

알코올로 유도한 만성위궤양 흰쥐 모델에서 비타민 E 보충이 위궤양 치유에 미치는 영향

모정민¹ · 이선혜¹ · 박미나² · 이연숙^{1*}

¹서울대학교 식품영양학과
²생활과학연구소

Ulcer Healing Effects of Vitamin E on Chronic Gastric Ulcer Induced by Alcohol in Young Adult Rats

Jung-Min Mo¹, Sun-Hye Lee¹, Mi-Na Park², and Yeon-Sook Lee^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, and ²Research Institute of Human Ecology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract

This study was carried out to examine the effects of vitamin E on chronic gastric ulcer induced by alcohol treatment in rats. Chronic gastric ulcer model was established by oral administration of 70% ethanol at one time and supply of 15% ethanol for additional 7 days. Male Sprague-Dawley rats, approximately 200 g, were fasted for 24 hours and orally gavaged with 1 mL of 70% ethanol for the induction of acute ulcer. A supply of 15% ethanol dissolved in distilled water for 7 days were followed to maintain chronic gastric ulcer. Acute ulcer group was sacrificed at 3 hours after oral administration of 1 mL of 70% ethanol. Chronic groups were divided into three groups according to vitamin E levels; low-vitamin E (LVE, 0 mg/mL oil/day), normal-vitamin E (NVE, 1 mg/mL oil/day) and high-vitamin E (HVE, 10 mg/mL oil/day). These groups were fed vitamin E free diets which were made of vitamin E free vitamin mix followed AIN-93M pattern for 7 days. Histological findings of congestion, hemorrhage and necrosis in gastric tissue were shown severely in acute ulcer group and LVE group of chronic ulcer groups. The concentration of gastrin in serum was significantly higher in LVE group. The content of histamine in stomach was lower in acute ulcer group but there was no significant difference among the chronic groups regardless of vitamin E levels. Content of malondialdehyde (MDA) in gastric tissue was higher in HVE group and activities of antioxidant enzyme, glutathione peroxidase (GPx) and catalase, were lower in HVE group. Myeloperoxidase (MPO) activities as a marker of neutrophils infiltration was significantly higher in LVE group. These results suggested that vitamin E supplementation has positive effects on healing of alcohol-induced chronic gastric ulcer through alleviation of gastric tissue injuries and reduction of the MPO activity in gastric tissue and gastrin in serum.

Key words: chronic gastric ulcer, vitamin E, gastrin, MPO activity

서 론

위궤양(gastric ulcer, GU)과 십이지장 궤양(duodenal ulcer, DU)을 합쳐서 소화성 궤양(peptic ulcer disease, PUD)이라고 부르며, 이것은 가장 흔한 소화기 질환으로 알려져 있다(1). 소화성 궤양은 세계인구의 4~5%가 일생동안 한번 이상 경험한다고 보고되고 있으며, 특히 우리나라의 2005년 국민건강영양조사에 의하면 위·십이지장 궤양 발병률은 평균 5.8% 정도로 10대 만성질환 중 5위를 차지하고 있다(2). 소화성 궤양 발병 원인 중 위산의 분비와 관련되는 물질을 공격인자라고 하며, 위장 점막의 방어력과 관련되는 물질을

방어인자라고 하는데 공격인자가 강하거나 또는 방어인자가 약할 때 궤양이 형성된다고 알려져 있다(3). 공격인자의 대표적인 것들은 스트레스, 술, 담배, 아스피린과 같은 진통소염제, 스테로이드제제, 자극적인 음식, 영양결핍, *Helicobacter pylori*의 감염 등을 들 수 있으며, 방어기전으로는 reactive oxygen species(ROS)의 증가에 대한 항산화력의 약화 및 프로스타글란딘(prostaglandin) 생성 저하가 궤양의 병변과 밀접하게 관련되어 있는 것으로 밝혀지고 있다(4,5).

궤양에 대한 공격인자 중 하나인 알코올은 소비량이 날로 증가되고 있는 추세이며 통계청에서 발표한 2004년 자료에 의하면 우리나라 사람들의 알코올 섭취량은 1인당 8.3 L로

*Corresponding author. E-mail: lysook@snu.ac.kr
Phone: 82-2-880-6832, Fax: 82-2-884-0305

보고되고 있다(6). 알코올 섭취 증가는 소화성 궤양, 지방간, 만성질환의 위험, 알코올 중독 등 건강문제를 야기하는데, 소화성 궤양의 경우 알코올 섭취 기여율이 높은 것으로 보고되고 있다(7,8).

지금까지 소화성 위궤양 실험 동물모델들은 대체로 acetic acid, cysteamine, indomethacin, aspirin 등과 같은 약물 투여를 통해 설정되었다. 급성위궤양의 경우 indomethacin, ethanol, aspirin 등을 단회 투여하여 유도되었고, 약물이외에도 침수속박 스트레스법(water-immersion and restraint stress), 한랭 스트레스법(cold stress) 등이 이용되어 왔다(9-11). 만성위궤양의 경우, 주로 acetic acid를 복강 내에 주입하여 유도되고 있으며 에탄올을 이용한 만성 유도법은 거의 행해지고 있지 않다(12). 따라서 알코올을 이용하여 인간에게 적용 가능한 적절한 위궤양 모델을 개발하고, 위궤양의 발생기전 및 영양소 섭취 효과와 그 관련 메커니즘을 규명하는 것은 필요한 과제이다.

비타민 E는 대표적인 항산화 영양소로서 oxidative stress로부터 막을 보호하며, 더 나아가 세포막에서 hydroxyl기와 alkoxy기에 의한 손상을 막는 유력한 항산화물질이다(13). 비타민 E의 항산화 기능 외에도 상피세포분화, 다양한 cytokine조절, 염증반응 등 여러 측면에 걸쳐 다양한 조절 기능(14)이 있다고 밝혀지고 있는데 이러한 다양한 기능 중에서 비타민 E가 직·간접적으로 어떠한 경로를 통해서 위궤양 발생과 치유에 영향을 미치는지 아직 확실하게 밝혀지지 않았다.

