

榆根皮의 선천 면역 활성화에 의한 암 전이 억제 효과

경희대학교 한의과대학 한방부인과학교실
김흥수, 조정훈, 이진무, 이창훈, 장준복, 이경섭

ABSTRACT

Experimental Studies on Antimetastatic and Immunomodulating Effects of *Ulmus davidiana*

Heung-Soo Kim, Jung-Honn Cho, Jin-Moo Lee, Chang-Hoon Lee,
Jun-Bock Jang, Kyung-Sub Lee
Dept. of Oriental Gynecology, Kyung-Hee Univ.

Purpose: This study was designed to investigate the antimetastatic and immunomodulating effects of extracts of *Ulmus davidiana* extracts (U. D. Ex.).

Methods: Antimetastatic experiments were conducted in vitro and in vivo by using colon 26-M3.1 carcinoma, L5178Y-R lymphoma cell and Hela cell. To observe the immunomodulating effects of U. D. Ex., we measured IL-6, IL-10, IL-12 and TNF- α from peritoneal macrophages. And we evaluated the activation of NK cell by using anti-asialo-GM1 serum.

Results: We found that the administration of U. D. Ex. significantly inhibited tumor metastasis in vivo. In vitro cytotoxicity analysis, cell growth are closer to 100% in case of Colon 26-M3.1 carcinoma, L5178Y-R lymphoma cell and Hela cell at low concentration. In case of macrophage, cell proliferation is closer to 100% less than 250 μ g/ml of U. D. Ex.. The level of cytokine such as IL-6, IL-10, IL-12 which stimulates U. D. Ex. was increased in dose-dependent manner compared to the control group. In case of TNF- α , the level was increased at concentration of 1,000 μ g/ml. The depletion of NK cells by anti-asialo GM1 serum partly abolished the inhibitory effect of U. D. Ex. on tumor metastasis.

Conclusion: *Ulmus davidiana* appears to have considerable activity on the anti-metastasis by activation the immune system.

Key Words: *Ulmus davidiana*, Anti-metastasis, Immune system

I. 緒 論

암이란 기본적으로 세포가 조절되지 않고 과잉 성장하는, 변형된 세포의 집단이다¹⁾. 암세포의 발생은 세포 성장에 관여하는 조절 기전의 이상 발현 뿐만 아니라, 비정상적 세포에 대한 숙주의 면역학적 제거 기전이 이루어지지 않았을 때 발생하게 된다²⁾. 면역계는 종양을 인식하는 자연 살해 세포나 종양 특이적 T 세포를 활성화시켜 종양세포를 제거하는 기능을 갖도록 되어 있다³⁾.

현재 주로 사용되고 있는 항암제는 암세포뿐만 아니라 정상적인 세포에도 독성을 일으켜 빈혈, 백혈구 감소, 모발 손상 및 구토 등과 같은 부작용을 야기하므로 암세포에만 작용할 수 있는 선택적인 치료제의 개발이 필요한 실정이다⁴⁾.

癌은 積聚, 癥瘕 및 癰疽 등의 범주에 속한다⁵⁾. 積聚는 順氣하고 降火, 化痰하여 치료하는 것이 원칙이다. 癥瘕는 養正積自除, 必先調養, 使營衛充實, 若不消散, 方可議下를 치료 원칙으로 한다. 특히 養正積自除의 치법으로 종양을 직접 공격하기보다 우리 몸의 正氣를 길러 병이 치료되도록 하는 방법을 우선으로 하였다. 癰疽는 外科疾患으로 托裏, 疏通, 行營衛 등의 치법을 시행한다^{6,7)}.

榆根皮는 느릅나무과에 속한 낙엽 교목인 느릅나무의 樹皮 및 根皮를 건조한 것으로 利水通淋, 消腫解毒의 효능이 있어 癰疽發背, 疥癬 및 風熱腫毒, 項生瘰癧 등의 병증에 사용되어 왔으며, 利水작용을 통해 小便不通을 치료하고 腫毒을 제거하는 효과가 있어 암 치료에 응용하기 위한 연구가 활발히 진행되어 왔으나⁸⁻¹³⁾, 인체 면역계의 활성화를 통한

항암 효과의 기전에 대해서는 연구되어 있지 않다.

이에 저자는 榆根皮의 암 전이 억제 효과와 그 기전을 알아보고자 榆根皮 추출물의 세포 독성과 carcinoma cells에 대한 전이 억제 효과 및 복강내 macrophage의 cytokines와 NK cell 활성화에 미치는 영향에 대하여 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材 料

1) 약 재

한국식물추출물은행에서 느릅나무과에 속한 낙엽 교목인 느릅나무 *Ulmus davidiana* var. *japonica*의 건조된 根皮를 HPLC (Methanol, 50°C)로 추출하여 tube에 분주 후 45°C에서 감압 농축법으로 제조한 추출물 (CW04-039)을 구매하여 사용하였다.

