

生脈散의 방사선 보호효과 : 생쥐 소장세포 재생과 Apoptosis에 미치는 영향

김현경, 김진성, 윤상협, 류봉하
경희대학교 한의과대학 비계내과학교실

Radioprotective Effect of Saengmaek-san on Mice Jejunal Crypt Cell Survival and Apoptosis

Hyun-Kyung Kim, Jin-Sung Kim, Sang-Hyub Yoon, Bong-Ha Ryu
3rd Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunghee University

ABSTRACT

Backgrounds & Objects: The aim of this study was to investigate the radioprotective effect of Shengmai-san(SMS), a herbal medicine, on mice jejunal crypt cell survival and Apoptosis.

Methods: Mice were divided into 4 groups according to radiation dose and SMS treatment: Normal was the group without irradiation. Control was the group treated with D.W before 10 Gy irradiation. SMS 2.9 was sample group treated with 2.9 mg/10 g of SMS extract before 10 Gy irradiation and SMS 29 was sample group treated with 29 mg/10 g of SMS extract before 10 Gy irradiation. And Each group were sacrificed at 24 hours and 72 hours after irradiation. To analyze the crypt survival, hematoxylin-eosin staining was used and to analyze the apoptosis, the TUNEL assay was done.

Results: 1. From the microcolony survival assay, the SMS 2.9 and SMS 29 showed the radioprotective effect with a statistical significance compared to the control group at 24 hr ($p < 0.01$) and 72 hr ($p < 0.001$) after 10 Gy irradiation. And the differences of radioprotective effect between SMS 2.9 and SMS 29 were not significant.

2. The results of the TUNEL assay showed that the apoptotic index in SMS 2.9 and SMS 29 was significantly decreased, as compared to the control group at both 24 hr ($p < 0.01$) and 72 hr (SMS 2.9 : $p < 0.001$, SMS 29 : $p < 0.01$) after 10Gy irradiation. And the differences of between SMS 2.9 and SMS 29 were not significant.

Conclusions: It could be suggested that the Shengmai-san has a prominent protective effect in mice intestines against the radiation damage. And the radioprotective effect seems to be related to inhibition of the apoptosis.

Key words: Saengmaek-san, radioprotective effect, apoptosis

1. 서론

방사선은 대장암, 전립선암, 자궁암과 같은 골반강내 종양의 주요 치료 수단 가운데 하나이다. 하지만 골반강내 방사선 치료를 시행하는 경우 장점막에도 상당한 선량의 방사선 조사를 받게 되어 장 점막의 손상이 불가피하다^{1,2,3}.

특히 소장의 점막은 분화율이 매우 높고 세포주기가 빠르기 때문에 방사선에 매우 민감하게 반응

· 접수일 : 2006년 4월 15일 · 채택일 : 2006년 6월 13일
· 교신저자: 김진성 서울특별시 동대문구 회기동 1번지
경희의료원 3내과
전화 : 02-958-8895 Fax : 02-958-9136
E-mail : oridoc@chollian.net

하는데², 전신적 방사선 조사 및 복부나 골반강의 국소 방사선 조사는 소장내 급성 형태학적 변화와 함께 점막하부종, 충혈, 고유층 침윤 등을 일으킬 수 있다. 방사선 조사로 유발된 장 점막의 손상은 약 50%의 환자에서 발생하고 이는 설사를 특징으로 하는 급성 장염과 출혈이나 궤양 같은 만성 장 질환으로 나눌 수 있다. 급성의 방사선 직장염의 대부분은 방사선 치료 종료 후 합병증 없이 소실되지만 일부의 환자에서는 장점막의 만성 손상으로 염증이나 상피세포 손상, 혈관 경화와 관련된 전벽의 섬유화(transmural fibrosis)로 협착과 폐쇄가 일어나고, 허혈상태가 심해지면 괴사, 궤양, 누공형성, 만성 흡수부전을 야기하여 결과적으로 생명을 위협하는 합병증이 될 수 있고 이는 환자의 삶의 질에도 크게 영향을 미치게 된다^{3,4}. 또한 방사선 치료로 인한 장점막의 손상은 방사선 치료의 잦은 중단과 지연을 야기하고, 결국 치료 실패를 가져오기도 한다⁵. 방사선 치료 환자의 부작용을 줄이기 위해 여러 가지 약제나 물리적인 방법도 도입되었으나, 현재로서는 방사선에 의한 소장 점막의 손상 방어에 높은 효과가 있으면서도 부작용은 적고 임상적으로도 유용한 약제나 생체학적인 물질이 없어² 한방 제재의 방사선 보호제 개발이 절실히 요구된다 하겠다.

방사선 조사로 인한 정상조직의 손상은 활성산소물질(reactive oxygen species: ROS)과 관련이 되어있고^{6,7}, ROS의 과생산은 apoptosis 과정을 촉진한다^{6,8}. 따라서 최근의 방사선보호 물질의 대부분은 방사선 조사로 유발된 세포내 free radical을 직간접적으로 줄여주는 항산화 효과에 초점이 맞추어져 개발되고 있다⁹.

《內外傷辨惑論》에 처음 언급된 생맥산은 人蔘 麥門冬 五味子로 구성되어 益氣生津 효능이 있어 氣短, 倦怠, 口渴, 汗出 등의 증에 이용되어왔다¹⁰.

