대한침구학회지 제24권 제4호(2007년 8월)
The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society

원 저

四逆散合平胃散加味方의 경구투여와 약침의 병용이 백서의 간손상에 미치는 영향

김성욱* · 김형우** · 조수인** · 윤여충*

*동신대학교 한의과대학 침구학교실
**동신대학교 한의과대학 본초학교실

Abstract

Effects of *Sayeoksanhap-Pyeongweisan-Gamibang*(SPG) on Hepatological Changes in Animals Damaged by CCl_4

Kim Sung-wook*, Kim Hyung-woo**, Cho Su-in** and Yun Yeo-choong*

*Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Korean medicine, Dongshin University
**Department of Herbology, College of Korean medicine, Dongshin University

Objectives : This study was designed to investigate protective effects of Sayeoksanhap-Pyeongweisan-Gamibang(SPG) on hepatological changes in rats damaged by CCl_4.

Methods : We investigated the effects of SPG on hepatological changes in terms of AST/ALT levels, Total cholesterol, HDL-cholesterol and triglyceride in serum and lipid peroxidation in rat liver.

Results : Combination treatment with acupuncture and oral administration of SPG decreased AST and ALT in serum. Combination treatment also decreased lipid peroxidation in liver and triglyceride in serum. In addition, HDL-cholesterol in serum was increased significantly by combination treatment. Contrary, level of total cholesterol was not changed by combination treatment.

Conclusion : These results suggest that Combination treatment with acupuncture and oral administration of SPG was useful to protect liver against CCl_4 by its antioxidant action in liver tissues.

Key words : Sayeoksan, Pyeongweisan, CCl_4, Lipid peroxidation

* 이 연구는 산업자원부 지정 동신대학교 산학협력단 부설 산업용가속기이용생물연구센터(RIC)로부터 연구비의 일부를 지원받아 수행되었음
· 접수 : 2007년 7월 27일 · 수정 : 2007년 7월 28일 · 채택 : 2007년 7월 28일
· 교신저자 : 윤여충, 광주광역시 남구 월산동 377-12 동신대학교 부속한방병원 침구과
Tel. 062-350-7209 E-mail : choong47@hanmail.net

Ⅰ. 서 론

한의학에서 肝은 '藏血'과 '疏泄'이라는 두 가지의 주된 생리기능으로 대별된다. 疏泄은 간의 대사기능과 유사하며 疏泄失調는 간장의 대사 이상이 전체대사이상을 초래하여 병변을 일으키게 되는 것이며[1], 藏血機能은 간장에 특수한 혈관계가 구성되어 간순환이 이루어지며 화학적 대사[1,2] 및 해독작용[1,3,4]을 겸하고 있음을 시사한다. 이 중 疏泄은 升發과 透泄의 의미로 人體全身氣機의 通暢에 영향을 미치는 바, 疏泄機能의 失調는 氣血의 調和와 經脈의 通利가 이루어지지 않아 氣機가 調暢하지 못하면 肝뿐만 아니라 다른 臟腑에까지도 병리적인 변화가 나타난다[3,5,6].

본 연구에는 四逆散合平胃散加味方을 사용하였는데, 四逆散은 疏肝解鬱·養血健脾, 平胃散은 燥濕健脾·行氣和胃의 효능이 있으며[7], 加味된 茵蔯은 淸利濕熱·退黃疸, 澤瀉는 利水滲濕·泄熱의 효능이 있어[8] 이들로 구성된 처방은 肝의 疏泄기능을 돋우어 氣機의 失常을 바로잡는데 사용될 수 있으므로 현대적 의미의 肝 손상에도 이용될 수 있을 것으로 사료되어 사용하였다. 藥鍼요법은 침과 약물의 효과를 결합시킨 치료법으로 이는 경락학설에 의거하여 선용된 약물을 유관혈위 및 아시혈에 주입함으로써, 생체의 기능을 조정하고 병리 상태를 개선시켜 질병치료의 목적을 달성하는 치료법이다[9].

四逆散과 平胃散에 관한 연구로 신[10]의 항우울효과 및 뇌내 monoamine에 미치는 영향, 이[11]의 Indomethacin으로 손상된 위점막에 대한 연구 및 고[12]의 습열형 아토피 치료 연구 등이 있었으나 간기능과 관련된 연구는 찾아볼 수 없었고, 四逆散合平胃散에 茵蔯, 澤瀉를 加味하여 연구 재료로 사용한 예는 없었다.

藥鍼은 新鍼療法 중의 하나로 經絡學說의 원리에 의거하여 정제한 각종 藥物을 유관한 혈위, 압통점에 주입하여 자침효과와 약물 작용의 효과로서 經絡穴位를 激發하여 人體機能을 調整하고 病變組織의 病理狀態를 改善시켜 體內의 氣血을 通暢하고 疾病을 治療하는 新鍼療法 중의 하나로서 최근 들어 많은 관심을 끌게 되었다.

이에 저자는 四逆散合平胃散加味方의 간 손상에 대한 억제 효과를 확인하기 위해서 CCl_4를 이용하여 간 손상을 유발한 후 경구투여, 藥鍼 및 병용시술의 형태로 적용하여 혈청 AST, ALT 농도와 지질 과산화 억제, Total cholesterol과 HDL cholesterol, triglyceride 함량의 변화 및 간조직 관찰 등에서 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

실험동물은 체중 200±20g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(대한실험동물센터, Korea)를 사용하였으며, 2주 이상 실험실 환경에 적응시키는 동안 고형사료(삼양 배합사료 실험동물용, 삼양유지사료, Korea)와 물을 충분히 공급하면서 사육하였다.

2) 처방 및 구성 약재

처방은 저자가 임상에서 사용하고 있는 처방인 四逆散合平胃散加味方을 재료로 하였고 이를 구성하는 약재는 동신대학교 부속한방병원에서 구입 및 정선하여 사용하였다. 이하 四逆散合平胃散加味方을 SP로, 그 추출물을 SPG로 칭하기로 한다(Table 1).

3) 시약 및 기기

혈청 중 AST, ALT, total cholesterol, HDL-cholesterol 및 triglyceride는 측정용 킷(아산제약, 한국)을 구입하였으며, 기타 시약은 Sigma(St. Louis, MO, USA)제품을 구입하였다. 측정을 위해 사용된 기기는 분광광도계(U-2800, Hitachi, Japan), 원심분리기(VS-15000CFN, Vision, 한국), 전자저울(AR2140, OHAUS, USA) 등이었다.

