



Original Article / 원저

생쥐 대장 카할세포에서 가미소요산, 반하사심탕 및 보중익기탕의 효과에 관한 비교연구

최나리, 최우균, 김병주*

부산대학교 한의학전문대학원 양생기능의학교실

Effects of Gamisoyo-san, Banhasasim-tang and Bojungikki-tang in Colonic Interstitial cells of Cajal in mice

Na Ri Choi, Woo-Gyun Choi, Byung Joo Kim*

Department of Longevity and Biofunctional Medicine School of Korean Medicine,
Pusan National University

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this study was to examine the effects of insurance herbal medicines on colonic interstitial Cells of Cajal (ICC) in mice.

Methods : Among the insurance herbal medicines, we chose Gamisoyo-san (GSS), Banhasasim-tang (BHSST) and Bojungikki-tang (BGIKT). We made the ICC culture in large intestine in mice and used the electrophysiological method to record pacemaker potentials. Also we used MTT assay to check cell viability and examined the ICC protein expression by western blot.

Results :

1. GSS (1-10 mg/ml) induced the pacemaker potential depolarization and decreased frequency with concentration-dependent manners in colonic ICC. EC50 is 2.99 mg/ml. BHSST (1-10 mg/ml) induced the pacemaker potential depolarization and decreased frequency with concentration-dependent manners in colonic ICC. EC50 is 2.76 mg/ml. BGIKT (1-10 mg/ml) induced the pacemaker potential depolarization and decreased frequency with concentration-dependent manners in colonic ICC. EC50 is 4.49 mg/ml.
2. GSS, BHSST and BGIKT had no effects on cell viability in colonic ICC.
3. GSS and BGIKT increased the Anoctamin-1 (ANO1) protein expression and BHSST increased the transient receptor potential melastatin-subfamily member 7 (TRPM7) protein expression in colonic ICC.

Conclusions : These results suggest that GSS, BHSST, and BGIKT have shown the potential to regulate gastrointestinal (GI) motility by regulating colonic ICC and may show the potential to treat colon-derived GI diseases such as irritable bowel syndrome (IBS).

Key word : Gamisoyo-san, Banhasasim-tang, Bojungikki-tang, Colon, Interstitial Cells of Cajal, Irritable bowel syndrome.

I. 서론

위장관 기능으로는 운동, 감각, 흡수, 분비, 소화, 등이 있다. 음식물의 소화와 영양소의 흡수는 의식적인 인지 없이도 정상적으로 일어난다. 기능성 위장관 장애의 증상은 보통 식사 섭취에 의해 유발되는 경우가 많으며, 이는 생리 과정의 이상 때문으로 생각된다. 이중 위장관 운동은 섭취 여부에 따라 달라지고, 근육의 수축과 이완의 능동적이고 수동적인 연동운동을 통해 각 부분 사이를 이동한다^{1,2)}. 위장관 운동은 위장관 평활근 (smooth muscle), 외인성 및 고유 신경세포(운동 및 감각), 카할세포 (Interstitial cells of Cajal; ICC), 일부 호르몬 (hormone) 등에 의해 조절된다³⁻⁶⁾.

위장관 운동성의 중심에는 근육 수축과 신경 근육 전달에 핵심적인 역할을 하는 카할간질세포(Interstitial cells of Cajal (ICC))가 있다^{3,5,6)}. 카할간질세포의 기능을 이해하면 위장관 운동성의 조절에 대한 새로운 관점과 치료 패러다임을 도입할 수 있다. 카할간질세포는 평활근 수축의 기초가 되는 서파(slow wave) 활동을 생성하고 전파하고, 질소활성 (nitroergic) 및 콜린성 (cholinergic) 신경근육 전달을 매개하는 역할을 한다^{6,7)}. 카할간질세포의 형태는 100년 이상 전에 Ramon y Cajal에 의해 기술되었으며, 이후 전자현미경에 의해 추가적인 해부학적 특성이 알려지게 되었다⁷⁾. 카할간질세포는 위장관 전체에 걸쳐 나타나며 위장관 운동성에서 여러 기능을 제공한다⁷⁾.

대표적인 미세 구조적 특징으로는 풍부한 미토콘드리아, 골지체, 무과립 및 과립 세포질세망 (smooth and rough endoplasmic reticulum) 등이 있다^{7,8)}. 또 카할간질세포와 위장관 신경 사이의 접합부는 매우 가깝고 시냅스와 같아서 카할간질세포가 신경화 되어 운동 신경 전달에 관여하고 있음을 알 수 있다⁹⁾. 카할간질세포 세포막에 tyrosine kinase 수용체인 c-Kit (CD117)이 발견되어 ICC 연구의 큰 발전을 이루었고 최근에는 염화칼슘 채널인

Anotamin 1 (ANO1)이 발견되어 카할간질세포의 면역조직화학적 식별을 가능하게 하는 선택적 마커로 확인되었다^{10,11)}. 또 TRPM7 이온통로는 카할세포에서 pacemaker 전류를 일으키는 통로로 알려지고 있다⁵⁾. 따라서 위장관 운동 조절에 대한 연구는 카할간질세포를 이용한 연구를 많이 하고 있다.

