

# 化痰清火湯이 acetic acid로 유발된 흰쥐 위궤양 점막의 내분비세포와 점액의 조직화학적 변화

강경래<sup>2</sup> · 육상원<sup>2</sup> · 고흥곤 · 이광규 · 이창현<sup>1\*</sup>

우석대학교 한의과대학 병리학교실, 1: 해부학교실, 2: 원전외사학교실

## The Changes of Mucin and Endocrine cells of Mucosa of Acetic Acid-Induced Gastric Ulcer after Administration of Whadamcheongwaha-tang Extract in Rat

Gyung Rae Kang<sup>2</sup>, Sang Won Yuk<sup>2</sup>, Chang Hyun Lee<sup>1\*</sup>, Hyoung Gon Ko, Kwang Gyu Lee

Department of Oriental Pathology, 1: Anatomy, 2: Classics, College of Oriental Medicine, Woosuk University

We examined the effects of Whadamcheongwaha-tang(WDCWT) extract on the acetic-acid induced antigastric ulcer in rats. These experiments investigated the numerical changes of gastrin and histamine secreting cells of the gastric mucosa by immunohistochemical method, and the changes of mucin of gastric mucosa by PAS-AB stain methods after the oral administration of WDCWT extract(1.0ml/day) and omeprazole(0.2mg/day) for 1, 3 and 6 weeks. The result are as follows; 1. When WDCWT extract was administrated for 1, 3, 6 weeks, in result, gastrin secreting cells in gastric mucosa were increased compared to the control group. 2. When WDCWT extract was administrated for 1, 3, 6 weeks, in result, the density of immunoreactive gastrin cells was increased compare to the control group. 3. When WDCWT extract was administrated for 1, 3, 6 weeks, in results, the changs of mucosal thickness stained by PAS/PAS-AB was increased compared to the control group. 4. When WDCWT extract was administrated for 1, 3, 6 weeks, in results, the density of PAS stain was decreased compare to control group, but density of AB stain was increased compare to control group. The results suggest that WDCWT extract inhibits a gastric acid secretion in rat gastric mucosa, and is useful in the treatment of the hyperacidity and gastric ulcer.

Key words : Whadamcheongwaha-tang(化痰清火湯), gastrin, histamine, gastric mucosa, PAS-AB stain

### 서론

化痰清火湯은明代 의가인 龔信<sup>1)</sup>의 처방으로, 嘈雜을 다스리는데 사용되어 왔다. 嘈雜은 “似飢不飢 似痛不痛 而有懊懣 不自寧 其證 或兼噎氣 或兼痞滿 或兼惡心 漸至胃脘作痛” 한證으로, 痰火, 食傷, 思慮傷心 등에 의하여 발생된다<sup>2)</sup>. 치료방법에는 消痰, 降火, 健脾行濕, 消食, 補血 등이 있으나, 化痰清火湯은 痰火로 인한 嘈雜證에 消痰 降火 健脾의 목적으로 사용되는 처방

이다<sup>2)</sup>. 현대의학의 과산성 위염, 胃 및 십이지장 궤양, 胃주위염, 소화성 궤양 등이 嘈雜과 유사한 증후에 해당된다<sup>3,4)</sup>. 潰瘍은 산-펩신(acid-pepsin)의 공격적 요인(aggressive factor)이 위와 십이지장 점막의 방어능력을 이기기 때문에 발생된다<sup>5)</sup>. 공격적 효과의 위산 분비는 화학적, 신경적 및 hormone 요인들에 의해 조절된다. Hormone 요인으로 장내분비세포에서 분비되는 gastrin, histamine, somatostatin, serotonin, cholecystokinin, secretin, glucagon이 hormone 요인으로 작용한다. 이 가운데 胃酸 분비에 관여하는 gastrin은 위산분비의 가장 강력한 자극제이고, 위산은 gastrin 분비를 억제한다. 또한 위산분비 조절작용에 관여하는 hormone인 somatostatin은 위의 벽세포에서 위

\* 교신저자 : 이창현, 전북 완주군 삼례읍 후정리, 우석대학교 한의과대학 E-mail : chlee@woosuk.ac.kr Tel : 063-290-1559 · 접수 : 2002/08/22 · 수정 : 2002/09/30 · 채택 : 2002/11/28