최근 Ichikawa^{11,12}나 Wang¹³ 및 Wang¹⁴ 등에 의해 생맥산의 항산화 효과가 실험적으로 입증되었는데, 이에 근거하여 방사선 손상에 대한 보호제로써 생맥산의 역할을 기대할 수 있을 것으로 사료 된다.

이에 생맥산의 방사선 조사로 인한 소장점막 손상에 대한 방어효과를 확인하기 위하여 소낭세포의 보호와 재생 및 apoptosis에 대해 미치는 영향에 대해 실험하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재 료

1) 동 물

동물은 썬타코(주)에서 구입한 체중 20 ± 1 g의 C57BL/6N의 수컷 생쥐를 사용하였다. 물과 사료는 자유롭게 먹도록 하였으며, 사육실 내의 온도는 $21 \sim 24^{\circ}\text{C}$, 습도는 40~60%로 유지하였고, 낮과 밤의 주기는 각각 12시간으로 하였다. 실험동물은 실험실 환경에 1주간 적응시킨 후 사용하였으며, 실험시 생쥐의 체중은 24 ± 2 g 이었다.

2) 약 물

본 실험에 사용한 생맥산(生脈散, Shengmai San; SMS)은 경희대학교 한의과대학 부속한방병원(서울, 대한민국)에서 구입하여 사용하였다. 생맥산의 구성과 비율 및 제조방법은 Ichikawa^{11,12}, Wang¹³ 및 Wang¹⁴ 등의 논문에 근거하여 사용하였다(Table 1).

Table 1 Prescription of Shengmai-san

Herb Name	Scientific Name	Amount (g)
人 蔘	Panax ginseng C. A. Meyer	240
麥門冬	Liriope platyphylla Wang et Tang	240
五味子	Schizandra chinensis Baillon	120
Total Amount		600

2. 방법

1) 시료의 제조

생맥산 600g을 증류수 6,000ml와 함께 등근 플라스크에 담고 냉각기를 부착한 전탕기에서 2시간동안 전탕한 다음 1차 여과한 여과액을 회전식 농축기로 감압농축한 후, 완전 동결건조시켜 물추출액 기스 177 g을 얻어 실험에 사용하였다.

2) 실험군 분류 및 시료의 투여

64마리의 생쥐를 16마리씩 4군으로 나누어, 증류수를 먹이고 방사선을 조사하지 않은 동물을 정상군(Normal)으로, 증류수를 먹인 후 방사선을 조사한 군을 대조군(Control)으로, 쥐 체중 10g 당 생맥산 2.9 mg을 200 μ l의 증류수에 녹여 구강 투여 후 방사선 조사한 군을 SMS 2.9군, 쥐 체중 10g 당 29 mg을 200 μ l의 증류수에 녹여 구강 투여 후 방사선 조사한 군을 SMS 29군으로 분류하였다. 검액은 각 기 군에 따른 용량을 방사선 조사 7일 전부터 매일 1일 1회 구강 투여하였다.

3) 방사선 조사

방사선 조사는 경희의료원 방사선 중앙학과의 선형가속기(Varian, USA)를 이용하였다. 방사선 조사를 하지 않은 정상군을 제외하고, control, SMS 2.9, SMS 29군은 각각 마지막 약물 투여 한 시간 후에 X선 방출 부위로부터 1m 거리를 유지하고, 10 Gy로 2분씩 두 번에 나누어 전신 조사하였다(선량률 240 cGy/min). 또한 정상군은 방사선 조사 없이 선형가속기 위에 위치하였다.

4) 희생

대조군 및 SMS 2.9군, SMS 29군의 동물을 각각 두 그룹으로 나누어 방사선 조사 24시간 및 72시간 후에 각각 에테르로 흡입 마취시켜 심장에서 혈액을 채취하였다. 혈액 채취 후 소장을 1 cm 길이로 4부분을 절취하고, neutral buffered formalin(NBF)에 고정하였다.

5) 혈액 검사

채취한 혈액은 EDTA tube에 담아 경희의료원 임상병리과에 의뢰하여, 백혈구(White Blood Cell : WBC), 적혈구(Red Blood Cell : RBC), 헤모글로빈(Hemoglobin concentration : Hb), 혈소판(Platelet : PLT)을 검사하였다.

6) 소낭세포 관찰

Neutral buffered formalin(NBF)에 고정된 조직을 파라핀으로 포매하여 4 μ m 두께로 잘라 슬라이드 위에 부착하였으며, 일반 조직 표본의 관찰을 위해서 Hematoxylin-eosin 염색을 하였다. 소낭의 수는 광학 현미경(Olympus, BX51, Japan) 200배 배율로 소장의 주변을 따라 세었다. 각 군당 8마리의 생쥐를 이용하였다.

