

Indomethacin으로 유발된 생쥐의 대장점막 손상에 대한 赤小豆當歸散의 치료효과

최은영, 황태현, 안중환, 이성환, 임성우

동국대학교 한의과대학 내과학교실

Treatment Effect of Jeoksodoodangkuisan against Colonic Mucosal Ulcer Induced by Indomethacin in Mouse

En-Young Choi, Tae-Hyun Hwang, Joong-Hwan An, Seong-Hwan Lee, Seong-Woo Lim

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

Objectives: This study was carried out to investigate the effects of *Jeoksodoodangkuisan*(JD) and *Jeoksodoodangkuisankahyunjicho*(JH) against Colonic Mucosal Ulcer induced by indomethacin in mouse.

Methods: The normal group consisted of mice that were not inflammation-induced. The control group was untreated gastro-inflammation-elicited mice. The sample group mice were those administered BO, JD and JH after gastro-inflammation elicitation.

Results: In the immunohistochemical change, the distribution of COX-1 in mice treated with BO, JD and JH noticeably increased than control group(P<0.05). The distributions of NF-κB, p50, COX-2, ICAM-1, HSP70 and Substance P in mice treated with BO, JD and JH noticeably decreased more than control group(P<0.05). And JH was most effective treatment against Colonic Mucosal Ulcer in the immunohistochemical change.

Conclusions: According to the above results, *Jeoksodoodangkuisan* and *Jeoksodoodangkuisankahyunjicho* are applicable treatments for Colonic Mucosal Ulcer.

Key Words: *Jeoksodoodangkuisan*, Colonic Mucosal Ulcer, COX-1, NF-κB p50, COX-2

1. 緒 論

염증성 장질환이란 장에 만성적인 원인불명의 염증을 일으키는 질환으로 통상 궤양성 대장염과 크론병을 지칭하며, 임상증상은 혈성 설사와 복통, 배변 후 후중감 등이 있으며 복부 종괴, 체중감소, 발열 등이 동반되기도 한다. 원인과 병태 생리는 확실히 밝혀진 바가 없어서 근원적인 약물 요법은 없고

증상의 완화와 관해의 유지가 치료의 요점이 된다¹. 서양에서는 흔한 질환이지만 국내에서는 매우 드문 질환으로 인식되어 왔는데, 최근 들어 그 발생 빈도가 점차 늘어나고 있는 추세이다².

염증성 장질환은 한의학적으로 火泄, 赤痢, 腸風, 臟毒의 범주에 속한다³. 허의 『東醫寶鑑』⁴에서는 赤痢는 濕熱이 腸을 迫한 것이 원인이고 糞色如血, 身熱, 腹痛, 裏急後重의 증상을 보이므로 導赤地榆湯, 加減平胃散, 地榆散, 固腸丸 등으로 치료한다고 밝히고 있다. 龔廷賢의 『萬病回春』⁵에서는 火泄이나 熱泄은 熱이 腸胃를 迫한 것이 원인이고 瀉下赤色粘稠, 後重如滯, 痛一陣瀉一陣, 口乾喜冷, 小便赤澀,

· 접수 : 2005. 4. 21. · 채택 : 2005. 5. 6.
· 교신저자 : 최은영, 서울시 강남구 논현동 37-21
동국대학교 강남한방병원 6층 의사실
(Tel. 02-3416-9791 Fax. 02-3416-9790
E-mail : enne95@empal.com)

脈澁하는 증상을 보이므로 黃連香薷散, 萬病四苓散 등으로 치료한다고 밝히고 있다. 方廣의 『丹溪心法附餘』⁶에서는 腸風은 邪氣外入이 원인이며 大便보다 먼저 下血하며 맑고 선홍빛인 近血의 증상을 보이므로 散風行濕法으로 치료하고, 臟毒은 熱毒蘊積이 원인이며 大便이 나온 후에 下血하며 어둡고 흐린 遠血의 증상을 보이므로 清熱涼血法으로 치료한다고 밝히고 있다.

赤小豆當歸散은 張仲景의 『金匱要略』⁷에 처음 수록된 처방으로 先下血 後大便證을 치료한다. 玄之草는 厚腸胃 調中健脾하는 효능이 있어 만성이질을 멎게 한다⁸.

최근에 김⁹은 導赤地榆湯이, 최¹⁰는 沙蔘麥門冬湯이 염증성 장질환의 치료에 효과가 있다는 실험적 보고를 한 바 있다.

이에 저자는 血性 泄瀉를 주증으로 하는 염증성 장질환에 赤小豆當歸散 및 赤小豆當歸散加玄之草가 치료효과를 보일 것으로 사료되어 indomethacin으로 염증성 장질환을 유발시킨 생쥐에 赤小豆當歸散 추출액 및 赤小豆當歸散加玄之草 추출액을 응용 투

여 후 나타난 내림주름창자 내 조직손상의 회복효과를 관찰하여 유의한 결과를 얻었으며 실제 임상 치료에서도 개연성이 기대되기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 재료

1) 동물

대한실험동물센터에서 분양받은 태령 4주된 ICR계 숫컷 생쥐를 무균사육장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중 30g된 생쥐를 선별하여 사용하였다.

2) 약제

본 실험에 사용된 赤小豆當歸散(Jecksodoodangkuisan: JD)은 『金匱要略』에 준하여 동국대학교부속 강남한방병원에서 조제된 것으로 1첩의 분량은 다음과 같다 (Table 1).

赤小豆當歸散加玄之草(Jecksodoodangkuisan-plus-hyunjicho: JH)의 1첩 분량은 다음과 같다 (Table 2). 보리차 (Boricha: BO)는 보리를 微炒한 것으로 시중에서 판매되는 완제품 10g을 준비하였다(Table 3).

