

## 역류성식도염 유발 흰쥐에 대한 二陳湯加味方の 효과

김희준, 임소연, 곽민아, 김대준, 변준석  
대구한의대학교 한의과대학 비계내과학교실

### Effects of *Yijintang-gamibang* on Reflux Esophagitis Induced by Pylorus and Forestomach Ligation in Rat

Hee-jun Kim, So-Yeon Lim, Min-a Kwak, Dae-jun Kim, Joon-seok Byun  
Dept. of Oriental Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dae-Gu Hanny University

#### ABSTRACT

**Purpose** : The object of this study was to observe the suppressive effects of *Yijintang-gamibang* (YJGMB), *Yijintang* with *Atractylodis Rhizoma*, *Massa Medicata Fermentata*, *Hordei Fructus Germinatus*, and *Coptidis Rhizoma*. YJGMB has been traditionally used in Korean medicine for treating various digestive diseases. We tested it on the rat reflux esophagitis (RE) induced by pylorus and forestomach ligation in rats as compared with omeprazole, a well-known proton pump inhibitor.

**Method** : Three different dosages of YJGMB 200, 100 and 50mg/kg, were orally pretreated once a day for 28 days before pylorus and forestomach ligation. Seven groups, each of 8 rats per group were used in the study.

Six hours after pylorus and forestomach ligation, changes of the stomach and esophagus lesion areas, gastric volumes, acid and pepsin outputs, invasive lesion percentages, fundic mucosa and total thicknesses were measured as histomorphometry. The results were compared with omeprazole, antioxidant and proton pump inhibitor, and 30 and 10mg/kg treated groups in which the effects on RE were already confirmed.

**Results** : As results of pylorus and forestomach ligation, marked increases of esophageal and gastric mucosa lesion areas, gastric volumes, acid outputs, pepsin outputs were observed with histopathological changes of RE, such as hemorrhages, ulcerative lesions and edematous changes on the fundic mucosa. However, these pylorus and forestomach ligation-induced RE were dose-dependently inhibited by treatment of 200, 100 and 50mg/kg of YJGMB. YJGMB 200mg/kg showed similar protective effects as compared with 30mg/kg of omeprazole in the present study, and more favorable effects were observed in 50mg/kg of YJGMB treated rats as compared with omeprazole 10mg/kg in the present study.

**Conclusion** : The results obtained in this study suggest that YJGMB has favorable protective effects on the RE induced by pylorus and forestomach ligation. Therefore, it is expected that YJGMB will also show favorable effects on RE corresponding well to the suggestion of traditional Korean medicine. However, more detailed mechanism studies should be conducted in future with the screening of the biological active chemical compounds in herbs.

**Key words** : *Yijintang-gamibang*, Reflux Esophagitis, Omeprazole

#### 1. 緒 論

역류성 식도염은 위 내용물(주로 산과 펩신)이

식도로 역류하여 속쓰림과 상복부 통증 등 다양한 임상 증상과 점막의 변화를 가져오는 질환으로<sup>1</sup>, 서양의 경우 5% 이상의 유병률을 보이는 비교적 흔한 질환 중의 하나로, 약 복용을 중단하였을 경우 1년 이내에 50~80%가 재발해 약물의 초치료가 매우 중요하다<sup>2-3</sup>. 이러한 역류성 식도염의 초치료

· 교신저자: 변준석 대구시 수성구 상동 165  
대구한방병원 비계내과학교실  
TEL: 053-770-2176  
E-mail : heejuny513@hanmail.net

로서 과거에 산 분비 억제제인 H<sub>2</sub>RA-수용체 길항제가 사용되었으나, 심한 식도염의 경우에는 치료 효과가 만족스럽지 못하고 재발의 빈도가 높아 강한 산 분비 억제 작용을 갖는 프로톤펌프억제제(Proton pump inhibitor: PPI)가 비용-효과면에서 우수성이 입증되어 널리 사용되고 있다<sup>4,7</sup>. 그 중 omeprazole은 대표적인 PPI 제제로, 현재 역류성 식도염 치료제 개발에 있어 하나의 대조약물(reference drug)로 흔히 이용<sup>8</sup>되고 있어 본 연구의 대조약물로 사용하여 비교하였다. 하지만 최대 40-60%에 이르는 환자의 경우는 충분한 기간의 산 분비 억제제의 투여에도 불구하고 증상의 완전한 소실이 이루어지지 않으며 오히려 협착이나 암 등의 합병증이 발생하기도 한다<sup>9</sup>.

본 실험에 사용된 二陳湯加味方은 《東醫寶鑑雜病篇 噯氣門》<sup>10</sup>에 기록된 처방으로 위궤양을 포함한 소화기 질환이 濕熱로 인한 實證일 경우 활용하였다. 실험 연구에서 二陳湯은 흰 쥐의 gastrin, uropepsin, histamine, somastatin의 분비를 촉진시키고<sup>11-12</sup>, 위 운동성을 촉진시키며 위점막 손상을 치료하는데 효과가 있는 것으로 보고되었다<sup>13-14</sup>. 역류성 식도염에 대한 연구로는 황<sup>15</sup>이 유문 및 전위 결찰로 유발된 rat 역류성 식도염에 대해 二陳湯加味方을 투여하여 유의한 효과를 얻은 바 있으나, 저용량 Omeprazole(10mg/kg)과 二陳湯加味方의 효과를 비교하지 못하였고, 二陳湯加味方의 유효 용량을 확인하지 못하였다.

이에 저자는 본 연구에서 유문 및 전위 결찰로 유발된 rat 역류성 식도염에 대한 효과를 평가하고자 二陳湯加味方 추출물 200, 100, 50mg/kg의 농도로 각각 경구 투여하고 실험결과는 PPI 계열인 Omeprazole 30, 10mg/kg 투여군과 각각 비교·평가하여 二陳湯加味方이 역류성 식도염에 매우 양호한 효과를 나타내는 것으로 관찰되었기에 이를 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 二陳湯加味方 추출물

본 실험에 사용된 약제는 약업사(효성약업사, 대구, Korea)에서 매입한 것을 현미경하에서 관능 검사를 통하여 선정하여 사용 하였으며, 본 실험에 사용된 二陳湯加味方 2배방 분량의 조성은 Table 1 과 같다. 선정된 약제 1첩 분량(68g)을 취하여 정제수 2000ml로 가열 추출한 후, 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(N-N type; LAB Camp, Dajeon, Korea)로 감압농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer (PVTFD10A; IShin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 총 17.00g, (수율 약 25.01%)의 진갈색의 추출물을 얻어 실험에 사용하였다. 준비한 二陳湯加味方 추출물은 -20℃의 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였으며, 본 실험에서 사용한 용매인 증류수에 20mg/ml의 농도까지 비교적 잘 용해되었다.

