

다시마 (*Laminaria japonicus*) Alginate의 가열가수분해에 따른 물리·화학적 및 생물학적 특성에 관한 연구

4. HCl·ethanol 용액과 침수스트레스에 의해 유발되는 랫드 위궤양의 억제효과

김육용·조영제*

주식회사 MSC 연구소, *부경대학교 식품공학과

Studies on Physicochemical and Biological Properties of Depolymerized Alginate from Sea Tangle, *Laminaria japonicus* by Heating Hydrolysis

4. Inhibition Effects of Acute Gastritis Induced by HCl·ethanol Solution and Gastric Ulcer Induced by Water-immersion Stress in Rats

Yuck-Yong KIM and Young-Je CHO*

Research Laboratory, MSC Co. Ltd., Yangsan 626-840, Korea

*Faculty of Science and Biotechnology, Food Science and Technology Major, Pukyong National Univ., Pusan 608-737, Korea

Anti-ulcer effects of depolymerized alginate (HAG-10, average molecular weight 10,000; HAG-50, average molecular weight 50,000; HAG-100, average molecular weight 100,000) obtained by hydrolysis of alginate by heating at 121°C, against HCl·ethanol and water-immersion stress in rats were investigated. The acute gastritis, induced by HCl·ethanol, and the gastric ulcer, induced by water-immersion stress, were inhibited dose-dependently by administration of HAG-50, HAG-100 and alginate. Histopathological lesions of the gastritis and gastric ulcer in rats treated with HAG-50, HAG-100 and alginate were significantly lower than those in rats fed with HAG-10. The inhibition rates (%) on acute gastritis induced by HCl·ethanol and gastritis ulcer induced by water-immersion stress in rats, were 13.00% and 15.74% of HAG-10, 41.15% and 35.72% of HAG-50, 41.58% and 35.37% of HAG-100, and 45.17% and 41.11% of alginate, respectively. These results suggested that HAG-50, HAG-100 and alginate had a protective effect against the gastritis and gastric ulcer. The effect was not as visible when using HAG-10 in rats. From the present results, it was suggested that HAG-50 was an effective anti-ulcer agent against HCl·ethanol and water-immersion stress in rats.

Key words: Heating hydrolysis, Depolymerized alginate, Acute gastritis, HCl·ethanol, Gastric ulcer, Water-immersion stress

서론

육체적 또는 정신적 스트레스에 의한 위궤양은 위연운동의 증가 (Watanabe, 1966), 위액의 과다분비 및 위점막의 혈류장애 (Guth and Kozbur, 1969) 등에 의해 일어난다. 수침구속에 의한 위궤양의 유발은 스트레스가 대뇌의 변연계 (limbic system)를 자극하여 시상하부와 수질중심부위를 자극하고 시상하부는 위장운동과 위산분비에 변화를, 그리고 수질중심부위는 미세순환에 악영향을 주므로써 위궤양을 일으키게 된다 (Watanabe, 1966). 또한, 소화성 궤양은 염산과 pepsin의 과다분비와 방어인자인 점막혈류와 점액의 분비장애로 점막을 파괴하고 파괴된 점막부위를 위액에 의해 소화관벽을 흐물어서 궤양을 일으키게 된다 (Takagi et al., 1964; Diago et al., 1981a; Mizui and Doteuchi, 1983).

알긴산은 소화관의 점막을 보호하는 효과가 있기 때문에 alginate (5% 수용액제)를 점막보호제로써 현재 임상적으로 이용하고 있으며 (Diago et al., 1981a), 역류성식도염과 상부소화관궤양에 대한 개선, 치료 및 지혈 등에도 효과 (Diago et al., 1981b, c)가 있다고 알려져 있다. Diago et al. (1981a)은 염산·pepsin 용액에 대한 점막보호효과를 비교한 실험에서 alginate는 경구투여후 소화관점막에 부착하여 피막을 형성하며, 궤양을 일으키는 위액으로

부터 점막을 보호하고 이미 궤양을 일으킨 부분에 대하여 조직과 피나 출혈을 물리적으로 억제하여 뚜렷한 점막보호효과를 나타낸다고 보고하였다. 실험동물에 HCl·ethanol 용액을 위내에 강제 투여하면 1시간 이내에 위점막의 직접적인 자극으로 급성위염이 발생되는데, 이것은 공격인자인 유리염산과 국소적인 세포막의 손상을 야기시키는 ethanol에 의해 일어나며 위출혈에 의한 염증이 띠모양으로 나타나게 된다고 하였다 (Mizui and Doteuchi, 1983, Takeuchi et al., 1976; Shay et al., 1945).

