

黃芪 투여시기가 Cyclophosphamide 유발 흰쥐의 백혈구감소증에 미치는 영향

장재민 · 고성규 · 신용철*
경희대학교 한의과대학 예방의학교실

The Effects of Astragali Radix on Cyclophosphamide-induced Leucopenia

Jae-min Chang, Seong-Gyu Ko* & Yong-Cheol Shin

Dept. of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung Hee Univ. Seoul, Korea

Abstract

In order to identify the effect of Astragali Radix(A.R) on cyclophosphamide(C.Y) induced leukopenia, A.R extracts(EAR) were treated to mice orally, and blood sampling was done by periods. For the *in vivo* experiments, mice were divided into 4 groups, which treated EAR before, or after C.Y injection, or both, or none. Rapid normalization in the peripheral blood count of WBC, neutrophils, lymphocytes, RBC, and platelets observed in every EAR treated group regardless of the treatment periods of EAR. These studies suggest that, A.R premedication can be effective in protection of bone marrow suppression during anticancer therapy.

Key words : Astragali Radix, leukopenia, lymphocytes, anticancer therapy.

* Corresponding author : Ko Seong-Gyu, Dept. of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunghee University, Seoul, Korea. Tel : 82-2-961-0329 E-mail : epiko@khu.ac.kr

I. 緒 論

제1차 세계대전 중 전쟁독가스로서 수포(vesicle)를 유발하는 sulfur mustard가 백혈구 감소 골수기능저하 위장관 궤양 등을 일으키고, nitrogen mustard가 생쥐에 이식한 임파육종(transplanted lymphosarcoma)을 강하게 억제함이 보고된 이래 많은 alkyl화 항암제가 합성되었다.¹ 그 중 Cyclophosphamide(이하 CY)는 현재 가장 널리 사용되는 alkyl화 항암제이고, 혈액암과 고형암(solid tumor) 치료에 모두 효과적이며 정맥 투여뿐 아니라 경구투여로도 잘 흡수되는 항암제이다.² 그러나 CY는 골수를 억압하여 단기간의 중증의 호중구감소증(neutropenia)을 유발할 수 있고, 그 외 혈소판 감소증(thrombocytopenia)과 탈모, 면역저하를 일으킬 수 있으며, 골수이식에서와 같은 대용량에선 심근괴사나 신장의 비정상적인 체액저류(inappropriate renal retention)를 유발할 수 있다고 보고되고 있다.^{2,3}

한편, 황기(Astragali Radix)는 콩과(Leguminosae)에 속한 다년생 초본인 단너삼의 건조한 뿌리를 말하며 補益藥 중 補氣藥에 속하는 약물로서, 性味가 甘溫하고 脾, 肺經으로 들어가 補脾 益氣하며, 陽氣를 昇擧시키고, 外로 肌表에 達하므로 補氣 昇陽하여 元氣가 下陷한 것을 昇擧하고, 補氣 固表하는 效能이 있어 止汗하고 補氣함으로서 生血하며, 또한 精氣를 고무시켜 托毒 生氣시키며, 陽氣를 溫運케하여 利水消腫하는 效能이 있다.^{4,7,8} 이러한 황기 효능의 현대적 분석에 관해, 배¹¹는 항암제 처치후에 황기 중완 수침을 시행한 실험군에서 대조군에 비해 백혈구 수의 유의한 증가가 있음을 보고하였으며, 전¹²은 백혈병 세포주를 10일간 복강주사 하여 암종을 형성한 후 황기추출액을 경구투여하거나, 항암제(Chlorambucil) 복강주사와 병용하여 황기의 조혈기능에 대해 관찰했는데, 황기와 항암제의 병용투여군을 포함

하여 항암제가 투여된 모든 군에서는 적혈구 수의 유의한 감소를 보였으며, 백혈구 수에 대해서는 유의성 있는 차이가 없다고 보고하였다. 그 외 강²² 등은 *in vivo*와 *in vitro*에서 황기추출물이 IL-4를 증가시키고, IFN- γ 를 감소시키는 등 cytokine의 증감을 유발하여 면역력을 강화한다고 보고하였다.^{6,13,14,15,16,22,23} 이에 본 연구에서는 현재 가장 널리 사용되는 alkyl화 항암제인 CY의 부작용에 대한 황기의 골수보호 효과를 알아보하고자, CY를 피하 주사하여 백혈구 감소증을 유발한 흰쥐에 황기추출액을 경구 투여하였으며, 특히 황기추출물 투여시기에 대해서 CY투여 전, 후, 그리고 전후로 달리 하여 살펴본 결과, 황기의 골수보호 및 회복작용에 유의성이 있어 보고하고자 한다.

II. 實驗 方法

1. 재료 및 기기

1) 실험동물

실험에 사용한 동물은 8주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(Samtako, Inc., Osan, Korea 이하 SD) 80마리로 실험동물용 사료(Agribrands Purina Korea Inc, Korea)와 3차 증류수를 충분히 공급하면서 1주일 동안 온도 섭씨 22도, 습도 55%, 주야 12시간씩 실험실 환경에 적응 시킨 후 사용하였다.

2) 약재 및 시약

본 실험에 사용한 한약재는 강원도 정선산 4년근 황기(黃芪, Astragali Radix, 이하 AR)로서 음니허브(Omniherb, Korea)에서 구입하였다. 호중구감소증 유발에 사용된 항암제는 Cyclophosphamide(Sigma Chemical U.S.A., 이하 CY)를 사용하였다.

3) 검액의 조제

시료의 추출은 150g AR에 1500ml 1차 증류수를 넣고 한류 냉각관이 설치된 추출기 (Extraction Apparatus, Misung Scientific Co. Ltd., Korea)를 이용하여 90°C에서 3시간 추출한 후 Whatman NO.2 여과지(Whatman International Ltd., England)로 감압여과하였다. 여과한 액은 감압농축기(Eyela, Japan)로 농축하였으며, 얻어진 농축액을 동결 건조하여 (Freezedryer, Matsushita, Japan) 10g의 AR Extracts(이하 EAR)을 얻었다(수율 6.67%).

2. 실험방법

1) 실험디자인

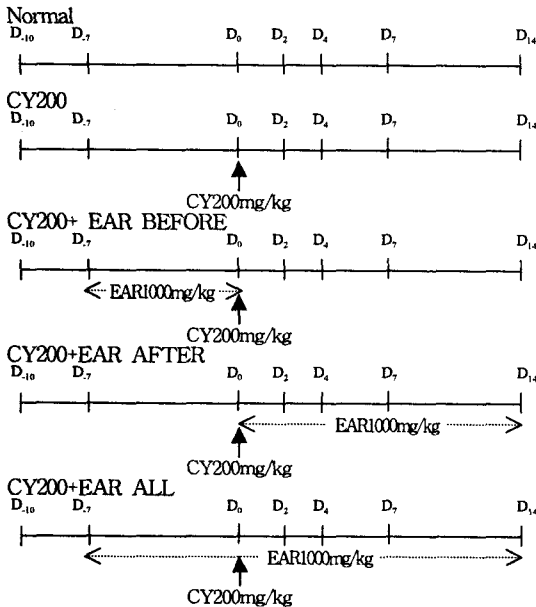


Fig.1. Design of experiments. Normal group was fed distilled water and diet. Control group was administered 200mg/kg CY. Each groups were allotted into CY200+BEFORE, CY200+AFTER and CY200+ALL by treatment period and were administered 1000mg/kg EAR from D7 to D14 respectively. Blood was obtained by cardiac puncture of each animal on D0, D2, D4, D7 and D14, respectively. CY: Cyclophosphamide, EAR: Extracted Astragali Radix, D: Day

2) 검액투여

정상군을 제외한 각 실험군의 호중구감소증 유발은 첫제날(Day 0)에 CY 200mg/kg를 피하주사(subcutaneous injection)하였다. 그리고 EAR은 EAR 투여 시기에 따라 각각 1000mg/kg 씩을 CY투여하기 7일전부터 CY투여 전일까지 7일 동안 투여하거나, CY투여 직후부터 마지막 실험일 까지 14일 동안 투여, 또는 CY를 투여하기 전후에 계속 투여하여 21동안 투여하였다. EAR의 투여는 1ml의 3차 증류수에 희석하여 매일 10:00~10:30AM, 6:00~6:30PM 2차례에 걸쳐 1회당 하루 용량의 1/2을 sonde를 사용하여 경구투여 하였다.

