

少陰人 補中益氣湯이 Urethane으로 誘發시킨 A/J mouse의 폐암에 미치는 影響

곽정진, 김희철

동신대학교 한의과대학 내과학교실

ABSTRACT

Effect of Soeuminbojungikgitang on the Lung Tumor of A/J mouse induced with Urethane

Jeong-Jin Kwack, 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, BA group treatment with herbal formula, Soeuminbojungikgitang 0.4g/kg and BB group treatment with herbal formula 2.0g/kg. The administration of herbal medicine was done every day for 8 weeks. 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

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

tumors grew. The number of tumor, in the 8 weeks group, are decreased in the 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 BA and BB groups.

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

Key Word: Soeuminbojungikgitang, lung tumor, urethane

I. 서론

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, 선 목소리, 각혈, 끈봉지 등으로 다양하며¹⁻⁴, 이러한 증상들은 肺癰, 肺積, 息賁, 肺疽 등의 範疇에서 찾아 볼 수 있다⁵⁻¹⁶.

少陰人 補中益氣湯¹⁷은 少陰人의 勞倦虛弱, 自汗, 內傷, 脾胃虛弱, 陰虛證, 食少無味, 元氣不足 등의 증상에 應用되어 왔으며^{18,19}, 실험적 연구를 통하여 조 등²⁰이 세포성 및 체액성 면역반응저하와 체중저하에 대한 회복효과 등을, 김 등²¹이 S-180에 대한 생명연장 및 cyclophosphamide에 의한 부작용감소효과 등을 보고하였다.

기존의 폐암에 대한 실험적 연구를 통하여 그 치료효과를 검증하는 보편적인 방법

으로 Urethane(ethyl carbamate; $\text{NH}_2 \cdot \text{C}(\text{OOEt})$)이 이용되는데 생체 내에서 alkylation을 일으켜 염색체에 손상을 주고 변이를 유도하며, 여러 장기에 암 발생을 촉진하는 것으로 알려져 있으며^{22,23}, 특히 다른 장기보다 주로 폐에 종양을 일으키므로 변연부에 위치한 폐종양 발생 과정을 추적 관찰하는 실험적 모델에 자주 이용되었다²⁴⁻²⁷.

폐암에 있어서 抗癌 및 免疫學的 研究로는 瓊玉膏 및 瓊玉膏 加味方의 투여로 폐암세포 이식 마우스에 대한 抗腫瘍效果²⁸, 桔梗 추출물의 처리에 의한 폐암세포의 증식억제가 세포분열기로의 진행 억제와 연관된 apoptosis유발과의 연관²⁹, 潤肺散 투여에 의한 폐암세포 증식억제기전에 관한 보고³⁰와, 抗癌丹이 抗癌 및 免疫增進 목적으로 활용가능하다는 보고³¹가 있었으나, 少陰人 補中益氣湯이 폐암에 미치는 영향에 관한 실험적 연구는 접하지 못하였다.

이에 저자는 A/J mouse에 urethane 1mg/g of body weight을 복강투여한 14주 후 폐암유발을 확인한 후 扶正倍本의 효능이 있고 구성약물 중 다수가 항암작용이 인정된 少陰人 補中益氣湯을 투여량과 투여기간을 달리하여 선정된 실험군을 통해 체중 변화, 혈액학적 변화, 종양의 개수 및

크기 변화, 육안적·광학현미경·전자현미경 관찰 및 면역조직화학 검색을 한 결과 유의성이 있었기에 보고하는 바이다.

정한 조건(온도 : 21±2℃, 습도 : 50-60%)으로 1주 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

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 일

2) 少陰人 補中益氣湯의 조성 및 약물 추출

실험에 사용한 약재는 동신대학교 부속 한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였다.

少陰人 補中益氣湯의 구성은 《東新大學校附屬韓方病院處方集》³²에 準하였다. 少陰人 補中益氣湯 1貼 分量은 다음과 같다.

Prescription of Soeuminbojungikgitang

構成藥物	生藥名	用量(g)
人蔘	<i>Ginseng Radix</i>	12.0
黃芪	<i>Astragali gigantis Radix</i>	12.0
當歸	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	4.0
白朮	<i>Astractylodis Rhizoma alba</i>	4.0
陳皮	<i>Aurantii nobilis Pericarpium</i>	4.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4.0
藿香	<i>Agastachis Herba</i>	2.0
蘇葉	<i>Perillae Herba</i>	2.0
總計		44.0

少陰人 補中益氣湯 2貼을 약탕기에 물 500mL을 넣고 3시간 동안 탕전한 다음 동결건조(Samwon, SFDSMO06, 한국)하여 23.5g의 건조 분말을 얻었다.

ght을 복강 투여하였다. 투여 14주 후에 pentobarbital sodium(500mg/kg) 복강 투여로 마취시킨 다음 흉곽을 열고 폐암이 유발되었음을 육안으로 확인하였다.

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 wei

2) 실험군 설정 및 약물 투여

폐암 유발을 확인한 후 대조군은 생리 식염수 0.1mL을 4주간 구강 투여한 것을 이하 B4군, 8주간 투여한 것을 B8군으로 나누었다.

실험군은 4주간 少陰人 補中益氣湯 건

조분말 0.4g/kg을 매일 구강 투여한 것을 BA4군, 건조분말 2.0g/kg을 매일 구강투여한 것을 BB4군으로 하고, 8주간 少陰人 補中益氣湯 건조분말 0.4g/kg을 매일 구강 투여한 것을 BA8군, 건조분말 2.0g/kg을 매일 구강투여한 것을 BB8군으로 나누었다.

3) 체중 측정

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

4) 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.

5) 육안적 관찰

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

6) 광학현미경 관찰

생쥐의 폐 조직을 적출하여 10%의 포르말린을 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음, 30, 50, 70, 80, 90, 95, 100 I, 100 II와 같이 알코올 농도를 상승시켜 탈수를 한 다음 xylene으로 투명화 과정을 거친 후

paraffin으로 포매하였다. 포매된 조직은 microtome을 사용하여 5 μ m 두께로 절편한 후 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 이를 xylene으로 paraffin을 제거하고 100%, 90%, 80% ethanol 과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담구어 함수과정을 거치게 하였다. Hematoxylin과 Eosin으로 이중염색을 한 다음 탈수를 하고 Canada balsam으로 봉합한 후 카메라 부착 광학 현미경(Olympus BX51, Japan)으로 사진을 촬영하였다.

7) 종양의 개수 및 크기의 측정

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

8) 면역조직화학 검색

생쥐의 폐 조직을 적출하여 4%의 paraformaldehyde를 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음, paraffin으로 포매 한 후 microtome을 사용하여 조직을 5 μ m 두께로 절편하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 이를 xylene에서 paraffin을 제거한 다음 100%, 90%, 80% ethanol 과 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. 세척

한 각각의 조직위에 polyclonal anti mouse COX-2와 insulin-like growth factor-I 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 세척하였고 이를 다시 avidin-biotinylated enzyme complex (ABC) reagent(Vector Lab, CA, USA)를 조직에 처리하여 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.

9) 전자현미경 관찰

유두종 조직을 절취하여 전고정액 하에서 진공펌프(신명, 한국)를 사용하여 공기를 제거한 후 조직을 1mm3크기로 세절하고 2.5% glutaraldehyde(phosphate buffer, pH 7.4)로 2시간 동안 전고정하였다. 전고정이 끝난 조직은 동일 완충액을 사용 10분 간격으로 3회 세척한 후 1% osmium tetroxide (OsO₄)로 2시간 후고정한 다음 동일 완충액으로 3회 세척하였다. 세척후 시료들은 상승농도 순의 에탄올로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후 Epon-Araldite 혼합액으로 포매하였고 60°C 오븐에서 30시간 중합시켰다. 포매된 조직들을

LKB-V형 ultramicrotome을 사용 1 μ m두께로 절편을 제작하여 1% toluidine blue로 hot plate(60°C)상에서 염색하였다. 염색된 시료를 광학현미경으로 관찰하여 조직을 확인한 다음 동일한 부위에서 60nm 두께로 초박절편을 제작하여 silver grid에 부착하였고, uranyl acetate 와 lead citrate로 이중 염색한 다음 전자현미경(Hitachi H-7600 투과형, 80KV)으로 관찰하였다.

