

香砂六君子湯의 Indomethacin 유발 위점막 손상에 대한 효과

공경환, 백태현

상지대학교 한의과대학 내과학교실

The Effects of Hyangsayukgunja-tang Extract on Indomethacin-Induced Gastric Mucosal Lesions

Kyung-Hwan Kong, Tae-Hyun Baik

Department of Internal Medicine, College of Oriental medicine, Sangji University

Objective: This study was carried out to investigate the effects of Hyangsayukgunja-tang extract on indomethacin-induced gastric mucosal lesions of mice.

Methods: To evaluate the effects of Hyangsayukgunja-tang extract and Misoprostol, the morphology of gastric mucosa, and the distribution of mucose cells, PNA(Peanut Agglutinin), ICAM(intercellular adhesion molecule), and apoptotic cells were observed.

Hyangsayukgunja-tang extract and Misoprostol were intragastric injected to the test groups at hour 72 before and just before indomethacin treatment(HYT-J, HYT-72, M-J, M-72), while the INDO group was injected only with indomethacin and the control group was subcutaneously injected only with saline.

Results: The gastric mucosal lesions increased in the fundus and body of INDO group, but softened in HYT group and M group, the effects were more excellent in the HYT-72, M-72 groups than the HYT-J, M-J groups and in the HYT group than M group. The disappearance of surface and neck mucose cells were shown in INDO group, but softened in HYT group and M group. The mucosal configuration of HYT-72 group was the same as control group. The numerical increase of PNA positive reaction in cytoplasm of perietal cells were appeared in INDO group. The PNA positive reaction in HYT group and Miso-group were shown in surface mucous cells and microvilli of apical surface in chief cells as control group, and were the same as control group in all mucosa of HYT-72 group. The distribution of ICAM positive cells, increased in INDO group, but decreased in M-72 group, and were the same as control group in HYT-72 group. The apoptotic cells, increased noticeably in gastric mucosa of INDO group, decreased in HYT group and M group, and decreased noticeably in HYT-72 group.

Conclusions: Hyangsayukgunja-tang extract had excellent effects on indomethacin-induced gastric mucosal lesions.

Key Word: Hyangsayukgunja-tang extract, Misoprostol, indomethacin, gastric mucosal lesions, morphology of gastric mucosa, PNA(Peanut Agglutinin), ICAM(intercellular adhesion molecule), apoptotic cells

I. 緒 論

소화성궤양이란 위산과 Pepsin에 의해 소화관의 점막, 점막하조직 및 근육층까지 침범되는 국한된 조직의 손실을 의미한다¹.

소화성궤양은 우리나라에서는 정확한

통계는 없으나 다소 증가 추세에 있고, 미국의 경우 평생을 통해 남자의 10%, 여자의 4%가 소화성궤양에 이환되며, 유병률이 1~2%인 질환이며², 상복부의 동통과 속쓰림, 신트림, 헛배부름, 구역, 구토 등의 임상증상이 나타나는데³, 한의학적으로는 대표적으로 胃脘痛의

질병범주에 속하며 心下痛, 吐酸, 痞滿, 嘈雜, 噯氣 등의 病證과 유사하다^{3,4,5,6,7}.

이러한 질병범주에 속하는 소화성궤양의 辨證施治에 있어서 肝胃不和型, 脾胃氣虛型, 脾胃虛寒型, 脾胃陰虛型, 瘀血阻滯型, 鬱熱型 등이 주된 辨證類型이며 이러한 변증을 근거로 각각 疏肝理氣法, 補氣健脾法, 溫中益氣法, 養陰益胃法, 活血化瘀法, 泄熱和胃法 등의 治法을 활용한다고 최근 소화성궤양에 대한 한의학

접수: 2001년 10월 4일 채택: 2001년 12월 20일

교신저자: 공경환 (강원도 원주시 우산동 283번지 상지대학교 부속한방병원 내과, 전화: 0033-741-9382, E-mail: kohl24@hanmail.net)

적인 여러 연구에서 제시하고 있다^{4,5,6,7,8}.

이러한 소화성궤양에 활용되는 처방은 다양한데 특히 脾胃氣虛證의 소화성궤양일 경우 香砂六君子湯을 활용하는데, 香砂六君子湯은 脾胃氣虛證에 痰濕을 겸하였을 때 사용하는 六君子湯에 行氣之劑를 加한 처방으로 脾胃氣虛에 中焦痰濕으로 인한 脘腹脹滿, 納呆, 氣, 嘔吐, 泄瀉 등의 증상이 있을 때 주로 사용한다^{9,10,11}.

서양의학에서 소화성궤양의 내과적 치료방법에는 안정요법, 식이요법, 약물요법이 있으며 약물요법은 공격인자 억제제와 방어인자 증강제를 사용하는데¹² Misoprostol은 Prostaglandin 제제로 공격인자와 방어인자에 모두 관여하여 소화성궤양의 치료나 예방에 효과적인 것으로 보고되고 있다^{13,14,15,16}.

이에 저자는 소화성궤양의 치료와 예방에 효과가 있는 것으로 보고되는 Misoprostol과 補氣健脾 및 理氣化痰하는 扶正祛邪의 效果로 소화성궤양의 치료와 예방에 효과가 있을 것으로 사료되는 香砂六君子湯을 Indomethacin으로 위점막 손상이 유발된 생쥐에 사전 투여하여, 香砂六君子湯의 소화성궤양에 대한 치료와 예방효과를 알아보기 위해 위조직의 일반적인 형태, 위점막 분비세포의 변화, 복합당질인 PNA 분포, 세포유착인자인 ICAM 분포, 그리고 apoptotic 세포의 분포 변화를 중심으로 관찰한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 실험동물

대한실험동물센터에서 분양 받은 태령 4주된 ICR계 수컷 생쥐를 무균사육

장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중 30g된 생쥐를 선별하여 사용하였으며, 생리식염수를 피하주사한 대조군, indomethacin을 주사한 indomethacin처리군(이하 INDO군), Misoprostol 투여 후 indomethacin주사군(이하 MISO군), 香砂六君子湯 추출물 투여 후 indomethacin주사군(이하 HYT군)으로 나누었다. MISO군과 HYT군은 다시 indomethacin 주사전 72시간과 직전으로 세분시켰고 각군에 7마리씩 배정하였다.

2. Indomethacin의 주사

급성 위점막 손상을 유도하기 위해 indomethacin (Sigma, USA)을 사용하였다. 주사액은 750mg의 Indomethacin을 0.9% NaCl이 포함된 0.2M NaOH - 80% Ethyl alcohol 용액 100 ml에 녹여 제조하였고, INDO군, MISO군 그리고 HYT군에 3.3 ml/kg (indomethacin 25mg/kg)용량으로 오른쪽 복부에 피하주사하였다.

3. Misoprostol의 투여

Misoprostol(Cytotec, Searle Korea)

를 생리식염수에 희석시킨 다음 40µg/kg 용량으로 구강투여(intraga-strict administration) 하였다.

