대한한방내과학회지 제24권 1호(2003년 3월)
Korean J.Orient.Int. Med. 2003;24(1):21-32

茵蔯淸肝湯이 肝保護 및 纖維化 抑制에 미치는 影響

승현석, 김영철, 이장훈, 우홍정

경희대학교 한의과대학 간계내과학교실

Inhibitory Effect of Injinchunggantang(Yinchenqinggan-tang) on Hepatic Sclerosis

Hyun-Suk Seung, Young-Chul Kim, Jang-Hoon Lee, Hong-Jung Woo

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunghee University

Objective : The aim of this study is to investigate the inhibitory effect of Injinchunggantang on hepatic sclerosis induced by CCl_4.

Methods : Weight, liver function test and complete blood cell count, gross findings, and findings on liver tissue of the past(Hematoxylin & Eosin stain, Masson-Trichrome stain) were studied.

Results : When it comes to the change of rats' body weight, The CCl_4+Injinchunggantang group lost far less weight than The CCl_4-only group.

In the liver function test, which is focused on various areas such as total cholesterol, alkaline phosphotase, albumin, aspartate transaminase, alanine transaminase, The CCl_4+Injinchunggantang group was much more closer to normal limit than the CCl_4-only group.

In the complete blood cell count, including white blood cell, red blood cell, hemoglobin, hematocrite, platelet, The CCl_4+Injinchunggantang group significantly closer to normal limit than CCl_4-only group.

In the gross findings of hepatic fibrosis models, Injinchunggantang showed inhibitory effect on hepatic fibrosis in the order.

In the past findings of hepatic fibrosis models in Hematoxylin & Eosin, Masson-Trichrome staining, the liver in CCl_4-only group showed atrophy and necrotic change with white nodules, whereas that of CCl_4+Injinchunggantang group showed lesser significant change with the well_preserved tone of the tissue.

In the extent of the inhibition of the hepatic fibrosis, the Injinchunggantang group showed statistically significant inhibitory effect($p<0.05$) in the sclerosis model.

Conclusions : These results show that Injinchunggantang have inhibitory effect on hepatic sclerosis induced by CCl_4 and further ultimately prevent liver cirrhosis. To obtain more credible results in this experiment, the invention of a new experimental model more similar to human hepatic sclerosis is still needed.

Key Words: Injinchunggantang, hepatic sclerosis, CCl_4

I. 緖 論

세계적으로 약 5% 이상의 인구에 영향을 미치는 것으로 알려져 있는 肝硬變症은 사회활동이 왕성한 성인의 중요한 사망원인 중 하나이다[1]. 각종 간염바이러스, 약물, 알코올 등이 만성간염 및 간경변증의 중요한 원인으로 작용으로 인식되고 있으며, 우리나

· 접수 : 2002년 9월 26일 · 채택 : 2002년 12월 20일
· 교신저자 : 김영철, 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희의료원 한방병원 간계내과학교실
(Tel: 02-958-9118 Fax: 02-958-9120, E-mail: soongah@netsgo.com)

라는 B형 간염바이러스의 보유율이 높고 만성간질환에 의한 40-50대 남성 사망률이 높아서 이것이 사회적인 문제점 중의 하나로 인식되고 있다[2,3]. 최근에는 알코올의 소비량이 늘어감에 따라 알코올성 肝硬變症의 발생률이 더 높아지고 있어 이에 대한 적절한 치료법 및 치료약제의 개발이 계속적인 관심의 대상이 되고 있다. 최근 우리나라의 경우 사망보고연감에 따르면 2000년 사망원인 중 간질환은 십만명당 22.9명으로 사망원인 순위 5위에 해당되고 특히 40, 50대 남자에서 암 다음으로 2위를 차지하였다. 또한 간질환은 1990년 사망원인별 사망순위 6위에서 5위로 상승하여 증가하는 추세에 있다. 이는 알코올 소비량의 증가에 따른 알코올성 간질환자들의 상승과 관련된다[4].

茵蔯清肝湯은 淸熱利濕하는 茵蔯四苓散에 凉血止血, 下氣行滯하는 地楡, 靑皮, 蘿蔔子, 覆盆子 등을 가미한 처방이다[5]. 茵蔯淸肝湯은 임상연구에서 만성B형간염 환자의 간기능개선과 HBeAg의 음전율을 높이는 효과가 있고[6], C형간염에 적용하여 효과가 있어 만성간염 및 肝硬變症의 치료에 활용되고 있다.[7]

茵蔯淸肝湯과 관련된 실험적 연구들에서는 약물의 장기 투여에서도 안전성이 있음과 동물간염바이러스를 이용한 전격성간염에서의 생존율을 상승시키는 효과가 있고[8,9], 간기능 손상의 회복 및 간섬유화로의 진행억제효과 등이 있음이 보고된 바 있다[10]. 최근 분자생물학적 연구에서는 茵蔯淸肝湯 및 茵蔯의 분획물들이 각종 간세포손상관련 유전자의 발현을 조절하여 세포사멸을 억제하여 간세포를 손상으로부터 보호하고[11,12], 또한 간경변증으로의 발전을 의미하는 섬유화관련 유전자들에 대하여도 발현을 억제하는 효과가 있음이 보고되었다[13].

간섬유화 억제 및 간경변증의 치료효과를 검증하기 위한 연구들로는 DMN(dimethylnitrosamine), d-galactosamine, carbon tetrachloride(CCl_4), alcohol 등을 8주 이상 지속적으로 투여하거나 침습적 방법에 의한 담도결찰 등으로 동물모형을 만들어 약재의 효능을 보고한 것들이 있는데[14,15], 간세포의 염증과 재생을 동반한 결절형성 등 인체의 간경변증에서와 유사한 소견들을 관찰할 수가 있어서 결과에 대한 가치를 인정받고 있다.

본 연구에서는 CCl_4를 12주간 복강주사하여 간경변증을 가진 동물모델을 구축하였으며, CCl_4 투여 제9주부터 제12주까지 茵蔯淸肝湯을 투여하였다. 茵蔯淸肝湯의 간기능보호 효과 및 간경변증으로의 진행억제에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 흰쥐의 체중, 혈청의 생화학적 검사, 일반혈액검사, 간장의 병리조직검사 등을 시행하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料 및 動物

1) 材料

本 實驗에 使用한 藥材는 慶熙韓方處方集[5]에 根據하여 慶熙大 附屬 韓方病院에서 購入하여 엄선한 것을 使用하였으며 內容 및 用量은 Table 1과 같다.

2) 動物

血淸檢査로부터 각종 감염이 認定되지 않고, 一般症狀과 體重減少가 없는 200g 내외의 Sprague-Dawley 흰쥐 수컷((주)대한바이오)을 實驗에 사용하였다. 실험동물은 滅菌한 polycarbonate cage에 放射線滅菌한 市販 固形飼料(대한실험동물센터)와 精製한 물을 自由 供給하였으며 명암주기 12시간 간격, 온도 25±2℃, 습도 55%로 실험실 환경을 유지하였다.