3. 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

대조군은 urethane으로 폐암을 유발한 직후부터 체중증가를 보이며 8주 동안 2g이 증가하였다. BA군과 BB군은 폐암유발 2주후에는 체중감소를 나타냈지만 이후에는 점차적인 체중증가를 나타냈으며 BA군이 가장 낮았다. (Fig. 1).

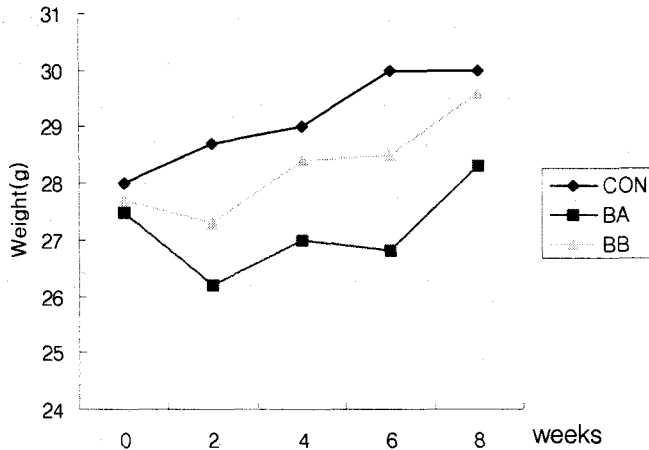


Fig. 1. The changes of body weight during 8 weeks.

CON, control group administered with urethane; BA, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean \pm SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

2. 혈액학적 변화

대조군과 BA4군, BB4군의 백혈구 수를 측정 한 결과 유의성 있는 변화는 없었다

(Fig. 2). 또한 8주후 대조군에 비하여 BA8군, BB8군에서 백혈구 수가 미약하게 증가하였으나 유의성은 없었다(Fig. 3).

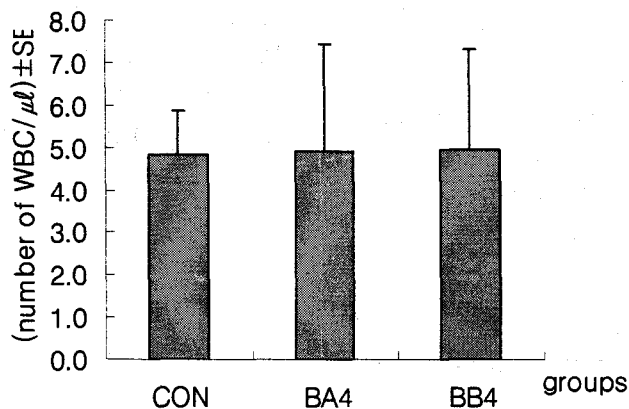


Fig. 2. The changes of WBC from 4 weeks groups.

CON, control group administered with urethane; BA4, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB4, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean \pm SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

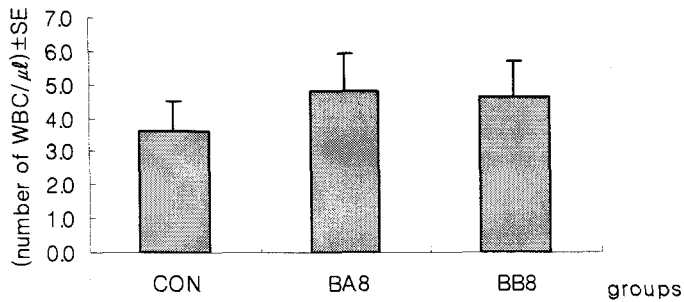


Fig. 3. The changes of WBC from 8 weeks groups.

CON, control group administered with urethane; BA8, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB8, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

적혈구 수의 변화는 4주군에서는 BA4군에서 대조군이나 BB4군에 비하여 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었으며(Fig. 4) 8주군에서는 대조군에 비하여 BA8군에서 감소하였다(Fig. 5).

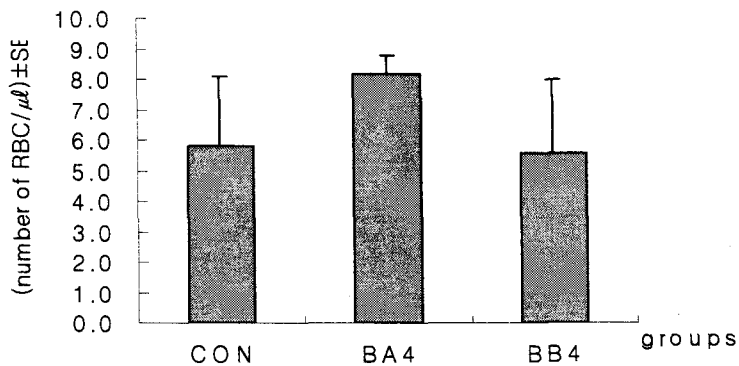


Fig. 4. The changes of RBC from 4 weeks groups.

CON, control group administered with urethane; BA4, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB4, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

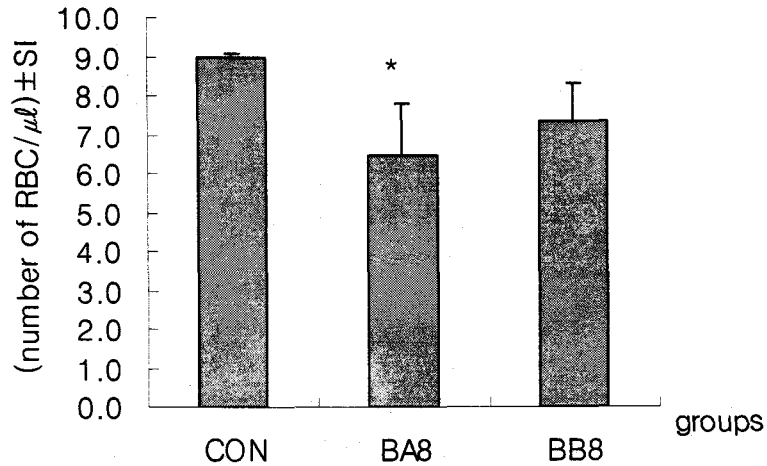


Fig. 5. The changes of RBC from 8 weeks groups.

CON, control group administered with urethane; BA8, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB8, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean \pm SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

적혈구 용적의 변화는 4주군에서는 대조군에 비하여 실험군에서 미약하게 증가하였으며 (Fig. 6) 8주군에서는 대조군에 비하여 BA8군과 BB8군에서 감소하였다(Fig. 7).

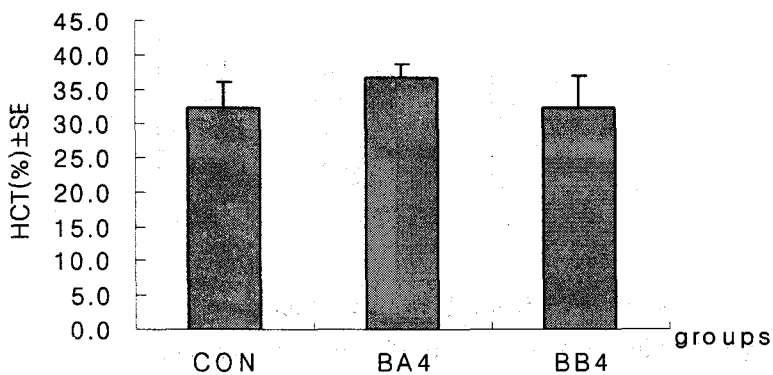


Fig. 6. The changes of hematocrit from 4 weeks groups.