4. 香砂六君子湯의 약재와 추출액의 제조와 투여

1) 약재

본 실험에 이용한 한약재는 東醫寶鑑 雜病篇 內傷門¹⁷에 수록된 香砂六君子湯의 처방에 따른 구성약물로서 시중에서 구입하여 엄선된 약재만을 선택하여 사용하였다(Table 1).

2) 추출액의 제조와 투여

香砂六君子湯(Hyangsayukgunja-tang: HYT) 2첩을 증류수 500ml에 넣고 2시간동안 煎湯한 후에 여과하였다. 그 여과액을 rotary evaporator를 이용하여 감압농축한 다음 동결건조시켜 21.6g의 추출물을 얻었다. HYT 추출물을 생리식염수에 희석한 후 HYT군에 급성 위점막손상 유발 직전 그리고 72시간 전에 0.36g/kg 용량으로 구강투여 하였다.

5. 위조직 표본의 제작

Indomethacin 처리 후 6시간이 경과

Table 1. The Amount and Composition of Hyangsayukgunja-tang (HYT) extract

Herbal Name	Scientific Name	Units(g)
香附子	Cyperi rhizoma	4
白朮	Atractylodis	4
白茯苓	Hoelen	4
半夏	Pinelliae rhizoma	4
陳皮	Aurantii nobilis pericarpium	4
白豆蔻	Amomi rotundus fructus	4
厚朴	Magnoliae cortex	4
砂仁	Amomi semen	2
人蔘	Ginseng radix	2
木香	Aucklandiae radix	2
益智仁	Alpiniae oxyphylliae fructus	2
甘草	Glycyrrhizae radix	2
生薑	Zingiberis rhizoma recens	4
大棗	Jujubae fructus	4
	Total Amount	46

되었을 때 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 위조직을 적출하여 바닥(fundus), 들문(cardiac part), 몸통(body) 그리고 날문(pyloric part)의 4 부분으로 구분한 후 실온에서 24시간동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 μ m 두께의 연속절편으로 제작되었다.

6. 위조직내 형태 변화의 관찰

1) 일반적인 형태변화 관찰

Misoprostol과 HYT 추출물의 위점막(gastric mucosa) 손상 보호효과를 비교·조사하기 위해 각 군 위조직의 일반적인 형태변화를 관찰하였다. 제작된 5 μ m 두께의 연속절편을 hematoxylin과 eosin에 염색한 후 광학현미경(BX. Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 이러한 출혈성 경색부위에서 혈액세포의 분포 변화를 조사하기 위해서 Wright stain (Sigma) 용액에서 20분 동안 염색하였다. 또한 점막하층에서 염증관세포의 이주에 관여하는 비만세포(mast cell)의 변화를 조사하기 위해서 aldehyde fuchsin (Sigma)에 30분간 염색한 다음 Weigert's iron hematoxylin과 methyl orange solution (Sigma)에 각각 1분, 5분동안 대조염색하는 Luna's method를 실시하였다.

2) 위점액 분비세포의 분포 변화 관찰

위산에 의한 자가분해(autolysis) 방벽작용을 하는 위점액 분비세포(mucus-secreting cell)의 변화에 미치는 Misoprostol과 HYT 추출물의 효과를

비교하기 위해 위점액 분비세포의 분포를 관찰하였다. 위점액 분비세포 중 중성점액질(neutral mucin)을 분비하는 표면점액세포(surface mucous cell)의 분포 변화를 조사하기 위해서 periodic acid-schiff reaction (PAS) stain를 실시하였는데 우선 periodic acid (Sigma)에서 5분간 반응시킨 후 Schiff reagent에서 15분 동안 처리하였다. 그런 다음 sulfurous rinse에서 각 2분씩 3회 세척한 후 Hematoxylin에서 1분 동안 대조염색하였다. 염색된 절편은 광학현미경으로 관찰되었다. 한편 산성점액질(acid mucin)을 분비하는 목점액세포(neck mucous cell)의 분포 변화를 조사하기 위해 alcian blue method (pH 2.5)를 실시하였다. alcian blue solution에 30분간 염색한 다음 nuclear fast red solution에서 5분 동안 대조염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

3) 복합당질의 분포 변화 관찰

복합당질(glycoconjugate)의 하나인 Peanut Agglutinin(PNA : Sigma)의 Misoprostol과 HYT 추출물에 의한 위점막내 분포 변화를 조사하기 위해 lectin을 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 조직을 실온에서 1% bovine serum albumin(BSA : Sigma)에 30분간 처리한 다음 1:100으로 희석된 biotinylated anti PNA (Sigma)에 4 $^{\circ}$ C incubation chamber내에서 24시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 avidin biotin complex(ABC : Vector Lab, USA)에 1시간동안 실온에서 반응시킨 후 0.0125% 3,3'-diaminobenzidine (DAB : Sigma)과 0.01% Hydrogen peroxide가 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH7.4)에서 발색시킨 후,

hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. Lectin 반응의 강도는 -(음성; negative), +(약한 양성; weak), ++(중간 정도의 양성; moderate) 그리고 +++(강한 양성; strong) 등으로 표시하였다.

4) ICAM 분포 변화 관찰

조직내 세포의 이주(migration)에 관여하는 세포부착분자(intercellular adhesion molecule : ICAM)의 분포 변화를 관찰하기 위해 ICAM-1 단클론 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 0.05% pepsin이 포함된 0.01N HCl 용액(pH2.0)에 5분 동안의 proteolysis과정을 거친 후 1 : 20으로 희석된 normal goat serum (DAKO : Denmark)에 1시간동안 반응시킨 다음 1 : 100으로 희석된 1차 항체인 hamster anti-mouse CD54(Serotec : UK)에 4 $^{\circ}$ C incubation chamber 내에서 24시간동안 반응시켰다. 그리고 1 : 100으로 희석된 2차 항체인 biotinylated goat anti-hamster IgG (DAKO, Denmark)에 4시간동안 반응시킨 후 ABC에 1시간 반응시켰다. 통상적인 방법으로 DAB로 발색하고 Hematoxylin에 대조염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

5) Apoptotic 세포의 분포 변화 관찰

조직내 apoptotic 세포의 분포 변화를 조사하기 위해서 in situ apoptosis detection kit (Apoptag : USA)를 이용하였다. 위조직의 절편을 proteinase K(20 μ g/ml : DAKO)에 15분동안 반응시켜 proteolysis한 다음 equilibration buffer에서 20초간 처리하였다. 그런 다음 strength TdT enzyme(36 μ l TdT enzyme : 72 μ l reaction buffer)를 처

리하여 37℃의 humidified chamber에서 1시간동안 반응시킨 후 strength stop/wash buffer에서 10분 정도 처리하였다.

