

산양삼이 Cyclophosphamide의 독성에 미치는 영향

이성우 · 김기태 · 고 흥*

세명대학교 한의과대학 내과학교실

Effect of the Water Extract of Cultivated Wild Ginseng on the Toxicities Induced by Cyclophosphamide in Mice

Sung Woo Lee, Ki Tae Kim, Heung Ko*

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Semyung University

This study was investigated the protective effect of Cultivated Wild Ginseng(WG) on the toxicities induced by cyclophosphamide(CP) in mice. Twenty-four male BALB/c mice were divided into non-treated normal group(n=6), CP treated control group(n=6), CP+WG treated CP+WG group(n=6), WG treated WG group(n=6). CP(100 mg/kg of b.w., i.p) was injected at 0, 7 th, 14 th, 21 th, and 28 th day of the experiment respectively. WG(4.4 g/kg, i.p.) was administrated for 35days. Body and organ(heart, liver, kidney, testis) weight were measured. Histopathological examination on the organ(heart, liver, kidney, testis), morphometric analysis, and BrdU immunohistochemistry on the testis were performed. Body weight was decreased following CP administration. In contrast, such a decrease was significantly attenuated by WG administration. CPK and AST of CP+WG group were significantly decreased compared with CP group. Histopathologically, cross sectional area of testis and diameter of seminiferous tubule were significantly increased in CP+WG group compared with CP group. BrdU labelled cells in the seminiferous tubules were remarkably decreased in CP group. Whereas the number of seminiferous tubules labelled with BrdU in spermatogonia was increased by CP+WG administration. The obtained results suggest that WG has protective effect on CP-induced toxicity. This effect might be mediated through the supplementation of vital energy.

Key words : Cultivated Wild Ginseng, cyclophosphamide, organic toxicity, testicular toxicity, protective effect

서 론

종양의 일반적인 치료는 수술요법, 방사선요법, 화학요법, 면역요법, 내분비요법, 보조요법 등이 이용되고 있는데, 그 중 항암제를 투여하는 화학요법이 가장 많이 사용되고 있다^{1,2)}. 화학요법은 전신요법으로 수술 전 1차 치료로 미세전이병소를 조기에 제거하고, 국소 종양의 크기를 축소 또는 소실시켜 수술이나 방사선요법의 효과를 극대화하기 위해 사용하거나, 암의 근치적 수술 후에 잔류 세포암이나 미세전이 암세포의 완전과피, 사멸을 위해 사용된다³⁾. 다른 약물과 비교했을 때, 화학요법에서 사용되는 약물들에서 나타나는 중요한 특징은 유효농도에서 심각한 부작용이 같이 나타난다는 점이다^{4,5)}.

Cyclophosphamide(CP)는 항암범위가 넓어 각종 병용요법의 기본약물로 사용되는 약제로, 투여 후 심한 골수억제로 인한 백혈구 감소증, 혈소판 감소증, 황달, 대장염, 신우내 출혈, 빈혈증상 등을 야기시키고, 때때로 심근병증, 심부전, 빈맥, 방광염, 혈뇨증, 정자형성장애, 배란장애 등의 이상반응을 일으킨다. 암세포 제거에만 초점을 맞춘 기존의 치료법은 부작용으로 인하여 환자의 삶의 질 저하라는 커다란 문제를 낳고 있으므로, 최근에는 항암치료 중 발생하는 부작용을 예방, 치료하기에 적합한 한약 치료제를 개발하기 위한 연구가 활발히 진행중이다^{6,7)}.

한의학에서는 인체 생리기능의 저하나 질병의 발생은 正氣와 邪氣의 균형이 실조되어 발생한다는 이론을 바탕으로 예방과 치료를 시행하므로, 항암제의 부작용을 감소시키기 위한 방안도 正氣의 보강이라는 측면에서 접근할 수 있다⁸⁾. 이중 補法은 正氣를 補해주어 면역기능을 향상 시켜준다는 점에서 항암 화학요법의 부작용을 보완해 줄수 있을 것으로 기대되어 많은 연구가 진행

* 교신저자 : 고 흥, 충북 제천시 신월동, 세명대학교 부속 제천 한방병원

· E-mail : yurie99@hanmail.net, · Tel : 043-649-1815

· 접수 : 2010/11/19 · 수정 : 2011/08/04 · 채택 : 2011/10/15

중이다⁹⁾. 인삼은 《神農本草經》¹⁰⁾에서 五臟의 기능을 補益하고 精神과 魂魄을 안정시키며 邪氣를 제거하여 長服하면 신체를 강건하게 하고 장수케 하는 효능이 있다고 기재되어 있으며, 현재까지 여러 가지 신체의 허약함을 補益하고, 正氣를 충만케하여 체내의 邪氣를 제거하며, 邪氣의 침입을 방어하는 대표적인 補氣劑로 사용하고 있다¹¹⁾. 인삼이나 산삼의 종자 또는 幼蔘을 인위적으로 산에서 재배한 인삼을 산양삼이라 하여 최근 산양삼의 재배와 효능에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다¹²⁾.

산양삼은 in vitro 연구 결과, 결장암세포, 혈액암세포, 폐암세포에서 증식 억제효과와 세포사멸효과가 있었고¹³⁻¹⁵⁾, in vivo 연구로는 복강암 유발 생쥐의 생존기간을 연장시키고¹⁹⁾, 흑색종 유발 생쥐에서 종양 증식을 억제¹⁶⁾하는 효과가 보고되었다.

이에 저자는 기존의 연구를 통하여 보고된 산양삼의 효과가 인체의 正氣를 補益함으로써 저항력 또는 면역력을 증강시켜 邪氣에 대한 방어능력과 질병으로부터의 회복을 촉진할 것으로 예상하고, 항암제 CP의 독성에 미치는 산양삼의 영향을 체중과 장기의 병리조직학적 변화를 중심으로 연구하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 山養蔘 추출액 제조

山養蔘(Wild Ginseng, WG)은 농림수산식품부 지원 소백산 산하산삼(사업자등록번호 512-81-12819)에서 구입하였다. 88g(10뿌리)을 round flask에 넣고, 증류수 450 ml을 가하여 3시간 동안 가열 추출하였고, 추출액을 micro syringe filter(0.2 μm)로 여과하여 최종 400 ml의 추출액을 만들었다.

