

## 四鹽化 炭素에 의한 흰쥐의 肝臟機能 障礙와 土龍 엑기스의 投與效果

鄭 勇 · 李效旻

연세대학교 환경공해연구소

(Received December 13, 1988)

### Effects of Earthworm (*Lamnodrilus gotai* Hatai) Extract on the Hepatotoxicity of Carbon Tetrachloride in Rats

Yong Chung and Hyo Min Lee

The Institute for Environmental Research, Yonsei University, Seoul 120, Korea

**Abstract**—These studies were attempted to investigate the therapeutic effect earthworm (*Lamnodrilus gotai* Hatai) extract (LS) on the liver damage induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) in rats. Male rats (Sprague-Dawley) were treated with sub-chronic concentration of CCl<sub>4</sub>, which was 0.2 ml/kg of CCl<sub>4</sub> via peroral administration twice a week. LS administration to rats (6 ml/kg, po) prevented the development of fatty liver, necrosis and fibrosis induced by CCl<sub>4</sub>. Furthermore, as compared with rats suspended after treated with CCl<sub>4</sub> only, LS treatment significantly decreased the increment in serum enzyme activities, liver enlargement and improved growth rate. This protective effect was observed when LS was given monthly for 4 months after CCl<sub>4</sub> treated for 2 months. These results suggest that earthworm extract has appreciable therapeutic effect on CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity.

**Keywords** □ Earthworm extract, fatty liver, necrosis, fibrosis, hepatotoxicity

土龍은 傳統的으로 藥用되어 온 漢方醫藥이다. 東醫實鑑<sup>1)</sup>과 本草綱目<sup>2)</sup>에 수재되어 있는 바로는 土龍이 傳染性 熱病, 舟毒, 中耳炎, 咽喉炎, 腎臟炎, 蓄膿症, 蛇毒除法, 尿便困難 및 黃疸과 같은 肝臟疾患에 有效하다고 기록되어 있다. 근래에도 土龍은 가축 및 물고기의 사료에서부터 사람의 식품에 이르기까지 그 쓰임이 다양하다.

본 연구에 앞서 著者들이 최근에 실시한 한국産 土龍 *Lamnodrilus gotai* Hatai 를 對象으로한 成分分析 結果에 의하면 蛋白質, 脂質, 灰分, 纖維質, 磷 및 Ca, Mg, Fe, Se, Ge 을 비롯한 각종 無機成分과 phenylalanine, glycine, leucine, glutamic acid, cystein 과 같은 아미노산 등이 다양하게 함유되어 있음이 밝혀졌다.<sup>3)</sup> 이들 성분중 몇가지는 그 함유량이 높게 측정되고 있어 그 藥理的 效果가 論

議되고 있다.

Stenersen 과 Oien(1981)은 土龍의 酵素學的 연구에서, 土龍중에 人體와 마찬가지로 여러 酵素들이 존재하고 있으며 특히 毒性物質의 解毒에 관여하는 酵素인 glutathione-S-transferase<sup>4,5)</sup>와 lysosomal enzyme ( $\beta$ -glucuronidase, acid phosphatase, esterase)<sup>6)</sup>과 같은 肝毒性 解毒作用 酵素들의 活性이 높다고 보고하였다.

한편, glutathione-S-transferase 는 glycine, glutamic acid 와 cysteine 으로 구성되어진 tripeptide 인 glutathione 의 도움으로 異物質들의 代謝를 촉매하며 cysteine 의 amino group 을 acetyl 화하여 배설이 용이한 N-acetyl cystein(mercapturic acid 유도체)으로 만드는 機轉을 가지고 있다.

또한, 四鹽化炭素는 實驗的 肝障得을 일으키는 藥物로서 널리 사용되고 있으며 毒性이 강한 代謝物이 肝 microsomes의 膜蛋白 thiol基와 強하게 결합하여 膜의 脂質過酸化 反應을 促進해서 障得을 일으켜 간에서의 蛋白合成抑制, 肝 glycogen 量의 減少, 肝 ATP 量의 減少, 血中에서는 GOT, GPT 등의 逸脫을 일으키고 또 組織學的으로는 肝細胞의 脂肪變性, 壞死 및 纖維化 등을 일으키는 것으로 알려져 있다.<sup>7-9)</sup>

Mitchell 등(1982)은 carbon tetrachloride를 alkylating radical을 지닌 肝毒性物質 group III로 규정하여 carbon tetrachloride가 glutathione을 고갈시키지는 않지만 glutathione의 組成을 변형시키는 것으로 그 毒性機傳을 밝혔다.<sup>10)</sup>

Keterer 등(1982)은 glutathione이 electrophilic 代謝物들과 代謝過程에서 생성된 소화물들의 解毒에 관여하는 것으로 보고하였다. 즉, glutathione의 썩스테인잔기는 강력한 肝毒性物質들의 代謝產物들(alkylating, arylating, acylating, peroxidizing metabolites)로부터 組織을 保護하는 것으로 밝혀졌으며 肝臟에서 glutathione이 감소되었거나 혹은 결핍되었을 경우 肝毒性效果는 크게 확장된다고 하였다.<sup>11)</sup>

