

# 肝炎1號方이 實驗動物의 急慢性 肝損傷에 미치는 影響

圓光大學校 韓醫科大學 內科學教室

崔守德 · 金永晉 · 金剛山

## I. 緒論

急性肝炎은 수개월이 지나면 거의 完治되므로 심각한 사회문제로 대두되지 않으나 慢性肝疾患의 경우 거의 모든 환자가 수년 또는 수십년 동안 투병을 해야하며 肝硬變의 경우 신뢰할 만한 진단지표의 不在로 치료가 어려운 말기 상태에서나 발견되고 효과적인 치료제의 부재로 이 질환의 극복이 매우 어려운 실정이다<sup>1)</sup>. 이러한 실정으로 초기 肝疾患의 肝硬變으로의 이행에 의한 사망율이 악성종양, 뇌혈관 질환, 고혈압성 질환과 더불어 한국에서의 주된 사망원인으로 자리잡고 있다<sup>2)</sup>.

急性 肝損傷의 원인으로는 바이러스, 화농성 세균감염, 기생충, 독성물질 또는 약물(특히 항생제나 항결핵제), 알콜, 음식물, 허혈(shock), 면역질환, 담도폐쇄(결석, 디스토마 등) 등이 있고 간세포장애인자에 따라 형태학상 급만성 바이러스성간염, 중독성 간염, 알콜성 간염, 각종 감염물질에 의한 간염의 형태로 분류할 수 있다. 간염의 형태중 A형 바이러스성 간염과 같이 慢性化되지 않고 수개월 내에 치료되는 경우도 있지만 急性 肝炎이 완치되지 않고 慢性 肝炎으로 전환되어 활동성으로 계속 진행되는 경우 肝硬化症이나 肝癌의 합병증에 이르는 심각한 상태에 이르기도 한다<sup>3)</sup>.

肝硬變은 여러 요인으로 인하여 慢性 肝炎 상태가 장기간 계속됨으로 인해 간세포와 조직구조가 파괴되어 재생과정 중 결합조직의

생성을 유발하여 간섬유화가 진행되는 질환<sup>4,5,6-8,9-10)</sup>으로 초기 증상은 食慾不振, 黃疸, 疲勞感, 倦怠感, 腹部 膨滿感 등이 나타나고 점차 병변이 진행됨에 따라 간성혼수, 식도정맥류 출혈, 복수 등의 합병증이 나타나게 된다<sup>5,7,11-15)</sup>.

肝硬變의 症狀과 轉歸를 韓醫學의으로 고찰하면 積聚, 鼓脹, 單腹脹, 痞塊, 黃疸 등의 증후부문에 이와 관련된 문헌의 기재가 있으며 그 病因으로는 七情이나 肝氣鬱結, 濕熱 등이 鬱症의 주된 원인이 되어 肝氣橫逆으로 이웃하는 肝脾에 영향을 미쳐 肝脾不和하거나 氣滯日久하여 瘀血을 형성하므로 말기에는 腎臟에 영향을 미쳐 脾腎陽虛 또는 肝腎陰血不足의 증상이 겹하여 나타내는 병리기전을 형성하게 된다<sup>3)</sup>.

肝炎1號方은 肝膽의 濕熱을 제거시키고 利尿, 健脾, 利膽作用을 위주로 肝의 生理機能을 평형케 해주는 처방으로서 鬱症의 상태를 치료하는 데 응용할 수 있으므로 急慢性 肝損傷에도 유효할 것으로 사료된다.

肝損傷에 대한 복합처방의 실험적 연구는 金<sup>22)</sup>이 茵蔯五苓散이 肝硬變에 대하여 간세포의 기능을 보호 내지는 회복시키는 작용이 있음을 보고하였고, 姜<sup>23)</sup>은 黃芩煎湯液이 간세포의 막성구조의 작용과 단백질 합성을 보호한다고 하였고, 金<sup>37)</sup>은 生肝健脾湯이 간장의 재생기능에 효과가 있다고 하였으며 박 등<sup>24-26,27-31)</sup>은 膽道結紮과 Dimethylnitrosamine으로 유발된 肝硬變에 香砂平胃散과 當歸活血湯,

六鬱湯과 散鬱湯, 加味枳朮丸과 保和丸, 木香調氣散과 解鬱調胃湯, 瓜藞枳殼湯과 升發二陳湯 등이 효과가 있음을 보고하였다.

이에 著者는 肝炎1號方이 Dimethylnitrosamine, CCl<sub>4</sub> 및 D-galactosamine 등으로 유발된 急性性 肝損傷에 대해 肝機能 保護效果와 부분적 肝切除術 후에 肝再生效果가 있는가를 觀察하고 韓醫學적인 病證의 分類에 따라 肝疾患에 대한 治療의 可能性을 연구하고자 本實驗을 실시한 결과 有意性 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 實驗材料

#### 1) 動物

20 g 내외의 雌性 ddY 마우스, 200 g 內外의 Sprague-Dawley系 雄性 白鼠를 사용하였다. 實驗動物은 물과 一般配合飼料(三養飼料 : 粗蛋白質 22.1%以上, 粗脂肪 3.5%以上, 粗纖維 5.0%以下, 粗炭分 8.0%以下, 칼슘 0.6%以上, 인 0.4%以上)로 1주일 以上 飼育하여 實驗室環境에 適應시킨 後 實驗에 利用하였다. 動物 飼育室의 環境은 溫度 22.1℃, 相對濕度는 65.5%로 維持하였으며, 明暗은 12時間 (08:00-20:00) 間隔으로 調節하였다. 實驗期間 동안 물과 一般配合飼料는 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다. 물과 一般配合飼料를 자유로이 공급하면서 1週以上 實驗室 環境에 적응시킨 후 사용하였다.

#### 2) 藥材

本 實驗에 사용한 藥材는 圓光大學校 韓醫科大學 附屬韓方病院에서 購入한 후 精選하여 사용하였다. 肝炎1號方의 處方內容은 현재 원광대 전주한방병원 1내과에서 사용하고 있는 처방에 準하였으므로, 1貼의 內容과 分量은

다음과 같다.

肝炎1號方 處方 內容

本草名	生藥名	重量(g)
茵 蕪	Herba artemisiae capillaris	12
猪 苓	Polyporus umbellatus	6
澤 瀉	Rhizoma alismatis	6
白 茯苓	Poria	6
肉 桂	Cortex cinnamomi	4
藿 香	Herba agastachis	4
半 夏	Tuber pinelliae	4
大腹皮	Pericarpium arecae	4
山 查	Fructus crataegi	4
蘿 蔔子	Semen raphani	4
三 稜	Rhizoma scirpi	4
蓬 朮	Rhizoma zedoariae	4
青 皮	Pericarpium citri nobilis viride	4
白 朮	Rhizoma atractylodis macrocephalae	4
神 麩	Massa medicata fermentata	4
五味子	Fructus schizandrae	4
杜 冲	Cortex eucommiae	4
川棟子	Fructus meliae toosendan	4
樺 皮	Cortex betula platyphyllae	4
總 量		90

### 2. 實驗 方法

#### 1) 試料의 調製

肝炎1號方을 각각 200 g 씩 3,000 ml 환저플라스크에 증류수 2,000 ml와 함께 넣은 다음 냉각기를 부착시키고 重湯으로 2시간동안 가열하여 電熱器로 煎湯한 후 3000 rpm에서 20분간 원심분리하여 上清液을 取한 다음, 濾過紙로 濾過한 濾液을 減壓回轉蒸發器를 利用하여 減壓濃縮한 후 냉동건조기에서 완전히 건조하여 건조엑기스를 製造하였다. 이 건조엑기스를 증류수로 재조정하여 使用하였으며, 試料를 細胞에 接種하기 전에 1.20, 0.80, 0.45, 0.20  $\mu$ m pore size의 micro filter(Milipore)를 利用하여 여과멸균하였다.