2) 동 물

생후 6-8주령의 雌性 BALB/c 마우스를 (주)중앙실험동물 (Seoul, Korea)에서 분양 받아 사육조에 각 군별로 5마리씩 배정하였다. 정수된 물과 사료 (Samyang Co. Ltd., Incheon, Korea)를 자유 공급하였고, 온도 22°C, 습도 50% 및 12시간 간격으로 자동 조명되는 상태에서 스트레스를 받지 않도록 주의하여 무균상태로 사육하였다.

2. 方 法

1) 시 약

종양세포의 배양을 위한 RPMI-1640과 Eagle's minimal essential medium

(이하 EMEM) 배지, fetal bovine serum (이하 FBS), vitamin, non-essential amino acid, L-glutamic acid 및 thioglycollate 등은 Gibco사 (Carlsbad, CA, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2) 세포배양

Colon26-M3.1 carcinoma cell의 배양은 7.5% FBS, vitamin, sodium pyruvate, non-essential amino acid 및 L-glutamine 이 함유된 EMEM 배지를, L5178Y-R lymphoma cells, Hela cells 및 macrophage 의 배양은 7.5% FBS가 함유된 RPMI-1640 배지를 각각 이용하였으며 5% CO₂, 95% 습도 및 37°C의 배양기 (Thermo, MA, USA)에서 배양하였다.

3) 종양 전이 모델

楡根皮의 암전이 억제효과를 *in vivo*에서 확인하기 위하여 5마리의 BALB/c 마우스에 楡根皮 추출물 10, 50 및 250 μ g을 1일 1회 1일간 정맥주사 하였으며, 대조군은 동일한 용량과 방법으로 생리식염수를 정맥주사 하였다. 정맥주사 2일 후, 각 마우스 당 2.7×10^4 cells의 colon26-M3.1 carcinoma 세포주를 꼬리정맥에 정맥주사로 접종하였다. 접종 14일 후 경추분리법으로 마우스를 희생시킨 후 폐를 적출하여 Bouin's 용액에서 전이된 종양을 고정하고 종양의 군집 수를 측정하였다.

4) 종양 세포에 대한 세포독성 측정

1×10^5 /ml 농도의 종양세포를 96-well plate의 각 well에 100 μ l씩 분주한 후, L5178Y-R lymphoma cell은 10,000 μ g/ml 부터 4배 희석법으로 0.6 μ g/ml까지 희석한 楡根皮 검액 100 μ l를, cellcolon26-M3.1 carcinoma cell과 Hela cell은 2,000 μ g/ml 부터 3배 희석법으로 8.2 μ g/ml까지 희석한 楡根皮 검액 100 μ l를 각각 첨가하고

2일간 배양하였다. 배양 완료 2-4시간 전에 cell counting kit (Wako, Japan) 용액을 well당 10 μ g/ml 첨가 후, 생존세포가 생산한 수용성 formazan의 양을 450 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포독성 효과는 시료를 첨가하지 않는 대조군에 대한 백분율(%)로 표시하였다.

5) Macrophage에 대한 세포독성과 cytokines 측정

(1) Macrophage 수집

BALB/c 마우스에 1% thioglycollate를 1ml 복강주사하고 3일 후에 경추 분리법으로 희생시킨 후, 복강에 RPMI-1640 배지 10ml을 주입하여 복강 내 세포 (peritoneal exudative cells: 이하 PEC)를 수집하였다. 수집된 PEC를 24 well culture plate에 1.5×10^6 /ml의 농도로 조정하여 분주 후, 2시간 동안 배양하여 macrophage를 plate에 부착하고 배양액으로 세척하여 부착되지 않은 세포를 제거하였다.

(2) Macrophage에 대한 세포독성

1×10^5 /ml의 macrophage를 96-well plate의 각 well에 100 μ l씩 분주한 후, 4,000 μ g/ml 부터 4배 희석법으로 1.0 μ g/ml까지 희석한 楡根皮 검액 100 μ l를 첨가하고 2일간 배양하였다. 배양 완료 2-4시간 전에 cell counting kit (Wako, Japan) 용액을 well당 10 μ g/ml 첨가 후, 생존세포가 생산한 수용성 formazan의 양을 450nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포독성 효과는 시료를 첨가하지 않는 대조군에 대한 백분율(%)로 표시하였다.

(3) Macrophage의 cytokines 측정

Macrophage를 24시간 동안 배양 후, 배양 상등액을 회수하였다. 배양 상등액에 유도 분비된 interleukin (이하 IL)-6, IL-10, IL-12 및 tumor necrosis factor

(이하 TNF)- α 의 측정은 각 cytokine에 대한 ELISA kit (Pharmingen, San Jose, CA, USA)를 사용하여 측정하였으며, 각 cytokines의 양은 각각에 대한 표준곡선에 대입하여 계산하였다.

