

알코올성 위염 동물 모델에서 작두콩 추출물의 보호 효과

김옥경¹ · 남다은¹ · 유양희² · 진우진² · 이정민^{1*}

¹경희대학교 의학영양학과

²전남대학교 식품영양학과

Protective Effect of *Canavalia gladiata* on Gastric Inflammation Induced by Alcohol Treatment in Rats

Ok Kyung Kim¹, Da-Eun Nam¹, Yanghee You², Woojin Jun², and Jeongmin Lee^{1*}

¹Dept. of Medical Nutrition, Kyung Hee University, Gyeonggi 446-701, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

Abstract

The objective of this study was to investigate the protective effect of extracts from *Canavalia gladiata* (CGE) on gastric inflammation induced by alcohol treatment in SD rats. Rats were divided into four groups: G1 (normal group), G2 (gastric inflammation induced by alcohol), G3 (gastric inflammation induced by alcohol with lansoprazole pretreatment), G4 (gastric inflammation induced by alcohol with 250 mg/kg b.w. CGE pretreatment), G5 (gastric inflammation induced by alcohol with 500 mg/kg b.w. CGE pretreatment). After the oral administration of 40% alcohol and samples for seven days, acute gastritis was induced with 70% alcohol and 0.15 M HCl. After 1 h of alcohol administration, the animals were sacrificed. Groups pretreated with lansoprazole or CGE showed an attenuation of gastric mucosal injury, including decreases in sub-epithelial loss, hemorrhages, and gastric juice secretion induced by administration of alcohol. The oral administration of CGE (500 mg/kg b.w.) significantly decreased the levels of TBARS. To examine molecular factors that regulate inflammation, the protein expression of NF- κ B and COX-2 were measured through immuno-histochemistry. Compared with the normal group (G1), the expression of NF- κ B and COX-2 were clearly increased in G2. COX-2 and NF- κ B were expressed even higher in groups pretreated with CGE compared to G2. In conclusion, our data show that *Canavalia gladiata* has inhibitory and protective effects on gastric inflammation induced by alcohol treatment in SD rats.

Key words: *Canavalia gladiata*, gastric inflammation, antioxidant, NF- κ B, flavonoid

서 론

위염은 위 점막 염증성 질환을 총칭하는 것으로 *Helicobacter pylori*균 감염, NSAID(non-steroid anti-inflammatory drugs), 스트레스, 알코올 등에 의해 위 점막을 보호하는 방어인자와 손상시키는 공격인자 사이의 균형이 깨져 발생이 된다(1,2). 위 점막을 손상시키는 공격인자의 하나인 알코올 과다 섭취는 위장의 출혈과 염증발생을 유발시켜 급성위염을 일으킬 수 있다(3). 이러한 알코올의 급성위염 발병은 알코올 농도 의존적으로 병변을 일으키며 위장에 직접적인 손상을 일으키게 된다. 따라서 높은 농도의 알코올 처리는 동물을 이용한 위염 및 위 점막 손상 유발 모델에서 널리 사용되고 있다(4,5).

알코올성 위염은 위 점막 보호물질 감소, 산화적 스트레스, 히스타민 분비의 증가 등에 의한 위 손상이 염증을 악화

시킨다고 알려져 있다(6). 하지만 아직 알코올에 의한 위염 발생의 분자학적인 기전에 대해서는 정확하게 규명이 되지 않았으며, 이에 따라 특이적 치료방법도 없는 실정이다. 많은 연구에서 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 알코올성 위염의 발병에서 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다(7). 과다한 활성산소종의 증가는 세포의 과산화지질 형성 증가로 인하여 세포벽의 손상을 일으켜 위 점막의 손상을 유발시킨다(8,9). 또한 활성산소종은 세포내 NF- κ B의 발현을 자극시켜 cyclooxygenase-2(COX-2)와 사이토카인의 증가를 유발시켜 염증반응을 일어나게 한다(10-12). 그러므로 세포내의 항산화 작용의 증가는 알코올성 위염의 발병을 감소시킬 수 있으며 위 점막을 보호하는 역할을 할 수 있다(13).

질병과 노화의 원인이 되는 활성산소종을 제거하는 항산화제의 기능성에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있으며,

*Corresponding author. E-mail: jlee2007@khu.ac.kr
Phone: 82-31-201-3779, Fax: 82-31-204-8119

특히 항산화 기능성 물질에 관한 연구와 새로운 천연 항산화제 개발에 대한 관심이 증가하고 있다(14). 최근 연구되고 있는 식물로부터 유래된 천연 항산화제들은 페놀성 화합물들로서 항산화 활성을 포함한 여러 생물학적 기능을 가진다고 보고되고 있다(15). 이러한 천연 항산화제 개발의 일환으로 국내에서 재배되는 작두콩(*Canavalia gladiata*)의 항산화 효능에 대해 연구된 바 있으며 특히 작두콩 추출물에는 페놀성 화합물인 플라보노이드의 함량이 다른 콩과 식물에 비하여 높게 나타났다는 연구결과가 있다(16). 작두콩은 콩과의 한해살이 덩굴성식물로서 남쪽지방에 잘 자라며 한방에서는 도두(刀豆) 또는 협검두(挾劍豆)라고 한다. 중국의 <본초강목>이나 <본초비요> 같은 의학책에는 장, 위를 보하고 속을 따뜻하게 하며 신장의 기능을 돕고 원기를 보하는 약효가 있다고 기록되어 있다(17,18). 이러한 작두콩의 위장 보호에 대한 기록과 항산화 관련 연구를 통하여 알코올성 위염으로부터 위장 보호 효과를 나타낼 수 있을 것으로 기대할 수 있다.

