

원 저

Alcohol, Indomethacin 및 Burn-stress로 유발된 생쥐의 위점막 손상에 대한 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散의 효과

공경환

세명대학교 한의과대학 비계내과학교실

Effects of *Daegeum-eumja*, *Igwi-tang* and *Sihosogan-san* on Gastric Mucosal Lesions Induced by Alcohol, Indomethacin and Burn-stress in Mice.

Kyung-hwan Kong

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

Objectives : This study was conducted to investigate the effects of *Daegeum-eumja*, *Igwi-tang*, and *Sihosogan-san* on gastric mucosal lesions induced by alcohol, indomethacin, and burn-stress in mice.

Methods : Experimental mice were divided into six groups. The normal group (NOR) did not receive any treatment to elicit gastropathy. In the control group (GE), gastropathy was elicited by alcohol, indomethacin, and stress. In the misoprostol group (MS), misoprostol was administered after gastropathy was elicited by alcohol, indomethacin, and stress. In the *Daegeum-eumja* group (DG), *Daegeum-eumja* was administered after gastropathy was elicited by alcohol, indomethacin, and stress. In the *Igwi-tang* group (IW), *Igwi-tang* was administered after gastropathy was elicited by alcohol, indomethacin, and stress. In the *Sihosogan-san* group (SH), *Sihosogan-san* was administered after gastropathy was elicited by alcohol, indomethacin, and stress. The effects on gastric mucosal lesions were evaluated by the morphological change of gastric mucosa, the anti-oxidant effect, HSP 70, NF- κ B p65, I κ B, COX-1, PNA, BrdU, and iNOS.

Results : Hemorrhage erosion, HSP70, and NF- κ B in the DG, IW and SH groups decreased more than that of the control. The I κ B, COX-1, PNA, BrdU, and iNOS in the DG, IW, and SH groups increased more than that of the control. DG showed the most effect against gastric mucosal lesions induced by alcohol; IW against gastric mucosal lesions induced by indomethacin; and SH against gastric mucosal lesions induced by burn-stress.

Conclusions : *Daegeum-eumja*, *Igwi-tang*, and *Sihosogan-san* extracts have excellent effects on gastric mucosal lesions induced by alcohol, indomethacin, and burn-stress, respectively.

Key Words : *Sihosogan-san*, *Daegeum-eumja*, *Igwi-tang*, gastric mucosal lesions

서 론

급성 위점막 손상의 주요 원인은 약물과 alcohol, stress 등이며, 약물에는 비스테로이드성 소염제, 항생제, 스테로이드 등이 있고 stress에는 정신적인 stress 뿐만 아니라 두개내압의 증가와 화상(burn) 등의 신체적인 stress도 원인이 된다¹⁾.

· 접수 : 2007년 5월 13일 · 논문심사 : 2007년 5월 14일
· 채택 : 2007년 5월 28일
· 교신저자 : 공경환, 충북 충주시 봉방동 836번지 세명대학교 부속 충주한방병원 비계내과
(Tel : 043-841-1732, Fax : 043-856-1731,
E-mail : kong124@semyung.ac.kr)

한의학에서 위점막 손상은 飲食不節, 外邪犯胃, 情志失調, 脾胃虛弱 등이 원인으로²⁾, alcohol로 유발된 위점막 손상은 飲食不節 중 過飲으로 인한 酒傷의 범주에 속하며³⁾, stress로 인한 경우는 情志失調가 원인이며 七情傷의 범주에 속하고⁴⁾, 약물로 인한 경우는 약물에 의해 中氣가 손상되고 脾胃虛弱을 유발시켜 위점막 손상이 발생하는 것으로 볼 수 있다^{5,6)}.

위점막 손상의 치료효과에 대한 한의학적 실험 보고로는, 위점막 손상에 대한 한약 처방의 치료 효과에 관한 연구보고가 많이 있으며⁷⁻¹⁰⁾, 위점막 손상의 유발 원인에 따른 한약 처방의 치료효과에 관한 연구보고도 있다¹¹⁻¹⁴⁾. 그러나 위점막 손상의 유발 원인별 처방에 관한 연구로는 단일 원인에 대한 단일 처방의 효과 또는 두가지 원인에 대한 단일 처방의 효과에 대한 보고가 대부분이고 급성 위점막 손상의 대표적인 원인인 비스테로이드성 소염제, alcohol, stress에 대한 각각의 유발 원인에 따른 처방의 효과에 관한 비교 연구는 없었다.

이에 저자는 위점막 손상의 원인별 처방의 효과를 연구하기 위하여, alcohol, indomethacin, burn-stress로 생쥐에 위점막 손상을 유발시킨 후 酒傷에 활용하는 對金飮子, 七情傷에 활용하는 柴胡疎肝散, 그리고 養陰益胃하여 위점막 방어벽의 손상을 회복시킬 수 있을 것으로 사료되는 益胃湯을 투여하여, 항산화 효과, 위점막의 형태, 스트레스에 대한 변화(HSP70), 산화 스트레스에 의한 전사인자 NF-κB 활성화(NF-κB, IκB), 점막내 보호장벽의 변화(COX-1, 중성점액분비세포, PNA),

세포증식(BrdU), 전염증성 효소(iNOS) 등에 대한 변화를 비교 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 동물

대한실험동물센터에서 분양받은 태령 4주된 ICR계 수컷 생쥐를 무균사육장치내에서 2주일 동안 적응시킨 후, 체중 30g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 실험동물은 정상군(이하 NOR군)과 위점막 손상 유발방법에 따라 alcohol 유발군, indomethacin 유발군, burn-stress 유발군으로 구분하였다. 그리고 각 유발군은 다시 위점막 손상군(이하 GE군), 위점막 손상 유발 후 misoprostol 투여군(이하 MS군), 위점막 손상 유발 후 對金飮子 투여군(이하 DG군), 위점막 손상 유발 후 益胃湯 투여군(이하 IW군), 위점막 손상 유발 후 柴胡疎肝散 투여군(이하 SH군)으로 나누었으며 각 군 당 10마리를 배정하였다.

2) 약재

본 실험에 사용한 한약재는 方藥合編¹⁵⁾에 수록된 對金飮子和 景岳全書¹⁶⁾에 수록된 柴胡疎肝散, 그리고 溫病條辨¹⁷⁾에 수록된 益胃湯의 처방에 따른 구성약물로서 모든 약물은 시중에서 엄선된 약재만을 구입하여 실험에 사용하였으며 1첩 분량은 다음과 같다(Table 1, 2, 3).

Table 1. The Amount and Composition of *Daegeum-eumja*

Herbs	Pharmacological Name	Dose (g)
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	11.25
厚朴	<i>Magnoliae Cortex</i>	2.625
蒼朮	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	2.625
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2.625
Total Amount		19.125

Table 2. The Amount and Composition of *Igwi-tang*

Herbs	Pharmacological Name	Dose (g)
麥門冬	<i>Liriopsis Tuber</i>	18.75
生地黃	<i>Rehmanniae Radix</i>	18.75
沙蔘	<i>Adenophorae Radix</i>	11.25
玉竹	<i>Polygonati odorati Rhizoma</i>	5.625
冰糖	<i>Sacchrum Glacialis</i>	3.75
Total Amount		58.125

2. 방법

1) 위점막 손상 유발

Alcohol 유발군은 위점막 손상을 유발하기 위해 50% ethyl alcohol (Sigma, USA) 10 ml/kg를 MS군, DG군, IW군, SH군에 경구 투여하였다. Indomethacin 유발군은 위점막 손상을 유발하기 위해 indomethacin(Sigma, USA)을 0.9% NaCl이 포함된 용액에 희석시킨 후 75 mg/kg를 MS군, DG군, IW군, SH군에 경구투여하였다. 화상 유발군은 위점막 손상을 유발하기 위해서 면도된 생쥐 등에 80℃ 글루용액(Hot Melt Glue, Taiwan) 1 ml을 도포한 후 30초 동안 노출시킴으로써 화상을 유도하였다.

2) Misoprostol의 투여

위점막 손상 후 MS군에 misoprostol(Cytotec, Searle Korea)을 생리식염수에 희석시킨 다음 40

μg/kg량씩 유발 직후에 경구투여 하였다.

3) 약재의 제조와 투여

對金飮子, 益胃湯 그리고 柴胡疎肝散 각 2첩을 증류수 500 ml에 넣고 2시간 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 50 ml로 감압농축하여 위점막 손상 유발 직후에 DG군, IW군 그리고 SH군에 2.5 ml/kg 량으로 경구 투여하였다.