Anti-digoxigenin-peroxidase에 1시간 반응시킨 후 0.05% DAB에 처리하였다. Methyl green으로 대조염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

7. 영상분석과 통계처리

ICAM과 apoptotic 세포의 분포 변화의 수치화를 위해 Optimas 5.2 (Optima. USA)를 이용한 영상분석을 실시하였다. 영상분석 결과는 Sigma Plot 4.0 (Sigma)을 통한 student T test로 유의성을 검증하였다.

III. 治療經過

1. 위조직의 일반적인 형태변화

생리식염수를 피하주사한 대조군은 정상적인 위점막 형태로 관찰되었다 (Fig. 1). INDO군은 indomethacin에 의한 위점막 손상으로 출혈성 경색 (hemorrhage infarct)과 침식(erosion)이 위몸통과 날문부위에서 극심하게 나타났다. 우선 표면점액세포(surface mucous cell)와 목점액세포(neck mucous cell)의 파괴와 그에 따른 점막 위오목(gastric pit)의 유실이 내강쪽 위점막 (apical surface in gastric mucosa)에서 관찰되었다(Fig. 2). 고유판(lamina propria)내 표층모세혈관망(superficial capillary network) 손실로 인한 적혈구의 울혈(congestion)도 일부지역에서 나타났고(Fig. 9), 그 주변에는 호중구(neutrocyte)를 비롯한 백혈구(leucocytes)의 침윤(infiltration)도 증가되었다(Fig. 3). 그리고 일부에서는 위궤양(gastric ulcer)도 관찰되었



Fig. 1. The normal morphology of gastric mucosa in mice subcutaneously injected with saline. Ms : surface mucous cells, Mn, neck mucous cells; Pc, perietal cells; Cc, chief cells. H & E. 100

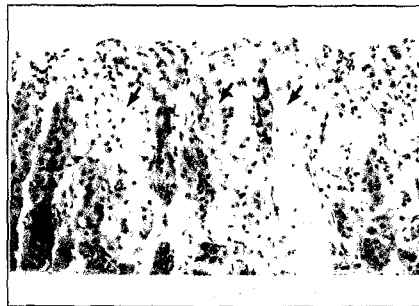


Fig. 2. The hemorrhagic erosion (arrow) in gastric mucosa of mice subcutaneously injected with indomethacin. The disappearance of surface and neck mucose cells were shown. H & E. 200

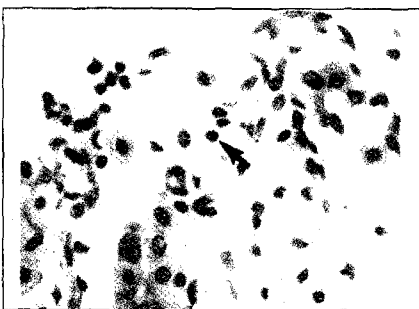


Fig. 3. The magnification of region of hemorrhagic erosion in Fig. 2. The increase of lymphocytes (arrow) was appeared. H & E. 400



Fig. 4. The gastric ulcer (asterisk) were shown in mice subcutaneously injected with indomethacin. H & E. 200

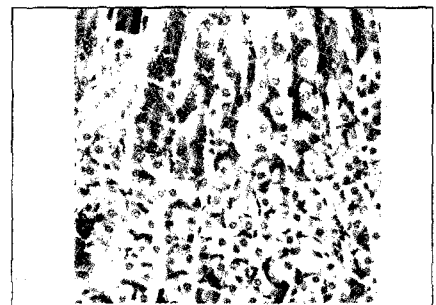


Fig. 5. The gastric mucosa of mice intragastric injected with Misoprostol just before indomethacin treatment. H & E. 200

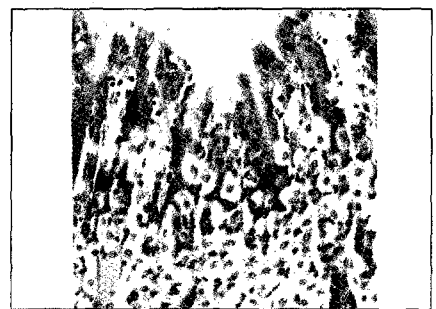


Fig. 6. The repair of hemorrhagic erosion in gastric mucosa of mice intragastric injected with HYT extract just before indomethacin treatment. The damage of mucosa in this group were softened than Misoprostol treated group. H & E. 200

다(Fig. 4). 한편 점막하층의 혈관주변에서 관찰되는 비만세포는 그 분포가 대조군에 비해 증가되었고 주로 탈과립

형태 (degranulation type)를 취하고 있었다(Fig. 10, Fig. 11). 한편 위점막 기저부에 펩시노젠 효소원 과립(zymogen granule of pepsinogen)을 포함하



Fig. 7. The morphology of gastric mucosa in mice intragastric injected with Misoprostol at hour 72 before indomethacin treatment. H & E. 200



Fig. 10. The normal distribution of mast cells (arrow) in submucosa in mice subcutaneously injected with saline. Sm, Submucosa; Me, Muscularis externa. Luna's Method. x400

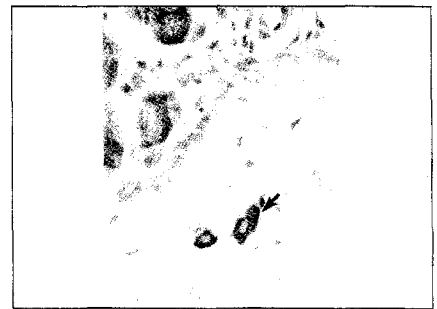


Fig. 13. The numerical decrease of mast cells in mice intragastric injected with HYT extract at hour 72 before indomethacin treatment. Luna's Method. 400

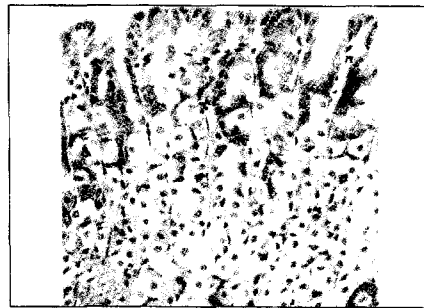


Fig. 8. The noticeable repair of hemorrhagic erosion in gastric mucosa of mice intragastric injected with HYT extract at hour 72 before indomethacin treatment. The configuration of mucosa in this group were the same as control group. H & E. 200

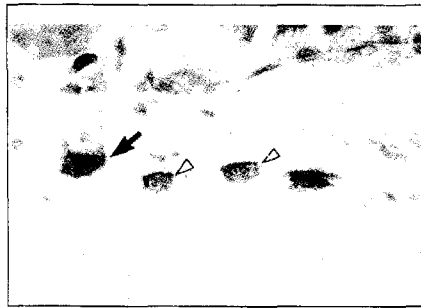


Fig. 11. The distribution of mast cells in mice subcutaneously injected with indomethacin. The increase of degranulated type mast cells (vacanted arrow head) were shown. granulated type mast cells, arrow. Luna's Method. 400



