

逆流性 食道炎에 대한 二陳湯加味方 構成 個別 한약재의 效果

이상태, 광민아
대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

Effects of Individual Herbal Components of *Yijintang-gamibang* in the Rat Reflux Esophagitis

Sang-tae Lee, Min-a Kwak
Dept. of internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Hanny University

ABSTRACT

Objectives : The object of this study was to observe the protective effects of 8 types of individual herbal components of *Yijintang-gamibang*, on the reflux esophagitis (RE) in rats as compared with omeprazole.

Methods : Each 100 mg/kg individual herbal component was orally pretreated, at 1 hr before and 6 hrs after pylorus and forestomach ligation, the changes on the esophageal lesion areas, gastric volumes, acid and pepsin outputs, antioxidant effects, esophageal total hexose and sialic acid contents were observed with changes on the esophageal histopathology. The results were compared with an omeprazole 10 mg/kg treated group.

Results : Pylorus and forestomach ligation-induced RE were inhibited by treatment of all 8 herbal components and omeprazole except for Pinella Rhizoma and Massa Meicata Fermentata, in order of Atractylodis Rhizoma, Citri Pericarpium, omeprazole, Glycyrrhizae Radix, Hordei Fructus Germinatus, Holelen and Citri Pericarpium, as compared with RE control. Pinella Rhizoma and Massa Meicata Fermentata did not show any favorable protective effects against RE nor antioxidant effects in the present study.

Conclusions : The main active herbal components showing favorable protective effects on RE of *Yijintang-gamibang* mediated by antioxidant effects, were Atractylodis Rhizoma, Citri Pericarpium, Glycyrrhizae Radix, Hordei Fructus Germinatus, Holelen and Citri Pericarpium. Furthermore Atractylodis Rhizoma and Citri Pericarpium showed more favorable protective effects as compared with omeprazole, therefore, it is expected that Atractylodis Rhizoma and Citri Pericarpium have potential as new alternatives or safe therapeutics against RE.

Key words : Reflux esophagitis, *Yijintang-gamibang* (*Erchentang-jiaweifang*), Atractylodis Rhizoma, Citri Pericarpium, omeprazole

1. 서론

역류성 식도염은 하부식도 점막에 염증이 생기

면서 식도 조직의 부종, 출혈, 점막의 괴사 박리 등이 일어나고 결국에는 섬유화 협착이 되는 질환이다¹. 역류성 식도염의 원인은 산의 역류에 의한 점막 상해 때문이라고 알려져 있으나, 최근에는 산화스트레스(oxidative stress)가 역류성 식도염의 주된 원인이 되는 것으로 알려져 있으며² 이에 따라 다양한 항산화제(antioxidant)가 역류성 식도염에 비교적 유효한 것으로 알려져 있다³. 이와 함께

- 교신저자: 광민아 대구시 수성구 상동 165번지
대구한의대 부속한방병원 3내과
TEL: 053-770-2176 FAX: 053-770-2189
E-mail: nari003@hanmail.net
- 이 논문은 2012년도 대구한의대학교 한의학과 대학원 한방내과 박사학위 논문임.

sialic acid를 포함한 당단백질이 이들의 변화 역시, 역류성 식도염의 진행 정도를 평가할 수 있는 지표로 알려져 있다⁴.

역류성 식도염의 치료는 일반적으로 생활습관의 조절, 제산제, 위 장관 운동 조절제, histamine type 2 receptor antagonist 및 proton pump inhibitor(PPI) 제제, 수술 요법 등이 알려져 있으나, 치료반응이 있어도 지나치게 자주 재발하거나 여러 가지 부작용이 발생하는 등의 문제가 있다⁴. 이중 omeprazole은 대표적인 PPI 제제로, 현재 역류성 식도염 치료제 개발에 있어 하나의 대조약물(reference drug)로 흔히 이용되고 있고⁵, 유문 결찰 역류성 식도염 모델에서도 그 치료효과가 이미 잘 알려져 있으며⁶, 근래에 들어 유리 활성산소 제거에 의한 항산화 효과 역시 밝혀져 있다³.

二陳湯加味方は 半夏, 陳皮, 茯苓, 甘草, 生薑으로 구성된 二陳湯에 蒼朮, 神穀, 麥芽 및 黃蓮을 가미한 처방으로 항산화 효과를 통한 역류성 식도염에 효과가 있다는 것은 이미 잘 알려져 있으나⁷⁻⁹, 二陳湯加味方을 구성하고 있는 각각의 약재가 역류성 식도염에 대해 미치는 효과에 대한 연구는 찾아 볼 수 없었다. 따라서 각 개별 구성 약재의 역류성 식도염에 대한 효과를 평가하여, 二陳湯加味方 중에서 특히 역류성 식도염에 대해 효과를 나타내는 개별 한약재를 검색할 필요가 있을 것으로 판단된다.

본 연구에서는 二陳湯加味方을 구성하고 있는 8가지 개별 한약재(半夏, 陳皮, 赤茯苓, 蒼朮, 神穀, 麥芽, 黃蓮 및 甘草)의 역류성 식도염 및 이와 관련된 식도 점막 손상에 대한 보호효과를 확인하기 위하여, 유문·전위부 결찰 수술 실시 1시간 전 개별 한약재 추출물을 각각 100 mg/kg의 농도로 경구투여하고, 유문·전위부 결찰 수술 6시간 후 모든 실험동물을 희생하여, 식도 손상 부위 면적(lesion score: mm²/organs), 위내용물의 양(gastric volume), 위산 분비도(gastric acid output), pepsin

분비도, 항산화 효과, 식도 점막의 sialic acid와 당단백질 함량의 변화 및 식도의 조직병리학적 변화를 각각 관찰하였다. 항산화 효과는 식도의 지질과산화(malonyldialdehyde: MDA 함량), superoxide dismutase(SOD), catalase 및 glutathione(GSH) 함량의 변화를 기초로 하여 평가하였으며, 식도 병변의 침습률 및 점막의 두께를 각각 histomorphometric으로 측정하였다. 개별 한약재의 효과는 항산화 효과가 있는 PPI 계열인 omeprazole 10 mg/kg 투여군과 비교·평가 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 二陳湯加味方 추출

