

원저

肝俞(BL₁₈) 桑白皮약침이 Galactosamine에 의해 유발된 흰쥐의 肝손상에 미치는 영향

위준* · 김재홍* · 윤여충* · 위통순* · 윤대환**

*동신대학교 한의과대학 침구학교실

**동신대학교 한의과대학 경혈학교실

Abstract

The Effect of Pharmacopuncture of Mori Cortex on Galactosamine-induced Liver Injury in Rats

Wi Jun*, Kim Jae-hong*, Yoon Yeo-choong*, Wei Tung-shuen* and Yoon Dae-hwan**

*Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Dongshin University

**Dept. of Meridians & Acupoints, College of Oriental Medicine, Dongshin University

Objectives : This study was designed to investigate the effect of pharmacopuncture of Mori Cortex on galactosamine-induced liver injury in rats.

Methods : Male Sprague-Dawley rats were divided into 5 groups; Normal, liver injury not induced and not treated group. Control, the liver injury-induced and not treated group. Saline group, the liver injury-induced and saline injection at BL₁₈. HA-1 and HA-2 group, the liver injury-induced and pharmacopuncture of Mori Cortex applied to BL₁₈, each 1.3μg/g, 2.6μg/g. Then we observed the changes of γ-GTP, GOT, GPT, LDH, total cholesterol, triglyceride, total bilirubin.

Results : Pharmacopuncture of Mori Cortex treatment significantly inhibited the activities of γ-GTP, GOT, total cholesterol, triglyceride and total bilirubin in HA-1 group. γ-GTP, GTP, LDH, γ-GTP levels were significantly inhibited in HA-2 group.

Conclusions : These results demonstrate that the reduce of hepatic enzyme activation and lipid accumulation by pharmacopuncture of Mori Cortex may be by an antioxidant properties of Mori Cortex.

Key words : liver injury, galactosamine, pharmacopuncture, Mori Cortex

· 접수 : 2009. 9. 10. · 수정 : 2009. 9. 20. · 채택 : 2009. 9. 20.

· 교신저자 : 김재홍. 광주광역시 남구 월산3동 377-12 동신대학교 부속광주한방병원 침구과

Tel. 062-350-7209 E-mail : nahongs@hanmail.net

I. 서론

간질환은 전 세계의 약 3억 5천만 명이 시달리고 있는 질환으로 한국, 중국 등 아시아 일부 국가는 간질환 사망률이 매우 높다. 특히 우리나라는 B형 간염 바이러스 감염률이 높고 이에 따라 만성적 간질환의 높은 유병률을 나타내므로^{1,2)} 이를 치유 혹은 예방하기 위한 약제 및 방법에 대한 연구가 필요한 실정이다.

한의학적으로 肝은 藏血과 疏泄을 주관하고 인체의 기혈과 장부의 활동을 조절하여 대사, 해독, 담즙의 분비와 배설작용 및 정지활동 등을 정상적으로 유지하는 역할을 수행하고 있다. 이러한 肝이 내외 요인으로 인하여 그 기능을 상실하면 여러 가지 간장 질환이 발생하게 되며 특히 음주, 고지방식, 감염, 중독 등이 간질환의 가장 흔한 원인이 된다³⁾.

藥鍼療法은 경락학설의 원리에 의거하여 약물을 선택해서, 유관한 穴位나 壓痛點에 주입하여 약물효과 및 경혈자극효과를 통하여 생체의 기능을 조정하고 병리상태를 개선시켜 질병치료의 목적을 달성하는 新鍼療法 중의 하나이다^{4,5)}.

肝俞穴은 족태양방광경의 18번째 經穴로서 補營血, 調氣滯, 除肝膽濕熱, 能寧神明目하는 穴性을 가지고 있으며, 主治症은 黃疸, 肋間神經痛, 神經衰弱, 急慢性肝炎, 眼病 등이다⁶⁾.

桑白皮는 뽕나무과(桑科 : Moraceae)에 속한 낙엽 교목인 뽕나무 및 동속 근연식물의 근피로, 性은 寒, 無毒하고 味는 甘하며, 肺·大腸으로 歸經한다⁷⁻⁹⁾.

간기능에 대한 상백피의 효능 연구로는 홍¹⁰⁾은 지질과산화 및 간독성에 대한 효과를 보고하였고, 김¹¹⁾은 간기능 보호효과를 보고하였으며, 김 등¹²⁾은 사염화탄소에 의해 유발된 간독성에 대한 간 보호효과 등을 보고하였으나, 약침제제에 대한 간기능 효능 연구는 아직 미진하다.

이에 저자는 桑白皮 약침요법이 간손상에 미치는 효과를 확인하기 위하여 백서에 D-galactosamine을 이용하여 간손상을 유발 시킨 후 상백피 약침을 肝俞에 시술하여 혈청 γ -GTP, GOT, GPT, LDH, Total cholesterol, Triglyceride, Total Bilirubin의 수치 변화 및 간조직의 관찰 등을 통하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 동물

실험동물은 삼육동물센터로부터 구입한 260~300g, 8주령의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐로, 일주일간 실험실 환경(온도 22±3°C, 습도 50±10%)에 적응시킨 후 사용하였다. 각 cage당 2~3마리씩 넣었으며, 물과 사료(고형사료, 삼양유지, 한국)를 자유로이 섭취하도록 하였다.

