

## 加味清肝湯의 補肝作用에 對한 實驗的 研究

趙東逸 · 金東熙\*

### Abstract

#### Experimental Studies on the Protective Effect of Kamicheungkantang(KCKT) on Hepatic Damage Induced by CCl<sub>4</sub>

Jo Dong-il O.M.D, Kim Dong-hee O.M.D., Ph. D.

Dept. of Oriental Medicine Pathology

College of Oriental Medicine, Daejeon University, Daejeon, Korea

In order to evaluate the protective effect of Kamicheungkantang(KCKT) on hepatic damage induced by CCl<sub>4</sub>, the study was done. The blood chemistry and histological study were done following oral administration with materials. The results were obtained as follows.

1. KCKT extracts didn't show cytotoxicity against BALB/C mouse lung fibroblast cell.
2. In the hepatotoxicity with CCl<sub>4</sub>, serum alanine aminotransferase(ALT) was significantly decreased in KCKT treated group as compared with control group.
3. In the hepatotoxicity with CCl<sub>4</sub>, serum aspartate aminotransferase (AST) was significantly decreased in KCKT treated group as compared with control group.
4. In the hepatotoxicity with CCl<sub>4</sub>, serum alkaline phosphatase(ALP) was significantly decreased in KCKT treated group as compared with control group.
5. In the hepatotoxicity with CCl<sub>4</sub>, serum lactate dehydrogenase(LDH) was insignificantly decreased in KCKT but insignificantly as compared with control group.
6. In the hepatotoxicity with CCl<sub>4</sub>, serum cholestorol was significantly decreased in KCKT treated group as compared with control group.
7. In the hepatotoxicity with CCl<sub>4</sub>, serum triglyceride was insignificantly decreased in KCKT treated groups as compared with data of control.
8. In the hepatotoxicity with CCl<sub>4</sub>, serum total bilirubin, direct bilirubin,  $\gamma$ -GTP were not changed in KCKT treated groups as compared with data of control.
9. In histopathological changes, fatty changes, vacuole, nucleotic changes and fibrosis were observed in control group and degree of changes was increased over time. Whereas no differences were observed in KCKT treated group

These results suggested that KCKT extracts might be usefully applied for treatment of hepatic disease and also it was necessary to do more studies about its mechanisms.

---

\* 大田大學校 韓醫科大學 韓方病理學教室

## I. 緒 論

最近 인스턴트 위주의 食生活, 과다한 스트레스와 음주, 各種 藥物의 誤濫用, 環境問題로 인한 中毒 등과 더불어 運動量의 減少로 인하여, 肝損傷으로 인한 肝疾患의 發生이 增加 趨勢에 있고, 이러한 肝損傷이 계속 進行되어 肝癌이나 肝硬變 등의 重大한 病變을 招來한다는 점에서 社會的으로 問題視 되고 있다.<sup>1,2)</sup>

韓醫學에서의 肝損傷이란 黃疸, 積聚, 鼓脹, 脇痛, 脹滿證, 勞倦傷 및 酒傷 등의 範疇에서 取扱하고 있으며<sup>3-5)</sup>, 이러한 疾患 및 症狀에 따른 多様な 藥物 과 處方이 古來로 治療와 豫防을 위해 應用되어 왔다.

韓醫學에서 肝損傷에 對한 單一 藥物의 實驗的 研究로는 崔<sup>6,7)</sup> 등이 人蔘, 金 등이 熟地黃<sup>8)</sup>, 朴<sup>9)</sup>이 茵陳蒿의 補肝作用에 關하여 報告한 바가 있으며, 處方에 對한 研究로는 慎<sup>10)</sup>이 小柴胡湯을, 朴<sup>11)</sup>이 茵陳四苓散을, 郭 등<sup>12)</sup>이 胃苓湯 및 茵陳五苓散을, 吳 등<sup>13)</sup>이 茵陳蒿湯을, 李<sup>14)</sup>가 紅蔘補肝湯을 試料로 肝損傷에 미치는 影響을 報告한 바가 있다.

이 밖에도 羅 등<sup>15)</sup>이 麝香, 牛黃, 熊膽 藥針의 肝損傷에 대한 效果와 姜 등<sup>16)</sup>이 飲酒 患者에 禁酒 鍼을 實施하여 肝機能 檢査 變化를 報告한 臨床 研究 등 鍼灸 治療에 대한 研究 등 肝損傷에 대한 多様な 實驗 臨床的 研究가 있다.

무엇보다도 韓藥材가 天然物이라는 점에서 正確한 辨證施治가 이루어지면 洋方藥에 비하여 肝에 毒性을 주지 않고, 원하는 治療 效果를 얻을 수 있게, 이에 대한 研究는 無限한 可能性이 있다.

이에 著者는 肝損傷에 使用할 수 있는 新規 韓方 處方 開發을 위하여 現在 中國에서 肝炎 등의 肝損傷에 使用되고 있는 處方을 入手하여, 이를 試料로 肝損傷에 미치는 影響을 實驗的으로 料明하고, 이를 바탕으로 새로운 處方을 開發하고자 中國 處方을 '加味清肝湯'으로 假名한 후 가장 基本的인 方法인 血液學 및 組織學的 檢査를 實施하였다.

## II. 實 驗

### 1. 材 料

#### 1) 動物

動物은 雄性 4주령의 SD(Sprague Dawley) 생쥐를 韓國化學研究所에서 공급받아 實驗當日까지 固形飼料(항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 供給하고 室溫 22±2℃를 계속 維持하면서 2週日間 實驗室 環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

#### 2) 藥 物

本 實驗에 使用한 加味清肝湯(KCKT)의 構成 藥劑는 大田大學校 附屬韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였고, 處方 1貼의 內容과 分量은 다음과 같다.

