

保肺養營煎이 Urethane으로 誘發된 A/J mouse의 폐암에 미치는 影響

서철훈, 김희철

동신대학교 한의과대학 내과학교실

ABSTRACT

Effect of Bopheyangyoungjeon on the Lung Tumor of A/J Mouse Induced with Urethane

Chul-Hoon Seo, Hee-Chul Kim

Dept. of Oriental Medicine

Graduate School of Dongshin University

A/J mice injected with urethane(1mg/g of body weight) develop tumors with distinct histological patterns, which are classified as solid and papillary. I divided the mice into 3 groups; control group treatment with saline, BYA group treatment with herbal formula, Bopheyangyoungjeon 0.3g/kg and BYB groups treatment with herbal formula 1.5g/kg. The administration of herbal medicine was done every day for 56 days. The experimental results from herbal medicine treatment were compared to those from a saline-treated control group.

Serial sections of the whole lung(150 to 200 sections per mouse) showed solid and papillary tumors arose from the pulmonary acinus, invading the bronchioles only as the tumors grew. The number of tumor, in the 8-weeks groups, are decreased in the

교신저자: 김희철

전남 목포시 상동 834 동신대학교 부속 목포한방병원

Tel: (061) 280-7900

Fax: (061) 280-7788

E-mail: caesarjj7900@hanmail.net

접수 : 2005/ 11/ 17 채택 : 2005/ 11/ 25

experimental groups compared to control group. COX-2 protein and IGF- I protein expression was more increased in lung tumors of the control group compared to BYA and BYB groups.

These results suggest that Bopheyangyoungjeon extract suppress the carcinogenesis of lung in the A/J mouse.

Key Word : Bopheyangyoungjeon, lung tumor, urethane

I. 서론

폐암은 현재 가장 급속히 증가하고 있는 악성 종양이며, 주요 증상은 기침, 체중 감소, 호흡곤란, 흉통, 견갑통, 골통, 두통, 간질발작, 신 목소리, 각혈, 곤봉지 등으로 다양한데 이러한 증상이 일반적인 호흡기계 질환과 유사하기 때문에 조기진단이 늦어져 치료시기를 놓치는 경우가 많다¹⁻⁴.

韓醫學에서는 폐암이라는 직접적인 언급 대신 咳嗽, 胸痛, 咯血, 體重減少, 發熱, 胸悶, 氣短 등의 主要 임상증상을 나타내는 질환에 대하여 《黃帝內經》⁵에서 “帝曰 病脅下有滿 氣逆 二三歲不已 是爲何病, 岐伯曰 病名曰 息積”이라 하는 등 주로 肺癰, 肺積, 息賁, 肺疽 등의 範疇로 파악하고 있다⁵⁻¹⁶.

保肺養營煎은 金의 《晴崗醫鑑》¹⁷에 最初로 記錄된 處方으로, 乾地黃, 白芍藥, 沙蔘, 當歸, 麥門冬, 白茯苓, 橘皮, 貝母, 桔梗, 杏仁, 五味子, 甘草, 生薑, 大棗로 구성되어 있으며, 淸熱祛痰과 滋補津液하여 喘息 및 慢性咳嗽를 비롯한 呼吸器障碍를 改善할 目的으로 臨床에서 多用되는 處方으로, 肺虛하여 虛熱로 인한 痰嗽가 그치지 않고 津液이 枯渴하여 身乾口燥하는 등의

症狀에 應用되어 왔으며, 실험적 연구를 통하여 이¹⁸는 氣管支平滑筋張力과 염증 및 免疫反應에 있어 유의한 효과가 있었음이 보고되었다.

기존의 폐암에 대한 실험적 연구를 통하여 그 치료효과를 검증하는 보편적인 방법으로 Urethane(ethyl carbamate; NH₂·COOEt)을 이용하는데 urethane은 생체 내에서 alkylation을 일으켜 염색체에 손상을 주고 변이를 유도하며, 여러 장기에 암 발생을 촉진하는 것으로 알려져 있으며^{19,20}, 특히 다른 장기보다 주로 폐에 종양을 일으키므로 변연부에 위치한 폐종양 발생 과정을 추적 관찰하는 실험적 모델에 자주 이용되었다²¹⁻²⁴.

폐암에 있어서 抗癌 및 免疫學的 研究로는 이 등²⁵이 폐암세포 이식 마우스에 瓊玉膏 및 瓊玉膏 加味方을 투여하여 抗腫瘍效果가 나타난다고 보고하였고, 강 등²⁶이 桔梗 추출물의 처리에 의한 폐암세포의 증식억제가 세포분열기로의 진행 억제와 연관된 apoptosis유발과 연관이 있다고 보고하였으며, 강 등²⁷이 潤肺散 투여에 의한 폐암세포 증식억제기전에 관한 연구를 보고하였고, 최 등²⁸이 抗癌丹이 抗癌 및 免疫增進 목적으로 활용가능하다는 보고를 하였으나, 保肺養營煎이 폐암에 미치는 영향

에 관한 실험적 연구는 접하지 못하였다.

이에 저자는 保肺養營煎이 폐암에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 하여 保肺養營煎을 투여한 경우에 urethane으로 유발된 폐암에 대하여 체중의 변화, 혈액학적 변화, 육안적 관찰, 광학현미경 관찰, 종양의 개수 및 크기 측정, 면역조직화학적 검색을 하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

체중 26g 내외의 6주령 생쥐(A/J strain)를 다물사이언스(주)로부터 구입한 후 동신대학교 한의과대학 동물사육실에서 일정한 조건(온도 : $21 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 : 50-60%)으로 1주 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 保肺養營煎의 조성 및 약물 추출

실험에 사용한 약재는 동신대학교 부속 한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였다.

保肺養營煎의 구성은 《東新大學校附屬韓方病院處方集》에 準하였다. 保肺養營煎 1貼分量은 다음과 같다.

Prescription of Bopheyangyoungjeon

構成藥物	生藥名	用量(g)
乾地黃	<i>Rhizoma Rehmanniae</i>	5.625
白芍藥	<i>Radix Paeoniae Lactiflorae</i>	5.625
沙蔘	<i>Radix Adenophorae</i>	5.625
當歸	<i>Radix Angelicae Gigagantis</i>	3.750
麥門冬	<i>Radix Ophiopogonis</i>	3.750
白茯苓	<i>Poria</i>	3.750
橘皮	<i>Pericarpium Citri Nobilis</i>	3.750
貝母	<i>Bulbus Fritillariae</i>	3.750
桔梗	<i>Radix Platycodi</i>	3.750
杏仁	<i>Semen Armeniacaf</i>	3.750
五味子	<i>Fructus Schizandrae</i>	2.625
甘草	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	1.875
生薑	<i>Rhizoma Zingiberis</i>	3.750
大棗	<i>Fructus Zizyphi Jujubae</i>	3.000
總計		54.375

保肺養營煎 2貼을 물 500mL에 넣고 약탕기로 3시간 동안 가열한 다음 동결건조(Samwon, SFDSMO06, 한국)하여 18.8g의 건조 분말을 얻었다.

2. 방법

1) 폐암 유발

실험에 사용한 모든 생쥐는 정상적인

사육환경에서 1주 이상 적응시킨 후 0.9% 식염수에 용해된 urethane(Sigma Chemical Co., St Louis, MO) 1mg/g of body weight을 복강 투여하였다. 투여한 14주 후에 실험동물 3마리를 pentobarbital sodium(500mg/kg)을 복강 투여하여 마취한 다음 흉곽을 열고 폐암이 유발되었음을 육안으로 확인하였다.

2) 실험군 설정 및 약물 투여

대조군 생쥐는 폐암이 유발된 후 생리 식염수 0.1mL을 실험기간 동안 매일 구강 투여하였다. 실험군A(이하 BYA)는 건조분말 0.3g/kg을 4주간(이하 BYA4군)과 8주간(이하 BYA8군) 매일 구강 투여하였으며, 실험군B(이하 BYB)는 건조분말 1.5g/kg을 4주간(이하 BYB4군)과 8주간(BYB8군) 매일 구강 투여하였다.

