

數種의 韓藥材가 人體 癌細胞柱에 미치는 細胞 毒性

東新大學校 韓醫科大學 病理學教室

鄭 鉉 雨

【초 록】 국내 사망율중 가장 높은 비율을 차지하고 있는 惡性腫瘍에 대하여 국내외적으로 다양하게 연구되고 있다. 그러나 아직까지도 腫瘍을 치료하기 위하여 手術療法·放射線療法·免疫療法·化學療法 등의 많은 치료법들을 개발하고 있지만 腫瘍에 대한 치료원칙이나 치료약물에 대하여서는 아직까지 미흡한 것이 국내의 현실이다.

현재 일반적으로 抗癌劑를 이용한 化學療法 등이 사용되고 있지만 이에 따른 副作用이 많아 抗癌劑와 韓藥材를 併用投與함으로써 副作用을 최소화하고, 이에 따라 韓藥材가 正常細胞에 영향을 미치며, 癌腫細胞에는 영향을 미칠 것으로 사료되어 관찰한 결과 有意性이 있어 보고하게 되었다. 그리하여 數種의 韓藥材中 清熱作用과 活血化瘀작용이 있는 大戟과 牧丹皮를 人體의 皮膚癌細胞인 A431 細胞, 子宮癌細胞인 HeLa 細胞, 急性白血病細胞인 MOLT-4 細胞, 慢性骨髓性白血病細胞인 K562 細胞에 대한 細胞毒性和 抗癌劑인 mitomycin C와 併用처리결과를 MTT assay를 통하여 관찰하였다. 또한 正常細胞에 대한 細胞毒성을 검색하기 위하여 마우스 섬유아세포(Balb/c 3T3), 마우스 胸腺 및 脾臟細胞, human lymphocyte에 미치는 細胞毒성을 검토하였다.

大戟과 牧丹皮는 A431 細胞와 K562 細胞, 마우스 섬유아細胞인 Balb/c 3T3 細胞 및 mitomycin C와 并用處理하였을 때 mitomycin C를 단독처리하였을 때보다 A431 細胞의 증식을 억제하였고, 白蘚皮는 mitomycin C와 并用處理時 K562 細胞의 증식을 mitomycin C 단독처리시보다 억제하였으며, 穿山甲은 마우스 胸腺細胞의 증식을 억제하였다. 또한 白蘚皮는 마우스 脾臟細胞의 증식을, 白蘚皮와 穿山甲은 human lymphocyte의 증식을 촉진하였다.

중심단어 : 대극(大戟), 목단피(牧丹皮), 항암제(抗癌劑) mitomycin C, A431 cell, HeLa cell, MOLT-4 cell, K562 cell, MTT assay, 비장(脾臟)·흉선(胸腺), Lymphocyte

I. 緒論

東醫學의으로 浮腫, 發熱, 疼痛하고, 紅赤色을 띠면서 肌肉間에 발생하는 것을 癰이라하고, 腫根이 堅固하면서 熱이 없고 白色이나 暗

紫色을 띠는 것을 疔라하며, 紫黑色을 띠고 堅硬하며 潰瘍이 됨으로써 巖穴과 같은 상태가 되는 것을 癌이라하여¹⁾, 癌은 癰疽의 한 형태라고 인식하였다.

癌에 대한 東醫學의인 病因·臨床症狀 및 治療法등을 살펴보면 《黃帝內經》에서 “石瘕, 腸覃” 등으로 癌에 대하여 언급한 이래 “癌, 腫

1) 본 연구는 동신대학교 교내연구비 지원에 의해 이루어졌습니다.

瘍, 乳巖, 石疽, 石瘕” 등으로 인식하였고⁵⁻⁷⁾, 癌의 原因에 대해서는 六淫, 七情, 飲食失節, 臟腑機能失調 등으로 발생하여, 全身疲勞感, 惡心嘔吐, 食欲不振, 顔色蒼白, 心窩部膨滿感, 疼痛 등의 증상이 나타나기 때문에⁷⁻⁸⁾ 正氣補養을 위주로 하면서 淸熱解鬱, 軟堅散結 및 活血化瘀法등이 이용되어왔다^{6-7,30-31)}. 또한 西醫學에서는 癌에 대하여 생체조직의 일부가 끊임없이 비정상적이면서도 계속적으로 과잉 성장한 惡性新生物을 말하는 것으로¹⁾ 전 리방사선, 담배, 음주 및 정신적 스트레스, 그리고 환경오염 등에 의해서 발생한다²⁻⁴⁾고하여 手術療法, 放射線療法, 化學療法 및 免疫療法 和 遺傳子療法등이 이용하고 있다³²⁻³⁶⁾.

이러한 癌을 정복하기 위하여 많은 연구결과가 보고되었고 또한 현재 진행되고 있는데, 지금까지 진행되어 왔던 抗癌劑 개발 방법들은 주로 細胞毒性이 강력한 물질을 찾는 것이었지만, 최근에 있어서는 細胞毒性이 다소 약하기는 하지만 기존 抗癌劑와 并用하여 抗癌性を 증가시키고 부작용을 줄일 수 있는 물질을 찾기 위한 노력들을 진행하고 있으며²¹⁻²³⁾, 이 방법에 대하여 많은 관심을 가지고 있다.

