

원저

半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼이 腫瘍 및 免疫反應에 미치는 영향

송호섭·황현서·김기현

경원대학교 침구학교실

Abstract

Effects of Scutellariae Barbatae Herba · Alli bulbus · Oldenlandiae Herba Complex Herbal Acupuncture on Tumor and Immune Response

Song Ho-sueb, Hwang Hyeon-seo and Kim Kee-hyun

Department of Acupuncture & Moxibustion,
College of Oriental Medicine, Kyung-Won University

Objective : We need to develop a new treatment method which can curve cancer growth and enhance immunity of patients with various kinds of cancer more safely and effectively, for conventional anticancer treatment has lots of problems to be overcome, in other words, Its efficacy can be recognizable but it doesn't actually give aid to patients due to its side effects. This study was taken up to evaluate the anticancer and immune- enhancing effect of Scutellariae Barbatae Herba, Alli bulbus, Oldenlandiae Herba(SAO) Herbal acupuncture.

Methods : SAO Herbal acupuncture solution was made from Scutellariae Barbatae Herba, Alli bulbus, Oldenlandiae Herba by decoction. Experimental group was divided into normal(N), control(TC, cancer group induced by S 180), high and low concentration SAO complex Herbal acupuncture group. In the high and low concentration SAO complex Herbal acupuncture group, SAO Herbal acupuncture solution was injected, on the left and right Chok-samni(足三里, ST36) of ICR- male S 180 rats alternatively, by 200mg/kg and 100mg/kg respectively. In vitro, S 180 was cultured with 200 μ g and 500 μ g of SAO Herbal

- 접수 : 2002년 5월 9일 · 수정 : 6월 25일 · 채택 : 2002년 7월 14일
- 교신저자 : 송호섭 서울시 송파구 송파동 20-8 경원대학교 한의과대학 부속한방병원
Tel 02-425-3456 E-mail : hssong@zaigen.co.kr

acupuncture solution. In each experimental group, we examined the effect of SAO complex Herbal acupuncture on body weight, antitumor, organ weight, activity of macrophage, activity of B cell, spleen cell division, IL-2 production and population of lymphocytes.

Results :

1. In Body weight, no significant change was shown, but In solid cancer weight, the high concentration SAO complex Herbal acupuncture group showed significant($P<0.05$) decrease and significant($P<0.05$) increase in the weight of kidney, compared with control group.

2. In activity of macrophage, low concentration SAO complex Herbal acupuncture group showed significant($P<0.01$) increase, but in vitro, there was no significant increase, compared with control group.

3. In activity of B cell, high and low concentration SAO complex Herbal acupuncture group showed no significant decrease, but in vitro, low concentration SAO complex Herbal acupuncture group showed significant($P<0.01$) increase, compared with control group.

4. In spleen cell division, high and low concentration SAO complex Herbal acupuncture group had no significant influence on spleen cell division induced by Co A, meanwhile, it was found that macrophage promote spleen cell division in low concentration SAO complex Herbal acupuncture group($P<0.05$), compared with control group.

5. In IL-2 production, high concentration SAO complex Herbal acupuncture group showed significant($P<0.05$) increase, compared with control group.

6. In population of lymphocytes, high concentration SAO complex Herbal acupuncture group showed significant increase of CD3+ ($P<0.05$), CD4+ ($P<0.05$), CD3+ and CD4+ T cell ($P<0.01$) and B cell ($P<0.05$), while low concentration SAO complex Herbal acupuncture group showed significant increase of CD4+ ($P<0.05$), CD8+ T cell ($P<0.05$) and B cell ($P<0.01$), compared with control group.

Conclusion : SAO Herbal acupuncture inhibited cancer growth and enhanced immunity.

Key Words : Scutellariae Barbatae Herba, Alli bulbus, Oldenlandiae Herba, Herbal acupuncture, Tumor, immune response

I. 緒論

惡性腫瘍(malignant neoplasia)은 細胞分裂을 지배하는 調節機能의 缺陷이나 惡性腫瘍 遺傳子를 抑制하는 能力이 消失됨으로써 發生하는 非正常的인 細胞의 增殖을 말하며¹⁾, 病理學的으로 癌이라 規定하고 있다²⁾.

韓醫學에서는 『黃帝內經』에서 言及된 '積聚', '鼓脹', '腸覃' 및 '石瘕' 등과 內經 이후의 書籍에서 나타나는 '癥瘕', '癰疽', '癭瘤', '反胃', '噎膈' 등이 症

狀과 病理面에서 癌과 類似한 病症으로 記述되고 있다^{3, 4)}.

그 治療法으로는 清熱解毒, 化痰軟堅, 活血祛瘀, 行氣散結, 以毒除毒 등의 祛邪法과 健脾益氣, 健脾益腎, 益氣補血, 滋陰溫陽 등의 扶正法으로 大別하고 있는데 最近에는 이들을 結合한 扶正祛邪法을 活用하는 趨勢이다⁵⁾.

一般的인 癌研究 方法으로 細胞毒性, 腫瘍免疫, 生化學, 分子生物學, 細胞消滅, 血管形成沮害作用, 發癌誘發因子, 細胞週期傳達, 細胞週期調節, 遺傳子治療 및 轉移豫防 研究가 주로 수행되고 있으며, 1990

년 이후 韓醫學界의 腫瘍 研究에 대한 動向을 살펴 보면, 動物實驗을 利用하여 抗癌 藥材, 抗癌 處方 및 藥鍼이 癌細胞 自體와 細胞性 免疫, 體液性 免疫, IL-2, IL-6, NK cell, NO에 미치는 影響에 관한 研究⁶⁾와 같은 細胞 毒性 과 免疫反應에 대한 研究가 주로 進行되었다.

그 중 藥鍼을 통한 抗腫瘍과 免疫에 대한 最近 實驗研究로는 枸杞子 및 地骨皮⁷⁾, 猪苓⁸⁾, 瓦松⁹⁾, 覆盆子¹⁰⁾, 肉蓯蓉¹¹⁾, 艾葉¹²⁾, 菟絲子¹³⁾, 益智仁¹⁴⁾, 蜂毒¹⁵⁾, 魚腥草¹⁶⁾ 등 多様な 報告가 이루어졌는데, 이들은 扶正法에 관련된 藥物을 藥鍼液으로 選擇한 경우가 많았고, 相對的으로 祛邪法에 관련된 藥物 選擇은 적었다.

이에 著者는 祛邪法과 관련하여 腫瘍 治療에 一部 適用이 되고 있거나 研究 중인 藥物¹⁷⁾중에서 經口 投與로는 腫瘍과 免疫에 관련된 實驗 報告¹⁸⁾⁻²⁸⁾가 있었으나 藥鍼에 대한 實驗 報告는 없었던 清熱解毒, 活血祛瘀止痛하는 半枝蓮(Scutellariae Barbatae Herba)²⁹⁾, 消癥積, 解毒하는 大蒜(Alli bulbus)²⁹⁾, 利濕消腫하는 白花蛇舌草(Oldenlandiae Herba)²⁹⁾를 선택하여 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼液을 一定한 方法으로 製造한 후 扶正法과 관련되어 免疫 增強과 抗癌에 대한 效果가 報告된 理脾胃, 調氣血하는 足三里(ST36)³⁰⁾⁻³¹⁾를 選擇하여 半枝蓮, 大蒜, 白花蛇舌草 複合藥鍼이 腫瘍 및 免疫反應에 미치는 影響을 實驗的으로 究明하기 위하여, S 180으로 중앙이 유발된 ICR계 雄性 마우스에 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼하여 癌細胞와 림프구, 大食細胞를 중심으로 한 免疫反應에 미치는 影響을 살펴보다 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗

1. 材料

1) 處方

本 實驗에 使用한 藥材는 暎園大學校附屬 서울韓方病院에서 提供한 半枝蓮, 大蒜, 白花蛇舌草 각각 600 g을 複方으로 構成하여 使用하였다.