2. 실험동물

실험은 동물실험 윤리위원회의 승인(SMECAE09-01-03)을 얻어 시행하였으며, 동 위원회의 동물관리 규정을 준수하였다. 체중 25 g 내외의 BALB/c 수컷 생쥐(샘타코, 한국)를 구입하여 온도 23±1℃, 습도 50±5%로 조정된 세명대학교 청정동물사육실에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 전 실험기간동안 사료와 깔짚은 감마 멸균처리 된 것을 사용하였으며, 음수는 자유 섭취케 하였다.

3. 실험

1) 실험군의 분류 및 처치

각 실험군은 생쥐 6마리를 한 군으로 하여 정상군(Normal group)은 생리식염수만 복강투여 하였고, 대조군(Control group)은 cyclophosphamide(CP, Sigma Co.,USA)와 생리식염수를 복강투여 하였으며, 산양삼실험군(CP+WG group)은 CP와 산양삼 추출액을 복강투여 하였고, 산양삼대조군(WG group)은 산양삼 추출액만 복강투여 하였다.

생리식염수는 1회 투여량을 0.5 ml로 하였고, CP는 증류수에 녹여 1회 투여량을 100 mg/kg의 농도로 투여하였으며, 산양삼 추출액은 1회 투여량을 20 ml/kg의 농도로 투여하였다.

각 실험군에 대한 상세한 투여방법은 Fig. 1에 나타내었다.

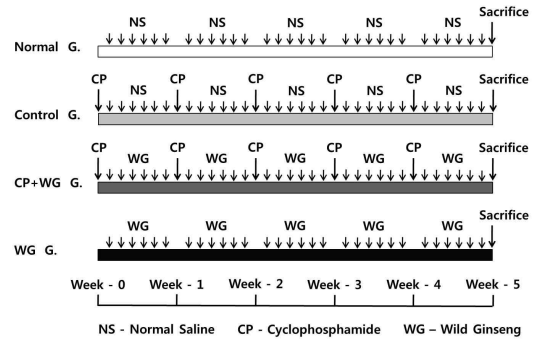


Fig. 1. Experimental design. Normal group received normal saline(0.5 ml) six days in a week for five weeks. Control group received CP(100 mg/kg) once in a week and normal saline(0.5 ml) six days in a week for five weeks. CP+WG group received CP(100 mg/kg) once in a week and WG(20 ml/kg) six days in a week for five weeks. WG group received WG(20 ml/kg) six days in a week for five weeks.

2) 체중 측정

실험 0주부터 매주 모든 개체의 체중을 측정하였다.

3) 장기 중량 측정

실험 5주에 모든 개체를 부검하여 심장, 간장, 신장 및 고환을 적출하였으며 장기에 부착된 결합조직을 제거한 후 각 장기의 중량을 측정하였다.

4) 혈액학적 검사

실험 5주에 모든 개체를 ether로 가볍게 마취시키고 심장에서 채혈한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심하여 혈청을 분리하였으며, 전자동생화학분석기(Hitachi 7150, Japan)를 이용하여 CPK, AST, ALT, creatinine 및 BUN의 함량을 측정하였다.

5) 병리조직학적 검사

실험 종료일에 모든 개체를 부검하여 적출한 간장, 신장, 심장 및 고환을 Bouin's solution에 24시간 고정하였다. 간장은 우엽의 동일한 부위를, 신장은 횡단면을, 심장은 심실의 횡단면을, 고환은 정중단면 제작하여, 통상적인 처리과정을 거쳐 파라핀 포매하였다. 포매조직을 5 μm 두께로 절편하여 Hematoxylin-Eosin 염색하고 일반적인 병리조직학적 소견을 관찰하였다.

6) 고환 단면적 측정

Hematoxylin & Eosin 염색된 고환 절편의 단면적을 칼라영상분석기(Media Cybernetics, Image-Pro Plus, USA)를 이용하여 측정하였다.

7) 정세관 직경 측정

Hematoxylin & Eosin 염색된 고환 조직에서 정세관의 단경 및 장경의 길이가 20% 이상 차이가 나지 않는 비교적 원형에 가까운 정세관 10개를 임의로 선택해서 그 직경을 측정하고 평균치를 구하였다.

8) BrdU 면역조직화학 염색

탈파리핀과정과 함수과정을 거친 고환 조직을 0.05 M PBS(pH 7.4)로 수세한 후 BrdU 면역조직화학 염색을 실시하였다. 조직을 37℃ 2N HCl 용액에 담가 1시간 반응시키고, 0.05 M borate buffer(pH 8.5)로 10분씩 2회 중화시킨 후 PBS로 수세하

였다. 600배 희석한 Anti-BrdU(Roche, Germany) antibody로 4°C에서 15시간 반응시키고, biotinlated 2nd antibody(Vector Laboratoris, USA)로 30분간 반응시켰으며, ABC 용액(Vector Laboratoris, USA)에서 30분간 반응시키고 DAB로 10분간 발색 시켰다. Hematoxylin 액으로 대조염색을 실시한 BrdU 양성반응의 정도를 관찰하였다.

4. 통계처리

측정된 항목의 결과에 대한 통계는 SPSS(SPSS 10.1 for Windows, USA)를 이용하여 student's t-test를 실시하여 검증하였다.

결 과

1. 체중의 차이

정상군의 체중 증가에 비하여 대조군에서는 실험 2, 3, 4, 5주째에 모두 유의성 있게 체중 증가가 억제되었으며, CP+WG군은 대조군에 비하여 실험 3, 4주째에 유의성 있게 체중이 증가되었다. WG군은 정상군과 유사한 체중의 증가를 나타내었다(Fig. 2)

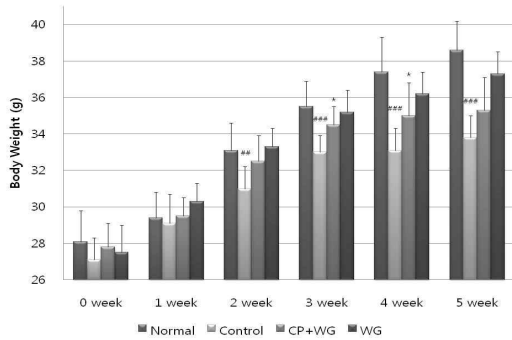


Fig. 2. Effects of the water extract of Cultivated Wild Ginseng on the body weight of BALB/c mice treated with cyclophosphamide. Values were expressed as means±S.D. of six mice. ## p<0.01 ; ### p<0.001 compared with normal group. * p<0.05 compared with control group.

