pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 32, No. 6, pp. 536~541 (2017)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.6.536

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

흰쥐에서 스트레스로 유발된 위염에 대한 까마귀쪽나무열매 추출물의 보호 효과

박인재 · 박성환 · 윤지현 · 최구희 · 김현정 · 서윤희[1] · 조주현*
(주)휴럼중앙연구소, [1](주)이비오

Protective Effect of *Litsea japonica* Fruit Flesh Extract on Stress-induced Gastritis in Rats

In-Jae Park, Sung-Hwan Park, Ji-Hyun Yun, Goo-Hee Choi, Hyun-Jung Kim, Yun-Hee Seo[1], and Ju-Hyun Cho*
Hurum Central research institute Co., Ltd, Segwipo, Korea
[1]EBO Co., Ltd, Cheongju, Korea
(Received September 25, 2017/Revised October 4, 2017/Accepted October 10, 2017)

ABSTRACT - The object of this study was to investigate the inhibitory effects of *Litsea japonica* fruit flesh extract (LJF-HE) on gastritis of an stress-induced SD rat model. Rats were randomly divided into six groups: Normal (normal group), Control (stress-induced gastritis), Ranitidine (stress-induced gastritis and ranitidine 50 mg/kg), LJF-HE-L (stress-induced gastritis pretreated with *L. japonica* fruit flesh extract at 30 mg/kg), LJF-HE-M (stress-induced gastritis pretreated with *L. japonica* fruit flesh extract at 60 mg/kg), LJF-HE-H (stress-induced gastritis pretreated with *L. japonica* fruit flesh extract at 120 mg/kg). In groups treated with LJF-HE, gastric mucosal damage and pepsin activity were reduced. Additionally, there were decreases in the expression of cholecystokinin 2 receptor (CCK-2r) in the gastric lesions. The plasma levels of IL-1β slightly but significantly decreased in LJF-HE treated groups compared to control. The plasma level of PGE2 was also significantly increased in LJF-HE treated groups. These results suggest that LJF-HE has the ability to reduce of the severity stress-induced gastritis.

Key words : *Litsea japonica*, Gastritis, Stress, Gastric Ulcer

위염은 위의 상피 내막에 발생되는 염증을 의미한다. 위염의 가장 흔한 증상은 상부 중앙 복부 통증과 메스꺼움, 구토, 트림, 부풀음 및 체중 감소와 같은 다른 증상들도 보고되었다[1]. 만성 위염은 *Helicobacter pylori* 감염, 스트레스 또는 자가 면역 질환과 관련이 있으며 *H. pylori* 감염이 있는 위염의 일부는 위궤양 및 위의 종양으로 진행하는 것으로 알려져 있다[2]. 반면에, 급성 위염은 일반적으로 과다한 알코올 섭취, 비 스테로이드성 항염증제(NSAIDs)의 장기간 사용 및 스트레스로 인하여 초래된다[3,4]. 이러한 외부 자극은 위장에 손상을 일으키게 되며, 그 결과로 위산분비가 증가하게 되고 위점막 손상이 유발된다[5].

위산 분비의 경로로는 histamine에 의한 histamine 2 receptor (H2r)의 발현, acetylcholine에 의한 muscarinic acetylcholine receptor M3 (M3r)의 활성화, gastrin에 의한 cholecystokinin 2 receptor (CCK2r)의 활성화 등이 있으며, 위 벽세포에서 histamine, acetylcholine, gastrin 자극에 의해 H2r, M3r, CCK2r 등이 활성화되면서 세포 내 cAMP와 Ca^{2+} 농도가 증가하게 되고, 세포막에 존재하는 H^+/K^+ ATPase를 활성화시킨다. 결과적으로 HCl 분비가 증가 되면서 위 점막의 손상을 초래되는 것으로 알려져 있다[6,7,8].

많이 알려진 위염 등의 치료제는 위산분비 억제 효능을 갖는 H2r 길항제와 H^+/K^+ ATPase 저해제 등의 약물이 알려져 있다. H2r 길항제에는 대표적으로 nizatidine, ranitidine, cimetidine, 등이 있고 H^+/K^+ ATPase 저해제에는 omeprazole, rabeprazole, pantoprazole 등이 있으며, 이들 약물은 우수한 효능을 갖는 반면에 소화기계 장애를 일으키거나, 발진, 두드러기 등의 부작용 등이 나타나는 경우가 있다[9,10,11]. 대표적인 위점막 보호제로는 stillen, teprenone 등이 개발되었으나 다양한 부작용 등이 나타나는 단점을 가지고 있다.