## 2) Dimethylnitrosamine과 CCl<sub>4</sub>로 肝硬變 誘發 및 肝炎1號方 投與

20 g 내외의 자성의 ddY 마우스에 Dimethylnitrosamine(DMN)으로 肝硬變을 유발하기 위하여 마우스에 DMN 10  $\mu$ l/kg을 14週동안 매주 2회씩 피하에 주사하였다. 마우스는 肝炎1號方 추출물을 1, 2, 4 g/kg/day 씩 14週동안 위도관을 이용하여 경구 투여하였다. 각각의 실험군의 마우스는 실험개시 1, 2, 4, 8, 14週 처치하여 hydroxyproline 함량을 측정하였다. 肝組織의 hydroxyproline 含量測定은 Jamall 등<sup>(64)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 白鼠에서 血液을 채취한 후 肝 左葉의 일부를 切取하여 -70°C에서 보관하였다가 측정에 사용하였다. 肝組織을 0.2 g씩 각 試料당 2개씩 채취하여 2 ml 6N HCl에 넣고 均질화 한 다음 110°C에서 16시간 가수분해시켰다. 각 試料를 여과한 다음 측정시 오차를 줄이기 위하여 2회씩 측정하였으며, 오븐이나 常溫에서 건조시킨 후, methanol을 가하고 110°C에서 incubation하여 남아있는 鹽酸을 제거하였다.

1.2 ml 50% isopropranol을 넣어 남은 침전물을 용해하고, 200  $\mu$ l chloramine-T용액과 섞어 10분간 방치하였다. 1.2 ml의 Erhlich反應試藥을 넣어 섞은 후, 시험관을 막고 50°C에서 90분간 incubation한 다음 常溫에서 식혀 spectrophotometer를 이용하여 558 nm에서 측정하였다.

standard : 1 mg의 hydroxyproline을 1 ml 6N HCl에 녹여 stock solution을 만들고, 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/50  $\mu$ l 6N HCl이 되도록 희석한 후 마개로 막고 110°C에서 12시간 가수분해하였다.

또한 肝炎1號方 2 g/kg/day를 날마다 투여하고 CCl<sub>4</sub>를 olive oil 과 1:1로 희석하여 2 ml/kg 씩 매週 2회 투여하였다. 실험개시 14週째에 간의 조직학적 검사를 위하여 간조직을 분리한 후 조직표본을 제작하고 H&E 염색을 시행하여 섬유화의 정도와 염증세포의 침윤의 정도를 평가하였다.

섬유화는 중심정맥주위의 반흔과 격벽이 소엽의 어느 범위까지 확장되는 정도에 따라 4-point 범위로 등급을 결정하였다. 염증세포의 침윤도 같은 등급매기기를 시행하여 결과를 나타냈다<sup>(65-67)</sup>.

## 3) CCl<sub>4</sub>와 D-galactosamine으로 急性肝 損傷 誘發 및 肝炎1號方 投與

急性肝損傷에 대한 肝炎1號方の 肝保護效果를 관찰하기 위하여 肝炎1號方 추출물을 매일 2 g/kg/day 씩 4일 간 투여한 후 마지막 날에 CCl<sub>4</sub>를 olive oil에 1:1로 희석하여 4 ml/kg 을 투여하였고, 또는 200 mg/kg의 D-galactosamine을 매 6 시간 마다 4회 복강주사하였다. 肝損傷을 유발한 후에도 肝炎1號方の 투여는 실험처치가 종료될 때까지 계속하였다. 採血은 肝損傷 유발 후 24시간과 48시간에 血清檢査를 위하여 ether마취 下에서 心臟을 穿刺하여 採血한 후, 全血을 사용하거나 4°C에서 2시간 방치한 다음 2,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 血清을 얻었다. aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT)의 血清化學分析은 自動分析器(Gilford IMPAT 400E)와 CIBA Kit를 이용하였고, prothrombin time은 fibrometer를 이용하여 측정하였다.

## 4) 肝切除術 후 肝炎1號方の 投與

부분적 肝切除術을 시행한 후 肝炎1號方이 간의 재생에 어떠한 효과를 보이는 가를 보기 위해 mitotic index, liver weight, protein level, RNA, DNA synthes-  
is 등에 미치는 결과를 관찰하였다. 평균 5週 정도된 雌性的 Sprague Dawley 白鼠에게 매일 肝炎1號方 추출물 2 g/kg/day를 7일간 경구로 투여한 후 마지막 날에 白鼠의 간의 2/3를 절제하였다. 肝切除術을 시행한 후 7일 동안 肝炎1號方 추출물 동량을 계속하여 투여하였고, 수술 후 1, 2, 4, 7 일에 白鼠를 희생하여 조직표본을 제작하고 H&E 염색을 하여 현

미경 상의 mitotic index를 측정하였다. 肝切除術 후 간재생에 미치는 肝炎1號方의 효과를 관찰하기 위하여 肝切除術 후 3일에 간조직을 채취하여 liver weight, protein level, RNA, DNA synthesis 등을 측정하였다.

5) 統計處理

실험결과의 統計處理는 student unpaired t-test에 準하였고, 實驗値는 Mean±S.E.로 표현하였으며, p-value가 最大値 0.05以下인 경우를 有意한 것으로 판정하였다.

III. 實驗 結果

1. Dimethylnitrosamine(DMN)으로 인한 肝硬變 誘發 및 hydroxyproline 測定

마우스에 Dimethylnitrosamine(DMN)으로 간경변을 유발하여 肝炎1號方 추출물을 1, 2, 4 g/kg/day 씩 14週동안 위도관을 이용하여 경구 투여한 후 실험개시 1, 2, 4, 8, 14週에 각각 처치하여 hydroxyproline 함량을 측정하였다.

Hydroxyproline의 표준치는 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00( $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$ )의 경우에서 각각 0.12, 0.22, 0.31, 0.39, 0.49(558 nm)로 나타나 직선적

비례관계를 나타내었으며, 대조군은 1週에  $182.3 \pm 12.4 (\mu\text{g}/\text{g liver})$ , 2週에는  $218.7 \pm 14.5 (\mu\text{g}/\text{g liver})$ , 4週에는  $278.9 \pm 18.4 (\mu\text{g}/\text{g liver})$ 로 나타났으며, 8週와 14週에는 각각  $328.9 \pm 23.4$ ,  $488.3 \pm 22.6 (\mu\text{g}/\text{g liver})$ 로 2배以上 증가하는 양상을 보였다.

肝炎1號方 추출물을 투여한 실험군에서는 투여기간이 연장됨에 따라서 hydroxyproline의 양이 감소하는 결과를 나타냈으며 특히 肝炎1號方 2 g/kg/day를 투여한 실험군의 8週와 14週째에 각각  $234.9 \pm 14.8$ ,  $312.6 \pm 21.7$ 로 대조군에 비하여 간실질의 hydroxyproline량의 유의성있는 감소효과를 나타냈다(Table 1).

2.  $\text{CCl}_4$ 로 肝硬變 誘發 및 纖維化와 炎症細胞의 浸潤 評價

실험개시 14週째에 간의 조직학적 검사를 위하여 섬유화의 정도와 염증세포의 침윤의 정도를 평가하였다. 4-point 범위로 등급을 결정하여 정상군에서는 實驗動物 모두가 등급이 0으로 섬유화 양상을 전혀 나타내지 않았으며,  $\text{CCl}_4$ 를 투여한 대조군에서는 섬유화의 등급이 0인 것은 한 마리도 보이지 않고 섬유화 1등급의 조직소견은 1마리, 섬유화 2등급의 조직소견은 2마리, 섬유화 3등급의 조직소견은 5마리가 나타났고, 가장 심한 섬유화등급인 4등급

Table 1. Effects of GIB on hepatic hydroxyproline levels in mice.

