

Indomethacin으로 유발된 생쥐의 위점막 손상에 대한 平胃散, 二陳湯 및 平陳湯의 비교연구

지현철, 백태현

상지대학교 부속한방병원 내과학교실

A Comparative Study of *Pyeongwi-san*, *Ijin-tang* and *Pyeongjintang* Extracts on Indomethacin-Induced Gastric Mucosal Lesions in Mice

Hyeon-Chyol Ji, Tae-hyeun Baek

Dept. of Internal Medicine, College of Korean Medicine, Sangji University

Objectives: This study was performed to investigate the protective and treating efficacy of *Pyeongwi-san*, *Ijin-tang*, and *Pyeongjin-tang* extracts to the mice with gastric mucosal lesions induced from indomethacin.

Methods: In order to verify protective and treating efficacy of *Pyeongwi-san*, *Ijin-tang*, and *Pyeongjin-tang* extracts to the mice with gastric mucosal lesions induced from indomethacin, I administered the extracts of these prescriptions to three groups, and induced gastric mucosal lesion by indomethacin, and then I observed the gastric mucosal morphology of stomach, changes from stress resulting from HSP70, changes of gastro-protection (mucous barrier, COX-1). After I observed the anti-oxidant effect, and anti-inflammation effect (IKK mRNA, iNOS mRNA, COX-2 mRNA) *in vitro*, I induced gastric mucosal lesion by indomethacin, and administered the extracts of each prescriptions to three groups, and then I observed the gastric mucosal morphology, anti-inflammation effect to mucosa (NF- κ B, iNOS, COX-2) *in vivo*.

Results & Conclusions:

1. Hemorrhagic erosion and damaged mucus secreting cell, positive responses to HSP70 were decreased in all the before-gastric-mucosal-lesion-induced groups, compared to non-extract administered group. The effects were good in the order of *Pyeongwi-san* extracts administered group, *Pyeongjin-tang* extracts administered group and *Ijin-tang* extracts administered group.
2. In all the before-gastric-mucosal-lesion-induced groups, gastro-protection functions (mucous barrier, COX-1) were significant. The effects were good in the order of *Pyeongwi-san* extracts administered group, *Pyeongjin-tang* extracts administered group and *Ijin-tang* extracts administered group.
3. Anti-oxidant effect was significant in *Pyeongwi-san* extracts, *Ijin-tang* extracts and *Pyeongjin-tang* extracts. The effects were good in the order of *Pyeongjin-tang* extracts, *Pyeongwi-san* extracts and *Ijin-tang* extracts.
4. The anti-inflammation effects *in vitro* were good in *Pyeongwi-san* extracts, *Ijin-tang* extracts and *Pyeongjin-tang* extracts. Especially *Pyeongjin-tang* extracts showed the most prominent results.

Damaged mucus secreting cells and the positive reactions of NF- κ B, iNOS, COX-2 *in vivo* were decreased in after-gastric-mucosal-lesion-induced groups compared to non-extract administered group. The effects were good in the order of *Pyeongjin-tang* extracts administered group, *Pyeongwi-san* extracts administered group and *Ijin-tang* extracts administered group.

These results show that *Pyeongwi-san*, *Ijin-tang* and *Pyeongjin-tang* are effective on both in protecting and treating the gastric mucosal membrane. *Pyeongwi-san* is more effective than other prescriptions, in protecting gastric mucosal membrane, and *Pyeongjin-tang* is more effective in treating gastric mucosal lesion.

Key Words : *Pyeongwi-san*, *Ijin-tang*, *Pyeongjin-tang*, Indomethacin, Gastric mucosal lesions.

• Received : 21 February 2011

• Revised : 15 March 2011

• Accepted : 16 March 2011

• Correspondence to : 백태현(Tae-hyeun Baek)

강원도 원주시 우산동 283번지, 상지대학교 부속한방병원 내과학교실

Tel : +82-33-741-9207, Fax : +82-33-730-2124, E-mail : white@sangji.ac.kr

서론

위점막 손상(gastric mucosal lesion)은 미란과 궤양으로 구분된다. 이 가운데 위벽의 표피층인 점막 상피층에만 이르는 손상을 미란이라고 하고 위점막 상피층 뿐만 아니라 점막근층까지 손상되어 있을 때 궤양이라고 한다¹⁻³⁾.

위궤양의 가장 흔한 발병원인은 *Helicobacter Pylori* 감염과 비스테로이드성 소염제의 복용이며¹⁻²⁾, 우선적으로 위점막 방어 인자의 이상이나 직접적인 위점막 손상이 있게 되면 이차적으로 공격인자의 작용으로 궤양이 생기게 된다^{1-2,4)}.

위궤양의 임상증상은 주로 심와부의 동통과 함께 식욕감퇴, 구역질, 구토, 속쓰림, 헛배부름, 트림 등이 나타나며¹⁻²⁾, 합병증으로 출혈, 천공, 유문부 폐쇄증이 있다⁴⁾. 이는 한의학적으로胃痛, 心下痛, 吐酸, 痞滿, 嘈雜, 噯氣, 惡心, 嘔吐, 吐血, 便血 등의 病證과 유사하며, 대표적으로 吞酸, 胃脘痛의 범주에 포함된다^{4,6)}. 情志所傷과 飮食勞倦 등의 병인으로 발병되며⁴⁾, 虛實寒熱과 氣血의 변화에 따라 脾胃虛寒, 肝胃不和, 瘀血阻滯, 胃陰不足, 痰飲停滯 등으로 病證을 구분하여, 각각 溫陽益氣健中, 舒肝理氣, 活血化痰, 養陰益胃, 燥濕化痰의 치법을 활용한다^{4,8)}.

實證의 飮食傷과 痰飲을 치료하는 平胃散과 二陳湯은 脾胃病의 치료에 다양하게 응용되는 처방으로서⁹⁻¹⁰⁾, 위점막 손상에 대한 실험적 연구에서 祛濕化痰의 치법을 활용한 二陳湯¹¹⁻¹²⁾, 香砂六君子湯¹³⁾, 內消散¹²⁾, 平胃散¹⁴⁾, 香砂平胃散¹⁴⁾, 平陳湯¹⁵⁾ 등의 처방들의 위점막 손상에 대한 보호효과와 치료효과의 연구보고가 있었으나 平胃散과 二陳湯 및 平陳湯의 직접적인 비교연구는 없었다.

이에 저자는 內傷氣實의 病證에 통용되며 理氣祛濕의 기본방인 平胃散과, 一切痰飲으로 인한 病證에 통용되며 祛痰의 기본방인 二陳湯, 그리고 平胃散과 二陳湯의 合方으로 활용범위를 넓힌 平陳湯⁹⁻¹⁰⁾을 선택하여, 이들의 효능을 비교연구하고자 위점막 손상에 대한 보호효과와 치료효과로 나누어 관찰하였다.

먼저 위점막 손상에 대한 보호효과를 관찰하기

위해 생쥐에 각 처방의 농축전탕액을 각각 투여한 후 indomethacin을 이용하여 위점막 손상을 유발시킨 다음 위의 외부형태, 위점막의 일반적인 형태, 위점막 보호체계(중성점액장벽, COX-1, HSP70) 등의 변화를 관찰하였다. 또한 치료효과를 관찰하기 위해 각 처방 추출물의 활성산소 소거실험을 통한 항산화 효과, *in vitro* 에서 항염증 효과(IKK mRNA, iNOS mRNA, COX-2 mRNA) 등을 관찰하고, 생쥐에 indomethacin을 이용하여 위점막 손상을 유발시킨 후에 각 처방의 농축전탕액을 투여하여, 위점막의 일반적인 형태, 위점막내 항염증 효과(NF-κB, iNOS, COX-2) 등을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 실험 동물

대한실험동물센터에서 분양 받은 태령 4주된 ICR계 수컷 생쥐를 무균사육장치내에서 2주일 동안 적응시킨 후 체중 30g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 전 실험기간 동안 물과 사료를 자유섭취하게 하였다.