이와같이 四鹽化炭素의 毒性은 그 자체보다도 代謝產物이 더 문제시되고 있어, 토끼를 대상으로 한 연구결과에서는 四鹽化炭素 투여 48시간 이후에 여러 組織에서 chloroform, hexachloroethane 이외의 두가지 chlorinated metabolites가 검출된다고 하였다.<sup>12)</sup>

최근에도 土龍의 藥理效果에 대하여 많은 論議가 있으나 아직까지는 그들의 확실한 臨床資料나 動物實驗의 결과도 없는 실정이고 더욱이 한국產 土龍의 效果에 대한 보고는 알려진 바 없다. 本 研究에서는 흰쥐를 대상으로 實驗的 肝臟障得에 미치는 한국產 土龍의 藥理的 效果를 관찰하였기에 報告하는 바이다.

### 실험방법

**실험재료**-土龍은 牛糞으로 人工飼育된(사육조건: 습도 80%, 온도 15~25°C) 것으로 孵化 후 4개월이 지난 *Lamnodrilus gotai* Hatai를 水蒸氣

\*土龍엑기스를 이하 LS라 표시한다.

蒸溜(120°C, 3시간)시켜 그 抽出液을 脫脂線으로 慮過하여 얻은 慮液을 일정한 濃度로 濃縮시켜 土龍 엑기스를 얻었다. 이때 土龍엑기스의 질소계수는 약 2.53이었다. 肝機能 障得 유발제로 사용된 四鹽化炭素(CCl<sub>4</sub>)는 藥理化學(Japan) 시약을 사용하였고, CCl<sub>4</sub> 투여기간동안 肝障得 유발을 용이하게 하기 위하여 모든 실험군에 음료수 대신 5% 알콜(99% ethanol, James Burrough(F.A.D) Ltd., U. K.)을 사용하였다.<sup>18)</sup>

**실험동물-體重**이 120~138g인 건강한 雄性흰쥐(Sprague-Dawley 系統)를 사용하였다. 실험시작 1週전부터 기온 23.2±6.7°C, 습도 60.5±3.5%인 飼育場에서 飼料(三養社, 서울)와 음료수(수도물)를 자유로이 섭취할 수 있게 하였다.

**실험동물군 및 투여방법**-실험동물군은 정상대조군(A군), CCl<sub>4</sub> 단독투여군(B군), CCl<sub>4</sub> 투여 후 土龍(LS\*) 투여군(C군)으로 나누었다. A군은 실험시작 첫날부터 2個月 동안 olive oil을 1ml/kg씩, 1週 2회(월요일, 목요일 오전 10시) 경구투여하였고 B군은 20% CCl<sub>4</sub>액(v/v, olive oil)을 1ml/kg씩 1週 2회, 2個月 동안 경구투여 후 4個月 동안 그대로 방치하였다. C군 역시 20% CCl<sub>4</sub>액을 1ml/kg씩 1週 2회, 2個月 동안 투여 후 2個月 이후부터 토롱엑기스를 6ml/kg씩 6個月까지 매일 경구투여하였다. 투여방법은 경구용 주사기를 위장 부위까지 삽입시켜 투여하는 방법을 사용하였다(Table I).

**체중변화 측정**-실험시작 첫날부터 5일 간격으로 흰쥐의 體重을 測定하여 그 변화를 보았다. 體重測定은 항상 오전 9시에 당일의 사료를 投入전에 실시하였다.

**肝臟의 重量變化 측정**-각 실험군 모두 최종 시료 투여 후 24시간이 경과한 다음 에테르로 마취시키고 屠殺하여, 즉시 肝臟의 무게를 측정하였고 體重과의 比를 계산하였다.

**혈청중 transaminase(SGOT 및 SGPT) 측정**-혈액채취 17시간 전부터 飼料를 차단시키고, 흰쥐를 에테르로 마취시킨 후 좌측 대퇴부 동맥에서 혈액 5ml를 채취하였고 실온에서 10분간 방치 후 3,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 血清中 glutamic oxaloacetic transaminase(SGOT) 및 glutamic pyruvic transaminase

**Table I**—Experimental groups and dose of CCl<sub>4</sub> and LS\*

Experimental groups	Dosage (po)		Number of animals
	CCl <sub>4</sub> (ml/kg) or LS (ml/kg)		
A. Control <sup>a)</sup>	—		30
B. CCl <sub>4</sub> <sup>a)</sup>	0.2 ml/kg (CCl <sub>4</sub> ), twice weekly for 2 months from the beginning experiment		30
C. LS after CCl <sub>4</sub> <sup>b)</sup>	6 ml/kg (LS), daily for 4 months after CCl <sub>4</sub> <sup>b)</sup>	0.2 ml/kg (CCl <sub>4</sub> ), twice weekly for the first 2 months	20

a) Animals were sacrificed after 1, 2, 3, 4, 5 and 6 months.

b) Animals were sacrificed after 3, 4, 5 and 6 months.