본 실험에서는 저분자 alginate인 HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate가 HCl·ethanol 용액과 침수스트레스에 의해 유발되는 위손상과 위궤양의 억제효과에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 점막의 형태를 조직학적으로 검토하여 그 결과를 보고하고자 한다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

실험에 사용한 원료, 다시마 alginate 및 저분자 alginate (HAG-10, HAG-50, HAG-100)는 전보 (Kim and Cho, 2000a)와 같이 제조하여 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 실험동물, 사육조건, 실험군의 구성 및 식이조성
 전보 (Kim and Cho, 2000b)와 같은 방법으로 실시하였다.

2) HCl·ethanol 용액의 위손상에 대한 억제율
 랫드 35마리를 24시간 절식시킨 후 각군당 7마리씩 대조군 (주사용 증류수 투여군), HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate 투여군 (100 mg/100 g B.W.)으로 나누어 Mizui and Doteuchi (1983)의 방법에 따라 실험하였다. 즉, 랫드 100 g 체중당 증류수 1 ml, HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate 100 mg을 각각 증류수 1 ml에 녹여서 sonde로 강제로 위내에 경구투여하였다. 1 시간후에 HCl·ethanol 용액 (150 mM HCl을 함유하는 60% ethanol 용액)을 체중 100 g당 0.5 ml를 강제로 위내에 경구투여하였다. 그 후, 절식, 절수하에서 1시간 방치한 다음 에테르마취하에 방혈치사시켜 위를 적출하여 유문부를 결찰하고 위내에 2.0% formalin 용액 10 ml를 넣은 후 formalin 용액에 10분간 침지하여 위점막 표면을 고정하였다. 그리고 대만부를 절개하여 발생된 병변 길이 (mm)를 실체현미경 (×10)으로 측정하였다. 각 랫드당 발생한 병변길이의 합을 평균 ± 표준편차로 나타내어 병변계수 (lesion index)로 나타내었다. 위점막의 관찰이 용이하도록 위점막을 10.0% 중성포르말린액으로 고정하고 hematoxylin & eosin으로 염색한 후 사진촬영장치가 부착된 광학현미경 (JENAMED 2, CARLZEISS, Germany)으로 40배에서 검경하였고, 위손상 억제율 (%)은 다음과 같은 식으로 계산하였다.

$$\left[\frac{(\text{대조군의 병변계수} - \text{실험군의 병변계수})}{\text{대조군의 병변계수}} \right] \times 100$$

3) 침수스트레스 위궤양에 대한 억제율
 랫드 35마리를 24시간 절식시킨 후 각군당 7마리씩 대조군 (주사용 증류수 투여군), HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate 투여군 (100 mg/100 g B.W.)으로 나누어 Takagi et al. (1964), Takagi and Okabe (1968)와 Takeuchi et al. (1976)의 방법에 따라 실시하였다. 즉, 랫드 100 g 체중당 증류수 1 ml, HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate 100 mg을 각각 증류수 1 ml에 녹여서 sonde로 강제로 위내에 경구투여하였다. 30분 경과후에 랫드용 구속케이지 (대종기계)에 운동이 구속되도록 랫드를 넣고 수온 23 °C로 유지되는 항온수조에 점상돌기부위까지 물에 잠기도록 물을 채운 후 20시간 방치하였다. 그 후는 상기와 같은 방법으로 억제율을 측정하였다.

4) 통계처리
 분석결과는 SAS (Statistical Analysis System) 통계 패키지로 처리하여 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, 각 기간별 유의성검증은 Student t-test로 하였다.