Table 1. Prescription of Injinchunggantang

構成藥物	生藥名	用量(g)
茵 蔯	*Artermisiae Capillaris Herba*	50
地 楡	*Sanguisorbae Radix*	15
白 朮	*Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*	12
猪 苓	*Ployporus*	12
茯 苓	*Hoelen*	12
覆盆子	*Rubi Fructus*	12
澤 瀉	*Alismatis Rhizoma*	8
蘿蔔子	*Raphani Semen*	8
靑 皮	*Aurantii Pericarpium*	6
甘 草	*Glycyrrhizae Radix*	6
生 薑	*Zingiberis Rhizoma*	12
Total amount		153

2. 方法

1) 檢液의 調製

(1) 藥劑의 抽出 : 茵蔯淸肝湯 1첩분량 153g을 還流抽出機(Duksan, Korea)에 넣고, 冷却器를 附着한 상태에서 蒸溜水를 1000ml를 加하여 2시간씩 2회 加熱抽出하였다. 抽出液을 filter paper로 濾過 後, Rotary evaporator(Buchi社 RE121, SWISS)로 減壓 濃縮하여 濃縮液을 얻었다.

(2) 凍結乾燥 : 이 濃縮液을 凍結乾燥機(EYELA, Japan)로 乾燥하여 茵蔯淸肝湯 153g을 29.71g을 얻었다(收率: 18.45%).

(3) 얻어진 凍結乾燥 엑기스를 適當한 濃度로 蒸溜水에 稀釋하여 사용하였다.

2) 實驗設計

(1) 肝硬變誘發 및 檢液投與

실험동물들을 ① 正常群(N), ② CCl_4投與群(C), ③ CCl_4+茵蔯淸肝湯投與群(C-IC)의 3群으로 나누고 群當 5마리씩 配置하였다. Carbon tetrachloride는 olive oil과 1:4로 稀釋하여 1.25㎖/㎏로 주 3回씩 12주간 腹腔注射 하였다. 檢液은 각각 4.5mg/㎏로 실험 제9주부터 12주까지 매일 오전 10시경 1회씩 經口投與하였다. 또한 CCl_4投與群에는 生理食鹽水를 同量으로 제9주부터 12주까지 매일 經口投與 하였다.

3) 體重變化

실험동물들을 正常群, CCl_4群, CCl_4+茵陳淸肝湯群으로 나누어 실험기간 동안 중량을 측정하였다.

4) 肝機能檢査와 一般血液檢査

흰쥐들을 正常群, 實驗群으로 나누어 8주 동안 처치후 1차로 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 간기능검사를 관찰하였다. 實驗群은 다시 CCl_4群, CCl_4+茵陳淸肝湯群으로 나누어 CCl_4群은 9주부터 12주까지 CCl_4만 지속적으로 복강주사하였고 CCl_4+茵陳淸肝湯群은 9주부터 12주까지 茵陳淸肝湯을 처치한 후 각각 간기능검사를 관찰하였다. 간기능검사 항목은 total bilirubin, direct bilirubin, total cholesterol, alkaline phosphotase, total protein, albumin, aspartate aminotransaminase, alanine aminotransaminase이다. 그리고 일반혈액검사(Complete Bloodcell Count: CBC)는 12주후 전체군에 대하여 1차례 검사하였는데, 각 항목은 white blood cell, red blood cell, hemoglobin, hematocrite, platelet이었다.

5) 肝藏의 肉眼的 所見

12주간 CCl_4 투여후 肝藏을 摘出하여 肝藏의 表面과 切斷面을 肉眼으로 觀察하였다.

6) 病理組織學的 檢査

(1) Hematoxylin & Eosin(H-E) 染色

12주간 CCl_4 처치 및 약제투여후 흰쥐를 에테르 痲醉 下에, 採血 後 放血致死시킨 다음 肝藏을 摘出하여 10% 中性포르말린 溶液에 固定한 後 파라핀抱埋機(Leica EG116)에 抱埋하여 로타리 마이크로톰(Leica)으로 4㎛ 두께로 組織切片을 製作한 다음 Hematoxylin & Eosin(H-E)染色을 施行하여 光學顯微鏡으로 觀察하였다.

(2) Masson-Trichrome 染色

실험동물들을 에테르 痲醉 下에, 採血 後 放血致死시킨 다음 肝藏을 摘出하여 Bouin液으로 固定한 後 파라핀抱埋機(Leica EG116)에 抱埋하여 로타리 마이크로톰(Leica)으로 4㎛ 두께로 切片한 다음 weigert iron hematoxylin液, biebrich scarlet-acid fuchsin液, phosphomolybdic-phosphotungstic acid液, aniline blue 液 등을 사용하여 染色하였다.

7) 統計學的 分析

CCl_4投與群과 各 藥物投與群과의 比較에는 ANOVA test와 Duncan's grouping analysis test를 이용하였으며, $p<0.05$인 境遇를 有意性이 있는 것으로 보았다.

III. 成 績

1. 體重變化

正常群, CCl_4群, CCl_4+茵陳淸肝湯群으로 나누어 12주간 각 군마다 중량을 측정하여 실험동물을 측정하였다.(Fig. 1)

그 결과 최초 正常群 222.80±0.49g, CCl_4群 226.60±2.60g, CCl_4+茵陳淸肝湯群 229.40±3.78g이었으나 12주후 正常群 325.60±9.28g, CCl_4群 244.20

±18.71g, CCl_4+茵陳淸肝湯群 307.40±17.31g으로 측정되어 정상군이 중량이 가장 높았고, 茵陳淸肝湯投與群에서는 CCl_4만 투여한 실험군에 비하여 체중감소가 유의한 수준으로 높게 나타났다.($p<0.05$)

2. 肝機能檢査 所見

1) CCl_4 처치가 肝機能檢査 수치에 미치는 영향

간경변증 유발을 위해 8주간 CCl_4를 복강주사한 후 간기능검사 수치를 관찰하였다.(Table 2)

CCl_4 투여는 전체적으로 간기능저하 소견을 보여주고 있으며 ALP, AST, ALT에 대하여는 유의한 수치의 상승을 일으킴이 관찰되었다.($p<0.05$)

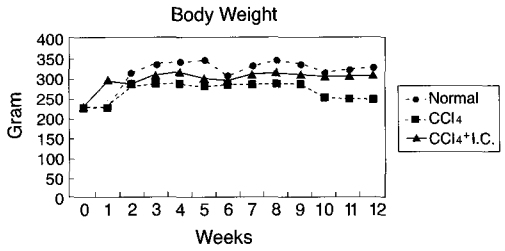

Fig. 1. Change of *Quinea pig's* Body Weight in Three Groups.