### □ Prescription of KCKT □

藥 物 名	生 藥 名	用 量(g)
虎 杖 根	<i>Polygoni Cuspidati Rhizoma</i>	10
山 豆 根	<i>Sophorae Tonkinensis Radix</i>	10
龍 膽	<i>Gentianae Radix</i>	3
大 黃	<i>Rhei Radix et Rhizoma</i>	3
白 花 蛇 舌 草	<i>Oldenlandiae Diffusae Herba</i>	10
連 翹	<i>Forsythiae Fructus</i>	3
黃 芪	<i>Astragali Radix</i>	6
山 楂 子	<i>Crataegii Fructus</i>	6
赤 芍 藥	<i>Paeonia Radix Rubra</i>	6
茅 根	<i>Imperatae Rhizoma</i>	6
鱉 甲	<i>Trionycis Carapax</i>	3
薑 黃	<i>Curcumae Longae Rhizoma</i>	6
鬱 金	<i>Curcumae Radix</i>	3
當 歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	3
紅 蔘	<i>Ginseng Radix</i>	6
枸 杞 子	<i>Lycii Fructus</i>	6
五 味 子	<i>Schizandrae Fructus</i>	6
石 菖 蒲	<i>Acori Graminei Rhizoma</i>	6
柴 胡	<i>Bupleuri Radix</i>	6
三 七	<i>Notoginseng Radix</i>	3
牡 丹 皮	<i>Moutan Cortex</i>	4
總 量		115

2. 方法

1) 試料의 製造

KCKT 10貼 分量(115g)에 蒸溜水 2,000ml을 添加하여 熱湯 抽出器에서 3時間 동안 抽出하여 抽出液을 얻고, 이를 吸入 濾過하여 濾液을 減壓蒸溜裝置(Rotary evaporator, Buchi 461, switzerland)로 減壓 濃縮하고, 濃縮液을 다시 凍結 乾燥器(Freeze dryer, FDU-540, Eyela, U.S.A)를 이용하여 完全 乾燥하여 32g을 얻어 冷凍 保管하였으며, 實驗에 適當 溫度로 溶液을 製造하여 使用하였다.

2) 細胞培養

생쥐의 정상 lung fibroblast 細胞(mLFC)는 BALB/c 생쥐의 肺組織을 cool D-PBS로 3회 洗滌한 후 작은 조각으로 切斷하여 conical tube(15 ml)에 넣고, 1,400 rpm에서 5분간 遠心分離 하였다. Tube에 다시 DMEM (containing collagenase A(5mg/ml, BM, Indianapolis, IN, U.S.A.)와 DNase type I(0.15mg/ml, Sigma), antibiotics (penicillinm 10<sup>4</sup>U/ml, streptomycin 10mg/ml, amphotericin B 25μg/ml))를 넣고 37 °C CO<sub>2</sub> 培養器에서 2時間 동안 培養하였다. 0.5% trypsin-0.2% EDTA를 添加한 후 30 분간 계속 培養 후 인산 완충 生理食鹽水(PBS)로 약 2회 1,500 r.p.m에서 遠心分離한 후 DMEM-10% FBS에 1 주일 동안 培養하였다. 1 주일 후 0.5% trypsin-0.2% EDTA로 mLFC 細胞를 分離하여 DMEM-5% FBS 培養液에 10<sup>5</sup>cells/ml 濃度로 맞추어 96 well plate에 분주하였다.

3) CCl<sub>4</sub>(四鹽化炭素)中毒 肝損傷 誘發 및 檢液投與

Rat 8마리를 1群으로 하여 CCl<sub>4</sub>를 투여하지 않은 正常群, CCl<sub>4</sub>를 olive oil로 1:3으로 희석한 용액을 0.4ml씩 2일 間隔으로 7회 腹部로 注射하여 肝損傷을 유발시키고 採血 直前까지 飲用水를 供給한 對照群, CCl<sub>4</sub>로 對照群과 同一한 方法으로 肝損傷을 誘發시킨 후 KCKT와 飲用水를 24일간 經口 投與한 實驗群으로 各各 分類하여 24日째 血清을 얻어 血液檢査에 使用하였다.

□ CCl<sub>4</sub>에 의한 肝損傷과 藥物 服用

Group \ day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Control	★		★		★		★		★		★	
KCKT	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥

Group \ day	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Control	★	14 일째 犧牲										
KCKT	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	♥	B.Tt.

+ B.T : Blood test

4) 各種 血清性分 含量 測定

血清中 total protein, cholesterol, triglyceride, transaminase (aspartate amino transferase(AST), alanine amino transferase(ALT)), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase(LDH), total cholesterol, γ-GTP, total bilirubin 및 direct bilirubin 含量은 自動生化學分析機, Express 550(Ciba-Corning Co., U.S.A)을 사용하여 測定하였다.

5) 組織學的 變化 觀察

(1) hematoxylin & eosin(H&E) 염색

실험 동물은 도살 12 시간 전에 식이를 중단시키고 공복 상태에서 에테르 흡입 마취시킨 다음 복부와 흉곽을 절개한 뒤 심장을 천자하여 혈액을 채취하고 곧 바로 간을 적출한 다음 나머지 혈액을 제거하였다.