산의 분비를 직접적으로 억제하며, 위산분비 촉진제의 분비를 감소시킴으로서 간접적으로도 억제한다<sup>6)</sup>. 이들 분비촉진제에는 장크롬친화세포(enterochromaffin-like cell)의 histamine<sup>7)</sup>과 유문동에 주로 위치하는 gastrin 분비세포(G cell)에서 분비하는 gastrin<sup>8)</sup>이 있다. 위산(gastric acid) 분비와 관련하여 실험동물을 이용한 연구결과에 의하면 gastrin, histamin 그리고 acetylcholine은 위산 유도물질로 알려졌는데, 이러한 물질들은 위에서 점액생산과 분비를 자극한다<sup>9,10)</sup>. 점액은 위장관 점막의 생리학적 방어기전에 중요한 영향을 미치며, gel을 형성하는 분자량이 무거운 점액 당단백질로 구성되어 있다<sup>11)</sup>. 위점막의 점액을 분비하는 세포는 표면상피의 점액세포와 샘상피의 점액세포로 분류하며, 이러한 두 종류의 점액세포에서 분비하는 점액은 위점막의 생리학적 기능에 따라 많은 차이를 나타내고 있다<sup>12)</sup>. 양방에서 많이 사용되는 위궤양 치료제인 Omeprazole은 치환된 benzimidazole로 인체와 실험동물에 강력한 위산분비 억제작용을 하므로 위궤양과 위산과다증 치료에 사용되고 있다. Benzimidazole 유도체는 벽세포(parietal cells)에서 H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase에 직접적인 억제작용을 한다<sup>13-15)</sup>. Omeprazole은 지속적인 위산분비 억제작용을 하므로<sup>16)</sup>, 위궤양 치료와 다른 의학적인 치료에 효과가 없는 Zollinger-Ellison syndrome<sup>17)</sup>에 이용되어 왔다. 위내에서 일어나는 변화 중, 무염산증(achlorhydria)은 위내 분비세포<sup>18)</sup>와 혈청내의 gastrin 농도<sup>19)</sup>를 현저하게 증가시키는 것으로 알려져 왔다. 흰쥐에 강력한 항분비유도약물(antisecretagogues)을 대용량으로 장기 투여했을 때 위암종(gastric carcinoid) 발생과 관련 있다는 보고가 있다<sup>20)</sup>. 산분비가 차단되면, 유문동의 gastrin 세포가 자극되어 몇 주 내에 뚜렷한 gastrin 세포의 과다형성(hyperplasia)이 일어나고, 고gastrin혈증(hypergastronemia)이 유도된다<sup>21,22)</sup>. 고gastrin혈증이 지속되면 gastrin에 민감한 장크롬친화세포가 과다 형성되어, 微細腺腫(microadenoma) 또는 암종(carcinoma)으로 진행된다<sup>20)</sup>.

이와 같이 omeprazole은 위산 억제제로 탁월한 효능을 지니고 있으나, 장기 투여시 암종 발생과 같은 중대한 부작용을 일으키고 있다. 본 연구는 위장질환 특히 위궤양, 위산과다증에 응용되고 있는 化痰清火湯이 위궤양에 어떻게 효과가 있는지를 실험적으로 규명하기 위하여 Acetic acid로 유발한 흰쥐 위궤양 모델을 이용하여 양방에서 이용되는 위산억제제인 omeprazole과 化痰清火湯의 효능을 비교하고자 위산분비와 관련있는 胃의 gastrin 면역반응세포를 면역조직화학적 방법으로 관찰하여 비교하였고, 위의 유문부와 체부의 점막내 점액세포들의 변화를 Alcian blue-PAS 염색을 시행하여 광학현미경적으로 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 약재 및 동물

실험에 사용한 化痰清火湯의 처방은 東醫寶鑑<sup>23)</sup>에 의거하였으며, 약재는 우석대학교 한의과대학 부속한방병원에서 구입한 후 사용하였고, 처방내용과 분량은 Table 1과 같다. 실험에 사용

한 동물은 체중 250g 内外의 성숙한 Sprague-dawley계 흰쥐 45마리를 암수 구분 없이 사용하였다. 실험동물은 외부와 격리된 20℃ 内外의 온도를 유지한 동물사육장에서 사료와 물을 충분히 공급하여 사육하였다.

Table 1. Prescription of Whadamcheongwha-tang

本草名	生藥名	重量(gm)
天南星	ARISAEMATIS RHIZOMA	2.6
半夏	PINELLIAE RHIZOMA	2.6
枳椇	AURANTII FRUCTUS	2.6
白朮	ATRACYLODIS MACROCEPHALAE RHIZOMA	2.6
白芍藥	PAEONIAE RADIX ALBA	2.6
黃連	COPTIDIS RHIZOMA	2.6
黃芩	SCUTELLARIAE RADIX	2.6
梔子	GARDENIAE FRUCTUS	2.6
知母	ANEMARRHENAE RHIZOMA	2.6
石膏	GYPSUM FIBROSUM	2.6
甘草	GLYCYRRHIZAE RADIX	1.1
生薑	ZINGBERIS RHIZOMA RECENS	2.6
Total Amount		29.7

### 2. 檢液의 調劑

化痰清火湯 4첩 분량을 3L 플라스크에 증류수 2000ml와 함께 넣은 다음, 180분간 가열하여 얻은 전탕액을 여과지로 여과한 후 5000rpm으로 30분간 원심분리 한 다음 rotary vacuum evaporator에 넣어 감압 농축하여 300ml가 되게 하여 검액으로 사용하였다(회수율, 20%).

