

## 內消沃雪湯의 抗癌效果

고흥개 · 최정화 · 김종한 · 박수연  
동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

### Effects of Neasookseul-Tang on Anti-Cancer Action in Mice

Hong-Gae Ko · Jung-Hwa Choi · Jong-Han Kim · Su-Yeon Park

**Objective:** This Study was to investigate effects of Neasookseul-Tang on the anti-cancer, proliferation of immunocytes and nitric oxide(NO) production of peritoneal macrophages.

**Methods:** We used Neasookseul-Tang extract(NOT) with freeze-dried, 8wks-old male mice(balb/c, ICR) and cancer cell lines(L1210, sarcoma-180) for this Study. The proliferation of cells was tested using a colorimetric tetrazoliu assay(MTT assay).

**Results:**

1. NOT was significantly showed cytotoxicity on the L1210 and Sarcoma-180 cell lines.
2. NOT was significantly increased proliferation of thymocytes and splenocytes in vitro.
3. NOT was significantly decreased proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice.
4. NOT was significantly increased proliferation of thymocytes and splenocytes in L1210 cells transplanted mice..
5. NOT was significantly increased NO production from peritoneal macrophages in L1210 cells transplanted mice.
6. NOT was significantly inhibited body weight and tumor weight in Sarcoma-180 cells transplanted mice.
7. NOT was significantly increased in the mean survival days in Sarcoma-180 cells transplanted mice.

**Conclusions:** The present author thought that NOT had action of anti-cancer by accelerating immuno-function.

---

**Key words :** Neasookseul-Tang, anti-cancer.

### 서론

癌은 인류를 위협하는 주요 질환의 하나로써, 자율성을 지닌 조직의 과잉발육을 뜻하며 정상조직과

증식의 균형을 이루지 못하고 그러한 변화를 일으키는 자극이 없어져도 계속적인 증식이 진행되는 모든 것을 말한다. 이를 치료하기 위하여 서의학에서는 수술요법, 방사선요법, 화학요법, 면역요법, 유전자요법, 세포분화유도법, 혈관형성저해법 등을 활용하고 있다<sup>1)</sup>.

東醫學에서 최초로 ‘癌’이란 病名을 사용한 것은

---

교신저자: 최정화, 동신대학교부속광주한방병원  
안이비인후피부과학교실  
(Tel. 062-350-7217, E-mail : mkyu0@hanmail.net)

宋代의 東軒居士<sup>2)</sup>인데, 腫塊가 巖石과 같이 단단하고 형상이 불규칙적인 것을 의미하였으며, 서의학의 암에 해당하는 東醫學의 범주는 腫瘍, 癰疽, 腫毒, 積聚, 癥瘕, 疔, 陰瘡, 癭瘤, 肺癰, 肝癰, 腸癰, 疝瘕, 石癰, 石疽, 疔疽, 疔膈 등이 있다<sup>3)</sup>.

癰疽의 原因은 《黃帝內經》<sup>4)</sup>에서는 膏粱厚味·營氣不從·五臟不和·九竅不通 등에 의해, 劉<sup>5)</sup>는 火熱·風濕之所乘에 의해, 李<sup>6)</sup>는 濕熱에 의해, 朱<sup>7)</sup>는 六氣·七情·熱勝血·陰滯·陽滯에 의해 발생된다고 하였다<sup>8-10)</sup>.

癰疽의 治療法은 初期에 祛邪爲主의 消法을 사용하고, 中期에는 扶正祛邪의 托法을 사용하며, 後期에는 扶正爲主의 補法을 사용한다<sup>11-13)</sup>.

內消沃雪湯은 《東醫寶鑑》<sup>14)</sup>에 “治胃脘癰及肚癰內疽 神效”, 《外科正宗》<sup>15)</sup>에 “治發背初起, 但未出膿, 堅硬疼痛, 不可忍者.”라 기록된 處方으로 扶正祛邪의 癰疽內托法에 사용된다.

扶正祛邪법을 사용한 종양에 대한 연구를 살펴보면, 정<sup>16)</sup>은 內托羌活湯, 은<sup>17)</sup>은 四物湯, 정<sup>18)</sup>은 桃紅四物湯, 김<sup>19)</sup>은 補中益氣湯 을 이용하여 抗癌 效果, 免疫增進 效果, 抗癌劑 副作用 抑制效果 등을 보고하였으나 內消沃雪湯에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 內消沃雪湯의 抗癌 效果와 면역 세포에 미치는 효과를 관찰하여, 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 실험 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

#### 1) 약재

실험에 사용한 內消沃雪湯(Neasookseul-Tang, NOT)은 《東醫寶鑑》<sup>14)</sup>에 준하였으며, 동신대학교 부속광주한방병원에서 구입한 후 본초학교실에서

정선을 받아 사용하였다. 실험에 사용한 처방의 내용과 분량은 다음과 같다<sup>20)</sup>(Table I).

Table I. Prescription of Neasookseul-Tang(NOT)

韓藥名	生藥名	用量(g)
當歸身	RADIX ANGELICAE GIGANTIS	1.875
白芍藥	RADIX PAEONIAE ALBA	1.875
甘草	RADIX GLYCYRRHIZAE	1.875
黃芪	ASTRAGALI	1.875
射干	RHIZOMA BELAMCANDAE	1.875
連翹	FRUCTUS FORSYTHIAE	1.875
白芷	RADIX ANGELICAE DAHURICAE	1.875
貝母	BULBUS FRITILLARIAE THUNBERGII	1.875
陳皮	PERICARPIMUM CITRI	1.875
皂角刺	SPINA GLEDITSIAE	1.875
天花粉	RADIX TRICHOSANTHIS	1.875
穿山甲	SQUAMA MANITIS	1.875
金銀花	FLOS LONICERAE	1.875
木香	RADIX AUCLANDIAE	1.875
	PERICARPIMUM CITRI RETICULATAE	
青皮	VIRIDE	1.875
乳香	OLIBANUM	1.875
沒藥	MYRRHA	1.875
大黃酒製	RADIX ET RHIZOMA RHEI	5.625
Totally		37.50

#### 2) 세포주

세포주는 한국세포주은행에서 구입한 급성백혈병 세포주인 L1210 세포주와 복강암세포주인 sarcoma-180(S-180) 세포주를 사용하였다.