6) NK cell 관련 종양 전이 모델

20마리의 BALB/c 마우스를 NK cell 제거군과 비제거군에 각각 10마리씩 무작위 배정 후, NK cell 제거군은 종양 접종 3일전 및 1일전에 50배 희석된 anti-asialo GM1 항체를 마우스당 500 μ l 씩 총 2회 복강 주사하였다. NK cell 제거군과 비제거군 마우스 중 각각 5마리를 무작위로 선택하여 榆根皮 추출물 250 μ g을 1일 1회 정맥주사 하고, 나머지는 동일한 용량과 방법으로 생리식염수를 정맥주사 하였다. 정맥주사 2일 후, 각 마우스 당 2.7×10^4 개의 colon26-M3.1 carcinoma 세포주를 꼬리정맥에 정맥주사로 접종하였다. 접종 14일 후 경추분리법으로 마우스를 희생시킨 후 폐를 적출하여 Bouin's 용액에서 전이된 종양을 고정하고 종양의 군집 수를 측정하였다.

7) 통계처리

실험결과에 대한 통계처리는 SPSS for windows (version 12)를 이용하였다. 실험군과 대조군의 비교는 Student's t-test로 분석하였고, $p < 0.05$ 이하인 경우를 유의한 것으로 하였다.

III. 結 果

1. 종양 전이 억제에 미치는 영향

마우스 모델에서 colon26-M3.1 carcinoma cell 전이에 미치는 영향을 알아보기로 10, 50, 250 μ g의 榆根皮 추출물을 투여한 결

과, 50 μ g과 250 μ g에서 종양 군집수가 각각 47.8 ± 10.3 개, 22.6 ± 6.5 개로 나타나 대조군의 85.0 ± 11.5 개에 비하여 통계적으로 유의하게 ($p < 0.01$) 감소하였다(Fig. 1).

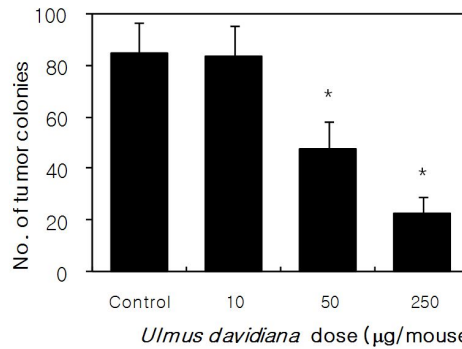


Fig. 1. Effect of *Ulmus davidiana* extracts (*U. D. Ex.*) on lung metastasis produced by colon26-M3.1 carcinoma cells.

2. 종양 세포에 대한 세포독성 효과

1) Colon26-M3.1 carcinoma cell에 대한 세포독성

Colon26-M3.1 carcinoma cell에 대한 榆根皮 추출물의 세포 독성 효과를 알아본 결과 8.2, 24.7, 74.1, 222.2 μ g/ml 농도로 첨가하였을 때, cell growth는 거의 변화하지 않았으나, 666.7 μ g/ml에서 15.2%, 2000 μ g/ml에서 1.7%로 감소하였다. IC₅₀은 400 μ g/ml이었다(Fig. 2).

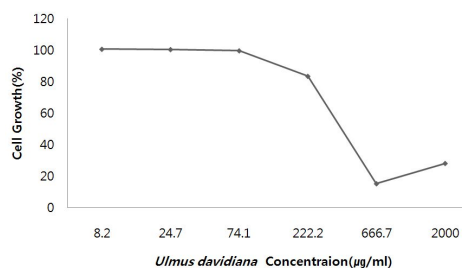


Fig. 2. Cytotoxic effect of *U. D. Ex.* on colon26-M3.1 carcinoma cell *in vitro*.

2) L5178Y-R lymphoma cell에 대한 세포독성

L5178Y-R lymphoma cells에 대한 榆根皮 추출물의 세포 독성 효과를 알아본 결과 0.6, 2.4, 9.8, 39.1, 156.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 첨가하였을 때, cell growth는 거의 변화하지 않았으나, 625 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 28.07%, 2500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 4.82%, 10000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 0.48%로 감소하였다. IC₅₀은 380 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다 (Fig. 3).

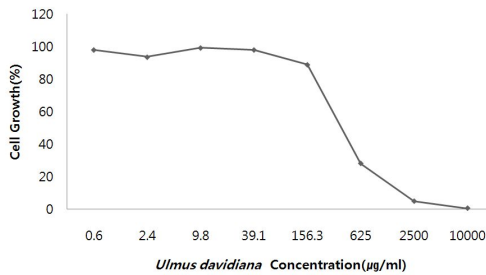


Fig. 3. Cytotoxic effect of *U. D. Ex.* on L5178Y-R lymphoma cell *in vitro*.

3) Hela cell에 대한 세포독성

Hela cells에 대한 榆根皮 추출물의 세포 독성 효과를 알아본 결과 0.9, 2.7, 8.2, 24.7, 74.1, 222.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 첨가하였을 때, Hela cells의 cell growth는 거의 변화하지 않았으나, 666.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 1.18%, 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 3.04%로 감소하였다. IC₅₀은 320 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다 (Fig. 4).

