

원저

敗醬藥鍼의 암전이 억제 및 면역 조절 효과에 관한 실험적 연구

박재영 · 박희수

상지대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

Experimental Studies on Antimetastatic and Immunomodulating Effects of *Patriniae Radix* Herbal-acupuncture

Park Jai-young and Park Hee-soo

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, SangJi University

Objectives : This study was designed to investigate the antimetastatic and immunomodulating effects of *Patriniae Radix*.

Methods : Acute and subacute cytotoxicity experiment of *Patriniae Radix* was performed. Antimetastatic experiment was administered in vitro and in vivo. To observe the immunomodulating effects of *Patriniae Radix*, FACS analysis and ELISA assay were performed.

Results : There was no acute and subacute toxicity responses in mouse treated with *Patriniae Radix*. Antimetastatic experiment in vitro and in vivo showed that *Patriniae Radix* has antimetastatic effects. This research revealed that *Patriniae Radix* mediate cellular immunity response. As compared with control, the population of total T cell, helper T cell, cytotoxic T cell and macrophage were increased. The production of Th 1 type cytokines from splenocyte and cytokines which is associated with anti-tumor activity from macrophage were increased significantly.

Conclusion : *Patriniae Radix* Herbal-acupuncture appears to have considerable activity on the treatment of liver metastasis from colon26-L5 carcinoma cell line, and deserves further evaluation in this setting.

Key words : *Patriniae Radix*, metastasis, immunomodulating

I. 緒 論

암은 전 세계에 걸쳐 성인과 어린이에게 질병과 사망을 유발하는 가장 중요한 원인 중 하나이다¹⁾.

2003년 우리나라 사망원인 분석결과에서 암으로 인한 사망자 비율이 전체 사망자수의 25.9%이며 사망원인 1위를 나타내고 있다. 특히 간암, 대장암, 위암, 유방암, 자궁경부암이 5대호발암으로 규정되어 있다²⁾.

한의학에서는 일찍이 周殷時代부터 종양에 대한 기록이 있었는데, 즉 殷墟에서 발견된 甲骨文 상에 “瘤”라는 병명이 기재되어 있었고, 기원전 12세기의《周禮》에는 “貝責治療腫瘍”이라 하여 종양만을 전담하는 腫瘍科가 있었다. 《靈樞經》에서는 종양의 원인에 대해서 “營衛不通”, “寒氣客於腸外, 與衛氣相搏”, “邪氣居其間”이라고 하였으며 《靈樞·刺節眞邪》에서는 “筋瘤, 昔瘤, 腸瘤, 骨疽, 肉疽”라 하여 邪氣의 종류에 따라 종양을 분류하기도 하였다³⁾.

敗醬(Patriniae Radix)은 微寒, 辛苦, 無毒하며 清熱解毒, 消腫排膿, 祛瘀止痛의 효능이 있는 약재로 腸癰이나 癰腫에도 효과가 있어서 오늘날 臨床에서는 肺膿瘍, 肝膿瘍 및 子宮內膜炎, 子宮附屬器炎, 卵巢囊腫 등 證에 비교적 양호한 치료효과가 있는 것으로 알려진 本草이다⁴⁾.

최근 本草(Herb)를 이용한 국내외의 항암에 대한 실험적 연구로는 이⁵⁾의 靑風藤, 박⁶⁾의 芡蓮草, 오⁷⁾의 紅花, 이⁸⁾의 菟絲子, 김⁹⁾의 全蝎, 한¹⁰⁾의 金銀花, Helms S.¹¹⁾의 人蔘, Takaku T. 등¹²⁾의 아가리쿠스 버섯, Shibata Y. 등¹³⁾의 상황버섯, Liao CH. 등¹⁴⁾의 吳茱萸, Iizuka N 등¹⁵⁾의 黃連을 이용한 연구가 보고된 바 있고, 특히 敗醬을 이용한 실험적 연구로는 黃¹⁶⁾과 梁¹⁷⁾ 등이 암세포 고사 및 암세포독성 성분 분리에 관해 보고하였으나, 敗醬藥鍼을 이용하여 암전이 억제효과 및 면역조절 특성에 대한 효과를 입증한 연구는 아직 없었다.

이에 저자는 colon26-L5 carcinoma cell line을 이용한 肝轉移 모델에서 大腸, 肝 등으로 歸經하며 解毒, 消腫, 祛瘀의 효능이 있는 敗醬을 藥鍼으로 제조하고 肝俞(BL18)에 주입하여 암전이 억제 및 면역조절 특성에 대해 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 실험재료

1) 실험동물 및 취혈

실험동물은 6주령 Balb/c계 雌性 mouse를 사용하였다. 모든 동물은 대한바이오링크에서 구입하여 2주 동안 고품사료(삼양사료(주), Korea)와 물을 충분히 주며 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

실험에 사용한 刺鍼부위로는 실험동물에 있어서 인체의 肝俞에 상응하는 부위를 선택하였고, 체표의 털을 제거한 후 骨度分寸法에 의거하여 取穴하였다.

2) 약침의 준비

(1) 약침의 조제

실험에 사용한 敗醬(Patriniae Radix)은 상지대학교 부속한방병원에서 구입한 것으로 정선하여 사용하였다. 먼저 敗醬 300g을 흐르는 물에 깨끗이 세척하여 증류수와 배합한 후 2시간 전탕하여 찌꺼기는 따로 분리하고, 전탕액을 무균실에 있는 증류추출기에 넣고 전탕하여 1000ml의 약침을 얻었다. 얻어진 약침을 0.45 μ m, 0.2 μ m여과지로 2회 여과한 후, 멸균된 용기에 일정 용량 주입하였고, 밀봉하여 멸균기에 다시 멸균과정을 거친 후 시료를 준비하였다.

(2) 약침 주입기

mouse에게 약침을 투여하기 위한 기구로는 26gauge 1ml insulin syringe (Becton Dickinson, U.S.A.)를 사용하였다.

2. 실험방법

1) 약침의 시술

(1) 급성독성실험

실험군을 각각 약침액 0.1ml, 0.2ml 주입군으로 나누어 Balb/c계 mouse의 肝俞에 1회 주입한 후 1주일간 사망유무 및 독성반응 유무를 관찰하였으며 대조군은 PBS (Phosphate buffered saline) 0.2ml를 동일한 방법으로 주입하였다.

(2) 아급성독성실험

실험군을 각각 약침액 0.05ml, 0.1ml 주입군으로 나누어 Balb/c계 mouse의 肝俞에 1주일에 2회씩 총 8회 주입하였고 대조군은 PBS 0.1ml를 동일한 방법으로 주입하였다.

(3) 암전이 억제실험

실험군은 mouse의 肝俞에 약침액을 2주일 동안 매일 0.1ml씩 주입하였고 대조군은 PBS를 동일한 방법으로 주입하였다.

(4) 면역증진효과 실험

실험군은 mouse의 肝俞에 약침액을 2주일 동안 매일 0.1ml씩 주입하였고 대조군은 PBS를 동일한 방법으로 주입하였다.

2) 세포의 배양

(1) 배지의 구성

RPMI-1640 (Gibco BRL, USA)에 sodium bicarbonate (Amresco, USA) 2g과 HEPES(Amresco, USA) 3.77g penicillin- streptomycin (Penicillin 10,000unit/ml, streptomycine 10,000 μ g/ml, Gibco BRL, USA) 10ml를 증류수에 넣고 1l로 조정한 후 pH를 7.2로 맞추고 0.22 μ m disposable sterile bottle top filter (Corning, USA)로 여과하여 기본배지로 사용하였으며 암세포 및 비장세포의 배양시 FBS(Fetal Bovine Serum, JRH bioscience, USA)를 농도가 10%가 되도록 첨가하여 사용하였다.