Table 1. Composition of *Yijintang-gamibang* Used in This Study

藥物名	生藥名	用量 (g)
半夏	<i>Pinelliae Tuber</i>	16
陳皮	<i>Aurantii nobilis Pericarpium</i>	8
茯苓	<i>Poria</i>	8
蒼朮	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	8
神麴	<i>Massa Medicata Fermentata</i>	8
麥芽	<i>Hordei Fructus Germinatus</i>	8
黃連	<i>Coptidis Rhizoma</i>	8
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4
Total	8 types	68

### 2. 실험동물 및 사양관리

56마리의 수컷 Sprague-Dawely rat(6-week old upon receipt, SLC, Japan)를 7일간의 순화과정을 거쳐 실험에 사용하였으며, 순화과정 및 실험 전 기간동안 온도(20~25℃)와 습도(30~35%)가 조절된 사육실에서 랫트용 polycarbonate 사육상자에 5마리씩 수용하여 사육하였고, 명암 주기(light :

dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였으며, 사료 (Samyang, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다. 이 중 48마리는 유문 및 전위부 결찰로 역류성 식도염을 유발하였으며, 나머지 8마리는 위 수술 정상 대조군(Sham control)으로 사용하였다. 모든 실험동물은 18시간 정도 절식을 실시한 다음 약물을 투여하였으며 (이 기간에도 음수는 자유롭게 공급하였다), picric acid로 개체를 식별하였다. 실험동물은 아래와 같이 군당 8마리씩 7그룹으로 구분하였으며, 본 실험에 사용된 모든 실험동물은 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animals'에 준하여 취급하였다<sup>16</sup>.

### 3. 二陳湯加味方 추출물 및 omeprazole의 투여

200, 100 및 50mg/kg의 二陳湯加味方 추출물을 각각의 농도로 멸균 증류수에 용해시켜 동물 체중

kg 당 10ml의 용량으로 금속제 Zonde가 부착된 1 ml 주사기(syringe)를 이용하여, 유문·전위부 결찰 수술 28일전부터 매일 1회씩 강제로 경구 투여하였으며, 30 및 10mg/kg의 omeprazole (Sigma, MO, USA) 역시 멸균 증류수에 용해시켜, 동일한 방법으로 유문·전위부 결찰 수술 28일전부터 매일 1회씩 강제로 경구 투여하였으며 수술 1시간 전에 1회 경구 투여하였다. Omeprazole의 농도는 rat의 유문·전위부 결찰 역류성 식도염에 유효한 효과를 나타내는 것으로 알려진 투여용량 30mg/kg을 고농도 투여군으로 선정하였으며<sup>17</sup>, 용량간의 상관관계를 확인하기 위해 10mg/kg을 저용량 투여군으로 선정하였다. Sham 대조군과 역류성 식도염 대조군에서는 二陳湯加味方 추출물 대신 멸균 증류수만 동일한 방법으로 투여하였다. 본 실험에 사용한 실험군, 투여 schedule 및 용량은 Table 2에 요약하였다.

Table 2. Experimental Design Used in This Study

Group	RE operation*/Test article/Dose(mg/kg/day)
control	Sham Distilled water and sham-operated rats
	RE Distilled water and RE operated rats
Reference	Omeprazole30 Omeprazole 30mg/kg and RE operated rats
	Omeprazole10 Omeprazole 10mg/kg and RE operated rats
YJGMB	YJGMB 200 YJGMB 200mg/kg and RE operated rats
	YJGMB 100 YJGMB 100mg/kg and RE operated rats
	YJGMB 50 YJGMB 50mg/kg and RE operated rats

\*RE operation: pylorus and forestomach ligation, RE: reflux esophagitis, YJGMB: *Yijintang-gamibang* aqueous extracts

### 4. 역류성 식도염 유발

세용량의 二陳湯加味方 추출물, 두용량의 omeprazole 또는 멸균 증류수 최종 투여 1시간 후, 유문·전위부 결찰 수술로 역류성 식도염을 유발하였으며<sup>18</sup>, 역류성 식도염을 유발하기 위해 모든 실험동물은 18시간 이상 절식을 실시한 다음 최종 약물 투여 1시간 후, Zoletile mixture (Virbac, France; 25 mg/kg, 복강투여) 마취 하에, 백선을 따라 2cm 정도 절개하여 개복하고, 위의 대만 및 소만 부위를 노

출한 다음 Fig. 1에서와 같이 유문부위를 silk(2-0; B. Braun Surgical S.A., Spain)를 이용하여 결찰하고, 순차적으로 전위와 분문 사이의 limiting ridge 부분을 동일한 방법으로 결찰하였다. 유문 및 전위부 결찰 직후 복강과 피부를 폐쇄하여, 역류성 식도염을 유발하였다. 한편 Sham 대조군에서는 동일한 방법으로 위를 노출한 다음 유문부 및 전위부 결찰을 실시하지 않고 동일한 방법으로 창강을 폐쇄하였다. 수술 6시간 후 안와정맥총에서 약 1ml의

혈액을 채취 한 다음, 모든 실험동물을 경추탈골로 희생하였다.

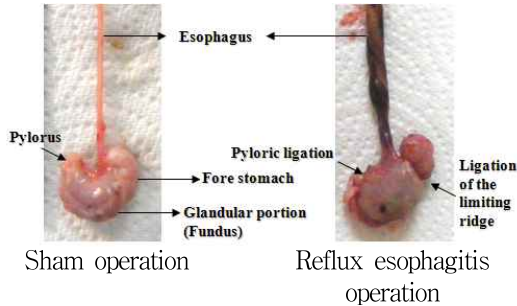


Fig. 1. Preparation of Reflux Esophagitis Model in Rats

### 5. 체중의 측정

모든 실험동물의 체중을 투여 시작 1일 전, 투여 시작일, 투여 시작 7, 14, 21, 26 일 후, 최종 희생일 (유문·전위부 결찰 수술 전)에 각각 전자저울(Precisa Instrument, Switzerland)을 이용하여 측정하였다. 또한 투여시작시의 개체에 따른 체중 차이에 의한 변화를 줄이기 위해, 약물 투여후 체중 변화인 증체량을 아래의 공식 [1]을 이용하여 산출하였다.

EQUATION [1]. Body weight gain after test article or reference treatment (g)

$$= [\text{Body weight at sacrifice} - \text{body weight at start of test article or reference}]$$

### 6. 식도 및 위 점막 손상부위 면적의 측정

모든 실험동물은 유문 및 전위부 결찰 수술 6시간 후, 희생하여, 위와 식도를 적출한 다음 10% 중성포르말린(10% buffered formalin; NBF)에 고정시킨 다음 이전의 방법<sup>19)</sup>에 따라 식도와 위에 형성된 병변의 총 면적 (mm<sup>2</sup>/organs)을 각각 10배의 실체현미경(dissecting microscope Nikkon, Japan) 하에서 측정하였다.