2) 약침액 제조

桑白皮 300g을 증류수 1,000ml과 함께 24시간 동안 증류수를 보충해가며 끓인 다음, 여과지로 여과한 후 고속원심분리기(Centricon T-42K, Italy)로 3,500rpm에서 20분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액은 rotary vaccum evaporator(Buchi, Netheland)로 수분을 증발시켜 100ml로 감압 농축하였으며, 농축된 검액을 동결건조기(삼원, 한국)로 -70°C에서 동결건조시켜 최종적으로 11.8g의 시료를 얻었다. 얻어진 시료는 약침시술을 위하여 각각의 농도별로 saline에 희석하여 Cellulose Nitrate Membrane Filters(0.45 μ m, Whatman, England)로 여과한 후 시술에 사용하였다.

3) 약침 주입기

Insulin syringe(29G×12.7mm, 유일, 한국)을 이용하여 주입하였다.

2. 실험방법

1) 간손상 유발 및 군 분류

간손상 유발은 Jonker 등¹³⁾의 방법을 이용하여 D-galactosamine(GalN, Sigma, USA)을 흰쥐의 체중 kg당 500mg 농도로 1회 복강 주사하였다.

각 군은 정상군(Normal, n=8), 간 손상을 유발한 후 무처치한 군은 대조군(Control, n=8), 간손상을 유발한 후 생리식염수로 시술한 생리식염수군(Saline, n=8), 간손상을 유발한 후 1.3 μ g/g 농도의 桑白皮 약침을 시술한 약침1군(HA-1, n=8), 간손상을 유발한 후 2.6 μ g/g 농도의 桑白皮 약침을 시술한 약침2군(HA-2, n=8) 등 총 5개군으로 분리하였다.

2) 혈위 및 약침처치

약침이 시술된 혈위는 인체의 肝俞에 상응하는 부위로 백서의 9·10흉추 극돌기간 양측에서 취하였다. 약침 처치는 간 손상 유발 후 대조군을 제외한 실험군들을 대상으로 다음날부터 각 농도별로 시행되었으며, 2일 간격으로 1회씩 20일간 총 10회에 걸쳐 각 혈위 양측에 insulin syringe(29G×12.7mm, 유일, 한국)을 이용하여 20 μ l의 약침이 시행되었다.

3) 채혈 및 혈청분리

채혈은 각 군들의 흰쥐들을 약침시술 후 21일째에 단두하여 혈액 3ml을 얻었으며, 이를 고속원심분리기(Centricon T-42K, Italy)에서 3,500rpm으로 20분간 원심분리를 시행하여 혈청을 얻었다.

4) 혈청분석

약침시술 후 21일째에 각 군들의 백서로부터 얻은 혈액 중, 약 100 μ l를 EDTA-bottle에 넣은 후 곧바로 혈구측정기(K-800, Sysmax, Japan)에 주입하여 white blood cell(WBC), red blood cell(RBC), hemoglobin(HGB), hematocrit(Hct) 등을 각각 측정하였다. 나머지 혈액은 혈청 분리에 사용하였는데, 고속원심분리기(Centricon T-42K, Italy)에서 5,000rpm으로 10분간 시행하여 혈청을 얻었다.

분리된 혈청으로 γ -GTP, GOT, GPT, LDH, total cholesterol, triglyceride, total bilirubin 등을 측정하였으며, 측정하기 전까지는 -70 $^{\circ}$ C에 보관하였다. γ -GTP는 diagnostic kits(AM158-K, Asan, Korea)을 사용하여 spectrophotometer(Unikon-922, Kontron, Italy)로 635nm 파장에서 측정하였으며, GOT는 GOT-SL Kit(ELITech, France)를 이용하여 340nm 파장에서 측정하였으며, GPT는 GPT-SL Kit(ELI Tech, France)를 이용하여 340nm 파장에서 측정하였으며, LDH는 LDH-SL Kit(ELI Tech, France)를 이용하여 340nm 파장에서 측정하였으며, total cholesterol는 T. cholesterol-SL Kit(ELI Tech, France)를 이용하여 546nm 파장에서 측정하였으며, triglyceride는 triglyceride-SL Kit(ELITech, France)를 이용하여 505nm 파장에서 측정하였으며, total Bilirubin은 T. Bilirubin-SL Kit(ELI Tech, France)를 이용하여 505nm 파장에서 측정하였다. γ -GTP를 제외한 혈청분석은 photometer(5010, Robert Riele GmbH & Co. Germany)를 이용하였다.

5) 조직학적 관찰

광학현미경 관찰을 위하여 실험동물의 간조직을 적출하여, 적출한 조직을 vonin solution(Sigma, Germany)을 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음, 70%, 80%, 90%, 100%, ethanol/xylo(1:2)액에 각각 2시간 통과시켜 탈수하고 55 $^{\circ}$ C incubator에서 xylo/hard paraffin(2:1), xylo/hard paraffin(1:2), 및 hard paraffin 용액으로 3시간씩 처리한 후 paraffin 포매하였다. 이를 microtome을 사용하여 5 μ m 두께로 절편을 제작한 후 hematoxylineosin으로 염색하고, 200배율 광학현미경(olympus BX51TF, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

3. 통계처리

실험 성적은 평균값과 표준오차(mean \pm S.E.)로 표시하였다. 각 실험군 간의 통계학적 분석은 Window 용 SPSS(version 10.05, SPSS)를 이용하여, 비모수적 방법 중 Mann-Whitney *u* test를 시행하였다. 전체 실험의 통계적인 유의성은 신뢰구간 $p < 0.05$ 에서 의미를 부여하였다.