까마귀쪽나무(*Litsea japonica*)는 상록엽소교목으로 국내에서는 제주도, 울릉도, 남해안 섬 등 일부 남부지역에 주로 자생한다[12]. 까마귀쪽나무 속은 설사, 구토, 뼈의 통증, 산후조리 목욕제 등으로 사용되어졌다고 보고되고 있으

*Correspondence to: Ju-Hyun Cho, Hurum Central research institute Co., Ltd, 121-17, Sillyedong-ro, Namwon-eup, Seogwipo-si, Jeju-do, Segwipo 63608, Korea
Tel: 82-70-4231-1078, Fax: 82-64-767-1076
E-mail: dusvnd608@hanmail.net

나[13], 까마귀쪽나무에 대한 생리활성 연구는 많이 이루어져 있지 않다.

본 연구에서는 까마귀쪽나무의 다양한 생리활성 중 스트레스로 유도된 위염 동물모델에서 위 손상에 대한 보호효과 및 위 보호에 대한 작용기전을 확인하여 위 기능 개선에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품소재 개발의 자료로 활용하고자 하였다.

Materials and Methods

까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE) 제조

제주도 해안가에 자생하고 있는 까마귀쪽나무열매(2015년)를 채취하여 본 연구에 사용하였다. 까마귀쪽나무열매의 씨앗을 분리한 후, 과육 부분을 동결건조 하였다. 동결건조된 까마귀쪽나무 열매(1,000 g)을 실온에서 24시간 동안 n-hexane으로 1회 추출하였다. 추출물은 n-hexane을 제거하기 위하여 감압농축 하였다. 이때 까마귀쪽나무열매추출물의 n-hexane 잔류량이 식품의약품안전처의 건강기능식품 소재로 활용가능 한 규격인 0.005 g/kg 이하를 충족하는 0.001 g/kg로 분석되었다. 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE)의 수율은 약 30.6%(w/w)이고, 사용 전까지 4°C에서 보관하였다.

까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE)의 지표성분분석 (hamabiwalactone B) 함량분석

표준용액은 hamabiwalactone B[(주)천연물화학, Daejeon, Korea] 49.7 mg을 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣고 dichloromethane 넣어 정용시켜 stock solution (49.7 mg / 10 mL)을 제조하고, methanol (JT baker, Avantor Performance Materials, PA, USA)를 사용하여 12.5, 25, 50, 100, 200 μg/mL의 농도로 표준용액을 제조하였다. 시험용액은 시료(LJF-HE) 약 150 mg을 무게 칭량 후 ethanol 15 mL를 넣어 Ultrasonic cleaner (Powersonic 420, Hwashin Tech, Daegu, Korea)에서 30분간 초음파 추출하고 25 mL로 정용하여 0.45 μm Syringe filter (Whatman, PTFE, USA)로 여과 후 시험용액으로 사용하였다. 표준용액과 시험용액을 HPLC (Waters 2695 Separations Module, Milford, MA, USA)로 분석하였다. 검출기는 photodiode array detector (Waters 996, Milford, MA, USA)로 검출파장은 254 nm로 설정하였다. Column은 Cadenza C_{18} (4.6 mm × 150 mm, particle size 5 μm, Imtakt, Portland, OR, USA)을 사용하였고, column 온도는 30°C로 유지하였다. 이동상조건은 water (0.5% acetic acid)와 acetonitrile을 구배용매조성법으로 flow를 1.2 mL/min 속도로 10 μL를 주입하여 아래와 같은 식(a)으로 함량을 구하였다.

a: Hamabiwalactone B (mg/g) = [검량선결과(μg/mL) × 최종량(mL) × 희석배수 × 표준품순도] / 시료채취량(mg)