### 7. 위내용물 양 (Gastric volume)의 측정

Rao와 Vijayakumar<sup>17)</sup>의 방법에 따라, 유문 및

전위부 결찰 수술 6시간 후, Sham 대조군을 제외한 모든 실험동물에서 결찰한 위부분에 형성된 내용물을 수집하여 5분간 2000g에서 원심분리한 다음, 아래의 공식 [2]와 같이 실험동물의 체중을 kg으로 환산하였다.

EQUATION [2]. Gastric volume (ml/kg of body weight)

$$= (\text{Collected amount of gastric contents} \times 1000) / \text{Body weight of animal (g)}$$

### 8. 위산 분비도(gastric acid output) 측정

Rao와 Vijayakumar<sup>17)</sup>의 방법에 따라, 원심분리한 위 내용물에서 0.01 N NaOH와 phenolphthalein을 발색제로 이용하여 위산분비도를 μEq/6 hrs로 측정하였다.

### 9. Pepsin 분비도 측정

Sairam et al.<sup>20)</sup>의 방법에 따라, 원심분리한 위 내용물에서 hemoglobin을 이용하여 발색제로 이용하여 Pepsin 분비도를 μmol of tyrosine/6hrs로 측정하였다.

### 10. 조직병리학적 관찰

유문 및 전위부 결찰 수술 6시간 후 위기저부(Fundus)의 조직을 분리하여 10% NBF에 고정한다음, 탈수, 포매를 거쳐 파라핀 block을 준비하고, 3μm의 조직절편을 제작하여 Hematoxylin-Eosin 염색을 실시하여 광학현미경하에서 관찰하였다. 위 점막 두께를 CCD image analyzer (DMI-300, DMI, Korea)를 이용하여, mm/crossly trimmed tissues로 측정하였다. 또한 위벽에서 병변이 침습한 비율 (invasive percentages)을 아래의 공식 [3]을 이용하여 산출하였다.

EQUATION [3]. Invasive percentages of lesions (%)

$$= (\text{Length of lesions on the crossly trimmed fundic walls} / \text{total thickness of crossly trimmed fundic walls}) \times 100$$

### 11. 통계처리

모든 수치는 평균 ± 표준편차로 표시하였으며, 다중비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고, 분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증하였다. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 least-significant differences(LSD) test로 사후검증을 실시하여 군간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W를 실시하여 군간의 유의성을 검증하였다. 모든 통계처리는 SPSS for Windows (Release 14.0K, SPSS Inc., USA)를 이용하여 평가하였으며, p-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다

## III. 結果

### 1. 체중 및 증체량의 변화

투여시작일의 절식 후 체중은 sham 대조군, 역류성 식도염 대조군, omeprazole 30 및 10mg/kg 투여군, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50mg/kg 투여군에서 각각 169.88±2.95, 170.25±6.23, 169.75±5.31, 170.13±3.40, 170.50±4.38, 170.00±4.87 및 169.13±5.67 g/rat으로 관찰되었다(Fig. 2).

또한 28일간의 전 투여 후, 최종 희생일의 절식 후 체중은 sham 대조군, 역류성 식도염 대조군, omeprazole 30 및 10mg/kg 투여군, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50mg/kg 투여군에서 각각 214.63±9.47, 217.38±5.37, 214.25±10.74, 215.63±6.91, 226.25±6.54, 217.63±8.58 및 213.88±9.23 g/rat으로 관찰되었다(Fig. 2).

따라서 28일간의 전 투여기간 동안의 체중 변화량인 증체량은 sham 대조군, 역류성 식도염 대조군, omeprazole 30 및 10mg/kg 투여군, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50mg/kg 투여군에서 각각 44.75±8.55, 47.13±4.42, 44.50±5.98, 45.50±6.19, 55.75±5.78, 47.63±7.03 및 44.75±8.05 g/rat으로 관찰되었다(Fig. 3).

二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에 국한되

어, 투여 21일후부터역류성 식도염 및 sham 대조군에 비해 유의성 있는 ( $p<0.01$  또는  $p<0.05$ ) 현저한 체중의 증가가 인정되었으며, 투여기간 동안의 증체량 역시 역류성 식도염 및 sham 대조군에 비해 유의성 있는 ( $p<0.01$ ) 증가를 나타내었다. 한편 二陳湯加味方 추출물100 및 50mg/kg 투여군, omeprazole 30 및 10mg/kg 투여군에서는 각각 역류성 식도염 및 sham 대조군과 유사한 체중 및 증체량의 변화를 각각 나타내었고, 역류성 식도염 대조군 역시 전 투여기간 동안 sham 대조군과 유사한 체중 또는 증체량의 변화를 나타내었다(Fig. 2, 3).

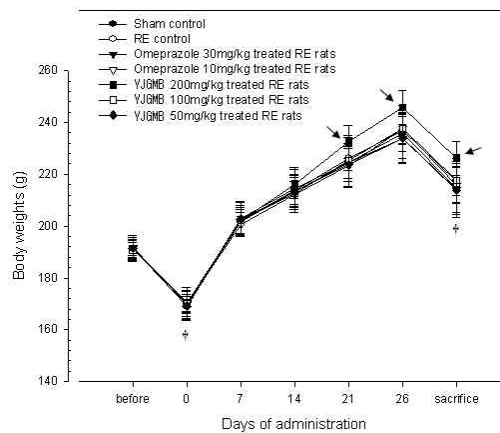


Fig. 2. Body Weights Detected during Oral Treatment of Three Different Dosages of YJGMB, Two Dosages of Omeprazole and/or Vehicle before RE Operation.

→  $p<0.01$  or  $p<0.05$  compared with sham or RE control, † All animals were overnight fasted at start of administration and sacrifice.

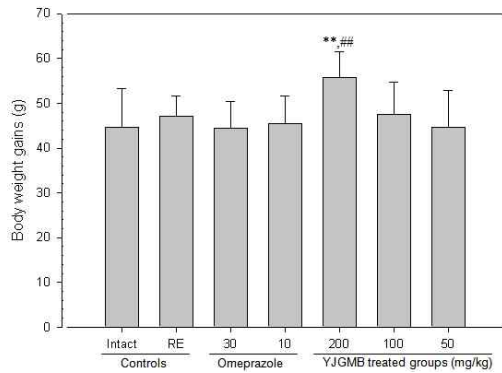


Fig. 3. Body Weights Gains Detected after Oral Treatment of Three Different Dosages of YJGMB, Two Dosages of Omeprazole and/or Vehicle before RE Operation.

\*\* p<0.01 compared with sham control, # p<0.01 compared with RE control.