CON, control group administered with urethane; BA4, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB4, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean \pm SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

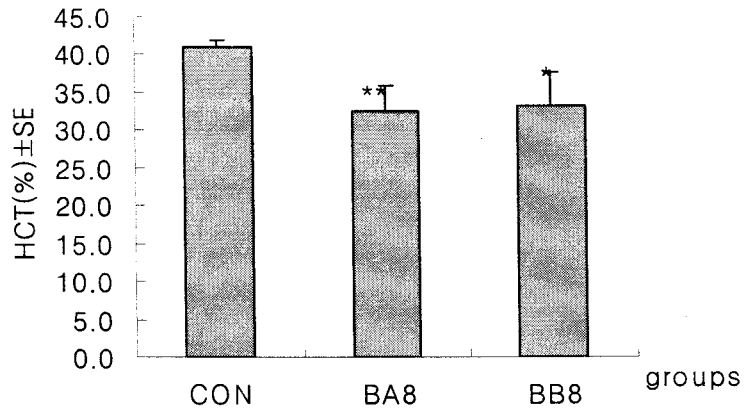


Fig. 7. The changes of hematocrit from 8 weeks groups.

CON, control group administered with urethane; BA8, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB8, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

혈소판 혈소판 수의 변화는 통계적으로 유의성은 없었지만 대조군에 비하여 BA4군과 BB4군에서는 증가하였으며(Fig. 8) 8주군에서는 대조군에 비하여 BA8군과 BB8군에서 감소하였다(Fig. 9).

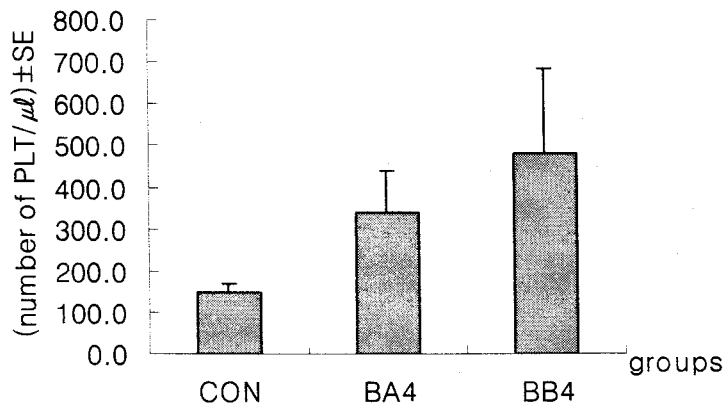


Fig. 8. The changes of platelet from 4 weeks groups.

CON, control group administered with urethane; BA4, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB4, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

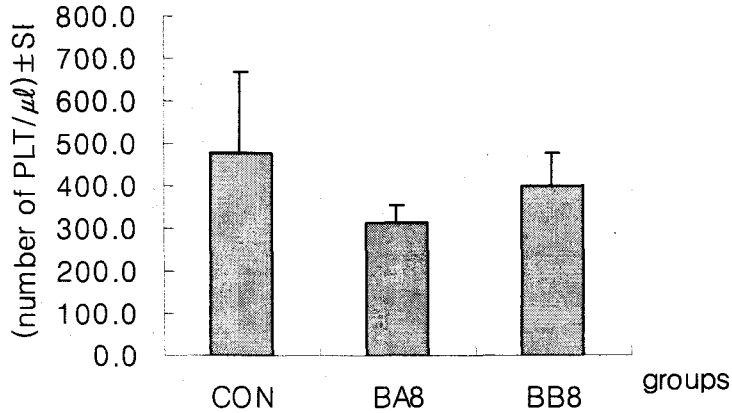


Fig. 9. The changes of platelet from 8 weeks groups.

CON, control group administered with urethane; BA8, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB8, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

3. 폐의 육안 관찰

Urethane 으로 폐암을 유발한 직후 대조군 폐의 표면은 전반적으로 울퉁불퉁하였으며, 2-3개의 유두종(papillary tumor)이 관찰되었다(Fig. 10A). 폐암 유발 4주 후 대조군의 폐에서는 BA4군이나 BB4군에 비하여 다수의 유두종이 관찰되었다(사진을 제시하지 않았음). 8주 후 대조군의 폐는 크고 작은 유두종들이 약 12-13개의 관찰되었으며 폐의 표면과 색상은 고르지 못하였다(Fig. 10B). BA8군의 폐에서도 다수의 유두종이 관찰되었는데 대부분 크기가 대조군에 비하여 작았으며(Fig. 10C) BB8군의 폐에서는 대조군에 비하여 소수의 유두종이 관찰되었으며 크기도 비교적 작았다(Fig. 10D).

4. 폐의 광학현미경 관찰

4주 대조군(Fig. 11A)뿐만 아니라 BA4군(Fig. 11B)와 BB4군(Fig. 11C)에서는 다

수의 유두종(papillary tumor)과 소수의 고형종(solid tumor)이 관찰되었는데 종양은 폐의 실질세포에 비하여 hematoxylin과 eosin에 대하여 대체로 강한 염색성을 보여주었다. 대조군의 폐종양 조직을 보다 더 고배율로 관찰한 결과 실험군에 비하여 보다 더 높은 염색성을 보여주었으며(Fig. 11a), BA4군(Fig. 11b)에서는 종양 조직과 정상 폐조직의 경계 부위에서 높은 염색성을 보이는 세포들이 다수 존재하였으며 BB4군(Fig. 11c)은 대조군이나 BA4군에 비하여 암세포의 밀도가 낮았다.

8주 대조군(Fig. 12A)의 유두종의 크기가 4주군에 비하여 증가하였으며, 폐의 표면으로부터 두드러지게 돌출하였다. 고배율의 광학현미경 사진에서 암세포 조직의 집단이 보다 크게 나타났으며, 호흡기관 주변 암세포들은 높은 염색성을 보여주었다(Fig. 12a). BA8군(Fig. 12B)의 조직에서는 유두종과 고형종이 각각 관찰되었는데,

고배율 광학현미경 사진에서 보면 암세포의 집단이 대조군에 비하여 작으며, 암세포의 염색성도 미약하였다(Fig. 12b). BB8군(Fig. 12C)의 광학현미경 사진에서 보여 주는 고형종은 암세포 조직의 치밀도가 미약하였으며 호흡세기관지를 중심으로 암세포가 생성되어 있었다(Fig. 12c).

5. 종양의 수

종양의 수는 유두종과 고형종으로 구분하여 계수 및 통계처리를 하였다. 4주군에서 유두종의 수는 대조군(6.2 ± 0.52)에 비하여 실험군인 BA4군(7.6 ± 1.25)과 BB4군(7.8 ± 0.74)에서 약간 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었다(Fig. 13A). 고형종은

대조군(6.7 ± 0.97)에 비하여 실험군인 BA4군(4.6 ± 0.76)과 BB4군(4.8 ± 1.52)에서 다소 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 13B). 8주군에서 대조군 유두종의 수는 10.8 ± 1.28 개로 4주 대조군에 비하여 약 4개가 증가하였으나, 실험군인 BA8군(5.2 ± 0.95)과 BB8군(7.0 ± 0.79)에서는 4주군에 비하여 비슷하거나 오히려 감소하여 통계적으로 유의성($p < 0.01$)있게 감소하였다(Fig. 14A). 또한 8주군에서 대조군 고형종의 수는 8.3 ± 1.08 개로 4주군에 비하여 약간 증가하였으나, 실험군인 BA8군(4.7 ± 0.61)과 BB8군(3.2 ± 0.42)은 4주군과 비슷하거나 약간 감소하였으며, 통계적으로 유의성($p < 0.01$)이 있었다(Fig. 14B).