2) 茵蔯淸肝湯 투여가 肝機能檢査수치에 미치는 영향

9주에서 12주까지 CCl_4와 아울러 생리식염수와 茵陳淸肝湯을 투여한 실험에서 각 군간 간기능검사 수치를 관찰하였다.(Table 3)

T-chol, ALP는 인진청간탕 투여군에서 대조군에 비하여 낮아지는 경향을 보였으며 protein 수치는 CCl_4 투여로 정상군에 비하여 유의하게 감소되었으나 감소의 폭은 茵蔯淸肝湯群이 다소 낮게 나타났다. AST, ALT 수치는 CCl_4 투여군은 정상군에 비하여 유의하게 높게 나타났으나 茵蔯淸肝湯群은 유의수준 범위 내에서 약간의 상승이 있는 것으로 나타났다.

3. 一般血液檢査 所見

茵蔯淸肝湯이 일반혈액검사에서 미치는 영향을 관찰하기 위하여 12주 동안 각 군별로 처치를 한 후 일반혈액검사 수치를 관찰하였다.

Table 2. Biochemical Results in Three Groups after 8 Weeks of CCl4 Injection

Group	No	T-bil	D-bil	T-chol	ALP	T-protein	Albumin	AST	ALT
N	5	0.500±0.03^a	0.140±0.02^a	61.00±3.21^a	320.60±20.20^a	6.380±0.19^a	1.520±0.06^a	110.40±6.87^a	45.60±2.42^a
C	5	0.680±0.04^a	0.160±0.02^a	74.60±6.40^a	793.80±39.79^b	6.380±0.58^a	1.440±0.12^a	1542.40±206.77^b	1600.40±182.28^b
C-IC	5	1.180±0.49^a	0.500±0.35^a	76.80±5.27^a	1029.40±198.66^b	6.560±0.14^a	1.460±0.06^a	1548.60±583.65^b	1289.20±392.23^b

Values represent mean ± SEM
Means with same alphabets in the table are not significantly different
N: Normal group
C: CCl_4+Saline group
C-IC: CCl_4+Injinchunggantang group

Table 3. Effect of Injinchunggantang on CCl4-Induced Liver Cirrhosis

Group	No	T-bil	D-bil	T-chol	ALP	T-protein	Albumin	AST	ALT
N	5	0.620±0.10^a	0.260±0.05^a	72.80±6.87^a	511.40±167.57^a	7.660±0.33^a	1.120±0.11^a	173.00±9.87^a	57.00±8.38^a
C	5	0.640±0.07^a	0.260±0.02^a	97.40±10.74^a	690.00±99.64^a	5.920±0.12^b	1.080±0.05^a	257.40±21.36^b	105.00±10.61^b
C-IC	5	0.720±0.06a	0.280±0.04^a	87.80±10.46^a	675.60±45.22^a	6.220±0.44^b	1.000±0.06^a	216.40±14.45^{ab}	91.00±16.84^{ab}

Values represent mean ± SEM
Means with same alphabets in the table are not significantly different
N: Normal group
C: CCl_4+Saline group
C-IC: CCl_4+Injinchunggantang group

CCl_4만 투여한 군에서 hematocrit가 정상군 및 인진청간탕군에 비하여 유의성 있게 낮은 수치를 나타낸 것 외에 다른 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다.(Table 4)

4. 肝藏의 肉眼的 所見

각 실험군별로 처치를 한 후 실험동물의 肝藏을 肉眼으로 觀察하였다.

正常群은 진한 淡赤色으로 肝 表面 및 切斷面에서 特異한 病變을 찾아볼 수 없었다. 肝을 만져보았을 때의 彈力度도 正常이었다.

CCl_4投與群의 肝은 乳白色으로 萎縮되었고 肝表面은 纖維化가 進行되어 있었다. 切斷面에는 肝藏組織의 壞死部位로 생각되는 흰색 結節性 病變이 觀察되었다. 肝을 만져보았을 때의 彈力度도 減少되어 있었다.

CCl_4+茵蔯淸肝湯投與群의 肉眼的 肝 所見은 乳白色의 肝 表面 변화와 萎縮도 微微했다. 肝을 만져보았을 때 약간의 彈力度 減少가 있다고 判斷되었다.

以上에서 肝藏을 肉眼으로 觀察하여 色, 萎縮, 結節性 病變 및 彈力度 등을 살펴본 結果, CCl_4投與群에 比해 CCl_4+茵蔯淸肝湯投與群에서는 顯著한 纖維化 抑制效果가 있는 것으로 判斷되었다.(Table 5)

5. 肝藏의 病理組織學的 所見 結果

肝硬便症을 誘發한 흰쥐에 대하여 Hematoxylin & Eosin, Masson-Trichrome 染色으로 肝組織을 觀察하였다.(Table 6)

正常群에서는 肝小葉의 立體構造가 잘 維持되었고, 門脈 周圍 및 中心靜脈 周圍의 纖維化 및 肝細胞 壞死

Table 4. Changes in the Complete Bloodcell Count after 12 Weeks of Treatment

Group	No	WBC	RBC	HB	HCT	PLT
N	5	13.78±1.84[a]	8.49±0.26[a]	16.20±0.53[a]	46.80±1.43[a]	671.40±67.34[a]
C	5	17.08±2.31[a]	7.59±0.33[a]	14.36±0.73[a]	41.00±2.05[b]	600.40±59.09[a]
C-IC	5	23.86±4.82[a]	8.35±0.31[a]	16.00±0.40[a]	46.20±1.39[a]	566.20±87.81[a]

Values represent mean ± SEM
Means with same alphabets in the table are not significantly different
N: Normal group
C: CCl_4+Saline group
C-IC: CCl_4+Injinchunggantang group

Table 5. Macroscophic Findings of Liver

Group	N	C	C-IC
Color	淡赤色	乳白色	淡赤色
Atrophy	-	+++	++
Elasticity	+++++	+	+++
Nodule	-	+++	++

Extent of hepatic fibrosis (-~+/-~++++)
N: Normal group
C: CCl_4 group
C-IC: CCl_4+Injinchunggantang group

Table 6. Histological Findings of Liver

Group	N	C	C-IC
Lobular architecture	well preserved	distorted	preserved
Cell necrosis and fibrosis	-	+++	++
Inflammation	-	+++	++
Collagen tissue	-	+++	++

Extent of hepatic fibrosis (-~+/-~+++)
N: Normal group
C: CCl_4 group
C-IC: CCl_4+Injinchunggantang group

나 炎症反應은 觀察되지 않았다.(H-E 染色) Collagen은 觀察되지 않았다.(Masson-Trichrome 染色).

CCl_4投與群에서는 肝小葉의 立體構造가 消失되었고 門脈 周圍와 中心靜脈 周圍로 甚한 程度의 纖維化가 觀察되었다. 肝組織 全般에 걸쳐 甚한 肝細胞 壞死와 이에 同伴된 炎症反應도 觀察되었다.(H-E 染色) 門脈 周圍 및 中心靜脈 周圍로 比較的 많은 collagen이 觀察되었다.(Masson-Trichrome染色).