(2) 암세포의 배양

실험에 사용하는 암세포주는 colon26-L5 carcinoma cell line으로 일본 토야마의약대학 화한약연구소에서 분양받아 5% CO₂와 95% air의 배양기에서 37°C를 유지하면서 배양하였다.

(3) 암전이 유발

실험적 간전이 모델은 Ohnishi¹⁸⁾ 등의 방법에 준하였다. in vitro 상에서 배양한 colon26-L5 대장암 세포를 2 \times 10⁶cells/ml가 되도록 세포현탁액을 만들어 Balb/c계 mouse를 개복한 후 간문맥을 통하여 0.1ml씩 주입하였다. 간문맥으로 주사된 대장암세포는 간에 전이암을 형성하게 된다.

(4) 비장세포의 준비

BALB/c계 mouse에 약침술을 20일간 시행하고 마지막 시술 다음 날 mouse를 cervical dislocation으로 치사시킨 후 비장을 적출하여 PBS로 세척하고 RPMI배지가 들어있는 Petri dish(35 \times 100mm)에서 작은 해부가위로 절단한 다음 cell strainer(40 μ m, Becton Dickinson, USA)로 여과하여 조직편 및 분리되지 않은 세포덩어리를 제거한 후 1500rpm에서 3분간 3회 원심분리하여 세척하고 complete RPMI 배지에 부유시켰다.

(5) 복강세포의 준비

Balb/c계 mouse에 약침을 2주일간 주입한 후 마지막 시술 다음 날 mouse를 cervical dislocation으로 치사시킨 후 21gauge 10ml syringe를 이용하여 복강으로부터 복강면역세포를 회수한다. 복강세포를 채취하기 4일 전 3% thioglycolate를 2ml씩 복강을 통하여 주입하여 복강세포를 활성화시킨다. 채취된 복강세포는 1500rpm에서 3분간 3회 원심분리하여 세척하고 complete RPMI 배지에 부유시켰다.

3. 측정항목

1) 급성독성

(1) LD50 측정

약침을 0.1ml, 0.2ml로 주입한 실험군, PBS를 0.2ml로 주입한 대조군 및 아무런 처치도 하지 않은 정상군을 일주일동안 관찰하면서 사망한 개체수를 측정하였다.

(2) 임상관찰 및 체중측정

약침을 0.1ml, 0.2ml로 주입한 실험군, PBS를 0.2ml로 주입한 대조군 및 아무런 처치도 하지 않은 정상군을 일주일동안 관찰하면서, 약침 주입 후부터 실험종료일까지 1일 1회 호흡, 운동성, 경련, 반사, 안구증상, 심장혈관계 증상, 입모, 통각, 근긴장 및 기타 독성반응 등의 상태를 관찰하였다. 체중은 실험기간 동안 총 4회 측정하였다.

(3) 채혈

실험 종료일에 ether로 마취한 뒤, 복대정맥을 통하여 혈액을 채취하였다. 채혈 직후 1ml는 EDTA tube(Becton Dickinson, USA)에 넣어 CBC 검사에

사용하였고, 나머지는 SST 진공 tube(Becton Dickinson, USA)에 넣어 원심분리기를 이용하여 3,000rpm으로 20분간 원심분리한 뒤 혈청을 분리하여 생화학적 검사에 사용하였다.

(4) Complete blood count 측정

EDTA bottle에 보존한 혈액을 이용하여 자동혈구계수기(sysmex kx-21, Japan)를 이용하여 WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, MCV(Mean corpuscular volume), MCH(Mean corpuscular hemoglobin), MCHC(Mean corpuscular hemoglobin concentration), Platelet를 측정하였다.

(5) 생화학적 혈청검사

vacutainer tube에 넣은 후 분리한 혈청을 이용하여 Biochemical Analyser(TBA-20R, Toshiba, Japan)를 이용하여 total protein, albumin, BUN(Blood urea nitrogen), creatinine, B/C(BUN/creatinine) ratio, uric acid, glucose, globulin, A/G (albumin/globulin) ratio, AST (Aspartate aminotransferase), ALT (Alanine amino-transferase), ALP(Alkaline phosphatase), triglyceride를 측정하였다.

2) 아급성 독성

(1) 임상관찰 및 체중측정

약침을 0.05ml, 0.1ml로 주입한 실험군, PBS를 0.1ml로 주입한 대조군 및 아무런 처치도 하지 않은 정상군으로 나누어, 약침 주입 후부터 실험종료일까지 1일 1회 호흡, 운동성, 경련, 반사, 안구증상, 심장혈관계 증상, 입모, 통각, 근긴장 및 기타 독성반응 등의 상태를 관찰하였다. 체중은 실험기간 동안 1주 2회씩 측정하였다.

(2) 장기의 무게 측정

실험 종료일에 체중을 측정하고 채혈을 한 뒤, 간, 비장, 신장을 적출하여 저울을 이용하여 무게를 측정하였다.

(3) 채혈

실험 종료일에 ether로 마취한 뒤, 복대정맥을 통하여 혈액을 채취하였다. 채혈 직후 1ml는 EDTA tube(Becton Dickinson, USA)에 넣어 CBC 검사에 사용하였고, 나머지는 SST 진공 tube(Becton Dickinson,

USA)에 넣어 원심분리기를 이용하여 3,000rpm으로 20분간 원심분리한 뒤 혈청을 분리하여 생화학적 검사에 사용하였다.

(4) Complete blood count 측정

EDTA bottle에 보존한 혈액을 이용하여 자동혈구계수기(sysmex kx-21, Japan)를 이용하여 WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, MCV, MCH, MCHC, Platelet를 측정하였다.

(5) 생화학적 혈청검사

vacutainer tube에 넣은 후 분리한 혈청을 이용하여 Biochemical Analyser(TBA-20R, Toshiba, Japan)를 이용하여 total protein, albumin, BUN, creatinine, B/C ratio, uric acid, glucose, globulin, A/G ratio, AST, ALT, ALP, triglyceride를 측정하였다.

3) 항암효과

(1) in vitro 암세포 증식 억제 작용

지수증식기에 이른 colon26-L5 carcinoma cell을 수거하여 PBS로 2회 세척한 후 1×10^5 cells/ml의 농도로 만든 후 96-well microplate에 $100 \mu\text{l}$ 씩 분주한 후 24시간 동안 preincubation하였다. 24시간 후 배지를 제거하고 약침을 희석하여 첨가한 후 다시 48시간 동안 배양한 뒤 XTT법에 의해 세포독성을 측정하였다.

(2) in vivo 암전이 억제작용

① 체중측정

실험기간 동안 1주 2회씩 체중을 측정하였다.

② 간의 무게 측정

실험기간 종료 후 mouse로부터 간을 적출한 뒤 무게를 측정하여 실험군과 대조군 및 정상군의 간 무게의 차이를 비교하였다.

③ 간의 육안적 관찰

적출한 간을 육안적으로 관찰한 뒤 사진을 찍어 비교하였다.

④ 타 장기의 무게 측정

mouse로부터 간을 적출한 후 비장과 신장을 적출하고 그 무게를 측정하여 실험군, 대조군과 정상

군의 장기의 무게차이를 비교하였다.

4) 면역증진 효과

(1) 비장부유세포의 준비

BALB/c계 mouse에 약침시술을 2주일간 시행하고 마지막 시술 다음 날 mouse를 cervical dislocation으로 치사시킨 후 비장을 적출하여 PBS로 세척하고 RPMI배지가 들어있는 Petri dish(35×100mm)에서 작은 해부가위로 절단한 다음 cell strainer(40 μ m, Becton Dickinson, USA)로 여과하여 조직편 및 분리되지 않은 세포덩어리를 제거한 후 1500rpm에서 3분간 3회 원심분리하여 세척하고 complete RPMI 배지에 부유시켰다.

