

사염화탄소와 에탄올에 의해 유발된 랫드의 간경변에서 GODEX (Hepadif-S capsule)의 치료 효과

신지순¹ · 정은용¹ · 이민호² · 강종구^{1*}

¹충북대학교 수의과대학 실험동물의학교실, 충북 청주시 흥덕구 개신동 산 48

²한양대학교 서울병원 소화기내과, 서울시 성동구 행당동 17

Therapeutic Effect of the GODEX on the Liver Chirrosis Induced by CCl₄ and Ethanol in the Rat

Ji Soon Sin¹, Eun Yong Jung¹, Min Ho Lee² and Jong Koo Kang^{1*}

¹College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

²Department of Internal Medicine and Institute for Digestive Disease Research,

Hanyang University hospital, Seoul 133-792, Korea

(Received September 8, 2002 ; Received September 19, 2002)

Abstract – The hepato-protective activity of the GODEX (Hepadif-s capsule) has been studied in the rats against CCl₄-ethanol induced liver toxicity. The rats were orally treated with CCl₄ (corn oil/ CCl₄ 1:1, 1 ml/kg). And one week passes, CCl₄(0.4 ml/kg) administered two times a week for 7 weeks. The drugs have been administered every two days for 4 weeks after CCl₄ injection. The experimental groups have consisted of the GODEX (250 mg/kg), Hepadif (200 mg/kg), DDB complex (DDB 50 mg/kg and garlic oil powder 50 mg/kg), DDB (50 mg/kg), and vehicle control respectively. There was a significant decrement on the serum level of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and total bilirubin in all treated groups. Specially, ALT level of GODEX and Hepadif only treated groups was decreased clearly. Also, serum albumin level was significantly enhanced in GODEX treated group compared with control and DDB treated groups. In histological results, hepatocellular vacuolar degeneration, lobular restructure and necrosis of bile duct were severely showed in control liver. But other treated groups showed centerilobular degeneration and mild hyperplasia. Hepadif or DDB has a effects of the recovery on serum parameters and structure in liver injury. When it was compared GODEX to Hepadif alone or DDB complex or DDB, it suggested to have the best activity of the liver recovery.

Key words □ GODEX, Hcpadif, DDB, CCl₄, ethanol, chronic hepatitis model

간장은 생체내에서 가장 큰 장기로서 외부로부터 유입된 다양한 화학물질과 음식물에 대하여 각종 소화 및 해독에 관련된 효소들을 생산하여 일차적인 대사를 담당하며, 생명유지에 있어서 중요한 역할을 수행한다. 따라서 간장은 여러가지 손상에 대하여 직접적으로 반응함으로써 간염 등과 같은 간질환에 취약하게 된다(Plaa, 1991).

사염화탄소(Carbon tetrachloride, CCl₄)는 투여 방법, 경로 및 횟수에 따라 급성간염, 지방간, 간경변 등의 다양한 간질환의 유발이 가능하기 때문에 초기 약물의 효과를 밝히는 데 있어서 많이 이용되고 있다. 사염화탄소는 간에서 단백질 합성의 저해, K⁺ 축적의 저해, 간세포

의 괴사, microsomal enzyme의 활성을 저해하는 대표적인 물질로서(Thomas와 Mariani, 1989) 간의 형질내세망에서 CCl₃ free radical로 대사되며(Hruszkewycz 등, 1978) 지질과산화물을 일으켜 간독성을 나타내고, hepatic lipid의 alkyl기 또는 간세포 핵의 DNA와 공유결합을 하여 괴사를 일으킨다고 보고되었다(Gomez와 Castro, 1980; Long과 Moore, 1986). 또한 사염화탄소에 의한 간경변모델의 유발기간은 매우 길며, 상대적으로 치사율이 높고, 발현율에 따른 개체차가 매우 큰 것으로 알려져 있다. 이런 단점을 보완하기 위하여 에탄올을 병용 투여하는 방법을 시작하게 되었고, 많은 연구에서 에탄올과 사염화탄소를 병용한 모델에서 간 손상이 빠르고, 심하게 유발된다고 보고되었다(Pauline 등, 1991; Ikatsu와

*To whom correspondence should be addressed.

Nakajima, 1992).

Hepadif는 급만성 간질환 치료제로서 carnitine orotate를 주성분으로 하여 손상된 간세포를 회복시키고 간세포의 미토콘드리아에서 자유지방산대사에 관여하는 β -oxidation에 영향을 주어 지방간으로 진행될 수 있는 지방 친화성 성상들을 제거시키는 약물로 알려져 있다 (Miyazawa 등, 1982). 또한, 그 내용물로 간추출물인 antitoxic fraction은 소의 간에서 분리·정제한 가수분해물로서 간독성물질에 대한 직접 해독 작용과 간내 대사효소를 활성화 시키는 것으로 알려져 있다 (Tokmakjian과 Haines, 1985). 한편, 한방 생약제인 북오미자(Schizandrae chinesis)의 열매에서 추출된 Bisphenyl Dimethyl Dicarboxylate (DDB)는 최근까지 간염치료, 간질환예방 및 간장보호를 위해 사용되어 온 약물로 간의 microsome 약물 대사 효소계에 의해 간세포에 작용하며, 사염화탄소, D-galactosamine 및 에탄올에 의해 손상 받은 간세포로부터의 malondialdehyde 발효와 GPT방출을 효과적으로 감소시켜 약물에 의해 유도된 간독성의 치료에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다 (Kim 등, 1995; Kim 등, 1999).