3. 관찰방법

1) 체중 측정

대조군과 실험군의 체중은 2주 간격으로 실험기간 동안 측정하였으며, 체중 측정 12 시간 전에 절식시켰다.

2) 혈액학적 검사

대조군과 실험군의 생쥐는 pentobarbital sodium(500mg/kg)을 복강 투여하여 마취한 다음 흉곽을 열고 심장 채혈을 하였다. 채혈된 혈액은 EDTA bottle에 넣은 다음 곧바로 혈구측정기(K-800, Sysmax, Japan)를 사용하여 white blood cells(WBC), red blood cell(RBC), hematocrit(Hct), platelet를 각각 측정하였다.

3) 육안적 관찰

채혈이 끝난 실험쥐는 완충액을 투여하여 혈액을 제거한 다음 고정액(4% paraformaldehyde)을 투여하여 관류고정하였다. 고정이 끝난 실험쥐의 폐를 카메라(Nikon, Japan)로 촬영하였다.

4) 광학현미경 관찰

생쥐의 폐 조직을 적출하여 10%의 포르말린을 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음, 30, 50, 70, 80, 90, 95, 100 I, 100II와 같이 알코올 농도를 상승시켜 탈수를 한 다음 xylene으로 투명화 과정을 거친 후 paraffin으로 포매 하였다. 포매된 조직은 microtome을 사용하여 5 μ m 두께로 절편 하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 이를 xylene으로 paraffin을 제거한 다음 100%, 90%, 80% ethanol과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담구어 함수과정을 거치게 하였다. Hematoxylin과 Eosin으로 이중염색을 한 다음 탈수를 하였다. Canada balsam으로 봉합한 후 카메라 부착 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

5) 종양의 개수 및 크기의 측정

대조군과 실험군 각각 3마리의 파라핀 블록을 제작한 후 각 블록마다 약 50개의 절편을 연속으로 제작한 다음 각각의 실험군 마다 관찰되는 암조직을 고형종(solid tumor)와 유두종(papillary tumor)으로 구분하여 개수 및 크기를 측정하였다.

6) 면역조직화학 검색

생쥐의 폐 조직을 적출하여 4%의 paraformaldehyde를 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음, paraffin으로 포매한 후 microt

ome을 사용하여 조직을 5 μ m 두께로 절편하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 이를 xylene에서 paraffin을 제거한 다음 100%, 90%, 80% ethanol과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담구어 함수과정을 거치게 하였다. 12시간 후 pH 7.2, 0.1 M의 phosphate buffer saline (PBS, 0.9% NaCl) 용액에 하룻밤 동안 배양시킨 다음 15분간 PBS로 세척한 뒤 10% horse serum을 함유한 blocking solution을 사용하여 20분 동안 배양시키고 다시 PBS용액으로 15분간 세척하였다. 세척한 각각의 조직위에 polyclonal anti mouse COX-2 항체(Cayman Chemical Co.)를 각각 처리하고 습도가 높은 상온의 배양접시에서 2시간 동안 배양시킨 뒤 15분간 PBS용액으로 세척하였다. 그리고 biotinylated anti-mouse IgG를 처리하여 30분간 배양시킨 후 15분간 PBS용액으로 세척하였다. 이를 다시 avidin-biotinylated enzyme complex(ABC) reagent(Vector Lab, CA, USA)를 조직에 처리 30분간 반응시키고 다시 PBS용액에서 15분간 세척하였다.

DAB 발색시약을 조직에 떨어뜨려 2분간 발색시키고 난 후 흐르는 물에 과량의 염색시약을 제거하였다. 물기를 제거한 후

여과시킨 hematoxylin에 20초간 대조염색을 한 다음 통상적인 방법에 따라 표본을 제작하여 카메라 부착 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

4. 통계처리

결과에 대한 통계처리는 SAS(statistical analysis system)program에 의하여 각 실험군 별로 평균치와 표준오차를 계산하였고, p-value가 최소한 0.05이하의 수준에서 유의성을 검정하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 체중의 변화

urethane을 투여하고서 14주가 지난 다음 폐암이 유발을 확인한 다음 保肺養營煎 건조분말을 0.3g/kg을 투여한 BYA군과 1.5g/kg을 투여한 BYB군의 체중을 측정한다. 결과 대조군에서는 전반적으로 8주 동안 증가하였으나, 약물을 투여한 실험군에서는 모두 감소하였다(Fig. 1).

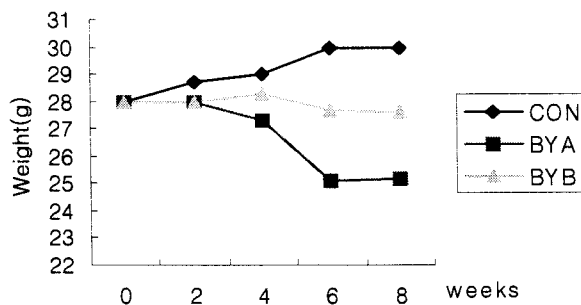


Fig. 1. The changes of body weight during 8 weeks.

Con, control group administered saline; BYA, 0.3g/kg/day administered group during 8 weeks
BYB, 1.5g/kg/day administered group during 8 weeks.

2. 혈액학적 변화

백혈구 수의 변화를 관찰한 결과 4주군에서는 대조군과 실험군 사이의 차이를 관찰할 수 없었다(Fig. 2A). 8주군의 대조군은 4주군에 비하여 백혈구 수가 현저히 감

소하였으나, 약물 투여군에서는 BYA8군과 BYB8군 모두 대조군에 비하여 증가하였으며, 특히 BYB8군에서는 통계적으로 유의성있게 증가하였다(Fig. 2B).

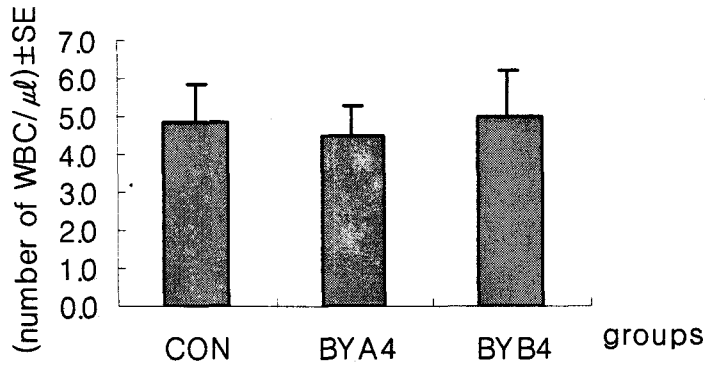


Fig. 2A. The number of WBC from 4 weeks groups.

Con, control group administered saline; BYA4, 0.3g/kg/day administered group during 4 weeks; BYB4, 1.5g/kg/day administered group during 4 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

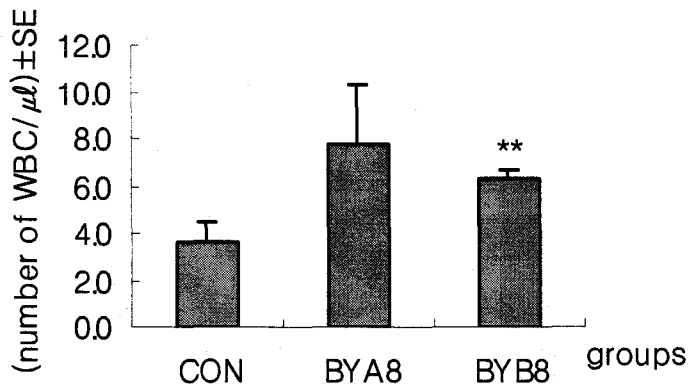


Fig. 2B. The number of WBC from 8 weeks groups.

Con, control group administered saline; BYA8, 0.3g/kg/day administered group during 8 weeks; BYB8, 1.5g/kg/day administered group during 8 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01

적혈구 수의 변화는 4주군에서는 대조군에 비하여 실험군 모두에서 약간 증가하였으나, 통계적인 유의성은 없었다(Fig.

3A). 그러나 8주군에서는 대조군에 비하여 실험군이 적혈구 수가 낮게 나타났으나 통계적인 유의성은 없었다(Fig. 3B).