(2) 비장세포의 proliferation assay

mouse로부터 분리한 비장세포를 1×10⁶cells/ml로 complete RPMI배지에 부유시킨 후 100 μ l씩 96-well microplate에 분주하고 1 μ g/ml의 Con A(concanavalin A, Sigma), LPS(lipopolysaccharide, Sigma)와 함께 72시간 배양한 후 XTT법에 의해 proliferation을 ELISA-reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

(3) 비장세포의 differentiation 측정-FACS analysis

① 면역형광염색 (immunofluorescence staining)

비장세포 현탁액을 1×10⁶cells/ml씩 counting 하여 5ml tube에 1ml씩 분주하였다. 이후 CD3, CD4, Mac-1 FITC-conjugated antibody를 50 μ l씩 가한 후 실온에서 15분 동안 반응시킨 후 double staining으로 CD19, CD8, NK1.1 PE-conjugated antibody를 50 μ l씩 가한 후 실온에서 30분 반응시켰으며 이상의 면역형광염색 과정은 빙욕(ice bath) 상에서 시행하였다.

② 세포의 유식 분리 분석

염색이 완료된 세포들을 0.5ml의 완충액에 부유시켜 FACS vantage (Becton Dickinson Co., USA)를 이용하여 분석하였다. 시료당 5,000개의 세포에 대하여 list mode로 자료를 취합하였으며 Cell Quest 프로그램을 이용, 분석하였다. data의 분석은 forward scatter (FSC)와 side scatter (SSC)의 dual parameter를 이용한 dot plot 상에서 전체 비장세포와 small

lymphocyte 영역 및 lymphoblast 영역을 구분하여 그 중의 B cell, Total T cell, CD4+ T cell, CD8+ T cell, Mac-1+ cell, NK1.1 cell의 비율을 산출하였다.

(4) 비장세포로부터의 cytokine 산생능 측정

Splenocytes에 의해 분비되는 Th-1 type cytokine (IFN- γ) 및 Th-2 type cytokine(IL-4)의 양을 specific ELISA kits(BD Bioscience, USA)를 사용하여 측정하였다. 비장세포를 1×10⁶cells/well로 96-well microplate에 분주하고 1 μ g/ml의 Con A와 함께 24시간 배양한 후 cell-free 상등액을 준비하여 실험에 사용하였으며, cell-free 상등액은 실험에 사용할 때까지 -70℃에 보관하였다.

(5) 복강 macrophage로부터의 cytokine 산생능 측정

복강세포로부터 분비되는 cytokine인 IFN- γ 와 IL-12의 양을 specific ELISA kits(BD Bioscience, USA)를 사용하여 측정하였다. mouse로부터 분리한 복강세포를 1×10⁶cells/well로 96-well microplate에 분주하고 1 μ g/ml의 LPS와 함께 24시간 배양한 후 cell-free 상등액을 준비하여 실험에 사용하였으며, cell-free 상등액은 실험에 사용할 때까지 -70℃에 보관하였다.

4. 통계처리

실험에 사용한 통계프로그램은 SPSS 10.0을 사용하였으며 ANOVA test 및 Tukey's multiple comparison을 시행하여 각각의 경우 P<0.05인 경우 유의성이 있는 것으로 하였다.

III. 成 績

1. 급성독성 실험

1) LD50

실험군과 대조군 모두에서 1주일간 사망한 mouse가 없어서 LD50을 구할 수 없었다(Table 1).

Table 1. Mortality of mouse treated with *Patriniae Radix*

Group	No. of animal	Hours after treatment								Final Mortality
		1	12	24	48	72	96	120	144	
Normal	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
Control	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
PR 0.1ml	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
PR 0.2ml	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10

Values are the number of animal.

Normal : Non-treated group.

Control : Administration of injection with 0.2ml PBS at Kansu(BL18) for a week(one time per week).

PR 0.1ml : Administration of injection with 0.1ml *Patriniae Radix* Herbal-acupuncture at Kansu(BL18) for a week(one time per week).

PR 0.2ml : Administration of injection with 0.2ml *Patriniae Radix* Herbal-acupuncture at Kansu(BL18) for a week(one time per week).

Table 2. Clinical findings in mouse treated with *Patriniae Radix* in acute toxicity test

Group	No. of animal	Hours after treatment													
		12		24		48		72		96		120		144	
		0.1 ml	0.2 ml	0.1ml	0.2ml	0.1ml	0.2ml	0.1ml	0.2ml	0.1ml	0.2ml	0.1ml	0.2ml	0.1ml	0.2ml
Tachypnea	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Motor activities	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Opisthotonus	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflex	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ocular signs	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cardiovascular signs	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piloerection	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Analgesia	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muscle-tone	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gastrointestinal signs	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Others	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Values are the Number of animal.

2) 임상관찰

정상군과 비교하여 실험군에서 어떠한 임상적 변화도 관찰되지 않았다(Table 2).

3) 체중변화

실험군은 0.1ml 주입군과 0.2ml 주입군 모두 실험

2일까지 약간 감소하는 추세를 보였으나 다시 점차 증가하여 실험 7일에는 정상군이나 대조군과 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Fig. 1).

4) Complete blood count

정상군, 실험군, 대조군에서 전체적으로 비슷한

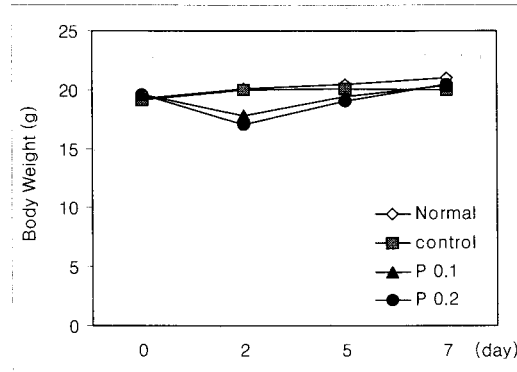


Fig. 1. Body weight change of mouse treated with Patriniae Radix in acute toxicity test

Table 3. Complete blood count values in mouse treated with Patriniae Radix in acute toxicity test

	Normal	Control	PR 0.1ml	PR 0.2ml
WBC($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1.05 \pm 0.15	0.95 \pm 0.09	0.93 \pm 0.26	0.87 \pm 0.05
RBC($\times 10^6/\mu\text{L}$)	10.25 \pm 1.14	9.52 \pm 0.21	10.48 \pm 0.62	9.86 \pm 0.10
Hb(g/dL)	16.80 \pm 0.05	16.27 \pm 0.26	16.83 \pm 1.39	16.67 \pm 0.41
HCT(%)	53.05 \pm 0.15	51.80 \pm 0.75	52.07 \pm 3.12	51.65 \pm 0.40
MCV(fL)	53.90 \pm 2.98	54.43 \pm 0.74	52.53 \pm 0.34	53.18 \pm 0.14
MCH(pg)	17.05 \pm 1.95	17.10 \pm 0.36	16.50 \pm 1.32	16.78 \pm 0.43
MCHC(%)	30.25 \pm 1.45	31.43 \pm 0.26	31.63 \pm 1.44	31.53 \pm 0.81
Platelet($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1051.00 \pm 25.35	1040.50 \pm 72.33	1002.67 \pm 63.90	1001.00 \pm 81.19

Values are mean \pm S.E.(standard err).

