

足三里에 施術한 吳茱萸藥鍼이 抗癌 및 免疫機能에 미치는 影響

박기홍¹ · 이병렬¹ · 임윤경²

대전대학교 한의학과대학¹침구학교실²경혈학교실

Influence on the Anti-cancer and Immune response improvement of Herbal-acupuncture with Evodiae Fructus infusion solution into Zusanli(ST36)

Gi-Hong Park¹, Byung-Ryul Lee¹, Yun-Kyoung Yim²

¹Dept. of Acupuncture & Moxibustion, ²Meridianology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Abstract

Objectives and methods : Study the anti-cancer, anti-metastasis and immune response improvement effects of Herbal-acupuncture with Evodiae Fructus infusion solution, we injected Evodiae Fructus infusion solution into Zusanli(ST36) of C57BL/6 mouse which is corresponding to human Zusanli(ST36). We observed its effect on the number of CD25⁺/CD4⁺, CD8⁺/CD3e⁺, CD69⁺/B220⁺, NK1.1⁺/CD3e⁺ cells in mouse PBMCs, the number of the pulmonary colony, MST and ILS of C57BL/6 mice implanted intravenously with B16-F10 melanoma.

Results and Conclusions : The spleen cells proliferation of the sample groups treated with EDR-HAS extract has increased significantly compared with that of the control group. The percentage of the CD25⁺/CD4⁺, CD8⁺/CD3e⁺, CD69⁺/B220⁺, NK1.1⁺/CD3e⁺ cells in C57BL/6 mouse PBMCs of the sample groups treated with EDR herbal-acupuncture has increased compared with that of the control group. The lung colony number of the sample groups treated with EDR herbal-acupuncture has decreased significantly compared with that of the control group. MST and ILS of the sample groups treated with EDR herbal-acupuncture have increased significantly compared with those of the control group.

Key words : Evodiae Fructus(EDR), Herbal-Acupuncture, Zusanli(ST36), anti-cancer, immune response improvement

I. 緒 論

腫瘍은 組織의 自律的인 過剩 成長¹⁾으로 臨床 및 病理狀態인 所見에 의하여 良性腫瘍과 惡性腫瘍으로 區分하며, 一般的으로 腫瘍이라 하

면 大개 惡性腫瘍인 癌을 뜻한다.²⁾ 惡性腫瘍의 發生頻度가 急進的으로 增加하여 各種 癌에 의한 死亡이 1·2위를 차지하고 있어 癌의 豫防과 治療는 醫療界의 큰 과제로 등장하였다^{3·5)}.

韓醫學에서는 腫瘍, 癰疽, 腫毒, 積聚, 癥瘕, 巖, 陰瘡, 癭瘤, 肺癰, 肝癰, 腸癰, 疝瘕, 石癰, 石疽, 疔疽 등이 腫瘍의 範疇에 해당하고, 原因으

· 교신저자: 임윤경, 대전시 동구 용문동 96-3, Tel. 042-280-2610, Fax. 042-274-2600, E-mail: docwindy@dj.u.ac.kr

로는 六淫外邪의 外因과 七情內傷의 內因, 飮食失調와 過勞, 房勞過度의 不內外因등으로 區分⁶⁾ 되었으며, 이의 發病機轉은 氣滯血瘀, 痰結濕聚, 熱毒內蘊, 臟腑失調, 氣血虧虛, 經絡瘀阻 等이고,⁷⁾ 이러한 腫瘍에 대한 韓醫學的 治療法은 益氣健脾, 滋陰補血, 養血生津, 溫補脾腎하는 扶正法과 行氣理氣, 軟堅散結, 活血化瘀, 通絡解毒, 疏氣濕熱등의 祛邪法 및 扶正法에 祛邪法을 加味하는 扶正祛邪法등으로 分類하여 活用하고 있다.⁸⁻¹¹⁾

藥鍼療法은 經絡療法과 藥物療法の 原理를 바탕으로 研究된 新鍼治療 中の 하나이다. 疾病과 有關한 部位인 經穴, 阿是穴등의 陽性 反應點에 精製한 各種 韓藥物을 選擇 注入함으로써 經穴과 藥物이 疾病에 대해 綜合的인 作用을 충분히 發揮하여 疾病을 豫防하고 治療하는 方法으로¹²⁾, 免疫系疾患의 豫防 및 治療등에 有效하다는 報告가 最近에 많이 있으며, 臨床에서도 各種 疾患에 널리 應用되고 있다.¹³⁾

抗癌效果에 대하여 藥鍼療法을 利用한 實驗研究로는 瓦松, 苦蔘, 枸杞子 및 地骨皮, 猪苓을 藥鍼하여 抗癌 및 免疫機能의 增進 效果가 있다고 報告되었으나, 吳茱萸藥鍼에 대한 研究는 아직 接할 수 없었다.

이에 著者는 溫中, 止痛, 理氣, 燥濕의 效能이 있는 吳茱萸^{14,15)}로 藥鍼液을 調製한 후, 理脾胃·調氣血·補虛弱하는 足三里(St36)^{16,18)}에 藥鍼하여 抗癌과 免疫效果에 대하여 觀察하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材 料

1) 動物

動物은 4-5週齡의 雌性 C57BL/6 생쥐를 대

한실험센터에서 공급받아 實驗 當日까지 固型飼料(抗生劑 無添加, 삼양사료)와 물을 充分히 供給하고, 室溫 22±2℃를 維持하여 2週日 間 實驗 室環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

2) 藥 材

實驗에 使用된 吳茱萸(Evodiae Fructus, 이하 EDR로 表現함)는 大田大學校 附屬韓方病院에서 구입한 것을 精選하여 使用하였다.

3) 藥鍼液의 選定

Acetone과 Methanol의 濃度를 달리해서 抽出한 吳茱萸 物質分劃 藥鍼液 中에서 cytokine 遺傳子 發顯에 미치는 影響을 살펴본 結果는 70% acetone 100μg/ml의 吳茱萸 物質分劃 藥鍼液이 cytokine 遺傳子(IL-2, IL-10, IFN-γ, β-actin) 發顯에 다른 것들보다 뛰어난 것으로 나타났다.

4) 藥鍼液의 製造

吳茱萸 물질분획 藥鍼液은 곽 등¹⁹⁾의 方法에 따라 Diaion HP-20 수지를 利用하여 調製하였다. 물로 抽出한 吳茱萸 원액 100g을 수지가 들어있는 흡착 크로마토그래피에 부어 그 폭이 약 25~30cm될 정도로 放置하였다. 이후 증류수 1000ml를 부어 Diaion HP-20 수지를 통과한 (pass층) 吳茱萸液을 分離하였다. 계속해서 30% MeOH 500ml, 70% MeOH 500ml, 30% Acetone 500ml, 70% Acetone 500ml를 각각 통과시켜 分離된 分劃 中 생쥐의 PBMC 細胞에서 싸이토카인 誘導에 活性이 있는 分劃層을 選定하여 藥鍼液 製造를 하였다.