수침 구속 스트레스에 의한 위염 유발

본 연구는 (주)이비오 실험동물운영위원회(EBOA-2016-05-02)의 승인을 받아 진행하였다. (주)대한바이오링크(충북 음성군, 한국)로부터 공급받은 200~220 g의 7주령 수컷 SD rat을 일주일 동안 순화시켰다. 사육환경은 온도 23 ± 3°C, 습도 50 ± 5%에서 light cycle은 12시간으로 유지하였으며, 순화기간 중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용하여 군당 8마리씩 군 분리를 실시하였다. 군분리는 정상군(normal), 대조군(control, 수침 구속 스트레스 위염 유발), 양성대조군(ranitidine, 50 mg/kg), 까마귀쪽나무열매추출물 저농도 투여군(LJF-HE-L, 30 mg/kg), 까마귀쪽나무열매추출물 중농도 투여군(LJF-HE-M, 60 mg/kg), 까마귀쪽나무열매추출물 고농도 투여군(LJF-HE-H, 120 mg/kg)의 총 6군으로 구성하여 실험을 진행하였다. 정상군과 대조군은 0.5% CMC를, 양성대조군(ranitidine)과 까마귀쪽나무열매추출물군(LJF-HE-L, LJF-HE-M, LJF-HE-H)들은 7일 동안 시험물질을 매일 1회씩 경구 투여하였다. 실험종료 전 16시간 동안 절식 시킨 다음 restraint device에 보정하고 보정된 동물을 22°C의 수조에 겸상돌기(xiphoid process)까지 침수시켜 위궤양을 유발시켰다. 그 후, ether로 마취를 실시하였고 개복한 다음, 유문부를 결찰하고 4시간 후 시험동물을 희생시켰다. 동물을 희생시키기 전에 복대동맥에서 혈액을 채취하여 EDTA가 처리된 tube에 넣고 roller에서 5분간 반응 시킨 후, 3,000 rpm으로 20분간 원심분리하여 혈장을 채취하였다.

위 염증 길이 측정

수침 구속 스트레스로 위염을 유발한 다음 시험동물을 희생시킨 후 개복하여 위를 적출하였다. 적출한 위로부터 위액을 채취한 후, 위는 대만곡부를 따라 종 절개하여 위 내용물을 제거하고 식염수로 세척한 후, cork board에 펼쳐서 사진을 촬영하였다. 위 점막 손상(위궤양, 출혈부위) 측정의 길이(mm)는 촬영된 사진으로 Image J 프로그램을 사용하여 측정하였으며, 점상출혈인 경우 5개를 1 mm로 계산하여 측정하였다.

펩신 활성도 측정

각 시험군으로부터 채취한 위액 0.01 mL에 hemoglobin (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA) 기질 용액 2.5 mL와 0.01 N HCl (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA) 0.49 mL를 가하여 37°C에서 10분간 반응시키고 5% trichloroacetic acid (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA) 5 mL을 첨가하여 반응을 종결 시킨 후, 4,000 × g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액 2.5 mL에 0.5 N NaOH (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA) 5 mL와 3배로 희석된 Folin Ciocalteau's agent (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA) 1.5 mL를 가

Table 1. Taqman primer/probe set used for the detection of target genes in the experiment

Gene nane	TaqMan® Gene Expression Assay Kit ID	Dye	Manufacturer
GAPDH	Rn01775763_g1	VIC	Applied Biosystems
Histamine receptor H2 (H2r)	Rn00564216_s1	FAM	
Cholecystokinin 2 receptor (CCK-2r)	Rn00565867_m1	VIC	
H^+/K^+ ATPase	Rn00591698_m1	FAM	

하여 5~10분간 반응 시킨 후 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준용액은 0.2 N HCl에 용해시킨 tyrosine (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)용액 1 mL에 0.2 N HCl 4 mL를 가하여 0, 0.5, 1 mM의 농도를 조제하고, 펩신 활성은 mg tyrosine produced/hr로 구하였다.

Real-time polymerase chain reaction에 의한 유전자 발현 분석

적출한 실험동물의 위에서 점막 부분을 분리한 뒤 수거하여 TRI reagent® (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA)로 제조사의 manual에 따라 total RNA를 추출하고 cDNA는 Reverse Transcription System (Promega, Madison, WI, USA)으로 제조사의 manual에 따라 합성하였다. 합성된 cDNA는 TaqMan®Universal PCR master mixture (Applied Biosystems, Foster, CA, USA)와 real-time PCR system (7500 real-time PCR system, Applied Biosystems, Foster, CA, USA)을 사용하여 real-time PCR을 수행하였다. Real-time PCR 조건은 50°C에서 1분, 95°C에서 10분간 수행한 후, 95°C에서 15초, 60°C에서 1분간 40 cycling으로 PCR을 수행하였으며, 유전자 발현 분석을 위해 Taqman primer/probe set를 구입하여 사용하였다(Table 1).