결과 및 고찰

1. HCl·ethanol 용액에 의해 유발되는 위손상에 대한 억제율

랫드에 있어서 HCl·ethanol 용액에 의한 위손상 억제효과에 미치는 HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate의 영향을 검토하여 병변계수 (lesion index)와 억제율 (%)을 Table 1에 나타내었다. 병변계수는 HAG-10이 62.31 ± 7.94 mm, HAG-50은 42.15 ± 6.15 mm, HAG-100은 41.84 ± 7.09 mm 그리고 alginate는 39.27 ± 5.74 mm였으며, 위손상 억제율은 HAG-10이 13.00%, HAG-50이 41.15%, HAG-100이 41.48% 및 alginate가 45.17%로, HAG-10에서는 13%로 억제효과가 가장 낮았고 다음으로 HAG-10과 HAG-100은 유사한 억제율을 보였으며, alginate에서 그 억제율이 가장 높았다. HCl·ethanol 용액에 의해 손상된 위점막을 광학현미경으로 관찰하여 Fig. 1에 나타내었는데, 대조군과 HAG-10에서는 위점막 전체에 걸친 출혈과 부식에 의한 응고괴사가 진행되었고 점막 (粘膜, Mucous membrane)과 점막근판 (粘膜筋板, Muscularis mucosa) 및 근육층 (筋肉層, Tunica muscularis)에 부종의 발생과 조직의 파괴가 일어났으나, HAG-50, HAG-100 및 alginate에서는 가벼운 병변이 진행되어 위점막층에 약간의 출혈만 관찰되었다.

Table 1. Effects of HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate on acute gastritis induced by HCl·ethanol solution in rats

Diets	Lesion index (mm)	Inhibition rate (%)
Control	71.62 ± 9.51	-
HAG-10	62.31 ± 7.94 ⁺	13.00
HAG-50	42.15 ± 6.15 ⁺⁺	41.15
HAG-100	41.84 ± 7.09 ⁺⁺	41.58
Alginate	39.27 ± 5.74 ⁺⁺	45.17

All data were calculated by Mean ± S.D. for 7 individuals.
 +, ++: Significantly different in student t-test from the control (+p<0.05, ++p<0.01).

Inhibition rate (%) = [(Lesion index in control - Lesion index in diets) / Lesion index in control] × 100.

2. 침수스트레스에 의해 유발되는 위궤양에 대한 억제율
 랫드에 있어서 침수스트레스에 의한 위궤양 억제효과를 검토하여 궤양계수 (ulcer index)와 억제율 (%)을 Table 2에 나타내었다. 궤양계수는 HAG-10이 45.34 ± 6.39 mm, HAG-50은 34.59 ± 4.98 mm, HAG-100은 34.78 ± 7.66 mm 및 alginate는 31.69 ± 5.84 mm로, HAG-50, HAG-100 및 alginate에서 낮은 궤양계수를 나타내었다. 또한, 그 억제율은 HAG-10이 15.74%, HAG-50이 35.72%, HAG-100이 35.37% 및 alginate가 41.11%로, alginate에서 가장 높았고 다음으로 HAG-50과 HAG-100은 유사하게 35% 정도의 억제율을 나타내었으며, HAG-10에서 가장 낮은 억제율을 보였다. 침수스트레스에 의해 발생한 위궤양점막을 광학현미경으로 관찰하여 Fig. 2에 나타내었는데, 대조군과 HAG-10에서는 위점막 전체에 걸친 출혈과 부식에 의한 응고괴사가 진행되었고 점막과 점막근판 및 근육층에 부종의 발생과 조직의 파괴가 일어났으나, HAG-50, HAG-100 및 alginate에서는 가벼운 병변이 진행되어 위점막층에 약간의 출혈만 관찰되었다.

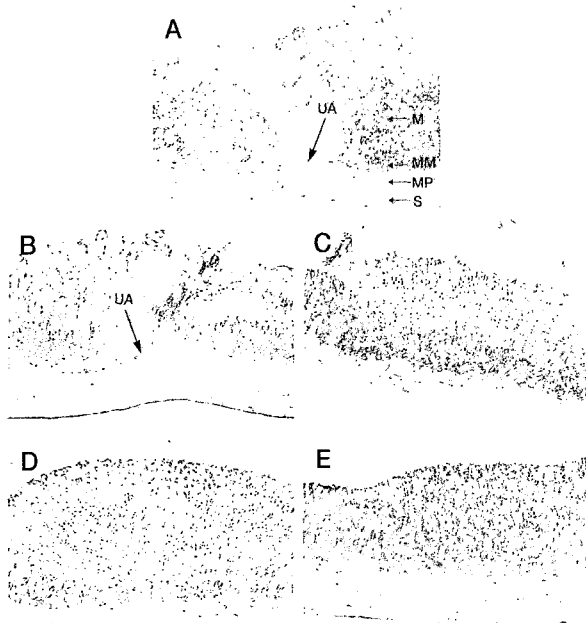


Fig. 1. Changes of histopathological appearance of HCl ethanol induced acute gastritis in rats by feeding HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate ($\times 40$).