Table 1. The Amount and Composition of *Jecksodoodangkuisan*

Species	Part used	Latin name	Weight(g)
<i>Phaseolus angularis</i> W.F. WIGHT	seed	<i>Phaseoli Semen</i>	40
<i>Angelica gigas</i> NAKAI	roots	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	8
Total amount			48

Table 2. The Amount and Composition of *Jecksodoodangkuisan-plus-hyunjicho*

Species	Part used	Latin name	Weight(g)
<i>Phaseolus angularis</i> W.F. WIGHT	seed	<i>Phaseoli Semen</i>	40
<i>Angelica gigas</i> NAKAI	roots	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	8
<i>Geranium wilfordii</i> Maxim	herb	<i>Geranii Herba</i>	8
Total amount			56

Table 3. The Amount and Composition of *Boricha*

Species	Part used	Latin name	Weight(g)
<i>Hodei fructus germinatus</i>	seed	<i>Hordeum vulgare var. hexastichon</i>	10
Total amount			10

2. 방법

1) 실험동물의 준비

실험동물은 아무런 처리를 하지 않은 대조군, 대장점막 궤양 유발군 (UCE군), 대장점막 궤양 유발 후 보리차 투여군 (BOA군), 대장점막 궤양 유발 후 赤小豆當歸散 추출액 투여군 (JDA군) 그리고 대장점막 궤양 유발 후 赤小豆當歸散加玄之草 추출액 투여군 (JHA군)으로 나누었다. 실험동물은 각 군에 7 마리씩 배정하였다.

2) 대장점막 궤양 유발

대장점막 궤양을 유도하기 위해 indomethacin (Sigma, USA)을 0.9% NaCl이 포함된 70% 에탄올에 희석시킨 후 10mg/kg/day씩 UCE군, BOA군, JDA군 그리고 JHA군에 3일간 각각 경구 투여하였다.

3) 사용 약물의 제조와 투여

보리차(Boricha: BO)는 보리를 微妙한 것으로 시장에서 판매되는 완제품 10g을 물 2000ml에 10분간 끓인 후 150ml/kg/day 량으로 음용 투여하였다. 赤小豆當歸散 (Jecksodoodangkuisan: JD)은 2첩을 증류수 500 ml에 넣고 2시간 동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 50ml로 감압 농축하여 JDA군에 대장점막 궤양 유발 후 72시간 동안 2.5ml/kg/day 량으로 구강투여 하였다. 赤小豆當歸散加玄之草(Jecksodoodangkuisan-plus-hyunjicho: JH)도 赤小豆當歸散과 동일한 방법으로 추출액을 제조한 후 JHA군에 대장점막 궤양 유발 후 72시간 동안 2.5ml/kg/day 량으로 구강 투여 하였다.

4) 조직표본 제작

대장점막 궤양 유발 후 72시간이 경과되었을 때 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin: NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 직장 쪽 내림주름창자(descending colon)를 적출하여

실온에서 24시간 동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 μ m 두께의 연속절편으로 제작되었다.

5) 면역조직화학 염색

(1) 점막 표면상피세포 변화

표면상피세포 골지복합체의 분포조사를 위해 복합당질(glycoconjugate)의 하나인 Peanut Agglutinin (PNA; Sigma, USA)을 이용한 염색을 실시하였다 (Table 4.). 조직을 1% bovine serum albumin(BSA; Sigma, USA)으로 실온에서 20분 동안 blocking한 후, 1:100으로 희석한 biotinylated anti PNA(Sigma, USA)와 4 $^{\circ}$ C incubation chamber내에서 24시간 동안 반응시켰다. 다음 ABC kit(avidin biotin complex; Vector Lab, USA.)와 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(DAB; Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)으로 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. Lectin 반응의 강도는 - (음성), +(약한), ++(중간정도의 양성) 그리고 +++(강한 양성) 등으로 표시하였다.

(2) 점막 내 cyclooxygenase-1 분포 변화 관찰

점막 표면상피의 보호기전에 관여하는 cyclooxygenase-1(COX-1)의 분포변화를 관찰하기 위한 염색을 실시하였다. 우선 절편을 proteinase K로 5분 동안 단백질 분해(proteolysis) 시킨 후 blocking serum인 10% normal goat serum과 1시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 rabbit anti-mouse COX-1(1:250, Chyman, USA)과 4 $^{\circ}$ C humidified chamber에서 48시간 동안 반응시킨 다음 2차 항체인 goat anti-rabbit IgG (1:100, DAKO)와 4 $^{\circ}$ C humidified chamber에서 24시간 동안 반응시켰다. 이후 과정은 위에 기술한 염색법과 동일하였다.

Table 4. Sugar Specificities and Inhibitory Carbohydrate of Peanut Agglutinin

Lectin	Optium dilution	Sugar specificity
PNA	10 μ g/ml	galactosyl- β -1,3-N-acetylgalactosamine

(3) 스트레스 완충물질의 변화 관찰

점막손상에 따른 스트레스에 완충물질로 작용하는 열 충격 단백질(heat-shock protein, HSP)의 하나인 HSP70의 분포변화를 관찰하기 위해 rabbit anti mouse HSP70(1:250, Santa Cruz Biotech, USA) 항체를 이용한 염색을 실시하였다.

(4) 신경펩티드의 변화 관찰

소화관내 동통 및 소양증에 관여하는 신경펩티드 중 하나인 Substance P 분포변화를 관찰하기 위해 goat anti mouse Substance P(1:250, Santa Cruz Biotech, USA) 항체를 이용한 염색을 실시하였다.

(5) 점막 내 염증 변화 관찰

점막 내 염증관련 신호에 관여하는 nuclear factor (NF)-κB p50와 cyclooxygenase(COX)-2 의 분포 변화를 조사하기위해서 rat anti-mouse NF-κB p50 (1:250, Santa Cruz Biotech)와 rabbit anti-mouse COX-2 (1:250, Santa Cruz Biotech)를 이용한 염색을 실시하였으며, 이후 과정은 위에 기술한 염색법과 동일하였다.

(6) 세포부착분자 변화 관찰

조직 내 세포이주 (migration)에 관여하는 세포부

착분자(intercellular adhesion molecule: ICAM)의 분포 변화를 관찰하기위해 hamster anti-mouse ICAM-1 (CD54-1, Serotec, UK)를 이용한 염색을 위해서 기술한 동일한 방법으로 실시하였다.