(po): per-oral administration

CCl<sub>4</sub> solution was prepared by dissolving in olive oil (CCl<sub>4</sub>: olive oil = 1:4) and administered at 1 ml/kg (20% CCl<sub>4</sub>) po twice weekly

\* LS was the percolated after steam distillation (120 °C, 3 hours) of earthworm (*Lamnodrilus gotai* Hatai)

(SGPT)의 活性度는 Reitman-Frankel 法<sup>14)</sup>에 의하여 측정하였으며 GOT, GPT kit (아산제약)을 사용하였다.

肝臟의 病理組織學的 變化-四鹽化 炭素 투여시의 組織病變을 관찰하기 위하여 屠殺 즉시 肝臟의 일부를 채취하고 약 10%의 중성 formalin 에 個定한 후 一률적으로 hematoxylineosin 염색을 하여 光學顯微鏡(×200, ×400)으로 細胞組織學的인 變化를 관찰하였다.

**결과 및 고찰**

흰쥐의 성장에 미치는 영향-각 실험군의 체중변화

를 관찰한 결과 Table II와 같았다. Table II는 6個月간의 측정결과를 30일 간격으로 표시한 것이고 ( )의 수치는 실험시작 첫날의 體重을 1로 하여 구한 각각의 成長率을 百分率로 환산하여 비교한 것이다 (소숫점 이하는 생략하였다.).

실험시작일을 기점으로 4個月째되는 날과 6個月째되는 날의 각 실험군간의 成長率을 비교하여 보면 대조군은 각각 101%, 121%의 체중증가를 보였으나 CCl<sub>4</sub> 투여중지 후 2個月이 지난 후에도 83%, 86%의 증가율을 나타내어 대조군에 비하여 평균체중이 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 낮아 저조한 증가현상을 보였다. 그러나 CCl<sub>4</sub> 투여 후 LS 투여군은 97%, 109%의 증가율을 나타내어 LS 투여 이후부터 대조

**Table II**—Variation of weight growth of rats treated with CCl<sub>4</sub> and LS\*

Experimental groups	Months of experiment						
	0	1	2	3	4	5	6
A. Control	133 ± 10 (0)	206 ± 15 (55)	247 ± 18 (86)	255 ± 21 (92)	268 ± 16 (101)	279 ± 23 (110)	293 ± 19 (121)
B. CCl <sub>4</sub>	135 ± 14 (0)	187 ± 21 (39)	207 ± 19# (54)	217 ± 25# (61)	246 ± 15# (83)	248 ± 27# (84)	251 ± 23# (86)
C. LS after CCl <sub>4</sub>	132 ± 16 (0)	180 ± 14 (37)	194 ± 21# (48)	238 ± 18 (81)	260 ± 23 (97)	270 ± 12 (105)	275 ± 18 (109)

(Mean ± S.D.)

· B group treated CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for 2 months in the first stage of experiment and suspended CCl<sub>4</sub> for 4 months.

· C group treated LS (6 ml/kg, daily, po) for 4 months after treated CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for the 2 months of the beginning experiment.

\* LS was the percolated after steam distillation (120 °C, 3 hours) of earthworm (*Lamnodrilus gotai* Hatai).

Significantly different from control group, #:  $p < 0.05$ .

군에는 미치지 못하나  $CCl_4$  단독투여군에 비하여는 높아 성장율이 호전되고 있음을 뚜렷하게 볼 수 있었다.

특히,  $CCl_4$  투여 후 LS 투여군의 경우는 2개월째의 평균체중만이 대조군에 비하여 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 낮았을 뿐 2개월 이후의 수치는 대조군과 유의한 차이를 나타내지 않았다.

Fig.1은 Table II의 성장율(%)을 graph로 나타낸 것이다. Fig.1에서 보는 바와 같이  $CCl_4$  단독투여군의 2개월째 성장율이 대조군에 비하여 상당히 저조하여  $CCl_4$ 는 흰쥐의 機能異常을 일으키어 正常적인 成長을 阻害하는 것으로 생각되었으며 또한 2개월간의  $CCl_4$  투여 후 LS의 투여는 현저하게 성장율을 改善시켜  $CCl_4$ 로 인한 成長障礙를 회복시키고 있음을 확인할 수 있었다.

**肝臟의 중량변화**-각 실험군의 肝臟 중량변화를 관찰한 결과 Table III와 같았다. Table III의 수치들은 肝臟의 무게를 ( )안의 흰쥐의 체중으로 나눈 비를 비교할 수치들이다.

정상군에 있어서 肝臟의 중량비는 전체 체중의 2.69~2.91%에 해당되었으나  $CCl_4$  단독투여군의 경우 대조군에 비하여 간장의 중량이 훨씬 증가하여  $CCl_4$  (0.2 ml/kg, 1주 2회) 투여 2개월째 들어서는 그 중량비가 4.13%로 유의하게 ( $p < 0.01$ ) 높았다. 그러나 3개월째를 제외하고는  $CCl_4$  투여를 중단한 후 시간이 경과할수록 대체로 간장의 중량비가 감소됨을 알 수 있었다. 한편,  $CCl_4$  투여 후 LS 투여군에 있어서도 2개월간의  $CCl_4$  투여 후 1개월간의 LS 투여에도 불구하고 역시 3.45%의 높은 중량비를 나타내어 대조군에 비하여 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 높아 차이를 나타내었으나  $CCl_4$  단독투여군의 4.27%에 비하여는 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 낮은 수치였다.