最近 抗癌效果에 대한 報告로는 複合製劑로 鄭¹⁸⁾은 內託羌活湯이 抗癌 및 免疫調節機能에 미치는 효과를 살펴보고, 金²⁰⁾은 增損五積散 中 腎積方이 各種의 癌細胞柱에 미치는 영향을 고찰하였으며, 金³⁷⁻³⁸⁾은 伏梁丸과 息賁丸등을 이용하여 癌細胞柱의 成長에 미치는 영향을 살펴보고, 또한 單一藥物로 鄭³⁹⁾은 魚腥草와 金銀花의 抗癌작용에 대하여, 沈¹⁹⁾은 魚腥草, 穿山甲 및 豬苓의 抗癌作用에 대하여 고찰하였다.

大戟은 大戟科에 속한 多年生 草本인 大戟의 뿌리로써 消腫散結하고 瀉水逐飲하는 效能을 갖고 있어 瘡癰腫毒이나 結核 등에 사용되고⁹⁻¹⁰⁾ 있고, 牧丹皮는 미나리재비과에 속한 多年生 모란의 根皮로써 活血行瘀作用이 있어 惡血積聚나 瘀血阻滯로 인한 疼痛에 사용한다⁹⁾. 그러나 이 두가지 藥物의 研究에 있어 癩

癩의 한 형태인 癌腫에 대한 연구결과가 없기 때문에 消腫散結作用이 있는 大戟과 活血化瘀시키는 牧丹皮가 癌細胞의 活性을 抑制할 것으로 思料되어 皮膚癌細胞(human epidermoid carcinoma)인 A431 細胞, 子宮癌細胞(human cervix epitheloid carcinoma)인 HeLa 細胞, 急性白血病細胞(human acute lymphoblastic leukemia)인 MOLT-4 細胞, 慢性骨髓性白血病細胞(human myelogenous leukemia)인 K562 細胞에 대한 細胞毒性을 관찰하였으며, 抗癌劑인 mitomycin C와 并用하여 처리하였을 때 各種의 癌細胞柱에 미치는 細胞毒性을 관찰하였다. 또한 大戟과 牧丹皮의 煎湯液이 正常細胞에 대한 細胞毒性을 검색하기 위하여 마우스 섬유아細胞(Balb/c 3T3), 마우스 胸腺 및 脾臟細胞, human lymphocyte에 미치는 細胞毒性을 검토한 결과 抗癌作用 및 免疫作用에 有意性있는 결과를 보였기에 報告하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 動物

胸腺 및 脾臟細胞 부유액 조제시에는 6~8 週정도가 되는 Balb/c 3T3系 마우스(수컷)를 사용하였다.

2) 試藥 및 器具

실험에 사용한 시약은 Dulbecco's modified Eagle's medium (DME, Sigma), RPMI 1640 (Gibco), mitomycin C (MMC, Kyowa), fetal bovine serum (FBS, Gibco), trypsin (Gibco), penicillin-streptomycin (Sigma), Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A, Sigma), 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoliumbromide (MTT, Sigma), Ficoll-Hypaque(Sigma)등이며 기타 시약은 1급 시약을 사용하였다. 사용기구는 culture flask

(Nunc), multi-well plate (96-well, Costar), Microplate Reader (Dynatech MR5000), CO₂ incubator (Vision scientific Co.), centrifuge (VS-6000 CF), inverted microscope (Nikon Co.), freeze dry apparatus (Labconco) 등을 사용하였다.

2. 方法

1) 試料의 調製

본 실험에 사용한 약재들은 동신대학교 부속 한방병원에서 구입한 후 精選하여 사용하였다.

Table 1. The yield of water extract of Euphorbiae Pekinensis Radix

韓藥材	生藥名	수득율 (%)
大戟	Euphorbiae Pekinensis Radix	14.6
牧丹皮	Moutan Cortex Radicis	19.7

각각의 藥物 30g에 증류수 1,000ml를 가하여 가열 추출한 후, 여과하여 濾液을 rotary evaporator로 농축한 다음, freeze dryer로 동결건조하여 분말을 얻었다(Table I). 그 후 細胞실험시에 증류수에 용해시킨 뒤 membrane filter(d 0.45 μ m)로 여과 멸균하여 사용하였다.

2) 細胞柱 및 細胞 培養條件

A431, HeLa 및 Balb/c 3T3 細胞柱는 DME 배지를, MOLT-4, K562, 마우스 胸腺 및 脾臟 細胞와 human lymphocyte는 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 배지에는 10% FBS와 penicillin-streptomycin(100units/ml, 100 μ g/ μ l)을 첨가하여 사용하였다.

계대 배양은 1:10~1:20 비율로 3일 간격으로 하였다. 細胞 증식에 미치는 각 藥物의 煎湯液 및 抗癌劑의 영향을 관찰하기 위한 實驗

은 계대배양 2일째의 細胞를 사용하였다.