6) 영상분석과 통계처리

면역조직화학 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 T test로 유의성을 검증하였다.

III. 實驗結果

1. 점막 보호장벽의 변화

1) 점막 표면상피의 창자세포 변화

내림주름창자의 창자세포내 골지복합체의 변화를 조사하기위해 PNA를 이용한 염색을 실시하였다. 창자세포 상층부에서 Lectin 반응의 강도가 UCE군은 -(음성)으로, BOA군은 +(약한)으로, JDA군은 ++(중간정도의 양성)으로 그리고 JHA군은 +++(강한 양성)으로 관찰되었다 (Fig. 1.).



Fig. 1. The immunohistochemistry of PNA in golgi complex of colonocytes from mice. ×400.

UCE: The PNA positive reaction were disappeared, BOA: The PNA positive reaction were appeared, JDA: The PNA positive reaction were noticeable appeared, JHA: The PNA positive reaction were as same normal.

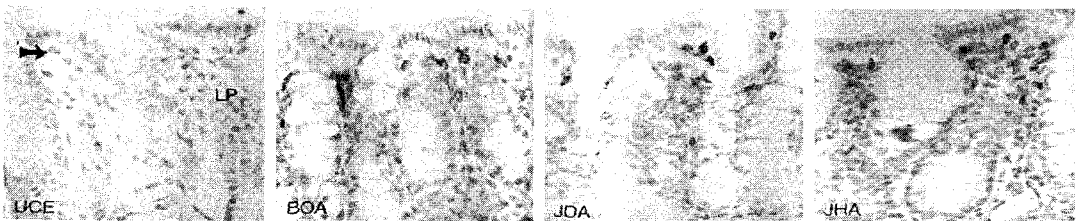


Fig. 2. The immunohistochemistry of COX-1 in LP from mice. ×400.

UCE: The COX-1 positive reacted cell (arrow) were disappeared. BOA: The COX-1 positive reacted cell were increased than UCE mice. JDA: The COX-1 positive reacted cell were increased than UCE mice. JHA: The COX-1 positive reacted cell were noticeable increased than UCE mice.

2) COX-1 분포변화

대조군은 점막 고유층에서 양성반응세포는 핵 주변 세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었는데, 내립주름창자의 손상 유발 후 COX-1 양성반응세포의 분포가 감소하였다. 이러한 분포 감소는 UCE군에서 대조군에 비해 96.7% 감소한 267±27/150,000pick cell이 관찰되었다. BOA군은 UCE군에 비해 1115.0% 증가한 3244±211/150,000pick cell이 관찰되었다. JDA군은 UCE군에 비해 1503.4% 증가한 4281±298/150,000pick cell이 관찰되었다. JHA군은 UCE군에 비해 2750.2% 증가한 7610±458/150,000pick cell이 관찰되었다. JHA군은 JDA군에 비해서 유의성 있는 증가 경향을 보였다 (Table 5, Fig. 2.).

3) 스트레스 완충물질의 변화

스트레스에 대한 완충물질인 HSP70 분포는 대조

군에서 점막고유층에 분포하였으며 핵과 주변세포 질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었다. 내립주름창자의 손상 유발 후 HSP70 양성반응세포의 분포가 증가하였다. 이러한 분포 증가는 UCE군에서 대조군에 비해 533.8% 증가한 5552±441/150,000pick cell이 관찰되었다. BOA군은 UCE군에 비해 41.3% 감소한 3259±348/150,000pick cell이 관찰되었다. JDA군은 UCE군에 비해 67.1% 감소한 1825±74/150,000pick cell이 관찰되었다. JHA군은 UCE군에 비해 70.6% 감소한 1631±65/150,000pick cell이 관찰되었다. JHA군은 JDA군에 비해서 유의성 있는 감소 경향을 보였다(Table 5, Fig. 3.).

4) 신경펩티드 변화

동통, 소양증에 관여하는 신경펩티드 물질인 Substance P분포는 대조군에서 점막고유층에 분포하였으며 핵 주변세포질에서 강한 양성반응을 보이는

Table 5. The image analysis of immunohistochemistry in BO, JD, and JH treated murine descending colon after ulcerative colitis elicitation.

Antibody	Group				
	CON	UCE	BOA	JDA	JHA
COX-1	8024±321	267±27	3244±211*	4281±298**	7610±458***
HSP70	876±35	5552±441	3259±348*	1825±74**	1631±65***
Substance P	478±21	10894±485	1357±75*	687±41**	596±35***

(image analysis for 150,000 particles/range of intensity: 80~150)

Abbreviation: M ± S.D, Mean±Standard Deviation; CON, No treated mice; UCE, Ulcerative colitis elicited mice; BOA, *Boricha*(BO) treated mice after ulcerative colitis; JDA, *Jecksodoodangkuisan*(JD) treated mice after ulcerative colitis; JHA, *Jecksodoodangkuisankahyunjicho*(JH) treated mice after ulcerative colitis; COX-1, cyclooxygenase-1;

*. P < 0.05 compared with UCE. **. P < 0.05 compared with BOA. ***, P < 0.05 compared with JDA.

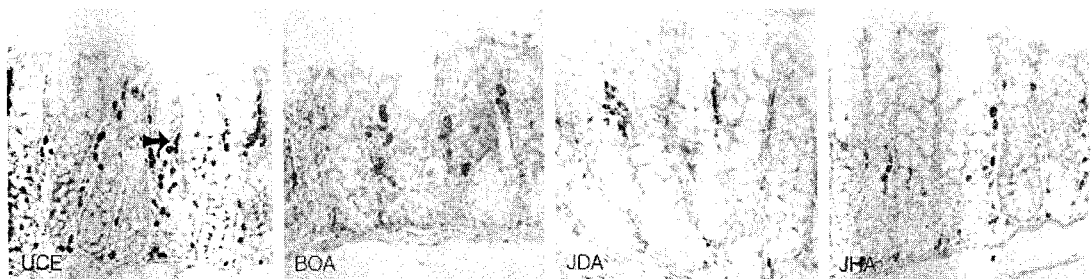


Fig. 3. The immunohistochemistry of HSP70 in LP from mice. ×200.