따라서 본 실험에서는 성숙한 흰쥐를 대상으로 알코올을 이용하여 7일간의 만성위궤양 실험동물 모델을 확립하고, 확립된 만성위궤양 실험동물 모델을 사용하여 일주일 동안 비타민 E 투여 수준에 따른 만성위궤양 치유 효과를 살펴본다. 위 조직의 상태와 위 조직 내의 지질과산화물, 항산화 관련 효소, 호중구의 침투정도, 위 장관 호르몬인 gastrin, histamine 농도를 측정하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 식이

본 실험에서 사용한 만성위궤양 모델은 성숙한 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley male rats, 평균 체중 200 g)를 24시간 동안 절식시킨 후 70% 에탄올 1 mL를 경구 투여하여 급성 위궤양을 유도하였다. 만성위궤양 모델은 급성위궤양을 유도한 직후부터 위궤양 상태를 유지시키기 위하여 7일간 15%의 에탄올을 식수에 용해시켜 공급하는 방법으로 설정되었다. 실험동물은 비타민 E 경구투여 수준에 따라 비타민 E 결핍군(0 mg/mL oil/day, LVE), 비타민 E 정상군(1 mg/mL oil/day, NVE), 비타민 E 보충군(10 mg/mL oil/day, HVE)으로 실험군당 각각 7마리씩 임의 배치하여 3군으로 나누었다. 비타민 E 정상군은 비타민 E 요구량을 기준으로 (55 mg/kg vitamin mixture) 옥수수기름 1 mL에 비타민

E(α -tocopherol acetate, Sigma Inc., USA) 1 mg을 용해시켜 매일 1회 경구 투여하였다. 비타민 E 결핍군은 옥수수기름 1 mL만 경구 투여하였으며, 비타민 E 보충군은 비타민 E 정상군의 10배인 비타민 E 10 mg을 경구 투여하였다. 또한 급성위궤양 상태를 확인하고, 분석하기 위해 70% 알코올 투여 3시간 후에 한 군(Acute)을 희생하였다.

실험 식이는 정제식이로서 비타민 E를 포함하지 않은 비타민혼합물(vitamin E free mixture, Dyets Inc., USA)을 이용하여 조제하였으며, 비타민 혼합물 이외의 식이조성은 AIN-93M의 패턴을 따랐다(Table 1). 실험동물은 서울대학교 실험동물자원관리원의 사육실에서 사육하였으며, 사육실의 온도는 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $65 \pm 5\%$, 명암은 12시간 주기(light: 06:00~18:00)로 조절되었다. 실험 식이와 알코올을 용해시킨 식수는 자유 섭취시켰고, 실험기간 동안 식이섭취량과 체중은 일정한 시간에 매일 측정하였다.

시료 채취

실험 최종일에 실험동물을 약 12시간 절식시킨 후 ether (TEDIA company Inc., USA)로 마취시킨 다음 경동맥에서 혈액을 채취하였다. 혈액은 serum용 튜브에 받아 $1600 \times g$ 에서 15분간 원심분리 후 혈청을 얻었으며 분석 전까지 -80°C 에서 냉동 보관하였다. 혈액 채취 후 실험동물을 개복한 다음 위를 적출하여 장기에 부착되어 있는 지방을 제거하고, 냉장 생리식염수(0.9% NaCl 용액)로 혈액을 제거하였다. 세척한 위는 대만부를 따라 절개하여 위 내용물을 비우고 다시 냉장 생리식염수에 세척한 후 여과지로 물기를 닦아내고 전자저울로 생조직의 무게를 측정하였으며 분석하기 전까지 -80°C 에서 냉동 보관하였다. 위 조직의 처치는 위 조직 내의 효소 변성을 방지하기 위해 얼음을 채운 스티로폼 위에서 수행되었다.

시료 분석

위 병변의 조직학적 검사: 대만부를 따라 위를 절개한

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Vitamin E free diets	
Cornstarch	620.692
Casein	140
Sucrose	100
Corn oil	40
Cellulose	50
Mineral mix ¹⁾	35
Vitamin E free vitamin mix ²⁾	10
Methionine	1.8
Choline	2.5
TBHQ	0.008
Total (g)	1000

Experimental diets were prepared according to AIN-93M composition.

¹⁾AIN-93M-MX; ICN Pharmaceuticals, Inc.

²⁾AIN-93M-vitamin E free VX; Dyets, Inc.

후 생리식염수로 내용물을 씻어내고, 코르크판에 고정시킨 후 실체현미경(SELOPT SLZ, Korea)으로 10배 확대하여 위 조직을 관찰하였다. 조직학적 지표로 위가 패인길이, 출혈, 울혈정도를 사용하였는데, 위가 패인길이는 0.1 mm와 0.3 mm를 기준으로, 출혈과 울혈 정도는 5%와 30%를 기준으로 3단계로 나누어 각각 점수화시켰으며, 위 조직 사진을 촬영하였다(Canon IXUS 850, Japan).

혈청의 gastrin 농도 분석: 혈청에서의 gastrin 농도는 gastrin kit(Assay Designs, USA)를 이용하여 분석하였으며 microplate reader기(Bio Rad, USA)의 405 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였으며 gastrin 농도는 4 parameter logistics curvefit를 사용하여 구하였다.

위 조직의 histamine 농도 분석: 위 조직에서의 histamine 농도는 위 조직 1 mg당 10 µL의 0.2 N HClO₄를 넣어 homogenize하여 10,000×g, 4°C에서 5분 동안 원심분리한 후 상층액을 분리하였다. 분리한 상층액은 1 M의 K₂B₄O₇로 pH 6~8로 중성화시킨 후 다시 10,000×g, 2~8°C에서 1분 동안 원심 분리하여 분석에 사용하였다. Histamine 농도는 EIA histamine kit(Immunotech, USA)를 이용하여 분석하였으며 microreader기의 405 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. Histamine 농도는 4 parameter logistics curve fit를 사용하여 구하였다.

위 조직의 지질과산화물(malondialdehyde) 함량 : 위 조직 25 mg에 250 µL의 RIPA buffer를 넣고 40 V에서 15초 동안 sonicate 한 후 1600×g, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 얻었다. 상층액은 malondialdehyde activity assay kit(Cayman, USA) 사용하여 분석하였으며 microplate reader기의 540 nm 파장에서 흡광도를 측정 후 MDA 농도를 산출하였다.