3) MTT法에 의한 細胞 增殖率 測定

본 실험에 사용한 MTT法은 Mosmann²⁴⁾이 개발하여 Kotnik등²⁵⁾이 변형시킨 방법으로, 96-well plate의 각 well에 細胞 부유액 100 μ l (2x10⁵cells/ml)를 접종하여 37 $^{\circ}$ C의 CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 농도별로 희석된 각 藥物의 煎湯液 100 μ l를 넣고 37 $^{\circ}$ C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5mg/ml 농도로 DPBS-A에 희석된 MTT용액 20 μ l를 각 well에 첨가하고 배양 종료시까지 은박지로 빛을 차단하였다. 배양 종료시 배양액을 제거한 후 생성된 formazan crystal을 DMSO 100 μ l로 용출시킨 다음 發色된 각 well의 흡광도를 Microplate Reader를 이용하여 570nm에서 측정하고, 대조군의 흡광도와 비교하여 細胞 증식율을 백분율로 환산하였다.

4) 細胞柱에 미치는 藥物의 影響

細胞柱에 미치는 각 藥物의 영향을 알아보기 위해 각 well에 細胞를 2x10⁵cells/ml 농도로 접종하고 24시간 배양하여 細胞를 부착시킨 후, 大戟 및 牧丹皮 煎湯液을 다양한 농도로 처리하여 3)과 동일한 방법으로 측정하였다.

5) 癌細胞柱 대한 mitomycin C의 IC₅₀ 測定
癌細胞柱의 增殖을 50% 억제할 수 있는 mitomycin C의 농도(IC₅₀)를 구하기 위해 각 well에 細胞를 2x10⁵cells/ml로 접종하고 24시간 배양하여 細胞를 부착시킨 후, 抗癌劑를 다양한 농도로 癌細胞柱에 처리하여 3)과 동일한 방법으로 측정하여 IC₅₀을 계산하였다.

6) 癌細胞柱에 미치는 각 藥物과 mitomycin C 并用處理 影響

癌細胞柱에 미치는 각 藥物의 煎湯液과 抗癌劑의 并用處理 영향을 알아보기 위해 각

well에 細胞를 2×10^5 cells/ml 농도로 접종하고 24시간 배양하여 細胞를 부착시킨 후 다양한 농도의 각 藥物 煎湯液과 抗癌劑의 IC_{50} 농도를 부착된 細胞에 처리하여 3)과 동일한 방법으로 측정하였다.

7) 마우스 胸腺 및 脾臟細胞의 分離

마우스의 胸腺 및 脾臟細胞 分離는 Wysocki²⁶⁾ 및 Mizel등²⁷⁾의 방법을 이용하였다. Balb/c 3T3 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후 적출한 胸腺 및 脾臟을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음 10ml 주사기로 조심스럽게 細胞부유액을 취하여 1500rpm에서 10분간 원심분리하였다. 얻어진 細胞를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 胸腺 및 脾臟細胞를 분리하였으며, 분리한 胸腺 및 脾臟細胞의 생존율 및 총細胞수를 hemocytometer를 이용하여 측정하였다.

8) 마우스 胸腺 및 脾臟細胞에 미치는 各 藥物 煎湯液의 영향

胸腺 및 脾臟細胞 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96-well plate에 1.2×10^6 cells/ml 농도로 접종하여 Concanavalin A $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 및 각 藥物 煎湯液을 첨가한 후 37°C의 CO_2 incubator에서 48시간 배양한 다음, 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하였다. 배양 종료 시 0.1N HCl에 용해시킨 10% SDS $100 \mu\text{l}$ 를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 發色된 각 well의 흡광도를 Microplate-Reader로 570 nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 계산하였다.

9) Human lymphocyte의 분리

Human lymphocyte의 분리는 Callard²⁸⁾ 및 Ly and Mishell²⁹⁾ 등의 방법에 따라 건강한 성인 남자의 혈액에 Ficoll-Hypaque용액을 가하여 분리하였다. Heparin 처리된 주사기로

혈액 10ml를 취하여 12ml의 DPBS-A에 혼합한 다음 10ml의 Ficoll-Hypaque용액 위에 희석된 혈액을 층의 경계가 분명하도록 조심스럽게 가했다. 3000rpm에서 30분간 원심분리한 후, pasteur pipet을 이용하여 Ficoll-Hypaque용액 위층에 밀집된 단핵구 층을 취한 다음 5배 부피의 DPBS-A로 희석하여 2500rpm에서 10분간 원심분리하였다. 얻어진 細胞를 DPBS-A에 재부유시켜 2회 더 세척한 후 hemocytometer를 이용하여 細胞의 생존율 및 총細胞수를 측정하였다.

10) Human lymphocyte에 미치는 각 藥物 煎湯液의 영향

細胞를 RPMI 1640배지로 희석하여 96-well plate에 1.2×10^6 cells/ml 농도로 접종한 후 각 藥物 煎湯液을 첨가하고 37°C의 CO_2 incubator에서 48시간 배양한 다음 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하였다. 배양 종료 시 0.1N HCl에 용해시킨 10% SDS $100 \mu\text{l}$ 를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 發色된 각 well의 흡광도를 Microplate-Reader로 570 nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 계산하였다.