4) 세포주와 세포배양

실험에 사용한 마우스의 RAW 264.7 cell 은 KCLB(Korean Cell Line Bank)에서 구입하였다. 세포는 37℃, 5% CO₂ incubator에서 10% FBS(Fetal Bovine Serum, Sigma, USA)가 함유된 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, USA)을 사용하여 배양하였다. 오염방지를 위해 항생제 1,000 unit/ml penicillin, 1,000 μg/ml streptomycin (Gibco/BRL,

Table 3. The Amount and Composition of *Sihosogan-san*

Herbs	Pharmacological Name	Dose (g)
柴胡	<i>Bupleuri Radix</i>	7.5
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	7.5
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	5.625
白芍藥	<i>Paeoniae Radix Alba</i>	5.625
枳殼	<i>Aurantii Fructus</i>	5.625
香附子	<i>Cyperii Rhizoma</i>	5.625
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	1.875
Total Amount		39.375

USA)을 첨가하였다. 세포는 플라스크의 80% 정도 자랐을 때 PBS(Phosphate Buffer Saline)로 씻어주고, Trypsin EDTA (Gibco/BRL)를 처리하여 계대 배양하였다. 배지는 2일마다 교환하여 주었다.

5) 항산화 효능 측정

항산화 능력을 측정하기 위해 Riboflavin을 이용한 활성산소 소거실험을 실시하였다. 우선 photocell에 40mM buffer 2.6 ml, nitroblue tetrazolium 100 μ l, EDTA/cyanide 200 μ l, riboflavin 100 μ l, 그리고 항산화 효능을 측정할 sample 100 μ l를 넣고 3번 섞어주었다. ABS 560 nm에서 autozero를 잡고 light box에서 1분 동안 조사한 후 흡광도를 측정하였다. 이 작업을 7번 반복하여 평균값을 계산하였다.

6) 위점막내 출혈성 미란 유발에 대한 관찰

위점막 손상 유발 후 일어난 출혈성 미란의 정도를 측정하기 위해 Optimas program 5.2(USA)를 이용한 영상분석을 실시하였다. 적출된 위의 유문부와 체부를 씻힌 후 x4 배율로 촬영한 후 Binary Morphology에서 invert 기능을 선택하여, 출혈성 미란지역을 intensity 180-200으로 전환시킨다. 영상분석을 통해 pixel의 분포 수를 측정한 후 Sigma Plot 2000(USA)를 통해 t - test로 유의성을 검증하였다.

7) 조직표본 제작

위점막 손상 유발 후 6시간 경과되었을 때 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 위 유문부와 체부의 연결부위를 적출하여 실온에서 24시간 동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 μ m 두께의 연속절편으로 제작되었다. 위점막의 일반적인 형태변화를 관찰하기 위해 연속절편을 hematoxylin과 eosin에 염색한 후 광학현미경(BX50. Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 한편 Semi-thin 절편 제작은

절취된 위장 절편을 1/2 Karnovsky 용액에 선고정한 후 1% OsO₄ 용액에 후고정하였다. Uranyl acetate에 90분 동안 염색한 후 통상적인 방법으로 epon에 포매하였다.

Ultramicrotome(LKB, Nova)으로 990nm 두께로 절편을 만들어 toudine blue로 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

8) Alcohol로 유발된 위점막 손상에 대한 관찰

(1) 위 기저내 장내내분비세포(enterocrine cell)의 변화

장내내분비세포내 과립분포 변화를 관찰하기 위해 Phloxine-tartrazine 염색법을 실시하였다. Mayer's hematoxylin에 5분간 핵 염색하고 phloxine 용액에 30분간 반응시킨 후, tartrazine 용액에서 분별 후 광학현미경으로 관찰하였다.

(2) 위산에 의한 점막 손상 변화

위기저내 산성 과다분비로 인한 점막 손상 스트레스를 조사하기 위해 스트레스에 대한 완충적 물질인 열 충격 단백질의 하나인 HSP70 분포변화를 관찰하였다. 우선 절편을 proteinase K(20 μ g/ml)에 5분 동안 단백질 분해 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum에서 1시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 rabbit anti mouse HSP70 (1:200, Santa Cruz Biotec)에 4°C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(1:100, DAKO, USA)에 실온에서 24시간 동안 반응시킨 후, ABC kit(avidin biotin complex; Vector Lab, USA.)에 1시간 동안 실온에서 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 대조염색하였다.

(3) 전사인자 NF- κ B 관련 변화

염증유발유전자들을 조절하는 전사인자 nuclear factor- κ B(NF- κ B)와 NF- κ B 활성 억제에 관련하는 I κ B의 분포 변화를 조사하기 위해 rabbit

anti-NF- κ B p65(1:250, Santa Cruz Biotec)와 rabbit anti-I κ B(1:250, Santa Cruz Biotec)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

9) Indomethacine으로 유발된 위점막 손상에 대한 관찰

(1) COX-1 합성 억제에 의한 위점막내 변화

① COX-1 분포변화

점막고유층내에서 점막상피세포의 보호기전에 관여하는 cyclo oxygenase-1(COX-1)의 분포변화를 관찰하기위한 rabbit anti-mouse COX-1(1:250, Chyman, USA)을 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

② 중성점액장벽의 변화

위산에 의한 자가분해(autolysis)의 방벽작용을 하는 중성점액질(neutral mucin)을 분비하는 표면 점액세포의 변화를 조사하기 위해서 periodic acid-schiff reaction(PAS) stain를 실시하였는데 우선 periodic acid에서 5분간 반응시킨 후 Schiff reagent에서 15분 동안 처리하였다. 그런 다음 sulfurous rinse에서 각 2분씩 3회 세척한 후 Hematoxylin에서 1분 동안 대조염색하였다.

③ 점액분비세포내 변화

점액분비세포내 골지체에 대한 양성반응을 보이는 Peanut Agglutinin(PNA; Sigma, USA)의 표면점액세포내 분포 변화를 조사하기 위해 lectin을 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 조직을 실온에서 1% bovine serum albumin(BSA; Sigma, USA)에 1시간 동안 blocking한 다음 1:100으로 희석한 biotinylated anti PNA(Sigma, USA)에 4°C incubation chamber내에서 24시간 동안 반응시켰다. 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하게 하였다.

(2) 점액분비세포분열 변화 관찰

점막내 손상세포의 교체를 통한 점막회복에 관여하는 점막내 세포증식 변화를 조사하기위해 5'-bromo-2-deoxyuridine(BrdU, Sigma)을 이용

한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 실험 동물에서 위를 적출하기 5시간, 3시간, 1시간 전에 생리식염수에 녹인 BrdU 50 mg/kg을 복강주사 하였다. 얻어진 연속절편은 4 °C와 37 °C의 2N HCl 용액에서 각각 20분씩 반응시켜 DNA-denaturation을 일으켰다. 0.1M borate 완충용액 처리로 안정시킨 후 비특이적 면역반응을 억제하기 위해 0.01%의 proteinase K(DAKO)가 포함된 normal goat serum에 1시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 1차 항체인 mouse anti-mouse BrdU(1:50, Amersham, UK)에 4°C incubation chamber내에서 72시간 반응시켰고 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하게 하였다.

10) Burn-stress로 유발된 위점막 손상에 대한 관찰

(1) 벽세포(parietal cell)내 변화

벽세포내 공포화(vacuolation) 변화를 관찰하기 위해 Phloxine -tartrazine 염색법을 실시하였다. Mayer's hematoxylin에 5분간 핵 염색한 후 phloxine 용액에 30분간 반응시키고, tartrazine 용액에서 분별 후 광학현미경으로 관찰하였다.

(2) 전염증효소 iNOS 변화

Inducible Nitric oxide synthase(iNOS) 분비 조절 능력을 조사하기 위해 우선 Lipopolysaccharide (LPS, Sigma)를 이용하여 RAW 264.7 cell내 iNOS mRNA 발현을 유도하였다. RAW 264.7 cell - 5 × 10⁵ cells/well을 6 well에 plating 하고 12시간 후에 LPS(Final 1 μg/ml)를 2시간 처리하여 對金飮子, 益胃湯 그리고 柴胡疎肝散(Final 5 mg/ml)을 첨가한 후 24시간 동안 배양하였다. 배양된 세포를 수거한 후 trizol reagent(Sigma)를 사용하여 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA는 UV-spectrophotometer로 순도와 농도를 측정하였다. RT-PCR kit(Premega, USA)를 이용하여 cDNA를 합성한 후, iNOS primer를 PCR machine으로 온도 조건에 따라 반응시켰다. PCR 산물은 1-2% agarose gel 상에서 전기

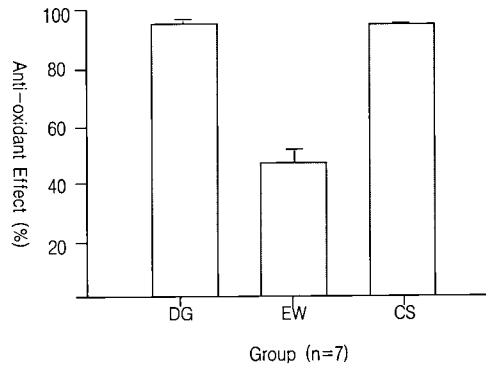


Fig. 1. The anti-oxidant effect of DG, IW, and SH. DG, *Daegeum-eumja*, IW, *Igwi-tang*, SH, *Sihosogan-san*.

영동하였고, 그 결과를 Image analysis를 통한 relative intensity 측정하였다. 한편 RT-PCR의 정확성을 평가하기 위하여 internal standard인 beta-actin의 증폭을 동시에 실시하였다.