위 조직의 항산화 효소 활성 측정

Glutathione peroxidase(GPx) 활성도 측정: 위 조직을 4배의 5 mM EDTA와 1 mM의 DTT가 포함된 pH 7.5의 Tris buffer에 넣고 homogenize한 후 16,000×g, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 얻었다. 상층액을 Tris buffer를 사용하여 10배 희석한 후 분석에 사용하였다. GPx activity 분석은 glutathione peroxidase assay kit(Northwest, USA)를 사용하였으며, spectrophotometer(Beckman Du-650, USA)를 사용하여 340 nm 파장에서 5분 동안의 흡광도 증가율을 측정된 값으로부터 GPx activity를 계산하였다. 단백질은 Lowry법을 이용한 단백질 정량 kit를 사용하여 microplate reader기의 600 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 구하였다.

Catalase 농도 측정: 위 조직을 10배의 0.2% Triton X-100을 포함하는 pH 7.7의 0.1 M potassium phosphate buffer에 homogenize 하였다. 15,000×g, 4°C에서 15분간 원심 분리하여 상층액을 얻었으며, 이것을 분석에 사용하였다. Catalase 분석은 catalase activity assay kit(Oxis research,

USA)를 사용하였으며, spectrophotometer를 사용하여 520 nM 파장에서 흡광도를 측정 후 농도를 계산하였다.

위 조직의 myeloperoxidase(MPO) 활성도 측정: 위에서의 MPO 활성도는 Sakurai 등의 방법(12)을 약간 수정하여 분석하였다. 위 조직을 4배의 50 nM potassium phosphate buffer에 넣고 homogenize 하였다. 0.25 mL의 homogenate와 동량의 50 mM KH₂PO₄를 섞은 후 freeze-thawed를 3반복하고, 12,500×g, 4°C에서 15분 동안 원심 분리하였다. 0.1 mL의 상층액에 0.202 mg/mL의 o-dianisidine (Sigma, USA)이 포함된 60 mM의 potassium phosphate buffer 2.4 mL을 첨가하고 25°C에서 10분 동안 pre-incubation 하였다. 10분 후에 0.003%의 H₂O₂를 첨가하고 25°C에서 10분 동안 incubation시킨 후에 0.1% NaNO₃ (Sigma, USA) 0.5 mL을 첨가한 후 spectrophotometer기의 460 nm파장에서 흡광도를 측정하였다. MPO 농도는 Unit 단위로 나타냈는데 1 Unit는 1분 내에 흡광도 1 Unit가 증가함을 의미한다. 효소활성은 Unit/mg protein으로 나타내었다. 단백질은 Lowry법을 이용하여 측정하였다.

통계 분석: 실험결과는 SAS program(SAS Version 9.1)을 이용하여 통계 처리하였으며, 모든 결과는 평균과 표준오차(mean±SE)로 나타내었다. 실험군 간의 유의성은 ANOVA test 후 p<0.05 수준에서 던칸의 다중 검정법(Duncan's multiple range test)으로 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

체중증가량, 식이섭취량 및 15% 에탄올 식수섭취량

Table 2에 제시한 바와 같이 24시간 절식한 상태에서 70% 에탄올을 투여한 후 7일간 실험 식이와 15% 에탄올 식수를 급여한 만성위궤양 모델 흰쥐의 체중증가량은 비타민 E 결핍군(LVE)에서 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). 실험기간 동안의 식이섭취량과 15% 에탄올을 용해시킨 식수섭취량은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 즉 비타민 E 결핍상태는 실험동물의 체중 증가속도를 둔화시키지만, 식이섭취량과 식수섭취량에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

속박 스트레스로 위궤양을 유도한 Fahami 등(15)의 연구에 따르면 비타민 E 결핍군과 보충군의 식이섭취량에는 유의적인 차이가 없다고 보고되었는데, 이는 비타민 E의 수준에 따른 식이섭취량의 차이가 나타나지 않았던 본 연구와 일치하는 결과이다. Machlin 등(16)은 어린 흰쥐에게 비타민 E가 결핍된 식이를 섭취시키면 성장지연과 피사성 근 손실이 초래된다고 보고하였다. 또한 Ima-Nirwana 등(17)의 연구에 따르면 비타민 E를 결핍시킨 흰쥐에서 체중증가가 더 적은 것으로 나타났다. 이는 본 실험에서 비타민 E 결핍군이 다른 실험군보다 체중증가가 더 낮게 나타난 결과와 일치한다. 따라서 만성위궤양에 따른 근 손실이 비타민

Table 2. Body weight, weight gain, food intake and 15% EtOH water intake in gastric ulcer model rats induced by alcohol

Groups ¹⁾	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g/week)	Food intake (g/day)	15% EtOH water intake (mL/week)
Chronic ulcer					
LVE	208.6±2.6 ^{2)NS3)}	228.3±3.3 ^{b4)}	23.20±0.9 ^b	15.9±0.6 ^{NS}	218.57±3.0 ^{NS}
NVE	201.4±4.4	236.7±4.8 ^a	35.80±0.9 ^a	15.0±0.5	211.43±5.7
HVE	203.7±3.7	235.4±3.5 ^a	32.33±2.1 ^a	15.1±0.9	216.43±4.6

¹⁾LVE: Low-vitamin E group was supplied vitamin E 0 mg/mL oil/day, NVE: Normal-vitamin E group was supplied vitamin E 1 mg/mL oil/day, HVE: High-vitamin E group was supplied vitamin E 10 mg/mL oil/day.

²⁾Values are means±SE, n=7.

³⁾NS: not significant (p<0.05).

⁴⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 ANOVA test followed by Duncan's multiple range test.

Table 3. Weight of stomach in gastric ulcer model rats induced by alcohol

Groups ¹⁾	Stomach		
	Wet weight (g)	g/100 g bw	
Acute ulcer	1.49±0.06 ^{2)a3)}	0.76±0.06 ^a	
Chronic ulcer	LVE	1.24±0.05 ^b	0.57±0.02 ^b
	NVE	1.27±0.04 ^b	0.59±0.02 ^b
	HVE	1.28±0.09 ^b	0.61±0.03 ^b

¹⁾Acute ulcer group was sacrificed 3 hours after 70% alcohol administration. Chronic ulcer group: See Table 2.