따라서 본 연구는 국내에서 재배되는 작두콩 추출물의 투여가 알코올을 처리로 유발된 위염 동물모델에서 위 점막 손상, 위액 분비, 염증성 인자 발현의 변화에 미치는 영향을 관찰하여 위장 보호 효과의 기능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출

광주광역시에서 재배한 작두콩의 이물질을 제거한 후 동결건조기로 건조하여 분말화하였다. 분말시료 50 g에 1 L의 80% 알코올을 가하여 250°C에서 3시간 동안 reflux하여 추출하였다. 추출물은 여과지(whatman filter paper No. 6, Whatman, Newton, MA, USA)로 여과한 후, 회전진공농축기로 감압농축 하여 동결건조 한 다음 -20°C에 보관하며 실험에 사용하였다.

실험동물 및 처치

(주)오리엔트바이오(Seongnam, Korea)로부터 공급 받은 250 g 내외의 7주령 SD rat 수컷을 일주일 동안 설치류 사육실에서 적응시킨 후 적응기간 중 일반 상태를 관찰하여 건강한 개체만 실험에 사용하였다. 사육환경은 온도 23±3°C, 습도 50±5%에서 light cycle은 12시간으로 유지하였다. 순화기간 중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용하여 군 분리를 실시하였다.

군 분리는 정상 대조군(G1), 알코올성 위염 유발 시험대조군(G2), 양성대조군(lansoprazole 30 mg/kg)(G3), 작두콩 80% 알코올 추출물(80% alcohol extract of *Canavalia gladiata*(CGE)) 250 mg/kg 투여군(G4), 작두콩 80% 알코올 추출물 500 mg/kg 투여군(G5), 총 5군으로 군당 SD rat 10 마리씩 구성하여 실험을 진행하였다. G1과 G2 그룹은 0.5%

carboxymethyl cellulose(CMC)를, G3, G4, G5 그룹은 시험물질을 각각 매일 1회씩 총 7일 동안 경구투여 한 후, 7일 동안 시험물질과 40% 알코올을 1 mL씩 경구투여 하여 알코올성 위염을 유발시켰다. 마지막 날 시험물질 투여 2시간 후, G2, G3, G4, G5 그룹에 급성 알코올성 위염 유발을 위하여 70% 알코올에 150 mM HCl을 첨가하여 1 mL씩 경구투여한 후 1시간 뒤 희생시켰다.

위 점막 손상 면적 측정

급성 알코올성 위염을 유발한 후 1시간 뒤 희생시킨 후 개복하여 방혈한 다음 위를 적출하였다. 적출한 위는 대만부를 따라 절개를 한 후 내용물을 제거하고 식염수에 씻어 면봉으로 잘 펴서 핀으로 고정한 뒤 사진 촬영을 하였다. 촬영한 사진은 이미지 프로그램(AxioVs V 4.8.2., Axiovision, Carl Zeiss, Germany)을 이용하여 위 손상 부위 및 위 전체 면적을 측정하였고 $Ulcer\ index(\%) = \frac{\text{손상면적}}{\text{전체면적}} \times 100$ 으로 계산하였다.

위액 분비량 측정

적출한 위를 사진 촬영 전 유문부를 조금 절개하여 15 mL 튜브에 위액을 수집하여 3,000 rpm에 20분 centrifuge한 후 상층액을 수집하여 위액량(mL)을 측정하였다.

위 조직의 병리학적 관찰

위조직의 일부를 분리하여 10% 중성 포르말린에 고정시킨 다음 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀 포매하여 조직절편기(RM2125, Leica, Wetzlar, Germany)를 이용하여 4 μm의 두께로 절단한 다음 polylysine으로 coating된 slide에 붙였다. 조직절편은 xylene을 이용하여 파라핀을 제거하고 알코올과 증류수로 10분간 함수시켜 증류수로 세척한 후, 위조직의 변화양상을 관찰하기 위하여 H&E(Hematoxylin & Eosin)염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다. 병리학적 관찰에 대한 소견을 점수화하기 위하여 Park 등(19)의 논문을 참고하여 Table 1과 같은 지표를 사용하여 모든 개체의 위장 병변을 점수화하여 그룹간의 차이를 비교하였다.

산화적 손상 측정

산화적 스트레스에 의한 지질과산화 생성을 측정하기 위하여 Erdelmeier법을 사용하여 TBARS(thiobarbituric acid reactive substance)를 측정함으로써 산화적 손상을 관찰하였다. 위 조직을 절취하여 tris-HCl buffer를 사용하여 균질화시켜 12,000 rpm에서 20분간 centrifuge 시킨 후 그 상등액을 300 μL 취하였다. 그 상등액에 동량의 TCA를 처리하여 원심분리 후 상등액을 취하여 2-thiobarbituric acid(TBA) 500 μL를 넣어 반응하도록 95°C에서 20분간 가열시켰다. TBA 반응산물을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

위 점막 내 염증관련 단백질 발현량 변화 관찰

위 점막의 NF-κB와 COX-2의 분포 변화를 조사하기 위

Table 1. Histopathological score index of gastric inflammation

Score 0	No inflammatory response in mucosa and submucosa.
Score 1	Mild infiltration of neutrophils in submucosa and lower mucosa but no gastric epithelial change.
Score 2	Moderate infiltration of neutrophils and macrophages in mucosa as well as submucosa and focal necrosis of gastric epithelia.
Score 3	Severe infiltration of neutrophils and macrophages in mucosa and submucosa, and multifocal necrosis of gastric epithelia.
Score 4	Severe infiltration of neutrophils and macrophages in mucosa and submucosa, and massive necrosis of the great part of gastric epithelia.
Score 5	Severe infiltration of neutrophils and macrophages in mucosa, submucosa, and muscle layer, massive necrosis of all part of gastric epithelia, and presence of edema, erosion, and ulcer.