본 연구에서는 위장관 운동성과 관련된 카할간질세포를 이용해서 보함용 한약제제 중 위장관에 많이 사용되는 가미소요산, 반하사심탕 및 보중익기탕에 의한 대장 카할간질세포에서의 효과 및 관련된 단백질 조절을 확인하는 기초적 연구를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

(1) 한약제제

가미소요산 (Gamisoyo-san, GSS), 반하사심탕 (Banhasasim-tang, BHSST) 및 보중익기탕 (Bojungikki-tang, BGIKT)은 한국신약에서 구입하여 사용하였다. MTT에 사용된 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide와 dimethyl sulfoxide (DMSO) 등은 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. Western blot에 사용된 Bradford protein assay kit는 Bio-Rad (Hercules, CA, USA), enhanced chemiluminescence kit는 Amersham (Pittsburgh, PA, USA), primary 항체들은 Abcam (Cambridge, MA, USA) 와 Cell Signaling Technology (Denver, MA, USA) 제품을 사용하였다.

2. 방법

(1) 카할간질세포 배양

ICR 마우스에서 개복하여 대장부위를 적출한 후 실온에서 Krebs-Ringer bicarbonate 용액으로 채워진

*Corresponding author: Byung Joo Kim, Department of Longevity and Biofunctional Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University, 49 Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yangsan-si, Gyeongsangnam-do, 50612, Republic of Korea.

Tel : +82-51-510-8469, Fax : +82-51-510-8420, E-mail : vision@pusan.ac.kr

•Received : January 16, 2024 / Revised : February 5, 2024 / Accepted : February 5, 2024

준비 용기속에서 점막층을 제거하고 대장 근육조직을 1.7 mg/ml collagenase, 2.5 mg/ml bovine serum albumin, 3.0 mg/ml trypsin inhibitor, 0.6 mg/ml ATP 등이 포함된 Hank's 용액에 옮긴 다음 37°C에서 15분간 항온 소화 시킨 후 세포를 분리한다. 분리된 세포들을 5ng/ml stem cell factor와 2% antibiotic/antimycotic이 들어 있는 SmGm (smooth muscle growth medium) 용액에 분주한 후, 37°C (95% O₂-5% CO₂) 배양기에서 배양 시킨다. 배양시킨 후 12시간 이내에 실험을 시행한다. 본 연구에서 포함된 동물실험은 부산대학교 동물실험윤리위원회 (PNU-IACUC)에 의해 동물실험의 윤리성과 과학성에 대한 검토를 받아 적합한 것으로 승인 (승인번호:PNU-2023-0315)을 획득하여 수행되었다.

(2) 전기생리학적 실험

대장 카탈간질세포에서 막전압의 변화를 기록하기 위해 whole cell patch 방법을 이용하고, 전압은 standard patch clamp amplifiers를 통해 증폭시키며, 생리적 기록기를 통해서 관찰된다. 막전압을 기록하는 동안 세포 외 관류 용액의 조성은 다음과 같다. KCl 5 mM, NaCl 135 mM, CaCl₂ 1.2 mM, glucose 10 mM, HEPES 10 mM, Tris를 첨가하여 pH가 7.4가 되도록 적정한다. 전극내 용액 조성은 KCl 140 mM, MgCl₂ 5 mM, K₂ATP 2.7 mM, Na₂GTP 0.1 mM, creatinine phosphate disodium 2.5 mM, HEPES 5 mM, EGTA 0.1 mM, Tris를 첨가하여 pH가 7.2가 되도록 적정한다. 배양된 카탈간질세포에서 자발적으로 발생하는 전압이 기록된다.

(3) MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) 분석

대장 카탈간질세포를 12웰 플레이트에 3×10⁵ 개의 세포 밀도로 접종 후 MTT (100 μl) 용액을 넣고 37°C CO₂ incubator에서 4시간 둔다. 그 후 Media를 제거하고 여기에 DMSO를 200 μl 넣는다. 피펫팅으로 잘 섞어 준 후 흡광도 570 nm에서 흡광도를 측정한다.

(4) Western blot

세포배양용 60 mm dish에 대장 카탈간질세포에서 RIPA

buffer 용액을 첨가하여 원심분리 하여 total protein을 추출한다. 추출한 단백질은 Bradford protein assay kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 정량하고, 단백질 20 μg을 전기영동 한 후, 전기적으로 membrane으로 transfer 한 후 Western blot에 사용한다. 1차 항체로는 TRPM7 (ab135817, 1:2000, Abcam, Cambridge, MA, USA), ANO1 (a72984, 1:1000, Abcam, Cambridge, MA, USA), c-kit (#3074, 1:1000, Cell Signaling Technology, Denver, MA, USA)에서 구입하여 사용 하였다. 2차 항체로는 HRP-conjugated anti-mouse, HRP-conjugated anti-rabbit 항체를 사용하였다. 2차 항체를 처리한 후 enhanced chemiluminescence kit (Amersham, Pittsburgh, PA, USA)를 이용하여 단백질 발현을 확인하였다.

