

Indomethacin으로 유발된 생쥐의 위 점막 손상에 대한 香砂平胃散의 보호 효과

최흥민, 임성우

동국대학교 한의과대학 비계내과학교실

The Effects of *Hyangsapyeongwisan* on Gastric Mucosal Lesions Induced by Indomethacin

Heung-Min Choi, Seong-Woo Lim

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University

This study was carried out to investigate the effects of *Hyangsapyeongwisan*(HP) on gastric mucosal lesions induced by indomethacin in mice.

The control group consisted of gastro-inflammation elicited mice. The sample group consisted of mice given HP after onset of gastro-inflammation.

In common morphological and histochemical change, various cell abnormalities were observed in the control group, such as mucous surface cell, peanut cell, surface epithelial cell, goblet cell abnormalities, all caused hemorrhagic erosion. The sample group was the same as the control group.

In the immunohistochemical change, the distributions of COX-1, BrdU treated with HP were notably higher than those of the control group($p<0.05$). The distributions of TUNEL, NF- κ B, COX-2, PKC, IL-12B in mice treated with HP were notably lower than those of the control group($p<0.05$).

The above results support a role for *Hyangsapyeongwisan* in treating gastric mucosal lesions.

Key Words: *Hyangsapyeongwisan*, the injury of gastric mucosal membrane, COX-1, NF- κ B, PKC, indomethacin

I. 緒 論

위 점막 손상은 점막, 점막하조직 및 근육층까지 침범되는 조직의 결손으로 점막을 보호하는 방어인자와 점막을 손상시키는 공격인자 사이의 균형이 깨어져 출혈성 위염과 소화성 궤양이 유발하고 상복부 동통과 트림, 헛배부름, 구역 및 구토, 토혈과 빈혈 등

이 발생한다^{1,2}.

한의학에서胃痛(胃脘痛)의 원인을肝氣犯胃, 飲食傷胃, 脾胃虛寒, 胃血瘀 등으로 보고 消肝理氣, 消食導體, 健脾溫中, 化瘀止痛하여 위점막 손상으로 인한 출혈과 궤양을 치료한다^{3,4}. 특히 소화성 궤양은 공격인자 억제와 방어인자 증강의 효율적 운용에 따라 효과가 결정되며, 상부위장관의 궤양은 재발률이 높으므로 규칙적이고 꾸준한 예방적 치료가 중요하다⁵.

위 점막 손상으로 유발된 출혈과 궤양의 치료에 효과에 대한 실험적 연구로 手拮散⁶, 丹蔘補血湯과 保和丸⁷, 內消散⁸, 香砂六君子湯⁹, 烏貝散¹⁰, 沙蔘麥門冬

· 접수 :2004년 7월 26일 채택 :2004년 8월 6일
· 교신저자 : 임성우, 동국대학교 강남한방병원 비계내과
(Tel : 02-3416-9732 Fax : 02-3416-9790, E-Mail :
omdls@hanmail.net)

Table 1. The Amount and Composition of *Hyangsapyeongwisan*

Species	Part used	Latin name	Weight(g)
<i>Atractylodes japoniu</i> Koidz.	root	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	3.75
<i>Citrus unshiu</i> Markovich.	cortex	<i>Citri Pericarpium</i>	3.75
<i>Cyperus rotundus</i> L.	root	<i>Cyperi Rhizoma</i>	3.75
<i>Poncirus trifoliata</i> Rafin.	seed	<i>Aurantii Inmaturus Fructus</i>	3.0
<i>Pogostemon cablin</i> Benth.	herb	<i>Pogostemonis Herba</i>	3.0
<i>Magnolia officinalis</i> Rehd.	cortex	<i>Magnoliae Cortex</i>	2.62
<i>A. xanthioides</i> Wall.	seed	<i>Amomi Fructus</i>	2.62
<i>Aucklandia lappa</i> Decne.	root	<i>Aucklandiae Radix</i>	1.87
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch	root	<i>Clycyprhizae Radix</i>	1.87
<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	root	<i>Zingiberis Rhizoma Pecens</i>	
Total amount			26.23

탕¹¹, 蓼朮健脾湯¹², 補心健脾湯과 正傳加味二陳湯¹³ 등 다양한 처방이 활용되는데, 이들은 健脾, 消導, 溫中, 清熱, 去風除濕, 止血, 止痛, 補陰 등의 치법이 위액 분비 기능 조절과 조직학적 변화를 통해 위 점막 손상에 치료 및 예방효과 있음을 보고하였다.

香砂平胃散은明代에 저술된 龔의《萬病回春》¹⁴에 처음으로 수록된 처방으로서 平胃散에 香附子, 枳實, 藿香, 砂仁, 木香을 가미하여 구성된 처방으로, 許¹⁵은 傷食之症을, 金¹⁶은 소화불량, 위산과다, 위궤양등을 치료한다고 하였다. 또한 申¹⁷등은 香砂平胃散이 위액분비를 감소시켜 위 점막 손상을 치유할 수 있다고 하였으며, 張¹⁸등은 香砂平胃散의 진통, 진정작용 등을 실험적으로 밝혔다.

이에 저자는 indomethacin으로 유발된 위 점막 손상에 대한 香砂平胃散의 방어효과를 실험적으로 규명하기 위하여, 생쥐 위 점막의 복합당질, 점막보호인자, 염증관련 매개물질, 세포증식, 세포자기살해 등 세포성 면역변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 재료

1) 동물

대한실험동물센터에서 분양받은 태령 4주령 ICR 계 수컷 생쥐를 무균사육장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중 30g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 실험

동물은 대조군, 급성 위점막 손상유발군 (GE군), 위점막 손상유발 전 향사평위산 추출물 투여군 (HP군)로 나누었으며, 각 군당 10마리를 배정하였다.