2. 장기 중량의 차이

정상군의 장기 무게에 비하여 대조군의 심장, 신장 및 고환 중량이 모두 유의성 있게 감소되었으며, CP+WG군에서는 대조군에 비하여 간장, 신장 및 고환의 무게가 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다. WG군에서는 정상군에 비하여 심장의 무게가 유의성 있게 억제되었으나 나머지 장기의 무게는 유의한 차이가 없었다(Fig. 3)

3. 혈액학적 변화

정상군에 비하여 대조군에서는 CPK와 AST가 유의성 있게 증가되었고 ALT, creatinine 및 BUN은 유의한 변화가 없었다. CP+WG군은 대조군에 비하여 CPK, AST 및 BUN은 유의성 있게 감소되었고 ALT와 creatinine은 유의한 변화가 없었다. WG군은 정상군에 비하여 모든 측정치에 유의한 차이가 없었다(Fig. 4).

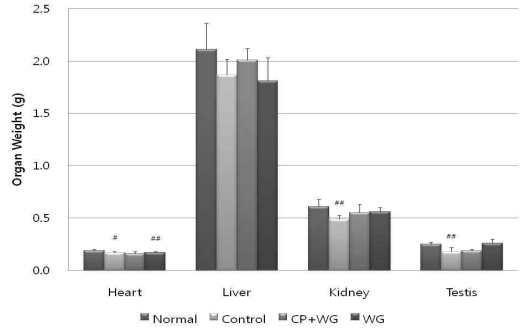


Fig. 3. Effects of the water extract of Cultivated Wild Ginseng on the organ weight of BALB/c mice treated with cyclophosphamide. Values were expressed as means±S.D. of six mice. # p<0.05 ; ## p<0.01 compared with normal group.

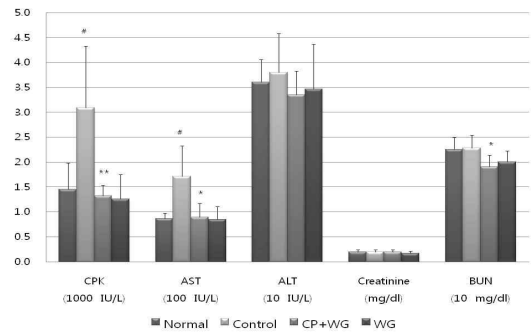


Fig. 4. Effects of the water extract of Cultivated Wild Ginseng on the level of CPK, AST, ALT, creatinine and BUN in serum of BALB/c mice treated with cyclophosphamide. Values were expressed as means±S.D. of six mice. # p<0.05 compared with normal group. * p<0.05 ; ** p<0.01 compared with control group.

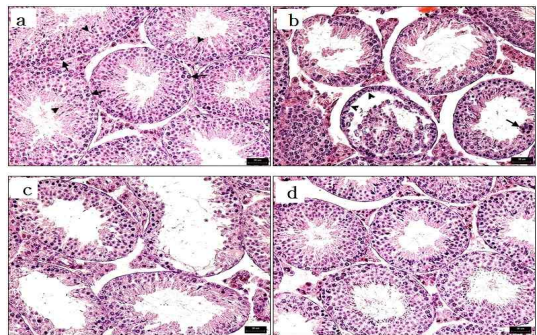


Fig. 5. ① Histological structure of testis from normal group. Well developed variable stages of seminiferous tubules, spermatogonia(arrows), and spermatozoa(arrow heads) are observed. ② Histological structure of testis from control group. The structure of many of seminiferous tubules are disrupted. Note the poor cellularity of seminiferous epithelia, desquamation of necrotic epithelia from basal spermatogonia(arrow heads), and degeneration of spermatogenic cells(arrow). ③ Histological structure of testis from CP+WG group. The structure of many of seminiferous tubules are disrupted. Note the poor cellularity of seminiferous epithelia. ④ Histological structure of testis from WG group. Well developed variable stages of seminiferous tubules, spermatogonia, and spermatozoa are observed. H&E stain, scale bar = 30 μm

4. 병리조직학적 소견

1) 간장, 심장 및 신장

간장, 신장 및 심장은 모든 군에서 정상범위 수준의 소견만이 관찰되었다.

2) 고환

정상군의 고환조직은 모든 발육 단계의 정세관이 활발한 증식상태에 놓여 있으며, 정세관 상피세포(정조세포, 정모세포, 정자세포)가 치밀하게 증식되어 있었다. 대조군에서는 정세관 상피세포의 증식이 정상군에 비해서 다소 감소되어 정세관의 내부 공간이 정상군에 비해서 넓게 관찰되었으며, 부위에 따라서는 정세관 상피세포가 괴사 및 탈락되어 있었다. CP+WG군에서의 병리조직학적 소견은 대조군에서와 유사하게 관찰되었다. WG군은 정상군에서와 같은 범위의 소견만이 관찰되었다(Fig. 5).

5. 고환 단면적과 정세관 직경의 차이

정상군에 비하여 대조군에서는 고환의 단면적과 정세관의 직경이 모두 유의성 있게 감소되었으며, CP+WG군은 대조군에 비하여 정세관 직경의 감소가 유의성 있게 억제되었다. WG군에서는 고환의 단면적과 정세관 직경이 정상군과 유사하게 관찰되었다(Fig. 6).