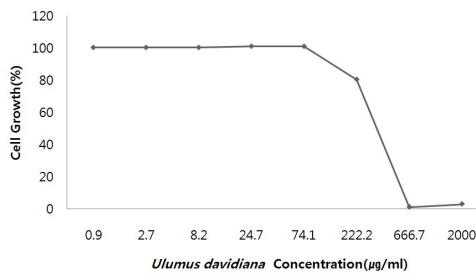


Fig. 4. Cytotoxic effect of *U. D. Ex.* on Hela cells *in vitro*.

3. 복강 Macrophage의 cytokine 분비에 미치는 영향

1) Macrophage에 대한 세포독성 효과
Macrophage에 대한 榆根皮 추출물의 세포 독성 효과를 알아본 결과, 1.0, 3.9, 15.6, 62.5, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 첨가하였을 때, macrophage의 cell growth는 거의 변화하지 않았으나, 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 41.4%, 4000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 12.7%로 감소하였다. IC₅₀은 800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다 (Fig. 5).

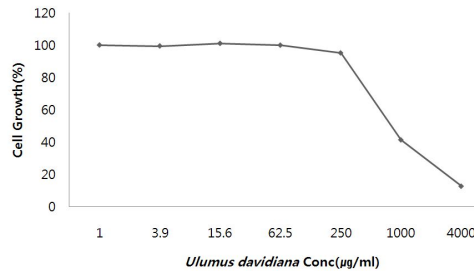


Fig. 5. Cytotoxic effect of *U. D. Ex.* on macrophage *in vitro*.

2) Interleukin-6 분비량

Macrophage의 IL-6 분비에 대한 유근피 추출물의 효과를 알아본 결과 대조군에서 9.5 \pm 16.4pg/ml로 나타났으며, 유근피 추출물 0.98, 3.90, 15.60, 62.50, 250.00, 1000.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 첨가 시 각각 11.9 \pm 19.7, 65.2 \pm 9.8, 127.8 \pm 0, 352.6 \pm 108.2, 723.5 \pm 22.9, 1583.5 \pm 163.9pg/ml로 분비되어 농도 의존적으로 증가하였다 (Fig. 6).

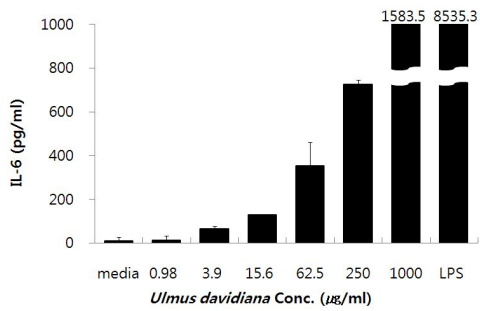


Fig. 6. Production of IL-6 from peritoneal macrophages stimulated by *U. D. Ex.*

3) Interleukin-10 분비량

Macrophage의 IL-10 분비에 대한 榆根皮 추출물의 효과를 알아본 결과 대조군에서 $14.0 \pm 19.8 \text{ pg/ml}$, 榆根皮 추출물 0.98, 3.90, 15.60, 62.50, 250.00 $\mu\text{g/ml}$ 첨가 시 5.5 ± 10.6 , 30.5 ± 46.0 , 348.0 ± 21.2 , 568.0 ± 7.1 , $585.5 \pm 53.0 \text{ pg/ml}$ 로 IL-10 분비량이 증가하였다. 1000.00 $\mu\text{g/ml}$ 첨가 시 $255.5 \pm 17.7 \text{ pg/ml}$ 로 나타났다(Fig. 7).

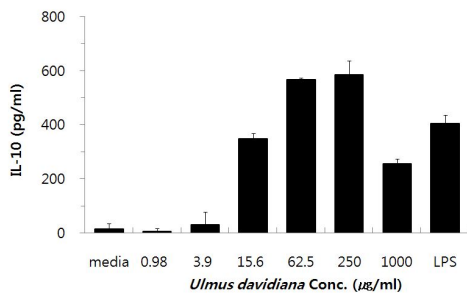


Fig. 7. Production of IL-10 from peritoneal macrophages stimulated by *U. D. Ex.*

4) Interleukin-12 분비량

Macrophage의 IL-12 분비에 대한 유근피 추출물의 효과를 알아본 결과 대조군에서는 $2.6 \pm 1.4 \text{ pg/ml}$, 유근피 추출물 0.98, 3.90, 15.60, 62.50, 250.00, 1000.00 $\mu\text{g/ml}$ 첨가 시 19.0 ± 11.4 , 37.8 ± 15.2 , 38.2 ± 1.6 , 50.2 ± 18.5 , 114.0 ± 20.7 , $276.7 \pm 60.4 \text{ pg/ml}$ 의 IL-12

가 분비되어 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였다(Fig. 8).