Group	Hydroxyproline content( $\mu\text{g}/\text{g liver wet weight}$ )				
	1 week	2 weeks	4 weeks	8 weeks	14 weeks
Control	$182.3 \pm 12.4$	$218.7 \pm 14.5$	$278.9 \pm 18.4$	$328.9 \pm 23.4$	$488.3 \pm 22.6$
GIB 1 g/kg/day	$177.7 \pm 13.8$	$197.1 \pm 15.2$	$213.3 \pm 17.9$	$278.5 \pm 19.6$	$386.9 \pm 27.1$
GIB 2 g/kg/day	$163.1 \pm 11.6$	$188.9 \pm 15.8$	$195.3 \pm 16.1$	$234.9 \pm 14.8^*$	$312.6 \pm 21.7^{**}$
GIB 4 g/kg/day	$163.8 \pm 18.5$	$189.7 \pm 16.8$	$214.7 \pm 14.9$	$246.6 \pm 21.5$	$356.8 \pm 21.6^*$

GIB : ganyeuimihobang extract. Mice were given 2 ml/kg injections of 50%(V/V)  $\text{CCl}_4$  in olive oil 2 times per week. \* p<0.05, \*\* p<0.01 vs control.

의 조직소견도 2마리나 보였다.

반면에 肝炎1號方을 투여한 실험군에서는 대조군의 섬유화 소견이 완화되는 경향을 보여 주로 섬유화 1, 2등급의 소견을 보였다 (Table 2).

실험개시 14주째에 간의 조직학적 검사를 위하여 염증세포의 침윤의 정도를 평가하였다. 4-point 범위로 등급을 결정하여 정상군에서는 實驗動物 10마리중 9마리가 등급 0으로 염증

세포의 침윤이 거의 나타나지 않았으며, CCl<sub>4</sub>를 투여한 대조군에서는 10마리중 6마리가 등급 3의 염증세포 침윤정도를 보였다. 가장 심한 염증세포의 침윤정도인 4등급의 조직소견도 2마리나 보였다.

반면에 肝炎1號方을 투여한 실험군에서는 대조군의 염증세포의 침윤보다 완화되는 경향을 보여 주로 염증세포 침윤 0, 1, 2등급의 소견을 보였다(Table 3).

Table 2. Effects of *GIB* extract on the fibrosis of mice induced by injection of CCl<sub>4</sub>.

Group	Grade of hepatic fibrosis				
	0	1	2	3	4
Normal	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○				
Control		○	○ ○	○ ○ ○ ○ ○	○ ○
<i>GIB</i>	○	○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○		

*GIB* : *ganyeumilhobang* extract. Mice were given 2 ml/kg injections of 50%(V/V) CCl<sub>4</sub> in olive oil 2 times per week. Control group were treated with normal saline. *GIB* group were treated with 2 g/kg/day. Histologic examination of the liver was performed to access the degree of fibrosis. Fibrosis was classified on a 4-point scale to the extent of scarring around the central veins and septa extending into the lobuli.

Table 3. Effects of *GIB* extract on the inflammatory cell infiltration of mice induced by injection of CCl<sub>4</sub>.

Group	Grade of hepatic inflammatory cell infiltration				
	0	1	2	3	4
Normal	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○			
Control		○	○	○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○
<i>GIB</i>	○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○		

*GIB* : *ganyeumilhobang* extract. Mice were given 2 ml/kg injections of 50%(V/V) CCl<sub>4</sub> in olive oil 2 times per week. Control group were treated with normal saline. *GIB* group were treated with 2 g/kg/day. Histologic examination of the liver was performed to access the degree of fibrosis and the inflammatory cell infiltration. Inflammatory cell infiltration was classified on a 4-point scale.

### 3. 急性 肝損傷에 대한 肝炎1號方에 대한 肝保護 效果

#### 1) 혈청ALT와 혈청AST의 변화

急性肝損傷에 대한 肝炎1號方의 肝保護效果를 관찰하기 위하여 肝炎1號方 추출물을 매일 2 g/kg/day 씩 4일간 투여한 후 마지막 날에 CCl<sub>4</sub>를 olive oil에 1:1로 희석하여 4 ml/kg을 1회 피하주사하거나, 또는 200 mg/kg의 D-galactosamine을 매 6시간마다 4회 복강주사하였다. 肝損傷을 유발한 후에도 肝炎1號方의 투여는 실험처치가 종료될 때까지 계속하여 肝炎1號方의 肝保護效果를 측정하였다.

CCl<sub>4</sub>의 1회 투여로 24시간과 48시간에 대조군이 정상군에 비하여 현저하게 AST와 ALT가 증가하는 결과를 나타냈다. 肝炎1號方 추출물을 투여한 실험군에서는 24시간에 대조군에 비하여 통계적으로 유의성있는 AST의 감소효과를 나타냈으며, 48시간에도 감소효과가 분명하게 나타났다. 실험군의 ALT의 변화는 24시간에 대조군에 비하여 유의성있는 감소효과를 보였다(Table 4).

CCl<sub>4</sub> 1회 투여 대신 200 mg/kg의 D-galactosamine을 매 6시간마다 4회 복강주사하

였다. 肝損傷을 유발한 후 24시간과 48시간에 대조군이 정상군에 비하여 AST와 ALT가 약간 증가하는 결과를 나타냈다.

肝炎1號方 추출물을 투여한 실험군에서는 48시간에 대조군에 비하여 통계적으로 유의성있는 AST의 감소효과를 나타냈으며, ALT도 48시간에 감소효과가 분명하게 나타났다(Table 5).

#### 2) Prothrombin time 변화

急性간손상에 대한 肝炎1號方의 肝保護效果 중 prothrombin time을 관찰하기 위하여 肝炎1號方 추출물을 매일 2 g/kg/day 씩 4일간 투여한 후 마지막 날에 CCl<sub>4</sub>를 olive oil에 1 : 1로 희석하여 4 ml/kg을 1회 피하주사하고 나서 24시간과 48시간에 채혈한 다음 prothrombin time을 측정하였다. CCl<sub>4</sub>를 투여한 대조군은 정상군에 비하여 2배정도 prothrombin time이 연장되는 결과를 보였으며 肝炎1號方 추출물을 투여한 실험군에서는 대조군에 비하여 통계적으로 유의성있는 prothrombin time 증가를 감소시키는 효과를 보였다(Table 6).

Table 4. The change of the level of serum aspartate aminotransferase(IU/ℓ) of mice with acute liver damage induced by the subcutaneous injection of CCl<sub>4</sub> after the oral administration of the aqueous extract of GIB and for 4 days.

Group	AST(IU/L)		ALT(IU/L)	
	24 hours	48 hours	24 hours	48 hours
Normal	39.7±2.2	40.6±2.4	98.1±4.3	99.7±3.8
Control	97.6±4.3	79.7±3.9	165.8±5.4	153.8±5.7
GIB	69.6±4.3**	56.6±4.3*	142.5±4.4*	135.8±4.9

GIB : ganyeuamilhobang extract. AST : aspartate aminotransferase, ALT : alanine aminotransferase. Mice were treated with 4 ml/kg subcutaneous injection of 50%(V/V) CCl<sub>4</sub> in olive oil 4 times every 6 hours. Normal group were treated with normal saline. GIB group were treated with 2 g/kg/day. \* p<0.05, \*\* p<0.01 vs control.

Table 5. The change of the level of serum alanine aminotransferase(IU/l) of mice with acute liver damage induced by the peritoneal injection of D-galactosamine after the oral administration of the aqueous extract of *GIB* and for 4 days.