#### 3) 동물

본 실험에 사용한 마우스는 (주) 다물 사이언스에서 구입한 balb/c계 8 주령된 수컷과 화인 실험 동물 센터에서 구입한 ICR계 20±1 g 수컷을 온도 20±3℃, 습도 55±5 %, light/dark 12 hr의 사육조건에서 1 주일 이상 적응시키면서 고형 pellet 사료(삼양주식회사, Korea)와 물을 자유로이 섭취하게 하였다.

#### 4) 시약 및 기기

본 실험에 사용한 시약들은 Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640, Sigma R4130), Fetal Bovine Serum(FBS, Gibco LOT. NO. 1006842),

3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma M2128), Sodium Dodecyl Sulfate(SDS, Sigma L5750), Brewer Thioglycollate Medium(TG, Difco 0236-17-7), Concanavalin A(Con A, Sigma C5275) Lipopolysaccharide(LPS, Sigma L2637), Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ , Sigma I6507) 등으로 특급시약을 사용하였으며, 기기로 microplate reader(ELX800UV, U.S.A.) 등을 사용하였다.

## 2. 方法

### 1) 검액의 조제

NOT의 2 첩분량(75.0 g)을 1,500 ml 증류수로 상온에서 100 °C 2 시간동안 전탕한 다음, 이 추출액을 1,500 rpm으로 30 분간 원심 분리하여 상청액을 얻었다. 그 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)를 이용하여 감압 농축한 다음 freeze dryer로 동결 건조시켜 15.3 g(수득율 20.4 %)을 얻어 검액으로 사용하였다.

### 2) 세포 배양조건

암세포주(L1210 세포주, S-180 세포주)와 면역 세포(흉선 세포, 비장 세포)의 배지로는 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 배지에는 10 % FBS와 penicillin-streptomycin(100 units/ml, 100  $\mu$ g/ $\mu$ l)을 첨가하였다. 암세포주의 계대 배양은 1 : 10 1 : 20 비율로 3 일 간격으로 하였고, 세포 증식에 미치는 약재의 영향을 관찰하기 위한 실험은 계대 배양 2 일째의 세포를 사용하였다.

### 3) MTT법에 의한 암세포 독성 측정

본 실험에 사용한 MTT법은 Mosmann<sup>21)</sup>이 개발하고 Kotnik<sup>22)</sup> 등이 변형시킨 방법으로, 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100  $\mu$ l( $2 \times 10^5$  cells/ml)를 접종하여 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 24 시간 동안 배양한 후 농도별(1, 10, 100  $\mu$ g/ml)로 희석된 NOT 100  $\mu$ l를 넣고 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48 시간 배

양하였다. 배양 종료 4 시간 전에 5 mg/ml 농도로 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(DPBS)-A에 희석된 MTT용액 20  $\mu$ l를 각 well에 첨가하고 배양 종료 시까지 은박지로 빛을 차단하였다. 배양 종료시 0.01 N HCl에 용해시킨 10 % SDS 100  $\mu$ l를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18 시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570 nm에서 측정하여 대조군의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

### 4) 마우스의 흉선세포 및 비장세포의 분리

마우스의 흉선 및 비장 세포 분리는 Wysocki<sup>23)</sup> 및 Mizel<sup>24)</sup> 등의 방법을 이용하였다. Balb/c 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후 적출한 흉선 및 비장을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2 회 세척한 다음 10 ml 주사기로 세포 부유액을 취하여 1,500 rpm에서 10 분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3 회 반복 세척한 후 흉선 및 비장 세포를 분리하였다.

### 5) MTT법에 의한 흉선 및 비장 세포의 증식율 측정

4) 와 같이 분리된 흉선 및 비장 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에  $1.0 \times 10^6$  cells/ml 농도로 접종하여 흉선 세포에는 Con A 5  $\mu$ g/ml와, 비장 세포에는 LPS 5  $\mu$ g/ml와 함께 다양하게 희석된 NOT의 농도(1, 10, 100  $\mu$ g/ml)를 100  $\mu$ l씩 첨가한 후 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48 시간 배양한 다음 3) 과 동일한 방법으로 흉선 및 비장 세포의 증식율을 측정하였다.

### 6) L1210 세포를 이식한 병태모델의 암세포 및 면역세포 증식율 관찰

#### ① 실험군

Balb/c 마우스 8 마리를 1 군으로 한 후 L1210 세포주를 2) 와 같이 계대 배양하여  $2 \times 10^6$  cells/mouse

로 조제한 다음 마우스의 복강에 1.0 ml를 주사함으로써 암종을 유발시켰다. 실험군은 Control, Sample A 및 Sample B로 분류하였다. Control은 증류수 0.2 ml를, Sample A는 NOT 500 mg/kg 0.2 ml를, Sample B는 NOT 700 mg/kg 0.2 ml를 각각 7 일 동안 1 일 1 회씩 경구 투여하였다.

## ② 암세포 증식 측정

6-① 과 같이 실시한 후 마우스를 경추 탈골시키기도살하였다. 도살 후 복강에 cold PBS 10 ml를 주입하여 잘 혼합시킨 다음 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4 °C에서 1,500 rpm으로 5 분간 원심분리하고 RPMI 1640 배지로 2 회 세척한 후, 직경 120 mm petri dish에 분주하여 CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양시켰다. 4 시간 후에 부착한 세포를 제거하고 부착하지 않은 세포를 모아 4 °C에서 1,500 rpm으로 5 분간 원심 분리하였다. 침전된 세포 분획을 모아 1×10<sup>6</sup> cells/ml로 조제하여 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100 μl를 분주하고 배지 100 μl를 채워 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48 시간 배양하였다. 이식된 암세포의 증식율은 3)과 동일한 방법으로 측정하였다.