## 2. 식도 및 위 점막 손상부위 면적의 변화

역류성 식도염 유발 대조군에서는 식도 점막 손상부위 면적은 sham 대조군, 역류성 식도염 대조군, omeprazole 30 및 10mg/kg 투여군, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50mg/kg 투여군에서 각각 3.87 ±3.54, 153.39±20.57, 70.47±17.58, 113.97±9.95, 70.28±13.51, 87.86±11.37 및 103.11± 13.20 mm<sup>2</sup>/esophagus/rat으로 관찰되었다(Fig. 4).

역류성 식도염 유발 대조군에서는 위 점막 손상부위 면적은 sham 대조군, 역류성 식도염 대조군, omeprazole 30 및 10mg/kg 투여군, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50mg/kg 투여군에서 각각 2.68 ±2.06, 48.30±6.84, 21.82±3.91, 35.99±8.14, 21.64±5.72, 28.32±7.38 및 32.57±6.44 mm<sup>2</sup>/stomach/ rat으로 관찰되었다(Fig. 5).

본 실험의 결과, 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 omeprazole 30mg/kg 투여군과 유사한 식도 및 위 점막 손상부위 증가 억제 효과가 인정되었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg 투여군을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方 투여군에서는 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 식

도 및 위 점막 손상부위 증가 억제 효과가 각각 인정되었다(Fig. 4-6).

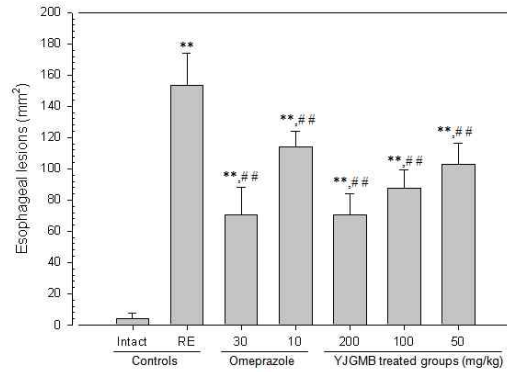


Fig. 4. Changes on the Esophageal Lesion Scores

\*\* p<0.01 compared with sham control # p<0.01 compared with RE control.

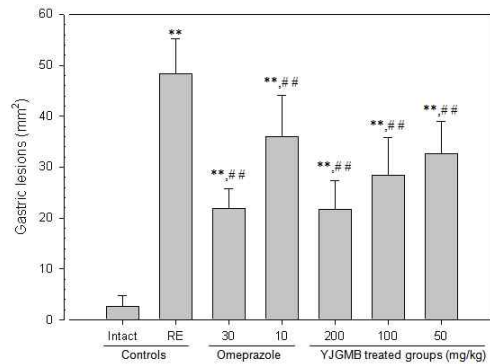


Fig. 5. Changes on the Gastric Lesion Scores

\*\* p<0.01 compared with sham control # p<0.01 compared with RE control.

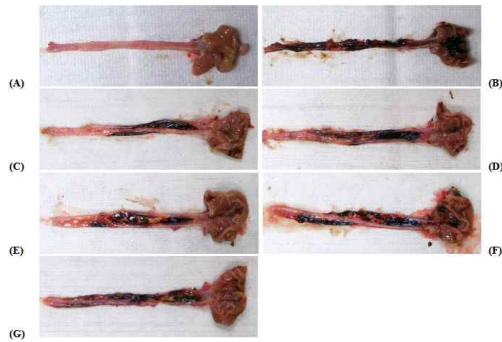


Fig. 6. Macroscopic Appearance of Esophageal and Gastric Damages

Sham control rat (A)  
 RE control rat (B)  
 Omeprazole 30mg/kg treated rats (C)  
 Omeprazole 10mg/kg treated rats (D)  
 YJGMB 200mg/kg treated rats (E)  
 YJGMB 100mg/kg treated rats (F)  
 YJGMB 50mg/kg treated rats (G)  
 RE: reflux esophagitis, YJGMB: *Yijintang-ganibang* aqueous extracts

### 3. 위 내용물 양 (Gastric volume)의 변화

위 내용물 함량은 역류성 식도염 대조군, omeprazole 30 및 10mg/kg 투여군, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50mg/kg 투여군에서 각각 12.72±2.55, 5.68±0.96, 9.29±1.10, 5.85±1.46, 7.54±2.13 및 8.72±0.96 ml/kg of body weights로 관찰되었다(Fig. 7).

본 실험의 결과, 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 omeprazole 30mg/kg 투여군과 유사한 위 내용물 증가 억제 효과가 인정되었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg 투여군을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方 투여군에서는 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 위 내용물 증가 억제 효과가 각각 인정되었다.

### 4. 위산 분비도의 변화

위산 분비량은 역류성 식도염 대조군, omeprazole 30 및 10mg/kg 투여군, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50mg/kg 투여군에서 각각 197.94±14.06, 86.47±16.50, 144.64±15.29, 86.58±22.22, 117.96±18.55 및

134.76±11.96 μEq/hr로 관찰되었다(Fig. 8).

본 실험의 결과, 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 omeprazole 30mg/kg 투여군과 유사한 위산 분비 억제 효과가 인정되었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg 투여군을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方 투여군에서는 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 위산 분비 억제 효과가 각각 인정되었다.

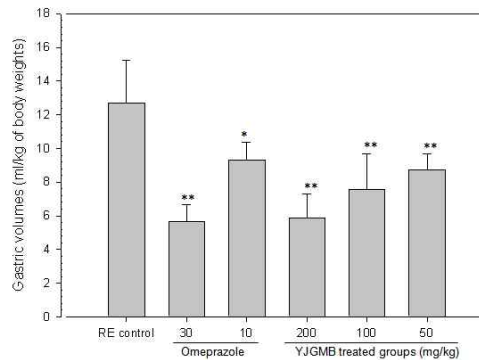


Fig. 7. Changes on the Gastric Volumes

\*\* p<0.01 and \* p<0.05 compared with RE control.

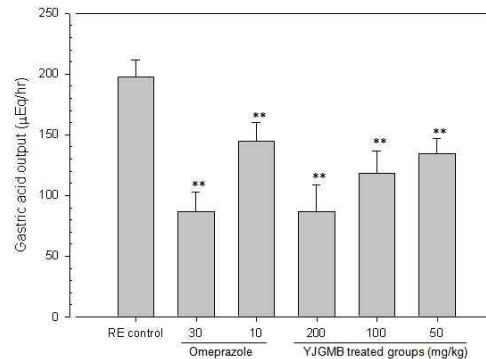


Fig. 8. Changes on the Gastric Acid Output

\*\* p<0.01 compared with RE control.

### 5. Pepsin 분비도의 변화

Pepsin 분비량은 역류성 식도염 대조군, omeprazole 30 및 10mg/kg 투여군, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50mg/kg 투여군에서 각각 837.88±135.94,

388.66±70.44, 636.72±107.08, 360.86±47.65, 480.00±40.83 및 562.43±93.62 μmol/6 hrs로 관찰되었다(Fig. 9).

