

## 數種의 韓藥材 煎湯液이 동물 간조직내 항섬유효능검색에 관한 실험적 연구

서 동 진, 이 춘 우, 김 홍 기, 이 기 남  
원광대학교 한의과대학 예방의학교실

### The Studies on Search of Antifibrotic Effect by Several Herbs Extract in Rat Liver Tissue

Dong-Jin Seo, Chun-Woo Lee, Hong-Gi Kim, Ki-Nam Lee  
Dept. of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University.

Antifibrotic drugs could be delayed or inhibited massive collagen deposition in liver tissue or inhibited collagen synthesis. we investigated antifibrotic effects by several herbs(Schisnadra chinensis, Ganoderma japonicum, Sedum sarmentosum, Alisma canaliculatum, Plantago asiatica) extract with observations of collagen accumulation in liver tissue and collagen synthesis in sera. Rats were used for experimental animal that were divided 3 groups(sham control, BDL/S, BDL/S-ER). Rats were operated for inducing liver fibrosis(cirrhosis) by bile duct obstruction. Several herbs were prepared by water extraction and were applied p. o. 3ml/day during 4 weeks. After observation period, rats were sacrificed and liver tissue and sera were collected. In result, the mortality of rats was 35% in BDL/S group and 20% in BDL/S-ER. The color of bile juice in BDL/S-ER was bright yellow and murky yellow in BDL/S group. The significantly lower weight of liver( $16.21g \pm 5.3$ ,  $20.58g \pm 2.4$ ) and spleen( $1.96 \pm 0.96$ ,  $3.93 \pm 0.21$ ) were shown in BDL/S-ER than that of BDL/S( $p < 0.05$ ) group. The value of collagen in liver tissue(25.7%) in BDL/S-ER was observed significantly lower than that of BDL/S group (Tab. 2). AST, ALT, ALP, t-bilirubin, BUN levels were low in BDL/S-ER as compared with those of BDL/S group, but the significance was not proven. The trichrome stained liver tissue in BDL/S-ER group was observed mild bile duct proliferation and fibrosis compared with BDL/S group. In conclusion, natural products inhibited new collagen synthesis and delayed massive collagen deposition in liver tissue, so that they have noticeable antifibrotic effects in experimental liver fibrosis(cirrhosis).

**Key words:** antifibrotic effects, liver fibrosis(cirrhosis), Schisnadra chinensis, Ganoderma japonicum, Sedum sarmentosum, Alisma canaliculatum, Plantago asiatica,

## 서 론

“肝은 疏泄<sup>1,2</sup>, 藏血<sup>3-5</sup>의 機能을 하며, 이러한 機能이 失調하게 되면 肝氣鬱結, 肝膽濕熱, 肝火

上炎 등으로 病變이 出現 한다”<sup>1,6,7</sup>라는 內容은 內經 本神篇에 「肝藏血.....」記錄이 되어 있다<sup>8</sup>. 肝硬變은 段階에 따라서 黃疸, 腹脹, 脇痛, 積聚, 鼓脹, 單腹脹, 石水, 痞塊, 肝水등으로 表現한다

<sup>9-12</sup>. 간경변은 세포외기질 구성성분의 생산, 분해 그리고 축적을 포함하는 역동적인 과정인 동시에 해부학적으로는 간세포 괴사 후의 미만성 섬유조직증식과 소결절 형성을 말한다<sup>13,14</sup>.

간경변의 원인으로는 바이러스성 간염, 알콜, 대사성 질환(혈색소증, Wilson병, 당뇨병, 제 4형 당원축적증, 갈락토오스혈증, 선천성 타이로신증 등), 만성 담즙정체, 간-정맥 혈류폐색, 면역이상, 독소 및 약제, 인도 소아 경변증 등이 있으며, 간경변은 이러한 원인들에 의한 간질환의 말기 병변이다<sup>13</sup>.

韓醫學에서는 간경변이 積聚, 痞塊, 黃疸, 鼓脹 등의 범주에 해당한다고 할 수 있으며, 병인으로는 七情이나 肝氣鬱結 등 鬱症이 주된 원인이며, 氣滯血瘀에서 많이 발생된다<sup>9,10,15,16</sup>.

간질환은 초기의 간손상 시에 임상증상이 나타나지 않기 때문에 조기 발견이 어렵고, 정확하며 재현성을 가진 진단방법이 거의 부재하여 간경변 또는 간암으로 진행되는 경우가 많고, 간경변의 치료방법 및 치료약은 전무한 상태이다. 원발성 담도성 간경변(primary biliary cirrhosis, PBC) 및 계속 진행되는 괴사후성 간경변에서의 약물치료는 면역억제제 또는 면역조절제를 이용하는데, 이러한 약물에는 penicillamine, azathioprine, colchicine, chlorambucil, cyclosporine, prednisolone, interferon 등이 추천되고 있지만<sup>17-23</sup>, 낮은 효과 및 높은 부작용 때문에 만족할 만한 결과를 얻지 못하고 있으며 이들 약의 병용투여 역시 효과는 증대시키지만 부작용도 같이 증가하게 된다<sup>23</sup>. 이밖에 niacin이 NAD<sup>+</sup> 소모로 인한 간독성을 완화시키고<sup>24</sup>,  $\alpha$ -tocopherol 전처치는 CCl<sub>4</sub> 투여에 의한 간독성이 완화된다는 보고가 있다<sup>25</sup>.

실험적 연구결과는 간경변을 유도한 랫드에 terlipression(glypression)을 투여하면 portal pressure와 cardiac index를 낮추는 효과가 있고<sup>26</sup>, lazaroid (aminosteroid)는 iron-dependent lipid peroxidation의 강력한 억제제로 ischemia-

reperfusion injury를 방어하는 효과가  $\alpha$ -tocopherol과 비슷하며 desferrioxamine에 비해 100배 정도의 높은 효과를 갖는다<sup>27</sup>. 매우 잘 알려진 면역억제제인 interferon은 *in vivo*와 *in vitro* 에서 강력한 간경변 치료약으로서의 가능성이 연구되고 있다<sup>28-30</sup>. 항섬유화 약물의 효과는 extracellular matrix(collagen, laminin, fibronectin, elastin etc.)의 생산의 억제, 분해의 촉진 및 축적을 억제하는 특이적인 약물로 prolyl 4-hydroxylase inhibitor가 새로이 연구되고 있고 그 기전은 hydroxylation 되지 않은 collagen의 세포내 분해를 증가시키고 섬유화를 억제시키는 것으로 알려져 있다<sup>31</sup>. 생약에서 기원한 약물로는 웅담의 주성분인 UDCA, Silybum marianum에서 추출한 silymarin에서 항섬유화 효능에 대한 보고가 있다<sup>32-35</sup>.

간경변 치료제라는 개념은 간경변을 반전시키는 못하더라도 계속적인 진행을 지연 또는 억제 할 수 있는 효과가 있는 것으로 생각되고 있다. 간경변에 특이적으로 나타나는 collagen 축적과 생합성의 억제, 지연 또는 감소시킬 수 있는 약물 즉 항섬유화 효과가 있는 약물은 간경변 치료에 사용할 수 있는 가능성이 몹시 크다. 간경변 치료약의 최종목표는 조직학적 progression과 문맥압 항진을 방지하고, 간 이식의 필요성을 없애며, 간부전으로 인한 사망을 방지하는 것이다<sup>23</sup>. 간 섬유화 치료에 대한 접근은 근원인자를 억제하거나 치료하는 것으로, fibrogenesis를 멈추게 하고, 더 나아가서는 섬유화 과정을 반전시켜 과도하게 생성된 ECM을 분해하는 것이다. 이상적인 간경변 치료약은 오직 간에만 작용하고 무독성이며 ECM 구성성분에 특이적이어야 한다<sup>36</sup>.

따라서 본 연구에서는 독성과 부작용이 적다고 사료되는 다섯 종류의 한약재에서 추출한 검액을 간경변을 유도한 실험동물에 4주간 투여하여 간조직내 collagen 양 및 조직학적 변화와 혈청

생화학수치(AST, ALT, ALP, BUN, total bilirubin등)를 측정하여 항섬유화 효과를 검색하였다.

## 실험방법

### 1. 검액조제

간경변에 효능이 있다고 알려진 한약재인五味子, 靈芝, 澤瀉, 車前子 각 건조품 50g씩 200g에 신선한 垂盆草 50g을 가하여 총 250g을 고압고열 추출기에서 120℃에서 12시간동안 완전히 추출시킨 다음, filter를 이용하여 고형성분을 여과한 뒤 1500ml의 검액을 얻었다.

가. 담도결찰수술법에 의한 간경변 유발  
30마리의 10주령 Sprague-Dawley 랫드를 3개군(대조군: sham operation, 담도결찰수술군: 간경변 유도군, 검액투여군: 간경변 유도후 검액투여군)으로 구분하였다. 담도결찰수술법을 하기 위하여 랫드를 CO<sub>2</sub>로 질식시킨 후 ketamine(Ketara<sup>®</sup>)과 xylazine(Rompun<sup>®</sup>)으로 마취하여 복강을 열고 총담관의 하부를 결찰한 다음, 상부를 결찰하였다. 양쪽 결찰부위의 정중앙을 절개한 다음 멸균 생리식염수 2ml을 넣어 주고 봉합한 후 peniciline을 주사하였다.

