

# Acetic-acid로 대장염을 유발한 생쥐에 투여한 만년환의 치료효과

공원호<sup>1</sup>, 김범희<sup>2</sup>, 김원일<sup>1</sup>

<sup>1</sup>동의대학교 한의과대학 비계내과학교실, <sup>2</sup>동의대학교 한의과대학 해부학교실

## Effects of *Mannyeon-hwan* on Acetic Acid-induced Colitis in Rats

Won-ho Kong<sup>1</sup>, Bum-hoi Kim<sup>2</sup>, Won-ill Kim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Korean Internal Medicine, College of Korean Medicine, Dong-Eui University

<sup>2</sup>Dept. of Anatomy, College of Korean Medicine, Dong-Eui University

### ABSTRACT

**Objectives:** This study is designed to verify the effects of *Mannyeon-hwan* (MNH) on acetic acid-induced colitis in rats.

**Methods:** Colitis was induced in male Sprague-Dawley rats weighing approximately 250 g by injecting acetic acid through the anus. The rats were classified into four groups: normal group, acetic acid (AA) group, AA+MNH (L) (low concentration) group, and AA+MNH (H) (high concentration) group. The body weight, visual evaluation of the colonic mucosa, anatomical histological changes, and changes in the expression of cytokines in the colon tissue were compared and analyzed.

**Results:** Compared with the normal group, weight loss was observed in mice induced with colitis. Compared with the AA group, weight loss recovery occurred in the AA+MNH (L) and AA+MNH (H) groups, and significant changes were observed after the sixth day. In the visual evaluation of the colonic mucosa, a significant decrease in damage indicators was observed in the AA+MNH (L) and AA+MNH (H) groups compared with the AA group. In terms of anatomical histological changes and changes in the expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 in colon tissue, a significant decrease was observed in the AA+MNH (L) and AA+MNH (H) groups compared with the AA group. A more pronounced decrease was observed in the AA+MNH (H) group compared with the AA+MNH (L) group.

**Conclusion:** The effects of MNH on colitis were confirmed through research. MNH can be used as a first-line treatment for patients complaining of colitis who visit oriental medicine clinics.

**Key words:** *Mannyeon-hwan*, colitis, acetic acid-induced, TNF- $\alpha$ , IL-6

## 1. 서론

장염은 지속 기간이 2주 이내이면 급성 장염, 2주 이상 지속되면 만성 장염으로 분류한다. 급성 장염

의 경우 빈도가 높으며, 복통, 설사, 발열 등의 임상 증상에 따라 진단한다. 급성 장염의 치료는 대증치료를 우선적으로 한다. 구토, 설사로 손실된 수분과 전해질은 보충하기 위한 수액요법이 주요 치료방향이다. 반면 만성 장염은 경과가 천천히 나타나며, X-RAY, 대장내시경, 생검 소견에 따라 궤양성 대장염이나, 크론병과 같은 난치성 질환일 가능성도 있다<sup>1,2</sup>. 궤양성 대장염과 크론병의 치료는 가이드라인을 통해 약물치료, 수술치료, 수술 후

· 투고일: 2023.11.03, 심사일: 2023.12.29, 게재확정일: 2023.12.29

· 교신저자: 김원일 부산광역시 부산진구 양정로 52-57

동의대학교 한의과대학

TEL: 051-890-3328 FAX: 051-890-3333

E-mail: omdstar@deu.ac.kr

재활치료를 제시하고 있지만, 아직 명확한 완치보다는 관해의 관점에서 접근하고 있다<sup>3,4</sup>.

급성 및 만성 장염은 한의학적으로 설사, 이질, 복통, 적취, 변혈, 장벽(腸滯)의 범주에 속한다. 치료는 허실에 따라 달리 하는 것이 원칙이나, 임상적으로 정허사변(正虛邪變), 본허표실(本虛標實), 한열착잡(寒熱錯雜)에 속하는 경우도 많으므로 종합적으로 판단한다<sup>5</sup>. 지금까지 대장염 관련 임상연구는 변증에 따라 작약감초탕가미방<sup>6</sup>, 단삼보혈탕가감<sup>7</sup>, 평위지유탕가미방<sup>8</sup>, 조중건비환가미방<sup>9</sup>, 불환금정기산<sup>10</sup>, 황련해독탕<sup>11</sup>, 지유산과 가미전씨백출산<sup>12</sup>, 열다한소탕과 같은해기탕<sup>13</sup>을 처방한 치험례가 보고되었다. 또한 대장염 관련 동물실험 연구도 다양하게 진행되었다. 본초로는 의이인<sup>14</sup>, 당목향<sup>15</sup>, 오매<sup>16</sup>에 대한 동물실험 연구가, 방제로는 소염정장탕<sup>17</sup>, 도체탕<sup>18</sup>, 괴화산<sup>19</sup>, 오매환<sup>16</sup>, 자금정<sup>20</sup>, 계지가용골모려탕<sup>21</sup>, 황금탕과 감초사심탕<sup>22</sup>의 효과에 대한 논문이 발표되었다.