(5) 통계 분석

실험성적은 평균±표준오차 (mean±SEM)로 나타 내었으며, 결과의 차이를 검정할 때에는 Student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 결과

1. 생쥐 대장 카탈간질세포에 의한 자발적 탈분극에서 가미소요산, 반하사심탕 및 보중익기탕의 조절 효과
생쥐 대장 카탈간질세포의 자발적 탈분극에서 한약제제의 효능을 알아보았다. 먼저 가미소요산은 농도 의존적으로 안정막 전압 탈분극 일으키고 빈도는 감소시키고 반응의 EC₅₀은 2.99 mg/ml이다 (Fig. 1A). 반하사심탕도 농도 의존적으로 안정막 전압 탈분극 일으키고 빈도는 감소시키고 반응의 EC₅₀은 2.76 mg/ml이다 (Fig. 1B). 보중익기탕 역시 농도 의존적으로 안정막 전압 탈분극 일으키고 빈도는 감소시키고 반응의 EC₅₀은 4.49 mg/ml이다 (Fig. 1C).

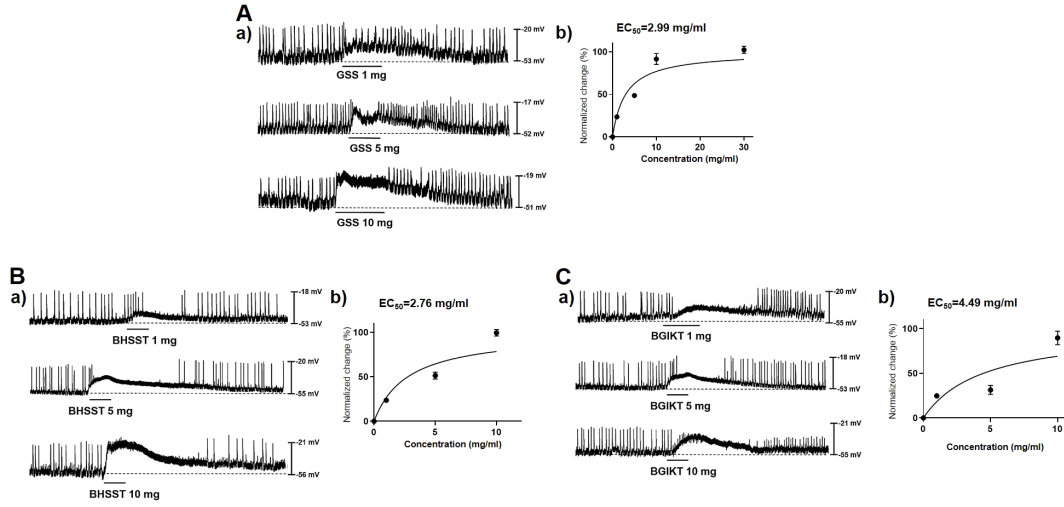


Fig. 1. Effects of GSS, BHSST and BGIKT in pacemaker potentials of murine colonic intestinal ICC. (A) a) GSS depolarized the pacemaker potential and decreased the frequency in colonic intestinal ICC. b) Summary of changes. (B) a) BHSST depolarized the pacemaker potential and decreased the frequency in colonic intestinal ICC. b) Summary of changes. (C) a) BGIKT depolarized the pacemaker potential and decreased the frequency in colonic intestinal ICC. b) Summary of changes. GSS, Gamisoyo-san, BHSST, Banhasasim-tang, BGIKT, Bojungikki-tang.

2. 대장 카할간질세포에서 가미소요산, 반하사심탕 및 보중익기탕의 세포 독성 효능 확인

가미소요산, 반하사심탕 및 보중익기탕의 세포 독성 효능을 대장 카할간질세포에서 MTT 방법을 통해서 확인해 보았다. 가미소요산, 반하사심탕 및 보중익기탕 각각 카할간질세포 조절 농도인 1-10 mg/ml에 의해서 세포 사멸이 일어나지 않았다 (Fig. 2). 가미소요산에 의한 세포 생존 정도는 1 mg/ml에서는 $108.2 \pm 1.1\%$, 5

mg/ml에서는 $105.3 \pm 8.5\%$, 10 mg/ml에서는 $99.1 \pm 12.7\%$ 이고 (Fig. 2A), 반하사심탕에 의한 세포 생존 정도는 1 mg/ml에서는 $97.9 \pm 1.1\%$, 5 mg/ml에서는 $97.8 \pm 1.2\%$, 10 mg/ml에서는 $98.9 \pm 1.2\%$ 이다 (Fig. 2B). 또, 보중익기탕에 의한 세포 생존 정도는 1 mg/ml에서는 $101.1 \pm 1.4\%$, 5 mg/ml에서는 $94.3 \pm 5.7\%$, 10 mg/ml에서는 $93.1 \pm 0.7\%$ 이다 (Fig. 2C).