본 실험에 사용된 二陳湯加味方 개별 한약재는 약업사(효성약업사, 대구, Korea)에서 매입한 것을 현미경하에서 관능검사를 통하여 선정하여 사용하였으며, 개별 추출물 각각의 특징 및 수율은 Table 1과 같다. 선정된 각각의 약재를 정제수 2000 ml로 가열 추출한 후, 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(N-N type; LAB Camp, Dajeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(PVTFD10A; ilShin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜, 연갈색 또는 진갈색의 반하 25.31%, 진피 18.86%, 적복령 20.54%, 창출 19.61%, 신곡 18.07%, 맥아 17.65%, 황련 21.17% 및 감초 20.44% 수율의 물 추출물을 각각 얻어, 실험에 사용하였다. 준비한 개별 한약재 추출물은 -20 °C의 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였으며, 모든 한약재 추출물은 멸균 증류수에 각각 20 mg/ml의 농도까지 비교적 잘 용해되었다. 추출된 한약재는 대구한의대학교 방제과학 글로벌 연구센터에서 샘플을 보관하였다. 한편 omeprazole은 Sigma-Aldrich(MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

Table 1. Characteristics of Individual Herbal Components Aqueous Extracts of *Yijintang-gamibang* Used in This Study.

Korean	Herbs	Scientific name	Yields
半夏	Pinella Rhizoma	<i>Pinellia ternata</i>	25.31%
陳皮	Citri Pericarpium	<i>Citrus unshiu</i>	18.86%
赤茯苓	Holelen	<i>Poria cocos</i>	20.54%
蒼朮	Atractylodis Rhizoma	<i>Atractylodes japonica</i>	19.61%
神曲	Massa Meicata Fermentata	--	18.07%
麥芽	Hordei Fructus Germinatus	<i>Hordeum vulgare var. hexastichon</i>	17.65%
黃蓮	Coptidis Rhizoma	<i>Coptis japonica</i>	21.17%
甘草	Glycyrrhizae Radix	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	20.44%

2. 실험동물 및 사양관리

88마리의 암컷 Sprague-Dawley 랫트(6-wk old upon receipt, SLC, Japan)를 14일간의 순화과정을 거쳐, 체중 220~250 g 사이에서 실험에 사용하였으며, 순화과정 및 실험 전 기간동안 온도(20~25 °C)와 습도(30~35%)가 조절된 사육실에서 랫트용 polycarbonate 사육상자에 4마리씩 수용하여 사육하였고, 명암 주기(light:dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였으며, 사료(Samyang, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다. 이중 80마리는 유문 및 전위부 결찰로 역류성 식도염을 유발하였으며, 나머지 8마리는 위 수술 정상 대조군(sham control)으로 사용하였다. 본 실험에 사용된 모든 실험동물은 Guide for the Care and Use of Laboratory Animals¹⁰에 준하여 취급하였으며, 대구한의대학교 동물실험윤

리위원회의 동물실험윤리 규정을 준수하여 실시하였다.

3. 실험군 분리 및 약물의 투여

실험동물은 군당 8마리씩 Table 2에 기록한 11 그룹으로 구분하였다. 모든 한약재 추출물은 100 mg/kg의 농도로 멸균 증류수에 용해시켜 동물 체중 kg 당 5 ml의 용량으로 금속제 Zonde가 부착된 3 ml 주사기(syringe)를 이용하여, 유문·전위부 결찰 수술 1시간 전 강제 경구 투여하였으며, 10 mg/kg의 omeprazole 역시 멸균 증류수에 용해시켜, 동일한 방법으로 유문·전위부 결찰 수술 1시간 전 단회 경구 투여하였다. Omeprazole은 유발 위 점막 손상에 확실한 효과를 나타내는 용량으로 알려진 10 mg/kg을 투여 용량으로 설정하였다.

Table 2. Experimental Design Used in This Study.

Groups	RE operation/Test article/Dose (mg/kg)
Control	Sham Distilled water pretreated and sham-operated rats
	RE Distilled water pretreated and RE operated rats
	Omeprazole Omeprazole 10 mg/kg pretreated and RE operated rats
Herbal extracts treated groups	PR Pinella Rhizoma extracts 100 mg/kg pretreated and RE operated rats
	CP Citri Pericarpium extracts 100 mg/kg pretreated and RE operated rats
	HL Holelen extracts 100 mg/kg pretreated and RE operated rats
	AR Atractylodis Rhizoma extracts 100 mg/kg pretreated and RE operated rats
	MF Massa Meicata Fermentata extracts 100 mg/kg pretreated and RE operated rats
	HG Hordei Fructus Germinatus extracts 100 mg/kg pretreated and RE operated rats
	CR Coptidis Rhizoma extracts 100 mg/kg pretreated and RE operated rats
	GR Glycyrrhizae Radix extracts 100 mg/kg pretreated and RE operated rats

4. 역류성 식도염의 유발

Omeprazole 또는 각각의 二陳湯加味方 구성 한약재 투여 1시간 후, 유문·전위부 결찰 수술로 역류성 식도염을 유발하였으며, 역류성 식도염을 유발하기 위해¹¹ 모든 실험동물은 18시간 이상 절식을 실시하고, 최종 약물 투여 1시간 후, Zoletile mixture(Virbac, France: 25 mg/kg, 복강투여) 마취 하에, 백선을 따라 2 cm 정도 절개하여 개복하고, 위의 대만 및 소만 부위를 노출한 다음 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, 안와 정맥총에서 약 1 ml의 혈액을 채취 한 다음, 모든 실험동물을 경추 탈골로 희생하였다.

