

## 분심기음의 항암작용 및 면역기능에 관한 연구

여대원, 김진성, 윤상협, 류봉하, 류기원  
경희대학교 한의과대학 비계내과학교실

### Experimental Studies on Antitumor Effect and Immune Responses of Bunsimgieum

Dae-Won Yeo, Jin-Sung Kim, Sang-Hyub Yoon, Bong-Ha Ryu, Ki-Won Ryu

Department of the 3rd Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

This study was performed to investigate the effect of Bunsimgieum on antitumor effect after sarcoma-180 cells transplantation into peritoneal cavity or left groin and immune responses on the depressed immunity induced by methotrexate in mice.

The Bunsimgieum extract of 10mg/kg was orally administered 14 days for antitumor effects and 21 days for immune responses.

50% inhibitory concentration(IC<sub>50</sub>) of SUN-1, SUN-C4, and SUN-396 cancer cell, mean survival days and body weight of tumor bearing mice, and growth of tumor mass for antitumor effect; delayed type hypersensitivity, hemagglutinin titer, hemolysis titer, rosette forming cells, natured killer cell activity, lymphocyte transformation, productivity of interleukin-2, and phagocytic activity for their immune responses were measured in ICR mice.

Significance in antitumor effect is noted in the elongation of mean life days and inhibition of tumor growth(p<0.01, respectively). Significance of immune responses is also noted in hemolysis titer, lymphocyte transfusion, IL-2 productivity, phagocytic activity, and natural killer cell activity at E/T ratio 100 : 1(p<0.01, respectively).

Significant in rosette cell formation was seen at dosage of 20mg/kg(p<0.01).

However, Difference of body weight as antitumor effect, delayed type hypersensitivity, and hemagglutinin titer were not shown significantly.

According to the above results, it could be suggested that Bunsimgieum has prominent antitumor and immunity enhancing effect.

**Key Words:** Antitumor Effect, Immune Response, Bunsimgieum

### 1. 緒 論

과학기술의 발전에 따라 생활 및 의료 수준이 향상되고 있음에도 불구하고, 전세계적으로 암으로 인한 사망률은 매년 증가하고 있는 실정이다<sup>1,2</sup>. 국내의

경우, 통계청은 2000년도 악성 신생물(암)이 사망원인으로는 순환기 질환에 이어 2위로 조사되었고, 전체 사망율의 23.7%를 차지하였으며 이 중에서 남자는 폐암이, 여자는 위암이 가장 높은 비율을 나타내었는데 향후에도 악성 암이 국민건강의 위해한 질환이 됨을 시사한다고 발표했다<sup>3</sup>.

암의 원인에 대하여 한의학에서는 外感六淫, 氣滯鬱結, 情志失調, 飲食不節, 過勞 등으로 나누고 있고<sup>4,5</sup>, 서양의학은 유전, 면역, 대사, 신경체액조절 등의 내

· 접수 : 2003년 4월 12일 · 채택 : 2003년 6월 16일  
· 교신저자 : 여대원, 서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희의료원 3내과 의사실  
(Tel: 02-958-9140 Fax: 02-958-9136, E-mail: yeodw1075@dreamwiz.com)

부기구의 기능실조로 인한 내적요소와 심리적, 화학적, 생물학적인 발암인자로 인한 외적요소로 구분하고 있다<sup>17,8</sup>.

암 발생과 관련된 여러 원인 중에서 한의학은 七情損傷을 비중 있게 주목해 왔고<sup>56</sup> 서양의학에서도 七情損傷의 이론과 유사한 스트레스-신경-면역기능-암 발생의 연계성을 규명하고 있다<sup>8</sup>. 강한 스트레스는 암 환자의 면역기능의 활성을 억제시키고<sup>9</sup>, 암 발생 유도 및 촉진과정에 관여하며<sup>8</sup>, 항암치료의 예후<sup>10</sup>와 치료 후 삶의 질<sup>11</sup>에 영향을 미치는 것으로 알려지고 있다. 따라서 암 환자의 스트레스 상태를 개선시키면 면역기능이 증강되어 항암능력을 증진시킬 뿐만 아니라 삶의 질의 개선과 생명을 연장시키는 효능이 있을 것으로 예견하고 있다<sup>12</sup>.

한편, 현재까지 연구된 성과에 의하여 한의학은 항암치료법을 健脾益氣, 養血滋陰, 養陰生津, 溫補腎陽, 滋補強壯 등의 扶正固本法과 清熱解毒, 活血化瘀, 化痰散結, 疏肝理氣, 行氣散結, 攻堅破積, 消脹 등의 去邪法 및 扶正과 去邪를 兼治하는 扶正去邪法의 3가지로 분류하고 있다<sup>13</sup>.

분심기음은 仁濟直指方에 처음으로 수록된 처방으로, 七情損傷으로 인한 여러 가지 질환을 치료하는 대표적 方劑로 痞滯를 다스리고 大小便을 通利疏快하는 효능이 있다<sup>14</sup>. 한편, 상기처방의 항암작용 및 면역반응을 규명하는 것은 이 처방을 암 환자에게 적용시킬 수 있는 객관적 자료를 확보할 수 있다는 점에서 그 의의가 있다고 하겠다. 이에 저자는 분심기음의 항암작용 및 면역반응에 대한 효능을 규명하기 위해서 담압 및 methotrexate로 면역기능이 억제된 생쥐를 대상으로 분심기음 전탕액 액기스를 투여하여 생존일수, 지연형과민반응, 적혈구용혈소가, 적혈구응집소가, rosette 형성세포수, 자연살해세포활성도, IL-2의 생산능 및 carbon clearance에 의한 세균내피계탐식능 등을 분석비교한 바, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 재료

#### 1) 동물

대한실험동물센터에서 분양받은 ICR계 흰쥐(18-22g)를 1주일간 일정량의 고형사료(삼양유지, 서울)로 사육하면서 실험실 환경에 적응시킨 후 자웅을 구별하여 실험군과 대조군에 골고루 분배하여 사용하였다. 肝腎독성실험은 대한실험동물센터에서 분양받은 흰쥐를 사용하였으며 5週齡의 수컷을 사용하였다. 적혈구용혈소치의 측정에 필요한 혈청을 얻기 위해서 2.5kg의 家兎를 사용하였으며, 이 실험동물은 일정량의 카푸밀(제일사료 Co.) 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 사육하였다.

#### 2) 약제

약제는 시중 건재약국에서 구입 정선한 후 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 검액의 조제

분심기음의 5첩 분량 218g을 5,000ml round flask에 넣고 3,000ml의 증류수를 가하여 냉각기를 부착하여 3시간 가열전탕한 뒤 여과한 여과액을 rotary evaporator로 멸압농축한 후 완전 건조시켜 분심기음 액기스 70.5g(收得率 32.3%)을 얻어 검액으로 사용하였다.

#### 2) 항종양에 대한 실험

##### (1) 검액의 투여

생쥐 10마리를 1군으로 하여 대조군 및 실험군으로 나누었으며, 실험군에는 액기스 10mg/kg(Sample I)과 20mg/kg(Sample II)의 검액을 증류수로 희석하여 14일간 연속으로 1일 1회 경구투여하였고 대조군은 동량의 식염수를 경구투여하였다.