吳茱萸 70% Acetone層 分劃을 3회 濾別(3M paper)한 후 rotary evaporator로 減壓 濃縮하였다. 吳茱萸 濃縮液에 95% ethyl alcohol 30 ml를 加하여 실온에서 攪拌한 후 放置하여 生成된

沈澱物を 濾別하고, 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓 濃縮하여 生成된 沈澱物を 濾別하였다. 濾液을 다시 85% ethyl alcohol 30 ml를 加하여 잠시 攪拌 후 放置하여 生成된 沈澱物を 濾別하고 다시 濾液을 75% ethyl alcohol 30 ml를 加한 후 같은 操作을 2回 反復한 다음 濾液 中 ethyl alcohol을 減壓 除去하여 잔사 乾량을 20g이 되게 하고 1N NaOH로 pH6.8로 調節하여 低溫에서 12시간 放置한 후 微量의 浮游液을 濾別한 후 滅菌하여 10%와 20% 吳茱萸 70% Acetone層 藥鍼液으로 稀釋하여 使用하였다.

2. 方法

1) 脾臟細胞 測定

脾臟免疫細胞를 分離하여 96 well plate의 각 well에 5×10^5 cells씩 添加하고, 吳茱萸 70% Acetone층 藥鍼液을 濃度別로 處理하였고, 陽性對照群으로 Con-A (cocoavalin A, $10 \mu\text{g}/\text{ml}$)를 處理한 후 細胞를 37°C 에서 72시간 培養 후 $50 \mu\text{Ci}/\text{ml}$ 의 [methyl- ^3H] Thymidine (Amersham, USA)을 添加한 후 다시 8시간 培養하였다. 細胞內로 吸收된 방사선 동위원소의 양을 測定하기 위하여 細胞만을 세포수집기(Cell Harvester)를 使用하여 유리 섬유여지(Glass microfibre filter, Whatman)위에 捕獲하고, 乾燥한 후 방사선 측정기(Liquid Scintillation Counter, LKB)를 利用하여 방사선 동위원소의 양을 測定하였다.

2) In vivo에서 免疫細胞 增進과 活性化 實驗

① B16-F10 癌細胞株 移植

B16-F10 (ATCC, CRL-6475)을 C57BL/6 생쥐의 皮下에 繼代培養하였고 實驗前에 形成된 腫瘍組織 部位를 分離하여 腫瘍組織 1g에 10ml 의 cold D-PBS (Ca^{2+} & Mg^{2+} -free, Sigma)가 되

게 調節한 後 100mesh (Sigma)로 腫瘍組織을 粉碎한 後 遠心分離($1,500 \text{rpm}$, 5min.)하였다. 이 pellet에 collagenase ($1,700 \text{U}/\text{mg}$, Type-XI Sigma)를 B16-F10 $0.1 \text{g}/\text{ml}$ 에 處理하여 30分間 water bath(37°C)에서 培養시킨 後 遠心分離($1,300 \text{rpm}$, 5min.)하였다. 上騰液을 除去한 다음 $0.85\% \text{NH}_4\text{Cl}$ 을 넣어 잘 섞은 것을 37°C 培養器에서 5分間 放置하여 赤血球를 破壞시킨 後 遠心分離하여 B16-F10을 分離하였다. 이렇게 얻어진 B16-F10 癌細胞株($2 \times 10^5 \text{ cells}/\text{mouse}$)를 C57BL/6 생쥐의 尾靜脈에 移植하였다.

② 實驗群의 分類

實驗群은 다음과 같이 分類하였다.

對照群-A(Control-A) : B16-F10 癌細胞株를 移植한 群

對照群-B(Control-B) : 7일간 足三里에 1일 1회 刺鍼한 후, B16-F10 癌細胞株를 移植하고 계속해서 15일간 足三里에 1일 1회 刺鍼한 群

對照群-C(Control-C) : 7일간 생리식염수(0.1ml)를 足三里에 1일 1회 注入한 후 B16-F10 癌細胞株를 移植하고, 계속해서 15일간 생리식염수 10ml 를 足三里에 1일 1회 注入한 群

實驗群-A(sample-A) : 10% 吳茱萸 藥鍼(70% Acetone층) 0.1ml 를 7일간 足三里에 施術한 후, B16-F10 癌細胞株를 移植하고, 계속해서 15일간 足三里에 藥鍼施術한 群

實驗群-B(sample-B) : 1% 吳茱萸 藥鍼(70% Acetone層) 0.1ml 를 7일간 足三里에 施術한 후, B16-F10 癌細胞株를 移植하고, 계속해서 15일간 足三里에 藥鍼施術한 群

③ 取穴

人體의 足三里에 相應하는 實驗動物의 體表面의 鬚를 除去한 後 骨度分寸法에 依據하여 經穴 探知器(D-J3型, 耳電鍼器 上海醫療器)를 使用하

여 取穴하였다.

④ 藥鍼

藥鍼注射器로 1ml의 注射器를 使用하여 各各의 實驗群에 따라 足三里에 0.1ml씩, 1日 1回, 總 22日間 藥鍼施術하였다.

⑤ CD3e⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD25⁺, CD69⁺, N.K 1.1⁺, B220⁺ 螢光細胞 分析

B16-F10細胞株를 C57BL/6 생쥐에 移植한지 3일째 頸椎奪骨法으로 致死시킨 후 脾臟을 分離하였다. 脾臟細胞에 赤血球溶血液을 處理하여 赤血球를 除去하고 4℃에서 면역 螢光염색(immunofluorescence staining)을 實施하였고, 각각에 PE-anti-CD3e, FITC-anti-CD4, FITC-anti-CD8, PE-anti-CD25, FITC-anti-CD69, PE-anti-NK1.1, PE-anti-B220을 넣고 30분간 얼음에서 反應시켰다. 反應 후 3회 이상 인산완충생리식염수로 水洗한 후 flow cytometer (Becton Dickinson, USA)의 Cell Quest 프로그램을 利用하여 CD25+/CD4+, CD8+/CD3e+, CD69+/B220+, N.K.1.1+/CD3e+ 細胞를 分析(%)하였다.

⑥ Pulmonary colonization assay

C57BL/6 생쥐에 B16-F10 癌細胞株 移植한 後 15日에 colony assay를 實施하였다. Pulmonary colonization assay는 肺臟의 外部에 나타난 黑色의 colony 數를 顯微鏡(Nikon, Japan)으로 觀察하였다.

⑦ 病理組織檢査

B16-F10 癌細胞株를 移植하고 15日 後에 各群에서 肺를 分離하여 10% formaldehyde 溶液에 固定한 後 細切하여 흐르는 물에 8時間동안 水洗한 다음 scheme 2와 같은 過程을 거쳐 포

매한다. 이것을 microtome으로 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin染色을 하였다.