7) 소낭세포와 Apoptosis의 관찰

NBF에 고정된 조직을 파라핀에 포매하고 4 μ m 두께로 잘라 슬라이드 위에 부착하고, 파라핀 제거와 합수과정을 거친 슬라이드에 apoptosis 검색 키트(CHEMICON®)를 이용하여 Terminal deoxynucleotidyl Transferase Biotin-dUTP Nick End Labeling(TUNEL) assay를 하였다. 대조염색은 메틸그린으로 하였다. apoptosis 지수(%)는 다음과 같다.

$$\text{Apoptosis 지수}(\%) = \frac{\text{Number of apoptotic cells}}{\text{1,000 crypt cells}} \times 100$$

8) 통계처리

실험결과는 통계프로그램 SPSS® for windows(version 10.0, SPSS, Inc., Chicago, USA)를 사용하여 약물의 농도에 따른 지표의 발현수치를 비교할 경우 One way ANOVA를 실시하였으며, 유의수준 P value < 0.05일 경우 유의성이 있다고 평가하였고 post hoc-test로서 Scheffe's test를 시행하였다.

III. 성 적

1. 24시간 후 및 72시간 후의 혈액학적 변화

24시간 후의 방사선 조사를 하지 않은 정상군의 백혈구 수치는 $(4.23 \pm 0.17) \times 10^3/\text{mm}^3$, 대조군은 $(2.15 \pm 0.33) \times 10^3/\text{mm}^3$ 였고, SMS 2.9군은 $(2.64 \pm 0.28) \times 10^3/\text{mm}^3$, SMS 29군은 $(3.25 \pm 0.29) \times 10^3/\text{mm}^3$ 으로 생맥산을 고용량으로 처리한 군에서는 대조군에 비해 유의하게 ($p < 0.05$) 높았다. 그러나 적혈구(RBC), 헤모글로빈(Hb), 혈소판(PLT)의 경우는 대조군에 비하여 SMS 2.9 군과 SMS 29군에서 유의한 차이가 없었다(Table 2).

72시간 후의 혈액학적 변화는 백혈구(WBC), 적혈구(RBC), 헤모글로빈(Hb), 혈소판(PLT)은 대조군에 비하여 SMS 2.9군과 SMS 29군에서 유의한 차이가 없었다(Table 3).

2. 24시간 후 및 72시간 후의 소장 소낭 세포 수의 변화

방사선 조사 24시간 후의 소장 소낭 세포 수의 변화는 방사선 조사를 하지 않은 정상군에서 소낭의 수는 평균 232.75 ± 16.47 개였고, 대조군은 112.86 ± 9.05 로 현저하게 감소하였다. 생맥산을 저용량으로 처리한 SMS 2.9군은 143.00 ± 5.36 개로 대조군에 비해 유의하게 ($p < 0.01$) 높았고, 고용량

Table 2. Changes of White Blood Cell (WBC), Red Blood Cell (RBC), Hemoglobin (Hb) and Platelet(PLT) at 24 hr after 10 Gy Irradiation.

Group	WBC (103/mm ³)	RBC(106/mm ³)	Hb(g)	PLT(g/dl)
Normal	4.23 ± 0.17	8.10 ± 0.16	13.65 ± 0.25	837.63 ± 44.26
Control	2.15 ± 0.33	8.18 ± 0.12	13.71 ± 0.17	1037.50 ± 52.94
SMS 2.9	2.64 ± 0.28	8.25 ± 0.08	13.95 ± 0.12	959.25 ± 100.60
SMS 29	3.25 ± 0.29#	8.05 ± 0.16	13.54 ± 0.30	990.75 ± 44.22

Normal: non-treated group without irradiation.

Control: control group treated with D.W before 10 Gy irradiation.

SMS 2.9: group treated with 2.9 mg/10 g of Shengmai-san extract before 10 Gy irradiation.

SMS 29: group treated with 29 mg/10 g of Shengmai-san extract before 10 Gy irradiation.

Data presented mean ± standard error. (# : P < 0.05 compared with control group by post hoc sheffe)

Table 3 . Changes of White Blood Cell (WBC), Red Blood Cell (RBC), Hemoglobin (Hb) and Platelet(PLT) at 72 hr after 10 Gy Irradiation.

Group	WBC (103/mm ³)	RBC(106/mm ³)	Hb(g)	PLT(g/dl)
Normal	4.23 ± 0.17	8.10 ± 0.16	13.65 ± 0.25	837.63 ± 44.26
Control	2.54 ± 0.24	7.00 ± 0.23	11.80 ± 0.41	721.00 ± 51.36
SMS 2.9	2.24 ± 0.23	7.14 ± 0.07	12.25 ± 0.11	729.25 ± 17.08
SMS 29	3.41 ± 0.20	7.01 ± 0.20	11.99 ± 0.23	715.43 ± 17.70

Normal: non-treated group without irradiation.

Control: control group treated with D.W before 10 Gy irradiation.

SMS 2.9: group treated with 2.9 mg/10 g of Shengmai-san extract before 10 Gy irradiation.

SMS 29: group treated with 29 mg/10 g of Shengmai-san extract before 10 Gy irradiation.

으로 처리한 SMS 29군 역시 161.14 ± 7.42 개로 유의하게($p < 0.01$) 높았다.

72시간 후 소장 소낭 세포 수의 변화는 방사선 조사를 하지 않은 정상군에서 소낭의 수는 평균 232.75 ± 16.47 개였고, 대조군은 100.00 ± 2.05 개로 현저하게 감소하였다. 생맥산을 저용량으로 처리한 SMS 2.9군은 143.75 ± 6.98 개로 유의하게($p < 0.001$) 증가하였으며, 고용량으로 처리한 SMS 29군 역시 167.29 ± 11.25 개로 유의하게 증가($p < 0.001$)하였다 (Fig. 1).

