

## 죽엽이 생쥐의 복강암에 미치는 영향

송진수 · 박수연 · 최정화 · 김종한  
동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

### Effects of Phyllostachyos Folium (PF) on solid tumor in mice

*Jin-Soo Song · Soo-Yeon Park · Jeong-Hwa Choi · Jong-Han Kim*

**Objective :** Phyllostachyos Folium (PF) has been used to treat patients with febrile disease consuming the body fluids marked by fever with restlessness, thirst etc. In the theory of herbology, PF can clear away heat and promote the production of the body fluids, relieve restlessness. Recently PF is known to have anti-bacterial, anti-oxidantic effects.

**Methods :** The present study was carried out to investigate the effects of PF on solid tumor in mice in terms of immune-potentiating and direct cytotoxic action of PF in vitro and vivo study. The present author investigated thymocyte and splenocyte proliferation to confirm immune-potentiating activity of PF and also investigated tumor/body weight ratio and survival rates in tumor bearing mice.

**Result :** In this study, administration of PF decreased tumor/body weight ratio significantly, and prolonged survival duration compared to non-treated control. In addition, treatment with PF suppressed proliferation rate of Sarcoma 180 (S-180) cells significantly, and elevated proliferation rates of thymocytes isolated from normal mice. These results were co-related with in vivo study.

**Conclusion :** In conclusion, these results suggest that PF is useful to treat patient with solid tumor, because PF has direct toxic action for tumor cell and immune -potentiating action for T cells. Further study will need to elucidate exact mechanisms related in anti-cancer action of PF.

---

**Key words :** Phyllostachyos Folium (PF), solid tumor in mice, Sarcoma 180 (S-180) cells, tumor/body weight ratio, survival rates

## 1. 서 론

2008년 통계청 발표에 따르면, 2007년 우리나라 사망원인의 1위는 악성신생물(암)로 나와 있으며 뇌혈관 질환과 심장 질환이 다음을 따르고 있다. 최근 10년 간, 암에 의한 사망률 변화측면 역시

---

교신저자 : 박수연, 목포시 상동 834번지  
동신대목포한방병원 한방안이비인후피부과  
(Tel: 061-280-7907, E-mail: swallow92@hanmail.net)  
• 접수 2009/06/29 • 수정 2009/08/02 • 채택 2009/08/08

인구 10 만 명 당 1997년 112.7 명에서 2007년 137.5 명으로 24.8 명 증가하였다<sup>1)</sup>.

암은 신체의 거의 모든 세포에서 발생하여 목적 없이 무질서하게, 또한 비가역적으로 증식하며, 정상적인 생화학적 및 물리학적 제약을 받지 아니하고 스스로 발육하여 정상조직을 파괴하며 전이성을 나타내는 전신질환이다<sup>2,3)</sup>. 한의학에서 암에 대해 《內經》<sup>4)</sup>에 石瘕, 腸覃, 積聚 등으로 기록된 以來 癥瘕, 鼓脹, 瘤病, 疝癰, 癰疽, 癭瘤, 痞塊, 血蟲, 反胃, 噎膈, 乳巖, 石疽, 石癰 등<sup>5-7)</sup>으로 記述되고 있다. 암의 韓方藥物治療原則은 크게 淸熱解毒法·化癥化痰活血法·軟堅散結法·以毒攻毒法扶正培本法 등으로 구분할 수 있다<sup>8)</sup>.

최근 한약재를 이용한 항암제 연구가 활발히 이루어지고 있다<sup>9-14)</sup>. 김<sup>15)</sup>은 한약을 이용한 항암 실험연구 경향에 대한 고찰을 통해 한약재 중 淸熱瀉火藥물이 불특정 암에 대한 종양억제 및 생존일수 연장에 유의한 효과가 있다고 보고하였다. 淸熱瀉火 약물에 속하는 죽엽<sup>16)</sup>은 벼과(禾本科 ; Gramineae)에 속한 多年生 常綠喬木인 薔草 *Phyllostachys nigra var. henonis* Stapf. 의 잎으로 性은 寒하고, 味는 辛苦하며 淸熱除煩, 生津利尿 하는 효능이 있다. 전<sup>17)</sup>의 竹葉石膏湯加減方의 항암효과에 대한 연구 이외에는 단일 약물로서 죽엽을 이용한 항암효과에 관한 연구는 아직까지 없었다.

이에 저자는 죽엽 (*Phyllostachyos Folium, PF*)의 항암효과 및 그 작용 기전을 구명하기 위하여 Sarcoma 180 (S-180) 세포를 이용하여 복강암을 유발하고, 체중 및 암종의 무게에 미치는 영향 및 생존을 변화를 관찰함과 동시에, 실험관 내에서 S-180세포, 비장세포 및 흉선세포의 증식에 미치는 영향을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 세포주 및 배양환경

세포주는 한국세포주은행에서 구입한 복강암 세포주인 Sarcoma-180 세포를 사용하였다. Sarcoma-180 세포주와 비장세포 및 흉선세포의 유지를 위하여 RPMI 1640 (Sigma R4130) 배지에 10% fetal bovine serum (Gibco, LOT# 1006842)과 penicillin-streptomycin(100 units/ml, 100  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )을 첨가하여 사용하였다. 세포주와 면역세포는 37  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  환경하에 유지 하였다.