⑧ 生命延長曲線 測定

B16-F10 癌細胞株를 C57BL/6 생쥐에 移植한 날부터 시작하여 매일 生存與否를 觀察하여 平均生存日數 및 延命率을 구하였다.

MST (mean survival time) : 平均生存日數

ILS (Increase in MST over Control-3) : 延命率= $\frac{(T-C)}{C} \times 100$ (%)

T : 處置群의 MST

C : 對照群의 MST

3. 統計處理

統計는 student's t-test로 하였다.

Table 1. Effect of EDR-HAS extract on spleen cells proliferation in Balb/c mice

Group	Dose	Spleen cells production(cpm)
Media control	0	1,267±146
Con-A($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0	38,760±5,194***
	10	13,119±4,510*
EDR-HAS(%)	1	7,231±1,024***
	0.1	3,056±784*

Mouse B cells from healthy C57BL/6 mice were treated with EDR-HAS extract(10, 1, 0.1 %).

Spleen cells were cultured with Con-A(Positive control) and EDR-HAS extract for 48 hrs.

After 40 hrs incubation, treated ³H-thymidine uptake, the culture supernatants and spleen cells were collected using cell harvester(Cambridge Tee, UK).

The cell proliferation were measured to liquid scintillation counter(LKB, USA) as described in Materials and Methods.

Statistically significant value compared with control data by T test (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

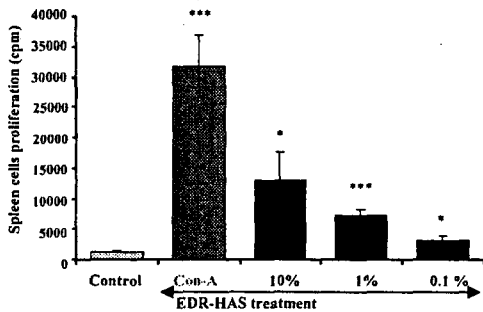
III. 成 績

1. 吳茱萸 藥鍼液이 脾臟細胞 增殖에 미치는 影響

70% acetone 100 μ g/ml의 吳茱萸 物質分割 藥鍼液을 건강한 Balb/c mouse에서 抽出한 脾臟細胞에 각각 10, 1, 0.1 %의 濃度로 處理하여 脾臟細胞의 增殖에 미치는 影響을 알아본 결과, 脾臟細胞는 濃度에 依存的으로 有意性 있게 增加하였다(Table 1., Fig. 1.).

2. 吳茱萸 藥鍼이 CD25⁺/CD4⁺, CD8⁺/CD3e⁺, CD69⁺/B220⁺, NK⁺/CD3e⁺ 細胞數에 미치는 影響

Fig. 1. Effect of EDR-HAS extract on spleen cells proliferation in C57BL/6 mice.



Mouse B cells from healthy C57BL/6 mice were treated with EDR-HAS extract(10, 1, 0.1 %).

Spleen cells were cultured with Con-A (Positive control) and EDR-HAS extract for 48 hrs.

After 40 hrs incubation, treated ³H-thymidine uptake, the culture supernatants and spleen cells were collected using cell harvester(Cambridge Tee, UK).

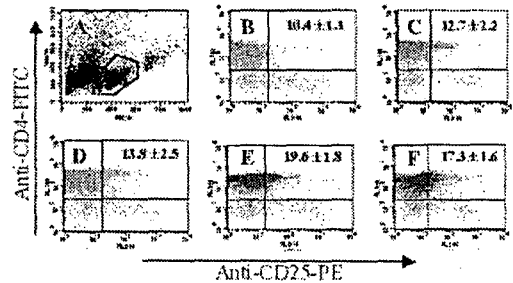
The cell proliferation were measured to liquid scintillation counter(LKB, USA) as described in Materials and Methods.

Statistically significant value compared with control data by T test (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

1) PBMCs중 CD25⁺/CD4⁺ 細胞의 比率

C57BL/6 mouse의 PBMCs중 CD25⁺/CD4⁺의 細胞의 比率이 Control-A에서는 10.4 ± 1.1 %, Control-B에서는 12.7 ± 2.2 %, Control-C에서는 13.8 ± 2.5 %이었으나, Sample-A, Sample-B에서는 각각 19.6 ± 1.8 %와 17.3 ± 1.6 %로 增加하였다(Fig. 2.).

Fig. 2. Effects of EDR-HA on the percentage of CD25⁺/CD4⁺ in mouse PBMCs.



C57BL/6 mice were implanted intravenously with B16-F10 melanoma (2×10⁵ cells) on the 7th day. The mice were treated with EDR-HA into Zusanli(St36) for 10 days beginning on the day of the first EDR-HAS injection. After 10days, C57BL/6 mouse PBMCs (5×10⁶ cell/ml) were isolated, and the PBMCs were washed twice and analyzed by flow cytometer. Events in panel (left upper) were backscattered onto a dot-plot of SSC versus FSC(A). Two groups treated with EDR-HA showed increased number of CD25⁺/CD4⁺ T cells.

Control-A (B) : B16-F10 melanoma only

Control-B (C) : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36)

Control-C (D) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline.

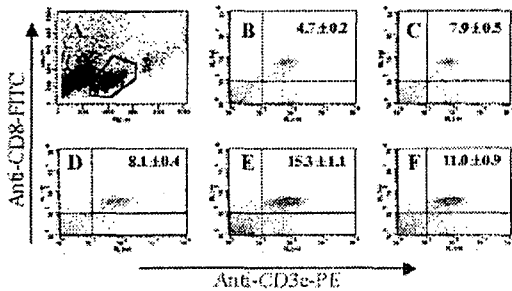
Sample-A (E) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% EDR-HAS.

Sample-B (F) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% EDR-HAS.

2) PBMCs중 CD8⁺/CD3e⁺ 細胞의 比率

C57BL/6 mouse의 PBMCs중 CD8⁺/CD3e⁺ 細胞의 比率이 Control-A에서는 4.7 ± 0.2 %, Control-B에서는 7.9 ± 0.5 %, Control-C에서는 8.1 ± 0.4 %이었으나, Sample-A, Sample-B에서는 각각 15.3 ± 1.1 %와 11.0 ± 0.9 %로 增加하였다(Fig. 3.).

Fig. 3. Effects of EDR-HA on the percentage of CD8⁺/CD3e⁺ in mouse PBMCs.



C57BL/6 mice were implanted intravenously with B16-F10 melanoma (2×10^5 cells) on the 7th day. The mice were treated with EDR-HA into Zusanli(St36) for 10 days beginning on the day of the first EDR-HAS injection. After 10days, C57BL/6 mouse PBMCs (5×10^6 cell/ml) were isolated, and the PBMCs were washed twice and analyzed by flow cytometer. Events in panel (left upper) were backscattered onto a dot-plot of SSC versus FSC(A). Two groups treated with EDR-HA showed increased number of CD8⁺/CD3e⁺ T cells.