$34.35 \pm 0.82\%$ 로 유의하게($p < 0.001$) 감소하였다.

72시간 후 apoptosis의 변화는 방사선 조사를 하지 않은 정상군에서 apoptosis는 평균 $1.93 \pm 0.92\%$ 였고, 대조군은 $12.74 \pm 1.05\%$ 로 현저하게 증가하였다. 생맥산을 저용량으로 처리한 SMS 2.9군은 $7.84 \pm 0.36\%$ 로 유의하게($p < 0.001$) 감소하였으며, 고용량으로 처리한 SMS 29군 역시 $8.49 \pm 0.89\%$ 로 대조군에 비해 유의하게($p < 0.01$) 감소하였다. 그러나 SMS 2.9군과 SMS 29군 사이에 유의한 차이는 없었다(Fig. 2, Fig. 3-1, Fig. 3-2).

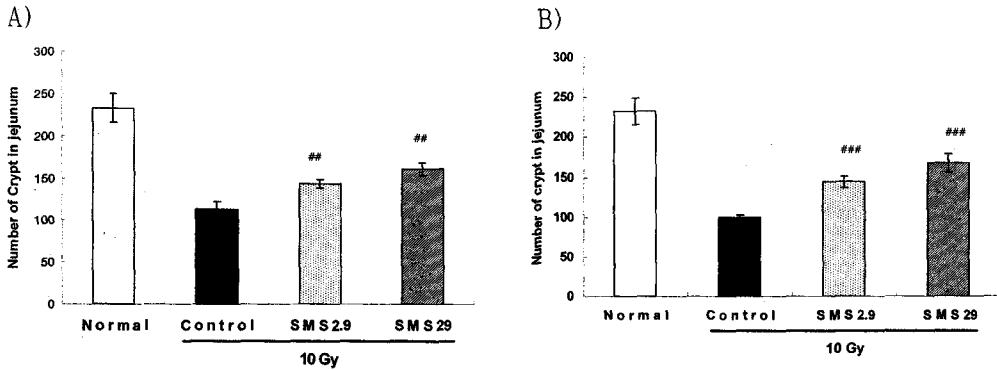


Fig. 1. Effect of Shengmai-san on Number of Jejunal Crypt at 24hr and 72hr after 10 Gy Irradiation. A) 24hr after 10Gy irradiation. B) 72hr after 10Gy irradiation.

Normal: non-treated group without irradiation.

Control: control group treated with D.W before 10 Gy irradiation.

SMS 2.9: group treated with 2.9 mg/10 g of Shengmai-san extract before 10 Gy irradiation.

SMS 29: group treated with 29 mg/10 g of Shengmai-san extract before 10 Gy irradiation.

Error bars indicate standard error of mean. (##: $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ compared with control group by post hoc sheffe)

N. 고찰

3. 24시간 후 및 72시간 후의 apoptosis의 변화

방사선 조사 24시간 후의 apoptosis는 방사선 조사를 하지 않은 정상군에서 apoptosis는 평균 $1.93 \pm 0.92\%$ 였고, 대조군은 $12.74 \pm 1.05\%$ 로 현저하게 증가하였다. 생맥산을 저용량으로 처리한 SMS 2.9군은 $7.84 \pm 0.36\%$ 로 유의하게($p < 0.001$) 감소하였으며, 고용량으로 처리한 SMS 29군 역시

암은 현대인의 중요한 건강문제 중의 하나로, 전 세계적으로 매년 700만명의 암환자가 발생하고, 전체 사망자의 12.4%가 암으로 사망하고 있으며 국내에서는 2004년 사망순위 중 1위로 전체의 26.3%를 차지하였다^{15,16}.

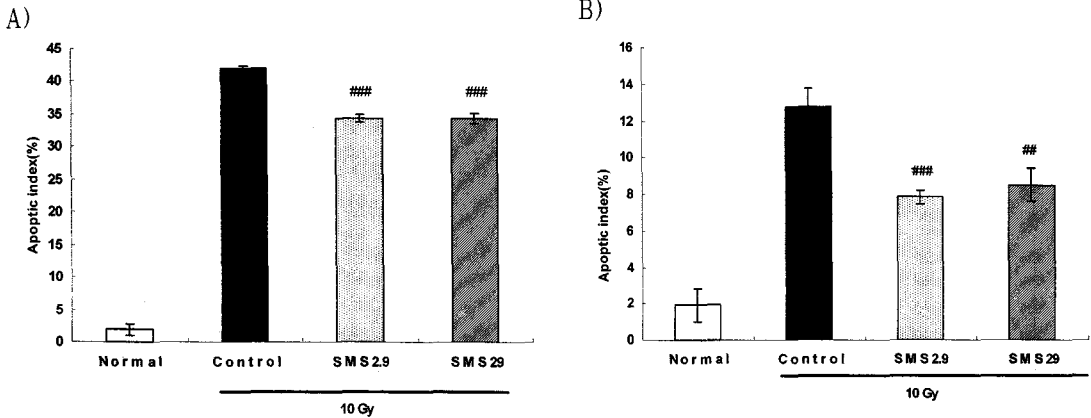


Fig. 2. Effect of Shengmai-san on Percentage of Apoptosis Cells at 24hr and 72 hr after 10 Gy irradiation. Normal: gcnon-treated group without irradiation. Control: control group treated with D.W before 10 Gy irradiation. SMS 2.9: group treated with 2.9 mg/10 g of Shengmai-san extract before 10 Gy irradiation. SMS 29: group treated with 29 mg/10 g of Shengmai-san extract before 10 Gy irradiation. A) 24hr after 10 Gy irradiation. B) 72hr after 10 Gy irradiation. Error bars indicate standard error of mean. (##, P < 0.01, ###, P < 0.001 compared with control group by post hoc sh effe)