최근 급·아급성 및 만성간질환, 지방간증, 간경변증, 약물이나 화학물질에 의한 간중독증의 치료를 위해 기존의 간질환 치료제인 Hepadif와 DDB등의 간질환 치료에 효과가 있는 약물을 혼합하여 헤파디프 복합제(Hepadif s-capsule: GODEX)가 개발되었다. 이에 본 연구에서는 cytochrome P-450 enzyme system을 유도하기 위하여 실험 1주전부터 음수대신 10%의 에탄올을 자유섭취시키고, 사염화탄소와 에탄올을 만성적으로 투여하여 간장실질세포의 괴사, 담도내 담즙의 정체, 지방간, 단백질 생합성 억제 및 간세포 섬유화 증상을 포함하는 만성간장해 동물모델(Plummer 등, 1994; Hall 등, 1994; Bosma 등, 1988)을 만들어 실험에 사용하였으며, 특히 간섬유화 및 간경변증에 대한 종래의 간질환 치료제와 GODEX의 치료효과를 비교하여 검색하였다.

실험방법

실험동물 및 실험물질

실험 동물은 SPF SD (Sprague-Dawley) 랫드 5주령 수컷 40마리를 대한실험동물센터로부터 구입한 후 1주일간 검역기간을 거쳐 35마리를 실험에 이용하였다. 본 실험은 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 환기 횟수 10~12 회/hr, 조명시간 12 hrs, 조도 150~300 lux의 환경에서 실시되었다. 실험동물용 고형사료(삼양사료(주), 원주)와 10%로 희석된 에탄올을 자유 섭취시켰다. 실험물질인 GODEX, Hepadif, DDB 및 garlic oil powder는 한서제약(주)으로부터 수령하였다. GODEX는 Hepadif 한 capsule

에 DDB 50 mg이 혼합된 담갈색의 분말이며, Hepadif는 1 capsule 당 오르트산카르티닌 150 mg, 항독소간추출물 12.5 mg, 염산아데닌 2.5 mg, 염산피리독신 25 mg, 리보플라빈 0.5 mg, 시아노코발라민 0.125 mg이 함유된 황갈색 분말제제이다. DDB (dimethyl-4,4'-dimethoxy-5,6,5',6'-dimethylenedioxy-biphenyl-2-carboxylicacid-2'-carboxylate)는 북오미자(Schi-zandrae chinesis)로부터 추출된 Schizandrin C 유사구조의 합성체이고, 마늘유 분말은 garlic (*Allium sativum* L.)추출물로서 흰색의 분말제제이다. 모든 실험물질은 밀폐용기에 넣어 실온에 보관하였으며, 실험시 0.5% carboxyl methyl cellulose (CMC)에 현탁시켜 사용하였다. 간염모델유발을 위해 CCl_4 , ethanol (DC Chem, Korea) 및 corn oil (Sigma, St. Louis, USA)을 구입하여 사용하였다.

실험군의 구성 및 투여방법

실험군은 독성실험을 통해 알려진 무해용량에서 임상에서 적용될 예상용량을 고려하여 GODEX (250 mg/kg), Hepadif (200 mg/kg), DDB복합제(DDB : 50 mg+garlic oil powder 50 mg: 100 mg/kg), DDB (50 mg/kg)와 vehicle만을 투여하는 대조군(0.5% CMC군)을 설정하였다. 실험군의 구성은 선발된 수컷 35마리의 동물을 균간 체중이 고르게 5군으로 군당 7마리씩 배치하였다. 평균체중은 156.2 ± 3.8 g였다. 10% 에탄올을 매일 자유섭취하게 한 후 1주일 지나서 모든 동물에게 사염화탄소를 Corn oil에 50% (v/v)로 희석하여 1 ml/kg 용량으로 단회 경구투여하였다. 그 후 1주 후부터 체중 kg 당 0.4 ml 용량으로 주 2회씩 7주간 연속투여 하였으며, 10% 에탄올을 음수로서 실험 종료시까지 자유로이 섭취하게 하였다. 치료효과의 검색을 위한 약물처치는 실험개시 5주후부터 2일 간격으로 4주간 경구투여하였다.

혈청생화학적 검사

채혈은 실험종료시 에테르 마취하에 복대정맥에서 전채혈한 혈액을 실온에 3시간이상 방치응고시켜 3000 rpm으로 15분 동안 원심분리한 다음 혈청을 분리하여 자동분석기(Express Plus, Chiron, U.S.A.)로 혈청내의 AST (aspartate transaminase), ALT (alanine transaminase), albumin치와 total bilirubin치를 측정하였다.