III. 實驗結果

1. 各 癌細胞柱에 미치는 藥物의 效果

大戟 및 牧丹皮 煎湯液이 A431 細胞柱, HeLa 細胞柱, MOLT-4 細胞柱 그리고 K562 細胞柱에 미치는 細胞毒성을 알아보기 위하여 각 細胞柱에 大戟과 牧丹皮를 1, 10 및 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 를 각각 가하여 배양하였다. 그 결과 藥物을 투여하지 않은 對照群의 細胞생존율을 100%로 하였을 때 A431, HeLa 및 MOLT-4 細胞柱에서는 유의성있는 細胞毒성이 나타나지 않았지만, K562 細胞柱의 경우 大戟 $100 \mu\text{g}/$

ml을 투여하였을 때에는 $87.8 \pm 1.3(\%)$, 牧丹皮 10, $100 \mu\text{g/ml}$ 을 투여하였을 때에는 $88.0 \pm 1.4(\%)$ 와 $86.7 \pm 1.6(\%)$ 의 유의성있는 細胞毒性을 보였다(Table II).

Table 2. Cytotoxicity of Euphorbiae Pekinensis Radix and Moutan Cortex Radicis on A431 cell-lines, HeLa cell lines, MOLT-4 cell lines and K562 cell lines.

濃度	Cytotoxicity(%)			
	A431	HeLa	MOLT-4	K562
Control	100 ± 3.7	100 ± 1.2	100 ± 3.6	100 ± 1.9
EPR $1 \mu\text{g/ml}$	93.7 ± 5.2	100.7 ± 3.8	91.6 ± 2.4	93.7 ± 2.5
EPR $10 \mu\text{g/ml}$	108.5 ± 1.9	100.7 ± 2.1	94.4 ± 3.1	90.4 ± 2.3
EPR $100 \mu\text{g/ml}$	108.0 ± 3.7	106.5 ± 3.7	93.8 ± 1.7	$87.8 \pm 1.3^*$
MCR $1 \mu\text{g/ml}$	96.0 ± 0.9	101.1 ± 1.5	90.4 ± 3.8	91.0 ± 1.8
MCR $10 \mu\text{g/ml}$	101.4 ± 5.6	97.6 ± 3.4	92.1 ± 3.8	$88.0 \pm 1.4^*$
MCR $100 \mu\text{g/ml}$	90.6 ± 1.6	99.6 ± 3.3	94.4 ± 5.4	$86.7 \pm 1.6^*$

EPR : Euphorbiae Pekinensis Radix(大戟)

MCR : Moutan Cortex Radicis(牧丹皮)

A431 cell : human epidermoid carcinoma

HeLa cell : human cervix epitheloid carcinoma

MOLT-4 cell : human acute lymphoblastic leukemia

K562 cell : human myelogenous leukemia

The value represents the mean \pm SE from 4 experiments.

* ; Significantly different from control group(* ; $P < 0.01$).

2. 癌細胞柱에 대한 mitomycin C의 IC_{50} 濃度

各 癌細胞柱의 增殖을 50% 억제하는 mitomycin C의 濃度는 Table III과 같다.

Table 3. IC_{50} of mitomycin C on human cancer cell-lines

Drugs	$IC_{50}(\mu\text{g/ml})$
A431	10.77
HeLa	3.57
MOLT-4	0.46
K562	22.1

3. 癌細胞柱에 미치는 大戟 및 牧丹皮와 mitomycin C의 并用處理 效果

癌細胞柱에 미치는 大戟 및 牧丹皮 煎湯液과 mitomycin C의 并用處理 效果를 알아보기 위해 各 細胞柱에 各 藥物 煎湯液을 1, 10 및 $100 \mu\text{g/ml}$ 까지 가한 후 mitomycin C의 IC_{50} 농도를 첨가하여 배양하였다. Mitomycin C의 IC_{50} 농도를 처리한 對照群의 細胞 생존율을 100%로 하였을 때, 大戟의 경우는 A431와 K562 細胞柱에서 細胞의 증식이 항암제 단독 처리시에 비해 별 차이를 나타내지 못하였고, 또한 HeLa 細胞柱에서는 對照群에 비해 억제 는 되었지만 유의성은 없었다. 그러나 MOLT-4 細胞柱에서는 10 및 $100 \mu\text{g/ml}$ 을 병용투여하였을 때 細胞 증식이 항암제를 단독 처리하였을 때보다 $113.6 \pm 1.5(\%)$ 와 $125.8 \pm 3.1(\%)$ 로 오히려 증식이 촉진되었다. 한편 牧丹皮의 경우는 A431 細胞柱, HeLa 細胞柱와 K562 細胞柱에서 細胞의 증식이 항암제 단독 처리시에 비해 별 차이를 나타내지 않았으나 증식이 감소되었고, MOLT-4 細胞柱에서는 전 濃度에서 細胞 증식이 항암제를 단독 처리하였을 때보다 $115.4 \pm 1.3(\%)$, $118.3 \pm 0.9(\%)$ 와 $125.5 \pm 2.2(\%)$ 로 오히려 증식이 촉진되었다 (Table IV).

Table 4. The combined effect of Euphorbiae Pekinensis Radix, Moutan Cortex Radicis and mitomycin C on A431 cell-lines, HeLa cell lines, MOLT-4 cell lines and K562 cell lines.