Table 4. Serum biochemical values in mouse treated with Patriniae Radix in acute toxicity test

	Normal	Control	PR 0.1ml	PR 0.2ml
T. protein(g/dL)	4.95 \pm 0.15	5.05 \pm 0.09	4.93 \pm 0.08	5.03 \pm 0.17
Albumin(g/dL)	3.10 \pm 0.10	3.25 \pm 0.03	3.23 \pm 0.05	3.28 \pm 0.06
Globulin(g/dL)	1.75 \pm 0.05	1.80 \pm 0.07	1.70 \pm 0.04	1.75 \pm 0.13
A/G ratio(ratio)	1.77 \pm 0.01	1.80 \pm 0.07	1.88 \pm 0.03	1.90 \pm 0.11
BUN(mg/dL)	30.35 \pm 5.55	39.55 \pm 2.20	30.08 \pm 1.78	29.73 \pm 2.01
Creatinine(mg/dL)	0.48 \pm 0.02	0.52 \pm 0.02	0.46 \pm 0.02	0.46 \pm 0.04
B/C ratio(ratio)	72.10 \pm 10.55	76.23 \pm 4.50	66.33 \pm 4.27	63.23 \pm 6.54
Uric acid(mg/dL)	6.60 \pm 0.20	6.13 \pm 0.83	5.80 \pm 0.53	3.23 \pm 0.57*
Glucose(mg/dL)	129.00 \pm 12.00	121.25 \pm 13.24	169.00 \pm 14.75	190.50 \pm 12.28
AST(IU/L)	100.00 \pm 2.22	97.25 \pm 5.57	109.50 \pm 11.00	115.25 \pm 6.02
ALT(IU/L)	56.00 \pm 5.2	51.75 \pm 2.29	62.75 \pm 6.14*	61.50 \pm 5.56*
ALP(U/L)	69.50 \pm 2.35	71.00 \pm 2.74	62.00 \pm 11.42	69.50 \pm 7.19
T.Cholesterol(mg/dL)	68.50 \pm 4.50	68.25 \pm 4.65	56.50 \pm 2.02*	61.50 \pm 3.77
Triglyceride(mg/dL)	191.50 \pm 16.50	178.50 \pm 12.74	196.50 \pm 19.14	177.50 \pm 14.20

Values are mean \pm S.E.

* : compared with normal group (p<0.05).

수치를 나타내었고, 약간의 차이가 있는 항목도 있지만 유의성은 인정되지 않았다(Table 3).

5) 생화학적 혈청검사

실험군 중 0.1ml 약침 주입군에서는 정상군에 비해 ALT의 수치가 유의성 있는 증가를 하였으며, Total Cholesterol의 수치는 유의성 있는 감소를 하였다.($p<0.05$) 0.2ml 약침 주입군에서는 정상군에 비해 Uric acid의 수치가 유의성 있는 감소를 하였으며, ALT의 수치는 유의성 있는 증가를 하였다($p<0.05$)(Table 4).

2. 아급성독성 실험

1) 임상관찰

정상군과 비교하여 실험군에서 어떠한 임상적 변화도 관찰되지 않았다(Table 5).

2) 체중변화

정상군, 실험군, 대조군은 모두 증가하는 추세를 보였으며, 실험군과 대조군은 실험 7일까지 약간 감소하는 추세를 보였으나 다시 증가하여 유의성 있는 변화는 보이지 않았다(Fig. 2).

3) 장기의 무게 측정

간장의 무게에서 실험군은 정상군에 비해 유의성 있게 증가하였으며($p<0.05$), 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 감소하였다($p<0.05$) 실험군은 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다($p<0.05$)(Table 6).

4) Complete blood count

실험군 중 0.1ml 약침 주입군에서 정상군에 비해 WBC와 MCV의 수치가 유의성 있는 감소를 하였다($p<0.05$)(Table 7).

Table 5. Clinical findings in mouse treated with *Patriniae Radix* in subacute toxicity test

Group	No. of animal	Days after treatment															
		4		7		11		14		18		21		25		28	
		0.05 ml	0.1 ml	0.05 ml	0.1 ml	0.05 ml	0.1 ml	0.05 ml	0.1 ml	0.05 ml	0.1 ml	0.05 ml	0.1 ml	0.05 ml	0.1 ml	0.05 ml	0.1 ml
Tachypnea	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Motor activities	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Opisthotonus	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflex	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ocular signs	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cardiovascular signs	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piloerection	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Analgesia	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muscle-tone	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gastrointestinal signs	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Others	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Values are the number of animal.

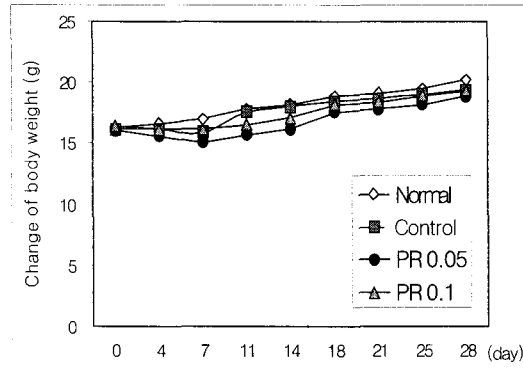


Fig. 2. Body weight change of mouse treated with Patriniae Radix in subacute toxicity test

Normal : Non treated group.

Control : Administration of injection with 0.1ml PBS at Kansu(BL18) for 4 weeks(two times per week).

PR 0.05ml : Administration of injection with 0.05ml Patriniae Radix Herbal-acupuncture at Kansu(BL18) for 4 weeks(two times per week).

PR 0.1ml : Administration of injection with 0.1ml Patriniae Radix Herbal-acupuncture at Kansu(BL18) for 4 weeks(two times per week).

Table 6. Liver and relative organ(spleen, kidney) weight in mouse treated with Patriniae Radix in subacute toxicity test

Group	Liver	Spleen	Kidney
Normal	1.186 ± 0.003	0.099 ± 0.009	0.188 ± 0.011
Control	1.173 ± 0.046*	0.099 ± 0.011	0.182 ± 0.006
PR	1.188 ± 0.009*,**	0.098 ± 0.004	0.183 ± 0.006

unit : g

Values are the mean ± S.E.

* : compared with normal group (p<0.05).

** : compared with control group (p<0.05).

Table 7. Complete blood count values in mouse treated with Patriniae Radix in subacute toxicity test

	Normal	Control	PR 0.05	PR 0.1
WBC(×103/uL)	1.25 ± 0.15	1.08 ± 0.81	1.03 ± 0.23	0.94 ± 0.07*
RBC(×106uL)	9.75 ± 1.14	9.60 ± 0.25	9.57 ± 0.17	9.81 ± 0.19
Hb(g/dL)	16.05 ± 1.95	15.88 ± 0.40	15.65 ± 0.35	16.12 ± 0.47
HCT(%)	53.05 ± 6.45	54.18 ± 1.56	52.98 ± 1.69	54.24 ± 1.20
MCV(fL)	57.65 ± 0.25	56.45 ± 0.65	55.80 ± 0.73	55.24 ± 0.20*
MCH(pg)	16.70 ± 0.11	16.55 ± 0.10	16.50 ± 0.07	16.42 ± 0.24
MCHC(%)	28.55 ± 0.15	29.28 ± 0.39	29.60 ± 0.33	29.72 ± 1.03
Platelet(×103/uL)	829.00 ± 198.00	835.25 ± 221.14	744.75 ± 44.97	850.80 ± 58.47

Values are mean ± S.E.

* : compared with normal group (p<0.05).

5) 생화학적 혈청검사

실험군은 정상군에 비해 Triglyceride의 수치가 유의성 있게 감소하였으며, 실험군 중 0.1ml 약침 주입군

에서 정상군에 비해 B/C ratio와 T. Cholesterol의 수치는 유의성 있게 감소하였으며, Creatinine과 ALP의 수치는 유의성 있는 증가를 하였다(p<0.05) (Table 8).