²⁾Values are mean±SE, n=7.

³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 ANOVA test followed by Duncan's multiple range test.

E 보충으로 회복된 반면 비타민 E 결핍에서는 회복되지 않아 체중증가에 영향을 미친 것으로 사료된다.

위 조직의 무게 및 위의 조직학적 검사

위 무게는 급성군(Acute)에 비해 만성군에서 유의적으로 낮게 나타났으며(p<0.05), 만성군 즉 비타민 E 결핍군(LVE), 정상군(NVE), 보충군(HVE) 사이에서는 위 무게의 차이가 나타나지 않았다(Table 3). 만성군이 급성군보다 위 무게가 유의적으로 낮은 것은 급성위궤양 유도 이후 7일 동안 지속적인 알코올 노출로 인하여 이들 군의 위 조직 손실이 있었을 것이라고 사료된다. 반면 급성군의 경우 고농도의 알코올을 투여하고 3시간 후에 희생시켰을 때 만성군에 비해 상대적으로 다량의 출혈과 울혈이 위에서 관찰되었으나, 위 조직의 손실까지는 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다.

실험군의 위 조직 사진을 Fig. 1에 제시하였다. 급성군이 만성군보다 다량의 울혈, 출혈이 관찰되는 등 위의 조직 상태가 유의적으로 좋지 않은 것으로 나타났으며 만성군 중에서 비타민 E 결핍군이 정상군이나 보충군에 비해 유의적으로 위의 상태가 좋지 않았다(Table 4). 급성군과 비타민 E 결핍군의 경우 선상 형태로 궤양이 남아있었으며, 병변 정도는 비슷하였다. 그러나 비타민 E 정상군과 보충군에서는 궤양뿐 아니라 출혈이나 울혈도 나타나지 않았다. Lou 등(10)의 연구에서 침수속박 스트레스 방법으로 급성위궤양을 유도하고 6시간 후에 희생시킨 후 위 조직을 관찰한 결과 본

**Fig. 1. Stomach of rats fed different doses of vitamin E; 0, 1, 10 mg/mL oil/day and acute ulcer group.****Table 4. Histological findings of alcohol induced gastric ulcer model rats in stomach**

Groups	Congestion ¹⁾	Hemorrhage ²⁾	Necrosis ³⁾
Acute ulcer	++	++	+
Chronic ulcer	LVE	+	-
	NVE	-	-
	HVE	-	-

Microscopic observation (×10) of alcohol induced gastric lesions in rats.

^{1,2)}Congestion and Hemorrhage: ++, more than 30%; +, between 5~30%; -, less than 5%.

³⁾Necrosis: ++, more than 0.3 mm; +, between 0.1~0.3 mm; -, less than 0.1 mm.

- normal, + little effect, ++ appreciable effect.

실험에서와 같이 선상의 궤양과 출혈이 관찰되었다. 또한 Jainu와 Devi(3)의 연구에서 아스피린으로 위궤양을 유도한 후 hematoxylin eosin 염색을 하고 20배 확대하여 위 조직을 관찰한 결과 아스피린을 투여한 실험군에서 위의 점막하층까지 뚜렷한 궤양이 발병된 것을 확인할 수 있었다. 또한 Kim과 Lee(9)의 연구에서 cysteamine을 복강 내 주사하여 위궤양을 유도한 결과 위 점막층에서 심한 출혈과 충혈이

관찰되었다. 이것은 본 실험에서 알코올로 급성위궤양을 유도한 실험군의 위 조직의 병변과 비슷한 것으로 생각된다.

혈청 gastrin 농도

혈청의 gastrin 농도를 Fig. 2에 제시하였다. 알코올로 유도한 만성위궤양 모델에서 비타민 E 투여에 따른 혈청 gastrin 농도는 비타민 E 결핍군에 비해 비타민 E 정상군에서 23%, 비타민 E 보충군에서 32% 낮은 것으로 관찰되었다 ($p < 0.05$). Gastrin은 위 장관 호르몬으로 위산 분비, histamine 분비, 위 조직 내분비기관의 세포분화를 조절한다(18). Gastrin의 위산분비 작용기전을 살펴보면 에탄올과 같은 해로운 물질의 노출로 인해 위에 존재하는 G-cell이 활성화되는데 이로 인해 gastrin 방출이 증가된다. Gastrin은 위벽세포 막에 존재하는 CCK_1 receptor에 의해 세포 안으로 유입되며 그 후 세포내 자극 조절자인 Cyclic AMP나 Ca^{2+} 를 통해 protein kinase를 활성화시켜 proton pump 활성화에 관여하는 cytoplasmic protein을 인산화시키고 결과적으로 위산분비를 증가시킨다(19). Jainu와 Devi(3)의 연구결과 알코올로 위궤양을 유도하기 전에 *Solanum nigrum*을 미리 투여한 실험군이 대조군에 비해 투여 수준에 따라 혈중 gastrin 농도가 감소하는 것으로 보고되었다. 또한 Al-Qarawi 등(18)의 연구결과 알코올로 위궤양을 유도하기 전에 미리 항산화 작용이 있는 *Phoenix dactylifera* L. 추출물을 경구 투여한 실험군에서 대조군에 비해 유의적으로 혈장 gastrin 농도가 감소되었다. 이는 본 실험에서 대표적인 항산화물질인 비타민 E 투여 수준에 따라 유의적으로 gastrin 수치가 감소된 결과와 일치한다. 따라서 알코올로 유도한 만성위궤양 모델에서 비타민 E의 보충은 그 수준에 따라 혈중 gastrin 농도를 낮추고 위산분비를 억제하여 위궤양 치유를 촉진시키는 것으로 사료된다.