적출한 간은 좌, 우엽 일정 부위를 적당한 크기로 자른 다음 통상의 방법에 따라 10% 중성 포르말린에 48시간 동안 고정하고 조직내 고정액 제거를 위해 흐르는 물에 수세를 하고 60% 알콜 농도로부터 농도 상승 순으로 탈수하였다. 탈수과정을 거친 다음 toluene 에 투명과정을 거친 다음 용해된 파라핀에 침투 및 포매 과정을 거쳐 블럭을 제작하였다. 만들어진 블럭은 4μm 두께로 절편을 만들어 일반적인 변화를 관찰하기 위해 hematoxylin 과 eosin(H&E) 염색을 실시하여 광학현미경하에서 관찰 및 사진 촬영하였다.

### III. 實驗成績

#### 1. BALB/C mouse lung fibroblast cell에 對한 細胞毒性

本 試料의 正常細胞에 對한 細胞毒性 發顯 與否를 評價하기 爲하여 實施한 BALB/C mouse lung fibroblast cell에 對한 細胞毒性 實驗에서는 1, 10, 50, 100, 200( $\mu\text{g/ml}$ ) 濃度에서 모두 95% 以上の 細胞生存率을 나타내어 細胞毒性은 나타나지 않았다(Table. I).

Table I. Cytotoxic Effect of KCKT on BALB/C Mouse Lung Fibroblast Cell

Conc.( $\mu\text{g/ml}$ )	Percent of control
Control	100 $\pm$ 2.56
1	102.1 $\pm$ 3.24
10	98.2 $\pm$ 1.23
100	91.3 $\pm$ 3.25
200	92.4 $\pm$ 1.78

#### 2. 臨床化學 指數에 미치는 影響

##### 1) KCKT가 ALT에 미치는 影響

$\text{CCl}_4$ 로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中 ALT를 測定한 結果 正常群은 25.8 $\pm$ 1.48(U/L)인데 반하여 對照群은 40.8 $\pm$ 1.45(U/L)로 增加하였고, KCKT 投與群은 32.5 $\pm$ 1.76(U/L)로 對照群에 비하여 有意性있는 減少를 나타내었다(Table II, Fig. 1).

Table II. Effects KCKT on ALT in  $\text{CCl}_4$ -treated Rats

Group	No. of animals	ALT(U/L)	P-value
Normal	8	25.8 $\pm$ 1.48 <sup>a)</sup>	
Control	8	40.8 $\pm$ 1.45	
KCKT	8	32.5 $\pm$ 1.76	p<0.05

\* Normal : Non treated group. Control :  $\text{CCl}_4$  treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and  $\text{CCl}_4$  treated group.

<sup>a)</sup> : Mean  $\pm$  S.E.

P-value : Statistically significant value compared with control data.

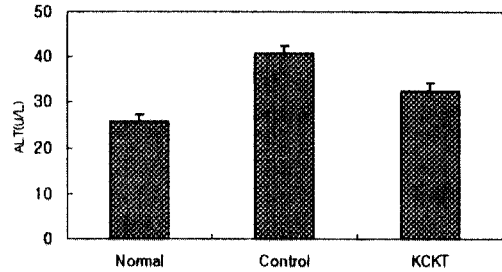


Fig. 1. Effects KCKT on ALT in  $\text{CCl}_4$ -treated rats.

Normal : Non treated group.

Control :  $\text{CCl}_4$  treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and  $\text{CCl}_4$  treated group.

##### 2) KCKT가 AST에 미치는 影響

$\text{CCl}_4$ 로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中 AST를 測定한 結果, 正常群은 85.4 $\pm$ 7.2(U/L)인데 반하여 對照群은 134.3 $\pm$ 9.45(U/L)로, KCKT 投與群은 109.7 $\pm$ 2.54(U/L)로 對照群에 비하여 有意性(p<0.05)있는 減少를 나타내었다(Table III, Fig. 2).

Table III. Effects KCKT on AST in  $\text{CCl}_4$ -treated Rats

Group	No. of animals	AST(U/L)	P-value
Normal	8	85.4 $\pm$ 7.2 <sup>a)</sup>	
Control	8	134.3 $\pm$ 9.45	-
KCKT	8	109.7 $\pm$ 2.54	p<0.05

\* Normal : Non treated group. Control :  $\text{CCl}_4$  treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and  $\text{CCl}_4$  treated group.

a) : Mean ± S.E.

P-value : Statistically significant value compared with control data.

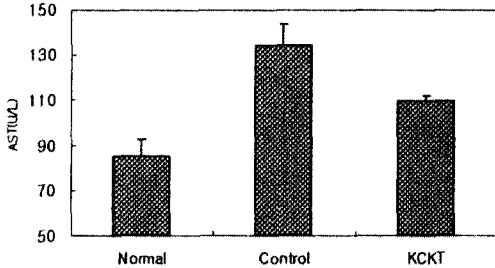


Fig. 2. Effects KCKT on AST in CCl<sub>4</sub>-treated rats.

Normal : Non treated group.

Control : CCl<sub>4</sub> treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

3) KCKT가 ALP에 미치는 影響

CCl<sub>4</sub>로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中 ALP를 測定한 結果, 正常群은 37.0±2.13(U/L)으로, 對照群은 59.6±3.23(U/L)로, KCKT 投與群은 43.7±2.09(U/L)로 對照群에 비하여 有意性(p<0.05)있는 減少를 나타내었다(Table IV, Fig. 3).

Table IV. Effects KCKT on ALP in CCl<sub>4</sub>-treated Rats

Group	No. of animals	ALP(U/L)	P-value
Normal	8	37.0±2.13 <sup>a)</sup>	
Control	8	59.6±3.23	
KCKT	8	43.7±2.09	p<0.05

\* Normal : Non treated group. Control : CCl<sub>4</sub> treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

a) : Mean ± S.E.