A: Control M: Mucous membrane
 B: HAG-10 MM: Muscularis mucosa
 C: HAG-50 MP: Tunica muscularis
 D: HAG-100 S: Tunica submucosa
 E: Alginate UA: Ulceration area

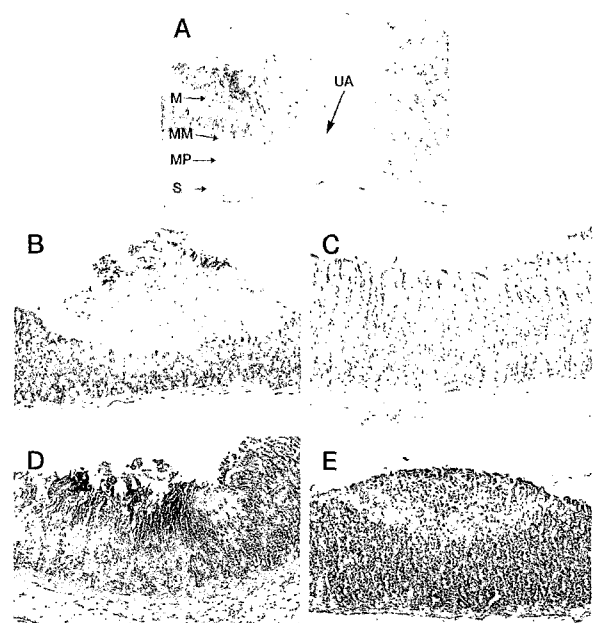


Fig. 2. Changes of histopathological appearance of water-immersion stress induced acute gastritis in rats by feeding HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate ($\times 40$).

A: Control M: Mucous membrane
 B: HAG-10 MM: Muscularis mucosa
 C: HAG-50 MP: Tunica muscularis
 D: HAG-100 S: Tunica submucosa
 E: Alginate UA: Ulceration area

Table 2. Effects of HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate on gastritis ulcer induced by water-immersion stress in rats

Diets	Lesion index (mm)	Inhibition rate (%)
Control	53.81 \pm 5.70	-
HAG-10	45.34 \pm 6.39 ⁺	15.74
HAG-50	34.59 \pm 4.98 ⁺⁺	35.72
HAG-100	34.78 \pm 7.66 ⁺⁺	35.37
Alginate	31.69 \pm 5.84 ⁺⁺	41.11

All data were calculated by Mean \pm S.D. for 7 individuals.
 +, ++: Significantly different in student *t*-test from the control (+*p*<0.05, ++*p*<0.01).

Inhibition rate (%) = [(Ulcer index in control - Ulcer index in diets) / Ulcer index in control] \times 100.

본 실험에 있어서 HAG-50, HAG-100 및 alginate에서 급성위염과 위점막의 부식이 유의성 있게 억제되었는데, 이것은 Diago et al. (1981a)이 염산·pepsin 용액에 대한 alginate의 점막보호효과를 비교한 결과, alginate는 경구투여후 소화관점막에 부착하여 피막을 형성하며, 궤양을 일으키는 위액으로부터 점막을 보호하고 이미 궤양을 일으킨 부분에 대하여 점막의 조직파괴나 출혈을 물리적으로 억제하여 뚜렷한 보호효과를 가진다는 보고와 유사한

경향을 보였으며, 역류성식도염과 상부소화관질환 (Diago et al., 1981b)에 대한 치료 및 지혈효과가 뛰어나다는 보고들과 일치하였다. 본 실험의 결과에서, alginate의 위손상 및 위궤양 억제효과는 alginate가 직접적인 제산작용 (除酸作用)이나 항펩신작용을 나타내는 것이 아니라, 위점막 상부표면에 점질의 피막을 형성하여 위염 유발물질 (위산이나 펩신 등)이 점막에 직접 접촉하는 것을 막는 물리적인 보호작용에 의한 것이라고 생각된다.