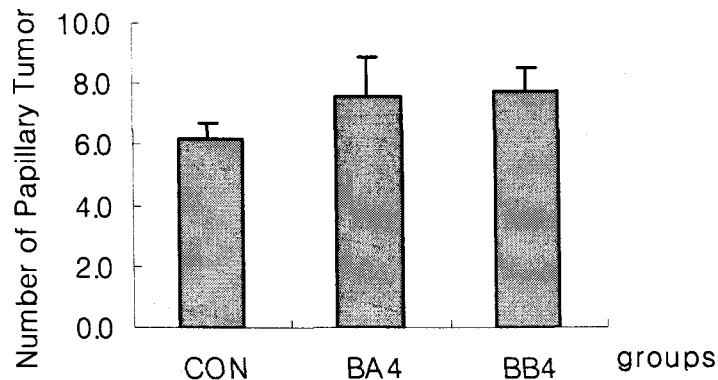


Fig. 13A. Number of papillary tumor from CON, BA4 and BB4 groups in the 4 weeks group.

CON, control group administered with urethane; BA4, feeding of Soeuminbojungikgitang ($0.4\text{g}/\text{kg}/\text{day}$), BB4, feeding of Soeuminbojungikgitang ($2.0\text{g}/\text{kg}/\text{day}$), Values are Mean \pm SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

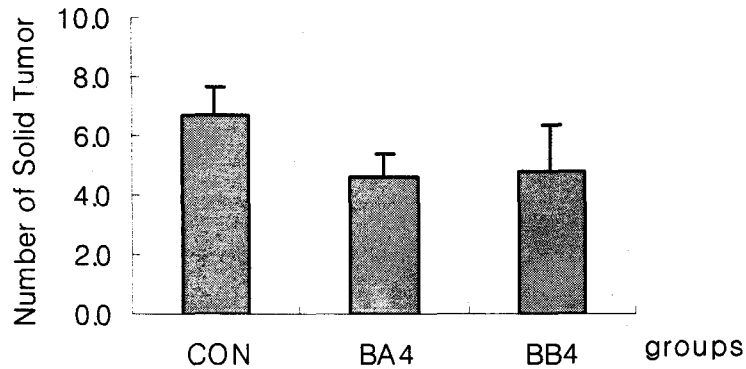


Fig. 13B. Number of solid tumor from CON, BA4 and BB4 groups in the 4 weeks group.

CON, control group administered with urethane; BA4, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB4, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

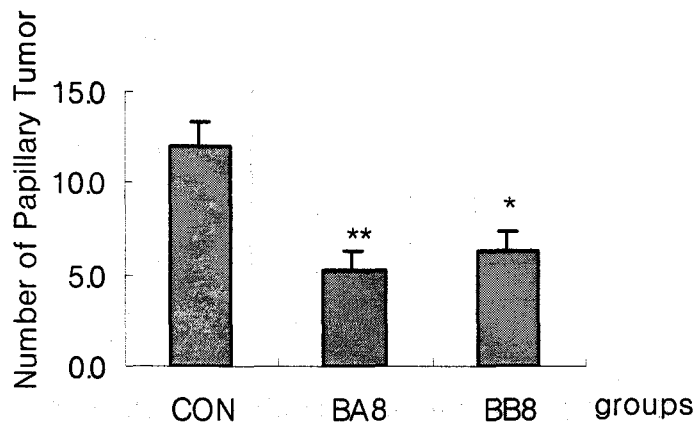


Fig. 14A. Number of papillary tumor from CON, BA8 and BB8 groups in the 8 weeks group.

CON, control group administered with urethane; BA8, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB8, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

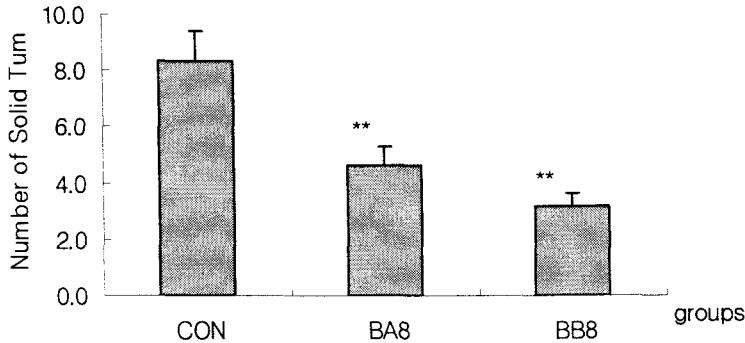


Fig. 14B. Number of solid tumor from CON, BA8 and BB8 groups in the 8 weeks group.

CON, control group administered with urethane; BA8, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB8, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

6. 종양의 크기

4주군에서 대조군과 실험군 사이의 종양의 크기를 비교한 결과 대조군 유두종의 평균 크기는 1,120 μ m로 실험군에 비하여 크게 나타났으며 특히 고농도로 투여한 BB4군에서는 가장 작은 크기로 938 μ m이었다(Fig. 15A). 대조군 고형종의 평균크기

는 906 μ m로 가장 크게 관찰되었으며, BB4군은 745 μ m로 가장 작았다(Fig. 15B).

8주 대조군의 유두종 평균크기는 1168 μ m이었으며, BB8군이 973 μ m로 가장 작았다(Fig. 16A). 8주 대조군 고형종 크기는 1138 μ m로 가장 크게 관찰되었으며, BA8군은 898 μ m, BB8군은 986 μ m이었다(Fig. 16B)

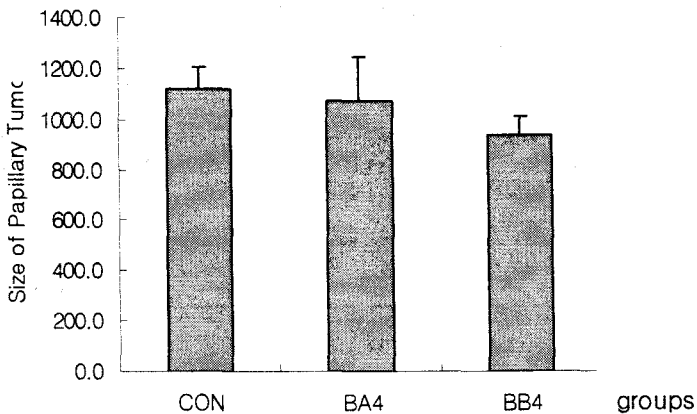


Fig. 15A. The size of papillary tumor from CON, BA4 and BB4 groups in 4 weeks groups. CON, control group administered with urethane; BA4, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB4, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

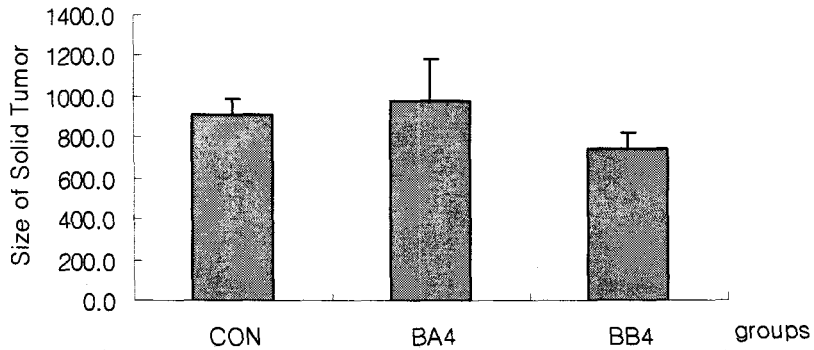


Fig. 15B. The size of solid tumor from CON, BA4 and BB4 groups in 4 weeks groups. CON, control group administered with urethane; BA4, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB4, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean \pm SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