혈장 성분 측정

실험동물을 희생시키기 전 채취한 혈장에서의 위 점막 보호 지표 및 염증지표와 관련된 PGE2, VEGF, TNF-α, IL-1β 등을 측정하였다. 각각의 지표 측정을 위해 PGE2 ELISA kit (Abcam, Cambridge, UK), VEGF Plantinum ELISA (eBioscience, San Diego, CA, USA), TNF-α Platinum ELISA (eBioscience), IL-1β Platinum ELISA (eBioscience)를 이용하여 제조사의 manual에 따라 실험하였으며, ELISA reader (Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria)를 이용하여 측정하였다.

통계처리

실험에서 얻어진 통계적 유의성은 SPSS (statistical package for social sciences, SPSS INC, ver.19.0, Chicago, IL, USA) package program을 이용하여 실험군 당 평균과 표준편차로 표시하였고, student's t-test를 실시하여 유의성을 검정하였다.

Results and Discussion

까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE)의 지표성분 함량

까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE) 소재의 표준화는 지표성분인 hamabiwalactone B의 함량범위를 12.1~18.3 mg/g로 설정하여 규격화하였으며, 본 연구에 사용한 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE)의 hamabiwalactone B의 함량이 15.23 ± 0.057 mg/g으로 분석되어 까마귀쪽나무열매추출물의 표준화 규격에 적합한 것으로 확인하였으며, 본 연구에 사용하였다.

위 염증 및 육안 병변

위 염증에 대해 육안 병변을 살펴본 결과 normal 그룹에서는 위 염증이 관찰되지 않은 반면, control 그룹에서는 위 염증과 점막 출혈을 관찰할 수 있었다(Fig. 1A). 이에 따라 control 그룹에서의 위 염증 길이는 8.7 ± 3.0 mm를 차지하였다(Fig. 1B). 약물 대조군인 ranitidine 투여 그룹에서는 5.9 ± 2.4 mm로 control군에 비해 감소하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 까마귀쪽나무열매추출물 저, 중, 고농도 투여그룹(LJF-HE-L, LJF-HE-M, LJF-HE-H)에서 염증의 길이는 각각 2.4 ± 1.5 mm, 2.2 ± 1.3 mm, 2.9 ± 1.5 mm로 유사하였으며, control 그룹에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하였다($P < 0.001$) (Fig. 1B). 육안 병변 관찰에서도 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE) 투여그룹에서의 위 염증과 점막출혈 부위가 control 그룹에 비하여 감소하였음을 관찰할 수 있었다(Fig. 1B).

펩신 활성도 변화

위에서 공격인자와 방어인자의 불균형으로 인하여 점막의 저항성 및 혈류장애 또는 점액분비감소 등 방어기능이 저하되거나 화학전달물질인 acetylcholine, gastrin, histamine receptor가 위벽세포를 자극하여 위산분비를 촉진하게 된다[14]. Pepsin은 pH 1.8~2.0 정도의 위산이나 이미 활성화된 pepsin에 의해 촉매되어 강력한 단백질 분해 활성을 나타낸다. 이러한 pepsin은 공격인자로서 작용할 수 있으며, pH가 4 이상으로 상승하면 pepsin의 단백질 분해 활성이 현저히 감소된다[15].

본 연구에서는 실험동물을 희생시키기 전 채취한 위액으로 펩신 활성도를 측정하였다. 그 결과, control 그룹의 펩신 활성도는 43.3 ± 7.4 mg tyrosine produced/hr로 normal 그룹의 23.5 ± 10.5 mg tyrosine produced/hr에 비해 증가한 결과를 얻었으며, ranitidine 그룹은 32.7 ± 6.8 mg tyrosine produced/hr로 control 그룹 대비 감소한 결과를 얻었다