##### (2) 암세포의 생존능 측정<sup>7</sup>

#### 가. 방법

실험에 사용한 세포주들은 성장속도가 빠르고 비교적 항암제 감수성이 예민한 SUN-1(위암세포주), 성장속도는 빠르나 일부분의 항암제에 내성을 갖는

SUN-C4(대장암세포주)와 대부분의 기존 항암제에 내성을 나타내는 SUN-396(간암세포주)를 이용하였다. 지수증식기의 B16세포를  $1 \times 10^6$  cells/ml로 조정 한 다음, 96 well 미세세포배양판(Falcon, U.S.A)에 180 $\mu$ l의 세포부유액과 20 $\mu$ l의 검액을 넣었다. 약물의 농도는 최초의 농도를 25mg/ml로 조정 한 후 2배씩 희석시켜서 사용하였으며 96 well 미세세포배양판에 분주직전에 0.22 $\mu$ m의 syringe filter로 여과하여 사용하였다. 이후 3-4일간 37 $^{\circ}$ C 5% CO<sub>2</sub>의 배양기에서 배양 하면서 세포의 증식정도를 위상차현미경으로 수시로 관찰하였다. 약물이 처리되지 않은 대조well의 세포 들이 충분히 성장한 후, 배양액을 제거하고 각 well 에 20 $\mu$ l의 MTT solution(5mm/ml in phosphate buffered saline : PBS)(Sigma, U.S.A)을 넣고 37 $^{\circ}$ C, 5% 배양기에서 3시간 배양하였다.

그 후 100 $\mu$ l의 0.04M HCl(in propan-2-ol)을 넣어 MTT 용액과 반응하여 생긴 푸른색의 formazan결정 을 녹인 후 30분안에 540nm의 ELISA 판독기(Emax precision microplate reader, Molecular devices, U.S.A)에서 흡광도(Optical Density)를 측정하였다. 이때 참 고파장으로 630nm를 이용하였다. 아래의 공식과 같 이 실험군의 흡광도를 대조군의 흡광도와 비교하여 생존율을 구하였다.

$$\% \text{ Viability} = \frac{\text{실험군의 평균 흡광도} - \text{기준 흡광도}}{\text{대조군의 평균 흡광도} - \text{기준 흡광도}} \times 100$$

나. 각 세포주에서 50% 살상효과 측정(IC<sub>50</sub>)

실험군에서 각 well로부터 한 컬럼의 평균 OD540 (파장 540nm에서의 Optical Density)값을 구하여 위 의 공식에 의하여 대조군(100% 생존율)의 평균 OD540값에 대한 백분율 값을 산출하였다. 이 백분율 은 대조군과 비교한 실험군 세포생존율에 해당하는 값이다. 50% 억제농도(Inhibitory Concentration : IC<sub>50</sub>)는 세포생존율을 50%로 감소시키는 약물의 농도로 정의하였으며 이 IC<sub>50</sub> 값이 230 $\mu$ g/ml 이상으로 나타 난 추출물에 대해서는 항암활성이 없거나 미약한 것 으로 간주하였다.

### (3) 담암생쥐의 생존일수 측정<sup>15</sup>

Sarcoma 180 세포는 경희대 면역연구실에서 분양 받아 생쥐의 복강내에 이식하여 15일 간격으로 계대 배양하였다. 생쥐의 복수로부터 증식이 왕성한 시기 에 Sarcoma 180 세포를 수거하여 PBS로 2회 세척후 생쥐 복강에 한 마리당 0.1ml( $2 \times 10^6$ /mouse)씩 주입 하고 24時間 후부터 검액을 1일 1회 연속으로 경구 투여하면서 수명을 관찰하고 생존증가율(increase of life span : ILS %)을 구하였다.

ILS =

$$\frac{\text{실험군의 평균 생존일수} - \text{대조군의 평균 생존일수}}{\text{대조군의 평균 생존일수}} \times 100$$

### (4) 담암생쥐의 종양성장<sup>16</sup>

생쥐를 대조군 및 실험군으로 각각 10마리씩 나누 고,  $4 \times 10^6$  cells/ml로 조정된 Sarcoma 180 세포용액 을 한 마리당 0.2ml씩 왼쪽 서혜부에 주입한 뒤 24시 간 후부터 14일간 검액을 1일 1회 연속으로 경구투 여하고 Sarcoma 180 세포투여후 15일째에 경추탈구 로 쥐를 치사시킨 후, 종양을 적출하여 그 중량을 측 정하고 종양성장억제율(tumor growth inhibition rate : TIR %)을 계산하였다.

TIR =

$$\frac{\text{대조군의 평균 종양무게} - \text{실험군의 평균 종양무게}}{\text{대조군의 평균 종양무게}} \times 100$$

### (5) 담암생쥐의 체중측정<sup>16</sup>

생쥐를 대조군 및 실험군으로 각각 10마리씩 나누 어 체중을 측정한 후,  $4 \times 10^6$  cells/ml로 조정된 Sarcoma 180 세포용액을 한 마리당 0.2ml씩 왼쪽 서 혜부에 주입한 뒤 24시간 후부터 14일간 검액을 1일 1회 연속으로 경구투여하고 Sarcoma 180 세포투여후 15일째에 경추탈구로 쥐를 치사시킨 후, 종양을 적출 하여 종양을 제외한 생쥐의 체중을 측정하였다.

### 3) 면역에 대한 실험

#### (1) 검액의 투여

생쥐 10마리를 1군으로 하여 대조군 및 실험군으 로 나누어 실험군에는 액기스 10mg/kg(Sample I)과

20mg/kg(Sample II)의 검액을 증류수로 희석하여 21일간 연속으로 1일 1회 경구투여하였고 대조군은 동량의 식염수를 경구투여하였다.

(2) 항원<sup>17,18</sup>

항원은 면양적혈구(Alsever sheep red blood cell, Korea Media Corp.)를 사용하였으며 4℃에 보존하면서 보존한지 1주일 이내의 것을 사용하였다.

(3) 면역<sup>17,18</sup>

검액 및 생리식염수를 21일간 경구투여한 후, 다음날 실험군과 대조군의 꼬리정맥에  $5 \times 10^8$  cells/ml의 농도로 조정된 면양적혈구 부유액(SRBC) 0.2ml를 주사하여 면역시켰다.

(4) 면역기능 저하 유발<sup>17,19</sup>

면역기능 저하유발은 검액을 21일간 경구투여한 후 대조군과 실험군에 methotrexate(유한메트트렉세이트정, 유한양행) 1mg/1kg을 1일 1회 4일간 경구투여하여 면역기능을 저하시켰다.

(5) 지연형과민반응의 측정

지연형과민반응(delayed type hypersensitivity : DTH)의 측정은 Mitsuoka 등<sup>42</sup>의 방법에 따라 면역시킨 4일후에  $2 \times 10^6$  cells/ml로 조정된 면양적혈구 부유액 0.05 ml를 右側後肢足蹠의 두꺼를 0.01mm까지 측정하여 左右足蹠 두꺼의 차이를 계산하였다.

(6) 채혈 및 혈청의 분리

足蹠腫脹反應 측정이 끝난 생쥐를 ether로 가볍게 마취하여 해부판위에 고정하고 1회용 주사기(syring, 보인)로 심장에서 1ml의 혈액을 채취한 후 5ml용 plastic tube(Falcon, No.2058, Oxford, CA, U.S.A)에 옮겨 1시간 동안 실온에서 방치하고 작은 유리병으로 응고된 혈액을 수회 휘저은 후 원심분리기로 2,000 rpm에서 30분간 원심분리시켜 상층의 혈청을 다른 tube에 취하였다. 취한 혈청은 56℃에서 30분간 비동화 시킨 후 적혈구응집소와 용혈소와의 측정에 사용하였다.