Control-A (B) : B16-F10 melanoma only

Control-B (C) : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36)

Control-C (D) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline.

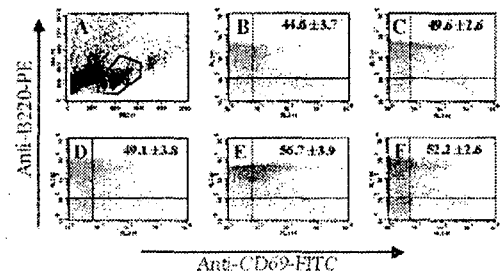
Sample-A (E) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% EDR-HAS.

Sample-B (F) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% EDR-HAS.

3) PBMCs중 CD69⁺/B220⁺ 細胞의 比率

C57BL/6 mouse의 PBMCs중 CD69⁺/B220⁺ 細胞의 比率이 Control-A에서는 44.6 ± 3.7 %, Control-B에서는 49.6 ± 2.6 %, Control-C에서는 49.1 ± 3.8 %이었으나, Sample-A, Sample-B에서는 각각 56.7 ± 3.9 %와 52.2 ± 2.6 %로 增加하였다(Fig. 4.).

Fig. 4. Effects of EDR-HA on the percentage of CD69⁺/B220⁺ in mouse PBMCs.



C57BL/6 mice were implanted intravenously with B16-F10 melanoma (2×10^5 cells) on the 7th day. The mice were treated with EDR-HA into Zusanli(St36) for 10 days beginning on the day of the first EDR-HAS injection. After 10days, C57BL/6 mouse PBMCs (5×10^6 cell/ml) were isolated, and the PBMCs were washed twice and analyzed by flow cytometer. Events in panel (left upper) were backscattered onto a dot-plot of SSC versus FSC(A). Two groups treated with EDR-HA showed increased number of CD69⁺/B220⁺ B cells.

Control-A (B) : B16-F10 melanoma only

Control-B (C) : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36)

Control-C (D) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline.

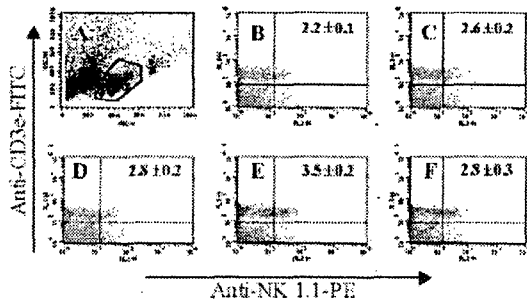
Sample-A (E) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% EDR-HAS.

Sample-B (F) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% EDR-HAS.

4) PBMCs중 NK⁺/CD3e⁺ 細胞의 比率

C57BL/6 mouse의 PBMCs중 NK⁺/CD3e⁺ 세포의 比率이 Control-A에서는 2.2 ± 0.1 %, Control-B에서는 2.6 ± 0.2 %, Control-C에서는 2.8 ± 0.2 %, Sample-A, Sample-B에서는 각각 3.5 ± 0.2 %와 2.8 ± 0.3 %로 增加하였다(Fig. 5.).

Fig. 5. Effects of EDR-HA on the percentage of N.K 1.1⁺/CD3e⁺ in mouse PBMCs.



C57BL/6 mice were implanted intravenously with B16-F10 melanoma (2×10^5 cells) on the 7th day. The mice were treated with EDR-HA into Zusanli(St36) for 10 days beginning on the day of the first EDR-HAS injection. After 10 days, C57BL/6 mouse PBMCs (5×10^6 cell/ml) were isolated, and the PBMCs were washed twice and analyzed by flow cytometer. Events in panel (left upper) were backscattered onto a dot-plot of SSC versus FSC(A). Two groups treated with EDR-HA showed increased number of N.K 1.1⁺/CD3e⁺ natural killer cells.

Control-A (B) : B16-F10 melanoma only

Control-B (C) : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36)

Control-C (D) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline.

Sample-A (E) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% EDR-HAS.

Sample-B (F) : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% EDR-HAS.

3. Pulmonary colony에 미치는 影響

Control-A에서는 76.4 ± 6.9 개, Control-B에서는 67.2 ± 4.2 개, Control-C에서는 69.1 ± 3.7 개였으나, Sample-A, Sample-B에서는 각각 33.6 ± 3.9개와 52.5 ± 4.5개로 나타났다 (Table 2., Fig. 6. 7.).

Table 2. Effects of EDR-HA on Pulmonary colony number of C57BL/6 mice implanted intravenously with B16-F10 melanoma.

Group	Dose	No./ animal	Pulmonary Colony No.	Decrease (%)
Control-A	0	12	76.4±6.9	
Control-B	0	12	67.2±4.2	
Control-C	0	12	69.1±3.7	
Sample-A	10%	12	33.6±3.9***	51.4
Sample-B	1%	12	52.5±4.5**	24.0

C57BL/6 mice were implanted intravenously with B16-F10 melanoma (2×10^5 cells) on the 7th day. The mice were treated with EDR-HA into Zusanli(St36) for 22 days beginning on the day of the first EDR-HAS injection.

Pulmonary colony was observed 15 days after the B16-F10 melanoma implantation.

Control-A : B16-F10 melanoma only

Control-B : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36)

Control-C : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline.

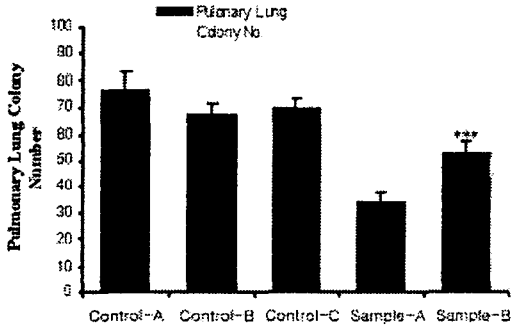
Sample-A : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% EDR-HAS.

Sample-B : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% EDR-HAS.

Each point represents the mean±S.E of 12 mice.

Statistically significant value compared with control-3 data by T test(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

Fig. 6. Effects of EDR-HA on lung colony number of C57BL/6 mice implanted intravenously with B16-F10 melanoma.



C57BL/6 mice were implanted intravenously with B16-F10 melanoma (2×10^5 cells) on the 7th day. The mice were treated with EDR-HA into Zusanli(St36) for 10 days beginning on the day of the first EDR-HAS injection.

Pulmonary colony was observed 15 days after the B16-F10 melanoma implantation.

Control-A : B16-F10 melanoma only

Control-B : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36)

Control-C : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline.

Sample-A : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% EDR-HAS.

Sample-B : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% EDR-HAS.