### 3. Acetic acid에 의한 위궤양 유발

실험적 위궤양은 Takagi 등<sup>24)</sup>의 방법에 따라 Acetic acid 0.05ml를 胃의 체부와 유문부의 점막 경계 앞쪽벽과 뒤쪽벽의 장막아래에 주입하여 유발하였다. 유발 후 1주, 3주 및 6주에 각각 5마리씩 희생하여 조직절편을 제작하였다.

### 4. 약물투여

化痰清火湯 투여군은 1주, 3주, 6주 투여군으로 나누어, 아침과 저녁에 각각 0.5ml씩(1.0ml/day)을 경구 투여하였다. Omeprazole도 化痰清火湯과 같이 1주, 3주, 6주 투여군으로 나누고, 아침과 저녁에 각각 0.1mg씩(0.2mg/day) 경구 투여하였다. 대조군은 생리적 식염수를 化痰清火湯과 같은 방법으로 투여하였다.

### 5. 조직처리

모든 군의 실험동물은 경추 탈구시켜 복강을 열어 胃를 적출하였다. 胃는 유문부와 체부로 분리한 후 4% paraformaldehyde에 조직을 침적시켜 하루 동안 고정하였다. 고정된 조직은 하루 동안 수세한 후 ethanol 농도 상승 순으로 탈수하고 chloroform으로 투명 과정을 거친 후 paraffin에 포매 하였다. 포매된 조직은 microtome으로 7µm 두께의 절편을 만들어 면역조직화학염색과 Alcian blue-PAS(Periodic Acid-Schiff reagent) 광학현미경적 염색을 시행하였다.

6. Gastrin 면역조직화학 염색

위의 유문부와 체부의 절편들은 xylene으로 paraffin을 제거한 후 함수과정을 거쳤다. 비특이적 항원반응을 차단하기 위하여 10% normal goat serum을 실온에서 1시간동안 처리하고 0.1M phosphate buffer(PB)로 세척하였다. 위의 유문부는 Gastrin으로 염색하였다. 1차 항체는 Gastrin(1:300, Dako)을 1% normal serum과 0.3% Triton-X 100이 함유된 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)으로 희석하여 사용하였으며, 4℃에서 12~24시간 동안 반응시켰다. 이어 0.1M PB로 10분씩 3회 수세하고, 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vector)를 1:200으로 희석하여 실온에서 1시간동안 반응시킨 후, 0.1M PB로 수세하였다. 그리고 peroxidase가 표지된 avidin-biotin complex(ABC, Vector)를 1:100으로 희석하여 실온에서 1시간동안 반응시킨 후 0.1M PB로 10분씩 3회 水洗하였다. 발색제는 3·3' diaminobenzidine(DAB, Sigma)을 0.1M PB에 0.05%가 되게 녹이고, 사용 직전에 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 0.003%가 되게 첨가하여 실온에서 5~20분동안 발색시켰다. 반응이 끝난 조직은 0.1M PB로 여러 차례 수세한 다음 건조시켰다. 이후 통상적인 조직처리 방법에 따라 탈수, 투명화 과정을 거친 다음 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

7. 위의 유문부와 체부 점막의 Alcian blue-PAS 광학현미경적 염색

위의 유문부와 체부의 절편들의 점액의 변화를 관찰하기 위하여 Alcian blue-PAS 광학현미경적 염색을 시행하였다<sup>25)</sup>. 절편들을 xylene으로 paraffin을 제거한 후 함수과정을 거쳤다. 그 후 절편을 Alcian blue 용액에 20분간 염색하고 2분간 수세하였으며, PAS 염색을 위하여 0.5% periodic acid 용액에 10분간 산화시킨 후 5분간 수세하였다. 그 후 Schiff 용액에 10분간 염색하고 sulfurous 용액에 2분간 헹구고 후 통상적인 방법에 따라 탈수, 투명화 과정을 거친 다음 봉입하여 광학현미경으로 점액의 염색강도를 현미경으로 관찰하였다

8. 면역반응 세포의 계수 및 통계처리

면역염색된 각 표본은 20×의 대물렌즈와 10×의 대안렌즈를 이용하여 면역반응세포를 조사하였다. 면역염색된 세포의 계수는 각 표본의 절편에서 면역염색이 잘된 부위의 광학현미경 시야(visual field)를 선택하여 시행하였다.