CCl_4+茵蔯淸肝湯投與群에서는 중등도의 肝小葉의 立體構造가 부분적으로 소실되었고 門脈周圍域, 中心靜脈部分 및 其他 肝組織에서 중등도의 纖維化가 觀察되었다.(H-E 染色) 門脈 周圍와 中心靜脈 周圍로 collagen이 輕微하게 觀察되었다.(Masson-Trichrome 染色).

以上에서 茵蔯淸肝湯이 肝組織의 纖維化 抑制에 미치는 效果를 觀察하기 위해 Hematoxylin & Eosin 染色, Masson-Trichrome 染色을 통해 肝小葉의 立體構造, 肝細胞 壞死 및 纖維化, 炎症反應, 細網組織 및 collagen 發生程度 等의 觀點에서 比較 觀察한 結果, CCl_4投與群에 比하여 CCl_4+茵蔯淸肝湯投與群에서는 顯著한 纖維化 抑制效果가 있는 것으로 觀察되었다.

Microscopic findings

Normal group -Well preserved lobular architecture without liver cell damage or fibrosis. Hematoxylin and Eosin(Fig. 2), Masson-Trichrome staining. x40(Fig. 3).

CCl_4 group - Markedly distorted lobular architecture with large confluent hepatic necrosis and fibrosis. Hematoxylin and Eosin(Fig. 4), Masson-Trichrome stain. x40(Fig. 5).

CCl_4+Injinchunggantang group - Slightly distorted lobular architecture with focal degenerating hepatocytes. Hematoxylin and Eosin(Fig. 6), Masson-Trichrome stain. x40(Fig. 7).

IV. 考 察

간경변증은 광범위한 간세포괴사가 장기간 진행된 결과 섬유화가 초래되고 간의 정상적인 소엽구조가 파괴되어 발생한다. 괴사에 대한 간의 반응의 주요한 요인은 간소엽의 허탈, 미만성 섬유중격의 형성과 간세포의 재생결절이다[16].

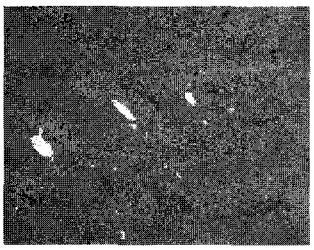

Fig. 2.

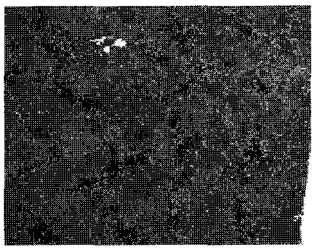

Fig. 3.

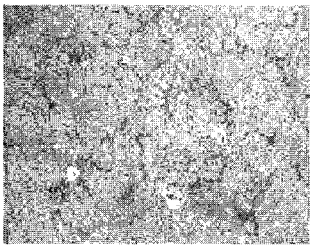

Fig. 4.

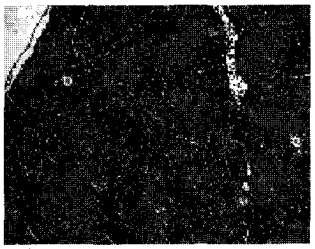

Fig. 5.

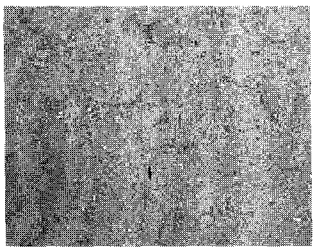

Fig. 6.

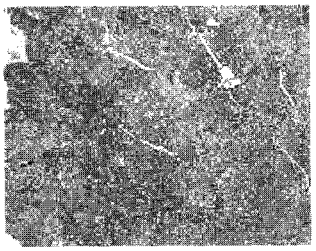

Fig. 7.

간손상의 원인은 바이러스, 알코올 등 다양하지만 간에 최종적으로 나타나는 해부학적 병변은 대동소이하다. 세계적으로 흔한 간경변증의 원인은 알코올의 과다섭취와 B형 및 C형 간염 바이러스의 만성적인 감염이다. 우리나라 간경변증 환자에서는 약 70%가 HBsAg 양성이며 최근에는 C형 간염(20%)에 의한 간경변증이 증가하는 추세이다[17]. 만성 간염 환자를 장기 추적한 국내 보고에 의하면 5년, 10년, 15년, 20년 후 간경변증으로의 이행률이 각각 9%. 23%, 36%, 48%였고, 초진 당시 연령이 40세 이상, HBsAg 양성 그리고 혈중 알부민 수치가 3.5gm/dL이하일 때 간경변증으로의 진행률이 유의하게 높았으며, 60세 이상에서는 HCV감염이 중요한 원인 인자였다. 중증 알코올중독자의 10-20%에서 간경변증이 발견되므로 알코올도 흔한 원인이 된다[18].

간경변증의 진행은 간섬유화 및 문맥압항진증이 주요 기전이 된다. zone 1의 괴사 후에 섬유화는 문맥과 문맥 사이에서 발생하고, Zone 3의 융합성 괴사 후에는 중심정맥과 문맥사이에 섬유질 침착이 일어난다. 간경변증의 진행에서 문맥을 통한 혈액은 간경변증에서는 섬유질 침착으로 우회하고, 결절의 중심부 Zone 3는 허혈성 손상으로 간경변증은 더욱 진행하며 비정상적인 결체조직의 기질이 Disse 강에 침착하여 혈액과 간세포들 사이의 대사물 교환에 장애가 일어난다[19].

간섬유증은 여러 원인에 의한 간세포 손상으로 간세포, 쿠퍼세포, 동모양혈관 내피세포 및 간성상세포 등 여러 세포들의 상호작용에 의해 각종 사이토카인 및 산소 유리잔기 등이 생성되고, 이들이 정상 세포외기질을 손상하여 세포외기질의 이상 증식이 유발되어 간섬유증으로 진행된다. 일반적으로 간섬유증은 간경변과는 달리 가역적이고, thin fibril로 구성되며, 결절 형성이 없는 것으로 알려져 있고 간손상의 원인이 소실되면 정상회복이 가능할 수 있으나, 이러한 간섬유증 과정이 반복적으로 지속되면 세포외기질 간의 교환결합이 증가하여 thick fibril을 형성하고 결절이 있는 비가역적인 간경변으로 진행된다. 세포외기질은 교원질, 당단백질 및 프로테오글라이칸 등으로 구성된다. 이중 특히 교원질의 증가는 간섬유증의 중요한 원인이 되고 교원질은 여러가지 원인에 의해 활성화된 간성상세포에서 주로 생성이 된다. 간성상세포는 1876년 Kupffer에 의해 발견되었고, Ito에 의해 기술되었으며 1971년 Wake에 의해 정립되었다. 동모양혈관 내피세포와 간세포사이의 딧세강에 위치한 세포로서 별모양이고, 비타민 A를 함유하고 있는 지방소적을 갖고 있어서 vitamin A storing cell, fat storing cell 또는 perisinusoidal hepatic lipocyte 등으로 명명되며, 정상에서는 3,4형 교원질과 laminin 등을 생성하고 1형 교원질은 거의 생성하지 않는데, 손상받은 간세포나 쿠퍼세포등에서 분비된 여러가지 사이토카인이나 oxidative stress등에 의해 자극을 받으면 platelet derived growth factor와 TGF-β의 receptor가 발현하고, 이와 더불어 4형 collagenase를 분비하여 세포주변을 둘러싸고 있는 기저막을 손상시킨다. 일반적으로 기저막 세포외기질은 간성상세포의 증식 및 활성화를 억제하는 것으로 알려져 있으므로 이러한 기저막의 손상은 간성상세포를 활성화시킨다. 활성화된 간성상세포는 각종 성장인자에