부검 및 병리조직학적 검사

실험 종료시 생존동물은 에테르 마취로 방혈치사시켜 간을 적출하여 간의 무게를 측정하고 간의 육안적인 소견을 관찰하였다. 실험 종료후 모든 군의 간장을 10% 중성 원충포르말린액에 고정 후 파라핀 포매과정을 거쳐 $4 \mu\text{m}$ 두께의 조직절편을 제작한 다음 Masson's Trichrome 염색

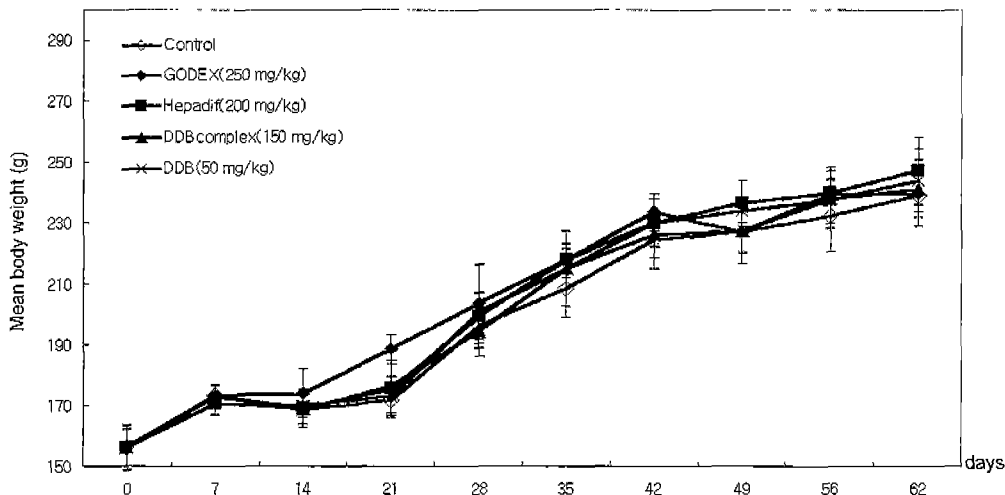


Fig. 1. Body weight changes of rat treated with various drugs, and damaged by CCl₄ and ethanol. Each data is mean±S.D. (n=7).

과 Hematoxylin과 Eosin 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

Collagen 섬유량의 Image Analyzer 분석

Masson's Trichrome 염색법을 이용하여 간조직내에 있는 간경변 및 간섬유화의 지표가 되는 섬유성단백질인 아교섬유(collagen fiber)를 염색하여 관찰하였고, collagen의 증식을 Image Analyzer (Image-Pro® Plus, Media cyber-netics, USA)를 이용하여 Ryoo와 Buschmann (1983)의 방법으로 정량분석하였다. 이때 아교섬유 증식량의 정도를 가장 큰 것을 5, 거의 관찰되지 않는 것을 0으로 하여 병변의 크기를 0~5 까지 6단계로 나누어 표시하였다.

간조직중 hydroxyproline양의 측정

간조직중 hydroxyproline양의 측정은 Jamall등(1981)의 방법에 따라 수행하였다. 즉 부검시 방혈치사 시킨 동물의 간조직의 좌엽의 일부를 6N HCl에 10%의 농도로 균질화시킨 후 110°C에서 16시간 동안 가수분해시켰다. 그후 chloramine-T로 산화시키고 Ehrlich's reagent로 50°C에서 90분간 발색시킨 다음 558 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적분석은 one-way analysis of variance (ANOVA)에서 유의차가 인정되는 F 값이 관찰되는 항목에 대하여, 대조군과 각 용량군 사이에 유의수준 p<0.05 및 p<0.01로 Dunnett's t-test를 이용하여 비교하였다.

실험결과

일반상태 관찰과 체중변화

실험기간중 전 실험군에서 특기할 만한 이상 증상은 인정되지 않았으며 폐사동물은 관찰되지 않았다. 체중변화에 있어서 실험 전기간동안 각 군에서 체중은 증가하는 경향이 나타났고, 각 군 사이에 유의성 있는 변화는 인정되지 않았다(Fig. 1).

혈청생화학적 검사

간조직 손상의 지표로서 알려진 혈청 AST치는 대조군과 비교하여 GODEX투여군, Hepadif투여군, DDB복합투여군 및 DDB투여군 모두 수치가 현저하게 감소되어 있었다(p<0.01). 한편 DDB복합투여군과 비교하여 GODEX투여군의 AST치는 감소하는 경향을 나타내었으나, 유의한 변화는 인정되지 않았다. 간조직 손상의 지표로 알려진 혈청 ALT치는 대조군에 비하여 GODEX투여군, Hepadif투여군, DDB복합투여군 및 DDB투여군 모두에서 수치가 현저하게 감소되었다(p<0.01). 또한, DDB복합투여군과 비교하여 GODEX투여군은 유의성 있게 감소하였고(p<0.01), Hepadif투여군의 수치는 유의성 있게 증가되었다(p<0.05). 간섬유화, 간경변 등에서 유발되는 담관 폐색의 지표로 알려진 혈청내 total bilirubin치는 대조군에 비해 GODEX투여군, Hepadif투여군, DDB복합투여군과 DDB투여군의 수치가 현저하게 감소되어 있었다(p<0.01). GODEX투여군의 total bilirubin치는 DDB복합투여군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었으나 유의한 변화는 인정되지 않았다. 간섬유화, 간경변 등에서 단백질 합성의 저하를 나타내는 혈청 albumin치는 대조군의 낮