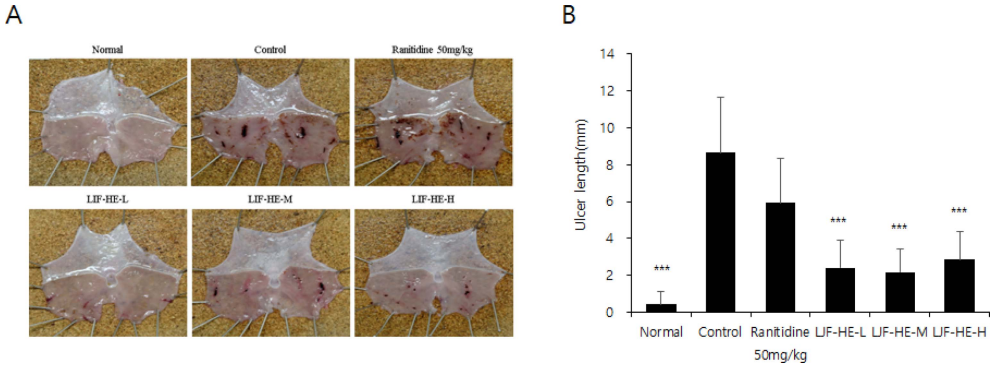

Fig. 1. Effect of *Litsea japonica* fruit flesh extract (LJF-HE) on gastritis (A) and ulcer length (B) (mm) in rats. Normal (vehicle), Control (stress-induced gastritis), Ranitidine 50 mg/kg (stress-induced gastritis pretreated with ranitidine 50 mg/kg), LJF-HE-L (stress-induced gastritis pretreated with LJF-HE 30 mg/kg), LJF-HE-M (stress-induced gastritis pretreated with LJF-HE 60 mg/kg), LJF-HE-H (stress-induced gastritis pretreated with LJF-HE 120 mg/kg) groups. The values are mean ± S.D. Significant difference from Control group by Student's t-test: ***$p < 0.001$.

Table 2. The changes of gastric juice volume and pepsin activity of gastric juice in rats with stress-induced gastritis

Group	Pepsin activity (mg tyrosine/hr)
Normal	23.5 ± 10.5**
Control	43.3 ± 7.4
Ranitidine 50 mg/kg	32.7 ± 6.8*
LIF-HE-L	31.8 ± 8.0*
LIF-HE-M	36.6 ± 5.2
LIF-HE-H	31.0 ± 8.1*

The values are mean ± S.D.
Significant difference from control group by Student's t-test: *$p < 0.05$, **$p < 0.005$

(Table 2). 또한 까마귀쪽나무열매추출물 저농도(LJF-HE-L), 중농도(LJF-HE-M), 고농도(LJF-HE-H) 그룹에서 펩신 활성도는 각각 31.8 ± 8.0, 36.6 ± 5.2, 31.0 ± 8.1 mg tyrosine/hr로 control 대비 유의성 있게 감소하는 것으로 나타났다(Table 2). 이러한 결과로 볼 때, 까마귀쪽나무열매추출물은 펩신 활성도를 낮춰 위염 발생을 억제하는 것으로 사료된다.

혈장 성분 측정

스트레스로 유도된 위염 모델에서 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE)의 위 점막 보호 기전 및 염증 개선 기전을 확인하기 위하여, 실험동물의 혈장 내에 존재하는 PGE2, VEGF, TNF-α, IL-1β 등을 측정하였다.

그 결과, LJF-HE-H 그룹에서 세포보호물질로 점액 및 혈류량을 증가시켜 위점막을 보호하는 역할을 하는 PGE2의 혈장 내 함량이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며(Fig. 2A), 반면에 모든 실험군에서 점막조직 생성을 촉진하는 VEGF의 혈장 내 농도는 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 2B). 염증 인자인 TNF-α와 IL-1β를 측정한 결과, 모든 실험군에서 염증성 cytokine중에 하나인 TNF-α의 혈장 내 함량 변화는 없었으며(Fig. 2C), 반면에, 또 다른 염증성 cytokine중에 하나인 IL-1β의 혈장 내 함량은 LJF-HE-M 그룹과 LJF-HE-H 그룹에서 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 2D). 이러한 결과들로 볼 때, 스트레스로 유도된 위염 모델에서 LJF-HE는 점액을 증가시켜 위 점막을 보호하는 PGE2의 함량을 높여, 위 점막 보호 기능을 나타내고 있으며, 더불어 염증성 cytokine인 IL-1β의 생성을 낮춰주어 염증 매개반응을 저해하는 것으로 판단되어 진다.