국내의 암으로 인한 사망률 중 대장암, 전립선암은 1994년 각각 5.0%, 0.4%에서 9.1%, 1.4%로 증가하였고¹⁶, 90년대까지 국내 여성암의 1위를 차지한 자궁암¹⁷은 1994년 3.0%에서 2004년 2.1%¹⁶로 전체 암 사망률 중 차지하는 비율이 감소하였으나 여전히 높은 편이다.

방사선 요법은 서양의학에서 주요 암치료법 중 하나로 미국에서는 암환자의 약 1/2, 국내에서는 암환자의 약 1/3에서 방사선치료가 시행되고 있으며 점차 적용의 예는 증가하고 있다¹⁹. 또한 암이 국소적으로 국한되어 있을 경우 20~30%는 방사선 치료에 의해 완치되므로²⁰ 정상세포에 대한 손상을 최소화하여 방사선 부작용을 감소시키면서 효과적인 치료를 도모하기 위한 방법들이 연구되고 있다.

전신 조사 시 발생하는 방사선 부작용은 조사량에 따라 다양하며, 3~4 Gy의 방사선량에서는 오

심, 구토, 피로감 등의 전구증상이 나타나고, 3~8 Gy에서는 순환하는 혈액성분이 고갈되어 3~4주 후에 사망하게 되는 조혈중후군이 발생되며, 10 Gy에서는 위장관 점막의 상피세포가 파괴되어 출혈성 설사 증상이 나타나는 위장관 중후군으로 약 9일만에 사망하게 된다. 100 Gy 이상의 고선량에서는 신경과 심혈관계 파괴로 24-48시간 내에 사망하는 신경혈관중후군을 초래하게 된다^{21,22}.

대장암, 전립선암, 자궁암과 같은 골반강내 종양의 경우 방사선 치료가 주요 치료수단 가운데 하나이지만, 골반강내 방사선 치료를 시행하는 경우 장점막에도 상당한 선량의 방사선 조사를 받게 되어 장 점막의 손상이 불가피하게 된다¹².

특히 소장 점막은 분화율이 매우 높고 세포주기가 빠르기 때문에 방사선에 매우 민감하게 반응하는데², 방사선 조사로 유발된 장 점막의 손상은 약 50%의 환자에서 발생하며 설사로 특징으로 하

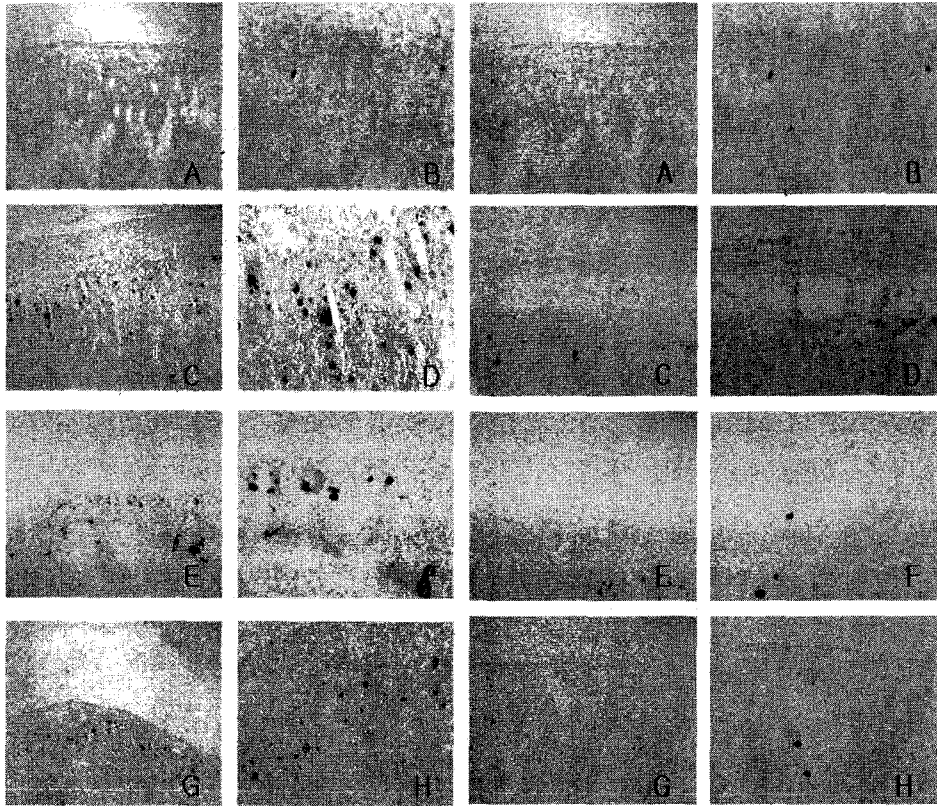


Fig. 3-1

Fig. 3-2

Fig. 3-1 Photomicrographs of TUNEL positive cells at 24hr after 10 Gy irradiation

Fig. 3-2 Photomicrographs of TUNEL positive cells at 72hr after 10 Gy irradiation

(magnification A, C, E, G: X400 ; B, D, F, H: X1000).