위 조직의 histamine 농도

비타민 E 수준별로 7일간 투여한 만성군에서 위 조직내

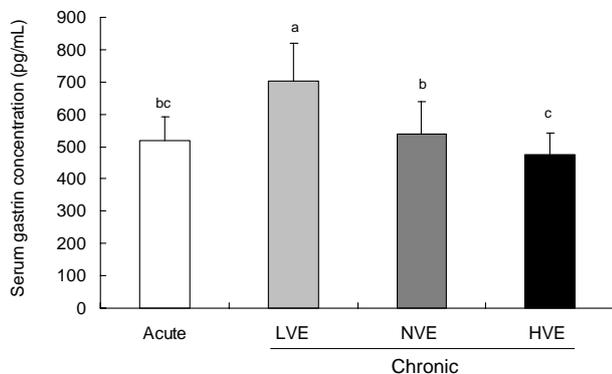


Fig. 2. The concentration of serum gastrin in rats fed different doses of vitamin E.

LVE: 0 mg/mL oil/day, NVE: 1 mg/mL oil/day, HVE: 10 mg/mL oil/day. Acute: sacrificed 3 hours after 70% alcohol administration. Values are means \pm SE, $n=7$. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

histamine 농도는 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다. 그러나 histamine 농도는 급성군에 비해 만성군에서 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$)(Fig. 3).

Histamine은 gastrin과 더불어 위산분비에 관여하는 것으로 보고되고 있으며 이 외에도 위의 운동성, 점막 혈류흐름 등 다양한 위 기능 조절에 중추적인 역할을 수행한다고 알려져 있다(20). 알코올 노출로 인한 미주신경의 자극은 ECL-cell로부터 histamine의 방출을 증가시키고 histamine₂ receptor에 의해 세포내로 유입되어 위산분비에 관여하게 된다(19). 선행 연구결과를 살펴보면 Rao와 Vijayakumar(21)의 연구에서는 위궤양을 유도한 흰쥐에게 3일 동안 하루에 한번 50 mg/kg의 catechin을 투여한 결과 catechin을 투여한 실험군에서 대조군에 비해 낮은 histamine 농도가 관찰되었다. 그러나 Ohta 등(22)의 연구에 따르면 6주령 흰쥐에게 C48/80으로 위궤양을 유도하고 3시간 후에 희생하여 분석하였을 때 비타민 E의 투여에 따른 혈청 histamine 농도의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이것은 비타민 E 투여 수준에 따른 위궤양의 치유효과를 살펴보고자 했던 만성군에서 위 조직 내의 histamine 농도 차이가 관찰되지 않은 본 실험 결과와 일치한다.

Proton pump inhibitor(PPI)인 omeprazole, lansoprazole, pantoprazole은 가장 강력한 위산분비 억제제로 알려져 있는데 이들은 oxyntic cell에서 histamine₂ receptor를 통해 반응이 전달되는 histamine 기전과는 다른 독립적인 메커니즘으로 작용하며, 임상적으로 histamine antagonist를 사용하여 H₂R receptor를 억제시키는 것보다 더욱 강력한 위산분비 억제 효능을 나타낸다고 보고되고 있다(19). 이는 위산분비 조절이 histamine 분비를 억제시키는 기전 외에도 여러 기전을 통해 이루어지고 있다는 것을 시사한다. 따라서 본 실험에서 알코올로 만성위궤양을 유도한 실험군에서 7일 동안의 비타민 E의 공급은 H₂R receptor를 통해 반응이 전달되

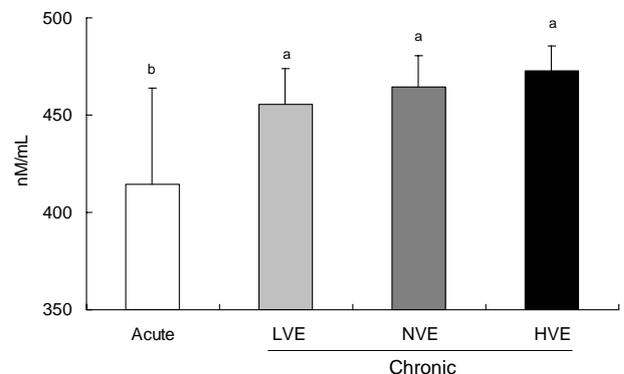


Fig. 3. The concentration of stomach histamine in rats fed different doses of vitamin E.

LVE: 0 mg/mL oil/day, NVE: 1 mg/mL oil/day, HVE: 10 mg/mL oil/day. Acute: sacrificed 3 hours after 70% alcohol administration. Values are means \pm SE, $n=7$. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

는 histamine 기전에는 영향을 미치지 못한 것으로 사료된다.

위 조직의 지질과산화물 농도

급성과 만성위궤양 모델에서 비타민 E 투여수준에 따른 MDA 농도를 Fig. 4에 제시하였다. 만성위궤양 모델에서 비타민 E 보충군이 비타민 E 결핍군이나 정상군에 비해 유의적으로 MDA 수치가 높게 나타났으며($p < 0.05$) 급성군과 만성군의 뚜렷한 차이는 보이지 않았다. Jaarin 등(23)의 연구에 따르면 200 g의 SD rat에게 각각 60, 100, 150 mg/kg diet의 비타민 E를 4주 동안 급여하고 그 후 400 mg/kg B.W.의 아스피린을 투여하여 위궤양을 유도한 다음 6시간 후에 희생하여 분석한 결과를 살펴보면 MDA 농도는 비타민 E를 공급한 모든 군에서 대조군에 비해 낮게 나타났지만 비타민 E 공급 수준에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 또한 *Helicobacter pylori*에 감염시켜 위궤양을 유도한 7주령된 수컷 저빌쥐(gerbils)를 비타민 E 수준에 따라 결핍군, 정상군, 보충군으로 나누고 24주 후에 희생하여 분석한 결과 비타민 E 수준에 따른 위 조직에서의 MDA 농도는 실험군 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다(24).