5. 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 식도에 형성된 병변의 총 면적(mm²/organs)을 각각 10배의 실체현미경(dissecting microscope; Nikon, Japan) 하에서 측정하였다.

6. 위내용물 양(gastric volume)의 측정

Rao와 Vijayakumar³의 방법에 따라, 유문 및 전위부 결찰 수술 6시간 후, Sham 대조군을 제외한 모든 실험동물에서 결찰한 위부분에 형성된 내용물을 수집하여 5분간 2000 g에서 원심분리한 다음, 아래의 공식 [1]과 같이 실험동물의 체중 kg으로 환산하였다.

EQUATION [1]. Gastric volume (ml/kg of body weight) = (collected amount of gastric contents ×

1000) / body weight of animal (g)

7. 위산 분비도(gastric acid output) 측정

Rao와 Vijayakumar³의 방법에 따라, 원심분리한 위 내용물에서 0.01 N NaOH와 phenolphthalein을 발색제로 이용하여 위산분비도를 $\mu\text{Eq}/6 \text{ hrs}$ 로 측정하였다.

8. Pepsin 분비도 측정

Sairam et al.¹²의 방법에 따라, 원심분리한 위 내용물에서 hemoglobin을 발색제로 이용하여, Pepsin 분비도를 $\mu\text{mol of tyrosine}/6 \text{ hrs}$ 로 측정하였다.

9. 항산화 효과의 측정

Rao et al.¹³의 방법에 따라, 적출한 식도의 일부 조직을 얼음으로 냉각(ice-cold)한 0.01 M Tris-HCl (pH 7.4)을 이용하여 homogenize 한 다음, 800× g으로 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하고, 다시 12,000× g으로 15분간 원심분리하여, mitochondrial fraction을 준비하였다. 이후 식도 내 단백질 함량은 Lowry et al.¹⁴의 방법으로 bovine serum albumin을 standard로 이용하여 측정하였으며, 지질 과산화 정도(lipid peroxidation)는 Jamall과 Smith¹⁵의 방법으로 2-thiobarbituric acid를 이용하여, UV-vis spectrophotometer(UV-3600, Shimadzu Scientific Instruments, CO, USA)로 흡광도 525 nm에서 측정하여, MDA(nmole)/mg protein 단위로 측정하였고, 과산화수소(H₂O₂) 분해 능력을 이용하여 catalase 함량을 흡광도 240 nm에서 측정하였다. SOD 활성은 Kakkar et al.¹⁶을 이용하여 평가하였다. 또한 GSH 함량은 Moron et al.¹⁷의 방법에 따라 mg of GSH/mg tissue 단위로 측정하였다.

10. Total hexose의 측정

식도 homogenate 0.2 ml를 3.4 ml의 1.6% orcinol 용액과 4 ml의 60% sulfuric acid를 혼합한 다음, 10분 간 끓인 다음 냉각시키고, optical density를

흡광도 425 nm에서 측정하여, total hexose 함량을 galactose-mannose 표준 곡선과 비교·측정하였다.

11. Sialic acid 함량의 측정

Warren¹⁸의 방법으로, 식도 homogenate를 90% ethanol에 침전시킨 다음 침전물을 0.2N sulphuric acid에 용해시켜, periodic acid로 37 °C, 30분간 incubate하여 산화시키고, sodium arsenate, 6% thiobarbituric acid 및 cyclohexan 을 첨가하였다. 이후 분홍색의 cyclohexane이 분리될 때까지 원심분리하고, 550 nm에서 흡광도를 측정하여, µg/100 mg tissue 단위로 측정하였다.

12. 조직병리학적 관찰

유문 및 전위부 절찰 수술 6시간 후, 식도-분문 위 연결부에서 대략 5 cm 정도 위쪽 부분의 식도의 조직을 분리하여 10% NBF에 고정한 다음, 탈수, 포매를 거쳐 파라핀 block을 준비하고, 3 µm의 조직절편을 제작하여 Hematoxylin-Eosin염색을 실시하여 광학현미경하에서 관찰하였다. 또한 이전의 Ku et al.¹⁹의 방법에 준하여, 식도 점막 두께를 각각 CCD image analyzer(DMI-300, DMI, Korea)를 이용하여, µm/crossly trimmed tissues로 측정하였다. 또한 식도 벽에서 병변이 침습한 비율(invasive percentages)을 아래의 공식 [2]를 이용하여 산출하였다.

EQUATION [2]. Invasive percentages of lesions (%) = (length of lesions on the crossly trimmed esophageal walls/total thickness of crossly trimmed esophageal walls) × 100

13. 통계처리

모든 수치는 평균±표준편차로 나타내었으며, 다중비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고, 분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증 하였다. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 least-significant differences(LSD) test로 사후

검증을 실시하여 군간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U(MW) test 를 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. 또한 역류성 식도염의 유발 정도를 파악하기 위하여 Sham 대조군과 RE 대조군과의 percent change를 아래의 공식 [3]을 이용하여 측정하였으며, 투여 물질의 약효를 좀더 명확히 하기 위하여 투여군과 RE대조군과의 percent change를 아래의 공식 [4]를 이용하여 각각 측정하였다.

EQUATION [3]. Percentage changes as compared with sham control (%) = ((data of RE control - data of intact control)/data of sham control) × 100

EQUATION [4]. Percentage changes as compared RE control (%) = ((data of administered groups - data of RE control)/data of RE control) × 100

III. 결 과

1. 식도 점막 손상부위 면적의 변화

역류성 식도염 유발 대조군에서는 식도 점막 손상부위 면적이 sham 대조군에 비해 4823.22%의 변화를 나타내었으나, omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서는 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 -58.18, -4.83, -30.90, -34.68, -79.33, 1.14, -43.65, -68.18 및 -51.00%의 식도 점막 손상부위 면적 변화를 나타내었다.