UCE: The HSP70 positive reacted cell(arrow) were remarkable increased. BOA: The HSP70 positive reacted cell were decreased than UCE mice. JDA: The HSP70 positive reacted cell were decreased than UCE mice.

JHA: The HSP70 positive reacted cell were noticeable decreased than UCE mice.

것으로 관찰되었다. 내림주름창자의 손상 유발 후 Substance P 양성반응세포의 분포가 증가하였다. 이러한 분포 증가는 UCE군에서 대조군에 비해 2179.1% 증가한 10894±485/150,000pick cell이 관찰되었다. BOA군은 UCE군에 비해 87.5% 감소한 1357±75/150,000pick cell이 관찰되었다. JDA군은 UCE군에 비해 93.7% 감소한 687±41/150,000pick cell이 관찰되었다. JHA군은 UCE군에 비해 94.5% 감소한 596±35/150,000pick cell이 관찰되었다. JHA군은 JDA군에 비해서 유의성 있는 감소 경향을 보였다 (Table 5, Fig. 4).

2. 점막내 염증 변화

1) 염증관련 Cytokine 변화

핵막과 세포질에서 양성반응을 보이는 NF-κB p50

양성반응세포는 대조군에서는 일부 점막고유판에서 나타났다. UCE군은 대조군에 비해 1014.9% 증가한 2988±284/150,000pick cell이 관찰되었다. BOA군은 UCE군에 비해 68.0% 감소한 957±54/150,000pick cell이 관찰되었다. JDA군은 UCE군에 비해 81.4% 감소한 557±35/150,000pick cell이 관찰되었다. JHA군은 UCE군에 비해 87.7% 감소한 365±41/150,000pick cell이 관찰되었다. JHA군은 JDA군에 비해서 유의성 있는 감소 경향을 보였다 (Table 6, Fig. 5).

한편 세포질에서 양성반응을 보이는 COX-2 양성반응세포는 대조군에서는 일부 점막고유판에서 나타났다. UCE군에서는 대조군에 비해 1278.7% 증가한 3695±148/150,000pick cell이 관찰되었다. BOA군은 UCE군에 비해 65.6% 감소한 1270±78/150,000pick cell이 관찰되었다. JDA군에서는 UCE군에 비해

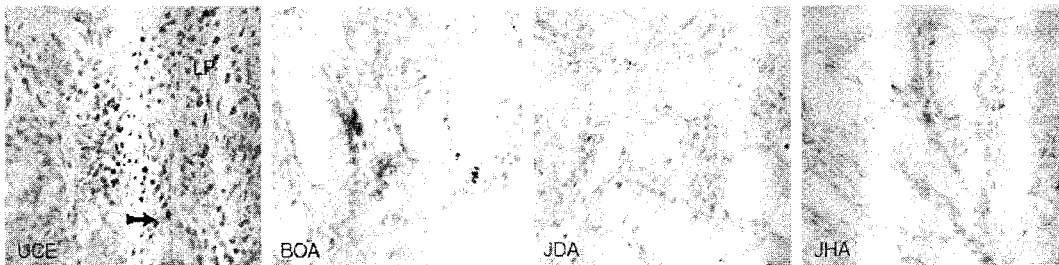


Fig. 4. The immunohistochemistry of Substance P in LP from mice. ×200.

UCE: The Substance P positive reacted cell (arrow) were remarkable increased,
 BOA: The Substance P positive reacted cell were decreased than UCE mice,
 JDA: The Substance P positive reacted cell were decreased than UCE mice,
 JHA: The Substance P positive reacted cell were noticeable decreased than UCE mice.

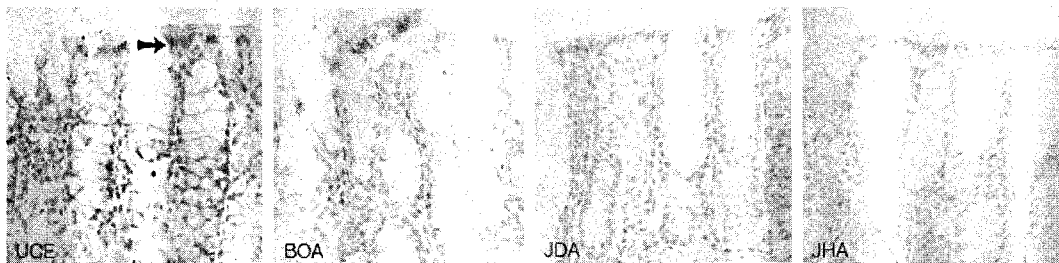


Fig. 5. The immunohistochemistry of NF-κB p50 in EP and LP from mice. ×200.

UCE: The NF-κB p50 positive reacted cell(arrow) were remarkable increased,
 BOA: The NF-κB p50 positive reacted cell were decreased than UCE mice,
 JDA: The NF-κB p50 positive reacted cell were decreased than UCE mice,
 JHA: The NF-κB p50 positive reacted cell were noticeable decreased than UCE mice.

Table 6. The image analysis of immunohistochemistry of inflammatory cytokine and cell adhesion in BO, JD, and JH treated murine descending colon after ulcerative colitis elicitation.

Antibody	Group				
	CON	UCE	BOA	JDA	JHA
NF-κB p50	268±38	2988±284	957±54*	557±35**	365±41***
COX-2	268±36	3695±148	1270±78*	993±39**	510±48***
ICAM-1	189±8	2687±196	512±45*	443±36**	384±19***

(image analysis for 150,000particles/range of intensity: 80~150)

Abbreviation: same as Table 5.



Fig. 6. The immunohistochemistry of COX-2 in LP from mice. ×200.