2) 藥鍼液 製造

半枝蓮, 大蒜 및 白花蛇舌草 각각 600g씩을 蒸溜水에 넣고, 3 時間 以上 加熱 煎湯한 다음 濾過한 濾過液을 에틸 알콜을 가하여 알콜濃度가 50%가 되도록 한 다음 沈澱物을 濾過하고 濃縮한 液에 다시 알콜을 넣어 最終濃度 60%가 되도록하여 다시 沈澱시켰다. 이러한 操作을 알콜濃度 75%, 85%에서 수행하여 0.3% 回收率로 얻은 濾過液을 rotary evaporator로 減壓濃縮한 후 凍結乾燥하여 實驗時까지 冷藏保管하였다. 藥鍼時에는 生理食鹽水에 녹여 使用하였다.

3) 實驗動物

實驗動物은 6週齡(體重 20~25g) ICR 系 雌性 마우스(바이오링크, 韓國)를 使用하였다.

B 세포 활성화에 대한 실험의 3마리를 한 군으로 한 경우를 제외하고, 나머지 실험에서는 5마리를 한 군으로 하였다.

2. 方法

1) 藥鍼

實驗群은 正常群, 對照群, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群으로 나누었다. 正常群은 腫瘍誘發 및 藥鍼하지 않았으며, 對照群은 腫瘍을 誘發한 후 藥鍼하지 않고 蒸溜水 만을 注入하였고, 高濃度 및 低濃度 複合藥鍼群은 腫瘍을 誘發한 후 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 藥鍼液 各各 kg당 200 mg 및 100mg을 左右 足三里에 交代로, 1일 1회 藥鍼하였으며, 癌에 대한 實驗에서는 30회 藥鍼하였으며, 其他 免疫관련 實驗에서는 14회 藥鍼하였다.

試驗管內의 高濃度 및 低濃度 複合藥鍼群은 各各 500 μ g 및 200 μ g의 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 藥鍼液을 含有한 細胞 培養液에서 S 180 癌細胞를 72 時

間 동안 함께 培養하였다.

2) 固形癌에 대한 實驗

(1) 固形癌 誘發

마우스 육종 180(Sarcoma 180, S 180)은 ICR mouse 腹腔內에서 1 週日 間隔으로 繼代 培養하였다. S 180을 가지고 있는 ICR mouse에 生理食鹽水를 注入한 후 腹部를 切開하여 腹水와 함께 培養된 S 180을 취하였다. 이를 生理食鹽水로 洗滌한 다음 10^7 cells/ml의 細胞懸濁液을 만들었다. 細胞 懸濁液 0.1ml를 취하여 mouse 목 뒷부분에 皮下 注射하여 固形癌을 유발하였다.

(2) 固形癌 및 免疫 臟器에 미치는 影響

S 180을 移植한 마우스에 藥鍼한지 30日째, mouse를 致死시켜 固形癌을 摘出함과 동시에 脾臟, 心臟, 肝臟, 腎臟을 摘出하여 무게를 測定하였다.

3) 免疫反應 實驗

(1) Splenic nonadherent cell(SNAC)의 分離

實驗動物의 腹部를 70% ethanol로 洗滌한 후 無菌의으로 脾臟을 摘出하여 培地가 담겨있는 35mm 滅菌 petri dish에 담았다. Clean bench 內에서 脾臟을 가위로 잘게 자른 후 homogenizer와 teplon pestle를 利用하여 脾臟細胞를 遊離시켰다. 200 mesh stainless steel sieve를 通過시켜 組織을 除去하고 200×g에서 6分間 遠心分離하여 3回 洗滌한 후 pellet을 懸濁시킨 다음 pellet 1ml 당 1.5ml의 2차 蒸溜水를 넣어 18초 동안 溶血시켰다. 다시 培地를 가하고 遠心分離하여 3回 洗滌한 다음 氷浴상에 保管하였다. 얻어진 脾臟細胞 懸濁液을 1×10^8 cell/ml를 2ml 씩 culture dish에 가하고 CO₂ incubator에서 45分間 培養하여 附着되지 않은 細胞를 培地를 利用하여 수거하고, 附着된 細胞는 培地를 가한 후 policeman을 使用하여 수거하였다. 細胞數를 測定하여 1×10 cell/ml이 되도록 調整하여 實驗에 使用하였다.

(2) Peritoneal exudated cell(PEC)의 分離

Mouse를 頸椎 脫骨로 致死시킨 후 腹腔內에 5 ml의 PBS buffer를 注射하였다. Mouse의 몸을 가볍게 흔들고 腹部를 마사지한 다음 70% ethanol로 腹部를 消毒한 후 腹膜이 損傷되지 않도록 腹部의 皮膚를 除去하고 腹膜을 차례로 切開하여 大食細胞가 包含된 腹膜液을 얻었다. 200×g에서 8分間 遠心分離하여 3回 培地로 洗滌하였다. 細胞數를 測定하여 1×10^6 cell/ml로 調整한 懸濁液을 만들어 實驗에 使用하였다.

(3) T cell의 分離

上記와 같은 方法으로 얻어진 脾臟細胞 懸濁液을 nylon wool을 채운 column을 利用하여 分離하였다. 즉, 脾臟細胞를 약 1×10^8 cell/ml로 맞추어 column에 loading한 후 CO₂ incubator에서 약 60分間 培養하였다. 다시 培地를 가해 처음 흘러나오는 細胞 浮游物을 얻어 1,000 rpm에서 10分間 遠心分離하여 T cell을 얻었다. 細胞數를 測定하여 5×10^6 cell/ml로 調整한 다음 實驗에 使用하였다.

(4) 大食細胞의 活性化에 대한 作用

大食細胞의 活性化 與否를 알아보기 위해 活性化된 大食細胞로부터 分泌되는 acid phosphatase의 活性을 Suzuki 등 (1989)의 方法³²⁾에 따라 實施하였다.

試藥 및 材料는 PBS 溶液 (pH 7.2), 0.02M p-nitrophenyl phosphate/ 0.1M citrate buffer (pH 5.0)는 0.1M citrate acid와 0.1M sodium citrate를 약 1:1.5 (v/v)로 混合하여 pH 5.0으로 調整한 후 p-nitrophenyl phosphate (Sigma Chemical Co., USA)를 0.02M 되도록 가하였으며, 0.2M borate buffer (pH 9.8)는 0.2M sodium borate에 0.2 M NaOH를 가해 pH 9.8로 調整하였고, 10 % FBS 添加 RPMI 1,640 細胞 培養用 培地는 RPMI 1,640 10.4 g (Gibco BRL Co., USA), NaHCO₃ 2 g을 3차 蒸溜水 1 l에 녹인 후 pH 7.2로 調整하고 penicillin-streptomycin-amphotericin B (Sigma Chemical Co., USA)를 1ml 가하고 pH 7.2로 調整한 다음 濾過 滅菌하였다. 使用할 때 56℃에서 30分

間 不活性化시킨 FBS (Gibco BRL Co., USA)를 10% 되도록 가하였고, tissue culture 12 well multiplate (Corning Costar Co., USA)와 tissue culture dish (Corning Costar Co., USA)를 사용하였다.

腹腔 細胞 중의 大食細胞 製造는 最終 藥鍼液 注入日로부터 3 일째 되는 날, 마우스를 頸椎 脫臼法으로 致死시키고 PBS 溶液 5 ml를 腹腔內에 投與하여 가볍게 맞사지한 다음 注射器로 腹腔 細胞를 2회 反復 回收하였다. 腹腔 細胞를 1,500 rpm에서 5 分間 3회 遠心 洗滌한 후 tissue culture dish에 1×10^6 cells/ml이 되도록 가한 다음 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 2 時間 培養 후 plate에 附着되지 않은 細胞는 PBS 溶液으로 洗滌하여 除去하고 附着된 大食細胞만을 취하였다. Acid phosphatase의 活性 測定은 상기에서 얻은 大食細胞에 0.1% Triton X-100을 100 μ l를 가한 다음 0.02M p-nitrophenyl phosphatase/ 0.1M citrate buffer (pH 5.0) 0.5 ml를 가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 1 時間 反應시킨 후 1,500 rpm에서 5分間 遠心分離 후 얻은 上澄液에 4°C상에서 0.2M borate buffer (pH 9.8) 1ml씩을 가하여 反應을 終結시킨 후 405nm에서 吸光度를 測定하였으며, 大食細胞의 活性은 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{Acid Phosphatase Activity(p-nitrophenyl phosphatase } \mu\text{mol/106macrophage/60mins)} = 1.15 \times \text{O.D. at 405 nm}$$

(5) 마우스의 B 림프구 活性化에 대한 作用

分化된 B 림프구 活性化는 表面에 發顯되는 alkaline phosphatase 活性을 測定하였다.