3) 혈액의 채취

혈액 채취는 각 집단의 각 시간별 4 마리의 실험 동물을 12시간 절식시킨 후 ethyl ether (Duksan Pure Chemical Co. Ltd. Korea)로 마취시켜 5ml 주사기를 이용하여 심장천자를 통해 3ml 채취하였다. 1ml는 EDTA 처리된 tube (Becton Dickinson Vacutainer Systems. USA)에 넣고, 나머지 혈액은 tube(Axygen Scientific, Inc., USA)에 넣고 3000rpm에서 5분간 원심분리(Hanil Science Industrial Co., Ltd. Korea)하여 혈청을 얻었다.

4) 혈액 분석

EDTA tube에 담은 전혈은 동물전용전자동 혈액분석기(HEMAVET 950, Drew Scientific., LTD. UK)를 이용하여 White Blood Cell, Neutrophil, Lymphocyte, Platelet and Red Blood Cell을 검사하였고, 원심분리로 얻은 혈청은 동물용 생화학 분석기(DRI CHEM 3500, Fuji Photo Film, Co Japan)를 사용하여 GOT, GPT, BUN and CRE를 검사하고 측정하였다.

(시약: CRE-PS, GPT-PS, GGT-PS, GOT-PS, BUN-PS(Fujifilm, Japan))

측정은 2회 반복 측정하여 평균값을 데이터로 활용하였다.

3. 통계처리

실험 성적은 평균과 표준 편차로 나타내었으며, 대조군과 실험군 간의 차이는 student's test(두 군 이하의 비교)와 ANOVA(3군 이상의 비교)를 이용하였다. 그리고 각 약물 효과의 시간에 대한 추세는 Repeated measure ANOVA를 이용하여 분석하였다. 사후 검정은 Duncan's multiple-range test를 이용하였다.

III. 實驗 結果

1. CY 주사 후 흰쥐의 외형적 변화

0일~2일 동안은 몸무게가 평균적으로 6mg 줄었으며, 2일~7일 동안은 몸무게 변화는 통계적으로 유의한 차이가 없었지만 2일~4일에는 털이 빠졌고, 4일~7일에는 비출혈과 혈뇨 출혈이 있었다.

2. CY의 최적 용량 결정

분석 목적은 CY150과 CY200를 이용하여 어떤 용량을 취할지 결정하는 것이다.

3. 경구투여 방법결정

분석 목적은 스트레스를 유발한 군과 유발하지 않은 군, 그리고 약(AR1000)을 준 군에 대해 차이가 있는지 알아 보는 것이다. 분석 결과 스트레스를 유발한 군(sonde를 이용하여 물은 준 군)이나 유발하지 않은 군(sonde를 이용하지 않고 물을 준 군) 간에 차이가 결과의 차이는 거의 없다.

4. 투여시기에 따른 차이 분석

분석 목적은 CY200 VS CY200+EAR BEFORE VS CY200+AFTER VS CY200+ALL에 대해 비교하여, CY만 처리한 군과 AR을 처리한 군 간에 차이가 있는지 알아본다. EAR을 전에 처리한 군과 후에 처리한 군, 전후에 처리한 군 간에 회복에 차이가 있는지 알아본다. 그리고 EAR을 받은 군이 CY200만 받은 군에 비하여 NORMAL로 회복되는지 알아보았다.



Fig.2. Hematuria and nasal bleeding after injection of cyclophosphamide.

장재민 외 2인 : 黃芪 투여시기가 Cyclophosphamide 유발 흰쥐의 백혈구감소증에 미치는 영향

Table 1. Effect of CY-dose according to day

	Date	CY150mean±SD	CY200mean±SD	P-value
WBC	D4	0.44±0.17	0.37±0.02	0.4938
	D7	0.68±0.13	0.43±0.11	0.0474
	D14	7.81±2.09	4.97±0.3	0.0709
	D21	4.22±1.11	3.46±0.85	0.3734
NE	D4	0.15±0.06	0.14±0.02	0.7965
	D7	0.27±0.06	0.22±0.12	0.5009
	D14	5.31±1.92	3.96±0.19	0.2559
	D21	1.39±0.35	1.55±0.14	0.5099
LY	D4	0.26±0.1	0.19±0.02	0.2899
	D7	0.34±0.08	0.17±0.05	0.0281
	D14	1.88±0.57	0.68±0.06	0.0232
	D21	2.55±0.94	1.67±0.68	0.2313
PLT	D4	323.38±12	289.25±48.36	0.2549
	D7	147.88±40.11	45.5±16.12	0.0094
	D14	1066.5±245.67	1349.33±26.14	0.1038
	D21	918±68.3	1038±63.85	0.0647
RBC	D4	7.01±0.28	6.96±0.19	0.7435
	D7	6.35±0.08	6.77±0.68	0.3904
	D14	7.19±0.28	6.76±0.08	0.0549
	D21	7.43±1.01	8.25±0.96	0.3286
GOT	D4	63±12.73	65±21.98	0.8800
	D7	52±2.45	36.67±1.53	0.0002
	D14	67.75±2.36	69±2.65	0.5385
	D21	80±8.16	51±1	0.0019
GPT	D4	21.5±2.65	19.5±2.38	0.3040
	D7	16.75±4.19	12.67±3.06	0.2163
	D14	26±3.74	33.67±0.58	0.0244
	D21	48.75±4.79	26.33±2.31	0.0007
BUN	D4	16.85±1.65	20.85±3.34	0.0755
	D7	16.58±0.6	19.7±18.14	0.7936
	D14	17.18±1.2	16.27±0.06	0.2259
	D21	19.43±3.02	17.67±0.76	0.3795
CRE	D4	0.33±0.05	0.33±0.05	1.0000
	D7	0.33±0.05	0.33±0.12	0.9001
	D14	0.4±0	0.4±0	
	D21	0.5±0.08	0.4±0	0.0917

WBC : white blood cells; LY: lymphocyte NE : neutrophil PLT : Platelet RBC : red blood cells BUN : blood urea nitrogen CRE : creatinine; CY150 : Cyclophosphamide 150 mg/kg; CY200 : Cyclophosphamide 200mg/kg D4: Day4 D7: Day7 D14: Day14 D21: Day21