해 면역 조직 화학적 염색을 실시하였다. 파라핀 블록을 만든 후 ABC(avidin-biotin-peroxidase complex) 방법을 사용하였으며 COX-2(1:400 dilution, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)와 NF- κ B(1:150 dilution, Santa Cruz Biotechnology) 항체를 사용하여 일차 항체와 반응하도록 하였다. 변화된 발색을 광학현미경으로 관찰하여 비교하였다.

통계처리

본 실험결과는 SPSS(Statistical Package for the Social Science) version 20.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다. 모든 측정 항목의 결과는 평균(mean) \pm 표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였고 실험군간 평균의 차이는 one-way ANOVA로 유의성을 확

인한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후 검증하였으며 $p < 0.05$ 수준에서 유의성의 여부를 검증하였다.

결 과

위 점막 손상 및 형태학적 변화

위 점막 손상에 대한 형태학적인 변화를 살펴본 결과 정상 대조군(G1)에서는 위 점막 손상이 관찰되지 않은 반면, 알코올성 위염을 유발시킨 시험대조군(G2)에서는 위 점막의 손상과 점막출혈을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 이에 따라 알코올성 위염을 유발시킨 그룹(G2)에서의 위 점막 손상면적은 전체 면적의 $5.40 \pm 1.88\%$ 차지하였다(Fig. 2). 대조물질 lansoprazole 30 mg/kg 투여한 G3그룹에서 점막 손상 부위의 면적이 현저히 감소하였음을 관찰하였고(Fig. 1) 위 손상면

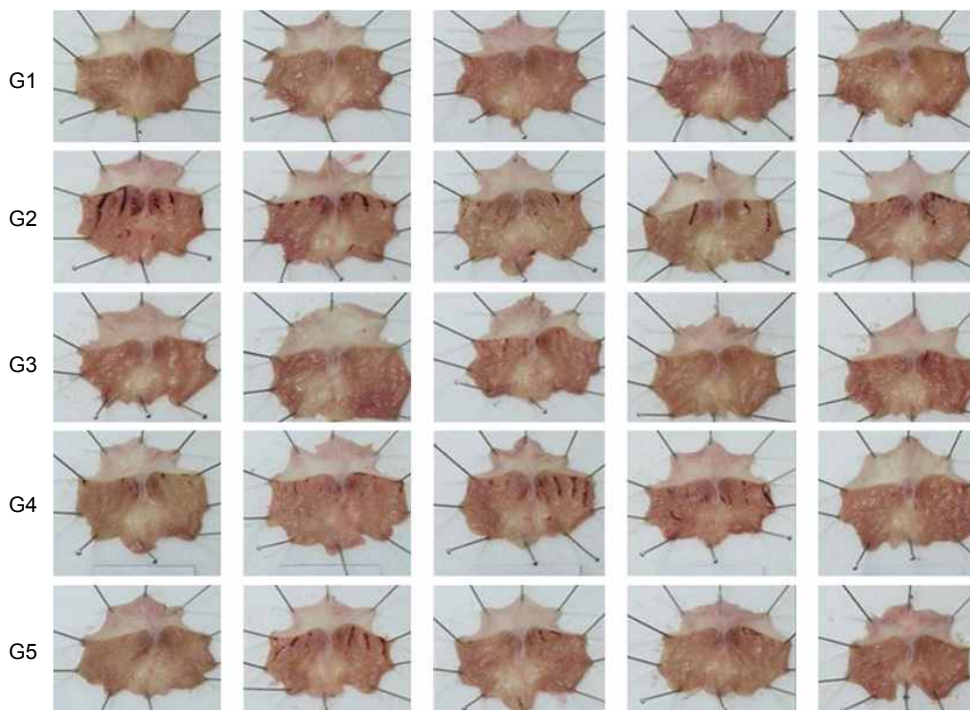


Fig. 1. Effect of *Canavalia gladiata* extracts (CGE) on gastric mucosal damage in rats submitted gastric inflammation induced by acute alcohol treatment. G1 (normal group), G2 (gastric inflammation induced by alcohol), G3 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of lansoprazole 30 mg/kg b.w), G4 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 250 mg/kg b.w), G5 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 500 mg/kg b.w) groups.