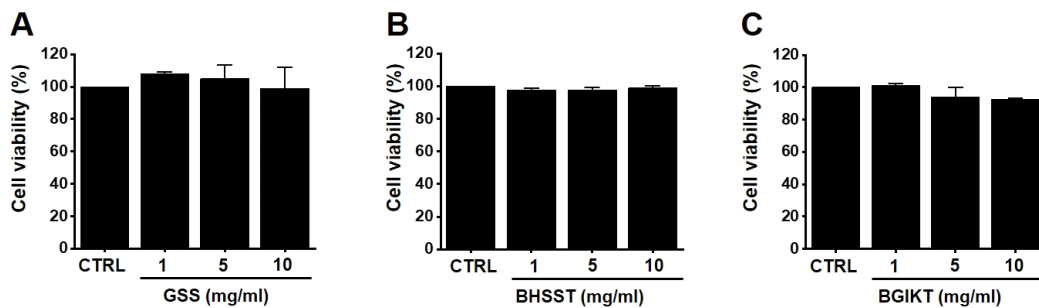


Fig. 2. GSS, BHSST and BGIKT has no effect on murine colonic ICC viability after 24 h. (A) GSS, (B) BHSST or (C) BGIKT has no effect on murine colonic ICC viability. Results are presented as the mean \pm SEM. GSS, Gamisoyo-san, BHSST, Banhasasim-tang, BGIKT, Bojungikki-tang.

3. 대장 카할간질세포에서 ANO1, c-kit 및 TRPM7 단백질 발현에 가미소요산, 반하사심탕 및 보중익기탕의 효능 확인

ANO1¹⁸⁾, TRPM7 채널¹⁹⁾ 및 c-kit¹⁵⁾은 위장관 카할간질세포 기능조절과 관련된 세포막 단백질이다. 따라서, ANO1, TRPM7 및 c-Kit는 위장관 운동 장애 치료에 중요한 역할을 할 수 있다. 가미소요산, 반하사심탕 및 보중익기탕으로 처리한 후, western Blot을 이용하여 ANO1, TRPM7, c-Kit 발현 정도를 알아보았다. 먼저 가미소요산을 처리한 후 ANO1의 발현이 증가하였고(Fig. 3Aa) 반하사심탕을 처리한 후는 TRPM7의 발현이 증가하였다(Fig. 3Ba). 그리고, 보중익기탕을 처리한 후는 ANO1의 발현이 증가하였다(Fig. 3Ca). 각각의 변화를 자세히 살펴보면 가미소요산 처리 후에는 ANO1 발현이

상대적으로 1.54 ± 0.16 증가($P < 0.05$)하였고(Fig. 3Ab), c-kit 및 TRPM7의 발현은 거의 변화가 없었다(c-kit: 0.92 ± 0.16 , TRPM7: 0.97 ± 0.15) (Fig. 3Ad). 반하사심탕 처리 후에는 TRPM7 발현이 상대적으로 1.42 ± 0.15 증가($P < 0.05$)하였고(Fig. 3Bc), ANO1 및 c-kit의 발현은 거의 변화가 없었다(ANO1: 0.86 ± 0.16 , c-kit: 0.97 ± 0.17) (Fig. 3Bb 및 3Bd). 또, 보중익기탕 처리 후에는 ANO1 발현이 상대적으로 1.56 ± 0.21 증가($P < 0.05$)하였고(Fig. 3Cc), c-kit 및 TRPM7의 발현은 거의 변화가 없었다(c-kit: 0.66 ± 0.23 , TRPM7: 0.94 ± 0.13) (Fig. 3Cb 및 3Cd). 따라서, 가미소요산과 보중익기탕에 의한 카할간질세포 조절은 ANO1 발현 조절을 통해서 이루어지고, 반하사심탕에 의한 카할간질세포 조절은 TRPM7 발현 조절을 통해서 이루어짐을 알 수 있다.