2. 방법

1) 약물의 추출

약물의 원재료 2첩 132g에 증류수 1,500㎖를 가한 후 대웅 약탕기(DWP-1800 T, 한국)로 2시간 동안 전탕한 후 여과하고 상층액을 감압 농축하고 건조하여 추출물(SPG)을 얻었으며, 최후의 건조물은 31.8g이었다. 추출물을 사용치 않을 때는 냉동 보관해 두었다가 실험 직전에 희석하여 사용하였다.

Table 1. Prescription of SP

韓藥名 (Herbal Name)	生藥名 (Scientific Name)	重量 (Weight, g)
蒼朮	Atactylodis Rhizoma	8
甘草	Glycyrrhizae Radix	8
柴胡	Bupleuri Radix	8
芍藥	Paeoniae Radix Alba	8
枳實	Aurantii Immaturus Fructus	8
厚朴	Magnoliae Cortex	6
陳皮	Citri Pericarpium	4
茵蔯	Artemisiae Capillaris Herba	4
澤瀉	Alismatis Rhizoma	4
生薑	Zingiberis Rhizoma Recens	4
大棗	Jujubae Fructus	4
	Total Amount	66

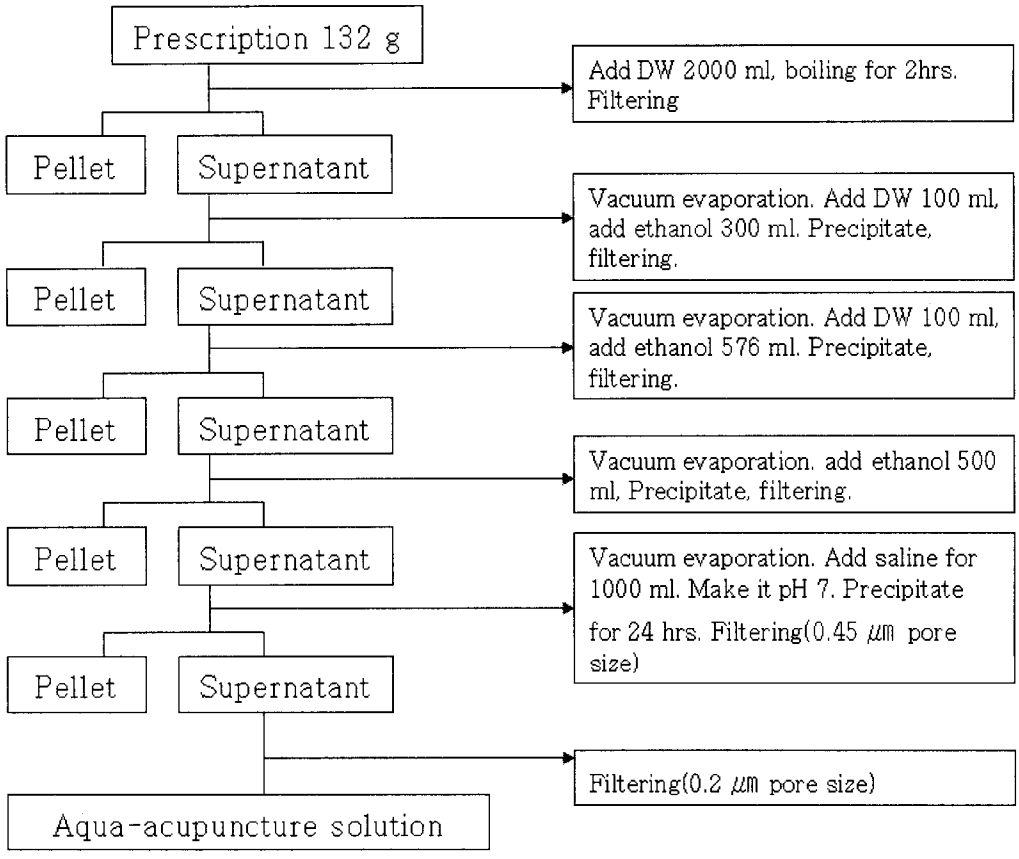

Fig. 1. Procedure for Filtering Aqua-acupuncture(Herbal acupuncture) Solution

2) 藥鍼液의 제조

藥鍼液은 차례로 적절한 여과 과정(Fig. 1)을 거쳐 신선하게 보관하였다가 실험에 사용하였다.

3) 取穴 및 藥鍼주입

藥鍼은 간 손상을 유발시킨 후 인체의 太衝과 肝俞에 상응하는 부위를 취혈하였으며, 藥鍼 주입기로는

용량 1.0㎖의 1회용 주사기(주사침 26guage, 보인메디카, 한국)를 사용하여 동물의 피부로부터 2㎜ 내외의 깊이로 각 부위에 0.05㎖ 용량 되도록 주입하였다.

4) 간 손상의 유도 및 실험군 분류

실험 첫 날, 대조군 및 실험군에는 1㎖/kg 분량의 CCl_4를 corn oil 10% 농도로 희석하여 1회 복강 주사를 통하여 간손상을 유발하였다. 정상군에는 corn oil을 동일 부피로 주사하였다. 약물은 5일간 자유로이 섭취케 하였다. 실험군은 아래와 같다.

정상군(Normal) : 간 손상을 유발하지 않고, 약물을 투여하지 않은 군

대조군(Control) : 간 손상을 유발하고, 약물을 투여하지 않은 군

약침군(Acupu) : 간 손상을 유발하고, 조제된 약침액을 0.05㎖ 씩 자입한 군

복합군(Combi) : 간 손상을 유발하고, 약침액을 매일 1회씩 자입하면서, 1%의 SPG를 음용수에 타, 자유롭게 섭취하도록 한 군

5) 혈청 분리와 肝의 적출

흰쥐를 ether로 가볍게 마취시킨 심장으로부터 혈액을 채취하였으며, 이를 실온에 30분 이상 방치한 다음 800Xg에서 25분간 원심 분리하여 얻은 혈청으로부터 alanine aminotransferase(AST), aspartate aminotransferase(ALT), totalcholesterol, triglyceride HDL-cholesterol 및를 측정용 kit(아산제약 주식회사, Korea)를 이용하여 측정하였다. 혈액을 채취한 직후 간을 적출한 다음 지질의 과산화 정도를 측정하였고, 일부의 조직은 염색하여 현미경하에서 관찰 하였다.

6) 지질 과산화 정도 측정

지질의 과산화는 흰쥐에서의 신장 피질 내 MDA 함량을 Uchiyama와 Mihara의 방법[12]에 준하여 측정함으로써 평가하였다. 떼어낸 조직을 1% phosphoric acid 3㎖와 0.6% thiobarbituric acid 용액 1㎖를 첨가하여 끓는 물에서 60분간 중탕하였다. 1-butanol 4㎖를 첨가하여 완전히 섞은 다음 800Xg에서 25분간 원심분리 한 후, 상층액의 흡광도를 534㎚와 510㎚에서 측정하였다. MDA값은 단백질 1㎎ 당 pmoles로 표시하였으며, 단백질 농도는 Bradford의 방법[13]으로 측정하였다.