Table I. Biochemical changes of the rats treated by various drugs, and damaged by CCl₄ and ethanol

| Parameters | Drug/Dose(mg/kg) | | | | |
|------------|------------------|--------------------|-----------------|-----------------|----------------|
| | Control/0 | GODEX/250 | Hepadif/200 | DDBcomplex/100 | DDB/50 |
| AST(U/L) | 809.34±114.37 | 209.10±38.42** | 317.77±115.44** | 238.89±79.76** | 295.26±99.59** |
| ALT(U/L) | 979.90±282.52 | 137.07±112.81**### | 646.57±223.47** | 381.64±141.94** | 575.13±393.90* |
| TB(g/dl) | 0.86±0.13 | 0.38±0.17** | 0.54±0.11** | 0.47±0.17** | 0.57±0.17** |
| Alb(mg/dl) | 3.53±0.80 | 6.36±0.36**# | 4.43±1.03 | 4.16±1.23 | 3.87±1.58 |

ALT; alanine aminotransferase, AST; aspartate aminotransferase, TB; total bilirubin, Alb; albumin, Each data is mean±S.D. (n=7), significantly different from positive control group at *: p<0.05, **: p<0.01, significantly different from DDB complex group at #: p<0.05, ##: p<0.01.

Table II. Liver weight of the rats treated with various drugs, and damaged by CCl₄ and ethanol

| Absolute weight [Relative weight] | Drug/Dose(mg/kg) | | | | |
|--------------------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | Control/0 | GODEX/250 | Hepadif/200 | DDBcomplex/100 | DDB/50 |
| Liver (%) | 15.81±1.79 [6.639] | 11.83±1.43** [4.951]** | 14.03±1.10* [5.711]* | 13.64±0.89* [5.713]* | 14.03±1.68 [5.618]* |

Each data is mean±S.D (n=7), significantly different from positive control group at *: p<0.05, **: p<0.01.

은 치에 비하여 GODEX투여군(p<0.01)의 수치는 현저하게 증가되어 있었다. 그러나 그밖의 약물투여군에서 혈청 albumin치는 대조군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었으나, 유의성 있는 변화는 나타나지 않았다. 한편 GODEX투여군의 Albumin치는 DDB복합투여군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(p<0.01)(Table 1).

육안소견 및 간장무게

부검시 측정된 간장의 무게는 vehicle만을 투여한 대조군에 비하여 GODEX투여군(p<0.01), Hepadif투여군(p<0.05)과 DDB복합투여군(p<0.05)이 현저하게 감소되어 있었다(Table 1). 한편 GODEX투여군의 간장의 무게는 DDB복합투여군에 비교하였을 때 감소하는 경향을 나타내었다(Table 2). 부검시 육안적 소견에서 GODEX투여군(Fig. 3A)의 간장은 거의 정상에 가까운 소견을 나타내었으나, 대조군(Fig. 3B)의 간장은 뚜렷이 종대되었으며, 표면은 황색으로 지방간의 외형적 소견을 나타내었으며, 소엽은 결절상을 나타내었다. 그밖의 Hepadif투여군, DDB복합투여군, DDB투여군의 간장에 대한 육안소견은 GODEX투여군과 유사한 육안소견을 보였다.

간조직에 대한 병리조직학 검사

GODEX투여군(Fig. 4B)의 간조직에서 중심정맥 주위에 미세한 지방적이 드물게 관찰되었다. Hepadif투여군(Fig. 4C)의 간조직은 중심정맥 주위에 대소부동의 지방적이 나타났으나 결합조직의 증식소견은 미약하고, 약간의 염증소견이 관찰되었다. DDB복합투여군(Fig. 4D)의 간조직에서는 중심정맥 주위에 작은 지방방울이 다수 출

현하였으며, 결합조직의 증식상은 경도로 관찰되었고, DDB투여군의 간조직에서는 중심정맥주위에 대소부동의 지방방울이 나타났으며 결합조직의 증식소견이 중등도로 관찰되었다. 대조군(Fig. 4A)에서는 간조직 전체에 지방적과 종대된 간세포가 다수 관찰되었으며, 또한 섬유화의 지표가 되는 고도의 결합조직 증식에 의한 소엽의 재구축 소견과 담관의 증식소견이 뚜렷하게 관찰되어 간병변을 나타내었다.

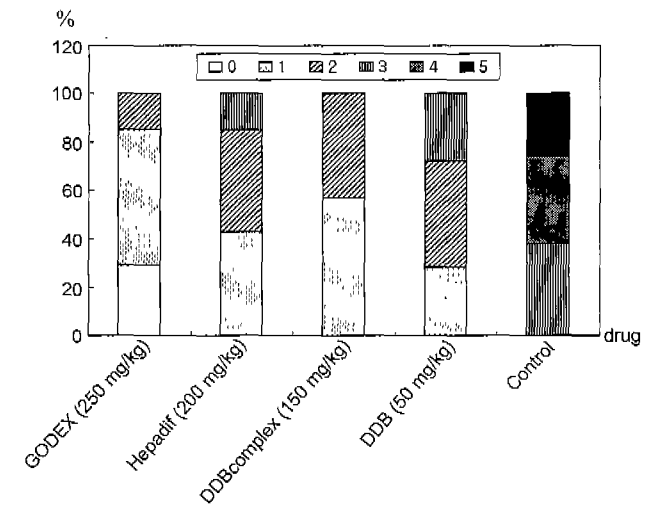


Fig. 2. Comparison of the magnitude of fibrosis by collagen fiber quantification for the effect of various drugs against live damages induced by CCl₄ and ethanol. The quantificational grades of collagen fiber was defined as follows: 0, no abnormal proliferation; 1, very slight proliferation; 2, slight proliferation; 3, mild proliferation; 4, moderate proliferation; 5, severe proliferation.