대한 반응이 증가하고 1형 교원질 등의 세포외기질 생성을 증가시키며 생성된 1형 교원질은 간성상세포를 더욱 활성화시킨다. 이외에도 collagenase의 억제물질인 tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 등의 생성도 증가시켜 결국 간섬유화의 중심적인 역할을 한다. 또한 초기에 손상된 기저막은 1형 교원질과 fibronectin등으로 대치되고, 이로 인하여 동모양혈관과 간세포와의 물질교환이 원활치 않게 되어 간세포 기능이 저하된다[18].

韓醫學 文獻에 나타난 症候 中 肝疾患의 範疇에 屬한 것으로는 黃疸, 脹滿(鼓脹), 積聚, 脇痛, 洒傷 等이 있다.「黃帝內經」의 '素問 平人氣象論'[21]에서 "尿黃赤 安臥者 黃疸'이라 하였고, '靈樞 論疾診尺篇'[22]에서는 "身痛而色微黃……黃疸也 安臥 小便黃赤 脈小而澁 不嗜食"이라 하였는데, 이는 急慢性 肝疾患에서 나타날 수 있는 症候이다. 張仲景[23]은 黃疸의 主原因을 濕熱熏蒸으로 보았으며, 黃疸의 持續期間이나 程度, 渴症의 有無, 藥物의 反應이나 小便의 利不利 등이 治療經過나 豫候에 影響을 준다고 하였다.

鼓脹에 대해서는 '靈樞 水脹篇'[24]에서 "腹脹 身皆大 大與膚脹等也 色蒼黃 腹筋起 此其候也"라 하였고, 朱丹溪[24]는 "手足瘦而腹大如蜘蛛狀"이라 하였으며, 張仲景[23]은 "黑疸 其腹脹如蜘蛛狀, 大便必黑, 時痞腹滿者難治"라 하여 黃疸과 腹水가 併發한 末期의 肝硬變症과 關聯된 症候를 記述하고 있다.

本 實驗에 使用된 茵陳淸肝湯[5]은 2000餘年 前부터 黃疸의 治療에 使用되어 온 茵陳五苓散의 加味方이다. 茵陳五苓散은 張仲景[23]이 黃疸의 治療에 使用한 以來 現在까지도 臨床에서 淸熱利濕을 目標로 慢性肝炎의 治療에 應用되고 있는 處方이다. 茵陳淸肝湯은 茵陳五苓散에서 肉桂를 除하고 地楡 蘿蔔子 靑皮 砂仁을 加味하여 構成된 처방으로 淸熱利濕 消積祛瘀를 目標로 臨床에서 慢性肝疾患 治療에 活用되고 있다.

方中의 茵陳[25-27]은 味苦性平微寒하여 肝膽脾胃經으로 歸經하며 淸熱利濕, 退黃疸, 除脾胃濕熱鬱結, 發汗利水, 傷寒時疾狂熱의 治療에 사용된다. 地楡[25-27]는 味苦酸性微寒하고 肝大腸經으로 歸經하며 淸熱收斂 下焦血中濕熱을 治하고 吐血 衄血 大小便血症에 炒黑하여 使用한다. 茯苓[25-27]은 味甘性平하고 心肺脾胃腎經으로 歸經하며 生津止渴, 利水滲濕, 健脾益氣, 寧心安神 등의 效能이 있다. 猪苓[25-27]은 味甘淡性平하고 腎膀胱經에 歸經하고 利水滲濕, 淸熱, 開腠發汗 등의 效能이 있다. 白朮[25-27]은 味甘微苦性溫微香하며, 脾胃經에 歸經하고 補脾和中, 燥濕, 補氣補血, 利水止汗 등의 效能이 있다. 澤瀉[25-27]는 味甘性寒하고 腎膀胱經에 歸經하며 一切濕熱之病에 利水滲濕, 淸熱 등의 效能이 있다. 蘿蔔子[25-27]는 味甘辛性平하고 胃肺經으로 歸經하며 下氣散結, 寬中消食, 化痰散瘀 등의 效能이 있다. 覆盆子[25-27]는 味甘酸性溫하고 肝腎膀胱經으로 歸經하며 腎虛遺尿, 小便頻數, 陽痿에 益腎, 固精, 縮尿하는 效能이 있다. 靑皮25-27는 味苦辛性溫하며 肝膽經으로 歸經하고 疎肝破氣, 散積消痞 등의 效能이 있다. 甘草[25-27]는 味甘性平하며 肝脾經 및 其他 모든 經脈에 歸經하고 調和諸藥, 通行十二經, 解百藥毒 등의 效能이 있다.

茵蔯淸肝湯에 대한 硏究로는, 金[8]은 茵蔯淸肝湯의 安全性에 關한 硏究에서 急性 및 亞急性 · 慢性 經口毒性 및 副作用을 나타내지 않았다고 報告하였고, 金[9]이 茵蔯淸肝湯이 電擊性肝炎을 일으킨 마우스의 生存率을 53%로 높이는 效果가 있다고 報告하였다. 禹[6]가 慢性B型肝炎 患者에 對한 臨床 報告에서 血淸學的 檢査上 AST, ALT 等의 肝機能 改善과 HBeAg의 陰轉에 對한 效果가 있다고 報告하였다. 또한 姜[10]은 茵蔯淸肝湯加味方이 MHV-2 및 水浸스트레스로 實驗的 肝硬變症을 誘發한 마우스에 對하여 肝機能 改善, 肝保護, 肝損傷 恢復, 肝細胞 再生에 有意한 效果가 있어 慢性肝炎이 肝硬變症으로 移行되는 것을 抑制한다고 報告하였다.

最近에는 分子生物學的인 接近을 통해 韓藥의 效能을 檢證하는 報告가 많은데, 朴[11]은 茵蔯淸肝湯加味方이 Bcl-2, Bcl-XL 活性을 높여 細胞死滅을 抑制한다고 報告하였고, 洪[12]과 高[28]는 茵蔯淸肝湯加味方과 茵蔯四苓散分劃物이 肝細胞를 보호하고 Cpp32 protease, Fas를 抑制하고, Bcl-2를 活性化시켜 細胞死滅을 抑制한다고 報告하였다. 李[29]는 茵蔯의 分劃物

中 butanol fraction에서 Fas를 媒介로 하는 細胞死滅에 對해 肝細胞 保護效果가 가장 높다고 報告하였으며, 李[30]는 茵蔯의 butanol fraction은 肝細胞의 TGF-β1 誘導性 細胞死滅에 關與하는 遺傳子를 調節함으로써 細胞損傷을 抑制하여 肝機能을 保護하는 效果가 있음을 報告하였다. 辛[13]은 茵蔯이 TGF-β1 誘導性 肝纖維化에 미치는 影響을 硏究하여 茵蔯은 TGF-β1 合成을 抑制하였고 fibroblast의 細胞增殖과 纖維化誘發遺傳子의 發顯을 抑制하였음을 報告하였다.