이는 2개월간의  $CCl_4$  투여로 인한 肝臟의 肥大가 LS의 1개월간 투여로 正常化되지는 않았지만  $CCl_4$  투여 후 그대로 방치한 실험군에 비하여는 그 회복이 빠른 것을 제시하여 주는 것으로 생각되며, 뿐만 아니라 LS 투여 2개월째 이후에는 그 중량비가 대체로 2.74~2.94%범위로 떨어져 정상군과 거의 유사함을 알 수 있었다.

또한  $CCl_4$  단독투여군에 있어서 주목되는 것은 2개월간의  $CCl_4$  투여시 중량비 4.13%에 비하여 2개월 이후에 투여를 중단한 3개월째 실험군은 오히려

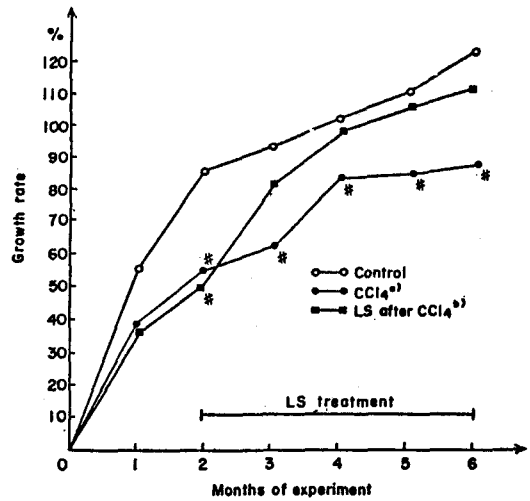


Fig. 1—Growth rate of rats treated with  $CCl_4$  and LS\*

\* LS was the percolated after steam distillation (120°C, 3 hours) of earthworm (*Lamnodrilus gotai* Hatai).

a) Animals treated with  $CCl_4$  (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for 2 months in the first stage of experiment and suspended  $CCl_4$  for 4 months.

b) Animals treated with LS (6 ml/kg, daily, po) for 4 months after treated with  $CCl_4$  (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for the 2 months of the beginning experiment.

Significantly different from control group in body weight. #;  $p < 0.05$ .

4.27% 높은 중량비를 나타내어  $CCl_4$  투여를 중단한 이후에도 어느 기간까지는 肝臟肥大 현상이 악화되고 있음을 알 수 있었다.

그러나  $CCl_4$  중단 2개월째 이후에는 서서히 그 현상이 완화되고 있음을 수치상으로 짐작할 수 있었으나 여전히 모두 정상군에 비하여는 높은 수치들이었다. Fig.2는 Table III을 도표로 표시한 것으로 각 그룹간의 肝臟 重量比 변화를 뚜렷하게 확인할 수가 있다.

$CCl_4$  투여로 인한 이와같은 肝臟肥大 현상은 Sieger 등(1986)에 의해 밝혀진 바에 의하면 흰쥐를 대상으로  $CCl_4$ 를 0.2 ml/kg(1주 2회) 농도로 경구투여 시켰을 때 肝臟내의 triglyceride 증가로 인하여 肝臟肥大 현상이 나타난다고 보고한<sup>13)</sup> 결과와 일치하는 것이었고 Judah(1969)는  $CCl_4$ 가 脂肪肝을 형성한 이후에 mitochondria에 變化를 일으킨다고 하였다.<sup>15)</sup>

**Table III**—Effect of LS\* on the changes of ratio of liver weight over body weight of rats treated with CCl<sub>4</sub> and LS\*

Unit: %

( ) : body weight (g)

Experimental groups	Months of experiment					
	1	2	3	4	5	6
A. Control	2.77 ± 0.10 (185 ± 7)	2.69 ± 0.07 (225 ± 15)	2.74 ± 0.28 (263 ± 12)	2.91 ± 0.12 (286 ± 23)	2.73 ± 0.27 (302 ± 17)	2.86 ± 0.34 (311 ± 22)
B. CCl <sub>4</sub>	2.95 ± 0.21 (177 ± 13)	4.13 ± 0.28 <sup>b</sup> (214 ± 19)	4.27 ± 0.32 <sup>b</sup> (251 ± 26)	3.98 ± 0.15 <sup>a</sup> (273 ± 21)	3.55 ± 0.19 <sup>a</sup> (275 ± 19)	3.27 ± 0.18 <sup>a</sup> (274 ± 13)
C. LS after CCl <sub>4</sub>	—	—	3.45 ± 0.28 <sup>a#</sup> (253 ± 27)	2.94 ± 0.12 <sup>#</sup> (284 ± 21)	2.87 ± 0.29 <sup>#</sup> (291 ± 16)	2.74 ± 0.15 (295 ± 18)

(Mean ± S.D.)