Results are presented as mean± SD and Student's t-test p-value

Table II. Effect of sonde and EAR according to day

	DATE	CY200mena±SD	CY200 (using sonde) mena±SD	CY200+EAR1000 mena±SD	P-value
WBC	D4	0.37±0.02	0.44±0.07	0.39±0.06	0.3043
	D7	0.43±0.11	0.47±0.18	0.47±0.23	0.9532
	D14	4.97±0.3	8.5±3.13	7.97±1.58	0.1907
	D21	3.46±0.85	2.65±0.09	4.9±4.05	0.5409
NE	D4	0.14±0.02	0.16±0.04	0.14±0.03	0.4616
	D7	0.22±0.12	0.23±0.1	0.18±0.12	0.8563
	D14	3.96±0.19	6.65±3.27	6.44±1.1	0.3266
	D21	1.55±0.14	1.28±0.03	1.3±0.25	0.1672
LY	D4	0.19±0.02	0.24±0.04	0.23±0.04	0.2142
	D7	0.17±0.05	0.19±0.05	0.22±0.09	0.6372
	D14	0.68±0.06	1.16±0.02	1.08±0.24	0.0078
	D21	1.67±0.68	1.21±0.13	3.39±3.59	0.4576
PLT	D4	289.25±48.36	312.25±27.35	298.88±28.06	0.6734
	D7	45.5±16.12	117.5±101.61	103.5±60.46	0.4421
	D14	1349.33±26.14	1221.5±43.24	1268.5±111.02	0.1085
	D21	1038±63.85	935.67±56.5	828±148.35	0.1035
RBC	D4	6.96±0.19	7.34±0.26	7.24±0.25	0.1077
	D7	6.77±0.68	6.72±0.61	6.62±0.53	0.9444
	D14	6.76±0.08	7.09±0.23	6.63±1.05	0.5889
	D21	8.25±0.96	7.18±0.11	7.38±0.17	0.1251
GOT	D4	65±21.98	44±3.16	51.75±3.4	0.1221
	D7	36.67±1.53	57.5±19.91	41.33±4.73	0.1595
	D14	69±2.65	54.33±12.22		0.2404
	D21	51±1	79.67±37.54	53±8.89	0.2870
GPT	D4	19.5±2.38	15.5±4.2	19±4.08	0.2900
	D7	12.67±3.06	22.5±2.38	21±9.85	0.1305
	D14	33.67±0.58	31±5.57		0.7284
	D21	26.33±2.31	31.33±8.39	29.33±0.58	0.5120
BUN	D4	20.85±3.34	20.55±3.63	20.98±0.59	0.9771
	D7	19.7±18.14	22.2±3.2	19.53±3.56	0.9251
	D14	16.27±0.06	15.67±2.05		0.6728
	D21	17.67±0.76	15.83±1.62	10.3±8.66	0.2613
CRE	D4	0.33±0.05	0.3±0	0.38±0.05	0.0751
	D7	0.33±0.12	0.35±0.06	0.37±0.06	0.8763
	D14	0.4±0	0.4±0		
	D21	0.4±0	0.3±0	0.37±0.06	0.0270

WBC: white blood cells LY: lymphocyte NE: neutrophil PLT: Platelet RBC: red blood cells; BUN: blood urea nitrogen; CRE: creatinine; CY150: Cyclophosphamide 150mg/kg; CY200: Cyclophosphamide 200mg/kg; CY200+EAR1000: EAR1000mg/kg treated D4: Day4 D7: Day7 D14: Day14; D21: Day21. Results are presented as mean± SD and Student's t-test p-value.

장재민 외 2인 : 黃芪 투여시기가 Cyclophosphamide 유발 흰쥐의 백혈구감소증에 미치는 영향

Table III. Effect of EAR-dose according to day

	DATE	NORMAL mean±SD	CY200 mean±SD	CY200 +BEFORE mean±SD	CY200 +AFTER mean±SD	CY200 +ALL mean±SD	P-value
WBC	D2	4.89±0.3 ^a	1.54±0.3 ^b	1.38±0.56 ^b	1.09±0.17 ^b	1±0.28 ^b	<.0001
	D4	8.87±0.65 ^a	0.62±0.65 ^b	0.45±0.1 ^b	0.53±0.19 ^b	1.01±1.18 ^b	<.0001
	D7	5.55±0.29 ^a	0.66±0.29 ^b	0.66±0.27 ^b	0.55±0.3 ^b	0.53±0.15 ^b	<.0001
	D14	9.03±1.58 ^a	4.61±1.58 ^b	9.12±3.25 ^a	9.21±1.6 ^a	8.99±1.93 ^a	0.0802
NE	D2	1.46±0.25 ^a	1.26±0.25 ^{ab}	1.05±0.61 ^{abc}	0.75±0.21 ^{bc}	0.66±0.2 ^c	0.0325
	D4	2.58±0.21 ^a	0.2±0.21 ^b	0.14±0.06 ^b	0.18±0.1 ^b	0.4±0.47 ^b	0.0003
	D7	1.14±0.18 ^a	0.31±0.18 ^b	0.34±0.18 ^b	0.28±0.21 ^b	0.27±0.14 ^b	<.0001
	D14	2.09±0.82 ^b	2.71±0.82 ^b	5.88±2.27 ^a	7.05±1.2 ^a	6.55±1.24 ^a	0.0009
LY	D2	3.16±0.08 ^a	0.23±0.08 ^b	0.25±0.14 ^b	0.27±0.05 ^b	0.28±0.1 ^b	<.0001
	D4	5.76±0.32 ^a	0.33±0.32 ^b	0.26±0.09 ^b	0.3±0.08 ^b	0.47±0.54 ^b	<.0001
	D7	4.13±0.12 ^a	0.28±0.12 ^b	0.21±0.03 ^b	0.2±0.08 ^b	0.2±0.07 ^b	<.0001
	D14	6.49±0.94 ^a	1.53±0.94 ^b	2.5±1.03 ^b	1.59±0.53 ^b	1.68±0.86 ^b	<.0001
PLT	D2	858.5±26.78 ^a	632.75±26.78 ^{bc}	588.5±33.26 ^c	646.88±29.91 ^{bc}	684.88±77.51 ^b	<.0001
	D4	787.75±55.79 ^a	364.88±55.79 ^b	271.13±69.62 ^b	312.75±72.93 ^b	285.25±38.47 ^b	<.0001
	D7	654.5±120.16 ^a	133.75±120.16 ^b	132.88±41.22 ^b	127±99.98 ^b	130.88±72.56 ^b	0.0055
	D14	730.25±129.18 ^b	1464.5±129.18 ^a	1467.38±139.46 ^a	1364±366.13 ^a	1388.75±79.51 ^a	0.0017
RBC	D2	7.58±0.34 ^a	7.45±0.34 ^a	7.72±0.65 ^a	7.54±0.3 ^a	7.33±0.15 ^a	0.6917
	D4	7.71±0.27 ^a	7.03±0.27 ^b	7.15±0.42 ^{ab}	7.33±0.39 ^{ab}	7.13±0.41 ^{ab}	0.1243
	D7	7.53±0.48 ^a	6.85±0.48 ^a	6.74±0.62 ^a	4.83±2.4 ^b	7.39±0.52 ^a	0.0356
	D14	8.09±0.23 ^a	7.45±0.23 ^b	7.97±0.16 ^a	6.69±0.41 ^c	6.93±0.23 ^c	<.0001
GOT	D2	71.5±14.86 ^a	68.75±14.86 ^a	57.5±33.08 ^a	61.33±16.56 ^a	60.5±20.82 ^a	0.8827
	D4	62.75±10.47 ^{ab}	68.5±10.47 ^a	56.75±9.11 ^{ab}	48.75±1.71 ^b	69.5±16.84 ^a	0.1195
	D7	73.5±3.86 ^a	59.25±3.86 ^a	64±19.87 ^a	52±5.42 ^a	72.75±25.29 ^a	0.3284
	D14	56.75±13.2 ^a	59.67±13.2 ^a	66.75±28.88 ^a	55.5±11.56 ^a	59±8.87 ^a	0.8838
GPT	D2	28.5±6.55 ^a	19.75±6.55 ^a	28±13.74 ^a	22.25±3.5 ^a	22±3.83 ^a	0.3669
	D4	23.75±9.03 ^a	21.75±9.03 ^a	18±2.45 ^a	20±3.16 ^a	20.75±4.65 ^a	0.5958
	D7	23±5.07 ^a	15.5±5.07 ^{ab}	15.5±5.74 ^{ab}	10.75±4.5 ^b	16±4.76 ^{ab}	0.0372
	D14	16±2 ^b	19±2 ^{ab}	17.25±2.06 ^b	21.75±1.71 ^a	22.5±2.65 ^a	0.0105
BUN	D2	20.05±57.21 ^a	54.73±57.21 ^a	52.28±53.57 ^a	40.73±38.42 ^a	25.28±3.65 ^a	0.6440
	D4	17±4.11 ^a	17.78±4.11 ^a	17.03±3.14 ^a	18.28±3.4 ^a	19.7±2.38 ^a	0.7718
	D7	18.7±4.31 ^b	24.98±4.31 ^b	23.53±3.03 ^b	60.8±41.03 ^a	24.85±7.41 ^b	0.0394
	D14	21.98±3.41 ^{ab}	21.13±3.41 ^b	27.85±5.37 ^a	23.33±3.25 ^{ab}	18.28±2.06 ^b	0.0328
CRE	D2	0.4±1.07 ^a	0.9±1.07 ^a	0.58±0.42 ^a	0.43±0.19 ^a	0.33±0.05 ^a	0.5608
	D4	0.35±0.05 ^a	0.33±0.05 ^a	0.35±0.06 ^a	0.3±0 ^a	0.3±0 ^a	0.2930
	D7	0.4±0.05 ^{ab}	0.33±0.05 ^b	0.38±0.05 ^{ab}	0.58±0.26 ^b	0.38±0.05 ^{ab}	0.0948
	D14	0.38±0.06 ^a	0.33±0.06 ^a	0.38±0.05 ^a	0.35±0.06 ^a	0.4±0 ^a	0.4225