2) 세포주와 세포배양

In vitro 실험에 사용할 마우스의 대식세포인 RAW 264.7 macrophages는 Korean Cell Line Bank (KCLB, Korea)에서 구입하였다. 세포는 37°C, 5% CO₂ incubator에서 10% Fetal Bovine Serum(FBS, Sigma, USA)가 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, Weljin, Korea)를 사용하여 배양하였다. 오염방지를 위해 항생제로 100 unit/ml penicillin (Sigma, USA), 100 µg/ml streptomycin(Gibco/BRL, USA)을 첨가하였다. 세포는 플라스크의 80% 정도 자랐을 때 PBS로 씻어주고, Trypsin-EDTA(Gibco/BRL, USA)를 처리하여 계대 배양하였다. 배지는 2 일마다 교환하여 주었다.

3) 실험 약재
본 실험에 사용된 平胃散(*Pyeongwi-san*), 二陳湯(*Ijin-tang*), 平陳湯(*Pyeongjin-tang*)은 <方藥合編>¹⁶⁾

에 수록된 처방에 따른 구성약물로서, 시중에서 얻어진 약재만을 구입하여 실험에 사용하였으며 처방의 내용과 1첩의 분량은 다음과 같다(Table 1,2,3).

Table 1. Amount and Composition of *Pyeongwi-san*

Herb	Scientific Name	Amount (g)
蒼朮	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	7.50
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	5.25
厚朴	<i>Magnoliae Cortex</i>	3.75
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2.25
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	3.75
大棗	<i>Jujubae Fuctus</i>	3.75
Total Amount		26.25

Table 2. Amount and Composition of *Ijin-tang*

Herb	Scientific Name	Amount (g)
半夏	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	7.50
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	3.75
赤茯苓	<i>Poria Cocos Wolf</i>	3.75
甘草(炙)	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	1.87
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	3.75
Total Amount		20.62

Table 3. Amount and Composition of *Pyeongjin-tang*

Herb	Scientific Name	Amount (g)
蒼朮	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	7.50
半夏	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	7.50
厚朴	<i>Magnoliae Cortex</i>	4.68
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	4.68
赤茯苓	<i>Poria Cocos Wolf</i>	4.68
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2.62
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	3.75
大棗	<i>Jujubae Fuctus</i>	3.75
Total Amount		39.16

2. 실험 방법

1) 위점막 손상 보호 효과

(1) 실험군 설정

平胃散, 二陳湯, 平陳湯의 위점막 손상에 대한 보호효과를 조사하기 위해 아무런 처치를 가하지 않은 대조군(Control군, CON), indomethacin 처리로 위점막 손상 유발군(BGP군, BGP), 平胃散 추출액 투여 후 indomethacin 처리군(BPY군, BPY), 二陳湯 추출액 투여 후 indomethacin 처리군(BIJ군, BIJ), 平陳湯 추출액 투여 후 indomethacin 처리군(BPJ군, BPJ)으로 나누었으며, 각 군마다 생쥐 7마리씩 배정하였다.

(2) 실험 약물의 조제 및 투여

平胃散, 二陳湯, 平陳湯 각 2첩을 증류수 500 ml에 넣고 2시간 동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 50 ml로 감압·농축하여 BPY군에는 平胃散 추출액을, BIJ군에는 二陳湯 추출액을, BPJ군에는 平陳湯 추출액을 각각 2.5 ml/kg 량으로 위점막 손상 유발 전 5일 동안 경구 투여하였다.

(3) 위점막 손상 유발

위점막 손상 유발을 위해 실험약물의 투여 후 indomethacin(Sigma, USA)을 0.9% NaCl이 포함된 용액에 희석시킨 후 75 mg/kg을 생쥐에 피하주사 하였다.

(4) 위점막내 출혈성 찰과(hemorrhagic erosion) 억제 관찰

위점막 손상 유발 6시간 후 일어난 출혈성 찰과의 유발 정도를 측정하기 위해 Optimas 5.2(Optima, USA)를 이용한 영상분석을 실시하였다. 적출된 위의 날문과 몸통부위를 씻힌 후 x4 배율로 촬영한 후 Binary Morphology에서 invert 기능을 선택하여, 출혈성 찰과지역을 intensity 180-200으로 전환시킨 다음, 영상분석을 통해 pixel의 분포 수를 측정하였다.

(5) 조직표본 제작

위점막 손상 유발 6시간 후 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성포르말린 용액(neutral buffered formalin: NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 위 몸통과 날문의 연결부위를 적출하여 실온에서 24시간 동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 μ m 두께의 연속절편을 제작하였다. 위점막의 일반적인 형태변화를 관찰하기 위해 연속절편을 hematoxylin과 eosin에 염색한 후 광학현미경(BX50. Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

(6) 위점막 보호체계의 변화 관찰

① 점액분비세포 분포 변화 관찰

중성점액질(neutral mucin)을 분비하여 위산에 의한 자가분해(autolysis) 방벽작용을 하는 표면점액세포의 변화를 관찰하기 위해서 periodic acid-Schiff reaction(PAS) stain을 실시하였는데, 우선 periodic acid에서 5분간 반응시킨 후 Schiff reagent에서 15분 동안 처리하였다. 그런 다음 sulfurous rinse에서 각 2분씩 3회 세척한 후 Hematoxylin에서 1분 동안 대조 염색하여 관찰하였다.

② 점막내 COX-1 분포 변화 관찰을 위한 면역조직화학

점막상피세포의 보호기전에 관여하는 cyclooxygenase-1(COX-1)의 점막고유층내에서 분포 변화를 관찰하기 위해 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 20 μ g/ml proteinase K(DAKO, Denmark)에서 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum(Vector Lab, USA)에 2시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 mouse anti-mouse COX-1(1:250, Cayman, USA)에 4 $^{\circ}$ C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG(1:100, Santa Cruz Biotech, USA)에 4 $^{\circ}$ C humidified chamber에서 24시간 link 하였고, 그런 다음 avidin biotin complex kit(Vector Lab, USA)에 1시간 동안

실온에서 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine (Sigma, USA)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조 염색하였다.

③ 점막 손상 스트레스 변화 관찰

점막 손상 스트레스를 조사하기 위해 스트레스에 대한 완충적 물질인 열 충격 단백질(heat shock protein, HSP)의 하나인 HSP70의 분포 변화를 rabbit anti mouse HSP70(1:100, Santa Cruz Biotech, USA)을 이용한 면역조직화학적 염색 후 관찰하였다.

2) 위점막 손상 치료 효과

(1) 실험군 설정

平胃散, 二陳湯, 平陳湯의 위점막 손상에 대한 치료효과를 조사하기 위해 아무런 처치를 가하지 않은 대조군(Control군, CON), indomethacin 처리로 위점막 손상 유발군(AGP군, AGP), indomethacin 처리로 위점막 손상 유발 후 平胃散 추출액 투여군(APY군, APY), indomethacin 처리로 위점막 손상 유발 후 二陳湯 추출액 투여군(AIJ군, AIJ), 그리고 indomethacin 처리로 위점막 손상 유발 후 平陳湯 추출액 투여군(APJ군, APJ)으로 나누었으며, 각 군마다 7마리씩 배정하였다.

(2) 위점막 손상 유발

위점막 손상 유발을 위해 indomethacin을 0.9% NaCl이 포함된 용액에 희석시킨 후 10 mg/kg를 5일 동안 AGP군, AIJ군, APY군 그리고 APJ군에 경구 투여하였다.

(3) 실험 약물의 투여

위점막 손상 유발 후 APY군에는 平胃散 추출액을, AIJ군에는 二陳湯 추출액을, APJ군에는 平陳湯 추출액을 각각 2.5 ml/kg 량으로 5일 동안 경구 투여하였다. 한편 *in vitro* 실험에 사용된 平胃散, 二陳湯, 平陳湯 추출물은 감압·농축 후 동결 건조하여 사용하였으며 수득율은 平胃散 20.48%, 二陳湯 11.37%,

平陳湯 14.3%였다. MTT assay 결과 한약제 추출물 10 mg/ml까지는 세포생존율의 변화가 일어나지 않아 0.5 mg/ml와 1.0 mg/ml를 첨가량으로 결정하였다.