위 점막 유전자 발현 분석

스트레스로 유도된 위염 모델에서 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE)의 위산 분비 억제 기전을 확인하기 위하여, 실험동물의 위 조직으로 부터 total RNA를 분리하여, real-time PCR을 통해 histamine receptor H2 (H2r), Cholecystokinin 2 receptor (CCK-2r), H^+/K^+ ATPase 등을 housekeeping gene인 GAPDH와 비교하여 상대적인 mRNA level을 측정하였다. 그 결과, ranitidine 그룹(0.76 ± 0.61)과 LJF-HE-M (0.66 ± 0.33), LJF-HE-H (0.66 ± 0.53) 그룹에서 Gastrin에 의해 활성화 되는 CCK-2r 유전자 발현이 대조군(1.25 ± 0.53)에 비해 유의적으로 억제되는 것으로 나타났으며, 이는 정상군(0.84 ± 0.50)과 유사한 수준으로 나타났다(Fig. 3A). 반면에, histamine에 의해 발현되는 H2r 유전자와 cAMP와 $Ca2^+$ 농도 증가 등에 의해 활성화 되어 HCl 분비를 증가시키는 H^+/K^+ ATPase 유전자 발현에서는 모든 실험군에서 통계적으로 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Fig. 3C, D). 위산 분비는 스트레스 등의 다양한 원인에 의해 히스타민, 아세틸콜린, Gastrin 분비가 증가되고 관련 수용체인 H2r 및 CCK-2r이 증가되면서 가중된다[16,17]. 이렇게 증가된 위산은 위의 공격인자로 작용하여 위 점막

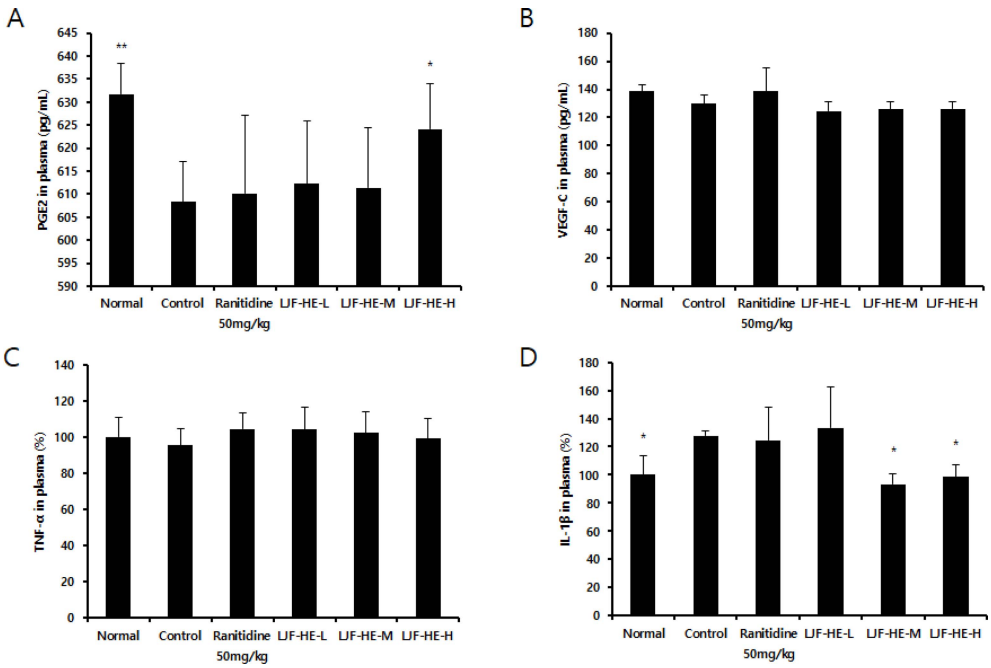

Fig. 2. Effect of *Litsea japonica* fruit flesh extract (LJF-HE) on plasma PGE2 (A), plasma VEGF (B), plasma TNF-α (C), and plasma IL-1β (D) in rats. Normal (vehicle), Control (stress-induced gastritis), Ranitidine 50 mg/kg (stress-induced gastritis pretreated with ranitidine 50 mg/kg), LJF-HE-L (stress-induced gastritis pretreated with LJF-HE 30 mg/kg), LJF-HE-M (stress-induced gastritis pretreated with LJF-HE 60 mg/kg), LJF-HE-H (stress-induced gastritis pretreated with LJF-HE 120 mg/kg) groups. The values are mean ± S.D. Significant difference from Control group by Student's t-test: $*p < 0.05$, $**p < 0.005$.