Fig. 14. The normal configuration of surface mucous cells (arrow) positive reacted by PAS stain. Light purple colored enzymogen particle were deposited in apical cytoplasm of surface mucous cells. PAS stain. 400

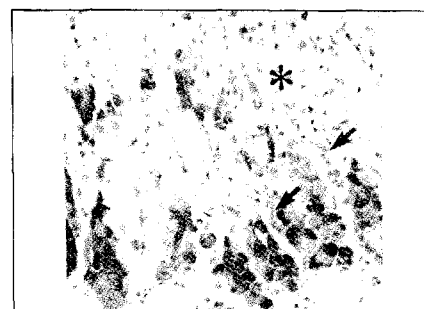


Fig. 9. The hemorrhagic erosion in gastric mucosa of mice subcutaneously injected with indomethacin. The increase of hemorrhagic erosion (asterisk) and RBC congestion (arrow) were shown. Wright's stain. 200



Fig. 12. The numerical decrease of mast cells in mice intragastric injected with Misoprostol at hour 72 before indomethacin treatment. Luna's Method. 400

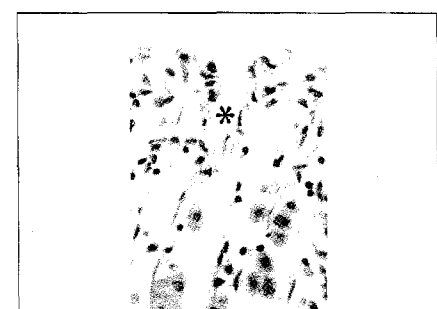


Fig. 15. The disappearance (asterisk) of configuration of PAS positive reacted surface mucous cells in mice subcutaneously injected with indomethacin. PAS stain. 400



Fig. 16. The partial repair of configuration of PAS positive reacted surface mucous cells in mice intragastric injected with Misoprostol at hour 72 before indomethacin treatment. PAS stain. 400

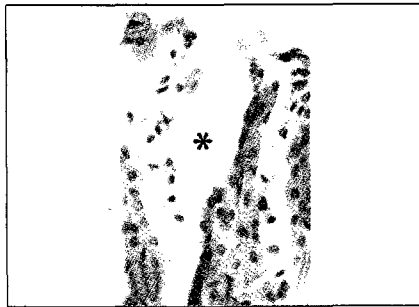


Fig. 19. The disappearance (asterisk) of configuration of Alcian blue positive reacted neck mucous cells in mice subcutaneously injected with indomethacin. Alcian blue method. 400

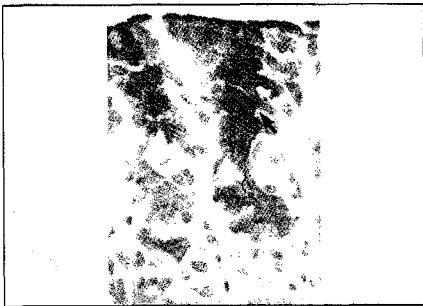


Fig. 17. The remarkable repair of configuration of PAS positive reacted surface mucous cells in mice intragastric injected with HYT extract at hour 72 before indomethacin treatment. PAS stain. 400

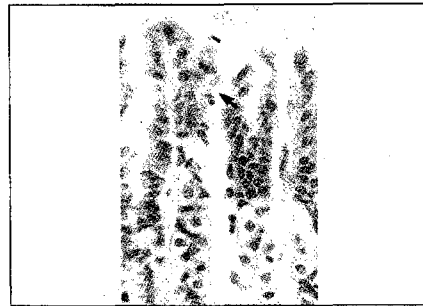


Fig. 20. The repair of configuration of Alcian blue positive reacted neck mucous cells in mice intragastric injected with Misoprostol at hour 72 before indomethacin treatment. Alcian blue method. 400

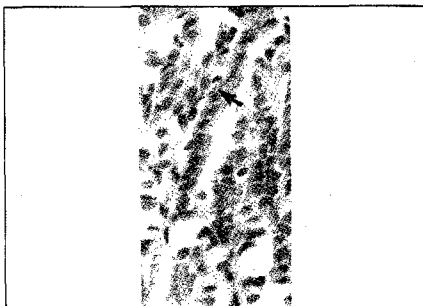


Fig. 18. The normal configuration of neck mucous cells (arrow) positive reacted by Alcian blue method. sky-blue colored acidic mucin lining neck mucous cells were shown. Alcian blue method. 400



Fig. 21. The maintain of configuration of Alcian blue positive reacted neck mucous cells in mice intragastric injected with HYT extract at hour 72 before indomethacin treatment. Alcian blue method. 400

는 주세포(chief cell)의 분포도 감소하였다.

MISO군과 HYT군에서는 사전 투여 시간에 따른 위점막 손상으로 인한 형

태적 변화가 달랐는데, 사전 투여시간이 길수록 출혈성 경색과 침식의 출현이 줄었다(Fig. 5, 6, 7, 8, 9). 그리고 MISO군보다는 HYT군에서 대조군과 유사한 정상적인 배열상태를 보였으며, 특히 香砂六君子湯 추출물 72시간 사전 투여군에서 잘 관찰되었다. 한편 MISO군과 HYT군 모두에서 적혈구 울혈이 관찰되지 않았고, 점막하층에 분포하는 비만세포의 수는 감소하였다(Fig. 12, 13) 주로 관찰된 비만세포의 형태는 과립형태(granulation type)를 취하고 있었다. 주세포의 분포 감소는 MISO군과 HYT군 모두에서 나타나지 않았다.

2. 위점액 분비세포의 변화

Indomethacin에 의한 위점액 분비세포 손상에 대한 Misoprostol과 HYT 추출물의 방어·치료효과에 대한 비교는 중성점액질을 분비하는 표면점액세포(surface mucous cell)와 산성점액질을 분비하는 목점액세포(neck mucous cell)를 각각 PAS 염색과 Alcian blue method(pH 2.5)으로 처리한 후 이루어졌다.

우선 표면점액세포를 보면, 대조군에서 PAS 양성반응을 보이는 표면점액세포는 원주형으로 자유면쪽 세포질에 중성점액질이 분포하고 있는 것으로 관찰되었다(Fig. 14). 그러나 INDO군의 위점막 손상 지역에서는 표면점액세포가 관찰되지 않았으며, 이러한 표면점액세포의 미분포지역은 위몸통 부분에서 빈번하게 나타났다(Fig. 15). MISO군과 HYT군에서는 INDO군과 다른 표면점액세포의 분포가 관찰되는데, 사전 투여 시간이 길수록 정상적인 배열상태에 가까운 형태로 나타났다(Fig. 16, 17). 또한 MISO군의 일부 지역에서는 표면점액세포의 유실이 관찰된 반면 HYT군

에서 잘 관찰되지 않았다(Fig. 17). 한편 목점액세포의 변화를 보면, 대조군에서는 위점막오목 내측 측면에서 얇은 붉은색으로 세포질이 염색된 목점액세포가 정상적으로 분포하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 18). 그리고 특히 푸른색으로 염색된 산성점액(acidic mucin)이 목점액세포의 자유면쪽에서 잘 관찰되었다(Fig. 18). 그러나 INDO군의 위점막 손상 지역에서는 목점액세포가 관찰되지 않았으며(Fig. 19), 이러한 손상 부위는 위 몸통과 날문에서 빈번하게 나타났다. MISO군과 HYT군에서는 INDO군과 달리 사전 투여시간이 길수록 목점액세포 분포가 정상적인 배열상태와 유사한 형태가 유지되는 것으로 나타났다(Fig. 20, 21). 특히 MISO군에 비해 HYT군에서 잘 관찰되었다(Fig. 21).