조직내 iNOS의 분포를 조사하기 위해 rabbit anti-mouse iNOS(1:250, Santa Cruz Biotech)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

11) 영상분석과 통계처리

출혈성 미란, mRNA 발현의 relative intensity, 면역조직화학 등의 결과를 수치화를 위해 Optimas 5.2(Optima Co., USA)를 이용한 영상분석(image analysis)을 실시하였다. 영상분석 결과는 Sigma

Plot 2000(Sigma)을 통한 t - test로 검증하여 p-값이 0.05미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 항산화 효능

對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散의 superoxide dismutase(SOD) activity는 각각 95.7±0.58%, 47.0±4.38% 그리고 95.3±0.58%로 측정되어 3가지 처방 모두 항산화 효능이 있었으나 益胃湯에 비해 對金飮子, 柴胡疎肝散의 항산화 효능이 우수하였다(Fig. 1).

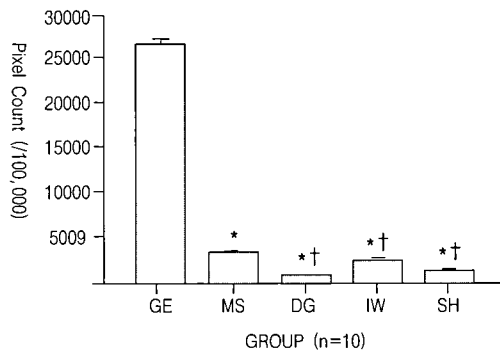


Fig. 2. The inhibition of hemorrhagic erosion in herb treated mice after alcohol treated gastropathy elicitation. * : p < 0.05 compared with GE, † : p < 0.05 compared with MS.

2. Alcohol로 유발된 위점막 손상에 대한 치료 효과

1) 외부형태 변화

GE군에서는 유문부와 체부 연접 부위에서 심각한 출혈성 미란이 관찰되었는데, 전체 면적에 27.6%에 해당하는 27568±551/100,000 pixel로 측정되었다. 이에 비해 MS군은 3970±131/100,000 pixel로 IW군은 3176±141/100,000 pixel로, SH군은 1978±69/100,000 pixel로 그리고 DG군은 1554±89/100,000 pixel로 측정되었다(Fig. 2). GE군에 비해 MS군, IW군, SH군, DG군에서 모두 유의하게 출혈성 미란이 감소하였으며(p<0.05), MS군에 비해서도 IW군, SH군, DG군에서 유의하게 출혈성 미란이 감소하였고(p<0.05), IW군보다는 SH군이, SH군보다는 DG군에서 출혈성 미란이 감소한 것으로 나타났다.

2) 일반적인 형태 변화

GE군의 위점막에서는 심각한 출혈성 미란이 관찰되었다. 많은 수의 벽세포(Parietal cell)와 주세포(chief cell)의 유실도 관찰되었다. 점막손상부

위에서 연접복합체 소실과 세포소기관의 손상이 확인된 점액분비세포가 관찰되었다. 또한 다수의 장내내분비세포에서 탈과립 현상이 관찰되었다. 위점막 손상 유발 후 Misoprostol을 투여한 MS군은 GE군과 유사한 손상상태로 관찰되었다. 실험군인 IW군, SH군 그리고 DG군에서는 GE군에 비해 심각한 출혈성 미란은 관찰되지 않았다. 또한 탈과립형의 장내내분비세포도 적었다. 이러한 출혈성 미란의 감소와 탈과립형의 장내내분비세포의 감소 경향은 IW군보다는 SH군, SH군보다는 DG군에서 잘 관찰되었다(Fig. 3).

3) 위산 stress에 의한 점막 손상 변화

stress에 대한 완충적 물질인 HSP70 분포는 NOR군에서 점막고유층에 분포하였으며 핵과 주변세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었다. 위점막 손상 유발 후 HSP70 양성반응 세포의 분포가 증가하였다 이러한 분포 증가는 GE군에서 355.0% 증가한 5176±241/100,000 pixel로 관찰되었다. MS군은 4826±201/100,000 pixel로, IW군은 2090±158/100,000 pixel로, SH군은

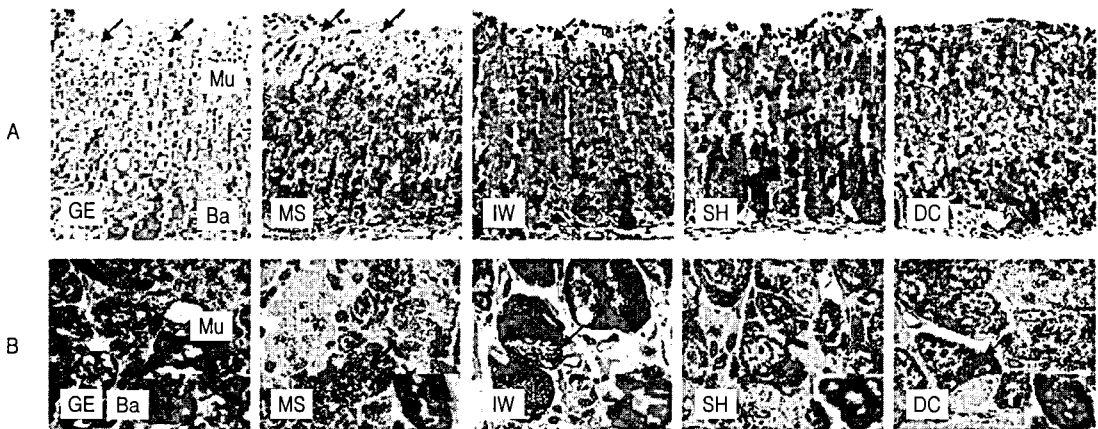


Fig. 3. The morphology of gastric mucosa after alcohol induced gastropathy elicitation.
 A: The aggregation of leucocytes in hemorrhagic erosions (arrow), H & E. ×200,
 B: The particles which are vacant of enterocristal cells (arrow)(lower square), Tuidine blue ×1000.
 Mu: musosa, Ba: basement membrane.

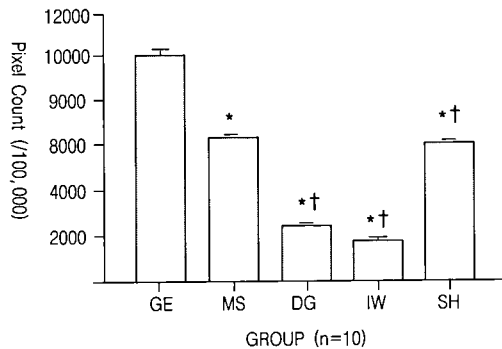


Fig. 4. The inhibition of hemorrhagic erosion in herb treated mice after indomethacin induced gastropathy elicitation.

* : $p < 0.05$ compared with GE, † : $p < 0.05$ compared with MS.

2012±167/100,000 pixel로, DG군은 1833±87/100,000 pixel로 관찰되어 MS군, IW군, SH군, DG군 모두에서 GE군에 비해 HSP70 양성반응이 유의하게 감소된 양상으로 관찰되었으며($p < 0.05$), MS군에 비해서도 IW군, SH군, DG군에서 유의하게 감소하였고($p < 0.05$), IW군보다는 SH군이, SH군보다는 DG군에서 분포가 감소한 것으로 나타났다(Table 4).

4) 전사인자 NF-κB 관련 변화

점막고유층에서 관찰되는 NF-κB p65 양성반응 세포는 세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었는데, 위점막 손상 유발 후 NF-κB p65 양성반응세포의 분포가 증가하였다. 이러한 분포 증가는 GE군에서 949.5% 증가한 6906±214/100,000 pixel로 관찰되었다. MS군은 3676±151/100,000

pixel로, IW은 3459±162/100,000 pixel로, SH군은 1579±57/100,000 pixel로, DG군은 896±62/100,000 pixel로 관찰되어 MS군, IW군, SH군, DG군 모두에서 GE군에 비해 NF-κB p65 양성반응이 유의하게 감소된 양상으로 관찰되었으며($p < 0.05$), MS군에 비해서도 IW군, SH군, DG군에서 유의하게 감소하였고($p < 0.05$), IW보다는 SH군이, SH군보다는 DG군에서 분포가 감소한 것으로 나타났다 (Table 4).

한편 점막고유층에서 관찰되는 IκB 양성반응 세포는 세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었는데, 위점막 손상 유발 후 IκB 양성반응 세포의 분포가 감소하였다. 이러한 분포 감소는 GE군에서 96.8% 감소한 278±47/100,000 pixel로 관찰되었다. MS군은 998±39/100,000 pixel로, IW

Table 4. The Image Analysis after Alcohol Induced Gastropathy Elicitation

Antibody	Group(n=10)					
	NOR	GE	MS	DG	IW	SH
Hsp70	1458±145	5176±241	4826±201*	1833±87*†	2090±158*†	2012±167*†
NF-κB p65	658±24	6906±214	3676±151*	896±62*†	3459±162*†	1579±57*†
IκB	8691±2314	278±47	998±39*	6475±114*†	2789±168*†	4463±356*†

(image analysis for 100,000 particles / range of intensity : 80-130)

*: $p < 0.05$ compared with GE, † : $p < 0.05$ compared with MS.