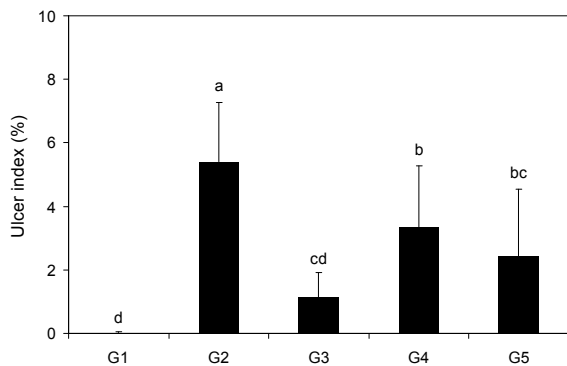


Fig. 2. Effect of *Canavalia gladiata* extracts (CGE) on ulcer index (%; gastric lesion/total area \times 100) in rats submitted gastric inflammation induced by acute alcohol treatment. G1 (normal group), G2 (gastric inflammation induced by alcohol), G3 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of lansoprazole 30 mg/kg b.w), G4 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 250 mg/kg b.w), G5 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 500 mg/kg b.w) groups. The results were presented means \pm SD. Different letters show a significantly difference at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test.

적은 전체 면적의 $1.13 \pm 0.80\%$ 로 시험대조군(G2)과 비교하여 통계적으로 유의적인 감소를 보였다($p < 0.05$)(Fig. 2). 또한 작두콩 80% 알코올 추출물을 투여한 그룹(G4, G5)에서도 G2그룹에 비하여 위 점막 손상과 출혈이 감소하였음을 관찰하였다(Fig. 1). 위 손상면적은 작두콩 80% 알코올 추출물 250 mg/kg 투여한 G4그룹에서 $3.34 \pm 1.93\%$, 작두콩 80% 알코올 추출물 500 mg/kg 투여한 G5그룹에서는 $2.44 \pm 2.11\%$ 로 나타났으며 농도 의존적인 결과는 나타나지 않았으나, 알코올성 위염 유발군인 G2그룹과 비교하여 유의적으로 감소시켰다($p < 0.05$)(Fig. 2).

위액 분비량 변화

위액 분비량 측정 결과 정상 대조군(G1)에서는 0.06 ± 0.06 mL로 위액이 거의 분비되지 않았으나 알코올성 위염을 유발시킨 시험대조군(G2)에서는 위 점막손상으로 위액 분비량이 증가하여 1.93 ± 0.54 mL로 측정되었다. 이는 정상 대조군과 비교하여 통계적으로 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$). 대조물질 lansoprazole 30 mg/kg 투여한 G3그룹의 위액분비량은 0.38 ± 0.25 mL로 시험대조군(G2)에 비해 통계적으로 유의성 있게 위액 분비량을 감소시켰다($p < 0.05$). 작

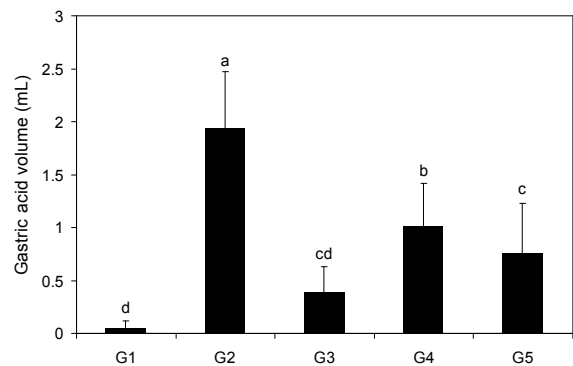


Fig. 3. Effect of *Canavalia gladiata* extracts (CGE) on gastric acid volume in rats submitted gastric inflammation induced by acute alcohol treatment. G1 (normal group), G2 (gastric inflammation induced by alcohol), G3 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of lansoprazole 30 mg/kg b.w), G4 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 250 mg/kg b.w), G5 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 500 mg/kg b.w) groups. The results were presented means \pm SD. Different letters show a significantly difference at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test.

두콩 80% 알코올 추출물 250 mg/kg을 투여한 G4그룹의 위액분비량은 1.02 ± 0.40 mL, 작두콩 80% 알코올 추출물 500 mg/kg을 투여한 G5그룹은 0.76 ± 0.47 mL로 측정되었다. 따라서 이러한 결과로 작두콩 80% 알코올 추출물이 농도 의존적으로 위액 분비량을 감소시켰음을 확인할 수 있었다($p < 0.05$)(Fig. 3).

위 조직의 병리학적 변화

Hematoxylin & Eosin 염색을 통하여 위조직의 병리학적인 관찰을 실시한 결과, 알코올성 위염을 유발한 군(G2)에서 위 점막조직의 손상이 깊게 발생하였으며 표면 상피세포들의 소실이 크게 진행되었음을 확인할 수 있었다. 반면 대조물질 lansoprazole 30 mg/kg 투여한 G3그룹에서는 이러한 손상이 현저하게 줄어들었으며, 작두콩 80% 알코올 추출물 250 및 500 mg/kg 투여한 군들에서는 양성대조군 정도는 아니지만 G2그룹과 비교하였을 때 손상과 표면 상피세포의 소실이 크지 않았음을 확인할 수 있었다. 하지만 이는 농도에 의존적인 현상으로는 관찰되지 않았다(Fig. 4).