2. 위 내용물 양(gastric volume)의 변화

위 내용물 함량은 omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서 역류성 식도염 대조군에 비

해 각각 -53.60, -13.95, -33.26, -37.63, -63.40, 11.84, -41.06, -58.30 및 -46.91%의 변화를 나타내었다.

3. 위산 분비도의 변화

위산 분비량은 omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 -49.79, -11.70, -33.76, -37.27, -53.93, -1.80, -43.44, -51.86 및 -44.59%의 변화를 나타내었다 (Fig. 1).

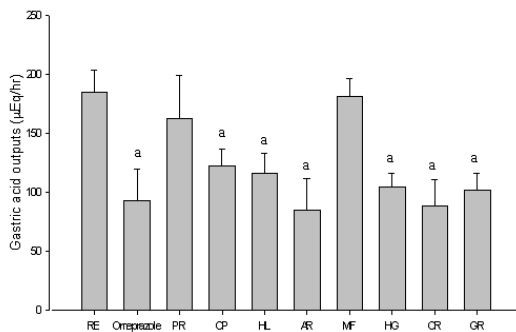


Fig. 1. Changes on the gastric acid outputs.

Values are expressed as Mean±SD of eight rats. ^a*p*<0.01 compared with RE control by MW test.

4. Pepsin 분비도의 변화

Pepsin 분비량은 omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 -51.66, -14.66, -28.79, -34.08, -55.25, -4.69, -41.34, -53.38 및 -45.61%의 변화를 나타내었다 (Fig. 2).

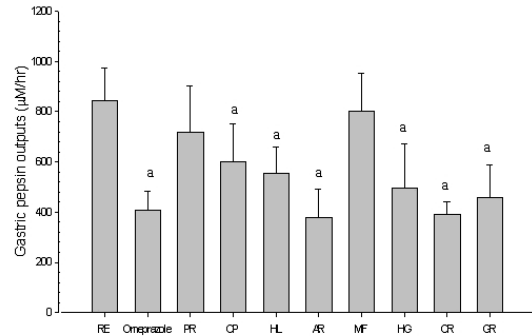


Fig. 2. Changes on the gastric pepsin outputs.

Values are expressed as Mean±SD of eight rats. ^a*p*<0.01 compared with RE control by MW test.

5. 지질과산화의 변화

역류성 식도염 유발 대조군에서는 지질 과산화도가 sham 대조군에 비해 234.46%의 변화를 나타내었으나, omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서는 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 -44.68, 0.34, -26.88, -28.67, -58.12, -2.46, -33.37, -47.26 및 -37.29%의 지질 과산화도의 변화를 나타내었다 (Fig. 3).

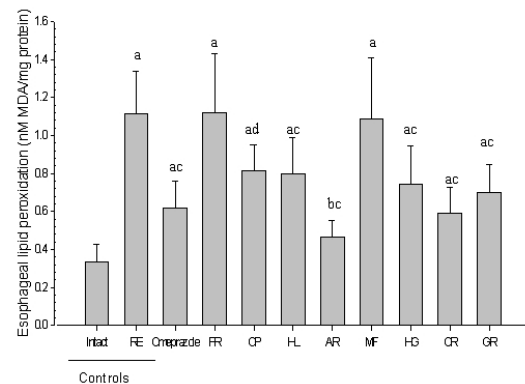


Fig. 3. Changes on the esophageal lipid peroxidation.

Values are expressed as Mean±SD of eight rats. ^a*p*<0.01 and ^b*p*<0.05 compared with sham control by MW test. ^c*p*<0.01 and ^d*p*<0.05 compared with RE control by MW test.

6. SOD 활성의 변화

역류성 식도염 유발 대조군에서는 SOD 활성이 sham 대조군에 비해 -46.87%의 변화를 나타내었으나, omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서는 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 49.65, 5.83, 24.29, 35.53, 58.43, 1.42, 39.88, 53.78 및 47.38%의 식도 내 SOD 활성의 변화를 나타내었다(Fig. 4).

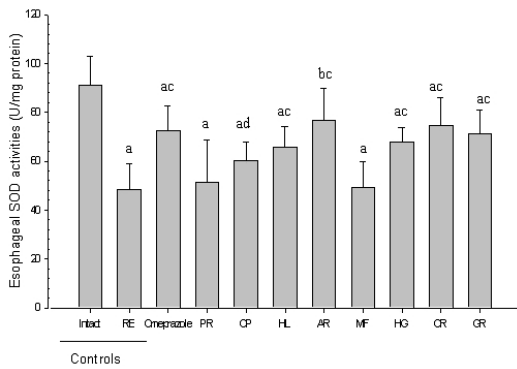


Fig. 4. Changes on the esophageal SOD activities.

Values are expressed as mean±SD of eight rats. ^a $p < .01$ and ^b $p < .05$ compared with sham control by LSD test. ^c $p < .01$ and ^d $p < .05$ compared with RE control by LSD test.

7. Catalase 활성의 변화

역류성 식도염 유발 대조군에서는 catalase 활성이 sham 대조군에 비해 -48.83%의 변화를 나타내었으나, omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서는 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 50.83, 11.34, 38.96, 46.27, 55.14, 2.46, 48.10, 55.68 및 50.04%의 catalase 활성의 변화를 나타내었다(Fig. 5).

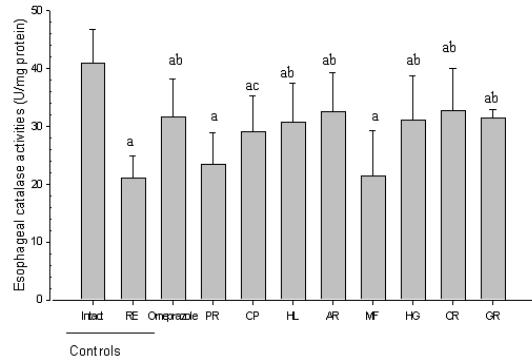


Fig. 5. Changes on the esophageal catalase activities.