군은 2789±168/100,000 pixel로, SH군은 4463±356/100,000 pixel로, DG군은 6475±114/100,000 pixel로 관찰되어 MS군, IW군, SH군, DG군 모두에서 GE군에 비해 IkB 양성반응이 유의하게 증가된 양상으로 관찰되었으며(p<0.05), MS군에 비해서도 IW군, SH군, DG군에서 유의하게 증가하였고(p<0.05), IW군보다는 SH군이, SH군보다는 DG군에서 분포가 증가한 것으로 나타났다(Table 4).

3. Indomethacin으로 유발된 위점막 손상에 대한 치료 효과

1) 외부형태 변화

GE군에서는 위체부에서 심각한 출혈성 미란이 관찰되었는데, 전체 면적에 10.7%에 해당하는 10665±478/100,000 pixel로 측정되었다. 이에 비해 MS군은 7199±341/100,000 pixel로, SH군은 6194±218/100,000 pixel로, DG군은 3449±164/100,000 pixel로 그리고 IW군은 2809±114/100,000 pixel로 측정되었다(Fig. 4). GE군에 비해 MS군, SH군, DG군, IW군에서 모두 유의하게 출혈성 미란이 감소하였고(p<0.05), MS군에 비해서도 SH군, DG군, IW군에서 유의하게 출혈성 미란이 감소하였으며(p<0.05), SH군보다는 DG군이, DG군보다는 IW군에서 출혈성 미란이 감소한 것으로 나타났다.

2) 일반적인 형태 변화

GE군의 위점막에서는 심각한 출혈성 미란(hemorrhagic erosion)이 관찰되었다. 많은 수의 벽세포(parietal cell)와 주세포(chief cell)의 유실도 관찰되었다. 점막손상부위에서 연접복합체 소실과 세포소기관의 손상이 확인된 점액분비세포가 관찰되었다. 위점막 손상 유발 후 Misoprostol을 투여한 MS군은 GE군과 유사한 손상상태로 관찰되었다. SH군, DG군 그리고 IW군에서는 GE군에 비해 심각한 출혈성 미란은 관찰되지 않았다. 또한 표면점액세포의 손상도 적었다. 이러한 출혈

성 미란의 감소와 표면점액세포의 손상 감소 경향은 SH군보다는 DG군, DG군보다는 IW군에서 더 잘 관찰되었다(Fig. 5).

3) COX-1 합성 억제에 의한 위점막내 변화 관찰

(1) COX-1 분포변화

NOR군에서는 점막 고유층과 표면상피에서 COX-1 양성반응세포는 핵주변 세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었는데, 위점막 손상 유발 후 COX-1 양성반응세포의 분포가 감소하였다. GE군에서 NOR군에 비해 95.5% 감소한 335±47/100,000 pixel로 관찰되었다. MS군은 1579±94/100,000 pixel로, SH군은 2607±156/100,000 pixel로, DG군은 3162±129/100,000 pixel로, IW군은 3630±158/100,000 pixel로 관찰되었다. MS군, SH군, DG군, IW군 모두에서 GE군에 비해 COX-1 양성반응이 유의하게 증가된 양상으로 관찰되었으며(p<0.05), MS군에 비해서도 SH군, DG군, IW군에서 유의하게 증가하였으며(p<0.05), SH군보다는 DG군이, DG군보다는 IW군에서 분포가 증가한 것으로 나타났다(Table 5).

(2) 중성점액장벽의 변화

GE군의 출혈성 침식 주변의 점막 상피에서는 PAS 양성반응을 보이는 표면점액세포와 목점액세포가 관찰되지 않았다. MS군에서는 일부에서 관찰되었다. SH군, DG군, IW군에서는 중성점액을 분비하는 PAS 양성반응 표면점액세포의 분포가 점막상층표면(apical surface)에서 위오목(gastric pit)까지 확장된 것으로 관찰되었다. 이러한 분포 양상은 SH군보다는 DG군이, DG군보다는 IW군에서 더 잘 볼 수 있었으며, 특히 IW군에서는 NOR군과 유사하였다(Fig. 5).

(3) 점액분비세포내 변화

NOR군의 표면점액세포내 골지복합체와 세포첨단부(apical surface)에서 강한 양성(+++) PNA 반응을 보였다. 이에반해 GE군에서 -(음성)으로, MS군과 SH군에서는 +(약한 양성)으로, DG군에

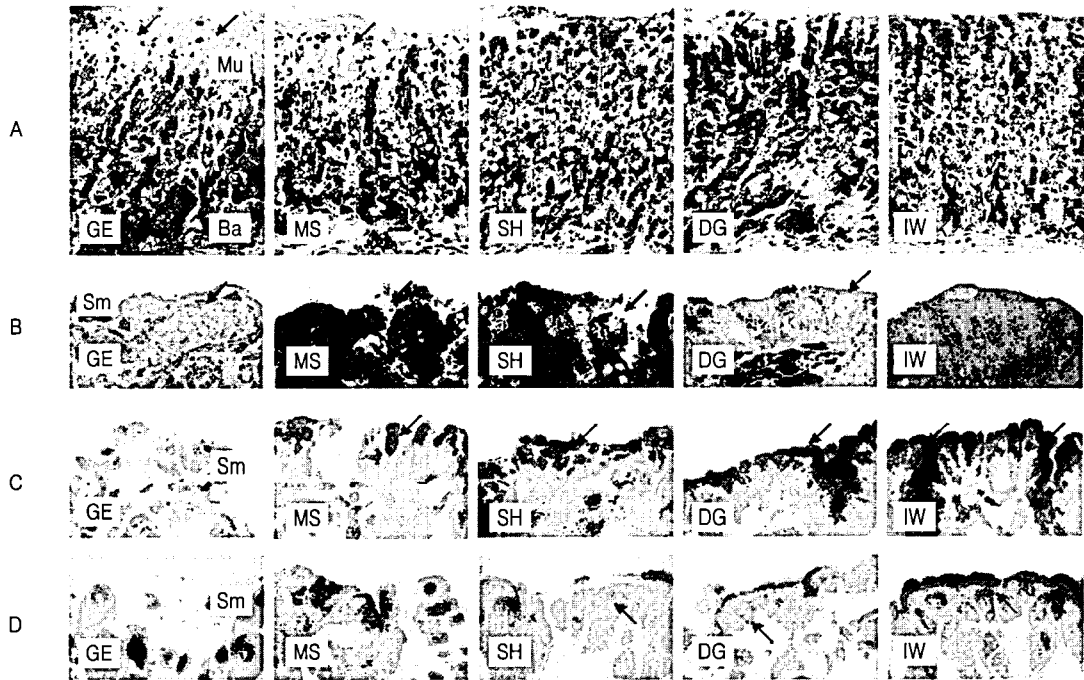


Fig. 5. The morphology of gastric mucosa after Indomethacine induced gastropathy elicitation.
 A: The aggregation of leucocytes in hemorrhagic erosions (arrow), H & E. $\times 200$,
 B: The damaged surface mucose cells (arrow), Toudine blue $\times 1000$,
 C: The configuration of neutral mucose secreting cells (arrow), PAS $\times 1000$,
 D: The PNA reaction in gastric mucosa(arrow), $\times 400$.

서는 ++(중간 양성)으로, 그리고 IW군에서는 +++(강한 양성)으로 관찰되었다(Fig. 5).

4) 점액분비세포 분열 변화

NOR군에서 점막 목부분의 증식된 세포에서 관찰되는 BrdU 양성반응은 핵에서 강하게 나타났으며, 위점막 손상 유발 후 BrdU 양성반응세포의

분포가 감소하였다. 이러한 분포 감소는 GE군에서 NOR군에 비하여 90.7% 감소한 $533 \pm 48/100,000$ pixel로 관찰되었다. MS군은 $1173 \pm 64/100,000$ pixel로, SH군은 $1578 \pm 139/100,000$ pixel로, DG군은 $2564 \pm 98/100,000$ pixel로, IW군은 $4195 \pm 172/100,000$ pixel로 관찰되어, MS군, SH군, DG군, IW군 모두에서 GE군에 비해 BrdU 양성반응이

Table 5. The Image Analysis after Indomethacin Induced Gastropathy Elicitation

Antibody	Group(n=10)					
	NOR	GE	MS	DG	IW	SH
COX-1	7485 \pm 458	335 \pm 47	1579 \pm 94*	3162 \pm 129*†	3630 \pm 158*†	2607 \pm 156*†
BrdU	5754 \pm 145	533 \pm 48	1173 \pm 64*	2564 \pm 98*†	4195 \pm 172*†	1578 \pm 139*†

(image analysis for 100,000 particles / range of intensity : 80-130)

*: $p < 0.05$ compared with GE, † : $p < 0.05$ compared with MS.