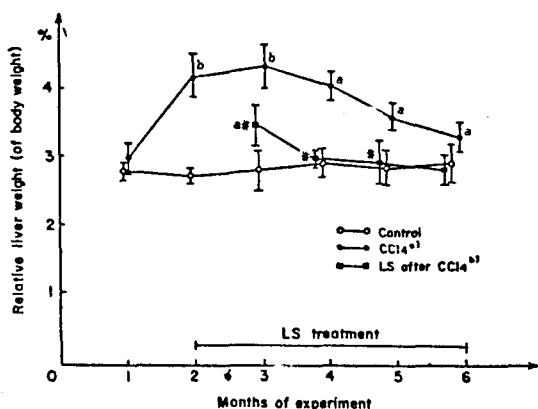
· B group treated CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for 2 months in the first stage of experiment and suspended CCl<sub>4</sub> for 4 months.

· C group treated LS (6 ml/kg, daily, po) for 4 months after treated CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for the 2 months of the beginning experiment.

\* LS was the percolated after steam distillation (120 °C, 3 hours) of earthworm (*Lamnodrilus gotai* Hatai)

Significantly different from control group, a; p<0.05, b; p<0.01.

Significantly different from CCl<sub>4</sub> only treated group, #: p<0.05.



**Fig. 2**—Changes of ratio of liver weight over body weight of rats treated with CCl<sub>4</sub> and LS\*.

\* LS was the percolated after steam distillation (120 °C, 3 hours) of earthworm (*Lamnodrilus gotai* Hatai).

a) Animals treated with CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for 2 months in the first stage of experiment and suspended CCl<sub>4</sub> for 4 months.

b) Animals treated with LS (6 ml/kg, daily, po) for 4 months after treated with CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for the 2 months of the beginning experiment.

Each value is the mean ± S.D.

Significantly different from control group, a; p<0.05, b; p<0.01.

Significantly different from CCl<sub>4</sub> only treated group, #: p<0.05.

한편, CCl<sub>4</sub>의 급성독성 실험에서 차과李(1987)는 흰쥐를 대상으로 CCl<sub>4</sub> (50% v/v, 1ml/kg, 복강주사)를 3일(1일 1회)간 투여하였을 때 肝臟내의 triglyceride, cholesterol 및 total lipid의 현저한 축적이 유발되는 것으로 보고하였으며,<sup>16)</sup> Ferreyra 등(1974)의 연구결과에 의하면 5ml/kg CCl<sub>4</sub> 용량으로 흰쥐에 1회 복강주사시 현저한 肝臟의 중량 증가를 나타낸다고 하였다.<sup>17)</sup>

이와같은 앞선 연구결과들과 본 연구결과를 비교하여 볼 때 肝臟의 중량이 증가하는 것은 CCl<sub>4</sub>의 투여로 인하여 肝臟내의 triglyceride, cholesterol 및 total lipid 등의 축적이 유발되어 脂肪肝을 형성하여 肝臟肥大 현상을 나타낸 것으로 생각되었다.

**혈청중 transaminase 활성도의 변화**—각 실험군 간의 GOT, GPT 측정결과는 Table IV와 같았다. CCl<sub>4</sub> 단독투여군의 GOT, GPT 치가 대조군의 경우보다 유의성 있게 높아 CCl<sub>4</sub> 투여 2개월째에 들어서는 GOT의 수치가 537±12.4 unit로서 대조군의 수치 109±9.1 unit에 비하여 유의하게 (p<0.001) 높았으며 GPT 수치의 경우도 CCl<sub>4</sub> 단독투여군에 있어 498±17.9 unit를 나타내어 대조군의 79±13.1에 비하여 역시 유의성 있게 (p<0.001) 높았다.

그러나 CCl<sub>4</sub> 단독투여군에 있어 2개월 이후의 GOT, GPT 수치는 대체로 저하하고 있었으며 그

Table IV—Effect of LS\* on the increment serum GOT and GPT Activities of rats induced by CCl<sub>4</sub>

Experimental groups	Months of experiment					Karmen unit
	1	2	3	4	5	
A. Control	101 ± 5.7	109 ± 9.1	105 ± 7.2	92 ± 4.7	97 ± 8.3	115 ± 10.1
	76 ± 5.2	79 ± 13.1	51 ± 4.1	59 ± 4.1	64 ± 8.5	49 ± 13.7
B. CCl <sub>4</sub>	119 ± 4.3	537 ± 12.4 <sup>c</sup>	248 ± 28.5 <sup>b</sup>	156 ± 13.2 <sup>b</sup>	117 ± 16.2	129 ± 21.4
	125 ± 9.7 <sup>a</sup>	498 ± 17.9 <sup>c</sup>	164 ± 12.3 <sup>c</sup>	89 ± 22.6 <sup>a</sup>	87 ± 19.1 <sup>a</sup>	92 ± 20.6 <sup>b</sup>
C. LS after CCl <sub>4</sub>	—	—	115 ± 11.9 <sup>#</sup>	109 ± 17.8 <sup>#</sup>	106 ± 5.3	119 ± 12.7
	—	—	85 ± 15.5 <sup>a##</sup>	51 ± 18.2 <sup>#</sup>	55 ± 13.4 <sup>#</sup>	50 ± 22.7 <sup>#</sup>

(Mean ± S.D.)