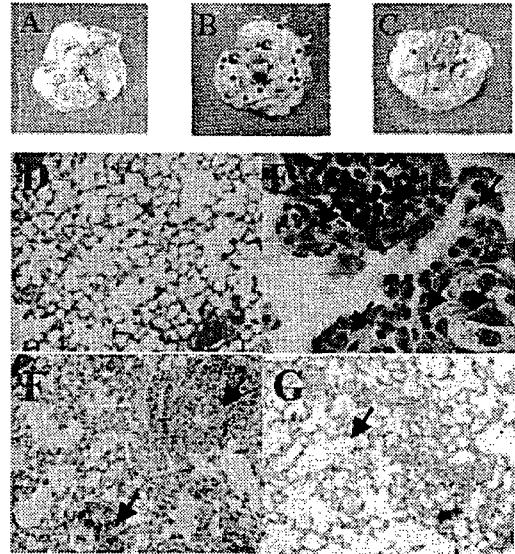
Each point represents the mean \pm S.E of 12 mice.

Statistically significant value compared with Control-C data by T test(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

4. 平均生存日數 및 延命率에 미치는 影響

平均生存日數는 Control-A에서는 17.1 ± 2.7 일, Control-B에서는 18.4 ± 3.4 일, Control-C에서는 17.6 ± 2.6 일이었으나, Sample-A, Sample-B에서는 각각 23.1 ± 3.0 일과 19.6 ± 2.5 일로 나타나 延命率이 Sample-A, Sample-B

Fig. 7. Representative lungs to show inhibition of melanotic colony formation, and histological analysis of lung tissue of B16-F10 melanoma metastasis in C57BL/6 mice.



C57BL/6 mice were i.v. injected with 2.0×10^5 cells B16-F10 melanoma. 14 days after later, tumor pulmonary colonization became palpable, they were sacrificed, fixed in 10% buffered formalin and embedded in paraffin. Paraffin sections were stained with hematoxylin/eosin. The panels are representative photomicrographs of each of these tumors (arrow) at bright microscope (Nikon, $\times 100$).

Normal group : not treated (A,D)

Control-B : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36)(E)

Control-C : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline.(B,F)

Sample-A : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% EDR-HAS.(C,G)

Sample-B : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% EDR-HAS.(C,G)

에서 각각 31.3 %와 11.4 %로 나타났다(Table 3., Fig. 8).

Table 3. Effects of EDR-HA on MST of C57BL/6 mice implanted intravenously with B16-F10 melanoma.

Group	Dose	No./ animal	MST (day)	ILS (%)
Control-A	0	12	17.1±2.7	
Control-B	0	12	18.4±3.4	
Control-C	0	12	17.6±2.6	
Sample-1	10%	12	23.1±3.0	31.3
Sample-2	1%	12	19.6±2.5	11.4

C57BL/6 mice were implanted intravenously with B16-F10 melanoma (2×10^5 cells) on the 7th day, treated with EDR-HA into Zusanli(St36) for 22 days beginning on the day of the first EDR-HAS injection.

MST(mean survival time); ILS(Increase in MST over. Control-C)={ $(T-C)/C$ } $\times 100$ (%)

T : MST of Sample group

C : MST of Control-C

Control-A : B16-F10 melanoma only

Control-B : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36)

Control-C : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline.

Sample-A : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% EDR-HAS.

Sample-B : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% EDR-HAS.

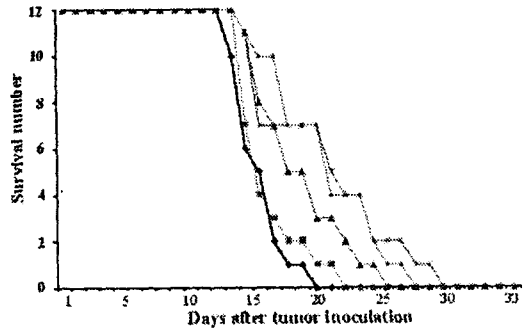
Each point represents the mean±S.E of 12 mice.

Statistically significant value compared with control-3 data by T test(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

IV. 考 察

吳茱萸(Evodiae Fructus)는 芸香科(우향과; Rutaceae)에 속한 落葉灌木 혹은 小喬木인 吳茱萸 Evodia rutaecarpa(Juss.) BENTH., 石虎 E. rutaecarpa BENTH. var. officinalis HUNANG 혹은 毛脈吳茱萸 E. rutaecarpa BENTH. var. bodinieri HUANG의 未成熟果實

Fig. 8. Effects of EDR-HA of survival time of C57BL/6 mice implanted intravenously with B16-F10 cells.



C57BL/6 mice were i.v. injected with 2.0×10^5 cells B16-F10 melanoma 14 days later, tumor pulmonary colonization became palpable, and the mice were counted for survival time once daily.

Control-A : B16-F10 melanoma only(◆).

Control-B : B16-F10 melanoma + stimulation at left Zusanli(St36)(▲).

Control-C : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of saline (■).

Sample-A : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 10% EDR-HAS(×).

Sample-B : B16-F10 melanoma + intradermal injection into left Zusanli(St36) with 0.1ml of 1% EDR-HAS(▲).

Each point represents the mean±S.E of 12 mice.

로, 精油로서 evoden, ocimene, evodin, evodol 등이 함유되어 있고 alkaloid로서 evodiamine, rutaecarpine, wuchuyine 등이 함유되어^{14,20)} 驅蟲, 抗菌, 中樞作用 등 有效한 藥理作用을 가지고 있으며, 高血壓, 消化不良, 濕疹, 神經性皮炎, 黃水瘡, 口腔潰瘍 등에 臨床活用하고 있다²⁰⁾.

《神農本草經》에 吳茱萸는 “味辛溫 主溫中下氣 止痛 咳逆寒熱 除濕 血痺 逐風邪 開溱理 根殺三蟲 一名藪 生山谷”이라 기재된 이래²¹⁾, 溫中, 止痛, 理氣, 燥濕 등의 效能으로 嘔逆吞酸, 關陰頭痛, 臍寒吐瀉, 脘腹脹痛, 脚氣, 疝氣, 口瘡

遺瘍, 齒痛, 濕疹 等の 症狀에 應用되고 있다.¹⁴⁾

吳茱萸에 對한 研究로 李²²⁾가 憂鬱症에 效果가 있다고 하였고, 姜²³⁾은 血壓降下와 血管弛緩에 效果가 있음을 報告한 바가 있다.

足三里(St36)는 足陽明胃經의 合穴로, 調脾胃, 調氣血, 補虛弱, 調中氣 和腸消滯 疎風化濕 通調經絡氣穴 扶正培元 祛邪防病하는 作用이 있어, 嘔吐, 霍亂, 腹瀉, 腹痛, 腹部膨滿, 便秘, 消化不良, 食慾不振, 泄瀉, 胃炎, 痢疾 等の 消化器疾患에 廣範圍하게 활용되며¹⁶⁻¹⁸⁾, 脾胃의 機能을 調節하여 氣血의 運行을 원활히 하므로써 正氣를 敦篤히 하여 人體의 免疫機能을 向上시켜 疾病을 治療하고 疾病을 豫防할 수 있을 것으로 思料된다.