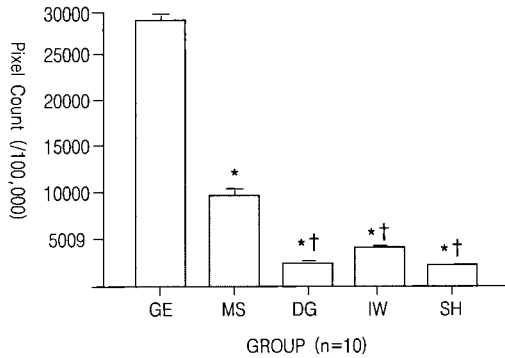


Fig. 6. The inhibition of hemorrhagic erosion in herb treated mice after burn-stress induced gastropathy elicitation. * : p < 0.05 compared with GE, † : p < 0.05 compared with MS.

유의하게 증가된 양상으로 관찰되었으며(p<0.05), MS군에 비해서도 SH군, DG군, IW군에서 유의하게 증가하였고(p<0.05), SH군보다는 DG군이, DG군보다는 IW군에서 분포가 증가한 것으로 나타났다(Table 5).

4. Burn-stress로 유발된 위점막 손상에 대한 치료효과

1) 외부형태 변화

GE군에서는 몸통부위에서 심각한 출혈성 미란이 관찰되었는데, 전체 면적에 28.9%에 해당하는 28982±745/100,000 pixel로 측정되었다. 이에 비해 MS군은 10235±651/100,000 pixel로, IW군은 4455±197/100,000 pixel로, DG는 2941±113/100,000 pixel로 그리고 SH군은 2262±135/100,000 pixel로 측정되었다. GE군에 비해 MS군, IW군, DG군, SH군 모두에서 유의하게 출혈성 미란이 감소하였

고(p<0.05), MS군에 비해서도 IW군, DG군, SH군에서 유의하게 감소하였으며(p<0.05), IW군보다는 DG군이, DG군보다는 SH군에서 감소한 것으로 나타났다(Fig. 6).

2) 일반적인 형태 변화

GE군의 위점막에서는 출혈성 미란이 관찰되었다. 많은 수의 벽세포(parietal cell)와 주세포(chief cell)의 유실도 관찰되었다. 점막손상부위에서 연접복합체 소실과 세포 소기관의 손상이 확인된 점액분비세포가 관찰되었다. 또한 공포화(vacuolation)된 벽세포의 출현이 증가하였다. 위점막 손상 유발 후 Misoprostol을 투여한 MS군은 GE군과 유사한 손상상태로 관찰되었다. DG군, IW군 그리고 SH군에서는 GE군에 비해 심각한 미란은 관찰되지 않았으며 표면점액세포의 손상도 적었다. 또한 공포화(vacuolation)된 벽세포의 수도 감소하였다. 이러한 경향은 IW군보다는 DG군, DG군보다는

Table 6. The Image Analysis after Burn-stress Induced Gastropathy Elicitation

Antibody	Group(n=10)					
	NOR	GE	MS	DG	IW	SH
iNOS	691±31	4074±158	3614±201*	1734±97*†	3059±184*†	720±24*†

(image analysis for 100,000 particles / range of intensity : 80-130)
 *: p < 0.05 compared with GE, † : p < 0.05 compared with MS.

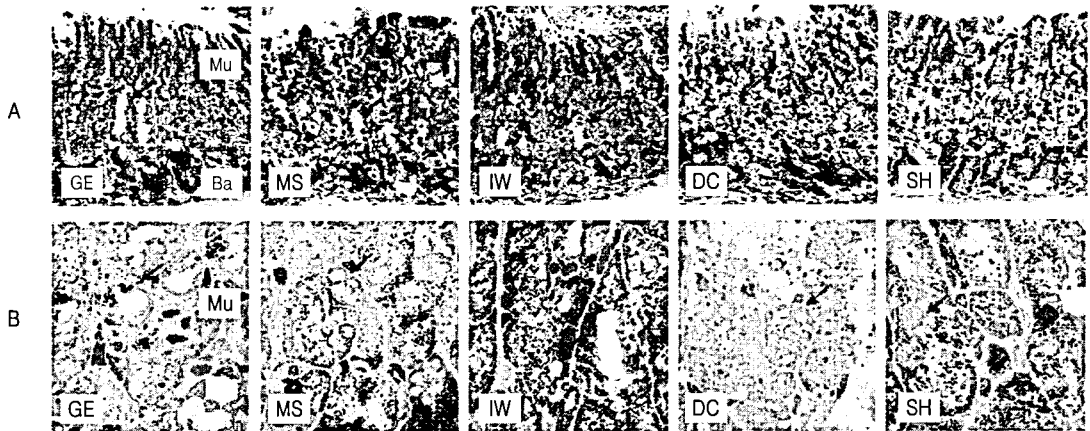


Fig. 7. The morphology of gastric mucosa from GE mice at hours 6 after burn induced gastropathy elicitation. A: The damaged gastric pit (arrow), H & E $\times 200$, B: The vacuolated parietal cells (arrow)(lower square), Toudine blue $\times 1000$.

SH군에서 더 잘 관찰되었다(Fig. 7).

3) 전염증효소 iNOS 변화

LPS 자극에 의한 Raw 264.7 cell에서의 iNOS mRNA 발현은 LPS 처리군에 비해 益胃湯 처리군이 18.4%, 對金飮子 처리군이 53.6%, 柴胡疎肝散 처리군이 80.3%로 감소하였다(Fig. 8).

점막고유층에서 관찰되는 iNOS 양성반응세포는 세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관

찰되었는데, 위점막 손상 유발 후 iNOS 양성반응세포의 분포가 증가하였다. 이러한 분포 증가는 GE군에서 489.6% 증가한 $4074 \pm 158/100,000$ pixel로 관찰되었다. MS군은 $3614 \pm 201/100,000$ pixel로, IW은 $3059 \pm 184/100,000$ pixel로, DG군은 $1734 \pm 97/100,000$ pixel로, SH군은 감소한 $720 \pm 24/100,000$ pixel로 관찰되어 MS군, IW군, SH군, DG군 모두에서 GE군에 비해 iNOS 양성반응이 유의하게 감소된 양상으로 관찰되었으며($p < 0.05$),

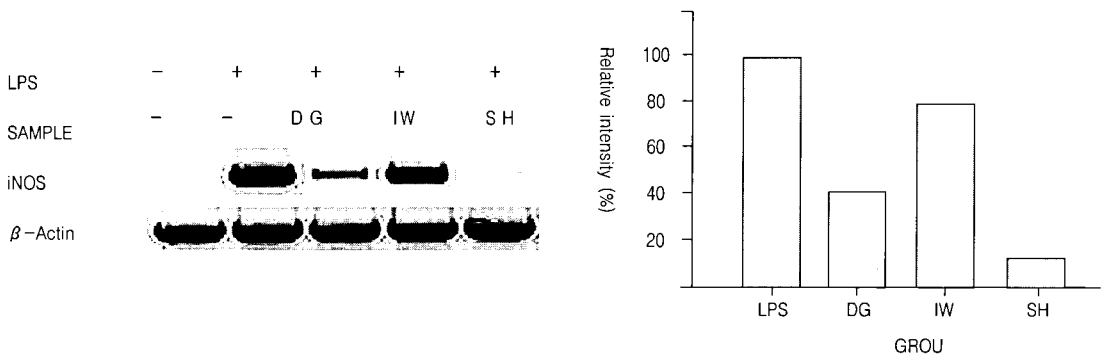


Fig. 8. The inhibition of iNOS mRNA expression by herb.

Lipopolysaccharide(LPS, $1 \mu\text{g}/\text{ml}$) induced iNOS mRNA expression were decreased in DG, IW, and SH treated RAW 264.7 cell. DG, *Daegeum-eumja*, IW, *Igwi-tang*, SH, *Sihosogan-san*.

MS군에 비해서도 IW군, DG군, SH군에서 유의하게 감소하였고($p<0.05$), IW보다는 DG군이, DG군보다는 SH군에서 분포가 감소한 것으로 나타났다(Table 6).

고 찰

급성 위점막 손상(acute gastric mucosal lesion; AGML)이란 위점막의 급성 미란 또는 궤양이 발생하는 것을 말한다¹⁾.

급성 위점막 손상은 주로 비스테로이드성 소염제, alcohol, stress 등이 원인이 되며¹⁾, 상복부의 동통과 속쓰림, 신트림, 헛배부름, 구역, 구토 등의 임상증상이 나타난다¹⁸⁾.

한의학적으로 위점막 손상은 飲食不節, 外邪犯胃, 情志失調, 脾胃虛弱 등이 원인이 되는데²⁾ 임상증후로 볼 때 胃脘痛의 질병범주에 속하며 心下痛, 吞酸, 痞滿, 嘈雜, 噯氣 등의 병증과 유사하다^{2,19)}.