試藥 및 材料는 10% FBS 添加 RPMI 1,640 細胞 培養用 培地, tissue culture 12 well multiplate (Corning Costar Co., USA), PBS 溶液, 0.83 ammonium chloride, glass dish, 200 μ m mesh를 사용하였고, ALP-K Kit 檢査 試藥 (영동제약, 한

국)을 使用하여 비색정량하였다. 對照群과 正常群의 마우스를 最終 藥鍼日로부터 3일째 되는 날, 頸椎 脫臼法으로 致死시키고 脾臟을 摘出した 후 無菌적으로 glass dish에서 칼로 잘게 잘랐다. 200mesh 網위에서 粉碎하여 얻은 細胞 浮游液을 1,000rpm에서 10分間 2회 連續 遠心分離한 후 上澄液을 버리고, 0.83% ammonium chloride 5ml를 가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 5分間 培養하였다. Red cell이 除去된 細胞 浮游液을 다시 1,000rpm에서 10分間 2회 遠心分離한 후 culture dish에 넣고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 1時間 培養하여 附着된 大食細胞를 除去하였다. 上澄液 (1×10^6 cells/ml)을 12 well plate에 well당 1ml씩 분주하고 SAO 100, 500 μ g/ml의 濃度로 가하여 최종 부피가 2 ml가 되도록 하였다. 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48 時間 培養한 다음 2,000rpm에서 10分間 遠心分離하여 上澄液을 버리고 남은 細胞 沈澱物 50 μ l에 기질액 2ml를 가한 후 37°C 水槽에서 15分間 反應시킨 후 發色液 2 ml를 가하고, 10分 以上 放置한 후 500nm에서 吸光度를 測定하였다.

(6) 大食細胞의 脾臟細胞分裂能에 미치는 影響

96 well plate에 上記한 바와 같이 얻어진 大食細胞 懸濁液 50 μ l와 脾臟細胞 懸濁液(SNAC) 50 μ l를 가한 다음 培地를 가하여 총 200 μ l의 培養液을 만들었다. 37°C에서 24時間 CO₂ incubation 한 다음 25 μ l의 H3-thymidine (0.5uCi/well)을 가하여 18 時間 培養하였다. Cell harvester를 이용하여 cell을 glass fiber filter에 收得하였다. 얻어진 filter를 vial에 담고 scintillation cocktail 5 ml을 넣은 후 beta-scintillation counter를 利用하여 放射線量을 測定하였다.

(7) Interleukin-2 (IL-2) 生産量 測定

Mouse로부터 얻은 脾臟細胞를 FBS가 10% 添加된 RPMI 培地에 1×10^6 cell/ml이 되도록 再懸濁한 다음 100 μ g/ml의 有絲分裂 物質로 T 림프구를 자극하는 성질이 있는 Concanavalin A(Con A)를 가한 후 37°C CO₂ incubator에서 24 時間 培養한 후 1.

層液을 수거하여 IL-2의 生産量을 測定하였다. 고품상 면역효소 측정법인 Interest-2X kit(Endogen, USA)를 사용하여 IL-2 含量을 ELISA 법으로 測定하였다. 즉, 96 well plate에 試料를 10 μ l 씩 분주하고 덮개를 덮은 후 37 $^{\circ}$ C에서 40 分間 Incubator에서 培養하였다. 培養 후 培養液을 除去하고 洗滌用 培地로 4번 洗滌하고 paper towel로 液體를 除去하였다. 다시 각 well에 streptavidin-peroxidase를 100 μ l 씩 분주한 뒤 다시 37 $^{\circ}$ C에서 25分間 Incubation하였다. 反應 溶液을 除去한 다음 각 well에 substrate mix를 100 μ l 씩 분주하고 10分間 incubation시켰다. 여기에 反應停止 溶液을 100 μ l 씩 가한 다음 450nm에서 吸光度를 測定하였다.

(8) 脾臟內 免疫細胞에 대한 影響

Mouse로부터 얻은 脾臟細胞를 稀釋한 다음 1,500rpm으로 遠心分離하여 얻은 沈澱物을 PBS buffer에 1 \times 10⁷ cell/ml이 되도록 再懸濁하였다. 이 懸濁液 200 μ l를 취하고, 여기에 10 μ l의 FITC conjugated rat anti mouse CD+ 抗體 稀釋液 (10 μ l FITC+90 μ l FACS staining media)을 가하였다. 冷蔵狀態에서 1 時間 동안 反應시킨 후 4,000 rpm으로 3 分間 遠心分離하여 沈澱을 얻었다. 이 沈澱을 다시 100 μ l의 FACS fixing solution에 再懸濁시킨 후 FACS를 利用하여 細胞의 分布를 測定하였다.

4) 統計處理

통계는 Student's t-test³³⁾에 의해 처리하였다.

III. 成績

1. Sarcoma 180(S 180)에 미치는 影響

1) 體重 變化

總 30日 동안 각 群의 마우스의 體重을 觀察한

結果, 正常群과 對照群은 各各 33.2 \pm 0.84, 27.1 \pm 3.89g이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 30.4 \pm 2.07 및 28.66 \pm 2.58g으로 나타나 對照群은 正常群에 비하여 體重이 減少된 傾向을 나타내었고, 高濃度 複合藥鍼群과 低濃度 複合藥鍼群 모두에서 對照群에 비하여 體重이 增加되는 傾向을 보였으나 有意성은 없었다 (Table 1.).

Table 1. Effect of SAO on Change of Body Weight in Mice

| Group | Body Weight(g) |
|--------|-------------------------------|
| Normal | 33.2 \pm 0.84 ^{a)} |
| TC | 27.1 \pm 3.89 |
| SAOH | 30.4 \pm 2.07 |
| SAOL | 28.66 \pm 2.58 |

a) Mean \pm Standard deviation

Normal: Normal mouse

TC: Tumor bearing mouse, Control, Non-Herbal Acupuncture Group

SAO: Herbal acupuncture solution made from Scutellariae Barbatae Herba, Alli bulbus, Oldenlandiae Herba by decoction

SAOH: High Concentration- SAO Herbal Acupuncture Group; SAO was injected on left and right Chok-samni (ST36) of tumor bearing mouse alternatively, by 200mg/kg once a day for a month.

SAOL: Low Concentration- SAO Herbal Acupuncture Group; SAO was injected on left and right Chok-samni (ST36) of tumor bearing mouse alternatively, by 100mg/kg once a day for a month.

2) S 180에 미치는 影響

固形癌의 무게를 測定한 結果, 對照群에서는 612.8 \pm 145.3 mg, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群에서는 各各 357.2 \pm 65.3 및 335.2 \pm 102.9 mg으로 나타나 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群에서는 有意한(P<0.05) 減少를 나타내었고, 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群에서는 對照群에 비하여 減少하는 傾向을

보였으나 有意性은 없었다(Table 2.).

Table 2. Effect of SAO on solid Tumor Growth in Mice

| Group | Tumor Weight(mg) |
|-------|-----------------------------|
| TC | 612.8 ± 145.3 ^{a)} |
| SAOH | 357.2 ± 65.3 [*] |
| SAOL | 335.2 ± 102.9 |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

*: p<0.05 vs TC by Student's t-test

3) 臟器 무게에 미치는 影響

實驗 最終日 마우스의 臟器를 摘出하여 무게를 測定해 본 結果, 正常群, 對照群은 肝臟의 무게에서 各各 1692±94.2, 1853±231.5mg, 腎臟의 무게에서 各各 238.4±40.3, 245.4±16.1mg, 脾臟의 무게에서 各各 171.8±36.6, 211.4±46.7mg, 心臟의 무게에서 各各 937.3±72.1, 978.3±40.4mg이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 肝臟의 무게에서 各各 1660±213.8 및 1701±179.8mg, 腎臟의 무게에서 各各 298.0±33.9 및 254.0±15.7mg, 脾臟의 무게에서 各各 199.4±48.3 및 177.4±17.9mg, 心臟의 무게에서 各各 977.5±23.4 및 971.5±130.5mg으로 나타나 肝臟, 脾臟, 心臟의 무게에서 對照群은 正常群에 비하여 그 무게가 모두 增加하였고, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 減少하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었으며, 腎臟의 무게에서 對照群은 正常群에 비하여 그 무게가 增加하였고, 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 有意한(p<0.05) 增加를 나타내었으며, 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 增加하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었다(Table 3.).