본 실험의 결과, 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 omeprazole 30mg/kg 투여군과 유사한 pepsin 분비 억제 효과가 인정되었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg 투여군을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方 투여군에서는 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 pepsin 분비 억제 효과가 각각 인정되었다.

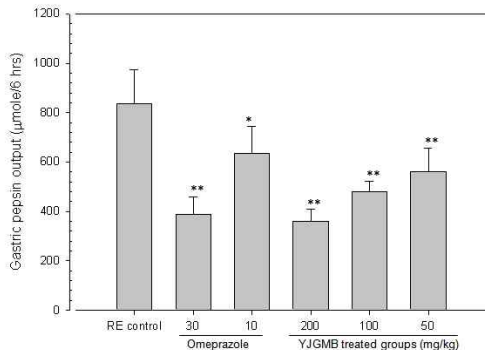


Fig. 9. Changes on the Gastric Pepsin Output

\*\* p<0.01 and \* p<0.05 compared with RE control.

### 6. 분문 위의 조직병리학적 변화

분문위의 병변 침습 비율은 omeprazole 30 및 10 mg/kg 투여군, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50 mg/kg 투여군에서 각각 3.06±3.42, 69.97±17.22, 24.56±5.08, 38.35±6.36, 23.98±6.64, 29.85±2.87 및 33.90±4.85 %/crossly trimmed fundus로 관찰되었다(Fig. 11).

분문위 점막층의 두께는 omeprazole 30 및 10mg/kg 투여군, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50mg/kg 투여군에서 각각 1815.12±158.16, 1022.95± 111.84, 1503.46±159.25, 1234.70±88.37, 1502.69±156.80, 1423.20±73.44 및 1299.90±100.06 μm/crossly trimmed esophagus로 관찰되었다(Fig. 12).

본 실험의 결과, 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 omeprazole 30mg/kg 투여군과 유사한 위 병변 침습 비율 증가 및 위 점막 감소 억제 효

과가 인정되었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg 투여군을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方 투여군에서는 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 위 조직병리학적 및 histomorphometrical 변화 억제 효과가 각각 인정되었다(Fig. 10-12).

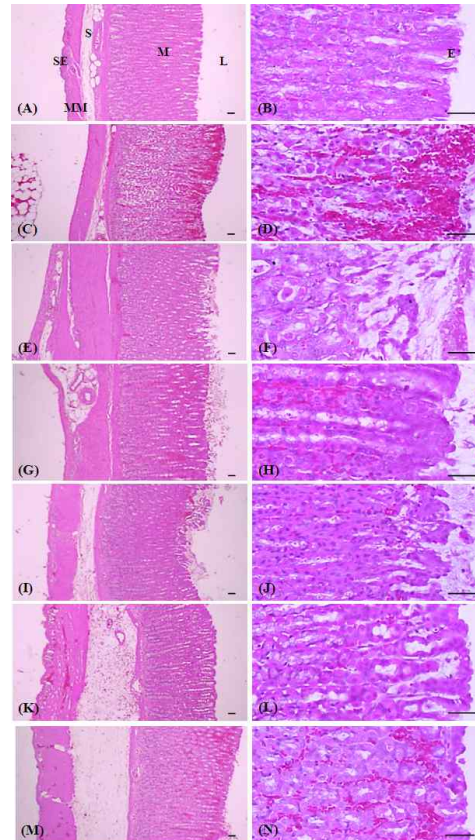


Fig. 10. Histopathological Observations of the Fundus

Sham control rat (A, B)  
 RE control rat (C, D)  
 Omeprazole 30mg/kg treated rats (E, F)  
 Omeprazole 10mg/kg treated rats (G, H)  
 YJGMB 200mg/kg treated rats (I, J)  
 YJGMB 100mg/kg treated rats (K, L)  
 YJGMB 50mg/kg treated rats (M, N)  
 RE: reflux esophagitis, YJGMB: *Yijintang-gamibang* aqueous extracts, L: lumen, M: mucosa layer, S: submucosa layer, MM: muscle layer, SE: Serosa, E: epithelium, All Hematoxylin-Eosin stain, Scale bars = 80μm



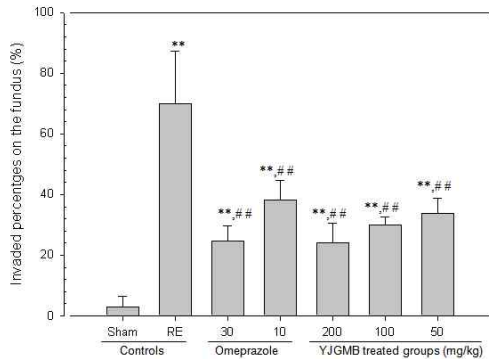


Fig. 11. Changes on the Invaded Lesion Percentages in Fundic Gastric Regions

\*\* p<0.01 compared with sham control # p<0.01 compared with RE control.

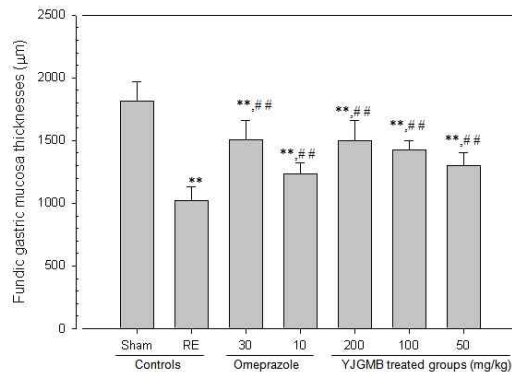


Fig. 12. Changes on the Fundic Gastric Mucosa Thicknesses

\*\* p<0.01 compared with sham control # p<0.01 compared with RE control.

#### IV. 考 察

역류성 식도염은 한의학적으로 吞酸, 吐酸, 嘈雜에 해당하며, 吞酸, 吐酸 대하여 《內經》에 처음으로 ‘諸嘔吐酸 暴注下迫 皆屬於熱’이라 하여 原因을 熱이라 하였으며, 그 후 《河間》은 火盛하여 肺金을 抑制치 못하므로 肝이 實하여 吐酸케 된다고 하였다. 吞酸의 증상은 酸水刺心, 吐酸의 증상은 吐出酸水로 살펴 볼 수 있으며 治療에 있어서

芩連丸, 蒼連湯, 芩苓湯 등과 함께 增味二陳湯을 제시하였다<sup>21</sup>.

嘈雜은 ‘似飢不飢 似痛不痛 有懊憹不自寧’을 主症으로 하고 兼하여 噯, 痞, 惡心の 證狀이 同伴되는 疾患 이며, 原因은 食傷, 痰火, 思慮傷心 등으로 보았으며, 治法에 있어서 痰火로 인한 경우에 二陳湯에 薑炒芩連, 梔子, 南星을 加味한 處方을 제시하였다<sup>21</sup>.