UCE: The COX-2 positive reacted cell (arrow) were remarkable increased,
 BOA: The COX-2 positive reacted cell were decreased than UCE mice,
 JDA: The COX-2 positive reacted cell were decreased than UCE mice,
 JHA: The COX-2 positive reacted cell were noticeable decreased than UCE mice.

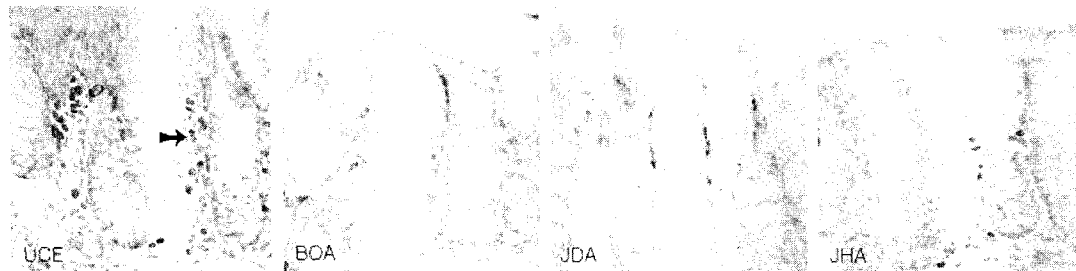


Fig. 7. The immunohistochemistry of ICAM-1 in LP from mice. ×400.

UCE: The ICAM-1 positive reacted cell (arrow) were remarkable increased,
 BOA: The ICAM-1 positive reacted cell were decreased than UCE mice,
 JDA: The ICAM-1 positive reacted cell were decreased than UCE mice,
 JHA: The ICAM-1 positive reacted cell were noticeable decreased than UCE mice.

73.1% 감소한 993±39 / 150,000 pick cell이 관찰되었다. JHA군은 UCE군에 비해 86.2% 감소한 510±48 / 150,000 pick cell이 관찰되었다. JHA군은 JDA군에 비해서 유의성 있는 감소 경향을 보였다 (Table 4, Fig. 6).

2) 세포부착분자 변화
 조직 내 세포이주에 관여하는 세포부착분자인 ICAM-1 양성반응세포는 출혈성 침식 지역에서 관찰되었으며, 세포질에서 강한 양성 반응을 보였다. UCE군은 대조군에 비해 1321.7% 증가한 2687±196

/150,000pick cell이 관찰되었다. BOA군은 UCE군에 비해 80.9% 감소한 512±45/150,000pick cell이 관찰되었다. JDA군은 UCE군에 비해 83.5% 감소한 443±36/150,000pick cell이 관찰되었다. JHA군은 UCE군에 비해 85.7% 감소한 384±19/150,000 pick cell이 관찰되었다. JHA군은 JDA군에 비해서 유의성 있는 감소 경향을 보였다 (Table 6, Fig. 7.).

IV. 考 察

염증성 장질환이란, 장에 만성적인 원인불명의 염증을 일으키는 질환으로 넓은 의미에서 세균성 장염, 아메바성 이질, 결핵성 장염, 베체트 장염, 허혈성 장염, 방사선 조사 후 장염 등이 모두 해당되지만, 일반적 의미에서 염증성 장질환이라고 할 때는 협의로 궤양성 대장염과 크론병을 지칭한다. 크론병은 복통, 복부 종괴, 항문 열상이나 누공 등의 증상이 더욱 흔하고, 궤양성 대장염의 경우에 혈성 설사가 더 심하다¹¹.

궤양성 대장염은 대장의 점막에 국한된 염증을 특징으로 하며, 호전과 악화가 반복되는 혈성 설사와 복통을 주증상으로 하는 원인 불명의 만성 염증성 장질환이다¹. 이 질환의 원인은 명확히 밝혀진 것은 없으나, 감염, 식생활, 정신적 요인 등을 원인으로 들고 있다. 최근에는 주로 자가면역기전에 의해 유발된다는 가설이 주요한데, 면역기전의 결함으로 NK세포의 세포독성은 감소되고 T세포, B세포가 증식되고 염증인자를 방출하여 장세포기능을 변화시켜 증상을 일으키는 것으로 알려져 있다¹².

임상증상으로는 혈변성 설사, 복통, 배변후 후중감, 발열, 체중감소 등이 관찰된다¹³.

바람대장조영술에서 병변이 진행되었을 때 특히 내림주름창자에서 팽출부 소실이 있고 칼라단추 모양, 연통모양을 보이기도 한다¹⁴. 내시경 소견으로 점막의 접착 출혈, 궤양, 미만성 발적, 점막의 과립상, 가성용종, 협착 등이 보이고 이런 병변은 직장에 반드시 있으며, 상향성으로 연속적으로 있다는 것이 특징이다¹¹. 조직생검소견은 진단에 가장 중요

하며 Crypt abscess가 일차병변이면서 가장 특징적인 소견이며, 그 외 고유관염증, 용모표면, 기저층 침윤, 표재성 미란 등을 보이며 표면 증성구 세포, 미란, crypt atrophy, 용모표면의 특징이 있다¹⁴.

궤양성 대장염의 치료는 확실하게 알려져 있지 않으나 내과적 치료가 우선으로 영양상태의 개선, 수액 및 전해질의 공급, 수혈 또는 항생제 투여 등의 대증요법, 정신적 요법 및 sulfasalazine, Azathioprine, Steroid, ACTH, 5-ASA 등의 항염증성;항면역제를 사용하며 국소적 corticosteroid 관장이 이용되고 있다¹⁴. 궤양성 대장염은 독성거대결장, 대장천공, 과도출혈, 내과적 치료에 의해 합병증이 생긴 경우와 호전되지 않는 경우, 이형성이나 대장암의 증거가 있을 때 수술이 적응증이 된다¹.