藥鍼療法은 穴位注射療法이라고도 하며, 이것은 東西醫結合의 一種인 新鍼法으로 患者의 疾病을 根據로 穴位의 經絡作用과 藥物의 藥理作用을 살핀 다음, 相應하는 俞穴과 藥物이 疾病에 對해 綜合的인 作用을 충분히 發揮하게 하여 疾病을 治療하는 方法¹²⁾으로 金²⁴⁾의 藥鍼治療에서는 俞穴이 多用되고 있고, 여기에 募穴을 첨가하면 이들은 서로 그 氣血이 相通한다는 原則에 따라 같이 사용하면 效果가 좋다고 하였다.

腫瘍은 組織의 自律的인 過剩成長으로 正義되며¹⁾, 細胞學的으로 非正常的인 細胞의 過多增殖으로 因하여 實質臟器, 有腔臟器 및 骨格, 皮膚組織 等に 非正常的인 組織을 形成하는 疾患으로²⁾ 臨床 및 病理形態的인 所見에 의해서 良性腫瘍과 惡性腫瘍으로 區分하는데, 惡性腫瘍은 迅速히 成長하고 體內的 各 部位로 擴散 및 轉移를 일으켜 發病者가 死亡에 이르게 하는 致命的인 疾病으로 一般的으로 腫瘍이라 하면 대개 惡性腫瘍인 癌을 意味한다^{1,2)}.

西洋醫學에서는 癌의 發生因子로 遺傳, 人種, 地理學的 因子, 年齡, 免疫學的 因子 等の 內的

因子와 化學的 發癌物質, 放射線, 腫瘍性 바이러스 等の 外的因子로 나누고 있다¹⁾.

癌은 現代醫學의 發展에도 불구하고 아직도 그 原因이 명확히 밝혀지지 않은 바가 많으며 最近 첨단 진단기기와 手術, 放射線治療, 抗癌療法, 免疫療法 등의 계속적인 발전에도, 대부분 癌의 治療는 아직 기대할 만한 수준에 이르지 못하고 있는 실정이다²⁵⁾.

西洋醫學에서의 이러한 癌의 治療法에는 手術療法, 化學療法, 放射線療法, 免疫療法, 遺傳子療法等이 있지만²⁶⁾, 그 중 手術療法과 放射線療法은 局所性 癌에만 適用되는 限界가 있고, 化學療法은 全身性 癌에 適用될 수 있지만 個體의 抵抗力이 너무 떨어진다는 副作用이 있기 때문에, 全身療法인 免疫療法은 아직은 輔助的인 療法으로 適用되고 있고²⁷⁾, 遺傳子療法은 아직 治療方法이 定立되지 못한 實情이나, 그에 반해 患者의 正常組織 특히, 免疫系 組織에 피해를 주는 化學療法의 短點을 줄이기 위해 免疫감시기구를 補強함으로써 癌에 對抗하는 免疫療法은 갈수록 각광을 받고 있다²⁸⁾.

이러한 化學療法이나 放射線療法으로 發生하는 副作用인 眩暈, 乏力의 全身症狀과 惡心嘔吐, 食慾不振, 腹痛, 泄瀉 등의 胃腸障害, 骨髓造血障害, 臟器의 中毒, 神經炎, 閉經, 脫毛, 皮膚變化 등의 문제점들은 韓醫學에서 健脾和胃, 滋補肝腎, 補氣養血, 生津潤燥, 清熱解毒시키는 韓藥으로써 減少시킬 수 있는데^{29,30)}, 化學療法과 放射線療法을 祛邪法으로 인정하여 扶正法을 中心으로 하는 韓藥을 投與하여 免疫機能을 增加시키고 骨髓造血機能을 改善하며, 內分泌機能을 調節하여 抵抗力을 增加시킴으로써 抗癌作用을 強化하고 副作用을 減少시켜²⁹⁾, 순조롭게 放射線療法이나 化學療法을 받을 수 있도록 하며 癌 자체를 억제하기도 한다³¹⁾. 이렇듯 현재 癌에 대

한 韓醫學治療는 直接的인 腫瘍治療 뿐만 아니라 洋方治療의 副作用을 輕減시켜 治療效果 및 腫瘍患者의 生活의 質을 向上시킴으로써 腫瘍治療에 있어서 그 有效性이 立證되고 있다³²⁾.

韓醫學에서 腫瘍에 대한 認識은 일찍부터 있었다. 이에 대한 記述은 殷墟의 甲骨文에서 “瘤”라 한 곳에서 처음 나타난다³³⁾. 그 후 《黃帝內經》^{34,35)}에서 積聚, 蠱脹, 腸覃, 石瘕, 息賁, 石癭, 伏梁 등으로 表現하였다.

腫瘍의 原因은 原發性과 續發性으로 나누어지는데, 原發性 原因은 外感六淫과 疫癘邪毒의 外因과 七情, 飲食失調, 過勞의 內因으로 나누고 續發性 原因은 痰飲瘀血로 分類⁶⁾하고 있다.

腫瘍의 病機는 氣血阻滯, 血瘀, 痰飲, 濕熱蓄毒 等이며⁷⁾, 특히 精氣虛는 모든 疾病을 일으키는 중요한 內的 條件으로 人體의 生理活動을 정상적으로 유지시키고 內外的 原因으로부터 人體를 防禦하고 疾病으로부터 回復시키는 作用³⁶⁾을 한다.

韓醫學에서 癌의 治療는 益氣養血, 養陰生津, 健脾益氣, 補肝益腎, 健脾益腎 등 인체 抗病 能力을 增進시키는 扶正培本法과 清熱解毒, 活血化瘀, 化痰消癥, 理氣消腫 등 癌細胞를 직접 攻擊하는 祛邪法 및 이 두 가지 方法을 배합한 扶正祛邪法 등³⁷⁾으로 區別된다.

正氣虛損은 腫瘍形成 과정에 있어서 중요한 原因의 하나이다. 또한 癌患者는 날이 갈수록 氣血損傷의 정도가 甚해지고 生體의 抵抗力 減少로 인한 腫瘍의 轉移와 擴散이 쉽게 일어난다. “養正積自消”라 하여 扶正培本法은 腫瘍의 豫防과 轉移 및 再發 抑制의 중요한 治法 중 하나이다. 扶正培本法은 益氣養血, 養陰生津, 滋陰補腎, 溫腎保養의 4가지로 나누어 治療하게 되는데³⁸⁾, 金³⁹⁾ 등은 氣血虧損의 腫瘍患者에게 益氣養血法을 활용하였고, 이미 轉移 혹은 擴散된 中

末期 腫瘍의 경우 養陰生津法을 활용하였으며, 腎陰이 損傷된 境遇 滋陰補腎法을 활용하여 生體의 抗病力을 向上시키며 癌性 病理變化의 安定 혹은 好轉을 돕는다고 하였다.