Alcohol로 유발된 위점막 손상은 酒傷의 범주에 속하며³⁾, stress로 유발된 위점막 손상은 情志失調로 인한 七情傷의 범주에 속한다^{4,20)}. 비스테로이드성 소염제로 유발된 위점막 손상은 藥餌違法에 의해 中氣가 손상되고 脾胃虛弱을 유발시켜 위점막 손상을 일으킨다고 볼 수 있으나 지금까지 한의학적인 세부 범주나 병리기전에 대한 접근은 부족한 실정이다.

酒傷은 過飲으로 인한 內傷病으로 alcohol에 의한 간손상 및 위장기능장애 증상을 발현하는 병증을 말한다³⁾.

Alcohol은 위점막의 발적, 미란, 출혈을 일으키는데²¹⁾, 《素問·厥論》²²⁾에 “酒入於胃, 則絡脈滿而經脈虛, 脾主爲胃行其津液者也, 陰氣虛則陽氣入, 陽氣入則胃不和, 胃不和則精氣竭, 精氣竭則不營其四肢也”라고 하였고, 《靈樞·論勇》²³⁾에 “其氣慄悍, 其入於胃中, 則胃脹上逆, 滿於胸中, 肝浮膽橫”이라고 하였으며, 巢²⁴⁾는 “飲酒過多 酒毒積於腸胃”라 하여 음주가 위장관의 병변을 초래할

수 있음을 강조하였다.

七情傷은 정신상의 과도한 자극으로 정상적인 생리변화에 영향을 미쳐 질병이 발생하는 것으로²⁵⁾, 脾胃와 七情과의 관계는 매우 밀접하며 七情 중 특히 思, 憂, 怒의 情志가 失調되면 脾失健運하여 氣機升降의 기능이 실조되어 脾胃病이 나타나게 된다^{4,26)}. 인체에 어떤 stress가 가해지면, 인체는 뇌하수체, 부신계를 주축으로 일련의 생물학적 변화를 일으키며 일정도 이상의 stress가 가해지면 인체에서 부신의 비대, 흉선의 위축, 급성 위궤양 등이 유발될 수 있다²⁵⁾.

비스테로이드성 소염제는 위점막에 대한 직접적인 독성뿐만 아니라 prostagladin의 합성을 억제하여 위점막 방어벽을 파괴함으로써 위점막 손상을 일으키는 대표적인 약물로 서양의학에서 그 부작용을 줄일 수 있는 prostaglandin 합성제제를 활용하고 있다²⁷⁻²⁸⁾.

한의학적으로 비스테로이드성 소염제에 대한 병리적 접근이 아직 부족하나 최근 陸⁶⁾의 비스테로이드성 소염제로 유발된 위점막 손상의 辨證施治의 접근에 관한 연구에 의하면 溫中清熱, 養陰和胃, 扶陽和胃 등의 治法을 활용하고 있는데 溫中清熱法과 扶陽和胃法은 일반적인 氣機의 升降과 脾胃의 健運을 도모할 목적으로 활용한 것이데 반해, 養陰和胃는 위점막 보호작용을 목적으로 사용하고 있다.

이는 胃에 陰液을 보급하여 위점막의 기능을 개선하고 소화작용을 증강하는 것이므로²⁹⁾, 養陰和胃法이 다른 위점막 손상의 원인에서 보다 비스테로이드성 소염제로 유발된 위점막 방어벽 손상에 있어서 효과가 있을 것으로 사료된다.

酒傷에는 葛花解醒湯, 對金飲子, 酒蒸黃連丸 등의 처방이 활용되는데^{3,5,10)} 그 중 對金飲子は 《太平惠民和劑局方》³¹⁾에서 최초로 수록되었으며 和胃消痰하여 酒傷을 치료하는 처방으로 平胃散과 처방구성 약물이 동일하여^{15,32)} 임상에서 酒傷型的 급성 위염에 활용하는데⁵⁾, alcohol로 유발된 위점

막 손상에 효과가 있을 것으로 사료된다.

七情傷 속하는 stress에 의한 위점막 손상은 情志失調로 인한 肝胃不和, 肝氣乘脾의 병기로 해석할 수 있다²⁰⁾. 柴胡疎肝散은 《醫學統旨》에 최초로 수록된 처방으로³²⁾ 疏肝理氣, 和胃止痛하여 肝胃不和型的 위궤양에 활용하는데^{2,33)} stress로 유발된 위점막 손상에 효과가 있을 것으로 사료된다.

비스테로이드성 소염제로 유발된 위점막 손상은 惡心, 胃脘脹痛, 空腹時 灼熱感, 消化不良 등의 증상을 나타내며 溫中清熱, 養陰和胃, 扶陽和胃 등의 처방을 활용할 수 있으나⁶⁾ 이 중 위점막 방어벽의 손상을 회복할 수 있는 養陰和胃法이 양방적인 위점막 보호기전과 유사한 것으로 사료된다.

益胃湯은 《溫病條辨》¹⁷⁾에 최초로 수록된 처방으로 養陰益胃하여 脾胃陰虛型的 위궤양에 활용한다²⁾.

益胃湯의 처방의 명칭을 益胃라고 한 것은 胃는 腑로서 陽明에 속하며 水穀의 腐熟을 주관하므로 그 體가 陽에 속하지만, 한편으로 濕을 좋아하고 燥를 싫어하며 氣機가 가강하는 성질이므로 用은 陰에 속하여 胃의 用을 補益하는 의미를 취한 것으로^{17,34)} 胃의 津液을 滋養하여 임상적으로 口乾舌燥, 納差不食, 便結難解, 舌紅少津 등의 증상이 나타날 때 사용하며³⁵⁾, 비스테로이드성 소염제로 유발된 위점막 손상에 있어서 효과가 있을 것으로 사료된다.

Alcohol로 유발된 위점막 손상에 대한 국내의 실험적 연구를 살펴보면 채 등¹¹⁾은 葛花解醒湯, 이 등¹⁴⁾은 四物湯의 효과에 대해 보고하였으며, stress로 유발된 위점막 손상에 관해서는 공 등¹²⁾이 丹蔘補血湯의 효과에 대해 보고하였다. alcohol과 stress로 유발된 위점막 손상에 대해서는 김 등¹³⁾이 歸脾湯의 효과에 대해 보고하였으며 황 등³⁶⁾은 alcohol과 stress로 유발된 공장점막 손상에 대한 對金飮子の 효과에 대해 보고하였다.

Indomethacin으로 유발된 위점막 손상에 대해서 다양한 처방의 효과에 대한 연구보고가 많은 편인

데⁷⁻¹⁰⁾, 이 중 養陰益胃할 수 있는 처방을 활용한 연구로는 김 등⁸⁾이 沙蔘麥門冬湯, 신 등⁹⁾이 益胃湯의 효과에 대해 보고한 바가 있다.

그러나 급성 위점막 손상의 주요 원인인 비스테로이드성 소염제, alcohol, stress에 있어서 원인별 치료처방들의 효능에 관한 상호 비교연구는 부족한 실정이다.

이에 저자는 위점막 손상의 원인별 처방의 효과를 연구하기 위하여 alcohol, burn-stress 그리고 indomethacin으로 생쥐에 위점막 손상을 유발시킨 후 酒傷에 활용하는 對金飮子, 七情傷에 활용하는 柴胡疎肝散, 그리고 養陰益胃하는 益胃湯을 투여하여, 항산화 효능, 위점막의 형태, 스트레스에 대한 변화(HSP70), 산화 스트레스에 의한 전사인자 NF-kB 활성화(NF-kB, IκB), 점막내 보호장벽의 변화(COX-1, 중성점액분비세포, PNA), 세포증식(BrdU), 전염증성 효소(iNOS) 등의 변화를 관찰하였다.

Alcohol에 의해 유발된 위점막 손상시에 직접적 점막의 mucus와 bicarbonate 보호장벽 손상에 의해 출혈성 미란의 증가, 장내분비세포의 분비 증가 등의 변화가 관찰된다. 이러한 점막손상은 외부로부터 가해지는 여러 가지 스트레스로부터 항상성을 유지하기 위한 스트레스 단백질의 합성 증가를 유도하며, 열 충격 단백질(HSP)군이 대량 합성된다³⁷⁾. 이 단백질의 하나인 HSP 70은 환경적 스트레스에 의해 부분적으로 변성된 단백질들과 결합하여 변성된 단백질간의 상호 응축을 감소시키거나 새롭게 합성되어지는 폴리펩타이드의 적절한 폴딩과 세포내 이동위치를 조절함으로써 세포를 보호하는 molecular chaperone으로 작용한다. HSP70은 정상적으로 세포질내에 위치하다가 스트레스가 가해지면 핵내 핵소체 주위로 이동하며 회복기에 들어서면 다시 세포질로 돌아간다³⁸⁾.

본 실험에서도 GE군에서 HSP 70 양성반응이 증가하였으며, 이러한 HSP 70의 양성반응은 핵내에서 강하게 나타났다.

이에 반해 MS군, IW군, SH군 그리고 DG군에서는 GE군에 비해 HSP70 양성반응이 감소된 양상으로 관찰되었는데, MS군보다는 IW군이, IW군보다는 SH군이, SH군보다는 DG군에서 분포가 감소한 것으로 나타났다.

