

內消沃雪湯이 항암 및 면역에 미치는 영향

정민영 · 김종한 · 박수연 · 최정화
동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

Effects of NaisoOkseol-Tang (NOT) on solid tumor and immunity

Min-Young Jung · Jong-han Kim · Su-yeon Park · Jeong-hwa Choi

Objective : The present study was carried out to investigate the effects of NaisoOkseol-Tang (NOT) on solid tumor in mice in terms of immune-potentiating and direct cytotoxic action of NOT in vitro and vivo study.

Methods : The present author investigated thymocyte proliferation and NO production to confirm immune-potentiating activity of NOT and also investigated body/tumor weight and survival rates in tumor bearing mice. In this study, administration of NOT decreased tumor/weight ratio significantly, and prolonged survival duration compared to non-treated control. Treatment with NOT also elevated proliferation rates of thymocytes isolated from tumor bearing mice.

Results : In vitro study, treatment with NOT suppressed proliferation rate of Sarcoma 180 (S-180) cells. Contrary, treatment with NOT elevated proliferation rate of thymocytes. These results were co-related with in vivo study. In addition, NO production from abdominal macrophages isolated from normal mice was not affected by treatment with NOT.

Conclusion : NOT is useful to treat patient with solid tumor, because NOT has direct toxic action for tumor cell and immune-potentiating action for T cells.

Key words : NaisoOkseol-Tang (NOT)

1. 서 론

한의학에서 암은 癭^{1,2)}, 瘤³⁾, 癥^{4,5)}, 瘕⁶⁾, 積⁷⁾, 聚^{8,9)}, 癰疽¹⁰⁻¹²⁾ 등의 범주에 해당하며 병리기전으로

는 氣滯血瘀, 痰結濕聚, 熱毒內蘊, 臟腑失調, 氣血虧虛, 經絡瘀阻 등이 있다¹³⁾.

일반적으로 암은 조직의 자율적인 過剩 成長¹⁴⁾으로 정상 조직과 증식의 균형을 이루지 못하고 그러한 변화를 일으키는 자극이 없어져도 지속적인 증식이 진행되는 모든 것을 말한다¹⁵⁾.

암 치료는 화학요법이 외과적 수술, 방사선 요법 및 면역요법과 함께 주요 방법에 하나다¹⁶⁾. 그러나

교신저자 : 최정화, 동신대학교부속광주한방병원,
안이비인후피부과학교실
(Tel. 062-350-7217, E-mail, mining32@daum.net)
• 접수 2008/02/25 • 수정 2008/03/18 • 채택 2008/04/11

화학요법 시행 초기에는 종양의 크기가 줄어드는 민감한 반응을 나타내나 점차 암세포가 항암제에 대하여 내성을 획득하여 결국 화학요법이 실패하게 되는 경우가 많다. 또한 무독성 항암제를 개발하기 위하여 세계 각국에서 많은 비용과 노력을 투자하고 있으나 아직까지 이상적인 항암제가 얻어지지 않고 있다. 따라서 최근에는 한약제를 이용한 항암연구도 활발히 진행되고 있다.

內消沃雪湯은 《古今醫鑑》¹⁷⁾에 최초로 기록되어 있으며 “治胃肚癰 及肚癰內疽 神效.” 라 하였고 《外科正宗》¹⁸⁾에 “治發背初忌, 但未出膿, 堅硬疼痛, 不可忍者.” 라 하였다.

內消沃雪湯의 기존 연구를 살펴보면 고¹⁹⁾는 복강암세포주인 sarcoma-180에 內消沃雪湯을 투여하여 항암효과를 살펴보았다. 그러나 이는 S-180에 대한 세포이식 마우스의 체중 및 고형암에 미치는 효과와 생존을 연장에 미치는 효과에 대한 보고로 인체의 면역작용에 관한 연구가 미약하였다.

이에 저자는 內消沃雪湯의 항암효과 및 그 작용기전을 구명하기 위하여 S-180 세포를 이용하여 복강암을 유발하고, 체중 및 암종의 무게에 미치는 영향 및 생존을 변화를 관찰함과 동시에, 실험관 내에서 S-180세포와 흉선세포의 증식에 미치는 영향을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고 하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 세포주 및 배양환경

세포주는 한국세포주은행에서 구입한 복강암 세포주인 Sarcoma-180세포를 사용하였다. Sarcoma-180 세포주와 면역세포 (흉선세포, thymocyte)는 RPMI 1640 (Sigma R4130) 배지에 10% fetal bovine

serum (Gibco, LOT# 1006842)과 penicillin-streptomycin(100 units/ml, 100 µg/ml)을 첨가하여 사용하였다. 세포주와 면역세포는 37 °C, 5% CO₂ 환경하에 유지 하였다.

2) 실험 동물

Balb/c계 8 주령된 수컷 생쥐를 (주) 다물 사이언스에서 구입하여 사용하였다. 사육 조건은 온도 20±3 °C, 습도 55±5%, light/dark 12 hr하에서 고형 사료와 물을 자유로이 섭취케 하였다. 모든 실험 동물은 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

Table 1. Prescription of NOT

韓藥名 (Herbal Name)	生藥名 (Scientific Name)	重量 (Weight, g)
當歸身	<i>RADIX ANGELICAENGIGANTIS</i>	1.875
白芍藥	<i>RADIX PAEONIAE ALBA</i>	1.875
甘草	<i>RADIX GLYCYRRHIZAE</i>	1.875
黃芪	<i>ASTRAGALI</i>	1.875
射干	<i>RHIZOMA BELAMCANDAE</i>	1.875
連翹	<i>FRUCTUS FORSYTHIAE</i>	1.875
白芷	<i>RADIX ANGELICAE DAHURICAEI</i>	1.875
貝母	<i>BULBUS FRITILLARIAE THUNBERGII</i>	1.875
陳皮	<i>PERICARPIUM CITRI</i>	1.875
皂角刺	<i>SPINA GLEDITSIAE</i>	1.875
天花粉	<i>RADIX TRICHOSANTHIS</i>	1.875
金銀花	<i>FLOS LONICERAE</i>	1.875
木香	<i>RADIX AUCKLANDIAE</i>	1.875
青皮	<i>PERICARPIUM CITRI RETICULATAE VIRIDE</i>	1.875
乳香	<i>OLIBANUM</i>	1.875
沒藥	<i>MYRRHA</i>	1.875
大黃酒製	<i>RADIX ET RHIZOMA RHEI</i>	5.625
Total Amount		35.625

3) 약재

內消沃雪湯은 총 18개의 약재로 구성되며, 조성은 Table 1.과 같다. 단, 18개의 약재 중 穿山甲

은 현재 보호동물로 지정되어 포획과 유통이 금지되어 있어 穿山甲을 제외하였다. 본 연구에 사용된 약재들은 동신대학교 광주 한방병원을 통하여 구입한 후 동신대 본초학 교실에서 정선 하여 사용하였다.