· B group treated CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for 2 months in the first stage of experiment and suspended CCl<sub>4</sub> for 4 months.

· C group treated LS (6 ml/kg, daily, po) for 4 months after treated CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for the 2 months of the beginning experiment.

\* LS was the percolated after steam distillation (120 °C, 3 hours) of earthworm (*Lamnodrilus gotai* Hatai)

Significantly different from control group, a: p < 0.05, b: p < 0.01.

Significantly different from CCl<sub>4</sub> only treated group, #: p < 0.05, ##: p < 0.01.

저하폭은 2개월과 3개월 사이가 가장 컸고 CCl<sub>4</sub> 투약중지로 인하여 매개월마다 GOT, GPT 酵素障得가 계속적으로 저하하고 있음을 알 수 있었다. 한편 CCl<sub>4</sub> 단독투여군의 GOT, GPT 수치가 기간에 따라 계속적으로 저하 하였으나 대조군에 비하여는 여전히 높은 수치였고 CCl<sub>4</sub> 투여 후 LS 투여군보다는 수치의 저하가 기간적으로 늦었으며 또한 수치도 유의성 있게 높았다. 즉 CCl<sub>4</sub> 투여 후 LS 투여군의 경우 3개월째의 GPT 수치에 있어서 대조군에 비하여 높은 수치를 나타내었으나 CCl<sub>4</sub> 단독투여군의 164 ± 12.3 unit 에 비하여는 유의성 있게 (p < 0.01) 낮은 수치인 95 ± 14.6 unit 를 나타내어 2개월간의 CCl<sub>4</sub> 투여 후 1개월간을 그대로 방치한 CCl<sub>4</sub> 단독투여군에 비하여 1개월간의 LS 투여가 CCl<sub>4</sub>로 인한 혈청 GPT 酵素障得를 改善시킨 것으로 생각되었다.

CCl<sub>4</sub> 투여 후 LS 투여군의 3개월째 이후 실험군의 GOT, GPT 수치는 정상군과 유의한 차이가 전혀없이 거의 동일한 수치를 나타내어 LS의 2개월 투여가 CCl<sub>4</sub>로 인한 GOT, GPT의 酵素障得를 회복시킨 것을 알 수 있었다.

한편, GPT 효소는 肝臟에 가장 많이 존재하는 酵素로서 肝損傷의 여부를 가장 확실하게 확인할 수 있는 酵素이며 CCl<sub>4</sub> 투여 후 LS 투여군의 유의한 SGPT 수치 改善效果는 의미가 크다고 하겠다.

Christie 와 Judah(1954)에 의하면 CCl<sub>4</sub>가 細胞膜에 영향을 미쳐 mitochondria의 透過性を變化시켜 Krebs Cycle에서의 酵素活性을 저해한다고 하였으며,<sup>18)</sup> Siegers 등(1986)은 흰쥐를 대상으로 CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, 1주 1회)를 경구투여 하였을 때 4주내에 肝臟내의 triglyceride 농도증가와 함께 SGPT와 SDH 등의 酵素活性度の 상승도 동시에 관찰되었다고 보고하고 있다.<sup>13)</sup>

따라서 본 연구에서도 0.2 ml/kg(1주 2회) CCl<sub>4</sub> 투여로 앞선 연구결과와 기간적인 차이는 있었으나 Krebs Cycle에서의 酵素活性 저해로 인한 GOT, GPT 수치상승이 나타남을 확인할 수 있었고 LS의 투여가 그 酵素活性 저해를 改善시키고 있음을 알 수 있었다.

肝臟의 病理組織學的 變化-2개월간의 CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, 1주 2회) 투여 후 LS (6 ml/kg, 매일)를 투여하므로 흰쥐의 肝臟組織 病變에 미치는 改善效果를 관찰하고자 대조군 및 CCl<sub>4</sub> 단독투여군과 肝臟組織의 光學顯微鏡的 所見을 비교한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다. Table V에서 보는 바와 같이 대조군은 세포질에 균등한 好鹽基性顆粒質이 충전되어 있고 門脈部位의 정렬된 세포들은 또렷하게 볼 수 있으며 核은 정상적인 구조를 갖추고 있었다 (Fig.3-1). 그러나 CCl<sub>4</sub> 단독투여군에 있어 CCl<sub>4</sub> 투여 1개월째부터 脂肪變性和 壞死 현상이 나타나기