만년환은 배원식 선생님의 쾌동환<sup>23</sup>에 육두구를 가한 처방으로 소화불량, 복통, 설사 등의 장염관련 제반 증상에 처방하는 ○○한의원의 경험방이다. 만년환은 ○○한의원에서 직접 처방에 의해 제환하고 있으며, 환자의 치료만족도가 높아 처방빈도가 지속적으로 증가하고 있다. 이에 저자는 임상에서 다용하는 처방에 대한 객관적 치료효과의 검증을 위해 동물실험을 진행하였고 대장염에 대한 만년환의 의미있는 실험결과를 확인하였기에, 보고하는 바이다.

## II. 실험방법

### 1. 실험동물

본 연구의 모든 과정은 ○○대학교 동물실험윤리위원회의 규정 및 방침에 따라 진행되었다(승인번호: R2022-010). 실험동물은 (주)샘타코(경기도, 대한민국)에서 구입하였는데, 약 250 g 전후의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 32마리를 사용하였다. 흰쥐는

온도 23~24 ℃, 습도 40~60%의 환경에서 조명 12시간 명/암이 자동적으로 유지되는 사육실에서, 무균 음수와 사료를 자유롭게 공급하여 사육하였다. 실험에 앞서 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

### 2. 만년환(Mannyeon-hwan, MNH)의 제조

본 실험에 사용한 만년환의 내용과 약물은 Table 1과 같다. 만년환은 ○○한의원 원내 조제실에서 직접 조제하였으며, 구성약재는 삼익제약, 씨케이, 허브팜에서 규격품으로 구입하여 정선하여 사용하였다. 만년환의 제조방법은 향부자, 인삼, 백출, 광향, 백개자, 후박, 산사, 사인, 육두구, 건강, 목향, 감초, 빈랑 13가지 약재를 건조시킨 후, 초미립자분쇄기(한국특허상품개발원, 한국)로 분말화하여 여기에 밀가루 100 g, 찹쌀가루 100 g, 물 50 ml를 혼합 반죽하여 오자대의 환으로 만들어 사용하였다.

Table 1. The Amount and Composition of Mannyeon-hwan (MNH)

Herbal name	Amount (g)
<i>Cyperi Rhizoma</i> (香附子)	600
<i>Ginseng Radix</i> (人蔘)	600
<i>Glycyrrhizae Radix</i> (甘草)	600
<i>Agastachis Herba</i> (藿香)	600
<i>Amomi Fuctus</i> (砂仁)	600
<i>Atractylodis Rhizoma Alba</i> (白朮)	600
<i>Magnoliae Cortex</i> (厚朴)	600
<i>Sinapis Semen</i> (白芥子)	600
<i>Myristicae Semen</i> (肉豆蔻)	600
<i>Zingiberis Rhizoma Siccus</i> (乾薑)	600
<i>Aucklandiae Radix</i> (木香)	600
<i>Arecae Semen</i> (檳榔)	600
<i>Crataegii Fructus</i> (山楂)	600

Table 2. The Amount and Composition of *Mannyeontang* (MNT)

Herbal name	Amount (g)
<i>Cyperi Rhizoma</i> (香附子)	16
<i>Ginseng Radix</i> (人蔘)	8
<i>Glycyrrhizae Radix</i> (甘草)	8
<i>Agastachis Herba</i> (藿香)	8
<i>Amomi Fuctus</i> (砂仁)	8
<i>Atractylodis Rhizoma Alba</i> (白朮)	8
<i>Magnoliae Cortex</i> (厚朴)	8
<i>Sinapis Semen</i> (白芥子)	8
<i>Myristicae Semen</i> (肉豆蔻)	8
<i>Zingiberis Rhizoma Siccus</i> (乾薑)	8
<i>Aucklandiae Radix</i> (木香)	8
<i>Arecae Semen</i> (檳榔)	8
<i>Crataegii Fructus</i> (山查)	8

### 3. 대장염 유발

32마리의 흰쥐를 8마리씩 4개 군으로 나누었으며, 각각 Normal군, AA(acetic acid)군, AA+MNH(L)(저농도)군 및 AA+MNH(H)(고농도)군으로 명명

하였다. 본 연구에서는 흰쥐에 대장염을 유발하기 위해 acetic acid를 사용하였다. 흰쥐를 ether로 마취시킨 후, 외경 0.2 cm, 길이 8 cm의 polyethylene catheter를 흰쥐 항문으로 삽입(6~7 cm)하고 2 mL of 4% (v/v) acetic acid를 주입하여 대장염을 유발시켰다. 주입 후 약물이 흘러나오지 않도록 꼬리를 위로 들어 올린 자세를 1분간 유지시켰다. AA군, AA+MNH(L)군 및 AA+MNH(H)군에 acetic acid를 주입하였으며, Normal군에는 생리식염수를 동일한 방식으로 주입하였다.

### 4. 약물투여

AA+MNH(L)군 및 AA+MNH(H)군에 acetic acid 주입 2시간 후 각각 체중 100 g당 만년환 105.0 mg, 210.0 mg의 농도로 만년환을 0.1 ml의 음용수에 녹여 경구 투여하였다. 약물투여는 2주간 매일 1회씩 같은 시간에 시행하였으며, Normal군에는 동일량의 물을 투여하였다(Fig. 1).



Fig. 1. Time table.