二陳湯加味方은 《東醫寶鑑 雜病篇 噯氣門》<sup>10</sup>에 기록된 처방으로 ‘氣實噯者 食罷噯轉腐氣 甚則物亦噯 濕熱所致 宜二陳湯加 蒼朮, 神麴, 麥芽, 薑炒黃連’라 하여 噯氣의 原因이 濕熱로 인한 實證일 경우 活用하는 처방으로 위궤양을 포함한 소화기 질환에 전통적으로 사용해오던 二陳湯에 效과를 증가시키기 위해 燥濕健脾, 祛風散寒, 明目 및 化濁避穢의 效능이 있는 蒼朮, 消食和胃한 效능이 있는 神麴, 消食和中, 下氣한 麥芽 및 清熱燥濕, 瀉火解毒, 清心除煩, 清熱明目, 厚腸止痢 등의 效능이 있는 黃連을 가미한 처방이다<sup>22</sup>. 그 중 黃連은 抗菌作用 및 항-Helicobacter pylori 效과<sup>23</sup>가 있는 것이 실험적으로 증명되었다.

실험 연구에서 二陳湯은 흰 쥐의 gastrin, uropepsin, histamine, somastatin의 분비를 촉진시키고<sup>11-12</sup>, 위 운동성을 촉진시키며 위점막 손상을 치료하는데 效과가 있는 것으로 보고되었다<sup>13-14</sup>. 역류성 식도염에 대한 연구로는 황<sup>15</sup>이 유문 및 전위 결찰로 유발된 rat 역류성 식도염에 대해 二陳湯加味方을 투여하여 유의한 效과를 얻은 바 있으나, 항궤양약의 效과시험에서 유의성 있는 항궤양 效과를 나타낸 저용량 Omeprazole(10mg/kg)<sup>24</sup>과 二陳湯加味方의 效과를 비교하지 못하였고, 二陳湯加味方의 유효 용량을 확인하지 못하였다. 본 연구에서는 이에 대한 效과를 평가하고자 유문 및 전위부 결찰 수술 28일 전부터 二陳湯加味方 추출물을 200, 100 및 50 mg/kg의 농도로 각각 경구투여하고, 결찰 수술 6시간 후 모든 실험동물을 희생하여, 식도와 위 손상 부위 면적, 위내용물의 양, 위산 분비도, pepsin 분

비도 및 위의 조직병리학적 변화를 각각 관찰하였으며, 위 병변의 침습률, 점막의 두께를 각각 histomorphometry적으로 측정하였다. 실험결과는 항산화 효과가 있는 것으로 알려진<sup>25</sup> PPI 계열인 omeprazole 30mg/kg 또는 10mg/kg 투여군과 비교·평가 하였다.

본 실험의 결과, 유문 및 전위부 결찰에 의해 현저한 식도 및 위점막 병변의 증가, 위 내용물의 증가, 위산 및 pepsin 분비도의 증가와 함께 식도 및 분문위 점막의 출혈, 궤양 및 부종과 같은 전형적인 역류성 식도염 소견이 이전의 보고들<sup>26-27</sup>과 유사하게 인정되었다.

본 실험의 결과, 역류성 식도염 및 sham 대조군에 비해 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 유의성 있는 체중 및 증체량의 증가가 인정된 점은, 일반적으로 면역활성 물질을 투여시, 체중의 증가가 인정된다고 알려져 있어<sup>28-29</sup>, 二陳湯加味方の 면역활성 효과와 관련이 있는 것으로 생각된다. 한편 현재 까지 二陳湯加味方 자체에 대한 면역활성 효과는 보고된 바 없으나, 二陳湯加味方の 구성 성분인 茯苓<sup>30</sup>, 麥芽<sup>31</sup> 및 甘草<sup>32</sup> 등의 면역활성 효과가 비교적 잘 알려져 있다.

식도 및 위점막 병변은 역류성 식도염에 대한 약물의 효과를 평가하기 위한 가장 기본적인면서도 확실한 지표로 사용되어 왔다<sup>17-19</sup>. 따라서 본 실험에서 200, 100 및 50mg/kg의 二陳湯加味方 추출물 투여에서 인정된 투여 용량 의존적인 육안 병변 감소는 二陳湯加味方の 역류성 식도염에 대한 효과를 직접적으로 나타내는 증거로 판단되며, 본 실험의 결과 200mg/kg 의 二陳湯加味方 추출물은 omeprazole 30mg/kg과 유사한 육안병변 감소 효과를 나타내었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方은 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 육안병변 감소 효과를 나타내었다.

위산은 역류성 식도염의 가장 중요한 유발인자 중 하나로<sup>33</sup> 역류성 식도염 및 이와 관련된 위점막

손상을 치료하기 위해서는 위의 pH 조절이 필수적이다<sup>34</sup>. 특히, 사람과 실험동물에서, histamine H2-receptor antagonists와 PPI 제제 등 위 분비 억제제에 의해 역류성 식도염의 감소 효과가 이미 잘 알려져 있다<sup>35-37</sup>. 한편 본 실험의 결과에서도 역류성 식도염 유발군에서는 현저한 위내용물 및 위산 분비 향진이 인정되었으나, 세용량의 모든 二陳湯加味方 추출물, omeprazole 투여에 의해 이들 분비향진이 현저히 경감되었다. 이러한 효과는 二陳湯加味方の 역류성 식도염에 대한 효과를 직접적으로 나타내는 또 하나의 증거로 판단되며, 본 실험의 결과 200mg/kg 의 二陳湯加味方 추출물은 omeprazole 30mg/kg과 유사한 위내용물 및 위산 분비향진 감소 효과를 나타내었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方은 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 위내용물 및 위산 분비향진 감소 효과를 나타내었다.

Pepsin은 분문위의 주세포에서 분비되는 소화효소의 일환으로 벽세포에서 염산 분비를 촉진하여, 위의 pH를 감소시킨다<sup>38</sup>. 따라서 Pepsin 분비도는 역류성 식도염의 유발에 매우 중요한 위치를 차지하며, Pepsin의 분비감소는 역류성 식도염 치료에 주 표적이 되어왔다<sup>39-42</sup>. 본 실험의 결과에서도 역류성 식도염 유발군에서는 현저한 pepsin 분비 향진이 인정되었으나, 세용량의 모든 二陳湯加味方 추출물, omeprazole 투여에 의해 pepsin 분비향진이 현저히 경감되었다. 이러한 효과는 二陳湯加味方の 역류성 식도염에 대한 효과를 직접적으로 나타내는 또 하나의 증거로 판단되며, 본 실험의 결과 200mg/kg 의 二陳湯加味方 추출물은 omeprazole 30mg/kg과 유사한 pepsin 분비향진 감소 효과를 나타내었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方은 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 pepsin 분비향진 감소 효과를 나타내었다.