**Table V**—Effect of LS\* on Liver Tissue Injury induced by CCl<sub>4</sub> in Rats (× 200, × 400)

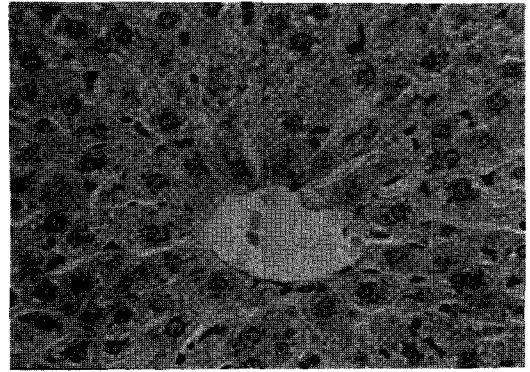
Experimental groups	L.M. Observation			
	Fatty Change	Necrosis	Fibrosis	Regeneration
Control	-	-	-	-
1 months B. CCl <sub>4</sub>	++	+	-	+
2 months B. CCl <sub>4</sub>	+++	++	+	+
3 months B. CCl <sub>4</sub>	+++	+++	+	+
C. LS after CCl <sub>4</sub>	++	+	-	++
4 months B. CCl <sub>4</sub>	++	++	+	++
C. LS after CCl <sub>4</sub>	+	-	-	+
5 months B. CCl <sub>4</sub>	++	+	-	++
C. LS after CCl <sub>4</sub>	-	-	-	+
6 months B. CCl <sub>4</sub>	++	+	-	++
C. LS after CCl <sub>4</sub>	-	-	-	+

- : normal                      ++ : severe change  
 + : moderate change        +++ : more severe change

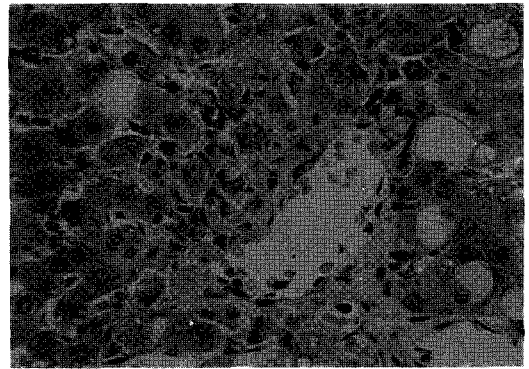
· B group treated CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for 2 months in the first stage of experiment and suspended CCl<sub>4</sub> for 4 months.

· C group treated LS (6 ml/kg, daily, po) for 4 months after treated CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for the 2 months of the beginning experiment.

\* LS was the percolated after direct steam distillation of earthworm (*Lamnodrilus gotai* Hatai).



**Fig. 3-1**—Microphotograph of the liver from control rat (×400); The picture shows normal central vein.

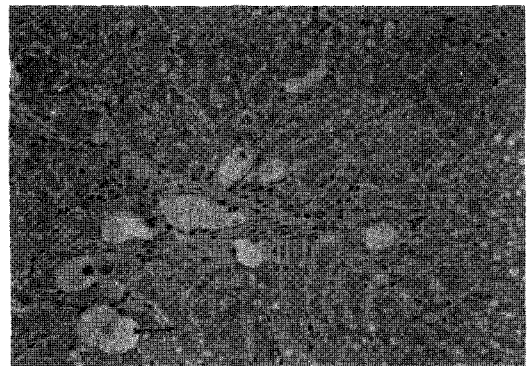


**Fig. 3-2**—Microphotograph of the liver from a rat treated with CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for 1 month (× 400); The picture shows macro fatty change and necrosis.

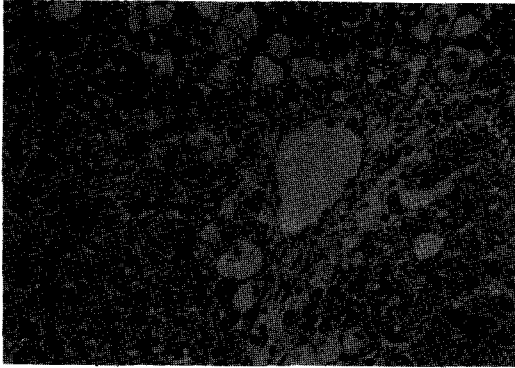
시작하여 (Fig.3-2) 2개월째 들어서는 病變이 진진 되어 細胞의 纖維化 현상도 관찰되었다 (Fig.3-3).

한편, CCl<sub>4</sub> 단독투여군의 경우 2개월간의 CCl<sub>4</sub> 투여 후 그대로 1개월간 방치한 3개월째 실험군의 病變이 CCl<sub>4</sub> 투여를 중단했음에도 불구하고 炎症細胞의 浸潤과 壞死가 진진되고 있었고 (Fig.3-4) 5개월째 들어서는 脂肪變性이나 肝細胞壞死 및 纖維化 현상 등이 줄어들면서 再生細胞들의 흔적이 관찰되었다 (Fig.3-5).