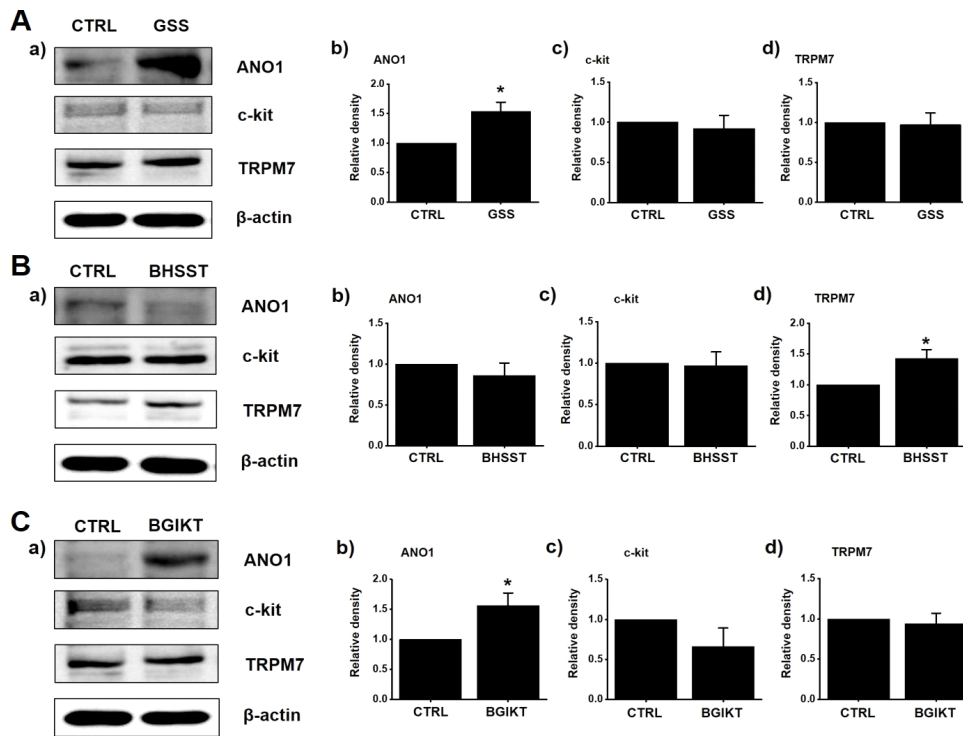


Fig. 3. Effects of GSS, BHSST and BGIKT on the expression of ANO1, c-kit and TRPM7 in murine colonic ICC. (A) The expression of ANO1 increased considerably but that of c-kit and TRPM7 was almost unchanged by GSS. (B) The expression of TRPM7 increased considerably but that of ANO1 and c-kit was almost unchanged by BHSST. (C) The expression of ANO1 increased considerably but that of c-kit and TRPM7 was almost unchanged by BGIKT. Results represent the mean \pm SEM. * $P < 0.05$. CTRL, control; ANO1, Anoctamin1; TRPM7, transient receptor potential melastatin 7. GSS, Gamisoyo-san, BHSST, Banhasasim-tang, BGIKT, Bojungikki-tang.

IV. 고찰

위장관 운동은 생명에 필수적으로 고도로 조절되는 과정이다. 위장관 운동 연구는 위 및 대장 수축의 발견으로부터 시작되었고 Bayliss와 Starling은 신경 활동을 차단한 후에도 효과적인 연동 운동을 하는 평활근 수축이 여전히 발생한다는 것을 발견했고, 이는 장내에도 심장의 동방결절과 같은 역할을 하는 세포가 존재한다는 것을 의미하였다^{12,13}. 많은 실험실에서 카탈간질세포로 연구가 진행되어 위장관 운동에 핵심적인 역할을 한다고 제안했³⁻⁶, 이후 Keith는 카탈간질세포를 페이스메이커로 제안하였다¹⁴. 또 Yin과 Chen은 카탈간질세포는 서파의 전파, 장내 신경계로 부터의 신경 자극의 전달, 위장관 근육에 대한 기계적 수용체로서 작동등 위장관에서 다양한 중요한 기능을 수행함을 확인하였다¹⁵. 1982년, Thuneberg는 위장관 카탈간질세포가 심장의 동방결절 세포처럼 페이스메이커의 기능이 있고 자극 전도 시스템이 있다고 주장함으로써 위장관 연구자들을 놀라게 하였다¹⁶. 위장관 카탈간질세포에 대한 형태학적, 생리학적인 연구의 활발히 이루어지면서 카탈간질세포가 위장관 근육에서 심박조율기 또는 신경매개 세포의 기능이 있음을 밝혀졌다^{3-6,17-19}. 카탈간질세포에 대한 대부분의 연구는 동물 모델을 사용했으며 인간 샘플에 대한 연구는 거의 수행되지 않았다. 연구를 위해 충분한 양의 인간 위장관 조직을 수집하는 것이 어렵기 때문에 정상 또는 질병에 걸린 위장관 기능에서 운동 조절 및 인간 카탈간질세포의 본질에 대한 이해가 제한되어 있다. 앞으로 인간 위장관 카탈간질세포에서 카탈간질세포의 형태학적 및 생리학적 특징에 대한 연구가 필요하다고 생각된다.

카탈간질세포의 기능 장애는 위 배출 지연, 기능적 장애 및 운동성 관련 질환과 같은 다양한 위장관 장애와 관련이 있다²⁰. 카탈간질세포의 역할에 대한 추가적인 연구는 위장관 운동 조절에 대한 통찰력을 제공할 수 있고 위장관 질환을 이해하고 치료하기 위한 새로운 길을 제공할 수 있다고 생각된다. 카탈간질세포 이상에 의한 위장관 질환중에는 과민성 장 증후군 (Irritable bowel syndrome, IBS)이 있다²⁰. IBS는 복통, 비정상적인 장 운동, 변 구성 변화를 특징으로 하는 위장관 질환이다²¹. IBS와 카탈간질세포사이의 연관성은 몇 가지 요인에 기인할 수 있다. 카탈간질세포에 5-HT 수용체가 존재하고, 5-HT가 IBS에서 종종 발견되는 염증과 내장 과민성에 관여 한다고

알려지고 있다²². 또 IBS 환자의 장 점막 조직 내에서 5-HT 및 그 수용체가 증가한다는 보고도 있다²³. 카탈간질세포가 위장관 운동 기능의 페이스메이커로서의 역할을 고려할 때 염증 또는 기타 요인으로 인한 카탈간질세포의 손실은 IBS의 병리학적인 위장관 운동 장애에 특성을 설명할 수 있다.