요 약

Alginate를 가열에 의해 저분자화하여 저분자화에 따른 위점막 보호작용을 검토하기 위해 랫드에 있어서 저분자 alginate인 HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate의 투여가 HCl·ethanol 용액과 침수스트레스에 의해 유발되는 위손상과 위궤양의 억제효과에 미치는 영향을 광학현미경으로 점막의 형태를 관찰하면서 그 억제율과 조직학적 변화를 측정하였다.

HCl·ethanol 용액과 침수스트레스에 의해 유발되는 위손상과 위궤양에 대한 억제효과에 미치는 저분자 alginate의 영향을 검토한 결과, 그 억제효과는 alginate에서 가장 높았고, 다음으로 HAG-50과 HAG-100 및 HAG-10의 순으로 HAG-50, HAG-100

및 alginate에서 현저한 효과를 보였으나, HAG-10은 아무런 효과를 나타내지 않았다. 위손상과 위궤양점막을 광학현미경으로 관찰해 볼 때, 대조군과 HAG-10에서는 위점막 전체에 걸친 출혈과 부식에 의한 응고괴사가 진행되었고 점막(粘膜)과 점막근판(粘膜筋板) 및 근육층(筋肉層)에 부종의 발생과 조직의 파괴가 일어났으나 HAG-50, HAG-100 및 alginate에서는 가벼운 병변이 진행되어 위점막층에 약간의 출혈만 관찰되어 위손상억제 및 위궤양 억제효과를 뚜렷히 나타내었다.

참 고 문 헌

- Diago, K., Y. Wada, C. Yamada, M. Yamaji, S. Okuda, M. Okada and T. Miyazato. 1981a. Pharmacological studies of sodium alginate. I. Protective effects of sodium alginate on mucous membranes of upper-gastrointestinal tract. *Yakugaku Zasshi*, 101(5), 452~457.
- Diago, K., C. Yamada, Y. Wada, M. Yamaji, S. Okuda, M. Okada and T. Miyazato. 1981b. Pharmacological studies of sodium alginate. II. Hemostatic effect of sodium alginate on gastrointestinal bleeding. *Yakugaku Zasshi*, 101(5), 458~463.
- Diago, K., Y. Wada, M. Yamaji, C. Yamada, Y. Wada, S. Okuda, M. Okada and T. Miyazato. 1981c. Pharmacological studies of sodium alginate. III. Acceleration of fibrin formation by sodium alginate. *Yakugaku Zasshi*, 101(5), 464~469.
- Guth, P.H. and X. Kozbur. 1969. Microcirculatory and mast cell changes in restraint stress. Role of gastric acid. *Am. J. Dig. Dis.*, 14, 113~117.
- Kim, Y.Y. and Y.J. Cho. 2000a. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by heating hydrolysis. 1. Changes in viscosity, average molecular weight and chemical structure of depolymerized alginate. *J. Korean Fish. Soc.*, 33(4), 325~330 (in Korean).
- Kim, Y.Y. and Y.J. Cho. 2000b. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by heating hydrolysis. 3. Excretion effects of cholesterol, glucose and cadmium (Cd). *J. Korean Fish. Soc.*, 33(5), 393~398 (in Korean).
- Mizui, T. and M. Doteuchi. 1983. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesion in rats. *Japan J. Pharmacol.*, 33, 939~945.
- Shay, H., S.A. Komarov, S.S. Fels, D. Merance, M. Gruenstin and H. Siple. 1945. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rats. *Gastroenterology*, 5, 43.
- Takagi, K., Y. Kasuya and K.L. Watanabe. 1964. Studies on the drug for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats. *Chem. Pharm. Bull.*, 12, 465~472.
- Takagi, K. and S. Okabe. 1968. The effects of drugs on the protection and recovery processes of the stress ulcer. *Jap. J. Pharmacol.*, 18, 9~18.
- Takeuchi, K., S. Okabe and K. Takagi. 1976. A new model of stress ulcer in the rat with pylorus ligation and its pathogenesis. *Digestive Diseases and Sciences*, 21(9), 782~787.
- Watanabe, K. 1966. Some pharmacological factors involved in formation and prevention of stress ulcer in rats. *Chem. Pharm. Bull.*, 14, 101~107.

2000년 6월 7일 접수

2000년 11월 13일 수리