濃度	Cytotoxicity(%)			
	A431	HeLa	MOLT-4	K562
Control	100±1.0	100±2.5	100±3.0	100±2.5
EPR 1µg/ml	96.9±1.1	97.2±2.3	107.3±0.7	108.4±2.5
EPR 10µg/ml	94.7±2.0	93.8±3.6	113.6±1.5*	103.6±2.3
EPR 100µg/ml	101.8±2.5	94.3±3.2	125.8±3.1**	94.7±1.3
MCR 1µg/ml	97.2±1.0	99.8±1.8	115.4±1.3*	102.2±7.1
MCR 10µg/ml	96.8±0.3	95.2±1.9	118.3±0.9*	96.1±1.6
MCR 100µg/ml	98.7±0.8	94.3±2.8	125.5±2.2**	90.6±2.2

The value represents the mean±SE from 4 experiments.

* ; Significantly different from control group (* ; P<0.01, ** ; P<0.001).

4. 各種의 免疫細胞柱에 미치는 大戟 및 牡丹皮의 效果

마우스 섬유아 細胞柱인 Balb/c 3T3 細胞, 마우스의 胸腺細胞 배양계, 脾臟細胞 배양계 및 인체 Lymphocyte에 미치는 大戟 및 牡丹皮의 직접적인 效果를 알아보기 위하여 각각의 藥物 煎湯液을 1, 10 및 100µg/ml를 각각 가하였다. 對照群의 細胞 생존율을 100%로 하였을 때 大戟을 투여한 경우 Balb/c 3T3 細胞는 對照群에 비해 억제되었으나 마우스의 胸腺細胞 배양계, 脾臟細胞 배양계 및 인체 Lymphocyte는 對照群에 비해 증식이 활성화되었고 특히 10 및 100µg/ml를 가하였을 때에는 증식의 활성화가 유의성있게 촉진되었다. 牡丹皮의 경우에 있어서는 Balb/c 3T3 細胞가 對照群에 비해 억제되었으나 마우스의 胸腺細胞

배양계, 脾臟細胞 배양계 및 인체 Lymphocyte는 對照群에 비해 증식이 활성화되었는데, 특히 100µg/ml를 가하였을 때에는 마우스의 thymocytes, 마우스의 splenocytes와 인체 lymphocytes에서 각각 127.5±2.2(%), 142.0±2.5(%)와 126.3±1.4(%)로 활성화가 유의성있게 촉진되었다(Table V).

Table 5. Effect of Euphorbiae Pekinensis Radix and Moutan Cortex Radicis on Balb/c 3T3 cells, mouse thymocytes, mouse splenocytes and human lymphocytes

濃度	Cytotoxicity(%)			
	Balb/c 3T3 cell	mouse thymocytes	mouse splenocytes	human lymphocytes
Control	100±1.0	100.4±0.4	100±1.8	100±1.1
EPR 1µg/ml	97.0±1.1	100.4±1.4	112.7±3.5	99.2±2.8
EPR 10µg/ml	99.1±1.4	112.7±2.2**	132.4±3.2**	114.4±1.2*
EPR 100µg/ml	92.3±2.2	143.5±1.1**	142.8±3.5**	159.4±1.3**
MCR 1µg/ml	92.1±3.1	97.6±2.2	100.2±0.7	97.6±3.3
MCR 10µg/ml	98.8±1.7	99.2±2.1	103.9±2.8	98.1±1.7
MCR 100µg/ml	97.7±1.8	127.5±2.2**	142.0±2.5**	126.3±1.4**

The value represents the mean±SE from 4 experiments.

* ; Significantly different from control group(* ; P<0.01, ** ; P<0.001).

IV. 考察

癌은 東醫學的으로 많은 病證에서 설명되고 있는 것으로 積聚·癥瘕·反胃·癰疽 등의 範疇에 포함되어 설명되고 있으며, 宋代《衛濟寶書》에서는 腫瘍 및 石癰과 石疽등에 포함시켜 최초로 현대 腫瘍의 概念과 類似하게 인식하였다⁵⁻⁷⁾. 癰疽와 癌의 관계는 浮腫, 發熱, 疼痛하면서 肌肉間에 발생하는 것을 癰이라

하였고, 腫根이 堅固하면서 熱이 없고 暗紫色을 띠는 것을 疔라 하며, 紫黑色을 띠고 堅硬하며 潰瘍이 됨으로써 巖穴과 같은 상태가 되는 것은 癌이라하여 癌이 癰疽形態中의 하나¹¹⁾라고 분류하였다.

癌은 六淫·七情 및 臟腑機能失調와 飲食不節등으로 인하여 全身症狀과 胃腸障礙 및 造血作用에 영향에 미치기 때문에 頭暈·全身疲勞感·顔面蒼白·失眠등과 食欲不振·腹脹滿·腹部疼痛·大小便失調·心窩部膨滿感 및 血小板減少·骨髓生成抑制·出血 등이 출현하게 된다. 또한 극심한 疼痛이나 肢體麻木 등의 신경손상과 皮膚나 모발등에도 영향을 끼치게 되기 때문에^{6-8,13)} 正氣補養 및 補血을 爲主로 하면서 破積·活血·破瘀등의 治法들을 兼用하고 있고, 현재 中國등에서는 各種의 腫瘍 治療法으로 清熱解毒法과 軟堅散結法, 活血化瘀法, 祛濕解毒 그리고 扶正培本法들을 利用하고있다^{6-7,14,30-31)}.