용혈소와의 측정에 보체(complement)로 사용될 家兔의 혈청도 상기와 같은 방법으로 분리하되 비동화시키지 않은 상태로 사용하였다.

(7) 적혈구 응집소와의 측정<sup>17</sup>

면양적혈구에 대한 응집소(hemagglutinin titer)를 측정하기 위하여 위의 방법으로 비동화 시킨 혈청을 microtitration plate(Limbro chemical Co., Conn., U.S.A)의 각 well에 PBS로 2배 계열희석한 혈청 25μl와 0.5% 배양기에서 18시간 방치한 후 적혈구응집반응을 관찰판독하였으며 적혈구응집을 명백히 일으키는 혈청의 최고희석배수를 응집소가로 측정하였다.

(8) 적혈구 용혈소와의 측정<sup>17</sup>

면양적혈구에 대한 용혈소(hemolysin titer)를 측정하기 위하여 위의 방법으로 비동화시킨 혈청을 microtitration plate(Limbo chemical Co., Conn., U.S.A)의 각 well에 PBS로 2배 계열희석한 家兔의 혈청을 25μl씩 가하여 잘 혼합하여 37.5℃ 5% 배양기내에서 1시간동안 방치한 후 면양적혈구가 완전히 용혈을 일으키는 최고희석배수를 용혈소가로 산정하였다.

(9) 비장세포 부유액의 준비

생쥐를 경추탈골로 치사시킨 후 복부를 alcohol로 완전히 도포한 후 무균적으로 비장을 적출하여 비장 주위의 조직들을 조심스럽게 제거한 뒤 차가운 RPMI-1640배지로 세척한 후 cell dissociation sieve-tissue grinder kit(Sigma, U.S.A)로서 잘게 으갠 뒤 조직파편을 제거하고 RPMI-1640으로 2회 세척하였다. 그 후 멸균된 증류수로 hypotonic shock을 일으켜 적혈구를 파괴한 뒤 HBSS(Hank's balanced salt solution : Gibco, No. 310-4020)로 2회 세척하고, RPMI-1640배지로 1회 세척한 후, 10% FBS(fetal bovine serum)가 첨가된 RPMI-1640배지에 비장임파구를 재부유하였다.

(10) Rosette 형성세포수의 측정

Rosette 형성세포(rosette forming cells : RFC)의 측정은 Bach 등<sup>20</sup>의 방법에 준하여 측정하였다. 원심세척한 비장세포 부유액을  $1 \times 10^7$  cells/ml 농도로 조정한 뒤, plastic tube(Falcon No. 2058, Pxford, CA, U.S.A)에 각각 0.5ml씩 넣고 혼합하여 원심분리기로 980rpm에서 5분간 원심분리 시킨 다음 세포부유액을 혈구계산판(American Optica, Buffalo, NY, U.S.A) 위에 떨어뜨리고 450배율로 검경 관찰하였다. 비장

세포 1개당 면양적혈구가 4개 이상 부착된 경우를 rosette 형성세포로 정하여  $10^6$  비장세포당  $10^3$  Rosette 형성세포수를 측정하였다.

(11) 자연살해세포의 활성도 측정<sup>21,22</sup>

가) 작동세포의 준비

비장세포를 작동세포로 사용하였다.

나) 표적세포의 준비

자연살해세포의 살해능의 표적세포는 한국세포주 은행에서 분양받은 생쥐 유래 YAC-1 임파종세포 (TIB-160)를 사용하였다. 분양받은 후 실험실에서 FBS가 10% 첨가된 혼합배지로 계대배양하면서 측정에 임하였다.

다) 세포독성의 측정

① 기본방법

세포독성실험은 Promega사의 Cytotox96™ non-radioactive cytotoxicity assay kit를 이용하여 실시하였다. 이 kit는  $^{51}\text{Cr}$  assay를 대체하는 것으로 알려져 있다<sup>23</sup>. 즉, 세포의 용해시에 방출되는 lactate dehydrogenase(이하 LDH라 칭함)가 효소반응의 결과로 붉은 색의 결정을 생성하는데, 이를 ELISA 판독기를 이용하여 가시광선 영역의 파장(490nm)으로 흡광도를 측정함으로써 용해된 세포의 수를 측정하는 것이다. 이것을 이용하여 cell-mediated cytotoxicity를 측정할 수 있다<sup>21</sup>.

② 대조 well의 준비

이 방법은 오차를 줄이기 위하여 5종류의 대조 well을 두었다. 이는 오차를 조정하기 위한 것이다. 대조 well 1은 표적세포의 LDH 자연방출량을 나타내는 것으로 최적수의 표적세포  $100\mu\text{l}$ 와 배지  $100\mu\text{l}$ 로 구성하였고, 대조 well 2는 표적세포의 LDH 최대방출량을 나타내는 것으로 최적수의 표적세포  $100\mu\text{l}$ 와 배지  $100\mu\text{l}$ 로 구성하였고, 배양이 끝나기 45분전에  $20\mu\text{l}$ 의 lysis solution(용해용액)을 첨가하였다. 대조 well 3은 작동세포의 LDH 자연방출량을 나타낸 것으로 최적수의 작동세포  $100\mu\text{l}$ 와 배지  $100\mu\text{l}$ 로 구성하였고, 대조 well 4는 용해용액을 첨가하여 발생하는 부피의 변화에 의한 오차를 조정하기 위해 배지  $200\mu\text{l}$ 와 용해용액  $20\mu\text{l}$ 로 구성하였다. 대조 well 5는 배

지의 background로서 배지내 혈청이나 phenol red에 기인한 LDH의 활동능을 보정하기 위한 것으로 배지  $200\mu\text{l}$ 로 구성하였다.

③ 측정방법

자연살해세포 활성도의 세포독성능 측정은 YAC-1세포를 표적세포로 이용하여, FBS가 첨가된 혼합배지에  $5 \times 10^4$  cell/ml의 농도로 제조하고, 96 well 미세세포배양판(U-bottom plate)에 well당  $100\mu\text{l}$ 씩 분주한 후, 작동세포와 표적세포의 비가 100 : 1, 50 : 1, 10 : 1이 되도록, FBS가 10% 첨가된 혼합배지에 각각  $5 \times 10^6$  cell/ml,  $2.5 \times 10^6$  cell/ml,  $5 \times 10^5$  cell/ml의 농도로 조정된 비장세포를 well에  $100\mu\text{l}$ 를 분주하여 최종부피가  $200\mu\text{l}/\text{well}$ 이 되도록 하였다. 대조 well은 ②에 의거하여 준비하였다. 준비가 된 후 미세세포배양판을 1,100rpm에서 4분간 원심시킨 후, 4시간동안  $37^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 배양하였다. 또한 배양완료 45분전에 대조 well 2에  $100\mu\text{l}$ 당  $10\mu\text{l}$ 의 용액배양을 첨가하였다. 종료시  $37^\circ\text{C}$  1,100rpm에서 4분간 원심 분리하였고, 새로운 96 well plate(Flat-bottom plate)에 상층액을  $50\mu\text{l}$  옮긴 후, 측정 buffer  $12\text{ml}$ 를 기질 혼합기에 넣어 재조합기질을 만든 후 각 well에  $50\mu\text{l}$ 씩 넣고 상온에서 30분간 배양하였다. 이때 알루미늄 foil로 빛을 차단하였다. 배양후  $50\mu\text{l}$ 의 정지용액을 각 well에 넣은 후 주사기로 거품을 제거하였고, 그 후 1시간 이내에 490nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 실험값, 표적세포 LDH 자연방출값 및 작동세포 LDH 자연방출값에서 배지의 back ground 값을 뺐고, 표적세포 LDH 최대방출값에서 부피보정값을 뺐다. 그 후 다음의 공식에 의하여 세포독성능을 측정하였다.