Values are expressed as Mean±SD of eight rats. ^a $p < .01$ compared with sham control by LSD test. ^b $p < .01$ and ^c $p < .05$ compared with RE control by LSD test.

8. GSH 함량의 변화

역류성 식도염 유발 대조군에서는 GSH 함량이 sham 대조군에 비해 -53.94%의 변화를 나타내었으나, omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서는 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 50.75, 5.03, 29.21, 35.95, 64.56, -1.91, 43.74, 52.09 및 46.70%의 GSH 함량의 변화를 나타내었다(Fig. 6).

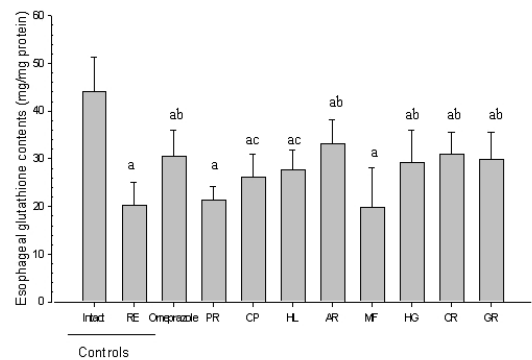


Fig. 6. Changes on the esophageal glutathione contents.

Values are expressed as Mean±SD of eight rats. ^a $p < .01$ compared with sham control by LSD test. ^b $p < .01$ and ^c $p < .05$ compared with RE control by LSD test.

9. Total hexose 함량의 변화

역류성 식도염 유발 대조군에서는 total hexose 함량이 sham 대조군에 비해 -48.44%의 변화를 나타내었으나, omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서는 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 43.97, -0.87, 29.00, 31.05, 54.41, 0.40, 37.27, 46.07 및 38.27%의 total hexose 함량의 변화를 나타내었다(Fig. 7).

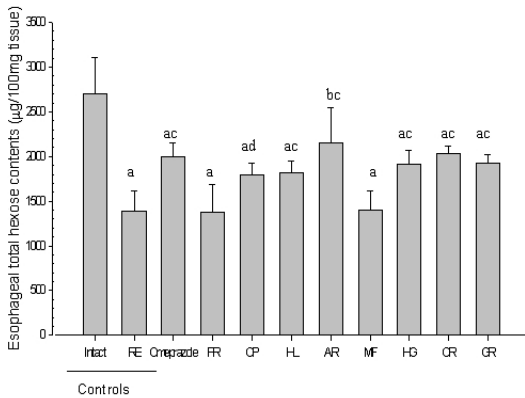


Fig. 7. Changes on the esophageal total hexose contents.

Values are expressed as Mean±SD of eight rats.
^a $p < .01$ and ^b $p < .05$ compared with sham control by MW test.
^c $p < .01$ and ^d $p < .05$ compared with RE control by MW test.

10. Sialic acid 함량의 변화

역류성 식도염 유발 대조군에서는 sialic acid 함량이 sham 대조군에 비해 -46.08%의 변화를 나타내었으나, omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서는 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 46.94, 1.99, 33.18, 35.17, 54.28, 2.60, 42.51, 50.46 및 44.65%의 sialic acid 함량의 변화를 나타내었다(Fig. 8).

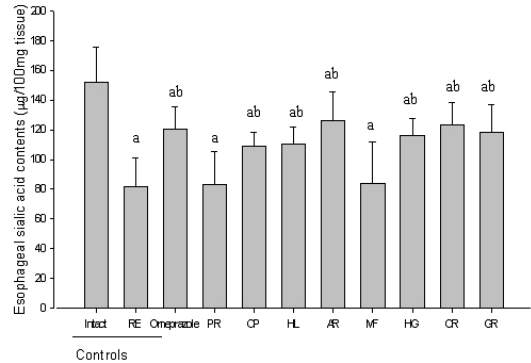


Fig. 8. Changes on the esophageal sialic acid contents.

Values are expressed as Mean±SD of eight rats.
^a $p < .01$ compared with sham control by LSD test.
^b $p < .01$ compared with RE control by LSD test.

11. 식도의 조직병리학적 변화

역류성 식도염 유발 대조군에서는 식도의 병변 침습 비율이 sham 대조군에 비해 455.34%의 변화를 나타내었으나, omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서는 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 -56.55, -0.09, -22.41, -27.30, -74.68, 0.95, -40.77, -67.17 및 -51.72%의 식도의 병변 침습 비율의 변화를 나타내었다.

역류성 식도염 유발 대조군에서는 식도 점막층의 두께가 sham 대조군에 비해 331.53%의 변화를 나타내었으나, omeprazole 10 mg/kg, 반하, 진피, 복령, 창출, 신곡, 맥아, 황련 및 감초 추출물 100 mg/kg 투여군에서는 역류성 식도염 대조군에 비해 각각 -52.31, 4.76, -31.76, -38.90, -63.50, 1.13, -45.82, -53.74 및 -48.76%의 식도 점막층의 두께의 변화를 나타내었다.

IV. 고찰 및 결론

역류성 식도염은 한의학적으로 吞酸, 吐酸, 嘈雜에 해당하며²⁰, 吞酸, 吐酸에 대하여 <<內經 素問 至眞

要大論》²¹에 처음으로 '諸嘔吐酸 暴注下迫 皆屬於熱'이라 하여 原因을 熱이라 하였다. 二陳湯加味方は 《東醫寶鑑 雜病篇 噯氣門》에 기록된 처방으로 二陳湯에 蒼朮, 枳實, 麥冬, 黃連을 가하여 濕熱로 인한 實證인 경우 발생하는 吞酸, 吐酸, 噯氣, 소화장애 등의 증상에 활용하는 처방으로, 二陳湯加味方の 항산화 효과를 통한 역류성 식도염 억제 효과가 이미 잘 알려져 있다⁷⁻⁹.