결 과

1. Acetic acid로 위궤양을 유발한 후 化痰清火湯과 Omeprazole 투여 시 Gastrin 분비세포의 영향

Acetic acid로 유발한 위궤양 흰쥐에 化痰清火湯을 1주일 동안 투여했을 때 면역염색된 gastrin 분비세포의 수는 88.5±15.7개로서 대조군(65.4±16.7)에 비하여 증가하였고, omeprazole 투여군(84.5±14.9)과 유사하게 관찰 되었다. 化痰清火湯을 3주 동안 투여했을 때, 면역염색된 gastrin 분비세포의 수는 94.8±13.6개로 대조군(61.8±14.4)에 비해 증가하였으나 omeprazole 투여

군(97.5±12.1)보다는 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나, 化痰清火湯 6주 투여군의 gastrin 분비세포는 112.7±17.1개로서 대조군(85.4±13.6)과 omeprazole 투여군(103.8±19.9)에 비해 유의한 증가를 보였다(Table 2).

Table 2. Immunoreactive gastrin cell changes of acetic acid-induced gastric ulcer after administration of Whadamcheongwha-tang extract and omeprazole.

	Control	Omeprazole	WDCHT
1 week	65.4 ± 16.7	84.5 ± 14.9	88.5 ± 15.7
3 week	61.8 ± 14.4	97.5 ± 12.1	94.8 ± 13.6
6 week	85.4 ± 13.6	103.8 ± 19.9	112.7 ± 17.1

Values are mean ± SE(n=8).

화담청화탕을 투여한 후 gastrin에 대한 면역반응의 density를 관찰한 바 대조군 1주군에서는 미약하게 염색되었으나 omeprazole 투여군과 화담청화탕 투여군 1주군에서 중등도의 면역반응을 나타내었다. 대조군의 3주군과 6주군에서는 gastrin에 대한 면역반응은 중등도로 염색되었으나 Omeprazole투여군과 화담청화탕 투여군에서는 강하게 염색되었다(Table 3.). 위벽의 점막에 면역염색된 gastrin 분비세포는 유문부에 주로 위치하였다. 점막층에서 면역염색된 gastrin 분비세포는 기저부인 선부위(gland portion)에 주로 분포하고 있었다.

Table 3. Immunoreactive gastrin cell density of acetic acid-induced gastric ulcer after administration of Whadamcheongwha-tang extract and omeprazole.

	Control	Omeprazole	WDCHT
1 week	+	++	++
3 week	++	+++	+++
6 week	++	+++	+++

+ ; Weak immunoreactive density, ++ ; Mild immunoreactive density, +++ ; Dense immunoreactive density

2. Acetic acid로 위궤양을 유발한 후 위의 체부와 유문부의 점액의 조직화학적 변화

정상군에서의 위 체부의 Alcian blue-PAS에 염색된 영역은 점막 두께의 내강쪽 2/3부위까지 염색되었다. 염색된 부위 중 PAS에 양성반응을 보인 부위는 점막의 내강쪽 약 2/5영역에서 관찰되었고, 내강쪽 바로 아래에 PAS-AB에 암청색으로 염색된 1/5영역이 관찰되었다. 또한 Alcian blue에 염색된 영역은 바로 아래의 2/5영역에 염색되었다. 정상군에서의 유문부에서는 PAS에 염색된 영역은 점막두께의 약 2/3영역에 표지되었고, Alcian blue에 염색된 영역은 점막 저부 샘상피에서 관찰되었다. PAS와 Alcian blue에 대한 염색강도는 체부와 유문부에서 중등도의 염색반응을 나타내었다(Table 4).

Acetic acid로 위궤양을 유발한 후 생리적 식염수를 투여한 대조군의 1주군에서는 체부와 유문부에서 PAS와 PAS-AB에 염색된 영역은 점막두께의 약 1/3부위까지 염색되었고 Alcian blue에 염색된 위의 체부와 유문부의 염색된 영역은 주로 점막의 저부 샘상피에 염색되었다. 점막내 PAS, PAS-AB 및 Alcian blue에 대한 염색반응은 강하게 나타났고, 내강내에서도 염색된 많은 분비물들을 관찰 할 수 있었다. 그러나 대조군의 3주군과 6주

군에서는 PAS에 염색된 점막의 두께는 1주군보다 감소하여 체부와 유문부 점막 두께의 1/6부위만 염색되었으나, 염색강도는 점막상피와 내강내 분비물들이 PAS와 Alcian blue에 강하게 염색되었다(Table 4).