### 5. 체중측정

실험동물의 체중은 acetic acid 주입하고 만년환 투여를 마친 후 측정하였으며, 실험기간 동안 2일 간격으로 같은 시간에 측정하였다. 실험동물을 희생하기 직전에 최종적인 체중을 측정하였다.

### 6. 결장조직의 채취

과량의 ether를 이용하여 실험동물을 희생시킨 후, 개복하여 장의 일반적인 변화를 육안으로 관찰하고 전체의 직장과 결장을 채취하여 세로로 가르고 점막의 손상정도를 관찰하였다.

### 7. 결장 염증의 평가

결장 점막 손상에 대한 평가는 0~4점으로 나누어 정하였는데, 정상 표면은 0점, 약한 손상(0~25%)은 1점, 중간 손상(25~50%)은 2점, 심각한 손상(50~75%)은 3점, 결장 조직두께의 전체적인 손상(75%이상)은 4점으로 평가하였다<sup>31</sup>. 조직학적 평가는 각 실험군에서 채취한 결장 위위부의 동일 부위에서 육안으로 시행하였다.

### 8. 결장점막의 해부조직학적 관찰

대장의 조직학적 변화를 관찰하기 위해 hematoxylin

and eosin(H&E) 염색이 사용되었다. 결장 조직을 neutral buffered formalin에 24시간 동안 고정한 뒤에, 흐르는 물에 24시간 동안 세척하였다. 그 후에 탄올로 탈수된 조직을 파라핀으로 포매한 후, rotary microtome(5  $\mu$ m, Leica Biosystems; Wetzlar, Germany)을 이용하여 절편하였으며, 염색된 조직은 광학현미경(light microscope, Olympus Corporation, Tokyo, Japan)을 통해 관찰하였으며 배율은 H&E는 X100, 면역염색은 X200입니다.

### 9. 면역조직화학염색

Primary antibody는 anti-TNF-a(ab7977, 1:200 dilution, rabbit polyclonal: Abcam), anti-IL-6 (sc-28343, 1:200 dilution, rabbit polyclonal: Santacruz)로 PBS와 Triton X-100을 섞은 용액으로 희석한 후 4  $^{\circ}$ C에서 12시간 반응시켰다. 이후 조직을 PBS로 씻어내고, abidin-biotin immunoperoxidase의 방법(ABC Vectastain Kit)에 따라 각각 1시간씩 반응시켰다. 면역반응의 결과를 정량화하기 위해 현미경 하에서 동일한 일정면적(cells/120,000  $\mu$ m<sup>2</sup>) 내의 면역 양성반응 세포수를 측정하여 수치화하였다.

### 10. 통계학적 분석

측정된 모든 자료는 ANOVA 분석을 통해 유의성 여부를 확인 후, student's t-test를 사용하여 P<0.05 및 P<0.01의 유의수준으로 검증하였다. 모든 값의 수치는 평균 $\pm$ 표준편차(mean $\pm$ standard deviation)로 표시하였다.

## III. 결 과

### 1. 체중의 변화

2주간의 실험기간 동안 acetic acid의 주입이나 만년환 투여로 인해 사망한 동물은 없었다. 각 실험군 별로 체중변화를 관찰한 결과, 아무런 처치도 가하지 않은 Normal군에서는 시간이 지남에 따라 체중이 약간씩 증가하는 경향이 나타난 반면, AA 군, AA+MNH(L)군 및 AA+MNH(H)군에서는 체중감소가 관찰되었다. AA+MNH(L)군과 AA+MNH(H)군에서는 AA군에 비해 체중감소의 회복이 관찰되어 6일째 이후 유의성 있는 변화를 나타내었다. AA+MNH(L)군과 AA+MNH(H)군 사이에는 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다(Fig. 2).

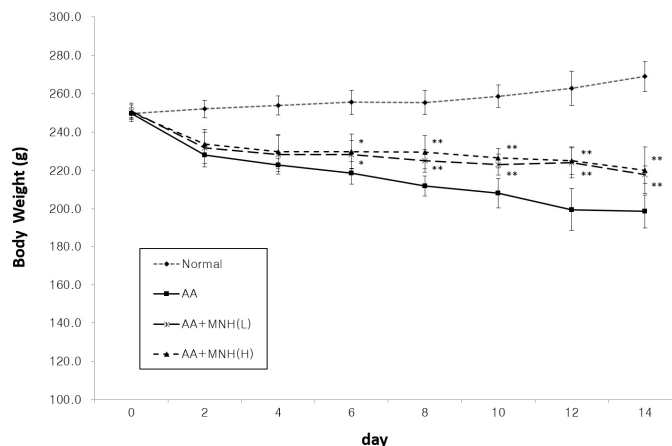


Fig. 2. Body weight changes of rat for 14 days.

Data represent the mean $\pm$ S.D.

\* P<0.05, \*\* P<0.01 compared with AA group.

AA : acetic acid, MNH (L) : low concentration of *Mannyeon-hwan*, MNH (H) : high concentration of *Mannyeon-hwan*

## 2. 결장의 병리적 변화

흰쥐의 결장을 채취하여 육안으로 관찰한 결과, acetic acid를 주입한 AA군의 경우 Normal군과 비교하여 결장의 말단 조직에 출혈과 점막손상 및 부

종이 확인되었다. 반면, AA+MNH(L)와 AA+MNH(H)군에서는 이러한 병리적 변화가 완화되었음이 관찰되었다(Fig. 3).

