

補中益氣合大七氣湯과 Doxorubicin의 병용이 MKN-45의 항암효과에 미치는 영향

이윤희, 김봉석, 오중한, 임희용, 김동우, 최빈혜, 변준석
대구한의대학교 한의과대학 비계내과학교실

The Anti-tumor Effect of BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang with Doxorubicin in MKN-45

Yun-hee Lee, Bong-Suk Kim, Jung-Han Oh, Hee-Yong Lim,
Dong Woo Kim, Bin-Hye Choi, Joon-Seok Byun

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

In order to evaluate the anti-tumor and synergic effect of BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang on doxorubicin, the inhibitory concentration(IC), IC50 and IC90 of single use of doxorubicin and BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang with their concomitant treatment against MKN-45(Human stomach carcinoma) was observed using MTT(Microculture Tetrazolium test) assay. In addition, their anti-tumor effects were also observed in the xenograft nude mice models agianst MKN-45 cell lines.

BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang has only mimic direct anti-tumor effect against to MKN-45 cell lines but they were decreased general depressed signs induced by implantation of tumor cell lines and increased the total WBC and lymphocyte numbers. So, it is considered or expected that BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang extracts were reduced by the critical toxicity of doxorubicin and shows favorable synergic effect with doxorubicin and BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang extracts.

Key Words: BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang, doxorubicin, anti-tumor effect, MKN-45

1. 緒 論

중양은 개체에 대해서 의의가 없거나 이롭지 않으며 정상조직에 대해서 파괴적인 자율적 과잉성장으로^{1,2}, 악성종양인 암은 현대의학의 발전에도 불구하고 그 사망율과 이환 수준이 꾸준히 높아지고 있다^{3,4}.

양방의 항암요법 중 화학요법에 사용되는 doxorubicin은 현재까지 항암치료제로 사용되고 있

는 약물 중 효과가 가장 뛰어나 광범위하게 사용되고 있지만 이 약물이 가지고 있는 심한 독성 때문에 임상 적용범위가 극히 제한되고 있어^{5,6} 이들의 사용량을 줄이기 위한 천연물이나 다른 약제와의 병용노력이 계속 진행되고 있는 실정이다^{7,8}.

암에 대한 한방의 치법은 辨證에 따라 扶正固本法, 攻邪法 그리고 2가지를 병용하는 扶正祛邪法의 3가지로 大別되며⁹⁻¹¹, 이중 扶正祛邪法은 ‘養正積自除’¹²의 원칙 하에 正氣를 補益하면서 邪氣를 제거하는 방법으로 실험연구도 대부분 이에 준하고 있는데 한약을 이용한 항암효과연구는 면역반응에 관한 연구는 많은 반면 항암제 부작용 억제나 항암제와의 병용투여에 관한 연구는 상대적으로 적은 편이다¹³.

· 접수 : 2004년 1월 30일 · 채택 : 2004년 3월 10일
· 교신저자 : 변준석, 대구광역시 수성구 상동 165번지
대구한의대학교 부속 대구한방병원 비계내과
(Tel. 053-770-2113 Fax. 053-770-2169 E-Mail :
jsbyun@dhu.ac.kr)

補中益氣合大七氣湯은 《東醫寶鑑·積聚門》¹²에 수록되어 五積·六聚·癥瘕·積塊의 通治方으로 사용된 처방으로 補中益氣湯은 脾胃의 손상으로 발생된 제반 증상을 치료하는 대표적인 補益劑¹⁴이며 大七氣湯은 辛溫消導의 방법으로 五積六聚를 치료하는 처방¹⁵으로 각각의 처방에 대해서는 여러 편의 실험논문이 발표되었으나¹⁶⁻¹⁸ 補中益氣合大七氣湯에 대한 연구로는 金 등¹⁹이 扶正祛邪法의 대표처방으로 선정하여 일정정도의 종양감소와 면역증강의 효과가 있다고 한 보고 이외에는 항암제 부작용 억제나 항암제 병용투여에 관한 연구 등 종양에 관한 연구는 찾아볼 수 없었다.

이에 論者는 補中益氣合大七氣湯 자체의 항암효과를 평가하고, doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯의 병용효과를 관찰하기 위하여 대표적인 종양인 위암에 대한 시험관내 효력실험을 시행하고 동시에 종양 세포주를 누드 마우스에 이식한 모델에서의 효력 실험을 통해 종합적으로 평가하고자 본 연구를 수행하였으며, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 재료

1) 실험 종양세포주

위암(MKN-45) 세포주를 Japanese Cancer Research Resource Bank (Tsukuba, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 종양세포주는 일반적인 방법을 통해 해동 후 3회 이상 계대하여 적절한 수인 confluency 80% 이상에 도달시킨 후 사용하였다. 또한 누드 마우스 이식실험에서는 계대한 각각의 세포주를 건강한 누드 마우스의 피부에 이식시켜 이식능력을 확인한 후 실험에 사용하였다.

2) 실험동물

생후 6주, 몸무게 21~26g의 성숙한 암컷 누드 마우스를 Charles River Laboratories (Yokohama, Japan)에서 구입하여 사용하였으며, 실험동물은 사료(삼양사, 서울)와 물을 충분히 공급하면서 실험실

환경에 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 종양 세포 이식 시 실험동물의 체중은 23~28g 이었다. 실험동물은 온도(20~25℃)와 습도(30~35%)가 조절된 사육실에서 사육하였으며, 환기횟수는 11~12회/hr, 조명은 12hr/day를 유지하였다. 사료는 고형사료를 자유롭게 공급하였으며, 물은 수돗물을 자유롭게 공급하였다.

2. 방법

1) 실험군의 구분

(1) 시험관내 효력 시험

발육억제농도(Inhibition Concentration; IC)를 측정하기 위하여 실험군을 각각 doxorubicin 단독 처리군(Doxo 군), 補中益氣合大七氣湯 추출물 단독 처리군(BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang; BJDC 군), doxorubicin 처리 후 50μg/ml의 補中益氣合大七氣湯 추출물 처리군(Mix50 군), doxorubicin 처리 후 100μg/ml의 補中益氣合大七氣湯 추출물 처리군(Mix100 군) 및 doxorubicin 처리 후 200μg/ml의 補中益氣合大七氣湯 추출물 처리군(Mix200 군)의 5개 군으로 구분하여 실험을 실시하였다.

(2) 마우스 피하 이식 모델에서의 효력 시험

MKN-45 세포주를 누드 마우스에 이식한 후 항암효과를 평가하기 위하여 각각의 세포주를 이식한 후 멸균된 생리식염수를 10ml/kg을 경구투여한 대조군(Control 군) 및 이식 후 doxorubicin(Janvier CERJ, Le Genest-St-isle, France) 5mg/kg을 단독 복용 투여한 실험군(Doxo 군), 補中益氣合大七氣湯 100mg/kg을 단독 경구투여한 실험군(BJDC 군), 5mg/kg의 doxorubicin을 복용투여하고 50mg/kg의 補中益氣合大七氣湯 추출물을 동시에 경구투여한 실험군(Mix50) 및 5mg/kg의 doxorubicin을 복용투여하고 100mg/kg의 補中益氣合大七氣湯 추출물을 동시에 경구투여한 실험군(Mix100)의 5개 군으로 구분하여 실험을 실시하였다. 모든 실험물질의 투여는 10ml/kg의 용량으로 실험동물에 투여하였다.