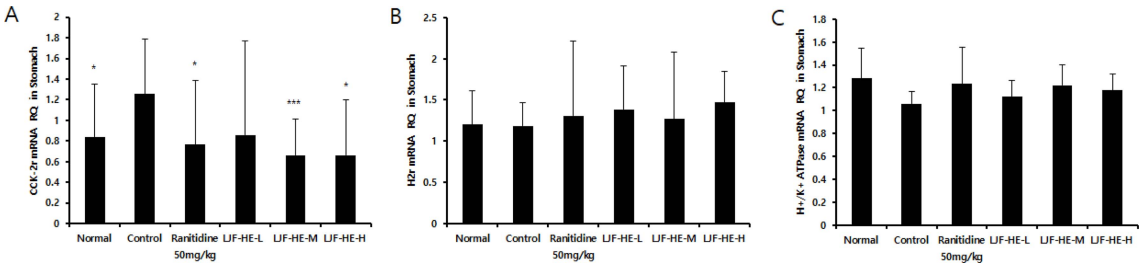

Fig. 3. Effect of Litsea japonica fruit flesh extract (LJF-HE) on CCK-2r (A), H2r (B), and H^+/K^+ ATPase (C) expression in rats. Normal (vehicle), Control (stress-induced gastritis), Ranitidine 50 mg/kg (stress-induced gastritis pretreated with ranitidine 50 mg/kg), LJF-HE-L (stress-induced gastritis pretreated with LJF-HE 30 mg/kg), LJF-HE-M (stress-induced gastritis pretreated with LJF-HE 60 mg/kg), LJF-HE-H (stress-induced gastritis pretreated with LJF-HE 120 mg/kg) groups. The values are mean ± S.D. Significant difference from control group by student's t-test: $*p < 0.05$, $***p < 0.001$.

손상을 야기한다[18]. LJF-HE의 스트레스로 유도된 위염 모델에서 위염 억제 기능은 gastrin에 의해 활성화 되는 CCK-2r 유전자의 발현을 억제하여, gastrin에 의한 위산 생성 단계를 조절함으로써, 나타나는 것으로 판단된다.

상기와 같은 결과를 종합하면, 스트레스로 유도된 위염 모델에서 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE) 투여그룹이 control 그룹 대비 염증의 길이가 통계적으로 유의하게 감소하였으며, 육안 병변 관찰에서도 위 염증과 점막출혈 부위도 감소하였음을 관찰할 수 있었다. 또한 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE) 투여그룹에서의 펩신 활성도도 control 대비 유의성 있게 감소하는 것으로 나타나 까마귀쪽나무열매추출물은 펩신 활성도를 낮춰 위염 발생을 억제하는 것으로 판단된다. 이와 같은 위염억제기능은 gastrin에 의해 활성화 되는 CCK-2r 유전자의 발현을 억제하여, gastrin에 의한 위산 생성 단계를 조절하여 나타내는 것으로 판단된다.

Acknowledgement

본 연구는 중소벤처기업부 중소기업기술혁신개발사업으로부터 지원을 받아 수행하였습니다. [S2314842, 천연물

유래의 위 기능 개선 효능을 갖는 건강기능식품소재 개발].

국문요약

본 연구는 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE)이 흰쥐모델에서 스트레스로 유발되어지는 위염에 대한 억제효과를 확인하고자 하였다. 이때 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE) 소재는 지표성분인 hamabiwalactone B의 함량이 15.23 ± 0.057 mg/g 로 규격에 적합한 것을 사용하였다, 동물실험에 있어 군분리는 정상군(normal), 양성 대조군(control, 수침 구속 스트레스 위염 유발), 약물 대조군(ranitidine, 50 mg/kg), 까마귀쪽나무열매추출물 저농도 투여군(LJF-HE-L, 30 mg/kg), 까마귀쪽나무열매추출물 중농도 투여군(LJF-HE-M, 60 mg/kg), 까마귀쪽나무열매추출물 고농도 투여군(LJF-HE-H, 120 mg/kg)의 총 6군으로 구성하여 실험을 진행하였다. 그 결과 까마귀쪽나무열매추출물의 투여그룹(LJF-HE-L, LJF-HE-M, LJF-HE-H)에서 염증의 길이가 control 그룹에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하였으며, 육안병변 관찰에서도 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE) 투여그룹에서의 위 염증과 점막출혈 부위가 control 그룹에 비하여 감소하였음을 관찰할 수 있었다. 또한 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE) 투여그룹에서의 펩신 활성도도 control 대비 유의성 있게 감소하는 것으로 나타나 까마귀쪽나무열매추출물은 펩신 활성도를 낮춰 위염 발생을 억제하는 것으로 사료된다. 그리고 까마귀쪽나무열매추출물의 투여그룹(LJF-HE-M, LJF-HE-H)에서 gastrin에 의해 활성화 되는 CCK-2r 유전자 발현이 대조군에 비해 유의적으로 억제되는 것으로 나타났으며, 염증성 cytokine중에 하나인 IL-1β의 혈장 내 함량이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였고, 세포보호물질로 점액 및 혈류량을 증가시켜 위점막을 보호하는 역할을 하는 PGE2의 혈장 내 함량이 대조군에 비해 유의적으로 증가한 결과를 얻었다. 이와 같은 결과는 까마귀쪽나무열매추출물(LJF-HE)이 스트레스로 유발되어지는 위염에 대한 억제효과가 있음을 확인하였다.