(4) 활성산소 소거실험을 통한 항산화 효과 조사
위점막 손상 치료 효과를 관찰하기 전에 실험약물의 항산화 효과를 측정하기 위해 riboflavin을 이용한 활성산소 소거실험을 실시하였다. 우선 photocell에 40 mM buffer 2.6 ml, nitroblue tetrazolium 100 μ l, EDTA/cyanide 20 μ l, riboflavin 100 μ l 그리고 농도별(1, 2, 4, 6, 8 그리고 10 mg/ml) 平胃散, 二陳湯, 平陳湯 추출물 100 μ l을 넣고 3번 섞어주었다. Abs 560 nm에서 autozero를 잡고 light box에서 1분 동안 조사한 후 흡광도를 측정하였다. 이 작업을 7번 반복하여 평균값을 계산하였다.

(5) *In vitro* 실험을 통한 항염증 효과 관찰

平胃散, 二陳湯, 平陳湯 추출물이 nuclear factor- κ B(NF- κ B) 활성화에 관여하는 I κ B kinase(IKK), 염증 효소인 inducible nitric oxide synthase(iNOS), cyclooxygenase(COX-2)의 mRNA 발현 양상에 미치는 영향을 조사하기 위해 역전사중합효소연쇄반응법(RT-PCR)을 실시하였다. RAW 264.7 macrophages - 5×10^5 cells/well을 6 well에 plating 하고 12시간 후에 1 μ g/ml lipopolysaccharide(Sigma, USA)를 2시간 처리하여 NF- κ B 활성을 유도한 후 平胃散, 二陳湯, 平陳湯 추출물 0.5와 1.0 mg/ml를 농도별로 첨가하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 수거한 RNA를 trizol reagent(Sigma, USA)를 사용하여 추출한 다음 fluorometer(introgen, USA)로 RNA를 정량하였다. RT-PCR kit(Premega, USA)를 이용하여 cDNA를 합성한 후 IKK, iNOS, COX-2 primer를 PCR machine으로 반응시켰다(Table 4). PCR 산물은 1-2% agarose gel상에서 전기영동하여 relative intensity로 측정하였다. 한편 RT-PCR의 정확성을 평가하기 위하여 internal standard인 beta-actin의 증폭을 동시에 실시하였다. mRNA 발현의 relative intensity는 Optimas 5.2(Optima, USA)를 이용한 영상분석을 통

Table 4. Primer of IKK, COX-2, iNOS and β-actin mRNA

Primer		Primer sequences	Product(bp)	No. of cycles
IKK	sense	5'-CCACCCAGTTCACAAGTCT-3'	380	35
	antisense	5'-CCTCCACTGCGAATAGCTTC-3'		
iNOS	sense	5'-AGACTGGATTGGCTGGTCCCTCC-3'	527	30
	antisense	5'-AGAAGTGGAGGTACATGCTGGAGCC-3'		
COX-2	sense	5'-TCTCCAACCTCTCCTACTAC-3'	624	35
	antisense	5'-GCACGTAGTCTTCGTTCAC-3'		
β-actin	sense	5'-GGAGAAGATCTGGCACCACACC-3'	840	35
	antisense	5'-CCTGCTTGTGATCCACATCTGCTGG-3'		

IKK, IκB kinase;
iNOS, inducible nitric oxide synthase;
COX-2, cyclooxygenase-2.

해 비교하였다.

(6) *In vivo* 실험을 통한 항염증 효과 관찰

① 조직표본 제작

조직표본제작은 위점막 손상 보호효과를 관찰할 때와 동일한 방법으로 실험약물 투여 후 실시하였다.

② NF-κB 활성 억제를 통한 항염증 효과 관찰을 위한 면역조직화학

염증유발유전자의 전사인자 NF-κB, 염증효소 iNOS와 COX-2의 변화를 조사하기 위해 mouse anti-NF-κB p65(1:500, Santa Cruz Biotech, USA), mouse anti-iNOS(1:100, Santa Cruz Biotech, USA), rabbit anti-mouse COX-2(1:250, Cayman, USA)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

3) 영상분석과 통계처리

mRNA 발현의 relative intensity, 출혈성 찰과의 분포 그리고 면역조직화학 결과의 수치화를 위해 Optimas 5.2(Omtima, USA)를 이용한 영상분석을 실시하였다. 본 실험의 결과는 SPSS 14.0(SPSS INC, USA)을 통한 ANOVA test로 유의성을 검증하였으며 사후검증은 Scheffe 검증을 사용하였다.

결 과

1. 위점막 손상 보호 효과

1) 출혈성 찰과 억제 효과

BGP군에서는 날문부분의 날문방(pyloric antrum)에서 심각한 출혈성 찰과가 관찰되었는데, 전체 면적의 33% 해당하는 65874±1215/200,000 pixel로 측정되었다. 이에 비해 BPY군은 BGP군에 비해 89% 감소한 7503±110/200,000 pixel로, BIJ군은 BGP군에 비해 72% 감소한 18575±1074/200,000 pixel로, 그리고 BPJ군은 BGP군에 비해 78% 감소한 14623±538/200,000 pixel로 측정되었다(Fig. 1). 출혈성 찰과가 가장 적었던 BPY군에서 출혈성 찰과가 일어난 면적은 전체의 3.75%에 해당하였다.

2) 일반적인 형태 변화

BGP군의 위점막에서는 심각한 출혈성 찰과로 인해서 점액분비세포의 배열 유실이 관찰되었다. 많은 수의 벽세포(parietal cell)와 주세포(chief cell)의 유실도 관찰되었다. 그러나 BPY군, BIJ군 그리고 BPJ군에서는 BGP군에 비해 점막 손상이 적었다. 특히 BPY군은 일부 점막에서만 점액분비세포의 유실이 확인되었다(Fig. 2-A).

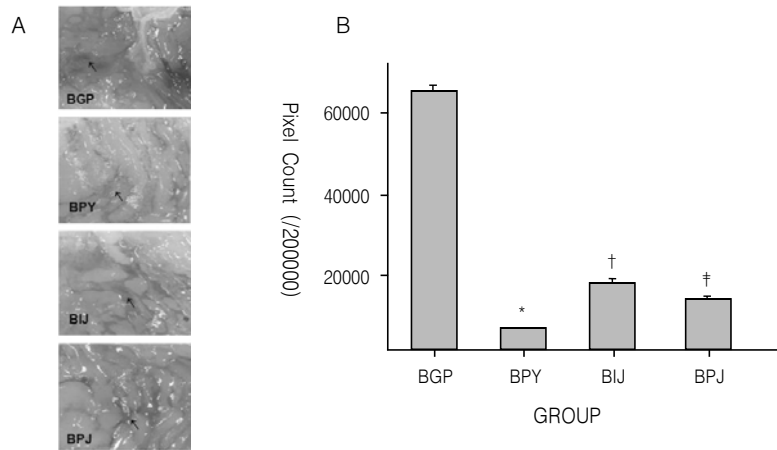


Fig. 1. Mitigative effect of hemorrhagic erosion

The hemorrhagic erosion in mice pre-treated with *Pyeongwi-san*, *ljin-tang* and *Pyeongjin-tang* more decreased than that of BGP and these decrease had probability.

A. External morphology (x4).

B. Image analysis of hemorrhagic erosion.

BGP, gastropathy elicited group; BPY, *Pyeongwi-san* pre-treated mice before gastropathy elicitation; BIJ, *ljin-tang* pre-treated mice before gastropathy elicitation; BPJ, *Pyeongjin-tang* pre-treated mice before gastropathy elicitation; Arrow, hemorrhagic erosion.

*, $p < 0.05$ compared with BGP, BIJ, BPJ;

†, $p < 0.05$ compared with BGP;

‡, $p < 0.05$ compared with BGP, BIJ.

3) 위점막 보호 효과

(1) 중성점액장벽 손상 완화

BGP군의 출혈성 침식 주변의 점막 상피에서는 PAS 양성반응을 보이는 표면점액세포와 목점액세포가 대조군에 비해 감소하였는데, 이에 반해 BPY군, BIJ군 그리고 BPJ군에서는 BGP군에 비해 PAS 양성반응이 증가된 양상으로 관찰되었다. BPY군에서는 중성점액을 분비하는 PAS 양성반응 표면점액세포의 분포가 점막 상층 표면(apical surface)에서 위오목(gastric pit)까지 확장된 것으로 관찰되었다(Fig. 2-B).