2. 방법

1) 시료의 제조

內消沃雪湯 3첩 을 증류수 1,500 ml와 함께 전기 약탕기 (대웅, 한국)를 이용하여 3시간 가열하여 전탕액을 얻었다. 얻어진 전탕액을 여과지로 여과한 후, 5,000 rpm으로 10분 원심분리하여 상청액을 취하였다. 얻어진 상청액을 減壓 加溫法으로 농축, 건조하여 추출 분말(NOT)을 조제 하였다. 최종으로 얻어진 분말은 16.8g으로 수득율은 16%였다.

2) 고형암의 유발 및 실험군 선정

실험 첫 날, Balb/c 생쥐 1마리당 2×10⁶개의 S-180 세포주를 200 ml 의 phosphate buffered saline (PBS)에 풀어준 다음, 복강에 1회 주사하여 고형암을 유발 하였다. 정상군(Normal) 8마리는 200 ml의 PBS를 1회 복강 주사하였다. 제 1 실험군(500 mg/kg) 8마리는 NOT를 500 mg/kg 농도로 2 주간 투여하였고, 제 2 실험군(1000 mg/kg) 8마리는 NOT를 1000 mg/kg 농도로 2 주간 투여하였다. 실험 대조군(CTL) 8마리는 같은 부피의 증류수를 2주간 투여하였다.

3) 고형암의 무게 및 체중 측정

14일간의 약물 투여가 끝난 후, 생쥐를 경추 탈구로 희생시키고 고형암 및 삼출물의 증량을 측정하였다. 고형암 및 삼출물과 체중은 전자저울 (MW-1200, (주)카스, 한국) 이용하여 측정하였으며, 각각의 생쥐에 대하여 체중에 대한 고형암 및

삼출물의 무게 비율로 나타내었다.

4) 생존율 측정

생존율 측정을 위하여 재차 실험군, 대조군을 각각 8마리씩 선정하여 500 mg/kg 및 1000 mg/kg의 분량으로 14일동안 투여 후, 날짜별로 사망하는 생쥐의 수를 확인하였다. 통계적 유의성은 Median survival time 을 계산하여 확인하였다. Median survival time의 계산 공식은 아래와 같다.

$$\text{Median survival time} = X + Y / 2$$

X ; 생존수가 전체동물수의 1/2 이 되는 최초의 시간(일)
Y ; 생존수가 전체동물수의 1/2 에서 1 일 뺀 최초의 시간(일)

단, 전체동물의 수가 홀수인 경우는 Median survival time은 X/2가 된다.

5) 면역세포 분리

상기 방법과 같이 연구가 종료된 다음 마우스의 흉선 세포의 분리를 Wysocki²⁰⁾ 및 Mizel²¹⁾ 등의 방법에 의하여 실시하였다. 분리된 흉선세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate 에 1.0×10⁶ cells/ml 농도로 접종한 다음, concanavalin A (Con A) 5 μg/ml를 첨가한 후 37 ℃의 CO₂ 배양기에서 48 시간 배양하였다.

6) S-180 복강암 세포주 및 면역세포의 증식률 측정

96-well plate에 1.0×10⁴cells/well 의 농도로 S-180 복강암 세포주 및 면역세포를 분주한 다음, 0.1 l, 10, 100 μg/ml 농도로 약물을 투여하고, 37℃의 5% CO₂환경에서 48시간 동안 방치한 다음 Mosmann²²⁾이 개발하고, Kotnic²³⁾이 변형시킨 MIT법으로 증식율을 측정한 후 대조군의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

7) 대식세포 분리 및 nitric oxide (NO) 생성능 관찰

정상 생쥐를 희생시키기 3 일전에 3% thioglycollate (TG) 2.0 ml를 복강 주사하였다. 3 일 후, 경추 탈구로 희생시킨 생쥐의 복강에 PBS 10 ml를 주입한 후 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4 °C에서 1,500 rpm으로 5 분 동안 원심분리하고 RPMI 1640배지로 2 회 세척한 후 직경 120 mm petri dish에 분주하여 CO₂ 배양기에서 배양시키고 4 시간 후에 부착되지 않은 세포를 제거한 다음 부착한 대식세포를 세포 수집기로 분리하여 24 well plate에 well당 1×10^6 cells을 분주한 후 Lipopolysaccharide(LPS) 1 μ g/ml와 interferon- γ (IFN- γ) 25 units/ml를 첨가하지 않은 군과 첨가한 군으로 분류하여, 37 °C CO₂ 배양기에서 24 시간 배양한 후 생성된 NO 양을 Griess 법²⁴⁾으로 측정하였다.

간단히 정리하자면, 세포 부유액 100 μ l와 griess reagent (1% sulfanilamide + 0.2% N-naphthyl- ethylene-diamine 2 HCl + 2.5% H₃PO₄) 100 μ l를 혼합하여 96 well plate에 넣고 microplate-reader로 570 nm하에서 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO₂의 검량선에 의해 NO 양을 측정하였다.