크론병은 구강에서부터 항문까지의 위장관 전체를 침범할 수 있는 원인을 알 수 없는 만성적인 염증성 질환으로, 복통, 설사, 체중 감소 등의 다양한 임상 증상과 장협착, 장누공, 복강농양 및 위장관 출혈 등의 합병증을 초래할 수 있다. 크론병은 재발 경향이 높아 악화와 호전을 반복하며¹⁵, 근본적인 원인은 정확히 알려져 있지 않다. 유전적 소인이 환경적, 식이적 또는 감염성 요인에 대한 장 면역 반응을 유발한다는 증거가 제시되고 있으나 단일 표지자는 발견하지 못했다.

초기 병변은 음와염과 작고 국한된 아프타성 궤양으로 진행되는 소낭성 농양 형태의 염증이며 파급되면 림프 부종과 장벽의 비후를 유발하며 결국 광점위관 섬유화를 일으켜 특징적인 자갈 모양의 소견을 보인다.

크론병 병리의 가장 흔한 형태는 우측하복통과 동통이 특징적인 염증, 장관 협착으로 재발성 부분적 장폐쇄와 그로 인한 선통, 복부 팽만, 변비, 구토, 염증과 폐쇄로 영양장애와 만성 쇠약을 동반한 광범위한 공장회장염, 열 통증을 동반한 복부 종괴, 전신 허약을 유발하는 복부 누공과 농양이다.

상기와 같은 염증성 또는 폐쇄성 증상을 보이는 환자와 두드러진 위장관 증상이 없어도 항문 주위 누공, 농양이나 설명할 수 없는 관절염, 결절성 홍반,

열, 빈혈, 저신장 등이 동반되는 환자에서 의심할 수 있으며, X-선 대장조영술로 불규칙성, 결정성, 강직성, 벽 비후, 좁아진 내경등과 표층의 아프타성 궤양과 선상 궤양을 볼 수 있다.

완치는 알려져 있지 않으며 궤양성 대장염과 비슷한 내과적 치료를 시행하며 재발성 장관 폐쇄나 치유되지 않는 누공, 농양에 수술요법을 적용하나 침범된 장관의 절제로 증상을 없애거나 병을 치유할 수는 없다¹⁶.

염증성 장질환은 한의학적으로 火泄, 赤痢, 腸風, 臟毒의 범주에 속한다³. 허의 『東醫寶鑑』⁴에서는 赤痢는 濕熱이 腸을 迫한 것이 원인이고 糞色如血, 身熱, 腹痛, 裏急後重의 증상을 보이므로 導赤地榆湯, 加減平胃散, 地榆散, 固腸丸 등으로 치료한다고 밝히고 있다. 龔廷賢의 『萬病回春』⁵에서는 火泄이나 熱泄은 熱이 腸胃를 迫한 것이 원인이고 瀉下赤色粘稠, 後重如滯, 痛一陣 瀉一陣, 口乾喜冷, 小便赤澀, 脈澀하는 증상을 보이므로 黃連香薷散, 萬病四答散 등으로 치료한다고 밝히고 있다. 方廣의 『丹溪心法附餘』⁶에서는 腸風은 邪氣外入이 원인이며 大便보다 먼저 下血하며 맑고 선홍빛인 近血의 증상을 보이므로 散風行濕法으로 치료하고, 臟毒은 熱毒蘊積이 원인이며 大便이 나온 후에 下血하며 어둡고 흐린 遠血의 증상을 보이므로 清熱涼血法으로 치료한다고 밝히고 있다.

赤小豆當歸散은 張仲景의 『金匱要略』에 수록된 처방으로 赤小豆와 當歸로 이루어져 있으며 先下血 後大便證을 치료한다⁷. 따라서 赤痢, 火泄, 腸風, 臟毒에 해당하는 궤양성 대장염에 치료효과가 있을 것으로 생각된다. 赤小豆는 콩과 식물인 적소두 혹은 적두의 종자로 本草綱目에는 성질이 짜하고 맛이 달면서 시고 毒이 없으며 泄瀉와 痢疾을 멎게 한다고 기재되어 있다¹⁷. 當歸는 미나리과의 식물, 당귀의 뿌리로 本草綱目에는 성질은 따뜻하며 맛은 달고 매우며 毒이 없고 痢疾로 배가 아픈 것을 낫게 한다고 되어 있다¹⁷. 玄之草는 老鶴草라고도 하며 이질풀과의 식물인 방우야묘 혹은 老鶴草, 시베리아 老鶴草, 네팔 老鶴草 및 野老鶴草, 塊根老鶴草 등의

열매가 달린 전초이다. 성미는 쓰고 맵고 평하며, 항균 작용, 항바이러스 작용, 止瀉 작용이 있어 만성이질을 멎게 하며 厚腸胃하고 調中健脾한다⁸. 보리차는 화본과의 식물인 大麥(보리)의 낱알을 볶은 것으로 本草綱目에는 성질이 따뜻하고 맛이 짜고 독이 없으며, 氣를 돕고 中焦를 調和시키며, 泄瀉를 멎게 하고 虛한 것을 補한다고 기재되어 있다¹⁷.

본 연구에서는 생쥐를 아무런 처리를 하지 않은 대조군, indomethacin을 투여하여 궤양성 대장염을 유발한 궤양성 대장염 유발군(UCE군), 궤양성 대장염 유발 후 보리차 투여군(BOA군), 궤양성 대장염 유발 후 赤小豆當歸散 추출액 투여군(JDA군) 그리고 궤양성 대장염 유발 후 赤小豆當歸散加玄之草 추출액 투여군(JHA군)으로 나누고 점막 표면상피 세포(PNA), 점막내 보호장벽(COX-1, HSP70, Substance P), 그리고 염증관련매개물질(NF-κB p50, COX-2, ICAM-1) 등의 변화를 관찰하였다.