(A-B) Normal group.

(C-D) Control group treated with D.W before 10 Gy irradiation.

(E-F) SMS 2.9 treated with 2.9 mg/10 g of Shengmai San before 10 Gy irradiation.

(G-H) SMS 29 treated with 29 mg/10 g of Shengmai San before 10 Gy irradiation.

는 급성 장염과 출혈이나 궤양같은 만성 장질환으로 나눌 수 있다. 대부분의 경우 급성의 방사선 직장염은 방사선 치료 종료 후 합병증 없이 소실되거나 일부의 환자에서 장점막의 만성 손상으로 염증이나 상피세포 손상, 혈관 경화와 관련된 전벽의 섬유화(transmural fibrosis)로 협착과 폐쇄가 일어나고, 허혈상태가 심해지면 괴사, 궤양, 누공형성, 만성 흡수부전 등을 야기하여 결과적으로 생명을

위협하는 합병증이 될 수 있으며, 환자의 삶의 질에도 크게 영향을 미치게 된다^{3,4}. 또한 방사선 치료로 인한 장점막의 손상은 방사선 치료의 잦은 중단과 지연을 야기하고, 결국 치료실패를 가져오기도 한다⁵.

방사선 조사에 의한 부작용은 한의학적으로는 火熱毒邪로 인한 津液과 氣血의 損傷 및 脾胃, 肝腎 間의 失調로 볼 수 있으며, 清熱解毒, 生津潤燥,

養補氣血, 健脾和胃, 滋補肝腎, 活血化瘀 등의 治法이 활용 된다²³.

이를 토대로, 한약을 이용하여 방사선요법과 병행치료를 통해 정상조직에 대한 부작용을 경감시키고 면역기능을 증강시켜 치료효과를 향상시키려는 시도가 다양하게 진행되고 있으며 적지 않은 성과를 보이고 있다.

崔²⁴는 補中益氣湯, 四六湯이 방사선조사 후 마우스 조혈세포 증식 및 회복에 효과가 있다 하였고, Hosokawa²⁵는 補中益氣湯, 小柴胡湯, 十全大補湯 등이 방사선 방어효과가 있음을 보고하였다. 또한朴²⁶ 등은 加味沙蔞麥門冬湯이 항암활성과 방사선 부작용 억제에 효과가 있다고 보고하였다.

방사선에 의한 장 손상에 대한 보호효과에 대한 연구로, 김²³등은 扶正生津湯이 방사선 조사 후의 jejunum과 ileum의 crypts의 탈락과 fusion을 유의성 있게 감소시키는 것을 보고하였고, 이²²는 加味香砂六君子湯을 방사선 조사 전후 6일간 투여하였을 때 소장의 생존율이 높게 나타났다고 보고하였으나, 그 기전은 apoptosis와는 관련이 없는 것으로 보고하였다. 또한 장⁶은 紫河車가 생쥐 소장에서 방사선 조사 후 소장세포에 대해 보호와 재생효과가 있으며 또한, apoptosis 억제 효과가 있다고 보고하였다.

방사선으로 유발된 장 손상의 주요 기전은 apoptosis라는 것이 알려져 있다^{6,27}. 다시 말하면 방사선 유발 세포독성은 활성산소물질(Reactive Oxygen Species; ROS)과 관련이 되어있고^{6,7}, ROS의 과생산은 apoptosis 과정을 촉진한다고 알려져 있다^{6,8}. 따라서 최근의 방사선보호 물질의 대부분은 방사선 조사로 유발되는 세포내 ROS의 생산을 직접적으로 혹은 간접적으로 줄여주는 항산화 효과에 초점이 맞추어져 개발되고 있다⁹.

생맥산은 《內外傷辨惑論》에 처음 언급되었고

益氣生津, 養陰斂汗을 주효능으로 하여 熱病, 暑熱, 耗傷陰津 및 久咳傷肺氣陰兩虛 등의 증을 치료하여 氣短, 倦怠, 口渴, 汗出 등의 증에 이용되어 왔다¹⁰.

최근 생맥산을 이용한 연구에서 Wang²⁸은 대뇌의 허혈-재관류시 발생하는 free radical에 의한 대뇌 손상의 예방 및 보호에 생맥산이 효과가 있다고 보고하였다. Ichikawa¹²는 대뇌 산화손상에 대한 생맥산의 보호효과에 대해 발표하였고 Wang¹³은 생맥산의 항산화효과에 근거하여 PC12 세포에서의 산화손상 예방효과에 대해 보고하였다. 또한 Wang¹⁴은 열에 의한 대뇌손상에서 생맥산이 순환장애와 산화손상을 개선하는데 효과가 있다고 보고하였다.