### 나. 검액 투여

검액투여군은 담도결찰 수술방법으로 랫드에 간경변을 유도하여 검액 수침액(3ml/day/rat)을

Herb Drugs	Scientific names	Drug names
五味子	Schisnadra chinensis	Fructus Schisandrae
靈芝	Ganoderma japonicum	Ganoderma Lucidum seu Japonicum
垂盆草	Sedum sarmentosum	Herba sedi Sarmentososi
澤瀉	Alisma canaliculatum	Rhizoma Alismatis
車前子	Plantago asiatica	Semen Plantaginis

### 2. 실험동물

삼육 실험동물사육장에서 8주령 Sprague-Dawley 랫드를 분양받아 10주령(200~250g)까지 사육한 다음 실험에 사용하였다. 예비사육 및 실험 전기간 동안 사육환경은 온도 23±2℃, 상대습도 60±10%를 유지하였고, 자연 채광하에서 랫드용 케이지(polyarbonate, 26×42×18cm, 명진기계)에 3-4마리씩 넣어 사육하였으며, 실험동물용 사료(삼육사료)와 식수를 자유로이 공급하였다.

### 3. 검액의 투여

간경변이 유도된 실험동물 랫드(10주령 200~250g)에게 1일 1회 3ml를 구강투여 하였다.

### 4. 실험설계

수술 후 2일 쯤부터 4주간 sonde를 이용하여 경구투여였다.

### 다. 실험재료의 채취

부검시에 랫드를 CO<sub>2</sub>로 질식시킨 후 ketamine(Ketara<sup>®</sup>)과 xylazine(Rompun<sup>®</sup>)으로 마취하여 복강을 열고심장천자법(heart puncture)으로 혈액을 얻었으며, 얻은 혈액은 실온에서 약 2시간 방치후 3000rpm, 10min 원심분리하여 혈청을 얻었다. 간조직은 총 collagen양 측정을 위해 -25℃에 보관하였다

### 5. 혈청생화학적 간기능 검사

간경변 유발 실험동물에서의 일반적인 간기능 검사를 위하여 혈청생화학적 간기능 검사를 실시하였다. 분리하여 얻은 혈청의 검사항목은 alanine transaminase(ALT), aspartate transaminase(AST), alkaline phosphatase

(ALP), total bilirubin 및 blood urea nitrogen(BUN)으로서 엠비엘 주식회사에서 제공 되는 assay kit를 이용하여 실시하였다.

## 6. 조직염색

간조직을 10% 중성 포르말린액에 고정시키고 2주 이상의 충분한 고정을 거친 모든 간 조직은 파라핀 포매기(SAKURA, Tissue-Tek VIP, vaccum infiltration Processor)에 포매하여 마이크로톰(Microm, HM340E)으로 2-3 $\mu$ m 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색 및 trichrome 방법으로 관찰하였다.

## 7. 간조직내 hydroxyproline의 함량 측정

간조직내에 존재하는 총 collagen양을 간접적으로 측정하여 간경변의 정도를 정량적으로 파악하기 위하여 hydroxyproline의 함량을 측정하였다. 간조직내 hydroxyproline의 측정은 Rojkind 등(1979)의 방법을 변형하여 실시하였다<sup>37</sup>. 부검시 간의 일부를 시료당 2개씩 취해 2ml 6N HCl에 넣고 polytrone(Utraturax T-25, IKA, Germany)으로 균질화하여 110 $^{\circ}$ C에서 12시간 가수분해 시킨 다음 각 시료를 여과하였다. 시료는 duplication 하여 50 $\mu$ l씩 취하였다. 완전히 건조시킨 다음 methanol 50 $\mu$ l을 가하고 남아 있는 염산이 제거될 때까지 110 $^{\circ}$ C에서 incubation하였다.

1.2ml 50% isopropanol을 넣어 남은 침전물을 용해하고, 200 $\mu$ l chloramine-T 용액과 섞어 10분간 방치하였다. 1.2ml의 Ehrlich 반응시약을 넣어 섞은 후, 50 $^{\circ}$ C에서 90분간 incubation 한 다음 상온에서 식혀 558nm에서 흡광도를 측정하였다.

Hydroxyproline 함량측정을 위한 세부 실험은 다음과 같다.

Acetate Citrate Buffer: 50g의 sodium acetate trihydrate, 37.5g의 trisodium citrate와 5.5g의

citric acid monohydrate을 395ml의 isopropanol에 녹인 후 1차 증류수로 희석하여 전체부피가 1l가 되게 한다. 진한 HCl용액으로 pH를 6.0으로 조정한다.

Ehrlich's Reagent : 이 시약은 매일 새롭게 준비하였다. 20g의 p-Dimethylaminobenzaldehyde를 22ml의 60% perchloric acid에 녹인 후 이 용액의 30ml를 isopropanol 80ml과 섞어 사용하였다.

Chloramine-T Solution : 이 용액은 사용하기 바로 직전에 만들어 사용하였다. 1.344g의 chloramine-T를 미리 만들어 놓은 200ml의 acetate citrate acid buffer에 녹여 사용하였다.

Hydroxyproline 표준물질 준비 : Stock solution을 containing 10mg의 4-hydroxyproline을 10ml의 6N HCl에 녹여 만들어 사용하였다. 이 용액을 6N HCl용액에 녹여 25 $\mu$ l(최종부피)당 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5 및 2.0  $\mu$ g의 hydroxyproline을 포함하는 표준물질을 만들어 사용하였다. 표준물질은 teflon lining되어 있는 screw-cap tube에 넣어 Parafilm으로 완전하게 봉한 후 110 $^{\circ}$ C에서 가수분해하였다.

간시료 가수분해 : 랫드 간 시료(약 2g)를 잘게 조각을 내어 screw-cap tube에 넣어 소숫점 4자리까지 질량을 정확히 측정한 후 6N HCl을 6ml을 가한다. 표준물질처럼 Parafilm으로 완전하게 봉한 후 12시간 동안 110 $^{\circ}$ C에서 가수분해하였다. 실온에서 식힌 후 Whatman No. 4 여과 용지에 여과하여 정량에 사용하였다.

## 8. 통계처리

student's t-test를 이용하여 평균값  $\pm$  표준편차로 표시하였으며 p-value를 구하여 유의성을 검증하였다.

## 결 과

### 1. 체중 변화 및 체중에 대한 장기중량 비율

#### 가. 임상증상 및 생존율

담도결찰수술군에서는 수술 2-3일 후부터 약한 황달증상이 나타나기 시작하였으며, 1주부터는 눈과 귀, 발등 말단 부분에서 황달증상이 나타났다. 3주부터는 복수로 인하여 복부가 팽만한 것도 관찰되었다. 또한 4주간의 관찰시기 동안에 죽은 랫드를 부검했을 때 proximal bile가 담즙의 과도한 정체로 팽창되었으며 장, 십이지장과 유착이 관찰되었다. 수술 후 초기에만 주로 폐사가 나타났고 생존율은 65% 정도였다.

검액투여군에서도 수술 2-3일 후부터 황달이 나타났으나, 시간의 경과와 함께 담도결찰수술군보다는 약하게 관찰되었다. 생존율은 80% 정도였다.

#### 나. 부검소견 및 각 장기의 중량변화

대조군 랫드의 체중은 4주간의 관찰시기동안에 계속적인 증가가 나타났으나, 담도결찰수술군 및 검액투여군에서 감소하거나 증가하는 추세가 4주동안 관찰되었다.

담도결찰수술군은 담관이 매우 커져 있었으며, 간이 종대 되어 대조군에 비해 유의성 있게 높았으며( $p < 0.005$ ) 간과 체중의 비도 유의성 있게 높았다( $p < 0.005$ , Table. 2). 간의 표면은 3mm 정도의 소결절들이 산재하여 거친 표면을 나타내는 전형적인 소결절형 경변이 관찰되었으며 단면은 결절들이 단면위로 솟아올라 불규칙한 표면을 나타내었다. 담도결찰부위에는 담즙정체로 인한 위 담낭의 형성을 관찰할 수 있었으며, 위담낭내에서 담즙을 20ml 이상 얻을 수 있었다. 비장 역시 대조군보다 2-3배 이상 종대되어 있었다. 또한 복수도 관찰되었다. 검액투여군에서도 담관이 매우 커져 있었으며, 대조군에 비해

간종대가 관찰되었으나 유의성은 검증되지 않았다. 특징적으로 담관내 담즙의 상태가 담도결찰수술군에 비해 맑고 투명하였다. 신장의 무게는 3군간에 큰 차이가 없었다.

부검시 중량은 담도결찰수술군 및 검액투여군에서 수술후 1주에는 감소하였다가 이후에는 조금씩 회복되었다.