동물에 있어서 간섬유화의 유도는 그 병인에 따라 몇가지 모델이 이용되고 있으나 현재까지 사람과 유사한 동물모델은 개발되지 않았다. 간섬유화의 동물모델에 대한 기준은 그 병인에 따라 다소 차이는 있지만 다음의 사항들이 있어야 한다. 즉 사람에서 볼 수 있는 것과 같은 양상의 조직학적 변화가 있어야 하고 다음으로 점진적이고 전반적인 진행양상의 병리학적 변화를 보여야 하고, 세 번째로 재현율은 높되 치사율은 낮을 것, 네 번째는 간섬유화의 가역성 및 비가역성, 마지막으로 복수 등의 병태생리학적 속발증의 발생 등이다[31,32]. 현재까지 사용되고 있는 동물의 간섬유화 유도 방법으로는 간독성 물질(사염화탄소 등), 담도결찰, alcohol 및 면역학적 방법 등이 있는데, 간독성 물질인 사염화탄소(CCl_4)에 의한 간섬유화 유도 방법은 가장 오래되고 가장 널리 사용되는 방법으로 세포외기질의 침착기전[14], 여러 가지 항섬유화제제의 효과[15] 및 간경변에서의 병태생리를 연구하고 내장과 간문맥간의 혈류역동학적인 변화 등의 세포병리학적 기전을 이해하는데 가장 널리 이용되어온 방법이다. 사염화탄소를 이용하여 동물에서 간섬유화 및 간경변을 유도하기 위하여 간세포에 반복적인 손상을 주어야 하는데 그 손상의 정도는 개체가 사망하지 않을 정도이면서 가역적인 손상을 입힐 정도 이상으로 용량을 결정하여야 한다[33].

사염화탄소(carbon tetrachloride, CCl_4)의 투여는 실험적인 간손상 및 간섬유화를 일으키는데 일반적으로 많이 사용되고 있다.34 CCl_4가 간손상 및 간섬유화를 일으키는 정확한 기전은 아직 알려져 있지 않으나 CCl_4의 산화제로서의 역할이 중요시되고 있다. 즉 CCl_4가 간내의 microsomal cytochrome P-450에서 trichloro -methyl free radical(CCl_3^-)을 형성하고 그 결과 trichloromethyl peroxy radical($CCl_3O_2^-$)을 형성하며, 이 radical이 직접 혹은 간접적으로 세포막의 지질 또는 다른 분자들에 손상을 유발한다는 것이다.35 이와 관련하여 CCl_4로 급성 간손상이 유발된 흰쥐에서 지질의 과산화(lipid peroxidation)를 나타내는 malon-aldehyde의 증가가 collagenα1(Ⅰ) mRNA의 발현에 관계가 있다고 보고되고 있다. 이는 대사에 주로 관여하는 효소인 cytochrome p-450이 소엽 중심부에 풍부하게 존재하기 때문에, 주로 소엽 중심부 괴사를 유발하므로 알콜성 간질환에서의 간손상 및 섬유화와 유사하여 문맥 주위부를 중심으로 간의 괴사 및 섬유화가 유발되는 바이러스성 간염으로 유발되는 경우와는 그 기전이나 양상에 차이가 있는 단점이 있다.[36]

CCl_4로 간경변증을 유발한 흰쥐들을 正常群, CCl_4群, CCl_4+茵陳淸肝湯群으로 나누어 肝機能改善, 肝機能恢復, 肝保護, 再生에 영향을 미치는지 살펴보았다. 항목은 중량, 간기능검사, 일반혈액검사 및 Hematoxylin & Eosin 染色, Masson-Trichrome 染色으로 肝組織을 觀察한 病理組織學的 實驗을 채택하였다.

실험동물들을 正常群, CCl_4群, CCl_4+茵陳淸肝湯群으로 나누어 일정기간 동안 실험하는 동안 중량을 정기적으로 측정하여 그 변화양상을 각 군마다 기록하였다. 즉 正常群, CCl_4群, CCl_4+茵陳淸肝湯群으로 나누어 12주간 각 군마다 중량을 측정하여 평균을 구한 다음 일정기간마다 각 군의 중량평균을 측정하였다.(Fig. 1) 그 결과 제1주에 正常群이 222.80±0.49g, CCl_4群이 226.60±2.60g, CCl_4+茵陳淸肝湯群이 229.40±3.78g이었으나 제12주에는 正常群이 325.60±9.28g, CCl_4群이 244.20±18.71g, CCl_4+茵陳淸肝湯群이 307.40±17.31g으로 측정되어 정상군이 제일 체중이 증가되었고, 제9주부터 12주까지 CCl_4+茵陳淸肝湯群은 체중감소폭이 거의 없었지만, CCl_4群은 CCl_4+茵陳淸肝湯群에 비해 체중감소가 유의하게 나타났다.($p<0.05$)

肝機能檢査 및 一般血液檢査 결과를 살펴보면 다

음과 같다.

간경변증을 유발하는 과정에서 8주동안 시행한 간경변증유발실험에서 각 그룹간 간기능검사 수치를 관찰하였다.(Table 1) 정상군은 아무런 처치를 하지 않은 군이고, CCl_4군은 CCl_4와 Normal Saline을 혼합하여 투여된 군이고, CCl_4+茵陳淸肝湯群은 8주동안 CCl_4만 투여된 군이다.

실험성적은 正常群에 비해서 CCl_4群 및 CCl_4+茵陳淸肝湯群이 간기능검사의 모든 항목에서 기능저하를 나타내었고, 각 CCl_4群 및 CCl_4+茵陳淸肝湯群은 서로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.(Table 1)

그 이후 계속적으로 肝硬變症을 유발하는 과정에서 유발실험 9주에서 12주까지 CCl_4+茵陳淸肝湯群에만 경구로 茵陳淸肝湯을 투여한 후 시행한 간경화유발실험에서 각 그룹간 肝機能檢査 수치를 관찰하였다. CCl_4+茵陳淸肝湯群이 CCl_4群에 비교할 때, total cholesterol이 87.80 ± 10.46^a로 97.40 ± 10.74^a보다 낮았으며, alkaline phosphotase은 675.60 ± 45.22^a로 690.00 ± 99.64^a보다 낮았고, total protein은 6.220 ± 0.44^b로 $5.920\pm0.12b$보다 높았으며, albumin은 1.000 ± 0.06^a로 1.080 ± 0.05^a보다 낮았다. 그리고 aspartate aminotransaminase은 216.40 ± 14.45^{ab}으로 257.40 ± 21.36^b보다 낮았으나 정상군의 수치 173.00 ± 9.87^a인 것보다 CCl_4群의 수치가 유의하게 높고 CCl_4+茵陳淸肝湯群의 수치에는 유의하게 가까운 범위에 있다. alanine aminotransaminase은 91.00 ± 16.84^{ab}으로 105.00 ± 10.61^b보다 낮았으나 정상군의 수치인 57.00 ± 8.38^a인 것보다 CCl_4群의 수치가 유의하게 높고 CCl_4+茵陳淸肝湯群의 수치에는 유의하게 가까운 범위에 있었다.

