 대한 항암효과를 *In Vitro* 및 *In Vivo* 적인 방법을 통해 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- IC, IC₅₀ 및 IC₉₀을 MTT 방법으로 측정한 결과 doxorubicin은 Colon-26에 대하여 강한 발육 억제 효과를 나타내었으나, 補中益氣合大七氣湯 자체는 미약한 발육 억제효과를 나타내었으며, 병용 처리군에서는 補中益氣合大七氣湯의 용량의 존적으로 종양 발육을 유의성 있게 억제하였다.
- 암세포주를 이식시킨 마우스 모델에서 체중, 중

체량 및 사료섭취량은 일부기간을 제외하고 doxorubicin 투여군에서는 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고, 補中益氣合大七氣湯 투여군에서는 대조군 및 doxorubicin 투여군에 비해 유의성 있게 증가되었으며, 병용 투여군에서는 補中益氣合大七氣湯의 용량의 존적으로 유의성 있게 증가되었다.

- 암세포주 이식 후 악액질성 임상 증상이 모든 실험군에서 관찰되었으나, 이러한 증상을 나타내는 동물의 수 및 정도는 병용 투여군, 補中益氣合大七氣湯 투여군, doxorubicin 투여군 순으로 경감되었으며, 특히 병용 투여군에서는 투여한 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량의 존적으로 경감되었다.
- 암세포주를 이식시킨 마우스 모델에서 종양의 중량과 체적은 doxorubicin 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고 종양 억제율은 증가되었으나, 補中益氣合大七氣湯 투여군에서는 대조군과 유사한 수치를 나타내었다. 한편 병용 처리군에서는 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량의 존적으로 유의성 있는 종양 중량 및 체적의 감소와 이들에 대한 억제가 관찰되었다.
- 총 백혈구수와 임파구수의 경우, doxorubicin 처리군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 관찰된 반면, 補中益氣合大七氣湯 투여군에서는 대조군 및 doxorubicin 투여군에 비해 유의성 있는 증가가 인정되었다. 또한 병용 처리군에서는 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량의 존적으로 유의성 있는 총 백혈구수와 임파구수의 증가가 관찰되었다.

참고문헌

- 崔昇勳. 東醫腫瘍學. 1. 서울:행림출판. 1995:13-5.
- 서울대학교 의과대학. 종양학. 3. 서울:서울대학교출판부. 1992: 1-3, 137-43, 225-34.
- 박경희. 건강검진을 통한 암의 발견과 암표지자의 암선별검사로서의 유용성. 서울대학교 보건대학원.