Table 3. Effect of SAO on Organ Weight in Mice

| Group | Liver (mg) | Kidney (mg) | Spleen (mg) | Heart (mg) |
|--------|-------------------------|-------------------------|-------------|-------------|
| Normal | 1619±94.2 ^{a)} | 238.4±40.3 | 171.8±36.6 | 937.3±72.1 |
| TC | 1853±231.5 | 245.4±16.1 | 211.4±46.7 | 978.3±40.4 |
| SAOH | 1660±213.8 | 298.0±33.9 [*] | 199.4±48.3 | 977.5±23.4 |
| SAOL | 1701±179.8 | 254.0±15.7 | 177.4±17.9 | 971.5±130.5 |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

*: p<0.05 vs TC by Student's t-test

2. 免疫反應에 미치는 影響

1) 大食細胞 活性化에 미치는 影響

(1) In vivo

大食細胞로부터 分泌되는 acid phosphatase 量을 測定하여 大食細胞 活性化에 대한 影響을 살펴 본 結果, 正常群, 對照群은 各各 1.84±0.13, 1.30±0.14 O.D.이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 1.10±0.15 및 2.16±0.18 O.D.로 나타나 對照群은 正常群에 비하여 大食細胞의 活性이 減少되었고, 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 大食細胞 活性의 有意한(P<0.01) 增加를 나타내었으며, 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 減少하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었다(Table 4.).

Table 4. Effect of SAO on Acid Phosphatase Activity from Macrophages

| Group | Acid Phosphatase Activity ^{a)} |
|--------|---|
| Normal | 1.84±0.13 ^{b)} |
| TC | 1.30±0.14 |
| SAOH | 1.10±0.15 |
| SAOL | 2.16±0.18 ^{**} |

a) Acid Phosphatase Activity(p-nitrophenol μmol/10 cell /60 min)
= 1.15 × O.D. at 450 nm

b) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

** : p<0.01 vs TC by Student's t-test

(2) In vitro

半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼液을 各各 200, 500 μ g/ml 含有한 細胞 培養液에서 S 180 癌細胞를 72 時間 培養한 후 活性化된 大食細胞로부터 分泌된 acid phosphatase 量을 測定하여 大食細胞 活性化에 대한 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼液의 影響을 살펴 본 結果, 正常群, 對照群은 各各 1.78 \pm 0.16, 1.32 \pm 0.07 O.D.이었으며, 高濃度 및 低濃度 複合藥鍼群은 各各 1.32 \pm 0.10 및 1.33 \pm 0.09 O.D.로 나타나 對照群은 正常群에 비하여 大食細胞의 活性이 減少되었고, 高濃度 및 低濃度 複合藥鍼群 모두에서는 活性이 增加된 傾向을 보였으나 有意성은 없었다(Table 5.).

Table 5. In vitro Effect of SAO on Acid Phosphatase Activity from Macrophages

| Group | Acid Phosphatase Activity ^{a)} |
|--------|---|
| Normal | 1.78 \pm 0.16 ^{b)} |
| TC | 1.32 \pm 0.07 |
| SAOH | 1.32 \pm 0.10 |
| SAOL | 1.33 \pm 0.09 |

a) Acid Phosphatase Activity(p-nitrophenol μ mol/10 cell /60 min)
= 1.15 \times O.D. at 450 nm

b) Mean \pm Standard deviation

Normal : Normal macrophage

TC : Macrophage of Tumor bearing mouse, Control

SAO : Herbal acupuncture solution made from Scutellariae Barbatae Herba, Alli bulbis, Oldenlandiae Herba by decoction

SAOH : Tumor Macrophage + SAO 500 μ g/ml

SAOL : Tumor Macrophage + SAO 200 μ g/ml

2) B 림프구 活性化에 미치는 影響

(1) In vivo

B 림프구 分化時 細胞 表面에 發顯되는 alkaline

phosphatase의 量을 測定하여 B 細胞의 活性에 대한 影響을 살펴본 結果, 正常群, 對照群은 各各 0.84 \pm 0.11, 1.05 \pm 0.10 O.D.이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 0.89 \pm 0.17 및 0.94 \pm 0.13 O.D.로 나타나 正常群에 비하여 對照群의 B 細胞 活性은 增加하였고, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두에서 B 細胞 活性은 對照群에 비하여 減少하는 傾向을 보였으나 有意성은 없었다(Table 6.).

Table 6. Effect of SAO on Alkaline Phosphatase Activity from B Lymphocytes

| Group | Alkaline Phosphatase Activity(O.D. 500nm) |
|--------|---|
| Normal | 0.84 \pm 0.11 ^{a)} |
| TC | 1.05 \pm 0.10 |
| SAOH | 0.89 \pm 0.17 |
| SAOL | 0.94 \pm 0.13 |

a) Mean \pm Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

(2) In vitro

半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼液을 各各 200, 500 μ g/ml 含有한 細胞 培養液에서 S 180 마우스로부터 分離한 B 림프구를 72 時間 培養한 후 B 림프구가 分化時 細胞 表面에 發顯되는 alkaline phosphatase의 量을 測定하여 B 細胞의 活性을 살펴 본 結果, 對照群은 1.32 \pm 0.07 O.D.이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 1.43 \pm 0.11 및 1.65 \pm 0.15 O.D.로 나타나 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群의 B 細胞 活性은 對照群에 비하여 有意한 增加(P<0.01)를 나타내었고, 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群의 B 細胞 活性은 對照群에 비하여 增加하는 傾向을 보였으나 有意성은 없었다(Table 7.).

Table 7. In vitro effect of SAO on Alkaline Phosphatase Activity from B Lymphocytes

| Group | Alkaline Phosphatase Activity(O.D. 500nm) |
|-------|---|
| TC | 1.32 ± 0.07 ^{a)} |
| SAOH | 1.43 ± 0.11 |
| SAOL | 1.65 ± 0.15 ^{**} |

a) Mean ± Standard deviation

TC: B Lymphocyte of Tumor bearing mouse, Control

SAO: Herbal acupuncture solution made from Scutellariae Barbatae Herba, Alli bulbos, Oldenlandiae Herba by decoction

SAOH: Tumor B Lymphocyte + SAO 500 µg/ml

SAOL: Tumor B Lymphocyte + SAO 200 µg/ml

** : p<0.01 vs TC by Student's t-test

3) 大食細胞의 脾臟細胞 分裂能에 미치는 影響

(1) Con A로 誘發된 脾臟細胞 分裂에 미치는 影響

Con A로 誘發된 脾臟細胞 分裂에 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼이 미치는 影響을 H³-thymidine 吸收量으로 DNA 生産 程度를 評價해 본 結果, 正常群, 對照群은 各各 7.18±0.86, 5.84±0.30 (×10³ cpm)이였으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 6.02±0.34 및 6.14±0.45 (×10³ cpm)으로 나타나 正常群에 비하여 對照群은 H³-thymidine 吸收量이 減少하였고, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 增加하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었다(Table 8.).