위의 방법을 시행하기 위한 신장 피질 절편의 제작은 다음과 같은 방법을 사용하였다. 우선 흰쥐의 경추를 탈구시켜 희생시킨 후 신장을 적출하여 130 mM NaCl, 5mM KCl, 10mM Tris-HCl(pH 7.4)로 된 냉장 보관 용액을 혈관 내로 주입하여 혈액을 제거하였다. 신장 바깥의 단단한 피막은 제거하였다. 신장 피질 조직을 Stadie-Riggs microtome(Tomas, U.S.A.)을 사용하여 가로 및 세로의 길이는 각각 1㎝, 두께는 약 0.3~0.5㎜가 되도록 절편을 제작하였다.

7) 간 조직 관찰

적출된 간의 동맥을 통하여 관류고정을 한 다음 4% paraformaldehyde에 24시간 동안 재고정하였다. 간 조직은 paraffin으로 포매한 후 microtome을 사용하여 5㎛ 두께로 절편하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 통상적인 방법으로 파라핀을 제거한 후 함수과정을 거쳤다. Periodic acid-Schiff (PAS) 염색을 한 다음 hemato -xylin으로 대조 염색하고 Canada balsam으로 봉합한 후 카메라 부착 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 SAS(The SAS System for Windows, ver. 6.12, SAS Institute, USA)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준오차(mean±S.E.)로 나타내었으며, 각 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

Ⅲ. 성 적

1. 체중증가율의 변화

간경변 등의 간 손상의 지표인 체중증가율을 측정하였다(Fig. 2). 정상군에서의 체중증가율은 2일과 4일 후 각각 1.02±0.00, 0.97±0.01로 관찰되었고, 대조군에서는 각각 1.03±0.01, 0.98±0.01로 관찰되었다. 약침군에서는 각각 0.99±0.01, 0.92±0.01로, 복합군에서는 각각 0.96±0.01, 0.91±0.01로 나타났다(Fig. 2).

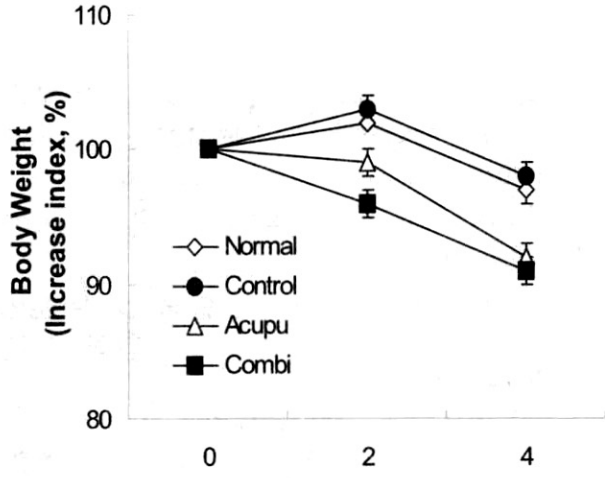

Fig. 2. Effects of SPG on Changes in Body Weight Gains of Rats Treated with CCl_4

Body weights were measured at the beginning (day 0), day 2 and day 4 of experiment. Changes in body weight were represented as average weights on each days, which were expressed as percentages of weight on day 0. Normal : non-induced liver injury and vehicle treated group, Control : liver injury induced and vehicle treated group, Acupu : liver injury induced and aqua-acupuncture treated group, Combi : liver injury induced and aqua-acupuncture and oral administration group. Values are represented as mean±SE. (n=6).

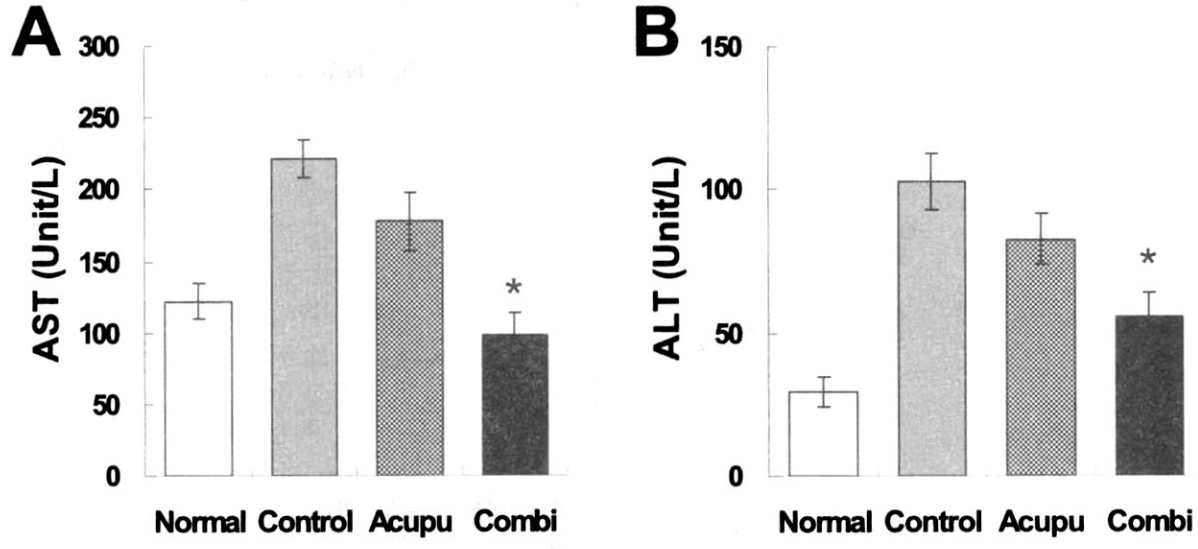

Fig. 3. Effects of SPG on Serum AST/ALT Activity in Serum Obtained from Rats Treated with CCl_4

Rats were oral administered and treated herbal acupuncture with SPG for five days. (A) AST, (B) ALT. Normal : non-induced liver injury and vehicle treated group, Control : liver injury induced and vehicle treated group, Acupu : liver injury induced and aqua-acupuncture treated group, Combi : liver injury induced and aqua-acupuncture and oral administration group. Values are represented as mean±SE. (n=6) *$p<0.05$ compared to control.