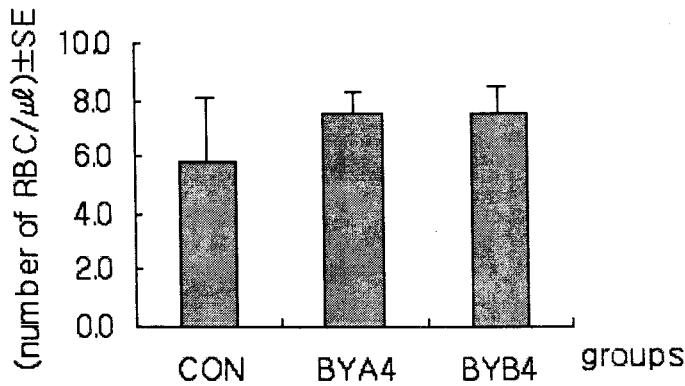


Fig. 3A. The number of RBC from 4 weeks groups.

Con, control group administered saline; BYA4, 0.3g/kg/day administered group during 4 weeks; BYB4, 1.5g/kg/day administered group during 4 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

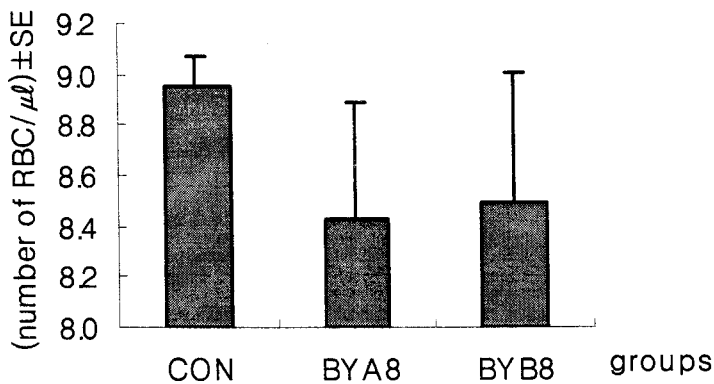


Fig. 3B. The number of RBC from 8 weeks groups.

Con, control group administered saline; BYA8, 0.3g/kg/day administered group during 8 weeks; BYB8, 1.5g/kg/day administered group during 8 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01

적혈구 용적의 변화는 적혈구 수에서와 같이 4주군에서는 대조군에 비하여 실험군에서 모두 증가하였고(Fig. 4A), 8주군

에서는 대조군에 비하여 실험군에서 감소하였으나 통계적인 유의성은 없었다(Fig. 4B).

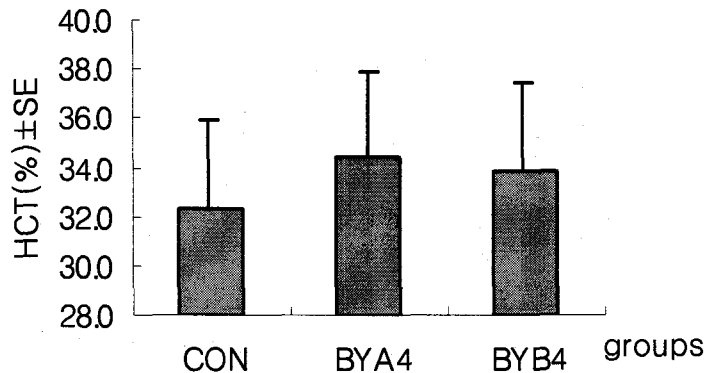


Fig. 4A. The changes of hematocrit from 4 weeks groups.

Con, control group administered saline; BYA4, 0.3g/kg/day administered group during 4 weeks; BYB4, 1.5g/kg/day administered group during 4 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|. Values in the 0.05 and 0.01.

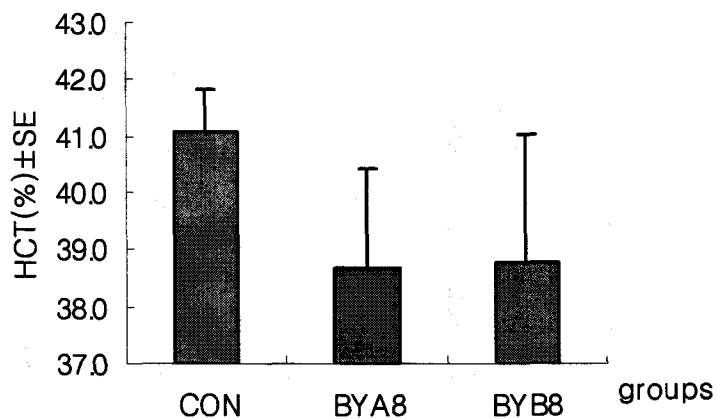


Fig. 4B. The changes of hematocrit from 8 weeks groups.

Con, control group administered saline; BYA8, 0.3g/kg/day administered group during 8 weeks; BYB8, 1.5g/kg/day administered group during 8 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|. Values in the 0.05 and 0.01

혈소판 수의 변화에서 4주군의 대조군 생쥐의 혈소판은 매우 감소하였으나. 실험군에서는 모두 증가하여 통계적으로 유의성있는 차이를 보여주었다(Fig. 5A). 8주

군에서는 대조군에 비하여 실험군에서 다소 높게 관찰되었으나, 큰 차이는 없었다 (Fig. 5B).

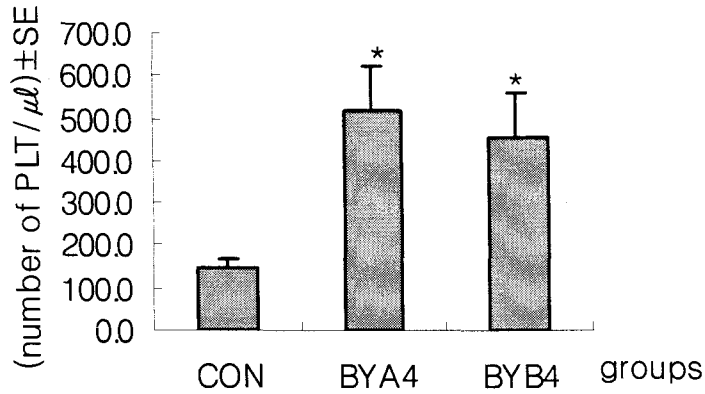


Fig. 5A. The number of platelet from 4 weeks groups.

Con, control group administered saline; BYA4, 0.3g/kg/day administered group during 4 weeks; BYB4, 1.5g/kg/day administered group during 4 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

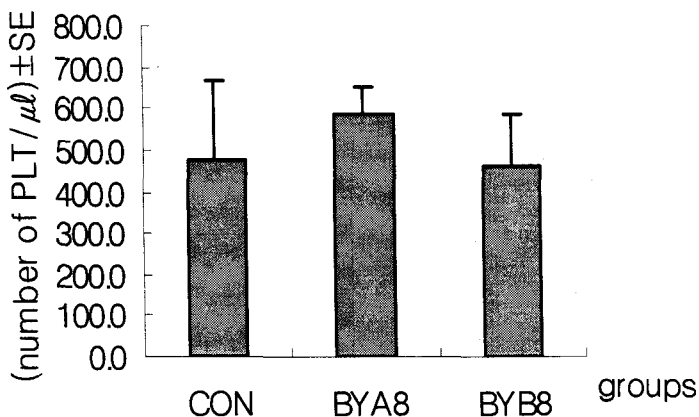


Fig. 5B. The number of platelet from 8 weeks groups.

Con, control group administered saline; BYA8, 0.3g/kg/day administered group during 8 weeks; BYB8, 1.5g/kg/day administered group during 8 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

3. 폐의 육안 관찰

urethane을 투여한 14주 후 A/J 생쥐 3마리를 선택하여 마취를 하고서 흉강을 열고 폐를 육안으로 관찰하였다. 폐의 표면은 전반적으로 울퉁불퉁한 형태를 보여주었으며, 2-3개의 유두종(papillary tumor)을 관찰할 수 있었다(Fig. 6A). 8주 대조군 A/J 생쥐에서는 평균 12-13개의 유두종이 관찰 되었으며 폐의 표면 색상이 고르지 못하였다(Fig. 6B). 保肺養營煎 건조분말 0.3g/kg을 8주간 투여한 실험군(BYA8군, Fig. 6C)와 保肺養營煎 건조분말 1.5g/kg을 8주간 투여한 실험군(BYB8군, Fig. 6D)의 폐의 표면에서도 다수의 유두종이 관찰되었으나 대조군에 비하여 뚜렷하게 관찰 되지 않았다.