담도결찰수술군은 간 중량이 sham 대조군에 비하여 1주에는  $7.97 \pm 0.8g$ 으로 정상과 차이가 없었지만 2주에는  $14.01 \pm 1.5g$ 으로 증가하기 시작하여 4주에는  $20.58 \pm 2.4g$ ( $p < 0.005$ )으로 대조군에 비해 거의 3배 이상 증가하였고, 간 중량비역시 4주에는 대조군의 3.67%에 비해  $7.49 \pm 1.54g$ ( $p < 0.005$ )으로 2배 이상 증가하였다. 비장도 sham 대조군에 비하여 4주에는  $3.93 \pm 0.21g$ ( $p < 0.005$ )으로 유의성 있는 증가를 관찰할 수 있었다.

검액투여군은 담도결찰수술군과 비슷한 경향성을 보이는 하였으나, 중량에서 뿐만 아니라 간 중량비 미 비장에 중량 또한 증가율이 적게 나타났다. 중량은 대조군에 비해서는 2배 정도 증가하였고( $16.21 \pm 5.3g$ ,  $p < 0.05$ ) 간 중량비는 대조군과 거의 비슷한 값을 나타내어( $1.96 \pm 0.96g$ ) 유의성을 보이지 않았다.

콩팥의 중량은 3개 군 모두에서 유의성있는 변화를 나타내지 않았다(Table 1).

### 2. 간조직내 총 collagen(hyp)양의 변화

간조직내 총 collagen을 간접적으로 측정하기 위하여  $-23^{\circ}C$ 에서 보관하고 있던 간조직으로 hydroxyproline을 측정하였다. 표준 곡선은  $10\mu g/ml$ 를 558nm에서 읽은 평균흡광도 0.11725를 기준으로 삼았다. 시료는 각 부검시 간의 일부를 떼어 질소탱크에서 순간 냉동시킨 다음  $-23^{\circ}C$ 에 보관하면서 시험에 사용하였으며, 그 결과는 다음과 같다.

담도결찰수술군은 대조군(0.1g 간조직내  $46.8 \pm 11.7\mu g$ )에 비해서 82.3%의 유의성있는 증가

**Table 1.** The weight of liver, spleen and kidney of rats

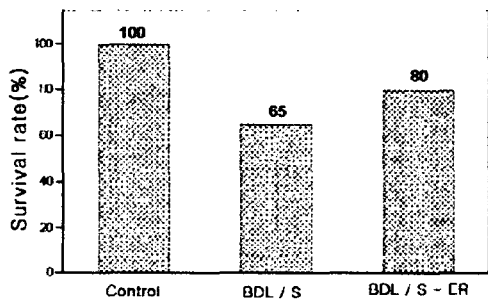
Group	Liver weight (g)	Spleen weight (g)	Kidney weight (g)	N
Control	8.05 ± 1.7	1.12 ± 05	2.2 ± 0.4	8
BDL/S	20.58 ± 2.4**	3.93 ± 0.21**	2.6 ± 0.6	7
BDL/S-ER	16.21 ± 5.3 <sup>*,*</sup>	1.96 ± 0.96 <sup>*</sup>	2.12 ± 0.42	8

The data shows the mean ± standard deviations.

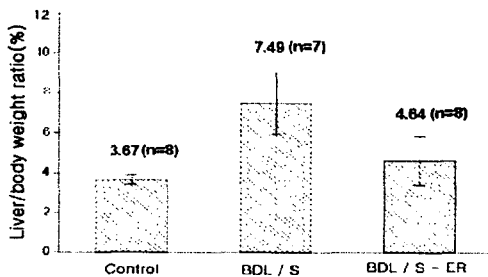
\*p<0.05, \*\*p<0.005 : significantly different from Control

\* p<0.05 : significantly different from the BDL/S

N : the number of animal

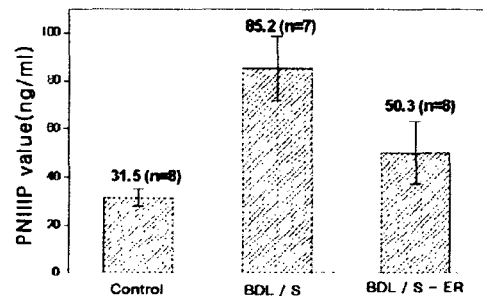


**Figure 1.** Liver/body weight ratio in rats



**Figure 2.** Survival rate in rats

(0.1g 간 조직내 85.3 ± 13.4μg)를 보였다. 하지만 검액투여군(0.1g 간조직내 63.4 ± 23.0μg)에서는 34.5%의 낮은 증가만 나타났으며 담도결찰수술군과 비교해서는 25.7%의 유의성 있는 감소(p<0.01)를 나타내어 간조직내 hydroxyproline 양이 감소되었음을 확인하였다.



**Figure 3.** PNIIP values in sera of the rats

### 3. 혈청 생화학적 간기능 검사 소견

일반적인 간기능 검사를 위하여 각각의 군의 혈청생화학적 간기능 검사를 조사한 결과는 다음과 같았다.

Alanine transaminase(ALT) 농도는 담도결찰수술군에서 대조군(33.0 ± 9.4IU/L)에 비하여 62.0 ± 15.8IU/L로 유의한 증가(p<0.05)를 보였으며, 검액투여군에서도 61.0 ± 2.78IU/L으로 유의성 있는 증가(p<0.05)를 보여 담도결찰수술군과 특별한 차이가 발견되지 않았다. 그밖에 aspartate transaminase(AST), alkaline phosphatase(ALP), total bilirubin 및 blood urea nitrogen(BUN)에서 모두 대조군과 비교해 담도결찰수술군 및 검액투여군에서 모두 유의성 있는 증가(p<0.05)를 보였으나, 담도결찰수술군에 비해 검액투여군에서 유의성 있는 감소는 나타나지 않았다.

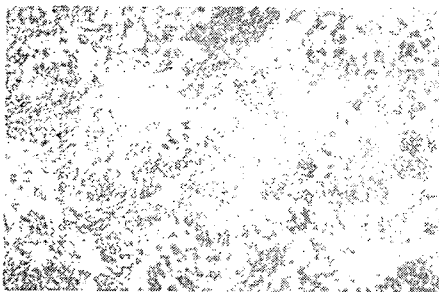
**Table 3.** The value of clinical biochemistry in sera of rats

Group	Control	BDL/S	BDL/S-ER
ALT(U/L)	33.0 ± 9.4	62.0 ± 15.8**	61.0 ± 2.78**
AST(U/L)	46.7 ± 15.9	67.3 ± 14.1	61.7 ± 16.4
ALP(U/L)	75.4 ± 20.9	490.0 ± 266.5**	449.0 ± 244.0**
t-bilirubin(mg/dl)	0.2 ± 0.07	4.5 ± 3.0**	4.1 ± 3.1**
BUN(U/L)	17.9 ± 1.7	34.5 ± 5.44**	30.2 ± 4.5**
N	8	7	8

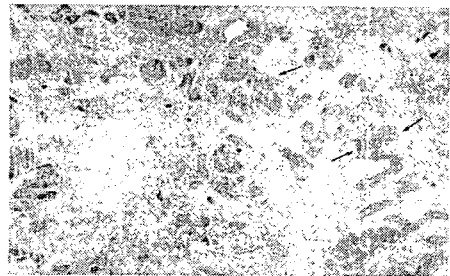
The data shows the mean ± standard deviations. \*p<0.05, \*\*p<0.005 : significantly different from Control \* p<0.05 : significantly different from the BDL/S N : the number of animal

**4. 조직학적 변화**

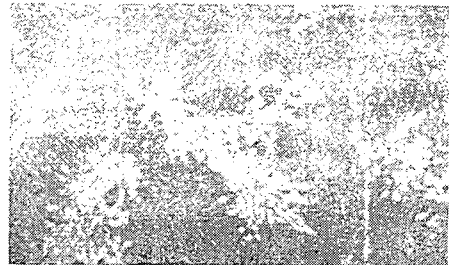
Trichrome으로 염색한 대조군 간조직에서 portal triads인 portal vein, portal atery, bile duct에서 collagen 섬유가 관찰되었다. 담도결찰 수술군에서 4주후에는 현저한 담관증식과 portal vein사이에 collagen bundle형성이 확실하고 담관과 담관들사이가 서로 연결되어 scar formation과 일부에서는 potal-portal septum이 형성되고 새롭게 형성된 담관주위와 portal vein 주위의 collagen섬유가 매우 두꺼워졌으며 hepatocytes island에 의한 micronodule과 광범위한 담관증식이 portal area뿐 아니라 stroma에서 확인되었다(Figure 4a, 4b). 검액투여군 조직에서는 mild bile duct proliferation, hepatocytes island, septum의 부위가 적게 또는 대조군과 비슷하게 관찰되었다(Figure 5a, 5b).