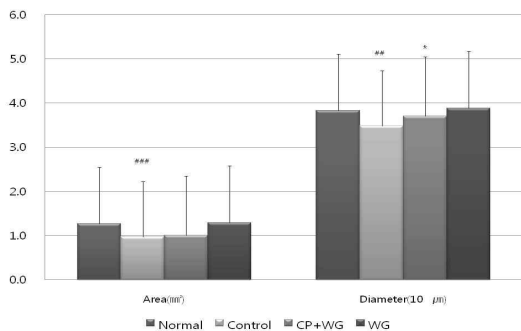


Fig. 6. Effects of the water extract of Cultivated Wild Ginseng on the cross sectional area of testis and the diameter of seminiferous tubules in BALB/c mice treated with cyclophosphamide. Values were expressed as means±S.D. of six mice. *** p<0.01 ; **** p<0.001 compared with normal group. * p<0.05 compared with control group.

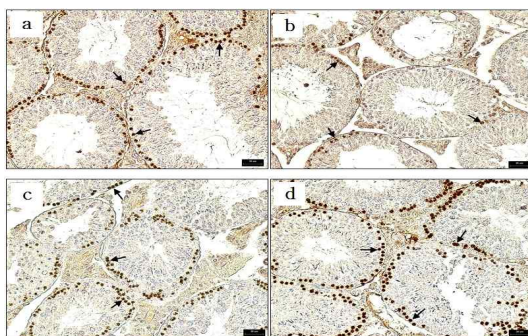


Fig. 7. (a) BrdU immunohistochemistry of testis from normal group. Many of seminiferous tubules and most of spermatogonia(arrows) are labelled strongly with BrdU. (b) BrdU immunohistochemistry of testis from control group. BrdU labelled seminiferous tubules are lesser than those of normal group. And the numbers of BrdU labelled spermatogonia(arrows) are decreased. (c) BrdU immunohistochemistry of testis from CP+WG group. BrdU labelled seminiferous tubules are more frequently observed than those of Cyclophosphamide group. And also, the numbers of BrdU labelled spermatogonia(arrows) are more frequently observed. (d) BrdU immunohistochemistry of testis from WG group. Many of seminiferous tubules and most of spermatogonia(arrows) are labelled strongly with BrdU. BrdU immunohistochemical stain, scale bar = 30 μm

6. 고환조직에서의 BrdU 발현 양상의 차이

정상군의 고환조직에서 BrdU 양성반응은 대다수의 정세관에서 발현되었으며, 발현된 정세관의 대부분의 정조세포에서 강한 양성반응이 확인되었다. 대조군에서는 양성반응이 관찰되는 정세관이 정상군에 비해서 감소되었으며, 양성반응을 보인 정조세포도 정상군에 비해서 드물게 관찰되었다. CP+WG군에서는 양성반응이 관찰된 정세관은 대조군에서와 유사하게 관찰되었으나, 양성반응을 보인 정조세포는 대조군 보다 치밀하게 관찰되었다. WG군은 정상군과 유사한 정도로 BrdU 양성반응이 확인되었다(Fig. 7).

고찰

2009년 사망원인 통계결과에 의하면 10대 사망원인 중 암이 1위를 차지하였는데, 그 비율은 매년 증가하고 있고 2위인 뇌혈관 질환보다 2배 이상 높게 나타났다¹⁷⁾.

암에 대한 서양의학적 치료법으로는 수술요법, 방사선요법, 화학요법 그리고 면역요법으로 크게 구분되며 각각 장단점을 가지고 있다. 이중 항암제에 의한 화학요법은 환자의 충분한 협조가 필요한 치료법으로서 각종 암의 치료에 가장 많이 활용되고 있다. 항암 화학요법은 비교적 뚜렷한 세포독성 작용으로 암세포의 성장을 억제하여 생명을 연장하는 효과를 나타내지만, 암세포 뿐만 아니라 정상세포도 손상을 받아서 간장, 신장, 심장, 소화기관, 생식기관 및 전신에 독성 반응을 유발하여 각 기관의 기능을 저하시키고, 골수조혈기능을 억제하여 인체의 면역기능을 저하시키는 단점을 가지고 있다^{18,19)}.

암세포는 빠르게 증식하고 분열하는 특징이 있으므로 대부분의 항암제는 빠른 성장을 하는 세포에 대하여 더 큰 영향을 발휘하게 되는데, 일부 빠르게 분열증식하는 정상세포 즉 골수에서 형성된 혈액세포, 구강을 포함한 위장관의 상피세포, 머리카락세포, 그리고 정자, 난자를 만들어내는 생식세포 등이 영향을 많이 받아 두드러진 부작용을 나타낸다²⁰⁾. 화학요법에 의하여 나타나는 부작용은 적절한 약용량의 투여를 곤란하게 함으로써 만족할 만한 항암효과를 얻지 못하게 하고, 고농도의 화학요법으로 인한 면역결핍에 이은 이차감염은 환자의 삶의 질과 생존율을 저하시켜 현재 항암치료에 있어서 극복해야할 중요한 문제점으로 지적되고 있다^{21,22)}.

과거 한의학 서적에 종양은 동반한 병증, 형태와 위치에 따라서 癭瘤, 噎膈, 反胃, 癥瘕, 積聚, 痰癖, 惡瘡 등으로 이해되었는데, 기본적인 병리는 正氣가 부족하면 허한 틈을 타고 邪毒이 침입하여 氣滯·血瘀·痰凝을 유발시키고, 이러한 병리적 산물들이 서로 결합하여 시간이 경과되면서 점차 腫塊를 형성한다. 이와 같은 기본 인식에 근거하여 扶正祛邪, 消補兼施를 비롯한 以毒攻毒, 扶正固本, 活血化瘀, 軟堅散結, 化痰利濕, 清熱解毒 등의 치료법이 제시되었다^{8,23)}.