4. 폐의 광학현미경 관찰

4주 대조군(Fig. 7A)뿐만 아니라 BYA4군(Fig. 7B)와 BYB4군(Fig. 7C)에서는 다수의 유두종(papillary tumor)과 고형종(solid tumor)이 관찰되었는데 폐의 실질세포에 비하여 hematoxylin과 eosin에 강

한 염색성을 보여주었다. 유두종을 구성하는 암세포의 세포질 염색성은 대조군(Fig. 7a)이 eosin에 대하여 가장 강한 호산성을 보여주었으며 BYA4군(Fig. 7b)는 중등도를, BYB4군(Fig. 7c)이 가장 낮았다.

5. 종양의 개수

4주 군의 대조군에서 관찰되는 유두종의 수는 6 ± 0.71 개였으나, BYA4군(5.3 ± 0.82)과 BYB4군(5.3 ± 1.78)에서는 약 1개 정도 적게 관찰되었다(Fig. 8A). 4주군의 대조군에서 관찰되는 고형종의 수는 7.0 ± 1.87 개로 BYA4군(6.0 ± 1.41)과 BYB4군(6.7 ± 1.47)과 유사하였다(Fig. 8B). 8주 군의 대조군에서 관찰되는 유두종의 수(10.8 ± 1.28)에 비하여 BYA8군(9.7 ± 1.80)과 BYB8군(8.5 ± 1.35)에서 약간 감소하였으나, 통계적으로 유의성은 없었다(Fig. 9A). 8주 군의 고형종의 수 또한 대조군(8.3 ± 1.08)에 비하여 실험군인 BYA8군(5.5 ± 1.35)과 BYB8군(7.2 ± 1.18)에서 암종의 수가 감소하였으나 통계적으로 유의성은 없었다(Fig. 9B).

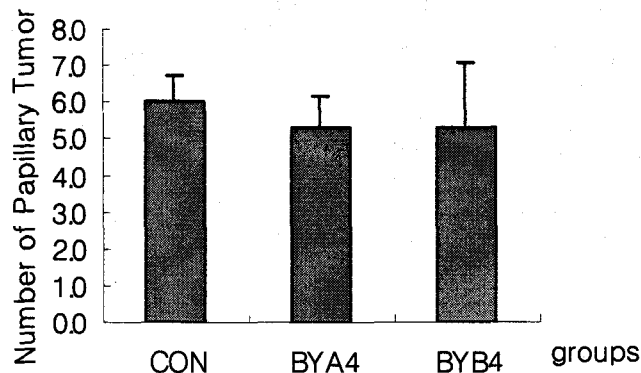


Fig. 8A. Number of papillary tumor from 4 weeks control, BYA4 and BYB4 groups. Con, control group administered saline; BYA4, 0.3g/kg/day administered group during 4 weeks; BYB4, 1.5g/kg/day administered group during 4 weeks; Values are Mean \pm SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

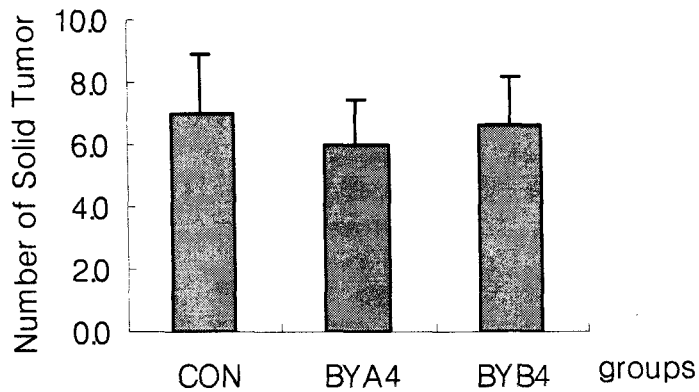


Fig. 8B. Number of solid tumor from 4 weeks control, BYA4 and BYB4 groups.

Con, control group administered saline; BYA4, 0.3g/kg/day administered group during 4 weeks; BYB4, 1.5g/kg/day administered group during 4 weeks; Values are Mean \pm SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

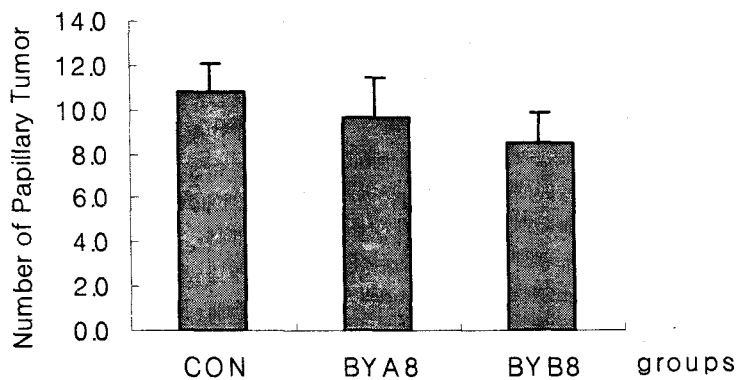


Fig. 9A. Number of papillary tumor from 8 weeks control, BYA8 and BYB8 groups.

Con, control group administered saline; BYA8, 0.3g/kg/day administered group during 8 weeks; BYB8, 1.5g/kg/day administered group during 8 weeks; Values are Mean \pm SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

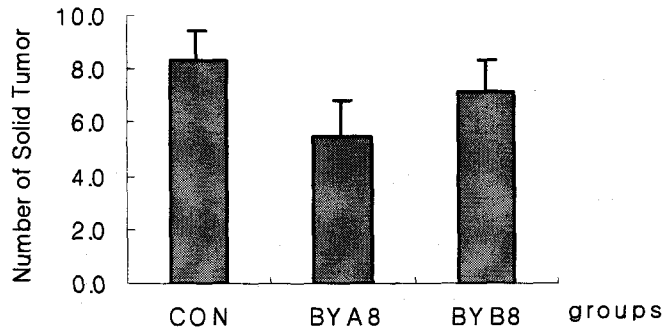


Fig. 9B. Number of solid tumor from 8 weeks control, BYA8 and BYB8 groups.

Con, control group administered saline; BYA8, 0.3g/kg/day administered group during 8 weeks; BYB8, 1.5g/kg/day administered group during 8 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

6. 종양의 크기

4주 대조군 유두종의 평균크기는 1120 μm 로 실험군에 비하여 크게 나타났으나, 치료약물을 고농도로 투여한 BYB4군에서는 가장 작은 크기로 약 820 μm 이었으며 BYA4군은 약 875 μm 이었다(Fig. 10A). 이와 같은 결과는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의성이 있었다. 대조군 고형종의 평균크기는 906 μm 로 가장 크게 관찰되었고, BYB4군은 약 745 μm 로 가장 작았으며, BYA4군은 약 827 μm 로 대조군에 비하여

약간 작게 나타났다(Fig. 10B).

8주 대조군 유두종 평균크기는 1168 μm 이었으며, 약물을 저농도로 투여한 실험군 BYA8군은 약 967 μm 로 가장 작았으며, BYB8군은 약 977 μm 이었다(Fig. 11A). 고형종의 대조군 크기는 약 1138 μm 로 가장 크게 관찰되었고, BYA8군은 610 μm 로 현저히 작게 관찰되었으며, BYB8군은 747 μm 이었다(Fig. 11B). 이와 같은 실험군의 결과는 대조군에 비하여 통계적으로 유의성 있게 감소하였다.