## ③ 면역세포 증식 측정

6-① 과 같이 실시한 후 4) 와 같이 흉선 및 비장 세포를 분리하였다. 이 후 분리된 흉선 및 비장 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고, 96 well plate에 1.0×10<sup>6</sup> cells/ml 농도로 접종하여 흉선 세포에는 Con A 5 μg/ml, 비장 세포는 LPS 5 μg/ml을 첨가한 후 37 °C의 CO<sub>2</sub> 배양기에서 48 시간 배양한 다음 5) 와 동일한 방법으로 흉선 및 비장 세포의 증식율을 측정하였다.

## ④ 복강 대식 세포 분리 및 nitric oxide(NO) 생성 측정

6-① 과 같이 실시하면서 경추 탈골시키기 3 일 전에 3 % TG 2.0 ml를 복강 주사하였다. 이 후 도

살된 마우스의 복강에 cold PBS 10 ml를 주입하여 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4 °C에서 1,500 rpm으로 5 분 원심분리하고 RPMI 1640 배지로 2 회 세척한 후 직경 120 mm petri dish에 분주하여 CO<sub>2</sub> 배양기에서 4 시간 동안 배양시켰다. 부착되지 않은 세포를 제거한 다음 부착한 대식 세포만을 cell scraper로 분리하여 24 well plate에 각 well당 1×10<sup>6</sup> cells/ml로 분주한 후 LPS 1 μg/ml와 IFN-γ 25 units/ml를 첨가하여 37 °C CO<sub>2</sub> 배양기에서 24 시간 배양한 후 생성된 NO의 양을 Griess법<sup>25)</sup>으로 측정하였다. 세포 부유액 100 μl와 Griess reagent(1 % sulfanilamide + 0.2 % N-naphthyl- ethylene-diamine 2 Hcl + 2.5 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 100 μl를 혼합하여 96 well plate에 넣고 microplate-reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO<sub>2</sub>의 검량선에 의해 NO 양을 측정하였다.

## 7) S-180 세포를 이식한 병태모델의 항암 효과 관찰

### ① 실험군

ICR 마우스 8 마리를 1 군으로 한 후 S-180 세포 주를 2) 와 같이 계대 배양하여 2×10<sup>6</sup> cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 0.2 ml를 주사함으로써 암종을 유발시켰다. 실험군은 Control, Sample A 및 Sample B로 분류하였다. Control은 격일 간격으로 증류수 0.2 ml를 15 일 이상 경구 투여하였고, Sample A는 NOT 500 mg/kg 0.2 ml를, Sample B는 NOT 700 mg/kg 0.2 ml를 격일간격으로 15 일 이상 경구 투여하였다.

### ② 복강암 유발 마우스의 체중변화 측정

7-① 과 같이 실시한 후 15 일 후에 체중을 측정하였다. 그 후 복강암의 무게를 제외한 무게를 체중으로 환산하였다.

### ③ 복강암 유발 마우스의 고형암 억제효과 측정

7-① 과 같은 방법으로 실시한 15 일 후 경추탈

골시켜 도살한 마우스의 복강에 있는 고형암을 적출하여 전자저울을 이용하여 측정하였다.

④ 복강암 유발 마우스의 생존율 연장효과 측정  
7) ① 과 같은 방법으로 유발시킨 다음 복강암이 유발되지 않은 경우는 생존기간 연장측정의 척도인 Median survival time 계산에서 제외시켰다. Median survival time은 R.I. Geran<sup>26)</sup> 등이 기술한 방법에 의하여 실시하였다.

$$\text{Median survival time} = \frac{X + Y}{2}$$

X ; 생존수가 전체동물수의 1/2 이 되는 최초의 시간(일)  
Y ; 생존수가 전체동물수의 1/2 에서 1 일 뺀 최초의 시간(일)  
단, 전체동물의 수가 홀수인 경우는 Median survival time은 X/2가 된다.

### 3. 통계처리

통계처리는 Student's paired and/or unpaired t-test에 의하였으며, p-value가 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다<sup>27)</sup>.

## 실험 성적

### 1. NOT가 암세포주에 미치는 세포독성 효과

암세포주에 미치는 NOT의 세포독성 효과를 알아보기 위하여 NOT를 각각 1 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml를 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 1).

NOT를 투여하지 않은 Control의 L1210 세포주 증식율을 100.00±0.02 %라 하였을 때, NOT 1 µg/ml를 투여하였을 때는 99.08±0.01 %로 Control과 유사하였다. 그러나 NOT를 10 µg/ml, 100 µg/ml로 투여하였을 때는 각각 81.73±0.02 %, 81.23±0.02 %로 Control보다 유의성(P<0.001) 있게 세포 독성을 나타내었다.

NOT를 투여하지 않은 Control의 S-180 세포주 증식율을 100.00±0.02 %라 하였을 때, NOT 1 µg/ml를 투여하였을 때는 98.34±0.01 %로 Control과 유사하였다. 그러나 NOT를 10 µg/ml, 100 µg/ml로 투여하였을 때는 각각 86.65±0.01 %, 82.97±0.03 %로 Control보다 유의성(P<0.001) 있게 세포 독성을 나타내었다.

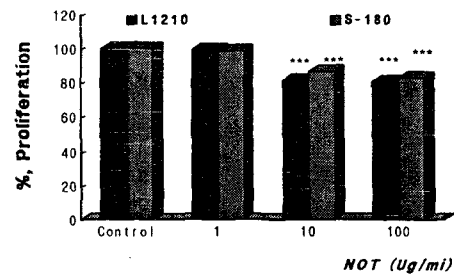


Fig. 1. Cytotoxicity of NOT on the L1210 cell lines and S-180 cell lines.