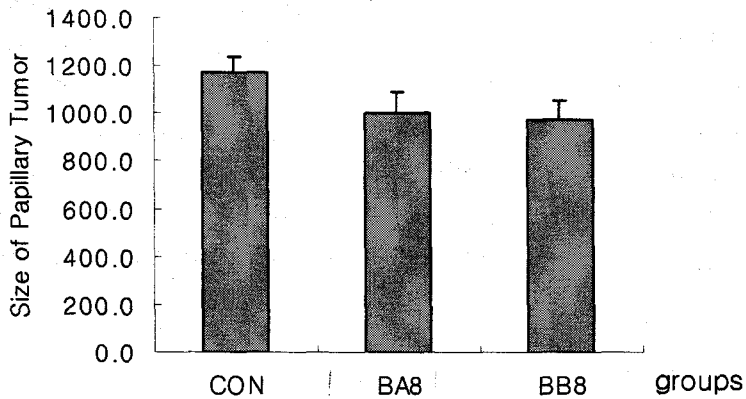


Fig. 16A. The size of papillary tumor from CON, BA8 and BB8 groups in the 8 weeks group.

CON; control group administered with urethane; BA8, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB8, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean \pm SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

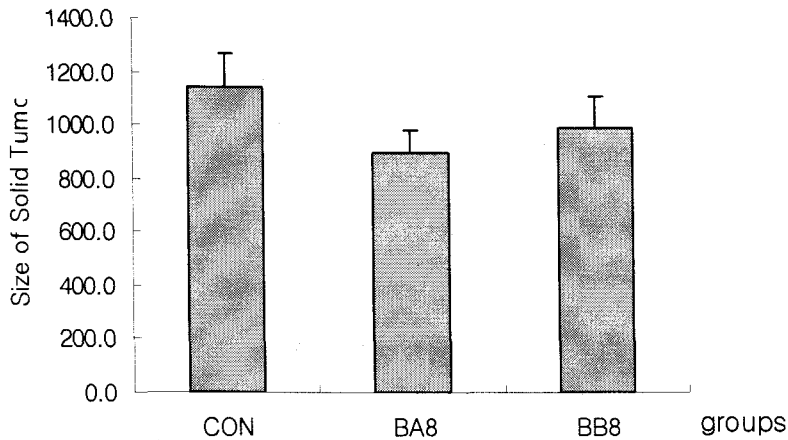


Fig. 16B. The size of papillary tumor from CON, BA8 and BB8 groups in the 8 weeks group.

CON, control group administered with urethane; BA8, feeding of Soeuminbojungikgitang (0.4g/kg/day), BB8, feeding of Soeuminbojungikgitang (2.0g/kg/day), Values are Mean±SE, Standard error; Prob > |T|, Values in the 0.05 and 0.01.

7. 세기관지 주변부에 대한 면역조직화학 검색

COX-2 면역조직화학 검색 결과 4주 대조군(Fig. 17A)에서는 암세포의 전이가 관찰되지 않은 세기관지의 평활근에서 높은 면역반응성을 보여주었으나, BA4군(Fig. 17B)과 BB4군(Fig. 17C)에서는 세기관지 평활근에서 면역반응성이 나타나지 않았다. 8주 대조군(Fig. 17D)의 세기관지 평활근에서 COX-2에 대한 면역반응성이 높게 관찰되었으나, BA8군(Fig. 17E)과 BB8군(Fig. 17F)에서는 염색성이 아주 미약하게 나타났다.

인슐린과 유사한 대사효과를 갖고 있으면서 세포의 증식과 분화를 자극하는 Insulin-like growth factor (IGF)에 대한 세기관지 주변부의 면역반응성을 관찰한 결과 4주 대조군(Fig. 18A)에서 가장 낮게

나타났으며, 실험군에서는 BA4(Fig. 18B)에 비하여 BB4군(Fig. 18C)에서 가장 높게 나타났다. 8주 대조군에서도 4주 대조군과 같이 IGF- I에 대한 면역반응성이 아주 미약하게 나타났으며, BA8군(Fig. 18E)과 BB8군(Fig. 18F)에서는 4주 실험군에 비하여 높게 관찰되었다.

유두종에 대한 면역조직화학 검색

4주 대조군(Fig. 19A)에서 COX-2에 대한 면역조직화학반응이 부분적으로 높게 나타났으나, BA4군(Fig. 19A,B)과 BB4군(Fig. 19C)에서는 아주 미약한 반응을 보여주었다. 8주 대조군(Fig. 19D), BA8군(Fig. 19E)과 BB8군(Fig. 19F)군에서는 면역반응성이 아주 미약하였다.

고형종에 대한 면역조직화학 검색

고형종에 대한 COX-2의 면역조직화학 검색 결과 4주 대조군(Fig. 20A)에서는 다소 높게 나타났으나, BA4군(Fig. 20B), BB4군(Fig. 20C)에서는 면역반응성이 거의 나타나지 않았으며, 8주 대조군(Fig. 20D)을 비롯하여 BA8군(Fig. 20E)과 BB8군(Fig. 20F)에서는 반응성이 없었다.

유두종에 대한 IGF-1의 면역조직화학 염색 결과 대조군(Fig. 21A)과 BA4군(Fig. 21A)에서는 다소 높게 나타났으나, BB4군(Fig. 21C)에서는 나타나지 않았다. 8주 대조군(Fig. 21D)과 BA8군(Fig. 21E)에서는 면역반응성이 미약하게 나타났으나, BB8군(Fig. 21F)에서는 관찰되지 않았다.

고형종에 대한 IGF-1의 면역조직화학 염색 결과 4주 대조군(Fig. 22A), BA4군(Fig. 22B), BB4군(Fig. 22C)에서는 반응성이 거의 나타나지 않았다. 8주 대조군(Fig. 22D)과 BA8군(Fig. 22E)에서는 면역반응성이 다소 높게 나타났으나, BB8군(Fig. 22F)에서는 아주 미약하게 나타났다.

8. 폐의 전자현미경 관찰

8주 대조군의 유두종양 조직에서 관찰되는 과립허파파리세포(pneumocyte type II)는 핵의 모양이 둥글고 핵질이 발달해 있었다. 조면소포체의 발달이 미약하였으며, 세포질내에서는 전자밀도가 낮은 물질들이 거품모양으로 나타나기도 하였다. 허파파리 큰포식세포(alveolar macrophage)의 핵은 핵막이 다소 불규칙하였으나 핵질은 발달해 있었고 세포질에서는 다수의 lysosome과 전자밀도가 낮은 소포들이 관찰되었으며 모세혈관 내에서는 하나의 백혈구가 관