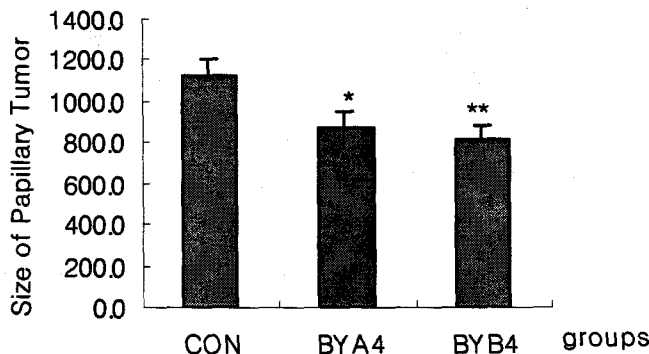


Fig. 10A. Size of papillary tumor from 4 weeks control, BYA4 and BYB4 groups.

Con, control group administered saline; BYA4, 0.3g/kg/day administered group during 4 weeks; BYB4, 1.5g/kg/day administered group during 4 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

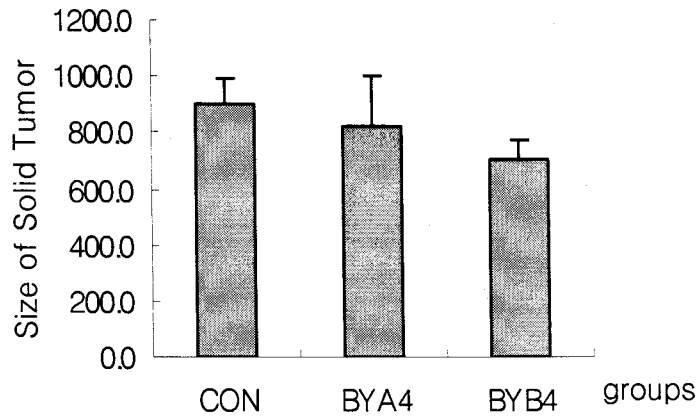


Fig. 10B. Size of solid tumor from 4 weeks control, BYA4 and BYB4 groups.

Con, control group administered saline; BYA4, 0.3g/kg/day administered group during 4 weeks; BYB4, 1.5g/kg/day administered group during 4 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > | T |, Values in the 0.05 and 0.01.

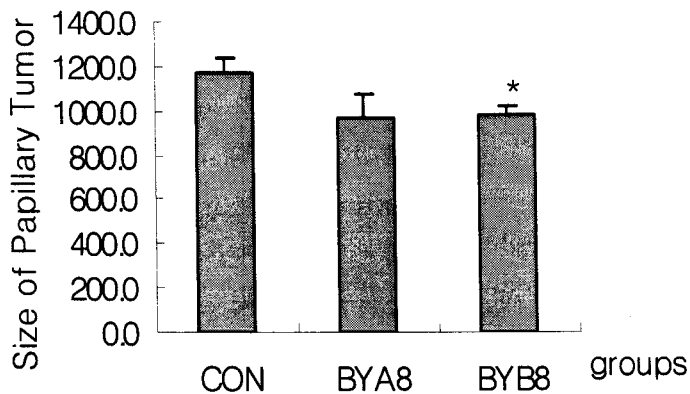


Fig. 11A. Size of papillary tumor from 8 weeks control, BYA8 and BYB8 groups.

Con, control group administered saline; BYA8, 0.3g/kg/day administered group during 8 weeks; BYB8, 1.5g/kg/day administered group during 8 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > | T |, Values in the 0.05 and 0.01.

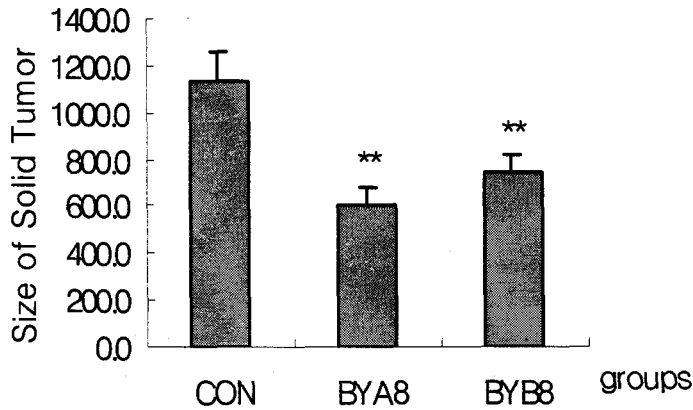


Fig. 11B. Size of solid tumor from 8 weeks control, BYA8 and BYB8 groups.

Con, control group administered saline; BYA8, 0.3g/kg/day administered group during 8 weeks; BYB8, 1.5g/kg/day administered group during 8 weeks; Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

7. 면역조직화학 검색

COX-2에 대한 면역조직화학 검색

4주 대조군(Fig. 12A)의 기관지에서는 상피세포를 싸고 있는 평활근 층에서 COX-2에 대한 면역반응성이 높게 나타났으나, BYA4군(Fig. 12B)에서는 대조군에 비하여 면역반응성이 낮게 나타났으며, BYB4군(Fig. 12C)에서 면역반응성이 가장 낮게 나타났다. 8주 대조군(Fig. 12D)의 기관지에서는 4주 대조군에서 관찰되었던 것처럼 상피세포를 싸고 있는 평활근 층에서 COX-2에 대한 높은 면역반응성을 보여주었으며, BYA8군(Fig. 12E)에서는 아주 미약한 면역반응성이 나타났고, BYB8군(Fig. 12F)에서는 면역반응성이 거의 나타나지 않았다. 유두종에 대한 COX-2 면역조직화학적 검색결과 4주군에서는 대조군(Fig. 14A), BYA4군(Fig. 14B) 그리고 BYB4군(Fig. 14C) 모두에서 면역반응성이 나타나지 않았으나, 8주군에서는 대조군(Fig. 1

4D), BYA8군(Fig. 14E) 그리고 BYB8군(Fig. 14F) 모두에서 면역 반응성이 나타났다.

IGF-1에 대한 면역조직화학 검색

urethane으로 유발된 폐암에 대하여 保肺養營煎의 효능을 규명하기 위하여 urethane 유발후 8주 동안 약물을 구강 투여하였다. 4주 대조군(Fig. 13A)에서는 기관지 평활근 층에서는 IGF-1에 대한 면역반응성이 매우 높게 나타났으며, BYA4군(Fig. 13B)에서는 아주 미약하게 나타났으며, BYB4군(Fig. 13C)에서는 거의 관찰되지 않았다. 8주 대조군(Fig. 13D)에서는 기관지 평활근이 4주군에서처럼 IGF-1에 대한 면역반응성이 매우 높게 나타났으며, BYA8군(Fig. 13E)에서는 아주 미약하게 나타났으며, BYB8군(Fig. 13F)에서는 면역반응성이 나타나지 않았다. 유두종에 대한 IGF-1의 면역조직화학적 검색 결과 4주군

에서는 대조군(Fig. 15A)에서 미약한 반응성을 보여 주었으며, BYA4군(Fig. 15B)과 BYB4군(Fig. 15C)에서는 나타나지 않았다. 8주군에서는 대조군(Fig. 15D)과 BYA8군(Fig. 15E)에서 비교적 높게 나타났으며, BYB8군(Fig. 15F)에서는 아주 미약하게 나타났다.

IV. 고찰

폐암의 대부분은 흡연과 연관된 발암물질과 종양촉진자(tumor promotor)에 의해서 유발되며 증상은 국소적인 종양의 침범, 주변장기의 폐쇄 또는 침범, 림프관 전이에 따른 영역 림프절의 종대, 혈행성 전이 후 원위 전이병소의 성장과 부종양증후군(paraneoplastic syndromes) 등에 의하여 다르게 나타나나 대부분 기침, 체중감소, 호흡곤란, 흉통, 견갑통, 골통, 두통, 간질발작, 쉼 목소리, 각혈, 곤봉지 등으로 다양하다¹⁻⁴. 치료는 수술요법, 항암요법, 방사선요법과 면역요법으로 나눌 수 있는데, 수술이 가능하면 암종을 절제하는 것이 가장 확실한 방법이나 확진시에는 이미 수술이 불가능한 상태가 대부분이라서 수술이 가능한 경우는 25%밖에 되지 않으며, 이러한 이유로 폐암은 대개 예후가 불량한데, 보통 폐암환자의 5년 생존률은 전체적으로 10~15%정도 밖에 되지 않는다^{1,3}.