간경변을 유발하는 과정에서 12주간 시행한 간경변유발실험에서 각 그룹간 일반혈액검사 수치를 관찰하였다.(Table 3) 결과를 볼 때에 CCl_4+茵陳淸肝湯群은 CCl_4群에 비해 white blood cell은 23.86 ± 4.82^a로 17.08 ± 2.31^a보다 높았으며, red blood cell은 8.35 ± 0.31^a로 7.59 ± 0.33^a보다 높았고, hemoglobin은 16.00 ± 0.40^a으로 14.36 ± 0.73^a보다 유의하게 높았고, hematocrit은 46.20 ± 1.39^a으로 41.00 ± 2.05^b보다 유의하게 높았고, platelet은 566.20 ± 87.81^a으로 600.40 ± 59.09^a보다 낮았다.

실험동물의 肝藏을 肉眼으로 觀察한 결과를 살피면 다음과 같다.

正常群은 진한 淡赤色으로 肝 表面 및 切斷面에서 特異한 病變을 찾아볼 수 없었다. 肝을 만져보았을 때의 彈力度도 正常이었다. CCl_4投與群의 肝은 乳白色으로 萎縮되었고 肝表面은 纖維化가 進行되어 있었다. 切斷面에는 肝藏組織의 壞死部位로 생각되는 흰색 結節性 病變이 觀察되었다. 肝을 만져보았을 때의 彈力度도 減少되어 있었다. CCl_4+茵蔯淸肝湯投與群의 肉眼的 肝 所見은 乳白色의 肝 表面 변화와 萎縮도 微微했다. 肝을 만져보았을 때 약간의 彈力度 減少가 있다고 判斷되었다. 以上에서 肝藏을 肉眼으로 觀察하여 色, 萎縮, 結節性 病變 및 彈力度 등을 살펴본 結果, CCl_4投與群에 比해 CCl_4+茵蔯淸肝湯投與群에서는 顯著한 纖維化 抑制效果가 있는 것으로 判斷되었다.(Table 5)

肝藏의 病理組織學的 實驗 中, 肝硬變症를 誘發한 실험동물에 대하여 Hematoxylin & Eosin 染色, Masson-Trichrome 染色으로 肝組織을 觀察하였다. 正常群에서는 肝小葉의 立體構造가 正常的이었고 門脈 周圍 및 中心靜脈 周圍의 纖維化 및 肝細胞의 壞死나 炎症反應의 所見은 觀察되지 않았다. 細網組織은 纖細한 상태로 잘 維持되었으며, collagen은 觀察되지 않았다. CCl_4投與群에서는 肝小葉의 立體構造가 全般的으로 消失되었고 門脈 周圍와 中心靜脈 周圍로 甚한 程度의 纖維化가 觀察되었다. 肝組織 全般에 걸쳐 甚한 肝細胞 壞死 및 炎症反應이 觀察되었다. 細網組織은 甚한 破壞 및 壓縮所見을 보였고, 門脈 周圍 및 中心靜脈 周圍로 比較的 많은 collagen이 觀察되었다. CCl_4+茵蔯淸肝湯投與群에서는 肝小葉의 立體構造도 正常에 가까웠고 門脈周圍域, 中心靜脈部分 및 其他 肝組織에서 微微한 程度의 纖維化가 觀察되었다. 細網組織은 輕度의 壓縮所見이 觀察되었으나 比較的 잘 維持되었으며, collagen이 微微한 程度로 觀察되었다.

따라서 肝硬變症誘發群에서 肝組織의 纖維化 抑制

效果를 觀察하기 위해 Hematoxylin & Eosin 染色, Masson-Trichrome 染色을 통해 肝小葉의 立體構造, 肝細胞 壞死, 纖維化, 炎症反應, 細網組織 및 collagen 發生程度 等의 觀點에서 比較 觀察한 結果, CCl_4投與群에 比하여 CCl_4+茵蔯淸肝湯投與群에서는 顯著한 纖維化 抑制效果가 있는 것으로 觀察되었다.

生化學檢査와 一般血液檢査 및 ANOVA test와 Duncan's grouping analysis test로 統計 分析한 結果, 肝硬變症誘發群에서는 CCl_4投與群에 比해 CCl_4+茵蔯淸肝湯投與群에서는 CCl_4投與群에 比해 肝組織의 纖維化 抑制效果가 95% 信賴度로 有意한 것으로 나타났다.

以上의 結果에서, 茵蔯淸肝湯은 肝纖維化의 進行期間이 肝硬變症이 誘發된 모든 境遇에서 纖維化 抑制效果가 있는 것으로 判斷되었다.

V. 結 論

茵蔯淸肝湯이 肝保護의 纖維化 抑制에 미치는 影響을 알아보기 위해 흰쥐에 CCl_4로 肝硬變症을 誘發한 다음 體重變化 및 肝機能檢査, 一般血液檢査 및 肉眼的 檢査 및 病理組織學的 檢査들(Hematoxylin & Eosin stain, Masson-Trichrome stain)을 施行하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 흰쥐의 체중변화를 관찰한 결과, CCl_4+茵陳淸肝湯群은 CCl_4群에 비해 유의하게 체중감소폭이 적었다.($p<0.05$)
2. 肝機能檢査 관찰 결과, CCl_4投與群에 比해 茵蔯淸肝湯投與群에서는 각 항목의 수치가 유의하게 정상범위에 가깝게 나왔고, 一般血液檢査에서도 CCl_4投與群에 比해 茵蔯淸肝湯投與群에서 Hemoglobin은 유의하게 정상에 가까운 범위로 측정되었고 RBC, Hematocrit 수치는 유의성이 없었지만 정상에 가까운 범위로 측정되었다.
3. 肝臟의 肉眼的 觀察 結果, CCl_4投與群에 比해 茵蔯淸肝湯投與群에서는 肝組織損傷의 恢復 및 損傷抑制 效果가 다소 우월하였다.
4. 病理組織學的 檢査 結果, CCl_4投與群에 比해 茵蔯淸肝湯投與群에서는 急性 小葉構造와 細網組織의 保存, 炎症 · 壞死 · 纖維化의 抑制 및 collagen의 發生低下가 顯著하게 觀察되었다.