2) 약물의 제조와 투여

香砂平胃散은《東醫寶鑑》¹⁵에 준하여 동국대학교 부속 강남한방병원에서 조제(Table. 1)된 것으로, 한약재 2첩을 증류수 500ml에 넣고 2시간동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 50ml로 감압농축하여 HP군에 위점막손상 유발 전 매일 2.5ml/kg 량으로 3일동안 구강투여 하였다.

2. 방법

1) 위점막 손상 유발

급성 위점막손상(gastropathy)을 유도하기 위하여 indomethacin(Sigma, USA)을 사용하였다. 주사액은 750mg의 indomethacin을 0.9% NaCl이 포함된 0.2M NaOH - 80% Ethyl alcohol 용액 100ml에 녹여 제조한 후 GE군과 HP군에 3.3ml/kg(indomethacin 25mg/kg)량으로 오른쪽 복부에 피하주사하였다.

2) 조직표본 제작

위점막 손상 유발 후 6시간이 경과되었을 때 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액 (neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 위 몸통(body)을 적출하여 실온에서 24시간동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 μm 두께의 연속절편으로 제작되었다.

Table 2. Sugar Specificities and Inhibitory Carbohydrate of Peanut Agglutinin

Lectin	Optium ditution	Sugar specificity
PNA	10 $\mu\text{g/ml}$	galactosyl- β -1,3-N-acetylgalactosamine

3) 면역조직화학 표본 제작

(1) 복합당질의 분포 변화 관찰

복합당질 (glycoconjugate)의 하나인 *Peanut Agglutinin* (PNA ; Sigma, USA)의 HP 추출액에 의한 위점막 내 분포 변화를 조사하기 위해 lectin을 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다(Table 2). 조직을 실온에서 1% bovine serum albumin (BSA; Sigma, USA)에 20분간 blocking한 다음 1:100으로 희석한 biotinylated anti PNA (Sigma, USA)에 4°C incubation chamber내에서 24시간동안 반응시켰다. 다음 ABC kit (avidin biotin complex; Vector Lab, USA.)에서 1시간동안 실온 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine (DAB : Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액 (pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. Lectin 반응의 강도는 -(음성), +(약한), ++(중간정도의 양성), +++(강한 양성)으로 표시하였다.

(2) 점막내 보호장벽 인자의 변화

점막상피세포의 보호기전에 관여하는 cyclooxy-genase-1 (COX-1)의 분포변화를 관찰하기 위한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 먼저 절편을 proteinase K (20 $\mu\text{g/ml}$)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum에서 1시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 rabbit anti-mouse COX-1 (1:250, Chyman, USA)에 4°C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 다음 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG (1:100, DAKO, USA)에 실온에서 10분간 link 하였고, Steptavidin peroxidase (LSAB : DAKO)에 10분동안 실온에서 반응시켰다. DAB 발색처리 후 hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. 한편 스트레스에 대한 완충적 물질인 열 충격 단백질 (heat shock protein, HSP)

의 하나인 Hsp70 분포변화를 관찰하기 위한 rabbit anti mouse Hsp70 (1:200, Santa Cruz Biotec, USA)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

(3) 점막내 염증관련 매개물질 관찰

점막내 세포활성을 주도하는 protein kinase C (PKC), 염증관련 신호에 관여하는 nuclear factor (NF)- κ B p50와 cyclooxygenase (COX)-2 그리고 염증유발성 cytokine인 Interleukin-12(IL-12)의 분포 변화를 조사하기 위해서 rabbit anti-mouse PKC (1:200, Santa Cruz Biotec), rabbit anti-mouse NF- κ B p50 (1:200, Santa Cruz Biotec), rabbit anti-mouse COX-2 (1:500, Chyman) 그리고 rabbit anti-mouse IL-12B (1:200, Santa Cruz Biotec) 등의 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

(4) 점막내 세포증식변화 관찰

점막내 세포증식의 변화를 관찰하기 위해 BrdU를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 실험동물에서 조직을 적출하기 5시간 전, 3시간 전, 1시간 전에 생리식염수에 녹인 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU, Sigma, USA) 50mg/kg을 복강주사하였다. 얻어진 연속절편은 4°C와 37°C의 2N HCl용액에서 각각 20분씩 반응시켜 DNA-denaturation을 일으켰다. 0.1M borate 완충용액 처리로 안정시킨 후 비특이적 면역 반응을 억제하기 위해 0.01%의 proteinase K (Dako, Dnmark)가 포함된 normal goat serum (1:20, Dako)에 1시간동안 반응시켰다. 그런 다음 1차 항체인 mouse anti-mouse BrdU (1:50, Amersham, UK) 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

4) TUNEL 방법

세포자기살해가 일어나는 apoptotic 세포의 분포변화를 조사하기 위해 *in situ* apoptosis detection kit (Apo ptag, Intergen, USA)를 이용한 TUNEL (terminal deoxynucleotid transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labelling) 방법을 실시하였다. 먼저 조직 절편을 proteinase K에 5분간 proteolysis 시킨 다음 equilibration buffer에서 20초간 처리하였다. 다음 strength TdT enzyme (36 μl TdT enzyme : 72 μl reaction buffer)을 처리하여 37°C의 humidified chamber에서 1시간 동안 반

Table 3. The Distribution of PNA in HP Treated Mice Before Gastropathy Elicitation.

Organ	Position	Gastropathy		
		CON	GE	HP
stomach	surface mucous cell	++	-	+
	neck mucous cell	-	-	-
	parietal cell	+	++	+
	chief cell	+++	-	+++

Abbreviation : -, negative, +; weak, ++; moderate, +++; strong, CON; no treated mice, GE, gastropathy elicited mice, HP; HP administered mice before gastropathy elicitation.