WBC: white blood cells, LY: lymphocyte, NE: neutrophil, PLT: Platelet RBC: red blood cells, BUN: blood urea nitrogen, CRE: creatinine; CY150: Cyclophosphamide 150mg/kg, CY200: Cyclophosphamide 200mg/kg; CY200+BEFOER: EAR1000mg/kg treated before administrated CY200mg/kg. CY200+AFTER: EAR1000mg/kg treated after administrated CY200mg/kg, CY200+ALL: EAR1000mg/kg treated before and after administrated. D0: Day0, D2: Day2, D4: Day4, D7: Day7, D14: Day14, D21: Day21. Results are presented as mean± SD and ANOVA p-value. Mean values with different letters are significantly different(P<0.05) by Duncan's multiple-range test.

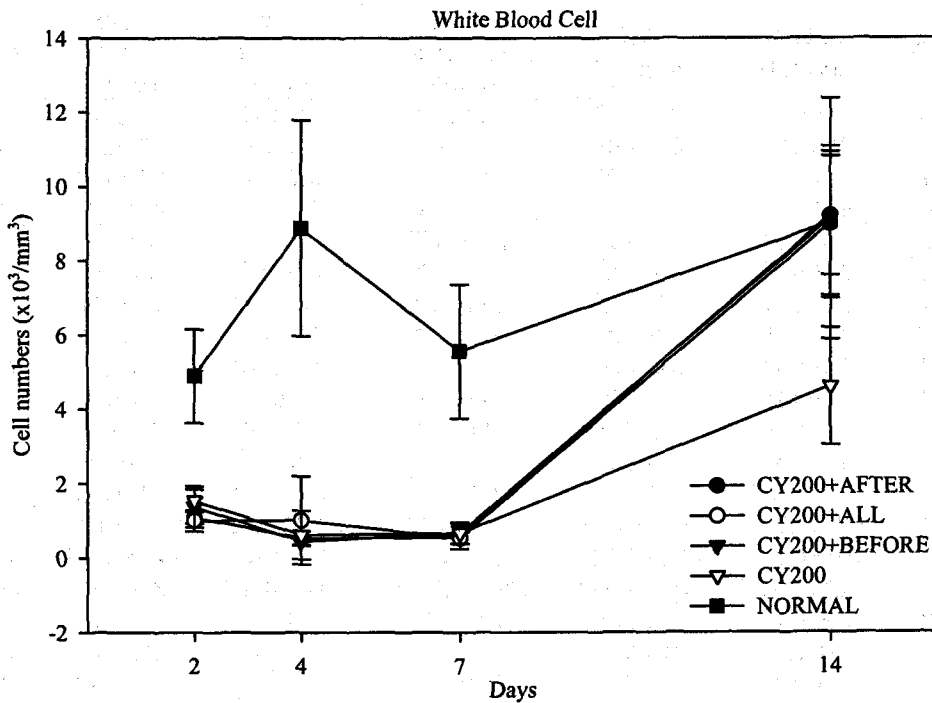


Fig.3 Acceleration of recovery from CY-treated leukopenia in the white blood cell by period. SD mice were administered daily oral treatment with 1000mg/kg of EAR different period. CY200+BEFORE were administrated 1000mg/kg of EAR for seven days just before injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+AFTER were administrated 1000 mg/kg of EAR for fifteen days just after injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+ALL were administrated 1000 mg/kg of EAR for twenty-one days and injected with 200mg/kg of CY on day 0. ●: After treated of EAR 1000mg/kg, ○: Before and After treated of EAR 1000mg/kg ▼: Before treated of EAR 1000mg/kg, ■: Normal. The results are expressed as the mean \pm S.D of 4 mice/group

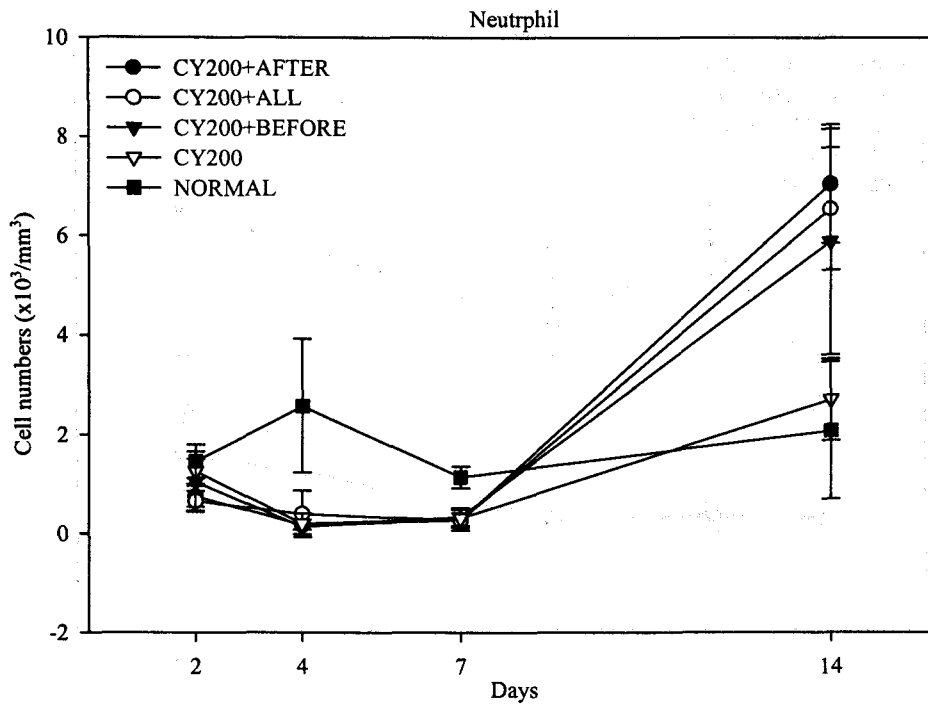


Fig.4. Acceleration of recovery from CY-treated leukopenia in the neutrophil by period. SD mice were administered daily oral treatment with 1000mg/kg of EAR different period. CY200+BEFORE were administrated 1000mg/kg of EAR for seven days just before injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+AFTER were administrated 1000mg/kg of EAR for fifteen days just after injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+ALL were administrated 1000mg/kg of EAR for twenty-one days and injected with 200mg/kg of CY on day 0. ●: After treated of EAR 1000mg/kg, ○: Before and After treated of EAR 1000mg/kg ▼: Before treated of EAR 1000mg/kg, ■: Normal. The results are expressed as the mean \pm S.D of 4 mice/group.