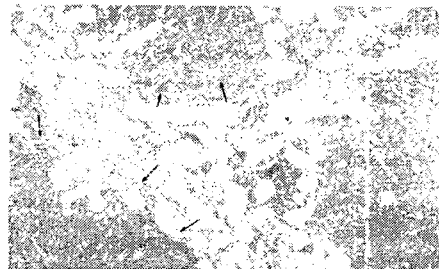
**Figure 4a.** Liver tissue (trichrome staining, × 80) of the BDL/S rats



**Figure 4b.** Liver tissue (trichrome staining, × 160, → hepatocytes) of the BDL/S rats



**Figure 5a.** Liver tissue (trichrome staining, × 80) of the BDL/S-ER treatment rats



**Figure 5a.** Liver tissue (trichrome staining, × 160) of the BDL/S-ER treatment rats

## 고 찰

간경변은 높은 사망률을 나타내는데, 미국을 비롯한 서구 여러나라에서의 간경변에 의한 사망률은 1956년부터 1976년까지 20년간 미국과 유럽에서는 2배 증가하였으며, 현재까지도 그 사망률은 매우 높게 나타나고 있다<sup>38</sup>. 한편 간질환의 발병율이 높은 우리나라에서는 경제기획원 조사통계국이 공식적으로 발표한 한국인의 사망원인 통계연보에서 감염성 질환에 의한 사망률은 점차 감소하는데 반해서 간경변을 포함한 만성 퇴행성 질환으로 인한 사망률은 증가 추세에 있다고 보고하였다<sup>39</sup>. 최근의 보고에 의하면<sup>40</sup> 간암에 의한 사망률은 10만명당 23.7명으로 세계 1위이고, 간경변 등 만성 간질환에 의한 사망자도 28.8명으로 세계 3번째로 조사되었다. 특히 간경변과 간세포암종의 연관성에 대해서는 오래 전부터 관심의 대상이었고, 간세포암종의 60-90%에서 간경변을 동반하고, 간경변 환자에서 간경변 환자에서 간세포암종을 일으키는 빈도가 5-40% 정도의 높은 발병율이 보고되고 있다. 이와 같이 간세포암종의 유발인자 중에서 간경변이 차지하는 비중이 크다는 사실은 누구도 부인할 수 없으며, 간경변이 어떤 원인에 의한 것이라도 간경변 그 자체로서 간세포암종 발생의 위험성을 안고 있다<sup>41</sup>. 특히 B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus, HBV)성 간질환의 발병율이 높은 우리나라에서는 70% 이상이 HV 감염에 의한 피사후성 간경변이고, 알콜성이나 담즙성 간경변이 증가 추세에 있다<sup>38</sup>. 최근 5년간 전체 간질환 환자 중 간경변이 차지하는 비율을 보면 11.6%를 차지하며 이는 간 종양 발병환자(11.2%)와 비슷한 수준을 보이고 있다<sup>42</sup>.

간경변은 간경화라고도 부르는데 표현 그 자체대로 간조직이 굳어져 간기능과 간세포의 파괴로 인한 여러가지 증상이 나타나는 질환으로, 기전을 Popper 등은 간세포피사보다는 virus, 약물, alcohol, 담즙정체, 중금속 축적 등에 기인하는

지속적이고 반복적인 만성간손상에 의한 새롭게 생성된 세포외기질의 광범위한 축적에 기인하는 섬유화와 간세포의 재생결절의 형성 및 반흔이라고 보고하고 있다<sup>43</sup>. 간섬유화는 간경변의 진단계로서 collagen fiber의 과도한 축적은 간경변과 동일하나 간에서 구조 변화가 나타나지 않는 상태이며, Sherlock<sup>43</sup>은 간경변을 간구조의 파괴 또는 변형을 수반하며, 간경변은 간세포피사후에 미만성 섬유증식과 소결절의 형성이다 라고 하였다.

간경변을 세계보건기구는 지속적이고 반복적인 만성 간손상과 그 결과로 섬유화와 간세포의 재생결절이 형성되는 질환이라고 정의하고 있다. 근본적으로 간세포의 재생결절이 나타나는 것은 간세포 손상에 대한 수복현상이지만 정상적인 간과 같은 소엽 또는 간세포 구조를 갖추지 못한 비정상적인 결절이며, 이러한 결절들은 세포외기질을 구성하는 섬유조직 띠로 동양혈관주위와 간정맥주위에 둘러싸이게 된다고 하였고<sup>42</sup>. 세포외기질(extracellular matrix: collagen, proteoglycan, glycoprotein, elastin) 특히 collagen fiber의 과도한 침착으로 인한 형태학적 변화이다<sup>44</sup>. Collagen은 간조직과 혈청 중에서 정량적인 측정이 가능하여 간질환의 진행 표지자로서 알려져 있다<sup>45</sup>.

한편, 동물에서도 간경변에 대한 실험과 발병예가 많이 보고되고 있는데, 개에서 담도결찰수술법으로 실험적 간경변이 유발되었으며<sup>46</sup>, 개에서 간경변을 비롯한 간담도성 질환이 빈발하고 있으며, 간경변을 진단하기 위한 여러 가지 시도가 보고되고 있다<sup>47</sup>. 또한 어린 개에서 예후가 불량한 idiopathic hepatic fibrosis와<sup>48</sup> 고양이에서도 드물지만 담도성 간경변의 발병예가 보고되어 있다<sup>49</sup>.

이러한 질환의 치료를 위해서는 그 원인과 새로운 치료방법의 모색이다. 간경변의 치료는 근본적인 요소들을 제거하거나 (virus, alcohol, 약물 등) 치료하는 것, collagen섬유의 과도한 생성



억제 또는 진행 지연, 더 나아가서는 섬유화 과정을 반전시켜 과도하게 간 조직 중에 침착된 extracellular matrix를 분해시키는 것이라 할 수 있다<sup>21</sup>. 이러한 특성이 있는 항섬유화 약물의 효과검색에는 procollagen type III, type IV, laminin, metalloproteinase, prolyl hydroxylase 측정방법이 사용되고 있으나<sup>50-53</sup> 중에서 ongoing parameter (진행과정지표) 즉 fibrogenesis-marker(collagen합성지표)로 알려진 혈청중 collagen type III의 측정이 가장 확실한 방법으로 알려져 있다<sup>54,55</sup>. 특히 만성 활동성 간염, 알콜성 간염, 원발성 담즙성 간경변, 간암 등<sup>56-60</sup>에서 증가되고, 이들은 biopsy finding (병리 적소견)과 상관관계가 있으며<sup>61</sup>, 또한 in vivo와 in vitro 실험에서 PNIIP는 간조직중의 hydroxyproline<sup>62</sup>, procollagen type III peptide mRNA과 TGFβ-1<sup>63,64</sup> 사이에 상관관계가 있고, 임상에서는 C형 간염환자를 interferon으로 치료 시에 collagen type III, 7S-collagen 감소에 대한 보고가 있다<sup>65</sup>.

한약재에서 항섬유화 효과가 검색된 것은 Ginko biloba,五味자와 靈脂菌死體를 랫드에 투여했을 때 총 collagen과 혈청 PNIIP의 수치가 낮아졌다는 연구결과가 있으며<sup>66,67</sup>, 한의학 이론에 기초를 둔 UDCA, 닛셀(DDB),茵陳蒿湯,四物茵蒿湯등이 만성간질환(chronic liver disease) 치료제로 사용되고 있고 최근의 발표에 의하면 冬蟲夏草(cordyceps sinensis)를 배양하여 얻은 추출물이 간손상을 유도한 후 mice에 3주간 경구투여 하였을 때에 肝壞死, 염증, 섬유화가 관찰되지 않았다는 보고도 있다<sup>68</sup>. 또한 약재 뿐만 아니라 침구요법을 이용하여 간경화의 지연 또는 약물의 흡수를 도울 수 있는가에 대한 연구도 진행되고 있다<sup>69,70</sup>. 그리고 항섬유화 효과를 나타내는 prolyl hydroxylase inhibitor인 proline analogue는 합성물질로서 간조직중의 collagen 축적을 선택적으로 억제하고(selective inhibition in hepatic collagen accumulation), UDCA,

syrimarin, colchicine과 UDCA의 병용효과에 관한 보고도 있다<sup>71</sup>.

본 연구에서는 한약재에서 collagen 합성의 저해, 간조직중의 축적을 억제할 수 있는 물질을 찾기 위해서 랫드에 담도결찰 수술을 시행하여 대조군, 담도결찰수술군, 검액투여군으로 구분하고 검액투여군에는 검액 3ml을 수술 후 2일 부터 투여하여 4주간을 관찰하였다.