Table 4. Mucosal epithelial areas and density stained by PAS-Alcian blue(AB) in body and pyloric mucosa of acetic acid-induced gastric ulcer after administration of Whadamcheongwha-tang extract and omeprazole.

	Mucosal Thickness		PAS/PA-AB		AB	
	B	P	B	P	B	P
Normal	2/3	2/3	++	++	++	++
Control	1/3	1/3	+++	+++	++	++
Omeprazole	1/2-2/3	1/2-2/3	++	++	+++	+++
WDCHT	2/3	2/3	++	++	+++	+++

+ : Weak PAS/Alcian blue density, ++ : Mild PAS/Alcian blue density, +++ : Dense PAS/Alcian blue density

Acetic acid로 위궤양을 유발한 후 omeprazole을 투여한 군의 1, 3, 6주군에서 PAS, PAS-AB 및 Alcian blue에 염색된 영역은 체부와 유문부 점막 두께의 약 1/2-1/3부위까지 염색되었고, PAS 염색강도는 중등도로 관찰되었으나 Alcian blue에 대한 염색강도는 강하게 관찰되었다. 특히 내강내 분비물은 PAS보다 Alcian blue에 더욱 강하게 염색되었다.

Acetic acid로 위궤양을 유발한 후 화담청화탕을 투여한 1주군에서는 체부와 유문부에서 PAS와 PAS-AB에 염색된 영역은 점막 두께의 약 2/3부위까지 염색되었고, Alcian blue에 염색된 위의 체부와 유문부의 염색된 영역은 주로 점막 저부 샘상피에 주로 염색되었다. 6주군에서의 PAS/PAS-AB에 염색된 점막의 두께는 약 5/6부위까지 염색되었다. 1, 3, 6주군에서의 점막내 PAS/PAS-AB에 대한 염색 강도는 중등도로 관찰되었으나 Alcian blue에 대한 염색강도는 강하게 관찰되었다(Table 5).

Table 5. Mucosal epithelial cells density stained by PAS-Alcian blue(AB) in body and pyloric mucosa of acetic acid-induced gastric ulcer after administration of Whadamcheongwha-tang extract and omeprazole.

	Control		Omeprazole				WDCHT					
	PAS		AB		PAS		AB		PAS		AB	
	B	P	B	P	B	P	B	P	B	P	B	P
1week	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	++	++	+++	+++
3week	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	++	++	+++	+++
6week	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	++	++	+++	+++

+ : Weak PAS/Alcian blue density, ++ : Mild PAS/Alcian blue density, +++ : Dense PAS/Alcian blue density

## 고찰

嘈雜은脾胃의 병으로 “似飢不飢 似痛不痛 而有懊惱 不自寧其證 或兼噯氣 或兼痞滿 或兼惡心 漸至胃脘作痛” 한 證으로 痰火, 食傷, 思慮傷心 등에 의하여 발생되며, 消痰, 降火, 健脾行濕, 消食, 補血 등의 방법으로 치료한다<sup>2)</sup>. 오늘날의 의학에 비교하면 과산성 위염, 위 및 십이지장 궤양, 위주위염, 소화성 궤양 등의 질환에 해당된다<sup>3,4)</sup>. 化痰清火湯은 龔信的 古今醫鑑<sup>1)</sup>에 痰火로