(2) 점막내 COX-1 분포 증가

대조군의 점막고유층내 COX-1 양성반응은 세포질에서 강하게 나타났으며, 양성반응세포는 주로 점막 상단부에서 다수 관찰되었다. 이러한 COX-1 양성반응은 BGP군에서 91% 감소하였다. 이에 반해 BPY군, BIJ군 및 BPJ군에서는 BGP군에 비해 COX-1

양성반응이 유의성 있게 증가된 되었는데, 특히 BPY군은 BIJ군과 BPJ군에 비해서도 유의성 있는 증가가 관찰되었다(Table 5, Fig. 2-C).

(3) 점막 손상 스트레스 완화

위점막 손상 유발 후 스트레스에 대한 완충적 물질인 HSP70 분포는 점막고유층에 증가하였으며, 핵과 주변세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었다. 이러한 분포 증가는 대조군에 비해 BGP군에서 1381% 증가하였다. BIJ군은 BGP군에 비해 HSP70 양성반응이 유의성 있게 감소되었으며 특히 BPY군 및 BPJ군에서는 BIJ군 보다 유의성 있게 감소하였다(Table 5, Fig. 2-D).

2. 위점막 손상 치료 효과

1) 활성산소 소거실험을 통한 항산화 효과

Table 5. Image Analysis of Mucosal Lesion

Objective	Group				
	CON	BGP	BPY	BIJ	BPJ
COX-1	7817±195	694±22	5331±123 [*]	3043±158 [†]	3137±108 [‡]
HSP70	155±14	2295±131	996±50 [‡]	1598±73 [†]	1124±77 [‡]

(image analysis for 100,000 particles / range of intensity: 80-120)

COX-1, cyclooxygenase-1; HSP70, heat shock protein 70; CON, no-treated group; BGP, gastropathy elicited group; BPY, *Pyeongwi-san* pre-treated mice before gastropathy elicitation; BIJ, *Ijin-tang* pre-treated mice before gastropathy elicitation; BPJ, *Pyeongjin-tang* pre-treated mice before gastropathy elicitation;

*, P < 0.05 compared with BGP, BIJ, BPJ;

†, P < 0.05 compared with BGP;

‡, P < 0.05 compared with BGP, BIJ.

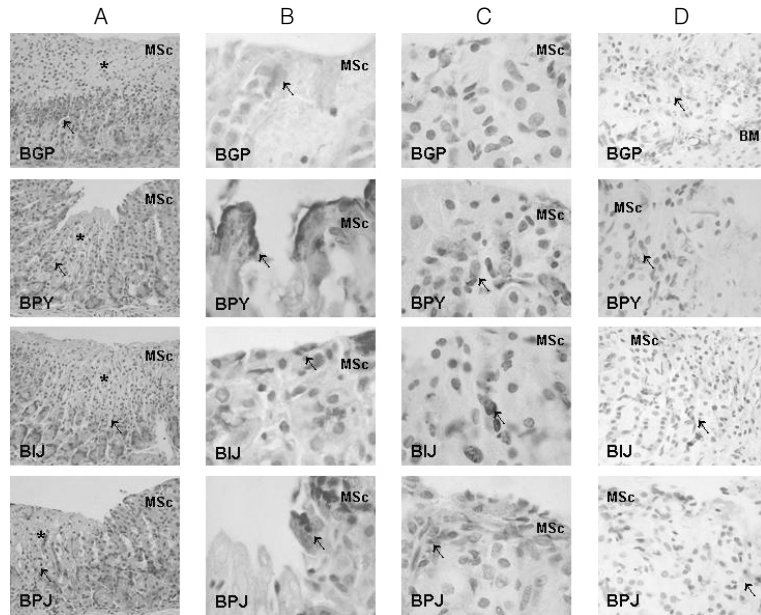


Fig. 2. Protective effect of damaged mucosal barrier and stress.

- A. The mucosal damages in mice pre-treated with *Pyeongwi-san Ijin-tang Pyeongjin-tang* more decreased than those of BGP (asterisk, hemorrhagic erosion; H&E, x200).
- B. The PAS positive reactions (arrow) in mice in mice pre-treated with *Pyeongwi-san Ijin-tang Pyeongjin-tang* more increased than those of BGP (PAS stain, x1000).
- C. The COX-1 positive cells (arrow) in mice pre-treated with *Pyeongwi-san Ijin-tang Pyeongjin-tang* more increased than those of BGP (COX-1 immunohistochemistry, x1000).
- D. The HSP70 positive reactions (arrow) in mice pre-treated with *Pyeongwi-san Ijin-tang Pyeongjin-tang* more decreased than those of BGP (HSP70 immunohistochemistry, x400).

MSc, mucose secreting cell; BM, basement membrane; PAS, periodic acid-Schiff reaction stain; COX-1, cyclooxygenase-1; HSP70, heat shock protein 70; BGP, gastropathy elicited group; BPY, *Pyeongwi-san* pre-treated mice before gastropathy elicitation; BIJ, *Ijin-tang* pre-treated mice before gastropathy elicitation; BPJ, *Pyeongjin-tang* pre-treated mice before gastropathy elicitation.

平胃散 二陳湯 平陳湯 추출물의 항산화 효과는 모두 농도-의존적으로 증가하였다(Fig. 3).

2) In vitro 실험을 통한 항염증 효과

(1) IKK mRNA 발현 억제

RAW 264.7 macrophages에서 LPS 자극에 의한 IKK mRNA 발현은 증가하였는데, 平胃散, 二陳湯, 平陳湯 추출물 처리 후 농도-의존적으로 발현이 감소되었다. 平胃散 추출물 처리 후 IKK mRNA 발현

량은 0.5 mg/ml에서 42%, 1.0 mg/ml에서 74%가, 二陳湯 추출물 처리 후 0.5 mg/ml에서 48%, 1.0 mg/ml에서 62%가, 平陳湯 추출물 처리 후 0.5 mg/ml에서 59%, 1.0 mg/ml에서 76%가 감소하였다(Fig. 4).

(2) iNOS 발현 억제

RAW 264.7 macrophages에서 LPS 자극에 의한 iNOS mRNA 발현은 증가하였는데, 平胃散, 二陳湯, 平陳湯 추출물 처리 후 농도-의존적으로 발현이 감소

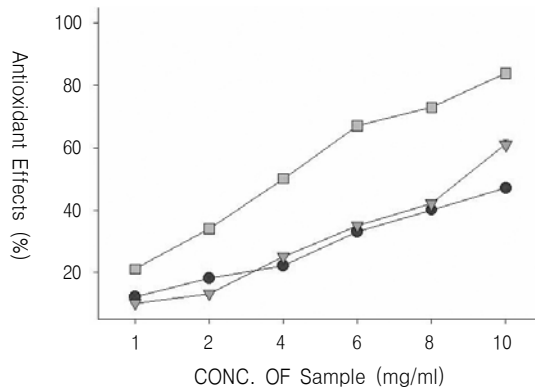


Fig. 3. Anti-oxidant effects of *Pyeongwi-san*, *Ljin-tang* and *Pyeongjin-tang*.

The superoxide dismutase abilities of *Pyeongwi-san*, *Ljin-tang*, *Pyeongjin-tang* were dose-dependantly increased. ▽, *Pyeongwi-san*; ●, *Ljin-tang*; ■, *Pyeongjin-tang*.

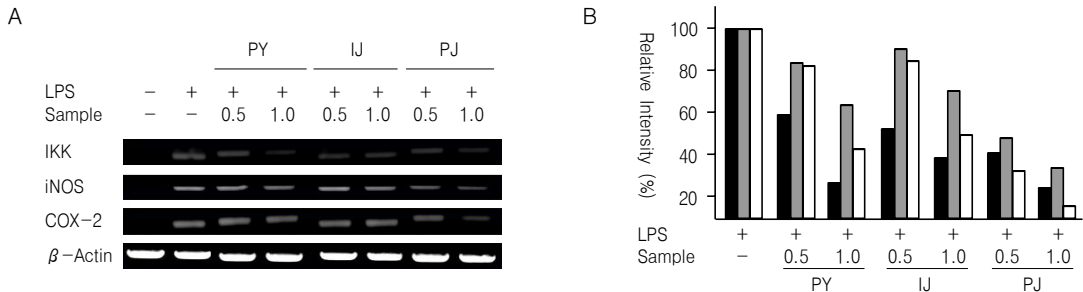


Fig. 4. In vitro test for anti-inflammation effects of *Pyeongwi-san*, *Ljin-tang* and *Pyeongjin-tang*.