본 연구에서는 보험용 한약제제중에서 위장관에 많이 사용되는 가미소요산, 반하사심탕 및 보중익기탕이 카탈간질세포를 조절한다는 것을 알 수 있었고 (Fig. 1), 이 한약제제는 카탈간질세포의 세포독성에는 관여하지 않음을 알 수 있었다 (Fig. 2). 또, 가미소요산과 보중익기탕은 세포막 ANO1 단백질 조절과 관련되어 있으며 (Fig. 3A and 3C), 반하사심탕은 세포막 TRPM7 단백질 조절과 관련되어 있음을 확인하였다 (Fig. 3B). 카탈간질세포 세포막에 tyrosine kinase 수용체인 c-Kit 및 염화칼슘 채널인 ANO1이 발견되어 카탈간질세포의 면역조직화학적 식별을 가능하게 하는 바이오 마커로 알려지고 있다. 또 TRPM7 이온통로는 카탈세포에서 pacemaker 전류를 일으키는 통로로 알려지고 있다. 이러한 카탈간질세포의 페이스메이커 활동과 관련된 ANO1, c-kit 및 TRPM7 단백질의 활성을 알아보는 건 카탈간질세포의 기능적 활성과 관련되어 의미 있는 연구라고 생각된다. 다양한 한약제제의 카탈간질세포에서의 기능은 다를 수 있다. 같은 위장관 운동성을 촉진하는 역할을 나타내더라도 그 작용기전은 다를 수가 있다. 본 연구에서 가미소요산과 보중익기탕은 ANO1을 통해서, 반하사심탕은 TRPM7을 통해서 카탈간질세포를 조절해 위장관 운동성을 증가시킨다고 생각할 수 있다. 이러한 기전을 알고 있으면 다양한 여러 한약제제를 혼합해서 사용할 때 다른 기전을 통해 작용하는 한약제제 혼합한다면 좀더 시너지 효과를 얻을 수 있으리라 생각되고 따라서 이러 결과들은 임상에서 응용하기에 의미있다고 생각된다.

가미소요산은 수면 장애, 두통, 폐경 후 여성의 어지럼증, 항정신병 약물 사용과 관련된 지각 장애에 효과적이고²⁴⁻²⁶ 만성 간 손상에 대한 항산화 활성 및 항염효과 효과가 있는 것으로 알려지고 있다²⁷⁻²⁹. 또한, 가미소요산은 기능성 소화불량증 환자의 비정상적인 위 운동성 및 위 근전도 활성도를 조절하여, 기능성 소화불량 환자에서 가미소요산이 치료 효과가 있음을 나타냈다³⁰. 반하사심탕은 주로 만성 역류로 인한 소화불량, 위궤양, 후두염, 대장염, 설사, 위식도 역류질환, 식도궤양 등의

위장관 질환 치료에 사용되고 있고³¹⁻³⁴⁾ 구강 점막 염증 치료에 효과적이며, 구강 각질세포 내 PGE2의 농도를 감소시킨다^{35,36)}. 또한, 반하사심탕은 염증과 관련된 COX-2 활성을 억제하여 효과적인 항염증, 항산화, 항균제로 작용한다^{37,38)}. 최근 연구에 따르면 반하사심탕은 이온 채널의 조절을 통해 IBS 치료에도 유익한 영향을 미친다고 보고 되었다. 보중익기탕의 효능에 관한 연구에 따르면 알레르기 비염에 대한 면역 억제 특성을 나타내며³⁹⁾ 아토피 피부염에서 IgE 수치를 감소시키는 것으로 나타났고⁴⁰⁾ 헬리코박터 감염에 대한 항균 효과를 발휘하며 관절염을 억제한다⁴¹⁾. 또한 보중익기탕은 방사선 손상으로부터 위장관을 보호하고⁴²⁾, 항암 치료와 관련된 부작용을 줄이고 삶의 질과 음식 섭취를 향상시킨다고 알려지고 있다^{43,44)}. 보중익기탕은 또한 소화 기능을 향상시키고 다양한 감염에 대한 방어 메커니즘을 증가시킨다⁴⁵⁾. 이런 과거의 연구결과들에 이번 연구로 카할간질세포 조절로 위장관 운동 조절가능성을 알 수 있다.

본 연구에서 사용된 가미소요산, 반하사심탕 및 보중익기탕은 카할간질세포 조절과 관련된 다양한 질환 치료에 사용할 수 있음을 보여 주고 있다. 최근 한약제제는 부작용이 거의 없는 대체의학으로 주목받고 있고 한약제제로 많은 사람들이 혜택을 받고 있기 때문에 향후 위장관 질환의 새로운 치료제 개발에 대한 연구가 더욱 활발해지기를 기대한다. 특히 위장관 운동성 질환과 관련된 IBS같은 많은 사람들의 삶의 질을 떨어뜨리는 질환에 한약제제가 부작용 없이 좋은 효능을 볼 수 있는 가능성을 제시하고 있다고 생각한다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부의 재원으로 한국보건산업진흥원의 보건의료기술연구개발사업 지원에 의하여 이루어진 것임 (과제번호 HF22C0063).

References

1. Pan R, Wang L, Xu X, Chen Y, Wang H, Wang G, et al. Crosstalk between the Gut Microbiome and Colonic Motility in Chronic Constipation: Potential Mechanisms and Microbiota Modulation. *Nutrients*. 2022;14:3704.