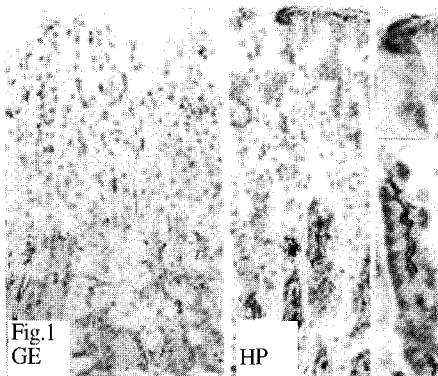


Fig. 1. The PNA positive reaction in region of hemorrhagic erosion were decreased in gastric mucosa from GE mice. The PNA positive reaction in apical surface of mucosa were increased in gastric mucosa from HP mice. Right upper, PNA positive reacted surface mucous cell; Right lower, PNA positive reacted chief cell. $\times 200$.

응시킨 후 strength stop/wash buffer에서 10분 동안 처리하였다. Anti-digoxigenin-peroxidase에 1시간 동안 반응시킨 후 DAB를 처리하였다. Methyl green으로 대조염색하였다.

5) 영상분석과 통계처리

면역조직화학과 TUNEL 염색 결과의 수치화를 위해 Optimas 5.2 (Optima Co., USA)를 이용한 영상분석 (image analysis)을 실시하였다. 영상분석 결과는 Sigma Plot 2000 (Sigma)을 통한 Student's T-test로 유의성을 검증하였다.

III. 結果

1. 복합당질의 분포 변화

대조군에서는 표면점액세포와 주세포의 자유면 쪽 미세융모에서 관상형태 (tubular structure)의 강한 PNA 양성반응을 보였으나 GE군에서는 주로 벽세포의 핵주변부 세포질에서 강한 양성반응이 관찰되었고, 일부 벽세포에서 양성반응이 나타났고 HP군은 특히 주세포의 자유면 쪽 미세융모에서 뚜렷한 PNA 양성반응이 나타났다(Table. 3, Fig. 1).

2. 점막내 보호장벽 증가

대조군에서는 점막 고유층과 표면상피에서 COX-1 양성반응세포는 핵주변 세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었는데, 위 점막 손상 유발 후 COX-1 양성반응세포의 분포가 감소하였다. 이러한 분포 감소는 GE군에서 67.9% 감소한 $755 \pm 46/200,000$ pick cell로 관찰되었고 HP군에서는 GE군에 비해 COX-1 양성반응세포의 분포가 129.8% 증가한 $1735 \pm 97/200,000$ pick cell로 관찰되었다(Table 4, Fig 2).

한편 스트레스에 대한 완충적 물질인 Hsp70 분포는 대조군에서 점막고유층에 분포하였으며 핵과 주변세포질에서 강한 양성반응이 관찰되었고 위 점막 손상 유발 후 Hsp70 양성반응세포의 분포가 증가하여 GE군에서 448.0% 증가한 $1783 \pm 72/200,000$ pick cell로 관찰되었고 HP군에서는 GE군에 비해 Hsp70 양성반응세포가 73.2% 감소한 $477 \pm 42/200,000$ pick cell로 관찰되었다(Table 4, Fig 3).

Table 4. The Image Analysis of COX-1 and Hsp70 of Gastric Mucosa in HP Treated mice before Gastro pathy Elicitation.

Antibody	CON	Gastropathy	
		GE	HP
COX-1	2349 ± 124	755 ± 46	1735 ± 97*
Hsp70	398 ± 21	1783 ± 72	477 ± 42*

(image analysis for 200000 particles / range of intensity: 50 - 150)
 Abbreviation : M ± S.D, Mean ± Standard Deviation, *, P < 0.05 compared with GE

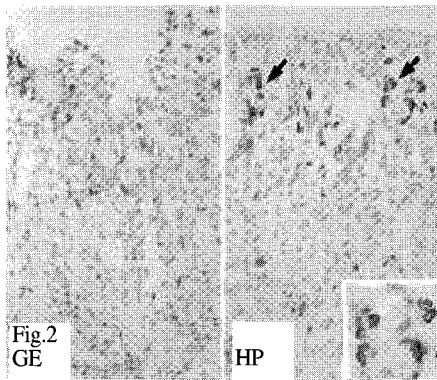


Fig. 2. The COX-1 positive cells in region of hemorrhagic erosion were disappeared in gastric mucosa from GE mice. The increase of COX-1 positive cells (arrow) were appeared in gastric mucosa from HP mice. Right lower, magnification of COX-1 positive reacted cell. ×200.

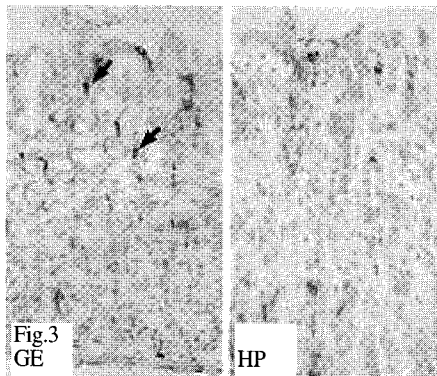


Fig. 3. The Hsp70 positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased in gastric mucosa from GE mice. The decrease of Hsp70 positive cells were appeared in apical gastric mucosa from HP mice. ×200.

3. 염증관련 매개물질의 변화

점막상피에서 관찰되는 PKC 양성반응세포는 세포 질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었는데, 위 점막 손상 유발 후 PKC 양성반응세포의 분포가 증가하였다. 이러한 분포 증가는 GE군에서 397.1% 증가한 1946 ± 116/200,000 pick cell로 관찰되었고 HP군에서는 GE군에 비해 PKC 양성반응 세포의 증가가 적어, GE군보다 72.5% 감소한 536 ± 41/200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 5, Fig 4).