Table 8. Effect of SAO on the Con A induced Splenocytes Proliferation

| Group | H ³ -thymidine Uptake(×10 ³ cpm) |
|--------|--|
| Normal | 7.18±0.86 ^{a)} |
| TC | 5.84±0.30 |
| SAOH | 6.02±0.34 |
| SAOL | 6.14±0.45 |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

(2) 大食細胞가 脾臟細胞의 分裂에 미치는 影響

大食細胞에 의하여 誘發된 脾臟細胞의 分裂에 미치는 影響을 H³-thymidine uptake로 DNA 生産 程度를 評價해 본 結果, 正常群, 對照群은 各各 8.06 ±0.86, 6.57±0.81 (×10³cpm)이였으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 7.57±0.56 및 7.87±0.78 (×10³cpm)으로 나타나 H³-thymidine 吸收量은 對照群에서 正常群에 비하여 減少하였으며, 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 吸收量의 有意한(P<0.05)增加를 나타내었고, 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 吸收量이 增加하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었다(Table 9.).

Table 9. Effect of SAO on Proliferation of SNAC in the presence of PEC from Mice

| Group | H ³ -thymidine Uptake(×10 ³ cpm) |
|--------|--|
| Normal | 8.06±0.86 ^{a)} |
| TC | 6.57±0.81 |
| SAOH | 7.57±0.56 |
| SAOL | 7.87±0.78 [*] |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

* : P<0.05 vs TC by Student's t-test

(3) In vitro에서 大食細胞가 脾臟細胞의 分裂에 미치는 影響

正常 마우스에서 分離한 大食細胞와 脾臟細胞의 懸濁液에 各各 200, 500µg/ml의 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼液을 가하고 72時間 混合 培養한 후 大食細胞에 의하여 誘發된 脾臟細胞의 分裂에 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 藥鍼이 미치는 影響을 H³-thymidine uptake로 DNA 生産 程度를 評價해 본 結果, 對照群은 8.33±0.63 (×10³cpm)이였으며, 高濃度 및 低濃度 複合藥鍼群은 各各 8.00±0.52 및 8.65±0.76 (×10³cpm)으로 나타나 高濃度 複合藥鍼群의 H³-thymidine 吸收量은 對照群에 비하

여 減少하는 傾向을, 低濃度 複合藥鍼群의 吸收量은 對照群에 비하여 增加하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었다(Table 10.).

Table 10. In vitro Effect of SAO on Proliferation of SNAC in the presence of PEC from Mice

| Group | H ³ -thymidine Uptake(×10 ³ cpm) |
|-------|--|
| TC | 8.33±0.63 ^{a)} |
| SAOH | 8.00±0.52 |
| SAOL | 8.65±0.76 |

a) Mean ± Standard deviation

TC : SNAC +PEC of Tumor bearing mouse

SAO : Herbal acupuncture solution made from Scutellariae Barbatae Herba, Alli bulbus, Oldenlandiae Herba by decoction

SAOH : SNAC + PEC of Tumor bearing mouse + SAO 500 μg/ml

SAOL : SNAC + PEC of Tumor bearing mouse + SAO 200 μg/ml

4) IL-2의 生産量 增加에 관한 研究

(1) In vivo

IL-2의 生産量을 觀察한 結果, 正常群, 對照群은 各各 3.28±0.23, 2.08±0.19ng/ml이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 2.57±0.18 및 2.41±0.24ng/ml로 나타나 對照群은 正常群에 비하여 IL-2의 生産量이 減少하

Table 11. Effect of SAO on IL-2 Production in Splenocytes

| Group | IL-2 Production(ng/ml) |
|--------|-------------------------|
| Normal | 3.28±0.23 ^{a)} |
| TC | 2.08±0.19 |
| SAOH | 2.57±0.18* |
| SAOL | 2.41±0.24 |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

*: p<0.05 vs TC by Student's t-test

였고, 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 生産量의 有意한(p<0.05) 增加를 나타내었으며, 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 生産量이 增加하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었다 (Table 11.).

(2) In vitro

S 180 마우스로부터 分離한 脾臟細胞에 各各 100, 200μg/ml의 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼液을 72 時間 동안 함께 培養한 후 IL-2의 生産量을 觀察한 結果, 正常群, 對照群은 各各 2.92±0.31, 2.01±0.21ng/ml이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 1.92±0.23 및 1.99±0.23ng/ml로 나타나 對照群은 正常群에 비하여 生産量이 減少되었고, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 모두 對照群에 비하여 生産量이 增加하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었다(Table 12.).

Table 12. In vitro Effect of SAO on IL-2 Production in Splenocytes

| Group | IL-2 Production(ng/ml) |
|--------|-------------------------|
| Normal | 2.92±0.31 ^{a)} |
| TC | 2.01±0.21 |
| SAOH | 1.99±0.23 |
| SAOL | 1.92±0.23 |

a) Mean ± Standard deviation

Normal : Normal splenocyte

TC : Splenocyte of Tumor bearing mouse

SAO : Herbal acupuncture solution made from Scutellariae Barbatae Herba, Alli bulbus, Oldenlandiae Herba by decoction

SAOH : Splenocyte of Tumor bearing mouse + SAO 500μg/ml

SAOL : Splenocyte of Tumor bearing mouse + SAO 200μg/ml

5) 脾臟內 免疫 細胞에 미치는 影響

(1) CD3+ T 細胞에 미치는 影響

分離된 脾臟細胞 中 CD3+T 細胞의 母集團에

미치는 影響을 살펴본 결과, 正常群, 對照群은 各各 28.38±4.19, 22.27±2.51%이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 27.61±2.49 및 20.82±4.56%로 나타나 對照群은 正常群에 비하여 CD3+T 細胞의 母集團이 減少하였고, 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 有意한(p<0.05) 增加를 나타내었고, 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 母集團이 增加하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었다(Table 13.).

Table 13. Effect of SAO on CD3+ Cell Population in Splenocytes

| Group | CD3+ Cell Population(%) |
|--------|--------------------------|
| Normal | 28.38±4.19 ^{a)} |
| TC | 22.27±2.51 |
| SAOH | 27.61±2.49 [*] |
| SAOL | 20.82±4.56 |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

*: p<0.05 vs TC by Student's t-test

(2) CD4+ T 細胞에 미치는 영향

分離된 脾臟細胞 中 CD4+T 細胞의 母集團에 미치는 影響을 살펴본 결과, 正常群, 對照群은 各各 18.05±1.26, 13.28±0.93%이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 19.56±1.43 및 17.30±1.21%로 나타나 對照

Table 14. Effect of SAO on CD4+ Cell Population in Splenocytes

| Group | CD4+ Cell Population(%) |
|--------|--------------------------|
| Normal | 18.05±1.26 ^{a)} |
| TC | 13.28±0.93 |
| SAOH | 19.56±1.43 [*] |
| SAOL | 17.30±1.21 [*] |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

*: p<0.05 vs TC by Student's t-test

群은 正常群에 비하여 CD4+T 細胞의 母集團이 減少하였고, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두는 對照群에 비하여 母集團의 有意한(P<0.05) 增加를 나타내었다(Table 14.).

(3) CD3+와 CD4+ T 細胞에 미치는 영향

分離된 脾臟細胞 中 CD3+와 CD4+T 細胞의 母集團에 미치는 影響을 살펴본 결과, 正常群, 對照群은 各各 9.48±0.45, 9.43±0.65%이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 11.72±0.89 및 8.62±0.84%로 나타나 對照群은 正常群에 비하여 CD3+와 CD4+T 細胞의 母集團이 減少하였고, 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 母集團의 有意한(p<0.01) 增加를 나타내었으며, 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 減少하는 傾向을 보였으나 有意性은 없었다(Table 15.).

Table 15. Effect of SAO on CD3+CD4+T Cell Population in Splenocytes

| Group | CD3+CD4+T Cell Population(%) |
|--------|------------------------------|
| Normal | 9.48±0.45 ^{a)} |
| TC | 9.43±0.65 |
| SAOH | 11.72±0.89 ^{**} |
| SAOL | 8.62±0.84 |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

*: p<0.01 vs TC by Student's t-test

(4) CD8+T 細胞에 미치는 影響

分離된 脾臟細胞 中 CD8+T 細胞의 母集團에 미치는 影響을 살펴본 결과, 正常群, 對照群은 各各 17.44±1.26, 13.68±1.07%이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 15.36±1.41 및 17.82±1.65%로 나타나 對照群은 正常群에 비하여 CD8+T 세포의 母集團이 減少하였고, 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥

鍼群은 CD8+T 세포의 母集團의 有意한(p<0.05) 増加를 나타내었고, 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 比하여 CD8+T 세포의 母集團이 増加하는 傾向을 보였으나 有意성은 없었다(Table 16.).