Group	AST(IU/L)		ALT(IU/L)	
	24 hours	48 hours	24 hours	48 hours
Normal	38.5±2.3	40.6±2.4	98.8±4.1	112.6±5.8
Control	67.9±4.2	89.4±4.9	143.6±5.6	185.1±7.3
GIB	71.8±4.8	62.5±4.1**	141.8±5.9	131.5±6.4**

*GIB* : *ganyemilhobang* extract. AST : asparate aminotransferase, ALT : alanine aminotransferase. Mice were treated with the intraperitoneal injection of 200 mg/kg D-galactosamine 4 times every 6 hours. Normal group were treated with normal saline. *GIB* group were treated with 2 g/kg/day. \* p<0.05, \*\* p<0.01 vs control.

Table 6. The change of the level of prothrombin time(seconds) of mice with acute liver damage induced by the subcutaneous injection of  $CCl_4$  after the oral administration of the aqueous extract of *GIB* and for 4 days.

Group	Prothrombin Time(seconds)	
	24 hours	48 hours
Normal	38.5±2.3	112.6±5.8
Control	67.9±4.2	185.1±7.3
GIB	71.8±4.8	131.5±6.4**

*GIB* : *ganyemilhobang* extract. AST : asparate aminotransferase, ALT : alanine aminotransferase. Mice were treated with the intraperitoneal injection of 200 mg/kg D-galactosamine 4 times every 6 hours. Normal group were treated with normal saline. *GIB* group were treated with 2 g/kg/day. \* p<0.05, \*\* p<0.01 vs control.

간의 재생에 어떠한 효과를 보이는가를 보기 위해 mitotic index, liver weight, protein level, RNA, DNA synthesis 등에 미치는 결과를 관찰하였다. 생리식염수만을 투여한 대조군에서는 肝切除術 실험개시 1일째에 mitotic index가 현저하게 증가하였다. 肝切除術 시행 후 2일째부터는 mitotic index가 감소하기 시작하여 7일째에는 대조군과 유사한 정도를 보였다. 肝炎1號方 추출물을 투여한 실험군에서는 肝切除術 후 1일째에 생리식염수만을 투여한 대조군에 비하여 2배 이상 mitotic index가 증가하는 양상을 보여 통계적으로 유의성이 인정되었다. 또한 2일째에도 대조군에 비하여 有意性있는 증가가 인정되었고 실험기간동안 대조군에 비하여 mitotic index가 대조군에 비하여 증가하는 효과를 나타냈다(Table 7).

#### 4. 肝再生에 미치는 肝炎1號方의 效果

##### 1) Mitotic index의 변화

부분적 肝切除術을 시행한 후 肝炎1號方이

Table 7. Effects of *GIB* extract on the change of mitotic index of partially hepatectomized liver in rats

Group\Day	Mitotic Index(% of nuclei)				
	0 day	1 day	2 day	4 day	7 day
Control	0.13±0.02	0.96±0.08	0.89±0.06	0.63±0.07	0.18±0.02
<i>GIB</i>	0.14±0.01	1.85±0.12**	1.32±0.09*	0.95±0.11	0.25±0.03

*GIB* : *ganyeuimillobang* extract. The liver of mice was hepatectomized partially after the oral administration of *GIB* extract for 7 days. Control group were treated with normal saline. *GIB* group were treated with 2 g/kg/day. The liver tissue of mice was collected at 3rd day after the partial hepatectomy. \* p<0.05, \*\* p<0.01 vs control.

2) Liver weight, Protein, RNA, DNA의 변화  
부분적 肝切除術 후 간재생에 미치는 肝炎1號方의 효과를 관찰하기 위하여 肝切除術 후 3일째에 간조직을 채취하여 liver weight, protein level, RNA, DNA synthesis 등을 측정하였다. 생리식염수만을 투여한 대조군에 비하여 肝炎1號方 추출물을 투여한 실험군에서는 간의 중량이 有意性있게 증가하였고, 단백질함량도 대조군에 비하여 증가하는 결과를 보였다. 간조직내의 RNA 및 DNA 등의 핵산의 함량도 有意性있는 증가 결과를 나타냈다 (Table 8).

#### IV. 考察

肝疾患은 癌과 糖尿病 다음으로 높은 發病率과 死亡率을 나타내고 있으며 그 중에서도 肝硬化로 인한 사망자수는 최근 20년 동안에 계속적으로 증가 추세를 나타내고 있다<sup>1,32)</sup>.

개발도상국과 국내에서는 肝疾患 중 가장 높은 사망율의 원인은 바이러스성 간염이지만 미국과 같은 선진국에서는 바이러스성 간염보다 肝硬化에 의한 사망율이 5-10배 정도로 높게 보고되어 있고 바이러스성 간염은 최근 들어 백신의 사용으로 현저히 감소하고 있으므로 肝硬化에 의한 사망은 큰 위협으로 대두될 추세이다<sup>1)</sup>.

Table 8. Effects of *GIB* on the rats's weight of liver, contents of protein, RNA, and DNA, 3 days after partial hepatectomy.

Group	% of normal			
	Liver Weight	Protein	RNA	DNA
Control	63.5±3.8	57.6±3.1	76.4±3.8	69.4±3.1
<i>GIB</i>	79.7±4.2**	64.4±2.8*	96.4±3.5***	81.4±3.4**

*GIB* : *ganyeuimillobang* extract. The liver of mice was hepatectomized partially after the oral administration of *GIB* extract for 7 days. Control group were treated with normal saline. *GIB* group were treated with 2 g/kg/day. The liver tissue of mice was collected at 3rd day after the partial hepatectomy. \* p<0.1, \*\* p<0.05, \*\*\* p<0.01 vs control.



肝硬變은 肝疾患의 말기 증상으로 미만성 肝損傷(diffuse hepatic damage)의 결과 간세포의 괴사와 섬유조직의 증식과 혈류의 변화 및 간기능의 저하를 나타내는 질환으로서 慢性肝炎이 장기간 지속된 결과, 간에 섬유질이 침착하고 부드러운 간실질이 위축되어 간의 정상적인 형태가 소실되며, 정상세포의 과증식으로 결절을 형성하고 혈관분포를 왜곡시키는 상태를 말한다. 이러한 肝硬變이 진행성인 이유는 처음 손상을 야기시킨 요인의 지속적인 활동과 손상된 간세포에서 유리되는 단백질에 대한 세포 독성 면역반응 때문이다.<sup>1,10,13,33)</sup>

韓醫學에서 肝疾患은 七情鬱結 및 濕熱 등이 원인이 되어 이러한 濕熱이나 肝鬱이 慢性化함에 따라 寒濕, 血瘀 등으로 변화하면서 積聚, 痞塊, 黃疸, 鼓脹 등의 증상을 나타낸다.<sup>3,19-21)</sup> 따라서 治法도 初期에는 疏肝理氣나 活血化瘀, 消積 등의 治療法을 사용하고 後期에는 補脾滋養, 滋補肝腎 등의 補法을 사용한다.<sup>12,34,35)</sup>

鬱症이란 廣義的으로 氣機가 鬱滯되어 發越하지 못하여 발생하는 병증으로 閉, 結, 凝, 滯, 瘀, 蓄, 抑, 遏 등의 의미를 총괄하니 생리 기능이 소통되지 못하여 생리적 계통에 장애나 異常을 초래하는 상태를 의미한다.