찰되었다(Fig. 23). 과립허파파리세포가 퇴화되어 전자밀도가 높게 나타났는데 다수의 못층판소체들이 모세혈관과 인접한 세포질에서 관찰되었다(Fig. 24). 암세포로 변형된 과립허파파리세포는 2개의 핵을 가지고 있었는데 세포질에서는 다수의 사립체와 조면소포체 그리고 잘 발달된 골지복합체와 같은 세포소기관들이 관찰되었다. 또한 소포성 또는 거품 모양의 세포질 및 다수의 못층판소체들이 관찰되었다. 외측상단에서 관찰되는 허파파리 큰포식세포는 커다란 핵을 가지고 있었는데 세포질에서는 다수의 용해소체와 포음소포들이 관찰되었다. 한편 좌측 하단에서 관찰되는 과립허파파리세포는 전자밀도가 다소 높게 관찰되었는데 세포질에서는 잘 발달된 조면소포체와 골지복합체가 관찰되었다(Fig. 25). 모세혈관내에서는 적혈구가 관찰되었으며, 허파파리 큰포식세포에서는 다수의 일차 lysosome과 이차 lysosome이 관찰되었다. 과립허파파리세포는 핵의 핵막이 다소 불규칙하지만 핵질은 매우 발달해 있었다. 세포질에서는 다수의 사립체와 발달된 조면소포체가 관찰되었으며, 다수의 못층판소체들이 관찰되었다. 세포질 유리연에서는 짧은 세포질돌기들이 다수 관찰되어 정상적인 세포 형태를 보여주었다(Fig. 26). 모세혈관과 접하여 5개의 과립허파파리세포가 관찰되었는데 이들 세포의 핵막은 다소 불규칙하였으나 핵질은 발달해 있었다. 세포질에서는 못층판소체들이 다수 관찰되었을 뿐만 아니라 거품모양의 크고 작은 소포들이 세포질 전반에 걸쳐 다량 관찰되었다(Fig. 27). 변형된 폐포 주위에서 비정상적인 형태를 보여주는 암세포들이 관찰되었다. 변형된 암세포들의 세포질에서는

폐포 속으로 커다란 세포질 돌기를 내고 있으며, 이들 세포질돌기에는 아주 발달된 조면소포체가 관찰되었는데 소포체 내강에는 계면활성제 전구물질로 사료되는 것들이 존재하였다. 하단 우측에서는 세포질에 비하여 핵이 매우 큰 과립허파파리세포가 관찰되었는데 이 세포 또한 폐포 속으로 돌출되어 있는 양상을 보여 주었으며, 폐포 속에는 과잉의 계면활성제로 가득 차 있었다(Fig. 28).

BA8군에서 관찰되는 과립허파파리세포는 핵의 핵막이 부분적으로 손상된 양상을 보여주었으며, 세포질에는 전자밀도가 높은 Clara 세포 과립이 집적되어 있었고 못층판소체와 커다란 이차 lysosome이 다수 관찰되었다. 퇴화되어 가는 것으로 보이는 과립허파파리세포에서는 다수의 사립체와 전자밀도가 낮은 물질들이 세포질 대부분을 채우고 있었다(Fig. 29). 퇴화되어 가는 2개의 과립허파파리세포는 핵의 핵막이 매우 불규칙하고 핵질의 발달이 미약하였으며 세포질에서는 lysosome으로 보이는 전자밀도가 높은 세포소기관이 다수 관찰되었으나 전반적으로 세포소기관의 형태가 뚜렷하지 않았고 세포의 유리면에서는 암세포에서 관찰되었던 짧은 미세융모들이 거의 관찰되지 않았다(Fig. 30). 또한 다수의 백혈구들이 집적되어 관찰되었다(Fig. 31).

BB8군에서는 두 모세혈관 사이에서 하나의 허파파리가 관찰되었는데 모세혈관 내피세포의 핵은 둥글고 핵질이 발달해 있었으며, 단층편평상피세포의 세포질이 일정하게 나타났다. 허파파리사이막(intervallole septum)에서는 허파파리 큰포식세포와 섬유모세포가 관찰되었는데 큰포식세포

는 작은 세포질돌기를 내고 있었으며, 세포질에서는 여러개의 자가포식액포들이 관찰되었다. 섬유모세포는 비교적 전자밀도가 낮게 나타났는데 세포질에서는 아교섬유들이 관찰되었다(Fig. 32). 파리허파파리세포와 호흡허파파리세포로 구성된 폐포와 인접합 모세혈관이 관찰되었는데 과립허파파리세포에서는 많은 못층판소체들이 관찰되었으며, 세포의 유리면에서는 짧은 미세융모들이 관찰되었다. 호흡허파파리세포는 비교적 두껍게 관찰되었다(Fig. 33).

IV. 고 찰

폐암의 대부분은 흡연과 연관된 발암물질과 종양촉진자(tumor promotor)에 의해서 유발되며 국소적인 종양의 침범, 주변장기의 폐쇄 또는 침범, 림프관 전이에 따른 영역 림프절의 종대, 혈행성 전이 후 원위 전이병소의 성장과 부종양후후군(paraneoplastic syndromes) 등에 의하여 다양하게 나타나나 대부분 기침, 체중감소, 호흡곤란, 흉통, 견갑통, 골통, 두통, 간질발작, 쉰 목소리, 각혈, 곤봉지 등으로 다양한데 이러한 증상이 일반적인 호흡기계 질환과 유사하기 때문에 조기진단이 늦어져 치료시기를 놓치는 경우가 많다¹⁻⁴. 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^{1,34}.

韓醫學에서 肺癌은 正氣가 損傷되어 肺氣가 虛해지면 邪毒이 肺에 侵犯하여 宣發과 肅降機能이 失調되고 氣機가 不暢하여 津液이 散布되지 못하므로 脈絡이 阻塞되어 氣滯血瘀하고 痰濕이 內聚하여 腫塊가 形成된 것이라 하였으며³³, 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을 나타내는 것으로서, 《黃帝內經》⁵에서 “病脅下有滿 氣逆 二三歲不已 是爲 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.

본 실험에 사용된 少陰人 補中益氣湯은 《東醫壽世保元》¹⁷에 收載된 少陰人體質의 代表的인 處方으로서, 〈少陰人 腎受熱 表熱病論〉에서 “發熱惡寒而有汗者 此亡陽 初證也”과 〈少陰人 泛論〉에서 “太陽陽明之危者”에 사용하는 것으로 나와 있으며, 이후 醫家들에 의하여 少陰人의 亡陽初證, 勞倦虛弱, 自汗, 內傷, 脾胃虛弱, 陰虛證, 食少無味, 元氣不足 등의 증상에 應用되어 왔으며^{18,19}, 실험적 연구를 통하여 조 등²⁰이 세포성 및 체액성 면역반응저하와 체중

저하에 대한 회복효과 등을, 김 등²¹이 S-180에 대한 생명연장 및 cyclophosphamide에 의한 부작용감소효과 등을 보고하였다.

少陰人 補中益氣湯은 黃芪, 人蔘, 白朮, 當歸, 陳皮, 藿香, 蘇葉, 炙甘草로 構成되어 있으며¹⁷, 黃芪는 선천적 및 특이적 면역반응 증진³⁴을, 人蔘은 methotrexate로 유발된 생쥐의 면역반응 증진 효능³⁵을, 白朮은 白朮의 추출물이 세포독성과 항균효과 검색에서 유의한 결과³⁶를, 當歸는 면역 증강 효과³⁷를, 蘇葉은 폐혈관에 대한 이완작용이 있어서 호흡기질환으로 수반되는 각종 질환들에 유의한 결과³⁸를, 그리고 甘草는 면역세포에 의해 일어나는 부작용 감소 효과³⁹가 각각 보고되었다.

그 외에 韓藥處方에 對한 抗癌 및 免疫學的 研究로는 이 등⁴⁰은 四君子湯 투여에 의해 숙주의 체액성·세포성 면역능이 증가되고 면역학적 감시에 관여하는 NK세포들의 활성증가를, 민 등⁴¹은 補中益氣湯이 물리적인 스트레스로 저하된 세포성·체액성 면역반응과 억제된 항암면역세포의 활성 등을 모두 회복시킨다는 보고가 있었으며, 김 등^{42,43}은 歸茸湯, 少陰人 十全大補湯이 세포성·체액성 면역 증강작용을, 장 등⁴⁴은 蔘茸湯이 용량에 비례하여 S-180에 대한 종양과 cyclophosphamide에 의한 부작용에 유효하게 활용될 수 있다는 보고를, 김 등⁴⁵은 八物湯이 prednisolone의 장기복용으로 인하여 발생하는 면역반응 저하에 유효하다는 보고가 있었으나, 少陰人 補中益氣湯이 폐암에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究는 접하지 못하여 本研究를 施行하였다.