A. Inhibition of IKK, iNOS and COX-2 mRNA expression.

B. Relative intensity for IKK (■), iNOS (▒) and COX-2(□) mRNA expression.

The LPS-induced IKK, iNOS and COX-2 mRNA expression were dose-dependantly decreased in RAW 264.7 macrophages treated with *Pyeongwi-san*, *Ljin-tang* and *Pyeongjin-tang*.

LPS, lipopolysaccharide; PY, *Pyeongwi-san*; LJ, *Ljin-tang*; PJ, *Pyeongjin-tang*; IKK, IκB kinase; iNOS, inducible nitric oxide synthase; COX-2, cyclooxygenase-2.

소되었다. 平胃散 추출물 처리 후 iNOS mRNA 발현량은 0.5 mg/ml에서 17%, 1.0 mg/ml에서 37%가, 二陳湯 추출물 처리 후 0.5 mg/ml에서 10%, 1.0 mg/ml에서 30%가, 平陳湯 추출물 처리 후 0.5 mg/ml에서 52%, 1.0 mg/ml에서 67%가 감소하였다(Fig. 4).

(3) COX-2 mRNA 발현 억제

RAW 264.7 macrophages에서 LPS 자극에 의한 COX-2 mRNA 발현은 증가하였는데, 平胃散, 二陳湯, 平陳湯 추출물 처리 후 농도-의존적으로 발현이 감소되었다. 平胃散 추출물 처리 후 COX-2 mRNA 발현량은 0.5 mg/ml에서 18%, 1.0 mg/ml에서 58%가, 二陳湯 추출물 처리 후 0.5 mg/ml에서 16%, 1.0 mg/ml에서 51%가, 平陳湯 추출물 처리 후 0.5 mg/ml에서 67%, 1.0 mg/ml에서 86%가 감소하였다(Fig. 4).

3) *In vivo* 실험을 통한 치료 효과

(1) 일반적인 형태변화

AGP군의 위점막에서는 점액분비세포의 심각한 유실이 관찰되었으며, 일부 점막에서는 벽세포와 주세포의 손상도 관찰되었다. APY군, AIJ군 그리고 APJ군에서는 AGP군에 비해 점막 손상이 적었다. 특히 APJ군은 대조군과 유사한 점액분비세포의 배열을 유지하였다(Fig. 5-A).

(2) NF-κB 활성화 억제

염증효소생성에 관여하는 전사인자 NF-κB p65의 양성반응세포의 분포는 AGP군에서는 증가하는 반면 APY군, AIJ군 그리고 APJ군에서는 감소하였다. 이런 NF-κB p65 양성반응세포는 기저막 주변 점막 고유층에 분포하였고, 핵과 핵막주변 세포질에서 강한 양성반응을 보였다. NF-κB p65 양성반응의 영상 분석 결과 AGP군은 대조군에 비해 1858% 증가하였지만, APY군은 AGP군에 비해 69%, AIJ군은 AGP군에 비해 23% 그리고 APJ군에서는 AGP군에 비해 83% 감소하였다(Table 6, Fig. 5-B).

(3) iNOS 생성 억제

염증효소 iNOS 양성반응세포의 분포는 AGP군에서는 증가하였는데 APY군 AIJ군 그리고 APJ군에서는 모두 유의성 있게 감소하였으며 특히 APJ군은 APY군 AIJ군 보다 특히 유의성 있게 감소하였다. iNOS 양성반응세포는 AGP군에서는 증가하였는데 APY군 AIJ군 그리고 APJ군에서는 모두 유의성 있게 감소하였으며 특히 APJ군은 APY군 AIJ군 보다 특히 유의성 있게 감소하였다(Table 6, Fig. 5-C).

(4) COX-2 생성 억제

염증효소 COX-2 양성반응세포의 분포는 APY군 AIJ군 그리고 APJ군에서는 모두 유의성 있게 감소하였으며 특히 APJ군은 APY군 AIJ군 보다 특히 유의성 있게 감소하였다(Table 6, Fig. 5-D).

Table 6. Image Analysis of Gastropathy Evoked Inflammation.

Objective	Group				
	CON	AGP	APY	AIJ	APJ
NF-κ B p65	204±11	3995±120	1256±90*	3062±153†	694±21‡
iNOS	323±21	3176±92	1973±89*	2620±100†	1545±93‡
COX-2	257±43	5561±130	1887±90*	2901±95†	986±26‡

(image analysis for 100,000 particles / range of intensity : 80-120)

NF-κ B p65, Nuclear Factor-κ B p65; iNOS, inducible nitric oxide synthase; COX-2, cyclooxygenase-2; CON, no-treated group; AGP, gastropathy elicited group; APY, *Pyeongwi-san* treated mice after gastropathy elicitation; AIJ, *Jjin-tang* treated mice after gastropathy elicitation; APJ, *Pyeongjin-tang* treated mice after gastropathy elicitation;

*, p < 0.05 compared with AGP, AIJ;

†, p < 0.05 compared with AGP;

‡, p < 0.05 compared with AGP, APY, AIJ.

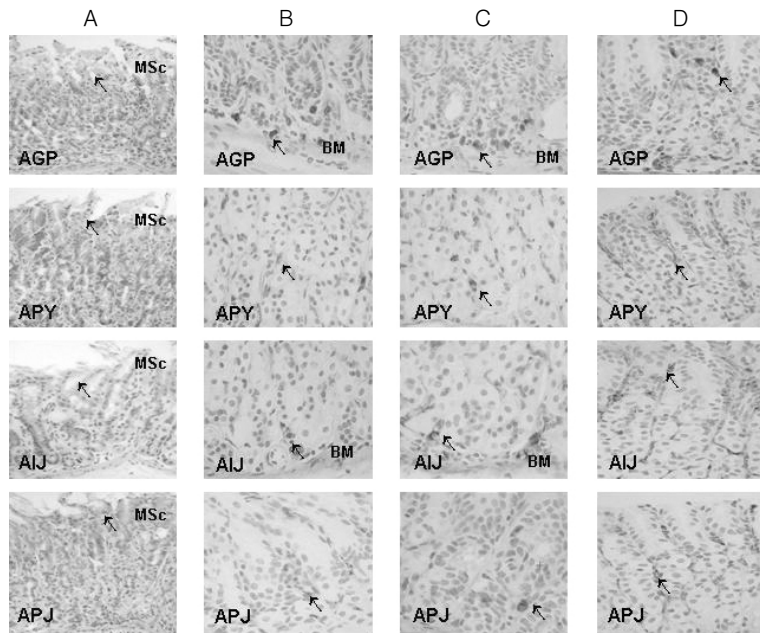


Fig. 5. The inhibition of inflammation by *Pyeongwi-san* and *Ijin-tang*, *Pyeongjin-tang*

- A. The damage of mucose secreting cell (arrow) in mice treated with *Pyeongwi-san*, *Ijin-tang* and *Pyeongjin-tang* noticeably decreased (H&E, x200).
- B. The NF-κB p65 positive reaction (arrow) in mice treated with *Pyeongwi-san*, *Ijin-tang* and *Pyeongjin-tang* noticeably decreased (NF-κB p65 immunohistochemistry, x400).
- C. The distribution of iNOS positive cell (arrow) in mice treated with *Pyeongwi-san*, *Ijin-tang* and *Pyeongjin-tang* noticeably decreased (iNOS immunohistochemistry, x400).
- D. The distribution of COX-2 positive cell (arrow) in mice treated with *Pyeongwi-san*, *Ijin-tang* and *Pyeongjin-tang* noticeably decreased (COX-2 immunohistochemistry, x400).

MSc, mucose secreting cell; BM, basement membrane; AGP, gastropathy elicited group; APY, *Pyeongwi-san* treated mice after gastropathy elicitation; AIJ, *Ijin-tang* treated mice after gastropathy elicitation; APJ, *Pyeongjin-tang* treated mice after gastropathy elicitation.

고찰

위점막 손상(gastric mucosal lesion) 중 위벽의 점막근층까지 손상되어 있을 때 궤양이라고 하는데 위 궤양의 발병원인은 일반적으로 음식상 음주 흡연 유전적 및 정신적인 요인 *Helicobacter Pylori* 감염과 비스테로이드성 약제 등으로 보고 있다¹⁻⁴⁾.