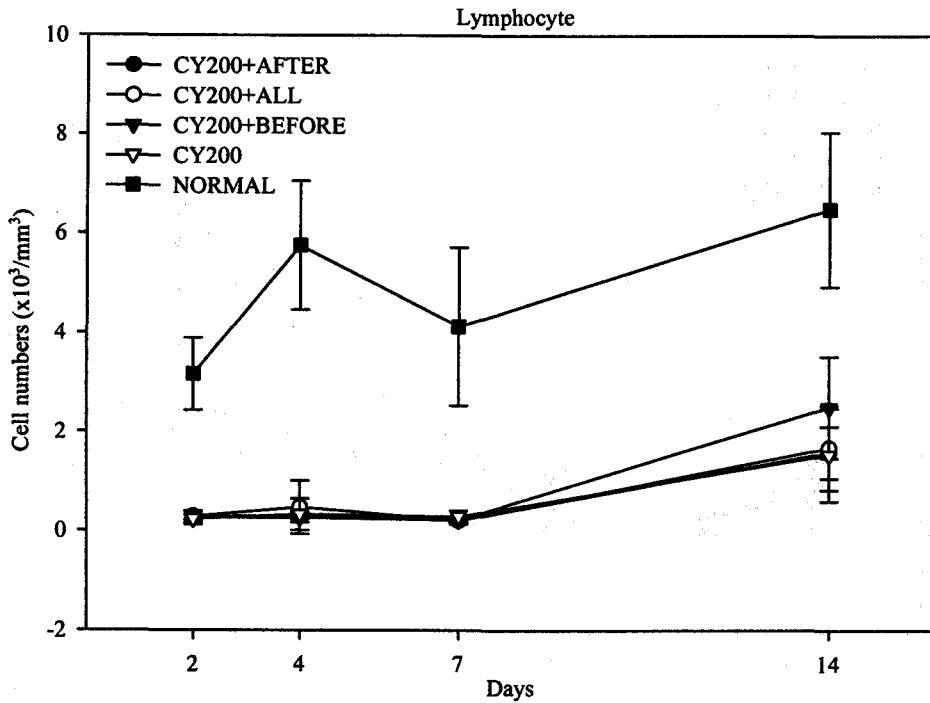


Fig.5. Acceleration of recovery from CY-treated leukopenia in the lymphocyte by period. SD mice were administered daily oral treatment with 1000mg/kg of EAR different period. CY200+BEFORE were administrated 1000mg/kg of EAR for seven days just before injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+AFTER were administrated 1000mg/kg of EAR for fifteen days just after injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+ALL were administrated 1000mg/kg of EAR for twenty-one days and injected with 200mg/kg of CY on day 0. ●: After treated of EAR 1000mg/kg, ○: Before and After treated of EAR 1000mg/kg ▼: Before treated of EAR 1000mg/kg, ■: Normal. The results are expressed as the mean \pm S.D of 4 mice/group.

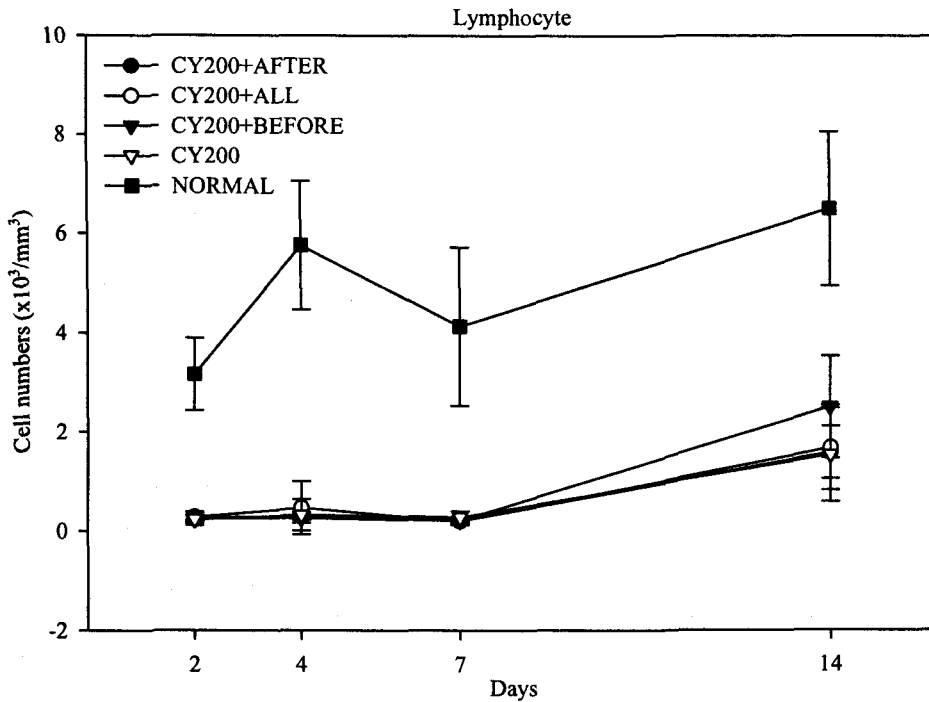


Fig.6. Acceleration of recovery from CY-treated leukopenia in the platelet by period. SD mice were administered daily oral treatment with 1000mg/kg of EAR different period. CY200+BEFORE were administrated 1000mg/kg of EAR for seven days just before injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+AFTER were administrated 1000mg/kg of EAR for fifteen days just after injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+ALL were administrated 1000 mg/kg of EAR for twenty-one days and injected with 200mg/kg of CY on day 0. ●: After treated of EAR 1000mg/kg, ○: Before and After treated of EAR 1000mg/kg ▼: Before treated of EAR 1000mg/kg, ■: Normal. The results are expressed as the mean \pm S.D of 4 mice/group.

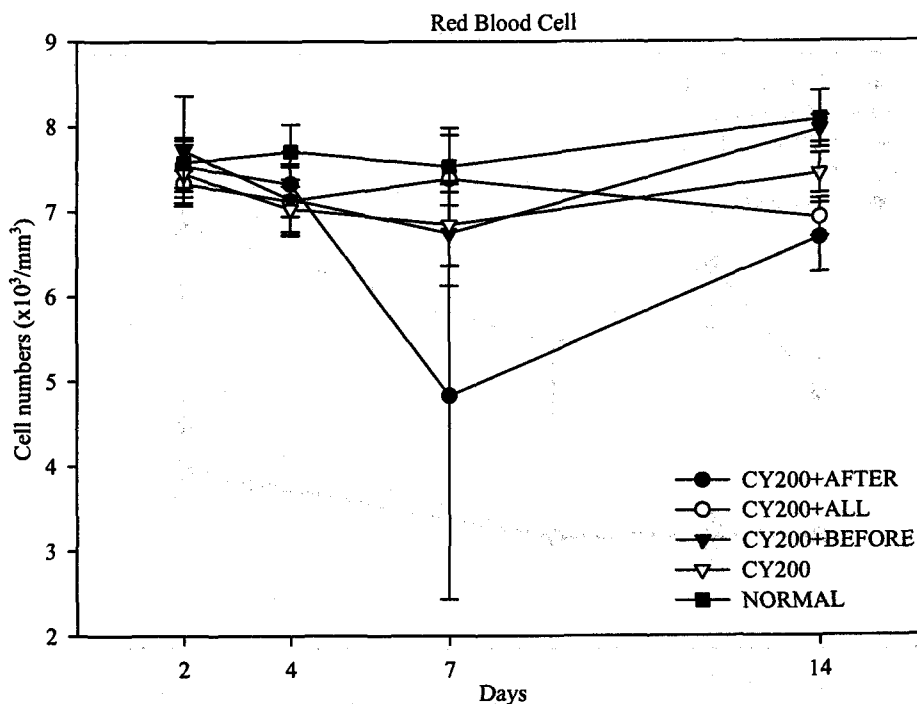


Fig.7. Acceleration of recovery from CY-treated leukopenia in the red blood cell by period. SD mice were administered daily oral treatment with 1000mg/kg of EAR different period. CY200+BEFORE were administrated 1000mg/kg of EAR for seven days just before injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+AFTER were administrated 1000mg/kg of EAR for fifteen days just after injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+ALL were administrated 1000mg/kg of EAR for twenty-one days and injected with 200mg/kg of CY on day 0. ●: After treated of EAR 1000mg/kg, ○: Before and After treated of EAR 1000mg/kg ▼: Before treated of EAR 1000mg/kg, ■: Normal. The results are expressed as the mean \pm S.D of 4 mice/group.