P-value : Statistically significant value compared with control data.

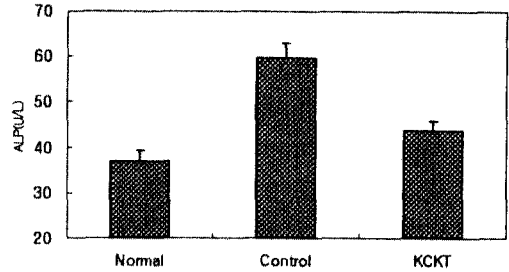


Fig. 3. Effects KCKT on ALP in CCl<sub>4</sub>-treated rats.

Normal : Non treated group.

Control : CCl<sub>4</sub> treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

4) KCKT가 LDH에 미치는 影響

CCl<sub>4</sub>로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中 LDH를 測定한 結果, 正常群은 770.5±45.8(U/L)로, 對照群은 1457.3±102.4(U/L)로, KCKT 投與群은 1237.5±79.8(U/L)로 對照群에 비하여 減少하였으나 有意性은 나타나지 않았다(Table V).

Table V. Effects KCKT on LDH in CCl<sub>4</sub>-treated Rats

Group	No. of animals	LDH(U/L)	P-value
Normal	8	770.5±45.8 <sup>a)</sup>	-
Control	8	1457.3±102.4	-
KCKT	8	1237.5±79.8	-

\* Normal : Non treated group. Control : CCl<sub>4</sub> treated group.

a) : Mean ± S.E.

KCKT : Kamicheungkantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

P-value : Statistically significant value compared with control data.

5) KCKT가 cholesterol에 미치는 影響

CCl<sub>4</sub>로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中 chole-

sterol치를 測定한 結果, 正常群은 41.3±5.56 (mg/dl)로, 對照群은 56.3±2.34(mg/dl)로, KCKT 投與群은 46.1±2.78(mg/dl)으로 對照群에 비하여 有意性(p<0.05)있는 減少를 나타내었다(Table VI, Fig. 4).

Table VI. Effects KCKT on Cholesterol in CCl<sub>4</sub>-treated Rats

Group	No. of animals	Cholesterol(mg/dL)	P-value
Normal	8	41.3±5.56 <sup>a)</sup>	
Control	8	56.3±2.34	
KCKT	8	46.1±2.78	p<0.05

※ Normal : Non treated group. Control : CCl<sub>4</sub> treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

<sup>a)</sup> : Mean ± S.E.

P-value : Statistically significant value compared with control data.

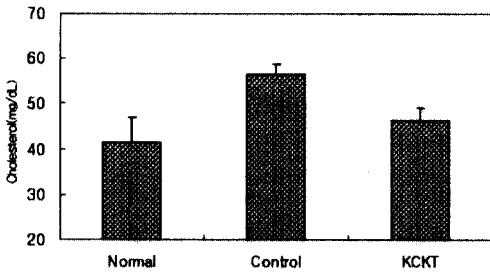


Fig. 4. Effects KCKT on Cholesterol in CCl<sub>4</sub>-treated rats.

Normal : Non treated group.

Control : CCl<sub>4</sub> treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

6) KCKT가 triglyceride에 미치는 影響

CCl<sub>4</sub>로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中 triglyceride 치를 測定한 結果, 正常群은 95.9±6.21(mg/dl)로,

對照群은 145.0±12.4(mg/dl)으로, KCKT 投與群은 127.6±11.5(mg/dl)으로 對照群에 비하여 減少하였으나 有意性은 나타나지 않았다(Table VII).

Table VII. Effects of KCKT on Triglyceride in CCl<sub>4</sub>-treated Rats

Group	No. of animals	Triglyceride (mg/dL)	P-value
Normal	8	95.9±6.21 <sup>a)</sup>	
Control	8	145.0±12.4	
KCKT	8	127.6±11.5	-

※ Normal : Non treated group. Control : CCl<sub>4</sub> treated group.

<sup>a)</sup> : Mean ± S.E.

KCKT : Kamicheungkantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

7) KCKT가 total protein에 미치는 影響

CCl<sub>4</sub>로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中 total protein치를 測定한 結果, 正常群은 6.61±0.2(g/dl)로, 對照群은 6.19±0.2(g/dl)으로, KCKT 投與群은 6.23±0.4(g/dl)으로 對照群과 差異가 나타나지 않았다(Table VIII).

Table VIII. Effects of KCKT on Total Protein in CCl<sub>4</sub>-treated Rats

Group	No. of animals	Total Protein (g/dL)	P-value
Normal	8	6.61±0.2 <sup>a)</sup>	
Control	8	6.19±0.2	
KCKT	8	6.23±0.4	-

※ Normal : Non treated group. Control : CCl<sub>4</sub> treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

<sup>a)</sup> : Mean ± S.E.

8) KCKT가 total bilirubin에 미치는 影響

CCl<sub>4</sub>로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中 total bilirubin치를 測定한 結果, 正常群은 0.00±0.0 (mg/dl)로, 對照群은 0.15±0.02(mg/dl)으로, KCKT 投與群은 0.10±0.01(mg/dl)으로 對照群에 비하여 減少하였으나 有意性은 나타나지 않았다(Table IX).

Table IX. Effects of KCKT on Total Bilirubin in CCl<sub>4</sub>-treated Rats

Group	No. of animals	Total bilirubin(mg/dL)	P-value
Normal	8	0.00±0.0 <sup>a)</sup>	
Control	8	0.15±0.02	
KCKT	8	0.10±0.01	-

\* Normal : Non treated group. Control : CCl<sub>4</sub> treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

<sup>a)</sup> : Mean ± S.E.