L1210 ; lymphocytic leukemia cell lines, S-180 ; sarcoma cell lines, NOT ; Neasookseul-Tang extract, Control ; NOT non-treated group, 1, 10, 100 ; NOT 1.0 µg/ml, 10.0 µg/ml, 100.0 µg/ml treated group.

\* : P-value vs Control group(\*\*\* P<0.001).

### 2. NOT가 면역세포 증식율에 미치는 효과

흉선 세포 증식율과 비장 세포 증식율에 미치는 NOT의 효과를 알아보기 위하여 NOT를 각각 1 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml를 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 2).

NOT를 투여하지 않은 Control의 흉선 세포 증식율을 100.00±0.01 %라 하였을 때, NOT 1 µg/ml를 투여하였을 때는 107.24±0.02 %로 Control보다 유의성(P<0.05) 있게 증가되었고, NOT 10 µg/ml, 100 µg/ml를 투여하였을 때도 각각 113.96±0.01 %, 123.90±0.02 %로 Control보다 유의성(P<0.001) 있게 증가되었다.

NOT를 투여하지 않은 Control의 비장 세포 증식율을 100.00±0.02 %라 하였을 때, NOT 1 µg/ml를 투여하였을 때는 102.51±0.01 %로 Control과 유사하게

나타났지만 NOT 10  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ 를 투여하였을 때는 각각  $109.84 \pm 0.02\%$ ,  $110.14 \pm 0.02\%$ 로 Control보다 유의성( $P < 0.01$ ) 있게 증가되었다.

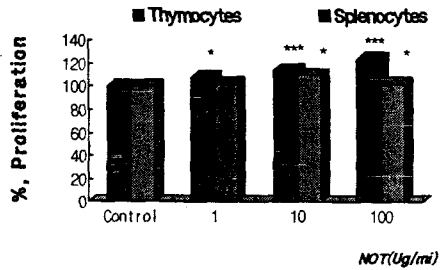


Fig. 2. Effects of NOT on the proliferation of thymocytes and splenocytes in vitro. Other legends are the same as Fig. 1.

\* : P-value vs Control group(\* :  $P < 0.05$ , \*\*\* :  $P < 0.001$ ).

### 3. NOT가 L1210 세포 이식 마우스의 복강내 암세포 증식에 미치는 억제 효과

암세포주(L1210 세포주)를 이식한 후 암세포의 증식 억제에 미치는 NOT의 효과를 알아보기 위하여 NOT 500 mg/kg, 700 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 3).

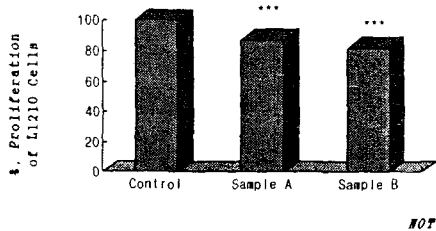


Fig. 3. Effects of NOT on the proliferation of L1210 cells in L1210 cells transplanted mice.

L1210 cells( $2 \times 10^6$  cells/mouse) transplanted to mice of all experimental group.

NOT ; Neasookseul-Tang extract, Control ; DDW 0.2 ml administered group for 7 days(1 time/day), Sample A ; NOT 500 mg/kg 0.2 ml administered group for 7 days(1 time/day), Sample B ; NOT 700 mg/kg 0.2 ml administered group for 7 days(1 time/day).

\* : P-value vs Control group(\*\*\* :  $P < 0.001$ ).

Control의 암세포 증식율을  $100.00 \pm 0.01\%$ 라 하였을 때 Sample A의 증식율은  $86.64 \pm 0.01\%$ 로, Sample B의 증식율은  $81.89 \pm 0.01\%$ 로 Control에 비해 유의성( $P < 0.001$ ) 있게 억제되었다.

### 4. NOT가 L1210 세포 이식 마우스의 면역 세포 증식에 미치는 효과

암세포주(L1210 세포주)를 이식한 후 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율에 미치는 NOT의 효과를 알아보기 위하여 NOT 500 mg/kg, 700 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 4).

Control의 흉선 세포 증식율을  $100.00 \pm 0.01\%$ 라 하였을 때 Sample A의 흉선 세포 증식율은  $104.75 \pm 0.02\%$ 로 Control과 유사하였지만 Sample B의 흉선 세포 증식율은  $114.56 \pm 0.03\%$ 로 Control에 비해 유의성( $P < 0.01$ ) 있게 증가되었다.

Control의 비장 세포 증식율을  $100.00 \pm 0.01\%$ 라 하였을 때 Sample A의 비장 세포 증식율은  $104.07 \pm 0.02\%$ 로 Control과 유사하였지만 Sample B의 비장 세포 증식율은  $109.39 \pm 0.02\%$ 로 Control에 비해 유의성( $P < 0.001$ ) 있게 증가되었다.

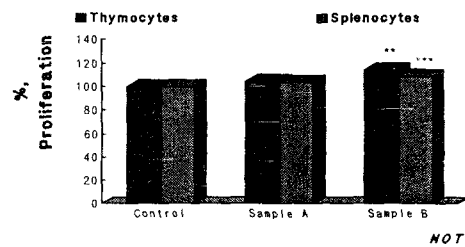


Fig. 4. Effects of NOT on the proliferation of thymocytes and splenocytes in L1210 cells transplanted mice.

Other legends are the same as Fig. 3.

\* : P-value vs Control group(\*\* :  $P < 0.01$ , \*\* :  $P < 0.001$ ).

**5. NOT가 L1210 세포 이식 마우스의 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양에 미치는 효과**

암세포주(L1210 세포주)를 이식한 후 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양에 미치는 NOT의 효과를 알아보기 위하여 NOT 500 mg/kg, 700 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 5).