#### 2) 실험 동물

Balb/c계 8 주령된 수컷 생쥐를 샘타코 (Samtako, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 사육 조건은 온도 20 $\pm$ 3  $^{\circ}\text{C}$ , 습도 55 $\pm$ 5%, light/dark 12 hr하에서 고형 사료와 물을 자유로이 섭취케 하였다. 모든 실험 동물은 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 복강암 무게 및 체중 변화에 미치는 영향 측정을 위하여 각 군당 8 마리의 생쥐를 사용하였고, 생존율에 미치는 영향 측정을 위하여 각 군당 10 마리의 생쥐를 사용하였다

#### 3) 약재

죽엽은 벼과(禾本科 : Gramineae)에 속한 다년생 상록교목인 薔草 *Phyllostachys nigra var. henonis* Stapf.의 잎으로 동신대학교 목포한방병원을 통하여 구입, 정선하여 사용하였다.

#### 4) 시약 및 기기

세포 생존을 측정을 위하여 Cell counting kit (Dojindo, Japan)을 사용하였고, 세포 배양을 위하여 RPMI 1640 (Sigma, USA), Fetal bovine

serum (Gibco, USA)과 penicillin-streptomycin (Sigma, USA) 등은 비전 (한국)을 통하여 구입하여 사용하였다. 시료의 조제를 위하여 centrifuge (Vision, Korea)와 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)을 사용하였으며, 흡광도 측정을 위하여 micro-plate reader (Bio-rad, USA)를 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) 시료의 제조

죽엽 150 g을 증류수 1,500 ml와 함께 전기 약탕기를 이용하여 3시간 가열하고 전탕액을 여과지로 여과하여 5,000 ×g로 10분 원심분리하여 상층액을 취하였다. 얻어진 상층액을 減壓 加溫法으로 농축하여 추출 분말을 조제 하였다. 최종적으로 얻어진 건조 분말은 9.2 g이었다.

### 2) 복강암의 유발 및 실험군 선정

실험 첫 날, Balb/c 생쥐 1마리당  $2 \times 10^6$  개의 S-180 세포주를 200 ml의 인산완충액 (Phosphate buffered saline, PBS)에 풀어준 다음, 복강에 1회 주사하여 복강암을 유발 하였다. 정상군 (Normal)은 200 ml의 PBS를 1회 복강 주사하였다. 제 1 실험군 (500 mg/kg)은 죽엽을 500 mg/kg 농도로 2주간 투여하였고, 제 2 실험군 (1000 mg/kg)은 죽엽을 1000 mg/kg 농도로 2주간 투여하였다. 실험 대조군 (CTL)은 같은 부피의 증류수를 2주간 투여하였다.

### 3) 복강암의 무게 및 체중 측정

14일간의 약물 투여가 끝난 후, 생쥐를 경추 탈구로 희생시키고 복강암 및 삼출물의 중량을 측정 하였다. 복강암과 체중은 전자저울을 이용하여 측정하였으며, 각각의 생쥐에 대하여 체중에 대한 복강암의 무게 비율로 나타내었다.

### 4) 생존율 관찰

생존율 측정을 위하여 500 mg/kg 및 1000 mg/kg의 분량으로 14일동안 투여 후, 날짜별로 사망하는 생쥐의 수를 확인하였다. 통계적 유의성은 3분기로 나누어 각각의 평균 생존 개체수를 비교하였으며, Median survival time 을 계산하여 참고하였다. Median survival time의 계산 공식은 아래와 같다.

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

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 생쥐에서 비장세포 및 흉선세포의 분리를 Wysocki<sup>18)</sup> 및 Mizel<sup>19)</sup> 등의 방법에 의하여 실시하였다. 분리된 흉선세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에  $1.0 \times 10^6$  cells/ml 농도로 접종한 다음, 비장세포는 lipopolysaccharide (LPS), 흉선세포는 concanavalin A (Con A)를 각각 5  $\mu\text{g/ml}$  를 첨가한 후 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48 시간 배양하였다.

### 6) S-180 복강암 세포주 및 면역세포의 증식율 측정

96-well plate에  $1.0 \times 10^4$  cells/well 의 농도로 S-180 복강암 세포주 및 면역세포를 분주한 다음, 62.5, 125, 250, 500, 1000  $\mu\text{g/ml}$  농도로 약물을 투여하고, 37°C의 5% CO<sub>2</sub>환경에서 24시간 동안 방치한 다음 변형된 MTT 법으로 증식율을 측정한 후 대조군의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

### 3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 Sigma plot (Sigma plot for Windows, ver. 9.0, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준편차(mean±SD)로 나타내었으며, 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였으며, 생존을 비교에는 각 군의 분기별 평균을 paired t-test로 검정하였다.