《內經》에서는 木鬱, 火鬱, 土鬱, 金鬱, 水鬱의 五鬱이라 분류하고 瀉하는 治法을 언급하였는데 이는 六氣의 外邪가 五臟에 미치는 영향을 말한 것으로 運氣論적인 내용을 포함하고 있으며<sup>36)</sup> 朱丹溪<sup>34,36)</sup>는 《丹溪心法·鬱文》에서 “鬱者結聚而不得發越”이라 하여 鬱의 상태를 설명하고 氣濕痰熱血食鬱의 六鬱에 대한 病因論적인 분류를 하면서 治方으로 六鬱湯과 芫菊丸 등을 立案하였다.

鬱에 대한 역대 의가들의 의견들을 살펴 본 결과 鬱症을 情志不舒, 氣機鬱結로 鬱滯되어 發越하지 못하여 그 병리변화가 心, 脾, 肝과 有關한 것으로 보았으므로 본 연구에서는 鬱症을 특히 肝과 관련된 병증을 위주로 보고 현대의학적 병명인 肝硬變과 관련지어 본 실험

을 실시하였다.<sup>3,19,34)</sup>

肝硬變의 병인과 병리기전을 한의학적으로 고찰해 보면 肝硬變은 飲食不節, 七情鬱結 등으로 濕熱이 발생하고 또한 氣滯日久하여 血瘀가 형성되는데 이는 肝, 脾의 맥락을 鬱滯시키고 水濕이 停滯되어 운화시키지 못하니 말기에는 脾腎陽虛 또는 肝腎陰血不足의 결과를 초래하게 된다.<sup>3,20)</sup>

이 과정에 있어서 氣의 運化機能失調로 복강내 장기의 腫大나 내부장기의 腫瘍 또는 硬化라는 관점에서 積聚, 痞塊의 증상이 나타나기도 하고 濕熱鬱滯로 黃疸이 나타나기도 하며 水濕代謝의 異常으로 脹滿(鼓脹)증상이 출현하기도 하는데 이는 肝疾患이 진행된 위독한 증상으로 肝硬變의 말기증상 중 하나인 腹水와 有關한 것으로 사료된다.<sup>3)</sup>

본 실험에 사용된 肝炎1號方의 처방구성은 茵陳·豬苓·澤瀉·白茯苓·肉桂·藿香·半夏·大腹皮·山楂·羅蔔子·三稜·蓬朮·青皮·白朮·神麩·五味子·杜沖·川楝子·樺皮로 되어 있고 현재 원광대 전주한방병원에서 急慢性 肝疾患에 사용되고 있는 처방으로 각각의 구성약물에 대한 效能을 살펴보면 다음과 같다.

肝炎1號方의 茵陳·豬苓·白茯苓·澤瀉·肉桂·白朮은 茵陳五苓散에서 赤茯苓을 빼고 白茯苓을 가한 것으로 茵陳은 滲濕利水로 清濕熱하는 작용이 있어 濕熱 薰蒸으로 인한 黃疸, 小便短赤, 發熱을 다스리는 要藥<sup>38,39)</sup>으로 入少陽하여 肝膽之鬱을 풀어주는 要藥으로 설명하고 있다.

豬苓·白茯苓·澤瀉·肉桂·白朮은 肝膽의 濕熱之鬱을 膀胱으로 끌어 내려 소변을 통해 노폐물을 내보내는 작용을 하고 있다.<sup>38,39)</sup>

藿香은 芳香性 化濕藥物로 醒脾化濕하여 中焦의 濕으로 인한 食慾不振, 胸腹脹滿, 惡心, 嘔吐 등의 증상에 응용할 수 있는데 半夏와 배합하여 祛濕止嘔의 효능이 증강되므로 急慢性肝炎으로 인한 食慾不振, 惡心, 嘔吐 등의 소화기 증상에 응용한다.<sup>38,39)</sup>

山楂는 消食肉積과 散瘀行滯의 효과로 瘀血을 풀어주는 효과가 있고 蘿菔子는 行滯消食하고 降氣祛痰作用이 있으므로 茯苓과 배합하여 祛濕作用을 강화하며,<sup>38,39)</sup> 神麩은 消食和胃작용으로 《藥性本草》<sup>38,39)</sup>에 癥結積聚에 사용한다고 하였고 五味子는 生津斂汗, 斂肺滋腎의 효능으로 肝腎陰虛에 응용된다<sup>38,39)</sup>.

大腹皮·靑皮·川楝子는 理氣藥物로 疏肝理氣作用으로 肝鬱을 풀어줄 수 있고 특히 川楝子는 性味が 苦寒하면서 降泄의 性이 있으므로 肝鬱을 疏泄하면서 解鬱止痛의 효과를 구비하고 있으며 三稜·蓬朮은 行氣破血, 消積止痛의 효능으로 肝硬化로 인한 瘀血, 積聚 등에 응용한다<sup>38,39)</sup>.

樺皮는 苦寒의 性味를 갖고 있어 清熱利濕作用으로 茵陳의 효력을 증대시키며<sup>38,39)</sup> 杜冲은 《本草綱目》<sup>40)</sup>에 潤肝燥하고 補肝虛하여 肝經으로 入하여 補腎을 겸한다 하였다.

以上과 같이 肝炎1號方은 肝膽의 濕熱을 제거시키고 利尿, 健脾, 利膽作用을 위주로 肝의 生理機能을 평형케 해주는 처방으로 茵陳·川楝子·靑皮·樺皮로 疏肝, 解鬱, 祛濕熱시키며, 白朮·猪苓·澤瀉·白茯苓·肉桂로 滲濕利水시키면서 清濕熱하고, 三稜·蓬朮로 破氣消積시키며, 山楂·蘿菔子·神麩로 行氣消積의 작용을 구비하고 있고 大腹皮·藿香·半夏로 和胃시키고 理氣시킨다. 또한 五味子·杜冲의 補肝腎作用으로 전체적인 肝의 疎泄機能을 원활하게 할 수 있음을 알 수 있다.

肝에 대한 약물치료 연구로서 金<sup>37)</sup>은 生肝健脾湯을 慢性 B 형간염환자들에게 투여하여 간염치료에 효능이 있음을 보고하였고, 金<sup>22)</sup>은 茵陳五苓散으로, 柳<sup>41)</sup>는 茵陳 추출물로 肝疾患에 대한 치료효과를 연구하였고, 姜<sup>23)</sup>은 黃芩煎湯液으로 간세포의 막성구조의 작용과 단백질 합성 등을 보호한다고 하였으며, 崔<sup>42)</sup>는 加味柴苓湯으로 肝損傷에 대한 치료 및 예방 효과가 있음을 보고하였고, 林<sup>43)</sup>은 三物茵陳湯으로, 裴<sup>44)</sup>등은 茵陳蒿湯으로, 朴<sup>45)</sup>은 清肝湯으로, 安<sup>46)</sup>은 柴苓湯으로 肝疾患에 대한 한약의

효과를 연구하였다.

肝損傷에 대한 鍼灸연구로는 成<sup>47)</sup>은 茵陳水針이 CCl<sub>4</sub>로 유발된 白鼠 간세포에 미치는 효과를, 文<sup>48)</sup>은 茵陳蒿水針으로 백서의 肝損傷에 미치는 영향을 연구하는 등 水針을 통한 손상된 간에 대한 치료효과를 연구하였고 孫<sup>49)</sup>은 原絡 및 迎隨補瀉法으로, 李<sup>50)</sup>는 灸作用으로 艾灸가 간기능에 미치는 효과를 연구하는 등 손상된 간에 대한 다양한 연구가 진행되어 왔다.

또한 본 처방은 朴<sup>24)</sup>과 洪<sup>27)</sup>, 金<sup>28)</sup>, 朴<sup>30)</sup>과 崔<sup>31)</sup> 등은 積聚의 前단계인 鬱症에 사용되는 처방인 香砂平胃散, 當歸活血湯, 六鬱湯, 散鬱湯, 加味枳朮丸, 保和丸, 木香調氣散, 解鬱調胃湯, 瓜蘘枳殼湯, 升發二陳湯에 대한 실험연구에서 위의 처방들이 간섬유화의 진행을 억제시키는 효과를 확인하였다.