Control의 NO 양  $9.97 \pm 0.08 \mu\text{M}$ 을  $100.00 \pm 0.01$  %라 하였을 때 Sample A의 NO 양은  $127.02 \pm 0.02$  %, Sample B의 NO 양은  $140.82 \pm 0.02$  %로 Control에 비해 유의성( $P < 0.001$ ) 있게 증가되었다.

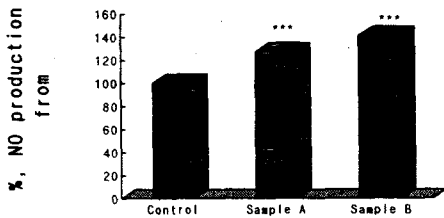


Fig. 5. Effects of NOT on the NO production from peritoneal macrophages in L1210 cells transplanted mice.

Other legends are the same as Fig. 3.

\* : P-value vs Control group (\*\*\*) : P < 0.001).

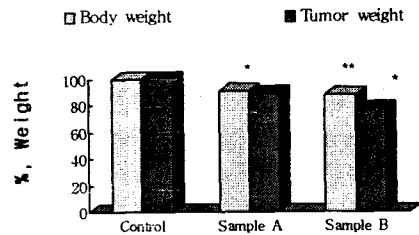
**6. NOT가 S-180 세포 이식 마우스의 체중 및 고형암 무게에 미치는 효과**

암세포주(S-180 세포주)를 이식한 후 마우스의 체중 및 고형암의 무게에 미치는 NOT의 효과를 관찰하기 위하여 NOT 500 mg/kg, 700 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 6).

Control의 체중  $54.92 \pm 1.58$  g을  $100.00 \pm 0.03$  %라 하였을 때, Sample A의 체중은  $91.20 \pm 0.02$  %로 Control보다 유의성( $P < 0.05$ ) 있게 감소되었고, Sample B의 체중도  $87.68 \pm 0.01$  %로 Control보다 유의성( $P < 0.01$ ) 있게 감소되었다.

Control의 고형암 무게  $1.37 \pm 0.13$  g을  $100.00 \pm 0.09$

%라 하였을 때, Sample A의 고형암 무게는  $89.02 \pm 0.07$  %로 Control보다 감소되었고, Sample B의 고형암 무게도  $76.83 \pm 0.05$  %로 Control보다 유의성( $P < 0.05$ ) 있게 감소되었다.



NOT

Fig. 6. Effects of NOT on the body weight and tumor weight in S-180 cells transplanted mice. S-180 cells ( $2 \times 10^6$  cells/mouse) transplanted to mice of all experimental group.

NOT ; Neasookseul-Tang extract, Control ; DDW 0.2 ml administered group for 15 days 1 time/2 days to mice, Sample A ; NOT 500 mg/kg 0.2 ml administered group for 15 days 1 time/2 days to mice, Sample B ; NOT 700 mg/kg 0.2 ml administered group for 15 days 1 time/2 days to mice.

\* : P-value vs Control group (\* : P < 0.05, \*\* : P < 0.01).

**7. NOT가 S-180 세포 이식 마우스의 생존율 연장에 미치는 효과**

암세포주(S-180 세포주)를 이식한 병태 모델의 생존율 연장에 미치는 NOT의 효과를 알아보기 위하여 NOT 500 mg/kg, 700 mg/kg을 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 7).

Control의 평균 생존일  $22.00 \pm 1.52$  일을  $100.00 \pm 0.07$  %라 하였을 때, Sample A의 평균 생존율은  $109.66 \pm 0.05$  %로 연장되었고, Sample B의 평균 생존율도  $121.59 \pm 0.05$  %로 Control보다 유의성( $P < 0.05$ ) 있게 연장되었다.

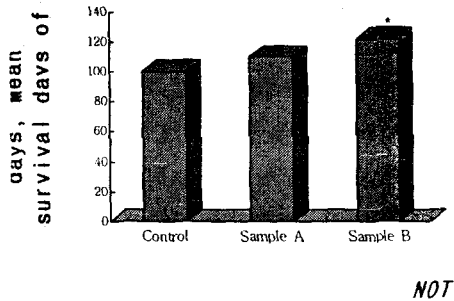


Fig. 7. Effects of NOT on the mean survival days of mice in S-180 cells transplanted mice.

Other legends are the same as Fig. 6.

\* : P-value vs Control group(\* : P<0.05).

## 고찰

東醫學에서 최초로 ‘癌’이란 표현을 사용한 것은 宋代의 東軒居士<sup>2)</sup>인데, 그 腫塊가 巖石과 같이 단단하고 형상이 불규칙적인 것을 의미하는 癰疽에 가까운 증상을 말한 것으로, 그 이후부터 病理的인 側面에서 炎症性 疾患이나 腫瘍性 腫塊, 즉 癌과 有關하다 인식하였다<sup>8-10)</sup>.

서의학의 암에 해당하는 병명은 腫瘍, 癰疽, 腫毒, 積聚, 癭瘰, 癥, 陰瘡, 癭瘤, 肺癰, 肝癰, 腸癰, 疔瘡, 石癰, 石疽, 疔疽, 疔膈 등이 있고<sup>3)</sup>, 이 중 癰疽는 癰과 疽가 합해진 말로 癰疽의 原因에 《黃帝內經》<sup>4)</sup>에서는 膏粱厚味·營氣不從·五臟不和·九竅不通 등에 의해, 劉<sup>5)</sup>는 火熱·風濕之所乘에 의해, 李<sup>6)</sup>는 濕熱에 의해, 朱<sup>7)</sup>는 六氣·七情·熱勝血·陰滯·陽滯에 의해 발생된다고 하였다<sup>8-10)</sup>.

癰疽의 治療法으로, 初期에는 祛邪爲主의 消法을 使用하고, 中期에는 扶正祛邪의 托法을 使用하며, 後期에는 扶正爲主(生肌·補氣養血)의 補法을 使用한다<sup>11-13)</sup>.