2. AST/ALT 농도 변화

대조군에서의 AST 활성은 정상군의 121.96±12.51 Units/L에서 221.60±13.37Units/L로 약 2배가량 증가함으로써 CCl_4 주입에 의해 肝 기능의 장애가 유발되었음을 보였다. 이러한 혈청 AST 활성의 증가는 약침군의 경우 178.04±20.21Units/L로 감소하였으나 유의하지는 않았고, 복합군의 경우에는 98.83±14.89

Units/L로 유의한 감소 현상을 보였다(Fig. 3 A).

肝 기능 손상 정도를 평가하는 지표인 혈청 ALT 활성에 대한 영향에서는 AST 활성의 변화에서와 유사하게 CCl_4를 주입한 경우 ALT 활성은 정상군의 29.53±4.99Units/L에 비해 대조군에서 102.81±9.76Units/L로 확연히 증가하였고, 이러한 혈청 ALT 활성의 증가는 약침군의 경우 82.61±8.87Units/L로 감소하였으나 유의하지는 않았고, 복합군의 경우 55.59±8.58Units/L로 유의한 감소 현상을 나타냄으로써 CCl_4 주입에 의한 肝 기능 장애를 효과적으로 방지하는 것을 알 수 있었다(Fig. 3 B).

3. 지질 과산화 억제 효과

CCl_4를 생체 내에 처리하여 肝 손상이 유발되었을 때 그 손상이 반응성 산소기에 의해 초래되었는지를 확인하기 위하여 肝 조직 지질의 과산화 정도를 측정하였다(Fig. 4). 여기에 나타난 바와 같이 CCl_4를 처리한 대조군에서 지질의 과산화는 정상군 조직에서의

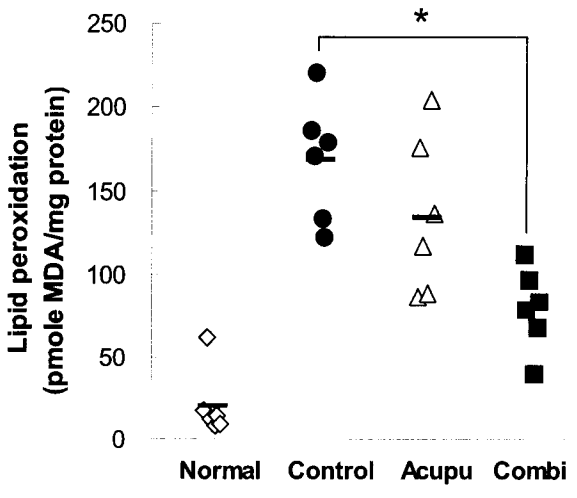

Fig. 4. Effects of SPG on Lipid Peroxidation in Liver Tissue from Rats Damaged by CCl_4

Lipid peroxidation in liver tissue was measured using method by Uchiyama and Mihara after administration of SPG for 5 days. Normal : non-induced liver injury and vehicle treated group, Control : liver injury induced and vehicle treated group, Acupu : liver injury induced and aqua-acupuncture treated group, Combi : liver injury induced and aqua-acupuncture and oral administration group. Values are represented as mean±SE. (n=6) *$p<0.05$ compared to control.

20.33±8.44pmole MDA/mg protein에 비해 168.83±14.75pmole MDA/mg protein로 증가하였다. 이러한 지질 과산화 정도는 약침군의 경우에는 135.00±19.31 pmole MDA/mg protein으로 감소하였으나 유의하지는 않았고, 복합군의 경우 79.83±10.25pmole MDA/mg protein로 유의한 감소 현상을 보였다(Fig. 4).

4. 혈중 cholesterol 함량 및 triglyceride 함량 변화

재료 및 방법에서 이미 설명한 대로, 5일간의 처치가 끝난 후, 백서의 혈액으로부터 Total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride의 함량을 측정하였다. Fig. 5-A와 같이 CCl_4를 주입한 경우 Total cholesterol 함량은 정상군의 102.12±4.55mg/dL에 비해 대조군에서 142.01±6.26 mg/dL로 증가하였고, 이러한 혈청 Total cholesterol의 함량 변화는 약침군의 경우 157.20±4.02 mg/dL로 증가하였고, 복합군의 경우 134.30±4.08mg/dL로 감소 현상을 나타내었으나 통계적으로 유의하지는 않았다(Fig. 5-A).

다음으로 HDL-cholesterol을 측정하였는데, HDL은 말초의 cholesterol을 간으로 운반하는 cholesterol 역전송계를 담당하는 지단백으로 동맥경화의 진전을 억제하게 되는데, 간 손상의 경우에 합성능의 저하로 인해 HDL-cholesterol이 감소[13]하게 된다. 그런데 본 실험에서 CCl_4를 주입한 경우 HDL-cholesterol 함량은 정상군의 58.89±4.66mg/dL에 비해 대조군에서 57.24±4.89mg/dL로 감소하였으나 유의하지는 않았다. 약침군 역시 49.07±3.04mg/dL로 증가 현상을 나타내지 않았다. 하지만 복합군의 경우 83.44±3.98mg/dL로 유의성 있는 증가 현상을 나타내어 간기능 손상에 의한 합성능 저하를 방지하는 효과가 있음을 확인하였다(Fig. 5-B).

간세포의 손상으로 인한 말초조직에서의 처리능 저하가 있을 경우 증가[13]하게 되는 혈청 Triglyceride의 함량을 측정하였다. 대조군에서의 Triglyceride 함량은 정상군의 44.90±4.72mg/dL에서 121.32±10.84mg/dL로 약 3배 가량 증가함으로써 CCl_4 주입에 의해 肝 기능의 장애가 유발되었음을 보였다. 이러한 혈청 Triglyceride 함량은 약침군의 경우 각각 135.20±17.51 mg/dL로 증가함으로써 별다른 효과를 나타내지 못했으나, 복합군의 경우에는 67.36±4.64mg/dL로 유의성 있는 감소 현상을 나타냄으로써 CCl_4 주입으로 유발된 간기능 손상에 의한 처리능 저하를 가장 효과