2) 시험관내 시험에서 효력실험

MTT(Microculture Tetrazolium test)를 사용하였

다. 즉 doxorubicin 및 BJDC 단독 처리군에서는 각각 100 μ g/ml에서부터 0.006 μ g/ml까지 2배씩 희석하여 사용하였으며(15단계), Mix50, Mix100 및 Mix200 군에서는 doxorubicin 100 μ g/ml에서부터 0.006 μ g/ml까지 2배씩 희석한 후 각각 50, 100 및 200 μ g/ml의 補中益氣合大七氣湯 추출물을 첨가하였다. 일반적인 MTT 방법을 통해 억제농도(Inhibition concentration, IC)를 산출하였다. 즉, 계대 중인 각각의 종양 세포를 1 \times 10⁴cell씩 96 well plate에 분주한 다음 24시간동안 배양하고 각각의 후보물질들을 처리한 후 37 $^{\circ}$ C의 5% CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 이후 MTT 용액(25 μ l of 2g/ml in saline)을 첨가한 후 4시간동안 배양하고 배양액과 용액을 버린 후 crystal violet 염색 후 수세한 다음 plate를 건조시켰다. 이때 배양액은 RPMI medium에 2% sodium bicarbonate와 20ml/l의 streptomycin/penicillin을 첨가하여 사용하였고, 모든 후보물질은 멸균 생리식염수에 현탁 또는 용해시켜 사용하였다. 발육 억제농도(IC)의 판정은 흡광도(absorbance; Ab) 값을 측정하여 무처리 대조군에 대한 억제율을 산출하고 positive 억제가 관찰되는 농도를 IC로 결정하였으며, 얻어진 억제율을 이

용하여 linear regression 방법인 Probit 방법으로 무처리 대조군에 비해 50%로 감소된 농도인 IC50과 90%로 감소한 농도인 IC90을 산출하였다. Ab 값은 540nm의 파장에서 ELISA 판독기(Bio-Tek, TV, USA)를 이용하여 측정하였다.

3) 補中益氣合大七氣湯 추출물의 조성 및 추출

(1) 補中益氣合大七氣湯의 조성

본 실험에 사용된 補中益氣合大七氣湯은 시중(동양한약유통, 서울)에서 매입한 것을 선정하여 《萬病回春》²⁰ 및 《濟衆新編》²¹에 기록된 조성으로 사용하였으며, 1貼 분량의 주요 조성은 Table 1과 같다.

(2) 補中益氣合大七氣湯 추출물의 추출

선정된 약제 10貼분량(376.10g)을 취하여 정제수 4000ml로 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(N-N type; LAB Camp, Dajeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(PVTFD 10A; Ilshin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 1貼 당 8.80g, 총 87.99g(수율 23.39%)의 물 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

4) 중앙이식모델의 확립

Table 1. Composition of "BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang" used in this study

構成藥材	生藥名	用量(g)
黃 芪	<i>Astragali Radix</i>	5.62
人 蔘	<i>Ginseng Radix</i>	3.75
白 朮	<i>Atractylodis Macrocephalae Rhizoma</i>	3.75
甘 草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	3.75
當 歸	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	1.85
陳 皮	<i>Aurantii nobilis Pericarpium</i>	1.85
三 稜	<i>Scirpi Tuber</i>	1.85
蓬 朮	<i>Zedoariae Rhizoma</i>	1.85
青 皮	<i>Aurantii pericarpium</i>	1.85
香附子	<i>Cyperi Rhizoma</i>	1.85
桔 梗	<i>Platycodi Radix</i>	1.85
藿 香	<i>Agastachis Herba</i>	1.85
益智仁	<i>Amomi Amari Fructus</i>	1.85
肉 桂	<i>Cinnamomi Cortex</i>	1.85
柴 胡	<i>Bupleuri Radix</i>	1.12
升 麻	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	1.12
Total	16 types	37.61

MKN-45 세포주를 피하 종괴 상태로 계대한 후 무균상태에서 절제하고 collagenase type VI와 DNase I (Sigma, USA)를 이용하여 단일 세포 부유액으로 만든 다음 세포 부유액을 만들었다. 이후 적절한 세포의 수(1×10^5 cell/mouse)를 확인한 후, 각 세포주를 마우스의 피하에 이식하였다. 이때 배양액은 RPMI medium에 2% sodium bicarbonate와 20ml/l의 streptomycin/penicillin을 첨가하여 사용하였다. 이식 2주 후, 일정한 크기의 종괴가 형성된 실험동물만 선정하여 실험에 사용하였다.

5) 종양이식모델에서 약물의 투여

MKN-45 세포를 이식한 2주 후 일정한 크기의 종괴가 형성된 실험동물을 선정하여 Doxo군에서는 5mg/kg의 doxorubicin을 Massé 등²²의 방법에 따라 3일에 한번씩 10ml/kg의 용량으로 1ml 멸균 주사기를 이용하여 복강주사로 투여하였고, BJDC 군에서는 종괴 이식 2주 후부터 매일 100mg/kg의 補中益氣合大七氣湯 추출물을 gastric sonde가 부착된 1ml 주사기를 이용하여 10ml/kg으로 경구투여하였다. 또한 Mix50 및 Mix100 군에서는 각각 5mg/kg의 doxorubicin을 3일에 1회씩 10ml/kg의 용량으로 투여하는 동시에 50 및 100mg/kg의 補中益氣合大七氣湯 추출물을 10ml/kg으로 매일 경구투여하였다. 대조군에서는 補中益氣合大七氣湯 투여시와 동일한 방법으로 동일한 양의 생리식염수를 투여하였다.

Doxorubicin 및 補中益氣合大七氣湯 추출물은 멸균 생리식염수에 용해 또는 현탁시켜 투여하였다. 약물 및 주사기는 투여 직전 멸균하여 사용하였다.

6) 체중의 변화 측정

모든 실험 동물의 체중은 각각의 세포주 이식 시와 이식 2주 후에 체중을 측정하였으며, 이와 함께 약물 처리 시작일(Day 0), 약물 처리 후 7, 14, 21, 27 및 희생일(Day 28)에 측정·기록하였으며, 실험 시작시의 개체 차이에 의한 체중변화를 줄이기 위해 일정 기간동안의 체중 변화량인 증체량(body weight gain)을 계산하였다. 또한 부검 시 사료 섭취에 따른 체중 차이를 줄이기 위하여 최종 부검일에는 18시간 이상 절식을 실시하였다.

7) 사료 섭취량 측정

모든 실험동물의 사료 섭취량의 변화를 관찰하기 위하여 약물 투여 후 7, 14, 21 및 27일에 개체별로 사료 섭취량을 측정하였고, 4일간의 총 사료 섭취량을 계산하여 비교하였다.