內消沃雪湯은 《東醫寶鑑》<sup>14)</sup>에 “治胃脘癰及肚癰內疽神效”라고, 《外科正宗》<sup>15)</sup>에 “治發背初起, 但未出膿, 堅硬疼痛, 不可忍者.”라 기록된 處方으로 癰疽를 治療하며 扶正祛邪의 癰疽內托法에 使用된다.

內消沃雪湯 構成藥物의 效能을 살펴보면 當歸身은 補血活血, 止痛潤腸하여 癰疽瘡瘍, 月經不調 등에 使用되고, 白芍藥은 養血斂陰, 柔肝止痛하며, 甘草는 補脾益氣, 潤肺止咳, 緩和藥性하여 解毒作用으로 癰疽瘡毒을 治療한다. 黃芪는 補氣升陽, 益衛固表, 托毒生肌, 利水退腫하여 癰疽久敗瘡에 使用하고, 射干은 清熱解毒, 祛痰利咽하며, 金銀花는 連翹와 함께 清熱解毒하여 風濕 및 腫毒, 癰疽, 疥癬, 各種惡瘡를 治療한다. 白芷는 解表, 消腫排膿, 止痛하고, 貝母는 化痰止咳, 清熱散結하며, 天花粉은 清熱生津, 消腫排膿하여 癰腫과 腫毒을 治療하고 咳血을 멎게 한다. 陳皮는 理氣調中, 燥濕化痰하고, 青皮는 疏肝破氣, 散結消滯하며 木香은 行氣調中止痛하여 乳癰, 癭瘰 등을 다스리고, 皂角子와 穿山甲은 活血通經, 消腫排膿하여 癰疽瘡毒에 쓰며, 大黃은 瀉下攻積, 活血祛瘀, 清熱瀉下하여 熱毒瘡瘍 등에 使用되고, 乳香과 沒藥은 活血止痛 消腫生肌하는데 모두 外科疾患의 托裏排膿에 일정한 作用이 있다<sup>20)</sup>.

內消沃雪湯은 17 種의 藥物로 構成되어 있으며 扶正祛邪하는데, 韓의학에서 扶正은 正氣를 扶助하는 藥物과 治療방법을 使用하는 것으로 補法, 祛邪는 攻逐毒死하는 藥物과 治療방법을 使用하는 것으로 瀉法을 말한다<sup>20)</sup>. 正氣는 各種의 장부조직기관의 功能 활동을 정상적으로 유지하게 하는 病邪에 대한 抵抗力이라 할 수 있고, 邪氣는 人체를 發病하게 하는 各種의 發病인자와 병리적 손상인자라 말할 수 있다. 따라서 韓의학에서의 正氣는 서양의학적인 측면에서 면역과 일맥상통한다고 볼 수 있고, 邪氣는 암종세포와 같은 人체내 비정상적인 功能을 하고 있는 各種 질병 유발요인들이라고 말할 수 있다<sup>30)</sup>.

免疫은 生體가 自己와 非自己를 鑑別하는 것이고, 免疫反應은 生體가 非自己를 鑑別하여 自己의 恒常性을 유지하기 위하여 취하는 일련의 生體反應이다<sup>31)</sup>. 종류로는 食세포나 보체가 關여하는 先天的 免疫과 T細胞와 B細胞가 關여하는 後天的 免疫으로 나누어지며, 면역반응에 따라 體液性 免疫과 細胞媒介性 免疫으로 分類되는데, 體液性 免疫은 B細胞가



주로 담당하는 것으로 血液 및 기타의 體液속에서 방출된 抗體이며 생체에 感染을 일으킨 細菌이나 細菌毒素, virus 등과 직접 결합하여 용균 또는 독소, virus의 중화, 식균현상을 나타내 生體를 感染으로부터 防禦하는 것이고, 細胞媒介性 免疫은 T細胞가 주로 담당하는 것으로 알레르기반응, 接觸性皮膚炎, 동종이식거부 등을 나타내는 면역의 종류이며, 화학전달물질들을 분비함으로써 腫瘍細胞나 virus 감염세포에 대해 직접 손상을 준다<sup>32-34</sup>. 만약에 免疫反應이 不足하게 되면 各種 感染性 疾患 내지 惡性腫瘍에 걸리기 쉽고, 반대로 免疫反應이 지나친 경우 각종 알레르기나 스트레스 또는 自己免疫疾患을 일으킨다<sup>31</sup>. 이 중에서 腫瘍에 대한 免疫 反應은 특히 細胞 媒介性 免疫에 의해 이루어지는 것으로 알려져 있다<sup>35</sup>.

서의학의 항암요법은 면역요법을 비롯하여 수술요법, 방사선요법, 화학요법, 유전자요법, 세포분화유도법, 혈관형성저해법 등을 활용되고 있는데, 이중 화학요법은 암세포에 대해 비교적 특이적으로 작용하나 그에 따른 부작용이 적지 않다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 부작용이 적은 새로운 항암제의 개발<sup>36</sup>, 항암성을 나타내는 천연물질에 대한 연구<sup>37</sup>, 새로운 약제학적인 연구<sup>38</sup> 등이 시도되고 있고 한방적인 연구로도 정<sup>16</sup>의 內托羌活湯, 은<sup>17</sup>의 四物湯, 정<sup>18</sup>의 桃紅四物湯, 김<sup>19</sup>의 補中益氣湯 등을 이용하여 항암 효과, 면역증진 효과, 항암제 부작용 억제효과 등의 많은 연구가 보고되고 있다. 그러나 癰疽에 사용되는 內消沃雪湯에 대한 연구는 아직까지 접할 수 없었다.