2. Acharekar MV, Guerrero Saldivia SE, Unnikrishnan S, Chavarria YY, Akindele AO, Jalkh AP, et al. A Systematic Review on the Efficacy and Safety of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors in Gastrointestinal Motility Disorders: More Control, Less Risk. *Cureus*. 2022;14:e27691.
3. Hwang SJ, Drumm BT, Kim MK, Lyu JH, Baker S, Sanders KM, et al. Calcium transients in intramuscular interstitial cells of Cajal of the murine gastric fundus and their regulation by neuroeffector transmission. *J Physiol*. 2022;600:4439-63.
4. Koh SD, Drumm BT, Lu H, Kim HJ, Ryoo SB, Kim HU, et al. Propulsive colonic contractions are mediated by inhibition-driven poststimulus responses that originate in interstitial cells of Cajal. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2022;119:e2123020119.
5. Kim BJ, Lim HH, Yang DK, Jun JY, Chang IY, Park CS, et al. Melastatin-type transient receptor potential channel 7 is required for intestinal pacemaking activity. *Gastroenterology*. 2005;129:1504-17.
6. Walker RL, Koh SD, Sergeant GP, Sanders KM, Horowitz B. TRPC4 currents have properties similar to the pacemaker current in interstitial cells of Cajal. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002;283:C1637-45.
7. Sanders KM, Koh SD, Ward SM. Interstitial cells of cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract. *Annu Rev Physiol*. 2006;68:307-43.
8. Sanders KM, Ordög T, Koh SD, Torihashi S, Ward SM. Development and plasticity of interstitial cells of Cajal. *Neurogastroenterol Motil*. 1999;11:311-38.
9. Kim D, Kim JN, Nam JH, Lee JR, Kim SC, Kim BJ. Modulation of pacemaker potentials in murine small intestinal interstitial cells of Cajal by gamisoyo-san, a traditional Chinese herbal medicine. *Digestion*. 2018;98:56-68.
10. Maeda H, Yamagata A, Nishikawa S, Yoshinaga K, Kobayashi S, Nishi K, et al. Requirement of c-kit for development of intestinal pacemaker system. *Development*. 1992;116:369-375.
11. Al-Ahmadi A, Mohammed RA, Atteya M, Al-Matrafi TA, Alfayez MA. Anoctamin 1 and c-Kit immunohistochemical study of interstitial cells

- of Cajal in the muscularis externa of human gastrointestinal tract *Folia Morphol (Warsz)*. 2023;82:147-157.
12. Bayguinov PO, Hennig GW, Smith TK. Ca²⁺ imaging of activity in ICC-MY during local mucosal reflexes and the colonic migrating motor complex in the murine large intestine. *J Physiol*. 2010;588:4453-4474.
 13. Bayliss WM, Starling EH. The movements and innervation of the small intestine. *J Physiol*. 1899;24:99-143.
 14. Keith A. The cabendish lecture on a new theory of the causation of enterostasis. *Lancet*. 1915;186:371-375.
 15. Yin J, Chen JDZ. Roles of interstitial cells of Cajal in regulating gastrointestinal motility: in vitro versus in vivo studies. *J Cell Mol Med*. 2008;12:1118-1129.
 16. Thuneberg L. Interstitial Cells of Cajal: Intestinal Pacemaker Cells? *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 1982.
 17. Huizinga JD, Thuneberg L, Vanderwinden JM, Rumessen JJ. Interstitial cells of Cajal as targets for pharmacological intervention in gastrointestinal motor disorders. *Trends Pharmacol Sci*. 1997;18:393-403.
 18. Komuro T. Comparative morphology of interstitial cells of Cajal: Ultrastructural characterization. *Microsc Res Tech*. 1999;47:267-285.
 19. Ward S, Sanders K. Interstitial cells of Cajal: Primary targets of enteric motor innervation. *Anat Rec*. 2001;262:125-135.
 20. Huizinga JD, Hussain A, Chen JH. Interstitial cells of Cajal and human colon motility in health and disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2021;321:G552-G575.
 21. Cipriani G, Gibbons SJ, Kashyap PC, Farrugia G. Intrinsic Gastrointestinal Macrophages: Their Phenotype and Role in Gastrointestinal Motility. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2016;2:120-130.
 22. Eshraghian A, Eshraghian H. Interstitial cells of Cajal: A novel hypothesis for the pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Can J Gastroenterol*. 2011;25:277-279.
 23. Wouters MM, Gibbons SJ, Roeder JL, Distad M, Ou Y, Strege PR, et al. Exogenous serotonin regulates proliferation of interstitial cells of Cajal in mouse jejunum through 5-HT_{2B} receptors. *Gastroenterology*. 2007;133:897-906.
 24. Lee JG, Shin BS, Lee YC, Park SW, Kim YH. Clinical effectiveness of the Kampo medicine kamishoyosan for adjunctive treatment of tardive dyskinesia in patients with schizophrenia: a 16-week open trial. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2007;61:509-514.
 25. Yamada K, Kanba S. Effectiveness of kamishoyosan for premenstrual dysphoric disorder: open-labeled pilot study. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2007;61:323-325.
 26. Terauchi M, Hiramitsu S, Akiyoshi M, Owa Y, Kato K, Obayashi S, et al. Effects of three Kampo formulae: Tokishakuyakusan (TJ-23), kamishoyosan (TJ24), and keishibukuryogan (TJ-25) on Japanese peri- and postmenopausal women with sleep disturbances. *Arch Gynecol Obstet*. 2011;284:913-921.
 27. Chien SC, Chang WC, Lin PH, Chang WP, Hsu SC, Chang JC, et al. A Chinese herbal medicine, jia-wei-xiao-yaosan, prevents dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *Scientific World Journal*. 2014;2014:217525.
 28. Hwang GS. Effects of Gamisoyosan (GS) on LDL oxidation in RAW 264.7 cell. *Korean J Orient Prev Med Soc*. 2001;5:134-143.
 29. Lee SH, Lee JM, Cho JH, Lee CH, Jang JB, Lee KS. Antioxidant and neuroprotective effects of gamisoyo-san. *J Orient Obstet Gynecol*. 2010;23:1-13.
 30. Qu Y, Gan HQ, Mei QB, Liu L. Study on the effect of Jia-Wei-Xiao-Yao-San decoction on patients with functional dyspepsia. *Phytother Res*. 2010;24:245-248.
 31. Lee KG, Cui X, Lim JP. Effect of the concurrent administration of Banhasasimtang with cimetidine