8) 임상증상의 관찰

모든 실험동물에 대하여 실험기간 중 1일 1회 운동실조, 탈수, 식욕부진의 이상증상 및 사망유무를 관찰 기록하였으며, 투여기간 중에는 투여 전후 1일 2회 관찰하였다. 관찰된 임상증상은 개체별로 기록하였다. 임상증상은 아래의 5가지로 구분하여 평가하고 기록하였다.

Categories of Clinical Signs :

- 0+ : Not detected
- 1+ : Slight degrees
- 2+ : Moderated degrees
- 3+ : Severe degrees
- 4+ : Very severe degrees

9) 종양중량의 측정

모든 실험동물은 최종 부검일에 ethyl ether로 마취한 후 피하에 형성된 종괴를 적출하여 주위 결합조직과 피부 조직을 분리·제거하여 습중량(wet weight)을 g단위로 측정한 후 체중 차이에 따른 변화를 줄이기 위하여 체중에 대한 습중량의 비율인 상대 중량을 아래의 공식을 이용하여 측정하였다.

$$\text{Relative tumor weights (\%)} = (\text{wet tumor weight} / \text{body weight at sacrifice}) \times 100$$

또한 종양의 상대 중량을 이용하여 대조군에 대한 종양 발육억제율(Inhibition rate; IR)을 아래의 공식을 이용하여 각각 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \{1 - (\text{tumor wet or relative weight of test material treated-groups} / \text{tumor wet or relative weight of control})\} \times 100$$

10) 종양체적의 측정

모든 실험동물은 최종 부검일에 ethyl ether로 마

취한 후 피하에 형성된 종괴를 적출하여 주위 결합 조직과 피부 조직을 분리·제거한 후 vernier calipers를 이용하여 장경과 단경을 각각 측정·기록하였으며, 측정된 종양의 단경과 장경으로 아래의 공식을 이용하여 종괴의 습체적(wet volume)을 mm³ 단위로 계산하였다.

Wet tumor volume (mm³) = 1/2×a×b² (a: long axis (mm) ; b: short axis (mm))

또한 종양의 습체적을 이용하여 대조군에 대한 종양 발육 억제율 (Inhibition rate; IR)을 아래의 공식을 이용하여 각각 계산하였다.

Inhibition rate (%) = { 1 - (tumor wet volume of test material treated-groups / tumor wet volume of control) } × 100

11) 혈중 백혈구 총수의 계산

모든 실험동물은 최종 희생일(Day 28)에 모든 실험동물의 복대정맥(Vena cava)에서 1ml의 혈액을 채취한 후 일반적인 방법²³에 따라 Türk solution (100ml의 증류수에 2~5ml의 빙초산과 1% gentian violet 1ml이 첨가된 용액)으로 염색한 후 혈구 계산판(counting chamber)과 희석 피펫(diluting pipette)을 이용하여 총 백혈구 수를 × 103/mm³ 단위로 계산하였다.

12) 혈중 임파구수의 계산

최종 희생일(Day 28)에 모든 실험동물의 복대정맥(Vena cava)에서 1ml의 혈액을 채취한 후 일반적인 방법²³에 따라 혈액도말 표본을 제작하고 Giemsa 염색을 실시한 후 1mm² 면적에 존재하는 임파구(lymphocyte)의 수를 자동영상분석장치(Auto-analysis; SIS, Berlin, Germany)를 이용하여 계산·기록하였다.

13) 통계처리

MTT test는 3종의 세포주에 대하여 각각 5회 이상 반복하였으며, 모든 수치는 평균±표준편차로 계산하였고 대조군과 비교하여 Mann-Whitney

Wilcoxon's Rank Sum(M-W) test로 유의성을 검증하였고, IC50과 IC90은 Probit 방법으로 계산하였다. Probit test 및 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 6.1.2, SPSS Inc., USA)를 이용하였다.

III. 成績

1. 시험관내 효력의 변화(MTT In Vitro)

MKN-45에 대한 발육 억제농도인 IC는 doxorubicin 단독 처리군인 Doxo 군의 경우 0.994±0.165 µg/ml로 관찰되었으나, 補中益氣合大七氣湯 추출물 단독 처리군인 BJDC 군에서는 14.392±5.241 µg/ml로 관찰되었다. 한편 doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯 추출물 50, 100 및 200 µg/ml를 병용 처리한 Mix50, Mix100 및 Mix200 군에서는 각각 0.665±0.194, 0.407±0.095 및 0.254±0.159 µg/ml로 관찰되어, 모든 병용 시험군에서 Doxo 군에 비해 유의성 있는(p<0.05, p<0.01, p<0.01) IC 농도의 감소가 인정되었다. MKN-45에 대한 50% 발육 억제농도인 IC50은 Doxo 및 BJDC 군의 경우 3.563±1.549 및 37.102±5.696 µg/ml로 관찰되었다. 한편 Mix50, Mix100 및 Mix200 군에서는 각각 1.357±0.345, 0.876±0.242 및 0.538±0.278 µg/ml로 관찰되어, 모든 병용 처리군에서 Doxo 군에 비해 유의성 있는(p<0.01) IC50 농도의 감소가 인정되었다. MKN-45에 대한 90% 발육 억제농도인 IC90은 Doxo 및 BJDC 군의 경우 15.205±7.069 및 115.986±32.324 µg/ml로 관찰되었다. 한편 Mix50, Mix100 및 Mix200 군에서는 각각 4.595±2.706, 2.151±0.650 및 1.200±0.625 µg/ml로 관찰되어, 모든 병용 처리군에서 Doxo 군에 비해 유의성 있는(p<0.01) IC90 농도의 감소가 인정되었다(Table 2).

2. 체중의 변화

Doxo 군의 경우, 투여 27일 이후에 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.05) 체중 증가가 관찰되었고, BJDC 군의 경우 투여 7일 후부터 대조군에 비해

유의성 있는(p<0.05, p<0.01, p<0.01, p<0.01, p<0.01) 체중 증가가 관찰되었으며, Doxo 군에 비해서도 유의성 있는(p<0.05) 체중 증가가 일부 기간에서 인정되었다. 한편 Mix50 군에서는 대조군 및 Doxo 군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 체중의 증가가 투여 전기간에 걸쳐 관찰되었으며, Mix100 군에서도 대조군 및 Doxo 군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 체중의 증가가 투여 전기간에 걸쳐 관찰되었고 투여 후 21일 후부터는 BJDC 군에 비해서도 유의성 있는(p<0.05) 체중의 증가가 인정되었다(Table 3).