COX-1는 house-keeping enzyme으로서, 위장관 보호(gastroprotection), 신장의 혈류조절 및 혈소판 응집과 같은 정상적인 생리적 과정을 유지함으로써 세포의 항상성(homeostasis)을 유지하는 중요한 역할을 한다^{18,19}. COX-1의 결핍은 점막손상의 일차적 원인으로 COX-1 mRNA 발현억제에 의한 세포내 arachidonic acid의 prostaglandin 전환과정 저해의 결과, prostaglandin의 분비가 차단되어 점막의 점액(mucus)과 중탄산염(bicarbonate) 보호장벽의 결핍되는 것으로 설명할 수 있다^{20,21}. 본 실험에서 점막에서 COX-1의 분포는 赤小豆當歸散加玄之草 투여군(JHA군), 赤小豆當歸散 투여군(JDA군), 보리차투여군(BOA군) 순으로 UCE군에 비해 유의성 있게 증가되었다.

한편 이러한 점막손상은 외부로부터 가해지는 여러 가지 스트레스로부터 항상성을 유지하기 위한 스트레스 단백질의 합성 증가를 유도하며, 열충격단백질(HSP)군이 대량 합성된다²². 이 단백질의 하나인 HSP70은 환경적 스트레스에 의해 부분적으로 변성된 단백질들과 결합하여 변성된 단백질간의 상호 응축을 감소시키거나 새롭게 합성되어지는 폴리펩티

드의 적절한 폴딩과 세포내 이동위치를 조절함으로써 세포를 보호하는 분자 보호자(molecular chaperone)로 작용한다. HSP70은 정상적으로 세포질 내에 위치하다가 스트레스가 가해지면 핵 내 핵소체 주위로 이동하며 회복기에 들어서면 다시 세포질로 돌아간다²³. UCE군에서 HSP70 양성반응이 증가하였으며, 이러한 HSP70의 양성반응은 핵 내에서 강하게 나타났다. 이에 비해 투여군에서는 赤小豆當歸散加玄之草 투여군(JHA군), 赤小豆當歸散 투여군(JDA군), 보리차투여군(BOA군) 순으로 HSP70 양성반응이 유의성 있게 감소하였다.

또한 동통 및 소양증의 신경전달물질인 Substance P도 UCE군에서 증가하였는데, Substance P는 내피세포 이완인자(endothelium-derived relaxing factor)로서의 역할수행을 통해 혈관내피의존성 혈관확장을 유발하는 것으로 알려져 있다. 또한 비만세포 탈과립의 유도, 염증세포이주 및 증식에 관여하는 것으로 알려져 있다²⁴. 역시 투여군에서는 赤小豆當歸散加玄之草 투여군(JHA군), 赤小豆當歸散 투여군(JDA군), 보리차투여군(BOA군) 순으로 Substance P의 분포가 유의성 있게 감소하였다.

점막손상은 산화자유기(oxidative free radical)에 의한 지질과산화(lipid peroxidation)는 세포막의 고도불포화지방산(polyunsaturated fatty acids)을 퇴화(degrade)시켜 막 구조의 붕괴를 초래하는데 이러한 외부자극에 의한 세포내 산화환원상태 및 외부에서 첨가된 산화제, 항산화 등에 의해 nuclear factor (NF)-κB의 세포내 작용이 유도된다. 이러한 NF-κB의 조절이 깨어졌을 때 급성 염증에 의한 조직손상이 초래된다²⁵. 전사인자인 NF-κB는 세포질 내에서 I-κB라는 억제단백(inhibitory protein)이 부착된 상태로 존재하다가 자극이 오면 I-κB가 떨어져 나가면서 분해 되며 남은 dimer(보통 p50-p65 heterodimer)가 세포질에서 핵으로 이동하여 cytokine, cytokine receptor, 세포부착분자(cell adhesion molecule), 성장인자(growth factor) 등의 발현에 관여하는 유전자의 촉진인자(promoter)나 증강인자(enhancer)의 κB site에 결합함으로써 전사를 유도한다²⁶. 본 실험

에서는 NF-κB의 변화를 NF-κB p50 항체를 이용하여 조사하였는데 점막상피 손상지역에서 급격하게 증가된 양상을 보였다.

이는 전염증성 물질인 COX-2를 비롯한 과도한 세포 기용의 증가를 촉발시켰다. 먼저 COX-2의 증가가 UCE군에서 관찰되었는데, COX-2는 외부자극에 의해 염증이 유발되어 전달되는 과정에서 유도성 동종효소(inducible isoform)로 섬유모세포와 큰포식세포를 포함한 여러 세포에서 발현되어 염증이 일어나는 곳에서 proinflammatory prostaglandin을 과량 방출한다²⁷. 한편 출혈성 침식으로 인한 점막상피와 COX-2에 의한 염증 증가는 세포성 면역체계를 자극하여 세포유착분자인 ICAM-1의 발현증가를 유도하였는데²⁸, 그 결과 점막고유판에서 점막밑층까지 ICAM-1 양성반응세포의 분포가 증가하였다. 그러나 투여군에서는 赤小豆當歸散加玄之草 투여군(JHA군), 赤小豆當歸散 투여군(JDA군), 보리차투여군(BOA군) 순으로 NF-κB p50가 감소되었으며, 그 결과 염증 유도성 동종효소인 COX-2, ICAM-1의 과발현이 억제되었다.

이상의 결과로, 보리차, 赤小豆當歸散, 赤小豆當歸散加玄之草를 투여한 BOA군, JDA군, JHA군에서는 COX-1 발현 증가를 통한 prostaglandin이 정상적으로 분비되어 점액(mucus)과 중탄산염(bicarbonate) 보호장벽을 유지시킴으로써 대장 내 점막 손상을 치료할 수 있었으며, 이는 PNA를 통한 창자세포 상층부의 골지복합체 분포를 통해서도 확인 할 수 있었다. 이러한 손상 치료는 급성염증에 의한 2차적인 조직손상을 억제하는 결과를 유도하였는데, 그 결과로 NF-κB p50, COX-2, ICAM-1 활성 억제가 관찰되었다. 이상의 결과로 赤小豆當歸散은 대장의 점막 손상과 이로 인한 점막내 과도한 염증반응을 완화시키는 효과가 있음이 확인되었으며, 이러한 치료효과는 赤小豆當歸散加玄之草가 가장 좋았으며, 다음은 赤小豆當歸散, 보리차 순이었다.