Urethane(ethyl carbamate; NH₂·COO Et)은 생체 내에서 alkylation을 일으켜 염

색체에 손상을 주고 변이를 유도하며, 여러 장기에 암 발생을 촉진하는 것으로 알려져 있으며^{22,23}, 다른 장기보다는 주로 폐에 종양을 일으키므로 변연부에 위치한 폐종양 발생 과정을 추적 관찰하는 실험적 모델에 자주 이용되었다²⁴⁻²⁷. 이에 著者는 扶正培本의 效能이 있고 構成藥物中 多數가 抗癌作用이 認定된 少陰人 補中益氣湯이 폐암에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 하여 A/J mouse에 urethane (1mg/g of body weight)을 복강 투여한 14주 후에 폐암유발을 확인한 후 少陰人 補中益氣湯 투여량과 투여기간을 달리하여 선정된 실험군을 통해 체중의 변화, 혈액학적 변화, 종양의 개수 및 크기 변화, 육안적·광학현미경·전자현미경관찰 및 면역조직화학 검사를 하였다.

대조군은 urethane을 투여하여 폐암을 유발한 다음 약물을 처치하지 않고 자연치유과정을 거치게 하였고 실험군은 투여량과 투여기간을 달리하여 少陰人 補中益氣湯 건조분말 0.4g/kg을 4주간 매일 구강 투여한 것을 BA4군, 8주간 투여한 것을 BA8군으로 하고, 건조분말 2.0g/kg을 4주간 매일 구강 투여한 것을 BB4군, 8주간 투여한 것을 BB8군으로 하여 少陰人 補中益氣湯이 폐암 발생 억제 및 폐기관지 보호 효과와 면역증강 작용에 미치는 영향을 살펴보았다.

대체적으로 종양이 존재할 경우 현저한 식욕부진과 함께 탈수 증상이 수반되며, 이로 인한 만성적인 체중감소가 초래되는데^{46,47}, 체중의 변화는 대조군의 체중이 가장 높은 경향을 보였고, BA군의 체중이 가장 낮은 경향을 나타냈으나 유의성이 없었으며, 이는 조 등²⁰의 少陰人 補中益氣湯

이 체중저하에 회복효과가 있다는 보고와 비교해 볼 때 유의성 있는 변화를 관찰할 수 없었다.

일반적으로 암환자에게는 혈소판수가 감소하고 응집력이 떨어지게 되며 이때 혈소판은 암세포주위에 부착하여 오히려 암세포를 보호하는 역할을 한다⁴⁸. 따라서 암의 전이여부를 판정하는데 있어 혈소판수는 암의 전이를 살펴보는 지표가 될 수 있다⁴⁹. 또한 종양이 존재할 경우 백혈구의 수는 감소되는 것으로 알려져 있으므로 백혈구 수는 면역력의 증감 여부를 판단하는 기준이 될 수 있다^{46,47}.

혈액학적인 변화를 살펴보면 혈소판수는 BA4군과 BB4군에서 증가하였으며, 백혈구 수는 BA8군과 BB8군에서 증가하였는데 이러한 결과로 볼 때 少陰人 補中益氣湯이 항암 효과가 있는 것으로 사료되나 팍 등⁴⁹의 보고와 비교해 볼 때 본 연구에서는 혈소판과 백혈구 수의 유의성 있는 변화를 관찰할 수 없었다.

육안적 관찰에서 대조군의 폐는 다수의 유두종이 관찰되고 표면과 색상이 고르지 못한 것에 비해 실험군에서는 투여량과 투여기간에 비례하여, 특히 BB8군에서는 소수의 유두종만 관찰되었고 크기도 비교적 작았다.

광학현미경적 관찰에서는 대조군에서 다수의 유두종과 소수의 고형종이 보였으며 hematoxylin과 eosin에 대해서 강한 염색성을 보여주는데 비해 실험군에서는 투여량과 투여기간에 비례하여 특히 BB8군에서 암세포 밀도도 낮았으며 염색성도 미약했다. 이는 육안적 관찰의 결과와도 일치하는 것으로 少陰人 補中益氣湯이 투여량과 투여기간에 비례하여 폐암증식 억제

와 항암효과를 발휘하는 것으로 사료된다.

종양의 수와 크기에 대한 통계적 접근을 살펴보면 대조군에 비해 실험군에서 유의성 있는 감소를 보였는데 그 중에서도 8주 실험군이 보다 더 좋은 결과를 나타내었다. 하지만 종양의 종류에 따라 각기 다른 결과를 나타내었는데 종양의 수에 있어서는 대조군에 비하여 유두종에서 BA8군이 약 51.9%, 고형종에서는 BB8군이 약 61.5% 감소를 보여 통계적으로 유의성이 있었지만 종양의 크기에 있어서는 대조군에 비하여 유두종에서 BB8군이 195 μ m 차이로 약 16.7%, 고형종에서는 BA8군이 240 μ m 차이로 약 21.1% 정도 크기가 작아지는 것을 보여주었다. 이는 少陰人 補中益氣湯의 장기간 투여가 폐암증식 억제와 항암효과가 있다는 육안적, 광학현미경적 관찰과 일치하나 종양의 종류에 대한 적정 투여량에 대해서는 체계적인 연구가 보다 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

대부분의 선암종(adenocarcinomas)과 사람 폐의 전암성 상해 (pre-malignant lesion)시 약 1/3에서 COX-2 단백질과 mRNA의 발현은 높아진다고 하였으며^{50,51}, 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 하였다⁵². 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^{53,54}. 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 있다^{55,56}.

세기관지 주변부에 대한 COX-2와 IGF-I 면역조직화학 검색 결과 대조군에서는 암세포 전이가 관찰되지 않은 세기관지의 평활근에서 유두종과 고형종 모두에서 높은 면역반응성을 나타내었으나 실험군에서는 면역반응성이 아주 미약하거나 반응이 없었는데 특히 BB8군에서 뚜렷하였는데 이는 少陰人 補中益氣湯이 폐암에 대하여 투여량과 투여기간에 비례하여 면역반응과 항암효과를 나타낸다는 이전의 실험과 일치하는 것이다.

전자현미경적 관찰을 보면 8주 대조군의 유두종양 조직에서 관찰되는 과립허파파리세포(pneumocyte type II)와 허파파리 큰포식세포(alveolar macrophage)에서 핵의 핵막은 다소 불규칙하고 조면소포체의 발달이 미약하였으며, 세포질내에서는 전자밀도가 낮은 물질들이 거품모양으로 나타나기도 하였고 변형된 폐포 주위에서 비정상적인 형태를 보여주는 암세포들이 관찰되었고 그 세포질에서는 폐포 속으로 커다란 세포질 돌기를 내고 있었는데 이는 활발한 종양증식 과정을 보여주는 것이다. 반면 BA8군에서 관찰되는 과립허파파리세포는 핵의 핵막이 부분적으로 손상된 양상을 보여주었는데 전반적으로 세포소기관의 형태가 뚜렷하지 않았고 세포의 유리면에서는 암세포에서 관찰되었던 짧은 미세융모들이 거의 관찰되지 않는 것으로 보아 부분적인 종양증식 억제 효과를 보이고 있었다. BB8군에서는 두 모세혈관 사이에서 하나의 허파파리가 관찰되었는데 모세혈관

내피세포의 핵은 등글고 핵질이 발달해 있었으며, 단층편평상피세포의 세포질이 일정하게 나타나는 것으로 보아 BA8군에 비하여 보다 확실한 종양증식 억제 작용과 항암작용을 나타내는 것을 알 수 있는데 이는 이전 실험결과와 마찬가지로 少陰人 補中益氣湯의 효과가 투여량과 투여기간에 비례함을 다시 한번 확인한 것으로 사료되며 완전한 세포 복원과 종양세포 사멸을 위한 보다 깊은 연구가 필요할 것이다.