여기에 사용된 약재는 五味子, 靈芝, 垂盆草, 澤瀉, 車前子로 약물의 효능을 살펴보면五味子是 목련과에 속한 다년생 蔓木인 오미자나무 및 同屬近緣植物의 성숙한 과실로서 滋養強壯의 收斂劑로 滋養強壯, 去痰鎮咳, 止渴止汗, 滋腎, 生津, 補陰益氣, 補精, 解酒毒, 明目, 強筋骨, 解熱 등의 효과가 있어 煩熱, 霍亂, 泄瀉, 痢疾 등에 유효하며<sup>72-74</sup>, 약리작용은 중추신경계의 흥분과 억제의 과정을 조정하며, 심장혈관계통을 조절하여 혈액순환을 개선하고, 호흡에 대해서는 흥분 작용이 있다. 또한 진해거담작용, 위액의 분비조절작용, 담즙의 분비촉진작용, 자궁을 흥분시키는 작용 등이 있다고 알려져 있으며<sup>75-77</sup>, 오미자 추출액은 CCl<sub>4</sub>로 유발된 간손상의 회복에 효과가 있다고 하였고<sup>78,79</sup>, 위액 분비와 위장운동을 억제한다고 보고되었다<sup>80</sup>.

그리고 靈芝는 구멍쟁이버섯과에 속한 菌類植物인 영지버섯의 全株로서 養心安神, 補氣養血, 止咳平喘 등의 효능이 있어 心神不安, 失眠多夢, 心悸健忘, 體倦神疲, 氣血不足, 脾胃虛弱, 食慾不振, 肺虛久咳, 形寒咳嗽, 痰多喘促, 肝炎, 高脂血症, 高血壓 등의 병증을 치료한다<sup>73,74</sup>. 근래에 보고되고 있는 영지의 약리작용은 영지 단백질인 Ling Zhi-8은 human peripheral blood lymphocyte에서 강력한 mitogenic 효과를 나타내었으며<sup>81,82</sup> cellular aggregate formation을 유도하여 human peripheral blood lymphocyte에 처리하였을 경우 Interleukin(IL)2 receptor의 발현을 증가시키고 interferon(IF)-γ, tumor necrosis factor(TNF)-α, IL1-β를 상승시키는

효과를 나타내는데<sup>83,84</sup> 즉 영지단백질인 Ling Zhi-8은 cytokine을 조절하는 작용을 통하여 T cell을 활성화시키는 것으로 보고되었다. 또한 신선한 영지자실체의 polysaccharide 성분이 human macrophage에서 IL1- $\beta$ 와 TNF- $\alpha$  및 IL6를 상승시키고 human T lymphocyte에서는 IF- $\gamma$ 를 상승시키며 TNF- $\alpha$ 와 IF- $\gamma$ 의 synergic effect로 leukemic cell growth를 억제하는 것으로 보고되었다<sup>85,86</sup>. 또한 영지자실체의 glycan인 ganoderan A와 B는 혈당저하작용이 있다고 보고되었다<sup>87</sup>. Ganoderan B는 혈중 insulin 양을 증가시키는 작용과 hepatic glucokinase, phospho fructokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase를 활성화시키는 작용이 있고 hepatic glucose-6-phosphate 양과 glycogen synthetase의 활성을 감소시키는 작용이 있어 간조직중의 glycogen의 양을 감소시키는 작용이 있다고 보고되었다<sup>88,89</sup>. 또한 영지의 메탄을 추출물이 human peripheral blood mononuclear cell culture system을 억제하는 작용이 있는데 이는 protein kinase C signal pathway를 억제하고 또 Cyclosporin A signal pathway를 촉진함으로써 이러한 작용을 나타내지 않나 추측되고 있다<sup>83</sup>. 영지의 성분 중 하나로 histamine release-inhibiting triterpene의 항알러지작용도 있다고 보고되고 있으며 영지 배양액의 성분도 항알러지 효과가 있는 것으로 보고되었다<sup>90,91</sup>. 또한 영지의 oxygenated lanosterol 유도체는 cholesterol 생합성 과정중 [24,25-3H]-24,25-dihydrolanosterol로부터 cholesterol의 생합성을 유의성있게 저지하는 작용이 있다<sup>92</sup>. 영지의 수침액이 사염화탄소에 의해 간독성이 유발된 흰 쥐에서 혈중 AST와 LDH를 유의적으로 감소시켜 간독성을 억제하였으며 이는 free radical scavenging effect에 의한 것으로 보고된 바 있으며 영지 수침액이 간섬유화를 저지시키는 작용이 있다고 보고된 바 있다<sup>86,93,94</sup>.

垂盆草는 들나물과에 속한 다년생 肉質性 초본

인 들나물의 전초로서 清熱解毒, 利濕退黃 등의 효능이 있어 癰腫瘡毒, 咽喉腫痛, 毒蛇咬傷, 水火燙傷, 濕熱黃疸, 熱淋, 小便不利 등의 병증을 치료한다고 하였다<sup>73,74</sup>.

澤瀉는 택사과에 속한 다년생 沼澤植物인 참택사, 또는 질경이택사의 根莖으로 利水滲濕, 泄熱, 清腎火 등의 효능이 있어 小便不利, 水腫脹滿, 泄瀉尿少, 痰飲眩暈, 熱淋澀痛, 高脂血症, 遺精 등의 병증을 치료한다고 하였으며<sup>73,74</sup>, 뇨량감소, 위내정수, 구갈 등에 대하여 수독을 구축하고 그 효과가 복령, 저령 등과 유사하다<sup>95</sup>. 택사는 이노작용<sup>96</sup>과 항염증의 목적으로 널리 사용되어 왔으며<sup>97-106</sup> 성분으로는 특이한 triterpenoids인 alisol A, alisol A monoacetate, alisol B, alisol B monoacetate<sup>106</sup>, alisol C 및 alisol C monoacetate 등을 함유하고 있으며 이들은 positive hypocholesterolemic effect가 있는 것으로 보고되어 있다<sup>97,98,101,104</sup>. 특히 alisol A monoacetate와 alisol B는 이노작용이 확인되어 있다<sup>101,104</sup>.澤瀉는 이노제로서 뿐만 아니라 당뇨병 등에 한방, 민간에서 널리 쓰여온 생약<sup>98,100</sup>으로 메탄을 엑스가 마우스에서 補肝작용을 가짐이 발표되었으며 chloroform 분획이 적출회장에서 angiotensin I 및 bradykinin에 억제작용을 가짐이 보고되어 있다<sup>100</sup>. 또한 택사추출액이 bensopyrene에 의해 유도된 간장해에 補肝효과가 있음이 보고되기도 했다<sup>107</sup>.

車前子는 질경이과에 속한 다년생 草本인 질경이 및 同屬近緣植物의 성숙한 종자로서 利水通淋, 滲濕止瀉, 清肝明目, 去痰止咳 등의 효능이 있어 淋病, 水腫, 暑濕泄瀉, 目赤腫痛, 痰熱咳嗽 등의 병증을 치료한다고 전해지고 있다<sup>73,74</sup>. 車前子の 생리활성은 plantaginig이 호흡중추에 작용하여 호흡운동을 촉진 또는 완만하게 하며 진해작용이 있고 이노작용이 있어 수분 및 요소, 염화나트륨, 요산의 배설을 증가시키며, 車前草의 수침제는 6종의 피부진균에 항진균작용이 있는 것으로 알려져 있으며, iridoid 성분은 이간효과

가 있는 것으로 보고되어 있다<sup>108</sup>.

본 연구에서는 간경화 유도방법으로 담도결찰법을 사용하였는데 담도결찰법은 Cameron 등<sup>109</sup>이 처음 보고한 이래, Koutras 등<sup>110</sup>에 의해 실험적 간섬유화 및 간경화의 실험모델로 제시되어 새로운 관심을 끌고 있다<sup>111</sup>. 담도를 결찰하게 되면 담즙정체가 일어나게 되고, 간세포와 담도내에 담즙이 축적되며, 혈액 내에 담즙으로 분비되는 모든 물질이 정체된다. 간외성 담즙정체시에는 그 일차적 원인이 분명하여 총수담관이 담석 등에 의해 폐쇄되고 이차적으로 간에 변화를 일으켜 담즙정체가 발생되며 간내성 담즙정체시에는 일차적 원인이 특히 불분명하나 이 경우에도 이차적 변화가 간에서 일어난다<sup>112,113</sup>. 이러한 점에서 담도결찰에 의한 실험방법은 급성염증과 아울러 결찰기간의 장기화에 따른 간섬유화가 일어난다는 점에서 한약의 간세포 보호작용 및 회복작용을 알 수 있는 좋은 방법으로 생각된다.

실험 결과 간과 체중과의 무게비는 검액투여군에서 담도결찰수술군보다 유의성있게 낮았으며 ( $p < 0.05$ ) 대조군보다는 높았으나 유의성은 없었다. 비장의 무게는 검액투여군에서 대조군보다 높았으나 유의성은 없었고 담도결찰수술군보다는 유의성있게 낮았다 ( $p < 0.05$ ). 간기능을 나타내는 혈청 생화학적 지표는 대조군에 비해 검액투여군과 담도결찰수술군에서 유의성 있게 높았고 ( $p < 0.05$ ), 검액투여군과 담도결찰수술군만을 비교했을 때는 검액투여군이 담도결찰수술군보다 약간 낮은 수치를 나타냈으나 유의성은 없었다.