西醫學的으로는 細胞分裂의 異常이나 惡性腫瘍遺傳子를 억제하는 능력이 상실됨으로써 발생하는 것으로 비정상적 세포의 增殖을 癌이라 인식하였는데, 이는 放射線·담배·飲酒·藥物服用·飲食失調 및 水質이나 大氣의 환경오염과 精神心理의 스트레스등으로 발생된다¹⁻⁴⁾라고 하였다. 癌이라 불리워지는 惡性新生物은 良性腫瘍과 惡性腫瘍中 惡性腫瘍에 해당되는 것으로 대부분 잠복기가 길어 초기에는 症狀이 나타나지 않다가 病變自體가 진행된 후에는 림프관이나 혈관 등을 통하여 轉移되어 組織破壞의 속도와 腫瘍細胞의 성장속도가 빨라져 腫瘍細胞를 제거하여도 정상적인 기능을 발휘하기 어렵게 된다¹⁷⁾. 그리하여 암의 조기진단은 매우 중요하며, 한편 진단결과가 악성종양이라고 판명되게되면 手術療法·放射線療法·化學療法·免疫療法 및 遺傳子療法등을 사용하게 되는데²⁹⁻³⁸⁾, 手術療法과 放射線療法은 局所的인 治療法이기 때문에 限界性이 있고, 全身療法인 免疫療法도 현재로서는 治療方法이 定立되어 있지 않은 상태이다. 그렇기

때문에 化學療法의 發展만이 癌治療率을 向上시킬수 있는 것이나 化學療法 自體도 化學藥材의 毒性問題를 해결하지 못하고 있는 실정이다³²⁻³⁶⁾. 즉, 外科의 處置法, 放射線 治療法, 化學療法, 免疫療法등이 癌腫에 따른 感受性과 治療 後의 經過 그리고 副作用이 각기 다르고, 또 이에 따른 많은 문제점들을 안고 있는 것이다.

최근 癌을 정복하기 위하여 다방면의 研究結果가 보고되고 있는데, 複合製劑로서는 鄭¹⁸⁾이 內託羌活湯이 腫瘍 및 免疫調節機能에 미치는 영향을 실험적으로 관찰하였고, 金³⁷⁻³⁸⁾은 伏梁丸과 肥氣丸등이 各種 癌細胞柱의 成長에 阻礙가 되어 抗癌效果가 있었음을 報告하였으며, 李²⁰⁾는 增損五積丸을 이용하여 癌細胞柱의 成長阻礙에 미치는 영향을 報告하였다. 또한 單一藥物로는 沈¹⁹⁾등이 白鼠를 이용하여 穿山甲과 魚腥草 및 猪苓의 抗癌效果를 관찰하였으며, 鄭³⁹⁾등은 金銀花 및 魚腥草가 抗癌效果가 있음을 밝혔을 뿐이었다.

大戟은 大戟科에 속한 多年生草本인 大戟의 뿌리로서 性味가 苦·辛·寒하면서 毒性이 있어 消腫散結하는 效能이 있기 때문에 瘡癰腫毒과 結核 등에 이용되고 있고⁹⁻¹⁰⁾, 牧丹皮는 미나리재비과에 속한 모란의 根皮로서 辛·苦·涼·無毒하여 清熱涼血하면서 活血行瘀하기 때문에 血流障礙로 발생하는 각종의 積聚와 痛症을 다스린다⁹⁾. 癌은 東醫學的으로 癰疽의 한 부분이면서 積聚의 한 부분이기 때문에 癰疽를 치료할 수 있는 大戟과 積聚를 다스릴수 있는 牧丹皮가 癌細胞에 어떠한 細胞毒性作用을 가지고 있고, 또한 免疫細胞에 어떠한 作用을 갖고 있는지를 관찰함으로써 癌을 치료하려는 臨床家들에게 도움을주고, 東西醫學的인 접근을 시도하기 위하여 A431 細胞, HeLa 細胞, MOLT-4 細胞, K562 細胞에 대한 細胞毒性을 관찰하고, 또한 抗癌劑와 并用投與하였을 때 어떠한 결과를 나타내는지, 그리고 正常免疫細胞에 대한 細胞毒性을 검색하기 위하여 마우스 섬유아細胞(Balb/c 3T3), 마우스

胸腺 및 脾臟細胞, human lymphocyte에 미치는 細胞毒성을 살펴보았다.

大戟과 牧丹皮를 물로 추출한 후 다양한 인체 癌細胞柱에 대한 細胞毒성을 측정한 결과, 人體 皮膚癌 細胞柱인 A431 細胞와 子宮癌 細胞柱인 HeLa 細胞, 急性白血病 細胞柱인 MOLT-4 세포에 대해서는 별다른 細胞毒성을 나타내지 않았지만 慢性骨髓性白血病 細胞柱인 K562 細胞에 대해서는 약 10% 정도의 細胞毒성을 나타내었다.