Table 8. Serum biochemical values of mouse treated with Patriniae Radix in subacute toxicity test

	Normal	Control	PR 0.05	PR 0.1
T. protein(g/dL)	5.05 ± 0.15	5.16 ± 0.04	4.86 ± 0.10	5.08 ± 0.02
Albumin(g/dL)	3.15 ± 0.10	3.34 ± 0.02	3.20 ± 0.08	3.34 ± 0.02
Globulin(g/dL)	1.80 ± 0.05	1.82 ± 0.02	1.66 ± 0.02	1.74 ± 0.02
A/G ratio(ratio)	1.80 ± 0.03	1.82 ± 0.02	1.90 ± 0.03	1.90 ± 0.04
BUN(mg/dL)	31.35 ± 5.55	32.02 ± 0.70	29.26 ± 2.58	28.78 ± 1.51
Creatinine(mg/dL)	0.43 ± 0.02	0.54 ± 0.05	0.44 ± 0.01	0.47 ± 0.02*
B/C ratio(ratio)	71.05 ± 10.55	59.24 ± 1.49	67.12 ± 6.53	60.86 ± 1.41*
Uric acid(mg/dL)	4.60 ± 0.20	5.82 ± 0.96	3.94 ± 0.55	3.50 ± 0.18
Glucose(mg/dL)	190.00 ± 20.00	187.60 ± 7.51	168.80 ± 6.93	187.40 ± 6.42
AST(IU/L)	100.00 ± 22.00	118.80 ± 21.96	128.80 ± 14.25	146.60 ± 12.80
ALT(IU/L)	56.00 ± 11.00	61.40 ± 13.87	72.40 ± 13.78	77.30 ± 17.47
ALP(U/L)	179.50 ± 13.50	182.00 ± 10.75	207.60 ± 10.67	209.60 ± 4.99*
T.Cholesterol(mg/dL)	68.50 ± 4.50	67.40 ± 2.66	58.20 ± 2.44	55.40 ± 2.16*
Triglyceride(mg/dL)	144.50 ± 26.50	144.20 ± 17.30	109.49 ± 2.86*	108.80 ± 2.42*

Values are mean ± S.E.

* : compared with normal group (p<0.05).

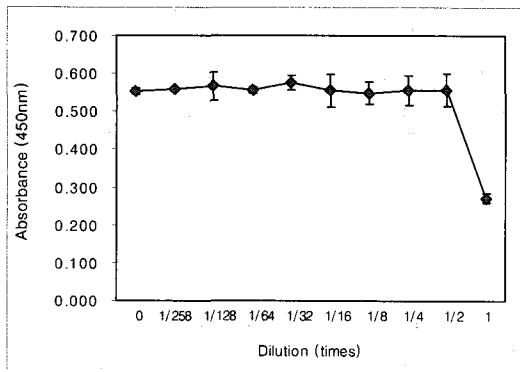


Fig. 3. Cytotoxicity of Patriniae Radix on colon26-L5 carcinoma cell
XTT assay was conducted for evaluating cytotoxicity of Patriniae Radix on colon26-L5 carcinoma cells. The absorbance of the culture was measured at 450nm.

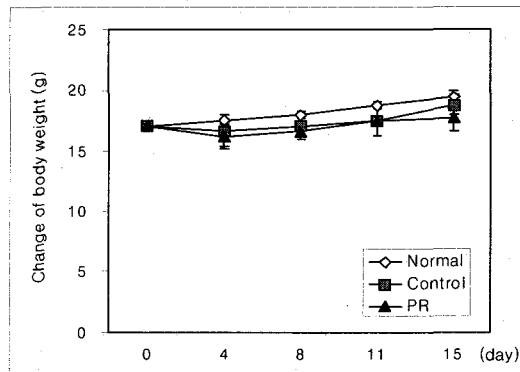


Fig. 4. Body weight change of mouse treated with Patriniae Radix in experimental liver metastasis model

Values are mean ± S.D.(standard deviation).

Normal : Non treated group.

Control : Administration of injection with 0.1ml PBS at Kansu(BL18) for 2 weeks(one time per one day).

PR : Administration of injection with 0.1ml Patriniae Radix Herbal-acupuncture at Kansu(BL18) for 2 weeks(one time per one day).

3. in vitro 암세포 증식 억제 효과

XTT법에 의해 ELISA-reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정된 결과 1/256~1/2의 희석 敗醬

藥鍼에서는 흡광도가 0.500~0.600 사이의 값으로 비슷하게 높게 나타났으며, 敗醬藥鍼 원액을 사용한 경우 흡광도가 절반 정도로 떨어진 것으로 나타났다 (Fig. 3).

4. in vivo 암전이 억제 효과

1) 체중변화

실험군과 대조군은 실험 4일까지 약간 체중이 감소하였다가 다시 증가하였다. 정상군, 실험군, 대조군간에 유효한 차이는 인정되지 않았다(Fig. 4).

2) 간무게 측정

대조군은 정상군에 비해 유의성 있는 증가를 하였고($p < 0.05$), 실험군은 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 하였다($p < 0.05$)(Table 9).

3) 간의 육안적 관찰소견

대조군은 정상군에 비하여 크기가 4-5배 정도 증가하였으며 종양의 성상이 확연히 드러나 보이는 반면, 실험군은 정상군에 비하여 1.5배 정도 커졌으나

대조군에 비해 2배 이상 작아져 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

4) 비장, 신장의 무게 측정

비장의 무게는 대조군이 정상군에 비해 증가하였으며, 실험군은 대조군에 비해 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았다. 신장의 무게는 정상군, 실험군, 대조군간 차이가 거의 없었다(Table 10).

5. 면역증진효과

1) 비장세포의 증식효과

2주일간 敗醬藥鍼 처리된 mice로부터 분리한 비장세포는 Con A와 반응했을 때 실험군은 대조군에 비해 흡광도가 유의하게 증가하였다($p < 0.05$)(Fig. 6).

Table 9. Weight of liver in mouse treated with Patriniae Radix in experimental liver metastasis model

	Number of animals	Mean \pm S.E.
Normal	4	1.20 \pm 0.02
Control	7	5.38 \pm 0.32*
PR	7	3.70 \pm 0.86**

* : compared with normal group ($p < 0.05$).

** : compared with control group ($p < 0.05$).

Table 10. Weight of spleen and kidney in mouse treated with Patriniae Radix in experimental liver metastasis model

	Spleen	Kidney
Normal	0.099 \pm 0.013	0.188 \pm 0.011
Control	0.232 \pm 0.066	0.193 \pm 0.023
PR	0.207 \pm 0.051	0.176 \pm 0.006

Unit : g.

Values are mean \pm S.E.

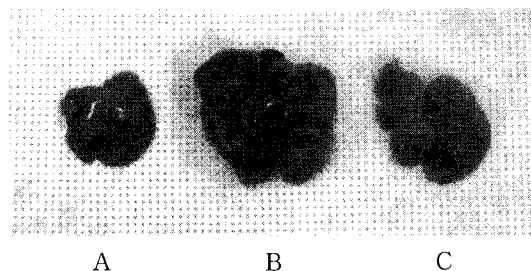


Fig. 5. Macroscopic observation of liver in mouse treated with Patriniae Radix Herbal-acupuncture
A : Normal, B : control, C : PR.