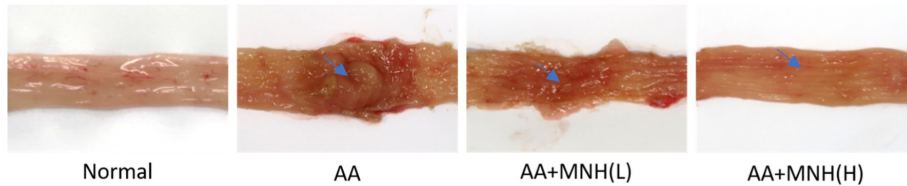


Fig. 3. Effect of MNH on macroscopic appearance of colons of acetic acid-induced colitic rats.

Colonic tissue from the AA group displayed typical histological features of colitis as compared with Normal Group. The histopathological changes of colonic damage of AA+MNH (L) and AA+MNH (H) groups were reduced to compared with AA group.

AA : acetic acid, MNH (L) : low concentration of *Mannyeon-hwan*, MNH (H) : high concentration of *Mannyeon-hwan*

## 3. 결장 점막 손상 지표

결장 점막을 육안으로 관찰하여 손상지표를 평가한 결과, acetic acid를 주입한 AA군의 경우는  $3.5 \pm 0.5$ 점인 반면, AA+MNH(L)와 AA+MNH(H)군에서는 각각  $2.8 \pm 0.7$ 점,  $2.6 \pm 0.7$ 점으로 측정되었다. AA+MNH(L)군과 AA+MNH(H)군 모두에서 AA군에 비해 유의성 있는 감소가 관찰되었다. 하지만, AA+MNH(L)군과 AA+MNH(H)군 사이에서는 통계적으로 유의성있는 차이는 나타나지 않았다(Fig. 4).

## 4. 결장점막의 해부조직학적 변화

각 실험군의 동일한 부위의 결장 조직을 채취하여 H&E 염색을 시행하여 조직학적 변화를 관찰한 결과, acetic acid를 투여한 AA군의 경우 점막(mucosa), 고유판(lamina propria), 점막하조직(submucosal tissue), 및 근육층(muscularis)까지 전체적인 염증세포의 침착이 발견되었다. 반면, AA+MNH(L)군과 AA+MNH(H)군의 경우는 AA군에 비해 이러한 염증세포의 침착이 현저히 억제되었는데, AA+MNH(L)에 비해 AA+MNH(H)군에서 더 뚜렷이 확인할 수 있었다

(Fig. 5).

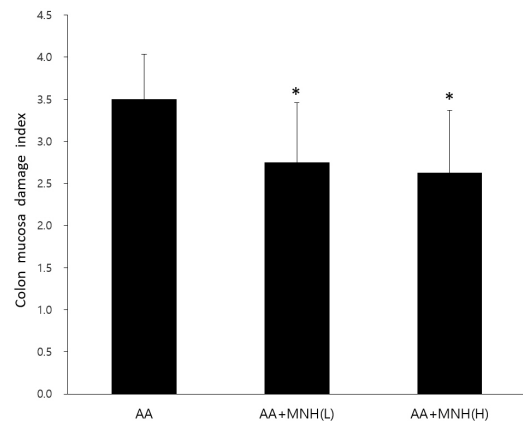


Fig. 4. Colon mucosa damage index (CMDI) of normal, AA, AA+MNH(L), and AA+MNH(H) groups.

AA group displayed histopathological changes of colitis. However, AA+MNH (L) and AA+MNH (H) group were recovered to compared with AA group.

\*  $P < 0.05$  compared with AA group.

AA : acetic acid, MNH (L) : low concentration of *Mannyeon-hwan*, MNH (H) : high concentration of *Mannyeon-hwan*

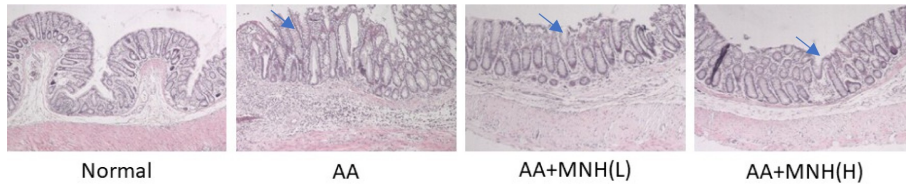


Fig. 5. H&E staining of colon in rats of normal, AA, AA+MNH (L) and AA+MNH (H) groups.

In AA group, Extensive epithelial loss, destruction of crypts and severe inflammatory cell infiltrations were detected by hematoxylin and eosin staining. The pathological changes were significantly recovered in AA+MNH (L) and AA+MNH (H) groups. Moreover, AA+MNH (H) group was more recovered compared to AA+MNH (L) group. AA : acetic acid, MNH (L) : low concentration of *Mannyeon-hwan*, MNH (H) : high concentration of *Mannyeon-hwan*

5. 결장 조직에서의 TNF- $\alpha$ 의 발현변화

결장 조직에서의 TNF- $\alpha$ 의 발현의 발현은 Normal 군에서는 미약하게 관찰되었으나, AA군에서는 뚜렷한 발현 증가가 관찰되었다. 반면, AA+MNH(L) 군과 AA+MNH(H)군에서는 AA군에 비해 상대적으로 발현이 유의성 있게 감소되었는데, AA+MNH(L) 군에 비해 AA+MNH(H)군에서 더욱 뚜렷한 발현 감소가 관찰되었다(Fig. 6).