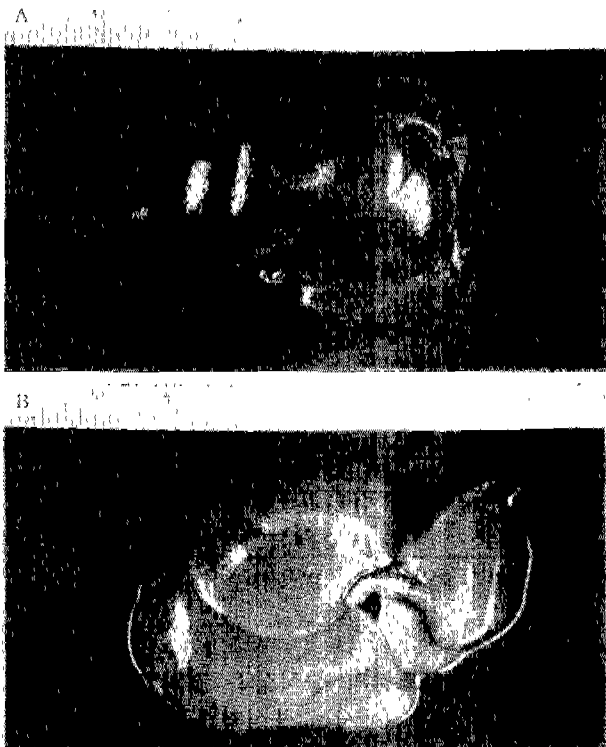


Fig. 3. Gross finding on liver of rat administered orally with GODEX (A) (250 mg/kg) and control (B) after pre-treated with CCl₄ and ethanol. Liver in control group appears a severe hypertrophy and a yellowish color.

Collagen 섬유량의 Image Analyzer 분석

GODEX투여군은 대조군에 비하여 결합조직의 증식이 현저하게 억제되어 있었으며, 증식의 grade가 낮게 관찰되었다. DDB복합투여군은 GODEX투여군보다 grade가 약간 증가되었으나 대조군과 비교했을 때 결합조직의 증식이 억제되었다. 또한 Hepadif투여군 및 DDB단독투여군의 결합조직의 증식억제 정도는 GODEX투여군과 DDB복합투여군보다 미약하였으나, 대조군에 비해서 억제되어 있었다(Fig. 2).

간조직중 hydroxyproline양의 측정

간경변에 대한 약물의 효과를 검색하기 위하여 측정된 hydroxyproline양은, 대조군에 비하여 GODEX투여군, Hepadif투여군, DDB복합투여군 및 DDB투여군 모두에서 수치가 현저하게 감소되었다(p<0.01). GODEX투여군의

hydroxyproline양은 DDB복합투여군과 비교하여 감소하는 경향을 나타내었다(Table 3).

고찰

간질환은 바이러스, 알콜, 담즙정체 및 Fe·Cu의 축적, galactosemia, tyrosinaemia와 같은 대사성 질환등 다양한 원인에 의하여 유발된다고 알려져 있다. 이러한 간질환이 만성적으로 진행된다면 황달, 복통, 출혈, 복수 등의 증상이 나타나고 간조직내의 결합조직을 구성하는 아교섬유(collagen fiber)의 양이 증가하여 간섬유화로 진행된다(Sherlock과 Dooley, 1997). 또한 간경변은 간질환의 말기 병변으로 미만성 간손상의 결과 섬유화와 간세포의 재생결절이 형성되는 질환이라고 정의하고 있다(Anthony 등, 1977; 1987). 본 연구는 Hepadif와 DDB의 복합제인 GODEX의 만성간질환에 대한 치료효과를 규명하기 위해, 랫드에 사염화탄소 및 에탄올을 투여하여 간섬유화와 간경변 등의 만성간장해를 유발시킨 후 DDB와 DDB복합제, Hepadif 및 GODEX를 투여하여 간손상에 대한 치료효과를 비교 검색하였다. 이미 시험물질은 임상적으로 사용되고 있으며, CMC 또한 간에 큰 영향이 없으므로, 특별히 무처리군 및 용매 대조군은 설정하지 않았다.

실험기간중 전 실험군에서 특기할 만한 이상 증상은 관찰되지 않았다. 체중변화에 있어서 실험 전기간 동안 각 군에서 약간의 체중증감은 있었으나, 각군 사이에 유의성있는 체중변화는 인정되지 않았다.

부검시 관찰된 간장의 무게에 있어서 Vehicle만을 투여한 대조군은 GODEX투여군, Hepadif투여군과 DDB복합투여군에 비하여 현저하게 증가되어 있었다. 이러한 결과는 심한 만성 간손상 결과 간섬유화 및 간경변으로 인한 결합조직의 증가에 의해 간장의 무게가 증가된 것으로서 Hepadif 및 DDB복합투여에 의해 이러한 소견이 억제되며 GODEX투여군에서 가장 효과적으로 간손상이 억제되는 것으로 사료된다.