肺癌이라는 病名에 대해서는 韓醫學에서 歷代文獻上 直接的인 言及은 없지만 咳嗽, 胸痛, 咯血, 體重減少, 發熱, 胸悶, 氣短 등의 主要 臨床症狀를 나타내는 것을 찾아보면 《黃帝內經》⁵에서 “帝曰 病脅下有滿氣逆 二三歲不已 是爲何病, 岐伯曰 病名曰

息積”이라 하고, 李¹⁶는 “肺之積 名曰息賁 在右脇下覆大如杯久不已 令人 洒淅寒熱 喘咳發 肺癰”, “中府隱隱而微痛者 肺疽也 上肉微起者 肺癰也”라 하였고, 龔¹⁵은 “寸口脈 數而 實者 肺癰也 口乾喘滿 咽燥而渴 甚則 四肢浮腫 咳嗽膿血 或 腥臭濁味 胸中隱隱而 微痛者 肺癰也”라고 하였으며 王¹¹은 “其候惡風 咳嗽 鼻塞 項強 胸脇 脹滿 呼吸不利 咽燥作渴 甚則 四肢 微腫 咳嗽膿血 若吐痰臭濁膿血 腥穢 胸中隱隱 微痛 右手 寸口脈數而 實者爲 肺疽”라고 하여 대개 肺癰, 肺積, 息賁, 肺疽 등의 範疇에 屬한다고 볼 수 있다⁵⁻¹⁶.

本 實驗에 使用된 保肺養營煎은 金の 《晴崗醫鑑》¹⁷에 最初로 記錄된 處方으로, 乾地黃, 白芍藥, 沙蔘, 當歸, 麥門冬, 白茯苓, 橘皮, 貝母, 桔梗, 杏仁, 五味子, 甘草, 生薑, 大棗로 構成되어 있는데, 乾地黃은 細胞性 免疫 增強作用이²⁹, 白芍藥은 滋養 強壯作用, 補血作用 등이³⁰, 沙蔘은 抗菌作用, 消炎作用 등이³¹, 當歸는 子宮機能調節作用, 鎮靜鎮痛作用, 血管收縮作用, 抗血栓作用, 降脂血作用, 利尿作用, 抗菌作用, 保肝作用 등이³²⁻³⁶, 麥門冬은 肺浮腫의 減少作用이³⁷, 白茯苓은 抗菌作用, 호르몬 調節機能, 免疫系統 및 酵素系統을 活性化 시키는 作用 등이³⁸, 貝母는 免疫反應 增強作用, 抗癌作用 등이³⁹, 桔梗은 肺癌細胞의 增殖抑制 作用이⁴⁰, 杏仁은 알레르기 喘息 抑制作用이⁴¹, 五味子는 肺機能 活性化作用이⁴², 甘草는 移植性骨髓癌 抑制作用, 腹水癌 抑制作用 등이³²⁻³⁶ 실험을 통하여 입증된 바 있으며, 本 處方은 淸熱祛痰과 滋補津液하여 喘息 및 慢性長期咳嗽를 비롯한 呼吸器障礙를 改善할 目的으로 臨床에서 多用되는 處方인데, 肺虛하여 虛熱로 인한

痰嗽가 그치지 않고 津液이 枯渴하여 身乾 口燥하는 등의 症狀에 應用되어 왔다¹⁷.

保肺養營煎에 대한 실험적 연구로서, 이¹⁸는 氣管支平滑筋張力과 염증 및 免疫反應에 있어 유의한 효과가 있었음을 보고하였고, 그 외에 韓藥處方に 對한 抗癌 및 免疫學的 研究로서, 이 등⁴³은 四君子湯 투여에 의해 숙주의 체액성 · 세포성 면역능이 증가되고 면역학적 감시에 관여하는 NK세포들의 활성증가를, 민 등⁴⁴은 補中益氣湯이 물리적인 스트레스로 저하된 세포성 · 체액성 면역반응과 억제된 항암면역세포의 활성 등을 모두 회복시킨다는 보고가 있었으며, 김 등^{45,46}은 歸茸湯, 少陰人十全大補湯이 세포성 · 체액성 면역증강작용을, 장 등⁴⁷은 蓼茸湯이 용량에 비례하여 S-180에 대한 종양과 cyclophosphamide에 의한 부작용에 유효하게 활용될 수 있다는 보고를, 김⁴⁸은 八物湯이 prednisolone의 장기복용으로 인하여 발생하는 면역반응 저하에 유효하다는 보고가 있었으나, 保肺養營煎이 폐암에 미치는 영향에 관한 실험적 연구는 접하지 못하여 本 研究를 施行하였다.

Urethane(ethyl carbamate; $\text{NH}_2 \cdot \text{COO Et}$)은 생체 내에서 alkylation을 일으켜 염색체에 손상을 주고 변이를 유도하며, 여러 장기에 암 발생을 촉진하는 것으로 알려져 있으며^{19,20}, urethane은 다른 장기보다는 주로 폐에 종양을 일으키므로 변연부에 위치한 폐종양 발생 과정을 추적 관찰하는 실험적 모델에 자주 이용되었다²¹⁻²⁴. 이에 著者는 쥐의 선암종 실험모델이 사람의 폐 선암종 모델로 광범위하게 사용되어져 왔기 때문에⁴⁹, 保肺養營煎이 폐암에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 하여

A/J mouse에 urethane 1mg/g of body weight을 복강 투여한 14주 후에 폐암유발을 확인한 후 保肺養營煎 투여량과 투여기간을 달리하여 선정된 실험군을 통해 체중의 변화, 혈액학적 변화, 육안적 관찰, 광학현미경 관찰, 종양의 수 및 크기 측정, 면역조직화학적 검색을 하였다.

대체적으로 종양이 존재할 경우 현저한 식욕부진과 함께 탈수 증상이 수반되며, 이로 인한 만성적인 체중감소가 초래되는데^{50,51}, 체중의 변화에 대해서는 대조군에서 전반적으로 증가하는 경향을 보였고, 실험군에서는 대체적으로 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다.

일반적으로 종양이 존재할 경우 백혈구의 수는 감소되는 것으로 알려져 있으므로 백혈구 수는 면역력의 증감 여부를 판단하는 기준이 될 수 있다^{50,51}. 또한 암환자에게는 혈소판수가 감소하고 응집력이 떨어지게 되며 이때 혈소판은 암세포주위에 부착하여 오히려 암세포를 보호하는 역할을 한다⁵². 따라서 암의 전이여부를 판정하는데 있어 혈소판수는 암의 전이를 살펴보는 지표가 될 수 있다⁵³.

혈액학적인 변화를 살펴본 바 백혈구 수는 8주 대조군에서 현저히 감소하였으나, BYB8군에서 유의성있게 증가하였으며, 혈소판 수는 4주 대조군에서 매우 감소하였으나, BYA4군과 BYB4군에서는 유의성있는 증가를 보였다. 이는 각각 抗炎症效果와 免疫力 增強 效果가 있음을 보여주는 것으로서, 保肺養營煎이 免疫力 增強 效果가 있다는 報告¹⁸와 一致하지만 약물의 적정농도와 적정투여기간에 대한 연구가 보다 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

육안적 관찰에서 8주 대조군에서는 평균 12-13개의 유두종이 관찰되었으며 폐의 표면 색상이 고르지 못하였다. BYA8군과 BYB8군의 폐의 표면에서도 다수의 유두종이 관찰되었으나 대조군에 비하여 뚜렷하게 관찰되지 않았다.

광학현미경 관찰에서 4주 대조군뿐만 아니라 BYA4군과 BYB4군에서는 다수의 유두종과 고형종이 관찰되었는데 폐의 실질세포에 비하여 hematoxylin과 eosin에 강한 염색성을 보여주었으며, 유두종을 구성하는 암세포의 세포질 염색성은 대조군이 eosin에 대하여 가장 강한 호산성을 보여주었으며 BYA4군과 BYB4군이 낮은 경향을 보였으나 대체적으로 대조군과 실험군 사이에 유의성은 없는 것으로 사료된다.