점막상피에서 관찰되는 NF-κB p50 양성반응세포는 핵에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었는데, 위 점막 손상 유발 후 NF-κB p50 양성반응세포의 분포가 증가하였다. 이러한 분포 증가는 GE군에서 444.2% 증가한 4384 ± 241/200,000 pick cell로 관찰되었고 HP군에서는 GE군에 비해 NF-κB p50 양성반응 세포가 68.6% 감소한 1375 ± 94/200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 5, Fig. 5).

점막상피에서 관찰되는 COX-2 양성반응세포는 위 점막 손상 유발 후 COX-2 양성반응세포의 분포가 증가하였다. 이러한 분포 증가는 GE군에서 458.0% 증가한 3911 ± 234/200,000 pick cell로 관찰되었고 HP군에서는 GE군에 비해 COX-2 양성반응 세포의 증가가 적어, HP군보다 71.5% 감소한 1115 ± 103/200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 5, Fig. 6).

점막상피에서 관찰되는 IL-12B 양성반응세포는 위 점막 손상 유발 후 증가하여, GE군에서 599.4% 증가한 3003 ± 214/200,000 pick cell로 관찰되었고 HP군에

Table 5. The Image Analysis of PKC, NF-κB p50, COX-2, and IL-12B of Gastric Mucosa in HP Treated mice before Gastropathy Elicitation.

Antibody	CON	Gastropathy	
		GE	HP
PKC	490 ± 23	1946 ± 116	536 ± 41*
NF-κB p50	987 ± 67	4384 ± 241	1375 ± 94*
COX-2	854 ± 35	3911 ± 234	1115 ± 103*
IL-12B	501 ± 29	3001 ± 214	527 ± 67*

(image analysis for 200000 particles / range of intensity : 50 - 150)
 Abbreviation : M ± S.D, Mean ± Standard Deviation, *, P < 0.05 compared with GE

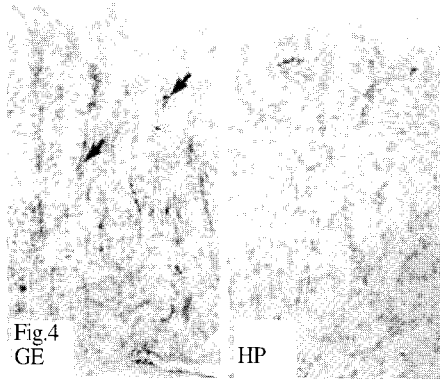


Fig. 4. The PKC positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased in gastric mucosa from GE mice. The decrease of PKC positive cells were appeared in apical gastric mucosa from HP mice. $\times 200$.

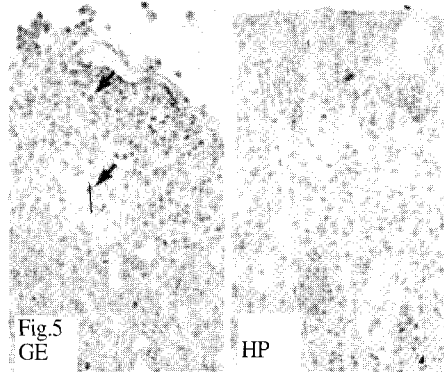


Fig. 5. The NF- κ B p50 positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased in gastric mucosa from GE mice. The decrease of NF- κ B p50 positive cells were appeared in apical gastric mucosa from HP mice. $\times 200$.

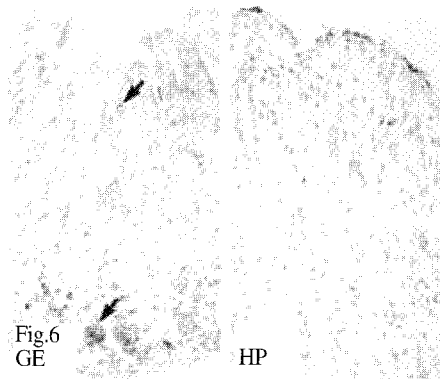


Fig. 6. The COX-2 positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased in apical gastric mucosa from GE mice. The decrease of COX-2 positive cells were appeared in apical gastric mucosa from HP mice. $\times 200$.

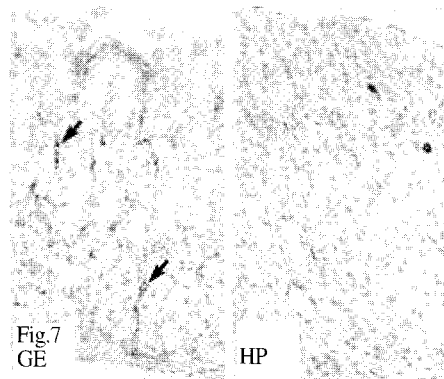


Fig. 7. The IL-12B positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased in gastric mucosa from GE mice. The decrease of IL-12B positive cells were appeared in apical gastric mucosa from HP mice. $\times 200$.

서는 GE군에 비해 IL-12B 양성반응 세포가 82.5% 감소한 $527 \pm 67/200,000$ pick cell로 관찰되었다(Table 5, Fig. 7).

4. 세포자기살해의 감소와 세포증식의 증가

대조군에서는 표면점막분비세포가 분포하는 점막 상층에서 apoptotic 양성반응세포는 핵에서 증가하여 GE군에서 447.3% 증가한 $3878 \pm 215/200,000$ pick cell

로 관찰되었고 HP군에서는 GE군에 비해 70.3% 감소한 $1150 \pm 96/200,000$ pick cell로 나타났다(Table 6, Fig. 8).