간조직 손상의 지표로서 알려진 혈청 AST치 및 ALT치에 있어서 대조군에 비하여 Hepadif투여군, DDB복합투여군 및 DDB투여군에서 수치가 현저하게 감소되어 있었으며 특히 GODEX투여군에서 가장 현저하게 감소되어 Hepadif 자체로도 AST 및 ALT치를 떨어뜨리지만, Hepadif와 DDB의 복합투여는 DDB와 마늘유분말의 복

Table III. Hydroxyproline contents in livers treated with various drugs, and damaged by CCl₄ and ethanol

(Unit: mg/g of wet liver)

| | Drug/Dose(mg/kg) | | | | |
|-------------------------|------------------|-------------|-------------|----------------|-------------|
| | Control/0 | GODEX/250 | Hepadif/200 | DDBcomplex/100 | DDB/50 |
| Hydroxyproline contents | 11.81±1.45 | 3.79±1.71** | 7.24±0.82** | 4.60±1.85** | 8.06±0.95** |

Each data is mean±S.D.(n=7), significantly different from positive control group at **: p<0.01.

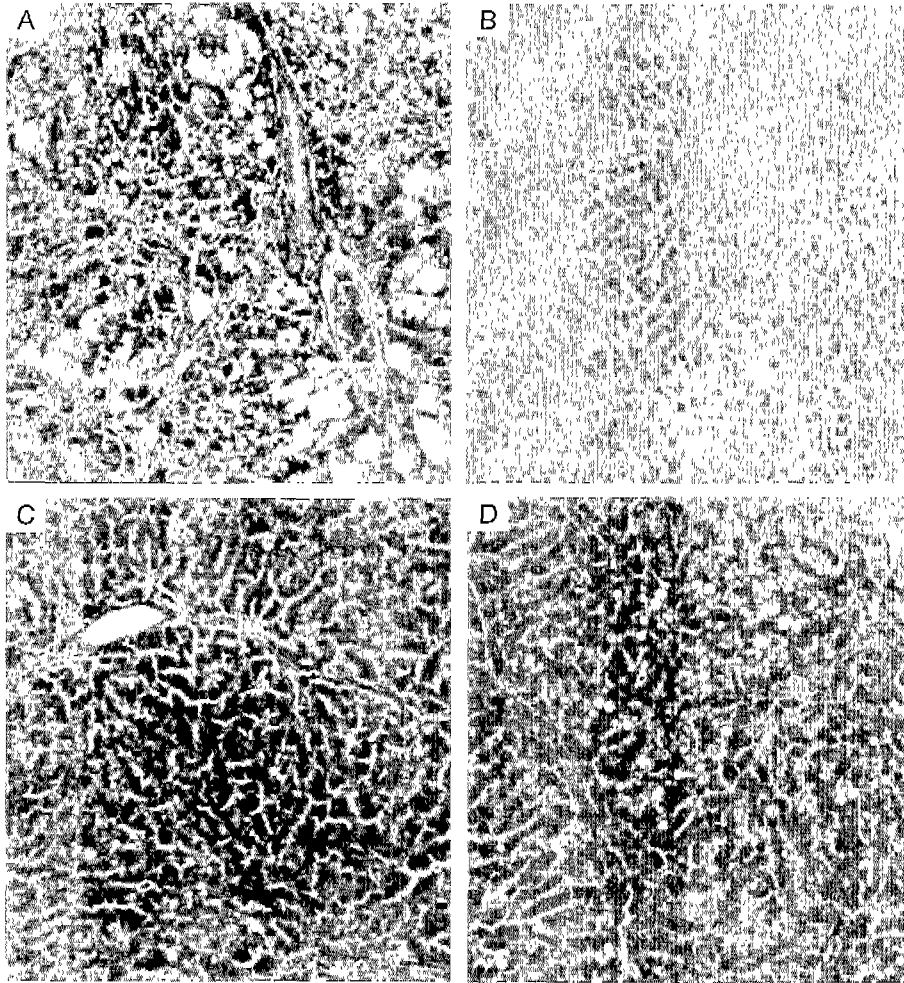


Fig. 4. Histopathology of the liver after treatment with GODEX (B), hepadif (C), DDB complex (D) and vehicle (A). A; severe vacuolation of hepatocytes and fibrosis around portal vein and ballooned hepatocytes and proliferation of bile ducts, B; slight vesiculation of hepatocytes, C; slight vesiculation of hepatocytes and fibrosis around portal area, D; mild vesiculation of hepatocytes and moderate fibrosis around portal area

합투여 보다도 효과적으로 간손상의 지표가 되는 효소치에 영향을 줌으로써 간독성억제효과를 갖는 것으로 사료된다. 또한 간섬유화, 간경변 등에서 다발되는 담관폐색, 담즙의 정체의 지표가 되는 혈청 total bilirubin치에서 대조군에서는 그 수치가 현저하게 증가되어 있었는데 이러한 소견은 간경변에 의한 소엽의 재구축 및 담관의 증식 소견에 따른 담도폐색과 담즙정체의 병리조직 소견상과 일치하였으며, 모든 약물 처치군에서 대조군에 비하여 현저하게 감소되었으며, 특히 Hepadif투여군이 DDB복합투여군과 DDB투여군보다 뚜렷하게 감소되는 경향을 나타내어 Hepadif는 간질환에서 담관폐색등의 담도계 질환 방지 및 이담작용에 있어서 DDB보다 효과적인 것으로 사료된다. 또한 간섬유화, 간경변 등에서 단백질합성 저하의 지표가 되는 혈청 albumin치에서 대조군의 낮은 수치에 비하여 GODEX투여군의 수치는 현저하게 증가되어

있어서 간섬유화 및 간경변에서 유발되는 단백질합성의 저하를 효과적으로 방지하는 것으로 사료된다.