$$\frac{\% \text{ cytotoxicity } (A - B) - C}{D - C} \times 100$$

- A : 실험값 - culture medium back ground
- B : effect cell spontaneous LDH release - culture medium background
- C : target cell spontaneous LDH release - culture medium background
- D : target cell maxium LDH release - volume correction control

(12) 임파구 증식반응

임파구 증식반응은 양<sup>23)</sup>의 방법을 다소 수정하여 측정하였다. 위의 방법으로 부유된 비장임파구를  $1 \times 10^6$  cell/ml의 농도로 조정 한 뒤 T세포 유사분열 유도 물질인 concanavalin A(Sigma, U.S.A)를  $10 \mu\text{g/ml}$ 의 농도로 첨가하고 96 well 배양접시에 각 well 당  $100 \mu\text{l}$  씩 분주한 후,  $37^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 72시간 배양 한 다음 [<sup>3</sup>H]-thymidine(New England Nuclear, Boston Ma, U.S.A)을 각 well당  $1 \mu\text{Ci}$ 씩 첨가한 후 18시간동안 추가 배양하였다. 그 후 자동세포수집기(SKATRAN, Skatron instrument, Norway)로 glass fiber filter상에 수거한 후 이를 실온에서 건조시킨 뒤 counting vial에 넣어 5ml의 cocktail 용액(5g, ppo, 250mg popop를 toluene 1 l 에 녹임)으로 용해시킨 후  $\beta$ -counter(Beckman, Ls 3801, U.S.A)에서 DNA 합성시 합입된 [<sup>3</sup>H]-thymidine양을 counter per minute(cpm)으로 추정하였고 실험은 3배수로 실시하였다.

(13) Interleukin-2 (IL-2) 생산능 측정

가) IL-2의 생산

IL-2는 Gullberg 등<sup>24)</sup>의 방법에 따라 생산하였다. 즉 비장세포 부유액을 FBS가 10% 첨가된 혼합배지에  $5 \times 10^6$  cell/ml의 농도로 조정하고 여기에 concanavalin -A(Con-A : Sigma, U.S.A)를  $100 \mu\text{g/ml}$ 의 농도로 첨가한 후  $37^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 24시간동안 배양하고 상층액을 수거하여 Interleukin-2(IL-2)의 생산능을 측정하였다.

나) IL-2의 생산능 측정

IL-2의 생산능은 Intertest-2X(Genzyme, U.S.A)를 이용하여 측정하였다. Intertest-2X kit는 mouse IL-2 측정용 ELISA kit로서 고형상 면역효소 측정법을 이용한 것인데 450nm의 파장에서 측정하여 표준곡선으로부터 검체내의 IL-2양을 산정할 수 있는 방법이다. 96 well plate(Costar 3799)에 시료를  $100 \mu\text{g}$ 씩 분주하고 덮개로 덮은 후  $37^\circ\text{C}$ 에서 40분간 배양하고 배양이 끝난 후 well의 반응용액을 제거하고 세척용 buffer로 4번 세척한 후 plate를 여과지로 말리고 각 well에 biotinylated polyclonal antimouse IL-2를  $100 \mu\text{g}$ 씩 분주하고 덮개로 덮은 후  $37^\circ\text{C}$ 에서 40분간 배양

하였다. 다시 well의 반응용액을 제거하고 세척용 buffer로 4번 세척한 후 plate를 여과지로 말리고 각 well에 streptavidin-peroxidase를  $100 \mu\text{l}$ 씩 분주하여 다시 덮개로 덮은 후 상온에서 10분간 배양하였다. 다시 각 well에 정지용액을  $100 \mu\text{l}$ 씩 분주한 후 ELISA 판독기(Emax precision microplate reader, Molecular devices, U.S.A)로 파장 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

(14) Carbon clearance에 의한 탐식능의 측정

망장내피세포계의 탐식능 측정은 Biozzi 등<sup>18)</sup>의 방법에 의하여 생쥐의 꼬리정맥에 carbon 16mg을 주사한 후 1분, 5분후에 안와정맥에서 heparinized capillary tube로  $25 \mu\text{l}$ 씩 혈액을 채취하고 0.1%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2ml에 용해시켜 분광광도계(spectrophotometer, U-2000, Hitachi, Japan)를 사용하여 파장 675nm에서 말소혈관내탄분농도를 측정 한 후 탐식능 수로서 그 결과를 산출하였으며 탐식지수 K는 다음과 같다.

$$\text{Phagocytic index } K = \frac{\log C_1 - \log C_2}{T_2 - T_1}$$

C1 = 시간 T1에서의 sample 혈액중의 carbon 농도

C2 = 시간 T2에서의 sample 혈액중의 carbon 농도

T1 = 처음 채혈시간

T2 = 마지막 채혈시간

III. 成 績

1. 암세포 생존능에 대한 효과

분심기음이 SNU-C4(대장암 세포주), SNU-396(간암 세포주) 및 SNU-1(위암 세포주)의 성장에 미치는 영향을 MTT 검색법을 통하여 관찰한 결과 SNU-C4, SNU-396 and SNU-1에 대한 IC<sub>50</sub>(50%의 억제농도)의 값이 각각  $3.47 \text{mg/ml}$ ,  $1.26 \text{mg/ml}$ ,  $0.33 \text{mg/ml}$ 으로 나타나서 세가지의 암 세포주에서 모두 항암활성이 높은 것으로 나타났다(Table 1).

2. 생존기간연장에 대한 효과

Sarcoma-180 cell을 복강내에 이식한 담암생쥐의 생존기간은 생리식염수를 투여한 대조군의 평균생존

일수가 15.25±3.09일인데 比하여, 분심기음투여군 I 에서는 24.88±3.26일로 생존일수증가율(ILS%)이 63%였으며, 분심기음투여군 II 에서는 31.50±4.32일로 생존일수증가율(ILS%)이 107%로 두가지 약물투여군에서 모두 유의성있는 증가를 보였다(Table 2).

3. 종양성장억제에 대한 효과

Sarcoma-180 cell 용액을 생쥐의 왼쪽 서혜부에 주입한 뒤 24시간 후부터 각 검액을 10일간 연속으로 투여하고 Sarcoma-180 cell 투여후 15일째 치사시킴 고형암을 적출하여 그 중량을 측정하고 종양성장억

제율(TIR%)을 계산한 바, 생리식염수를 투여한 대조군이 평균 2.59±0.29g의 종양성장을 보인데 比하여, 분심기음투여군 I 에서는 2.19±0.27g으로 15.4%의 종양성장억제율을 보여 유의성이 인정되었고, 분심기음투여군 II 에서는 1.99±0.21g으로 23.2%의 종양성장억제율을 보여 유의성이 인정되었다(Table 3).