3. 증체량의 변화

Doxo 군의 경우, Day 21-27일 동안과 총 증체량에만 국한되어 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.05) 증가가 인정된 반면, BJDC 군의 경우 대조군에 비해 다소 증가된 증체량을 나타내었으나 유의성은

인정되지 않았고, Day 21-27일 동안에는 Doxo 군과 비교하여 유의성 있는(p<0.05) 증체량의 감소가 관찰되었다. 한편 Mix50 군에서는 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.05) 증체량의 증가가 총 증체량에서 인정되었고, Doxo 및 BJDC 군에 비해서도 다소 증가된 증체량을 나타내었으나, 유의성은 인정되지 않았다. Mix100 군에서는 Day 21-27일을 제외한 전 기간동안 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 증체량의 증가가 인정되었으며, Doxo 및 BJDC 군에 비해서도 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 증체량의 증가가 일부 기간에서 인정되었다(Table 4).

4. 사료 섭취량의 변화

Doxo 군에서는 대조군과 유사한 사료 섭취량을 나타내었고 BJDC 군의 경우에는 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 사료 섭취량의 증가가 Day 14

Table 2. IC, IC50 and IC90 against Human Stomach Carcinoma (MKN-45) after doxorubicin, BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang and their concomitant treatment

Group ID	IC($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	IC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)
Doxo	0.994±0.165	3.563±1.549	15.21±7.069
BJDC	14.39±5.241	37.10±5.696	115.99±32.32
Mix50	0.665±0.194*	1.357±0.345**	4.595±2.706**
Mix100	0.407±0.095**	0.876±0.242**	2.151±0.650**
Mix200	0.254±0.159**	0.538±0.278**	1.200±0.625**

Values are Mean±SD, **: p<0.01 compared to that of Doxo by M-W test

Table 3. Changes of body weight after doxorubicin, BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang and their concomitant treatment in MKN- 45-implanted Mouse Model

Group ID	Control	Doxo	BJDC	Mix50	Mix100
Day 0 ^{a)}	19.84±1.05	19.38±1.22	21.58±1.52 [#]	22.04±1.19 ^{*,##}	22.20±1.05 ^{*,##}
Day 7	19.24±0.81	19.40±0.86	21.96±2.01 ^{*,#}	22.46±1.32 ^{*,##}	23.10±1.23 ^{*,##}
Day 14	19.30±0.98	19.44±1.29	22.72±1.72 ^{*,#}	23.38±1.34 ^{*,##}	24.96±1.22 ^{*,##}
Day 21	18.70±0.71	19.48±0.92	23.30±1.30 ^{*,##}	24.16±1.67 ^{*,##}	26.40±1.33 ^{*,##,§}
Day 27	19.74±1.34	21.96±1.06*	24.48±1.64 ^{*,#}	25.90±2.37 ^{*,#}	27.52±1.41 ^{*,##,§}
Day 28 ^{b)}	19.20±1.21	21.26±1.15*	22.18±1.02 ^{**}	23.74±1.61 ^{*,#}	25.20±1.30 ^{*,##,§}

Values are Mean±SD (g), Day : days after treatment of test materials, a) Day at initial dosing, b) Day at sacrifice after about 18hrs of fasting, * : p<0.05 compared to that of Control, ** : p<0.01 compared to that of Control, [#] : p<0.05 compared to that of Doxo, ^{##} : p<0.01 compared to that of Doxo, [§] : p<0.05 compared to that of BJDC

일 및 4일간의 사료 섭취량에서 인정되었고, Day 14일 이후에는 Doxo 군에 비해서도 유의성 있는 ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$) 사료 섭취량의 증가가 인정되었다. 한편 Mix50 군에서는 Day 7일을 제외한 전기간에 걸쳐 대조군과 Doxo 군에 비해 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 사료 섭취량의 증가가 인정되었으나, BJDC 군에 비해서는 Day 27일과 4일간의 합에서만 유의성 있는($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 인정되었을 뿐 유사한 사료 섭취량을 나타내었다. 또한 Mix100 군에서는 대조군과 Doxo 군에 비해 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 사료 섭취량의 증가가 모든 측정일에 걸쳐 인정되었으며, BJDC 군에 비해서도 전 측정기간에서 유의성 있는 ($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 사료 섭취량의 증가가 인정되었다(Table 5).

5. 임상증상의 변화

MKN-45를 이식 후 대조군에서는 매우 심한 정도(4+)의 운동실조, 식욕부진 및 탈수 증상이 모든 실험동물(100%)에서 인정되었다. 한편 Doxo 군에서는 심한 정도(3+)의 운동실조와 탈수증상 및 매우 심한(4+) 식욕부진 소견이 모든 실험동물(100%)에서 인정되었다. 그러나 BJDC 군에서는 중등도 정도(2+)의 운동실조와 탈수 증상이 각각 5마리 중 4마리(80%)와 5마리(100%)에서 관찰되었으며, 심한(3+) 식욕부진이 5마리 중 3마리(60%)에서 인정되었다. 한편 Mix50 군에서는 중등도 정도(2+)의 운동실조와 탈수증상이 각각 5마리 중 3마리(60%)와 5마리(100%)에서 관찰되었으며, 경미한(1+) 식욕부진이 2마리(40%)에서만 국한되어 관찰되었다. 또한 Mix100 군에서는 정상범위가 5마리 중 1마리(20%), 경미한 정도(1+)의 운동실조 및 식욕부진 소

Table 4. Changes of body weight gains after doxorubicin, BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang and their concomitant treatment in MKN-45-implanted Mouse Model

Group ID	Control	Doxo	BJDC	Mix50	Mix100
Day 0-7	-0.60±0.63	0.02±0.90	0.38±0.58	0.42±0.58	0.90±1.11*
Day 7-14	0.06±0.76	0.04±1.47	0.76±0.73	0.92±1.70	1.86±0.55**,#,\$
Day 14-21	-0.60±0.91	0.04±0.57	0.58±0.77	0.78±1.26	1.44±0.57**,#
Day 21-27	1.04±0.76	2.48±1.06*	1.18±0.36 [#]	1.74±0.97	1.12±0.68 [#]
Total ^{a)}	-0.64±1.02	1.88±1.75*	0.60±0.86	1.70±1.44*	3.00±1.70**,\$

Values are Mean±SD (g, a) : Total body weight gains during experimental periods(Day 0-28), * : $p<0.05$ compared to that of Control, ** : $p<0.01$ compared to that of Control, [#] : $p<0.05$ compared to that of Doxo, ^{##} : $p<0.01$ compared to that of Doxo, \$: $p<0.05$ compared to that of BJDC

Table 5. Changes of food consumption after doxorubicin, BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang and their concomitant treatment in MKN-45-implanted Mouse Model

Group ID	Control	Doxo	BJDC	Mix50	Mix100
Day 7	2.12±0.81	2.40±0.67	2.52±0.36	2.88±0.52	3.46±0.44*,\$
Day 14	1.60±0.41	1.46±0.48	2.76±0.36**,#	3.12±0.50**,#	3.68±0.54**,#,\$
Day 21	1.58±0.58	1.60±0.51	2.54±0.53 [#]	2.80±0.49*,\$	3.48±0.44**,#,\$
Day 27	2.12±0.31	1.96±0.24	2.44±0.29 [#]	3.62±0.37**,#,\$	3.94±0.76**,#,\$
Total ^{a)}	7.42±0.88	7.42±0.59	10.26±1.02**,#	12.42±0.76**,#,\$	14.56±1.14**,#,\$

Values are Mean±SD (g, a) : Sum of food consumption during 4 times, * : $p<0.05$ compared to that of Control, ** : $p<0.01$ compared to that of Control, [#] : $p<0.05$ compared to that of Doxo, ^{##} : $p<0.01$ compared to that of Doxo, \$: $p<0.05$ compared to that of BJDC, ^{\$\$} : $p<0.01$ compared to that of BJDC

견이 각각 5마리 중 2마리(40%)에서 인정되었고, 중등도 정도(2+) 탈수 증상이 4마리(80%)에서 관찰되었다(Table 6).