또한 抗癌劑인 mitomycin C(MMC)와 并用 處理를 실시하여 기존 抗癌劑의 작용을 증가시킬 수 있는 가능성을 검토한 결과, 人體 皮膚癌 細胞柱인 A431 細胞와 子宮癌 細胞柱인 HeLa 細胞에 mitomycin C와 并用 處理하였을 경우 mitomycin C 단독 처리한 때에 비해서 별다른 영향을 미치지 못하였고, 慢性骨髓性白血病 細胞柱인 K562 細胞의 경우에는 有意성은 없었지만 mitomycin C를 단독 처리할 때보다 細胞毒성을 나타내었다. 그러나 急性白血病 細胞柱인 MOLT-4 세포에서는 mitomycin C와 并用 處理하였을 경우 mitomycin C를 단독 처리할 때에 비해 오히려 癌細胞柱의 성장이 촉진되는 것으로 관찰되어 臨床에서는 大戟과 牧丹皮를 抗癌劑와 并用해서는 안 될 것으로 思料된다.

한편, 癌細胞柱에 대해 細胞毒성을 나타내는 大戟과 牧丹皮가 정상細胞에 대하여도 細胞毒성을 나타낼 수 있는 가능성이 있기 때문에 정상細胞의 모델로 흔히 사용되는 Balb/c 3T3 細胞柱에 대해서 大戟과 牧丹皮 煎湯液의 細胞毒성을 측정한 결과, 大戟과 牧丹皮의 抽出物에서 약간의 細胞毒性 결과를 나타내었다.

일반적으로 抗癌劑들은 면역細胞에 대한 부작용이 있는 것으로 알려져 있기 때문에 大戟 및 牧丹皮 煎湯液이 마우스 胸腺, 脾臟細胞 및 human lymphocyte에 미치는 영향을 측정함으로써 면역細胞에 대한 작용을 검색하여 보았다. 大戟과 牧丹皮 煎湯液를 처리한 결과 마우스의 Balb/c 3T3 세포에 대해서는 對照群에

비해 약간의 細胞毒성을 나타내었으나 有意성은 관찰되지 않았지만 胸腺細胞와 脾臟細胞 그리고 human lymphocytes에 대하여서는 모두 有意성있게 세포증식을 활성화시키는 것으로 나타났으며, 특히 각각의 藥物 100 μ g/ml를 투여하였을 때 對照群에 비해 20~50%정도가 활성화되는 것을 볼 수 있어 大戟과 牧丹皮가 정상細胞의 免疫力를 증강시키는 것으로 思料되나 그 機轉을 밝히지는 못하였다. 그리하여 大戟과 牧丹皮의 정상細胞에 대한 작용을 밝히기 위해서는 抽出物의 成分조사나 다른 免疫機能 연구가 진행되어야 할 것으로 思料된다.

이상의 실험결과 大戟과 牧丹皮는 慢性骨髓性白血病 細胞柱인 K562 細胞에 대해 직접적인 細胞毒성을 나타냈었고, mitomycin C와 并用 처리하였을 때는 急性白血病 細胞柱인 MOLT-4 세포에 대해 活性化시키는 결과를 보였으며, 정상細胞에 대해서는 胸腺細胞 및 脾臟細胞 그리고 human lymphocyte 모두를 活性化시켰다. 이 결과 癰疽나 積聚에 사용되는 藥材들이 有毒한가 아니면 無毒한가에 관계없이 모두 抗癌作用과 더불어 免疫增強作用이 있고, 또한 정상細胞들과 造血細胞들과의 關係로 볼 때 大戟과 牧丹皮가 免疫細胞의 增強을 活性化시켜 줄 뿐만아니라 造血系의 癌腫세포에 有意할 것으로 보이며, 急性疾患보다는 慢性疾患에 有意할 것으로 思料된다. 이에 앞으로도 많은 韓藥材들을 性味·效能上에 따른 抗癌作用 및 免疫增強機能을 관찰함으로써 免疫을 增強시키면서도 抗癌作用이 있는 藥物들을 개발함과 동시에 抗癌劑 투여로 발생하는 副作用을 最小化할 수 있는 韓藥材의 개발이 필요하다 할 것이다.

V. 結論

인체 癌細胞에 대한 大戟 및 牧丹皮의 직접적인 細胞毒성과 抗癌劑와 并用時의 細胞毒性,

섬유아細胞인 Balb/c 3T3 細胞, 마우스 胸腺 및 脾臟細胞, human lymphocyte에 대한 細胞 毒性을 측정한 결과는 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 大戟과 牧丹皮는 K562 細胞의 증식을 억제하였다.
2. 大戟 및 牧丹皮를 mitomycin C와 并用處理한 결과 MOLT-4 細胞에 있어서는 오히려 mitomycin C를 단독 처리하였을 때보다 증식이 촉진되었다.
3. 大戟과 牧丹皮는 마우스 섬유아細胞인 Balb/c 3T3 細胞의 증식에 영향을 미치지 못하였다.
4. 大戟과 牧丹皮는 胸腺細胞의 증식을 촉진하였다.
5. 大戟과 牧丹皮는 마우스 脾臟細胞의 증식을 촉진하였다.
6. 大戟과 牧丹皮는 human lymphocyte의 증식을 촉진하였다.