Table 16. Effect of SAO on CD8+T Cell Population in Splenocytes

| Group | CD8+T cell population(%) |
|--------|--------------------------|
| Normal | 17.44±1.26 ^{a)} |
| TC | 13.68±1.07 |
| SAOH | 15.36±1.41 |
| SAOL | 17.82±1.65 [*] |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

* : p<0.05 vs TC by Student's t-test

(5) CD3+와 CD8+T 細胞에 미치는 影響

分離된 脾臟細胞 中 CD3+와 CD8+T 細胞의 母集團에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群, 對照群은 各各 10.70±1.15, 8.55±1.48%이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 10.85±1.50 및 11.36±1.36%로 나타나 對照群은 正常群에 比하여 CD3+와 CD8+T 세포의 母集團이 減少하였고, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 母集團이 모두 對照群에 比하여 増加하는 傾向을 보였으나 有意성은 없었다(Table 17.).

Table 17. Effect of SAO on CD3+CD8+T Cell Population in Splenocytes

| Group | CD3+CD8+T Cell Population(%) |
|--------|------------------------------|
| Normal | 10.70±1.15 ^{a)} |
| TC | 8.55±1.48 |
| SAOH | 10.85±1.50 |
| SAOL | 11.36±1.36 |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

(6) B 細胞에 미치는 影響

分離된 脾臟細胞 中 B 細胞의 母集團에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群, 對照群은 各各 55.98±3.93, 61.58±3.86%이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 53.32±2.98 및 48.86±3.91%로 나타나 對照群은 正常群에 比하여 増加하였고, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두에서 對照群에 比하여 B 細胞 母集團의 有意한(p<0.05, p<0.01)減少를 나타내었다(Table 18.).

Table 18. Effect of SAO on B Cell Population in Splenocytes

| Group | B Cell Population(%) |
|--------|--------------------------|
| Normal | 55.98±3.93 ^{a)} |
| TC | 61.58±3.86 |
| SAOH | 53.32±2.98 [*] |
| SAOL | 48.86±3.91 ^{**} |

a) Mean ± Standard Deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

* : p<0.05, ** : P<0.01 vs TC by Student's t-test

(7) Mac 3 positive 細胞에 미치는 影響

分離된 脾臟細胞 中 Mac 3+ 細胞의 母集團에 미치는 影響을 살펴본 結果, 正常群, 對照群은 各各 6.25±0.68, 4.12±0.80%이었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 各各 4.84±1.26 및 4.15±0.96%로 나타나 對照群은 正

Table 19. Effect of SAO on Mac3 positive Cell Population in Splenocytes

| Group | Mac3 positive Cell Population(%) |
|--------|----------------------------------|
| Normal | 6.25±0.68 ^{a)} |
| TC | 4.12±0.80 |
| SAOH | 4.84±1.26 |
| SAOL | 4.15±0.96 |

a) Mean ± Standard deviation

Abbreviations of the groups-Refer to Table 1.

常群에 비하여 減少하였고, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두에서 Mac 3+ 細胞 母集團이 對照群에 비하여 增加하는 傾向을 보였으나 有意성은 없었다(Table 19.).

IV. 考 察

免疫反應은 非自己를 抗原으로 認識하고 特異하게 抗體를 生産하여 이에 對處하고 處理하는 連鎖的反應으로 大食細胞, 림프구, 中性球 등의 免疫細胞와 抗體, 補體 등이 주로 關與한다³⁴⁾.

腫瘍 免疫에 대한 研究에 있어서는 Ehrlich³⁵⁾가 細胞의 分化 過程에서 正常이 아닌 細胞도 出現하지만 生體의 自然 免疫 構成이 이러한 異常細胞의 成長을 調節하고 있다고 假定한 이래, Burnet³⁶⁾가 免疫監視(immune surveillance)의 概念을 定立하면서 免疫學的 監視機構의 中心인 감작 T 細胞가 癌免疫의 主役이라고 생각하였으며, 이는 腫瘍免疫의 存在를 확실하게 하였다. Shimokawara³⁷⁾는 免疫 組織學의 方法을 利用하여 乳癌 組織에 侵犯한 림프구는 주로 T 림프구이며, 이것은 癌 進行의 豫後에 重要한 因子가 될 것으로 指摘하였고, 癌患者의 宿主 抵抗性은 림프구의 免疫機構, 특히 細胞性 免疫能이 주로 關與하고 있으며, 그 중에서도 T 細胞의 動態가 重要한 役割을 한다고 하였다.

이러한 研究을 바탕으로 腫瘍免疫은 體液性 免疫도 關여하지만 細胞性 免疫이 더 重要한 役割을 하며, 腫瘍 組織內에서 볼 수 있는 림프구의 浸潤은 腫瘍 抗原에 대한 患者의 細胞性 免疫反應의 結果로 解釋될 수 있다고 보았고, 近來에는 癌患者의 細胞性 免疫反應 能力에 대한 理解의 增加와 더불어 細胞性 免疫反應 能力의 程度가 癌의 發生, 進行程度, 臨床 經過 및 豫後와 關聯이 있음을 알게되어, 이를 評價하는 免疫學的 方法이 활발히 研究되어 왔다³⁸⁾.

腫瘍 免疫反應에서 細胞性 免疫反應은 T 림프구

외에도 生體의 가장 重要한 免疫 擔當 細胞인 大食細胞의 活性에 의하여 決定된다. 大食細胞는 림프구와는 달리 癌의 抗原性에 대한 認識이 不可能한 대신 非特異的인 여러 種類의 腫瘍細胞를 攻擊할 수 있는 特徵이 있어서 癌治療 中에 出現하는 抗癌劑 또는 放射線耐性이 된 腫瘍 또는 轉移癌까지도 攻擊하는 腫瘍 免疫에서 重要한 細胞로 알려져 있다³⁹⁾.

韓醫學의인 免疫의 概念은 《素問》〈刺法論〉의 “正氣存內, 邪不可干”, 〈上古天眞論〉의 “眞氣從之, 精神內守, 病安從來”, 〈平熱病論〉의 “邪氣所湊, 其氣必虛”, 《靈樞》〈口問篇〉의 “邪氣所在, 皆爲不足”, 〈百病始生篇〉의 “風雨寒熱不得虛, 邪不能獨傷人” 등에 나타나 있으며, 이 들은 疾病의 發生 및 進行을 正邪抗爭의 過程으로 認識하고 人體에 發生하는 疾病의 原因을 正氣가 虛弱함으로 看做하였다. 즉, 正氣는 人體 內에서 一切의 疾病에 抵抗하는 免疫과 類似한 概念으로 邪氣는 一切의 疾病을 일으키는 原因要素의 總稱으로 보아, 疾病을 豫防하고 健康한 狀態를 維持함에 있어서 가장 重要한 것은 正氣를 調養하는 것이라고 하였다. 또한, 疾病은 陰陽이 偏盛偏衰한 不調和의 狀態이므로 일단 疾病이 發生하면 廣義의 調氣治神의 의미에 해당되는, 人體 臟腑機能의 陰陽 偏盛偏衰 狀態를 協調平衡의 狀態로 調整하는 鍼灸의 作用에 의해 不足한 虛證에는 쇠퇴한 臟腑機能을 증강하고 有餘한 實證에는 亢進한 臟腑機能을 억제함으로써 免疫을 調整하여 疾病을 治療하였다^{30), 4)}.

足三里(ST36)는 足陽明胃經의 合土穴이고, 回陽九鍼穴, 六腑下合穴, 四總穴, 中風七處穴 중의 하나로 임상적으로 많이 활용되며 理脾胃, 升降氣機, 通調經絡, 調和氣血, 扶正培元, 祛邪防病하는 穴性으로 免疫을 調整하고 全身을 強壯시키는 要穴로서 廣範圍한 主治 範圍를 갖는다^{30), 31)}고 잘 알려져 있어, 癌에 대한 抗癌效果 및 免疫反應에 미치는 影響을 究明하는 研究에서 많이 活用된다.