二陳湯加味方 구성 약재 중 반하의 경우 항염²² 및 항구토²³ 작용이 잘 알려져 있으며, 진피의 경우에는 소염 및 항궤양 효과²⁴가 알려져 있다. 또한 복령의 경우에는 항산화²⁵ 및 항염²⁶ 효과가 알려져 있고, 蒼朮은 위궤양 억제효과²⁷, 항염²⁸ 및 항산화²⁹ 효과가 잘 알려져 있으며, 麥冬의 경우 항궤양³⁰, 항염³¹, 항산화³² 효과가 이미 검증되어 있으며, 黃連 또한 항염³³ 및 항산화³⁴ 효과가 역시 잘 알려져 있고, 枳實 역시 비교적 강력한 항궤양³⁵, 항염 및 항산화³⁶ 효과를 나타내는 것으로 알려져 있어, 현재까지 枳實을 제외한 二陳湯加味方の 8가지 구성 약재 대부분이 항산화 또는 이와 관련된 항궤양 또는 항염 효과를 나타내는 것으로 나타나 있다.

여러 연구에 의하면 二陳湯加味方は 역류성 식도염에 대해 항산화효과 및 위점막 손상에 대한 보호효과를 가지고 있음이 증명되었으나⁷⁻⁹ 구성약물 각각의 역류성 식도염에 대한 효과에 대한 연구는 이루어지지 않았다.

본 연구에서는 二陳湯加味方を 구성하고 있는 8가지 개별 한약재인 반하, 진피, 적복령, 蒼朮, 枳實, 麥冬, 黃連 및 枳實, 각각의 역류성 식도염 및 이와 관련된 위 점막 손상에 대한 보호효과를 유문·전위부 결찰 수술로 유발된 랫트 역류성 식도염 모델을 이용하여, 항산화 효과가 있는 PPI 계열인 omeprazole 10 mg/kg 투여군³ 과 비교·평가 하였다. 二陳湯加味方の 역류성 식도염에 대한 최소 유효용량은 황 등⁷에 의하면 150 mg/kg, 김 등⁸, 박 등⁹에 의하면 50 mg/kg으로 밝혀져, 본 연구에서는 개별 한약재의 투여 용량을 100 mg/kg로

하였다.

본 실험의 결과, 역류성 식도염 유발군에서는 유문 및 전위부 결찰에 의해 현저한 식도 병변의 증가, 위 내용물의 증가, 위산 및 pepsin 분비도의 증가와 함께 식도 점막의 출혈, 궤양 및 부종과 같은 전형적인 역류성 식도염 소견이 이전의 보고들⁶과 유사하게 인정되었으며, 지질 과산화의 현저한 증가와 함께 활성산소 제거에 중요한 역할을 하는 SOD, catalase 및 glutathione²의 식도내 함량이 현저히 감소되었고, 식도 벽의 구성 성분으로 식도 점막 보호 역할을 하는 total hexose 및 sialic acid 함량의 감소가 각각 인정되었다.

식도 점막 병변은 역류성 식도염에 대한 약물의 효과를 평가하기 위한 가장 기본적인면서도 확실한 지표로 사용되어 왔다³. 본 실험에서 역류성 식도염 유발군에서는 현저한 식도병변의 증가가 나타났으나 이러한 병변은 蒼朮, 黃連, omeprazole, 枳實, 麥冬, 복령 및 진피 순으로 유의성 있게 감소되었으며, 이는 이들의 역류성 식도염에 대한 효과를 직접적으로 나타내는 증거로 판단된다. 그러나 반하와 枳實 추출물 투여군에서는 RE 대조군과 유사한 육안병변을 나타내어, 이들 두 물질은 역류성 식도염의 점막 병변 개선에 별 다른 효과를 나타내지 않는 것으로 생각된다.

위산은 역류성 식도염의 가장 중요한 유발인자 중 하나로, 역류성 식도염 및 이와 관련된 위점막 손상을 치료하기 위해서는 위의 pH 조절이 필수적이다³⁷. 한편 본 실험의 결과에서도 역류성 식도염 유발군에서는 현저한 위내용물 및 위산 분비 항진이 인정되었으나, 蒼朮, 黃連, omeprazole, 枳實, 麥冬, 복령 및 진피 순으로 이들 분비항진이 현저히 경감되었다(Fig. 1). 이러한 효과는 이들 개별 한약재 추출물의 역류성 식도염에 대한 효과를 직접적으로 나타내는 또 하나의 증거로 판단되며, 蒼朮과 黃連은 omeprazole 투여군보다 더 우수한 위내용물 및 위산분비 감소효과를 나타냈다. 그러나 반하와 枳實 추출물 투여군에서는 위내용물 및 위산 분비

항진 감소 효과가 인정되지 않았다.

Pepsin 분비도는 역류성 식도염의 유발에 매우 중요한 위치를 차지하며, pepsin의 분비감소는 역류성 식도염 치료에 주 표적이 되어왔다³⁸. 한편 본 실험의 결과에서도 역류성 식도염 유발군에서는 현저한 pepsin 분비 항진이 인정되었으나, Fig. 2에서와 같이, 창출, 황련, omeprazole, 감초, 맥아, 복령 및 진피 순으로 pepsin 분비항진이 현저히 경감되었으며, 창출과 황련은 omeprazole 투여군보다 더 우수한 pepsin 분비 경감효과를 나타냈다. 반면 반하와 신곡 투여군에서는 별다른 pepsin 분비 감소에 대한 효과가 나타나지 않았다.