3. 복합당질의 분포 변화

Indomethacin에 의한 위점막내에서의 PNA 분포 변화에 미치는 Misoprostol과 HYT 추출물의 영향을 조사하였다. 먼저 대조군에서는 표면점액세포의 미세음모, 일부 벽세포의 세포질 그리고 주세포의 자유면쪽 미세음모에서 PNA 양성반응을 보였다. 그러나 INDO군에서는 주로 벽세포의 핵주변부 세포질에서만 강한 양성반응이 관찰되었다. MISO군과 HYT군은 사전 투여 시간이 길수록 대조군과 유사한 분포양상을 보였으며, 특히 주세포의 자유면쪽 미세음모에서 뚜렷한 PNA 양성반응이 나타났다. 이러한 변화는 HYT군에서 더 잘 관찰되었다(Table 2).

4. ICAM 분포 변화

Indomethacin에 의한 위점막과 점막하층에서의 ICAM 분포 증가에 대한

Table 2. The Distributional Change of PNA in HYT Extract and Misoprostol Administered Mice of Gastric Mucosa before Indomethacin Treatment

LECTIN	POSITION	GROUP					
		CON	INDO	M-J	M-72	HYT-J	HYT-72
PNA	surface mucous cell	++	-	-	+	+	++
	neck mucous cell	+	+	-	+	-	+
	parietal cell	-	+++	++	+	+	+
	chief cell	+++	+	+	++	+	+++

- : negative, + : weak, ++ : moderate, +++ : strong

PNA: Peanut Agglutinin

CON: Mice only treated with saline

INDO: Mice treated with indomethacin

M-J: Mice treated Misoprostol just before indomethacin treatment

M-72: Mice treated Misoprostol at hour 72 before indomethacin treatment

H-J: Mice treated HYT extract just before indomethacin treatment

H-72: Mice treated HYT extract at hour 72 before indomethacin treatment

Table 3. The Image Analysis of ICAM Immunohistochemistry in HYT Extract and Misoprostol Administered Mice of Gastric Mucosa before Indomethacin Treatment

Antibody	Group	Images	
		Particle(M±SD)	Intensity(M±SD)
ICAM	CON	540±32	185.1±12.2
	INDO	2374±35	180.4±14.1
	M-J	1945±51	181.5±18.9
	M-72	1290±73	183.4±21.0
	H-J	1632±46*	181.9±12.9
	H-72	1102±39*	184.1±18.6

(image analysis for 100000 particle / intensity range : 150-200)

* : P < 0.05, compared with Misoprostol treated mice

Table 4. The Image Analysis of Apoptosis in HYT Extract and Misoprostol Administered Mice of Gastric Mucosa before Indomethacin Treatment

Method	Group	Images	
		particle(M±SD)	intensity(M±SD)
TUNEL	CON	740±43	186.3±14.4
	INDO	5705±42	180.4±13.4
	M-J	3600±25	181.8±18.2
	M-72	2012±41	182.5±13.8
	H-J	2735±38*	182.1±11.4
	H-72	1443±42*	185.3±18.1

(Image analysis for 100000 particle / intensity range : 150-200)

* : P < 0.05, compared with Misoprostol treated mice

Misoprostol과 HYT 추출물이 미치는 영향을 조사하기 위해서 CD54 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 대조군에서는 CD54 양성반응세포의 분포가 극히 적었다. 그러나 INDO군에서는 CD54 양성반응세포

분포 증가가 분명하게 관찰되었다. 위점막과 점막하층의 세동맥(arteriole) 주변부에서 증가된 수의 CD54 양성반응세포를 관찰할 수 있었으며, 강한 양성반응을 보였다. 이에 반해 MISO군과 HYT군은 INDO군보다는 CD54 양성

반응세포의 분포가 감소하였고 72시간 전 투여군이 직전 투여군보다 더 감소하였으나, 그 수가 대조군보다는 약간 증가된 것으로 관찰되었다. MISO군보다는 HYT군에서 CD54 양성반응세포의 분포가 더 감소된 것으로 나타났다 (Table 3).

5. Apoptotic 세포의 분포 변화

Indomethacin에 의한 위점막에서 apoptotic 세포의 분포 증가에 대한 Misoprostol과 HYT 추출물이 미치는 영향을 조사하기 위해서 TUNEL method를 실시하였다. 대조군에서 Apoptotic 세포는 일부 표면점액세포에서 관찰되었다. 그러나 INDO군에서는 위점막손상 주변부에서 많은 수의 apoptotic 세포가 관찰되었는데, 표면점액세포에서 기저부의 일부 주세포까지 apoptosis가 일어난 것으로 관찰되었다. 이에 반해 MISO군과 HYT군은 INDO군보다는 apoptotic 세포의 분포가 감소하였고 72시간전 투여군이 직전 투여군보다 더 감소하였으나, 그 수가 대조군보다는 약간 증가된 것으로 관찰되었다. MISO군보다는 HYT군에서 apoptotic 세포의 분포가 더 감소된 것으로 나타났다(Table 4).

IV. 考 察

소화성궤양이란 위산과 Pepsin에 의해 소화관의 점막, 점막하조직 및 근육층까지 침범되는 국한된 조직의 손실을 의미하며¹, 그 호발부위는 위산이 접촉하는 부위인 위, 십이지장, 식도하단부, 위공장문합부, Meckel's diverticulum 등이다¹².

소화성궤양의 발생원인에 대해서 산-Pepsin설, 방어인자와 분비억제인자설,

위염설, 유전설, 혈관-자율신경설, 내분비관계설 등이 있으나 현재에는 위점막을 보호하는 방어인자와 궤양을 일으키는 공격인자와의 평형이 파괴되어 위산, Pepsin, Gastrin 등의 공격인자가, 점액층(mucus barrier), H⁺ 역확산의 방지, 점막세포의 재생력, 점막조직의 세포배열, 점막조직내의 미세순환, 산분비의 억제 등의 방어인자에 비해서 우위의 상태가 되었을 때 발생한다는 Shay의 원 인설이 타당한 것으로 알려지고 있다¹³.