본 研究에서 取穴은 臑⁴⁰⁾이 마우스의 膝關節後外側의 腓骨小頭下 約 5mm에 穴이 위치하며, 解剖學的으로는 脛腓骨사이로, 皮下에는 腓骨筋, 腓骨神經 및 脛骨 前 動靜脈이 分布하며 刺鍼은 물론 施灸도

가하다고 하여 마우스에 많이 活用한, 人體의 足三里에 해당하는 後三里를 選擇하여 直刺로 약 7mm 정도 刺入하였다.

大蒜(Alli bulbos)²⁹⁾은 百合科 식물인 마늘의 비늘줄기로 性味는 辛溫하며, 脾, 胃, 肺經에 들어가서 行滯氣하고 暖脾胃하며 消癥積하고 解毒하며 寄生蟲을 죽이며 抗腫瘍의 效能이 있어 飲食積滯, 脘腹冷痛, 水腫脹滿, 泄瀉, 痢疾, 瘡疾, 百日咳, 癰疽腫毒, 白禿癬瘡, 뱀이나 벌레에 물린 상처를 治療한다.

半枝蓮(Scutellariae Barbatae Herba)²⁹⁾은 꿀풀과 植物 半枝蓮의 全草로 性味가 辛, 平, 無毒하고, 熱을 내리고 解毒하며 瘀血을 제거하고 止血, 鎮痛, 消腫解毒하여 瘡瘍, 毒蛇咬傷, 肺癰, 打撲損傷으로 인한 出血, 肝硬化 腹水, 肝腫大, 肝炎을 治療한다.

白花蛇舌草(Oldenlandiae Herba)²⁹⁾는 꼭두서니과 植物인 白花蛇舌草의 뿌리달린 全草로 性味는 苦甘寒하며 心, 肝, 脾經으로 들어가 熱을 내리고 濕을 除去하고 解毒하며 抗腫瘍의 效能이 있어 肺炎, 扁桃腺炎, 咽喉炎, 虫垂炎, 痢疾, 黃疸, 骨盤炎, 附屬器炎, 부스럼, 毒蛇咬傷을 治療한다.

藥鍼을 통한 抗腫瘍과 免疫에 대한 最近 實驗研究로는 枸杞子 및 地骨皮⁷⁾, 猪苓⁸⁾, 瓦松⁹⁾, 覆盆子¹⁰⁾, 肉蓯蓉¹¹⁾, 艾葉¹²⁾, 菟絲子¹³⁾, 益智仁¹⁴⁾, 蜂毒¹⁵⁾, 魚腥草¹⁶⁾ 등 다양한 報告가 있었다.

본 研究에서는 半枝蓮, 大蒜, 白花蛇舌草가 經口 投與로는 腫瘍과 免疫에 관련된 實驗 報告¹⁸⁾⁻²⁸⁾가 있었으나 藥鍼 研究에 使用된 境遇가 없다는 점을 勘案하고, 鍼, 足三里와 半枝蓮, 大蒜, 白花蛇舌草의 免疫調整機能과 抗癌作用을 함께 利用하여 半枝蓮, 大蒜, 白花蛇舌草가 足三里를 통하여 經脈과 藏府에 미치는 影響도 究明하려는 의도에서 半枝蓮, 大蒜, 白花蛇舌草로 複合藥鍼液을 製造하고, S 180으로 腫瘍이 유발된 ICR계 마우스의 足三里에 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼하여, 癌細胞 및 T 細胞를 中心으로 B細胞, 大食細胞, IL-2등이 관련된 細胞性 免疫機能에 미치는 影響에 대해 研究하였다.

癌과 免疫의 병태모델에서 體重은 對照群이 正常群에 비하여 減少하였는데 이는 癌誘發에 의한 것으로 思慮된다. 固形癌은 平均 612mg이 形成되었으며, 大食細胞 活性, 脾臟細胞 分裂能, IL-2 生産量, T 細胞 및 B 細胞 母集團에서 對照群이 正常群에 비하여 減少하는 傾向을 나타내었는데, 이는 癌誘發로 인해 免疫이 抑制되었음을 示唆한다.

固形癌의 무게 變化에서 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 有意한 減少를 나타내었으며, 이는 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 藥鍼이 高濃度에서 抗癌 效果가 있음을 의미한다. 實驗 最終日 臟器 무게의 測定에서 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 腎臟 무게의 有意한 增加를 나타내었으며, 이는 藥物의 腎臟毒性에 의한 結果로 判斷되므로 安定性에 대한 研究가 進行되어야 할 것으로 思慮된다.

生體內 大食細胞의 活性에서 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 acid phosphatase 活性의 有意한 增加를 나타내었고, 試驗管内 大食細胞의 活性에서 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두는 acid phosphatase 活性이 增加되는 傾向을 나타내었다. 細胞性 免疫反應은 生體의 가장 중요한 免疫 擔當細胞 중 하나인 大食細胞의 活性에 의하여 결정되므로, 이는 大食細胞의 活性이 높아져 細胞性 免疫反應이 增強되었음을 의미한다.

生體內 B 細胞의 活性에서 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두는 對照群에 비하여 alkaline phosphatase의 活性이 減少하는 傾向을 나타내었고, 試驗管内 B 細胞의 活性에서 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 alkaline phosphatase 活性의 有意한 增加를 나타내었으며, 이는 B 細胞가 活性化 되었음을 의미한다.

有絲分裂 物質로, T 세포를 刺戟하는 Con A에 의해 誘發된 脾臟細胞의 分裂에서 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두는 對照

群에 비하여 H^3 -thymidine 吸收量이 增加하는 傾向을 나타내었고, 生體內 大食細胞에 의해 誘發된 脾臟細胞의 分裂에서 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 H^3 -thymidine 吸收量의 有意한 增加를 나타내었으며, 試驗管內 大食細胞에 의해 誘發된 脾臟細胞의 分裂에서 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 H^3 -thymidine 吸收量이 增加하는 傾向을 나타내었다. 이는 脾臟細胞의 分裂能이 增加하여 免疫反應이 增強되었음을 의미한다.

生體內 IL-2의 生産量에서 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 有意한 增加를 나타내었고, 試驗管內에서 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두는 對照群에 비하여 減少하는 傾向을 나타내었다. IL-2의 生産이 增加함은 T 세포가 增殖되어 免疫이 增強되었음을 의미한다.

免疫 細胞에 대해서, 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群의 CD3+, CD4+, CD3+와 CD4+T 細胞의 母集團 과 B 細胞의 母集團은 各各 對照群에 비하여 有意한 增加를 나타내었고, 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群의 CD4+, CD8+T 細胞와 B 細胞의 母集團은 各各 對照群에 비하여 有意한 增加를 나타내었으나, 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群의 CD3+와 CD8+T 細胞와 Mac3+의 母集團은 對照群에 비하여 有意한 變動을 나타내지 않았으며, 이는 對照群의 癌으로 誘發된 免疫抑制 狀態가 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 藥鍼을 한 후 免疫이 增強되었음을 의미한다.

以上の 結果로 보아 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 藥鍼이 抗癌 및 免疫 增強 效果가 認定되어 臨床的으로 癌治療에 應用될 수 있을 것으로 기대되며, 많은 實驗의 研究와 臨床的 研究가 필요할 것으로 思慮된다.

V. 結論

ICR계 마우스에 S 180으로 腫瘍을 誘發한 후 足三里에 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼하고, 癌細胞 및 T 細胞를 中心으로 B細胞, 大食細胞, IL-2등이 관련된 細胞性 免疫機能에 미치는 影響을 觀察하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 體重에서 有意한 變動은 없었고, 固形癌의 무게에서 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群이 對照群에 비하여 有意한 減少를 나타내었으며, 實驗 最終日 臟器 무게의 測定에서 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群이 對照群에 비하여 腎臟의 무게가 有意한 增加를 나타내었다.

2. 生體內 大食細胞의 活性에서 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群의 acid phosphatase 活性이 對照群에 비하여 有意한 增加를 나타내었고, 試驗管內에서 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두는 acid phosphatase 活性이 增加하는 傾向을 나타내었다.