음식은 ‘水穀爲養命之本’¹⁷⁾이라 하여 인체 생명 활동을 유지하는 데 없어서는 안 될 중요한 물질이다. 그러나 과식, 편식, 식생활습관의 불규칙, 生冷物質, 膏粱厚味, 과음, 부패 및 변질 음식과 약물

의 오남용 등의 飮食失調는 소화기질환 발생의 중요한 원인이 된다⁵⁻⁷⁾.

이러한 飮食傷은脾胃의 運化와 昇降作用이 不能하게 되어 津液이 轉輸되지 못하고 聚積되어 濕濁을 형성하게 되는데, 濕은 重着粘滯하는 성질로 胸悶嘔惡, 脘腹痞滿, 頭身困重 등의 증상이 나타나며, 또한 濕이 제거되지 않고 凝結하면 痰을 형성하게 되어 惡心嘔吐, 胸痞不舒 등의 증상이 나타나게 되므로 飮食傷에서 祛濕祛痰이 일차적인 치법에 속하게 된다⁵⁻⁷⁾.

濕과 痰은 모두 外感六淫, 음식상, 勞倦七情에 의

해 유발되며, 肺의 宣發肅降, 脾의 運化轉輸, 腎의 利水氣化作用의 失調과 연관이 있다⁷⁾.

濕은 원인에 따라 外濕과 內濕으로 구분되며 外濕은 肌表의 病에 속하고 內濕은 臟腑의 病에 속하나 肌表와 臟腑는 表裏의 관계이므로 서로 兼하여 나타날 때도 있으며⁷⁾, 체질의 강약과 邪氣의 결합에 따라 病情이 寒熱虛實 및 兼風, 挾暑 등 복잡하게 변화되므로 처방 또한 芳香化濕, 清熱祛濕, 利水滲濕, 溫化水濕, 祛風勝濕 등 다양하다⁹⁻¹⁰⁾.

痰은 氣血, 津液 등의 생리적 수액이 循環不調로 인해 壅聚되어 병리적 수액으로 나타난 것으로⁷⁾ 痰病의 종류는 매우 많아 처방 또한 다양한데, 그 病의 標本緩急과 寒熱虛實에 따라 燥濕化痰, 清熱化痰, 潤燥化痰, 溫化寒痰, 治風化痰 등의 방법이 있다⁹⁻¹⁰⁾.

또한 張¹⁷⁾은 “蓋脾主濕 濕動則爲痰” 이라 하였는데, 이는 濕과 痰이 脾의 運化機能과 밀접한 관계가 있음을 말한 것이며, 실제 임상에서 飲食傷은 濕과 痰의 증상이 단독적으로 나타나기보다 서로 연계하여 나타나는 경우가 많은 것을 뜻한다.

飲食傷은 일반적으로 虛證, 虛中挾實證, 實證으로 분류하는데 虛證에는 補中益氣 溫陽益氣 시키는 補法, 虛中挾實證에는 溫中化痰 消導健脾 등의 扶正祛邪法, 實證에는 行氣祛濕, 消導破積과 같은 祛邪法으로 치료한다. 그 중에서 祛邪法은 飲食傷의 輕重에 따라 祛濕, 祛痰을 기본으로 하고, 그 외 行氣, 降氣, 消導, 消積, 瀉下 등의 처방을 병행하여 치료법을 적용하고 이에 따른 다양한 처방이 이용되며 이러한 처방들은 祛濕劑인 平胃散, 祛痰劑인 二陳湯을 포함하는 경우가 많다^{4,10)}.

위점막 손상의 예방 및 치료에 관한 최근의 실험적 연구에 있어서 飲食傷과 祛濕祛痰의 처방에 대한 연구를 살펴보면, 최¹⁸⁾는 香砂平胃散이 위점막 손상에 대한 예방과 방어작용에 효과가 있음을, 백¹⁹⁾은 平胃分消散이 위점막 손상에 치료효과가 있음을, 박¹⁵⁾은 平陳湯이 위점막 손상에 대한 치료효과가 있음을 보고하였으며, 배¹¹⁾는 二陳湯, 四君子湯, 六君子湯의 위점막 손상의 보호와 치료효과에 대한 비교연구를, 이¹⁴⁾는 平胃散, 香砂平胃散, 大和中飲의 위점막 손

상의 치료효과에 대한 비교연구를, 박¹²⁾은 二陳湯, 香砂二陳湯, 內消散의 위점막 손상에 대한 치료효과에 대한 비교연구를 하였으나 아직까지 理氣祛濕의 대표적인 처방인 平胃散, 祛痰의 대표적인 처방인 二陳湯 및 祛濕兼祛痰하는 平陳湯간의 비교연구는 없었다.

이에 저자는 平胃散, 二陳湯, 平陳湯의 효능을 비교연구하고자 위점막 손상에 대한 보호효과와 치료효과로 나누어 관찰하였다. 먼저 위점막 손상에 대한 보호효과를 관찰하기 위해 생쥐에 각 처방의 농축전탕액을 각각 투여한 후 indomethacin을 이용하여 위점막 손상을 유발시킨 다음 위의 외부형태, 위점막의 일반적인 형태, 위점막 보호체계(중성점액장벽, COX-1, HSP70) 등의 변화를 관찰하였다. 또한 치료효과를 관찰하기 위해 각 처방 추출물의 활성산소 소거실험을 통한 항산화 효과, *in vitro* 에서 항염증 효과(IKK mRNA, iNOS mRNA, COX-2 mRNA) 등을 관찰하고, 생쥐에 indomethacin을 이용하여 위점막 손상을 유발시킨 후에 각 처방의 농축전탕액을 투여하여, 위점막의 일반적인 형태, 위점막내 항염증 효과(NF-κB, iNOS, COX-2) 등을 관찰하였다.

위점막 손상에 대한 보호효과를 관찰한 실험에서 BGP군의 위점막 날문부문의 날문방(pyloric antrum)에 심각한 출혈성 찰과가 관찰되었으며, 이로 인해 점액분비세포의 배열 유실 및 많은 수의 벽세포(parietal cell)와 주세포(chief cell)의 유실도 관찰되었는데, 이는 prostaglandin의 분비 차단에 의한 점막의 점액과 bicarbonate 보호장벽의 결핍²⁰⁻²¹⁾과 nonionized된 약산성의 보호장벽 침투 증가로 인한 점막내 중성환경의 변화²²⁾에 의한 것으로 보인다. 이는 세포내 arachidonic acid의 prostaglandin 전환 과정에 관여하는 COX-1 mRNA 발현이 indomethacin에 의해 억제된 때문이다²³⁻²⁴⁾. House-keeping enzyme인 COX-1은 위장관 보호(gastroprotection), 신장의 혈류조절 및 혈소판 응집과 같은 정상적인 생리적 과정을 유지함으로써 세포의 항상성(homeostasis) 유지에 중요한 역할을 하는데 본 실험에서 출혈성 미란 부위 주변의 점막고유층내에서 COX-1에 대한

양성반응이 거의 나타나지 않아, COX-1의 결핍이 점막손상의 일차적 원인으로 설명될 수 있었다²⁵⁻²⁶).

이러한 위점막 손상은 외부로부터 가해지는 여러 가지 스트레스로부터 항상성을 유지하기 위한 스트레스 단백질의 합성 증가를 유도하여 열충격 단백질(HSP)군이 대량 합성 된다²⁷). 특히 HSP70은 72,000 mol의 질량을 가지고 있으며 HSP72, 73, glucose regulated protein(GRP)75, 78 등이 이 단백질 군에 속하며 대부분의 생물체에서 발견되는 스트레스 저항 단백질로써 허혈, 열, 저혈당, 바이러스 감염, 경련, 중금속 오염 등 다양한 형태의 스트레스 상황에서 농도가 증가하는 것²⁸⁻³⁰)으로 세포내 변성된 단백질은 열성단백질 인자를 자극하여 HSP70유전자의 전사를 유도하여 HSP70을 생성한다. HSP70은 원핵과 진핵세포의 세포질에서 생성되어 핵과 세포질에서 모두 분포하며 다양한 스트레스 상황에서는 그 위치가 세포질에서 핵, 특히 핵소체에 축적되며 회복기에 들어서면 다시 세포질로 돌아간다³¹). 내인성 지방분해(endogenous lipolysis)를 증가시킴으로써 체온을 상승시키는 작용을 하는 교감신경유사 약물인 암페타민(amphetamine) 사용을 통한 열전저지의 경우 심장, 폐, 간, 뇌, 장 등의 모든 장기에서 HSP70이 발현되며³²⁻³³), ATP 의존성 대사를 통해 변성된 단백질의 변성을 억제하고 재생하는 허혈에 대한 자기방어기전으로써의 분자적 보호자의 역할을 한다³⁴). 이와 같이 HSP70은 세포상해에 저항이 있는 지역에서 주로 발견되어, HSP70의 방어기전으로써의 역할을 하는 것으로 사료된다. 본 실험에서도 출혈성 찰과 유발 점막내에서 HSP70 양성반응이 증가하였으며, 이러한 HSP70의 양성반응은 핵내에서 강하게 나타났다.