- 2002.
4. 최용준. 건강생활년을 이용한 우리 나라 주요 암 질환의 질병부담 측정. 서울대학교 의과대학원. 2002.
 5. Neale MH, Lamont A, Hindley A, Kurbacher CM, Cree IA. The ex vivo effect of high concentrations of doxorubicin on recurrent ovarian carcinoma. *Anticancer Drugs*. 2000;11(10):865-71.
 6. Patel SR. New agents in the treatment of soft-tissue sarcomas. *Expert Opin Investig Drugs*. 2000;9(7):1545-51.
 7. Sun X, Zhou Z, Kang YJ. Attenuation of doxorubicin chronic toxicity in metallothionein-overexpressing transgenic mouse heart. *Cancer Res*. 2001;61(8):3382-7.
 8. Kirana C, McIntosh GH, Record IR, Jones GP. Antitumor activity of extract of *Zingiber aromaticum* and its bioactive sesquiterpenoid zerumbone. *Nutr Cancer*. 2003;45(2):218-25.
 9. 공현식, 유봉하, 박동원, 유기원. 韓國韓醫學의 腫瘍研究에 對 한 現況. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995;1(1):55-81.
 10. 孫彰奎, 趙鍾寬. 癌治療에 있어서 扶正祛邪法의 運用에 關한 考察. 大韓韓方內科學會誌. 1995;16(2):30-5.
 11. 鄭鍾美, 趙鍾寬. 現代 中國의 癌治療 研究 現況 大韓韓方內科學會誌. 1995;16(2):9-16.
 12. 許浚. 東醫寶鑑. 4. 서울:大星文化社 1992:172, 176-7, 179.
 13. 임성우. 한약을 이용한 항암 실험 연구의 경향과 연구 방향. 대한한방내과학회지. 1401;22(1):73-8.
 14. 金相贊, 金先熙, 盧昇鉉, 朴宣東, 卞晟僖, 徐富一 等. 方劑學. 改正增補版. 서울:圖書出版 永林社. 1999:279-80.
 15. 은재순, 최훈, 송정모. 補中益氣湯이 생쥐의 특이적 면역반응에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2002;16(5):943-7.
 16. 김호현, 김동환. 補中益氣湯 合 香砂六君子湯이 복수 암 유발 생쥐 비장의 세포성 면역활성에 미치는 영향에 관한 면역조직화학적 연구. 세명대학교 한의학 연구소 논문집. 2001;3:17-32.
 17. 하지용, 정병역, 이선구, 유병길. 大七氣湯이 抗癌, 免疫調節作用 및 apoptosis에 미치는 影響. 동의생리병리학회지. 2001;15(1): 111-24.
 18. 禹弘楨, 李長勳, 金榮哲. 大七氣湯의 抗癌效果에 關한 研究. 大韓韓方內科學會誌. 1999;29(2):182-95.
 19. 김선희, 김상찬, 최종백. 腫瘍의 治法에 關한 實驗的 研究. 大韓方劑學會誌. 1997;5(1):127-45.
 20. 龔廷賢. 國譯 萬病回春. 서울:癸丑文化社. 1984:302-3.
 21. 康命吉. 濟衆新編. 서울:杏林書院. 1982:184.
 22. Masse A, Ramirez LH, Bindoula G, Grillon C, Wdzieczak-Bakala J, Raddassi K, Deschamps de Paillette E, Mencia-Huerta JM, Koscielny S, Potier P, Sainteny F, Carde P. The tetrapeptide acetyl-N-Ser-Asp-Lys-Pro (Goralatide) protects from doxorubicin-induced toxicity: improvement in mice survival and protection of bone marrow stem cells and progenitors. *Blood*. 1998;91(2):441-9.
 23. Sodikoff CH. Laboratory profiles of small animal diseases. A guide to laboratory diagnosis. 2nd ed. St. Louis:Mosby-Year Book Inc. 1995.
 24. 金光湖, 南喆鉉, 李起男, 李仙童, 蘇敬順, 康坼林 等.豫防醫學과 保健學. 2. 서울:癸丑文化社. 1998:329.
 25. 대한병리학회. 병리학. 3. 서울:고문사. 1998:201.
 26. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, Davis HL Jr, Von Hoff AL, Rosenzweig M, Muggia FM. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med*. 1979;91(5):710-7.
 27. Zhang DY, Wu J, Ye F, Xue L, Jiang S, Yi J, Zhang W, Wei H, Sung M, Wang W, Li X. Inhibition of cancer cell proliferation and prostaglandin E2 synthesis by *Scutellaria baicalensis*. *Cancer Res*. 2003;63(14):4037-43.
 28. Chang HC, Huang YC, Hung WC. Antiproliferative and chemopreventive effects of adlay seed on lung cancer in vitro and in vivo. *J Agric Food Chem*. 2003;51(12):3656-60.
 29. Malik A, Azam S, Hadi N, Hadi SM. DNA degradation by water extract of green tea in the presence of copper ions: implications for anticancer properties. *Phytother Res*. 2003;17(4):358-63.
 30. 張子和. 儒門事親. 1. 臺北:旋風出版社. 1977:157.
 31. 李梴. 醫學入門. 1. 서울:大星文化社. 1990:146.
 32. 李景華. 廣濟秘笈. 1. 서울:麗江出版社. 1994:155.
 33. Naoe Y, Kawamura I, Inami M, Matsumoto S, Nishigaki F, Tsujimoto S, Manda T, Shimomura K. Anti-cachectic effect of FK317, a novel anti-cancer

- agent, in colon26 and LX-1 models in mice. *Jpn J Cancer Res.* 1998;89(12):1318-25.
34. Yamamoto N, Kawamura I, Nishigaki F, Tsujimoto S, Naoe Y, Inami M, Elizabeth L, Manda T, Shimomura K. Effect of FR143430, a novel cytokine suppressive agent, on adenocarcinoma colon26- induced cachexia in mice. *Anticancer Res.* 1998;18(1A):139-44.
35. Watanabe T, Tsuge H, Oh-Hara T, Naito M, Tsuruo T. Comparative study on reversal efficacy of SDZ PSC 833, cyclosporin A and verapamil on multidrug resistance in vitro and in vivo. *Acta Oncol.* 1995;34(2):235-41.
36. Nakanishi O, Baba M, Saito A, Yamashita T, Sato W, Abe H, Fukazawa N, Suzuki T, Sato S, Naito M, Tsuruo T. Potentiation of the antitumor activity by a novel quinoline compound, MS-209, in multidrug-resistant solid tumor cell lines. *Oncol Res.* 1997;9(2):61-9.
37. Lee CW, Hong DH, Han SB, Jung SH, Kim HC, Fine RL, Lee SH, Kim HM. A novel stereo-selective sulfonylurea, 1-[1-(4-aminobenzoyl)-2,3-dihydro -1H-indol-6-sulfonyl]-4-phenyl-imidazolidin-2-one, has antitumor efficacy in in vitro and in vivo tumor models. *Biochem Pharmacol.* 2002;64(3):473-80.
38. Iigo M, Nishikata K, Nakajima Y, Araki E. Effects of antitumor agents on subcutaneous implants and hepatic metastases of colon carcinoma 26 in mice. *Jpn J Cancer Res.* 1992;83(4):397-401.