4주간의 관찰시기 동안에 담도결찰수술군 랫드에서 35%의 치사율은 수술 후 2-3주 동안에 나타났는데 이러한 원인은 간섬유화(경화)가 유도되는 과정에서 proximal bile duct에 과도한 담즙의 정체와 소장, 위, 췌장의 유착에 의해 위·장관을 비롯하여 모든 생리기능의 저하에 의한 것으로 생각된다. 이에 비해 검액투여군에서는 20%로 나타났는데 소장, 위, 췌장의 유착이 담도결찰수술군보다 약간 경미하며 랫드의 간을 육

안적으로 보면 50%는 간섬유화가 약하게 40%는 담도결찰수술군과 거의 비슷하게 그리고 10%는 proximal bile duct가 파열되어 담즙이 복부에 찔다가 소멸하였고 현저한 체중감소가 관찰되었다.

Collagen 수치의 뚜렷한 감소에도 불구하고 검액투여군과 담도결찰수술군에서 혈청 생화학적 수치의 차이가 크게 없는 것은 본 실험에서 간섬유화 유도에 담도결찰 방법을 사용하였기 때문에 담관증식으로 인해서 많은 hepatocytes의 수적인 감소와 hepatocytes island에 의한 cell to cell interaction의 장애에 의해서 간세포의 기능이 약화된 것으로 사료된다.

조직학적 변화에서는 trichrome으로 염색한 대조군의 간조직에서는 collagen 섬유가 관찰되었는데 담도결찰수술군에서는 현저한 담관증식과 collagen bundle 형성이 확실히 나타났으며, 담관주위와 portal vein 주위의 collagen 섬유가 비후되어 있었으나 검액투여군의 조직에서는 mild bile duct proliferation, hepatocytes island, septum의 부위가 적게 또는 대조군과 비슷하게 관찰되었다.

따라서 담도결찰 방법으로 간섬유화를 유도한 경우에는 염증과 괴사의 정도를 반영하는 간효소 활성의 검사보다는 혈청과 간조직에서 collagen 양을 측정하여 항섬유화 검색을 하는 것이 좋고, 검액을 투약한 랫드는 수술군에 비해서 간섬유화(경화)가 진행되는 동안에 높은 생존율, collagen 생합성의 억제, 간조직 중의 축적이 약화됨으로서 뚜렷하고 확실한 항섬유화 효과가 있는 것이 관찰되었다.

이와 같은 실험결과를 종합하여 보면 담도결찰술에 의하여 간섬유화를 유도하고 본 연구에 사용되었던 다섯 가지 한약재(오미자, 영지, 수분초, 택사, 차전자)로 구성된 검액을 투여하였을 때 간조직내 collagen 합성 억제 즉 간섬유화를 억제하여 간경변의 진행을 멈추거나 회복시키는 역할을 하는 것을 동물실험을 통하여 알 수 있

있으며, 앞으로 간조직 중 collagen 합성지표인 PNIII, 분해지표인 PNIV의 정량, 세포독성 검사 및 조직학적 검사 등 다양하고 정밀한 검사가 적용된다면 간경변 예방제 또는 간경변 치료제로서의 가능성을 확인할 수 있을 것으로 사료된다.

## 결론

본 연구에서는 간경변에 활성이 있다고 예상되는 다섯 종의 한약재(五味子, 靈芝, 澤瀉, 車前子, 垂盆草) 전탕액을 추출하여 담도결찰수술을 실시한 Sprague-Dawley 랫드에 4주간 구강투여한 군과 sham 대조군 및 담도결찰수술군과의 일반적인 외관 및 기타 장기들의 차이점, 간조직내 총collagen양 및 혈청생화학 검사, 조직변화를 측정하여 검액의 간경변 생리활성 및 간섬유화 억제 정도를 확인하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 검액투여군에서 장기상태가 양호하며, 생존률이 증가하였고, 복수, 황달 및 토혈이 담도결찰수술군에 비해 확실한 감소를 보였다.
  2. 검액투여군에서 간장 무게의 확실한 감소를 보여 간경변의 증상 중의 하나인 간종대의 감소를 확인하였다.
  3. 간조직 중 collagen의 축적 지표가 되는 hydroxyproline의 양이 검액투여군에서 훨씬 낮은 수치를 보여 간섬유화 억제 능력을 확인하였다.
  4. 혈청 생화학적 검사에서 검액투여군에서 담도결찰수술군보다 더 낮은 수치를 나타내 간기능의 회복을 확인할 수 있었다.
  5. 조직염색을 통한 조직 검사를 실시한 결과 간조직내 collagen 섬유가 검액투여군에서 뚜렷이 감소됨을 확인할 수 있었다.
- 위와 같은 결과로 미루어 본 연구에 사용되었던 검액은 간조직내 collagen 합성 억제 즉 간섬유화를 억제하여 간경변의 진행을 멈추거나 회

복시키는 역할을 하는 것을 동물실험을 통하여 알 수 있었으며, 앞으로 간조직 중 collagen 합성 지표인 PNIII, 분해지표인 PNIV의 정량, 세포독성 검사 및 조직학적 검사 등 다양하고 정밀한 검사가 적용된다면 간경변 예방제 또는 간경변 치료제로서의 가능성을 확인할 수 있을 것으로 사료된다.

## 참고 문헌

1. 金定濟外: 東醫肝系內科學, 서울, 集文堂, 1983, pp.11,14,17,27,28
2. 上海中醫學院編: 中醫內科學, 香港, 商務印書館 1975, p.98
3. 楊維傑: 鍼灸經緯, 臺北, 樂群出版社, 1985, pp.150-154.
4. 北京中醫學院編: 中醫學基礎, 北京, 人民衛生出版社, 1978, pp.40-42.
5. 張介賓: 景岳全書, 서울, 裕昌德書館, 1972, pp.420,1140.
6. 湖北中醫學院編: 金匱要略釋文, 上海, 上海科學技術出版社, 1981, pp.155-166.
7. 江蘇新醫學院: 中藥大辭典, 上海, 上海科學技術出版社, 1977, 下冊, p.1558.
8. 張隱庵馬元臺合註: 黃帝內經, 서울, 裕昌德書館, 1977, 素問 pp.73,141, 靈 1140.
9. 許俊: 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, 1987, pp.139,148,182,486-513.
10. 金秉雲外: 生肝健脾湯이 肝臟의 代謝와 再生機能에 미치는 影響, 서울, 慶熙韓醫大論文集, 1982:5:19-40.
11. 金光湖外: 茵陳五苓散의 肝疾患治療 效果에 關한 研究, 慶熙韓醫大論文集 1978:1:8-18.
12. 文濬典: 百消丸 및 加味百消丸이 四鹽化炭素로 인한 白鼠 肝損傷에 미치는 影響에 關하여, 서울, 慶熙韓醫大論文集 1979:2:1-32.
13. Sherlock, S.: Disease of the liver and biliary system. 8th ed., Blackwell Scientific Publication, London, 1989, pp.344-355,217-254.

14. Castilla A, Prieto J, Fausto N. Transforming growth factors  $\beta 1$  and  $\alpha$  in chronic liver disease. *New Eng J Med* 1991;324(14):933-940.
15. 林佩琴, 類證治裁, 臺北, 旋風出版社, 1967, p.193.
16. 朱丹溪, 丹溪心法, 北京, 北京市中國書店出版, 1986, pp.22,230-232.
17. Dickson ER, Flemming TR, Wiesner RH, Baldus WP. Trial of penicillamine in advanced primary biliary cirrhosis. *N. Engl. J. Med.* 1985;312:1011-1015.
18. Neubauer J, Cristensen E, Portmann B, Caballeri J, Rodes J, Ranek L. Double blind controlled trial of d-penicillamine in patients with primary biliary cirrhosis. *GUT* 1985;26:114-119.
19. Wiesner RM, Dickson ER, Lindor D, Jorgensen R, LaRusso NF, Baldus W. A controlled clinical trial evaluating cyclosporin in the treatment of primary biliary cirrhosis: A preliminary report. *Hepatology*. 1987;7:1025.
20. Batta AK, Saken G, Arora R, Sheffer S. Effect of ursodeoxycholic acid on bile acid metabolism in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1998;10:414-9.
21. Schuppan D. Chronische Hepatitis-Antifibrotische Therapieausätze. *Z. Allg. Med.* 1995;71:11531-42.
22. Ballardini G., Faccani A., Bianchi F. B., et. al. Steroid treatment lowers hepatic fibroplasia, as explored by serum aminoterminal procollagen III peptide in chronic liver disease. *Liver* 1984;4:348-352.
23. Beukers R and Schalm SW. Immunosuppressive therapy for primary biliary cirrhosis. *J. Hepatology* 1992;14:1-6.
24. Weitberg AB and Corvese D. Niacin prevents DNA strand breakage by adenosine deaminase inhibitor. *Biochem Biophys Res Comm* 1990;167(2):514-519.
25. Parola M, Leonarduzzi G, Biasi F, Albano E, Biocca ME, Poli G, Dianzani MU. Vitamin E dietary supplementation protects against carbon tetrachloride-induced chronic liver damage and cirrhosis. *Hepatology* 1992;16:1014-1021.
26. Lebrec D, Moreau R, Cailmail S, Sogni P, Oberti F and Hadengue A. Effects of terlipression on hemodynamics and oxygen content in conscious portal vein stenosed and cirrhotic rats receiving propranolol. *J. Hepatology* 1993;17:102-107.
27. Cosenza CA, Cramer DV, Cunneen SA, Tuso PJ, Wang HK and Makowka L. Protective effect of the lazaroid U74066F in cold ischemia-reperfusion injury of the liver. *Hepatology* 1994;19:418-425.
28. Soresi M, Bascone F, Agate V, Carroccio A, Barresi E, Cartabellota A, Montalto G. Serum variation of 2 markers of fibrogenesis in chronic hepatitis C treated with alfa interferon. *Prog. Med.* 1997;88:73-76.
29. Craja MJ, Weiner FR, Takahashi S, Giambrone MA et. al:  $\gamma$ -interferon treatment inhibits collagen deposition in murine schistosomiasis. *Hepatology*. 1989;10:5,795-800.
30. Granstein RD, Murphy GF, Margolis RJ. Gamma interferon inhibits collagen synthesis in vivo in the mouse. *J. Clin. Invest.* 1987;79:1254-58.
31. Bickel M, Baader E, Brocks DG, Engelhart K. Beneficial effects of inhibitors of prolyl 4-hydroxylase in CCl<sub>4</sub>-induced fibrosis of the in rats. *J. Hepatology* 1991;13:26.
32. Lacaille F, Paradis K. The immunosuppressive effect of ursodeoxycholic acid: A comparative in vitro study on human peripheral blood mononuclear cells. *Hepatology*. 1993;18:165-172.
33. Poupon RE, Balkau B, Eschwege E, Poupon R. The UDCA-PBC study group. Multicenter controlled trials of ursodiol for the treatment