인한 嘈雜을 치료하는데 사용되어 왔다. 方中에 天南星, 半夏, 陳皮는 濕痰을 삭히며, 黃連, 黃芩, 梔子, 知母, 石膏은 열을 없애고, 白朮, 蒼朮, 白芍藥은 補脾하여 水濕을 除去하며, 甘草는 健脾瀉火和中하고, 生薑은 降逆化痰시킬 뿐만 아니라, 半夏의 독을 제거시키는 효능을 가지고 있다<sup>3,26)</sup>. 실험적으로 天南星은 抗痙攣作用이, 半夏는 鎮咳去痰, 鎮吐 작용이, 陳皮는 항염, 항궤양 작용이, 蒼朮, 白朮은 항균작용이, 白芍藥은 항염, 항궤양 작용이, 黃連은 항염작용이, 黃芩은 항염, 항알레르기 작용이, 梔子は 镇静작용이, 石膏은 해열작용이, 甘草는 항염, 항궤양 작용이, 生薑은 단백질에 대한 소화억제 작용이 보고되었다<sup>26)</sup>. 한방에서 위궤양, 위산과다증 치료에 化痰清火湯이 사용된다면, 양방에서는 omeprazole이 이용되고 있다. Omeprazole은 치환된 benzimidazole로 사람과 실험동물에서 위산분비의 강력한 억제 작용을 하는데, 이것은 벽세포(parietal cells)에서 H<sup>+</sup> 운반체인 H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase에 직접 작용하여 위산분비를 억제한다<sup>13-16)</sup>. 위산분비의 끊임없는 억제작용으로 인해, omeprazole은 위궤양 치료와 다른 의학적 치료에 효과가 없는 Zollinger-Ellison syndrome<sup>17)</sup>에 이용되어 왔다. Acetic acid로 유발한 위궤양 원위에 化痰清火湯을 1주일 동안 투여했을 때 면역염색된 gastrin 분비세포의 수는 88.5±15.7개로서 대조군(65.4±16.7)에 비하여 증가하였고, omeprazole 투여군(84.5±14.9)과 유사하게 관찰되었다. 化痰清火湯을 3주 동안 투여했을 때, 면역염색된 gastrin 분비세포의 수는 94.8±13.6개로 대조군(61.8±14.4)과 omeprazole 투여군(97.5±12.1)보다 증가하였으나 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 化痰清火湯 6주 투여군의 gastrin 분비세포는 112.7±17.1개로서 대조군(85.4±13.6)과 omeprazole 투여군(103.8±19.9)에 비해 유의한 증가를 보였다. 化痰清火湯을 투여한 후 gastrin에 대한 면역반응의 density를 관찰한 바 대조군 1주군에서는 미약하게 염색되었으나 omeprazole 투여군과 化痰清火湯 투여군 1주군에서 중등도의 면역반응을 나타내었다. 대조군의 3주군과 6주군에서는 gastrin에 대한 면역반응은 중등도로 염색되었으나 Omeprazole투여군과 화담청화탕 투여군에서는 강하게 염색되었다. 특히 化痰清火湯은 gastrin 분비세포의 수에 있어서는 omeprazole과 거의 유사하게 우수한 수치를 나타내, 胃酸 억제작용이 탁월한 omeprazole과 비슷한 효능이 있는 것으로 보여진다. Gastrin 분비세포의 증가율에 있어, omeprazole은 단계적으로 유사한 증가율을 보이고 있으며, 化痰清火湯도 3, 6주군에서 상대적으로 유사하게 증가하였다. Omeprazole을 투여하면, 위 벽세포의 H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 억제로 위산분비가 완벽하게 차단되어<sup>13,14)</sup>, 胃內 중화(neutralization)가 일어난다. 이러한 胃內 변화, 특히 무염산증(achlorhydria)은 위내분비세포<sup>18)</sup>와 gastrin 세포의 숫자변화를 시키고, 胃腸 hormone인 gastrin의 혈청 농도<sup>19)</sup>를 현저하게 증가시킨다.

본 연구에서 化痰清火湯과 omeprazole 투여 시 gastrin 세포의 增加率이 비슷하다는 것은, omeprazole과 化痰清火湯이 위산분비 억제효과에 있어 그 효능이 유사하다는 것을 의미한다. 그리고 化痰清火湯은 같은 방법으로 연구된 二陳湯<sup>20)</sup>보다 더 뛰어난 효능을 보이는 것으로 조사되었다. Omeprazole을 하