4. 체중변화에 대한 효과

Sarcoma-180 cell 용액을 생쥐의 왼쪽 서혜부에 주입한 뒤 24시간 후부터 각 검액을 10일간 연속으로 투여하고 Sarcoma-180 cell 투여후 15일째 치사시킴

**Table 1.** IC50 of Bunsimgieum on SNU-C4, SNU-396 and SNU-1

Groups	IC <sub>50</sub> * (mg/ml)		
	SNU-C4	SNU-396	SNU-1
Sample	3.47	1.26	0.33

\* : IC<sub>50</sub> = 50% Inhibitory Concentration

Sample : Group of Bunsimgieum administered.

**Table 2.** Mean Survival Days of Mice treated with Bunsimgieum, after Sarcoma-180 Cells Transplantation into the Peritoneal Cavity

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	Mean Survival Days	ILS***(%)
Control	10	-	15.25±3.09*	-
Sample I	10	10	24.88±3.26**	63
Sample II	10	20	31.50±4.32**	107

\* : Mean ± standard error.

Student' s t-test was used as statistical method.

\*\* : Statistically significant as compared with control group(p<0.01).

\*\*\* :  $ILS(\%) = \frac{(T-C)}{C} \times 100$

where, T = Mean survival days of the sample group.

C = Mean survival days of the control group.

Control : Group of normal saline administered.

Sample I, II : Group of Bunsimgieum administered.

**Table 3.** Tumor Weight of Mice Treated with Bunsimgieum after Sarcoma-180 Cells Transplantation into the Left Groin

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	Tumor Weight(g)	TIR***(%)
Control	10	-	2.59±0.29*	-
Sample I	10	10	2.19±0.27**	15.4
Sample II	10	20	1.99±0.21**	23.2

\* : Mean ± standard error.

Student' s t-test was used as statistical method.

\*\* : Statistically significant as compared with control group(p<0.01).

\*\*\* :  $TIR(\%) = \frac{(C-T)}{C} \times 100$

where, T=Mean tumor weight of the sample group.

C=Mean tumor weight of the control group.

Control : Group of normal saline administered.

Sample I, II : Group of Bunsimgieum administered.

고형암을 적출한 후 고형암을 제외한 생쥐의 체중을 측정 한 바, 생리식염수를 투여한 대조군의 1일, 15일째 체중은 각각  $25.02 \pm 0.17g$ ,  $24.70 \pm 0.35g$ 으로  $0.43 \pm 0.23g$ 의 감소를 보인데 비하여, 분심기름투여군 I에서는 1일, 15일째 체중이 각각  $25.35 \pm 0.20g$ ,  $26.20 \pm 0.28g$ 으로 약  $1.24 \pm 0.25g$ 의 증가를 보였으며, 분심기름투여군 II에서는 1일, 15일째 체중이 각각  $24.93 \pm 0.18g$ ,  $25.40 \pm 0.39g$ 으로 약  $0.72 \pm 0.28g$ 의 증가를 보여, 대조군에 비하여 체중은 증가되었으나, 유의성은 인정되지 않았다(Table 4).

5. 지연형과민반응에 대한 효과

검액 및 생리식염수를 21일간 경구투여한 후 실험군과 대조군간의 지연형과민반응을 비교하기 위하여

면양적혈구로 면역시킨 4일후 면양적혈구를 右側後肢 足蹠皮內에 주사한 다음 24시간이 경과한 후 左右肢足蹠의 종창정도를 측정하였던 바, 대조군이  $0.21 \pm 0.05mm$ 인데 비하여, 분심기름투여군 I에서는  $0.22 \pm 0.04mm$ , 분심기름투여군 II에서는  $0.23 \pm 0.04mm$ 로 대조군에 비하여 증가하는 경향이 나타났으나, 유의성은 인정되지 않았다(Table 5).

6. 적혈구응집소가에 대한 효과

실험군과 대조군의 면양적혈구에 대한 응집소가를 측정하여  $\log_2$ 값으로 계산하였던 바, 대조군이  $9.38 \pm 2.12$ 인데 비하여, 분심기름투여군 I이  $9.41 \pm 3.04$ , 분심기름투여군 II가  $10.82 \pm 3.16$ 으로 나타나 대조군에 비하여 증가되었으나, 유의성은 인정되지 않았다(Table 6).

**Table 4.** Body Weight of Mice Treated with Bunsingieum after Sarcoma-180 Cells Transplantation into the Left Groin

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	Body Weight(g)		
			1 day	15 day	$\Delta(15-1)$ day
Control	10	-	$25.02 \pm 0.17^*$	$24.70 \pm 0.35$	$-0.43 \pm 0.23$
Sample I	10	10	$25.35 \pm 0.20$	$26.20 \pm 0.28$	$1.24 \pm 0.25$
Sample II	10	20	$24.93 \pm 0.18$	$25.40 \pm 0.39$	$0.72 \pm 0.28$

\* : Mean  $\pm$  standard error.

Student's t-test was used as statistical method.

Control : Group of normal saline administered.

Sample I, II : Group of Bunsingieum administered.

**Table 5.** Effects of Bunsingieum on the Delayed Type Hypersensitivity(DTH) Response in Methotrexate-pretreated Mice at 24 Hours after Challenge with SRBC

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	Footpad Swelling(mm)
Control	10	-	$0.21 \pm 0.05^*$
Sample I	10	10	$0.22 \pm 0.04$
Sample II	10	20	$0.23 \pm 0.04$

\* : Mean  $\pm$  standard error.

Student's t-test was used as statistical method.

Control : Group of normal saline administered.

Sample I, II : Group of Bunsingieum administered.

**Table 6.** Effects of Bunsingieum on the Hemagglutinin Titer in Methotrexate-pretreated Mice at 24 Hours after Challenge with SRBC

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	Hemagglutinin( $\log_2$ titer)
Control	10	-	$9.38 \pm 2.12^*$
Sample I	10	10	$9.41 \pm 3.04$
Sample II	10	20	$10.82 \pm 3.16$

\* : Mean  $\pm$  standard error.

Student's t-test was used as statistical method.

Control : Group of normal saline administered.

Sample I, II : Group of Bunsingieum administered.



7. 적혈구용혈소가에 대한 효과

실험군과 대조군간의 면양적혈구에 대한 용혈소가를 측정하여 log<sub>2</sub>값으로 계산하였던 바, 대조군이 7.12±1.36인데 비하여, 분심기음투여군 I 에서는 8.84±1.44, 분심기음투여군 II 에서는 9.83±1.03으로 나타나, 대조군에 비하여 실험군이 모두 유의성있게 증가하였다(Table 7).

8. Rosette 형성세포수에 대한 효과

실험군과 대조군간의 항원인 면양적혈구에 대한 면역반응세포수를 비교하기 위하여 비장세포에 면양적혈구가 4개 이상 부착된 경우를 rosette 형성세포로 정하여 10<sup>6</sup> 비장세포당 10<sup>6</sup> Rosette 형성세포수를 산정한 결과, 대조군이 24.11±1.58인데 비하여, 분심기음투여군 I 은 25.32±1.24로 나타났으나 유의성은 인정되지 않았다. 분심기음투여군 II 는 28.88±1.36으로 나타나 유의성 있는 증가를 보였다(Table 8).

9. 자연살해세포활성에 대한 효과

실험군과 대조군간의 자연살해세포에 대한 활성도를 비교해 보고자 % cytotoxicity를 측정하였던 바, 작

동세포 대표적세포의 비가 100 : 1의 경우 % cytotoxicity는 대조군이 24.11±3.24인데 비하여, 분심기음투여군 I 에서는 29.63±4.16, 분심기음투여군 II 에서는 40.36±4.98로 나타나 두가지 모두 유의성 있는 증가를 보였다.