종양의 수와 크기에 대한 통계적 접근을 살펴보면, 종양의 수에 있어서 4주 군의 대조군에서 관찰되는 유두종의 수는 6 ± 0.71 개였으나, BYA4군(5.3 ± 0.82)과 BYB4군(5.3 ± 1.78)에서는 약 1개 정도 적게 관찰되었다. 4주군의 대조군에서 관찰되는 고형종의 수는 7.0 ± 1.87 개로 BYA4군(6.0 ± 1.41)과 BYB4군(6.7 ± 1.47)과 유사하였다. 8주군의 대조군에서 관찰되는 유두종의 수(1.08 ± 1.28)에 비하여 BYA8군(9.7 ± 1.80)과 BYB8군(8.5 ± 1.35)에서 약간 감소하였으나, 통계적으로 유의성은 없었다. 8주 군의 고형종의 수 또한 대조군(8.3 ± 1.08)에 비하여 실험군인 BYA8군(5.5 ± 1.35)과 BYB8군(7.2 ± 1.18)에서 암종의 수가 감소하였으나 통계적으로 유의성은 없었다. 종양의 크기에 있어서 4주 대조군 유두종의 평균크기는 $120 \mu\text{m}$ 로 실험군에 비하여 크게 나타났으나, BYB4군에서는 가장 작은 크기로 약 8

$20 \mu\text{m}$ 이었으며 BYA4군은 약 $875 \mu\text{m}$ 이었다. 대조군 고형종의 평균크기는 $906 \mu\text{m}$ 로 가장 크게 관찰되었고, BYB4군은 약 $745 \mu\text{m}$ 로 가장 작았으며, BYA4군은 약 $827 \mu\text{m}$ 로 대조군에 비하여 약간 작게 나타났다. 8주 대조군의 유두종 평균크기는 $1168 \mu\text{m}$ 이었으며, BYA8군은 약 $967 \mu\text{m}$ 로 가장 작았으며, BYB8군은 약 $977 \mu\text{m}$ 이었다. 8주 대조군 고형종의 크기는 약 $1138 \mu\text{m}$ 로 가장 크게 관찰되었고, BYA8군이 $610 \mu\text{m}$ 로 현저히 작게 관찰되었으며, BYB8군은 $747 \mu\text{m}$ 로 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다. 이와 같은 결과를 살펴보았을 때 urethane으로 유발된 생쥐에 保肺養營煎의 投與는 폐종양의 發達을 抑制하기는 하지만, 약물의 농도와 투여기간에 비례하지 않고 유효한 수준이 존재한다고 생각된다.

대부분의 선암종(adenocarcinomas)과 사람 폐의 전암성 상해(premalignant lesion)시 약 1/3에서 COX-2 단백질과 mRNA의 발현은 높아진다고 하였으며^{54,55}, 생쥐에 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)를 주사한 결과 폐암이 유발된 A/J mouse의 폐 암종에서는 COX-2 단백질과 COX-2 mRNA의 발현이 증가되었으나, 폐암 유발에 저항성을 갖는 쥐에서는 낮았다고 하였다⁵⁶. 또한 Insulin-like growth factor(IGF)는 polypeptides로 구성되어 있으며, IGF-I 과 IGF-II라고 하는 2가지 종류가 있는데 여러 종류의 세포 분화와 증식을 위하여 중요한 역할을 한다^{57,58}. 또한 IGF는 조직의 발생과 기능에 있어서 중요한 기능을 할 뿐만 아니라 암세포의 변형과 증식에도 관여하는 것으로 알려져 있으며, 상피세포가 암세포로 전환 시 과량 발현되는 것으로 알려져 있

다^{59,60}.

세기관지 주변부에 대한 면역조직화학적 검색에서는 COX-2와 IGF-I 면역조직화학적 검색 결과 대조군에서는 암세포 전이가 관찰되지 않은 세기관지의 평활근에서 유두종과 고형종 모두에서 높은 면역반응성을 나타내었으나 실험군에서는 면역반응성이 아주 미약하거나 반응이 없었는데 특히 BYB8군에서 뚜렷하였으며 이는 保肺養營煎이 폐암에 대하여 면역반응과 항암효과를 나타낸다는 이전의 실험과 일치하는 것이다.

이상의 실험결과를 요약하여 보면 실험군은 대조군에 비하여 육안적, 광학현미경적 관찰과 종양의 수와 크기에 대한 통계적 접근, 기관지 평활근 층에 대한 면역조직화학적 검색 결과 폐암의 발생억제와 폐기관지 보호효과 그리고 면역증강에 뚜렷한 효과가 있는 것으로 추측되며 이와같은 효과는 대개 투여량과 투여기간에 비례하는 것으로 사료되나 보다 정확한 적정투여량과 적정투여기간에 대한 문제의 검증이 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

保肺養營煎이 폐암에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 하여 保肺養營煎을 투여한 경우에 urethane으로 유발된 폐암에 대하여 체중의 변화, 혈액학적 변화, 육안적 관찰, 광학현미경 관찰, 종양의 개수 및 크기 측정, 면역조직화학적 검색을 하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

1. 체중의 변화는 대조군과 실험군 사이에 유의성이 없었다.
2. 혈액학적 변화에 있어서 백혈구 수는 8주 대조군에서 현저히 감소하였으나, BYB8군에서 유의성있게 증가하였으며, 혈소판 수는 4주 대조군에서 매우 감소하였으나, BYA4군과 BYB4군에서는 유의성있는 증가를 보였다.
3. 육안적 관찰 결과 대조군에 비해 실험군에서 종양이 뚜렷이 관찰되지 않았다.
4. 광학현미경 관찰 결과 대조군과 실험군 사이에 유의성이 없었다.
5. 종양의 개수에 있어서 대조군에 비하여 실험군의 수가 감소하는 경향을 보이는 하였으나 통계적으로 유의성은 없었다.
6. 종양의 크기에 대한 관찰 결과 대조군에 비해 실험군에서 유의성 있는 감소를 보였다.
7. 기관지 평활근 층에 대한 면역조직화학적 검색에서는 COX-2와 IGF-I 면역조직화학적 검색 결과 대조군에 비해 실험군에서 미약한 면역 반응성을 나타냈다.