루에 두 번 40 μmol/kg(b.w.)로 投與하는 것은 胃內를 pH 6.0 이상으로 계속 유지시키는데 적절한 용량이다<sup>14,15</sup>). Omeprazole 에 의한 이러한 위산분비 억제작용은 胃에서 지속적으로 일어난다<sup>16</sup>). 본 실험에서 omeprazole 투여 후 지속적인 gastrin 분비세포의 증가는 위산분비의 계속된 억제작용에 의한 것으로 설명할 수 있다. 실험적으로 유도되거나<sup>16,27</sup>), 자연적인 무염산증<sup>18,19,29</sup>)은 금식 시에 혈청 gastrin 농도를 유의하게 증가시키고, 유문동의 gastrin세포 과형성(hyperplasia)을 유발시킨다는 사실이 앞선 연구에서 입증되었다. 이러한 현상은 위내의 산도와 유문동의 gastrin세포에서 분비된 gastrin과의 negative feedback control 에 의해 설명된다<sup>22</sup>). 위산(gastric acid) 분비와 관련된 여러가지 실험동물을 이용한 연구에서 gastrin, histamin 그리고 acetylcholine은 위산 유도물질로 알려졌는데, 이러한 물질들은 위에서 점액분비와 생산을 자극한다고 하였다<sup>9,10</sup>). 위장관 호르몬인 gastrin은 흰쥐 위의 체부 점막에서는 표면상피에서 nitric oxide(NO)를 매개로 하여 점액의 생합성을 촉진시키나, 유문부의 점막에서는 의미있는 변화는 일으키지 않는다고 하였다<sup>30</sup>). 점액 생합성에 관여하는 NO에 대한 면역반응은 같은 체부에서도 표면상피에서는 면역반응을 보였으나 표면상피의 아래에 있는 mucous neck cell에서는 면역반응을 보이지 않아 부위에 따라 차이를 보인다고 하였다. Cholin성 신경자극에 의하여 같은 부위의 표면상피에서보다 심층의 샘상피에서 점액의 생합성을 촉진시키며, 서로 다른 부위에서는 胃의 체부보다 유문부 점액의 생합성을 증가시킨다고 하였다<sup>31</sup>). 이러한 결과로 胃에서의 점액 생산은 胃粘膜의 부위(유문부와 체부)에 따라 서로 다르게 조절되며, 같은 부위에서도 위치에 따라 서로 다른 종류의 점액을 분비한다고 하였다<sup>32</sup>). Mucin은 위장관 점막의 생리학적 방어 기전에 중요한 영향을 미치며, gel을 형성하는 분자량이 무거운 점액 당단백질로 구성되어있다<sup>11</sup>). 胃粘膜의 점액을 분비하는 세포는 표면상피의 점액세포와 샘상피의 점액세포로 분류하며, 이러한 두 종류의 점액세포에서 분비하는 점액은 胃점막의 생리학적 기능에 차이를 나타내고 있다<sup>12</sup>). 胃의 부위별로 체부와 유문부 그리고 점막 표면상피의 점액과 점막 심층 샘상피의 점액간에도 염색성의 차이를 보이는데, 한 절편에서 Alcian blue-PAS 이중염색을 하면 심층의 샘상피에 있는 산성 점액세포는 청색으로, 표면상피에 있는 천연 다당류와 같은 다당류(중성점액세포)는 PAS에 염색되어 적색으로, 표면상피 바로 아래의 점액세포(mucous neck cell)에서는 Alcian blue와 PAS에 공통적으로 염색되어 암청자색으로 염색된다고 하였다<sup>33</sup>). Gastrin은 위산분비를 자극하는 호르몬으로 위점막의 oxyntic region과 유문부의 횡문근 수축에 국소적으로 관여한다. Gastrin을 투여하면 histamine 저장세포를 활성화하여 胃에서 histamine의 방출을 자극하고 벽세포에서 위산 분비를 가속화한다<sup>34</sup>). 또한 위산이 분비됨으로써 胃粘膜의 보호작용이 증가되는데 이는 gastrin이 직접 또는 간접적으로 histamine을 매개로하여 점액의 생합성을 자극한다<sup>35</sup>). 이러한 Histamine은 H<sub>2</sub>수용체 매개에 의하여 세포 내 cyclic AMP 수준을 증가시켜 위산과 위액, 점액당단백질 분비를 조절하고 gastric-non parietal cell로부터 점액의 방출을 조

절하는 胃점막의 생리학적 활성제 역할을 한다<sup>9,36,37</sup>). Acetylcholine은 중요한 위산분비 매개물질로서 胃에서의 mucin합성과 분비를 자극한다고 하였다<sup>38</sup>). Guslandi 등<sup>39</sup>)은 사람에서 omeprazole을 4주 투여한 후 위 점막의 변화를 관찰한 바 omeprazole에 의하여 위액내 중성 점액과 총 점액다당류의 감소를 초래하였으며 omeprazole 투여를 중단 한 후 15일 후에는 점액의 분비량과 점액의 성분이 정상 수준을 유지한다고 하였다. 또한 omeprazole의 투여에 의하여 위액분비의 감소를 초래함으로써 위액의 pH가 증가되어 胃液의 점액 분비와 점도(viscosity)를 감소시킨다고 하였다<sup>40</sup>). 또한 omeprazole 투여에 ethanol.HCl에 의하여 유도한 위점막의 손상 억제와 위산분비의 억제에 대한 胃粘膜 보호를 위하여 Alcian blue에 염색된 산성 점액의 점액의 증가를 초래한다고 하였다<sup>41</sup>).