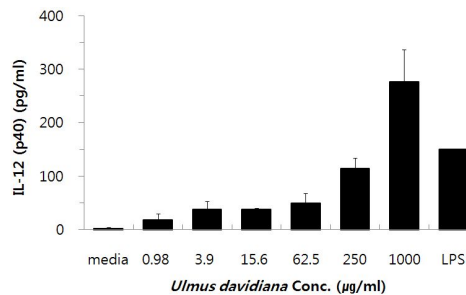


Fig. 8. Production of IL-12 from peritoneal macrophages stimulated by *U. D. Ex.*

5) Tumor necrosis factor-α 분비량

Macrophage의 TNF-α 분비에 대한 유근피 추출물의 효과를 알아본 결과 대조군에서는 $1.9 \pm 0.6 \text{ pg/ml}$, 유근피 추출물 0.98, 3.90, 15.60, 62.50, 250.00 $\mu\text{g/ml}$ 첨가 시 3.1 ± 1.6 , 4.8 ± 2.4 , 3.1 ± 0.0 , 7.0 ± 0.8 , $9.8 \pm 7.9 \text{ pg/ml}$ 의 TNF-α가 분비되었고, 1000 $\mu\text{g/ml}$ 첨가 시 $1154.2 \pm 122.6 \text{ pg/ml}$ 로 TNF-α 분비량이 증가하였다(Fig. 9).

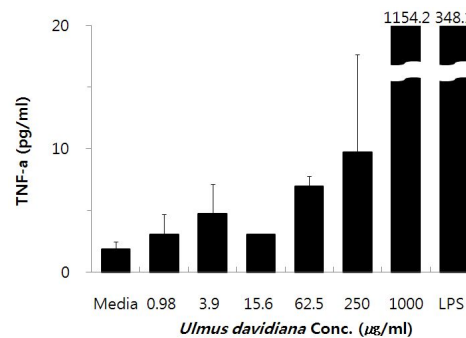


Fig. 9. Production of TNF-α from peritoneal macrophages stimulated by *U. D. Ex.*

4. NK cell 활성화에 미치는 영향

유근피 추출물의 Colon26-M3.1 carcinoma cell 전이 억제 효과를 NK cell 유무에 따라 알아본 결과 NK cell을 제거하지

않은 경우, 유근피 추출물 250 μ g/ml 투여 시 전이된 종양의 개수는 14.8 \pm 4.7개로, 대조군의 41.8 \pm 12.3개에 비해 유의하게 ($p < 0.05$) 감소하였다. 반면, NK cell을 anti-asialo GM1항체로 제거한 경우, 유근피추출물 250 μ g 투여 시 전이된 종양의 개수는 302.6 \pm 31.2개로, 대조군의 310.8 \pm 23.8개에 비해 유의한 차이가 없었다 (Fig. 10).

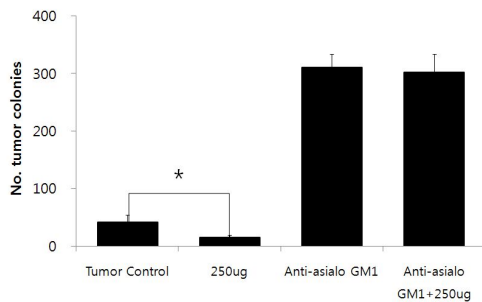


Fig. 10. After depletion of NK cell with anti-asialo GM1 serum, effects of *U. D. Ex.* on tumor metastasis were measured

IV. 考 察

암의 치료 방법 중 수술, 항암제 및 방사선 치료는 심한 고통 및 부작용을 줄 가능성이 크기 때문에, 환자의 면역 체계를 강화하여 암을 이겨낼 수 있게 하는 면역 요법이 각광받고 있다^{18,19)}.

한의학에서 癌에 대한 인식은 《內經》에서부터 시작하여 《靈樞·刺節眞邪論》¹⁴⁾에서 “以手按之堅有所結 … 日以益大則爲骨疽”라 하여 骨腫과 유사한 내용을 기술한 이후, 《諸病源候論》¹⁵⁾, 《千金要方》¹⁶⁾, 《丹溪心法》¹⁷⁾ 등의 많은 의서들을 통해 계속적으로 언급, 연구되었다.

암의 원인에 관해, 李²¹⁾는 “積之成者 正氣不足 以後邪氣踞之”라 하였고 張²²⁾

은 “凡脾腎不足及 虛弱失調之因 多有積聚之病”이라 하여 積의 형성에 正氣虧虛를 암 발병의 가장 중요한 내적 요인으로 여겼으며, 특히 先天과 後天 元氣의 근본인 腎과 脾의 正氣를 강조하였다. 《素門·上古天真論》에서 “眞氣從之, 精神內守, 病安從來”라 하였고, 《素問·刺法論》에서 “正氣存內 邪不可干”이라 하여, 正氣가 충분하면 외부의 질병이 침입할 수 없음을 말하였다. 또한 《素門·評熱病論》에서는 “邪氣所溱 其氣必虛”라 하여 正氣가 약한 사람은 쉽게 질병에 감촉될 수 있음을 말하였다²⁰⁾. 그러므로 癌은 邪氣에 대한 正氣의 저항 능력의 저하, 즉 면역 능력의 저하로 발생된다고 볼 수 있다.