V. 結 論

대장점막손상에 대한 赤小豆當歸散과 赤小豆當

歸散加玄之草의 치료효과를 조사하기 위해 행해진 본 연구는 생쥐에 indomethacin으로 인위적인 손상을 유도한 후 내림주름창자 점막에 나타난 일반적인 형태, 창자샘 내 슬잔세포, 점막 표면상피 세포, 점막 내 보호장벽, 그리고 염증관련매개물질을 관찰하였다.

점막 보호장벽과 점막내 염증반응 관여인자에서 赤小豆當歸散加玄之草 투여군, 赤小豆當歸散 투여군 (JDA군), 보리차투여군 순으로 세포내 arachidonic acid의 prostaglandin 전환과정에 관여하는 점막보호인자인 COX-1의 분포는 증가하였으며, 스트레스에 대한 완충적 물질인 열충격단백질인 HSP70과 소화관내 동통 및 소양증에 관여하는 신경펩티드 substance P의 분포는 감소하였고, 급성 염증에 의한 조직손상을 유도하는 NF- κ B p50가 감소된 결과 염증유도성 동종효소인 COX-2, ICAM-1의 과발현이 억제되었다.

이상의 결과로 赤小豆當歸散은 점막손상과 이로 인한 점막내 과도한 염증반응을 완화시키는 효과가 있음이 확인되었으며, 치료효과는 赤小豆當歸散加玄之草가 가장 좋았고, 다음은 赤小豆當歸散 그리고 보리차 순이었다.

參 考 文 獻

- Glickman RM. 송인성 역. 해리슨 내과학 편찬위원회 편.염증성 장질환:궤양성 대장염과 크론병 in: *Harrison's Principles Intern Med.* 13th ed. 서울: 도서출판 정담; 1997, p1268-81,1507-23.
- Kim CG, Kim JW, Kim HD, et al. Clinical features of Crohn's disease in Korea. *Korean J Gastroenterol.* 2002;40:173-80.
- 류기원 외 편저. *脾系內科學.* 서울: 도서출판 아트동방; 1998, p285-8.
- 許俊. *東醫寶鑑.* 서울: 남산당; 1992, p189-220.
- 龔延賢. *萬病回春.* 서울: 행림서원; 1972, p134.
- 方廣 編, 朱震亨 纂. *丹溪心法附餘.* 서울: 대성문화사; 1982, p267-84,411-3.
- 張仲景. *仲景全書(金匱要略).* 서울: 대성문화; 1993, p9, 50.
- 강소신의학원 著, 심창민 譯. *中藥大辭典.* 서울: 도서출판 정담; 1998, p949-54.
- 김승욱, 임성우. 導赤地榆湯이 궤양성 대장염 유발 흰쥐에 미치는 영향. *대한한의학회지.* 2002;23(3):200-10.
- 최준혁, 임성우. 沙蔘麥門冬湯이 Indomethacin으로 유발된 mouse의 대장 점막 손상에 미치는 영향. *대한한의학회지.* 2002;23(4):169-85.
- Tierney LM Jr, McPhoe SJ, Papadakis MA. *Current Medical Diagnosis & Treatment.* 서울: 한우리; 1999, p686-95.
- Monk M, Mendeloff AI, Siegel CI, Lilienfeld AM. An epidemiological study of ulcerative colitis and regional enteritis among adults in Baltimore.I. Hospital incidence and prevalence, 1960-1963. *Gastroenterology.* 1967;53:198-210
- 안명주 외. 궤양성 대장염 28례에 대한 임상적 고찰. *대한소화기내시경학회잡지.* 1991;7(1):19-26.
- 최희정, 박정은, 손희정 외. 궤양성 대장염의 임상적 관찰. *이화의대지.* 1993;16(3):235-42.
- Munkholm P, Langholz E, Davisen M, Blinder V. Disease activity courses in a regional cohort of Crohn's disease patients. *Scand J Gastroenterol* 1995;30:699-706.
- Mark H, Robert B. 안득수 역. *머크 매뉴얼.* 제 17판(한국어 초판). 서울: 한우리 출판사; p324-8.
- 李時珍. *本草綱目.* 北京: 人民衛生出版社; 1982, p833-7,1456-7,508-12
- Byron Cryer and Andre Dubois. The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase-a review. *Prostaglandins & other Lipid Mediators.* 1998;56:341-61.
- Choitsu Sakamoto. Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal pathophysiology. *J Gastroenterol.* 1998;33:618-24.
- Tetsuo Arakawa, Kazuhide Higuchi, Takashi

- Fukuda, et al. Prostaglandins in the stomach ; an update. *J. Clin. Gastroenterol.* 1998;27:1-11.
21. Lee S. Siomon. Biology and toxic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Current Opinion in Rheumatology.* 1998;10:153-8.
22. De Maio A. The heat-shock response. *New Horiz.* 1995;2;198-207.
23. Valazquez J. M. and Lindquist S. H. Hsp 70 - Nuclear concentration during enviromental stress and cytoplasmic stroage during recovery. *Cell.* 1984;36:655-22.
24. Misery L. Skin, immunity, and nervous system. *Br J Dermatol.* 1997;137:843-59.
25. Baeuerle P. A. IκB-NF-κB structure: at the interface of inflammation control. *Cell.* 1998; 95:729-31.
26. Baeuerle P. A. and Baltimore D. NF-κB—Ten years after. *Cell.* 1996;87:13-20.
27. Martin Kulldorff, Lisa M. McShane, Arthur Schatzkin, et al. Measuring cell proliferation in rectal mucosa: Comparing bromodeoxyuridine (BrdU) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) assays. *J Clin Epidem.* 2000;53:875-83.
28. M. Katori and M. Majima. Cyclooxygenase-2 - its rich diversity of roles and possible application of its selective inhibitors. *Inflamm res.* 2001;49:367-92.