3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 Sigma plot (Sigma plot for Windows, ver. 9.0, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준편차(mean±SD)로 나타내었으며, 실험군과 대조군의 평균 차이를 검정할 때에는 student's t-test로 검정하였으며, 생존율 평균의 차이를 검정할 때에는 paired t-test를 시행하여, p-value 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 성적

1. 암종이 유발된 생쥐의 체중에 미치는 영향

고형암을 유발하고, NOT를 투여하면서 주 1회 체중 변화를 관찰 하였다. 실험 개시일의 체중을 100%로 하였을 때, 1주차에는 정상군 및 대조군과 모든 실험군 사이에 통계적으로 유의한 체중 변화는 관찰되지 않았다. 2주간의 약물 투여가 끝난 후, 대조군 및 실험군에서 정상군과 유의한 체중 증가가 관찰되었다. 그러나, 대조군과 500 mg/kg, 1000 mg/kg 투여군 간에는 유의한 차이가 관찰되지 않았다 (Fig. 1).

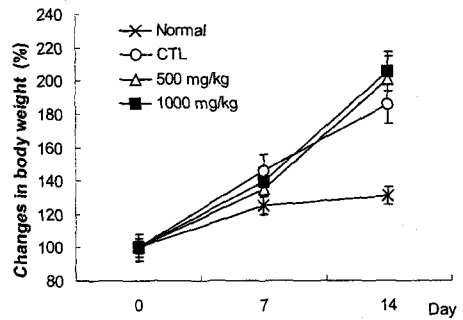


Fig. 1. Effects of NOT on changes in body weights

Body weights were measured at the beginning (day 1) and end (day 14) of experiment. Changes in body weight were represented as average weights on indicated days, which were expressed as percentages of weight on day 1. Normal: naive group, CTL: tumor bearing control, 500 mg/kg: 500 mg/kg of NOT treated group, 1000 mg/kg: 1000 mg/kg of NOT treated group. Result are presented as mean ± SD. (n=8)

2. 암종이 유발된 생쥐의 암중/체중 비율에 미치는 영향

고형암을 유발하고, NOT를 2주간 투여 후, 생쥐를 희생시켜 암중 및 삼출물과 체중의 비율을

측정하였다. 대조군의 암중/체중 비는 $55.26 \pm 2.80\%$ 인데 비해, 500 mg/kg 투여군에서는 $50.41 \pm 1.70\%$, 1000 mg/kg 투여군에서는 $48.10 \pm 2.24\%$ 로 두 실험군 모두에서 유의한 암중/체중 비율 감소가 관찰되었다. 정상군에서는 특별한 암중의 흔적을 발견할 수 없었다 (Fig. 2).

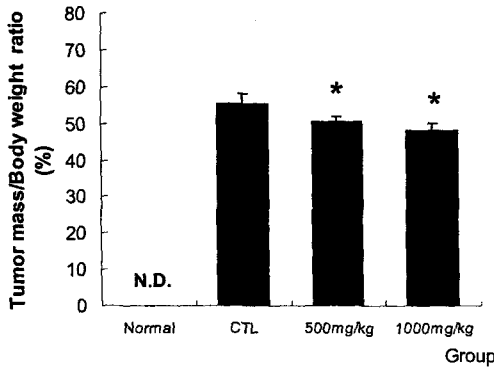


Fig. 2. Effects of NOT on tumor mass /body weight ratio in tumor bearing mice

Tumor and Body weight were measured on day 14. Normal: naive group, CTL: tumor bearing control, 500 mg/kg: 500 mg/kg of NOT treated group, 1000 mg/kg: 1000 mg/kg of NOT treated group. N.D.: not detectable. Values are expressed as ratio between tumor and body weight (w/w). Results are presented as mean \pm SD. *P < 0.05 vs. Control. (n=8)

3. 암중이 유발된 생쥐의 생존률에 미치는 영향

S-180을 복강 주사하여 암을 유발하고, 14일간의 약물 투여를 마친 후, 15일 제부터 30일까지 사망 개체수를 관찰하였다. 대조군의 경우 이식 20일 제에 모든 개체가 사망하였으나, 500 mg/kg 군은 1마리, 1000 mg/kg군은 2마리가 30일 이상 생존 하였다. Median survival time을 보면, 대조군은 17.5일인데 반해 500 mg/kg 군과 1000 mg/kg군은 각각 19.5일, 18.5일로 생존율의 연장을 확인할 수 있었다. Paired t-test 결과 CTL과 500 mg/

kg 군 사이의 P-value 0.04, CTL과 1000 mg/kg군 사이 P-value 0.009 로 유의성있는 것으로 나타났다. (Fig. 3).

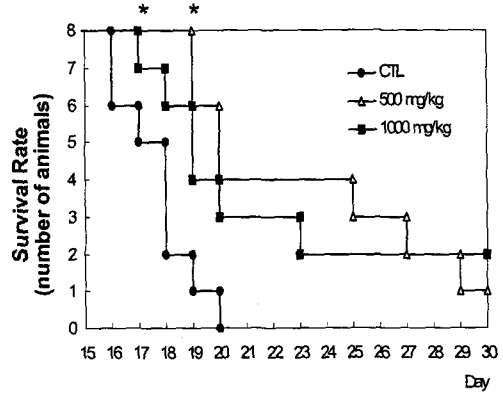


Fig. 3. Effects of NOT on survival rates in tumor bearing mice

After 14 day treatment, Survival rate was observed till day 30. CTL: tumor bearing control, 500 mg/kg: 500 mg/kg of NOT treated group, 1000 mg/kg: 1000 mg/kg of NOT treated group. Values are expressed as number of live animal. P value was calculated with survival days of each mice in tree different groups. *P < 0.05 vs. Control. (n=8)

4. S-180 복강암 세포주의 증식률에 미치는 영향

NOT가 S-180 복강암 세포주의 증식률에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 농도별로 S-180 복강암 세포주에 처리하고 증식률을 관찰하였다. 실험 결과를 살펴보면, NOT 투여 농도 $1 \mu\text{g/ml}$ 이상에서 S-180 복강암 세포주의 증식률을 유의하게 감소시켰다. 대조군의 증식율을 100(%)로 하였을 때, 1, 10, 100 $\mu\text{g/ml}$ 투여에 의한 증식율은 각각 74.92 ± 4.75 , 68.63 ± 3.97 , $67.17 \pm 3.19\%$ 였다 (Fig. 4).