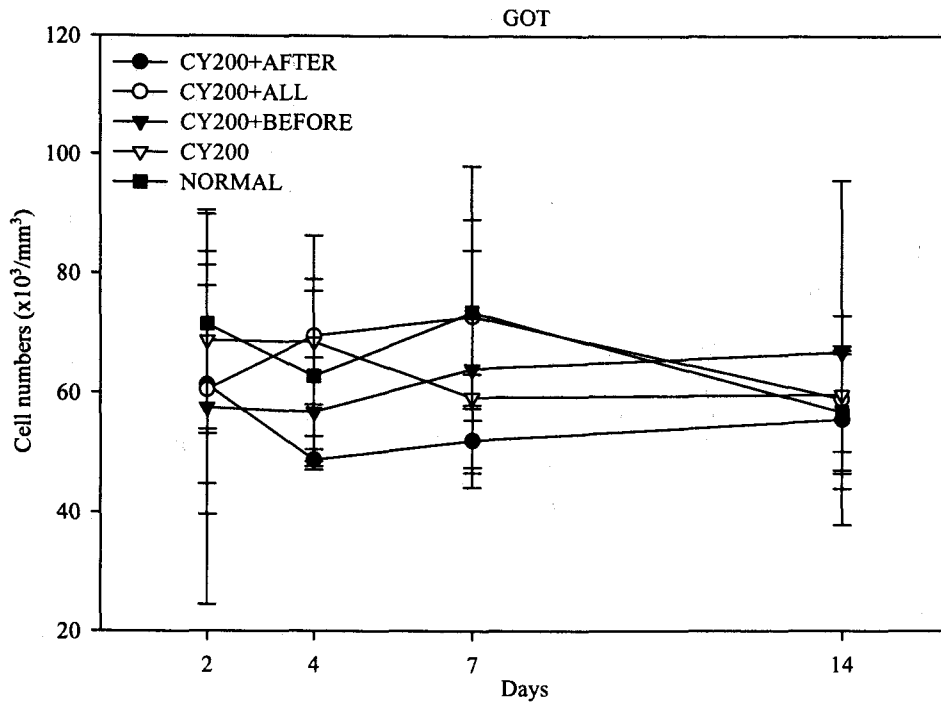


Fig.8. Acceleration of recovery from CY-treated leukopenia in the GOT by period. SD mice were administered daily oral treatment with 1000mg/kg of EAR different period. CY200+BEFORE were administrated 1000mg/kg of EAR for seven days just before injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+AFTER were administrated 1000mg/kg of EAR for fifteen days just after injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+ALL were administrated 1000 mg/kg of EAR for twenty-one days and injected with 200mg/kg of CY on day 0. ●: After treated of EAR 1000mg/kg, ○: Before and After treated of EAR 1000mg/kg ▼: Before treated of EAR 1000mg/kg, ■: Normal. The results are expressed as the mean \pm S.D of 4 mice/group.

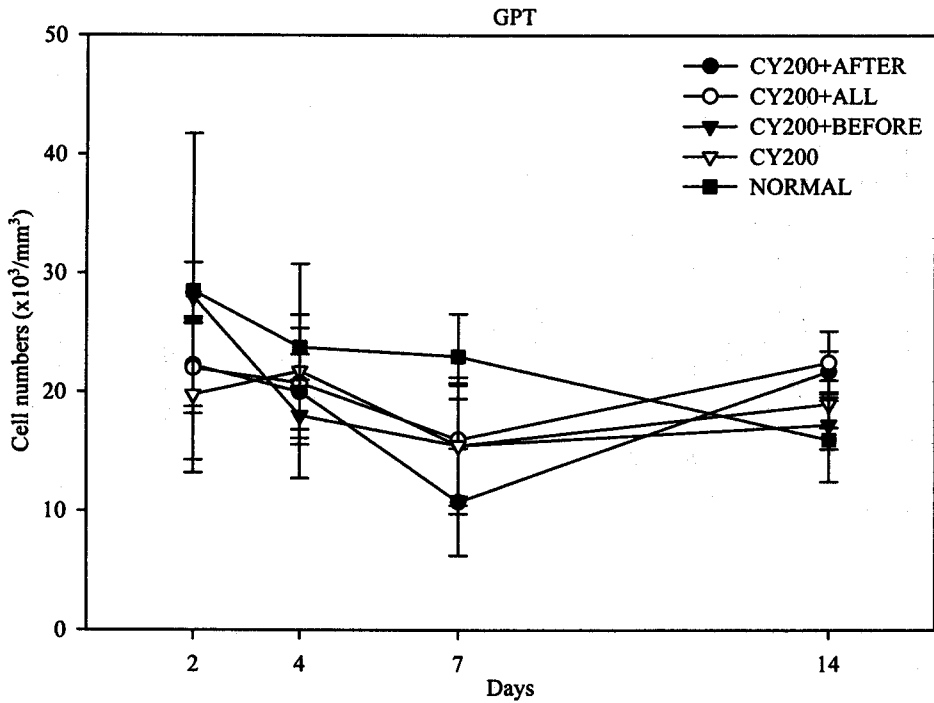


Fig.9. Acceleration of recovery from CY-treated leukopenia in the GPT by period. SD mice were administered daily oral treatment with 1000mg/kg of EAR different period. CY200+BEFORE were administrated 1000mg/kg of EAR for seven days just before injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+AFTER were administrated 1000mg/kg of EAR for fifteen days just after injected with 200mg/kg of CY on day 0.

CY200+ALL were administrated 1000 mg/kg of EAR for twenty-one days and injected with 200mg/kg of CY on day 0. ●: After treated of EAR 1000mg/kg, ○: Before and After treated of EAR 1000mg/kg ▼: Before treated of EAR 1000mg/kg, ■: Normal. The results are expressed as the mean \pm S.D of 4 mice/group.

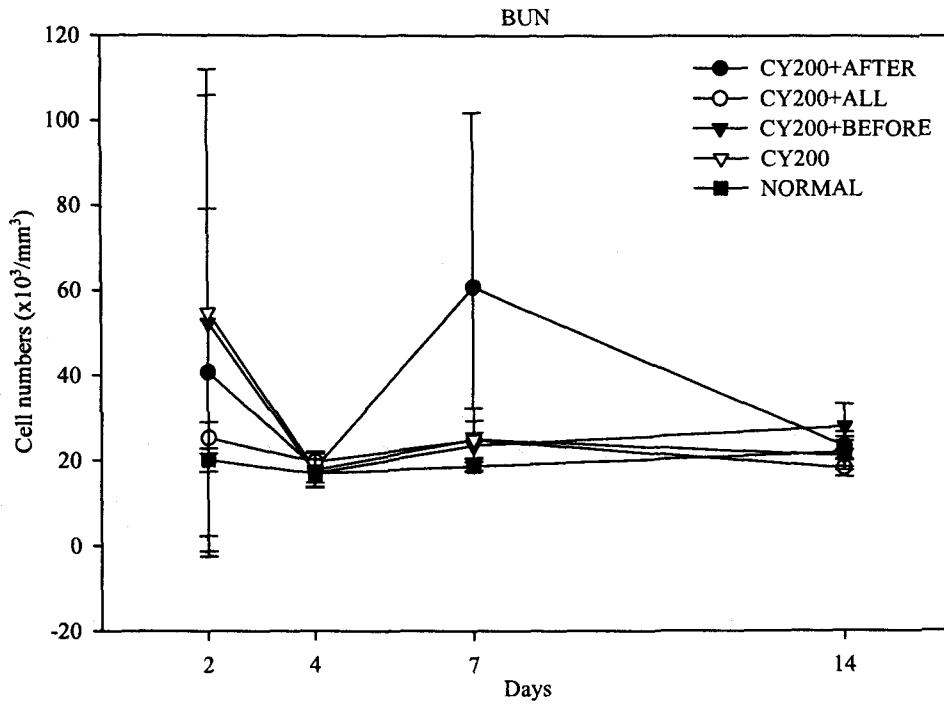


Fig.10. Acceleration of recovery from CY-treated leukopenia in the BUN by period. SD mice were administered daily oral treatment with 1000mg/kg of EAR different period. CY200+BEFORE were administrated 1000mg/kg of EAR for seven days just before injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+AFTER were administrated 1000mg/kg of EAR for fifteen days just after injected with 200mg/kg of CY on day 0.