본 실험에서는 급성간염에서 진행된 만성간염이나 肝硬變에서 일어나는 섬유화를 氣滯血瘀로 氣血이 瘀結한 상태로 보아 瘀滯의 개념을 섬유조직증식의 개념으로 보아서 肝炎1號方으로 간섬유화의 진행을 억제시키는 효과와 남아있는 정상 간조직의 정상 간세포 재생효과를 확인하였다.

간섬유화 實驗動物모델은 여러 가지가 알려져 있는데 본 실험에서는 DMN, CCl<sub>4</sub>, D-galactosamine을 사용하였다.

본 실험에서 사용한 N-nitros계 발암물질인 DMN으로 유도한 肝硬變모델은 DMN투여 3주만에 빠른 결합조직형성과 소결절성 병변을 일으킨다. 또한 이때 생긴 肝硬變은 투여를 마친 후 14주 뒤에 병변이 유지되는 것으로 보아 비가역적임이 증명되었다<sup>33,50,51)</sup>. DMN모델은 사람의 알콜성 肝疾患과 비슷한 변화가 관찰되며, 간문맥압상진증, 복수나 황달 등의 임상증상과 유사하다<sup>53)</sup>.

또한 본 실험에서 두 번째 肝損傷모델로 사용된 D-galactosamine은 N-acetyl-ylated 형태로 체내의 glycoprotein과 mucopolysaccharide의 구성성분으로 존재하나<sup>54)</sup>, 實驗動物에 다량

으로 투여하면 간세포의 손상을 유발한다고 Keppler 등이 처음 보고한 이래 그 독성에 관하여 많은 연구가 진행되어 왔다. D-galactos-amine에 의해 유도되는 증상은 간세포의 괴사, 염증에 관여하는 세포의 periportal infiltration, 그리고 섬유조직증가 등 인간의 바이러스성 간염과 유사한 특징을 나타낸다(52-57).

위의 두가지 물질 외에 본 실험에서는 간장 손상을 일으키는 물질로  $CCl_4$ 를 투여하여 모델을 만들었는데  $CCl_4$ 는 microsome계 효소 특히 cytochrome P450 등에 의해 생체내에서 대사되어 trichloromechyl 유리기( $CCl_3$  free radical)를 형성하고, 이 유리기가 세포내에 존재할 때, 각종 막구조의 과산화반응을 촉진시켜, 세포의 괴사를 초래한다고 알려져 있다(58,59).

$CCl_4$ 로 중독을 야기시키면 조직학적으로 가장 현저한 병변이 나타나는 것은 간실질세포의 지방변성과 간소엽중심대에 괴사성병변을 일으키며, 이로 인하여 나타나는 혈청 ALT, AST, ALP, LDH의 활성도가 현저히 상승된다는 보고가 있다(59).

위에서 열거한 세가지 실험모델은 급慢性 肝損傷을 유발시키는데 좋은 방법으로 그 동안 한약의 간세포 보호작용과 회복작용을 알 수 있는 실험모델로 많이 이용되어 왔으므로 본 실험에서 上記의 3가지 실험모델을 선택하여 肝炎1號方이 급慢性 肝損傷에 있어서 간보호작용 및 간세포재생작용의 효능이 있는가를 실험한 것이다.

肝硬變의 진행정도를 측정하는 것으로 혈액학적인 방법, 조직학적인 방법과 소변검사가 있다(3,4).

혈액학적으로 측정하는 것은 Alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST), alkaline phosphatase(ALP), lactic dehydrogenase(LDH) 등이 있고(33), 肝硬變에서는 백혈구와 혈소판이 저하되어 있고 prothrombin time은 연장되어 있으며 골수는

거대정적아구를 보인다(60).

AST는 간기능검사법으로서 널리 사용되는 효소이며, 1954년 심근경색과 간염에서 이 효소의 혈중농도가 상승한다는 보고 이후 간기능검사법으로 이용되었다. 주로 심근, 간, 골격근, 신장 등의 순서로 간염, 간경변, 폐색성황달, 심근경색, 진행성 근위축 등에서 상승한다.

ALT는 transaminase의 일종으로서 주로 간, 신장 등의 순서로 g중량당 함유량이 많고 肝疾患에서는 AST보다 예민하게 반응한다(60,61). 특히 지방간, 만성간염 등에서는 ALT > AST의 異常을 관찰할 수 있으며 저영양지방간, 간경변에서는 ALT < AST로 되는데 급성간염의 초기에는 AST > ALT이고 뒤이어 AST < ALT도 되며 간염, 간경변, 간종양, 폐색성황달 등에서 異常 상승하는 효소이다(60,61).

본 실험에서  $CCl_4$ 의 1회 피하주사로 肝損傷을 야기한 경우 24시간과 48시간에 대조군에서는 혈청 ALT, AST가 상승했으나 肝炎1號方 추출물을 투여한 실험군에서는 24시간과 48시간에 모두 有意性있는 억제효과가 나타났다. 또한 D-gal-actosamine의 4회 복강주사로 肝損傷을 야기한 경우 24시간과 48시간에 대조군에서는 혈청 AST와 ALT가 증가하는 결과를 나타냈으나 肝炎1號方 추출물을 투여한 실험군에서는 48시간에 모두 有意性있는 감소효과가 나타났다.

Fibrogenesis를 반영하는 것으로 血清 procollagen type III peptide(P-III-P)는 肝硬變에 대한 유용한 指標로 주목받고 있다. 이것은 肝組織內的 hydroxyproline 量을 직접적으로 측정하는 것으로 fibrogenesis에 대한 매우 유용한 指標가 될 수 있다(4,60).

肝纖維化에 관여하는 주요한 단백질은 collagen인데, 이는 다세포동물의 細胞外骨格을 이루는 물질로서 纖維組織, 基底膜, 骨, 軟骨 등의 중요성분이며, 반복되는 아미노산 배열인 (Gly-Xaa-Yaa) $_n$ 으로 이루어져 있고, collagen의 형성과정에서 hydroxyproline은 proline의 hydroxylation으로 因하여 총

collagen 아미노산內에 10%以上 함유하게 되어 있어 hydroxyproline值로 肝組織內에 총 collagen量을 나타낼 수 있는데<sup>62)</sup>, 정상 肝에서는 총단백질 함량중 collagen 함량은 肝 총단백질의 5-10%를 차지하나 肝硬變에서의 collagen 함량은 肝 총단백질의 50%以上の 비율로 존재한다<sup>63)</sup>.

본 실험에서는 간섬유화를 반영하는 hydroxyproline의 변화를 측정하였는데 DMN으로 肝硬變을 유발한 대조군에서는 hydroxyproline은 지속적으로 상승했으나 肝炎1號方을 투여한 실험군에서는 8주와 14주째에 有意性있는 감소효과를 나타냈다.

또한 CCl<sub>4</sub>로 유발한 肝硬變실험에서 실험개시 14주째에 간의 조직학적 검사로 섬유화의 정도와 염증세포의 침윤의 정도를 평가하였다. 염증세포의 침윤과 섬유화의 정도를 4단계 등급으로 나누었을 때 CCl<sub>4</sub> 대조군은 3등급의 섬유화와 염증세포 침윤상태가 가장 많았고 肝炎1號方 추출물을 투여한 실험군에서는 섬유화정도과 염증세포 침윤정도가 완화되어 주로 1, 2등급의 소견을 보였다.