6. 결장 조직에서의 IL-6의 발현변화

결장 조직에서의 IL-6의 발현의 발현은 Normal 군에서는 미약하게 관찰되었으나, AA군에서는 뚜렷한 발현 증가가 관찰되었다. 반면, AA+MNH(L) 군과 AA+MNH(H)군에서는 AA군에 비해 상대적으로 발현이 유의성 있게 감소되었는데, AA+MNH(L) 군에 비해 AA+MNH(H)군에서 더욱 뚜렷한 발현 감소가 관찰되어 유의성 있는 차이가 확인되었다 (Fig. 7).

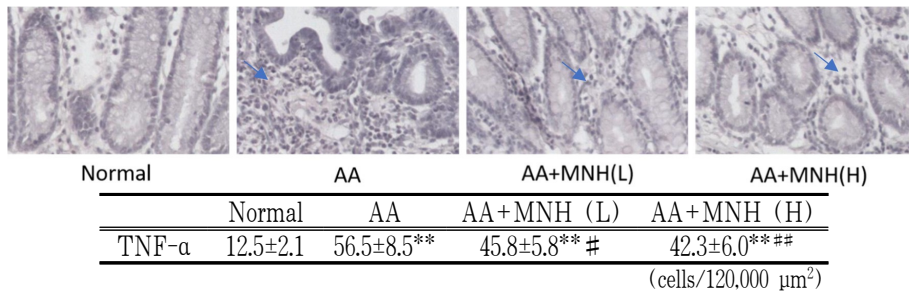


Fig. 6. TNF- $\alpha$  immunoreactivities of colon in rats of normal, AA, AA+MNH (L), and AA+MNH (H) groups.

In AA group, the immunoreactivities of TNF- $\alpha$  protein were significantly increased in comparison with Normal group. AA, AA+MNH (L) and AA+MNH (H) group showed the decreased level of TNF- $\alpha$  as compared with AA group. In addition, the immunoreactivities in AA+MNH (H) group was more decreased compared to AA+MNH (L) group. Data represent the mean $\pm$ S.D.

\*\* P<0.01 compared with normal group

# P<0.05, ## P<0.01 compared with AA group

AA : acetic acid, MNH (L) : low concentration of *Mannyeon-hwan*, MNH (H) : high concentration of *Mannyeon-hwan*

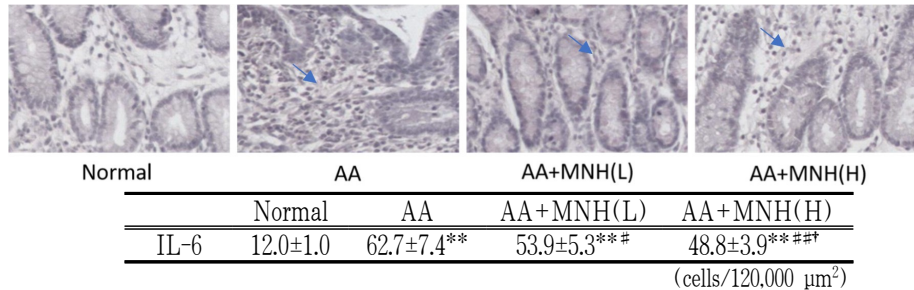


Fig. 7. IL-6 immunoreactivities of colon in rats of normal, AA, AA+MNH (L), and AA+MNH (H) groups.

In AA group, the immunoreactivities of IL-6 protein were significantly increased in comparison with Normal group. AA, AA+MNH (L) and AA+MNH (H) group showed the decreased level of IL-6 as compared with AA group. In addition, the immunoreactivities in AA+MNH (H) group was more decreased compared to AA+MNH (L) group. Data represent the mean±S.D.

\*\* P<0.01 compared with normal group

# P<0.05, ## P<0.01 compared with AA group

† P<0.05 compared with AA+MNH (L) group

AA : acetic acid, MNH (L) : low concentration of *Mannyeon-hwan*, MNH (H) : high concentration of *Mannyeon-hwan*

#### IV. 고 찰

장염은 복통, 설사, 발열 등의 임상 증상을 통해 진단하며, 증상의 완화와 손실된 수분 및 전해질을 보충하는 방법으로 치료한다. 장염 증상이 만성화 되면 임상 증상과 내시경 검사, 조직검사 등을 통해서 궤양성 대장염이나 크론병과 같은 염증성 장 질환을 감별한다. 염증성 장 질환의 발생률과 유병률은 서구화된 국가에서 높다. 최근에는 한국을 비롯한 아시아 국가들도 서구화가 되면서 염증성 장 질환이 증가하는 추세이다<sup>1,2</sup>. 궤양성 대장염의 주 증상은 설사, 직장 출혈, 후중증, 점액 배출 및 경련성 복통이다. 내시경 검사 상 주로 직장 점막의 염증을 확인할 수 있으며, 연속적, 대칭적으로 나타난다. 조직검사 상에서도 대장 점막과 점막하층에 국한된 염증과 대장 선화의 구조적 변형과 기저부에 형질세포와 림프구의 증가를 확인할 수 있다. 크론병의 주 증상은 수양성 설사와 복통이며, 혈변은 흔하지 않다. 체중감소 또는 발열 등의 전신 증상이 동반되기도 한다. 내시경 검사 상 구강에서 항문까지 위장관의 어떤 부위에서든 염증을