역류성 식도염은 과량 형성된 free radicals에 의해 식도점막의 지질과산화물을 일으켜, 식도 점막의 파괴를 유발하는 것으로 알려져 있다³⁹. 따라서 항산화제 역시 역류성 식도염에 효과를 나타내며, 최근 이러한 항산화 효과를 나타내는 식물 추출물 및 한약재에 대한 약효 검색을 실시해 오고 있다⁴⁰. 한편 본 실험의 결과, 역류성 식도염 유발군에서는 현저한 지질과산화의 증가와 함께, 활성산소 제거에 중요한 역할을 하는 SOD, catalase 및 glutathione²의 식도내 함량이 현저한 감소가 인정되었으나, 이러한 변화가 Fig. 3-6에 기록한 바와 같이, 창출, 황련, omeprazole, 감초, 맥아, 복령 및 진피 순으로 현저히 억제되었다. 따라서 기존 연구에서 二陳湯加味方 투여시 인정된 항산화 효과에 의한 역류성 식도염에 대한 효과는 이들 창출, 황련, 감초, 맥아, 복령 및 진피의 항산화 효과에 의해 일어날 것으로 판단되나, 여러 가지 약리작용이 복합적으로 작용할 가능성 역시 배제할 수 없어, 다양한 방법에서의 기전적 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다. 또한 창출과 황련은 omeprazole 투여군보다 더 우수한 항산화 효과를 나타낸 반면, 반하 및 신곡 추출물 투여군에서는 RE 대조군과 비교하여 별다른 항산화 효과가 인정되지 않았다.

식도 점막부위에 존재하는 샘들은 점액(mucus)을 분비하여, 식도 점막의 습도와 연하운동을 유지

시켜 준다. Sialic acid를 포함한 당단백질이 이들 점액의 주요성분이며, 당단백질은 일반적으로 total hexose로 측정할 수 있다⁴¹. 본 실험의 결과에서도 역류성 식도염 유발군에서는 현저한 식도내 total hexose 및 sialic acid 함량의 감소가 인정되었으나, 이들의 감소 역시 창출, 황련, omeprazole, 감초, 맥아, 복령 및 진피 순으로 현저히 억제되었다(Fig. 7, 8). 이러한 효과는 이들 개별 한약재 자체의 역류성 식도염에 대한 보호효과를 간접적으로 나타내는 하나의 증거로 판단된다. 그러나 반하 및 신곡 추출물 투여군에서는 RE 대조군과 유사한 식도내 total hexose 및 sialic acid 함량의 변화가 인정되어 별다른 역류성 식도염에 대한 보호효과를 나타내지 않았다.

역류성 식도염의 조직병리학적 소견은 국소깨양, 염증세포 침윤, 출혈과 점막의 국소적 탈락과 함께 점막하 조직층의 부종성 변화가 주 특징이며, 이러한 변화 역시 역류성 식도염에 대한 약효 평가시 매우 유용한 것으로 알려져 있다⁴². 본 실험의 결과에서도 역류성 식도염 유발 대조군에서는 유의성 있는 식도 병변 침습 비율의 증가 및 출혈 및 부종성 변화에 따른 이차적 변화로 식도 점막 두께의 증가가 인정되었다. 한편 이러한 식도 조직병리학적 병변은 창출, 황련, omeprazole, 감초, 맥아, 복령 및 진피 순으로 현저히 억제된 반면, 반하 및 신곡 추출물 투여군에서는 RE 대조군과 유사한 식도의 조직병리학적 변화가 인정되었다.

이상의 결과에서 역류성 식도염 유발 대조군에 비하여 二陳湯加味方 구성 개별 한약재 중 창출, 황련, 감초, 맥아, 복령 및 진피는 식도 손상 부위의 감소, 위 내용물 양의 감소, 위산 분비 감소, pepsin 분비 감소, 항산화 효과 증가, 식도 점막의 sialic acid 와 당단백질 함량 증가, 식도의 조직병리학적 소견 호전이 나타나, 이들의 항산화와 관련된 항염 또는 항궤양 효과가 이전에 인정된 二陳湯加味方の 역류성 식도염에 대한 유효한 효과⁷⁻⁹를 나타내는 주요 구성 약재로 판단된다. 또한 앞

서 기술한 모든 효능이 창출, 황련, 감초, 맥아, 복령 및 진피의 순서로 나타났으며, 반하와 신곡 투여군에서는 별 다른 보호 효과가 인정되지 않았다. 특히 창출과 황련은 omeprazole 10 mg/kg 보다 더 우수한 효과가 인정되어, 이들 약제에 대한 생리활성 화학성분의 검색과 더불어 다양한 방법으로 기전적인 연구를 더 수행해야 할 것으로 판단된다.

참고문헌

- 이귀녕, 이종순. 임상병리과일. 서울: 의학문화사; 1996, p. 138.
- Oh TY, Lee JS, Ahn BO, Cho H, Kim WB, Kim YB, et al. Oxidative damages are critical in pathogenesis of reflux esophagitis: implication of antioxidants in its treatment. *Free Radic Biol Med* 2001;30:905-15.
- Rao CV, Vijayakumar M. Effect of quercetin, flavonoids and alpha-tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux oesophagitis in rats. *Eur J Pharmacol* 2008;589:233-8.
- Castell DO. Medical therapy for reflux esophagitis: 1986. *Annals of internal medicine* 1986;104(1):112-4.
- 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.
- Min YS, Bai KL, Yim SH, Lee YJ, Song HJ, Kim JH, et al. The effect of luteolin-7-O-beta-D-glucuronopyranoside on gastritis and esophagitis in rats. *Arch Pharm Res* 2006;29:484-9.
- 황지영, 김대준, 변준석. 역류성 식도염에 대한 二陳湯加味方 효과 연구. *동의생리병리학회지* 2009;23(5):1073-9.
- 김희준, 임소연, 광민아, 김대준, 변준석. 역류성 식도염 유발 흰쥐에 대한 이진탕가미방(二陳湯加味方)의 효과. *대한한방내과학회지* 2010;31(1):128-41.
- 박 경, 광민아, 김대준, 변준석. 이진탕가미방(二陳湯加味方)의 항산화 효과를 통한 역류성 식도염 억제효과. *동의생리병리학회지* 2010;24:416-25.
- Albus U. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *Lab Anim* 2012;46(3):267-8.
- Nakamura K, Ozawa 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.
- Sairam K, Rao CV, Dora BM, Kumar KV, Agrawal VK, Goel RK. Antiulcerogenic effect of methanolic extract of *Embllica officinalis*: an experimental study. *J Ethnopharmacol* 2002;82:1-9.
- Rao CV, Ojha SK, Radhakrishnan K, Govindarajan R, Rastogi S, Mehrotra S, et al. Antiulcer activity of *Utleria salicifolia* rhizome extract. *J Ethnopharmacol* 2004;91:243-9.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
- Jamall IS, Smith JC. Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxidase dismutase and lipid peroxidation in the rat heart: a possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985;80:33-42.
- Kakkar P, Das B, Viswanathan PN. Modified spectrophotometric assay of SOD. *Indian J Biochem Biophys* 1984;2:130-2.
- Moron MS, Despierre JW, Mannervik B. Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione s transferase activities in rat lung