위의 실험에 의하면 肝硬化를 유발하여 肝炎1號方 추출물을 투여한 후 혈청학적인 검사와 조직학적인 검사소견을 확인한 결과 어느 정도 간섬유화의 진행에 억제작용이 있음을 알 수 있다.

또한 정상적인 간세포의 재생과정에 있어서 肝炎1號方이 어떠한 효과를 보이는가를 실험하기 위해 부분적인 肝切除術을 시행한 후 mitotic index, liver weight, protein level, RNA, DNA synthesis 등에 미치는 결과를 관찰하였다.

생리식염수만을 투여한 대조군에 비해 실험군에서는 肝切除術 후 1일째 mitotic index가 2배 이상 증가하는 양상을 보이고 2일째 이후에도 대조군에 비하여 有意性있는 증가가 인정되었다. 肝切除術후 3일에 간조직을 채취하여 liver weight, protein level, RNA, DNA synthesis 등을 측정 한 결과 대조군에 비해 실험

군에서 有意性있는 증가결과를 나타냈다.

실험에서 살펴본 바와 같이 肝炎1號方이 急性肝損傷과 肝硬變과 관련된 섬유화의 진행을 억제하는데 양쪽 모두 효과가 있음이 인정되고 또한 정상간세포의 재생과정에 있어서도 어느정도 有意性이 인정되어 향후 이에 대한 지속적인 實驗的, 臨床的 研究에 의해 급만성 肝損傷의 손상된 세포에 대해서는 지연작용을, 정상세포에 있어서는 빠른 재생과정을 유도함으로써 급만성 肝疾患의 치료와 관리에 보다 효율적인 연구가 이루어질 수 있으리라 사료된다.

## V. 結 論

DMN, CCl<sub>4</sub> 및 D-galatosamine으로 急性性 肝損傷을 유발한 후 肝炎1號方을 투여한 결과와 부분적 肝切除術을 시행한 후 肝炎1號方을 투여하여 간의 재생효과를 살펴 본 결과 다음과 같은 결과 및 결론을 얻었다.

1. DMN과 CCl<sub>4</sub>로 유발한 肝損傷으로 인하여 간조직내의 hydroxyproline 양의 증가는 肝炎1號方の 투여로 억제되는 효과를 보였다.

2. DMN과 CCl<sub>4</sub>로 유발한 肝損傷으로 인하여 간조직내 섬유화 정도와 염증세포의 침윤의 양상은 肝炎1號方の 투여로 섬유화 소견과 염증세포의 침윤이 좀 더 완화되는 효과를 보였다.

3. CCl<sub>4</sub>와 D-galactosamine으로 유발한 急性性 肝損傷으로 인하여 혈청 AST, ALT의 상승은 肝炎1號方の 투여로 모두 감소되는 양상을 보였다.

4. CCl<sub>4</sub>로 유발한 急性性 肝損傷에서 prothrombin time연장은 肝炎1號方の 투여로 prothrombin time증가를 감소시키는 효과를 보였다.

5. 부분적 肝切除術 후 간의 재생효과에서

생리식염수만 투여한 대조군에 비해 肝炎1號方을 투여한 실험군에서 mitotic index(% of nuclei)가 증가하는 효과를 나타냈다.

6. 부분적 肝切除術 후 간의 재생효과에서 생리식염수만 투여한 대조군에 비해 肝炎1號方을 투여한 실험군에서 liver weight, protein level, RNA, DNA synthesis가 증가하는 결과를 나타냈다.

以上的 실험결과로 보아 肝炎1號方の 투여가 손상된 白鼠의 간기능 보호작용과 간세포의 재생능력을 활발히 해주어 急性肝損傷에서 慢性肝損傷, 肝硬變으로 이어지는 진행과정에 대하여 억제효과와 간세포의 재생능력에 효과가 있을 것으로 사료된다.

## 參考文獻

1. 손동환 박은전 : 간섬유화 억제 약물 개발을 위한 검색방법, 원광대 약대, 의약자원 연구센터, p.38, 1996.
2. 통계청 : 사망원인 연보, 서울, p.781, 1992.
3. 金秉雲 外 : 간계내과학, 서울, 集文堂, pp.230-231, 248, 254-256, 1992.
4. 陳貴延·楊思澍 : 實用中西醫結合診斷治療學(上), 서울, 一中社, pp.476-486, 1992.
5. 具本弘 外 4人 : 東醫內科學, 서울, 書苑堂, pp.212-215, 367, 375, 1985.
6. 上海第一學院實用內科學編纂委員會 : 實用內科學, 北京, 人民衛生出版社 p.1822, 1826, 1984.
7. 王顯明 : 中醫內科辨證學, 北京, 人民衛生出版社, p.325, 1984.
8. 索延昌 : 新脾胃論, 山西省, 山西科學教育出版社, p.56, 181, 1986.
9. 池筆春 : 新編實用肝病學, 北京, 中國醫藥技術出版社, p.180, 195, 1994.
10. 醫學教育研修院編 : 家庭醫學, 서울, 서울대학교출판부, p.264, 1987.
11. 金定濟 外 : 東醫肝系內科學, 서울, 集文堂, pp.69-75, 97-109, 1983.
12. 何紹奇 : 現代中醫內科學, 北京, 中國醫藥出版社, p.309, 1991.
13. 大韓病理學會 : 病理學, 서울, 高文社, pp.761-806, 1994.
14. 徐舜圭 : 成人病 老人病學, 서울, 高麗醫學, pp.370-381, 1992.
15. 李文鎬 外 : 內科學 (上冊), 서울, 學林社, p.1003, 1986.
16. 周景春 : 內科常見病, 內蒙古, 人民出版社, p.611, 1983.
17. 白洪龍 : 常見病症辨證論治概要, 雲南省, 雲南人民出版社, pp.116, 118-119, 1984.
18. 呂執政·鄭瑞福 : 常見病最新療法, 北京, 中國中醫藥出版社, p.91, 1994.