6. 종양 중량의 변화

1) 상대중량의 변화

체중에 대한 종양 상대 중량은 대조군, Doxo 군, BJDC 군, Mix50 군, Mix100 군에서 각각 5.22±1.77, 2.10±0.39, 3.80±0.96, 1.44±0.22, 0.84±0.22%으로 관찰되어 Doxo 군에서는 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 종양 상대중량의 감소가 인정된 반면 BJDC 군에서는 대조군에 비해 감소된 종양 상대중량을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았고, Doxo 군에 비해서는 유의성 있는(p<0.01) 종양 상

대중량의 증가가 인정되었다. 한편 Mix50 군에서는 대조군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 종양 상대중량의 감소가 관찰되었고, Doxo 군에 비해서도 유의성 있는(p<0.05) 종양 상대중량의 감소 역시 인정되었다. 또한 Mix100 군에서도 대조군, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 종양 상대중량의 감소가 인정되었다(Table 7).

2) 상대중량에 대한 성장 억제율

Doxo 군에서는 대조군에 비해 56.53±15.30%의 상대중량에 대한 성장 억제율을 나타내었으나, BJDC 군에서는 17.49±38.19%의 억제율이 관찰되었다. 한편 Mix50 군에서는 70.10±8.51%의 상대중량에 대한 억제율이 인정되어 Doxo 군에 비해 증가된 억제율을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않

Table 6. Clinical signs observed after doxorubicin, BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang and their concomitant treatment in MKN-45-implanted Mouse Model(Group Summary).

Group ID	Control	Doxo	BJDC	Mix50	Mix100
No of animal ^{a)}	5	5	5	5	5
Normal % ^{b)}	0	0	0	0	1
Ataxia %	100	100	80	60	40
Severity	4+	3+	2+	2+	1+
Dehydration %	100	100	100	100	80
Severity	4+	3+	2+	2+	2+
Anorexia %	100	100	60	40	40
Severity	4+	4+	3+	1+	1+

a) : Total numbers of animal observed, b) : Percentage vs total observed animal numbers

Table 7. Changes of relative tumor weight and inhibition rate after doxorubicin, BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang and their concomitant treatment in MKN-45-implanted Mouse Model

Group ID	Relative weight	Inhibition rate
Control	5.22±1.77	Not Calculated
Doxo	2.10±0.39**	56.53±15.30
BJDC	3.80±0.96 ^{##}	17.49±38.19
Mix50	1.44±0.22 ^{**,#,\$}	70.10±8.51 ^{\$}
Mix100	0.84±0.22 ^{**,#,\$}	82.79±6.71 ^{#, \$\$}

Values are Mean±SD (%), * : p<0.05 compared to that of Control, ** : p<0.01 compared to that of Control, # : p<0.05 compared to that of Doxo, ## : p<0.01 compared to that of Doxo, \$: p<0.05 compared to that of BJDC, \$\$: p<0.01 compared to that of BJDC

았고, Mix100 군에서는 82.79±6.71%의 억제율이 관찰되어, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는(p<0.05, p<0.01) 종양 상대 증량에 대한 억제율의 증가가 인정되었다(Table 7).

7. 종양 체적의 변화

1) 습체적의 변화

MKN-45를 이식 후 대조군, Doxo 군, BJDC 군, Mix50 군, Mix100 군에서의 종양 체적은 각각 1067.18±112.92, 646.28±139.21, 952.00±160.14, 423.75±117.39, 298.66±46.15mm³으로 관찰되어, Doxo 군에서는 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 종양 체적의 감소가 인정된 반면, BJDC 군에서는 대조군과 유사한 종양 체적을 나타내었다. 그러나 Mix50 군에서는 대조군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 종양 체적의 감소가 관찰되었고, Doxo 군에 비해서도 유의성 있는(p<0.05) 체적의 감소가 인정되었다. Mix100 군에서도 대조군, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 종양 체적의 감소가 인정되었다(Table 8).

2) 습체적에 대한 성장 억제율

Doxo 군에서는 대조군에 비해 38.22±19.03%의 종양 체적에 대한 성장 억제율을 나타내었으나, BJDC 군에서는 10.27±15.72%의 억제율이 관찰되었다. 한편 Mix50 군에서는 60.23±10.84%의 억제율이 인정되어 Doxo 군에 비해 유의성 있는(p<0.05) 종양 습체적에 대한 억제율의 증가를 나타

내었으며, Mix100 군에서는 71.98±3.92%의 억제율이 관찰되어, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 종양 체적에 대한 억제율의 증가가 인정되었다(Table 8).

8. 총 백혈구수의 변화

MKN-45를 이식한 후 총 백혈구수는 대조군, Doxo 군, BJDC 군, Mix50 군, Mix100 군의 경우 각각 3.80±0.84×10³, 1.40±0.55×10³, 7.00±1.58×10³, 10.20±1.92×10³, 12.40±2.88×10³/mm³으로 관찰되어 Doxo 군에서는 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 감소를 나타내었으나 BJDC 군에서는 대조군 및 Doxo 군에 비해 유의성 있는(p<0.05, p<0.01) 총 백혈구수의 증가를 나타내었다. 한편 Mix50 군에서는 대조군 및 Doxo 군에 비해 각각 유의성 있는(p<0.01) 백혈구수의 증가가 인정되었으며, BJDC 군에 비해서도 유의성 있는(p<0.05) 증가가 인정되었다. 또한 Mix100 군에서는 대조군, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 각각 유의성 있는(p<0.01) 백혈구수의 증가가 인정되었다(Table 9).