이에 저자는 癰疽가 암과 연관하고, 복강내에 발생하는 癰疽에 內消沃雪湯을 사용한다는 것에 착안하여 본방이 미치는 항암 효과를 살펴보고 동시에 항암 요법 중에도 면역 증강 요법이 있어 본방이 면역 세포에 미치는 실험적 효과도 알아보려고 하였다.

內消沃雪湯을 L1210 세포주와 S-180 세포주에 투여한 결과, 內消沃雪湯은 모든 암세포주에 대하여 약 20 % 정도의 세포 독성 효과를 나타내었다. 그러

나 흉선 세포 증식율은 암세포주와는 달리 23 % 이상 유의성 있는 촉진을 보였고, 비장 세포의 증식율도 10 % 이상의 유의성 있는 증가를 보였다. 이와 같은 결과는 內消沃雪湯이 면역 세포의 증식율은 촉진시키면서도 인체에 해로운 암세포에 대해서는 선택적으로 세포 독성을 나타내고 있음을 알 수 있었다.

內消沃雪湯이 *in vitro*상에서 유의한 효과를 나타내 L1210 세포를 이식한 마우스에서는 어떠한 효과를 나타내지는 알아보려고 하였다. 병태 모델에 본방을 투여한 결과 복강내 L1210 암세포의 증식은 대조군보다 약 20 % 정도 유의성 있게 억제되었고, 면역 세포의 증식은 *in vitro*상과 같이 유의성 있는 증가 현상을 나타내었다. 이는 內消沃雪湯이 인체에 유해한 세포에게는 선택적으로 독성을 나타내지만 면역 세포에 있어서는 오히려 증식을 촉진시키는 것으로 볼 수 있다.

Nitric Oxide(NO)는 L-arginine에 NO-synthase(NOS)가 작용하여 생성되는 것으로 NOS는 constitutive NOS(cNOS)와 활성화된 대식 세포 등에서 발견되는 inducible NOS(iNOS)가 있다<sup>39</sup>. iNOS는 대식 세포 및 호중구 등과 같이 탐식작용 등에 관여하는 신체의 여러종류의 세포에서 분비되는 것인데, 그 중 대식 세포가 생산하는 NO는 interleukin 1 $\beta$ ·IFN- $\gamma$ ·Tumor Necrosis Factor(TNF)- $\alpha$  등과 같은 cytokine 및 세균의 세포벽에 존재하는 LPS 등에 의해 유도되어 형성된다<sup>40</sup>. 복강 대식 세포에 의해 생산되는 NO가 항암작용이 있다고 최초로 보고<sup>41</sup>된 이래 연구자들은 활성화된 대식 세포가 정상세포보다는 tumor cell을 선택적으로 파괴할 수 있기 때문에 macrophages-mediated tumor cytotoxicity로 중요한 의미가 있다고 하였다<sup>42-43</sup>.

內消沃雪湯이 L1210 암세포가 이식된 마우스의 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양에 미치는 효과를 관찰한 결과 투여 농도에 의존해 NO의 양이 유의성 있게 증가되었다. 이는 內消沃雪湯의 복강내 L1210 암세포 증식 억제 작용과 복강 대식 세포에서

생산되는 NO의 양과 관련이 있음을 보여준다.

內消沃雪湯이 복강내에 발생하는 癰疽에 유효하다하여 본방의 항암 작용을 재확인하고자 S-180 세포를 복강내 이식하여 복강암 병태 모델을 유발시킨 후 마우스의 체중 및 고형암 무게에 관찰한 결과, 체중은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었고, 고형암의 무게도 대조군보다 23 % 이상 감소되는 것으로 나타나 內消沃雪湯이 복강내 암종 억제에 유효함을 보여주었다. S-180 세포로 이식된 복강암 병태 모델의 평균 생존율도 대조군에 비하여 약 22 % 정도 유의성 있게 연장되어 內消沃雪湯의 항암 효과를 확인할 수 있었다.

이상의 결과, 內消沃雪湯은 복강내에 있는 암세포의 증식을 억제함과 동시에 평균 생존율을 연장시키는 등의 항암 효과를 나타내었고, 그 작용으로는 후천성 면역을 증강시키면서도 복강 대식 세포를 활성화시켜 나타나는 것으로 생각된다. 또한 內消沃雪湯의 암세포에 대한 세포 독성 효과가 다른 암세포에서도 나타날 것으로 기대되기 때문에 간암, 췌장암 등 복강내에서 발생하는 각종 암종에 대한 연구가 더욱 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

## 결론

內消沃雪湯의 항암 작용을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 內消沃雪湯은 L1210 세포주와 S-180 세포주에 대하여 유의성 있는 세포독성을 나타냈다.
2. 內消沃雪湯은 정상 마우스 및 L1210 암세포가 이식된 병태 모델의 흉선 세포 및 비장 세포의 증식율을 유의성 있게 증가시켰다.
3. 內消沃雪湯은 L1210 암세포가 이식된 병태 모델의 암세포 증식율을 유의성 있게 억제하였고, 복강 대식 세포에서 생산되는 NO의 양을 유의성 있게 촉진시켰다.

4. 內消沃雪湯은 S-180 암세포가 이식된 병태 모델의 체중 및 고형암 무게를 유의성 있게 감소시키고, 평균 생존기간을 유의성 있게 연장시켰다.