역류성 식도염의 조직병리학적 소견은 국소궤양, 염증세포 침윤, 출혈과 점막의 국소적 탈락과

함께 점막하조직 층의 부종성 변화가 주 특징이며, 이러한 변화 역시 역류성 식도염에 대한 약효 평가시 매우 유용한 것으로 알려져 있다<sup>27,43-45</sup>. 본 실험의 결과 에서도 역류성 식도염 유발 대조군에서는 유의성 있는 분문위에서 병변 침습 비율, 분문 위 점막층의 두께는 유의성 있는 감소를 나타내었다. 분문위 점막의 감소는 국소적인 점막 탈락에 의한 이차적 변화로 판단된다. 한편 이러한 분문위의 조직병리학적 병변은 omeprazole, 二陳湯加味方 추출물 200, 100 및 50mg/kg 투여군에서 각각 역류성 식도염 유발 대조군에 비해 현저한 감소를 나타내었고, 유의성 있는 병변 침습 비율, 점막층, 점막아래 조직층, 분문위벽 전체의 두께의 변화를 각각 억제하였다. 본 실험의 결과 200mg/kg 의 二陳湯加味方 추출물은 omeprazole 30mg/kg과 유사한 분문위의 조직병리학적 변화를 나타내었었으며, 二陳湯加味方 추출물50mg/kg을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方은 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 억제 효과를 나타내었다.

이상의 결과에서 二陳湯加味方은 유문 및 전위부 결찰로 유발된 rat 역류성 식도염에 매우 양호한 효과를 나타내는 것으로 관찰되었으며, 200mg/kg의 二陳湯加味方 추출물은 omeprazole 30mg/kg 과 유사한 효과를 나타내었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方은 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 억제 효과를 나타내었다. 한편 금후 생리활성을 나타내는 화학성분의 검색과 더불어 다양한 방법으로 기전적인 연구를 더 수행해야 할 것으로 판단된다.

## V. 結 論

본 연구에서는 소화기계 질환의 치료에 전통적으로 사용되어 온 二陳湯에 蒼朮, 神曲, 麥芽 및 黃連을 가미한 二陳湯加味方の 추출물의 역류성 식도염에 대한 효과를 확인하기 위하여, 유문 및 전

위부 결찰 수술로 유발된 rat 역류성 식도염 모델을 이용 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 식도 및 위 점막 손상부위 면적의 변화: 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 omeprazole 30mg/kg 투여군과 유사한 식도 및 위 점막 손상부위 증가 억제 효과가 인정되었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg 투여군을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方 투여군에서는 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 식도 및 위 점막 손상부위 증가 억제 효과가 각각 인정되었다.
2. 위 내용물양의 변화: 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 omeprazole 30mg/kg 투여군과 유사한 위 내용물 증가 억제 효과가 인정되었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg 투여군을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方 투여군에서는 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 위 내용물 증가 억제 효과가 각각 인정되었다.
3. 위산 분비도의 변화: 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 omeprazole 30mg/kg 투여군과 유사한 위산 분비 억제 효과가 인정되었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg 투여군을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方 투여군에서는 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 위산 분비 억제 효과가 각각 인정되었다.
4. Pepsin 분비도의 변화: 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 omeprazole 30mg/kg 투여군과 유사한 pepsin 분비 억제 효과가 인정되었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg 투여군을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方 투여군에서는 omeprazole 10mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 pepsin 분비 억제 효과가 각각 인정되었다.
5. 분문 위의 조직병리학적 변화: 二陳湯加味方 추출물 200mg/kg 투여군에서 omeprazole 30mg/kg 투여군과 유사한 위 병변 침습 비율 증가 및 위

점막 감소 억제 효과가 인정되었으며, 二陳湯加味方 추출물 50mg/kg 투여군을 포함한 세용량의 모든 二陳湯加味方 투여군에서는 omeprazole 10 mg/kg 투여군에 비해 유의성 있는 위 조직병리학적 및 histomorphometrical 변화 억제 효과가 각각 인정되었다.

이상에서 二陳湯加味方 200, 100 및 50mg/kg의 투여에 의해 역류성 식도염 소견이 투여 용량 의존적으로 경감되어, 二陳湯加味方은 역류성 식도염에 매우 유효할 것으로 관찰되었다.

### 參考文獻

1. Kahrilas PJ, Quigley EM. Clinical esophageal pH recording: a technical review for practice guideline development. *Gastroenterology*. 1996; 110:1982-96.
2. Vigneri S, Termini R, Leandro G, et al. A comparison of five maintenance therapies for reflux esophagitis. *N Engl J Med*. 1995;333: 1106-10.
3. Harris RA, Kuppermann M, Richter JE. Prevention of recurrences of erosive reflux esophagitis: a cost-effectiveness analysis of maintenance proton pump inhibition. *Am J Med*. 1997;102:78-88.
4. Kawano S, Murata H, Tsuji S, et al. Randomized comparative study of omeprazole and famotidine in reflux esophagitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2002;17:955-9.
5. Yun HR, Jung HY, Park HJ, Bae SC. Cost-effectiveness analysis of proton pump inhibitors and ranitidine in the treatment of gastroesophageal reflux disease. *Korean J Med*. 2002;62:504-12.
6. Marks RD, Richter JE, Rizzo J, et al. Omeprazole versus H<sub>2</sub>-receptor antagonists in treating patients with peptic stricture and esophagitis. *Gastroenterology*. 1994;106:907-15.
7. Dent J, Yeomans ND, Mackinnon M, et al. Omeprazole vs ranitidine for prevention of relapse in reflux oesophagitis. A controlled double blind trial of their efficacy and safety. *Gut*. 1994; 35:590-8.
8. McKeage K, Blick SK, Croxtall JD, Lyseng-Williamson KA, Keating GM. Esomeprazole: a review of its use in the management of gastric acid-related diseases in adults. *Drugs*. 2008;68: 1571-607.
9. DeVault KR, Castell DO. Updated guidelines for the diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol*. 1994;1434-40.
10. 허준. 동의보감. 서울: 법민문화사; 2005, p. 2135-7.
11. 장태수. 二陳湯의 鎮痛, 鎮痙消炎 및 Gastrin과 Uropepsin의 分泌에 미치는 影響. 경희대학교 대학원 석사학위논문, 1982.
12. 최정우. 二陳湯 煎湯液이 흰쥐 胃의 Gastrin, histamine, somatostatin 免疫反應細胞에 미치는 影響. 우석대학교대학원 석사학위논문, 2001.
13. 한숙영, 윤상협. 二陳湯이 정상 및 위 유문부가 부분폐색된 흰 쥐의 위 운동성에 미치는 효과. 대한한방내과학회지. 2009;30(1):107-18.
14. 배동주. 생쥐의 胃粘膜 損傷에 대한 二陳湯, 四君子湯 및 六君子湯의 比較 研究. 상지대학교 대학원 박사학위논문, 2005.
15. 황지영, 김대준, 변준석. 역류성 식도염에 대한 二陳湯加味方 효과 연구. 동의생리병리학회지. 2009;23(5):1073-9.
16. Department of Health, Education, and Welfare Publication (National Institute of Health) 1985: 85-123.
17. Rao CV, Vijayakumar M. Effect of quercetin, flavonoids and alpha-tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux esophagitis in