위샘 목 부분에서 증식된 세포에서 관찰되는 BrdU 양성반응은 위 점막 손상 유발 후 의 분포가 감소하여 GE군에서 93.9% 감소한 $121 \pm 16/200,000$ pick cell로 관찰되었고 HP군에서는 GE군에 비해 BrdU 양성반응세포의 분포가 증가하여 HP군은

Table 6. The image analysis of cell proliferation and apoptosis of gastric mucosa in HP treated mice before Gastropathy elicitation.

Antibody	CON	Gastropathy	
		GE	HP
Apoptosis	867 ± 63	3878 ± 215	1150 ± 96*
BrdU	1982 ± 127	121 ± 16	1307 ± 49*

(image analysis for 200000 particles / range of intensity: 50 - 150)

Abbreviation : M ± S.D, Mean ± Standard Deviation, *, P < 0.05 compared with GE

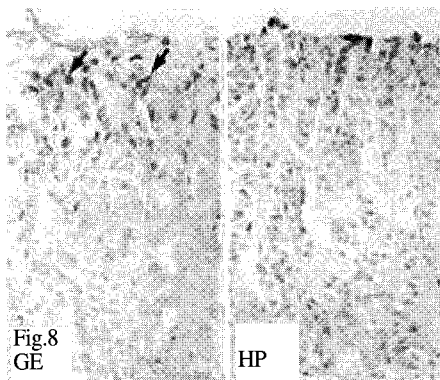


Fig. 8. The TUNEL positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were remarkably increased in apical gastric mucosa from GE mice. The decrease of TUNEL positive cells were appeared in apical gastric mucosa from HP mice. ×200.

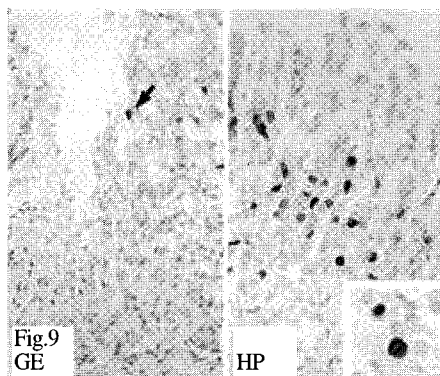


Fig. 9. The BrdU positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were disappeared in gastric neck from GE mice. The increase of BrdU positive cells were appeared in gastric neck from HP mice. Right lower, magnification of BrdU positive cells. ×200.

980.2% 증가한 1307 ± 49/200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 6, Fig. 9).

IV. 考 察

위 점막 손상으로 발생하는 대표적인 질환으로 위염과 위궤양이 있다. 위염은 위점막의 염증성 변화로서 다른 임상 양상, 조직학적 특성, 그리고 병인을 가지는 질환군으로 임상 양상의 급성과 만성, 조직학적 특징, 위염의 해부학적 분포, 주요한 두 가지 만성 위염의 병인론으로 분류된다. 급성 위염은 출혈성 위염, 급성 미란성 위염이라고도 불리며 일시적으로 나타나는 점막의 급성 염증이다. 조직학적 소견으로 고유판에 단핵 세포와 다형핵 백혈구의 침윤과 함께 혈액의 삼출, 선구조의 변형 등이다. 미란은 점막에 국한되며, 점막근판 이하 부위로 넘어가지 않는다. 발병 원인은 NSAIDs, 담즙산, 취장효소, 에탄올, 흡연, 항암제의 사용, 요독증, 감염, 포도상구균에 의한 식중독, 화상이나 수술과 같은 스트레스, 방사선 조사 등으로 인한 위산 분비 증가와 위산의 점막으로 향한 역확산, 완충성 중탄산염의 생성 감소, 혈류 감소로 인한 산 이온의 축적, 위점막 장벽 자체 손상 등이 있다¹⁹. 위궤양은 대개 위의 체부에 있는 산분비점막과 유문동의 접합부의 원위에 위치하며 유문염과 점막의 위축을 동반한다. 인구의 약 10%와 그 중 60대에서 호발하는 질환으로, 지속적인 통증을 유발하여 환자의 일상생활에 장애를 준다. 원인은 위점막의 저항력 감소와 지속적인 위점막 손상이며, 특히 산-펩신의 과도한 배출이 주요 인자로서, 초기에 잘 치료하지 않으면 심각한 합병증을 유발하고 재발률이 매우 높다. 또한 담즙이 함유된 십이지장 내용물의 역류, 수소 이온의 역확산, NSAIDs 약물의 복용으로 위점막의 프로스타글란딘의 합성의 역제가 위점막의 방어 능력을 감소시킨다¹².

소화성 궤양의 치료 목표는 궤양에 의한 증상을 없애고, 합병증이 생기지 않게 하며, 재발을 방지하는 것으로 한다. 치료는 천공, 장폐색, 출혈 등의 합병증이 없는 한 약물요법을 우선으로 실시하며, 동시에

궤양을 일으키거나 악화 시킬 수 있는 약물이나 음식물 등을 금하는 것이다²².

궤양 치료제로는 위산이나 펩신 등 공격 인자를 감소시키는 약제나 양쪽 기전에 다 작용하는 약제들이 있다²¹. 1970년대 강력한 위산분비 억제제인 히스타민 수용체 길항제가 치료제로 등장한 이후 탁월한 치료효과를 보여 현재는 H₂길항제가 널리 사용되고 있으며, prostaglandin 제제를 포함한 위점막 방어인자 증강제들이 개발되어 소화성 궤양 환자의 빠른 증상 호전과 신속한 궤양 병소 치유를 기대할 수 있게 되었다. 그러나 이러한 강력한 위산분비 억제제와 점막 방어인자 증강제의 사용에도 불구하고 아직도 난치성 궤양이 존재하고, 출혈, 천공 및 협착의 합병증 발생 빈도가 감소되지 않음이 보고 되고 있으며, 치유 후 많은 환자에서 재발한다는 것이 현재 치료의 한계점으로 대두되고 있다^{23,24}.