19. 林珮琴 : 類證治裁, 臺北, 旋風出版社, p.193, 1967.
20. 朱丹溪 : 丹溪心法, 北京, 北京市中國書店出版, pp.22, 230-232, 1986.
21. 周命新 : 醫門寶鑑, 서울, 醫聖堂, pp.98-99, 1994.
22. 金字煥 : 茵陳五苓散의 白鼠 肝硬變에 對한 保護 및 回復作用, 圓光大學校大學院, 1988.
23. 姜秉洪 : 黃芩煎湯液이 肝損傷에 對한 防禦 및 回復에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1985.
24. 박대영 : 香砂平胃散 및 當歸活血湯이 膽道結紮과 Dimethylnitrosamine으로 誘發된 白鼠의 肝硬變症에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1993.
25. 以上 考 : 梔子柏皮湯이 膽道結紮로 誘發된 白鼠의 損傷肝에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1993.
26. 권칠용 : 小柴胡湯 合 補中益氣湯과 杞菊地黃湯이 Dimethylnitrosamine 및 膽道結紮로 誘發된 白鼠의 肝硬變症에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1993.
27. 홍석의 : 六鬱湯 및 散鬱湯이 膽道結紮과 Dimethylnitrosamine으로 誘發된 白鼠의 肝硬變症에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1994.
28. 金成桓 : 加味枳朮丸 및 保和丸이 損傷된 肝組織에서의 膠原質生成 및 肝細胞再生에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1995.
29. 文大煥 : 龍膽瀉肝湯 및 茵陳五苓散이 膽道結紮로 誘發된 白鼠의 損傷肝에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1993.
30. 朴庸權 : 木香調氣散과 解鬱調胃湯의 實驗적 肝硬變에 대한 效果, 圓光大學校大學院, 1996.
31. 최재훈 : 瓜蒌枳殼湯 및 升發二陳湯의 實驗적 肝硬變에 대한 效果, 圓光大學校大學院, 1997.
32. 보사부 건강수준조사, p. 25, 1993.
33. SHEILA SHERLOCK : 肝·膽道疾患, 서울, 고려의학, pp.206-210, 344-354, 1989.
34. 方藥中外 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.432-434, 491, 1986.
35. 史字廣 單書健 : 肝炎肝硬化專輯, 北京, 中醫古籍出版社, p.325, 1988.
36. 王新華 : 中醫歷代醫論選, 서울, 一中社, pp.508-515, 1992.
37. 金秉雲 外 : 生肝健脾湯이 肝臟의 代謝와 再生機能에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 5:19-40, 1982.
38. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林出版社, p.172, 198, 241, 250, 252, 261, 317, 381, 382, 400, 403, 404, 413, 420, 421, 424, 550, 594, 602, 1989.
39. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, p.13, 20, 77, 183, 357, 364, 366, 490, 495, 497, 498, 501, 548, 550, 641, 661, 691, 697, 1982.
40. 李時珍 : 本草綱目, 欽定四庫全書 권42, 大星文化社, p.777-47, 1995.
41. 柳道坤 : 白鼠肝損傷에 對한 茵陳 Extract의 效果에 關한 研究, 圓光大學校大學院, 1984.
42. 崔賢 : D-galactosamine의 肝損傷에 대한 가미시령탕의 效果에 關한 研究, 圓光大學校大學院, 1987.
43. 林正燦 : 三物茵陳湯 投與가 CCl<sub>4</sub> 中毒 肝細胞 損傷에 미치는 影響에 關한 實驗的 研究, 大韓韓方內科學會誌, 1(1):70-77, 1976.
44. 裴文弘 : 茵陳蒿湯이 Carbon tetrachloride 中毒으로 인한 白鼠 肝臟損傷의 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學院論文集, 1972.
45. 朴商伯 : 清肝湯이 CCl<sub>4</sub> 및 D-galactosamine에 의하여 誘發된 實驗的 肝臟 損傷에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 9:451-462, 1986.
46. 安圭錫 : 柴苓湯이 Thipoacetamide에 의한 白鼠 肝損傷에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論

- 文集, 6:17-32, 1983.
47. 尹聖洙·成樂箕 : 茵陳蒿水鍼이 四鹽化炭素에 損傷된 흰쥐 肝細胞에 미치는 效果, 大韓鍼灸學會誌, 8:307-333, 1991.
48. 文國鎮 : 茵陳蒿水鍼이 CCl<sub>4</sub> 中毒 흰쥐 肝損傷에 미치는 影響, 大韓鍼灸學會誌, 8:227-239, 1991.
49. 孫寬永 : 原絡 및 迎隨補瀉를 이용한 刺鍼이 DMN로 誘發된 급성肝損傷白鼠에 미치는 效果, 大韓鍼灸學會誌, 8:157-171, 1991.
50. 李春實 : 艾灸가 家兔의 肝機能에 미치는 效果에 關한 研究, 慶熙韓醫大論文集, 5:65-86, 1982.
51. Kountras J·Billing BH·Scheuer PJ : Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat, Br. J. Exp. Pathol., 65:305, 1984.
52. Milani S·Herbst H·Schuppan D·Hahn EG·Stein H : In situ hybridization for procollagen type I, III and IV mRNA in normal and fibrotic rat liver : Evidence of predominant expression in normal parenchymal liver cells, Hepatol., 10(1): 84-92, 1989.
53. Abdel-Aziz G·Lebeau G·Rescan P-Y·Clement B·Rissel M·Deugn RY·Campion J-P·Guillouzo : Reversibility of hepatic fibrosis in experimentally induced cholestasis in rat, Am. J. Pathol., 137(6):1333-1342, 1990.
54. Keppler, D., Lesch, R., Reutter,W.,and Decker, K.: Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. Exp. Mol. Pathol. 9:279, 1968.
55. Keppler, D., Lesch, R., Reutter,W.,and Decker, K. : The trapping of uridine phosphate by D-galactosamine, D-glucosamine, and 2-deoxy-D-galctose. A study on the mechanism of galactosamine hepatitis. Eur. J. Biochem. 17:24, 1970.
56. Tsuji, T. and Shinohara, T. : Pathological study of chronic D-galactosaine induced hepatitis in mice by administration of adjuvants : an animal model of the chronic active hepatitis. Gastroenterologia Japonica 16 : 9, 1981.
57. Koff, R.S., : Gordon, G.,and Sabesin, S.M : D-galactosamine hepatitis, I. Hepatocellular injury and fatty liver following a single dose. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 137:696, 1971.
58. Fber, J. L. and EI-Moity, S. K. : The biochemical Pathology of liver cell necrosis. Am. J. Path. 81(1):237-250, 1975.
59. Slater, T. F. : Necrogenic action of carbon tetachloride in the rat : A speculative mechanism based on actination, Nature, 209(50-18) : 36-40, 1966.
60. 이귀녕 이종순 : 임상병리파일, 서울, 의학출판사, pp.278-282, 1993.
61. 임준규·박성일 : 韓方辨證과 臨床病理學, 서울, 정문각, pp.190-191, 1993.
62. Pierce RA·Glaug MR·Greco RS·Mackenzie JW·Boyd CD·Deak SB : Increased procollagen mRNA levels in carbon tetrachloride-induced liver fibrosis. J. Biol. Chem., 262(4):1652-1668.
63. Schuppan D : Connective tissue polypepties in serum as parameters to monitor antifibrotic treatment in hepatic fibrogenesis, J. Hepatol., 13:s17-s25, 1991.
64. Jamall IS·Finelli VN·Que Hee SS : A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues, Anal. Biochem., 112:70-75, 1981.

65. Usitalo RJ, Karnovsky MJ. J Histochem. Cytochem. 1977: 25:87-86
66. Robinson JM, Karnovsky MJ. J Histochem. Cytochem. 1983: 31:1190-6
67. Wachstein M, Meisel E. J Histochem. Cytochem. 1956: 4:592-6



ABSTRACT

**Influence of *Ganyemillobang* on Acute and Chronic Liver Injury  
in Experimental Animal**

**Choi, Su Deock. Kim, Young Jin. Kim, Kang San.**  
**Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine,**  
**Wonkwang University**

This study was to investigate the hepatoprotective and anticirrhotic effects of *Ganyemillobang*(*GIB*) on the acute and chronic liver injury induced by various agents.

Chronic liver injury induced by dimethylnitrosamine(DMN) ; a new experimental model for cirrhosis and the intraperitoneal injection of dimethylnitrosamine in the rat. Acute liver injury induced by carbon tetrachloride( $CCl_4$ ) and D-galactosamine ; a experimental model for acute liver injury, the administration of  $CCl_4$  and the intraperitoneal injection of D-galactosamine in the rat. The development of fibrosis and acute liver injury by the three prescriptions were examined by the chemical analysis of AST, ALT, prothrombin time and hydroxyproline.

The results obtained were as follows.

1. The increasing level of hydroxyproline volume induced by DMN in mice was decreased by the oral administration of *GIB*.
2. The degree of histological fibrosis and hepatic inflammatory cell infiltration induced by  $CCl_4$  decreased by the oral administration of *GIB*.
3. The increase of serum AST and ALT of mice with acute liver damage induced by  $CCl_4$  and D-galactosamine was inhibited by the administration of *GIB*.
4. The prolongation of prothrombin time(seconds) of mice acute liver damage induced by  $CCl_4$  was shortened by the oral administration of *GIB*.
5. The liver of mice was hepatectomized partially after the oral administration of *GIB*. The mitotic index(% of nuclei), weight of liver, contents of protein, RNA and DNA synthesis of the liver tissue were increased by the oral administration of *GIB*.