또한 이러한 병리학적 이상소견을 점수화한 결과에서 정상 대조군(G1)에서는 특이할 만한 조직병리학적 소견은 관

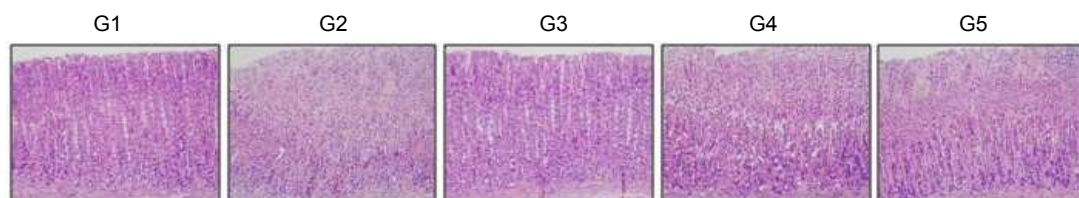


Fig. 4. Effect of *Canavalia gladiata* extracts (CGE) on histological observation by H&E staining in rats submitted gastric inflammation induced by acute alcohol treatment. G1 (normal group), G2 (gastric inflammation induced by alcohol), G3 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of lansoprazole 30 mg/kg b.w), G4 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 250 mg/kg b.w), G5 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 500 mg/kg b.w) groups.

Table 2. Effect of *Canavalia gladiata* extracts (CGE) on histopathological score of gastric inflammation in rats submitted gastric inflammation induced by acute alcohol treatment

Group	Drug and dose	Score
G1	0.5% CMC	0
G2	0.5% CMC	3.75±0.96 ^a
G3	Lansoprazole 30 mg/kg b.w	1.50±1.29 ^b
G4	CGE 250 mg/kg b.w	3.00±0.82 ^{ab}
G5	CGE 500 mg/kg b.w	2.50±0.58 ^{ab}

G1 (normal group), G2 (gastric inflammation induced by alcohol), G3 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of lansoprazole 30 mg/kg b.w), G4 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 250 mg/kg b.w), G5 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 500 mg/kg b.w) groups. The results were presented means±SD. Different letters show a significantly difference at $p<0.05$ as determined by Duncan's multiple range test.

찰되지 않았으나 알코올성 위염을 유발시킨 시험대조군(G2)은 3.75±0.96으로 유의적으로 가장 높았다($p<0.05$). 양성대조군(G3)은 1.50±1.29로 G2그룹과 비교하여 유의적으로 감소되었고, 또한 작두콩 80% 알코올 추출물 250 및 500 mg/kg 투여한 군은 각각 3.00±0.82 및 2.50±0.58로 측정되었다. 이는 G2그룹과 비교하였을 때 감소하는 경향은 관찰할 수 있었으나 통계적으로 유의적인 감소를 보이지는 않았다($p<0.05$)(Table 2).

산화적 손상 변화

산화적 손상 정도를 확인하기 위해 측정된 TBARS 양은 정상 대조군(G1) 2.43±0.392 nmol/g, 시험대조군(G2) 6.62±0.44 nmol/g으로 정상 대조군(G1)에 비해 알코올성 위염을 유발시킨 시험대조군의 TBARS 양이 통계적으로 유의성 있는 증가를 보였다($p<0.05$). Lansoprazole 30 mg/kg 투여한 그룹(G3)은 3.52±1.28 nmol/g으로 시험대조군에 비해 유의적으로 감소하였음을 확인할 수 있었으며 이는 정상 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다($p<0.05$). 반면 작두콩 80% 알코올 추출물 250 mg/kg을 투여한 G4 그룹은

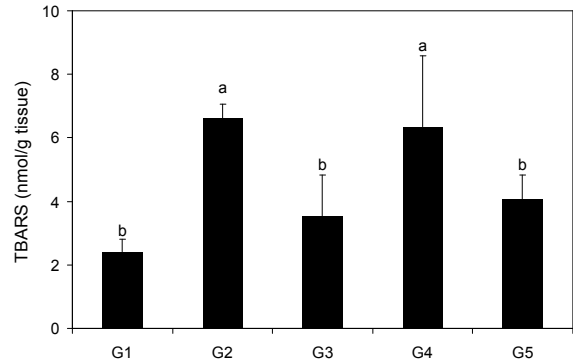


Fig. 5. Effect of *Canavalia gladiata* extracts (CGE) on TBARS levels of gastric mucosa in rats submitted gastric inflammation induced by acute alcohol treatment. G1 (normal group), G2 (gastric inflammation induced by alcohol), G3 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of lansoprazole 30 mg/kg b.w), G4 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 250 mg/kg b.w), G5 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 500 mg/kg b.w) groups. The results were presented means±SD. Different letters show a significantly difference at $p<0.05$ as determined by Duncan's multiple range test.

6.36±2.22 nmol/g으로 시험대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았으나 500 mg/kg을 투여한 G5그룹은 4.06±0.78 mol/g으로 대조물질 lansoprazole 30 mg/kg 투여군과 유의적인 차이가 없는 정도로 시험대조군에 비하여 감소되었음을 확인하였다($p<0.05$)(Fig. 5).