CY200+ALL were administrated 1000mg/kg of EAR for twenty-one days and injected with 200mg/kg of CY on day 0. ●: After treated of EAR 1000mg/kg, ○: Before and After treated of EAR 1000mg/kg ▼: Before treated of EAR 1000mg/kg, ■: Normal. The results are expressed as the mean \pm S.D of 4 mice/group.

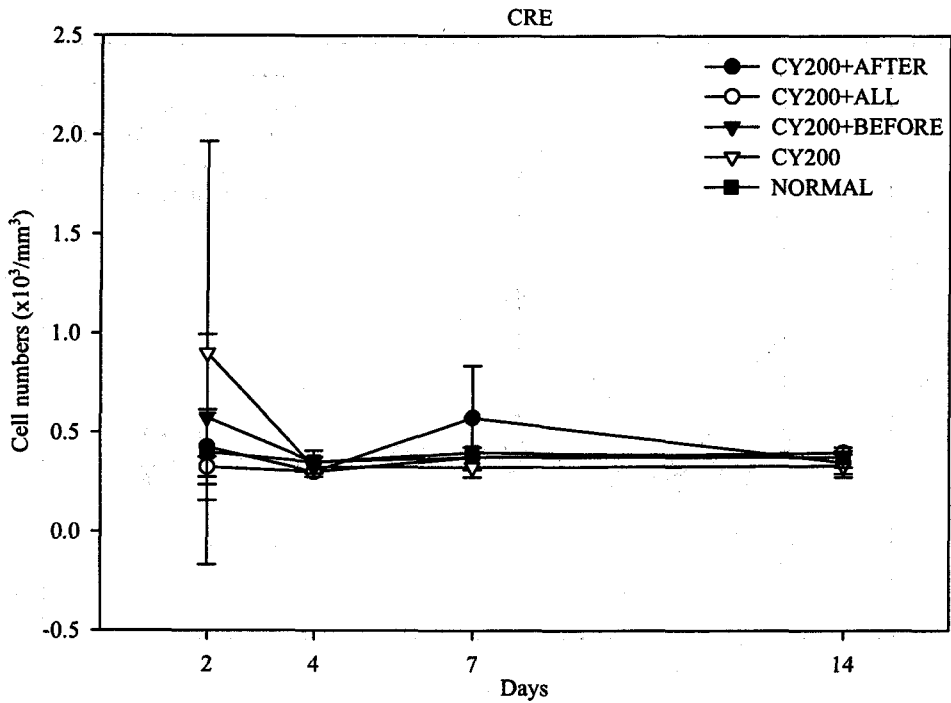


Fig.11. Acceleration of recovery from CY-treated leukopenia in the CRE by period. SD mice were administered daily oral treatment with 1000mg/kg of EAR different period. CY200+BEFORE were administrated 1000mg/kg of EAR for seven days just before injected with 200mg/kg of CY on day 0. CY200+AFTER were administrated 1000mg/kg of EAR for fifteen days just after injected with 200mg/kg of CY on day 0.

CY200+ALL were administrated 1000 mg/kg of EAR for twenty-one days and injected with 200mg/kg of CY on day 0. ●: After treated of EAR 1000mg/kg, ○: Before and After treated of EAR 1000mg/kg ▼: Before treated of EAR 1000mg/kg, ■: Normal. The results are expressed as the mean \pm S.D of 4 mice/group.

Table IV. Trend of Recovery

Variable	Quadrati		Grou	
	F Value	Pr>F	F Value	Pr>F
WBC	197.67	<.0001	n2.47	0.1167
NE	255.19	<.0001	3.62	0.0489
LY	41.42	<.0001	0.91	0.4669
PLT	613.42	<.0001	0.24	0.866
RBC	8.25	0.0152	2.71	0.096
GOT	0.01	0.9084	0.46	0.7144
GPT	13.61	0.0036	0.34	0.7973
BUN	0.33	0.5774	1.02	0.4219
CRE	1.23	0.2903	1.4	0.2946

WBC : white blood cells, LY: lymphocyte, NE: neutrophil, PLT: Platelet RBC: red blood cells, BUN: blood urea nitrogen Results are presented as Repeated Measure ANOVA F-value and p-value.

IV. 考 察

항암 약물(anticancer drug) 요법은 지난 수십년에 걸쳐 효과적인 항암제들의 등장으로 의학분야에서 항암 치료의 주종으로 자리잡고 있고, 수술요법, 방사선요법과 함께 3대 치료법이 되었는데, 가장 흔한 부작용은 골수억제, 오심 구토, 위염, 탈모 등이다³. 그 외 내분비 치료(endocrine therapy)가 일부 감수성 있는 유방암이나 고환암 전립선암 자궁내막암 등에 이용되고 있고, 생물학적 치료(biological therapy)로 여러 cytokine이나 골수 성장 인자 등이 일부 이용되고 있다.² CY는 골수를 억압하여 단기간의 중증의 호중구 감소증(neutropenia)을 유발할 수 있고, 그 외 혈소판 감소증(thrombocytopenia)과 탈모 면역저하를 일으킬 수 있으며, 골수 이식에서와 같은 대용량에선 심근괴사나 신장의 비정상적인 체액저류(inappropriate renal retention)를 유발할 수 있다고 보고되고 있다.^{2,3}

황기(Astragali Radix)는 콩과(Leguminosae)

에 속한 다년생초본인 단너삼의 건조한 뿌리를 말하는데^{4,7,8}, 神農本草經<上品>에 “甘微溫 主癰疽 久敗瘡 排膿止痛 大風癩疾 五痔鼠瘦 補虛小兒百病”으로¹⁷ 최초로 기록된 이래 많은 醫家들에 의하여 언급되었으며, 특히 癰疽로 오랫동안 썩은瘡을 치료하며 排膿止痛하고 陰症의瘡瘍을 內托할 때 꼭 써야 하는 약재로⁵ 알려져 있다. 그 중에서 황기의 補氣作用은 현대적 의미의 면역기능과 연결하여 설명하는데¹⁸ 황기의 면역기능에 관련된 근래의 보고에 의하면 배¹¹는 3일간 항암제(MTX: methotraxate) 처치후에 3일간 황기 중완 수침을 시행한 실험군(표본크기=6)에서 대조군에 비해 백혈구수의 유의한 증가가 있음을 보고하였으며, 신수 수침군과 임의 혈 수침군에서는 대조군에 비해 유의한 차이가 인정되지 않았다. 또한 전¹²은 모든 실험군(표본크기=6)에 대해 백혈병 세포주를 10일간 복강주사하여 암종을 형성한 후 황기추출액만을 경구투여하거나 항암제(Chlorambucil) 복강주사와 병용하여 황기의 조절 기능 회복에 대해 관찰하였는데, 황기와 항암제의 병용투여군을 포함해서 항암제가 투여된 모든 군에서는 적혈구수의 유의한 감소를 보였으며, 백혈

구 수에 대해서는 유의성 있는 차이가 없다고 보고하였다. 그러나 황기 투여후 6일에서 10일 사이에 실험동물들의 사망이 시작되어 황기의 투여기간이 충분치 못하였을 가능성도 배제할 수 없다.