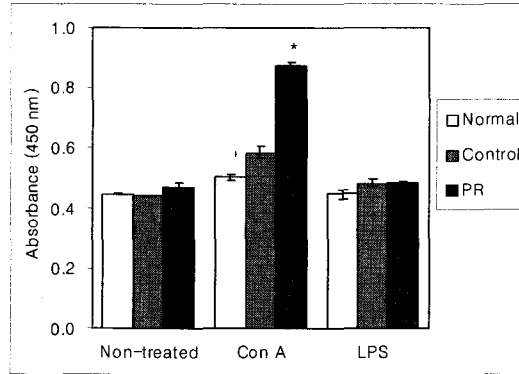


Fig. 6. The proliferation of splenocytes in mouse treated with Patriniae Radix in response to various mitogenic stimuli

Values are Mean \pm S.D.

* : compared with control group ($p < 0.05$).

Table 11. Immune cells population in mouse treated with Patriniae Radix

	CD3	CD19	CD4	CD8	Mac-1	NK1.1
Control	48.69	43.46	40.02	13.53	3.16	4.21
PR	63.04	28.21	49.50	18.64	47.74	2.73

Values are % of gated.

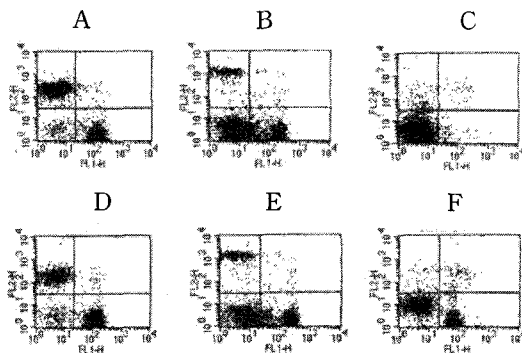


Fig. 7. Immune cells population in mouse treated with Patriniae Radix

A, B and C are Control group.

D, E and F are Patriniae Radix-treated group.

A and D are CD3 and CD19 staining.

B and E are CD4 and CD8 staining.

C and F are Mac-1 and NK1.1 staining.

2) 비장세포로부터 면역세포의 분포조사

Total T cell, helper T cell, cytotoxic T cell, macrophage의 분포는 실험군에서 대조군에 비해 증가하였으며, B cell 과 NK cell의 경우 실험군은 대조군에 비해 분포가 감소하였다(Table 11, Fig. 7).

3) 비장세포로부터의 cytokine 산생능 조사

(1) IFN- γ

Con A로 처리된 상황에서 실험군은 대조군에 비하여 IFN- γ 의 생산이 유의성 있게 증가하였다 ($p < 0.05$)(Table 12).

(2) IL-4

Con A로 처리된 상황에서 실험군은 대조군에 비하여 IL-4의 생산이 유의성 있게 감소하였다 ($p < 0.05$)(Table 13).

4) 복강 macrophage로부터의 cytokine 산생능 조사

(1) IFN- γ

LPS 자극하에서 실험군은 대조군에 비하여 IFN- γ 의 생산이 유의성 있게 증가하였다($p < 0.05$)(Table 14).

(2) IL-12

LPS 자극하에서 실험군은 대조군에 비하여 IL-12의 생산이 유의성 있게 증가하였다($p < 0.05$)(Table 15).

Table 12. Effect of treatment with *Patriniae Radix* on production of IFN- γ from splenocytes

	Non-treated	Con A-treated
Normal	393.99 \pm 27.14	735.60 \pm 93.08
Control	484.88 \pm 38.00	843.73 \pm 6.65
PR	541.29 \pm 76.00	1052.14 \pm 66.70*

Unit : pg/ml.

Values are mean \pm S.D.

* : p<0.05 compared with control group.

Table 13. Effect of treatment with *Patriniae Radix* on production of IL-4 from splenocytes

	Non treated	Con A-treated
Normal	1235.03 \pm 18.71	1715.19 \pm 88.41
Control	1833.67 \pm 275.58	2740.97 \pm 39.68
PR	1378.46 \pm 176.81	2114.28 \pm 0.01*

Unit : pg/ml.

Values are mean \pm S.D.

* : p<0.05 compared with Control group.

Table 14. Effect of treatment with *Patriniae Radix* on production of IFN- γ from Peritoneal exudate macrophages

	Non treated	LPS-treated
Normal	580.70 \pm 40.68	542.35 \pm 54.24
Control	603.07 \pm 5.54	580.70 \pm 67.80
PR	599.88 \pm 57.53	1021.78 \pm 94.92*

Unit : pg/ml.

Values are mean \pm S.D.

* : p<0.05 compared with Control group.

Table 15. Effect of treatment with *Patriniae Radix* on production of IL-12 from Peritoneal exudate macrophages

	Non treated	LPS-treated
Normal	556.72 \pm 59.53	1210.09 \pm 109.61
Control	626.87 \pm 125.84	1147.73 \pm 141.65
PR	558.28 \pm 19.47	1521.88 \pm 28.58*

Unit : pg/ml

Values are mean \pm S.D.

* : p<0.05 compared with Control group.

IV. 考 察

敗醬(*Patriniae Radix*)은 마타리(敗醬)과 Valerianaceae에 속하는 多年生 草本인 뚝갈(白花敗醬) *Patrinia villosa* Jussieu 및 마타리(黃花敗醬) *P. scabiosaefolia*

Fischer의 帶根全草로서^{4,18-21)} 여름과 (가을)에採取하여 曬乾하는 藥材로^{4,19-20,22)} 性味는 微寒, 辛^{4,18-21)} 혹은 苦平²²⁻²³⁾, 無毒⁴⁾하며 肝·大腸·胃經으로 歸經하고^{4,18-21)}, 清熱解毒, 排膿消癰, 活血祛瘀止痛의 效能이 있어서^{4,18-21,23)} 腸癰, 肺癰, 癰瘡腫毒, 胸腹疼痛, 産後瘀血腫痛 등을 다스릴 수 있는 藥材이다

^{4,19-22)}. 근래에는 肺膿瘍, 肝膿瘍 및 子宮內膜炎, 子宮附屬器炎, 卵巢囊腫 등의 증에 사용하여 우수한 효과를 얻고 있다.^{4,19-20)}

楊²³⁾은 敗醬이 癰腫 및 內癰을 다스린다고 하였으며, 임¹⁸⁾은 敗醬에 혈액순환촉진작용, 해열작용, 진정작용, 항균작용, 소염작용이 있다고 하였고, 康¹⁹⁻²¹⁾은 肝細胞의 再生을 促進하고, 肝의 機能을 改善(간세포의 변성을 예방)하는 작용이 있으며, 또한 鎮靜, 催眠작용, 健胃작용, 항균작용 및 강한 바이러스 억제작용이 있다고 하였다.

肝俞(Kansu, BL18)는 第九胸椎棘突起下(筋縮 GV8) 兩傍 各 1寸 5分處에 위치하는 穴로²⁴⁻²⁸⁾ 正坐(曲背) 取穴²⁶⁻²⁸⁾하거나 伏臥位²⁵⁾로 取穴하며 疏肝利膽, 寧神, 清頭明目, 補營血, 消癥瘕의 穴性이 있어서^{24,27,29)} 肝膽病, 黃疸, 脇痛, 積聚痞痛 등을 爲始하여 視神經萎縮症, 胃痙攣, 腸出血, 眼疾患, 神經衰弱, 精神疾患, 月經不調, 鼻衄, 吐血, 肋間神經痛, 熱瘧, 筋急相引 등²⁴⁻²⁹⁾을 다스리는 혈이다.

손²⁷⁾은 肝俞는 肝의 邪氣가 注入하는 穴이라는 뜻이라고 하였고, 安²⁵⁾은 肝俞가 肝臟의 機能衰弱을 정상화하는 역할을 하는 穴이라 하였으며, 朴²⁹⁾은 肝俞에 면역기능 증강작용이 있다고 하였다.