榆根皮는 느릅나무과에 속한 낙엽 교목인 느릅나무의 樹皮 및 根皮를 건조한 것을 말한다. 神農本草經²³⁾ 上品에 “榆皮, 味甘平, 主大小便不通, 利水道, 除邪氣. 九服 輕身不飢”라 하여 榆皮라고 收載된 이래 利水通淋, 祛痰, 消腫解毒의 효능으로 水腫, 小便不利, 癰疽, 丹毒 등의 질환에 많이 쓰이고 있다^{24,25)}.

榆根皮의 항암 작용에 대하여 간암 세포 증식 억제 작용⁹⁾과 항암제 병용시 항암제 작용 증강 효과¹⁰⁾, 유방암 억제 효과¹¹⁾, 자궁경부암 세포 증식 억제 효과^{12,13)}가 보고되었고, 유근피 약침액의 면역 활성화 효과에 의한 관절염 치료 효과에 관한 연구도 진행되었다^{26,27)}. 이와 같은 효능을 지닌 榆根皮가 면역 활성을 통해 항암 효과를 가지고 있을 것이라는 가정 하에 이 연구를 실시하게 되었다.

colon26-M3.1 carcinoma cell을 이용한 종양 전이 모델에 대한 榆根皮 추출물의 효과를 알아본 결과, 50 μ g 투여군과 250 μ g

투여군에서 유의성 있는 종양 전이 억제 효과를 보였다.

榆根皮 추출물을 투여하여 종양 전이 억제 효과를 얻을 수 있었던 것은, 첫째로榆根皮 추출물이 자체적인 세포 독성을 가지고 있었거나, 둘째로榆根皮 추출물이 인체 내 면역계를 활성화시켰기 때문인 것으로 생각되었다²⁸⁾. 이에 상이한 농도의榆根皮 추출물과 carcinoma cell, lymphoma cell, Hela cell, macrophage를 배양하여 세포 독성 여부를 알아보고, 복강 macrophage로부터 cytokine 분비능을 조사하여榆根皮의 면역계 자극 효과를 알아보았다.

榆根皮 추출물의 세포 독성 실험 결과,榆根皮 추출물의 농도가 colon26-M3.1 carcinoma cell에서는 222.2 μ g/ml, L5178T-R lymphoma cell에서는 156.3 μ g/ml, Hela cell에서는 222.2 μ g/ml 이하일 때 cell growth가 감소하지 않았다. 鬱金³⁵⁾, 知母³⁶⁾와 같이 직접적 세포 독성을 갖는 약물에 비하여 현저히 높은 농도까지 세포 독성을 나타내지 않아,榆根皮의 종양 전이 억제 효과는 직접적인 세포 독성에 의한 것이 아닐 것으로 판단된다.

榆根皮 추출물의 Macrophage cell에 대한 세포 독성 효과를 실험한 결과, 1~250 μ g/ml의 농도에서는 세포 독성이 없었고, 1000 μ g/ml부터 cell growth가 41.4%로 줄어들어 세포 독성을 보였다.榆根皮 추출물이 macrophage의 분비에 미치는 영향을 실험한 결과, 1000 μ g/ml 이상의 고농도에서 IL-6, IL-12 및 TNF- α 는 증가하였고, IL-10에서만 감소하는 경향을 보여榆根皮 추출물의 세포 독성은 macrophage의 분비에 직접적인 영향을 끼치지 않는 것으로 사료된다.

Macrophage cell은 숙주 방어와 항상성 유지에 관여하며 염증 반응시 cytokine을 생산하여 생체 방어에 중요한 역할을 한다²⁹⁾. 따라서 염증을 유발하는 LPS를 투여한 군과榆根皮 추출물을 농도별로 투여한 군으로 나누어, 분비된 cytokine을 측정하면榆根皮 추출물이 면역계를 활성화시키는 정도를 파악할 수 있다.

IL-6는 monocyte나 macrophage에서 분비되는 cytokine으로 B-cell이 형질세포로 분화되는 마지막 단계를 활성화시켜, 항체의 분비를 촉진한다³⁰⁾.榆根皮 추출물을 투여한 군에서 대조군보다 유의하게 높은 농도로 IL-6 분비가 증가하여榆根皮 추출물이 면역 기능을 활성화하는 것으로 사료된다.

IL-10은 Th2 세포에서 생성된 cytokine으로 Th1(IL-1 β , IL-6, TNF- α)의 cytokine 생산을 억제적으로 조절하여 여러 가지 염증성 cytokine의 생성 균형을 조절하는 것으로 알려져 있다. 또한 TNF- α , IL-6, IFN- γ 와 같은 pro-inflammatory cytokine들이 과량 분비되어 IL-10과 같은 anti-inflammatory cytokine들과 균형을 잘 이루지 못하게 되면 숙주의 생존력에 크게 영향을 미친다는 보고가 있다³¹⁾.榆根皮 추출물을 투여한 군에서는 대조군보다 유의하게 높은 농도로 분비가 증가되었으나, 1000 μ g/ml의 농도에서는 LPS 투여군보다 낮은 농도의 분비능을 보였다. 따라서 적정 농도의榆根皮 추출물은 여러 cytokine의 생성 균형을 맞추는 역할에 기여한다고 생각된다.