III. 결 과

1. γ -GTP에 미치는 효과

肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 γ -GTP

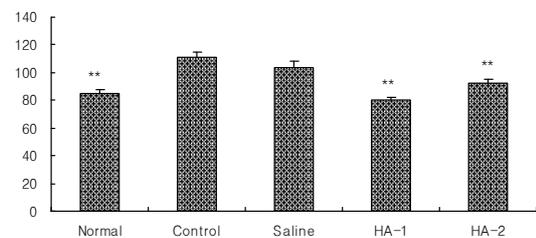


Fig. 1. Effects of Cortex Mori radices pharmacopuncture according to dosage on serum γ -GTP in the liver injury rats induced by D-galactosamine

Normal, intactness. Control, the liver injury-induced and not treated group. Saline, the liver injury-induced and injected saline at acupoints of BL₁₈. HA-1 and HA-2, Cortex Mori radices pharmacopuncture of 1.3 μ g/g and 2.6 μ g/g at acupoints of BL₁₈ in the rats. Results are shown as mean \pm S.E.

***p* < 0.01 as compared with the corresponding data of control group.

에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, normal군은 84.9±2.84(mU/ml), control군은 111.1±3.67(mU/ml), saline군은 103.4±4.69(mU/ml), HA-1군은 80.3±1.92 (mU/ml), HA-2군은 92.13.00(mU/ml)를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 control군에 비하여 normal군, HA-1군과 HA-2군들에서 유의한 감소를 보였다 ($p<0.01$)(Fig. 1).

2. GOT에 미치는 효과

肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 GOT에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, normal군은 146.5±11.90(U/l), control군은 203.0±11.33(U/l), saline군은 232.3±33.83(U/l), HA-1군은 175.7±5.95(U/l), HA-2군은 166.0±15.44(U/l)을 나타내었다. 각 군별의 변화 비교에서 control군에 비하여 normal군($p<0.01$), HA-1군($p<0.05$)들에서 유의한 감소를 보였다(Fig. 2).

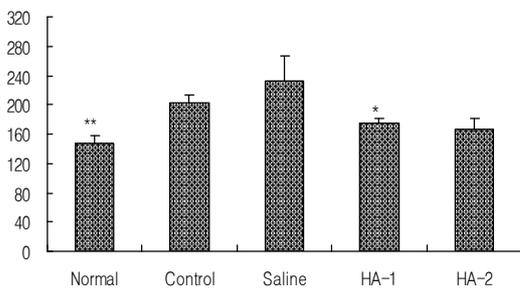


Fig. 2. Effects of Cortex Mori radidis pharmacopuncture according to dosage on serum GOT in the liver injury rats induced by D-galactosamine

Normal, intactness. Control, the liver injury-induced and not treated group. Saline, the liver injury-induced and injected saline at acupoints of BL₁₈. HA-1 and HA-2, Cortex Mori radidis pharmacopuncture of 1.3µg/g and 2.6 µg/g at acupoints of BL₁₈ in the rats. Results are shown as mean±S.E. *, $p<0.05$, **, $p<0.01$ as compared with the corresponding data of control group.

3. GPT에 미치는 효과

肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 GPT에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, normal군은 67.0±5.40(U/l), control군은 95.6±9.63(U/l), saline군은 119.2±18.29(U/l), HA-1군은 91.2±5.26 (U/l), HA-2군은 55.5±7.73(U/l)을 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 control군에 비하여 normal군($p<0.05$), HA-2군($p<0.01$)들에서 유의한 감소를 보

였다(Fig. 3).

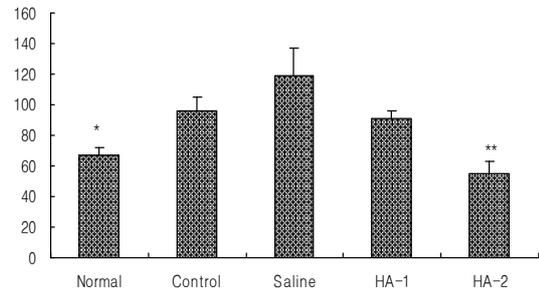


Fig. 3. Effects of Cortex Mori radidis pharmacopuncture according to dosage on serum GPT in the liver injury rats induced by D-galactosamine

Normal, intactness. Control, the liver injury-induced and not treated group. Saline, the liver injury-induced and injected saline at acupoints of BL₁₈. HA-1 and HA-2, Cortex Mori radidis pharmacopuncture of 1.3µg/g and 2.6µg/g at acupoints of BL₁₈ in the rats. Results are shown as mean±S.E.

*, $p<0.05$, **, $p<0.01$ as compared with the corresponding data of control group.

4. LDH에 미치는 효과

肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 LDH에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, normal군은 1552.8±282.24(U/l), control군은 2670.4±162.81(U/l), saline군은 3149.3±611.53(U/l), HA-1군은 2762.8±174.20(U/l), HA-2군은 1958.2±129.26(U/l)을 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 control군에 비하여 normal군, HA-2군들에서 유의한 감소를 보였다($p<0.01$)(Fig. 4).

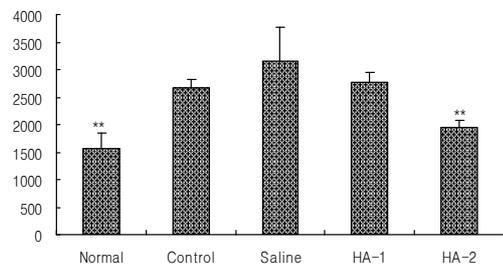


Fig. 4. Effects of Cortex Mori radidis pharmacopuncture according to dosage on serum LDH in the liver injury rats induced by D-galactosamine

Normal, intactness. Control, the liver injury-induced and not treated group. Saline, the liver injury-induced and injected saline at acupoints of BL₁₈. HA-1 and HA-2, Cortex Mori radidis pharmacopuncture of 1.3µg/g and 2.6µg/g at acupoints of BL₁₈ in the rats. Results are shown as mean±S.E. **, $p<0.01$ as compared with the corresponding data of control group.