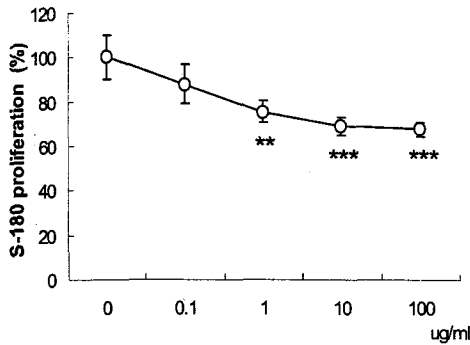


Fig. 4. Effects of NOT on proliferation of tumor cells in vitro

S-180 Cells were attached 96-well plate, and added NOT as indicated concentrations respectively. After 48 hr incubation, proliferation rates were measured using MTT methods. Values are expressed as percentage of control. Result are presented as mean \pm SD. **P < 0.01, and ***P < 0.005 vs. Control. (n=6)

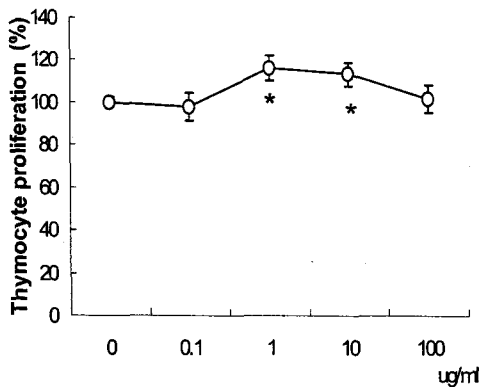


Fig. 5. Effects of NOT on proliferation of thymocytes in vitro

Thymocytes were isolated from normal mice and, attached 96-well plate, then added NOT as indicated concentrations respectively. After 48 hr incubation, proliferation rates were measured using MTT methods. Values are expressed as percentage of control. Result are presented as mean \pm SD. *P < 0.05 vs. Control. (n=6)

5. 흉선 세포의 증식률에 미치는 영향

NOT가 흉선 세포의 증식률에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 농도별로 흉선세포에 처리하고 증식률을 관찰하였다. 실험 결과를 살펴보면, NOT 투여 농도 1 $\mu\text{g/ml}$ 과 10 $\mu\text{g/ml}$ 에서 유의한 증식율 증가를 관찰 할 수 있었다. 대조군의 증식율을 100(%)로 하였을 때, 1, 10 $\mu\text{g/ml}$ 투여에 의한 증식율은 각각 116.40 ± 5.92 , 6113.40 ± 5.84 였다 (Fig. 5).

6. 대식 세포의 Nitric Oxide 생성량에 미치는 영향

정상 생쥐의 복강에서 대식세포를 분리한 후, NOT를 농도별로 처리하고 NO의 생성량을 관찰 하였다. 활성화된 대식세포에서는 휴지기 대식세포에 비하여 15배에 달하는 NO 생성량을 보였다. NOT 처리는 농도에 관계없이 NO 생성량에 특별한 영향을 미치지 않았다 (Fig. 6).

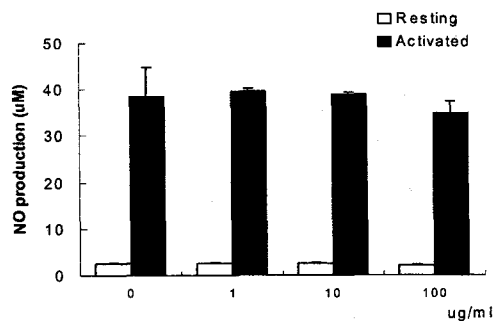


Fig. 6. Effects of NOT on NO production from macrophages in vitro

Macrophages were isolated from abdomen of normal mice and, attached 24-well plate, then added NOT as indicated concentrations respectively. After 24 hr incubation, NO productions were measured using Griess methods. Resting: Non-treated, Activated: 1 $\mu\text{g/ml}$ of LPS and 25 units/ml of IFN- γ pre-treated. Values are expressed as micro mole. Result are presented as mean \pm SD. (n=6)

7. 암증이 유발된 세포에서 분리한 흉선세포의 증식율에 미치는 영향

흉선세포의 증식율을 관찰한 결과 정상군에서는 활성화된 흉선세포와 휴지기의 흉선세포가 특별한 증식율의 차이를 보이지 않았고 대조군에서는 활성화된 흉선세포가 휴지기의 흉선세포에 비하여 2 배 이상의 증식을 증가를 관찰 할 수 있다. 500 mg/kg은 대조군과 유사한 증식율을 보인 반면, 1000 mg/kg 투여군은 대조군에 비하여 59.14± 4.83%의 증식을 향상을 보였다 (Fig. 7).

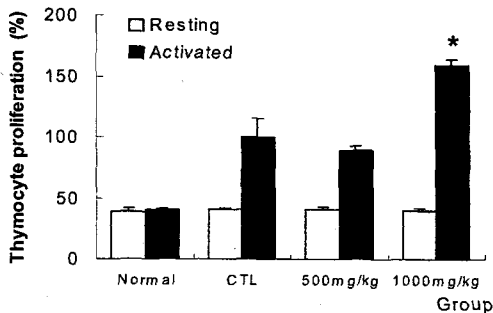


Fig. 7. Effects of NOT on Thymocytes proliferation in tumor bearing mice

Thymocytes were isolated from tumor bearing mice and, attached 96-well plate. After 48 hr incubation, proliferation rates were measured using MTT methods. Resting: Non-treated, Activated: 5 µg/ml of Con A pre-treated. Values are expressed as micro mole. Result are presented as mean ± SD. (n=8)

IV. 고 찰

암은 임상 및 병리상태적인 소견에 의하여 양성 종양과 악성종양으로 구분하며, 모든 악성 종양은 통상적으로 암이라고 불려진다²⁵⁾. 암은 조직의 자율적인 過剩 成長¹⁴⁾으로 정상 조직과 증식의 균형을 이루지 못하고 그러한 변화를 일으키는 자극이 없어도 지속적인 증식이 진행되는 모든 것을 말

한다¹⁵⁾.