以上에서 茵蔯淸肝湯은 CCl_4로 肝硬變症을 유발한 흰쥐에 대하여 肝機能恢復 및 肝組織의 纖維化 抑制作用이 뚜렷하여 임상에서 慢性肝炎에서 肝硬變症으로의 移行하는 것을 抑制하는데 효과적으로 활용할 수 있는 처방으로 판단된다.

向後 人體 肝疾患에서의 組織變化와 類似한 纖維化 誘發 病態모델 開發 및 慢性 肝纖維化를 誘發한 경우에서 茵蔯淸肝湯의 纖維化 抑制效果에 대한 深度있는 硏究가 必要하다고 진행되어야 할 것으로 사료된다.

參考文獻

1. Rolando Hernandez-Munoz, Mauricio Diaz-Munoz, Juan A., et al. Adenosine reverses a preestablished CCl_4-induced micronodular cirrhosis through enhancing collagenolytic activity and stimulating hepatocyte cell proliferation in rats. Hepatology. 2001;34:677.
2. 전국한의과대학 간계내과학 교수 공저. 肝系內科學. 서울;東洋醫學硏究院. 2001:323-325.
3. Bruck R, Hershkoviz R, Lider O, Aeed H, Zaidel L, Matas Z, Barg J, et al. Inhibition of experimentally-induced liver cirrhosis in rats by a nonpeptidic mimetic of the extracellular matrix-associated Arg-Gly-Asp epitope. J Hepatol. 1996;24:731-738.
4. 통계청. 2000년 사망원인 통계연보. 문전사. 2001;8,9, 98,99.
5. 경희대학교 부속한방병원. 경희한방처방집. 서울;트윈기획. 1997:244.
6. 禹弘楨. 만성B형간염에 대한 인진청간탕의 효과. 제2회 한중 학술대회 참가 논문집(간장병). 1995. 18-53.
7. 김선민, 이장훈, 우홍정. 인진청간탕이 C형 간염 바이러스의 임파구계 세포감염에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2001:22(1):53-62.
8. 金榮哲, 李長勳, 禹弘楨. 인진청간탕의 안전성에 관한 연구. 경희한방대론문집. 1997:20(1):57-89.
9. 金珍珠. 인진청간탕이 MHV-2로 유발된 마우스의

손상간에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 1996.
10. 姜京台, 李長勳, 禹弘楨. 인진청간탕가미방이 실험적 흰쥐의 간경변증에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1997:20(2):133-150.
11. 朴容禎, 金榮哲, 李長勳, 禹弘楨. 인진청간탕가미방이 간세포의 증식능력에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1998:19(1):145-164.
12. 洪尙勳, 李長勳, 禹弘楨. 인진청간탕가미방이 간세포 활성세포주기 및 apoptosis에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1998:19(2):337-372.
13. 신상만, 김영철, 이장훈, 우홍정. 인진이 TGF-β1 유도성 간섬유화에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2001:22(3):141-155.
14. Rubin E, Hutterer F. Methods in the study of structural changes induced by experimental chronic hepatic injury. Methods Achiev Exp Pathol. 1967;2:224.
15. Ala-Kokko L, Stenback F, Ryhanen L. Preventive effect of malotilate on carbon tetrachloride-induced liver damage and collagen accumulation in the rat. Biochem J. 1987;246:503.
16. Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC, Poulsen HE, Scheuer PJ, Sobin LH. The morphology of cirrhosis. Recommendation on definition, nomenculature and classification by a working group sponsored by the World Health Organization. J Clin Path. 1977;31;395-414.
17. 김정룡. 소화기계 질환. 서울;일조각. 2000:594-603.
18. 김정룡, 김진욱, 이효석, 윤용범, 송인성. 만성 간염 및 간경변증 환자의 자연경과와 생존율에 관한 연구-20년간의 자료분석. 대한내과학회지. 1994;46:168-180.
19. Rockey DC. The cellular pathogenesis of portal hypertension;stellate cell contractility, endothelin, and nitric oxide. Hepatology. 1997;25:2-5.
20. Sherlock S, Dooley J. Diseases of the liver and biliary system, 10th eds. Oxford: Blackwell Science. 1997;371-384.
21. 洪元植. 精校黃帝內經素問. 서울;東洋醫學硏究院. 1985:66.
22. 洪元植. 精校黃帝內經靈樞. 서울;東洋醫學硏究院. 1985:178,249,309.
23. 張仲景. 仲景全書. 서울;大成文化社. 1984:225,240,249,250,408,411.
24. 朱震亨. 丹溪治法心要. 中國;山東科學技術出版社. 1985:89.
25. 全國 韓醫科大學 本草學敎授. 本草學. 서울;永林社. 1991:56, 58, 149, 281, 284, 285, 358, 378, 393, 455, 456, 513.
26. 楊東喜. 本草備要解釋. 臺北;國興出版社. 中華69年:32,160,167,169,212,222,303,334,418.
27. 新文豊出版公司編.新編中藥大辭典.臺北;新文豊出版社. 1985:58,544,566-571,734,1169,1288,1593,1596,1602,1606,2456,2524,2525,2562..
28. 고흥, 이장훈, 우홍정. 인진사령산 분획물이 간세포활성, 세포주기 및 Fas-Mediated Apoptosis에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2000:21(3):174-185.
29. Yi Jong-Hoon, Lee Jang-Hoon, Woo Hong-Jung. Effects of Five Fractionof Artemisia Carpillaris THUMB on Fas-mediated Apoptosis in HepG2 Cells. Journal of Oriental Medicine. 1999:4(1):41-45.
30. 李知賢, 李長勳, 禹弘楨. 인진분획물이 인체 간세포의 TGF-β1 induced apoptosis에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2000:20(1):53-61.
31. Rubin E, Hutterer F, Popper H. Cell proliferation and fiber formation in chronic carbon tetrachloride intoxication. Am J Pathol. 1963;42:715.
32. Popper H, Piez KA. *Collagen metabolism in the liver.* An annotated and supplemented report of a workshop at the National Institute of Health. Dig Dis. 1987;23:641.
33. 송일한, 김병호, 김영관, 동석호, 김효종, 이정일, 장영운, 장린. 흰쥐에서 사염화탄소(CCl4)에 의한 간섬유화의 유도. 대한소화기학회지. 1992;24(6):1330-1339.
34. Brenner DA, Veloz L, Jaenisch R, Alcorn JM. Stimulation of the collagen α1(Ⅰ) endogenous gene and transgene in carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis. Hepatology. 1993;17:287~292.
35. Castillo T, Koop DR, Kamimura S: Role of cytochrome P-450 2E1 in ethanol-, carbon tetrachloride- and iron-dependent microsomal lipid peroxidation, Hepatology, 1992;16:992~996.
36. Tsutsumi M, Lasker JM, Shimizu M, Rosman AS, Lieber CS. The intralobular distribution of ethanol inducible P450 IIE1 in rat and human liver. Hepatology. 1989;10:437~436.