參 考 文 獻

1. 해리슨 내과학 편찬위원회. 내과학. 서울: 정담; 1997, p.1316-1325.
2. 배기채, 김성훈. 폐암의 변증과 처방에

- 대한 문헌적 고찰. 대전대학교 한의학 연구소 논문집 1997;5(2):243-264.
3. 대한병리학회. 병리학. 서울: 고문사; 1998, p.587-593.
 4. 전국의과대학교수. 오늘의 진단 및 치료. 서울: 한우리; 2000, p.324-333.
 5. 王琦. 素問今釋. 貴州: 貴州人民出版社; 1981, p.103.
 6. 扁鵲. 難經. 北京: 昭人出版社; 1985, p.187-193.
 7. 巢元方. 諸病原候總論 第19卷. 北京: 昭人出版社; 1985, p.2-3.
 8. 孫思邈. 備急千金要方. 서울: 一中社; 1985, p.309-315.
 9. 李東垣. 東垣十種醫書外科精義. 서울: 大星文化社; 1963, p.548.
 10. 康命吉. 濟衆新編. 서울: 杏林書院; 1975, p.182.
 11. 王肯堂. 六科準繩. 서울: 翰成社; 1988, p.182-189.
 12. 嚴用和. 濟生方. 北京: 人民衛生出版社; 1985, p.542.
 13. 李梴. 醫學入門. 서울: 翰成社; 1984, p.398.
 14. 程國彭. 醫學心悟. 北京: 文光圖書有限公司; 1988, p.226-227.
 15. 龔廷賢. 萬病回春. 北京: 人民衛生出版社; 1988, p.295-296.
 16. 許浚. 東醫寶鑑. 서울: 南山堂; 1981, p.392-394, 486.
 17. 金永勳. 晴崗醫鑑. 서울: 成輔社; 2001, p.105-106.
 18. 李康寧. 保肺養營煎이 흰쥐의 氣管支平滑筋 張力과 면역에 미치는 影響, 東新大學校 大學院, 2004.
 19. Mirvish SS. The carcinogenic action and metabolism of urethane and N-hydroxy-urethane. *Advanc Cancer Res.* 1968;11:1-42.
 20. Svensson K. Alkylation of protein and DNA in mice treated with urethane. *Carcinogenesis* 1988;9:2197-2201.
 21. Monobe Y, Manabe T. Morphological change and proliferative activity of alveolar epithelium in mouse lungs treated with urethane. *Virchows Archiv* 1995;425:583-588.
 22. Mostofi FK, Larsen CD. The histopathogenesis of pulmonary tumors induced in strain A mice by urethane. *J Natl Cancer Inst* 1951;11:1187-1221.
 23. Re FC, Manenti G, Borrello MG, et al. Multiple molecular alterations in mouse lung tumors. *Mol Carcinog* 1992;5:155-160.
 24. 정진행: Urethane 유발 생쥐 폐선암종 발생에서 경시적인 형태 변화와 세포 증식능, p53 및 Rb 단백질 발현에 관한 실험병리학적 연구, 서울대 大學院, 1998.
 25. 이은숙 外: 瓊玉膏 및 瓊玉膏 加味方이 폐암에 미치는 영향, 本草學會誌 17 2 : 101-109, 2002.
 26. 강락원 外: 桔梗 수용액 추출물에 의한 인체 폐암세포의 성장억제 기전 연구, 東醫生理病理學會誌, 17 1 : 183-189, 2003.
 27. 강윤경 外: 潤肺散에 의한 폐암세포 증식억제기전에 관한 연구, 東醫生理病理學會誌, 16 4 : 745-755, 2002.
 28. 최병렬 外: 抗癌丹을 투여한 폐암환자 62례에 대한 임상보고, 大田大論文集,

- 10 1 : 121-131, 2001.
29. 황영명: 生地黃, 乾地黃, 熟地黃이 세포성 면역반응 및 체액성 면역반응에 미치는 영향, 大韓韓醫學會誌, 8 2 :82-83, 1987.
 30. 김동걸, 이상인: 赤, 白芍藥의 效能에 관한 연구-Paeoniflorin을 중심으로, 本草學會誌, 1 1 :1-7, 1986.
 31. 김재학, 안덕균: 薺芎와 沙蔘 中の 遊離糖 함량 및 효능에 관한 비교연구, 本草學會誌, 7 1 :3-13, 1992.
 32. 이상인. 本草學. 서울: 修書院; 1981, p. 51-60, 101-102, 194-196, 198-199, 348-349, 373.
 33. 이상인 外. 韓藥臨床應用. 서울: 成輔社; 1982, p.48-49, 74-77, 241-242, 253-254, 345-347, 353-355, 358-359, 361-363, 399-400.
 34. 范崔生. 中藥的應用. 北京: 人民衛生出版社; 1989, p.51-52, 75-79, 194-195, 247-249, 382-384, 386-391, 396-398.
 35. 王浴生. 中藥藥理與應用. 北京: 人民衛生出版社; 1983, p.15-29, 207-211, 264-277, 326-330, 424-438, 567-575, 886-898, 983-991.
 36. 최태섭. 韓國의 補藥. 서울: 열린책들; 1990, p.41-69, 74-89, 97-109, 142-181, 440-443.
 37. 이선화, 박동일: 麥門冬湯의 吸煙에 관한 효과, 本草學會誌, 11 2 :161-173, 1996.
 38. 한지완 外: 丹樞逍遙散이 염증상태의 면역세포에 미치는 영향, 東醫生理病理學會誌, 16 5 :914-920, 2002.
 39. 김윤범, 채병윤: 3-MCA유발 상피종에 대한 香貝養榮湯과 貝母單味劑가 면역반응에 미치는 영향, 韓方腫瘍學會誌, 3 1 :169-191, 1997.
 40. 강락원 外: 桔梗 수용액 추출물에 의한 인체 폐암세포의 성장억제 기전 연구, 東醫生理病理學會誌, 17 1 : 183-189, 2003.
 41. 황대룡 外: 杏仁의 알레르기 천식 효과에 대한 연구, 本草學會誌, 18 2 :201-208, 2003.
 42. 이해민 外: 白鼠의 O3 중독 폐손상에 관한 五味子 麥門冬의 영향, 東醫生理病理學會誌, 3 2 :3-10, 1989.
 43. 李南九 外: 四君子湯이 생쥐의 免疫反應 및 NK細胞의 細胞毒性에 미치는 영향, 大韓韓醫學會誌, 10 2 :115-122, 1989.
 44. 민용태 外: 補中益氣湯의 투여가 紫外線 照射로 低下된 마우스의 면역기능의 회복에 미치는 영향, 方劑學會誌, 2 1 : 107-129, 1991.
 45. 김덕호 外: 歸茸湯이 면역반응에 미치는 실험적 연구, 大韓韓醫學會誌, 6 2 : 55-63, 1985.
 46. 박성호: 少陰人 十全大補湯이 면역반응에 미치는 영향, 四象醫學會誌, 4 1 : 221-230, 1992.
 47. 장중식 外: 蓼茸湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 Cyclophosphamide에 의한 부작용 감소에 미치는 영향, 大韓韓醫學會誌, 13 1 : 313-323, 1992.
 48. 김성훈: 四君子湯, 四物湯 및 八物湯이 Prednisolone으로 유발된 생쥐의 면역반응저하에 미치는 영향, 東醫病理學會誌, 2 1 : 42-59, 1987.
 49. Stoner GD. Introduction to mouse lung tumorigenesis. Exp Lung Res 199

8. 24:375-383.
50. Sodikoff CH. Laboratory profiles of small animal diseases. A guide to laboratory diagnosis. 2nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book Inc. 1995.
51. 신민규 外: 順氣和中湯과 Doxorubicin의 병용이 Colon-26의 항암효과에 미치는 영향, 大韓韓方內科學會誌, 25 2 : 183-194. 2004.
52. K. Tanaka, S. Kohga et al. : Effects of tidopidine on blood-bone metastasis. K. Hellman, Matastasis, Clinical and experimental aspect, p.147. 1980
53. 郭桂豪, 金聖勳: 少陰人補中益氣湯과 少陰人補中益氣湯加味方의 抗癌效果 및 Cyclophosphamide에 의한 副作用減少에 미치는 影響, 大韓東醫病理學會誌, 10 2 :122-140. 1996.
54. Hida,T., Yatabe,Y., Achiwa,H., Muramatsu,H., Kozaki,K., Nakamura,S., Ogawa,M., Mitsudomi,T., Sugiura,T. and Takahashi,T. (1998) Increased expression of cyclooxygenase 2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas. *Cancer Res.*, 58, 3761 - 3764.
55. Wolff,H., Saukkonen,K., Anttila,S., Karjalainen,A., Vainio,H. and Ristimaki, A. (1998) Expression of cyclooxygenase-2 in human lung carcinoma. *Cancer Res.*, 58, 4997 - 5001
56. Wardlaw SA, March TH, Belinsky S A. Cyclooxygenase-2 expression is abundant in alveolar type II cells in lung cancer-sensitive mouse strains and in premalignant lesions. *Carcinogenesis*, 21(7): 1371-1377. 2000
57. Cohick WS, Clemmons DR. 1993. The insulin-like growth factors. *Annu Rev Physiol* 55:131-153.
58. Le Roith D. Insulin-like growth factors. *N Engl J Med* 336: 633-640, 1997.
59. Scott J, Cowell J, Robertson ME, Priestly LM, Wadey R, Hopkins B, Pritchard J, Bell GI, Rall LB, Graham CF, Knott TJ 1985. Insulin-like growth factor-II gene expression in Wilm's tumour and embryonic tissues. *Nature* 317:260-262.
60. Yww D, Cullen KJ, Paik S, Perdue JF, Hampton B, Schwartz A, Lippman ME, Rosen N. 1988 insulin-like growth factor-II mRNA expression in human breast cancer. *Cancer Res* 48: 6691-6696.