위 점막 내 염증관련 단백질 발현 변화

위 점막 내에서 COX-2와 NF-κB의 발현의 분포와 정도를 비교하기 위하여 면역 조직 화학적 염색을 실시하였다. 그 결과 알코올성 위염을 유발시킨 시험대조군(G2)에서 정상대조군(G1)보다 COX-2와 NF-κB의 발현이 확연하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 대조물질 lansoprazole 30 mg/kg 투여한 G3그룹에서는 COX-2와 NF-κB의 발현이 모두 감소하는 것을 확인할 수 있었으나 작두콩 80% 알코올 추출물을 투여한 G4, G5군에서는 시험대조군(G2)에 비해

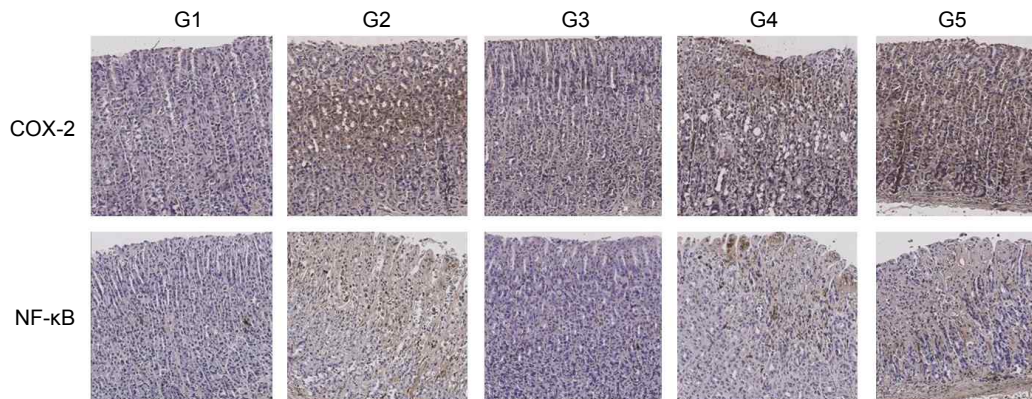


Fig. 6. Effect of *Canavalia gladiata* extracts (CGE) on expression of COX-2 and NF-κB in rats submitted gastric inflammation induced by acute alcohol treatment. G1 (normal group), G2 (gastric inflammation induced by alcohol), G3 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of lansoprazole 30 mg/kg b.w), G4 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 250 mg/kg b.w), G5 (gastric inflammation induced by alcohol and pretreatment of CGE 500 mg/kg b.w) groups.

미비한 감소를 보였다(Fig. 6).

고 찰

알코올성 위염은 임상에서 흔하게 접하는 질환이지만 정확한 분자 생물학적 기전에 대하여 규명되어 있지 못하고 있다. 이전 보고들에 따르면 알코올의 과다한 섭취는 급성 및 만성 위염의 원인이 되며 위장의 출혈과 미란을 유발하고 위 점막 상피세포의 손실을 일으켜 위 손상을 야기한다고 한다. 또한 위액의 분비를 증가시켜 위장의 공격인자로 작용하여 위 점막을 보호하는 방어체계가 깨져 병변을 일으켜 위 손상을 악화시킨다고 알려져 있다(20,21). 이번 연구를 통한 결과에서도 알코올성 위염을 유발시킨 그룹이 정상 대조군과 비교하였을 때 확인한 위 점막 손상을 일으켰음을 확인할 수 있었다. 알코올을 처리한 동물 위벽의 출혈과 증가된 위 점막 손상 면적을 관찰할 수 있었으며, 위액분비량이 유의적으로 높아졌음을 알 수 있었다. 또한 조직 병리학적인 관찰을 통해 위 점막 상피세포의 손실이 크게 증가되었음을 발견하였다. 이러한 결과들은 이전 연구 내용들과 동일한 결과로 보인다. 이번 연구에서 양성대조군으로 사용한 위염에 사용되고 있는 약물인 lansoprazole을 처리한 동물의 위 손상은 알코올성 위염 유발군과 비교하여 확연하게 감소되었음을 형태학적, 병리학적 관찰에서 확인할 수 있었다. 또한 이번 연구에서 사용한 작두콩의 처리는 위 점막의 손상을 감소시키고 농도 의존적으로 위액 분비량을 감소시켜, 높은 농도의 작두콩 처리가 알코올로 증가된 위 점막 손상과 위액 분비량을 감소시켰음을 관찰하였다.

최근 여러 연구에서 산화적 손상이 알코올에 의한 위 병변을 일으키는 중요한 인자로 작용한다고 보고되고 있다. 산화적 손상은 비정상적으로 높아진 활성산소종에 의하여 세포 내에서 항산화 방어체계가 손상되어 일어난다(22). 증가된 활성산소종은 세포에서 과산화지질을 형성하여 세포막을 손상시켜 결과적으로 세포사멸을 일으키게 된다. 그러므로 항산화 기능이 위 조직의 손상을 치료하고 보호하는데 중요한 역할은 한다고 보고되어 있다(23,24). 이번 연구에서 산화적 손상을 확인하기 위해 과산화지질에 의하여 생성되는 TBARS의 농도를 측정하여 비교하였다. 그 결과 알코올성 위염을 유발시킨 동물 위 조직의 TBARS의 농도가 정상 대조군에 비하여 유의적으로 높아져 알코올이 산화적 손상을 일으켰음을 관찰하여 이전 연구와 동일하였음을 확인하였다. 반면 lansoprazole과 고농도의 작두콩 80% 알코올 추출물의 처리가 정상대조군과 유의적인 차이가 없을 정도로 증가된 TBARS의 농도를 낮췄다. 하지만 저농도의 작두콩 80% 알코올 추출물의 처리는 알코올성 위염을 일으킨 군과의 유의적인 차이가 없었다.