CD는 cluster of differentiation의 略字이며 표식인자 特性에 따라 CD1, CD2, CD3 등으로 부른다. CD4 T細胞는 보조 T림프구이고, CD8 T細胞는 抑制 T細胞 또는 細胞毒性 T細胞이다. 말초 T림프구는 CD4와 CD8 중 하나만 가진다. CD4를 갖는 보조 T細胞는 다시 제1형 보조 T細胞(TH1)와 제2형 보조 T細胞(TH2)로 區別된다. CD4, CD8은 T림프구를 다시 細分하는 표식인자로 利用되고 있으나, 모든 T세포 표면에 表現되는 표식인자로 CD3이 있다⁷⁴⁾. CD3은 T Cell 결정표지인자로, T림프구 항원 수용체에 항원이 結合된 信號를 細胞안으로 傳達한다. CD25는 activated T & B cell에 分布하며 IL-2 수용체의 機能을 가지고 있다. CD69는 activated B & T cell, 대식세포, NK cell에 分布하고 있다. B220은 사람에게엔 없지만 mouse의 B細胞 표면에 있는 표식자이다⁴⁰⁾.

抗癌效果에 대해 藥鍼療法을 利用한 實驗研究로는 瓦松, 苦蔘, 枸杞子 및 地骨皮, 猪苓을 藥鍼하여 抗癌 및 免疫機能의 增進 效果가 있다고 報告되었으나, 吳茱萸藥鍼에 대한 研究는 아직 接할 수 없었기에 著者는 溫中, 止痛, 理氣, 燥濕의 效能이 있는 吳茱萸^{14,15)}로 藥鍼液을 製造한 후, 理脾胃, 調氣血, 補虛弱하는 足三里 (St36)¹⁶⁻¹⁸⁾에 施術하여 抗癌 및 免疫機能에 미치는 影響 등을 觀察하였다.

Acetone과 Methanol의 濃度를 달리해서 抽出한 吳茱萸 藥鍼液 中에서 cytokine 遺傳子 發顯에 미치는 影響을 살펴본 結果, 70% acetone 100 μ g/ml의 吳茱萸 藥鍼液이 cytokine 遺傳子 (IL-2, IL-10, IFN- γ , β -actin) 發顯에 다른 것

들보다 뛰어난 것으로 나타나, 본 實驗에서 70% acetone 100 μ g/ml의 吳茱萸 藥鍼液을 사용하여 Bala/c 생쥐의 脾臟細胞 增殖, B16-F10 癌細胞株를 이식한 C57BL/6 생쥐의 CD25⁺/CD4⁺, CD8⁺/CD3e⁺, CD69⁺/B220⁺, NK⁺/CD3e⁺ 細胞數, Lung colony number에 미치는 影響, 平均生存日數(MST) 및 延命率(ILS) 등을 觀察하였다.

70% acetone 100 μ g/ml의 吳茱萸 藥鍼液을 건강한 Balb/c mouse에서 抽出한 脾臟細胞에 각각 10, 1, 0.1 %의 濃度로 처리하여 脾臟細胞의 增殖에 미치는 影響을 알아본 결과, 10%에서 13,119 \pm 4,510cpm으로 나타났고, 1%에서 7,231 \pm 1,024cpm으로 나타났으며, 0.1%에서 3,056 \pm 784cpm으로 나타나 脾臟細胞는 濃度 依存的으로 有意性있게 增加하였다.(Table 1, Fig. 1).

생쥐의 In vivo에서 免疫細胞 增進과 活性化 實驗에서는 CD25⁺/CD4⁺ 細胞數의 比率이 Control-A에서는 10.4 \pm 1.1 %, Control-B에서는 12.7 \pm 2.2 %, Control-C에서는 13.8 \pm 2.5 %이었으나, Sample-A와 Sample-B에서는 각각 19.6 \pm 1.8 %와 17.3 \pm 1.6 %로 增加하여 Th cell의 增進과 活性化에 濃度 依存的으로 比例하여 有效性 있는 增加를 보였다.

CD8⁺/CD3e⁺ 細胞數의 比率은 Control-A에서는 4.7 \pm 0.2 %, Control-B에서는 7.9 \pm 0.5 %, Control-C에서는 8.1 \pm 0.4 % 이었으나, Sample-A와 Sample-B에서는 각각 15.3 \pm 1.1 %와 11.0 \pm 0.9 %로 增加하여 Tc/s cell의 增進과 活性化에 濃度 依存的으로 比例하여 有效性 있는 增加를 보였다.

D69⁺/B220⁺ 細胞數의 比率은 Control-A에서는 44.6 \pm 3.7 %, Control-B에서는 49.6 \pm 2.6 %, Control-C에서는 49.1 \pm 3.8 %이었으나, Sample-A와 Sample-B에서는 각각 56.7 \pm 3.9

%와 52.2 \pm 2.6 %로 增加하여 B cell 增進과 活性化에 濃度 依存的으로 比例하여 有效性 있는 增加를 보였다.

NK⁺/CD3e⁺ 細胞數의 比率은 Control-A에서는 2.2 \pm 0.1 %, Control-B에서는 2.6 \pm 0.2 %, Control-C에서는 2.8 \pm 0.2 %이었으나, Sample-A와 Sample-B에서는 각각 3.5 \pm 0.2 %와 2.8 \pm 0.3 %로 나타나는데 NK cell의 增進과 活性化에 濃度 依存的으로 比例하여 有效性 있는 增加를 보였다.

이상의 Bala/c 생쥐의 脾臟細胞 增殖, B16-F10 癌細胞株를 이식한 C57BL/6 생쥐의 CD25⁺/CD4⁺, CD8⁺/CD3e⁺, CD69⁺/B220⁺, NK⁺/CD3e⁺ 細胞數의 비율을 보는 實驗에서 全般的으로 螢光細胞들은 藥鍼의 濃度에 比例하여 增加하여 吳茱萸 藥鍼이 免疫機能 增進에 有效한 結果가 있었음을 알 수 있었다.(Fig. 2-5).

또, B16-F10 癌細胞株 移植 後 吳茱萸 藥鍼液을 注入한 C57BL/6 생쥐에서 癌細胞株 移植 後 15日에 肺臟의 外部에 나타난 黑色의 colony 數를 현미경으로 觀察한 結果 Control-A에서는 76.4 \pm 6.9개, Control-B에서는 67.2 \pm 4.2개, Control-C에서는 69.1 \pm 3.7개였으나, Sample-A와 Sample-B에서는 각각 33.6 \pm 3.9개(51.4% 減少)와 52.5 \pm 4.5개(24.0% 減少)로 나타나 病理組織檢査에서도 Sample-A은 Control-A, Control-B에 比해 正常 肺組織에 근사할 정도로 lung colony가 현저하게 減少하여 有意性 있는 結果가 나왔다.(Table2, Fig.6,7).