## 참고 문헌

1. 예방의학과 공중보건편찬위원회 : 예방의학과 공중보건, 서울, 계축문화사, 1987:426-430.
2. 東軒居士 : 衛濟寶書(中國醫學大系), 서울, 鼎談出版社 9권, 1987:817.
3. 申天浩 : 癌瘤防治研究, 서울, 성보사, 1984:25-29, 31-38.
4. 楊維傑 : 黃帝內經素問靈樞譯解, 서울, 成輔社, (素問), 1980:235, 266, 455 (靈樞) 262.
5. 李聰甫外 : 金元四大醫家學術思想研究, 서울, 成輔社, 1985:36-37.
6. 李東垣 : 東垣十種醫書, 서울, 大成文化社, 1994: 532-533.
7. 朱丹溪 : 丹溪心法附與, 臺灣, 五洲出版社, (卷十六), 1963:10, (卷十八) 1.
8. 陳無擇 : 三因論, 서울, 翰成社, 1977:525-526.
9. 揚醫竝 : 中醫學問答(下), 北京, 人民衛生出版社, 1985:356-357, 369-370.
10. 郁仁存 : 中醫腫瘤學, 北京, 北京科學技術出版社, 1983:1-10.
11. 宋孝元 : 還魂散이 實驗的으로 誘發한 腫瘍 및 免疫學的 反應에 미치는 影響, 益山, 圓光大學校, 1996.
12. 上海中醫學院編 : 中醫外科學, 香港, 商務印書館, 1981:24-30.
13. 顧伯華 : 實用中醫外科學, 上海, 上海科學技術出版社, 1985:79-81.
14. 許俊 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, 1987:583.
15. 陳實功 : 外科正宗, 북경, 인민위생출판사, 1983: 28.

16. 정현우, 정우열, 전병훈 : 종양면역반응조절에 미치는 내탁강활탕의 효능에 대한 연구, 동의병리학회지, 1997;11(2):81-91.
17. 은재순, 유동화, 권진, 오찬호 : 사물탕이 L1210 세포 이식 및 항암제를 투여한 마우스의 면역세포에 미치는 영향, 생약학회지, 1998;29(2): 110-119.
18. 정현우, 조영림 : 桃紅四物湯이 L1210 세포가 이식된 마우스의 면역계에 미치는 효과, 동의병리학회지, 1999;13(1):132-140.
19. 김수진, 임낙철, 김성훈 : 補中益氣湯 및 少陰人 補中益氣湯이 S-180 에 대한 항종양효과와 Cyclophosphamide 에 의한 부작용에 미치는 영향, 동의병리학회지, 1993;8(2):119-136.
20. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著 : 本草學, 서울, 永林社, 1999:534-536, 540-541, 578-583.
21. Mosmann, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxic assays. J. Immunol. Methods, 1983; 65(1-2):55-63.
22. Kotnic, V. and Fleischmann, W.R.Jr. : A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. J. Immunol. Methods, 1990;129(1):23-30.
23. Wysocki, L.J. and Sato, V.L. : "Planning" for lymphocytes ; A method for cell selection. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1978;75(6):2844-2848.
24. Mizel, S.B., Rosenstreich, D.L. : Regulation of lymphocyte-activating factor(LAF) production and secretion in P388D1 cells ; identification of high molecular weight precursors of LAF. J. Immunol. Methods, 1979;122(6):2173-2179.
25. Rockett, K.A., Auburn, M.M., Cowden, W.B. and Clark, I.A. : Killing of Plasmodium falciparum in vitro by nitric oxide derivatives. Infect.Immun., 1991;59(9):3280-3283.
26. Geran, R.I., Greenberg, N.H., Macdinald, M.M., Schumacher, A.M. and Abbott, B.J. : Protocol for screening chemical Agents and Natural products against Animal Tumors and ather Biological system(Third Edition), Cancer chemotherapy Reports 1972;48:59.
27. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods(6th ed). Iowa state Uni(ames). 1967.
28. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林社, 1997:169, 175, 221, 223, 283, 321, 332, 380, 381, 387, 453, 454, 463, 473, 506, 636.
29. 문구 외 : 암 동서의 결합치료 1, 원광대학교 출판국, 1999:256-257.
30. 김양중, 김강산 : 분돈환합동충하초 추출액이 암 세포주 및 L1210세포가 이식된 마우스의 면역계에 미치는 영향, 대한침구학회지, 1999;16(3): 405-422.
31. 東西醫學研究會 : 臨床東西醫學, 서울, 永林社, 1997:546-547, 550, 552-553.
32. 김상호외 4인 : 一般病理學, 서울, 高文社, 1995: 51-54, 348-349.
33. 하대유의 25인 : 免疫學, 서울, 高文社, 1994:1-32.
34. 김길영 : 免疫不全疾患과 惡性腫瘍, 연세의대는 문집, 1978;11(1):61-64.
35. 대한병리학회 : 병리학 제3판, 서울, 고문사, 1998:159-161.
36. 편옥범 외 : Cisplatin병용 항암화학요법시 Ondansetron과 Dexamethasone의 오심과 구토에 대한 예방효과, 대한암학회지, 1994;26(1): 151-157.
37. 박재갑 외 : 전통 약용식물의 항암효과에 대한 연구, 생약학회지, 1993;94:223-230.
38. 황우익·백나경 : 人蔘中 Panaxynol과 Panaxydol의 抗癌性 研究, 고려대학교의과대학논문집 1991; 74:481-487.
39. Nathan, C. : Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. FASEB J., 1992;6(12):3051-3064.
40. Higuchi, M.M., Higashi, N., Taki, H., and Osawa,

- T. : Cytolytic mechanisms of activated macrophages ; Tumor necrosis factor and L-arginine-depenent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanism of activated macrophages, *J. Immunol. Methods*, 1990,144(4): 1425-1431.
41. Hibbs, J.B., Taintor, R.R. and Vavrin, Z. : Macrophage cytotoxicity role for L-arginine deaminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science*, 235, 1987:473.
42. Nakabo, Y., Harakawa, N., Yamamoto, K., Okuma, M., Uni, K. and Sasada, M. : Mechanism of leukemic cell lysis by activated human macrophages ; leukemic cells can be lysed without direct contact. *Int. J. Hematol*, 1994;60(1):51-57.
43. Grisham, M.B., Ware, K., Gilleand, H.E.Jr., Gilleland, L.B., Abell, C.L. and Yamada, T. : Neutrophil-mediated nitrosamine formation ; role of nitric oxide in rats. *Gastroenterology*, 1992;103(4): 1260-1266.