소화성 궤양은 한의학적으로 胃痛, 吞酸, 嘈雜, 懊惱, 心痛 등의 범주에 속하며, 情志所傷과 飲食不節로 인한 脾胃의 昇絳失調를 기본 병리로 본다. 특히 胃痛은 胃脘部에서 心窩部 가까운 곳에 疼痛이 발생하는 것으로 임상적으로 소화성 궤양의 구심성 동통과 유사하며 食積, 瘀血, 痰飲이 주요 원인이다. 治法으로 和胃降逆, 消食化滯, 溫化痰飲, 疏肝利氣, 溫中健脾, 養陰潤燥, 清胃降火, 補益胃氣, 消導和胃, 順氣寬中, 去濕化痰, 昇清降濁, 活血化瘀등이 있다²⁴.

최근의 실험적 연구로 孫²⁵등은 四君子湯合蒼朮地榆湯의 위점막 손상에 대한 방어효과, 李²⁶등은 桃花湯이 만성 유문부 협착성 소화성 궤양의 치료 효과, 姜²⁷등은 槐花散의 항궤양효과와 지혈 및 혈액응고효과를 보고하여 각 처방의 치법에 따른 궤양 원인 치료의 유의성을 보고하였다. 반면 金²⁸등은 大建中湯이 유문결찰궤양에 대해서는 궤양발생 억제효과가 있으나 indomethacin 유발 궤양에 대해서는 유의성이 없다고 하였고, 金²⁹등은 沙蔘麥門冬湯이 indomethacin으로 유발된 위·십이지장 궤양의 예방과 치료에 대한 유의성을 면역반응으로 보고하였다.

香砂平胃散은 970년경에 저술된 陳²⁹의 《太平惠民和劑局方》에 기재된 平胃散에 枳實, 藿香, 砂仁을 가

한 처방으로 현대 임상에서 消化不良, 胃酸過多, 胃潰瘍등을 치료한다³⁴ 하였다. 이에 저자는 香砂平胃散의 위 점막 손상에 대한 예방·치료 효과를 실험적으로 규명하기 위하여 indomethacin을 경구 투여하여 급성 위 점막 손상을 유발한 군(GE군), 위 점막 손상 유발 전 향사평위산 추출물을 투여한 군(HP군)으로 나누어, 점막방어기능에 대한 염증반응의 면역 효과를 알아보기 위하여, 향사평위산 사전투여 후 나타나는 생쥐 위점막의 복합당질, 점막보호인자, 염증관련매개물질, 세포증식, 세포자기살해 등의 세포성 면역 변화를 관찰하였다.

형태 조직학적 변화에 있어서, GE군의 위점막에서 출혈성 침식과 중성 점액질 분비세포의 유실 등의 점막 손상이 일어난 것은 점막보호장벽의 손상 즉, 점막의 mucus와 bicarbonate 보호장벽의 결핍은 prostaglandin의 분비 차단에 의해 발생된 것으로 이는 COX-1 mRNA 발현억제에 의한 세포내 arachidonic acid의 prostaglandin 전환과정 저해의 결과로 볼 수 있다^{30,31}. COX-1은 house-keeping enzyme으로서, 위장관 보호 (gastroprotection), 신장의 혈류조절 및 혈소판 응집과 같은 정상적인 생리적 과정을 유지함으로써 세포의 항상성 (homeostasis)를 유지하는 중요한 역할을 한다. 본 실험에서 출혈성 침식 지역주변에서는 COX-1에 대한 양성반응이 거의 나타나지 않아 COX-1의 결핍이 점막손상의 일차적 원인으로 설명될 수 있다. 이런 조직손상은 점막고유층에 존재하면서 위점막손상의 회복에 관여하는 표층모세혈관망의 손상을 초래하였고³², 그 결과 그 주변부에서 적혈구 율혈이 관찰되었다. 또한 모세혈관의 손상은 reperfusion시 허혈성 조직손상을 유발하기도 한다³³. 이러한 손상부위에서는 중성호성 백혈구를 비롯한 백혈구, 대식세포, 비만세포 등의 염증관여세포들의 침윤증가도 확인되었다³⁴. 한편 이러한 점막은 외부로부터 가해지는 여러 가지 스트레스로부터 항상성을 유지하기 위한 스트레스 단백질의 합성 증가를 유도하며, 열 충격 단백질 (Hsp)군이 대량 합성된다³⁵. 이 단백질의 하나인 Hsp 70은 환경적 스트레스에 의해 부분적으로 변성된 단백질들과 결합하여 변성된 단백질간의 상호 응

축을 감소시키거나 새롭게 합성되어지는 폴리펩타이드의 적절한 폴딩과 세포내 이동위치를 조절함으로써 세포를 보호하는 molecular chaperone으로 작용한다. Hsp70은 정상적으로 세포질 내에 위치하다가 스트레스가 가해지면 핵내 핵소체 주위로 이동하며 회복기에 들어서면 다시 세포질로 돌아간다³⁶. GE군에서 Hsp 70 양성반응이 증가하였으며, 이러한 Hsp 70의 양성반응은 핵 내에서 강하게 나타났다.

점막 손상지역에서는 점막상피세포의 세포자기살해(apoptosis)와 세포분열 (proliferation)의 변화도 관찰되었다. 즉 위십 목 부분에서 일어나는 세포분열을 통해 새로운 표면점막세포의 생성이 이루어지는데, GE군에서 세포분열이 감소한 것을 thymidine analogue인 BrdU³⁷를 통해 확인하였다. 또한 과도한 세포자기살해가 출혈성 침윤지역의 세포에서 발생하여 분열과 세포자기살해의 균형이 무너졌다. 이러한 세포자기살해는 점막분비세포의 oxidative stress와 미토콘드리아 기능 저하, caspase-3 activation, ceramide pathway activation, mitogen activatedprotein kinase activation 등과 같은 기전을 통해 이루어진 것으로 생각된다^{35,36}.