平均生存日數는 Control-A에서는 17.1 \pm 2.7 일, Control-B에서는 18.4 \pm 3.4 일, Control-C에서는 17.6 \pm 2.6 일이었으나, Sample-A와 Sample-B에서는 각각 27.6 \pm 3.6 일과 23.7 \pm 2.5 일로 나타나 有意性 있게 增加하였으며, Sample-A와 Sample-B의 延命率이 56.8%와

34.7%로 나타나 濃度依存的으로 有意性있게 나타났다.(Table 3, Fig.8).

以上の 實驗結果에서 吳茱萸 藥鍼을 施術한 實驗群이 施術하지 않은 對照群에 比하여 有意한 結果를 나타내었는데 이는 吳茱萸가 溫中, 止痛, 理氣, 燥濕 등의 效能을 가진 藥物로서 抗癌 및 免疫作用에 影響을 미쳐 吳茱萸 藥鍼이 抗癌 및 免疫機能에 有效한 것으로 나타나 것이라 생각되며 앞으로 臨床에 應用可能할 것으로 보인다.

V. 結 論

足三里(St36) 吳茱萸 藥鍼의 抗癌 및 免疫機能을 實驗的으로 究明하고자 C57BL/6 생쥐에 B16-F10 癌細胞株를 移植한 후 吳茱萸 藥鍼하여 PBMCs의 流細胞 螢光分析, Lung colony 數, 平均生存日數 및 延命率을 구하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 脾臟細胞의 增殖은 對照群에 比하여 增加하였다.
2. CD25⁺/CD4⁺, CD8⁺/CD3e⁺, CD69⁺/B220⁺, NK⁺/CD3e⁺ 細胞는 對照群에 比하여 增加하였다.
3. Lung colony 數는 對照群에 比하여 減少하였다.
4. 平均生存日數 및 延命率은 對照群에 比하여 增加하였다.

以上の 結果로 吳茱萸 藥鍼은 免疫增進 및 抗癌作用에 效果가 있는 것으로 생각되며, 향후 持續的인 研究 및 臨床的인 應用이 必要하리라 思料된다.

參考文獻

1. 서울대학교의과대학 편. 腫瘍學. 서울대학교 출판부. 1996 : 43-93.

2. 박찬열 외. 發癌原因에 대한 考察. 大韓針灸學會誌. 1996 ; 16(1) : 147-59.
3. 통계청. 1997년 사망원인통계연보. 대전 : 문진사. 1998 : 25, 29, 30, 37, 238, 239.
4. 김정순. 한국인의 암 발생현황과 역학적 특성. 한국역학회지. 1988 ; 10(1) : 1-29.
5. 이문호, 최강원, 오명돈. 최근 한국의 질병 변천. 대한의학협회지. 1989 ; 32(3) : 283-90.
6. 田炳旭. 癌腫의 病因病理에 대한 文獻의 考察. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995; 1(1): 83-101.
7. 孟琳升. 中國治癌大成. 北京科學技術出版社. 1995 : 18-9.
8. 田炳旭. 癌에 대한 韓醫學的 認識 및 實驗的 研究에 대한 考察. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995 ; 1(1) : 29-54.
9. 崔昇勳. 東醫腫瘍學. 杏林書院. 1995 : 13-42.
10. 錢伯文. 腫瘤的辨證施治. 上海科學技術出版社. 1980 : 1-10.
11. 李岩. 腫瘤學. 人民衛生出版社. 1982 : 2-8.
12. 大韓藥鍼學會 編纂. 藥針製劑와 臨床應用. 大韓針灸學會. 1997 : 1-5.
13. 김대수. 삼종의 제법에 따른 人蔘水鍼이 Methotrexate를 투여한 생쥐의 면역반응에 미치는 영향. 경희의학. 1989 ; 5(1) : 97-105.
14. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著. 本草學. 서울 : 永林社. 1998 : 337-8.
15. 李時珍. 本草綱目. 北京 : 人民衛生出版社. 1982 : 1862.
16. 許浚. 東醫寶鑑. 서울 : 法人文化社. 2002 : 1973.
17. 全國韓醫科大學 針灸經穴學教室. 針灸學(上下). 集文堂. 1991 : 382-4.
18. 安營基. 經穴學叢書. 成輔社. 1986 : 196-7.
19. 程寶書. 鍼灸大辭典. 北京科學技術出版社. 1988 : 405.

20. 中藥大辭典編纂委員會編. 新編中藥大辭典. 新文豐出版公司. 1971 ; 871-4.
21. 孫星衍. 神農本草經. 文光圖書出版有限公司. 1979 : 168.
22. 이태희. 오수유 분획물의 항우울증 효과에 대한 연구. 대한분초학회지. 1998 ; 13(1) : 139.
23. 姜信仁 外. 오수유가 선천성고혈압흰쥐의 혈압에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1998 ; 19(2) : 50.
24. 金延彦. 奇蹟의 藥鍼療法 2. 서울 : 金剛出版社. 1990 : 23.
25. 安敦姬. 암등록 사업과 암으로 인한 사망-연도별 추이. 大韓醫學協會誌. 36(3) : 292.
26. 서울대학교의과대학 편. 腫瘍의 발생원인 및 위험요인. 서울대학교출판부. 1989 : 31-44.
27. 文炳河 外. 痞氣丸이 抗腫瘍 免疫反應에 미치는 影響. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995 ; 1(1) : 231.
28. 서울대학교 의과대학편. 면역학. 서울대학교출판부. 1986 : 303.
29. 金東熙 外. 抗癌制 및 放射線 副作用에 대한 韓方療法. 東醫病理學會誌. 1994 ; 9 : 240, 246-9.
30. 李岩 編. 腫瘍臨證備要. 北京 : 人民衛生出版社. 1983 : 1, 3, 6-10.
31. 厲暢. 癌의 中醫治療. 東洋醫學. 1992 ; 18(1) : 56.
32. 黃奎東 外. 胃癌에 대한 考察. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995 ; 1 (1).
33. 崔昇勳. 東醫腫瘍學. 杏林書院. 1995 : 19, 24.
34. 河北醫學院. 靈樞經校釋(上). 人民衛生出版社. 1982. 37, 48, 142, 255, 326, 391.
35. 王洪圖. 黃帝內經素問. 春秋出版社. 1988. 71, 237, 271.
36. 文溶典, 安圭錫, 崔昇勳. 東醫病理學, 서울 : 高文社. 1990 : 78-90.
37. 孟林升 外. 中醫治癌大成. 北京科學技術出版社. 北京. 1995 : 111, 112, 122-43, 232, 233, 245, 246, 470-2, 484.
38. 郭瑞林. 扶正祛邪與腫瘤免疫. 實用中西醫結合雜誌. 1991 ; 4(4) : 205-8.
39. 金鍾昊, 趙鍾寬. 腫瘍의 轉移 및 再發 抑制에 관한 考察. 1997 ; 18(2).
40. 김세종. 면역학. 서울 : 고려의학. 1994 ; 3, 8, 9, 24-6, 28, 31, 32.