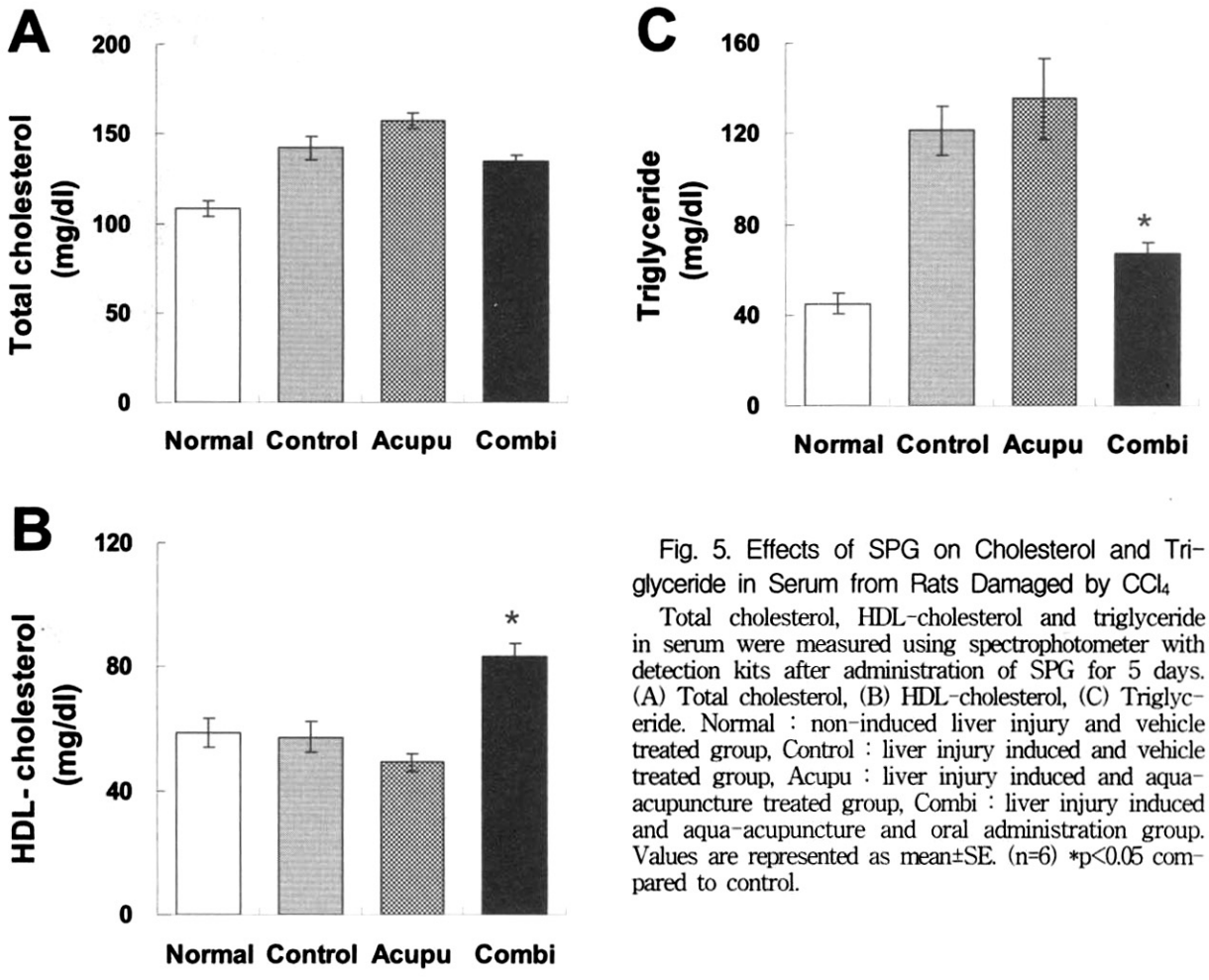

Fig. 5. Effects of SPG on Cholesterol and Triglyceride in Serum from Rats Damaged by CCl_4

Total cholesterol, HDL-cholesterol and triglyceride in serum were measured using spectrophotometer with detection kits after administration of SPG for 5 days. (A) Total cholesterol, (B) HDL-cholesterol, (C) Triglyceride. Normal : non-induced liver injury and vehicle treated group, Control : liver injury induced and vehicle treated group, Acupu : liver injury induced and aqua-acupuncture treated group, Combi : liver injury induced and aqua-acupuncture and oral administration group. Values are represented as mean±SE. (n=6) *$p<0.05$ compared to control.

적으로 개선하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다 (Fig. 5-C).

5. 간 조직 관찰 결과

정상군 간세포의 중심정맥은 비교적 둥근 모형으로 나타나며 간세포판은 중심정맥에서 방사형으로 뚜렷이 관찰되었다. 중심으로 동양혈관은 간세포판 사이에서 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 6-A). CCl_4를 투여한 대조군 흰쥐의 간에서는 중심정맥이 매우 손상되어 불규칙하게 관찰되었으며, 중심정맥의 내피세포는 염증성 반응으로 eosin에 강한 염색성을 보였다. 중심정맥 주변에서는 염증세포들이 아주 많이 관찰되었으며, 간세포들은 대부분 미약하게 손상되어 있었으며, 핵의 핵질이 매우 응축되어 있는 세포들이 소수 관찰되었다(Fig. 6-B). 약침군 흰쥐의 간에서 관찰되는 중심정맥은 형태가 불완전하며 일부 손상된 소견을 보여주었다. 중심정맥 주변에서는 많은 염증세포들이 관찰되었으며, 간세포의 세포질은 eosin에 비교적 약한 염색성을 보여주었다 (Fig. 6-C). 복합군에서는 중심정맥은 비교적 둥글게 관찰되었으며 주변에서 염증세포들이 관찰되었다. 간세포의 세포질은 다소 손상된 소견을 보여주었으며 일부의 간세포들은 핵이 매우 응축되어 있었다(Fig. 6-D).