5. Total cholesterol에 미치는 효과

肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 total cholesterol에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, normal 군은 53.0±10.72(mg/dl), control군은 93.2±7.97 (mg/dl), saline군은 78.5±9.26(mg/dl), HA-1군은 70.0±4.72(mg/dl), HA-2군은 88.3±6.90(mg/dl)를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 control군에 비하여 normal 군과 HA-1군들에서 유의한 감소를 보였다($p<0.05$) (Fig. 5).

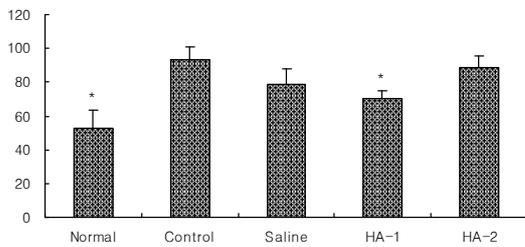


Fig. 5. Effects of Cortex Mori radidis pharmacopuncture according to dosage on serum total cholesterol in the liver injury rats induced by D-galactosamine

Normal, intactness. Control, the liver injury-induced and not treated group. Saline, the liver injury-induced and injected saline at acupoints of BL₁₈. HA-1 and HA-2, Cortex Mori radidis pharmacopuncture of 1.3µg/g and 2.6µg/g at acupoints of BL₁₈ in the rats. Results are shown as mean±S.E. *, $p<0.05$ as compared with the corresponding data of control group.

6. Triglyceride에 미치는 효과

肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 tri-

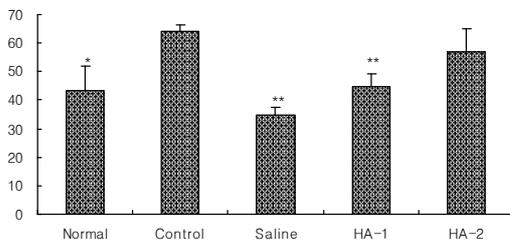


Fig. 6. Effects of Cortex Mori radidis pharmacopuncture according to dosage on serum triglyceride in the liver injury rats induced by D-galactosamine

Normal, intactness. Control, the liver injury-induced and not treated group. Saline, the liver injury-induced and injected saline at acupoints of BL₁₈. HA-1 and HA-2, Cortex Mori radidis pharmacopuncture of 1.3µg/g and 2.6 µg/g at acupoints of BL₁₈ in the rats. Results are shown as mean±S.E. *, $p<0.05$, **, $p<0.01$ as compared with the corresponding data of control group.

glyceride에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, normal 군은 43.5±8.39(mg/dl), control군은 64.2±2.24(mg/dl), saline군은 35.0±2.45(mg/dl), HA-1군은 44.8±4.48(mg/dl), HA-2군은 57.0±8.08(mg/dl)를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 control군에 비하여 normal 군($p<0.05$), saline군($p<0.01$)과 HA-1군($p<0.01$)들에서 유의한 감소를 보였다(Fig. 6).

7. Total Bilirubin에 미치는 효과

肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 total bilirubin에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, normal 군은 0.2±0.03(mg/dl), control군은 0.3±0.04(mg/dl), saline 군은 0.3±0.02(mg/dl), HA-1군은 0.2±0.02(mg/dl), HA-2군은 0.2±0.02(mg/dl)를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 control군에 비하여 normal 군, HA-1과 HA-2들에서 유의한 감소를 보였다 ($p<0.05$)(Fig. 7).

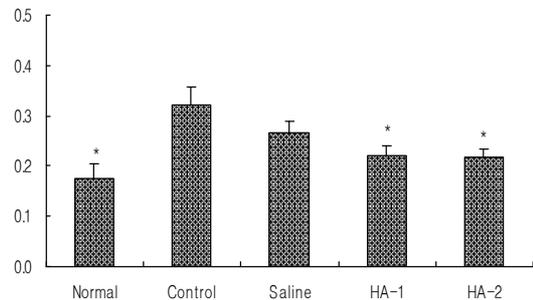


Fig. 7. Effects of Cortex Mori radidis pharmacopuncture according to dosage on serum total bilirubin in the liver injury rats induced by D-galactosamine

Normal, intactness. Control, the liver injury-induced and not treated group. Saline, the liver injury-induced and injected saline at acupoints of BL₁₈. HA-1 and HA-2, Cortex Mori radidis pharmacopuncture of 1.3µg/g and 2.6 µg/g at acupoints of BL₁₈ in the rats. Results are shown as mean±S.E. *, $p<0.05$, as compared with the corresponding data of control group.

8. 혈액 내 WBC, RBC, HGB, Hct 변화

WBC를 비교 관찰한 결과, normal군은 7.0±2.58 (103/µl), control군은 7.8±1.08(103/µl), saline군은 9.2±1.85(103/µl), HA-1군은 5.6±0.30(103/µl), HA-2군은 6.2±1.28(103/µl)를 나타내었다(Fig. 8 : upper left).

RBC를 비교 관찰한 결과, normal군은 9.1±0.59 (106/µl), control군은 8.3±0.26 (106/µl), saline군은