- and liver. *Biochem Biophys Acta* 1979;582:67-78.
18. Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J Biol Chem* 1959;234:1971-5.
 19. Ku SK, Seo BI, Park JH, Park GY, Seo YB, Kim JS, et al. Effect of Lonicerae Flos extracts on reflux esophagitis with anti-oxidant activity. *World J Gastroenterol* 2009;15:4799-805.
 20. 전국한의과대학 비계내과학교실. 비계내과학. 서울: 군자출판사; 2008. p. 317.
 21. 馬元臺, 張隱庵. 黃帝內經素問, 서울: 정보사; 1975. p. 260-5.
 22. Han MH, Yang XW, Zhong GY, Zhang M. Bioactive constituents inhibiting TNF-alpha production in fresh rhizome of *Pinellia ternata*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2007;32:1755-9.
 23. Nijijima A, Okui Y, Kubo M, Higuchi M, Taguchi H, Mitsushashi H, et al. Effect of *Pinellia ternata* tuber on the efferent activity of the gastric vagus nerve in the rat. *Brain Res Bull* 1993;32:103-6.
 24. Lee NK, Choi SH, Park SH, Park EK, Kim DH. Antiallergic activity of hesperidin is activated by intestinal microflora. *Pharmacology* 2004;71:174-80.
 25. Schinella GR, Tournier HA, Prieto JM, Mordujovich de Buschiazzo P, Ríos JL. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sci* 2002;70:1023-33.
 26. Yasukawa K, Kaminaga T, Kitanaka S, Tai T, Nunoura Y, Natori S, et al. 3 beta-p-hydroxybenzoyldehydrotumulosic acid from *Poria cocos*, and its anti-inflammatory effect. *Phytochemistry* 1998;48:1357-60.
 27. Satoh K, Nagai F, Kano I. Inhibition of H⁺, K⁺-ATPase by hinesol, a major component of *So-jutsu*, by interaction with enzyme in the E1 state. *Biochem Pharmacol* 2000;59:881-6.
 28. Li CQ, He LC, Jin JQ. Atractylenolide I and atractylenolide III inhibit Lipopolysaccharide-induced TNF-alpha and NO production in macrophages. *Phytother Res* 2007;21:347-53.
 29. Resch M, Steigel A, Chen ZL, Bauer R. 5-Lipoxygenase and cyclo oxygenase-1 inhibitory active compounds from *Atractylodes lancea*. *J Nat Prod*. 1998;61:347-50.
 30. Yoshizawa M, Yokoyama K, Nakano Y, Nakamura H. Protective effects of barley and its hydrolysates on gastric stress ulcer in rats. *Yakugaku Zasshi*. 2004;124:571-5.
 31. Kanauchi O, Iwanaga T, Andoh A, Araki Y, Nakamura T, Mitsuyama K, et al. Dietary fiber fraction of germinated barley foodstuff attenuated mucosal damage and diarrhea, and accelerated the repair of the colonic mucosa in an experimental colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:160-8.
 32. Mei YQ, Song SQ. Response to temperature stress of reactive oxygen species scavenging enzymes in the cross-tolerance of barley seed germination. *J Zhejiang Univ Sci B* 2010;11:965-72.
 33. Cho JY, Park J, Yoo ES, Yoshikawa K, Baik KU, Lee J, et al. Inhibitory effect of lignans from the rhizomes of *Coptis japonica* var. *dissecta* on tumor necrosis factor-alpha production in lipopoly saccharide-stimulated RAW264.7 cells. *Arch Pharm Res* 1998;21:12-6.
 34. Lee CJ, Lee JH, Seok JH, Hur GM, Park YC, Seol IC, et al. Effects of baicalein, berberine, curcumin and hesperidin on mucin release from airway goblet cells. *Planta Med* 2003;69:523-6.
 35. Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S, Nomura T. Anti-Helicobacter pylori

- flavonoids from licorice extract. *Life Sci* 2002; 71:1449-63.
36. Shin EM, Zhou HY, Guo LY, Kim JA, Lee SH, Merfort I, et al. Anti-inflammatory effects of glycyrol isolated from *Glycyrrhiza uralensis* in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Int Immunopharmacol* 2008;8:1524-32.
37. Hunt RH. Importance of pH control in the management of GERD. *Arch Intern Med* 1999;159:649-57.
38. Wang C, Hunt RH. Precise role of acid in non-erosive reflux disease. *Digestion* 2008;78 Suppl 1:31-41.
39. Farhadi A, Fields J, Banan A, Keshavarzian A. Reactive oxygen species: are they involved in the pathogenesis of GERD, Barrett's esophagus and the latter's progression toward Esophageal cancer? *Am J Gastroenterol* 2002;97:22-6.
40. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progressive to cancer. *Biochem J* 1992;313:17-29.
41. Sillanaukee P, Ponnio M, Jaaskelainen P. Occurrence of sialic acids in healthy humans and different disorders. *Eur J Clin Investig* 1999;29:413-25.
42. Kuroiwa Y, Okamura T, Ishii Y, Umemura T, Tasaki M, Kanki K, et al. 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.