암은 발생기전이 불명확하고 난치성 질병으로, 2006년 통계청의 자료에 따르면 우리나라 사망자의 사망원인 중 1위이며 지난 2005년 총 사망자 24만6000명 중 6만5000명이 암으로 사망했다. 하루 평균 179명이 암으로 사망한 것으로 전체사망원인의 26.7%를 차지했으며 암으로 인한 사망률도 매년 증가하고 있는 추세이다.

암 치료는 화학요법이 외과적 수술, 방사선 요법 및 면역요법과 함께 주요 방법에 하나다¹⁶⁾. 그러나 화학요법 시행 초기에는 종양의 크기가 줄어드는 민감한 반응을 나타내나 점차 암세포가 항암제에 대하여 내성을 획득하여 결국 화학요법이 실패하게 되는 경우가 많다. 특히 항암제는 정상세포에 대한 독성과 다제내성 문제가 되는데²⁶⁻²⁸⁾, 다제내성은 doxorubicin, vinblastine, taxol, campotecin 등 구조와 작용기전이 상이한 여러 항암제에 대하여 교차내성을 나타냄으로써 화학요법의 가장 큰 장애가 되고 있다. 그리하여 지난 수십 년 동안 정상세포에는 독성이 적으면서도 암세포에 대해서는 사멸효과가 높고, 내성을 지니지 않는 무독성 항암제를 개발하기 위하여 세계 각국에서 많은 비용과 노력을 투자하고 있으나, 아직까지 이상적인 항암제가 얻어지지 않고 있다. 따라서 최근에는 한약재를 이용한 항암연구가 활발히 진행되고 있는데 한²⁹⁾의 秘方奪命散, 유³⁰⁾의 化氣調經湯, 이³¹⁾의 어성초 돌콩 추출물, 강³²⁾의 仙傳化毒湯의 등이 있다.

한의학에서 최초로 癌이란 병명을 사용한 것은宋代의 東軒居士³³⁾인데 腫塊가 巖石과 같이 단단하고 형상이 불규칙적인 것을 의미였다.

한의학에서 암은 癭¹⁻²⁾, 瘤³⁾, 癥⁴⁻⁵⁾, 瘕⁶⁾, 積⁷⁾, 聚⁸⁻⁹⁾, 癰疽¹⁰⁻¹²⁾등의 범주에 해당하며 癰疽의 원인으로 《黃帝內經》³⁴⁾에서는 膏粱厚味, 榮衛不從, 五臟不和, 九竅不通 등에 의해, 劉³⁵⁾는 火熱, 風濕之所乘에 의해, 李³⁶⁾는 濕熱에 의해, 朱³⁷⁾는 六氣, 七情, 熱

勝血陰滯陽滯에 의해 발생된다고 하였다. 腫瘍의 병리기전으로는 氣滯血瘀, 痰結濕聚, 熱毒內蘊, 臟腑失調, 氣血虧虛, 經絡瘀阻 등이 있다¹³⁾.

한의학에서 암의 치료법으로는 清熱解毒, 化痰軟堅, 活血祛瘀, 行氣散結, 以毒制毒 등의 祛邪法³⁸⁻⁴¹⁾과 健脾益氣, 健脾益腎, 益氣補血, 滋陰溫陽 등의 扶正法⁴²⁾ 및 攻補兼施⁴³⁾의 방법이 활용되고 있다. 시기별로는 初期에 祛邪爲主의 消法을 사용하고 中期에는 扶正祛邪의 托法을 사용하며 後期에는 扶正爲主의 補法을 사용한다⁴⁴⁻⁴⁵⁾.

內消沃雪湯은 《古今醫鑑》¹⁷⁾에 최초로 기록되어 있으며 “治胃肚癰及肚癰內疽神效.”라 하였고 《外科正宗》¹⁸⁾에는 “治發背初起, 但未出膿, 堅硬疼痛, 不可忍者.”라 하였다.

內消沃雪湯 構成藥物의 效能을 살펴보면 當歸身은 補血活血, 止痛潤腸하여 癰疽瘡瘍, 月經不調 등에 사용되고, 白芍藥은 養血斂陰, 柔肝止痛하며, 甘草는 補神益氣, 潤肺止咳, 緩和藥性하여 解毒作用으로 癰疽瘡毒을 치료한다. 黃芪는 補氣升陽, 益衛固表, 托毒生肌, 利水退腫하여 癰疽久敗瘡에 사용하고, 射干은 清熱解毒, 祛痰利咽하며, 金銀花는 連翹와 함께 清熱解毒하여 風濕 및 腫毒, 癰疽, 疥癬, 각종 惡瘡을 치료한다. 白芷는 解表, 消腫排膿, 止痛하고, 貝母는 化痰止咳, 清熱散結하며, 陳皮는 理氣調中, 燥濕化痰하고, 青皮는 疏肝破氣, 散結消腫하여 癰疽瘡毒에 쓰며, 大黃은 瀉下攻積, 活血祛瘀, 清熱瀉下하여 熱毒瘡瘍 등에 사용되고, 乳香과 沒藥은 活血止痛, 消腫生肌 하는데 모두 外科 疾患의 托裏排膿에 일정한 작용이 있다⁴⁶⁾.

內消沃雪湯은 18 종의 약물로 구성되어 있으나 본 연구에서는 현재 유통되지 않는 穿山甲을 제외한 17종의 약물로 연구를 시행하였다. 약제의 구성내용으로 보아 內消沃雪湯은 扶正祛邪에 사용할 것으로 사료된다. 한의학에서 扶正은 正氣를 扶助하는 약물과 치료방법을 사용하는 것으로 補法, 祛邪는 攻逐毒死하는 약물과 치료방법을 사용하는

것으로 瀉法을 말한다²⁵⁾. 正氣는 각종의 장부조직 기관의 기능활동을 정상적으로 유지하게 하는 病邪에 대한 저항력이라 할 수 있고, 邪氣는 인체를 發病하게 하는 각종의 발병요인과 병리적 손상인 자라 말할 수 있다. 따라서 한의학에서의 正氣는 서양의학적인 측면에서 면역과 일맥상통한다고 볼 수 있고 邪氣는 암중세포와 같은 인체내 비정상적인 기능을 하고 있는 각종 질병 유발요인들이라고 말할 수 있다.