작동세포 대 표적세포의 비가 50 : 1의 경우 % cytotoxicity는 대조군이 39.58±3.47인데 비하여, 분심기음투여군 I 에서는 38.62±5.69, 분심기음투여군 II 에서는 51.69±5.12로 나타났으나, 두가지 모두 유의성이 인정되지는 않았다.

작동세포 대 표적세포의 비가 10 : 1의 경우 % cytotoxicity는 대조군이 41.03±5.76인데 비하여, 분심기음투여군 I 에서는 40.25±4.38, 분심기음투여군 II 에서는 44.36±6.84로 나타났으나, 두가지 모두 유의성이 인정되지는 않았다(Table 9).

10. 임파구 증식능에 대한 효과

생쥐 비장세포를 con-A로 자극 배양한 후 그 증식을 비교하기 위하여 실험군과 대조군간의 항원인 면양적혈구에 대한 면역반응세포수를 비교하기 위하여 [<sup>3</sup>H]-thymidine의 흡수정도를 측정하였던 바, 대조군

**Table 7.** Effect of Bunsimgieum on the Hemolysis Titer in Methotrexate-pretreated Mice at 24 Hours after Challenge with SRBC

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	Hemolysis(Log <sub>2</sub> titer)
Control	10	-	7.12±1.36*
Sample I	10	10	8.84±1.44**
Sample II	10	20	9.83±1.03**

\* : Mean±standard error.  
 Student's t-test was used as statistical method.  
 \*\*: Statistically significant as compared with control group(p<0.01).  
 Control : Group of normal saline administered.  
 Sample I, II : Group of Bunsimgieum administered.

**Table 8.** Effect of Bunsimgieum on the Appearance of Rosette Forming Cells in Methotrexate-pretreated Mice at 24 Hours after Challenge with SRBC

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	10 <sup>6</sup> RPC/10 <sup>6</sup> spleen cells
Control	10	-	24.11±1.58*
Sample I	10	10	25.32±1.24
Sample II	10	20	28.88±1.36**

\* : Mean±standard error.  
 Student's t-test was used as statistical method.  
 \*\*: Statistically significant as compared with control group(p<0.01).  
 Control : Group of normal saline administered.  
 Sample I, II : Group of Bunsimgieum administered.

**Table 9.** Effect of Bunsimgieum on the Natural Killer Cell Activity at Effector/Target Cell Ratio with 100 : 1, 50 : 1, 10 : 1 in Methotrexate-pretreated Mice

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	Cytotoxicity(%) at E/T ratio		
			100 : 1	50 : 1	10 : 1
Control	10	-	24.11±3.24*	39.58±3.47	41.03±5.76
Sample I	10	10	29.63±4.16**	38.62±5.69	40.25±4.38
Sample II	10	20	40.36±4.98**	51.69±5.12	44.36±6.84

\* : Mean ± standard error.

Student' s t-test was used as statistical method.

\*\* : Statistically significant as compared with control group(p<0.01).

Control : Group of normal saline administered.

Sample I, II : Group of Bunsimgieum administered.

**Table 10.** Effect of Bunsimgieum on the Lymphocyte Transformation in Methotrexate-pretreated Mice

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	Proliferation(cpm)
Control	10	-	241.68±34.28*
Sample I	10	10	362.70±35.86**
Sample II	10	20	521.41±68.27**

\* : Mean ± standard error.

Student' s t-test was used as statistical method.

\*\* : Statistically significant as compared with control group(p<0.01).

Control : Group of normal saline administered.

Sample I, II : Group of Bunsimgieum administered.

**Table 11.** Effect of Bunsimgieum on the Interleukin-2 Productivity in Methotrexate-pretreated Mice

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	Interleukin-2(pg/ml)
Control	10	-	180.35±9.87*
Sample I	10	10	195.16±8.54**
Sample II	10	20	240.35±10.42**

\* : Mean ± standard error.

Student' s t-test was used as statistical method.

\*\* : Statistically significant as compared with control group(p<0.01).

Control : Group of normal saline administered.

Sample I, II : Group of Bunsimgieum administered.

이 241.68±34.28 cpm인데 비하여, 분심기름투여군 I 은 362.70±35.86(cpm), 분심기름투여군 II 는 521.41±68.27(cpm)로 나타나, 두가지 모두 유의성 있는 증가를 보였다(Table 10).

#### 11. Interleukin-2 생산능에 대한 효과

Interleukin-2 생산능을 비교하기 위하여 이를 측정 하였던 바, 대조군이 180.35±9.87(pg/ml)인데 비하여, 분심기름투여군 I 은 195.16±8.54(pg/ml), 분심기름투여군 II 는 240.35±10.42(pg/ml)로 나타나, 두가지 모두 유의성 있는 증가를 보였다(Table 11).

#### 12. Carbon clearance에 대한 효과

실험군과 대조군의 거식세포활성도를 비교해 보기 위하여 생쥐의 꼬리 정맥에 carbon을 주사하여 carbon clearance를 측정하였던 바, 대조군의 phagocytic index K값이 6.72±0.54인데 비하여, 분심기름투여군 I 은 7.14±0.48, 분심기름투여군 II 는 8.24±0.69로 나타나, 두가지 모두 유의성 있는 증가를 보였다(Table 12).

### IV. 考 察

종양이란 조직의 자율적인 과잉적 성장이며 이것은 개체에 대해서 의의가 없거나 이롭지 않을 뿐더

**Table 12.** Effect of Bunsimgieum on the Phagocytic Index K in Methotrexate-pretreated Mice

Groups	Number of Animals	Dose(mg/kg)	Carbon clearance(K-index : ×10 <sup>3</sup> )
Control	10	-	6.72±0.54*
Sample I	10	10	7.14±0.48*
Sample II	10	20	8.24±0.69*

\* : Mean ± standard error.

Student's t-test was used as statistical method.

\*\* : Statistically significant as compared with control group(p<0.05).

Control : Group of normal saline administered.

Sample I, II : Group of Bunsimgieum administered.

러 정상조직에 대하여 파괴적인 것을 말하며<sup>1</sup>, 임상 및 병리 형태학적으로 양성종양(benign tumors)과 악성종양(malignant tumors)으로 나누어진다<sup>1</sup>. 우리가 일반적으로 지칭하는 암(cancer)이란 악성종양을 말한다. 이러한 암은 정상세포와 비교할 때 악성세포 클론(clone)을 형성하고, 성장에 있어 정상 생화학적 및 영양에 의하여 적절히 조절되지 않는 자율성(autonomy)를 지니고 있으며, 세포분화의 결핍이 있고, 전이능력을 지니고 있는 특징을 갖고 있다<sup>25</sup>.