소화성궤양에서는 상복부의 동통과 속쓰림, 신트림, 헛배부름, 구역, 구토 등의 임상증상이 나타나는데², 이러한 소화성궤양에 대하여 최근 임상적인 증후 분석을 위주로 한의학적인 질병범주와 치료에 대하여 많이 보고되고 있다.

方 등³은胃痛, 吐酸, 痞滿, 嘈雜, 噯氣 등의 病證이 소화성궤양과 유사하다고 보았고, 陳 등⁴은 소화성궤양이 임상상 상복부 동통이 주요 증상이라는 점에서胃痛, 胃脘痛, 心下痛의 질병범주에 속한다고 하였으며, 李 등⁵은胃痛, 吞酸의 질병범주에 속한다고 보았다. 또한 북경중의학원⁶에서는 소화성궤양이 상복부와 中脘部의 동통이 주요표현이며, 胃脘痛의 질병범주에 속한다고 보았고, 危 등⁷도胃痛의 범주에 속하며 吐酸, 噯氣의 病證과 유사하다고 보았다.

또한 이러한 질병범주에 속하는 소화성궤양의 辨證施治에 대하여 陳 등⁴은 肝胃不和型에 疏肝理氣法, 脾胃氣虛型에 補氣健脾法, 脾胃虛寒型에 溫中益氣法, 脾胃陰虛型은 養陰益胃法 등을 제시하였고, 이러한 치법 이외에 李 등⁵과 북경중의학원⁶에서는 瘀血停滯型에 活血化瘀法, 危 등⁷과 楊 등⁸은 鬱熱型에 泄熱和胃法에 대하여서도 제시하였다.

이러한 여러 의가들의 학설을 종합하

면 소화성궤양은 대표적으로 胃脘痛의 질병범주에 속하며 心下痛, 吐酸, 痞滿, 嘈雜, 噯氣 등의 病證과 유사하며 肝胃不和型, 脾胃氣虛型, 脾胃虛寒型, 脾胃陰虛型, 瘀血阻滯型, 鬱熱型등이 주된 辨證類型이고 각각 疏肝理氣法, 補氣健脾法, 溫中益氣法, 養陰益胃法, 活血化瘀法, 泄熱和胃法 등의 治法을 활용한다는 내용이 지배적이다.

脾胃氣虛證의 소화성궤양의 경우 임상에서 香砂六君子湯이 많이 활용하고 있는데, 香砂六君子湯은 脾胃氣虛에 痰濕을 겸하였을 때 사용하는 六君子湯에 行氣之劑를 가한 처방으로 脾胃氣虛에 中焦痰濕으로 인한 脘腹脹滿, 納呆, 氣, 嘔吐, 泄瀉 등의 증상이 있을 때 주로 사용하는데^{9,10,11}, 金¹⁸과 金 등¹⁹은 加味香砂六君子湯이 항산화 작용의 활성화와 활성산소 생성의 억제를 통하여 위점막 손상을 억제하여 위점막 손상에 대한 치료효과와 보호효과가 있음을 보고하였다.

소화성궤양의 서양의학적 치료의 목표는 증상의 완화, 궤양의 치유, 합병증 및 재발의 방지이며, 외과적 치료방법과 내과적 치료방법이 있다. 내과적 치료방법에는 안정요법, 식이요법, 약물요법이 있는데 약물요법은 공격인자억제제와 방어인자증강제를 사용하며 공격인자억제제에는 제산제와, 위산분비억제제인 항콜린제, H₂ 수용체 길항제, 항가스트린제, Prostaglandin제, Proton Pump 길항제 등이 있으며, 방어인자증강제에는 점액분비개선제와 궤양소피복제, 미세순환개선제, 세포조직보호제 등이 있다.^{12,20}

Misoprostol은 Prostaglandin제제로 위산분비 억제기전과는 별도의 기전에 의해 위점막 보호기능이 이루어지며, 위산분비를 감소시킬 뿐만 아니라,

HCO₃⁻ 분비와 점액분비를 증가시키고 아스피린과 NSAID(Nonsteroidal anti-inflammatory drug) 등에 의한 위 점막 손상을 보호함으로써 공격인자와 방어인자에 모두 관여하여 소화성궤양의 치료나 예방에 효과적인 것으로 보고되고 있다. 권 등¹³은 cysteamine과 ethanol에 의해 실험적으로 일으킨 위 궤양 발생에 대한 보호효과가 있음을 보고하였고, 함 등¹⁴은 백서의 인위적 혈액유출로 발생한 허혈성 위손상에 대한 위점막 보호효과가 있음을 보고하였으며, 한 등¹⁵과 오 등¹⁶은 각각 위궤양과 십이지장궤양 환자에 투여하여 치료효과가 있음을 보고하였다.

위궤양 유발 실험방법에는 Shay의 유문결찰법, 節食, 구속스트레스방법과 Aspirin, ethanol, cysteamine, NSAID 등의 위점막세포 손상 물질에 의한 방법이 있다^{13,14,21,22}.

Indomethacin은 NSAID의 일종이며, NASID는 위점막에 직접적인 독성을 가진다. 그리고 Prostaglandin합성을 억제하며 위점막 방어벽을 파괴하여 수소이온의 역확산이 일어나 위점막을 손상시켜 소화성궤양을 발생할 수 있다. 또한 NSAID는 점액분비를 감소시키고, 위와 십이지장의 bicarbonate분비를 감소시키고 위산분비를 증가시킨다. 점막 Prostaglandin의 결핍은 손상후 내피세포의 재건을 방해한다^{23,24,25,26}.

이에 저자는 소화성궤양의 치료와 예방에 효과가 있는 것으로 보고되는 Misoprostol과 소화성궤양의 치료와 예방에 효과가 있을 것으로 사료되는 香砂六君子湯을 Indomethacin 유발 위점막손상에 72시간전과 직전에 투여하여 香砂六君子湯의 소화성궤양에 대한 치료와 예방효과를 알아보기 위해 위조직의 일반적인 형태, 위점액분비세포의

변화, 복합당질인 PNA 분포, 세포유착인자인 ICAM 분포 그리고 apoptotic 세포의 분포 변화를 중심으로 관찰한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

INDO군에서 indomethacin 주사 후 지질과산화 함량 증가가 일어나는데, Oxygen free radical에 의한 지질과산화(lipid peroxidation)는 세포막의 polyunsaturated fatty acids를 퇴화(degrade)시켜 막구조의 붕괴를 초래함으로써 세포막을 파괴 또는 손상시키는 중요한 원인중의 하나이다^{27,28}. 세포막내 과산화는 막의 유동성(fluidity of membrane), 투과성(permeability) 그리고 구조단백질 퇴화를 촉발시켜 궁극에는 세포용해를 야기시킨다. 이미 보고에 의하면 water immersion restraint stress, burn shock, ischemiareperfusion에 의한 지질과산화가 위점막손상(gastric mucosal lesion)을 일으키는 것으로 알려져 있다²⁹. 또한 NSAID에 의한 위조직내 지질과산화의 증가는 위장의 과운동 초래로 생긴 free radical의 증가로부터 기인되는 결과이다³⁰. 그러나 HYT군은 HYT 추출액이 위조직내 free radical의 생성을 억제함으로써 위점막손상을 감소시킨다는 이전 보고^{18,19}가 있었다.