## III. 성 적

### 1. 암종이 유발된 생쥐의 체중에 미치는 영향

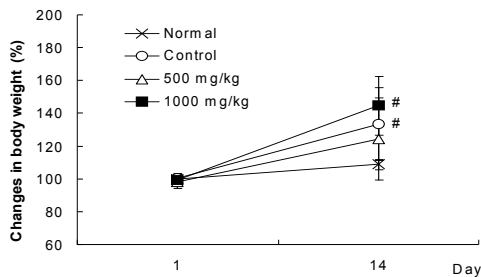


Fig. 1. Effects of PF on changes in body weights.

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, Control: tumor bearing control, 500 mg/kg: 500 mg/kg of PF treated group, 1000 mg/kg: 1000 mg/kg of PF treated group. Results are represented as mean±SD. #P < 0.05 vs. Normal (n=8).

실험 시작일 (day 1)과 복강암을 유발하고, 죽업을 2주간 투여한 후 체중 변화를 비교한 결과, 대조군과 1000 mg/kg군에서 정상군에 비하여 유의하게 증가된 체중을 보였다. 정상군의 실험 시작일

(day 1) 체중을 100%로 하였을 때, 대조군과 1000 mg/kg군에 속한 생쥐의 평균 체중은 각각 33.4±22.1%, 44.6±18.0% 증가하였다. 대조군과 두 실험군 사이에서 통계적으로 유의한 체중 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 1).

### 2. 암종이 유발된 생쥐의 암종/체중 비율에 미치는 영향

복강암을 유발하고, 죽업을 2주간 투여 후 실험 마지막 날 (day 14)에 생쥐를 희생시켜 암종과 체중을 측정된 결과 대조군에서 45.7±7.6 g, 1000 mg/kg 투여군에서 49.6±6.2 g의 평균 체중을 보여 37.3±1.1 g의 평균 체중을 보인 정상군에 비하여 유의한 수준의 평균 체중 차이를 관찰할 수 있었다(Fig. 2A).

체중 측정 후, 암종을 적출하여 무게를 측정된 결과 투여된 약물 농도에 따라 암종 무게가 감소하는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의하지 않았다(Fig. 2B).

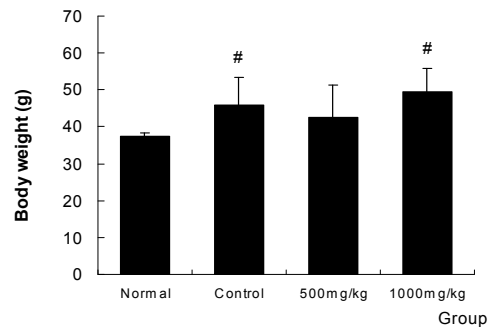


Fig. 2A. Effects of PF on body weights in tumor bearing mice.

Body weights were measured at the end (day 14) of experiment. Normal: naive group, Control: tumor bearing control, 500 mg/kg: 500 mg/kg of PF treated group, 1000 mg/kg: 1000 mg/kg of PF treated group. Results are represented as mean±SD. #P < 0.05 vs. Normal (n=8).

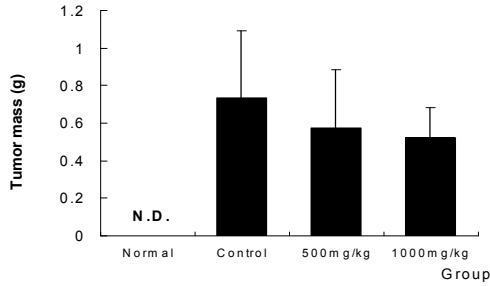


Fig. 2B. Effects of PF on tumor mass in tumor bearing mice.

Tumor mass was measured on day 14. Normal: naive group, Control: tumor bearing control, 500 mg/kg: 500 mg/kg of PF treated group, 1000 mg/kg: 1000 mg/kg of PF treated group. N.D.: not detectable. Results are represented as mean±SD (n=8).

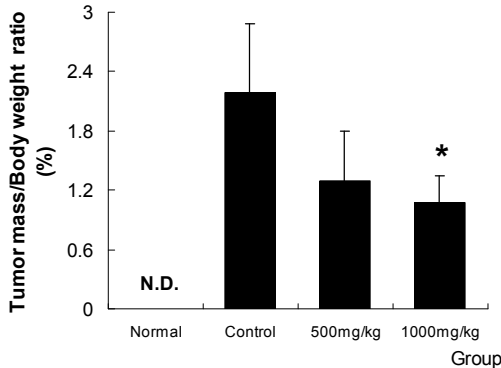


Fig. 2C. Effects of PF on tumor mass / body weight ratio in tumor bearing mice.

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

체중과의 연관성을 감안하여 좀 더 세밀히 관찰 하기 위하여 암중/체중의 비율을 계산한 결과, 대

조군의 암중/체중 비는  $2.2\pm 0.7\%$  인데 반해, 500 mg/kg 투여군에서는  $1.3\pm 0.5\%$ 의 암중/체중 비를 보였고, 1000 mg/kg 투여군에서는  $1.1\pm 0.3\%$ 로 유의한 수준의 암중/체중 비율 감소가 관찰되었으며, 정상군에서는 특별한 암중의 흔적을 발견 할 수 없었다(Fig. 2C).