확인할 수 있으나, 주로 소장을 침범한다. X-RAY, 내시경 검사, 조직검사 소견을 통해 종주성 궤양, 조약돌 점막상, 비건락성 유사상피세포 육아종을 확인하여 진단한다<sup>1,2,5</sup>. 염증성 장 질환은 궤양성 대장염과 크론병으로 감별하여 진단하지만, 치료 방법은 아직 확립되지 않았다. IL-1, IL-6, TNF와 같은 염증성 사이토카인의 조절이 치료의 방향으로 제시되고 있으며, 5-ASA, 부신피질 스테로이드, 면역조절제, 항TNF- $\alpha$ 항체제 등의 치료제로 염증매개체의 억제를 통한 치료를 시도하고 있다<sup>1,4</sup>. 궤양성 대장염과 크론병 같은 염증성 장 질환은 이차적으로 대장암 발생 위험이 높아 관해를 통한 질병의 재발을 막는 것이 필요하다<sup>24</sup>.

만년환은 배원식 선생님의 한방임상학<sup>23</sup>에 수록된 쾌통환에 지사를 목적으로 육두구를 가미하여 분량을 달리한 처방으로 ○○한의원의 경험방이다. 한방임상학에서 쾌통환은 급제, 상한 음식물을 먹고 발생한 급성 위염, 만성 위염, 위궤양, 위산과다증, 십이지장궤양증, 위무산증, 위무력 및 위하수 등 위장질환에 주로 처방하였다<sup>23</sup>. 저자는 만년환을 위장뿐만 아니라, 소장, 대장을 포함한 소화기의



염증성 질환에 광범위하게 처방하고 있다. ○○한의원에서 일반적으로 장염 초기에는 탕약(만년탕, Table 2)으로 처방하며, 장염이 지속되거나, 자주 재발하는 경우에는 환약(만년환)으로 처방하여 꾸준히 복용하도록 하고 있다. 특히 만성질환인 궤양성 대장염, 크론병과 같은 염증성 장질환에 만년환을 장복하였을 때 유효한 치료효과를 자주 경험하였다. 만년환은 처방구성이 향부자, 곽향, 사인, 후박, 백개자, 목향, 빈랑, 산사화 같은 소도시키는 약재를 위주로 하여, 건비의 효능이 있는 인삼, 감초, 백출과 지사와 온장의 효력이 있는 육두구, 건강이 배합되었다. 따라서 소도시제를 활용한 소화불량의 제반증상 완화에도 효과적이지만, 건비지제와 온보지제를 활용한 면역기능 향상을 통한 위장관 기능을 개선시키는 효과도 있는 처방이라 할 수 있다.

본 연구에서는 임상에서 경험한 만년환의 장염에 대한 치료효과를 확인하기 위해 250 g 전후의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐에게 항문으로 acetic-acid를 주입하여 대장염을 유발시켰다. 실험군은 정상군, AA(acetic-acid)군, AA+MNH(L)(저농도)군, AA+MNH(H)(고농도)군으로 분류하였다. 각 군의 체중, 결장 점막의 육안적 평가, 해부조직학적 변화, 결장조직에서의 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 발현 변화를 비교 분석하였다.

대장염은 식욕부진이나 흡수장애로 인한 영양결핍, 대장내 출혈이나 설사를 통한 급격한 체액손실로 인해 체중감소가 발생한다. 기존의 동물실험을 통해 정상군에서는 체중이 유지 또는 증가되었지만, 대장염을 유발한 군에서는 체중감소가, 치료군에서는 체중감소의 유의미한 변화를 확인한 논문이 보고되었다<sup>25</sup>. 본 연구에서도 2주 동안의 체중측정 결과 마찬가지로 대장염을 유발한 AA군, AA+MNH(L)군, AA+MNH(H)군에서 모두 체중감소가 관찰되었지만 시간이 지날수록 만년환의 투여에 의해 AA+MNH(L)군, AA+MNH(H)군에서는 AA군과 비교하여 체중감소가 회복됨을 확인할 수 있었다.

이후 실험동물을 희생시킨 후 결장조직을 채취하여 점막의 손상정도를 육안으로 관찰하였다. 점막은 손상정도에 따라 정상 표면은 0점, 0~25%의 약한 손상은 1점, 25~50%의 중간 손상은 2점, 50~75%의 심각한 손상은 3점, 결장 조직두께의 전체적인 손상은 4점으로 평가하였다. AA군은 3.5 $\pm$ 0.5점, AA+MNH(L)군은 2.8 $\pm$ 0.7점, AA+MNH(H)군은 2.6 $\pm$ 0.7점으로 측정되었다. 실제 조직검사상에서도 AA군과 비교하여 만년환 투여군에서 결장 점막 조직의 손상이 유의미하게 회복됨을 확인할 수 있었다.