9. 임파구수의 변화

MKN-45를 이식한 후 도말표본 단위 mm²당 출현하는 임파구의 총수는 대조군, Doxo 군, BJDC 군, Mix50 군, Mix100 군에서 각각 9.60±2.19, 4.80±0.84, 16.80±3.03, 22.00±2.35, 24.80±4.49/mm²로 관찰되어 Doxo 군에서는 대조군에 비해 유의성

Table 8. Changes of tumor volume and inhibition rate after doxorubicin, BoJungIkKeeHapDaeChilKi-Tang and their concomitant treatment in MKN-45-implanted Mouse Model

Group ID	Tumor volume(mm ³)	Inhibition rate(%)
Control	1067.18±112.92	Not Calculated
Doxo	646.28±139.21**	38.22±19.03
BJDC	952.00±160.14 [#]	10.27±15.72 [#]
Mix50	423.75±117.39**,#,\$\$	60.23±10.84 ^{#,\$\$}
Mix100	298.66±46.15**,\$\$, \$\$	71.98±3.92 ^{##,\$\$}

Values are Mean±SD (mm³ or %), * : p<0.05 compared to that of Control, ** : p<0.01 compared to that of Control, [#] : p<0.05 compared to that of Doxo, ^{##} : p<0.01 compared to that of Doxo, ^{\$} : p<0.05 compared to that of BJDC, ^{\$\$} : p<0.01 compared to that of BJDC

Table 9. Changes of blood total WBC and lymphocyte numbers after doxorubicin, BojungIkKeeHapDaeChilKi-Tang and their concomitant treatment in MKN-45-implanted Mouse Model

Group ID	Total WBC number	Lymphocyte number
Control	3.80±0.84	9.60±2.19
Doxo	1.40±0.55**	4.80±0.84**
BJDC	7.00±1.58 ^{*,###}	16.80±3.03 ^{*,###}
Mix50	10.20±1.92 ^{**,###,§}	22.00±2.35 ^{**,###,§}
Mix100	12.40±2.88 ^{**,###,§§}	24.80±4.49 ^{**,###,§}

Values are Mean±SD, * : p<0.05 compared to that of Control, ** : p<0.01 compared to that of Control, [#] : p<0.05 compared to that of Doxo, ^{###} : p<0.01 compared to that of Doxo, [§] : p<0.05 compared to that of BJDC, ^{§§} : p<0.01 compared to that of BJDC

있는(p<0.01) 감소를 나타내었으나 BJDC 군에서는 대조군 및 Doxo 군에 비해 유의성 있는(p<0.05, p<0.01) 임파구수의 증가를 나타내었다. 그러나 Mix50 군에서는 대조군 및 Doxo 군에 비해 각각 유의성 있는(p<0.01) 임파구수의 증가가 인정되었고, BJDC 군과 비교해서도 유의성 있는(p<0.05) 임파구수의 증가가 인정되었다. 또한 Mix100 군에서는 대조군, Doxo 군 및 BJDC 군에 비해 각각 유의성 있는(p<0.01, p<0.01, p<0.05) 임파구수의 증가가 인정되었다(Table 9).

IV. 考 察

암이란 인체 내에서 비정상 세포가 생체 기능에 불필요하게 증식하여 인접 조직을 파괴하거나 내분비적, 화학적 장애를 일으키고 다른 부위까지 암세포가 옮겨가서 증식하는 능력을 가진 질환군을 말하며^{24,25}, 대다수의 악성종양은 빠른 성장, 침윤성 성장, 체내 각 부위에서의 확산 및 전이의 특징을 지니고 있어 생명에 위협을 초래하게 된다^{1,2}.

암의 치료법으로는 외과적 절제(수술요법)와 방사선치료, 화학요법(항암제)이 있고, 그밖에 면역요법(생물학적 요법) 등이 있으나 그 효과가 불확실하고 치료에 의한 독소와 부작용이 문제가 되고 있다²⁶.

Doxorubicin은 anthracycline계열의 항생제로, 유방암종(breast carcinoma) 및 소형 폐암(small cell carcinoma) 등의 치료에 주요 약물로 사용되고 항암

치료의 거의 모든 화학요법에 포함되는 약물로 알려져 있지만²⁷ 심한 독성, 특히 심장독성(cardiotoxicity)을 나타내어²⁸ 임상적 사용이 극히 제한되고 있어 그 사용량을 줄이기 위한 노력으로 독성을 완화시킬 수 있는 다른 약과의 병용이나 어느 정도 항암효과를 가지고 있는 약물과의 병용 요법이 끊임없이 연구되고 있는 실정이다^{29,30}.

암에 대한 한방의 치법은 扶正培本法, 攻邪法, 扶正祛邪法의 3가지로 대별되는데^{9,11} 이중 扶正祛邪法에 대해 張³¹과 李¹⁵는 “養正則積自除”라 하여 扶正의 방법으로 積을 없애는 방법을 論하였고 《東醫寶鑑》¹²에서는 이를 종합하여 氣血이 壯해지면 積이 저절로 없어진다 하여 《萬病回春》²⁰을 인용, 積聚의 치료에 補中益氣湯에 二稜, 蓬朮, 靑皮, 香附子, 桔梗, 藿香, 益智仁, 肉桂의 大七氣湯을 加하여 사용하였다. 또한 최근에 楊³²은 祛邪하되 人體의 正氣를 補益하고 正氣를 損傷시키지 않는 扶正祛邪法을 암 치료의 가장 효과적인 방법이라 하였다.

補中益氣合大七氣湯은 앞서 언급한 바와 같이 《東醫寶鑑》¹²과 《濟衆新編·積聚門》²¹의 ‘養正積自除’에 기재되어 있으며, 《廣濟秘笈》의 養正除積湯³³과 비교하면 본 처방에 祛柴胡 升麻, 加生薑, 大棗한 차이만 있는 유사한 처방으로 積聚 치료의 扶正祛邪法으로 많이 활용되었음을 알 수 있다.

본 연구는 補中益氣合大七氣湯 자체의 항암효과를 평가하고, doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯의 병용효과를 관찰하기 위하여 위암(MKN-45)에 대한

한 MTT (Microculture Tetrazolium test)를 In Vitro 적인 방법으로 평가하고 동시에 종양 세포주를 누드 마우스에 이식하여 In Vivo 적인 방법을 통해 종합적으로 평가하고자 수행되었다.

MKN-45 cell은 62세 정도의 여성에서 유래된 미분화 위선암 세포주로 항암제의 약효 평가에 흔히 사용되고 있는 사람유래의 세포주이다^{34,36}. 일반적으로 doxorubicin은 MKN-45 세포에 대해 비교적 양호한 항암효과를 나타내는 것으로 알려져 있다^{36,37}.

본 연구에서도 doxorubicin 단독 투여군에서는 Colon-26 및 3LL 세포주에 비해 낮은 활성이 MKN-45 세포에서 관찰되어 이전의 보고들^{36,37}과 유사하게 관찰되었다. 한편 補中益氣合大七氣湯 추출물을 단독 투여한 군에서는 비교적 미약한 성장 억제 효과가 인정되었으나 doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯 추출물을 병용 처리한 경우 병용 처리한 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량 의존성으로 doxorubicin의 항암효과가 유의성 있게 증가되는 것으로 관찰되어 MKN-45에 대해 補中益氣合大七氣湯 추출물과 doxorubicin이 서로 상승 효과를 나타내는 것으로 생각된다.

일반적으로 종양이 생체 내에 존재하면 현저한 식욕부진과 함께 탈수 증상이 수반되며 이로 인한 만성적인 체중감소가 초래되므로 종양은 만성 악액질성 질환으로 분류된다²³.