### 3. 암종이 유발된 생쥐의 생존율에 미치는 영향

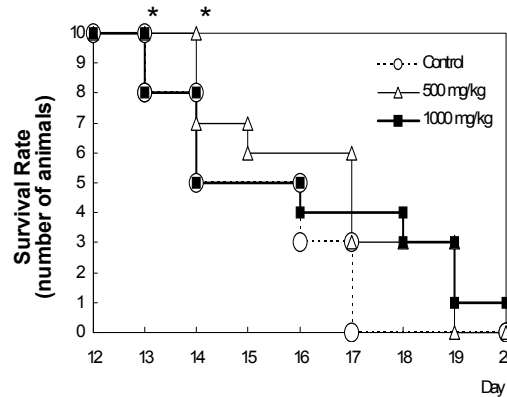


Fig. 3A. Effects of PF on survival rates in tumor bearing mice.

After 14 day treatment, Survival rate was observed till day 20. Control: tumor bearing control, 500 mg/kg: 500 mg/kg of PF treated group, 1000 mg/kg: 1000 mg/kg of PF 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)

S-180을 복강 주사하여 암을 유발하고, 14일간 의 약물 투여를 마친 후, 20일까지 사망 개체수를 관찰하였다. 대조군의 경우 이식 17일 째에 모든 개체가 사망하였으나, 1000 mg/kg군에서 1마리가 20일 이상 생존 하였다. Median survival time을 보면, 대조군은 14일인데 반해 500 mg/kg 군과 1000 mg/kg군은 각각 17일, 14일이었다(Fig. 3A).

생쥐의 생존 개체수를 3분기로 나누어 평균 생존율을 비교한 결과 상반기 3일간은 특별한 생존

개체수의 차이가 없었고, 중반기 3일에는 500 mg/kg, 1000 mg/kg군 모두에서 유의한 생존 개체수의 증가조건을 보였으며, 하반기 3일에는 1000 mg/kg 군에서 생존 개체수 증가를 보였다(Fig. 3B).

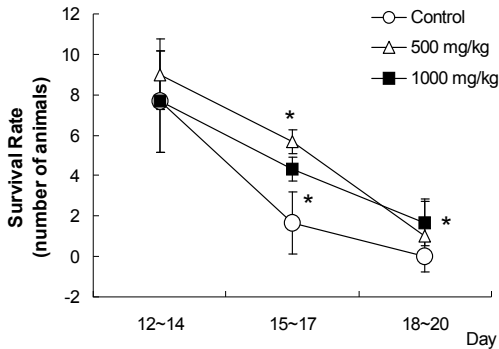


Fig. 3B. Effects of PF on survival rates in tumor bearing mice.

After 14 day treatment, Survival rate was observed till day 20. The first period contains day 12 ~ 14, second contains day 15 ~ 17, final period contains day 18 ~ 20. Control: tumor bearing control, 500 mg/kg: 500 mg/kg of PF treated group, 1000 mg/kg: 1000 mg/kg of PF treated group. Values are expressed as average of live animals in each periods. \*P < 0.05 vs. Control in each periods. (n=8)

#### 4. S-180 복강암 세포주의 증식율에 미치는 영향

죽엽이 S-180 복강암 세포주의 증식율에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 농도별로 S-180 복강암 세포주에 처리하고 증식율을 관찰하였다. 실험 결과를 살펴보면, 죽엽의 최소 투여 농도인 62.5  $\mu\text{g/ml}$ 에서 부터 유의하게 S-180 복강암 세포주 증식률 감소가 관찰되었다. 대조군의 증식율을 100(%)로 하였을 때, 62.5, 125, 250, 500, 1000  $\mu\text{g/ml}$  투여에 의한 증식률은 각각 92.9 $\pm$ 2.0%, 82.9 $\pm$ 4.1%, 73.6 $\pm$ 6.4%, 64.6 $\pm$ 6.7%, 57.0 $\pm$ 3.8%였다(Fig. 4).

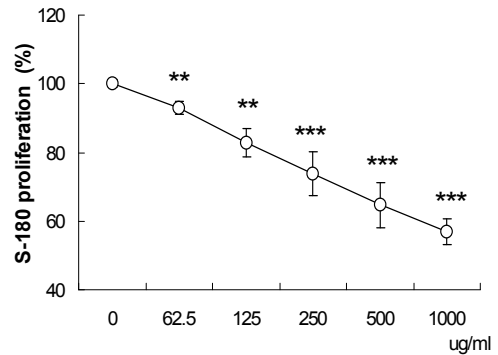


Fig. 4. Effects of PF on proliferation of tumor cells in vitro.

S-180 Cells were attached 96-well plate, and added PF as indicated concentrations respectively. After 24 hr incubation, proliferation rates were measured using modified MTT methods. Values are expressed as percentage of non-treated control. Results are represented as mean $\pm$ SD. \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001 vs. non-treated control. (n=6)

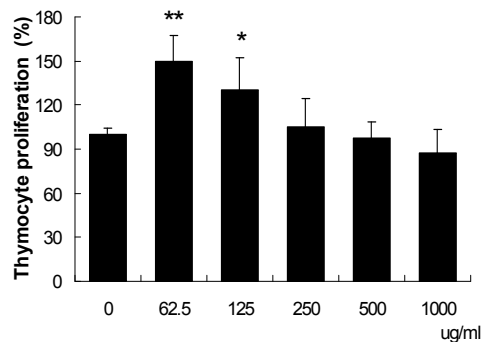


Fig. 5. Effects of PF on proliferation of thymocytes in vitro.