IL-12는 NK cell을 활성화시키는 작용을 한다. NK cell은 IL-12에 노출되면 그 활성도가 증가되는데, 활성화된 NK cell은 적응면역반응으로 감염을 제거시

킬 항원특이 세포독성 T세포를 생산할 때까지 바이러스 감염을 억제한다³²⁾. 榆根皮 추출물은 대조군에 비해 유의하게 IL-12 분비를 촉진하였으며 250 μ g/ml, 1000 μ g/ml의 비교적 고농도에서, 저농도에 비해 더 큰 차이로 분비능을 촉진시켰다.

TNF- α 는 T 림프구와 상호작용하여 T림프구의 활성화와 성장 등을 조절하며 암세포의 세포 용해를 유도함으로써 직접적으로 항암 작용을 나타내는 반면³³⁾, 염증으로 인한 감염이 혈류 내로 퍼지면 과다 분비되어 전신적 패혈성 속을 유발한다³²⁾. 0.98에서 250.00 μ g/ml의 농도까지 榆根皮 추출물을 투여한 군이 대조군에 비해 많은 양의 TNF- α 를 분비하였고, 1000 μ g/ml의 농도에서는 LPS를 투여한 군보다 유의하게 높은 분비 효과를 보였다.

榆根皮 추출물이 Macrophage에서 IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α 의 분비능을 향상시킨다는 것을 알 수 있다. 따라서 榆根皮 추출물은 cytokine 분비를 통해 면역계를 활성화시키는 효과가 있다고 생각된다.

항암과 관련된 면역체계 중 NK cell의 역할이 많은 주목을 받고 있다. NK cell은 기본적으로 세포 내 감염에 대한 초기 방어를 제공하는 역할을 하는데, 종양 환자의 NK cell 기능이 정상인보다 떨어지고, 동물 실험에서 NK cell을 제거할 경우 암의 발생빈도가 늘어나고 전이가 증가하는 것을 볼 때, 면역요법과 관련한 NK cell의 중요성을 알 수 있다³⁴⁾.

榆根皮 추출물의 종양 전이 억제 효과가 NK cell의 활성화에 의한 것인지 알아보기 위해 NK cell을 제거하는 anti-

asialo GM1 항체를 이용하여 실험하였다. NK cell 제거 과정없이 榆根皮 추출물 250 μ g/ml을 투여한 군에서는 아무런 처치도 하지 않은 대조군에 비해 유의하게 종양 전이 억제 효과가 나타났으나 anti-asialo GM1 항체를 처리하여 NK cell이 제거된 상태에서는 榆根皮 추출물 투여군과 대조군에서 종양 전이 억제 효과에 유의한 차이가 없었다. 따라서 榆根皮 추출물은 NK cell의 활성화를 통해 종양 전이를 억제하는 효과를 갖는다고 결론지을 수 있다.

이상의 실험 결과에서 榆根皮는 암 전이 억제 효과를 지니고 있으며, 그 기전은 NK cell을 통한 면역 기능 활성화인 것을 알 수 있었다. 榆根皮의 면역 활성화, 항암 효과에 대한 연구 결과가 계속적으로 보고되고 있으므로 單方 혹은 복합 처방의 형태로 효용성이 크다고 사료되며 임상에서의 실제적인 활용 및 추적 연구가 필요할 것으로 판단된다.

V. 結 論

榆根皮의 암 전이 억제 효과와 그 기전을 알아보려고 榆根皮 추출물의 세포독성과 carcinoma cells에 대한 전이 억제 효과 및 복강내 macrophage의 cytokines와 NK cell 활성화에 미치는 영향에 대하여 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 50 μ g과 250 μ g의 榆根皮 추출물 투여군은 대조군에 비하여 유의하게 colon26-M3.1 carcinoma cell의 전이를 억제하였다.

2. 암 전이 억제 효과를 보인 농도의 榆根皮 추출물 투여는 colon26-M3.1 carcinoma cell, L5178Y-R lymphoma cell 및 Hela cell에 細胞 毒性을 보이지 않았다.
3. 榆根皮 추출물 투여의 세포 독성 효과는 macrophage의 분비에 직접적인 영향을 끼치지 않았다.
4. 榆根皮 추출물 투여군은 대조군에 비하여 IL-6, IL-10 및 IL-12의 분비가 모든 농도에서 증가하였고 대체로 농도 의존적으로 증가하였다.
5. 榆根皮 추출물 투여군은 대조군에 비하여 TNF- α 의 분비가 모든 농도에서 증가하였다.
6. NK cell의 존재 하에 榆根皮 추출물 투여군은 대조군에 비하여 유의하게 암 전이를 억제하였으나, NK cell이 제거된 상태에서는 암 전이 억제 효과가 없었다.