- of primary biliary cirrhosis. *N. Engl. J. Med.* 1990;324:1548-54.
34. Colombo C, Crosignani A, Assaisso M, Maria Battezzati P, Podda M, Giunta A, Zimmer-Nechemias Z, DR, Setchell K. Ursodeoxycholic acid therapy in cystic fibrosis-associated liver disease. *Hepatology*. 1992;16:924-30.
  35. Boigk G, Stroedter L, Herbst H, Waldschmidt J, Riecken EO, Schuppan D. Silymarin retards collagen accumulation in early and advanced biliary fibrosis secondary to complete bile duct obliteration in rats. *Hepatology*. 1997;26(3):643-9.
  36. Clement B, Loreal O, Levavasseur F and Cuillouzo A. New challengers in hepatic fibrosis. *J Hepatology* 1993;18:1-4.
  37. Jamall IS, Finelli VN. A single method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissue. *Anal. Biochem.* 1981; 112: 70-75
  38. 한은경, 박찬일, 이상인. 간경변증의 원인적 분류와 형태학적 특성. 대한 병리학회지 1990;24:412-422.
  39. 경제기획원 조사통계국. 사망원인통계연보 1983, 1985, 1989.
  40. 보건복지부. 한국인의 건강수준 1993.
  41. Kang KH and Kim YI. Morphometric analysis of cirrhotic nodules in hepatocellular carcinoma-bearing livers. *Kor J Pathol* 1991;25:338-345.
  42. 박찬일, 김호근, 이유복. 간질환의 병리. 고려의학 1992, pp.175-178.
  43. Popper, H.: Die Leberfibrose - Entstehung, Dynamik und klinische Bedeutung. *Leber, Magen Darm* 1985;8:65.
  44. Schuppan D. Structure of the extracellular matrix in normal and fibrotic liver; collagens and glycoproteins. *Sem in Liver Disease* 1990;10(1):1-10.
  45. Schuppan D. Connective tissue polypeptides in serum as parameters to monitor antifibrotic treatment in hepatic fibrogenesis. *J Hepatology* 1991;13:s17-s25.
  46. Bomzon A, Binah O and Blendis LM. Hypotension in experimental cirrhosis: Is loss of vascular responsiveness to norepinephrine the cause of hypotension in chronic bile-duct-ligated dogs? *J Hepatology* 1993;17:116-123.
  47. Center SA, ManWarren T, Slater MR and Wilentz E. Evaluation of twelve-hour preprandial and two-hour postprandial serum bile acids concentrations for diagnosis of hepatobiliary disease in dogs. *JAVMA* 1991;199:217-226.
  48. Rutgers HC, Haywood S and Kelly D. Idiopathic hepatic fibrosis in 15 dogs. *Vet Rec* 1993;133:115-118.
  49. Gores BR, Berg J, Carpenter JL and Ullman SL. hylouse ascites in cats: Nine cases(1978-1993). *JAVMA* 1994;205:1161-1164.
  50. Raedsch R, Stiehl A, Waldherr R, Mall G, Gmelin K, Götz R, Walker S, Czygan P, Kommerell B. Procollagen-type III-peptide serum concentrations in chronic persistent and chronic active hepatitis and in cirrhosis of the liver and their diagnostic value. *Z. Gastroenterologie.* 1982;20:738-743.
  51. Collazos J, Diaz F, Genolla J. Serum concentration of laminin in cirrhosis of the liver. *Gut* 1993;34:974-976.
  52. Plebani M, Burlina A. Biochemical markers of hepatic fibrosis. *Clin. Biochem.* 1991;24(3):219-39.
  53. Niemela O, Risteli J, Blake JE, Risteli L, Compton KV, Orrego H. Markers of fibrogenesis and basement membrane formation in alcoholic liver disease. Relation to severity, presence of hepatitis, and alcohol intake. *Gastroenterol* 1990;98(6):1612-9.

54. Torres-Salines M, Pares A, Cabeleria J, Jimenez W. Serum procollagen type III peptide as marker of hepatic fibrogenesis in alcoholic hepatitis. *Gastroenterol* 1986;90:1241-1246.
55. Fabris C., Federico E., Toniutto, Pirisi M. A comparison of four serum markers of fibrosis in the diagnosis of cirrhosis. *Ann. Clin. Biochem.* 1997;34:151-155.
56. Yamada S, Suou T, Kawasaki H, Yoshikawa N. Clinical significance of serum 7S collagen in various liver diseases. *Clin Biochem* 1992;25(6):467-70.
57. Rimmel T, Rimmel H, Salupere V. Aminoterminal propeptide of type III procollagen and hyaluronan in patients with primary biliary cirrhosis: markers of fibrosis in primary biliary cirrhosis; *J. Gastroenterol. Hepatol* 1996;11(11):1016-20.
58. Takamatsu S, Nakabayashi H, Okamoto Y, Nakano H. Noninvasive determination of liver collagen content in chronic hepatitis as variables. *J Gastroenterol.* 1997;32(3):355-60.
59. Farinati F, Annoni G, Donato MF, Nardelli P, Bertozzo A, De Maria N, Zotti S, Salvagnini M, Martinez D, Naccarato R. Diagnostic and prognostic value of the determination of the aminopropeptide of type III procollagen in patients with primary liver cancer. *J Gastroenterol. Hepatol.* 1990;5(6):633-8.
60. Murawaki Y, Ikuta Y, Nishimura Y, Koda M, Kawasaki H. Serum markers for fibrosis and plasma transforming growth factor-beta 1 in patients with hepatocellular carcinoma in comparison with patients with liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 1996;11:443-50.
61. Galambos MR, Collins, DC, Galambos, JT. A radioimmunoassay procedure for type III procollagen: Its use in the detection of hepatic fibrosis. *Hepatol.* 1985;5:38-42.
62. Ruwart MJ, Wilkinson KF, Rush BD, Kim KY, Schuppan D. The integrated value of serum procollagen type III peptide over time hepatic hydroxyproline content and stainable collagen in a model dietary cirrhosis in the rat. *Hepatol* 1989;10:801-806.
63. Pierce RA, Glaug MR, Greco RS, Mackenzie JW, Boyd CD, Deak SB. Increased procollagen mRNA levels in carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *J Biolchem* 1987;262:1652.
64. Savolainen ER, Brocks D, Ala-Kokko L, Kivirikko K. Serum concentrations of the N-terminal propeptide of type III procollagen and two type IV collagen fragments and gene expression of the respective collagen types in liver in rats with dimethylnitrosamine induced hepatic fibrosis. *Biochem. J* 1988;249:753-757.
65. Ishibashi K, Kashiwagi T, Ito A, Nagasawa M, Tomaya T, Ozaki S, Naito M, Azuma M. Changes in serum fibrogenesis markers during interferon therapy for chronic hepatitis type C. *Hepatol.* 1996;24:27-31.
66. Li W, Dai QT, Liu ZE. Preliminary study on early fibrosis of chronic hepatitis B treated with Ginkgo biloba Composita. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih* 1995;15(10):593-5.
67. Park UJ, Kim KY, Kim JB, Kim SY, Lee SY, Sohn DW. The antifibrotic effects of polysaccharides extracted from *Gonoderma lucidum* on the experimental hepatic cirrhosis. *Yakhak Hoeji* 1994;38:338-344.
68. Manabe N, Sugimoto M, Azuma Y, Takemoto N, Yamashita A. Effects of the mycelial extract of cultured *cordyceps sinensis* on in vivo hepatic energy metabolism in the mouse. *Jpn. J. Pharmacol.* 1996;70(1):85-88.
69. 박은전, 김기영, 손동환, 김재백: The antifibrotic effects of polysaccharides extracted from *Gonoderma lucidum* on the experimental hepatic cirrhosis. *藥學會紙* 1994;3:338-344.