이²¹는 Bleomycin으로 폐섬유화를 유발한 후 실험군과 대조군으로 나누고(표본크기=6) 실험군에 황기를 14일간 경구투여하여 폐세척액 내의 백혈구 수와 구성을 비교하였는데, 황기 투여군에서 백혈구 총 수와 림프구 수는 유의한 감소를 보였고, 대식세포는 증가하였으며, 호중구는 통계적 유의성이 없었다. 이는 앞서 살펴본, 황기의 말초혈액에서의 혈구 생성촉진 작용과는 다소 다른 모습이며, 폐 기관지 등의 국소 병변에서 나타난 황기의 효능과 말초혈액에서의 황기의 효능이 서로 다른 발현상을 나타내는 것으로, 폐 기관지에서 백혈구와 림프구 증가가 폐섬유화를 촉진하는 점을 감안하면, 황기의 효능은 여전히 인체 면역을 높이는 순기능을 나타내는 것으로 볼 수 있다. 그의 강²² 등은 *in vivo*와 *in vitro*에서 황기추출물이 IL-4를 증가시키고, IFN-를 감소시키는 등 cytokine의 증감을 유발하여 면역력을 강화한다고 보고 하였다.^{6,13,14,15,16,22,23}

본 연구에서는 “邪氣所湊 其氣必虛”^{9,19} “風雨寒熱不得虛 邪不能獨傷人”^{10,19} “正氣存內 邪不可干”²⁰의 인식하에 精氣를 고무시켜 托毒生肌 하는 황기의 효능 주치가 CY의 심각한 부작용인 골수억압의 예방과 회복에 어떠한 영향을 주는지 실험적으로 평가해 보았다. 특히, 이전 보고들에 비해 표본크기를 늘려(n=20) 통계량을 풍부하게 함으로써 편차를 줄이고자 노력하였고, 항암제의 골수억제가 효율적으로 나타나면서 동시에 가역적인 억제를 나타내도록 항암제의 최적용량을 결정함으로써, 항암제 투여 후에도 황기 투여에 따른 효능을 지속적으로 *in vivo*에서 관찰할 수 있도록 비교적 충분한 시간을 확보하였다.

약을 주는 방법에 있어서 sonde를 이용하므로써 물을 먹을 때 스트레스를 유발하여 관찰한 스트레스 유발군과 스트레스를 유발하지 않은 군(sonde를 이용하지 않고 물을 준 군) 사이의 혈액을 비교함으로써, 황기투여 이외의 변수인 스트레스 변수를 배제하고자 하였고, 두 군 사이에 유의한 결과의 차이는 없었다.

황기추출물의 효과적인 투여시기를 알아보고자 정상군을 제외한 각 실험군에 CY 200mg/kg를 피하주사 하였다. 그리고 EAR은 EAR 투여 시기에 따라 각각 1000 mg/kg씩을 CY투여하기 7일전부터 CY투여 전일까지 7일 동안 투여하거나, CY투여 직후부터 CY 투여 14일후까지, 또는 CY를 투여하기 전후에 걸쳐 21일간 투여하거나 아무런 처치를 안 한 그룹 등으로 나누어 실험하였다. 각각의 그룹에서 골수 조혈 기능 회복 추세를 살펴보았는데, EAR투여군 모두에서 백혈구(WBC), 호중구(NE), 임파구(LY), 혈소판(PLT), 적혈구(RBC)와 GPT에서 유의한 회복을 보이는 것을 알 수 있었다. 즉, CY투여 후 7일까지는 모든 그룹에서 골수억제를 보였으나, 이후 14일째 혈청 검사에서는 CY만 단독 투여한 그룹(CY200)에 비해, EAR을 투여한 모든 그룹에서 정상군 수준으로의 유의한 회복을 보였으며, 통계적으로 특정한 군이 좋은 결과를 보이기 보다는 EAR 투여 받은 군이 전체적으로 빠른 회복을 보임을 알 수 있었다.

기존의 실험보고에서는, 항암제 투여 후 또는 발암 형성 후에 황기를 투여하여 황기의 항암과 면역회복에 관해 관찰한 반면, 본 실험에서는 이와 함께, 항암제 투여 전에도 황기를 투여하고, 또한 투여시기를 다양하게 설정한 여러 실험군과 비교함으로써, 황기의 예방의학적 효능을 비교 관찰할 수 있었고, 특히 항암제 투여 전까지만 황기 투여한 실험군에서 다른 실험군과 통계적으로 유의할 만한 차이 없이 동등한 골수 기능 회복을 보이고 있음을

알 수 있었다.

따라서, 향후 항암 약물 요법의 전처치로서 황기 투여가 기여할 것으로 사료된다.

V. 結論

항암제 cyclophosphamide의 투여로 유발된 흰쥐의 호중구감소증에 대하여, 골수기능 회복에 효과적인 것으로 알려진 황기(Astragali Radix) 추출물을, 투여시기를 달리하면서 투여한 후, 시간 경과에 따라 혈구의 회복을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 전체 백혈구 수(WBC)와 호중구(neutrophil), 림파구(lymphocyte) 적혈구(RBC) 혈소판(platelet) 등을 통해 관찰된 골수 기능은 황기투여군에서 항암제 투여 7일까지는 뚜렷한 억제를 보이거나, 이후 14일째 혈청 검사상 유의한 회복을 보였다.
2. 황기 투여시기에 따른 골수 회복은 통계적으로 유의한 차이는 없었으며, 황기투여군 모두에서 유의한 회복을 보였다.
3. 특히, 항암제 투여직전까지의 황기 투여 실험군(CY200+BEFORE그룹)에서 황기 투여 시기가 다른 여러 실험군과 비교한 결과, 통계적으로 차이 없이 동등한 골수 기능 회복을 보였다.
4. 이러한 성적으로 볼 때, 비용-효과 측면에서 항암제 투여 전에, 일정기간의 황기 투여 전처치가 항암 약물 요법에 기여할 것으로 사료된다.

參考文獻

1. 홍사석 편. 이우주의 약리학강의. 의학문헌사; 1993, p632-634, p641-642

2. Bennett and Plum 외 공편. CECIL TEXT-BOOK OF MEDICINE, 20th ed. W.B Saunders Company ; 1996, p1036-1038, p1041-1049
3. Fauci 외 공편. Harrison's PRINCIPLES OF INTERNAL MEDICINE, 14th ed McGraw-Hill ; 1998, p531-532, p1921-1922
4. 전국한의과 본초학교수 공저. 본초학. 영림사 ; 1991, p534-535
5. 허 준 저. 대역 동의보감. 동의보감출판사 ; 2005, p1595
6. 한종현 김기영 공편. 한방약리학. 의성당 ; 2004, p.470-473
7. 신길구 저. 신씨본초학(각론) 수문사 ; 1988, p9-12
8. 신민교. 원색임상본초학. 영림출판사 ; 1988, p169-171
9. 楊維傑 편. 皇帝內經 素問譯解. 臺聯國風出版社 民國 65年, p3 p266
10. 楊維傑 편. 皇帝內經 靈樞譯解. 臺聯國風出版社 民國 65年, p469
11. 배원영. 황기수침이 methorexate를 투여한 생쥐의 면역반응에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위논문 1993
12. 전창희. 황기와 chlorambucil 병용이 P388D1 백혈구세포 및 擔癌생쥐에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사학위논문 2005
13. 정철. 황기의 재배년수에 따른 면역 및 항산화 활성연구. 경희대학교 대학원 박사학위논문 ; 2005
14. Lee, Y.S. et al. Immunomodulatory effects of aqueous-extracted Astragali radix in methotrexate-treated mouse spleen cells. *Journal of Ethnopharmacology* ; 2003, 84 (2/3): 193-198
15. Kajimura et al. Pharmacological Quality of Astragali radix ; The effect on antibody production *in vitro*. Natural medicines

- 1997, 51(1): 45-49
16. Kajimura et al. Polysaccharide of Astragali radix enhances IgM antibody production in aged mice. *Biological & pharmaceutical bullitin*; 1997, 20(11): 1178-1182
 17. 李時珍 편. 本草綱目. 人民衛生出版社; 1975, p.696-697
 18. 전병훈. 황기도홍탕의 항종양효과 및 면역 조절반응에 관한 연구. *대한병리학회지*; 1996, 10(1) p.133-143
 19. 한의과대학 예방의학교실 편저. 養生學. 계축문화사; 2004, p.7
 20. 程士德 주편. 素問注釋匯粹 下冊. 人民衛生出版社 1982, p.522
 21. 이경희. 황기가 C57BL/6J 생쥐의 Bleomycin 유발 폐섬유화에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위논문, 2004
 22. Kang Hee et al. Immunomodulatory effect of Astragali radix extract on murine Th1/Th2 cell lineage development. *Biological & pharmaceutical bullitin*; 2004, 27(12) p.1946-1950
 23. 송봉근 외. 황기가 면역세포의 기능에 미치는 영향. *대한본초학회지*; 1998, 13(2) p.115-128