종양 발생의 한의학적 원인으로 崔<sup>26</sup>는 風·寒·暑·濕·火의 外邪에 感受하는 外感六淫과, 怒·憂·思·悲·恐·鬱·驚 등에 의한 七情內傷, 辛鹹·甘膏·煎炒·酒濕의 食內內傷 및 過勞 房勞過度의 不內外因이 있다고 하였고, 鄭은 精神因素, 體質因素, 外邪因素, 飲食因素가 있다고 구분하였다. 반면에 李<sup>26</sup>는 毒熱侵襲, 痰濕不化, 氣血失常, 臟腑失調로 구분하여 기술하고 있다. 서양의학에서는 원인을 방사선, 담배, 발암물질에 대한 직업적 노출, 대기오염, 약제, 식이, 바이러스 등의 외인성 인자<sup>26</sup>와 유전적 소인 등의 내인<sup>25</sup>으로 나누어 볼 수 있다. 한의학에서의 암의 분형 즉 病機에 관한 서술을 보면, 鄭은 肝鬱氣滯, 血瘀積癥, 濕聚痰凝, 熱毒內蘊, 陰虛內熱, 氣血兩虧로 나누었으며, 李<sup>26</sup>는 毒熱蘊結, 痰凝毒聚, 氣滯血瘀, 陰陽失調로 구분하였다. 이러한 암의 치법으로는 鄭은 扶正培本, 活血化瘀, 清熱解毒, 軟堅散結, 化痰祛濕, 以毒攻毒으로 나누었으며, 李<sup>26</sup>는 扶正培本, 活血化瘀, 清熱解毒, 軟堅散結의 4가지로 구분하여 치료하였다. 이와 같이 한의학에서는 같은 암이라고 하더라도 여러 가지 원인과 病機에 따라서 구분하여 치

료를 실시하고 있다.

서양의학에서의 주된 암치료는 외과적 수술료법, 방사선료법, 화학요법 등에 의하여 이루어지는데, 이들 방법이 단독 또는 병용되기도 한다<sup>25</sup>. 이러한 치료법은 치료효과와 더불어 인체의 정상조직과 기관에 대한 독성이 강하여 환자에게 소화기 장애, 골수기능 억제, 면역기능저하, 염증반응, 신체쇠약 등의 부작용을 파생시켜서<sup>26</sup>, 오히려 항암치료를 중단시키는 요인이 되고 있다. 따라서 인체내의 신경, 내분비, 면역의 방어기능을 강화시켜 항암능력을 증강시키는 관점이 설득력을 얻게 되었다.

면역반응중에서 암세포 발생을 방어하는 면역감시 기능을 하는 것은 세포성 면역이라 할 수 있는데, 첫째로 세포상해성 T-세포(cytotoxic T-lymphocyte), 둘째로 자연살해세포(natural killer cell), 셋째로 세포상해성 대식세포(cytotoxic macrophage), 넷째로는 최근에 문제가 되기 시작한 LAK 세포(lymphokine activated killer cell) 등이 암세포의 감시 제1선 세포집단이라 생각된다<sup>28</sup>.

면역계통의 기능이 정상이면 면역반응으로 질병의 작용을 방지하게 되고, 면역계통의 기능이 이상이면 면역반응이 과다하게 높거나 혹은 지나치게 낮은 것으로 나타난다. 이러한 면역반응을 한의학에서는 正邪의 相爭이라고 보고 있으며, 正氣가 면역계통에 효능이 있다<sup>27</sup>. 正氣란 인체의 기능활동과 질병에 대한 방어, 투쟁 및 회복능력을 말하는 것으로<sup>29</sup> 면역계통의 결합과 효능을 개괄하고 면역평형을 발휘하며 면역안정의 작용을 증강시킨다<sup>27</sup>. 반면에 邪氣란 正氣와 상대되는 말로서, 外感六淫, 內傷七情, 疫癘, 痰飲, 瘀

血, 食積 등과 같이 인체에 유해한 각종 發病因子를 말하는데<sup>2)</sup>, 邪氣는 면역과괴 능력을 指稱하고 면역안정의 요인을 교란시키는 것을 가리킨다<sup>27)</sup>. 이와 같은 내용을 『黃帝內經』에서는 “正氣存內 邪不可干”, “邪氣所湊 其氣必虛”, “邪之所在 皆爲不足”이라고 하여 질병의 발생이 正氣의 不足으로 야기되므로, 인체의 항병력을 조절하고 면역효능을 높이며 그 안정성을 증강하는 扶正의 중요성을 강조하였다<sup>60)</sup>. 이러한 扶正祛邪의 작용을 통하여 한약제의 면역조절의 기전을 이해할 수 있다. 최근 한의계에서는 한약재 및 한약제제를 활용하여 항암에 관한 연구를 매우 활발하게 진행하고 있다. 그리고, 항암제와 한약을 병용 투여함으로써, 화학약물의 부작용이나 독성작용, 방사선치료시의 중대한 손상을 감소시킬 수 있는 연구결과<sup>30)</sup>가 밝혀지고 있다.

한의학에서는 七情內傷을 암의 여러 가지 원인중에서 비중 있게 다루어 오고 있고<sup>56)</sup>, 서양의학에서도 칠정손상의 이론과 유사한 스트레스-신경-면역기능-암 발생의 연계성을 규명하고 있는데<sup>8)</sup>, 강한 스트레스는 암 환자의 면역기능의 활성을 억제시키고<sup>11,12)</sup>, 암 발생 유도 및 촉진과정에 관여하며<sup>8)</sup>, 항암치료의 예후<sup>15)</sup>와 치료 후 삶의 질<sup>17)</sup>에 영향을 미치는 것으로 알려지고 있다. 따라서 암 환자의 스트레스 상태를 개선시키면 면역기능이 증강되어 항암능력을 증진시킬 뿐만 아니라 삶의 질의 개선과 생명을 연장시키는 효능이 있을 것으로 예견하고 있다<sup>12)</sup>. 하지만 지금까지 발표된 보고는 七情損傷의 병인론 보다는 생체와 병의 상태에 관한 처방과 개별 약제에 관한 연구가 많았으며, 병인론 처방의 연구는 미흡하였다. 따라서, 논자는 스트레스로 인한 氣의 鬱結을 해소할 수 있는 분심기음으로 항암치료를 시도하여 봄으로써, 암의 치료와 氣鬱의 解消와의 관련성을 살펴보고자 하였다.

분심기음은 仁齊直指方에 처음 수재된 처방으로, 理氣하는 蘇葉·枳殼·陳皮·大腹皮·香附子, 化濕하는 木香·藿香, 去痰하는 半夏·桔梗, 利水하는 木通·桑白皮·燈心·赤茯苓, 活血하는 蓬朮 등으로 구성되어 있으며, 七情으로 인한 痞滯를 다스리고,

大小便을 通利하여 맑게 하고 疎快하게 하는 효능을 지니고 있는 처방이다<sup>14)</sup>. 이에 저자는 肝鬱氣滯나 氣滯血瘀를 풀어줄 수 있는 분심기음을 이용하여 암의 치료효과를 규명하는 것은 이 처방을 암환자에게 활용할 수 있는 객관적 자료를 확보하는 것이므로, 담암 및 methotrexate로 면역기능이 억제된 생쥐를 대상으로 분심기음 전탕액 엑기스를 투여하여 생존일수, 지연형과민반응, 적혈구용혈소, 적혈구응집소, rosette 형성세포수, 자연살해세포활성도 및 carbon clearance에 의한 세강내피계탐식능 등을 분석비교하였다.

위의 실험에서 분심기음이 항암 및 면역기능 증강의 효능을 지니고 있음을 확인할 수 있었으며, 항후 stress와 암발생의 mechanism에 대한 분심기음의 작용이 더욱 더 분명하게 규명되어지고, 실제 임상에서 그 효능이 뒷받침 된다면, 항스트레스 효능을 지닌 항암제로서의 상기 처방의 역할이 기대된다.