한편 alcohol에 의한 oxidative stress 증가는 NF- κ B의 세포내 작용을 유도하는데, 전사인자 NF- κ B는 보통 상태에서는 세포질에서 그 inhibitor인 I κ B protein들과 결합하고 있어 불활성화된 상태로 세포질에 존재한다. 그러나 cytokine (TNF- α , IL-1), bacterial/viral infection(LPS, dsRNA), stress(ROI, UV, adriamycin, 방사선) 등의 다양한 자극에 의해 I κ B protein이 인산화되어 분해됨으로서 유리된 NF- κ B는 핵으로 들어가 target 유전자의 NF- κ B binding site (consensus sequence: 5'-GGGpNNPyPyCC - 3')에 결합하여 염증관련유전자 등의 발현을 유도한다³⁹.

I κ B protein의 인산화는 I κ B kinase로 알려진 IKK(IKK α , β)에 의해서 일어나게 되는데 IKK의 활성화는 다양한 자극에 의해 유도되어 I κ B protein의 serine residue를 인산화시킴으로서 인산화된 I κ B protein은 ubiquitination 되어 26S proteasom에 의해서 분해된다. 전사인자 NF- κ B는 TNF- α , IL-1 β 등의 proinflammatory cytokine과 LPS 등에 의해 활성화되어, 혈관투과성의 증가를 유도하는 iNOS, COX-2 등의 전염증효소의 발현 증가를 통해 염증반응의 가속화에 의한 조직손상을 유도한다⁴⁰.

본 실험에서는 GE군에서 NF- κ B의 변화를 NF- κ B p65 항체와 I- κ B 항체를 이용한 면역조직화학으로 조사하였는데 점막상피 손상지역에서 NF- κ B p65의 증가와 I- κ B 감소를 확인할 수 있었다.

DG군, IW군, SH군에서는 점막의 mucus와 bicarbonate 보호장벽 손상이 적었다. 이는 alcohol로 유발된 과도한 oxidative stress를 차단함으로써 NF- κ B의 활성화에 의한 과도한 염증성 점막손상을 억제한 결과로 사료된다. 특히 조직내에서 I- κ B의 분해 감소가 확인되었는데, 항산화 효능과 일

치하게 DG군, SH군, IW군 순으로 나타났다. 조직 손상여부도 DG군이 가장 NOR군과 유사한 형태를 보였다.

따라서 항산화 효능을 가진 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散이 모두 alcohol로 유발된 위점막 손상의 치료에 효과가 있으며 특히 酒傷에 활용하는 對金飮子가 가장 좋은 효과가 있는 것으로 나타났다.

Indomethacin에 의해 유발된 위점막 손상시 중성 점액분비세포의 손상 그리고 점액분비세포내 골지체 감소가 관찰되었는데, 이는 prostaglandin의 분비 차단에 의한 점막의 mucus와 bicarbonate 보호장벽의 결핍^{41,42}과 nonionized 된 약산성의 보호장벽 침투 증가로 인한 점막내 중성환경의 변화⁴³의 결과이다. 이는 세포내 arachidonic acid의 prostaglandin 전환과정에 관여하는 COX-1 mRNA 발현이 indomethacin에 의해 억제된 것이다^{44,45}.

COX-1은 위장관 보호(gastro protection), 신장의 혈류조절 및 혈소판 응집과 같은 정상적인 생리적 과정을 유지함으로써 세포의 항상성(homeostasis) 유지에 중요한 역할을 한다^{46,47}. 본 실험에서는 GE군에서 출혈성 미란 지역주변의 점막고유층내에서 COX-1에 대한 양성반응이 거의 나타나지 않아, COX-1의 결핍이 의한 점막손상의 일차적 원인으로 설명될 수 있었다. 점막 손상의 회복을 위해 세포분열을 통한 점액분비세포 대체가 필요한데, 세포분열을 통해 새로운 점막표피세포의 생성이 이루어지는데 위생 목의 세포분열이 감소한 것을 본 실험에서는 thymidine analogue인 BrdU⁴⁸를 통해 확인하였다.

DG군, IW군, SH군에서는 COX-1 발현 증가를 통한 prostaglandin의 정상적인 분비는 mucus와 bicarbonate 보호장벽의 유지시킴으로써 위점막 손상을 방어할 수 있었다. 또한 정상적인 세포분열을 유지하여 손상 점막의 대체가 이루어졌음을 BrdU 양성반응의 증가로 확인할 수 있었다. 이러한 치료효과는 IW군이 가장 좋았으며, IW군, DG군, SH군 순이었다.

따라서 항산화 효능을 가진 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散이 모두 indomethacin으로 유발된 위점막 손상의 치료에 효과가 있으며 특히 養陰益胃하여 위점막 방어 작용을 가질 것으로 사료되는 益胃湯이 가장 좋은 효과가 있는 것으로 나타났다.

Stress 상황은 위산, mucus와 bicarbonate 모두의 분비를 줄여 절약된 에너지원은 스트레스 반응에 돌려진다. 스트레스 상황 종료 시 부교감신경계가 활성화되어 위산 분비는 스트레스 이전 수준으로 회복되나 방어능력은 여전히 낮은 수준에 머문다. 즉, 얇아진 위점막층의 회복이 늦어지고, 위기상황에서 분비되는 glucocorticoids 에 의해 prostaglandin의 합성이 억제되고, bicarbonate의 위산 중화 능력에 역부족인 상태에 놓임으로써 위점막이 손상을 받게 된다. 그리고 주기적인 수축도 혈류 차단에 의한 국지적 허혈상태와 위벽의 직접손상을 유발한다. 또한 재관류시 일어난 산소기(oxygen radical)의 증가와 유리기 제거물질(free radical quencher)의 생산량 감소도 위점막 손상을 일으킨다⁴⁹⁾.

본 실험에서도 GE군에서 burn-stress에 의해 점막 보호장벽의 손상, 그에 따른 벽세포의 손상 등의 위점막 손상이 관찰되었다.

iNOS mRNA 발현 억제능을 가진 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散 투여한 DG군, IW군, SH군에서는 혈관투과성을 증가시키는 NO의 생성에 관여하는 iNOS를 조절함으로써 과다한 산소기(oxygen radical)의 증가를 차단하여 이후 발생하는 조직손상이 적었다. 이러한 치료효과는 SH군이 가장 좋았으며, DG군, IW군 순이었다.

따라서 항산화 효능을 가진 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散이 모두 burn-stress로 유발된 위점막 손상의 치료에 효과가 있으며 특히 七情傷에 활용하며 肝胃不和型的 위점막 손상에 활용하는 柴胡疎肝散이 가장 좋은 효과가 있는 것으로 나타났다.

이상의 결과로 미루어 보아 급성 위점막 손상의 대표적인 원인인 비스테로이성 소염제, alcohol,

stress에 대해 유발 원인에 따라 益胃湯, 對金飮子, 柴胡疎肝散을 투여하여 모든 처방에서 위점막 손상에 대한 치료효과가 있었는데, alcohol로 유발된 위점막 손상에는 對金飮子が indomethacin으로 유발된 위점막 손상에는 益胃湯이, burn-stress로 유발된 위점막 손상에는 柴胡疎肝散이 가장 우수한 것으로 나타났다. 이는 한방의 病機別 치료방법과 일치한 결과로 실제 임상에서 위염과 위궤양에 있어서 유발 원인별로 치료하는 것이 효과가 있을 뿐만 아니라 처방운용의 효율성에 도움이 될 것으로 기대되며 향후 이에 대한 많은 연구가 있어야 할 것으로 보인다.

결론

위점막 손상의 원인별 처방의 효과를 연구하기 위하여 alcohol, indomethacin, 그리고 burn-stress로 생쥐에 위점막 손상을 유발시킨 후, 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散을 투여하여, 항산화 효과, 위점막의 일반적인 형태, 스트레스에 대한 변화(HSP70), 산화 스트레스에 의한 전사인자 NF-κB 활성화(NF-κB, IκB), 점막내 보호장벽의 변화(COX-1, 중성점액분비세포, PNA), 세포증식(BrdU), 전염증성 효소(iNOS) 등의 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 항산화 효능 측정에서 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散 모두 항산화 효능이 있었으나 益胃湯에 비해 柴胡疎肝散, 對金飮子の 항산화 효능이 더 우수하였다.

2. Alcohol에 의해 유발된 위점막 손상에 대하여 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散을 투여한 DG군, IW군, SH군에서는 출혈성 미란과 점막의 손상이 GE군과 MS군에 비해 유의성 있게 적었다($p < 0.05$). 또한 I-κB의 분해로 인한 NF-κB 활성화는 유의성 있는 감소가 확인되었는데($p < 0.05$), 이러한 효과는 DG군이 가장 좋았으며 SH군, IW군 순이었다.