점막손상은 oxygen free radical에 의한 lipid peroxidation (지질과산화)는 세포막의 polyunsaturated fatty acids를 퇴화 (degrade)시켜 막구조의 붕괴를 초래하는데 이러한 외부자극에 의한 세포내 산화환원상태 및 외부에서 첨가된 산화제, 항산화 등에의해 nuclear factor (NF)- κ B의 세포내 작용이 유도된다. 이러한 NF- κ B의 조절이 깨어졌을 때 급성 염증에 의한 조직손상이 초래된다³⁸. 전사인자인 NF- κ B는 세포질 내에서 I- κ B라는 inhibitory protein이 부착된 상태로 존재하다가 자극이오면 I- κ B가 떨어져 나가면서 분해되며 남은 dimer (보통 p50-p65 heterodimer)가 세포질에서 핵으로 이동하여 cytokine, cytokine receptor, cell adhesion molecule, growth factor 등의 발현에 관여하는 유전자의 promoter나 enhancer의 κ B site에 결합함으로써 전사를 유도한다³⁹. 본 실험에서는 NF- κ B의 변화를 NF- κ B p50 항체를 이용한 면역조직화학으로 조사하였는

데 점막상피 손상지역에서 급격하게 증가된 양상을 보였다. 이는 전염증성 물질인 COX-2를 비롯해, 세포성 면역과 세포 기용 등의 과도한 증가를 촉발시켰다. 먼저 COX-2의 증가가 GE군에서 관찰되었는데, COX-2는 외부자극에 의해 염증이 유발되어 전달되는 과정에서 유도성 동종효소 (inducible isoform)로 섬유모세포와 큰포식세포를 포함한 여러 세포에서 발현되어 염증이 일어나는 곳에서 proinflammatory prostagladin을 과량 방출한다^{35,36}. 또한 PKC의 활성화는 IL-12 등의 염증유발성 cytokine의 발현 증가를 통해 염증반응 가속화를 유도한다.

한편 HP군에서는 COX-1 발현을 통한 prostaglandin의 정상적인 분비는 mucus와 bicarbonate 보호장벽을 유지시켰으며 점막세포의 세포분열 지속과 세포자기살해 감소의 균형을 이루었다. 또한 galactosyl- β -1,3-N-acetylgalactosamine와 관련된 복합당질인 PNA 양성반응의 유지가 점막표면에서 관찰되었는데, 이전의 보고^{38, 39}를 미루어보아 위점막보호에 관여하는 것으로 사료된다.

이상의 결과로 볼 때 향사평위산을 투여한 실험군에서는 COX-1 발현을 통한 prostaglandin의 정상적인 분비로 mucus와 bicarbonate 보호장벽을 유지시켰으며, 점막세포의 세포분열 지속과 세포자기살해의 감소로 균형이 이루어져 GE군의 점막에서 관찰된 과도한 점막세포의 손상과 염증반응이 나타나지 않았기에 향사평위산이 위 점막 손상에 대한 예방과 방어 작용을 가지는 것으로 사료된다. 향후 예는 점막 손상에 의한 소화성 궤양의 원인으로 알려진 H. pylori의 항체 형성 반응이나 항균 반응, 스트레스로 인한 신경성 위장관 질환, 재발과 난치성 궤양에 대한 연구가 지속적으로 이루어져야 한다.

V. 結 論

위 점막 손상에 대한 香砂平胃散의 효능을 연구하기 위하여, 생쥐에 香砂平胃散을 미리 경구 투여한 후 indomethacin을 투여하여 인위적인 점막 손상을

유발시킨 후 위 점막 조직에서 발생하는 일반적인 형태, 점액분비세포, 복합당질(PNA), 점막내 보호장벽의 변화(COX-1 Hsp70), 염증관련매개물질(PKC, NF- κ B, COX-2, IL-12B) 그리고 세포자기살해와 세포증식(TUNEL, BrdU)등의 변화를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 香砂平胃散 추출물의 사전처리로 indomethacin에 의한 위 점막 손상은 적었고 이로 인한 위 점막의 출혈과 궤양은 감소되어 표면상피세포가 유지되고, 점막보호인자인 COX-1의 분포가 증가하였다.
2. 조직 손상을 가속화 시키는 PKC, NF- κ B, COX-2, IL-12B의 양성반응은 감소되었으며, 세포증식의 지표인 BrdU 양성반응은 증가되었고, 표면상피세포의 apoptosis가 감소되었다.