비타민 E는 지용성 항산화물질로서 산소 또는 지질 유리기와 반응하여 지질과산화물 생성을 억제시킨다. 선행 연구들(25,26)을 살펴보면 비타민 E가 지질과산화물을 낮추어 위궤양을 치유하는 효과가 있다고 보고되었다. 그러나 본 실험에서 비타민 E 보충에도 불구하고 MDA의 농도는 감소하지 않았는데 그 기전은 확실하지 않지만 두 가지 가능성을 제시할 수 있다(24). 첫째, 만성적인 염증은 산화 스트레스로부터 적응을 증진시켰을 수 있고 또한 위궤양 치유 마지막 단계에서 체내의 항상성을 유지시키기 위해 비타민 E 결핍에 의한 보상기전으로 지질과산화물을 낮출 수 있는 가능성이 있다. 둘째, 지속적인 15% 에탄올의 노출로 인하여 비타민 E 보충이 산화 스트레스를 억제하기에 충분치 않았으며 치유 마지막 단계에 GPx의 기질로 작용하는 GSH의 고갈을 야기

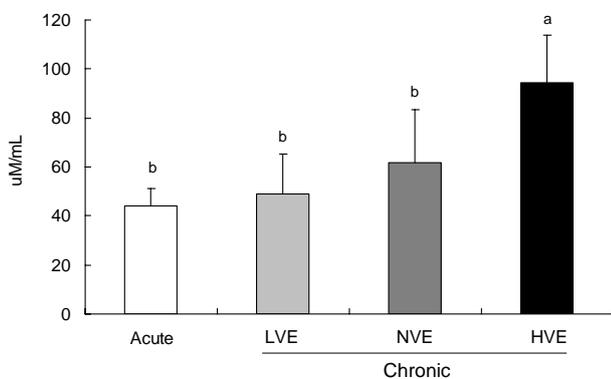


Fig. 4. The concentration of malondialdehyde of stomach in rats fed different doses of vitamin E.

LVE: 0 mg/mL oil/day, NVE: 1 mg/mL oil/day, HVE: 10 mg/mL oil/day. Acute: sacrificed 3 hours after 70% alcohol administration. Values are means \pm SE, $n=7$. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

하여 결과적으로 비타민 E 보충에도 불구하고 위 조직 내의 MDA 함량이 높아졌을 가능성이 있다.

위 조직의 항산화 효소

급성과 만성위궤양 모델에서 비타민 E에 따른 위 조직 내의 항산화 효소 GPx의 활성도와 catalase 농도를 Fig. 5에 제시하였다. 만성위궤양 모델에서 비타민 E 결핍군에 비해 비타민 E 정상군, 보충군에서 GPx의 활성도가 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 또한 비타민 E 결핍군에 비해 비타민 E 정상군이나 보충군에서 catalase 농도가 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 즉, 비타민 E 결핍군에 비해 비타민 E 정상군은 48%, 비타민 E 보충군은 53% catalase 농도가 감소한 것으로 나타났다. 그러나 비타민 E 정상군과 보충군 사이에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

선행 연구(25)에서 비타민 E를 공급할 경우, 항산화 효소를 활성화시켜 항산화 시스템을 통해 위궤양 치유를 촉진시킨다고 보고되었다. 그러나 Sugimoto 등(24)에 따르면 7주령된 수컷 저빌쥐(gerbils)에게 *Helicobacter pylori*에 감염시켜 위궤양을 유도한 실험 결과 비타민 E 수준에 따른 GPx 활성도의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 또한 흰쥐에게 에탄올로 위궤양을 유도하고 해바라기 씨유의 수준별 효과

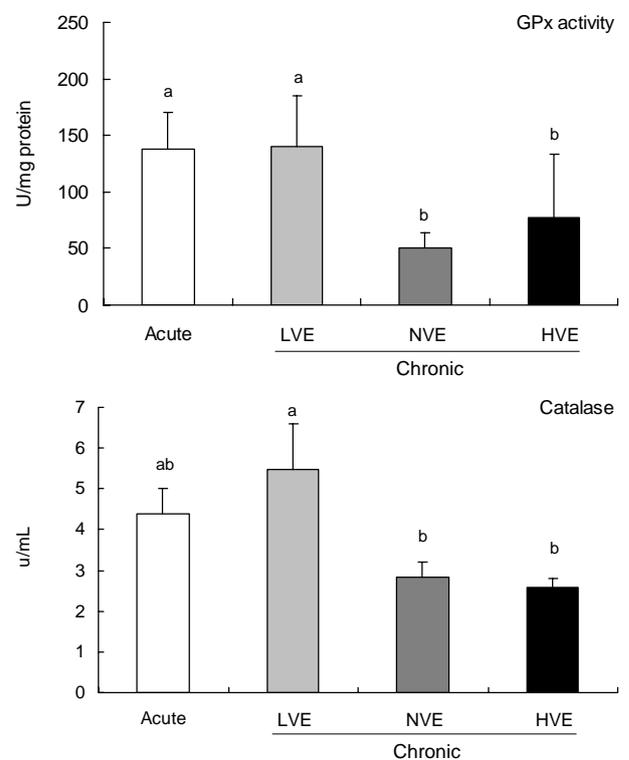


Fig. 5. The activity of GPx and the concentration of catalase of stomach in rats fed different doses of vitamin E.

LVE: 0 mg/mL oil/day, NVE: 1 mg/mL oil/day, HVE: 10 mg/mL oil/day. Acute: sacrificed 3 hours after 70% alcohol administration. Values are means \pm SE, $n=7$. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

를 살펴본 연구에서 catalase의 활성도는 실험군 간의 유의적인 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다(27). 이는 본 실험에서 비타민 E 수준별 투여에도 불구하고 위 조직 내의 GPx 활성도와 catalase 농도를 증가시키지 않았던 실험결과와 일치한다. 본 실험결과, 앞서 살펴본 연구와 같이 비타민 E 투여수준에 따른 항산화 효소계의 변화를 확인할 수 없었는데, 이는 위궤양 치유 속도차이에 의한 결과라고 사료된다. 논문에 제시한 조직학적 사진(Fig. 1)에서 볼 수 있듯이 비타민 E 정상군과 보충군의 경우 위궤양 병변이 남아있지 않았으나, 비타민 E 결핍군의 경우 위궤양 치유과정이 진행 중인 것을 확인할 수 있었다. 따라서 비타민 E 정상군이나 보충군에 비해 위궤양 치유가 진행 중인 비타민 E 결핍군에서 상대적으로 항산화 효소 활성이 높게 나타난 결과라고 사료된다.