BPY군, BIJ군, BPJ군에서는 COX-1 발현 증가를 통한 prostaglandin의 정상적인 분비는 점액과 중성 점액장벽을 유지시킴으로써 indomethacin으로 유발된 위점막 손상을 방어할 수 있었다. 이러한 위점막 손상에 대한 방어효과는 BPY군이 가장 우수하였으며, BPJ군, BIJ군 순으로 우수하였으나 BPJ군과 BIJ군은 유의한 차이는 보이지 않았다.

한편 위점막 치료효과를 관찰하기 위해 먼저 平胃散, 二陳湯, 平陳湯 추출물의 활성산소 소거실험을 통한 항산화 효능과 *in vitro* 실험을 통한 항염증 효과(IKK mRNA, iNOS mRNA, COX-2 mRNA)를 확인하였으며, 특히 平陳湯 추출물이 높은 항산화 효능 및 항염증 효과를 나타내었다.

위점막 손상 유발 후 각 처방의 농축전탕액을 투여한 실험에서 손상된 위점막의 허혈 후 재관류시 나타나는 oxidative stress 증가는 IkB kinase로 알려진 IKK(IKK α , β)를 활성화시켜 IkB protein의 serine residue를 인산화시킴으로서 불활성화된 상태로 세포질에 존재하는 nuclear factor- κ B(NF- κ B)의 세포내 작용을 유도한다. 유리된 NF- κ B는 핵으로 들어가 target 유전자의 NF- κ B binding site(consensus sequence: 5'-GGGPPNNPyPyCC-3')에 결합하여 염증관련유전자의 발현을 유도 한다³⁵). 특히 NF- κ B 활성화는 혈관투과성의 증가를 유도하는 iNOS, COX-2 등의 염증효소의 발현을 증가시켜 염증반응의 가속화에 의한 조직 손상을 유도 한다³⁶).

iNOS는 고반응성 산소종(reactive oxygen species, ROS)의 일종인 산화질소(nitric oxide, NO)를 생성하는데, NO는 세포내 2차 신호전달자로서 전염증성 작용을 하는 것으로 알려져 있다. iNOS 발현 증가는 혈관투과성의 증가를 유도하여 산화적 스트레스를 증가시켜 염증에 의한 조직 손상을 가속화시킨다. 또한 생성된 NO는 superoxide anion의 반응으로 peroxynitrite나 hydroxyl radical이 형성되고³⁷), 이는 세포막지질을 과산화시키며, thiol, SH기를 산화시켜 세포독성을 유발한다³⁸). 또한 단백질인 tyrosine을 니트로화시켜 3-nitrotyrosine을 형성하여 세포내에 중요한 cytochrome p450을 억제하거나, 세포내 신호전달의 방법인 단백질 인산화를 억제하고 DNA 합성에 관여하는 효소계를 억제하는 독성효과가 있다³⁹).

COX-2는 유도성 동종효소(inducible isoform)로 섬유모세포와 대식세포를 포함한 여러 세포에서 발현되는 COX-2는 성장인자와 mitogen에 유도되어 prostaglandin 분비 지속을 통한 다양한 만성염증질환

환, 즉 류마티스성 관절염, Crohn's disease, 궤양성 대장염, *Helicobacter pylori* 유도 위염 등을 유발하며, 혈관이완과 혈관신생성에도 관여 한다⁴⁰⁻⁴¹). 본 실험에서는 NF-κB, iNOS, COX-2의 변화를 각 항체를 이용하여 면역조직화학으로 조사하였는데, 점막상피 손상지역에서 NF-κB p65, iNOS, COX-2의 증가를 확인할 수 있었다.

허혈 후 재관류시 점막손상 변화에 있어서 APY군, AIJ군, APJ군에서는 oxidative stress를 억제함으로써 재관류시 발생하는 NF-κB의 활성화에 의한 염증성 점막손상이 억제된 것으로 보인다. 특히 IKK mRNA 발현 억제를 통해 NF-κB의 활성이 억제됨을 확인할 수 있었으며, 또한 iNOS mRNA 발현 억제를 통해 NO(Nitric oxide)에 의한 혈관투과성 감소 및 COX-2 mRNA 발현 억제를 통한 항염증 작용이 원인인 것으로 사료된다. 이러한 치료효과는 APY군, AIJ군, APJ군 모두 AGP군에 비해 유의성이 있었으며, APJ군, APY군, AIJ군 순으로 유의성 있게 더 우수한 것으로 관찰되었다.

본 실험에서 二陳湯, 平胃散, 平陳湯이 사전 투여된 생쥐에서는 위 점막 손상 감소 효과(출혈성 찰과 감소, 스트레스 완화), 점액방어장벽의 보호 효과(COX-1 증가, 점액분비세포 증가)가 관찰되었으며, 二陳湯보다는 平陳湯이, 平陳湯보다는 平胃散에서 높은 효과를 보였다. 또한 본 실험에서 항산화 효과와 염증관련효소(IKK, iNOS, COX-2)의 mRNA 발현의 억제 효과가 확인된 二陳湯, 平胃散, 平陳湯이 투여된 위 점막 손상 생쥐에서 위점막내 항염증 효과(NF-κB p65 활성억제, iNOS와 COX-2 생성 감소)가 관찰되었으며, 二陳湯 보다는 平胃散이, 平胃散 보다는 平陳湯이 더 나은 결과를 보였다. 이러한 실험 결과로 보면 理氣祛濕의 대표방인 平胃散이 위점막 보호에 보다 효과적이며, 祛濕과 祛痰을 겸한 平陳湯이 위점막 손상의 치료에 효과가 더 있는 것으로 사료된다.

본 실험결과를 토대로 향후 脾胃病과 관련된 소화기 질환에 祛濕祛痰의 치법에 해당되는 다양한 처방들 간의 비교연구가 지속적으로 이루어지기를 기

대하는 바이다.

결론

平胃散, 二陳湯, 平陳湯의 효능을 비교연구하고자 위점막 손상에 대한 보호효과와 치료효과로 나누어 관찰하였다. 위점막 손상에 대한 보호효과를 관찰하기 위해 생쥐에 각 처방의 농축전탕액을 각각 투여한 후 indomethacin을 이용하여 위점막 손상을 유발시킨 다음 위의 외부형태, 위점막의 일반적인 형태, 위점막 보호체계(중성점액장벽, COX-1, HSP70) 등의 변화를 관찰하였다. 또한 치료효과를 관찰하기 위해 각 처방 추출물의 활성산소 소거실험을 통한 항산화 효과, *in vitro* 에서 항염증 효과(IKK mRNA, iNOS mRNA, COX-2 mRNA) 등을 관찰하고, 생쥐에 indomethacin을 이용하여 위점막 손상을 유발시킨 후에 각 처방의 농축전탕액을 투여하여, 위점막의 일반적인 형태, 위점막내 항염증 효과(NF-κB, iNOS, COX-2) 등을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

1. 위점막 손상유발 전 각 처방의 농축전탕액 투여군 모두에서 투여되지 않은 군에 비하여 출혈성 찰과, 점액분비세포의 배열 유실 등의 위점막 손상 소견이 감소된 것으로 나타났으며, 平胃散 투여군, 平陳湯 투여군, 二陳湯 투여군 순으로 위점막 손상이 유의성 있게 감소한 것으로 관찰되었다.
2. 위점막 보호 효과는, 각 처방의 농축전탕액 투여군 모두에서 투여되지 않은 군에 비하여 중성점액세포 손상완화, COX-1 분포증가, HSP의 분포감소 등의 위점막 보호 효과가 유의성 있게 나타났으며, 그 중 平胃散 투여군이 가장 우수한 것으로 관찰되었다. 단, COX-1에서는 二陳湯투여군 보다 平陳湯투여군에서 더 증가했으나 유의성 있는 차이는 보이지 않았으며, HSP에서는 平陳湯투여군 보다 平胃散투여군에서 더 감소하였으나 유의성 있는 차이는 보이지 않았다.