參 考 文 獻

1. Shay H, Sun DCH. Etiology & pathology of peptic ulcer. Bockus' s gastroenterology. 3rd edition. Phyladelphia London & Toronto: W.B.Saunders Co; 1974:512.
2. Georg D, Arlt & Maarkus Leyh. Incidence & patho physiology of peptic ulcer bleeding. Langenbeck' s Arch Surg. 2001;386,75-81.
3. 黃泰唐 主編. 消化系統疾病. 北京: 中國醫藥科技出版社; 1999, p.48-9.
4. 蔣紅玉, 劉安國 編著. 常見消化系統疾病的中醫治療. 北京: 北京醫科大學 中醫協力醫科 聯合出版社; 1997 p.44-5.
5. 순천향대학교 의과대학 소화기연구소 편. 소화기학. 서울: 고려의학; 2000, p.181-200.
6. 김영준, 류기원. 수점산이 위궤양 및 진통에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1989;9:29-50.
7. 박동원. 단삼보혈탕 및 보화환이 위궤양에 미치는 영향. 경희한의대 논문집. 1985;8:111-27.
8. 홍기철. 내소산과 가미내소산이 위액분비 및 위궤양에 미치는 영향. 경희의학. 1990;6(3):313-9.
9. 김경선, 신흥목. 가미향사육군자탕의 Indomethacin 유도 위점막 손상에 미치는 항산화효과. 대한한의학회지. 1998;19(1):165-78.
10. 황규동, 박동철, 류기원. 오패산과 삼철근 및 오패산 함삼철근이 위십이지장 궤양에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1992;13(1):90-101.
11. 김주성, 임성우. Mouse의 위점막염증에 대한 사삼맥 문동탕의 면역반응 연구. 대한한의학회지. 2003;24(2):121-37.
12. 김태균, 고성규, 백태현. 삼출건비탕이 위장관에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 대한한방내과학회지. 1997;18(1):1-13.
13. 김진성 외 4인. 보심건비탕과 정전가미이진탕의 적축장기, 항궤양, 위액·gastrin분비, 장관수송능 및 진통, 진경작용에 대한 비교 연구. 대한한방내과학회지. 2000;21(1):87-99.
14. 龔延賢. 萬病回春. 天津: 天津科學技術出版社; 1994, p.118.
15. 許俊. 國譯增補東醫寶鑑. 서울: 南山堂; 1989, p.638.
16. 김현재, 김광호. 현대방제학. 서울: 동양의학연구원; 1974, p.83.
17. 申鉉沂, 張仁圭. 香砂平胃散의 胃液分泌 腸管輸送能 및 摘出胃運動에 관한 실험적 연구. 경희한의대논문집. 1984;7:313-21.
18. 張仁圭, 許仁茂. 평위산, 향사평위산 및 불환금정기산의 효능에 관한 실험적 연구. 경희한의대논문집. 1990;13:427-61.
19. Cotran, Kumar, Robbins. Robbins Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: W.B.Saunders Co; 1989, p.827-53.
20. Sonnenberg A, Sengupta A, Bauerfeind P. Epidemiology of peptic ulcer disease. In Advances in Peptic ulcer pathogenesis. edited by Ress WDW: MTP Press Limited; 1988, p.1-50.
21. 윤종구 외 21인. 소화성 궤양에 대한 임상적 고찰. 대한소화기학회지. 1998;36(3)336-47.
22. 성인성. 소화성궤양의 내과적 치료와 합병증에 대한 대책. 대한소화기병학회지. 1988;20:14-9.
23. 김유선 외 10인. 소화성 궤양 환자에서 Helicobacter pylori 박멸 전후의 전정부 위염 양상의 변화. 대한소화기학회지. 1999;34(5):572-81.
24. 박의련 외 7인. 출혈성 소화성 궤양의 장기 재발율. 대한소화기내시경학회지. 1999;19(2):186-92.
25. 손정숙, 임성우. 사군자탕합창출지유탕이 위점막손상에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1999;20(2): 231-48.
26. 이익행 외 4인. 도화탕이 백서의 소화성 궤양 및 장관수송능에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2001;

- 22(2):207-13.
27. 강재춘, 박동원, 류기원. 괴화산이 항산화성퀘양 및 혈액응고작용에 미치는 실험적 연구. 대한한의학회지. 1997;19(1):179-204.
 28. 김혁규, 백진현. 대건중탕의 항퀘양 및 위장관에 미치는 효과에 관한 실험적 연구. 대한한의학회지. 1997;18(1):238-50.
 29. 陳師文. 太平惠民和劑局方. 上海: 上海校經山房成記書局刊; 970, p.78.
 30. Byron Cryer and Michael B. Kimmey. Gastrointestinal side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Am J med.* 1998;105:20s-30s.
 31. Lee S. Siomon. Biology and toxic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Current Opinion in Rheumatology.* 1998;10:153-58.
 32. Wallace, J. L. Gastric ulceration ; critical events at the neutrophil-endothelium interface. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1993;71:98-2.
 33. De Maio A. The heat-shock response. *New Horiz.* 1995;2: 198-207.
 34. Valazquez J. M. and Lindquist S. H. Hsp 70 - Nuclear concentration during environmental stress and cytoplasmic storage during recovery. *Cell.* 1984;36:655-22.
 35. Peter Ch. Konturek, Tomasz Brozowski, Stanislaw J. Konturek, Astrid Taut, Zbigniew Sliwowski, Jerzy Stachura, and Eckhart G. Hahn. Activation of gene growth factors and cyclooxygenases in rat gastric mucosa during recovery from stress damage. *Europe J Pharmacol.* 1998; 342:55-65.
 36. Shane N. Porter, Gordon S. Howarth, Ross N. Butler. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and apoptosis in the gastrointestinal tract ; potential role of the pentose phosphate pathways. *Europe J Pharmacol.* 2000;397: 1-9.
 37. Andrea H., Thomas k., Josef P. and Konrad S. Physiology and pathophysiology of sphingolipid metabolism and signaling. *Biochemica et Biophysica Acta.* 2000;1485:63-99.
 38. Masaki Kitajima, Mizuhiro Mogi, Tatsuo Kiuchi, Atsushi Shimizu, Masanobu Nakajima, Atsushi Oshima, Hayato Kawakami, and Hiroshi Hirano. Alternation of gastric mucosal glycoprotein in gastric mucosa in stress ; A light and electron microscopic study. *J. Clin Gastroenterol.* 1990;12:1-7.
 39. Per Falk, Kevin A. Roth, and Jeffrey I. Gordon. Lectins are sensitive tools for defining the differentiation programs of mouse gut epithelial cell lineages. 1994;266:987-1003.