P-value : Statistically significant value compared with control data.

9) KCKT가 direct bilirubin에 미치는 影響

CCl<sub>4</sub>로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中 direct bilirubin치를 測定한 結果, 正常群은 0.00±0.0 (mg/dl)로, 對照群은 0.1±0.00(mg/dl)으로, KCKT 投與群은 0.1±0.00(mg/dl)으로 對照群과 同一하게 나타나 變化가 없었다(Table X).

Table X. Effects of KCKT on Direct Bilirubin in CCl<sub>4</sub>-treated Rats

Group	No. of animals	Direct bilirubin (mg/dL)	P-value
Normal	8	0.00±0.0 <sup>a)</sup>	
Control	8	0.1±0.00	
KCKT	8	0.1±0.00	-

\* Normal : Non treated group. Control : CCl<sub>4</sub>

treated group.

KCKT : Kamicheungkantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

<sup>a)</sup> : Mean ± S.E.

P-value : Statistically significant value compared with control data.

10) KCKT가  $\gamma$ -GTP에 미치는 影響

CCl<sub>4</sub>로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中  $\gamma$ -GTP치를 測定한 結果, 正常群은 0.00±0.0(IU/L)로, 對照群은 1.0±0.00(IU/L)으로, KCKT 投與群 역시 1.0±0.00(IU/L)으로 對照群과 同一하게 나타나 變化가 없었다(Table XI).

Table XI. Effects of KCKT on  $\gamma$ -GTP in CCl<sub>4</sub>-treated Rats

Group	No. of animals	$\gamma$ -GTP(IU/L)	P-value
Normal	8	0.00±0.0 <sup>a)</sup>	
Control	8	1.0±0.00	
KCKT	8	1.0±0.00	-

\* Normal : Non treated group. Control : CCl<sub>4</sub> treated group.

KCKT : Kamihongsambogantang and CCl<sub>4</sub> treated group.

<sup>a)</sup> : Mean ± S.E.

P-value : Statistically significant value compared with control data.

Table XII. Summary of Effects of KCKT on the Blood Chemistry in Rats with the Damage of Liver induced by CCl<sub>4</sub>

	ALT	AST	ALP	LDH	Chol-esterol
KCKT	+	+	+	-	+

	Tri-glyceride	Total Protein	Total Bilirubin	Direct Bilirubin	$\gamma$ -GTP
KCKT	-	-	-	-	-

\* P-value : p<0.05 ; +

3. 組織學的 變化에 미치는 影響

正常群에서 觀察된 肝의 組織學的 所見으로는 中心靜脈(central vein)을 中心으로 肝細胞들은 放射狀으로 잘 配列되어 있고(간세포 삭(hepatic cell cord)), 門脈域(portal area)을 中心으로 한 典型的인 肝小葉(hepatic lobule) 構造가 잘 관찰되었다 (Fig. 5).

對照群에서의 觀察 所見으로는 肝細胞의 局所 壞死가 末端 肝靜脈(terminal hepatic vein) 周邊과 中心靜脈 周邊에서 觀察되고, 肝細胞에는 심한 脂肪 變성과 함께 크고 작은 空胞性 變化들이 觀察되었다. 一部 肝細胞에서는 심한 核의 濃縮과 門脈과 小葉 周邊에서는 纖維化를 同伴한 炎症性 細胞의 出現과 結節性 病變이 觀察되어 正常 構造에서 볼 수 있는 肝細胞索 構造나 典型的인 肝小葉 構造는 나타나지 않았다(Fig. 6).

KCKT 投與群에서는 中心靜脈 周邊에서 炎症細胞나 壞死 所見은 觀察되지 않으나 脂肪 細胞들이 中間領域에 까지 觀察되어 對照2群과 比較하여 다소 好轉된 肝小葉構造를 하고 있었다(Fig. 7).