- on gastric ulcer in rats. *Kor J Ori Med Physiol Pathol.* 2002;16:572–576.
32. Kawashima K, Nomura A, Makino T, Saito KI, Kano Y. Pharmacological properties of traditional medicine (XXIX): effect of hange-shashin-to and the combinations of its herbal constituents on rat experimental colitis. *Biol Pharm Bull.* 2004;27:1599–1603.
33. Xu G. Treatment of reflux laryngopharyngitis with modified Banxia Xiexin tang (Pinellia decoction for draining the heart)—a report of 40 cases. *J Tradit Chin Med.* 2006;26:127–131.
34. Shin MR, Seo BI, Son CG, Roh SS, An HJ. Banhasasim-tang treatment reduces the severity of esophageal mucosal ulcer on chronic acid reflux esophagitis in rats. *BioMed Res Int.* 2017;2017:7157212.
35. Aoyama T, Nishikawa K, Takiguchi N, Tanabe K, Imano M, Fukushima R, et al. Double-blind, placebo-controlled, randomized phase II study of TJ-14 (hangeshashinto) for gastric cancer chemotherapy-induced oral mucositis. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014;73:1047–1054.
36. Kono T, Kaneko A, Matsumoto C, Miyagi C, Ohbuchi K, Mizuhara Y, et al. Multitargeted effects of hangeshashinto for treatment of chemotherapy-induced oral mucositis on inducible prostaglandin E2 production in human oral keratinocytes. *Integr Cancer Ther.* 2014;13:435–445.
37. Kase Y, Saitoh K, Ishige A, Komatsu Y. Mechanisms by which Hange-shashinto reduces prostaglandin E2 levels. *Biol Pharm Bull.* 1998;21:1277–1281.
38. Kamide D, Yamashita T, Araki K, Tomifuji M, Shiotani A. Hangeshashinto (TJ-14) prevents radiation-induced mucositis by suppressing cyclooxygenase-2 expression and chemotaxis of inflammatory cells. *Clin Transl Oncol.* 2017;19:1329–1336.
39. Xie MQ, Liu J, Long Z, Tian DF, Zhao CQ, Yang PC. Modulation of immune tolerance with a Chinese traditional prescription inhibits allergic rhinitis in mice. *N Am J Med Sci.* 2011;3:503-507.
40. Kobayashi H, Mizuno N, Kutsuna H, Teramae H, Ueoku S, Onoyama J, et al. Hochu-ekki-to suppresses development of dermatitis and elevation of serum IgE level in NC/Nga mice. *Drugs Exp Clin Res.* 2003;29:81-84.
41. Yan X, Kita M, Minami M, Yamamoto T, Kuriyama H, Ohno T, et al. Antibacterial effect of Kampo herbal formulation Hochu-Ekki-To (Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang) on *Helicobacter pylori* infection in mice. *Microbiol Immunol.* 2002;46:475-482.
42. Kim SH, Lee SE, Oh H, Kim SR, Yee ST, Yu YB, et al. The radioprotective effects of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang: A prescription of traditional Chinese medicine. *Am J Chin Med.* 2002;30:127-137.
43. Chao TH, Fu PK, Chang CH, Chang SN, Chiahung Mao F, Lin CH. Evidence-based Chinese Medicine Research Group. Prescription patterns of Chinese herbal products for post-surgery colon cancer patients in Taiwan. *J Ethnopharmacol.* 2014;155:702-708.
44. Jeong JS, Ryu BH, Kim JS, Park JW, Choi WC, Yoon SW. Bojungikki-Tang for cancer-related fatigue: A pilot randomized clinical trial. *Integr Cancer Ther.* 2010;9:331-338.
45. Kwon HE, Kim JN, Kwon MJ, Lee JR, Kim SC, Nam JH, et al. The traditional medicine bojungikki-tang increases intestinal motility. *Phcog Mag.* 2021;17:S1-S8.