항암효과와 관련된 한의학 치료법의 연구는 크게 세가지로 접근되었다. 첫째, 종양세포에 대한 직접적 작용으로 암세포 증식을 억제시키거나, 암세포를 파괴시키는 효과를 확인하는 것으로

주로 以毒攻毒, 軟堅散結 효능을 가진 蜈蚣, 斑蝥, 蟾酥, 莪朮, 水蛭 등이 대표적이다²³⁾. 둘째, 화학요법 약물과 병용 투여하였을 때 항암효과를 증가시키고 방사선요법의 민감성을 증강시키는 한약물에 대한 연구는 주로 活血化癥 약물에서 주로 연구되었다^{24,25)}. 셋째, 항암치료에 의하거나 기저질환으로 인해 전신기능이 쇠퇴하고 중요기관의 기능부전이 동반된 경우에는 개체의 면역기능의 제고에 초점을 맞추어 健脾益氣, 溫補養陰 등 扶正固本 치법을 활용하였다^{26,27)}. 扶正固本의 치법은 특히 세포성 면역기능을 촉진시키고 뇌하수체-부신피질 기능 증강, 세포내 정보전달에 관여하는 cAMP와 cGMP 비율의 조정, cAMP의 상대치 증가, 골수 조혈기능의 증가, 소화기능 개선 및 증가, 장기손상의 억제 등의 효과를 나타내었다⁸⁾.

최근 의료환경을 살펴보면, 순수하게 한의학적 치료를 적용할 수 있는 경우로는, 원격전이가 이루어진 말기암이나, 항암치료를 쓰기에 신체조건이 열악한 경우 그리고 신경교종, 미만성간암, 췌장암 등 수술 난이도가 높고 방사선 요법과 화학요법의 효과가 확실치 않으며 항암요법의 부작용이 큰 경우에 선택적으로 이루어질 수 있다. 서양의학의 항암요법과 한의학 치료가 병행될 수 있는 경우로는, 화학요법과 방사선요법이 진행되는 가운데 각 치료사이에 독성이 없고 항암효과가 있는 한약물을 투여할 수 있고, 또한 중양의 크기가 커서 국소에 氣血순행이 어려운 경우에 活血化癥 효능이 있는 약물을 사용하여 국소 혈액순환을 개선하면 방사선요법의 과민성을 높여서 방사선 조사량을 줄일 수 있다^{1,3,23)}.

항암치료에 있어서 한양방 협진이 가장 용이한 분야는 서양 의학의 항암요법의 부작용을 감소시키고 치료효과를 증강시킬 목적으로 한의학적 치료를 병행하는 것인데³⁾, 이와 같은 취지로 항암제의 부작용에 대한 한약물을 이용한 연구가 많이 진행되었다. 생쥐를 이용한 동물실험에서 健脾益氣湯, 防毒湯, 四物湯은 CP의 투여로 유발된 간장과 골수손상에 대한 기능회복 효과가 확인되었고²⁷⁻³⁰⁾, 補中益氣湯 역시 동일한 항암제를 투여한 마우스의 백혈구감소증을 빠르게 회복시켰다³¹⁾. 면역기능항암이 유발된 경우 六君子湯, 人蔘, 當歸 등이 유의한 면역 향상을 유도하였다³¹⁻³⁴⁾.

특히 健脾益氣 효능을 가진 山蔘, 人蔘, 紅蔘 등은 일정한 암 세포 살해작용이 있으면서 서양의학의 항암요법과 병용 투여시 항암효과를 높이고 독성으로 인한 부작용을 줄일 수 있는 대안으로 선택될 수 있는데³⁵⁾, 급성전골수성백혈병 세포주(HL-60)를 이용한 항암효과 연구에서 산양삼이 인삼에 비하여 효과가 앞서는 것으로 보고하였다¹³⁾.

산삼은 오가피과(두릅나무과 ; Araliaceae)에 속한 다년생 초목인 인삼(*panax ginseng* C. A. Mey.)이 야생상태에서 자연 발아하여 성장한 蔘을 일컬으며, 산양삼(장뇌삼)은 산삼의 씨앗이나 幼蔘을 인위적으로 산에서 재배한 蔘을 말한다. 예로부터 산삼은 대표적인 보기제로, 靈藥으로 여겨졌으며 그 모양새가 사람을 닮았다고 하여 인삼으로 표현되어 왔다¹¹⁾. 《傷寒論》에는 처방이 114방, 약물은 모두 91가지가 기록되어 있고, 《金匱要略》에는 처방이 205방, 약물이 모두 156가지가 수록되어 있는데, 인삼은 《傷寒論》에 22차례, 《金匱要略》에 29차례 사용한 것으

로 보아 보편적으로 사용된 약재임을 알 수 있다³⁶⁾. AD 483-496년대 《神農本草經》¹⁰⁾에 인삼에 대한 구체적인 내용이 소개된 이후 대부분 기록에는 山蔘보다는 人蔘의 표기가 지배적인데, 인삼의 재배가 국가적 차원에서 보급, 장려된 14C 이전의 인삼은 산삼을 지칭하는 것으로 이해할 수 있다. 산삼은 희귀성과 고가의 약물인 점 등으로 산삼에 대한 연구가 많지 않았으나, 최근 산양삼의 재배와 산삼의 성장점을 배양한 배양삼의 생산이 이루어짐에 따라 이를 이용한 제품개발과 효능에 대한 연구가 진행되고 있다^{13,14)}.

항암치료와 관련한 산양삼에 대한 실험연구에 의하면, 인간 폐암세포주(A549)에 대한 세포사멸효과를 유도하였고¹⁴⁾, 폐암세포와 혈관내피세포에서 여러 표적 유전자를 통한 혈관신생인의 발현 억제효과를 보였다³⁷⁾. 흑색종 암세포주(B16/F10)를 이식한 생쥐에서 중앙증식을 유의하게 억제하였으며¹⁶⁾, 항암제 doxorubicin을 투여한 생쥐의 장기손상에 대해 고환독성 방어작용으로 생식기능을 보존하였다¹³⁾. 임상시험 및 임상연구로는, 면역기능과 관련하여 혈장 면역단백질(CR2-C3d)을 유의하게 증가시켰고, 비소세포성폐암 환자에게 산삼약침을 시술하여 관련 증상 경감과 유지효과를 나타내고 생존율을 연장시켰다³⁸⁾.