MPO 활성도

급성군의 MPO 활성도와 만성위궤양 모델에서 비타민 E 투여에 따른 MPO 활성정도를 Fig. 6에 제시하였다. 비타민 E 결핍군에 비해 비타민 E 정상군이나 보충군에서 MPO 활성도가 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 그러나 비타민 E 정상군이나 보충군 사이에는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났으며, 급성군과 만성군 간의 뚜렷한 차이는 관찰되지 않았다. 위 조직에서 MPO 활성도는 호중구가 위로 침투하는 정도를 측정하는 지표이며, 호중구는 위내에서 자유라디칼의 중요한 급원으로 작용한다고 알려져 있다(28). 위 조직 내 국소출혈은 호중구의 혈관 상피세포 부착, 모세혈관의 울혈, 혈관 내 fibrin 탈락을 야기한다. 이러한 변화들은 다핵세포를 통한 호중구 침투를 증가시키고 유리기, 염증 조절인자들의 방출을 증가시켜 결과적으로 위 손상을 야기한다(29).

최근 연구결과들에 의하면 호중구와 상피세포와의 상호작용은 adhesion molecule이나 IL-8과 같은 chemoattractive cytokine을 통해 호중구의 위 조직 침투가 증가한다고 밝혀

지고 있다. Sugimoto 등(24)의 연구에 따르면 *Helicobacter pylori*의 감염은 호중구가 CD11b/CD18을 통하여 상피세포로 부착되는 과정을 촉진시켰다. 또한 *Helicobacter pylori* 감염 시 상피세포와 단핵세포들에서 분비되는 TNF- α , IL-6에 의해 IL-8의 생성이 증가되는데 증가된 IL-8은 호중구의 위 조직으로의 이동을 자극하여 위궤양의 치유를 지연시킨다고 보고되었다(24). 에탄올, 아스피린, WRS 유도 등 다양한 방법으로 위궤양을 유도시켰던 Kwecien 등(28)의 연구에서 알코올로 위궤양을 유도시킨 실험군에서 IL-1b, TNF- α 의 수치가 유의적으로 높게 나타났다. 알코올로 만성위궤양을 유도한 후 7일후에 비타민 E의 위궤양 치유효과를 살펴본 본 연구에서 비타민 E 정상군이나 보충군에 비해 결핍군에서 치유가 지연된 것은 비타민 E 결핍에 따른 위 조직 내 MPO 활성의 증가와 proinflammatory cytokine의 방출이 관여했을 것이라고 생각한다.

요 약

본 연구에서는 알코올을 이용하여 만성위궤양 실험동물 모델을 확립하고 설정된 동물모델을 대상으로 비타민 E 투여 수준(결핍 0 mg/mL oil/day, 정상 1 mg/mL oil/day, 보충 10 mg/mL oil/day)에 따른 위궤양 치유효과를 살펴보고자 수행되었다. 비타민 E를 투여시킨 기간은 총 7일로서 위의 조직학적 검사, 혈청의 gastrin 농도, 위 조직의 histamine 농도, 위 조직 내의 항산화 효소인 GPx 활성도와 catalase 농도 및 MPO 활성도를 측정하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다. 만성군에서 식이섭취량과 15% 에탄올 식수섭취량에는 유의적인 차이가 없었으나 체중증가량은 비타민 E 결핍군에서 유의적으로 낮았다. 급성군에 비해 만성군에서 위 무게가 유의적으로 낮게 나타났다. 또한 급성군에서 다량의 출혈과 선상의 괴사가 나타났으며 비타민 E 결핍군 또한 약간의 출혈과 선상의 궤양이 남아있었으나 비타민 E 정상군과 보충군의 경우 출혈이나 궤양은 관찰되지 않았다. 혈청 gastrin의 경우 비타민 E 결핍군에서 유의적으로 높았으며 비타민 E 투여수준에 따라 유의적으로 낮아졌다. 또한 위 조직에서 histamine 농도는 급성군보다 만성군에서 유의적으로 높게 나타났지만 만성군에서 비타민 E의 투여수준에 따른 histamine 농도의 차이는 나타나지 않았다. 위 조직에서의 MDA 농도는 비타민 E 결핍군과 정상군에 비해 보충군에서 유의적으로 높게 나타났으며 급성과 만성유도에 따른 MDA 농도 차이는 관찰되지 않았다. 또한 대표적인 항산화 효소인 GPx와 catalase의 경우 비타민 E 정상군과 보충군에서 유의적으로 낮게 나타났다. 위 조직에서의 MPO 활성도는 비타민 E 결핍군에 비해 정상군과 보충군에서 유의적으로 낮게 나타났다. 결론적으로 알코올로 유도한 만성 위궤양 실험동물 모델에서 비타민 E의 보충은 위궤양 치유 효과가 있는 것으로 평가되었다. 비타민 E 보충은 혈청 gas-

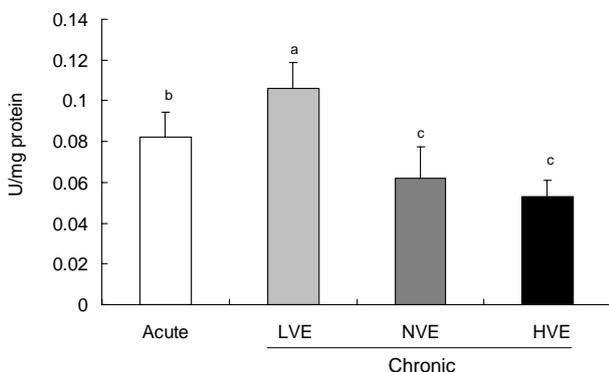


Fig. 6. The activity of myeloperoxidase of stomach in rats fed different doses of vitamin E.

LVE: 0 mg/mL oil/day, NVE: 1 mg/mL oil/day, HVE: 10 mg/mL oil/day. Acute: sacrificed 3 hours after 70% alcohol administration. Values are means \pm SE, n=7. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

trin 농도를 감소시켜 위에서의 산 분비를 감소시키며 또한 위 조직 내의 MPO 활성도를 감소시켜 proinflammatory cytokine을 방출을 억제시키고 결과적으로 위 세포내로의 호중구 침투를 감소시켜 위궤양 치유과정을 촉진시키는 것으로 보인다. 따라서 비타민 E의 결핍상태보다 비타민 E를 보충하였을 때 빠른 위궤양 치유효과가 있는 것으로 사료되며, 평소 권장량을 충족시킬 수 있는 비타민 E의 충분한 식이섭취가 중요하다고 생각한다.