Thymocytes were isolated from normal mice and, attached 96-well plate, then added PF as indicated concentrations respectively. After 48 hr incubation, proliferation rates were measured using modified MTT methods. Values are expressed as percentage of control. Result are represented as mean $\pm$ SD. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 vs. Control. (n=6)

5. 흉선 세포의 증식률에 미치는 영향

죽엽이 흉선 세포의 증식률에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 농도별로 흉선세포에 처리하고 증식률을 관찰하였다. 실험 결과를 살펴보면, 죽엽 투여 농도 62.5  $\mu\text{g/ml}$  과 125  $\mu\text{g/ml}$ 에서 유의한 증식률 증가를 관찰 할 수 있었다. 대조군의 증식률을 100(%)로 하였을 때, 62.5, 125  $\mu\text{g/ml}$  투여에 의한 증식률은 각각 150.0 $\pm$ 17.0, 130.1 $\pm$ 22.2 였다 (Fig. 5).

6. 비장 세포의 증식률에 미치는 영향

죽엽이 비장 세포의 증식률에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 농도별로 비장세포에 처리하고 증식률을 관찰하였다. 실험 결과를 살펴보면, 모든 죽엽 투여 농도에서 유의할 만한 증식률 증가 조건은 관찰되지 않았다(Fig. 6).

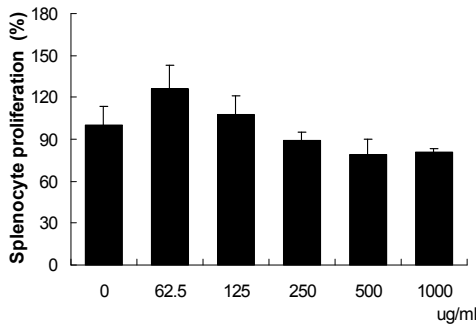


Fig. 6. Effects of PF on proliferation of splenocyte in vitro.

Splenocytes were isolated from normal mice and, attached 96-well plate, then added PF as indicated concentrations respectively. After 48 hr incubation, proliferation rates were measured using modified MTT methods. Values are expressed as percentage of control. Result are represented as mean $\pm$ SD (n=6).

Ⅳ. 고 찰

종양은 개체를 구성하는 정상세포가 여러 가지 자극에 의하여 유전자의 형질전환이 발생한 결과, 세포의 형태학·생물학·화학·물리학·면역학적 행동이 변한 형질세포가 유전적으로 대를 이어 무절제한 증식을 함으로써 형성된 형질세포범위를 뜻하며, 이를 구성하는 세포의 형태와 행동양태에 따라 양성종양과 악성종양으로 구분하는데, 그 중 악성종양을 암이라 한다<sup>2,3)</sup>. 즉 암세포는 인체 내에서 성숙한 또는 발육중인 정상세포가 여러 가지 요인으로 인하여 과도하게 증식하거나 이상 분화하여 형성되는 신생물로, 첫째 불규칙하고 빠른 성장을 하며, 둘째 침윤성 또는 침입성 성장을 하여 정상 조직을 파괴하고, 셋째 체내 여러 부위로 전이가 가능하여 인간의 건강과 생명에 위협을 주는 질병이다<sup>20,21)</sup>.

한의학에서 암에 대해 《內經》<sup>4)</sup>에서 腸覃, 石瘕, 積聚로 인식한 以來 巢<sup>22)</sup>는 癥瘕, 癭瘤, 石癭, 緩疽, 石疽로, 李<sup>23)</sup>는 癥積, 瘕聚로, 張<sup>24)</sup>은 積聚 등으로 인식하였다. 치료는 인체 正氣를 증가시키는 扶正培本法을 기본으로 더욱 구체화되어 清熱解毒法·化癥化痰活血法·軟堅散結法·以毒攻毒法·扶正培本法 등으로 구분해 치료에 활용하고 있는 실정이다<sup>8)</sup>.

기존의 항암치료는 화학요법이 외과적 수술, 방사선 요법 및 면역요법과 함께 주요방법의 하나였으나 시행 초기에는 종양의 크기가 줄어드는 민감한 반응을 나타내나 점차 암세포가 항암제에 대하여 내성을 획득하여 결국 화학요법이 실패하게 되는 경우가 많았고 그에 따르는 부작용 또한 심각하였다. 그러므로 부작용이 거의 없으면서 강력한 항암효과를 나타낼 수 있는 약제 개발이 다양하게 시행되고 있다<sup>25,26)</sup>.