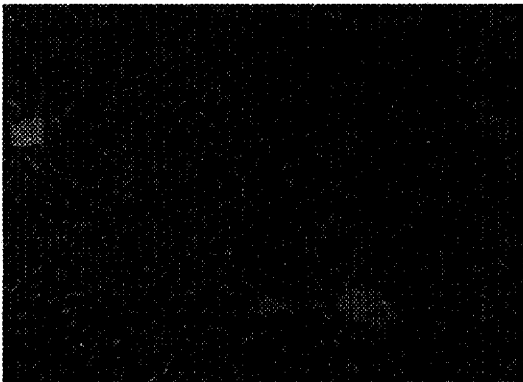


Fig. 5. Light micrographs of liver, normal group. H&E, x 100

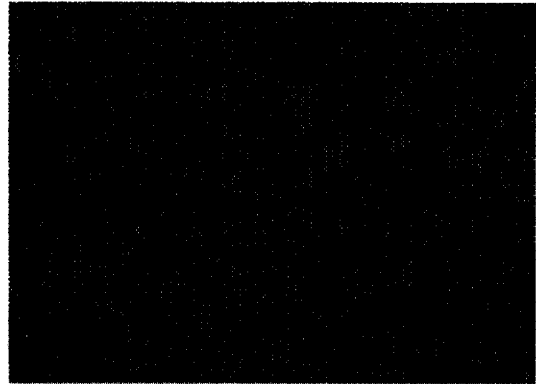


Fig. 6. Light micrographs of liver, control group, H&E, x 100

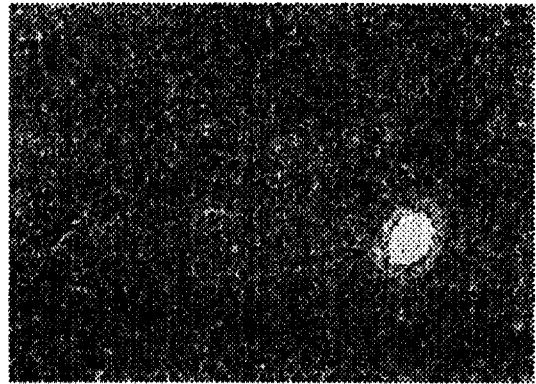


Fig. 7. Light micrographs of liver, KCKT treated group. H&E, x 100

IV. 考 察

韓醫學에서 肝疾患은 氣鬱, 火, 陰血不足 및 濕熱 등의 病因에 의해 이루어지며, 주로 黃疸, 脇痛, 積聚, 鼓脹의 範疇에서 다루어지고 있으며<sup>3-5)</sup>, 治療法으로 淸熱利濕, 養肝, 健脾益腎, 疏肝理氣 및 調理脾胃 등 다양한 治法이 應用되고 있다.

西洋醫學에서는 肝疾患 크게 肝實質性과 肝膽道性 및 血管性으로 大別하고 있는데, 이 중 實質性은 急性性肝炎, 肝硬變症, 浸潤, 空間占有病巢, 黃疸性 肝機能障礙 등으로, 肝膽道性은 肝外膽道狹窄과 膽管炎으로, 血管性에는 慢性受動性鬱血, 心臟性硬變症, 肝靜脈血栓, 門脈血栓 및 門脈炎 等으



로 分類하고 있다<sup>17,18)</sup>.

最近 現代 社會의 複雜性으로 인한 過다한 스트레스와 음주, 인스턴트 위주의 食生活, 各種 藥物의 誤濫用, 環境問題로 인한 中毒 등과 더불어 運動量의 減少로 인하여, 上記한 肝疾患이 增加 趨勢에 있어, 이에 대한 治療法 開發이 醫療界의 當面 課題로 남아 있다.

西洋 醫學에서는 分子生物學的의 發展으로 많은 治療劑의 開發이 있었으나, 肝疾患의 特性上 早期 發見이 어렵고, 藥物 自體가 化學 物質이라는 점에서, 效果的인 治療 結果를 얻고 있지 못하는 實情이다.

따라서 最近에는 天然物에서 治療劑를 구하려는 研究가 本格的으로 試圖되고 있어, 天然物인 韓藥劑에 대한 研究는 無限한 可能性이 있다.

이러한 現實的 背景으로 韓醫學界에서도 古來로 黃疸, 脇痛, 積聚 및 鼓脹 등의 肝疾患에 應用되었던 單一 藥物과 處方을 中心으로 多樣한 實驗的 研究가 이루어지고 있으며, 姜 등<sup>16)</sup>은 禁酒鍼과 生肝健脾湯을 투여하여 肝機能 變化를 報告하는 등 臨床的 研究도 활발하게 이루어지고 있다.

이에 著者는 肝損傷에 使用할 수 있는 新規 韓方 處方 開發을 위하여 現在 中國에서 肝炎 등의 肝損傷에 使用되고 있는 處方을 入手하여, 이를 試料('加味清肝湯')로 CCl<sub>4</sub>(四鹽化炭素) 肝損傷 病態 모델을 이용하여 血液學 및 組織學的 變化를 檢索하여 보았다.

肝損傷을 誘發하는 化學物質로는 CCl<sub>4</sub>(四鹽化炭素), chloroform, phosphorus, ethionnine, dimethylnitrosamine, thioacetamide 등<sup>19,20)</sup>이 많이 使用되는 데, 本 實驗에서 使用된 肝 損傷誘發 物質인 四鹽化炭素는 1921년 殺蟲劑로 開發된 化學物質로 肝의 脂肪變成, 壞死, 肝纖維化, 酵素活性 增加 및 肝硬變의 誘發 등을 일으켜, 肝損傷 實驗에서 가장 廣範圍하게 使用되는 物質이다<sup>20,21)</sup>.

In vivo 實驗에 앞서 本 試料의 正常細胞에 對한 細胞毒性 發顯 與否를 評價하기 위하여 實施한 BALB/C mouse lung fibroblast cell에 對한 細胞毒性 實驗에서는 모든 實驗 濃度에서 모두 95% 以上の 細胞生存率을 나타내어 細胞毒性은 나타나

지 않았다(Table. I).

이같은 結果는 藥物의 服用時 正常細胞에 對한 副作用없이 癌細胞에 選擇的으로 作用할 수 있음을 나타내주고 있으며, 向後 血液學的 分析 등의 理化學的 檢査를 통한 多樣한 毒性 檢査를 實施하여 毒性이 나타나지 않을 경우 長期服用이 可能할 것으로 思料된다.

AST는 主로 心臟, 肝, 骨格에 ALT는 主로 肝에 많이 存在하며 輕症 肝細胞 損傷에는 cytoplasmic AST와 ALT가 上昇하며 重症 肝細胞 損傷에는 mitochondrial AST가 上昇하여 AST/ALT ratio가 上昇한다<sup>22,23)</sup>.

ALP는 身體의 거의 모든 組織에 分布하는데 膽汁鬱滯, 空間占有性 病變(腫瘍, 膿瘍)에서는 高度의 增加를 보이고 受動性 肝鬱血, 黃疸을 일으키는 肝損傷(輕度の 膽汁鬱滯)에서는 中等度の 增加를 보인다<sup>22,23)</sup>.