內消沃雪湯의 기존 연구를 살펴보면 고¹⁹⁾는 급성백혈병 세포주인 L1210 세포주와 복강암세포주인 S-180에 內消沃雪湯을 투여하여 그 항암효과를 살펴보았다. 그러나 이는 S-180에 대한 세포이식 마우스의 체중 및 고형암에 미치는 효과와 생존을 연장에 미치는 효과에 대한 보고로 인체의 면역작용에 관한 연구가 미약하였다.

전통적으로 인체의 면역 체계는 면역반응에 따라 세포매개성 면역와 체액성 면역으로 분류되나, 그 중 세포 매개성 면역 (Cell mediated immunity)을 담당하는 것이 T 세포이다. T 세포는 흉선에서 비활성상태로 생산되어 말초혈액을 통해 비장과 전신의 림프조직에 배치되며 T 세포의 살해 기전은 항암 작용에 중요한 요인 중의 하나로 인식되어 왔다⁴⁷⁾ 근래의 20여 년 동안, 수지상 세포 (DC, dendritic cell), 자연 살해 세포 (NK, Natural Killer cell) 등이 항암 작용에 매우 중요한 인자로 인식되어 수많은 연구가 진행되어 왔다⁴⁸⁻⁵¹⁾. 그러다가, 최근 자연살해 T 세포 (NKT)가 발견되고 NKT 세포가 항암작용에 매우 중요한 역할을 한다⁵²⁾는 사실이 밝혀지는 등, T 세포의 기능에 대한 관심이 증가하고 있다.

이에 저자는 癰疽가 癌과 有關하고¹⁰⁻¹²⁾, 복강내에 발생하는 癰疽에 內消沃雪湯을 사용한다는 것¹⁷⁾에 착안하여 本方이 미치는 抗癌效果를 살펴보았다. 동시에 韓醫學에서 扶正의 의미에 해당하는 항암요법 중 면역증강요법에 초점을 맞추어 本方이

미치는 영향을 알아보기 위한 실험을 추가적으로 시행하였다.

본 논문의 결과에서 복강 암종의 발생에 의한 체중 증가가 관찰되었다 (Fig. 1). 실험 7일 째에는 복강에 암종을 유발한 군과 정상군 사이에 체중 변화가 관찰 되었지만, 통계적 유의성은 없었다. 그러나, 실험 2주째에는 암종을 유발한 생쥐에서 정상군에 비해 50% 이상 체중의 이상 증가가 관찰되었는데 이러한 결과에서 S-180에 의한 복강 암종은 집중 한지 1주일 이상 경과 되어야 측정 가능한 암종이 형성된다는 것을 확인 할 수 있었으며, 이는 종래의 S-180 세포주를 이용한 논문들⁵¹⁻⁵³⁾에서의 결과와 일치하여 본 실험의 고행암 모델이 잘 형성되었음을 아울러 확인하였다.

고행암이 유발되면 이에 따라 복강 내에 삼출물이 발생할 수 있다는 사실이 알려져 있다⁵⁴⁾. 실험 마지막 날, 생쥐를 희생시키고 고행암 및 삼출물의 양을 측정하여 고행암/체중의 비율을 측정한 결과 500 mg/kg, 1000 mg/kg 투여군 모두에서 유의한 암종/체중 비율 감소가 관찰되었다 (Fig 2). 이러한 결과에서 NOT는 생체 내에서 암종의 유발 및 악화를 방지 할 수 있는 가능성을 확인 할 수 있었다.

생체를 대상으로 한 항암 효과를 비교함에 있어서 5년 생존율은 매우 중요한 지표 중의 하나이다. 본 연구에서도 생쥐에 암종을 유발하고 생존율을 측정하여 보았다. 본 연구의 결과에서 NOT의 2주간 투여는 주목할 만한 생존율의 연장을 보였다 (Fig. 3). 이러한 결과는 암종/체중 비율의 감소와 함께 NOT가 생체 내에서 항암 작용을 가진다는 일련의 증거로 해석된다.

본 저자는 상기한 결과들로부터 NOT의 항암 활성을 확인 할 수 있었지만, 어떤 기전에 의하여 NOT가 항암 작용을 가지는지 알 수 없었다. 따라서, 이러한 의문점을 해결하기 위하여 시험관 내에서 면역세포와 암세포의 증식율에 미치는 영향을

관찰하였다. 본 논문에서 사용한 S-180세포를 대상으로 NOT의 농도별 처리가 복강암 세포주의 증식율에 미치는 영향을 관찰 한 결과, 1 $\mu\text{g/ml}$ 이상에서 S-180 복강암 세포주의 증식율을 유의하게 감소시켰고 그 경향은 농도의존적이었다 (Fig. 4). 이에 부가하여, 생체 내 면역세포의 증식율에는 어떤 영향을 미치는 지 확인하기 위하여, 항암작용을 함에 있어서 매우 중요한 역할을 하는 T cell의 전구 세포가 다수 포함되어 있는 흉선세포⁵⁵⁾에 NOT를 농도별로 처리하고 증식율에 미치는 영향을 관찰한 결과 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 유의한 증식율의 증가를 나타내었다 (Fig. 5). 복강암 세포주에 대한 증식율 억제 실험에서 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 유의한 증식율의 감소를 보인 반면, 흉선세포에 대하여서는 유의한 증가를 보인 것은 NOT가 직접적인 암세포에 대한 세포 살해 작용을 보일 뿐 아니라, 동일 농도에서 면역계의 항진작용도 가지는 것으로 이해된다.