이를 바탕으로 항산화 효과가 있는 생맥산이 방사선 손상에 대해서도 보호 효과가 있을 것으로 생각하였다. 이를 확인하기 위해 본 실험에서는 방사선 조사 후의 소장의 소낭세포 변화와 apoptosis를 중심으로 살펴보고 이에 더불어 혈액검사상의 변화를 살펴보았다.

혈액검사에서는 방사선 24시간 후의 백혈구 수치는 대조군에서 보다 SMS 29군에서 유의하게 높았으나, 적혈구, 혈소판, 헤모글로빈 등의 수치는 정상군, 대조군, SMS 2.9군, SMS 29군 모두에서 별 차이가 없었고, 72시간 후의 혈액검사 수치는 백혈구, 적혈구, 혈소판, 헤모글로빈 모두 각 군별로 유의한 차이가 없었다.

골수는 장보다 저선량으로도 방사선 장애가 생기나 장 장애보다는 늦게 나타나고²⁹, Hsu³⁰는 사군자탕이 조혈계통의 방사선 손상에 미치는 영향을 연구한 결과, 백혈구는 5일째에, 적혈구는 19일째에, 혈소판은 9일째에 방사선만 조사한 군에 비해 사군자탕을 투여한 군이 유의한 보호효과를 보였다고 하였다. 이를 볼 때 본 연구에서의 24시간, 72

시간 후의 혈액검사 수치만으로는 골수조혈계통의 방사선 손상에 대한 부작용 감소효과를 판단하기는 어려울 것으로 보이며, 이에 대해서는 부가적인 실험을 통한 확인이 필요할 것으로 생각된다.

소장 점막은 증식 속도가 빠른 조직으로 방사선에 대한 반응이 조기에 나타나 표피세포의 괴사가 일어난다. 생쥐에 5~10Gy 전신 방사선 조사시 소낭선 세포의 파괴는 24시간에 최고에 달하며 4일 이내에 재생이 시작된다. 그리고 apoptosis 또한 방사선 조사 후 16시간에서 24시간에 최고치를 이루고, 소낭의 재생이 시작되는 시기에는 현저하게 감소한다. 그러나 10Gy 이상으로 방사선 조사량이 증가하면 소낭선내의 기간세포가 대부분 파괴되어 상피세포의 재생이 불가능해진다¹.

본 실험에서는 방사선 조사량을 재생 가능한 최대 선량으로 추정되는 10Gy로 정하였고, 그 결과 정상군에 비해 대조군은 방사선 조사 24시간 및 72시간 후의 생존 소낭수가 크게 감소하였고, apoptosis는 24시간 후 보다 72시간 후에 감소하였다. 그러나 SMS 2.9군 및 SMS 29군 모두에서 대조군에 비해 방사선 조사 24시간 및 72시간 후의 생존 소낭수는 유의하게 증가하였고, apoptosis는 감소하였다. 그러나 SMS 2.9군 및 SMS 29군 사이의 생존 소낭수나 apoptosis는 별다른 차이가 없었다.

즉 생맥산은 생쥐에서 방사선 조사에 대한 소장 소낭 세포의 보호 및 재생에 효과가 있었으며, 이 보호 효과는 생맥산의 항산화 효과와 관련하여 방사선 조사에 의한 세포내 ROS 과생산을 막아주고 이로 인한 세포의 apoptosis를 억제시킨 것에 의한 것으로 생각된다. 그리고 생맥산을 저용량, 고용량으로 처리한 군 간의 소장 소낭 세포 보호 및 재생효과와 apoptosis 억제 효과는 별다른 차이가 없었다.

앞으로 임상에서 방사선 방어제로 생맥산을 활용하기 위한 다양한 투여 조건을 확인하기 위해서 방사선 조사 전 뿐만 아니라 방사선 조사하는 기간 내 및 방사선 조사 후 약물을 투여했을 때 각각의 효과에 관한 연구가 시행되어야 할 것으로 생각된다. 또한 본 실험에서 미비하였던, 혈액검사 조건에 미치는 영향에 대해서도 살펴보아야 할 것이다.

V. 결론

이상의 결과로 보아 생맥산은 생쥐에서 방사선 조사로 인한 소장 점막의 손상에 대해 방어 효과가 있었으며 이 방사선 보호 효과는 생맥산의 항산화 효과에서 기인한 apoptosis의 억제와 관련이 있는 것으로 생각된다. 실제 임상에서 방사선 조사 후 장점막의 손상 예방 및 회복을 위해 생맥산을 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

VI. 參考文獻

1. 유미령, 정수미, 계철승, 김연실, 윤세철. 생쥐에서 과립구 집락형성인자(Granulocyte-Colony Stimulating Factor)의 공장점막에 대한 방사선 보호효과. 대한방사선종양학회지. 2001;19(1):45-5.
2. 강진오, 하은영, 백형환, 조용호, 홍성언. 멜라토닌이 생쥐 소낭 세포 재생과 아포토시스에 미치는 영향에 대한 연구. 대한방사선종양학회지. 2000;18(1):60-7.
3. Linard C, Marquette C, Mathieu J, Pennequin A, Clarencon D, Mathe D. Acute induction of inflammatory cytokine expression after gamma-irradiation in the rat: effect of an