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

그리고 체중변화와 혈액학적 변화가 타 실험결과와 일치하지 않는 점과 종양의 수와 크기에 대한 통계학적 접근에서 종양 종류에 따라 적정투여량이 다른 점들은 보다 깊은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

A/J mouse에 urethane (1mg/g of body weight)을 복강투여한 14주 후 폐암을 유발한 생쥐에 扶正倍本의 효능이 있고 구성 약물 중 多數가 항암작용이 인정된 少陰人 補中益氣湯의 효능을 규명하기 위하여 투

여량과 투여기간을 달리하여 선정된 실험군을 통해 체중의 변화, 혈액학적 변화, 종양의 개수 및 크기 변화, 육안적·광학현미경·전자현미경관찰 및 면역조직화학 검색을 한 결과 유의성이 있었기에 보고하는 바이다.

1. 체중과 혈액학적인 변화는 대조군과 실험군에서 유의성이 없었다.
2. 육안적 관찰 결과 대조군에 비하여 종양의 수에 있어서 유두종의 경우 BA8군이 약 51.9%, 고형종의 경우 BB8군이 약 61.5% 감소를 나타내었고, 크기에 있어서는 유두종의 경우 BB8군이 약 16.7%, 고형종의 경우 BA8군이 약 21.1% 감소를 나타내었다.
3. 광학현미경 관찰 결과 대조군에 비해 특히 BB8군에서 미약한 암세포 밀도와 낮은 염색성을 보였다.
4. 세기관지 주변부에 대한 COX-2와 IGF-I 면역조직화학 검색 결과 대조군에 비해 BB8군에서 미약한 면역 반응성을 나타내었다.
5. 전자현미경 관찰 결과 대조군에 비해 실험군에서 종양세포의 변이과정이 적었다.

參 考 文 獻

1. 해리슨 내과학 편찬위원회. 내과학. 서울: 정담; 1997, p.1316-1325.

2. 배기채, 김성훈. 肺癌의 辨證과 治方에 대한 文獻的 考察. 大田大學校 韓醫學研究所 論文集 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醫. 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.392-4, 486.
17. 李濟馬. 東醫壽世保元. 서울: 杏林出版; 1996, p.29, 54, 68.
18. 朴寅商. 東醫四象要訣. 서울: 소나무; 1991, p.193-194.
19. 宋炳基. 方證新編. 서울: 東園出版社; 1985, p.272.
20. 趙晃晟 外: 少陰人 補中益氣湯 및 十全大補湯과 少陽人 荊防地黃湯 및 十二味地黃湯이 甲狀腺機能亢進症에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 慶熙韓醫大論文集 17 1 : 201-223, 1994.
21. 金秀鎭 外: 補中益氣湯 및 少陰人 補中益氣湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 Cyclophosphamide에 의한 副作用에 미치는 영향, 東醫病理學會誌 8 : 119-136, 1993.
22. Mirvish SS. The carcinogenic action and metabolism of urethane and N-hydroxy-urethane. *Advanc Cancer Res.* 1968;11:1-42.
23. Svensson K. Alkylolation of protein and DNA in mice treated with urethane. *Carcinogenesis* 1988;9:2197-2201.
24. Monobe Y, Manabe T. Morphological change and proliferative activity of alveolar epithelium in mouse lungs treated with urethane. *Virchows Archiv* 1995;425:583-588.
25. Mostofi FK, Larsen CD. The histopathogenesis of pulmonary tumors induced in strain A mice by urethane. *J Natl Cancer Inst* 1951;11: 1187-1221.
26. Re FC, Manenti G, Borrello MG, et al. Multiple molecular alterations in mouse lung tumors. *Mol Carcinog* 1992;5:155-160.
27. 정진행: Urethane 유발 생쥐 폐선암종 발생에서 경시적인 형태 변화와 세포 증식능, p53 및 Rb 단백질 발현에 관한 실험병리학적 연구, 서울大 大學院, 1998.

28. 이은숙 外: 瓊玉膏 및 瓊玉膏 加味方이 폐암에 미치는 영향, 本草學會誌 172 : 101-109, 2002.
29. 강락원 外: 桔梗 수용액 추출물에 의한 인체 폐암세포의 성장억제 기전 연구, 東醫生理病理學會誌, 171 : 183-189, 2003.
30. 강윤경 外: 潤肺散에 의한 폐암세포 증식억제기전에 관한 연구, 東醫生理病理學會誌, 164 : 745-755, 2002.
31. 최병렬 外: 抗癌丹을 투여한 폐암환자 62례에 대한 임상보고, 大田大論文集, 101 : 121-131, 2001.
32. 東新大學校 附屬韓方病院. 東新大學校 附屬韓方病院 處方集. 光州: 東新大學校 出版部; 2000, p.419.
33. 王擎玉. 實用腫瘤臨床. 北京: 中國醫藥科技出版社; 1995, p.94-102.
34. 송봉근: 黃芪가 면역세포의 기능에 미치는 영향, 本草學會誌, 13 2 : 115- 128, 1998.
35. 고경석 外: 人蔘水鍼이 Methotrexate를 투여한 생쥐의 면역반응에 미치는 영향, 慶熙大論文集, 11 : 37-53, 1988.
36. 최은영 外: 白朮 추출물의 세포독성과 항균효과 검색, 東醫生理病理學會誌, 16 2 : 348-352, 2002.
37. 오민철 外: 黃芪 및 當歸의 면역 증강 효과에 관한 연구, 慶熙大論文集, 9 : 343-353, 1986.
38. 이상훈 外: 蘇葉이 폐혈관에 미치는 영향, 東醫生理病理學會誌, 155 : 735-738, 2001.
39. 권문현 外: 甘草와 雷公藤合劑 煎湯液이 마우스의 면역억제에 미치는 영향, 圓光大論文集, 41 : 337-359, 1994.
40. 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 影響, 大韓韓醫學會誌, 102 : 115-122, 1989.
41. 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, 21 : 107-129, 1991.
42. 김덕호 外: 歸茸湯이 면역반응에 미치는 실험적 연구, 大韓韓醫學會誌, 62 : 55-63, 1985.
43. 박성호: 少陰人 十全大補湯이 면역반응에 미치는 영향, 四象醫學會誌, 41 : 221-230, 1992.
44. 장중식 外: 蔘茸湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 Cyclophosphamide에 의한 부작용 감소에 미치는 영향, 大韓韓醫學會誌, 131 : 313-323, 1992.
45. 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, 21 : 42-59, 1987.
46. Sodikoff CH. Laboratory profiles of small animal diseases. A guide to laboratory diagnosis. 2nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book Inc. 1995.
47. 신민규 外: 順氣和中湯과 Doxorubicin의 병용이 Colon-26의 항암효과에 미치는 영향, 大韓韓方內科學會誌, 252 : 183-194. 2004.
48. K. Tanaka, S. Kohga et al. : Effects of tidopidine on blood-bone metastasis. K. Hellman, Matastasis, Clinical and experimental aspect, p.147. 1980
49. 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, 102 :122-140. 1996.
50. 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.
51. 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
52. 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
53. Cohick WS, Clemmons DR. 1993. The insulin-like growth factors. *Annu Rev Physiol* 55:131-153.
54. Le Roith D. Insulin-like growth factors. *N Engl J Med* 336: 633-640, 1997.
55. 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.
56. Yww D, Cullen KJ, Paik S, Perdue J F, 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.