70. 김기영, 한상수, 김재택: Biliary liver fibrosis 實驗動物에서 인삼, 영지, 오미자의 항섬유화 약 효검색. 원광대학교 약품연구소보 1991;7:1-6.
71. Poupon RE, Huet PM, Poupon R, Bonnard AM, Nhieu JT, Zafrani ES. A randomized trial comparing colchicine and ursodesoxycholic acid combination to ursodesoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Hepatol.* 1996;24:1098-1103.
72. 신길구, 신씨본초학, 서울, 수문사, 1987, pp.183-188,347-350,366-371.
73. 신민교, 임상본초학, 서울, 영림사, 1997, pp.280-282,429,645-646,657-658, 669-671.
74. 전통의학연구소 편찬, 동양의학대사전, 서울, 성보사, 2000, pp.1217,1541, 1560,2198,2403.
75. 진존인, 한방의약대사전, 서울, 동도문화사, 1984, pp.260-263.
76. Kee Chang Huang, The pharmacology of Chinese Herbs, Florida, CRC Press, 1993, pp.201-203.
77. Tang W, Eisenbrand G, Chinese Drugs of plant Origin, Berlin, Springen-Verlag, 1992, pp.903-912.
78. Pao TT, Liu KT, Hsu KF, Ung CY, Fructus schizandrae. I. Effect on increased SGPT (serum glutamic pyruvic transaminase) levels in animals caused by hepatotoxic chemical agents. *Natl Med. J. China*, 1974;54:275-278.
79. Liu GT, WeiHL, Protection by Fructus schizandrea against acetaminophen hepatotoxicity in mice. *Acta. Pharm. Sin*, 1987;22:650-654.
80. Maeda S, Sudo K, Aburada M, Ikeya Y, Taguchi H, Yosioka I, Harada M, Phamacological studies on Schizandra fruit. I, General pharmacological effects of gomisin A and schisandrin. *Yakugaku Zasshi*, 1981;101:1030-1041.
81. Miyasaka N, Inoue H, et al., An immunomodulatory protein, Ling Zhi-8 facilitates cellular interaction through modulation of adhesion molecules. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992;186:385-390.
82. Kino K, Yamashita A, et al., Isolation and characterization of a new immunomodulatory protein, ling zhi-8 (LZ-8), from *Ganoderma lucidium*, *J. Biol. Chem.* 1989;264:472-478.
83. Kim RS, Kim HW, et al., Suppressive effects of *Ganoderma lucidum* on proliferation of peripheral blood mononuclear cells, *Mol. Cells.* 1997;7(1):52-57.
84. Haak-Frendscho M, Kino K, et al., Ling Zhi-8: a novel T cell mitogen induces cytokine production and upregulation of ICAM-1 expression. *Cell Immunol.* 1993;150:101-113.
85. Lieu CW, Lee SS, et al., The effect of *Ganoderma lucidum* on induction of differentiation in leukemic U937 cells. *Anticancer Res.* 1992;12:1211-1215.
86. Wang SY, Hsu ML, et al., The anti-tumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes. *Int. J. Cancer.* 1997;70(6):699-705.
87. Hikino H, Konno C, et al., Isolation and hypoglycemic activity of ganoderans A and B, glycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta Med.* 1985;51:339-340.
88. Hikino H, Ishiyama M, et al., Mechanisms of hypoglycemic activity of ganoderan B: a glycan of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta Med.* 1989;55:423-428.
89. Hikino H and Mizuno T, Hypoglycemic actions of some heteroglycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta Med.* 1989;55:385.
90. Kohda H, Tokumoto W, et al., The biologically active constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. Histamine release-inhibitory triterpenes. *Chem. Pharm. Bull.* 1985;33(3):1367-1374.



91. Tasaka K, M Mio, et al., Anti-allergic constituents in the culture medium of *Ganoderma lucidum*.(II). The inhibitory effect of cyclooctasulfur on histamine release. *Agents Actions*. 1988;23(3-4):157-160.
92. Kabir Y, Kimura S, et al., Dietary effect of *Ganoderma lucidum* mushroom on blood pressure and lipid levels in spontaneously hypertensive rats, *J. Nutr. Sci. Bitaminol.*, 1988;24:433-438.
93. Lin JM, Lin CC, et al., Evaluation of the anti-inflammatory and liver-protective effects of *anoectochilus formosanus*, *ganoderma lucidum* and *gynostemma pentaphyllum* in rats. *Am. J. Chin. Med.* 1993;21:59-69.
94. Lin JM, Lin CC, et al., Radical scavenger and antihepatotoxic activity of *Ganoderma formosanus*, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma neo-japonicum*. *J. Ethnopharmacol.* 1995;47:33-41.
95. 박성수, 염태환, *현대한방강좌*, 서울, 행림출판, 1985, p.110.
96. Haginiwa J and Harata M, Pharmacological studies on crude drugs VIII, A consideration on diuretic crude drugs, *Shoyakugaku Zasshi*, 1963;17:6.
97. Imai Y, Matsumura H and Aramaki Y, Hypocholesterolemic effect of alisol A-24-monoacetate and its related compounds in rats, *Jap. J. Pharmac.*, 1970;20:222.
98. Murata T, Imai Y Hirata Y and Miyamoto M, Biological active triterpenes of *Alismatis Rhizoma*, *Chem. Pharm. Bull.*, 1970;18(7):1347.
99. Ko ST, Crude drugs acting on the renal function. On *Atractylis*, *Hoelen*, *Alisma* and *Polyporus*, *Journal of the Pharmaceutical Society of Korea*, 1975;19:65.
100. Yun HS, Chung SH and Kim YS, Effect of alisols isolated from *Alisma orientale* Juzep. against several agonists in isolated rat ileum, *Kor. J. Pharmacog.*, 1981;12(4):200.
101. Hikino H, Iwagawa T, Oshima Y, Nishikawa K and Murata T, Diuretic principles of *Alisma plantago-aquatica* var. *orientale* Rhizomes, *Shoyakugaku Zasshi*, 1982;36:150.
102. Tanaka S, Akira T and Tabata M, Pharmacological analysis of the traditional Chinese prescription "Goreisan-ryo", *Yakugaku Zasshi*, 1984;104(6):601.
103. Nam SK et al., Studies on the efficacy of combined preparation of Crude Drugs(XXXI), *Kor. J. Pharmacogn.*, 1986;17(4):263.
104. Geng PW et al., Triterpenoids from the rhizomes of *Alisma plantago-aquatica*, *Phytochemistry*, 1988;27(4):1161.
105. Yoshikawa M, et al., Orientalols A, B and C sesquiterpeneconstituents from Chinese *Alismatis Rhizoma* and revised structures of alismol and alismoxide, *Chem. Pharm. Bull.*, 1992;40(9):2582.
106. Murata T, Shinohara M, Hirata T, Kamiya K, Nishikawa M and Miyamoto M, New triterpenes of *Alisma plantago - aquatica* L. var *orientale* Samuels, *Tetrahedron letters*, 1968;1:103.
107. 서민지, 텍사추출액이 benzopyrene에 의해 유도된 간장해에 미치는 영향, 효성여대 대학원 약학석사 학위 논문, 1994.
108. 이미현, 차전자 수침 엑스의 간보호 및 항섬유화에 관한 연구, 원광대학교 대학원 약학석사 학위논문, 2000.
109. Cameron, GR and Oakley CL, Ligation of the common bile duct, *J. Pathol*, 1932;35:769.
110. Kountras J, Billing BH, and Scheuer PJ, Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat, *Br. J. Exp. Pathol*, 1984;65:305.
111. Abdel-Aziz G, Lebeau G, Rescan PY, Clement B, Rissel M, Deugn RY, Campion JP, and Guillouzo, Reversibility of hepatic fibrosis

in experimentally induced cholestasis in rat,  
Am. J. Pathol., 1990;137(6):1333-1342.

112. 김병운 외, 간계내과학, 서울, 집문당, 1983,  
pp.84,92,116.

113. Jezequel AM, Mancini R, Rindaldesi ML,  
Macarri G, Venturini C and Orland F, A  
morphological study of the early stages of  
hepatic fibrosis induced by low doses of  
dimethylnitrosamine in the rat, J. hepatol.  
1987;5:174-181.