References

1. Glickman JN, Antonioli DA: Gastritis. Gastrointest Endosc Clin North Am, **11**, 717-740 (2001).
2. Kandulski A, Selgrad M, Malfertheiner P: *Helicobacter pylori* infection: a clinical overview. *Dig. Liver Dis.*, **40**, 619-626 (2008).
3. Srivastava A, Lauwers GY: Pathology of non-infective gastritis. Histopathology, **50**, 15-29 (2007).
4. Franke A, Teyssen S, Singer MV: Alcohol-related diseases of the esophagus and stomach. *Dig Dis*, **23**, 204-213 (2005).
5. Liu ES, Cho CH: Relationship between ethanol-induced gastritis and gastric ulcer formation in rats. *Digestion*, **62**, 232-239 (2000).
6. Chew CS: Intracellular mechanisms in control of acid secretion. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, **7**, 856-862 (1991).
7. Mårdh S, Song YH, Carlsson C, Bjrkman T: Mechanisms of stimulation of acid production in parietal cells isolated from the pig gastric mucosa. *Acta Physiol. Scand.*, **131**, 589-598 (1987).
8. Helander HF, Keeling DJ: Cell biology of gastric acid secretion. Baillieres Clin Gastroenterol, **7**, 1-21 (1993).
9. Berardi RR, Savitsky ME, Nostrant TT: Maintenance therapy for prevention of recurrent peptic ulcers. *Drug Intell. Clin. Pharm.*, **21**, 493-501 (1987).
10. Fullarton GM, McLauchlan G, Macdonald A, Crean GP, McColl KE: Rebound nocturnal hypersecretion after four weeks treatment with an H2 receptor antagonist. *Gut*, **30**, 449-54 (1989).
11. Szabo S, Bynum TE: Alternatives to the acid-oriented approach to ulcer disease: does 'cytoprotection' exist in man? A new classification of antiulcer agents. *Scand. J. Gastroenterol.*, **23**, 1-6 (1988).
12. Min BS, Lee SY, Kim JH, Kwon OK, Park BY, An RB, Lee JK, Moon HI, Kim TJ, Kim YH, Joung H, Lee HK: Lactones from the leaves of the *Litsea japonica* and their anti-complement activity. *J. Nat. Prod.*, **66**,1388-1390 (2003).
13. Jiménez-Pérez N del C, Lorea-Hernández FG, Jankowski CK, Reyes-Chilpa R: Essential oils in mexican bays (*Litsea* spp., Lauraceae): Taxonomic assortment and ethnobotanical implications. *Econ Bot.*, **65**,178-189 (2011).
14. Okebe S, Jino H, Nishida A: Effects of 15(R)-15-methyl prostaglandin E2 (arbaprostil) on gastric secretion and various gastric lesions induced in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, **40**, 329-337 (1986).
15. Sciffers MJ, Segal HL, Miller LL: Separation of pepsinogen I, pepsinogen II, and pepsinogen III from human gastric mucosa. *Am. J. Physiol.*, **205**, 1106-1111 (1963).
16. Chen D, Zhao CM: Complexity of gastric acid secretion revealed by targeted gene disruption in mice. *Curr. Pharm. Des.*, **16**, 1235-1240 (2010).
17. Schubert ML: Gastric secretion. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, **23**, 595-601 (2007).
18. Osawa H, Kita H, Ohnishi H, Hoshino H, Mutoh H, Ishino Y, Watanabe E, Satoh K, Sugano K: *Helicobacter pylori* eradication induces marked increase in H^+/K^+ adenosine triphosphatase expression without altering parietal cell number in human gastric mucosa. *Gut*, **55**, 152-157 (2006).