이에 저자는 敗醬藥鍼의 암전이 억제 및 면역조절 특성에 대해 알아보기 위해 colon26-L5 carcinoma cell line을 이용한 肝轉移 모델에서 敗醬藥鍼의 급성 및 아급성 독성실험을 하였고, in vitro 및 in vivo에서 암전이 억제실험을 하였으며, 비장세포를 proliferation 시킨 후 세포의 유식 분리 분석을 통하여 B cell, Total T cell, CD4+ T cell, CD8+ T cell, Mac-1+ cell, NK1.1 cell의 비율을 산출하였고 또한 비장세포 및 복강대식세포로부터의 cytokine 산생능을 측정하여 관찰하였다.

敗醬藥鍼의 급성 및 아급성 독성실험에서는 유의할만한 독성반응은 나타나지 않았다. Complete blood count와 생화학적 혈청검사에서 몇몇 유의성 있는 변화가 보이기도 했지만 임상적으로 유의할 만한 수준은 아닌 것으로 사료된다.

In vitro의 암전이 억제실험에서 XTT법에 의해 ELISA-reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정 한 결과 1/256~1/2의 희석 敗醬藥鍼에서는 흡광도가 0.500~0.600 사이의 값으로 비슷하게 높게 나타났는데(Fig. 3) 이는 1/256~1/2의 희석 敗醬藥鍼에서는 세포독성이 적다는 의미로 생체에 주는 자극은 적으면서 항암과 관련된 면역반응을 매개할 수 있을

것으로 사료된다.

In vivo의 암전이 억제실험에서 우선 체중의 변화를 살펴보면 정상군, 실험군, 대조군 모두 체중은 증가하는 추세를 보였는데(Fig. 4), 실험군과 대조군은 실험 4일까지 약간 체중이 감소하였다가 다시 증가하였다. 이는 실험 스트레스로 인한 일시적인 감소 현상으로 여겨진다.

간의 무게를 측정한 결과 대조군은 정상군에 비해 유의성 있는 증가를 하였고($p<0.05$), 실험군은 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 하였는데($p<0.05$)(Table 9) 이는 대조군에서 전이암이 유발되었음을 나타내며, 실험군에서 전이암이 억제되고 있음을 나타내는 것이다.

간의 육안적으로 관찰한 결과 대조군은 정상군에 비하여 크기가 4-5배 정도 증가하였으며 종양의 성상이 확연히 드러나 보이는 반면, 실험군은 정상군에 비하여 1.5배 정도 커졌으나 대조군에 비해 2배 이상 작아져 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

비장과 신장의 무게를 측정한 결과 비장의 무게는 대조군이 정상군에 비해 증가하였으며, 실험군은 대조군에 비해 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았다. 신장의 무게는 정상군, 실험군, 대조군간 차이가 거의 없었다(Table 10). 이는 대조군에서 전이암이 발생하여 면역반응이 활발히 매개되는 장소인 비장에 어떤 영향을 미친 것으로 생각되며 실험군에서 전이암이 억제되어 비장에 부하가 줄어든 까닭이라고 사료된다.

Con A와 LPS 자극하에서 비장세포의 증식을 살펴본 결과 Con A와 반응했을 때 비장세포의 증식이 유의성 있게 증가된 것을 볼 수 있다($p<0.05$)(Fig. 6) 이는 敗醬藥鍼이 B cell 보다는 T cell을 활성화시켜 세포성 면역 반응을 매개하는 것으로 사료된다. 이에 대해 Bownik A.³⁰⁾는 T 임파구의 반응은 Con A에 의해 자극되어지며, B 임파구의 반응은 LPS에 의해 자극되어진다고 하였다.

비장세포로부터 면역세포의 분화기능을 조사한 결과 Total T cell, helper T cell, cytotoxic T cell, macrophage의 분포는 실험군에서 대조군에 비해 증가하였으며, B cell 과 NK cell의 경우 실험군은 대조군에 비해 분포가 감소하였다(Table 11, Fig. 7). 이는 敗醬藥鍼이 B cell이나 NK cell 보다는 T cell이나 macrophage와 같은 immune effector cell에 관여하는 것을 나타내는 것인데, Miyazaki M.³¹⁻³²⁾ 등은 CD4+ T cells와 CD8+ T cells가 종양의 성장을

억제하는 인자라고 하였으며, Ostrand-Rosenberg S.³³⁾는 CD4+ T cells는 CD8+ T cells의 최적 활성화와 면역기억(immune memory)의 유지에 관건이 되는 요소라고 하였고, Agarwal³⁴⁾ 등은 CD3+, CD4+, CD8+는 건강한 그룹보다 환자군에서 현저히 낮게 나타났다고 보고하였고, Li H.³⁵⁾ 등은 macrophage의 결핍은 항암효과의 저하를 초래한다고 보고하였다.

비장세포로부터의 cytokine 산생능을 조사한 결과 Con A로 처리된 상황하에서 실험군은 대조군에 비하여 IFN- γ 의 생산이 유의성 있게 증가하였고 ($p < 0.05$)(Table 12), IL-4의 생산은 유의성 있게 감소하였다. ($p < 0.05$)(Table 13) 이는 敗醬藥鍼이 Th 1 type 우성 면역 반응을 리드할 수 있다는 것을 의미한다.

Takao H.³⁶⁾ 등은 항암면역의 관점에서 Th 1 cells는 항암 활동을 가지고 있으며 Th 1/Th 2 비율의 감소를 억제하는 것은 항암작용을 증강시킬 것으로 기대된다고 보고하였다.

복강 macrophage로부터의 cytokine 산생능을 조사한 결과 LPS 자극하에서 실험군은 대조군에 비하여 IFN- γ 와 IL-12의 생산이 유의성 있게 증가하였다 ($p < 0.05$)(Table 14)(Table 15). 이는 敗醬藥鍼이 Th 1 type의 cytokine을 생산할 수 있으며 이는 macrophage를 활성화시켜 IFN- γ 와 IL-12 등의 항암과 관련된 cytokine을 생산케하고 IL-12는 다시 Th 1 cell의 분화에 관여하여 항암작용이 더욱 증강될 것으로 사료된다. 이는 Trinchieri G.³⁷⁻³⁸⁾ 등의 Th 1 cells의 분화에 관여하는 IL-12와 같은 cytokines는 monocytes/ macrophages에 의해 분비되어지며, IL-12는 Th cell을 NK cell이나 T cell에 의해 IFN- γ 의 생산을 자극하는 것에 의해 Th 1으로 분화되도록 유도한다고 하는 주장과 일치한다.

V. 結 論

Colon26-L5 carcinoma cell line을 이용한 肝轉移 모델에서 敗醬藥鍼을 肝癒에 주입하여 암전이 억제 및 면역조절 효과에 대해 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 敗醬藥鍼의 급성 및 아급성 독성실험 결과 독

성반응은 나타나지 않았다.

2. 敗醬藥鍼은 in vitro와 in vivo의 암전이 억제 실험에서 암전이 억제에 효과가 있는 것으로 나타났다.
3. 敗醬藥鍼은 T cell을 활성화시켜 세포성 면역 반응을 매개하는 것으로 나타났다.
4. 敗醬藥鍼은 비장세포로부터 T cell, helper T cell, cytotoxic T cell, macrophage의 분포를 증가시켰다.
5. 敗醬藥鍼은 비장세포로부터 Th 1 type의 cytokine의 생산을 유의성 있게 증가시켰으며, 복강 macrophage로부터 항암과 관련된 cytokine의 생산을 유의성 있게 증가시켰다($p < 0.05$).