- rats. *Eur J Pharmacol.* 2008;589:233-8.
18. Nakamura K, Ogawa Y, Furuta Y, Miyazaki H. Effects of sodium polyacrylate (PANa) on acute esophagitis by gastric juice in rats. *Jpn J Pharmacol.* 1982;32:445-56.
  19. Nagahama K, Yamato M, Kato S, Takeuchi K. Protective effect of lafutidine, a novel H<sub>2</sub>-receptor antagonist, on reflux esophagitis in rats through capsaicin-sensitive afferent neurons. *J Pharmacol Sci.* 2003;93:55-61.
  20. Sairam K, Rao C.V, Dora BM, Kumar KV, Agrawal VK, Goel RK. Antiulcerogenic effect of methanolic extract of *Emblica officinalis*: an experimental study. *J Ethnopharmacol.* 2002; 82:1-9.
  21. 전국한의과대학 비계내과학 교수공저. 비계내과학. 서울: 한성기획; 2000, p. 57-8.
  22. 김동현, 김형민, 류종훈, 엄재영, 김상찬, 양재하, 조민경, 임종필, 홍승현. 한방약리학, 서울: 신일상사; 2006, p. 49-53, 115-21, 243-6, 279-82, 561-2, 586, 613-9.
  23. 신정인, 서운교. 黃連의 *Helicobacter pylori*에 대한 항균 효과. 대한한방내과학회지. 2003;24(2): 269-82.
  24. 이은방. 항궤양약 및 진경약의 약효검색. 한국응용약물학회 신약개발 연구발표회 초록집. 1992;1:46.
  25. Bicakci U, Tander B, Ariturk E, Aydin BK, Aydin O, Eren RRZ, Bernay F. Effects of omeprazole and gentamicin on the biochemical and histopathological alterations of the hypoxia/reoxygenation induced intestinal injury in newborn rats. *Pediatr Surg Int.* 2005;21:800-5.
  26. Katada K, Yoshida N, Isozaki Y, Tomatsuri N, Ichikawa H, Naito Y, Okanoue T, Yoshikawa T. Prevention by rebamipide of acute reflux esophagitis in rats. *Dig Dis Sci.* 2005;50: 97-103.
  27. Min YS, Bai KL, Yim SH, Lee YJ, Song HJ, Kim JH, Ham I, Whang WK, Sohn UD. The effect of luteolin-7-O-beta-D- glucuronopyranoside on gastritis and esophagitis in rats. *Arch Pharm Res.* 2006;29:484-9.
  28. Duarte CG, dos Santos GL, Azzolini AE, de Assis Pandochi AI. The effect of the antithyroid drug propylthiouracil on the alternative pathway of complement in rats. *Int J Immunopharmacol.* 2000;22:25-33.
  29. Pinzone Fox ML, Sastry MK, Parenti DM, Simon GL. Plasma leptin concentration increases early during highly active antiretroviral therapy for acquired immunodeficiency syndrome, independent of body weight. *J Endocrinol Invest.* 2005;28: 1-3.
  30. Chang HH, Yeh CH, Sheu F. A novel immunomodulatory protein from *Poria cocos* induces Toll-like receptor 4-dependent activation within mouse peritoneal macrophages. *J Agric Food Chem.* 2009;57: 6129-39.
  31. Chan WK, Law HK, Lin ZB, Lau YL, Chan GC. Response of human dendritic cells to different immunomodulatory polysaccharides derived from mushroom and barley. *Int Immunol.* 2007;19: 891-9.
  32. Cheng A, Wan F, Wang J, Jin Z, Xu X. Macrophage immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Glycyrrhiza uralensis* Fish. *Int Immunopharmacol.* 2008;8:43-50.
  33. DeMeester TR, Wernly JA, Bryant GH, Little AG, Skinner DB. Clinical and in vitro analysis of determinants of gastroesophageal competence: a study of the principles of antireflux surgery. *Am J Surg.* 1979;137:39-46.
  34. Hunt RH. Importance of pH control in the

- management of GERD. Arch Intern Med. 1999;159:649-57.
35. Meuwissen SGM, Klinkenberg-Knol EC. Treatment of reflux oesophagitis with H<sub>2</sub>-receptor antagonist. Scand J Gastroenterol. 1988;23 Suppl 146:201-13.
  36. Klinkenberg-Knol EC, Jansen JBMJ, Lamers CBHQ, Neils F, Snel P, Meuwissen SGM. Use of omeprazole in the management of reflux oesophagitis resistant to H<sub>2</sub>-receptor antagonists. Scand J Gastroenterol. 1989;24 Suppl 166: 88-93.
  37. Inatomi N, Nagaya H, Takami K, Shino A, Satoh H. Effects of a proton pump inhibitor, AG-1749 (lansoprazole), on reflux esophagitis and experimental ulcers in rats. Jpn J Pharmacol. 1991;55:437-51.
  38. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology, third edition, Elsevier:Philadelphia. 2007:381-411.
  39. Katz PO. Lessons learned from intragastric pH monitoring. J Clin Gastroenterol. 2001;33:107-13.
  40. Orlando RC. Pathogenesis of gastroesophageal reflux disease. Am J Med Sci. 2003;326:274-8.
  41. Castell DO, Murray JA, Tutuian R, Orlando RC, Arnold R. Review article: the pathophysiology of gastro-oesophageal reflux disease - oesophageal manifestations. Aliment Pharmacol Ther. 2004; 20 Suppl 9:14-25.
  42. Wang C, Hunt RH. Precise role of acid in non-erosive reflux disease. Digestion. 2008;78 Suppl 1:31-41.
  43. Pera M, Brito MJ, Poulson R, Riera E, Grande L, Hanby A, Wright NA. Duodenal-content reflux esophagitis induces the development of glandular metaplasia and adenosquamous carcinoma in rats. Carcinogenesis. 2000;21:1587-91.
  44. Kim JM, Choi SM, Kim DH, Oh TY, Ahn BO, Kwon JW, Kim WB. Combined use of omeprazole and a novel antioxidative cytoprotectant for the treatment of peptic ulcer. Facilitation of ulcer healing in experimental animals. Arzneimittelforschung. 2005;55:387-93.
  45. Kuroiwa Y, Okamura T, Ishii Y, Umemura T, Tasaki M, Kanki K, Mitsumori K, Hirose M, Nishikawa A. Enhancement of esophageal carcinogenesis in acid reflux model rats treated with ascorbic acid and sodium nitrite in combination with or without initiation. Cancer Sci. 2008;99:7-13.