본 연구에 장기독성을 유발시키기 위해 사용된 CP는 골수종에 가장 효과적인 약제이며 급성임과구성백혈병에서 완전관해를 유도하고 유지하는 유일한 알킬화제이다. 알킬화제는 DNA의 구아닌(7-N-guanine)의 교차결합을 손상시켜서 세포분열을 불가능하게 하여 세포독성을 나타낸다^{6,7)}. 이러한 효과를 이용하여 여러 자가면역질환에 강력한 면역억제제로 활용되기도 하며, 임상적으로 알려진 단기 부작용은 출혈성 방광염과 골수기능 억제에 의한 빈혈, 출혈 및 백혈구 감소에 의한 감염증 등이 흔하고, 장기간 투여할 때는 발암 위험이 높아지는데 특히 방광암이 잘 발생한다^{20,32)}.

CP의 약물독성과 관련한 실험에서, 消積白朮散은 신장독성을 저하시키고 면역기능을 제고하였고, 蔘茸湯은 간장과 신장 기능을 보호하여 AST, ALT, BUN, creatinine의 수치 증가를 억제하였다³⁹⁾. 생쥐에서 CP 투여로 유발된 조혈기능장애에 대하여 補中益氣湯은 CFU-S, GM-CSF, IL-3, IFN- γ 등 조혈과 면역관련 인자의 유전자 발현을 촉진시켰으며, 少陰人 補中益氣湯과 丹蔘 四物湯은 골수손상을 억제하며 조혈기능 회복을 증강시켰고, 消癥祛痰益氣湯은 CP에 의한 간, 신, 비장 독성과 조혈기능장애를 억제하였다³¹⁾.

이에 저자는 CP로 유발된 장기독성 보호효과를 확인하기 위하여, '의약품 독성시험 기준'에 의거하여 산양삼에 대한 반복투여 독성실험을 시행하였고, CP를 투여하여 만성독성을 유발시킨 생쥐에 산양삼 추출액을 병용 투여하여 체중과 장기 및 고환을 중심으로 CP의 독성에 미치는 영향을 연구하였다.

산양삼의 반복투여 독성실험에서 산양삼이 체중에 미치는 영향을 측정된 바 정상군에 비하여 체중의 변화에 차이가 없었다. 장기중량을 측정된 결과 심장의 무게가 정상군에 비하여 유의성 있게 억제되었으나, CPK는 정상군에 비해 유의한 차이가 없었기 때문에 측정되어 심근손상의 증거는 없었다. 간장, 신장의 무게

는 정상군과 유의한 차이가 없었고, AST, ALT, creatinine, BUN은 산양삼 투여군에서 정상군에 비해 오히려 낮게 측정되었으나 유의성은 없었다.

병리조직학적 소견을 관찰한 결과, 산양삼을 투여한 생쥐의 간장, 신장, 심장 및 고환은 정상군과 같은 범위의 소견이 관찰되어 조직손상이 없는 것으로 나타났다. 본 산양삼의 반복투여 독성실험은 산양삼의 안정성을 평가하여 임상적 용약의 안전을 확보하기 위한 것으로, 5주간의 산양삼 4.4 g/kg/day 연속투여는 생쥐에 있어 독성을 유발하지 않았다.

CP는 실험시작부터 복강주사하여 1주 간격으로 총 5회 투여되었고, 산양삼 추출액은 실험시작 후 5주가 될때까지 매일 복강투여 하였다. CP는 혈액학적 결합없는 환자에게 40-50 mg/kg으로 통상 2-5일 동안 분할 투여하는데, 본 실험에서는 100 mg/kg을 1주에 1회씩 총 5회 복강투여하여 약물 독성을 유발시켰다.

본 연구에서 산양삼이 체중에 미치는 영향을 측정된 결과, CP를 투여한 대조군이 정상군에 비하여 유의한 체중 감소를 나타내어 CP에 의한 독성으로 체중이 감소된다는 보고와 동일한 결과가 관찰되었다³¹⁾. 기존 연구에서는 체중 감소와 식이 섭취량이 비례한 것을 체중 감소의 원인으로 파악하였는데, 본 연구에서는 식이 섭취량을 파악하지 않아 정확한 원인은 알수 없으나, 산양삼 추출액을 병용투여한 산양삼군에서는 대조군에 비하여 체중 감소가 유의성 있게 억제되어 산양삼이 CP에 의한 전신독성 혹은 소화기능 억제를 감소시킬 수 있을 것으로 예상된다.

CP는 장기에 독성을 유발하여 심장⁴⁰⁾, 간장³¹⁾, 신장⁴¹⁾ 및 고환⁴²⁾의 무게를 감소시킨다고 보고되었는데, CP만 투여한 대조군이 정상군에 비하여 심장, 신장, 고환의 무게가 유의성 있게 감소되어 CP에 의한 독성이 유발되었음을 알 수 있었다. 산양삼 병용투여군에서는 대조군에 비하여 간장, 신장, 고환의 무게 감소가 억제되었고, 심장의 무게는 대조군에 비하여 증가되었으나 장기 무게의 차이는 모든 항목에서 유의성이 없었다.

심장, 간장, 신장의 손상을 확인하기 위해 혈액내 CPK, AST, ALT, creatinine, BUN을 선별적으로 확인하였는데, CP를 투여한 대조군에서는 정상군에 비해 CPK, AST가 유의성 있게 증가하였고, ALT는 정상군에 비해 증가하였으나 유의성은 없었으며, 신장기능 지표인 creatinine과 BUN은 정상군과 대조군 사이에 차이가 없었다.

산양삼 병용투여군에서는 CPK와 AST의 증가가 대조군에 비해 유의성 있게 억제되어 산양삼 추출물이 심장과 간장 손상을 보호하는 효과가 있는 것으로 보이며, BUN 수치는 대조군에 비해 유의하게 감소하였으나 정상군과 대조군 사이에 측정치의 차이가 없어서 신장 보호 효과를 판단할수 없었다. 심장의 무게는 산양삼 병용투여군이 대조군보다 더 낮게 측정되었으나, 혈액 내 CPK의 증가가 유의하게 억제된 것으로 보아, 산양삼은 CP에 의한 심근 손상을 보호하는 효과가 있는 것으로 판단된다.