2개월간의 CCl<sub>4</sub> 투여 후 LS를 투여한 실험군에서는 LS 투여 2개월째부터 CCl<sub>4</sub> 단독투여군에 비하여 현저한 脂肪變性的 減少와 細胞壞死的 흔적의 약간 남아 있을 정도로 改善效果를 보였다 (Fig.3-6). 또한 6개월째의 所見結果를 살펴보면 再生細胞



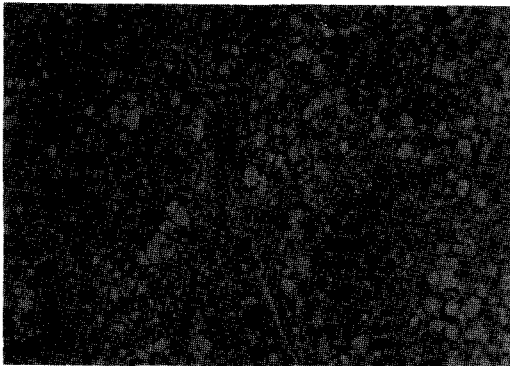
**Fig. 3-3**—Microphotograph of the liver from a rat treated with CCl<sub>4</sub> (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for 2 months (×200); The picture shows developed macro fatty change, necrosis and fibrosis.



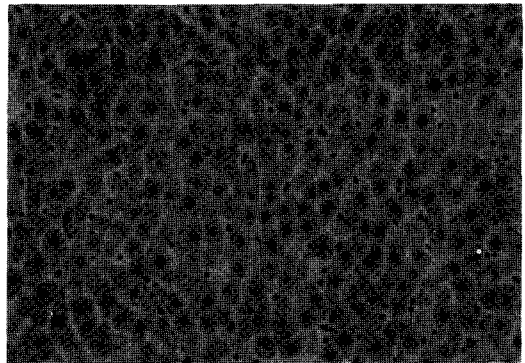
**Fig. 3-4**—Microphotograph of the liver from a rat treated with  $\text{CCl}_4$  (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for 2 months in the first stage of experiment and suspended  $\text{CCl}_4$  for 1 month ( $\times 200$ ); The picture shows more developed fatty change, necrosis, fibrosis and infiltration of inflammatory cell.



**Fig. 3-6**—Microphotograph of the liver from a rat treated with LS (6 ml/kg, daily, po) for 2 months after treated with  $\text{CCl}_4$  (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for the 2 months of the beginning experiment ( $\times 200$ ); The picture shows mild fatty change and regeneration.



**Fig. 3-5**—Microphotograph of the liver from a rat treated with  $\text{CCl}_4$  (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for 2 months in the first stage of experiment and suspended  $\text{CCl}_4$  for 3 months ( $\times 200$ ); The picture shows relieved macro fatty change with thin fibrosis.



**Fig. 3-7**—Microphotograph of the liver from a rat treated with LS (6 ml/kg, daily, po) for 4 months after treated with  $\text{CCl}_4$  (0.2 ml/kg, twice weekly, po) for the 2 months of the beginning experiment ( $\times 200$ ); The picture shows mild regeneration only.

들의 흔적만이 관찰될 뿐 지방변성 등의 조직병변이 관찰되지 않았다 (Fig.3-7). 따라서  $\text{CCl}_4$  투여로 인한 肝組織病變이 LS의 투여로 改善된다는 것을 알 수 있었다.

Zimmerman(1978)에 의하면  $\text{CCl}_4$ 는 脂肪肝을 형성하고 肝細胞 壞死를 유발시키는 것으로 보고하였으며<sup>19)</sup> Ferreyra 등(1974)은  $\text{CCl}_4$ 에 의한 脂肪肝 형성과 肝細胞 壞死가 cysteine의 투여로 예방되었다고 하였으며 肝臟肥大 현상도 현저하게 改善되는 것으로 보고하였다.<sup>17)</sup>

이와같은 앞선 연구결과들을 살펴볼 때 LS 투여군의 肝臟肥大 저하효과, SGOT, SGPT 酵素障礙 改善 및 組織病變 改善效果 등을 감안하여  $\text{CCl}_4$ 로 인한 肝臟障礙 改善效果는 鄭 등(1987)의 한국產 土龍(*Lamnodrilus gotai* Hatai)을 대상으로한 아미노산 분석결과 phenylalanine(10.53 mg/g)을 비롯한 여러가지 필수아미노산들이 고루 함유되어 있는 것으로 보고된 결과와 연관시켜 볼 때 아마도 LS의 다양한 아미노산 성분에 기인한 것이 아닌가 추측되어진다.





- Prevention and treatment of carbon tetrachloride hepatotoxicity by cysteine: Studies about its mechanism. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **27**, 558 (1974).
- 18) Christie, G.S., and Judah, J.D.: Mechanism of action of carbon tetrachloride on liver cells. *Proc. Roy. Soc. Ser. B*, 142, 241 (1954).
- 19) Zimmerman, H.L.: Hepatotoxicity. Appleton-Century-Crofts, New York (1978).