육안적 소견에 있어서 GODEX투여군의 간장은 거의 정상에 가까운 소견을 나타내었으나 대조군의 간장은 현저히 종대되고 표면은 황색을 나타내어 지방간의 소견과 함께 소엽은 명료하게 구분되고 중심부에는 괴사상이 관찰되었다. 또한 그밖의 Hepadif투여군, DDB복합투여군, DDB투여군의 육안소견은 GODEX투여군과 유사한 소견을 나타내었다. 이러한 소견은 모든 약물처치군에서 관찰된 AST, ALT, total bilirubin 및 albumin치 및 병리조직 소견과 일치되는 육안소견의 결과이다.

병리학적 소견에서 대조군의 간조직 전체는 지방방울 출현, 종대된 간세포의 증가, 만성염증소견 및 고도의 결합조직의 증식에 의한 소엽의 재구축 및 담관의 증식이 관찰되었다. 이러한 소견은 본 실험에서 사용한 사염화

탄소와 에탄올에 의해 유발된 간병변이 효과적으로 유발된 것을 나타내는 증거이다. 그러나 GODEX투여군, Hepadif투여군, DDB복합투여군 및 DDB투여군에서 이러한 소견은 현저히 억제되어 있었다.

간세포의 재생 결절은 간세포 손상에 대한 수복현상이지만 정상간과 같은 소엽을 갖추지 못한 비정상적인 결절이며, 이 결절은 아교섬유조직대로 둘러싸인다. Masson's Trichrome 염색법은 간섬유화 및 간병변시에 간장조직내에서 증가되고 있는 결합조직섬유인 아교섬유가 청색으로 염색되어 형태학적으로 증가된 아교섬유의 양을 확인하는데 가장 이상적인 방법으로서 병리조직학적으로 간섬유화 또는 간병변의 진단으로 수행되고 있다. 이러한 이유는 간질환시 상승한다고 알려진 간독성의 지표가 되는 여러 효소들이 간경변 또는 간암의 말기에는 오히려 정상치이하로 떨어지는 경우가 있기 때문에 병리조직 소견상에서 병변의 확인이 필요하다. 본 실험에서 collagen의 증식을 Image Analyzer 프로그램을 이용하여 정량분석한 결과, GODEX투여군, Hepadif투여군, DDB복합투여군 및 DDB투여군에서 아교섬유증식이 현저하게 억제된 것을 관찰하였다. 특히 GODEX투여군은 지방방울의 출현에서 DDB복합투여군과 뚜렷한 차이가 없었으나 아교섬유의 정량적인 분석에서 DDB복합투여군보다 아교섬유의 증식이 억제되어서 GODEX투여군은 본 실험에 사용한 약물중에서 가장 효과적으로 결합조직의 증식을 억제하는 것으로 밝혀졌다.

간섬유화 또는 간경변시 증식되는 아교섬유에만 존재하는 것으로 알려진 hydroxyproline양의 측정 결과에서, 대조군에 비하여 모든 실험물질처리군의 hydroxyproline 양이 현저하게 감소되어 있었다. 한편 GODEX투여군의 hydroxyproline양은 DDB복합투여군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었으나 유의한 변화는 인정되지 않았다.

DDB는 cytochrome P450 2B1, 2B2활성화로 해독작용을 하며, ALT와 AST를 현저히 감소시킨다. Hepadif는 간질환 치료제로 그 주성분인 오르토산은 체내 핵산 합성의 전구물질로서 손상된 간세포를 재생시키며, 카르니틴은 세포내 지질 대사에 작용하여 지방변성에 의한 지질괴사를 억제한다. 이러한 치료제를 임상적으로 사용할 때, 단독으로 사용하는 것보다 혼합사용에 의해 더욱 좋은 임상 결과를 확인하게 되었고, 이에 GODEX가 개발되었다. GODEX에 의해서 DDB 투여를 중단했을 때 나타나는 혈청내 ALT치 및 AST치의 급격한 상승과, Hepadif만을 투여시 그 효과가 느리게 나타나는 것에 대해서도 보완이 되었다. 또한 GODEX에 의해 DDB의 대사효소계 활성과 Hepadif의 지질 대사능력이 간질환 치료에 효과적으로 작용하는 것으로 사료된다. 그리고 지질 대사와 관련되어 작용하므로 GODEX의 항산화 효과 및

세포 손상의 보호능에 대한 가능성을 고려해 볼 수 있으며, 이와 관련된 추가실험이 필요할 것으로 사료된다.