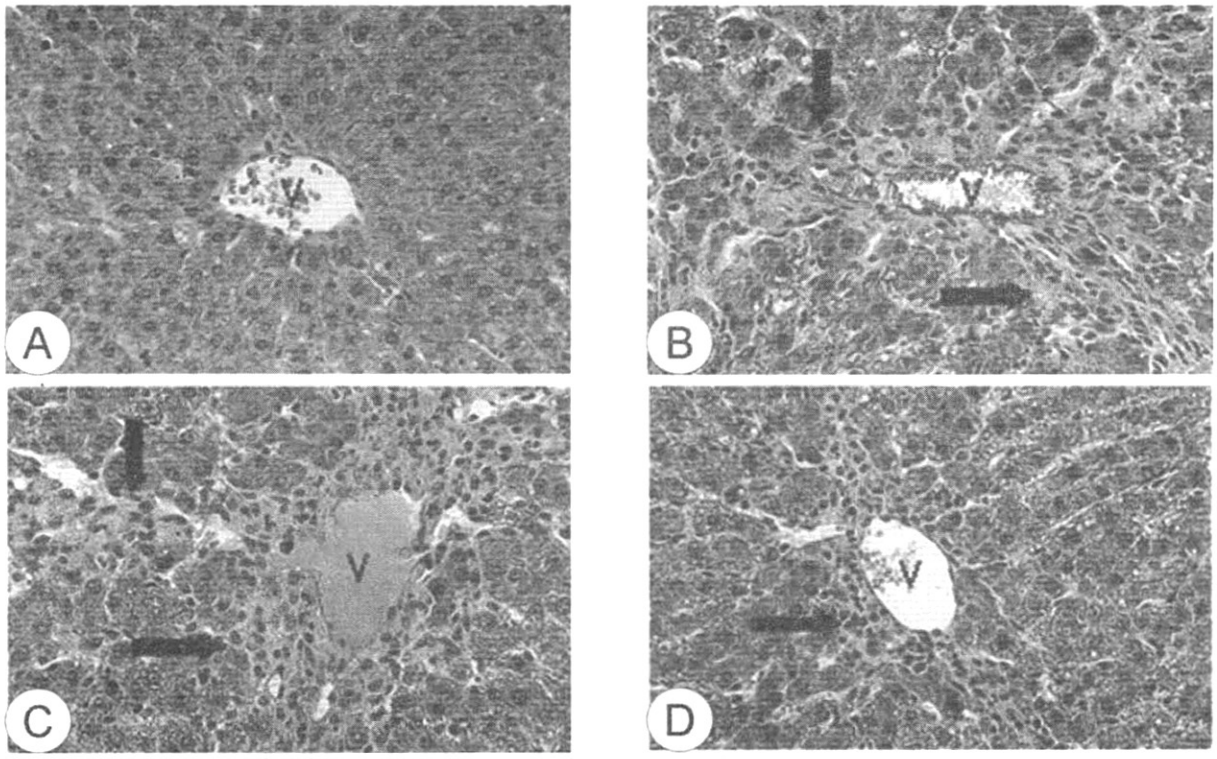

Figure 6. Effects of SPG on Histophathological Changes in Liver Tissue from Rats Damaged by CCl_4

At the end of the experiment, livers were resected, and stained with Hematoxylin and Eosin. Sections were observed at the magnification of 200. (A) Normal group, (B) Control group, (C) Acupuncture group, (D) Combination group. V, Central vein, Arrows indicate inflamation cells.

Ⅳ. 고찰 및 결론

급성 간 손상은 전격성간염, 급성 및 아급성 간괴사 등이 이에 속하며, 이 경우 간장의 조직이 돌연히 파괴 위축되고 기능이 상실되며 예후는 극히 불량하다[14]. 급성 간 손상을 유발시키는 인자로는 Virus와 CCl_4(carbontetrachloride), Thioacet amide(TAA), chloroform, phosphorus, ethionine, dimethyl nitrosamine 등의 약물이 있으며, CCl_4는 전형적인 간 손상을 일으켜 간에서 단백질 합성 억제, 간 glycogen량의 감소, ATP량의 감소, 혈청 AST, ALT 등 효소의 이탈을 일으켜, 조직학적으로 간세포의 응고괴사, 수종변성, 지방변성, 소엽중심성 괴사 등이 일어나며, 만성경화로 간경변증을 초래하는 것으로 알려져 있다[15-20].

산소는 전자전달계에서 전자수용체로서 작용하지만 완전히 산화되지 못한 경우 superoxide anion이나 hydroxyl radicals와 같은 산소자유기를 생성하여 인체를 비롯한 다른 생물체의 조직이나 기관을 구성하고 있는 세포에 산화적 손상을 줌으로서 세포의 퇴행성 변화나 세포사멸 등을 유도하여 결국 병변을 초래하게 된다. 특히 산소자유기는 반응성이 강하여 세포내 단백질이나 핵산을 손상시키며 나아가서 세포내의 대사적 이상을 유발함으로써 각종 질환의 병리적 원인의 하나로 밝혀지고 있다[21, 22]. 이런 반응성 산소기는 肝 조직에서 허혈/재관류에 의한 세포 손상, 그리고 CCl_4, menadione, 수은, 알콜, paraquat 등 여러 종류의 독성 물질에 의한 肝 세포 손상의 병인으로 인정되고 있기 때문에[23-28] 반응성 산소기를 제거하거나 발생을 억제하는 약물이 개발된다면 여러 가지 형태의 肝 조직 손상을 방지하거나 예방할 수 있을 것이다. 따라서 본 연구에서는 조직 손상을 유발하기 위하여 CCl_4를 사용하였는데, CCl_4는 체내에서 대사된 CCl_4의 생성물이 肝에 독성을 나타내어 이러한 肝 기능 장애에 관여하는 반응성 산소기는 여러 가지 병적상태에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌기 때문에 실험적으로 肝 독성을 유발하는 약물로 많이 이용하고 있다[29, 30].

본 연구에 사용된 처방은 四逆散과 平胃散을 合方한 후 다시 茵蔯과 澤瀉를 加味하여 구성된 처방으로 四逆散의 疏肝解鬱·養血健脾와 平胃散의 燥濕健脾·行氣和胃의 효능 및 茵蔯의 淸利濕熱·退黃疸, 澤瀉의 利水滲濕·泄熱의 효능이 겸하게 되면 肝의 疏泄기능을 돋우어 氣機의 失常을 바로잡는 데 효과적일 것으로 생각되었다[31,32].

藥鍼은 新鍼療法 중의 하나로 經絡學說의 원리에 의거하여 정제한 각종 藥物을 유관한 혈위, 압통점에 주입하여 자침효과와 약물 작용의 효과로서 經絡穴位를 激發하여 人體機能을 調整하고 病變組織의 病理狀態를 改善시켜 體內의 氣血을 通暢하고 疾病을 治療하는 新鍼療法 중의 하나로서 최근 들어 많은 관심을 끌게 되었으며, 이에 대한 연구로 실험동물을 통하여 진통, 항경련, 소염, 해독, 부신피질기능부전의 회복 및 기관지 상피세포의 재생 등에 대하여 藥鍼療法의 유효함이 보고되었으며[33-35], 간 질환에 대한 藥鍼의 연구보고로 박[36]은 鹿茸 藥鍼이 간 손상 회복에 유효함을 보고하였으며, 김[37]은 草龍膽 藥鍼이 간의 기능 회복에 기여하고 있음을 보고하였고, 또한 서[38]는 丹蔘 藥鍼이 농도별로 간 질환에 미치는 영향을 관찰하였고, 이 등[39-41]은 茵蔯藥鍼이 흰쥐 손상간의 효소활성도의 감소에 유의성이 있다고 보고하였고, 윤[42]은 茵蔯藥鍼이 손상된 흰쥐 간세포에 미치는 효과에 대하여 전자현미경으로 관찰된 결과에서 정상세포의 상태로 회복되었음을 보고하였다. 또한 이는 茵蔯蒿湯의 藥鍼과 경구투여를 시행하여 손상간에 미치는 영향을 보고하였으나, 병용 투여군은 실험내용에 포함시키지 않았다.