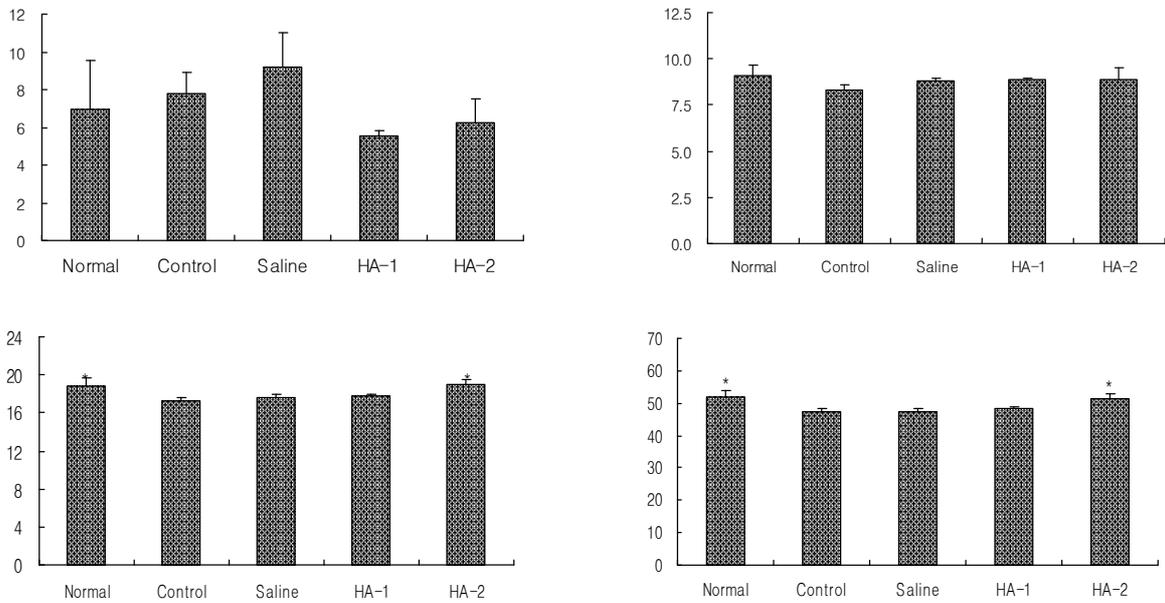


Fig. 8. Effects of Cortex Mori radicis pharmacopuncture according to dosage on blood WBC(upper left), RBC(upper right), HGB(lower, left), Hct(lower right) in serum in liver injury rats induced by D-galactosamine

Normal, intactness. Control, the liver injury-induced and not treated group. Saline, the liver injury-induced and injected saline at acupoints of BL₁₈. HA-1 and HA-2, Cortex Mori radicis pharmacopuncture of 1.3μg/g and 2.6μg/g at acupoints of BL₁₈ in the rats. Results are shown as mean±S.E. *, *p*<0.05, as compared with the corresponding data of control group.

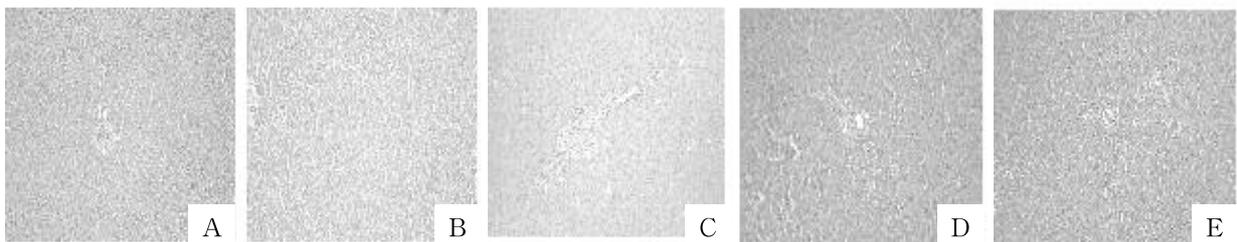


Fig. 9. Light micrographs of the hepatic tissue from Cortex Mori radicis pharmacopuncture according to dosage in the liver injury rats induced by D-galactosamine.

A, Normal group; B, Control group; C, Saline group; D, HA-1 group; E, HA-2 group. Normal, intactness. Control, the liver injury-induced and not treated group. Saline, the liver injury-induced and injected saline at acupoints of BL₁₈. HA-1 and HA-2, Cortex Mori radicis pharmacopuncture of 1.3μg/g and 2.6μg/g at acupoints of BL₁₈ in the rats. Hematoxylin-Eosin stain. × 200.

8.8±0.19(106/μl), HA-1군은 8.9±0.10(106/μl), HA-2군은 8.9±0.58(106/μl)를 나타내었다(Fig. 8 : upper right).

HGB를 비교 관찰한 결과, normal군은 18.9±0.79(g/dl), control군은 17.2±0.33(g/dl), saline군은 17.6±0.38(g/dl), HA-1군은 17.8±0.15(g/dl), HA-2군은 19.0±0.54(g/dl)를 나타내었다(Fig. 8 : lower left).

Hct를 비교 관찰한 결과, normal군은 52.0±1.85(%), control군은 47.6±1.00(%), saline군은 47.2±0.93(%), HA-1군은 48.3±0.45(%), HA-2군은 51.6±1.04(%)를 나타내었다(Fig. 8 : lower right).

각 군별의 변화 비교에서 control군에 비하여 HGB, Hct는 normal군과 HA-2군에서 유의한 증가를 보였다(*p*<0.01).

9. 조직학적 관찰

간손상 흰쥐에 肝愈에 대한 농도별 桑白皮 약침을 시행한 후 간조직을 적출하여 광학현미경으로 관찰한 결과, normal군에서는 간세포의 핵은 대부분 등극에 관찰되었으며, 조직의 밀도도 높았다(Fig. 9-A). Control군에서는 간조직 전반에 걸쳐 핵의 밀도가 낮았으며,

간세포의 핵의 모양이 불규칙하게 관찰되었으며 핵주변의 염색성이 낮게 관찰되었다(Fig. 9-B). Saline군에서는 대조군에 비해 핵과 조직의 밀도가 낮게 관찰되었으며, 또한 핵주변의 염색성이 낮게 관찰되었고, 간세포의 핵들은 불규칙적으로 배열해 있었다(Fig. 9-C). HA-1군에서는 대조군에 비하여, 간세포 핵의 밀도가 높게 관찰되었고 간세포 핵도 비교적 동그랗게 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 9-D). HA-2군에서는 대조군에 비하여 간세포 핵주변의 염색도가 낮게 관찰되었으나 간세포의 핵은 비교적 규칙적으로 동글게 관찰되었다(Fig. 9-E)