이상과 같이사업화탄소와 에탄올로 유발된 랫드의 간섬유화 및 간경변증에 대한 GODEX의 치료효과를 비교한 결과, Hepadif투여 및 DDB투여에 의해서도 지방간, 간섬유증, 간병변 등의 만성간질환에 대하여 효과를 나타냈지만, Hepadif와 DDB의 복합투여시 간질환에 대해 가장 뚜렷하게 개선 및 치료효과가 인정되어 GODEX는 기존의 어느 다른 간장치료제보다 간장보호·간질환 치료 효과가 뛰어난 것으로 사료된다.

감사의 말씀

이 연구는 한서 제약(주)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Anthony, P. P., Ishak, K. G. and Nayak, N. C. (1977). The morphology of cirrhosis: definition, nomenclature and classification. *Bull WHO.*, **55**, 521
- Anthony, P. P., Ishak, K. G. and Nayak, N. C. (1987). The morphology of cirrhosis. *J. Clin. Pathol.*, **31**, 395
- Bosma, A., Brouwer, A., Seifert, W. F. and Knook, D. L. (1988). Synergism between ethanol and carbon tetrachloride in the generation of liver fibrosis. *J. Pathol.*, **156**, 15-21.
- Gomez, M. I. and Castro, J. A. (1980). Covalent binding of carbon tetrachloride metabolite to liver nuclear DNA, proteins and lipids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **56**, 199-206.
- Hall, P. M., Plummer, J. L., Ilesley, A. H., Ahern, M. J., Cmielewski, P. L. and Williams, R. A. (1994). The pathology of liver injury induced by the chronic administration of alcohol and "low-dose" carbon tetrachloride in Porton rats. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **9**, 250-256.
- Hruszkewycz, A. M., Glende, E. A. and Recknagel, R. O. (1987). Destruction of microsomal cytochrome P-450 and glucose-6-phosphate by lipids extracted from peroxidized microsomes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **46**, 695-702.
- Ikatsu, H. and Nakajima, T. (1992). Hepatotoxic interaction between carbon tetrachloride and chloroform in ethanol treated rats. *Arch Toxicol.*, **66**, 580-586.
- Jamall, I. S., Inelli, V. N. and Que-Hee, S. S. (1981). A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues. *Analytical biochemistry*, **112**, 70-75
- Kim S. H., Bae, Y. J., Lec, K. H. and Lee, S. B. (1995). Effect of Biphenyl Dimethyl Dicarboxylate on Chemical-Induced Hepatotoxicity. *Korean J. Toxicol.*, **11**, 181-185.
- Kim, S. S., Oh, H. Y., Kim, H. R., Yang, J. S., Kim, D. S., Sheen, Y. Y., and Choi, K. H. (1999). Effect of biphenyl dimethyl dicarboxylate on cytochrome P450 1A1 and 2B1 and CCl₄-induced hepato toxicity in rat liver. *Yakhak Hoeji.*, **43**, 827-833.

- Long, R. M. and Moorc, L. (1986). Elevated cytosolic calcium in rat hepatocytes exposed to carbon tetrachloride. *J. Pharmacol. and Exp. Ther.*, **238**, 186-191.
- Long, R. M. and Moore, L. (1986). Inhibition of liver endoplasmic reticulum pump by carbon tetrachloride and releases of a sequestered calcium pool. *Biochem. Pharmacol.*, **35**, 4130-4137.
- Miyazawa, S., Furuta, S. and Hashimoto, T. (1992) Reduction of β -oxidation capacity of rat liver mitochondria by feeding orotic acid. *Biochim. Biophys. Acta.*, **711**, 494-502
- Pauline, De-la M., Hall, J. L., Plummer, A. H., Ilesley, M. and Cousins, J. (1991). Hepatic fibrosis and cirrhosis after Chronic administration of Alcohol and "Low-dose" carbon tetrachloride vapor in the rat. *Hepatology*, **13**, 815-819
- Plaa, G. L. (1991). Toxic responses of the liver in Casarett and Doull's Toxicology (Amdur, M. O, Doull, J. and Klassen, C.D. Eds.). pp 334-353. Pergamin Press., New York.
- Plummer, J. L., Hall, P. D., Cmiclewski, P. L., Lislely, A.H. and Ahem, M. J. (1994). Alcohol and 'low- dose' carbon tetra-chloride-induced cirrhosis in rats using different methods of alcohol feeding, *Alcohol Clinical Exp Res.*, **18**, 1502-1505.
- Ryoo, J. W. and Buschmann, R. J. (1983). A morphometric analysis of the hypertrophy of the experimental liver cirrhosis. *Virchows Arch{Patholol. Ana}*., **400**, 173-186.
- Sherlock, S. and Dooley, J. (1997). Diseases of the liver and biliary system., 10th ed. pp. 303-384 Blackwell Science Press.
- Thomas, B. D. and Mariani, M. E. (1989). Comparison of metabolic effects of carbon tetrachloride and 1,2-dichrooethane added *in vitro* to sliced of rat liver. *Toxico. in vitro.*, **3**, 159-168.
- Tokmakjian, S. D. and Haines, D. S. (1985). Early effects of dietary orotic acid upon liver lioid synthesis and bile cholesterol secretion in rats. *J. Lipid Res.*, **26**, 478-486.