실험 종료일에 모든 개체를 부검하여 간장, 신장, 심장 및 고환을 파란된 포매하여 염색후 병리조직학적 소견을 관찰하였다. CP의 약물 독성에 대한 보고에 따르면, 드물게 간장애와 간염이 보고되었고, 이 약에 의해 유도된 심독성은 심근병증과 심부전에

이르기까지 광범위한 심장효과를 나타내며, 매우 드물게 치명적인 결과를 초래하였다. 신기능에는 매우 드물게 이상반응을 보였는데, 신우내의 응괴형성 및 출혈 등의 신독성이 보고되었고 신부전으로 진행된 경우도 있었다. 고환에 대한 작용으로는 때때로 무정자증 또는 지속적인 정자부족증을 초래할 수 있는 정자형성 장애를 유발한 것으로 보고되었다^{20,32)}.

본 실험에서는 병리조직학적으로 간장, 신장, 심장에서는 정상군과 큰 차이를 발견하지 못하였고, 고환에서는 CP를 투여한 대조군에서 상피세포의 증식이 감소되고 정세관의 내부 공간이 정상군에 비해서 확장되었으며, 부위에 따라서 정세관 상피세포가 괴사 및 탈락되어 있었다. 고환 단면적과 정세관의 직경을 측정하고 고환조직에서의 BrdU 발현 양상을 비교해 보았는데, 정상군에 비하여 CP를 투여한 대조군에서 고환의 단면적과 정세관의 직경이 정상군에 비하여 모두 유의성 있게 감소되었고, 산양삼 추출물 병용투여군은 대조군에 비하여 정세관 직경의 감소가 유의성 있게 억제되었다. CP만 투여한 대조군에서 BrdU 양성반응이 관찰되는 정세관이 정상군에 비해 감소되었으며, 양성반응을 보인 정조세포도 정상군에 비해서 드물게 관찰되었다. 산양삼 추출물 병용투여군에서는 양성반응이 관찰된 정세관은 대조군과 유사하게 관찰되었으나, 양성반응을 보인 정조세포는 대조군보다 치밀하게 관찰되어, CP가 고환 독성을 유발하였으나 산양삼 추출물 병용투여로 인해 고환 독성을 방어한 것으로 판단된다.

본 연구의 결과를 종합하면 고용량으로 이루어진 반복투여 독성실험에서 산양삼은 장기독성 반응을 나타내지 않았고, CP로 유발된 장기독성 생쥐모델에서 산양삼은 심장, 간장, 고환에 대하여 독성 방어 효과가 있는 것으로 평가되었다. 향후 HPLC 등의 방법으로 산양삼의 유효성분과 산양삼의 독성 방어 효과의 기전에 대한 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

본 시험은 실험시작에서부터 1주에 1회씩 총 5회 CP를 복강투여하여 장기독성을 유발시키고, 실험시작에서부터 5주째까지 매일 산양삼 추출액(WG)을 복강투여 하여, 산양삼이 CP로 유발된 생쥐의 장기독성에 대한 방어효과가 있는지를 확인하였다.

정상군의 체중 증가에 비하여 대조군에서는 실험 2, 3, 4, 5주째에 체중 증가가 억제되었으나, CP+WG군은 대조군에 비하여 실험 3, 4주째에 유의성 있게 체중이 증가되었다. 혈액검사상 정상군에 비하여 대조군에서는 CPK와 AST가 증가되었으나, CP+WG군은 대조군에 비하여 CPK와 AST가 감소되었다.

정상군에 비하여 대조군에서는 고환의 단면적과 정세관의 직경이 모두 감소되었으나, CP+WG군은 대조군에 비하여 정세관 직경의 감소가 억제되었다.

병리조직학적 관찰에서 대조군은 고환조직에서 정조세포의 BrdU 양성반응이 관찰되는 정세관이 감소되었으며 양성반응을 보인 정조세포도 정상군에 비해서 드물게 관찰되었고, CP+WG군은 양성반응이 관찰된 정세관은 대조군에서와 유사하게 관찰되었으나 양성반응을 보인 정조세포는 대조군 보다 치밀하게 관

찰되었다.

이상의 결과로 보아, 산양삼은 CP로 유발된 생쥐의 장기손상에서 심장, 간장, 고환의 독성에 대한 방어효과가 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부의 지역혁신센터사업으로 수행되었습니다(RIC-07-06-01).