LDH는 動物의 모든 組織에 存在하는 偏在性 酵素로 肝臟, 筋肉, 腎臟, 肺, 脾臟, 血球등에 多量 存在하며 肝炎, 閉塞性 黃疸, 肝硬化, chronic renal disease, Myxedema 등의 疾患에서 輕度の 增加를 나타낸다<sup>22,23)</sup>.

Triglyceride는 serum중에서 neutral fat의 90-94%를 차지하며 serum 中에서는 protein과 結合된 lipoprotein의 可溶性 形態로 存在하여 脂肪肝 등의 肝疾患에서 上昇한다<sup>22,23)</sup>.

Cholesterol은 動物性 飲食등 飲食物 攝取와 肝에서의 合成 그리고 膽道에서의 排泄등으로 決定되는데 膽道 閉塞등의 疾患에서 增加하며 動脈硬化性 疾患을 발생하기 쉽다<sup>22,23)</sup>.

Total protein은 알부민이 肝에서 生成되므로 慢性 肝疾患에서는 減少의 傾向을 나타내기도 한다. Bilirubin은 肝炎과 같은 肝疾患, alcoholism, 膽道 閉塞 등의 肝細胞 損傷에서 增加한다<sup>22,23)</sup>.

γ-GTP는 肝臟, 腎臟, 脾臟, 膵臟등에 存在하며 源發成 膽道成 肝硬變症과 硬化性 膽管炎 등 慢性 膽汁鬱滯에서는 高度의 增加를 알코올, 過體重, 藥物 投與等에서는 輕度の 增加를 나타낸다<sup>22,23)</sup>.

上記한 肝損傷의 血液學的 指標를 檢索한 結果 CCl<sub>4</sub>로 肝損傷이 誘發된 白鼠의 血清中 ALT는

加味清肝湯 投與群에서 對照群에 비하여 有意性인 ( $p < 0.05$ )는 減少를 나타내었고 (Table II, Fig. 1), AST는 역시 對照群에 비하여 有意性( $p < 0.05$ )있는 減少를 나타냄으로써 (Table III, Fig. 2), 肝의 異常으로 上升된 AST와 ALT 活性을 減少시켰다.

血清中 ALP 數值 變化에서도 加味清肝湯 投與群에서 對照群에 비하여 有意性( $p < 0.05$ )있는 減少를 나타내어 (Table IV, Fig. 3), AST와 ALT 活性 結果와 附合되어 肝損傷 回復에 本 試料가 效果의 임을 示唆해주고 있다. 이와 더불어 閉塞性肝疾患, 脂肪肝 등의 疾患을 誘發시키는 cholesterol<sup>22,23)</sup> 變化에서는 對照群에 비하여 有意性( $p < 0.05$ )있는 減少를 나타내었다 (Table VI, Fig. 4).

그러나 cholesterol 變화와 相關性을 지니고 있는 LDH, triglyceride 數値는 對照群에 비하여 減少하였으나 有意性은 나타나지 않았고 (Table V, VII), total protein 수치 역시 對照群과 큰 차이는 없었다 (Table VIII).

血清中 total bilirubin, direct bilirubin 및  $\gamma$ -GTP 數値에서는 對照群, 加味清肝湯 投與群 모두에서 同一하게 나타나 (Table IX, X, XI), 큰 變化가 없었다.

마지막으로 組織學的 觀察에서는, 正常群에서 中心靜脈(central vein)을 中心으로 肝細胞들은 放射狀으로 잘 配列되어 있고(간세포삭(hepatic cell cord)), 門脈域(portal area)을 中心으로 한 典型的인 肝小葉(hepatic lobule) 構造가 잘 관찰되었다 (Fig. 5). 이에 반하여 對照群에서는 肝細胞의 局所 壞死가 末端 肝靜脈(terminal hepatic vein) 周邊과 中心靜脈 周邊에서 觀察되고, 肝細胞에는 심한 脂肪 變성과 함께 크고 작은 空胞性 變化들이 觀察되었다. 一部 肝細胞에서는 심한 核의 濃縮과 門脈과 小葉 周邊에서는 纖維化를 同伴한 炎症性 細胞의 出現과 結節性 病變이 觀察되어 正常 構造에서 볼 수 있는 肝細胞索 構造나 典型的인 肝小葉 構造는 나타나지 않았다 (Fig. 6).

KCKT 投與群에서는 中心靜脈 周邊에서 炎症細胞나 壞死 所見은 觀察되지 않으나 脂肪 細胞들이 中間領域에 까지 觀察되어 對照群과 比較하여 다소 好轉된 肝小葉構造를 하고 있었다 (Fig. 7).

以上の 結果로 보아 AST, ALT, ALP, cholestol 에서의 有意性있는 減少 및 組織學的인 變化 등으로 보아 加味清肝湯은 有意한 肝保護 作用이 認定되어, 向後 多様な 藥物 加味를 통한 持續的인 研究가 必要할 것으로 思料된다.