생체 내 항암작용에는 T 세포 뿐만 아니라 대식세포도 주요한 역할을 담당한다⁵⁶⁾. 이러한 대식세포가 항암작용을 발휘하는 과정에는 Nitric Oxide의 생성증가가 관찰된다⁵⁷⁾. 본 논문의 결과에서 NOT의 처리는 NO의 생성량에 특별한 영향을 미치지 않았다 (Fig. 6). 이러한 결과는 NOT의 항암작용이 대식세포의 활성화와는 특별한 연관이 없는 것으로 해석할 수 있다.

마지막으로 암종이 유발된 생쥐로부터 흉선세포를 분리하여 증식율을 측정하였다. 정상군에서는 휴지기 상태의 흉선세포와 Con A의 투여⁵⁸⁾에 의하여 활성화 된 상태의 흉선세포 사이에 증식율의 차이가 없었다 (Fig. 7). 그러나, 암종이 유발된 생쥐에서는 활성화된 흉선 세포에서 휴지기 세포의 2배 이상되는 증식율의 증가가 관찰되었다. 이러한 증가된 증식율이 NOT의 투여에 의하여 더욱 더 증가시킴을 알 수 있었다. 이러한 결과는 시험관 내에서 증식율의 증가와 일맥상통하는 것으로

NOT가 생체 내에서 면역기능 항진 작용이 있음을 시사한다. 이를 바탕으로 내소옥설탕이 함암제 및 암의 예방 목적으로도 사용할 수 있으리라 사료된다.

이상의 내용을 종합해보면, NOT의 투여는 암종이 유발된 생쥐에서 암중/체중 비율을 감소 시켰고, 생존율을 연장시킴으로써 항암작용을 보였다. NOT가 가진 항암작용의 기전을 확인하기 위하여 시행된 시험관 내 실험을 통하여, 복강암 세포에 대한 직접적인 증식을 억제 작용과 흉선세포에 대한 증식을 항진 작용이 있음을 알 수 있었다.

이러한 결과로부터 본 저자는 內消沃雪湯이 항암제 또는 암의 예방 목적으로 사용 할 수 있으며, 그 기전으로는 고형암에 대한 직접적인 증식 억제 작용과 면역세포의 항진 작용을 아울러 가짐을 확인하였다. 또한, 이와 관련된 후속 연구를 통하여 정확한 기전이 밝혀져야 할 것으로 보인다.

V. 결 론

고형암 세포의 복강투여로 인한 암종의 발현 內消沃雪湯이 미치는 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 內消沃雪湯 추출물은 복강암이 유발된 생쥐에서 암중/체중 비율을 유의성 있게 감소시켰다.
2. 內消沃雪湯 추출물은 복강암이 유발된 생쥐의 생존율을 유의성 있게 연장시켰다.
3. 內消沃雪湯 추출물은 시험관 내에서 복강암 세포의 증식을 농도에 비례하여 억제시켰다.
4. 內消沃雪湯 추출물은 정상 생쥐에서 분리한 흉선세포의 증식을 유의성 있게 증가시켰다.
5. 內消沃雪湯 추출물은 암종이 유발된 생쥐에서 분리한 흉선세포의 증식을 유의성 있게 증가시켰다.

참고 문헌

1. 孫淑英 편. 한방내과학. 서울, 성보사. 1991: 178-179.
2. 김진성의. 종양의 예방과 치료를 위한 식이요법. 대한한방종양회지. 1995;1(1):231.
3. 徐政周의. 한의학적 진단유형에 따른 한약방제의 항암 및 면역조절작용에 미치는 영향. 동의 병리학회지 1994;9:1-20.
4. 黃奎東의: 噎膈·反胃와 胃癌의 相關性에 대한 文獻的 考察. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995; 1(1):129.
5. 上海中醫學院編. 中醫內科學. 商務印書館. 1983:90.
6. 上海中醫學院編. 中醫外科學. 商務印書館. 1982: 302-307, 308-309.
7. 沈連生의. 老人保健中成藥. 北京, 人民衛生出版社. 1983:210-211.
8. 張代劉 編著. 中西醫結合治療癌症. 山西人民出版社. 1993:210-211.
9. 厲暢. 癌의 中醫治療. 東洋醫學. 1992;18(1):56.
10. 陳實功. 外科正宗. 瀋陽. 요령과학기술출판사. 1977:115
11. 郝坤. 外科大成. 대북. 문광도서유한공사. 1987: 198
12. 誤謙. 醫宗金鑑(下). 북경. 인민위생출판사. 1982:443
13. 崔昇勳. 동의종양학. 서울, 성보사. 1984:13, 32-42.
14. 서울대학교 의과대학 편. 종양학. 서울, 서울대학교 출판부. 1996:43-93.
15. 예방의학과 공중보건 편찬위원회. 예방의학과 공중보건. 서울, 계축문화사. 1987:426-430.
16. Astrow, A. B., Rethinking cancer. Lancet 1994:343, 494-498.
17. 龔信纂 의. 古今醫鑑. 中國, 中國中醫藥出版社. 1999:35