參考文獻

- 1) 金春元 : 病理學, 서울, 新光出版社, p.8, 1989
- 2) 서울대학교 의과대학 : 중양학, 서울, 서울대학교 출판부, p.2, 9, 1990
- 3) 金承濟 : 腫瘍學의 발전을 중심으로 한 個 個腫瘍의 문헌적 고찰, 現代醫學別冊, 7(5), 1967
- 4) 大韓病理學會編 : 病理學, 서울, 高文社, p.225, 1990
- 5) 楊維傑主編 : 癌症腫瘤醫論醫話精選, 藥寮文化事業公司, pp.1~4, 1989
- 6) 錢伯文 : 腫瘤의辨證施治, 上海, 上海科學技術出版社, pp.1~10, 1980
- 7) 李 岩 : 腫瘤病, 北京, 人民衛生出版社, pp.2~8, 1982
- 8) 郁仁存 : 中醫腫瘤學, 北京, 北京科學技術出版社, pp.1~10, 1983
- 9) 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 南山堂, p.319~20, 253~254, 472~73, 1986
- 10) 陳存仁 : 圖說漢方醫藥大辭典, 서울, 東都文化社 p.42(II), 1984
- 11) 蔡炳允 : 韓方外科, 서울, 高文社, p.38, 1987
- 12) 白洪龍 : 辨證診治概要, 雲南, 人民衛生出版社, p.502, 1984
- 13) 金完熙·崔達永 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, pp.140~42, 168~70, 281~84, 1985
- 14) 崔昇勳 : 東醫腫瘍學, 서울, 杏林出版, pp.37~42, 1995
- 15) 李文鎬 外 : 內科學(下), 서울, 金剛出版社, pp.2446~550, 1979
- 16) 김상호 외 : 일반병리학, 서울, 高文社, pp.108~09, 1995
- 17) 이중달 외 譯 : 그림으로 설명한 병리학, 서울, 고려의학, p.172, 1990
- 18) 鄭鉉雨 : 內託羌活湯이 腫瘍 및 免疫調節機能에 미치는 實驗的 研究, 益山, 圓光大

學校 大學院, 1996

- 19) 沈載然·金秉雲 : 白鼠를 이용한 枳實 魚腥草 穿山甲 및 豬苓의 抗癌效果에 관한 研究, 서울, 慶熙韓醫大論文集, VOL 11. pp.99-112, 1988
- 20) 金質洙 : 增損五積丸(腎積方)이 腫瘍細胞에 미치는 影響, 益山, 圓光大學校 大學院, 1993
- 21) J.S. Eun, H.J. Cho and J.H. Yang : Kor. J. Pharmacogn., 25(3), 356 (1994).
- 22) J.S. Eun and W.Y. Song : Kor. J. Pharmacogn., 25(2), 144 (1994).
- 23) J.S. Eun : Kor. J. Pharmacogn., 23(4), 248 (1992).
- 24) Mosmann, T. : J. Immunol. methods. 65, 55~63 (1983).
- 25) Kotnic, V. and Fleischmann, W.R.Jr. : J. Immunol. methods. 129, 23 (1990).
- 26) Wysocki, L.J. and Sato, V.L.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 75, 2844 (1978).
- 27) Mizel, S.B., Openheim, J.J. and Rosensteich, D.L. : J. Immunol. 120, 1497 (1979).
- 28) Callard, R.E., Shields, J.S. and Smith, S.H. : Assay for human B cell growth and differentiation factors. In lymphokines and interferons, Morris and Gearing(eds), IRL Press, Oxford, p.345 (1987).
- 29) Ly, I.A. and Mishell, R.I. : J. Immunol. Methods 5, 239 (1974).
- 30) 李 岩 : 腫瘤臨證備要, 北京, 人民衛生出版社, pp.11-26, 1983.
- 31) 張代釗 : 中西醫結合治療癌證, 山西, 山西人民出版社, pp.11-19, 1984.
- 32) Fish B : Clinical trials for the evaluation of cancer therapy, Cancer, 54:2609, 1984.
- 33) Kim, SH : Clinical comparison with drug sensitivities by the human tumor clonogenic assay, J. Kor, Cancer Assoc,

ABSTRACT

**The Cytotoxic effects of several Herbs against
human cancer cell-lines**

College of Oriental Medicine, Dongshin University

The purpose of this research was to investigate effect of water extract of Euphorbiae Pekinensis Radix and Moutan Cortex Radicis on the proliferation of human cancer cell-lines.

The effects of Euphorbiae Pekinensis Radix and Moutan Cortex Radicis on the proliferation of A431, HeLa, MOLT-4, K562 cells, Balb/c 3T3 cells, mouse thymocytes, splenocytes and human lymphocytes were estimated by MTT colorimetric assay.

The results were as follows ;

1. In proliferation of A431, HeLa, MOLT-4 and K562 cell-lines, Euphorbiae Pekinensis Radix and Moutan Cortex Radicis inhibited the proliferation of K562 cells.
2. In the combined effect of Euphorbiae Pekinensis Radix and mitomycin C, Moutan Cortex Radicis and mitomycin C, all herbs stimulated the proliferation of MOLT-4 cells.
3. Euphorbiae Pekinensis Radix and Moutan Cortex Radicis did not inhibited the proliferation of Balb/c 3T3 cells.
4. Euphorbiae Pekinensis Radix and Moutan Cortex Radicis stimulated the proliferation of mouse thymocytes.
5. Euphorbiae Pekinensis Radix and Moutan Cortex Radicis stimulated the proliferation of mouse splenocytes.
6. Euphorbiae Pekinensis Radix and Moutan Cortex Radicis stimulated the proliferation of human lymphocytes.