감사의 글

이 연구는 BK21 사업의 지원을 받아 수행되었습니다.

문헌

1. Koo JO, Kim WK, Lee YS. 2007. *Diet Therapy: principle and practice*. Kyomunsa, Seoul. p 68-82.
2. Ministry of Health and Welfare. 2005. *2005 Korean National Health and Nutrition Survey*.
3. Jainu M, Devi CS. 2006. Antiulcerogenic and ulcer healing effects of *Solanum nigrum* (L.) on experimental ulcer models: possible mechanism for the inhibition of acid formation. *J Ethnopharmacol* 104: 156-163.
4. Hiraishi H, Shimada T, Ivey KJ, Terano A. 1999. Role of antioxidant defenses against ethanol-induced damage in cultured rat gastric epithelial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 289: 103-109.
5. Ozbakiş Dengiz G, Gürsan N. 2005. Effects of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) on indomethacin-induced ulcer model in rats. *Turk J Gastroenterol* 16: 85-88.
6. Korea National Statistical Office. 2004. *Alcohol intake of Korean people*.
7. Bayyurt N, Abasiyanik MF, Sander E, Salih BA. 2007. Canonical correlation analysis of factors involved in the occurrence of peptic ulcers. *Dig Dis Sci* 52: 140-146.
8. Garrido A, Márquez JL, Guerrero FJ, Leo E, Pizarro MA, Trigo C. 2007. Changes in the etiology, outcome and characteristics of patients with acute gastrointestinal bleeding between 1999 and 2005. *Rev Esp Enferm Dig* 99: 275-279.
9. Kim CI, Lee YS. 1998. A study on the nitrogen sources for the enhancement of the nitrogen bioavailability in rats with peptic ulcer. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 132-140.
10. Lou LX, Geng B, Yu F, Zhang J, Pan CS, Chen L, Qi YF, Ke Y, Wang X, Tang CS. 2006. Endoplasmic reticulum stress response is involved in the pathogenesis of stress induced gastric lesions in rats. *Life Sci* 79: 1856-1864.
11. Jainu M, Devi CS. 2006. Gastroprotective action of *Cissus quadrangularis* extract against NSAID induced gastric ulcer: role of proinflammatory cytokines and oxidative damage. *Chem Biol Interact* 161: 262-270.
12. Sakurai K, Osaka T, Yamasaki K. 2005. Rebamipide reduces recurrence of experimental gastric ulcers: role of free radicals and neutrophils. *Dig Dis Sci Suppl* 1(S):90-96.
13. Rimbach G, Minihane AM, Majewicz J, Fischer A, Pallauf J. 2002. Regulation of cell signalling by vitamin E. *Proc of the Nutr Soc* 61: 415-425.
14. Singh U, Devaraj S, Jialal I. 2005. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annu Rev Nutr* 25:151-74.
15. Fahami NM, Ismail NM, Khalid KA. 2005. Effect of vitamin E on food intake and body weight in rats exposed to restraint stress. *Med J Islamic Acad Sci* 15: 81-86.
16. Machlin LJ, Filipinski R, Nelson J, Horn LR, Brin M. 1977. Effects of prolonged vitamin E deficiency in the rat. *J Nutr* 107: 1200-1208.
17. Ima-Nirwana S, Norazlina M, Abd Gapor MT, Khalid BAK. 2000. Vitamin E deficiency impairs weight gain in normal and ovariectomized female rats. *Med J Islamic Acad Sci* 11: 1-7.
18. Al-Qarawi AA, Abdel-Rahman H, Ali BH, Mousa HM, El-Mougy SA. 2005. The ameliorative effect of dates (*Phoenix dactylifera* L.) on ethanol-induced gastric ulcer in rats. *J Ethnopharmacol* 98: 313-317.
19. Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T. 2005. From nerves and hormones to bacteria in the stomach: Nobel prize for achievements in gastrology during last century. *J Physiol Pharmacol* 56: 507-530.
20. Maity P, Biswas K, Roy S, Banerjee RK, Bandyopadhyay U. 2003. Smoking and the pathogenesis of gastroduodenal ulcer—recent mechanistic update. *Mol Cell Biochem* 253: 329-338.
21. Rao CHV, Vijayakumar M. 2007. Protective effect of (+)-catechin against gastric mucosal injury induced by ischaemia-reperfusion in rats. *J Pharm Pharmacol* 59: 1103-1107.
22. Ohta Y, Kobayashi T, Imai Y, Inui K, Yoshino J, Nakazawa S. 2006. Effect of oral vitamin E administration on acute gastric mucosal lesion progression in rats treated with compound 48/80, a mast cell degranulator. *Biol Pharm Bull* 29: 675-683.
23. Jaarin K, Gapor MT, Nafeeza MI. 2002. Effect of various doses of palm vitamin E and tocopherol on aspirin-induced gastric lesions in rats. *Int J Exp Pathol* 83: 295-302.
24. Sugimoto N, Yoshida N, Nakamura Y. 2006. Influence of vitamin E on gastric mucosal injury induced by *Helicobacter pylori* infection. *Biofactors* 28: 9-19.
25. Kim JH, Choi SK, Choi SY. 2005. Suppressive effect of as-taxanthin isolated from the *Xanthophyllomyces dendrorhous* mutant on ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 1300-1305.
26. Fesharaki M, Nasimi A, Mokhtari S, Mokhtari R, Moradian R, Amirpoor N. 2006. Reactive oxygen metabolites and anti-oxidative defences in aspirin-induced gastric damage in rats: Gastroprotection by vitamin E. *Pathophysiology* 13: 237-243.
27. Zamora Rodríguez ZB, González Alvarez R, Guanche D. 2007. Antioxidant mechanism is involved in the gastro-protective effects of ozonized sunflower oil in ethanol-induced ulcers in rats. *Mediators Inflamm* Article ID 65873.
28. 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.
29. Fornai M, Natale G, Colucci R. 2005. Mechanisms of protection by pantoprazole against NSAID-induced gastric mucosal damage. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 372: 79-87.

(2007년 12월 6일 접수; 2008년 2월 19일 채택)