IV. 고찰

간은 疏泄작용과 藏血을 주관하고 당질, 단백질, 지질, 콜레스테롤, 비타민 및 철분대사에 관여하며 조혈과 과혈작용, 혈액응고작용, 해독작용, 담즙대사, 핵산대사 및 호르몬대사 등의 다양한 역할을 수행하고 있다. 한방에서 간질환의 원인은 肝氣鬱結, 肝膽濕熱, 肝火上炎, 肝陽上亢, 肝陰不足 등으로 볼 수 있으며, 약물이나 공해 등 여러 가지 주위환경으로부터의 중독에 의해서도 肝損傷을 일으킬 수 있고, 음주, 감염, 고지방식 등도 간장병의 흔한 원인이 되며 이로 인하여 간세포의 변성, 괴사, 지방축적, 간효소의 누출 등의 간손상을 받게 된다¹⁴⁾.

藥鍼療法은 경락학설의 원리에 의거하여 정제된 각종 약물을 유관한 穴位, 壓痛點에 주입하여 약물의 효능과 침의 효능이 동시에 발휘해 함으로써 질병에 대해 상승작용을 하여 만성질환이나 난치병 그리고 동통성 질환에 효과를 나타내는 신침요법의 하나이다¹⁵⁾.

상백피는 桑科(뽕나무과 : Moraceae)에 속한 낙엽교목인 뽕나무(Morus alba L.) 및 동속식물의 근피이다⁷⁻⁹⁾. 상백피는 甘, 寒, 無毒하며 解熱, 鎮咳, 去痰하는 작용이 있어 咳嗽·喘急·氣管支炎·肺炎·肺水腫·肋膜炎·浮腫 등에 활용되어 왔다^{16,17)}. 최근의 연구에 따르면 항균, 혈압강하, 진정, 혈당강하, 이뇨작용 등의 약리작용이 밝혀져 있다¹⁸⁻²⁰⁾.

肝俞穴은 족태양방광경의 18번째 經穴로서 補營血, 調氣滯, 除肝膽濕熱, 能寧神明目 하는 穴性을 가지고 있으며 主治症은 肝病, 黃疸, 肋間神經痛, 神經衰弱, 急慢性肝炎, 眼病 등으로 문헌에 나타나 있다⁶⁾. 이처럼 肝俞穴은 간의 背俞穴로 간과 밀접한 관계를 가지

고 있는 경혈이므로 본 실험의 약침 시술부위로 정하였다.

간손상을 유발하기 위해 사용되는 약물로는 CCl₄ (carbontetrachloride), alcohol, acetaminophen, bromobenzene, chloroform, thioacet amide(TAA), phosphorus, 그리고 D-galactosamine 등이 있다. 그 중 D-galactosamine은 기능과 형태에 있어서 바이러스성 간염과 유사한 간독성을 일으키며 간에 특이성이 높아 다른 기관에는 거의 영향을 주지 않는 특징이 있다^{21,22)}. D-galactosamine은 간세포괴사 및 실질세포와 문맥 등의 염증을 유발하고 급성 중독시 glucose항상성을 유지시키기 위하여 대사장애가 일어나 간괴사가 일어나게 되며 만성 중독 시 간경변과 세포성 종양이 일어나는 것으로 보고되어 있다²³⁾.

D-galactosamine은 생체 구성 성분 속에 존재하며 간독성을 일으키는 작용을 하는 약물로, 조직학적으로 virus성 간염과 유사하며, 간세포 내에서 UDP-hexosamine을 축적시켜 간세포 내의 UTP, UDP 및 UMP를 감소시키며 이에 따라서 핵산, 당단백, 당지질 등의 거대분자들의 uracil nucleotide 의존성 생합성의 저하로 세포 내 소기관 손상을 유발하며 결국 간세포의 괴사를 초래한다²⁴⁾.

본 실험에서는 Sprague-Dawley계 흰쥐에 D-galactosamine으로 간손상을 유발시킨 후에 桑白皮약침을 肝俞에 투여한 후 간 기능을 검사하기 위하여 총 5개 군의 실험동물을 대상으로 혈청 내의 γ -GTP, GOT, GPT, LDH, total cholesterol, triglyceride, total Bilirubin을 측정하였다.

γ -GTP는 γ -glutamyl기를 다른 peptide나 amino-acid에 전이하는 효소이다. 일반적으로 간담관계질환과 췌장질환에서 볼 수 있다. 간세포가 압박을 받는 질환에서 특히 민감하게 증가하므로 현재까지 간장질환을 진단하는 단일 검사 항목으로 가장 예민한 것으로 알려져 있다²⁵⁾. 본 실험의 경우 肝俞에 대한 桑白皮 약침이 간손상 흰쥐의 γ -GTP에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, γ -GTP변화에서 control군에 비하여 HA-1군과 HA-2군들에서 유의한 감소를 보였다.

손상된 간으로부터 혈액에 방출된 간의 효소 활성화도 측정은 간기능 측정의 유용한 방법 중의 하나로 D-galactosamine 등 유독물질에 의한 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨에 따라 transaminase가 혈중으로 유리되어 GOT, GPT의 효소 활성도가 현저하게 증가된다²⁶⁾. 본 연구에서도 D-galactosamine을 처리한 대조군에서 GOT는 약 1.4배의 상승을 보여 간

독성이 유발됨을 알 수 있었다. 이들 효소는 간질환시 동조적으로 증가하며 이 증가는 간세포의 손상 정도 및 그 범위와 평행하여 나타난다²⁵⁾.

肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 GOT에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과는 control군에 비하여 HA-1군에서 유의한 감소를 보였다.

GPT는 세포의 가용성 분획에 많이 분포하고 있는 amino기 전이효소로서 외부 독성물질에 의한 세포막 손상으로 세포가 파괴될 때 혈중으로 다량 유출되므로 임상에서 간기능 및 손상 정도를 측정하는 지표로 널리 이용되고 있다²⁷⁾.

肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 GPT에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과는 GPT변화에서 control군에 비하여 HA-2군에서 유의한 감소를 보였다.

LDH(Lactate Dehydrogenase)는 해당작용(Glycolysis system)의 최종단계에서 작용하는 효소로서, L-lactate를 pyruvate로 전환하는 가역반응을 촉매한다. 간질환에서 LDH의 증가는 aminotransferase 활성치만큼 예민하지는 않지만 중독성 간염의 경우는 10배 이상의 증가를 보인다. 또한 급성간염에서는 현저하게 증가하고 만성간염에서는 정상범위에 있는 경우가 많다²⁸⁾. 肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 LDH에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과 LDH변화에서 control군에 비하여 normal군, HA-2군들에서 유의한 감소를 보였다.

Cholesterol은 인지질과 함께 세포막의 성분으로 각종 steroid hormone이나 담즙산의 전구체로 중요한 지질로서 간에서 합성되어 담즙으로 배설된다. 혈청 중 total cholesterol은 간장 지질대사의 변조를 알 수 있는 것으로서 간담질환 시 혈청 중 함량이 증가한다고 했다²⁹⁾. 간질환에서는 담관 폐색이나 담즙 울체 시에는 高 cholesterol 혈증이 나타나는데 이것은 배설 장애로 인한 것이다³⁰⁾. 肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 total cholesterol에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과는 total cholesterol변화에서 control군에 비하여 HA-1군에서 유의한 감소를 보였다.

Triglyceride의 대부분은 간에서 합성되며 간경변증 등 광범위한 간실질장애로 간에서 VLDL(Very low density lipoprotein)합성이 감소하여 혈청 triglyceride 농도가 감소한다²⁸⁾. 肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 triglyceride에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, triglyceride변화에서 control군에 비하여 HA-1군 ($p<0.01$)에서 유의한 감소를 보였다.

Bilirubin은 헤모글로빈의 구성성분인 heme의 대사

산물로서 간에서 포함, 배설되는데 간질환이 있으면 정체되어 혈중 농도가 증가된다²⁵⁾. 肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 total bilirubin에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과, control군에 비하여 HA-1과 HA-2들에서 유의한 감소를 보였다.

본 실험에서 肝俞에 대한 桑白皮약침이 간손상 흰쥐의 WBC, RBC, HGB, Hct에 미치는 영향을 비교 관찰한 결과 혈액 내 WBC, RBC, HGB, Hct 변화에서 control군에 비하여 HGB, Hct는 HA-2군에서 유의한 증가를 보였다.

간손상 흰쥐의 肝俞에 대한 농도별 桑白皮약침을 시행한 후 간조직을 적출하여 광학현미경으로 관찰한 결과는 normal군에서는 간세포의 핵은 대부분 등글게 관찰되었으며, 조직의 밀도도 높았다(Fig. 9-A). control군에서는 간조직 전반에 걸쳐 핵 밀도가 낮았으며, 간세포의 핵 모양이 불규칙하게 관찰되었으며 핵주변의 염색성이 낮게 관찰되었다(Fig. 9-B). saline군에서는 대조군에 비해 핵과 조직의 밀도가 낮게 관찰되었으며, 또한 핵주변의 염색성이 낮게 관찰되었으며, 간세포의 핵들은 불규칙적으로 배열해 있었다(Fig. 9-C). HA-1군에서는 대조군에 비하여, 간세포 핵의 밀도가 높게 관찰되었고 간세포 핵도 비교적 동그랗게 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 9-D). HA-2군에서는 대조군에 비하여 간세포 핵 주변의 염색도가 낮게 관찰되었으나 간세포의 핵은 비교적 규칙적으로 동글게 관찰되었다(Fig. 9-E).

이상의 실험결과를 살펴보면, D-galactosamine으로 유발된 백서의 간손상에 대한 상백피약침은 γ -GTP, GOT, GPT활성에 유의성 있게 영향을 미치고 있고 total cholesterol, total bililubin, triglyceride, LDH의 변화에도 유의성 있게 영향을 미치고 있음을 알 수 있다. 즉 백서에 간손상을 유발한 후 2.6 μ g/g 농도의 桑白皮약침을 시술한 약침 2군은 HA-2군이 GOT를 제외한 γ -GTP, GPT, LDH, total bililubin 등에서 간손상에 대한 기능회복에 일정한 효과가 있음을 관찰하였다. 또한 간손상을 유발한 후 1.3 μ g/g 농도의 桑白皮약침을 시술한 약침 1군인 HA-1군이 total cholesterol, triglyceride 등에서 유효한 감소를 나타내어 간손상으로 인한 혈청지질농도에 일정한 효과가 발휘함을 관찰하였으며, γ -GTP GOT, total bililubin 등에서는 간기능 회복에도 일정한 효과를 발휘함을 관찰할 수 있었다.