본 연구의 藥鍼자극에 사용된 穴位는 肝兪와 太衝인데, 肝兪는 제9늑간 背部 正中線에서 좌우 5mm 점을 取穴하였고, 太衝은 後肢 1, 2 長骨之間 제2長骨 근처 中點에 取穴하였다. 肝臟의 背兪穴인 肝兪는 足太陽膀胱經에 속하는 五臟 背兪穴의 하나로 利肝膽, 淸濕熱, 調氣滯, 明眼目의 穴性이 있어 肝病, 急慢性肝炎, 黃疸, 膽囊炎, 頭痛, 眩暈, 口苦, 脇痛, 胃疾患, 肋間神經痛 등의 主治效能이 있으며, 太衝은 足厥陰肝經에 속하는 肝經의 原穴로써 淸瀉肝火, 平肝熄風, 淸利濕熱, 通絡活血의 穴性이 있어 肝機能障碍, 黃疸, 眼疾, 高血壓, 不眠症, 小兒驚風, 疝氣, 月經不調, 崩漏, 鬱症 등 一切의 肝疾患을 治療하는 效能이 있다. 肝臟은 내외인성 유독물질을 해독하는 장기이므로 肝腸의 背兪穴인 肝兪와 肝經의 原穴인 太衝은 解毒의 主治穴이 된다[43].

혈청 AST 와 ALT는 심장근과 간세포 내에 있는 특성효소로서 조직세포의 손상에 의해 혈청 중의 활성도가 증가되는데, 활성도의 상승은 간담도 질환, 심장질환에서 일어나고 특히 급성간염의 경우에 현저하다. CCl_4를 복강 내로 투여한 결과, CCl_4 주입에 의해 肝 기능의 장애가 유발되었음을 보였으며, 이러한 혈청 AST 활성의 증가는 병용투여군에서 유의한 감소 현상을 보였다. ALT 활성 역시 정상군에 비해 대조군에서 확연히 증가하였고, 이러한 혈청 ALT 활성의 증가 역시 藥鍼과 경구투여를 병용투여군에서 유의한 감소 현상을 나타냄으로써 CCl_4 주입에 의한 肝 기능 장애를 가장 효과적으로 방지하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

CCl_4를 생체 내에 처리하면 대사과정에서 free radical metabolite를 생성하고 이는 각종 막지질의 과산화를 유발시켜 세포손상을 초래하게 된다. 생체조직 중에서 산화를 받기 쉬운 불포화지방산을 많이 함유하고 있는 것은 생체막이고 생체막의 산화는 자동산화로 free radical 연쇄반응에 의하여 malone dialdehyde(MDA)가 생성되는데, 본 연구에서 간 손상이 유발되었을 때 그 손상이 이러한 반응성 산소기에 의해 초래되었는지를 확인하기 위하여 肝 조직 지질의 과산화 정도를 측정한 결과는 CCl_4를 처리한 대조군에서 지질의 과산화가 정상군 조직에서 증가하였다. 이러한 지질 과산화 정도는 약침군의 경우에는 감소하였으나 유의하지는 않았고, 병용투여군에서 유의한 감소 현상을 보였는데, 이는 역시 병용 투여가 CCl_4 주입에 의한 肝 기능 장애를 가장 효과적으로 방지함을 확인할 수 있었다.

본 실험의 결과에서 혈청 중 Total cholesterol의 함량은 약침이나 병용투여에 의해서 특별한 영향을 받지 않았고, HDL-cholesterol에 있어서는 병용투여군에서 유의한 증가현상을 보여 이 경우 역시 藥鍼과 經口의 병용 투여가 간기능 손상에 의한 합성능 저하를 방지하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 대조군에서의 Triglyceride 함량은 정상군에 비해 약 3배 가량 증가함으로써 CCl_4 주입에 의해 간기능의 장애가 유발되었음을 보였는데, 병용투여군에서 유의성 있는 감소 현상을 나타냄으로써 이 경우도 역시 CCl_4 주입으로 유발된 간 기능 손상에 의한 처리능 저하를 효과적으로 개선하는 결과를 보였다.

간 조직 관찰 결과 CCl_4를 투여한 대조군 흰쥐의 간에서는 중심정맥이 매우 손상되어 불규칙하게 관찰되었으며, 중심정맥의 내피세포는 염증성 반응으로 eosin

에 강한 염색성을 보였다. 중심정맥 주변에서는 염증세포들이 아주 많이 관찰되었으며, 간세포들은 대부분 미약하게 손상되어 있었으며, 핵의 핵질이 매우 응축되어 있는 세포들이 소수 관찰되었다. 약침군 흰쥐의 간에서 관찰되는 중심정맥은 형태가 불완전하며 일부 손상된 소견을 보여주었다. 중심정맥 주변에서는 많은 염증세포들이 관찰되었으며, 간세포의 세포질은 eosin에 비교적 약한 염색성을 보여주었다. 복합군에서는 중심정맥이 가장 명확히 관찰되었으며 주변에서 염증세포들이 관찰되었다. 간세포의 세포질은 다소 손상된 소견을 보여주었으며 일부의 간세포들은 핵이 매우 응축되어 있었다.