김<sup>15)</sup>은 한약을 이용한 항암 실험연구 경향에 대한 고찰을 통해 한약재가 불특정 암에 대한 종양

억제 및 생존일수 연장에 유의한 효과가 있다고 보고하였고, 최근에는 한약 처방의 항암효과 연구와 더불어 단일 약재로서 한약재의 항암 효과에 관한 연구가 많이 시행되고 있다. 윤<sup>9)</sup>은 반지련이 항암효과에 유의하다는 연구를, 정<sup>10)</sup>은 인진쑥의 항산화 및 항암 효과 연구를, 손<sup>11)</sup>은 발효콩 대두황권의 항산화 및 항암효과 연구를, 허<sup>12)</sup>은 천마추출물의 항암효과 연구를, 윤<sup>13)</sup>은 대황의 간암에 대한 항암효과 연구를, 송<sup>14)</sup>은 목향의 항산화 및 항암 효과를 연구하는 등 다양한 분야에서 한약재의 항암효과 연구는 행해지고 있다.

벼과 식물 淡竹의 줄기 중 껍질층을 제거하고 꺾어낸 중간층인 죽엽<sup>27)</sup>는 열을 내리고 血分에서 熱邪를 제거하며 痰을 없애고 嘔吐를 멈추는 효능이 있고, 같은 식물 淡竹의 줄기를 불에 구어서 받은 액즙인 죽력<sup>27)</sup>은 열을 내리고 담을 滯하게 하며 驚悸를 멎게 하고 竅를 통하게 하는 효능이 있는 한약재이다. 같은 식물의 잎인 죽엽<sup>27)</sup>은 性은 寒하며 味는 辛苦하고 心 肺 胃三經에 들어가 苦寒은 心肺의 熱을 清하여 煩渴症을 치료하고, 辛寒은 上焦의 風熱을 散하게 하여 熱을 내리고 煩燥를 제거하며 津液을 생성하고 利尿하는 효능이 있어서 熱病으로 인한 煩渴, 소아의 驚癇, 咳逆으로 인한 吐血, 鼻出血, 面赤, 소변이 잦고 붉은 증상 등을 치료하는 약물이다. 현재 淡竹의 여러 부위를 이용한 한의학적 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>28-30)</sup>. 그러나 竹葉石膏湯加減方을 이용한 항암연구 이외에는 단일 약물로서의 죽엽에 대한 한의학적 연구는 아직까지 없었다.

본 연구에서는 죽엽의 항암효과를 확인하기 위하여 생쥐의 복강에 암세포를 주사하여 암종을 유발하고 약물을 투여한 다음, 생존율과 암종/체중비를 관찰하였다. 또한, 어떤 기전에 의하여 항암효과를 발휘하는지를 규명하기 위하여 복강암 세포인 S-180에 죽엽을 농도별로 투여하여 증식을 억제 효과를 관찰하고, 정상 생쥐로부터 비장세포와

흉선세포를 분리하여 죽엽의 농도별 세포 증식을 증가 효과를 관찰하였다.

본 연구에서는 S-180 세포주를 복강에 주사하여 복강암을 유발하는 동물 모델을 사용하였다. S-180 세포주를 이용한 암종 동물 모델은 복강 내에 암을 유발하나, 일부에서는 삼출물을 발생시킨다는 보고<sup>31)</sup>가 있으며, 최소한 1주일 이상 경과 하여야 복강암이 유발<sup>32-34)</sup>된다는 사실이 알려져 있기 때문에 본 연구에서는 복강암 생성 및 약물 투여기간을 2주로 설정 하였다.

본 연구의 결과에서 암종이 유발된 생쥐의 체중 변화를 관찰한 결과 대조군 및 두 가지 실험군에서 체중이 증가하는 경향이 관찰되었으며, 대조군과 두 실험군 간의 통계적 유의성은 없었다 (Fig. 1). 이러한 체중 증가는 첫째, 복강 내의 암종과 삼출물의 증가에 기인하는 경우와 둘째, 암종과 삼출물을 제외한 실질 체중 증가에 기인하는 경우, 혹은 두 가지 모두에 기인하는 경우의 3가지 가설을 세울 수 있다. 이러한 3가지 가능성을 염두에 두고 체중과 암종의 무게를 측정된 결과 대조군과 1000 mg/kg군에서 정상군에 비하여 유의한 체중 증가가 관찰되었으나, 대조군과 1000 mg/kg군 사이의 통계적 유의성은 없었다(Fig. 2A). 또한, 암종의 무게를 측정된 결과 약물투여군에서 감소하는 경향을 보였으나 대조군과 통계적 유의성은 없었다(Fig. 2B). 그러나, 암종/체중 비를 계산한 결과 1000 mg/kg군에서 대조군과 비교하여 유의한 수준의 암종/체중 비 감소가 관찰되었다(Fig. 2C). 이러한 결과로부터 대조군의 복강암 유발 후, 체중 증가는 암종과 삼출물의 생성에 기인하였다고 판단할 수 있는 반면, 1000 mg/kg군에서의 체중 증가는 암종과 삼출물의 생성 보다는 실질 체중 증가에 기인한 것임을 알 수 있었다.