알코올에 의해 과도하게 증가된 활성산소종은 면역관련 인자들을 발현시키는 중요한 역할을 하는 NF- κ B의 발현을

자극시킨다(25). NF- κ B의 발현 증가는 COX-2의 발현을 증가시켜 염증뿐만 아니라 각종 퇴행성 질환의 발병과 진행을 일으키게 한다(26,27). 따라서 활성산소종을 감소시켜 NF- κ B의 활성 억제를 통하여 COX-2의 발현을 억제함으로써 항염증 효능을 나타낼 수 있다(28). 이번 연구에서 알코올 처리로 인하여 위조직의 NF- κ B와 COX-2의 발현이 확연하게 증가되어 염증반응이 일어났음을 관찰하였다. 작두콩 80% 알코올 추출물의 처리는 NF- κ B와 COX-2의 발현의 미비한 감소를 일으킨 것으로 관찰되었다.

Kim 등(16)은 콩과 식물인 작두콩, 대두, 서리태의 메탄올 추출물을 통하여 플라보노이드 함량을 비교하였으며 그 결과 작두콩이 유의적으로 높았고 이에 따른 DPPH 라디칼 소거활성도 높게 나타났다고 보고하였다. 이로서 작두콩의 항산화 활성을 증명한 바 있으며 Cho 등(29)은 작두콩 추출물의 부위별 및 추출 용매별 항균활성을 비교하여 기능성을 입증한 바 있다. 따라서 알코올로 위염을 유발시킨 동물에서 작두콩의 처리로 인하여 위 손상을 감소시킨 결과는 작두콩의 항산화 활성으로 인한 결과로 예상된다. 작두콩의 높은 플라보노이드 함량으로 인한 항산화 효능이 알코올에 의해 증가된 활성산소종과 산화적 손상을 감소시켜 알코올에 의한 위 점막 손상으로부터 보호하는 역할을 할 수 있었던 것으로 보인다.

요 약

본 연구는 국내에서 재배되는 작두콩 추출물의 투여가 알코올 처리로 유발된 위염 동물모델에서 위 점막 손상, 위액 분비, 염증성 인자 발현의 변화에 미치는 영향을 관찰한 후 위장 보호 효과의 기능성을 입증시켜 기능성 식품 개발의 기초자료를 제공하고자 하였다. 작두콩 80% 알코올 추출물을 투여한 그룹에서 알코올성 위염을 유발시킨 그룹에 비하여 위 점막 손상과 출혈이 감소하였음을 관찰하였으며 위 손상면적 또한 유의적으로 감소시켰다. 위액분비량을 비교한 결과에서도 알코올성 위염으로 인하여 증가한 위액분비량을 작두콩 80% 알코올 추출물이 농도 의존적으로 감소시켰음을 확인할 수 있었다. 위 조직의 병리학적인 관찰을 통하여 효과를 관찰한 결과 알코올성 위염을 유발한 군에서 위 점막조직의 손상과 표면 상피세포의 손실을 관찰할 수 있었으나, 작두콩 80% 알코올 추출물 250 및 500 mg/kg 투여한 군들에서는 알코올성 위염 그룹과 비교하여 손상이 깊지 않음을 확인할 수 있었다. TBARS 양으로 산화적 손상을 측정 한 결과에서는 작두콩 80% 알코올 추출물 500 mg/kg을 투여한 그룹에서 알코올성 위염으로 인하여 증가된 산화적 손상을 대조물질 lansoprazole 30 mg/kg 투여군과 유의적인 차이가 없는 정도로 감소시켰음을 확인하였다. 염증 관련인자인 COX-2와 NF- κ B의 발현을 비교한 결과, 알코올성 위염을 유발시킨 시험대조군에서 정상대조군보다 COX-2와 NF- κ B의 발현이 확연히 증가한 반면 대조물질 lansopra-

zole 30 mg/kg 투여한 그룹에서는 발현이 감소하는 것을 확인할 수 있었으나 작두콩 80% 알코올 추출물을 투여한 군에서는 시험대조군에 비해 미비한 감소를 보였다. 따라서 작두콩 80% 알코올 추출물의 알코올성 위염 예방 효과는 형태학적 및 병리학적 관찰, 산화적 손상 억제, 염증억제효과 등으로 확인한 결과, 알코올성 위염을 억제시켰으며 이는 저용량 보다는 고용량을 섭취하였을 때 그 보호효과가 크다는 것을 확인하였다.