이상의 실험결과에서 SPG의 藥鍼과 경구투여는 간손상을 개선시킴을 확인함으로써 四逆散에 平胃散과 茵蔯, 澤瀉를 合方한 加味方은 CCl_4로 유발된 간 손상을 현저하게 개선시키는 효과가 있음을 확인할 수 있었으며 이러한 간 보호 효과는 CCl_4로부터 약물대사효소활성에 영향을 줌으로써 trichloromethyl radical을 경감시키고 이 radical에 의해 유도될 수 있는 독성을 억제시킬 것으로 생각된다. 추후에 이러한 임상응용 처방 및 약침에 대한 한의학적 원리를 실험적으로 규명함으로써 한약 및 침 처방에 대한 이론적 근거를 뒷받침하는 노력을 기울여야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 이문호. 내과학(상). 서울 : 학림사. 1986 : 968, 974-5, 996-9.
2. 고려의학출판부. 간·담도질환. 서울 : 고려의학. 1989 : 317-9.
3. 김완희 외. 장부변증론치. 서울 : 성보사. 1985 : 139-45.
4. 김정제 외. 동의간계내과학. 서울 : 집문당. 1986 : 11, 14, 15, 27-8, 42-3, 51-92, 97, 109, 114.
5. 문준전. 동의병리학. 서울 : 고문사. 1990 : 95, 333.
6. 김병운 외. 간계내과학. 서울 : 동양의학연구원. 1989 : 25-6.
7. 上海中醫藥大學. 方劑學. 上海 : 上海中醫藥大學出版社. 2002 : 119-21, 260-2.
8. 강병수 외. 본초학. 서울 : 영림사. 2000 : 305-6, 328-330.
9. 전국한의과대학 침구경혈학교실 편. 침구학. 서울 : 집문당. 1988 : 485, 1457-67.
10. 신화석. 四逆散의 항우울효과 및 뇌내 monoamine에 미치는 영향. 동국대학교 대학원. 2004.
11. 이재준. Indomethacin으로 손상된 생쥐의 위점막에 대한 平胃散, 香砂平胃散, 大和中飮의 효과. 상지대학교 대학원. 2005.
12. 고진식. 平胃散의 濕熱型 아토피 치료 연구. 원광대학교 대학원. 2005.
13. 권오헌. 임상병리파일. 서울 : 의학문화사. 2003 : 155-60, 169-72, 196-9.
14. 전국한의과대학 간계내과학교수. 간계내과학. 서울 : 동양의학연구원. 1989 : 26,75-6, 235-47.
15. Ip SP, Ko KM. The Crucial Antioxidant Action of Schisandrin B in Protecting Against Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity in Mice. A Comparative Study with Butylated Hydroxytoluene. Biochemical Pharmacology. 1996 ; 52 : 1687-93.
16. Hase K, Ohsugi M, Xiong QB. Hepatoprotective Effect of Hovenia Dulcis THUNB. on Experimental Liver Injuries Induced by Carbon Tetrachloride or D-Galactosamine/Lipopolysaccharide. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 1997 ; 20(4) : 381-5.
17. Sanzgiri UY, Srivatsan V, Muralidhara S. Uptake, Distribution, and Elimination of Carbon Tetrachloride in rat Tissues Following Inhalation and Ingestion Exposures. Toxicology & Applied Pharmacology. 1997 ; 143 : 120-9.
18. Dezwart LL, Hermanns RCA, Meerman JHN. Evaluation of Urinary Biomarkers for Radical-Induced Liver Damage in rats Treated with Carbon Tetrachloride. Toxicology & Applied Pharmacology. 1998 ; 148 : 71-82.
19. Louis H, Van Laethem JL, Wu W. Interleukin-10 controls neutrophilic infiltration, hepatocyte proliferation, and liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice. Hepatology. 1998 ; 28(6) : 1607-15.
20. Yasuda S, Watanabe S, Kobayashi T. Effects of dietary unsaturated fatty acid and chronic carbon tetrachloride treatment on the accumulation of oxidation products, alpha-tocopherol

and liver injury in mice. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 1998 ; 21(10) : 1050-6.
21. Saunders RD, Dugan LL, Demediuk P, Means ED, Harrocks LA, Anderson DK. Effects of methyl prednisolone and the combination of alpha-tocopherol and selenium on arachidonic acid metabolism and lipid peroxidation in traumatized spinal cord tissue. J Neurochem. 1987 ; 49 : 24-31.
22. Rosen D, Siddique T, Patterson D, Figelwiez D, Sapp P, Hentati A, Donaldson D, Goto J, O Regan J, Deng H, Rahmani Z, Krrizus A et al. Mutation in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. Nature(London) 1993 ; 362 : 59-62.
23. Recknagle RO, Glende EA. Carbon tetrachloride hepatotoxicity : An example of lethal cleavage. CRC Crit Rev Toxicol. 1973 ; 27 : 263-96.
24. Thor H, Smith MT, Hartzell P, Bellomo G, Jewell SA and Orrenius S. The metabolism of menadione (2-methyl-1,4-naphthoquinone) by isolated hepatocytes. J Biol Chem 1982 ; 25 : 12419-25.
25. Beloqui O, Cederbaum AI. Microsomal interactions between iron, paraquat, and menadione effect on hydroxyl radical production and alcohol oxidation. Arch Biochem Biophys. 1985 ; 242 : 187-96.
26. Andersen HR, Andersen O. Effects of dietary α-tochopherol and β-carotene on lipid peroxidation induced by methyl mercuric chloride in mice. Pharamcol. Toxicol. 1993 ; 73 : 192-201.
27. Castillo T, Koop DK, Kamimura S, Triasafilopoulos G and Tsukamoto H. Role of cytochrome P-450 3E1 in ethanol-, carbon tetrachloride- and iron-dependent microsomal lipid peroxidation. Hepatology. 1992 ; 16 : 992-6.
28. Jaeschke H, Smith CV and Mitchell JR. Reactive oxygen species during ischemia-reflow injury in isolated perfused rat liver. J Clin Invest. 1988 ; 81 : 1240-6.
29. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease : an overview. Methods Enzymol. 1990 ; 186 : 1-85.
30. Sipes IG, El Sisi AE, Sim WW, Mobley SA and Earnest DL. Reactive oxygen species in the progression of CCl_4-induced liver injury. Adv Exp Med Biol 1991 ; 283 : 489-97.
31. 이상인 외. 방제학. 서울 : 영림사. 1999 : 96.
32. 傳瑞卿 외. 中醫方劑學. 中國 : 湖南科學技術出版社. 1986 : 57.
33. 김재규. Ethanol중독에 대한 針灸 및 人蔘水鍼이 解毒 효과에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1985.
34. 김갑려 외. 鹿茸水鍼이 백서의 부신피질 기능 부전에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1987 ; 4 : 49-62.
35. 김양식. 防風水鍼이 흰쥐의 기관지 상피세포에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1984; 7 : 335-44.
36. 박종현 외. 鹿茸水鍼이 CCl_4 중독 흰쥐 손상간에 미치는 영향, 경희대학교 대학원. 1987.
37. 김갑성. 龍膽草水鍼에 의한 간기능 개선이 슬관절 염증성 부종에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1987 ; 10 : 127-49.
38. 서범석. 丹蔘水鍼이 CCl_4 중독 백서 손상간에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 1989.
39. 문국진 외. 茵蔯蒿水鍼이 CCl_4 중독 흰쥐 손상간에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1991 ; 8(1) : 227-39.
40. 손관영 외. 茵蔯水鍼이 D.M.N.A.로 유발된 급성간손상 백서에 미치는 효과. 대한침구학회지. 1990 ; 7(1) : 1-18.
41. 이재동. 茵蔯水鍼이 Dimetylnitrosoamine으로 유발된 흰쥐의 손상간에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 1990.
42. 윤성수 외. 茵蔯水鍼이 사염화탄소에 손상된 흰쥐 간세포에 미치는 효과, 대한침구학회지. 1991 ; 8(1) : 307-22.
43. 안영기. 경혈학총서. 서울 : 성보사. 2005 : 353.