항암제의 일차적인 목표는 생존율의 연장이다. 따라서, 상기한 바와 같이 죽엽 투여에 의하여 암종/체중 비가 감소하는 것을 관찰한 후, 실제로 이



러한 항암 작용이 생쥐의 생존율을 연장 시킬 수 있는지 관찰하기 위하여 동일한 방법으로 복강암을 유발하고 죽엽을 투여하면서 각 군별 생존율을 관찰한 결과 500 mg/kg, 1000 mg/kg 두 가지 투여군 모두에서 주목할 만한 생존율 연장을 보였다(Fig. 3A). 이러한 생존율의 연장의 분기별 효과 및 통계적 유의성 검증을 위하여 최초 사망 생쥐가 발생하기 하루 전날부터 3일씩 3분기로 나누어 생존율을 관찰한 결과 1분기 (day 12~14)에는 모든 군에서 특별한 생존율 연장소견을 보이지 않았지만, 2분기 (day 15~17)에는 500 mg/kg, 1000 mg/kg 두 가지 투여군 모두에서 유의한 수준의 평균 생존율 연장 소견을 보였고, 마지막 3분기 (day 18 ~ 20)에서는 1000 mg/kg군에서 유의한 평균 생존율 연장 소견을 보였다(Fig. 3B). 이러한 결과는 암중/체중 비율의 감소와 함께 죽엽이 생체 내에서 항암 작용을 가진다는 일련의 증거로 해석된다.

상기한 결과들로부터 죽엽의 항암 활성을 확인할 수 있었지만, 어떤 기전에 의하여 죽엽이 항암 작용을 가지는지 알 수 없었다. 따라서, 이러한 의문점을 해결하기 위하여 시험관 내에서 면역세포와 암세포의 증식률에 미치는 영향을 관찰하였다. 복강암 유발을 위하여 사용한 S-180세포를 대상으로 죽엽의 농도별 처리가 복강암 세포주의 증식률에 미치는 영향을 관찰한 결과, 최소 농도인 62.5  $\mu\text{g/ml}$  이상에서 S-180 복강암 세포주의 증식률을 유의하게 감소시켰고 그 경향은 농도 의존적이었다(Fig. 4). 이러한 결과는 죽엽이 직접적으로 암세포의 성장을 억제할 수 있는 가능성이 있음을 시사한다.

흉선은 T 세포의 분화 및 성숙에 관여하는 기관으로 흉선세포는 미성숙 T 세포로 구성되어 있으며, 분리된 미성숙 T 세포인 흉선세포는 concanavalin A (Con A)에 의하여 활성화 시킬 수 있음이 알려져 있다<sup>35-37</sup>. 비장에서 분리해낸 비장세포는 T 세포, B 세포가 주를 이루고, 소량의

수지상 세포와 대식세포 등으로 구성되어 있다<sup>37</sup>. 이러한 비장세포를 분리하여 LPS로 자극하는 과정에서 T 세포는 도태되고 비교적 B 세포의 비율이 높아지게 된다<sup>38</sup>.

본 연구의 결과에서 죽엽은 62.5  $\mu\text{g/ml}$ , 125  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 유의한 수준의 흉선세포 증식률 증가가 관찰되었으나, 500  $\mu\text{g/ml}$ , 1000  $\mu\text{g/ml}$  고농도에서는 그러한 증식률 증가 소견이 관찰되지 않았다. 그리고 특별한 세포독성은 관찰되지 않았다(Fig. 5). 또한, 죽엽은 62.5  $\mu\text{g/ml}$ , 125  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 비장세포의 증식률이 상승하는 듯한 경향을 보였으나 유의성은 없었고, 250  $\mu\text{g/ml}$  이상의 고농도에서는 정상 대조군 수준의 증식률이 관찰되었다(Fig. 6). 이러한 결과는 죽엽의 항암효과에 T 세포가 관여할 가능성이 클 것으로 생각된다. 단 저농도에 비하여 고농도에서는 유의한 효과가 관찰되지 않은 것으로 보아 죽엽의 농도가 항암효과에 영향을 주는 것으로 생각된다.

이상의 내용을 종합해보면, 죽엽의 투여는 암종이 유발된 생쥐에서 암중/체중 비율을 감소시켰고, 생존율을 연장시킴으로써 항암작용을 보였다. 죽엽이 가진 항암작용의 기전을 확인하기 위하여 시행된 시험관 내 실험을 통하여, 복강암 세포에 대한 직접적인 증식률 억제 작용과 흉선세포에 대한 증식률 향진 작용이 있음을 알 수 있었다.

이러한 결과로부터 본 저자는 죽엽이 항암제 또는 암의 예방 목적으로 사용 할 수 있으며, 그 기전으로는 복강암에 대한 직접적인 증식 억제 작용과 면역세포의 향진 작용을 아울러 가짐을 확인하였다.