3. 生體內 B 細胞의 活性에서 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두는 alkaline phosphatase의 活性이 對照群에 비하여 減少하는 傾向을 나타내었고, 試驗管內에서 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 alkaline phosphatase 活性이 有意한 增加를 나타내었다.

4. Concanavalin A에 의해 誘發된 脾臟細胞의 分裂에서 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두는 對照群에 비하여 H^3 -thymidine 吸收量이 增加하는 傾向을 나타내었고, 生體內 大食細胞에 의해 誘發된 脾臟細胞의 分裂에서 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 H^3 -thymidine 吸收量의 有意한 增加를 나타내었

며, 試驗管内 大食細胞에 의해 誘發된 脾臟細胞의 分裂에서 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 增加하는 傾向을 보였으나, 有意性은 없었다.

5. 生體內 IL-2의 生産量에서 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 有意한 증가를 나타내었고, 試驗管内에서 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群은 對照群에 비하여 減少하는 傾向을 나타내었다.

6. 림프구의 母集團에서 高濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群의 CD3+, CD4+, CD3+와 CD4+T 細胞의 母集團 과 B 細胞의 母集團은 各各 對照群에 비하여 有意한 增加를 나타내었고, 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群의 CD4+, CD8+T 細胞와 B 細胞의 母集團은 各各 對照群에 비하여 有意한 增加를 나타내었으며, 高濃度 및 低濃度 半枝蓮·大蒜·白花蛇舌草 複合藥鍼群 모두의 CD3+와 CD8+T細胞와 Mac3+細胞의 母集團은 對照群에 비하여 有意한 變動을 나타내지 않았다.

VI. 參考文獻

- 해리슨번역편찬위원회 : HARRISON'S 내과학, 도서 출판 정담, 1997, pp.1963-1967.
- 최승훈 : 동의종양학, 행림출판, 1995, pp. 37-38, 85-87.
- 史蘭華 : 古代文獻對癌症命名的探討, 山東中醫學院學報, 17(5): 49-51, 1993.
- 전병욱, 류봉하, 박동원, 유기원 : 종양의 병인 병리에 대한 문헌적 고찰, 대한한방종양학회지, 1(1):83-101, 1995.
- 顧伯康 外 : 中醫外科學, 人民衛生出版社, 1987, pp.203-210.
- 김현아, 임성우, 이원철 : 한약을 이용한 항암 실험연구의 경향에 관한 고찰, 대한한방종양학회지, 4(1):211-232, 1998.
- 최종호; 구기자 및 지골피약침이 종양 및 면역에 미치는 영향, 대전대학교대학원 박사학위논문, 1996.
- 서범석 : 저령약침이 S-180에 대한 항종양효과와 면역반응에 미치는 영향, 대전대학교대학원 박사학위논문, 1995.
- 이정화 : 와송약침의 항암작용 및 면역효과에 대한 실험적 연구, 대전대학교대학원 박사학위논문, 1999.
- 이선희 : 항암 및 면역효과에 복분자 약침이 미치는 영향, 대전대학교대학원 박사학위논문, 2000.
- 이은용 : 육종용약침의 항암작용 및 면역효과에 미치는 실험적 연구, 대전대학교대학원 박사학위논문, 2000.
- 윤성목 : 애엽 약침액의 암예방 효과에 미치는 영향, 동국대학교대학원 박사학위논문, 2000.
- 이재복, 이병렬 : 토사자약침의 항암작용 및 면역효과에 대한 실험적 연구, 대한침구학회지, 18(3):94-103, 2001.
- 박상용 : 익지인약침이 항암 및 면역기능에 미치는 실험적 연구, 대한침구학회지, 18(3): 79-93, 2001.
- 권기록 : 봉독약침자극이 3-MCA 유발 상피종에 대한 항암 및 면역반응에 미치는 영향, 대한침구학회지, 11(1): pp.157-172, 1997.
- 배원영 외 : 어성초 약침이 B16 흑색종 암 모델에 대한 항종양효과 및 면역반응에 미치는 영향, 대한 침구학회지, 18(1): pp. 186-201, 2001.
- 조종관 : 한방임상종양학, 주민출판사, 2001, pp.235-239.
- Kyo E., Uda N., Itakura Y. J. : Immunomodulatory effect of aged garlic extract, Nutr, Mar; 131(3S): 1075S-1079S, 2001.

19. Lamm DL., Riggs DR. : The potential application of *Allium sativum*(garlic) for the treatment of Bladder cancer, *Uro Clin North Am*, Feb;27(1):157-162, 2000.
20. Lamm DL, Riggs DR. : Enhanced immunocompetence by garlic:role in bladder cancer and other malignancies, *J Nutr*, Mar;131(3S):1067S-1070S, 2001.
21. Tang Z., Sheng Z., Liu S., Jian X., Sun K., Yan M. : The preventing function of garlic on experimental oral precancer and its effect on natural killer cells, T- lymphocytes and interleukin-2, *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 22(3):246-248, 1997.
22. Feng ZH., Zhang GM., Hao TL., Zhou B., Zhang H., Jiang ZY. : Effect of diallyl trisulfide on activation of T cell and macrophage-mediated cytotoxicity, *J Tongji Med Univ*, 14(3):142-147, 1994.
23. 윤종원 : A study on Inhibitory Effect of the *Scutellaria Barbata* Don Water-extracts on the growth of cancer, 동국대학교대학원 박사학위논문, 1997.
24. 김동일 : Inhibitory effect of the *Scutellaria Barbata* Don Water-extracts on the growth and DNA incorporation of human cancer cells, 동국대학교대학원 박사학위논문, 1997.
25. 서진우, 이태균, 박원환, 김철호, 김동일 : 반지련이 난소암세포(SNU-251)의 성장억제에 미치는 영향, 대한한방부인과학회지, 12(1) : 151-160, 1999.
26. Yun JW. : A Study on inhibitory effect of *Scutellaria barbata* don water-extracts on the growth of cancer, 동국대학교대학원 박사학위논문, 1997.
27. 이윤정, 이태균, 김준기, 김철호, 김동일 : 반지련이 자궁암세포(Hela22918)의 성장억제에 미치는 영향, 대한한방부인과학회지, 12(1): 185-196, 1999.
28. Yoshida Y., Wang MQ., Liu JN., Shan BE., Yamashita U. : Immunomodulating activity of Chinese medicinal herbs and *Oldenlandia diffusa* in particular, *Int J Immunopharmacol*, Jul;19(7):359-370, 1997.
29. 김창민 외 : 중약대사전, 도서출판정담, 1997, pp.1237-1248, 1956-1958, 2254-2256.
30. 최용태 외 : 침구학(상), 집문당, 1998, pp. 382-384.
31. 양갑산 외 : 침구학(상), 지음출판사, 1978, pp.303-305.
32. Suzuki H, Ikemoto M, Kamitani T, Hoshino K, Yano S : Autocytotoxic activity of lymphokine-activated killer cells: characterization of effector cells and susceptible targets, *Anticancer Res*, 9(2):293-7, 1989.
33. Daniel WW : A foundation for analysis in the health sciences, third edition, pp.136-146, 1983.
34. 이연태 : 최신면역학, 집문당, 1985, pp.1-35.
35. Ehrlich, P. : Über die Genese des Carcinomas. In the collected papers of Paul Ehrlich, himmelweit, F, pergamon press.II: 533-562, 1957.
36. Burnet, F.M. : Immunological Surveillance, pergamon press, Newyork, 1970.
37. Shimokawara I, Imamura M, Yamanaka N : Identification of lymphocyte subpopulations in human breast cancer tissue and its significance:An immunoperoxidase

- study with anti T- and B-cell sera, Cancer, 49:1456, 1982.
38. 의학을 쉽게 푸는 모임 면역학팀 : 면역학, 연세대학교 출판부, 1992, pp.1-7.
39. 김용역 ; 암환자의 세포성 면역 변화에 관한 연구, 조선대학교의과대학원, 3p, 1987.
40. 임문주 외 : 실험침구학, 상해과학기술출판사, 1999, p.288.