- 투 고 일 : 2010년 1월 29일
- 심 사 일 : 2010년 2월 3일
- 심사완료일 : 2010년 2월 10일

參考文獻

1. 박재갑, 박찬일, 김노경. 종양학. 서울: 일조각. 2003:3.
2. Ivan R, Jonathan B, David M. Immunology (4th Ed). London: Mosby. 1996:20:1-7.
3. Fields RC, Shimizu K, Mule JJ. Murine dendritic cells pulsed with whole tumor lysates mediate potent antitumor immune responses in vitro and in vivo. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995:94:82-7.
4. Maduro JH et al. Acute and long-term toxicity following radio therapy alone or in combination with chemotherapy for locally advanced cervical cancer. Cancer Treat Rev. 2003;29(6):471-88.
5. 한의부인과학 교재편찬위원회. 한의부인과학(상). 서울:정담. 2002:303-5.
6. 허준. 동의보감. 서울:동의보감출판사. 2005:1382, 1392-4.
7. 임윤경, 남상영, 이재동 등. 癰疽灸法에 대한 文獻的 考察. 대한침구학회지. 1996;13(2):160-76.
8. 진국한의과대학 본초학 교수. 본초학. 서울:영림사. 1991:418-9.
9. 한상일. 榆根皮의 추출액이 HepG2 간 암유래세포에 미치는 항암 효과 및 기전에 대한 연구. 대한한방내과학회지. 2000;21(2):259-66.
10. 은재순, 송원영. 암세포주에 대한 榆根皮 n-BuOH 분획과 항암제의 병용 효과. 생약학회지. 1994;25(2):144-52.
11. 양승정 등. 榆根皮 추출물의 유방암 세포주 MCF-7 성장 억제 효과. 대한한방부인과학회지. 2007;20(3):35-44.
12. 최윤희 등. 榆皮가 Hela Cell의 증식 억제와 사멸에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006;19(1):14-30.
13. 이선영 등. 榆根皮, 枇杷葉 및 茵陳蒿 추출 제제의 Nude Mice 종양 성장 억제 효과. 대한암예방학회지. 2001;6(1):19-25.
14. 양유걸 편. 黃帝內經靈樞經釋. 서울:성보사. 1980:549.
15. 巢元方. 諸病源候論. 北京:人民衛生出版社. 1981:856-8.
16. 孫思邈. 千金方. 北京:中國中醫藥出版社. 1998:386.
17. 朱震亨. 丹溪醫集. 北京:人民衛生出版

- 社. 1993:26.
18. 서울대학교 의과대학. 종양학. 서울: 서울대학교 출판부. 1996:1-5, 43-93.
 19. 서울대학교 의과대학. 면역학. 서울: 서울대학교 출판부. 1994:2-3, 72-5, 136-7, 303-4, 308-10.
 20. 홍원식 편. 교주황제내경소문. 서울: 동양의학연구원. 1985:11, 124, 285.
 21. 이재희. 생쥐 세망내피계 기능저하에 미치는 보중익기탕의 효과. 동서의학. 1986:12(1):51-62.
 22. 張介賓. 景岳全書. 서울:여강출판사. 1981:479.
 23. 陶弘景. 神農本草經. 北京:科學技術文獻出版社. 1999:39.
 24. 江蘇新醫學院 編. 中藥大辭典. 上海:上海科學技術出版社. 1979:2438-9.
 25. 國家中醫藥管理局 中華本草委員會. 中華本草. 上海:上海科學技術出版社. 1999:2:445, 453-6.
 26. 이창환 등. 유근피 약침이 제2형 Collagen 관절염에서 MIF 활성 억제 및 T세포 분화 조절에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2008;25(4):81-94.
 27. 이아람 등. 유근피 약침의 NF-Kb 활성 억제능이 생쥐의 Type 2 Collagen 유발 관절염에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2007;24(6):15-27.
 28. 윤택준 등. 마우스 Macrophage의 IL-1 및 TNF- α 의 분비유도에 있어서 한 국산 겨우살이 추출물이 미치는 영향. 생약학회지. 1994;25(2):132-9.
 29. Lee YS et al. IL-6 mRNA Expression in Mouse Peritoneal Macrophages and NIH3T3 Fibroblasts in Response to *Candida albicans*. J Microbiol Biotechnol. 2000;10:8-15.
 30. Delgado AV, McManus AT, Chambers JP. Production of tumor necrosis factor- α , IL-1- β , IL-2, and IL-6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance P. Neuropeptides. 2003;37(6):355-61.
 31. Trinchieri G. IL-10 production by effector T cells: Th1 cells show self control. J Experimental Med. 2007;204(2):239-43.
 32. Kenneth M, Paul T, Mark W. Immunobiology. 2008;86, 91.
 33. Balkwill FR. TNF- α in promotion and pogression of cancer. Cancer Metastasis Rev. 2006;25:409-16.
 34. 민영돈 등. 암이란 무엇인가. 광주:조선대학교 출판부. 2003:224-30.
 35. 김형우 등. 知母 抽出物이 MCF-7 細胞의 生存率에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 2007;28(3):608-14.
 36. 조훈 등. L1210 및 P388D₁에 對한 苦蔘抽出物의 細胞毒性에 關한 研究 (II). 생약학회지. 1999;30(4):351-4.