## V. 결 론

복강암 세포의 복강투여로 인한 암종의 발현에

죽엽이 미치는 효과를 실험적으로 알아보기 위하여, 생쥐에 복강암을 유발하고, 죽엽 추출물을 투여한 다음 암종/체중 비율, 생존율을 관찰하고, 죽엽의 항암기전을 알아보기 위하여, 시험관 내에서 복강암 세포 및 면역세포의 증식에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 1000 mg/kg의 죽엽 추출물 투여는 복강암이 유발된 생쥐에서 암종/체중 비율을 유의성 있게 감소시켰다.
2. 500 mg/kg 및 1000 mg/kg의 죽엽 추출물 투여는 복강암이 유발된 생쥐의 생존율을 유의성 있게 연장시켰다.
3. 죽엽 추출물은 시험관 내에서 복강암 세포의 증식을 농도에 비례하여 억제시켰다.
4. 62.5  $\mu\text{g/ml}$  및 125  $\mu\text{g/ml}$ 의 죽엽 추출물은 정상 생쥐에서 분리한 흉선세포의 증식을 유의성 있게 증가시켰다.

### 참 고 문 헌

1. www.nso.go.kr; 2007년 사망 및 사망원인 통계결과. 통계청. 2008.
2. 大韓病理學會, 病理學(6), 서울, 高文社, 2007: 213, 225.
3. 해리슨번역판찬위원회, HARRISON'S 내과학. 서울. 정담. 2003:1963.
4. 河北中醫學院, 靈樞經校釋, 人民衛生出版社, 1982:上卷 78, 219, 下卷 37, 48, 142, 255, 326.
5. 李佩文, 中西醫臨床腫瘤學, 中國中醫藥出版社, 1996:11, 103, 118, 126, 141-2, 244.
6. 孟琳升, 中醫治癌大成, 北京科學技術出版社, 1997:9, 18, 20, 130-143, 152-157, 206-210, 233-234.
7. 都仁存, 中醫腫瘤學, 人民衛生出版社, 1992: 2-11, 131-135, 166-171.
8. 載西湖, 臨床辨病專方治療業書, 人民衛生出版社, 2000:92-96.
9. 윤종원 외. 반지련의 항암활성에 관한 연구. 부인과학회지. 2005;18(2):26-39.
10. 정미정 외. 인진쑥의 항산화 및항암활성.생약학회지. 2008;39(3):194-198.
11. 손미예 외. 발효콩 대두황권의 항산화 및 항암 효과. 한국식품저장유통학회.2007;14(5):538-544.
12. 허진철 외. 천마추출물의 항산화 및 항암활성. 한국식품저장유통학회. 2006;13(1):83-87.
13. 윤현정 외. 간암 세포주 HepG2에 대한 대황 추출물의 항암효과. 대한본초학회지. 2006; 21(4):27-36.
14. 송진욱 외. 목향 추출물의 항산화 및 항암활성. 한국환경보건학회지. 2008;34(1):55-61.
15. 김현아 외. 한약을 이용한 항암 실험연구의 경향에 관한 고찰. 대한한방종양학회지. 1998; 4(1):211-232.
16. 한의과대학 본초학 편찬위원회. 본초학. 서울. 행림사. 2007:206-207.
17. 전승훈 외. 죽엽석고탕가감방이 항암화학요법제의 세포독성과 종양세포의 라이보솜에 미치는 영향. 대한한방종양학회. 1997.
18. 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.
19. 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.

20. 郁仁在外. 癩症診治康復350問. 北京. 金循出版社. 1980:98-105.
21. Fidler, I. J. : Review biologic heterogeneity of cancer metastasi, *Brest Cancer Res*, 1987.
22. 巢元方. 諸病源候論. 人民衛生出版社. 1981: 575, 623-625, 879.
23. 李挺. 醫學入門. 서울. 大成文化社. 1984: 389-340.
24. 張景岳. 景岳全書. 서울. 大成文化社. 1988: 479.
25. 서울대학교 의과대학 편. 면역학. 서울대학교 출판부, 1992:251-258.
26. 서울대학교 의과대학 편. 종양학. 서울대학교 출판부, 1996:193-205.
27. 신민교 외. 중약대사전 vol 3. 서울. 정담. 2004:3892-3902.
28. 명성하 외. 죽엽과 나복자가 실험적 당뇨에 미치는 영향. 대한본초학회지. 1999;14(1):79-86.
29. 이승은 외. 한국산 약용식물의 안지오텐신 전환효소에 대한 저해활성. *Korean J. Medical Crop Sci*. 2004;12(1):73-78.
30. 김정성 외. 용량별 죽력 투여가 생쥐의 간과 신장의 조직 및 혈액학적 변화에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2002;17(2):213-223.
31. 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.
32. 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.
33. 백원철. 운동량이 NK Cell 및 LAK Cell 의 활성도, 복강암 마우스의 생존기간에 미치는 영향. 한국체육학회지. 2001;40(4):719-728.
34. 김형우 외. 방사선이 조사된 오갈피 나무의 추출물이 생쥐의 복강암 및 면역세포에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2007;21(2):736-740.
35. 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.
36. 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.
37. T. J. Kindt, R. A. Goldsby, B. A. Osborne. *Kuby immunology*. New York:W. H. Freedman and Company. 6th edition. 2004:41,44-46.
38. 최의규 외. 단백질 methylase 억제제 5'-Isobutyl-5'-deoxyadenosine과 sinefungin에 의한 BALB/c mouse 비장세포의 증식과 분화의 억제 대한 면역학회지. 1995;17(3):223-232.