이상의 실험결과를 종합하여 볼 때 敗醬藥鍼은 생체에 독성반응을 나타내지 않으면서 암전이 억제에 효과가 있으며 특히 면역 조절을 통한 항암 능력이 있는 것으로 확인되어 앞으로 敗醬을 응용한 다양한 방법의 심도 있는 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

VI. 參考文獻

1. Abul K, Abbas, Andrew H, Lichtman. 세포분자 면역학 5판. 범문사. 2004 : 17, 31, 280, 291, 304-305, 391, 401.
2. 보건복지부. 2004년 보건복지백서, (주)이문기업, 2005 : 564-581.
3. 조종관. 한방임상종양학. 주민출판사. 2005 : 3, 13-18, 66-69.
4. 全國韓醫科大學 本草學教室. 本草學. 永林社. 1992 : 222-223.
5. 이현. 백서(白鼠)의 중완(中腕)에 시술(施術)한 청풍등약침(靑風藤藥鍼)이 항암 및 면역기능에 미치는 영향. 大韓鍼灸學會誌. 2004 : 21(6) : 85-102.
6. 박정현, 김영일, 홍권의, 임윤경, 이현, 이병렬. 백서(白鼠)의 B16-F10 Melanoma에 대한 한련초약침(旱蓮草藥鍼)의 항암 및 면역증강효과. 大韓鍼灸學會誌. 2004 : 21(6) : 63-84.
7. 오치석, 이현, 임윤경, 성락기. 중완에 시술한 홍화

- 약침이 항암 및 면역기능에 미치는 영향. 大韓鍼灸學會誌. 2004 : 21(5) : 205-218.
8. 이재복, 이병렬. 兔絲子藥針의 抗癌作用 및 免疫效果에 對한 實驗的 研究. 大韓鍼灸學會誌. 2001 : 18(3) : 94-104.
 9. 김소형, 김갑성. 全蝎 藥鍼液의 抗突然變異 및 抗癌 效果. 大韓鍼灸學會誌. 2000 : 17(3) : 151-167.
 10. 한재섭. 金銀花藥鍼의 항암 및 면역반응에 관한 실험적 연구. 尙志大學校大學院. 2003.
 11. Helms S.. Cancer prevention and therapeutics: Panax ginseng.. *Alternative Medicine Review*. 2004 : 9(3) : 259-274.
 12. Takaku T., Kimura Y., Okuda H. Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murill and its mechanism of action.. *The Journal of Nutrition*. 2001 : 131(5) : 1409-1413.
 13. Shibata Y., Kurita S., Okugi H., Yamanaka H. Dramatic remission of hormone refractory prostate cancer achieved with extract of the mushroom. *Phellinus linteus*.. *Urologia Internationals*. 2004 : 73(2) : 188-190.
 14. Liao CH, Pan SL, Guh JH, Chang YL, Pai HC, Lin CH, Teng CM. Antitumor mechanism of evodiamine, a constituent from Chinese herb *Evodiae fructus*, in human multiple-drug resistant breast cancer NCI/ADR-RES cells in vitro and in vivo.. *Carcinogenesis*. 2005 : 26(5) : 968-975.
 15. Iizuka N., Miyamoto K., Hazama S., Yoshino S., Yoshimura K., Okita K., Fukumoto T., Yamamoto S., Tangoku A., Oka M. Anticachectic effects of *Coptidis rhizoma*, an anti-inflammatory herb, on esophageal cancer cells that produce interleukin 6. *Cancer Letters*. 2000 : 158(1) : 35-41.
 16. 黃泰沃. 남성호르몬 비의존형 전립선 암세포에서 敗醬 추출물의 세포고사 유도 효과. 圓光大學校大學院. 2004.
 17. 梁美英. 패장으로부터 암세포독성 성분분리. 서울大學校大學院. 1999.
 18. 임종필 외. 본초생약학, 신일상사. 2005 : 128-129.
 19. 康秉秀. 韓藥 臨床配合應用. 永林社. 2004 : 252, 253.
 20. 徐富一, 崔胡榮. 臨床 韓方本草學. 永林社. 2004 : 278-280.
 21. 顏正華. 中藥學. 人民衛生出版社. 1991 : 198-199.
 22. 吳普. 神農本草經. 醫聖堂. 2003 : 177-178.
 23. 楊東喜. 本草備要解析. 一中社. 1991 : 300.
 24. 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學教室. 鍼灸學<上>. 集文堂. 1994 : 484-485.
 25. 安榮基. 經穴學叢書, 정보사 부설 전통의학연구소. 2002 : 352-353.
 26. 문헌길, 문애숙. 침구와 임상. 군자출판사. 2003 : 114.
 27. 손인철, 안성훈, 구성태. 알기쉬운 경혈학. 醫聖堂. 2003 : 219.
 28. 台北啓業書局有限公司. 鍼灸大成校釋. 大星文化社. 1993 : 834.
 29. 朴喜守. 腧穴研究鍼灸學. 醫聖堂. 1996 : 126.
 30. Bowrnik A. In vitro effects of staphylococcal leukocidin LukE/LukD on the proliferative ability of lymphocytes isolated from common carp(*Cyprinus carpio* L.). *Fish Shellfish Immunol.* 2005 : 20(4) : 656-659.
 31. Miyazaki M, Nakatsura T, Yokonine K, Senju S, Monji M, Hosaka S, Komori H, Yoshitake Y, Motomura Y, Minohara M, Kubo T, Ishihara K, Hatayama T, Ogawa M, Nishimura Y. DNA vaccination of HSP105 leads to tumor rejection of colorectal cancer and melanoma in mice through activation of both CD4 T cells and CD8 T cells.. *Cancer Science*. 2005 : 96(10) : 695-705.
 32. Vanbuskirk A., Oberyshyn TM. Depletion of CD8+ or CD4+ lymphocytes enhances susceptibility to transplantable ultraviolet radiation-induced skin tumours.. *Kusewitt DF. Anticancer Res*. 2005 : 25(3B) : 1963-1967.
 33. Ostrand-Rosenberg S.. CD4+ T lymphocytes: a critical component of antitumor immunity.. *Cancer Invest*. 2005 : 23(5) : 413-419.
 34. Agarwal A, Verma S, Burra U, Murthy NS, Mohanty NK, Saxena S. Flow Cytometric analysis of Th1 and Th2 cytokines in PBMCs as a parameter of immunological dysfunction in patients of Superficial Transitional cell

- carcinoma of bladder.. *Cancer Immunol Immunother.* 2005 : 1-10.
35. Li H, Cao MY., Lee Y., Lee V., Feng N., Benatar T., Jin H, Wang M, Der S., Wright JA, Young AH. Virulizin, a novel immunotherapy agent, activates NK cells through induction of IL-12 expression in macrophages.. *Cancer Immunol Immunother.* 2005 : 54(11) : 1115-1126.
36. Takao Hidaka, Shinobu Akada, Akiko Teranishi, Hajime Morikawa, Shinji Sato, Yuji Yoshida, Akira Yajima, Nobuo Yaegashi, Kunihiro Okamura and Shigeru Saito. Mirimostim (macrophage colony-stimulating factor; M-CSF) improves chemotherapy-induced impaired natural killer cell activity, Th1/Th2 balance, and granulocyte function.. *Cancer Science.* 2003 : 94(9) : 814.
37. Trinchieri G.. Interleukin-12: a cytokine at the interface of inflammation and immunity.. *Adv Immunol.* 1998 : 70 : 83-243.
38. Tadokoro CE, de Almeida Abrahamsohn I. Bone marrow-derived macrophages grown in GM-CSF or M-CSF differ in their ability to produce IL-12 and to induce IFN-gamma production after stimulation with *Trypanosoma cruzi* antigens.. *Immunol Lett.* 2001 : 77 : 31.