indomethacin과 같은 NSAID는 Prostaglandin을 결핍시켜 mucin과 bicarbonate 장벽 손상을 일으키는데³¹ INDON군에서 이로 인해 hemorrhagic erosion에 의한 위오목(gastric pit)의 유실이 관찰되었다. 위점막의 보호장벽의 역할을 하는 중성점액질을 분비하는 표면점액세포와 산성점액질을 분비하는 목점액분비세포 등의 위점액분비세포의 파괴는 위점막 고유층내 조직손상을 야기시키며 이런 조직손상은 점막고

유층에 존재하면서 위점막 손상의 회복에 관여하는 표층 모세혈관망의 손상을 초래하는데³², 이로 인해 INDON군에서 위점막의 적혈구 울혈이 관찰되었다. 또한 이러한 모세혈관의 손상은 reperfusion시 허혈성 조직손상을 유발하기도 한다^{33,34}. 이러한 손상부위에서는 중성호성 백혈구를 비롯한 백혈구, 대식세포, 비만세포 등의 염증관여세포들의 침윤증가도 확인되었다. 이러한 염증관여세포의 이주에는 세포유착분자(intercellular adhesion molecular; ICAM)이 관여하게 되는데³⁵, 본 실험에서도 위기저부와 점막밑조직의 세동맥주변부에서 ICAM 양성반응세포의 분포증가가 확인되었다. 또한 세포방어(cytoprotection) 작용을 하는 복합당질의 하나인 PNA는 위점막 손상에 따른 분포 지역의 변화가 발생하며 pH가 극히 낮을 때 벽세포에 대한 세포방어 효과를 가지고 있는데³⁶ 대조군에서는 표면점액세포, 목점액세포, 주세포에서 PNA 양성반응을 보이는 반면 INDON군에서는 주로 벽세포에서 강한 양성반응이 관찰되었다. 위점막 손상시 세포자기살해(apoptosis)로 인한 apoptotic 세포의 분포 증가가 일어나는데³⁷ INDON군에서 현저한 증가가 관찰되었다. 그러나 MISO군과 HYT 군에서는 사전 투여시간이 길수록 대조군과 유사한 정상적인 상태의 위점막구조를 유지하는 것으로 관찰되었다. 이는 Misoprostol과 HYT 추출액이 indomethacin 처리에 의한 prostaglandin 결핍기전을 막는 보호기전이 작동되어 방어적인 위점막 미세환경을 유지한 결과 손상이 적었던 것으로 사료된다. 즉 mucin과 bicarbonate의 원활한 분비를 통한 위점액분비세포의 유지, 점막 고유층내 표층 모세혈관망의

안정, 염증관여세포의 이주억제 등이 관찰되었다. 또한 PNA의 분포양상은 INDO군에서 벽세포에서 증가한 것과 달리 MISO군과 HYT군에서는 사전 투여시간이 길수록 표면점액세포와 주세포에서 양성반응을 보이는, 즉 대조군과 유사한 정상적인 위점막 상태가 확인되었다. 한편 대조군에서처럼 일부 표면점액세포에서 관찰되는 apoptotic 세포의 분포양상은 indomethacin에 의한 증가된 apoptosis를 완화시키는 결과이다. 특히 ICAM과 apoptotic 세포의 분포변화를 영상분석한 결과에 있어서는 MISO군에 비해 HYT군이 $P<0.05$ 의 유의한 세포분포 감소효과가 인정되어 HYT군이 MISO군에 비해 염증세포의 이주억제와 apoptosis의 완화에 더 큰 효과를 가지고 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과로 미루어 보아 香砂六君子湯은 소화성궤양의 예방과 치료에 효과가 있을 것으로 사료되며, 특히 임상에서脾胃氣虛型的 소화성궤양에 효과가 있을 것으로 기대된다.

V. 結論

香砂六君子湯의 위점막 손상에 대한 방어 및 치료효과를 연구하기 위해서 생쥐에 香砂六君子湯 추출물과 Misoprostol을 사전 투여한 후 indomethacin 주사로 출혈성 경색과 침식 등의 위점막 손상을 유발시킨 후, 위조직의 일반적인 형태, 위점액분비세포의 변화, 복합당질인 PNA 분포, 세포유착인자인 ICAM 분포 및 apoptotic 세포 분포의 변화를 관찰하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. Indomethacin 투여후 위점막손상이 위몸통과 날문부위에서 증가되었다.

그러나 香砂六君子湯 추출물과 Misoprostol 사전 투여군에서는 위점막손상이 완화된 형태로 나타났으며 사전 투여시간이 길수록 치료효과는 뛰어나았다. 또한 香砂六君子湯 추출물 투여군이 Misoprostol 투여군보다 우수한 치료효과를 얻었다.

2. 위점막에 분포하는 표면점액세포와 목점액세포는 INDO군에서는 파괴되어 사라졌으나, 香砂六君子湯 추출물과 Misoprostol 사전 투여군에서는 회복된 분포양상을 보였다. 표면점액세포질과 목점액세포질에는 각각 중성점액질과 산성점액질이 자유면쪽에 침착되어 있는 것으로 관찰되었다. 특히 香砂六君子湯 추출물의 72시간전 투여군에서는 정상적인 분포양상을 보였다.

3. 복합당질중 PNA는 INDO군에서는 벽세포에서만 강한 양성반응을 보인 반면 香砂六君子湯 추출물과 Misoprostol 사전 투여군에서는 대조군과 유사한 표면점액세포의 미세음모와 주세포의 자유면쪽 미세음모에서 중등 정도의 양성반응을 보였다. 香砂六君子湯 추출물의 72시간전 투여군에서는 정상적인 분포양상을 보였다.

4. INDO군의 ICAM 양성반응세포는 위점막과 점막밑조직의 세동맥에서 관찰되었다. 香砂六君子湯 추출물과 Misoprostol 사전 투여군에서는 일부 점막밑조직의 세동맥에서만 나타나며 香砂六君子湯 추출물의 72시간전 투여군에서는 제일 낮은 분포를 보였다.

5. INDO군의 출혈성경색지역 위점막에서 많은 수의 apoptotic 세포가 분포하였으나, 香砂六君子湯 추출물과 Misoprostol 사전 투여군에서는 일부 표면점막을 제외한 지역에서 apoptotic 세포의 분포가 관찰되지않았다. 香砂六君子湯 추출물의 72시간전 투여군에서

는 제일 낮은 분포를 보였다.