3. Indomethacin에 의해 유발된 위점막 손상에 대하여 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散을 투여한 DG군, IW군, SH군에서는 출혈성 미란과 점막의 손상이 GE군과 MS군에 비해 유의성 있게 적었다 ($p<0.05$). 또한 COX-1 발현의 유의성 있는 증가로($p<0.05$) 위점막 손상을 방어할 수 있었고, 정상적인 세포분열을 유지하여 손상 점막의 대체가 이루어졌음을 BrdU 양성반응의 유의성 있는 증가($p<0.05$)로 확인할 수 있었다. 이러한 효과는 IW군이 가장 좋았으며, DG군, SH군 순이었다.

4. Burn-stress로 유발된 위점막 손상시 iNOS mRNA 발현 억제능을 가진 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疎肝散을 투여한 DG군, IW군, SH군에서는 출혈성 미란과 점막의 손상이 GE군과 MS군에 비해 유의성 있게 적었다($p<0.05$). 또한 iNOS를 조절함으로써 과도한 산소기(oxygen radical)의 증가를 차단하여 이후 발생하는 조직손상이 유의성 있게 적었다($p<0.05$). 이러한 치료효과는 SH군이 가장 좋았으며, DG군, IW군 순이었다.

이상의 결과로 급성 위점막 손상의 대표적인 원인인 비스테로이드성 소염제, alcohol, stress에 대해 益胃湯, 對金飮子, 柴胡疎肝散을 투여하여 위점막 손상에 대한 치료효과가 있었으며 본 실험 결과를 토대로 향후 위점막 손상에 있어서 한의학적인 원인별 치료 처방의 상호비교 연구가 많이 이루어지기를 기대한다.

참고문헌

1. 대한병리학회. 병리학. 서울: 고문사. 2003: 531.
2. 陳貴廷, 楊思澍. 實用中西醫結合診斷治療學. 北京: 中國醫藥科技出版社. 1991: 423-34, 437-41.
3. 전병욱. 酒傷證에 대한 문헌적 고찰. 대한한방내과학회지. 1993; 14(1): 17-25.
4. 박숙영, 문구, 문석재. 脾胃와 七情에 관한 문헌적 고찰. 대한한의학회지. 1992; 13(1): 141-51
5. 전국한외과대학 비계내과교수. 비계내과학. 서

- 울: 아트동방. 1998: 51, 53-4, 229, 231, 344.
6. 陸木頭. 非甾體類抗炎藥胃病中醫辨證經驗. 中醫雜誌. 2005; 46(2): 102-3.
7. 백태현. 平胃分消飮의 Indomethacin 유발 위점막 손상에 대한 효과. 대한한의학회지. 2003; 24(2): 94-108.
8. 김주성, 임성우. Mouse의 위점막 염증에 대한 沙蔘麥門冬湯의 면역반응 연구. 대한한의학회지. 2003; 24(2): 121-37.
9. 신혜승, 백태현. 益胃湯의 Indomethacin 유발 위점막 손상에 대한 효과. 대한한방내과학회지. 2004; 25(3): 497-507.
10. 최홍민, 임성우. Indomethacin으로 유발된 생쥐의 위점막 손상에 대한 香砂平胃散의 효과. 대한한방내과학회지. 2004; 25(3): 518-28.
11. 채종구, 신흥묵, 김길원. 葛花解醒湯이 酒傷이 미치는 영향(ethanol 유도 위점막의 산화적 손상을 중심으로). 대한한의학회지. 1999; 20(1): 113-21.
12. 공현식, 류봉하, 박동원, 류기원. 丹蔘補血湯이 Stress로 유발된 백서 위장관의 조직손상에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2000; 21(1): 74-86.
13. 김학재, 최준혁, 임성우. 스트레스와 에탄올로 유발된 mouse의 위점막손상에 대한 歸脾湯의 예방효과. 대한한의학회지. 2003; 24(1): 155-68.
14. 이성환, 임성우. 알코올로 유발된 생쥐의 위점막손상에 대한 四物湯의 보호효과. 대한한의학회지. 2004; 25(3): 1-11
15. 黃度淵. 方藥合編. 서울: 남산당. 1992: 148-9, 324.
16. 張介賓. 교감 경약전서. 서울: 정담. 2004: 1262.
17. 吳鞠通. 정창현 역. 國譯 溫病條辨. 서울: 집문당. 2004:205-7, 358-9.
18. 서울대학교 의과대학. 소화기원론. 서울: 서울대학교 출판부. 1998: 122.
19. 方藥中, 鄭鐵濤, 李克光, 金壽山, 黃星垣, 董建

- 謹 등. 實用中醫內科學. 中國: 上海科學技術出版社. 1986: 207-32.
20. 이상욱, 김진성, 윤상협, 류봉하, 류기원. 소화 불량과 과심상의 상관성에 대한 고찰. 대한한방내과학회지. 2004; 25(4-2) 306-317.
 21. 이우주. 약리학강의. 서울: 선일문화사. 1974: 208-14.
 22. 王琦 李炳文 邱德文 王慶其 彭榮琛. 素問今釋. 中國: 貴州人民出版社. 1981: 215-9.
 23. 王冰 註. 黃帝內經靈樞. 서울: 고문사. 1972: 193-4.
 24. 巢元方. 巢氏諸病源候論. 서울: 대성문화사. 1992: 192.
 25. 황의완. 心身症. 서울: 행림출판. 1985: 43, 89.
 26. 강형욱. 脾胃와 情志에 관한 문헌적 고찰. 동의 신경정신과학회지. 1990: 100-8.
 27. 권오윤, 강경원, 함준수, 이종철, 이동후, 기준석 등. 실험적으로 일으킨 위궤양 발생에 대한 Misoprostol(PG E2)의 보호효과에 대한 연구. 대한소화기병학회지. 1990; 22(4): 44-5.
 28. 백영홍, 최봉규, 김재하, 김중근, 김경근, 임영채 등. 약리학. 서울: 신일상사. 2003: 488, 626.
 29. 동서의학융합연구회편. 임상동서의학. 서울: 영림사. 1997: 456, 547.
 30. 전국한의학대학 간계내과학교수. 간계내과학. 서울: 동양의학연구원. 1995: 110.
 31. 陳師文. 太平惠民和劑局方. 북경: 중국중의약 출판사. 1996: 48-9.
 32. 冉小峰. 歷代名醫良方註釋. 中國: 科學技術出版社. 1983: 188
 33. 김갑성, 김명동, 김윤범, 김장현, 김중호, 이원철 등. 실용동서의학임상총서(1). 서울: 정담. 495.
 34. 류기원. 脾胃臨床學. 서울: 전통의학연구소. 1993: 174.
 35. 송용선 監譯. 中醫方劑問題. 전북: 원광대학교 출판국. 1995: 547.
 36. 황태현, 최준혁, 임성우. 에탄올과 스트레스로 유발된 생쥐의 공장 점막 손상에 대한 對金飮子의 방어효과. 대한한방내과학회지. 2003; 24(4): 735-46.
 37. De Maio A. The heat-shock response. New Horiz. 1995; 2: 198-207.
 38. Valazquez J. M. and Lindquist S. H. HSP 70 - Nuclear concentration during enviromental stress and cytoplasmic stroage during recovery. Cell. 1984; 36: 615-22.
 39. Baeuerle P. A. and Baltimore D. NF-κB - Ten years after. Cell. 1996; 87: 13-20.
 40. Baeuerle P. A. IκB-NF-κB structure: at the interface of inflammation control. Cell. 1998; 95: 729-31.
 41. David Y. Graham. NSAID ulcers : prevalence and prevention. Mod Rheumatol. 2000; 10: 2-7.
 42. Tetsuo Arakawa, Kazuhide Higuchi, Takashi Fukuda, Yasuhiro Fujiwara, Kenzo Kobayashi, and Tetsuo kuroki. Prostaglandins in the stomach ; an update. J. Clin. Gastroenterol. 1998; 27: 1-11.
 43. Schoen R. T. and Vender R. J. Mechanism of NASID -induced gastric damage. AM, J. Med. 1989; 86: 449-58.
 44. Byron Cryer and Michael B. Kimmey. Gastrointestinal side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug. Am J med. ; 1998; 105: 20-30.
 45. Lee S. Siomon. Biology and toxic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Current Opinion in Rheumatology. 1998; 10: 153-8.
 46. Byron Cryer and Andre Dubois. The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase-a review. Prostaglandins & other Lipid Mediators. 1998; 56: 341-61.
 47. Choitsu Sakamoto. Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal pathophysiology. J Gastroenterol. 1998; 33: 618-24.
 48. Martin Kulldorff, Lisa M. McShane, Arthur

Schatzkin, Laurence S. Freedman, Michael J. Wargovich, Cindy Woods, Madhu Purewal, Randall W. Burt, Michael Lawson, Donna J. Mateski, Elaine Lanza, Donald K. Corle, Barbara O'Brien, and James Moler. Measuring cell proliferation in rectal mucosa : Comparing bromodeoxyuridine(BrdU) and proliferating

cell nuclear antigen(PCNA) assays. J Clin Epidem. 2000; 53: 875-83.

49. Yi, L. and Sohn, J. H. Behavioral and physiological correlated of activity stress-induced ulcers; A critical review. Exp. Neurobio. 1995; 4: 61-80.