본 연구의 결과 종양 이식 후 현저한 체중 감소가 대조군과 doxorubicin 단독 투여군에서 관찰되었으며, 이와 함께 운동실조, 탈수 및 식욕부진 소견이 인정되었다. 그러나 이러한 체중 및 임상증상의 정도가 補中益氣合大七氣湯 추출물 투여군에서는 대조군 및 doxorubicin 단독 투여군에 비해 경감되어 補中益氣合大七氣湯 추출물이 MKN-45 종양세포의 이식에 의해 초래되는 체중의 감소 및 임상증상을 경감시키는 것으로 관찰되었다. 또한 사료 섭취량 역시 補中益氣合大七氣湯 추출물 투여에 의해서 증가되는 것으로 관찰되어 종양 세포의 이식에 따른 체중 감소가 억제되는 것으로 관찰되었다. Doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯 추출물 병용 투

여군에서는 이러한 체중 변화, 사료 섭취량의 변화 및 임상증상들이 병용한 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량 의존적으로 경감되었다.

Doxorubicin은 MKN-45 세포를 이식한 모델에도 강력한 항암효과를 나타내는데^{36,38}, 본 연구에서도 강한 항암효과가 MKN-45를 이식한 마우스 모델에서 확인되었으나 補中益氣合大七氣湯 투여군에서는 종양 체적 및 중량 또한 억제율에서 대조군에 비해 낮은 항암효과만 인정되어 補中益氣合大七氣湯 자체는 MKN-45 이식 마우스에서 항암효과를 나타내기 위해서는 과량의 추출물을 장기간 투여해야 할 것으로 생각되었다. 그러나 doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯 추출물을 병용 처리한 경우 병용 처리한 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량 의존적으로 종양 중량과 체적이 유의성 있게 감소되고 각각의 억제율 또한 유의성 있게 증가되는 것으로 관찰되어 MKN-45 이식 모델에서 補中益氣合大七氣湯 추출물과 doxorubicin이 서로 상승 효과를 나타내는 것으로 생각된다.

일반적으로 종양이 존재할 경우 총 백혈구 수와 임파구 수는 다소 감소되는 것으로 알려져 있으며²³ 특히 doxorubicin과 같은 항암제 치료 시 더욱 현저히 감소되는 것으로 알려져 있다⁸. 이러한 백혈구 감소증은 골수 조혈세포에 영향을 미쳐 유발된다는 연구결과가 있으며^{22,39} doxorubicin의 혈액독성을 낮추기 위한 노력이 진행되어 왔다^{8,22}.

ICR 마우스에서 정상적인 총 백혈구 수는 수컷의 경우 $8 \times 10^3/\text{mm}^3$, 암컷의 경우에는 $6.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ 로 알려져 있다⁴⁰. 본 연구에서도 이전의 보고들^{22,39}과 유사하게 doxorubicin 단독 투여군에서는 현저한 백혈구 및 임파구의 감소가 초래되었다. 그러나 補中益氣合大七氣湯 추출물 투여군에서는 종양을 이식한 모든 모델에서 대조군에 비해 유의성 있는 백혈구 및 임파구의 증가가 관찰되어 補中益氣合大七氣湯 자체가 종양 이식에 따른 골수억압 현상을 경감시키는 것으로 관찰되었으며, 특히 doxorubicin과 병용 투여군에서는 투여한 補中益氣合大七氣湯 추출물 용량 의존적으로 총 백혈구 및 임파구의 증가

가 관찰되어 doxorubicin에 의한 백혈구 감소증이 경감되는 것으로 관찰되었다. 따라서 doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯의 병용은 효과적인 상승 효과를 초래할 것으로 기대되었다.

이상의 연구결과를 종합해 보면 補中益氣合大七氣湯 추출물 자체의 항암효과는 낮은 것으로 평가되었으나 補中益氣合大七氣湯 추출물의 투여로 약액질성 증상이 경감되었으며 백혈구 수의 증가와 같은 면역력 증가 효과가 인정되어 doxorubicin에 의해 초래되는 독성을 경감시키는 것으로 관찰되었고, 항암효과 역시 강한 상승 효과를 나타내는 것으로 관찰되었다.

이로 보아 기존의 항암제 투여와 동시에 한약 처방을 辨證에 따라 병용 투여하면 항암제의 부작용 감소와 함께 항암효과의 상승을 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 結 論

補中益氣合大七氣湯의 항암효과를 평가하고 doxorubicin과 補中益氣合大七氣湯의 병용효과를 관찰하기 위하여 위암(MKN-45)에 대한 항암효과를 In Vitro 및 In Vivo 적인 방법을 통해 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. IC, IC50 및 IC90을 MTT 방법으로 측정된 결과 doxorubicin은 강한 종양 발육 억제 효과를 나타내었으나 補中益氣合大七氣湯 자체는 약한 발육 억제효과를 나타내었으며, 병용 처리군에서는 補中益氣合大七氣湯의 용량 의존적으로 종양 발육을 유의성 있게 억제하였다.
2. 암세포주를 이식시킨 마우스 모델에서 체중, 종양량 및 사료섭취량은 일부기간을 제외하고 doxorubicin 투여군에서는 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고, 補中益氣合大七氣湯 투여군에서는 대조군 및 doxorubicin 투여군에 비해 유의성 있게 증가되었으며, 병용 투여군에서는 補中益氣合大七氣湯의 용량 의존적으로 유의성 있게 증가되었다.

3. 암세포주 이식 후 약액질성 임상 증상이 모든 실험군에서 관찰되었으나, 이러한 증상을 나타내는 동물의 수 및 정도는 병용 투여군, 補中益氣合大七氣湯 투여군, doxorubicin 투여군 순으로 경감되었으며, 특히 병용 투여군에서는 투여한 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량 의존적으로 경감되었다.
4. 암세포주를 이식시킨 마우스 모델에서 종양의 종량과 체적은 doxorubicin 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고 종양 억제율은 증가되었으나, 補中益氣合大七氣湯 투여군에서는 대조군과 유사한 수치를 나타내었다. 한편 병용 처리군에서는 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량 의존적으로 유의성 있는 종양 종량 및 체적의 감소와 이들에 대한 억제가 관찰되었다.
5. 총 백혈구수와 임파구수의 경우, doxorubicin 처리군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 관찰된 반면, 補中益氣合大七氣湯 투여군에서는 대조군 및 doxorubicin 투여군에 비해 유의성 있는 증가가 인정되었다. 또한 병용 처리군에서는 補中益氣合大七氣湯 추출물의 용량 의존적으로 유의성 있는 총 백혈구수와 임파구수의 증가가 관찰되었다.