#### IV. 結 論

七情鬱結의 解消를 목적으로 활용되고 있는 분심기음이 항암작용 및 면역반응에 미치는 효과를 관찰하기 위하여, 항암작용으로는 MTT검색법에 의한 암세포의 생존능과 Sarcoma-180 cell을 이식한 담암생쥐의 생존기간, 종양성장억제작용 및 체중변화를 관찰하였고, 면역반응으로는 methotrexate로 면역을 저하시킨 생쥐의 지연형과민반응, 적혈구응집소, 적혈구용혈소, 자연살해세포활성도, Rosette 형성세포수, 임파구 증식능, Interleukin-2 생산능 및 carbon clearance에 의한 탐식능을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 분심기음 엑기스의 SNU-C4 세포주에 대한 IC<sub>50</sub>은 3.47mg/ml, SUN-396은 1.26mg/ml, SUN-1은 0.33mg/ml로 나타나, 모두 항암활성이 높게 나타났다.
2. 분심기음 엑기스 10mg/kg과 20mg/kg 투여는 담암생쥐의 생존기간을 유의성 있게 연장시켰다 (p<0.01).

3. 분심기음 엑기스 10mg/kg과 20mg/kg 투여는 종양성장을 유의성 있게 억제 시켰다(p<0.01).
4. 분심기음 엑기스 10mg/kg과 20mg/kg 투여는 담암생쥐의 체중을 증가시켰으나, 유의성은 인정되지 않았다.
5. 분심기음 엑기스 10mg/kg과 20mg/kg 투여는 지연형과민반응에 대하여 별다른 영향을 미치지 않았다.
6. 분심기음 엑기스 10mg/kg과 20mg/kg 투여는 적혈구응집소가를 증가시켰으나 유의성은 인정되지 않았다.
7. 분심기음 엑기스 10mg/kg과 20mg/kg 투여는 적혈구응혈소가를 유의성있게 증가시켰다(p<0.01).
8. 분심기음 엑기스 20mg/kg 투여에서만 유의성있는 Rosette형성세포수의 증가가 관찰되었다(p<0.01).
9. 분심기음 엑기스 10mg/kg과 20mg/kg 투여는 작동세포와 포적세포의 비가 100 : 1에서만 유의성있는 자연살해세포활성의 증가를 보였다(p<0.01).
10. 분심기음 엑기스 10mg/kg과 20mg/kg 투여는 모두 유의성있는 임파구 증식을 보였다(p<0.01).
11. 분심기음 엑기스 10mg/kg과 20mg/kg 투여는 모두 유의성있는 Interleukin-2생산능의 향상을 보였다(p<0.01).
12. 분심기음 엑기스 10mg/kg과 20mg/kg 투여는 모두 유의성있는 탐식능의 증가를 보였다(p<0.01).

### 參考文獻

1. 서울대학교 의과대학. 腫瘍學. 서울:서울대학교출판부;1992, p.1-3, 31-44, 91-9.
2. 김정순. 疫學原論. 서울:신광출판사;1990,p.233-54.
3. 통계청. 2001.
4. 崔昇勳. 東醫腫瘍學. 서울:杏林書院;1995,19, p.32-42.
5. 鄭偉達. 中醫治療腫瘤經驗. 北京:中國醫藥科技出版社;1994, p.1-27.
6. 李岩. 腫瘤臨症備要. 北京:人民衛生出版社;1996, p.1-5, 18-28, 58-63.
7. Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. J. Immunol. Methods. 1986;89:271-7.
8. Schussler G, Schuber C. The influence of psychosocial factors on the immune system(psychoneuroimmunology) and their role for the incidence and progression of cancer. Z Psychosom Med Psychother. 2001;47(1):6-41.
9. Kiecolt-Glaser JK, Glaser R. Psychoneuroimmunology and cancer: fact of fiction?. Eur J Cancer. 1999; 35(11):1603-7.
10. Mose S, Budischewski KM, Rahn AN, Zander-Heinz AC, Bormeth S, Bottcher HD. Influence of irradiation on therapy-associated psychological distress in breast carcinoma patients. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2001;51(5):1328-35.
11. Speca M, Carlson LE, Goodey E, Angen M. A randomized, wait-list controlled clinical trial: the effect of a mindfulness meditation-based stress reduction program on mood and symptoms of stress in cancer outpatients. Psychosom Med. 2000;62(5):613-622.
12. Kiecolt-Glaser JK, McGuire L, Robles TF, Glaser R. Psychoneuroimmunology and psychosomatic medicine: back to the future. Psychosom Med. 2002;64(1):15-28.
13. 柳基遠 외. 脾系內科學. 서울:그린文化社;1991, p.89-91, 95-7.
14. 申載鏞. 方藥合編解說. 서울:成輔社;1988, p.143-4.
15. 田村豊行 외. Royal Jelly 抗腫瘍效果에 관한 研究. 日藥理誌. 1987;89:73.
16. 김광혁, 장명웅, 박무인. 마우스에 이식된 Sarcoma 180에 대한 Mycoplasma hominis의 항암효과. 대한암학회지. 1994;26(3):484-94.
17. Clamen HN, et al. Thymus marrow cell combinatin, synergism in antibody produciton. Soc. Exp. Biol. Med. Proc. 1966;122:1167.
18. Biozzi G, Stiffel C, Mouton D, Bouthiller Y and Decrusefound C. A kinetic study of antibody producing cell in the spleen with sheep erythrocytes. Immuno. 1968;14:7.
19. Mitsuoka A, Teramatsu T, Baba M, Morikawa S,

- Yasuhira K. Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous sensitization with sheep erythrocytes, evidence for tuberculin type delayed hypersensitivity of the reaction. *Immunol.* 1978;34:363.
20. Bach JF, Dardenne M. Antigen recognition by T-lymphocytes I, thymus and marrow dependence of spontaneous rosette forming cells in mouse. *Cell Immuno.* 1972;3:1.
  21. Brander C, Wyss-Coray T, Mauri D, Bettens F, Pichler WJ. Carrier-mediated uptake and presentation of a major histocompatibility complex class I-restricted peptide. *Eur. J. Immunol.* 1993;23(12): 3217-23.
  22. Decker T, Decker T, Lohmann-Matthes ML. A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor(TNF) activity. *J. Immunol. Method.* 1988;115(1):61-9.
  23. 양규환. 면역항진효과 측정방법; 전통약물로부터 신약개발 연구법. 서울:서울대학교 천연물과학연구소;1993,114-21.
  25. Gullberg M, Larsson EL. Studies on induction and effector function of concanavalin A-induced suppressor cells that TCGF production. *J. Immunol.* 1982; 128(2):746-750.
  25. 전병훈, 정우열. 만삼의 methanol 추출액이 Mitomycin C의 細胞毒性 效果에 미치는 影響. 한국전통학회지. 1997;7(2):5-10.
  26. 해리슨 번역 편찬위원회. HARRISON'S 내과학. 서울:정담;1997, p.1963, 1965-70, 1977-93.
  27. 낙화생 지음, 안덕균 옮김. 면역과 한방. 서울:열린책들;1994, p.15-48.
  28. 정태호. 면역학강의. 대구:경북대학교출판부;1993, p.294-303.
  29. 文濬典, 安圭錫, 崔昇勳. 東醫病理學. 서울:高文社;1990, p.78-81.
  30. 장중식, 김성훈, 송효정. 參茸湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 Cyclophosphamide에 의한 副作用 減少에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1992;13(1):313-323.