- NF-kappaB inhibitor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;58(2):427-34.
4. Donner CS. Pathophysiology and therapy of chronic radiation-induced injury to the colon. *Dig Dis.* 1998;16:253-61.
 5. Amdur RJ, Parsons JT, Fitzgerald LT, Million RR. The effect of overall treatment time on local control in patients with adenocarcinoma of the prostate treated with radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1990;19(6):1377-82.
 6. 장선영. Effect of Horminis placenta on radiation-induced apoptosis and crypt regeneration in rat small intestine. 서울:경희대학교 대학원 2005
 7. Anscher MS, Chen LC, Rabbani Z, Kang S, Larrier N, Huang H, Samulski TV, Dewhirst MW, Brizel DM, Folz RJ, Vujaskovic Z. Recent progress in defining mechanisms and potential targets for prevention of normal tissue injury after radiation therapy. *Int J radiat oncol biol phys.* 2005;62(1):255-259.
 8. Barr PJ, Tomei LD. Apoptosis and its role in human disease. *biotechnology(NY).* 1994;12:487-793.
 9. Lee TK, Johnke RM, Allison RR, Brien KFO, Dobbs LJ. Radioprotective potential of ginseng. *Mutagenesis.* 2005;20(4):237-243.
 10. 李東垣. 東垣十書. 서울:대성문화사;1983, p.41-90
 11. Ichikawa H, Konishi T. In vitro antioxidant potentials of Traditional Chinese Medicine, Shengmai San and Their Relation to in Vivo Protective Effect on cerebral Oxidative damage in rats. *Biol pharm bull.* 2002;25(7):898-903.
 12. Ichikawa H, Wang X, Konishi T. Role of component herbs in antioxidant activity of shengmai san-a traditional chinese medicine formula preventing cerebral oxidative damage in rat. *Am J Chin Med.* 2003;31(4):509-21.
 13. Wang L, Nishida H, Ogawa Y, Konishi T. Prevention of oxidative injury in PC12 cells by a traditional chinese medicine, Shengmai San, as a model of an antioxidant-based composite formula. *Biol Pharm Bull.* 2003;26(7):1000-4.
 14. Wang NL, Liou YL, Lin MT, Lin CL, Chang CK. Chinese herbal medicine, shengmai san, is effective for improving circulatory shock and oxidative damage in the brain during heatstroke. *J Phamacol Sci.* 2005;97:253-265.
 15. Christopher JLM, Alan DL, Colin DM, Claudia S. The global burden of disease 2000 project: aims, methods and data sources. Global programme on evidence for health policy discussion WHO Nov 2001
 16. 통계청인구동향과. 2004년 사망원인 통계결과: 보도자료. 서울:통계청. 2005
 17. Shin HR, Jung KW, Won YJ, Park JG. 2002 Annual report of the Korea Central Cancer Registry: Based on Registered Data from 139 hospitals. *Cancer res treat.* 2004;36(2):103-114.
 18. 김영일. 방사선치료. 서울:신광출판사;1992, p.11.
 19. 김미숙, 류성렬, 조철구, 유형준, 양광모, 지역훈, 이동훈, 이동한, 김동준. 국내 병원 별 방사선 치료의 진료구조 현황. *대한방사선종양학회지.* 1999;17(2):172-178.

20. 김한섭. 암의 치법, 처방 및 치료약물에 관한 문헌적 고찰. 대한한의학회지. 1986;6(1): 161-166.
21. Hall EJ. Radiobiology for the radiologist. 4th edition. J. B. Lippincott company;1994, p.321.
22. 이태업, 김진성, 윤상협, 류봉하, 박동원, 류기원. 加味香砂六君子湯이 생쥐 소장에서 방사선 조사 후 보호효과와 Apoptosis에 미치는 영향. 대한한방중앙학회지. 2000;6(1):1-18.
23. 김종대, 조종관. 扶正生津湯이 방사선 조사 부작용에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1998;19(2):125-38.
24. 최승훈. 방사선 조사 후의 N:GP(S) mouse 비장세포 증식에 미치는 補中益氣湯과 四六湯의 효과. 제1회 동양의학 국제심포지움논문집. 1995;1:110-239.
25. Hosokawa Y. Radioprotective effects of Chinese medical prescriptions in mice. J Med Phar Soc for Wakan-Yaku. 1986;3:164-9.
26. 박양춘, 김병탁. 加味沙蔘麥門冬湯이 항암활성과 방사선부작용 억제효과에 미치는 영향. 대전대학교한의학연구소 논문집. 1999;8(1): 403-424.
27. Potten CS, Merritt A, Hickman J, Hall P, Faranda A. Characterization of radiation-induced apoptosis in the small intestine and its biological implications. Int J Radiat Biol. 1994;65:71-8
28. Wang X, Magara T, Konishi T. Prevention and repair of cerebral ischemia-reperfusion injury by Chinese herbal medicine, shengmai san, in rats. Free Radic res. 1999;31:449-455.
29. 강세식. 방사선치료학. 서울: 대학서림;1998, p.32-3.
30. Hsu HY, Yang JJ, Lian SL, Ho YH, Lin CC. Recovery of the hematopoietic system by Si-Jun-Zi-Tang in whole body irradiated mice. J Ethnopharmacology. 1996;54:69-75.