문 헌

- Kay HH, Grindle KM, Magness RR. 2000. Ethanol exposure induces oxidative stress and impairs nitric oxide availability in the human placental villi: a possible mechanism of toxicity. *Am J Obstet Gynecol* 182: 682-688.
- Bilici D, Süleyman H, Banoğlu ZN, Kiziltunç A, Avcı B, Ciftçioğlu A, Bilici S. 2002. Melatonin prevents ethanol-induced gastric mucosal damage possibly due to its anti-oxidant effect. *Dig Dis Sci* 47: 856-861.
- Silva MI, Moura BA, Neto MR, Tomé Ada R, Rocha NF, de Carvalho AM, Macêdo DS, Vasconcelos SM, de Sousa DP, Viana GS, de Sousa FC. 2009. Gastroprotective activity of isopulegol on experimentally induced gastric lesions in mice: investigation of possible mechanisms of action. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 380: 233-245.
- Bujanda L. 2000. The effects of alcohol consumption upon the gastrointestinal tract. *Am J Gastroenterol* 95: 3374-3382.
- Szabo S, Trier JS, Brown A, Schnoor J. 1985. Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. *Gastroenterology* 88: 228-236.
- Liu ES, Cho CH. 2000. Relationship between ethanol-induced gastritis and gastric ulcer formation in rats. *Digestion* 62: 232-239.
- Bagchi D, Carryl OR, Tran MX, Krohn RL, Bagchi DJ, Garg A, Bagchi M, Mitra S, Stohs SJ. 1998. Stress, diet and alcohol-induced oxidative gastrointestinal mucosal injury in rats and protection by bismuth subsalicylate. *J Appl Toxicol* 18: 3-13.
- Hogg N, Darley-Usmar VM, Wilson MT, Moncada S. 1992. Production of hydroxyl radicals from the simultaneous generation of superoxide and nitric oxide. *Biochem J* 15: 419-424.
- Hernández-Muñoz R, Montiel-Ruiz C, Vázquez-Martínez O. 2000. Gastric mucosal cell proliferation in ethanol-induced chronic mucosal injury is related to oxidative stress and lipid peroxidation in rats. *Lab Invest* 80: 1161-1169.
- Guo JS, Cho CH, Wang JY, Koo MW. 2006. Differential effects of selective and non-selective inhibition of nitric oxide synthase on the expression and activity of cyclooxygenase-2 during gastric ulcer healing. *Eur J Pharmacol* 536: 301-308.
- Kojima M, Morisaki T, Izuhara K, Uchiyama Y, Matsunari Y, Katano M, Tanaka M. 2000. Lipopolysaccharide increases cyclooxygenase-2 expression in a colon carcinoma cell line through nuclear factor- κ B activation. *Oncogene* 19: 1225-1231.
- Shen HM, Tergaonkar V. 2009. NF κ B signaling in carcinogenesis and as a potential molecular target for cancer therapy. *Apoptosis* 14: 348-363.
- La Casa C, Villegas I, Alarcón de la Lastra C, Motilva V, Martín Calero MJ. 2000. Evidence for protective and anti-oxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol* 71: 45-53.
- Masteiková R, Muselík J, Bernatoniene J, Majiene D, Savickas A, Malinauskas F, Bernatoniene R, Peciura R, Chalupová Z, Dvoráčková K. 2008. Antioxidant activity of tinctures prepared from hawthorn fruits and motherwort herb. *Ceska Slov Farm* 57: 35-38.
- Lee JH, Lee SR. 1994. Analysis of phenolic substances content in Korean plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26: 310-316.
- Kim JP, Yang YS, Kim JH, Lee HH, Kim ES, Moon YW, Kim JY, Chung JK. 2012. Chemical properties and DPPH radical scavenging ability of sword bean (*Canavalia gladiata*) extract. *Korean J Food Sci Technol* 44: 441-446.
- Joo SJ, Choi KJ, Kim KS, Lee JW, Park SJ. 2012. Characteristics of yogurt prepared with 'Jinpum' bean and sword bean (*Canavalia gladiata*). *Korean J Postharvest Sci Technol* 8: 308-312.
- Cho YS, Bae YI, Shim KH. 1999. Chemical components in different parts of Korean sword bean (*Canavalia gladiata*). *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 475-480.
- Park JH, Park YH, Seok SH, Cho SA, Kim DJ, Lee HY, Kim SH, Park JH. 2004. Suppurative gastritis in BALB/c mice infected with *Listeria monocytogenes* via the intra-gastric route. *J Comp Pathol* 130: 130-136.
- Gazzeri D, Trevisani M, Springer J, Harrison S, Cottrell GS, Andre E, Nicoletti P, Massi D, Zecchi S, Nosi D, Santucci M, Gerard NP, Lucattelli M, Lungarella G, Fischer A, Grady EF, Bunnett NW, Geppetti P. 2007. Substance P released by TRPV1-expressing neurons produces reactive oxygen species that mediate ethanol-induced gastric injury. *Free Radic Biol Med* 43: 581-589.
- Liu YZ, Zhou Y, Li D, Wang L, Hu GY, Peng J, Li YJ. 2008. Reduction of asymmetric dimethylarginine in the protective effects of rutaecarpine on gastric mucosal injury. *Can J Physiol Pharmacol* 88: 675-681.
- Olaleye SB, Adaramoye OA, Erigbali PP, Adeniyi OS. 2007. Lead exposure increases oxidative stress in the gastric mucosa of HCl/ethanol-exposed rats. *World J Gastroenterol* 13: 5121-5126.
- Kahraman A, Erkasap N, Köken T, Serteser M, Aktepe F, Erkasap S. 2003. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. *Toxicology* 183: 133-142.
- Kwiecień S, Brzozowski T, Konturek SJ. 2002. Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury. *J Physiol Pharmacol* 53: 39-50.
- Jonsson AS, Palmblad JE. 2001. Effects of ethanol on NF- κ B activation, production of myeloid growth factors, and adhesive events in human endothelial cells. *J Inlect Dis* 184: 761-769.
- Brown JR, DuBois RN. 2004. Cyclooxygenase as a target in lung cancer. *Clin Cancer Res* 10: 4266-4269.
- Giercksky KE. 2001. COX-2 inhibition and prevention of cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 15: 821-833.
- Jainu M, Devi CS. 2006. Gastroprotective action of *Cissampelos quadrangularis* extract against NSAID induced gastric ulcer: role of proinflammatory cytokines and oxidative damage. *Chem Biol Interact* 161: 262-270.
- Cho YS, Seo KI, Shim KH. 2000. Antimicrobial activities of Korean sword bean (*Canavalia gladiata*) extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 7: 113-116.

(2013년 1월 28일 접수; 2013년 3월 27일 채택)