염증성 장질환은 장내 세균총의 불균형, 위장관 내 면역체계의 과도한 자극, 환경적 요인 등이 원인이 될 수 있지만, 아직 명확하게 밝혀지지 않았다. TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1과 같은 사이토카인과 염증 유발의 연관성도 보고되었다<sup>26-28</sup>. IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ 는 대식세포에서 생산되는 염증성 사이토카인으로 분류한다. IL-1은 염증반응을 야기하는 내인성 발열물질로 림프구, 호중구를 활성화시키는 역할을 한다. IL-6는 CRP와 같은 급성기 염증 단백질의 생산을 촉진하고, B세포의 분화와 항체 생산을 증가시킨다. TNF- $\alpha$ 는 염증반응을 야기하고 종양세포의 세포자멸사를 유도한다<sup>29</sup>. 따라서 IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ 와 같은 염증 유발 사이토카인의 감소를 통해 대장염의 치료 효과를 확인할 수 있다. 본 연구에서는 결장조직에서 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 발현변화를 확인하였다. 대장염을 유발한 AA군, AA+MNH(L)군, AA+MNH(H)군에서는 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 발현이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 AA+MNH(L)군, AA+MNH(H)군에서는 AA군에 비해 상대적으로 발현이 유의성 있게 감소하였으며, AA+MNH(L)군에 비해 AA+MNH(H)군에서 더욱 뚜렷한 발현 감소가 관찰되었다. 이를 통해, 장염 환자에게 만년환은 항염증 효과가 있으며, 저농도군보다 고농도군에서 항염증 효과가 유의미하게 증가되는 것을 확인하였다. 이상의 실험 결과에서 급성 장염에서부터 만성 장염까지 광범위하게 사용하는 만년환이 장관 염증의 치료에 유의미한



효과가 있음을 객관적으로 확인할 수 있었다.

다만 본 연구가 임상적으로 대장염에 처방하는 만년환의 치료효과를 동물실험 모델을 통해서 증명하고자 하였지만 동물실험 모델로 사용된 아세트산으로 대장염을 유발하는 것은 염증성 장질환의 모델이라기 보다는 만성 장관의 염증 모델이라는 제한점을 가진다<sup>30</sup>. 따라서 임상에서 효과가 있었던 크론병이나 궤양성대장염과 같은 염증성 장질환에 대한 만년환의 치료효과를 확인하기에는 한계가 있어 추가적인 실험이 필요할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

만년환(MNH)의 대장염 모델 생쥐에서 치료효과를 알아보기 위한 실험에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상군과 비교하여, 대장염이 유발된 생쥐에서는 체중감소가 나타났다. AA군과 비교하여 AA+MNH(L)군, AA+MNH(H)군에서는 체중감소의 회복이 나타났으며, 6일째 이후에는 유의성 있는 변화가 관찰되었다.
2. 결장 점막의 육안적 평가에서도 AA군과 비교하여 AA+MNH(L)군, AA+MNH(H)군에서는 손상지표상 유의미한 감소가 관찰되었다.
3. 결장조직에서의 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 발현 변화에서는 AA군과 비교하여 AA군과 비교하여 AA+MNH(L)군, AA+MNH(H)군에서 유의미한 감소가 관찰되었으며, AA+MNH(L)군에 비해 AA+MNH(H)군에서 더 뚜렷한 감소가 관찰되었다.

## 감사의 글

이 논문은 2023학년도 동의대학교 교내연구비에 의해 연구되었음(202300640001).

## 참고문헌

1. YAZAKI YO. Asakura Internal medicine. Seoul: Woori Medical Books; 2022, p. 96-114.
2. Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, et al. Harrison's principles of internal medicine 19e. New York: MIP; 2015.
3. Choi CH, Moon W, Kim YS, Kim ES, Lee BI, Jung YH, et al. Second Korean Guideline for the Management of Ulcerative Colitis. *Korean J Gastroenterol* 2017;69(1):1-28.
4. Park JJ, Yang SK, Ye BD, Kim JW, Park DI, Yoon H, et al. Second Korean Guidelines for the Management of Crohn's Disease. *Korean J Gastroenterol* 2017;69(1):29-59.
5. Department of gastrointestinal medicine Korean medicine. Gastrointestinal internal medicine. Seoul: Gunja; 2008, p. 366-96.
6. Seo CH, Lee HH, Choi KS, Lim DS, Ryu HC, Lee YS, et al. Two Cases of Ulcerative Colitis Diagnosed as Damp-Heat Dysentery Treated with Jakyaktang-gamibang. *J Int Korean Med* 2006;27(4):984-90.
7. Kim SH, Kim HJ, Kim JE, Lee SH, Hong SH, Kim WI. Clinical Case of Symptoms Remaining after Western Medical Therapy in Ulcerative Colitis, with Herbal Medicine Dansamboheol-tang gagam, Acupuncture, and Moxibustion Treatment. *J Int Korean Med* 2007;28(4):911-8.
8. Hwang JW, Choi HJ, Baik YS, Jeong SH, Shin GC, Lee WC. A Case of Pyungwijiyutang-gamibang Diagnosed as Constipation due to Stagnation of Eum with Ulcerative Colitis. *J Int Korean Med* 2007;28(4):972-7.
9. Choi HJ, Kim YH, Baik YS, Ma MJ, Choi IY. A Case of Ulcerative Colitis Diagnosed as Dual deficiency of the spleen-kidney Treated with