18. 陳實功, 外科正宗, 北京, 人民衛生出版社, 1983: 28.
19. 고흥개의3인, 內消沃雪湯의 抗癌效果, 한방안 이비인후피부과학회지, 2005;18(1):82-93.
20. Wysocki, L.J. and Sato, V.L., "Planning" for lymphocytes ; A method for cell selection, Proc. Natl. Acad. Sci., USA., 1978;75(6) : 2844-2848.
21. Mizel, S.B., Rosenstreich, D.L., Regulation of lymphocyte-activating factor (LAF) production and secretion in P388D1 cells ; identification of high molecular weight precursors of LAF, J. Immunol. Methods, 1979;122(6) : 2173-2179.
22. Mosmann, T. : J. Immunol. methods, 1983:55-63, 65
23. Kotnic, V. and Fleischmann, W.R., Jr. : J. Immunol. method, 1990:129(1):23-30.
24. Rockett, K.A., Awburn, M.M., Cowden, W.B. and Clark, I.A. : Killing of Plasmodium falciparum in vitro by nitric oxide derivatives, Infect.Immun., 1991;59(9) : 3280-3283.
25. 문구의, 암 동서의 결합치료1, 원광대학교 출판국, 1999:35, 256-257.
26. Astrow, A. B., Rethinking cancer, Lancet 1994:343, 494-498.
27. Bailer, J. C. and Gormick, H. L., Cancer undefeated, N. Eng. J. Med. 1997, 336:1569-1574.
28. Lopes, . C., Garcia, M., Benavides, F., Shen, J., Conti, C. J., Alvarez, E. and Hajos, S. E. : Multidrug resistance modulators PSC 833 and CsA show differential capacity to induce apoptosis in lymphoid leukemia cell lines independently of their MDR phenotype, Leukemia Res, 2003: 27(5):413-423.
29. 한홍준의 4인, 秘方奪命散의 항산화 · 항암 · 항균 효과 연구, 한방안이비인후피부과학회, 2007;20(1):115-129.
30. 유미경의 4인, 化氣調經湯의 항산화 및 항암 효과, 한방안이비인후피부과학회지, 2007;20(1): 80-98.
31. 이정호의 3인, 여성초 돌콩 추출물의 항암활성 및 항산화 활성 효과, 대한이비인후피부과학회 지, 2005;18(3):37-43.
32. 강문여의 4인, 仙傳化毒湯이 癌細胞 및 免疫細胞 增殖에 미치는 實驗的 效果, 대한이비인후 피부과학회, 2005;18(1):104-115.
33. 東軒居士, 衛濟寶書(中國醫學大系), 서울, 靑談 出版社 9권, 1987:817.
34. 楊維傑, 黃帝內經素問靈樞譯解, 서울, 成輔社, (素問) 1980: 235, 266, 455, (靈樞) 262.
35. 李聰甫外, 金元四大醫家 學術思想研究, 서울, 成輔社, 1985: 36-37.
36. 李東垣, 東垣十種醫書, 서울, 大星文化社, 1994: 532-533.
37. 朱丹溪, 丹溪心法附餘, 臺灣, 五洲出版社, 卷 十六, 1963: 10, 卷十八 1.
38. 洪元植, 現代中國의 癌治療法, 서울, 영문사, 1980:17-35,81-94,361-388.
39. 邱佳信외, 惡性腫瘤服藥方法的實驗研究, 중국, 浙江中醫雜誌 7,1989:985.
40. 楊貴貞외, 人蔘抗小鼠手術應激的細胞免疫調節 效應, 中西醫結合雜誌, 8, 1988:479-480.
41. 許繼平외, 惡性腫瘤氣虛陰虛證患者免疫功能觀察, 浙江中醫雜誌 7, 1983:744.
42. 林宗廣, 扶正培本法治療中晚期原發性肝癌 31 例, 上海中醫藥雜誌, 2, 1984 :7.
43. 楊金神외, 健脾理氣清熱解毒軟堅化痰方劑治療 晚期肝癌的臨床觀察及實驗研究, 중국, 中西醫結合

- 雜誌, 7, 1987:275.
44. 上海中醫學院編. 中醫外科學. 香港. 上海印書館, 1981:24-30.
 45. 顧伯華. 實用中醫外科學. 上海. 上海科學技術出版社, 1985:79-81.
 46. 辛民教. 臨床本草學. 서울. 永林社, 1997:69, 175, 221, 223, 283, 321, 332, 380, 381, 387, 453, 454, 463, 473, 506, 636.
 47. Thomas Kindt, Richard Glodsbys, Barbara Osborn, Kuby immunology. New York:W. H. Freeman and Company, 2006:6:351-367.
 48. Gilboa E, DC-based cancer vaccines. Clin Invest, 2007;117(5) : 1195-1203.
 49. Zhang T, Lemoi BA, Sentman CL. Chimeric NK-receptor-bearing T cells mediate antitumor immunotherapy. Blood, 2005;1;106(5):1544-1551.
 50. van den Broeke LT, Daschbach E, Thomas EK, Andringa G, Berzofsky JA. Dendritic cell-induced activation of adaptive and innate antitumor immunity. J Immunol, 2003;1;171(11):5842-5852.
 51. H. W. Kim, S. Jeong, G. H. Beak, S. I. Cho, B. G. Jeon, G. Y. Kim, Y. L. Cho, H. W. Jeong. Therapeutic Efficacy of extracts from root of *Acanthopanax Sessiliflorus* as anti-cancer drug; in vivo and vitro study. Korean J. Oriental physiology & pathology 2007;21(2):518-522.
 52. 백원철. 운동량이 NK Cell 및 LAK Cell 의 활성화도, 복강암 마우스의 생존기간에 미치는 영향. 한국체육학회지, 2001;40(4):719-728.
 53. 김형우, 조수인, 김계엽, 전병관, 조영림, 정현우. 방사선이 조사된 오갈피 나무의 추출물이 생쥐의 복강암 및 면역세포에 미치는 영향. 동의생리병리학회지, 2007;21(2):736-740.
 54. Ozge C, Calikoglu M, Cinel L, Apaydin FD, Ozgur ES. Massive pleural effusion in an 18-year-old girl with Ewing sarcoma. Can Respir J. 2004;11(5):363-365.
 55. Kriukova IN, Litvinov SV. Expression of Thy 1 thymocyte differentiation antigen in mouse mammary cancer cells in vitro. Biull Eksp Biol Med, 1983;96(8):81-84.
 56. Webb SD, Owen MR, Byrne HM, Murdoch C, Lewis CE. Macrophage-based anti-cancer therapy: modelling different modes of tumour targeting. Bull Math Biol, 2007;69(5):1747-1776.
 57. Hicks AM, Willingham MC, Du W, Pang CS, Old LJ, Cui Z. Effector mechanisms of the anti-cancer immune responses of macrophages in SR/CR mice. Cancer Immun, 2006;31(6):11.
 58. Dwyer JM, Johnson C. The use of concanavalin A to study the immunoregulation of human T cells. Clin Exp Immunol, 1981;46(2): 237-249.