이상의 결과로 미루어 보아 香砂六君子湯은 소화성궤양의 예방과 치료에 효과가 있을 것으로 사료되며, 특히 임상에서脾胃氣虛型的 소화성궤양에 효과가 있을 것으로 기대되며, 향후 이에 대한 여러 방면의 연구가 지속적으로 이루어지길 기대하는 바이다.

參考文獻

1. 全國韓醫科大學 脾胃內科學教授 共著. 脾胃內科學. 서울: 아트동방; 1998, p.239-49
2. 서울대학교 의과대학편. 소화기원론. 서울: 서울대학교출판부; 1998, p.122
3. 方藥中, 鄭鐵濤, 李克光, 金壽山, 黃星垣, 董建謙 등. 實用中醫內科學. 中國: 上海科學技術出版社; 1986, p.207-32
4. 陳貴廷, 楊思澍. 實用中西醫結合診斷治療學. 北京: 中國醫藥科技出版社; 1991, p.437-41
5. 李乾构, 王自立. 中醫胃腸病學. 北京: 中國醫藥科技出版社; 1995, p.448-54
6. 北京中醫學院. 漢醫學臨床病理. 서울: 성보사; 1983, p.195-9
7. 危北海, 越榮萊, 李乾构. 中醫脾胃學說應用研究. 北京: 北京出版社; 1993, p.203-10
8. 楊思澍, 陳貴廷, 胡國臣. 實用中西醫結合臨床手冊. 北京: 學苑出版社; 1989, p.235-56
9. 中醫大辭典 編輯委員會編. 簡明中醫辭典. 北京: 人民衛生出版社; 1992, p.637
10. 李尙仁, 金東傑, 金永坂, 盧昇鉉, 朴宣東, 李暎鍾 등. 方劑學. 서울: 永林社; 1994, p.165-6
11. 蔡仁植, 孟華燮. 國譯醫方集解. 서울: 대성문화사; 1992, p.79-80
12. 의학교육연구원. 가정의학. 서울: 서울대학교출판부; 1993, p. 234-6
13. 권오윤, 강경원, 함준수, 이종철, 이동후, 기춘석 등. 실험적으로 일으킨 위궤양 발생에 대한 Misoprostol(PG E2)의 보호 효과에 대한 연구. 대한소화기병학회잡지 1990; 22(4) 44-5
14. 함기백, 이동기, 이상인, 문영명, 강진경, 박인서 등. 백서의 허혈성 위손상에 대한 Misoprostol의 위점막 보호효과. 대한소

- 화기병학회잡지 1990; 22(1): 13-23
15. 한석원, 이영석, 정인식, 정규원, 선희석. 위궤양에 대한 Miso-prostol (Cytotec[®]) 과 Cimeti-dine의 효과. 대한소화기병학회잡지 1987; 19(1): 62-7
 16. 오광재, 한광협, 김동립, 이상인, 박인서, 최홍재. 십이지장궤양치료에 있어서 Misoprostol<Cyto-tec[®]>의 효과. 대한소화기병학회잡지 1989; 21(2): 321-5
 17. 東醫寶鑑國譯委員會. 對譯東醫寶鑑. 서울: 법인문화사; 1999, p. 1145-6
 18. 김경선. 加味香砂六君子湯의 indomethacin 유도 위점막손상에 미치는 抗酸化效果. 東國大學校 碩士學位論文 1997
 19. 김광은, 신흥목, 김길현. 加味香砂六君子湯이 위점막손상의 치료에 미치는 抗酸化效果. 동의생리학회지. 1999; 14(1): 1-10
 20. 東西醫學融合研究會編. 臨床東西醫學. 서울: 영림사; 1997, p. 458-70
 21. 김상국. 清熱解毒湯이 흰쥐의 實驗的 胃潰瘍에 미치는 影響. 東國大學校 碩士學位論文 1987
 22. 백동진. 가미귀비탕이 흰쥐의 위궤양에 미치는 영향. 대한한의학회지, 1996; 17(2): 277-90
 23. 해리슨내과학 편찬위원회편. 해리슨내과학. 서울: 정담; 1997, p.1481
 24. Lee S. Siomon. Biology and toxic effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs. Current Opinion in Rheumatology. 1998, 10: 153-8.
 25. Koji Takeuchi, Shigeru Ueki, and Susumu Okabe. Importance of gastric motility in the pathogenesis of indomethacin -induced gastric lesions in rats. Digestive Diseases & Sciences. 1986, 31(10): 1114-22.
 26. John L. Wallace : Gastric ulceration ; critical events at the neutrophil-endothelium interface. Can. J. Physiol. Pharmacol. 1993, 71: 98-102.
 27. Tappel A. L. : Lipid peroxidation damage to cell components. Fed. Proc. 1973, 32: 1870-4.
 28. T. Yoshikawa, Y. Naito, A. Kishi, T. Tomii, T. Kaneko, S. Iinuma, H. Ichikawa, M. Yasuda, S. Takahashi, M. Kondo : Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats. Gut. 1993, 34; 732-7.
 29. Gary B. Glavin & Sandor Szabo : Experimental gastric mucosal injury ; laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. FASEB. J. 1992, 6; 825-31.
 30. Takeuchi. K., Ueshima, K., Hiranaka, Y., Fujioka, Y., Matsu-moto, J., and Okabe, S. : Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats. Digestion. 1991, 49; 175-84.
 31. Tetsuo Arakawa, Kazuhide Higuchi, Takashi Fukuda, Yasu-hiro Fujiwara, Kenzo Kobayashi, and Tetsuo Kuroki : Pro-staglandins in the stomach ; an update. J. Clin. Gastroenterol. 1998, 27; 1-11
 32. Wallace, J. L., and McKnight, G. W. : The mucoid cap over superficial gastric damage in the rat. A high-pH microenvironment dissipated by nonsteroidal antiinflammatory drugs and endothelin. Gastroenterology. 1990, 99; 295-304.
 33. Wallace, J. L., Keenan, C. W., and Granger, D. N. : Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is neutrophil-dependent process. Am. J. Physiol. 1990, 259; 462-7.
 34. Rainsford, K. D. : Microvascular injury during gastric mucosal damage by anti-inflammatory drugs in pigs and rats. Agents Actions. 1987, 21; 316-9.
 35. Z. Morise, S. Komatsu, J. W. Fuseler, D. N. Granger, M. Perry, A. C. I-ssekutz, and M. B. Grisham : ICAM-1 and P-selectin expression in a model of NSAID-induced gastropathy. Am. J. Physiol. 1998, 274; G246-52.
 36. Masaki Kitajima, Mizuhiro Mogi, Tatsuo Kiuchi, Atsushi Shimizu, Masanobu Nakajima, Atsushi Oshima, Hayato Kawa-kami, and Hiroshi Hirano : Alternation of gastric mucosal glycoprotein in gastric mucosa in stress ; A light and electron microscopic study. J. Clin Gastroenterol. 1990, 12; 1-7.
 37. Wallace, J. L., and Granger, D. N. : The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. FASEB J. 1996, 10; 731-40.