3. 활성산소 소거실험을 통한 항산화 효과 측정에서 平胃散, 二陳湯, 平陳湯 모두 항산화 효과가 있었으며, 그 중 平陳湯의 항산화 효과가 우수한 것으로 관찰되었다.
4. *In vitro* 에서 항염증 효과는 平胃散 추출물, 二陳湯 추출물, 平陳湯 추출물에서 모두 효과가 있는 것으로 나타났으며, 그 중 平陳湯이 가장 우수한 것으로 관찰되었다. 또한 *in vivo* 에서 위점막내 항염증 효과는, 각 처방의 농축 전탕액 투여군 모두에서 투여하지 않은 군에 비하여 점액분비세포 배열유실의 감소 및 NF-κB, iNOS, COX-2 양성반응세포의 유의성 있는 감소를 보였는데, 平陳湯 투여군, 平胃散 투여군, 二陳湯 투여군 순으로 항염증효과가 유의성 있게 더 우수한 것으로 관찰되었다.

이상의 결과로 平胃散, 二陳湯, 平陳湯 처방 모두 위점막 손상에 대한 보호효과와 치료효과가 있었으며, 보호효과는 理氣祛濕하는 平胃散이 가장 우수하였으며, 치료효과는 祛濕과 祛痰을 겸한 平陳湯이 가장 우수한 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 김정룡. 소화기계 질환. 서울:일조각. 2005:206-14.
2. 순천향대학교 의과대학 소화기연구소. 소화기학. 서울:고려의학. 2004:225-28.
3. 대한소화기학회. 소화성궤양. 서울:군자출판사. 2002:19-32
4. 전국한의학대학 비계내과학교실. 脾胃內科學. 서울:군자출판사. 2008:333-39.
5. 危北海, 越榮萊, 李乾构. 中醫脾胃學說應用研究. 北京:北京出版社. 1993:203-10.
6. 陳貴廷, 楊思澍. 實用中西醫結合診斷治療學. 北京:中醫藥科技出版社. 1991:437-41.
7. 전국한의학대학 병리학교실. 한방병리학. 서울:일중사. 2004:69-71, 150-2, 173-4.
8. 김갑성, 김명동, 김윤범, 김장현, 김중호, 이원철 외. 東西醫學臨床總書. 서울:정담. 2001:495-500.
9. 尹吉榮. 東醫臨床方劑學. 서울:成輔社. 2002:58-9, 72, 85-90.
10. 배병철. 표준임상방제학. 서울:成輔社. 1995:19, 211-3, 411.
11. 배동주. 생쥐의 위점막 손상에 대한 이진탕 사군자탕 및 육군자탕의 비교 연구[박사학위논문]. 원주:상지대학교대학원. 2005.
12. 박정환. Indomethacin으로 유발된 생쥐의 위점막 손상에 대한 이진탕 향사이진탕 및 내소산의 비교연구[박사학위논문]. 원주:상지대학교대학원. 2008.
13. Kong KH, Baik TH. Effects of Hyangsayukgunjatang Extract on Indomethacin-Induced Gastric Lesions. Journal of korean internal medicine. 2001;22(4):589-99.
14. 이재준. Indomethacin으로 損傷된 생쥐의 胃粘膜에 對한 平胃散 香砂平胃散 大和中飲의 效果[박사학위논문]. 원주:상지대학교 대학원. 2005.
15. Park JH, Baik TH. Effects of Pyungjintang Extract on Indomethacin-induced gastric mucosal lesions in mice. Journal of korean oriental medicine. 2005;26(3):215-27.
16. 黃度淵. 方藥合編. 서울:南山堂. 2001:142, 190, 212.
17. 張介賓. 景岳全書. 上卷. 서울:大星文化社. 1998: 355, 635.
18. Choi HM, Lim SW. Effects of Hyangsapyeongwisan on Gastric Mucosal Lesions Induced by Indomethacin. Journal of korean internal medicine. 2004;25(3):518-28.
19. Baik TH. Effects of Pyeongwibunsoeum Extract on Indomethacin-induced Gastric Mucosal lesions. Journal of korean oriental medicine. 2003;24(2): 94-108.
20. David Y. Graham : NSAID ulcers : prevalence and prevention. Mod Rheumatol. 2000;10:2-7.
21. Tetsuo Arakawa, Kazuhide Higuchi, Takashi Fukuda, Yasuhiro Fujiwara, Kenzo Kobayashi, d Tetsuo kuroki. Prostaglandins in the stomach; an update. J. Clin. Gastroenterol. 1998;27:1-11.
22. Schoen R. T, Vender R. J. Mechanism of NASID-

- induced gastric damage. *AM, J. Med.* 1989;86:449-58.
23. Byron Crye, Michael B. Kimmey. Gastrointestinal side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Am J med.* 1998;105:20s-30s.
 24. Lee S. Siomon. Biology and toxic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Current Opinion in Rheumatology.* 1998;10:153-58.
 25. Byron Cryer, Andre Dubois. The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase-a review. *Prostaglandins & other Lipid Mediators.* 1998;56:341-61.
 26. Choitsu Sakamoto. Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal pathophysiology. *J Gastroenterol.* 1998;33:618-24.
 27. De Maio A. The heat-shock response. *New Horiz.* 1995;2:198-207.
 28. Gonzalez M. F., Shiraishi K., Hisanaga K., Sagar S. M., Mandabach M., Sharp F. R. Heat shock protein as markers of neuronal injury. *Mol. Brain Res.* 1989;6:93-100.
 29. Vass K., Beger M. L., Nowak T. S., Jr Lassmann H. Induction of stress protein HSP70 in nerve cell after status epilepticus in the rat. *Neurosci Lett.* 1989;100:259-64.
 30. Bergstedt K., Hu B. R., Weiloeh T. Initiation of protein synthesis and heat shock protein-72 expression in the rat brain following severe insulin induced hypoglycemia. *Acta Neuropathol.* 1989;86:259-64.
 31. Valazquez J. M. and Lindquist S. H. Hsp 70 - Nuclear concentration during environmental stress and cytoplasmic storage during recovery. *Cell.* 1984;36:655-622.
 32. Maulik N., Engelman R. M., Wei Z., Liu X., Rousou J. A., Flack J. E., et al. Drug-induced heat-shock preconditioning improves postischemic ventricular recovery after cardiopulmonary bypass. *Circulation.* 1995;92:381-88.
 33. Maulik N., Wei Z., Liu X., Engelman R. M., Rousou J. A., Das D. K. Improved postischemic ventricular functional recovery by amphetamine is linked with its ability to induce heat shock. *Mol. cell. Biochem.* 1994;137:17-24.
 34. Criag E. A., Gambill B. D., Nelson R. J. Heat shock protein: molecular chaperone of protein biogenesis. *Microbiol Rev.* 1993;57:402-14.
 35. Baeuerle P. A., Baltimore D. NF- κ B - Ten years after. 1996;*Cell.* 87:13-20.
 36. Baeuerle P. A. : I κ B-NF- κ B structure: at the interface of inflammation control. *Cell.* 1998;95:729-31.
 37. Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet.* 1994;9:1199-206.
 38. Radi R., Beckman J. S., Bush K. M., Freeman B. A. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys.* 1991;1;288(2):481-7.
 39. Villa L. M., Salas E., Darley-Usmar V. M., Radomski M. W., Moncada S. Peroxynitrite induces both vasodilatation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;20;91(26):12383-7.
 40. Groszmann, R.J. Hyperdynamic state in chronic liver diseases. *J Hepatol.* 1993;17(2):S38-40.
 41. H. J. Rothkötter, R. Pabst, M. Bailey. Lymphocyte migration in the intestinal mucosa : entry, transit and emigration of lymphoid cells and the influence of antigen. *Vetrinary Immunology immunopath.* 1999;72:157-65.