차후로 상백피 약침에 대한 다양한 농도에서의 간기능 효능 연구를 비롯하여 보다 심도있는 연구가 필

요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

肝俞에 對한 桑白皮藥鍼이 D-Galactosamine에 의하여 유발된 肝損傷에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 흰쥐에게 약침을 처치한 후 혈청 내의 γ -GTP, GOT, GPT, LDH, Total cholesterol, Triglyceride, total bilirubin, 혈액 내 WBC, RBC, HGB, Hct 및 간조직 등을 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. γ -GTP변화에서 control군에 비하여 HA-1군과 HA-2군들에서 유의한 감소를 보였다.
2. GOT변화에서 control군에 비하여 HA-1군에서 유의한 감소를 보였다.
3. GPT변화에서 control군에 비하여 HA-2군에서 유의한 감소를 보였다.
4. LDH변화에서 control군에 비하여 normal군, HA-2군들에서 유의한 감소를 보였다.
5. Total cholesterol변화에서 control군에 비하여 HA-1군에서 유의한 감소를 보였다.
6. Triglyceride변화에서 control군에 비하여 HA-1군($p<0.01$)에서 유의한 감소를 보였다.
7. Total bilirubin변화에서 control군에 비하여 HA-1과 HA-2들에서 유의한 감소를 보였다.
8. 혈액 내 WBC, RBC, HGB, Hct 변화에서 control군에 비하여 HGB, Hct는 HA-2군에서 유의한 증가를 보였다.
9. 간조직의 광학현미경 관찰에서 control군에 비하여 HA-1군에서는 대조군에 비하여, 간세포 핵의 밀도가 높게 관찰되었고 간세포 핵도 비교적 동그랗게 뚜렷이 관찰되었으며, HA-2군에서는 대조군에 비하여 간세포 핵 주변의 염색도가 낮게 관찰되었으나 간세포의 핵은 비교적 규칙적으로 둥글게 관찰되었다.

VI. 참고문헌

1. 全國韓醫科大學 肝系內科學. 서울 : 東洋醫學研究院. 2001 : 22-27, 32-38, 210-19.

2. 통계청. 2006년도 사망원인 통계결과. 서울 : 통계청. 2007 : 1-25.
3. 김정제, 김병운, 우홍정, 김덕호, 최가영. 東醫肝系內科學. 과주 : 집문당. 1986 : 27-36.
4. 上海中醫學院. 鍼灸學. 香港 : 商務印書館. 1982 : 211-12.
5. 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學教室. 鍼灸學(하). 과주 : 집문당. 2001 : 145-7, 1015.
6. 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學教室. 鍼灸學(상). 과주 : 집문당. 2001 : 484.
7. 정보섭, 신민교. 도해향약(생약)대사전(식물편). 서울 : 영림사. 1998 : 545-48.
8. 신민교. 임상본초학. 서울 : 영림사. 1997 : 244-8.
9. 이시진. 본초강목. 서울 : 고문사. 1988 : 627.
10. 홍윤정. 상백피의 지질과산화 및 간독성에 미치는 영향. 淑明女子大學校 大學院. 1996.
11. 김애경. 桑白皮의 肝機能 保護效果에 관한 研究. 曉星女子大學校. 1995.
12. 김선여, 이희삼, 류강선, 이은주, 김영중. 사염화탄소에 의해 유발된 간독성에 대한 상백피 추출물의 간보호효과. 약학학회지. 1999 ; 43(3) : 391-6.
13. Jonker AM, Dijkhuis FW, Kroese FG, Hardonk MJ, Grond J. Immunopathology of acute galactosamine hepatitis in rats. Hepatology. 1990 : 11(4) : 622-7.
14. 서울대학교 의과대학. 소화기학원론. 서울 : 서울대학교 출판부. 1991 : 357-9.
15. 대한약침학회. 약침요법시술서(II). 서울 : 대한약침학회. 2000 : 13-62.
16. 신길구. 신씨본초학. 서울 : 수문사. 1988 : 627.
17. 구본홍. 본초비요. 서울 : 고문사. 1962 : 112.
18. 국가중의약관리국 중화본초편찬위원회. 중화본초. 상해 : 상해과학기술출판사. 1992 : 525-8.
19. 중국본초도록출판위원회. 중국본초도록. 서울 : 정담. 1988 : 54.
20. 진존인. 도설한방의약대사전. 동경 : 강담사. 1982 : 350-3.
21. Keppler D, Decker K. Studies on the mechanism of galactosamine-1-phosphate and its inhibition of UDP-glucose pyrophosphorylase. Eur J Biochem. 1969 ; 10(2) : 219-25.
22. Decker K, Keppler D, Pausch J. The regulation of pyrimidine nucleotide level and its role in experimental hepatitis. Adv Enzyme Regul. 1973 ;

- 11 : 205-30.
23. Farber JL, Gill G, Konishi Y. Prevention of galactosamine-induced liver cell necrosis by uridine. *Am. J Pathol.* 1973 ; 72(1) : 53-62.
24. Padma P, Setty OH. Effect of administration of galactosamine hydrochloride on rat liver mitochondria. *Indian J Biochem Biophys.* 1997 ; 34(3) : 296-301.
25. 이삼열. 임상병리해석법. 서울 : 연세대학교 출판부. 1991 : 96-104.
26. Gabriel L Plaa, William R Hayes. Principles and method of Toxicology. New York : Raben Press. 1982 ; 407-45.
27. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol.* 1957 ; 28(1) : 56-63.
28. 이귀녕, 이종순. 임상병리파일. 서울 : 의학문화사. 1996 : 122-6, 150-4, 229-31, 259-61, 278-82, 740-1.
29. 黃炳泰. 藥鍼이 附子로 誘發된 肝損傷에 미치는 影響. 圓光大學校 大學院. 1995 ; 1-2, 39-47.
30. Rasenack J, Koch HK, Nowack J, Lesch R, Decker K. Hepatotoxicity of D-galactosamine in the isolated perfused rat liver. *Exp Mol Pathol.* 1980 ; 32(3) : 264-75