참고문헌

1. 서울대학교 의과대학. 중양학. 서울, 서울대학교출판부, pp 1-3, 2001.
2. 양범석. 2000년대 항암치료제의 새로운 경향. 대한노인병학회지 8(3):128-136, 2004.
3. 문 구. 암 동서의 결합치료 1. 익산, 원광대학교출판국, pp 1-22, 255-258, 381-386, 413-419, 477-488, 1999.
4. 김원경, 박미선, 이영희, 허대석. 외래에서 항암화학요법을 받는 암환자들의 영양불량 위험도 연구. Korean J Community Nutrition. 13(4):573-581, 2008.
5. 한대섭. 약리학. 서울, 녹지사, pp 60-359, 1984.
6. 이우주, 홍사석. 이우주의 약리학강의. 서울, 의학문화사, pp 745-747, 1993.
7. 대한내과학회 편. Harrison's Principle of Internal Medicine 16th edition. 서울, 도서출판MIP, pp 653-665, 2006.
8. 楊思樹, 張樹生, 傅景華. 동의임상내과학 I. 서울, 법인문화사, pp 252-270, 1999.
9. 공현식, 유봉하, 박동원, 유기원. 한국한의학의 중앙연구에 대한 현황. 대한한방중앙학회지 1(1):55-81, 1995.
10. 單書健. 神農本草經校證. 吉林, 吉林科學技術出版社, p 150, 1988.
11. 전국한외과대학 본초학교수. 본초학. 서울, 영림사, p 531, 1994.
12. 신순식, 김경철, 최영현, 이용태, 엄현섭, 김창식. 산삼 감정 기준의 객관성. 동의한의연 5: 107-114, 2001.
13. 안영민, 박희수, 권기록. 산삼과 산양산삼 추출액의 항암효과 및 Doxorubicin에 의한 고환독성 방어효과. 대한약침학회지 10(1):5-16, 2007.
14. 곡경승, 이선구, 권기록. pH 및 전해질 조절 산양산삼 증류약 침의 Apoptosis에 관한 실험적 연구. 대한침구학회지 21(6):1-17, 2004.
15. Labonte, P., Kadhim, S., Bowlin, T., Mounir, S. Inhibition of tumor growth with doxorubicin in a new orthotopically implanted human hepatocellular carcinoma model. Hepatology Research 18: 72-85, 2000.
16. 민병일, 김호현, 서일복, 권기록. 산양산삼 추출액의 항암효과 및 Doxorubicin에 의한 고환독성 방어효과. 대한약침학회지 10(1):85-100, 2007.
17. 통계청. 2009년 사망원인통계결과. pp 2-7, 2009.
18. Guillaume, T., Rubinstein, D.B., Symann, M. Immune reconstitution and immunotherapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation. Blood 92: 1471-1490, 1998.
19. Parkman, R., Weinberg, K.I. Immunological reconstitution following bone marrow transplantation. Immunol Rev 157: 73-78, 1997.
20. Woojin, L.A., Craig, L., Richard, B.K., Mace, L.R. Powerful Tools in Cancer Chemotherapy and Drug Development. The Oncologist 10(2):104-111, 2005.
21. Alison Richardson. Studies exploring self-care for the person coping with cancer treatment. International Journal of Nursing Studies 29(2):191-204, 1992.
22. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 최신진건 내과학 I. 서울, 군자출판사, p 766, 1997.
23. 郭子光, 熊曼琪, 徐木林. 現代中醫治療學. 四川, 四川科學技術出版社, pp 343-349, 1995.
24. 이진우, 정우열. 활혈화어약물을 응용한 새로운 암치료제 개발 연구. 동의병리학회지 14(1):45-50, 2000.
25. 최선미, 최승훈, 안규석. 단삼의 항암활성과 apoptosis에 미치는 영향. 대한동의병리학회지 14(2):22-26, 2000.
26. 이윤희, 김봉석, 오중환, 임희용, 김동우, 최빈혜 등. 보중익기 함대칠기탕과 Doxorubicin의 병용이 3LL의 항암효과에 미치는 영향. 대한한의학방제학회지 12(1):131-148, 2004.
27. 구입본, 김준기, 박원환, 최달영. 건비익기탕 및 加菱實方의 cyclophosphamide에 의한 부작용 억제에 관한 실험적 연구. 대한동의병리학회지 11(1):1-11, 1997.
28. 최달영, 박원환, 김준기. 방독탕 및 防毒湯加菱實의 cyclophosphamide에 의한 부작용 억제에 관한 실험적 연구. 대한동의병리학회지 11(1):100-110, 1997.
29. Kaneko, M., Kawakita, T., Kumazawa, Y., Takimoto, H., Nomoto, K., Yoshikawa, T. Accelerated recovery from cyclophosphamide induced leukopenia in mice administered a Japanese ethical herbal drug, Hochu-ekki-to. Immunopharmacology 44(3):223-231, 1999.
30. 안희덕, 사물당의 항암제 부작용 억제에 관한 실험적 연구. 동의병리학회지 9(2):341-359, 1995.
31. 김수진, 임락철, 김성훈. 보중익기탕 및 소음인 보중익기탕이 S-180에 대한 항종양효과와 cyclophosphamide에 의한 부작용에 미치는 영향. 동의병리학회지 8: 161-166, 1993.
32. 권오성, 강운호. 육군자탕이 cyclophosphamide에 의해 손상된 흰쥐 비장조직의 회복에 미치는 영향. 동국한의학연구소 논문집 2(1):167-176, 1993.
33. 김진택, 김동환, 안상현, 윤 식. 인삼 추출물이 cyclophosphamide에 의해 손상된 흰쥐 비장조직의 회복에 미치는 영향. 동국한의학연구소논문집 2(1):177-182, 1993.
34. Soon, A.K., Kihyo, J., Jieun, L., Seongkyu, P. Differences of

- hematopoietic effects of angelica gigas, *A. sinensis* and *A. acutiloba* extract on cyclophosphamide induced anemic rats. *Korean J. food science and technology* 35(6):1204-1208, 2003.
35. Yiseong, K., Youngsook, K., Hanjae, S., Yongbum, S. Anticancer activities by combined treatment of red ginseng acidic polysaccharide and anticancer agents. *J. Ginseng Res* 27(2):47-51, 2003.
36. 黄煌. 상한론 처방과 약증. 서울, 법인문화사, pp 259-268, 2000.
37. Chen, M.W., Ni, L., Zhao, X.G., Niu, X.Y. The inhibition of 20(R)-ginsenoside Rg3 on the expressions of angiogenesis factors proteins in human lung adenocarcinoma cell line A549 and HUVEC304 cell. *Zhongguo ZhongYao Za Zhi* 30(5):357-360, 2005.
38. Sunhwi, B., Kirok, K., Hwaseung, Y. Two Cases of Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Intravenous Cultivated Wild Ginseng Pharmacopuncture. *Korean Institute of Herbal Acupuncture* 11(2):13-19, 2008.
39. Sunghoon, K. Study on trends of cancer study in TKM and its research strategy in future. *Korean Oriental Medical Society* 19(1):470-499, 1998.
40. E.L. Lushnikova, T.G. Tolstikova, L.M. Nepomnyashchikh, M.G. Klinnikova, O.P. Molodykh, E.A. Sviridov, I.V. Sorokina, N.A. Zhukova. Cardiomyocyte Count in Rat Myocardium under the Effect of Antitumor Agents Cyclophosphamide and Triterpenoids. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 14(3):355-362, 2007.
41. Premila, A., K, Indirani., Emila, S. Effect of cyclophosphamide treatment on selected lysosomal enzymes in the kidney of rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 59(2):143-149, 2007.
42. D.N. Tripathi., G.B. Jena. Astaxanthin inhibits cytotoxic and genotoxic effects of cyclophosphamide in mice germ cells. *Toxicology* 248(2-3):96-103, 2008.