## V. 結 論

加味清肝湯(KCKT)의 肝損傷 回復 效能을 實驗的으로 糾明하기 위하여 四鹽化炭素로 誘發된 病態 모델의 血液檢査를 實施하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 正常 lung fibroblast cell에 대한 細胞毒性에서 1, 10, 50, 100, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 각 濃度에서 모두 95% 以上の 細胞 生存率을 나타내어 細胞毒性은 나타나지 않았다.
2. 血清中 ALT 數値는 加味清肝湯 投與群에서 對照群에 비하여 有意性있는 減少를 나타내었다.
3. 血清中 AST 數値는 加味清肝湯 投與群에서 對照群에 비하여 有意性있는 減少를 나타내었다.
4. 血清中 ALP 數値는 加味清肝湯 投與群에서 對照群에 비하여 有意性있는 減少를 나타내었다.
5. 血清中 LDH 數値는 加味清肝湯 投與群에서 對照群에 비하여 減少하였으나 有意性은 나타나지 않았다.
6. 血清中 cholesterol 數値는 加味清肝湯 投與群에서 對照群에 비하여 有意性있는 減少를 나타내었다.
7. 血清中 triglyceride 數値는 加味清肝湯 對照群에 비하여 減少하였으나 有意性은 나타나지 않았다.
8. 血清中 total bilirubin, direct bilirubin,  $\gamma$ -GTP 數値는 加味清肝湯 投與群에서 對照群과 同一하게 나타났다.
9. 組織學的 觀察에서는, 加味清肝湯 投與群에서는 中心靜脈 周邊에서 炎症細胞나 壞死 所見은 觀察되지 않으나 脂肪 細胞들이 中間領域에 까지 觀察되어 對照群과 比較하여 다소 好轉된 肝小葉構造를 하고 있었다.

以上の 結果로 보아 加味清肝湯은 多様な 肝疾患에 活用 可能할 것으로 보이며, 向後 이에 대한 多様な 機轉 研究와 더불어 數種의 藥物 檢索을 통한 相乘作用에 대한 持續的인 研究가 이루어져야 할 것으로 思料된다.

### 參 考 文 獻

1. 서광의학서립편집부 역 : 간장병의 진단학. 서광의학서립, 광주, pp.115-117, 375-376, 439-440, 443-447, 1991.
2. T. Fujita and Y. Fujimoto : Formation and removal of active oxygen species and lipid peroxidies in biological system, Folia pharmacol. japon., 99 : 381, 1992.
3. 李定濟, 金秉雲 : 東醫肝系內科學, 서울, 集文社, p.28, p.30, pp.51-53, p.85, 1983.
4. 金秉雲外 : 肝系內科學, 서울, 東洋醫學研究所出版部, pp.24-30, 1992.
5. 文濬典外 : 東醫病理學, 서울 高文社, p.331, 1990.
6. 崔永祚 : 人蔘이 CCl<sub>4</sub>에 의한 白鼠 肝損傷 및 放射線障害에 미치는 영향에 對하여, 서울의대잡지, Vol.13, No.1, pp1-14, 1972.
7. Carbon tetrachloride 毒性에 미치는 茵陳蒿 및 紅蔘의 效果, 우석의대잡지, Vol.7, No.2, 1970.
8. 金潤相 외 : 地黃이 CCl<sub>4</sub>로 損傷된 쥐의 肝恢復에 미치는 效果, 大韓本草學會誌, 15(1), pp.45-52, 2000.
9. 朴東源 : 茵陳蒿湯 投與方法이 CCl<sub>4</sub> 中毒 家兔의 肝機能에 미치는 效果에 關한 研究, 慶熙大學院 論文集, 2:109-118, 1979.
10. 慎相萬 : 茵陳四苓散과 小柴胡湯이 ANIT로 誘發된 膽汁鬱滯性 肝障礙에 미치는 影響, 大韓韓學會誌, 17(2), pp.214-226, 1996.
11. 朴亨圭 外 : 茵陳四苓散이 急性 Alcohol, 高脂肪食 및 Galactosamine 中毒白鼠의 肝損傷에 미치는 影響, 大韓韓學會誌, Vol 14, No2. pp.123-142, 1993.
12. 郭燮 외 : 胃苓湯 및 茵陳五苓散이 Galactosamine에 의한 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響, 원광한의학, Vol.3, No1, 1993.
13. 吳英善, 趙鍾寬 : 茵陳蒿湯이 損傷肝 및 高脂血症에 미치는 影響, 大田大學校 韓醫學研究所論文集 5(1), 1996.
14. 李文鎬 외 : 加味紅蔘補肝湯의 補肝作用에 對한 實驗的 研究, 대전대학교 석사학위논문, 2000.
15. 羅昌洙 : 麝香, 牛黃, 熊膽 藥鍼이 肝損傷에 미치는 影響에 관한 研究, 大韓韓學會誌 17(2), pp.251-263, 1996.
16. 姜在春 : 禁酒患者 102名에 대한 臨床的 考察, 大韓韓學會誌 17(2), pp.251-263, 1996.
17. 徐政周 : 家兔 肝損傷에 대한 潰堅湯 및 그 加味方의 效果에 關한 研究, 慶熙韓醫大論文集 Vol.7, pp.105-120, 1984.
18. 李文鎬 外 : 內科學, 서울, 금강출판사, pp.965-966, 1979.
19. 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 관하여, 慶熙韓醫大論文集 Vol.2, pp.1-32, 1979.
20. 徐政周, 安圭錫, 文濬典 : 痞氣丸이 四鹽化炭素로 인한 白鼠肝損傷에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, Vol.4, pp.203-208, 1981.
21. 鄭成忠, 金秉雲 : 生肝溫脾湯이 TAA로 誘發된 원쥐 肝損傷에 미치는 影響에 關한 研究, 慶熙韓醫大論文集, Vol.8, pp.323-330, 1985.
22. 대한임상병리학회편 : 임상병리학, 서울, 고려의학, pp.57-66, 1994.
23. 李三悅 外 : 臨床病理檢査法, 서울, 延世大學校出版部, p.268, p.277, p.311, 1996.