- Chojunggunbiwhan-gamibang. *J Int Korean Med* 2008;29(1):251-6.
- Kim EY, Seo JW, Yang EJ, Woo YJ, Song BY, Ok JY, et al. A Case of Ischemic Colitis Treated with Boolwhangumjeonggi-san. *J Int Korean Med* 2011;fal:465-72.
  - Ko HN, Kim LH, Rhee YJ, Lee SH, Sun YC, Kim KH, et al. A Case of Ulcerative Colitis Diagnosed as 'Damp-Heat' Treated with Hwangryunhaedoktang Extract Granule. *J Int Korean Med* 2012;fal:273-9.
  - Choi SW, Oh JS, Kim YS. A Case of Ulcerative Colitis Treated with Gohwasan and Gami-Jeonssibackchulsan. *J Int Korean Med* 2013; spr:157-63.
  - Park SG, Kim GY, Shin SM, Ko H. Constitution Therapy of Adolescent Ulcerative Colitis: A Case Report. *J Int Korean Med* 2017;38(4):531-40.
  - Heo G, Jang MW, Lim SW. The Effects of Coicis Semen Extract (CSE) on Dextran Sulfate Sodium - Induced Colitis in Mice. *J Int Korean Med* 2012;33(4):520-32.
  - Kim SY, Park JW, Ryu BH. Effects of Auklandia Lappa on Dextran Sulfate Sodium-Induced Murine Colitis. *J Int Korean Med* 2013;34(2):134-46.
  - Kim ES, Shin MK, Kim TR, Shin MH, Lee YS. Effect of Ohmae-hwan and Mume Fructus on DSS-Induced Inflammatory Bowel Disease in a Mice Model System. *J Int Korean Med* 2015;36(3):284-96.
  - Song YG, Ryu BH, Yoon SW. The Effects of Soyumjungjang-tang on DSS-Induced Ulcerative Colitis in Mouse. *J Int Korean Med* 2008;29(2):385-400.
  - Lee JA, Kong KH. Effects of Doche-tang on Colonic Mucosal Ulcer Induced by DSS in Mice. *J Int Korean Med* 2008;29(3):752-64.
  - Bae KH, Kong KH. Effects of Gohwa-san on Ulcerative Colitis Induced by Dextran Sulfate Sodium in mice. *J Int Korean Med* 2010;31(3):513-25.
  - Choi JY, Ahn SH, Shih YH, Sa BS, Kim KB. Mitigating Effect of Jageum-jung on Dextran Sulfate Sodium-induced Ulcerative Colitis through Anti-inflammatory Regulation. *J Int Korean Med* 2017;38(6):944-54.
  - Kang A, Lim SW. Therapeutic Effects of Gaejigayonggolmoryo-tang on Dextran Sodium Sulfate-induced Ulcerative Colitis in Mice. *J Int Korean Med* 2017;38(6):1021-34.
  - Kim YK, Moon YH. A Study of the Effectiveness of Hwanggeum-tang and Gamchosasim-tang in the Mice Model of Inflammatory Bowel Disease. *J Int Korean Med* 2021;42(3):351-74.
  - Bae WS. Hanbangimsanghak. Seoul: Namsandang; 1976, p. 72.
  - Axelrad JE, Lichtiger S, Yajnik V. Inflammatory bowel disease and cancer: The role of inflammation, immunosuppression, and cancer treatment. *World J Gastroenterol* 2016;22(20):4794-801.
  - Owusu G, Obiri DD, Ainooson GK, Osafo N, Antwi AO, Duduyemi BM, et al. Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Sprague Dawley Rats is Suppressed by Hydroethanolic Extract of *Cordia vignei* Leaves through Reduced Serum Levels of TNF- $\alpha$  and IL-6. *Int J Chronic Dis* 2020;2020:8785497.
  - Hunschede S, Kubant R, Akilen R, Thomas S, Anderson GH. Decreased Appetite after High-Intensity Exercise Correlates with Increased Plasma Interleukin-6 in Normal-Weight and Overweight/Obese Boys. *Curr Dev Nutr* 2017;1(3):e000398.
  - Choi EY, Cho KK, Choi IS. Inflammatory Bowel

- Disease and Cytokine. *Journal of Life Science* 2013;23(3):448-61.
28. Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011;140(6):1756-67.
29. An editorial department of Jungdam. Steps to Internal Medicine Vol. 7. Immunology/Allergy. Seoul: Jungdam: 2013, p. 3-26.
30. Jang BI. Animal Models of Inflammatory Bowel Disease. *Intestinal research (Intest Res)* 2008; 6(1):8-18.
31. Chen Y, Si JM, Liu WL, Cai JT, Du Q, Wang LJ, et al. Induction of experimental acute ulcerative colitis in rats by administration of dextran sulfate sodium at low concentration followed by intracolonic administration of 30% ethanol. *J Zhejiang Univ Sci B* 2007;8(9):632-7.