參考文獻

1. 崔昇勳. 東醫腫瘍學. 1. 서울: 행림출판; 1995:13-5.
2. 서울대학교 의과대학. 종양학. 3. 서울: 서울대학교출판부; 1992:1-3, 137-43, 225-34.
3. 박경희. 건강검진을 통한 암의 발견과 암표지자의 암선별검사로서의 유용성. 서울대학교 보건대학원. 2002.
4. 최용준. 건강생활년을 이용한 우리 나라 주요 암 질환의 질병부담 측정. 서울대학교 의과대학원. 2002.
5. Neale MH, Lamont A, Hindley A, Kurbacher CM, Cree IA. The ex vivo effect of high

- concentrations of doxorubicin on recurrent ovarian carcinoma. *Anticancer Drugs*. 2000; 11(10):865-71.
6. Patel SR. New agents in the treatment of soft-tissue sarcomas. *Expert Opin Investig Drugs*. 2000;9(7):1545-51.
 7. Bagchi D, Sen CK, Ray SD, Das DK, Bagchi M, Preuss HG, Vinson JA. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res*. 2003;523-524:87-97.
 8. Sheng Y, Pero RW, Wagner H. Treatment of chemotherapy-induced leukopenia in a rat model with aqueous extract from *Uncaria tomentosa*. *Phytomedicine*. 2000;7(2):137-43.
 9. 공현식, 유봉하, 박동원, 유기원. 韓國韓醫學의 腫瘍研究에 對한 現況. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995;1(1):55-81.
 10. 孫彰奎, 趙鍾寬. 癌 治療에 있어서 扶正祛邪法의 運用에 關한 考察. 大韓韓方內科學會誌. 1995;16(2):30-5.
 11. 鄭鍾美, 趙鍾寬. 現代 中國의 癌治療 研究 現況. 大韓韓方內科學會誌. 1995;16(2):9-16.
 12. 許浚. 東醫寶鑑. 4. 서울: 大星文化社; 1992:172, 176-7, 179.
 13. 임성우. 한약을 이용한 항암 실험 연구의 경향과 연구 방향. *대한한방내과학회지*. 2001;22(1): 73-8.
 14. 金相贊, 金先熙, 盧昇鉉, 朴宣東, 卞晟偉, 徐富一等. 方劑學. 改正增補版. 서울: 圖書出版 永林社; 1999:279-80.
 15. 李槿. 醫學入門. 1. 서울: 大星文化社. 1990:146.
 16. 은재순, 최훈, 송정모. 補中益氣湯이 생쥐의 특이적 면역반응에 미치는 영향. *동의생리병리학회지*. 2002;16(5):943-7.
 17. 하지용, 정병익, 이선구, 유병길. 大七氣湯이 抗癌, 免疫調節作用 및 apoptosis에 미치는 影響. *동의생리병리학회지*. 2001;15(1):111-24.
 18. 禹弘楨, 李長勳, 金榮哲. 大七氣湯의 抗癌效果에 關한 研究. 大韓韓方內科學會誌. 1999;29(2): 182-95.
 19. 김선희, 김상찬, 최종백. 腫瘍의 治法에 關한 實驗的 研究. 大韓方劑學會誌. 1997;5(1):127-45.
 20. 龔廷賢. 國譯 萬病回春. 서울: 癸丑文化社; 1984:302-3.
 21. 康命吉. 濟衆新編. 서울: 杏林書院; 1982:184.
 22. Masse A, Ramirez LH, Bindoula G, Grillon C, Wdzieczak-Bakala J, Raddassi K, Deschamps de Paillette E, Mencia-Huerta JM, Koscielny S, Potier P, Sainteny F, Carde P. The tetrapeptide acetyl-N-Ser-Asp-Lys-Pro (Goralatide) protects from doxorubicin-induced toxicity: improvement in mice survival and protection of bone marrow stem cells and progenitors. *Blood*. 1998;91(2):441-9.
 23. Sodikoff CH. Laboratory profiles of small animal diseases. A guide to laboratory diagnosis. 2nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book Inc. 1995.
 24. 金光湖, 南喆鉉, 李起男, 李仙童, 蘇敬順, 康坼林 등. 豫防醫學과 保健學. 2. 서울: 癸丑文化社; 1998:329.
 25. 대한병리학회. 병리학. 3. 서울: 고문사; 1998: 201.
 26. 김삼용. 最近 癌의 豫防과 治療傾向. 대전: 한국 신약편집부; 1992:28.
 27. Ranson MR, Cheeseman S, White S, Margison J. Caelyx (stealth liposomal doxorubicin) in the treatment of advanced breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2001;37(2):115-20.
 28. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, Davis HL Jr, Von Hoff AL, Rozencweig M, Muggia FM. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med*. 1979;91(5): 710-7.
 29. Gol'dberg VE, Ryzhakov VM, Matiash MG,

- Stepovaia EA, Boldyshev DA, Litvinenko VI, Dygai AM. Dry extract of *Scutellaria baicalensis* as a hemostimulant in antineoplastic chemotherapy in patents with lung cancer. *Eksp Klin Farmakol.* 1997;60(6):28-30.
30. Naidu MU, Kumar KV, Mohan IK, Sundaram C, Singh S. Protective effect of *Ginkgo biloba* extract against doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice. *Indian J Exp Biol.* 2002;40(8):894-900.
31. 張子和. 儒門事親. 1. 臺北: 旋風出版社; 1977: 157.
32. 楊寶仁. 癌症的中藥治療. 1. 河北: 河北科學技術出版社; 1992:4-24.
33. 李景華. 廣濟秘笈. 1. 서울: 麗江出版社; 1994: 155.
34. Mori T, Fujiwara Y, Yano M, Tamura S, Yasuda T, Takiguchi S, Monden M. Prevention of peritoneal metastasis of human gastric cancer cells in nude mice by S-1, a novel oral derivative of 5-Fluorouracil. *Oncology.* 2003; 64(2):176-82.
35. Nagamine M, Okumura T, Tanno S, Sawamukai M, Motomura W, Takahashi N, Kohgo Y. PPARgamma ligand-induced apoptosis through a p53-dependent mechanism in human gastric cancer cells. *Cancer Sci.* 2003;94(4):338-43.
36. Saikawa Y, Kubota T, Kuo TH, Furukawa T, Kase S, Tanino H, Ishibiki K, Kitajima M, Hoffman RM. Antitumor activity of (2''R)-4'-O-tetrahydropyranyl adriamycin on human gastric cancer cell lines in vitro and in vivo. *Anticancer Res.* 1994;14(2A):469-73.
37. Hong WS, Kim CM, Lee JO, Kang TW, Yun TK, Kim CY. Natural killer and lymphokine-activated killer activities in stomach cancer patients with special emphasis on the effect of 5-fluorouracil, adriamycin and mitomycin-C chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol.* 1990;20(1):87-93.
38. Uyama I, Kumai K, Yasuda T, Tagawa T, Ishibiki K, Kitajima M, Tadakuma T. Improvement of therapeutic effect by using Fab' fragment in the treatment of carcinoembryonic antigen-positive human solid tumors with adriamycin-entrapped immunoliposomes. *Jpn J Cancer Res.* 1994;85(4):434-40.
39. OKunewick JP, Buffo MJ, Kociban DL. Comparative toxicity of mitoxantrone and doxorubicin on hematopoietic stem cells. *Exp Hematol.* 1985;13 Suppl 16:23-30.
40. Wolford ST, Schroer RA, Gohs FX, Gallo PP, Brodeck M, Falk HB, Ruhren R. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J Toxicol Environ Health.* 1986;18(2):161-88.