## 결론

化痰清火湯의 위궤양 치료 효과를 실험적으로 규명하고, 그 작용기전을 이해하기 위하여 Acetic acid로 유발한 위궤양 흰쥐 모델에 化痰清火湯(1.0ml/day)과 omeprazole(0.2mg/day)을 각각 투여한 후, 위산분비와 관련있는 gastrin 분비세포를 면역조직화학적 방법으로 조사하고, 胃의 체부와 유문부의 점막내 점액의 변화를 조직화학적 방법으로 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다. Acetic acid로 유발한 위궤양 흰쥐에 化痰清火湯을 1, 3, 6 주일 동안 投與했을 때 면역염색된 gastrin 분비세포의 수는 88.5 ± 15.7, 94.8 ± 13.6개, 112.7 ± 17.1개로서 대조군에 비하여 증가하는 경향을 보였는데 1, 3주군의 omeprazole 투여군과 유사하게 증가하였고, 化痰清火湯을 투여한 후 gastrin에 대한 면역반응의 density를 관찰한 바 대조군 1주군에서는 미약하게 염색되었으나 化痰清火湯 투여군에서는 중등도의 면역반응을 나타내었으며 대조군의 3주군과 6주군에서는 gastrin에 대한 면역반응은 중등도로 염색되었으나 化痰清火湯 투여군에서는 강하게 염색되었다. Acetic acid로 위궤양을 유발한 후 胃의 체부와 유문부의 점액의 조직화학적 변화를 관찰한 바 대조군의 1주군에서는 체부와 유문부에서 PAS/PAS-AB에 염색된 영역은 점막 두께의 약 1/3부위까지 염색되었고 Alcian blue에 염색된 위의 체부와 유문부의 염색된 영역은 주로 점막의 저부 샘상피에 주로 염색되었다. 점막내 PAS와 Alcian blue에 대한 염색반응은 강하게 나타내었다 그러나 化痰清火湯을 투여한 1주군에서는 체부와 유문부에서 PAS/PAS-AB에 염색된 영역은 점막 두께의 약 2/3 부위까지 염색되었고, Alcian blue에 염색된 위의 체부와 유문부의 염색된 영역은 주로 점막 저부에 주로 염색되었다. 6주군에서의 PAS/PAS-AB에 염색된 점막의 두께는 약 5/6부위까지 염색되었다. 1, 3, 6주군에서의 점막내 PAS에 대한 염색 강도는 중등도로 관찰되었으나 Alcian blue에 대한 염색강도는 강하게 관찰되었다.

이상의 결과로 보아 化痰清火湯 전탕액은 위산분비억제 효과가 있음을 알 수 있고, 이것을 이용하여 위산과다, 위염, 위궤양 치료에 이용할 수 있음을 시사하고 있다.

## 감사의 글

본 논문은 2002년 우석대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구 되었음

## 참고문헌

1. 熊信 : 고급의감, 강서과학기술출판사, 남창, p142, 1990.
2. 柳基遠 외10인 : 비계내과학, 그린문화사, 서울, pp57, 58, 247, 1991.
3. 李順東 : 東醫處方大全, 여강출판사, 서울, p492, 1993.
4. 姜允皓 : 嘈雜·呑酸에 미치는 消食消鬱湯의 효능에 대한 연구, 동국대학교, 석사학위논문, 1991.
5. Isselbacher, K.J. Principles of internal medicine, 3rd ed., McGraw-Hill, pp 1466-1478, 1997.
6. Schubert, M.L., Makhlof G.M. The somatostatin cell as a local modulator of gastric function. Hakanson R, Sundler F(ed) The stomach as an endocrine organ. Elsevier, pp99-108, 1991.
7. Sanvic, A.K., Waldum, H.L. The effect of somatostatin on baseline and stimulated acid secretion and vascular histamine release from the totally isolated vasculary perfused rat stomach. Regul Pept 20, 233-239, 1988.
8. Shulkes, A. Somatostatin. Fuller P, Shulkes A(eds) The gut as an endocrine organ. Bailliere Thndall, London, vol 8:215-236, 1994.
9. Heim, H.K., Oestmann, A., Sewing, K.F. Effects of histamine on protein and glycoprotein production of isolated pig gastric mucosal cells. Pharmacology 40, 265-270, 1990.
10. Scheiman, J.M., Kraus, E.R., Boland, C.R. Regulation of canine gastric mucin synthesis and phospholipid secretion by acid secretagogues. Gastroenterology 102, 1842-1850, 1992.
11. Bansil, R., Stanley, E., Tsukahara, M., La Mont, J.F. Mucin biophysics. Annu Rev Physiol 57, 635-657, 1995.
12. Saganuma, T., Katsuyama, T., Tsukahara, M., Tatematsu, M., Sakakura, Y., Murata, F. Comparative histochemical study of alimentary tracts with special reference to the mucous neck cells of the stomach. Am J Anat 161, 219-238, 1981.
13. Fellenius, E., Berglinth, T., Sachs, G. Substituted benzimidazoles inhibit gastric acid secretion by (H<sup>+</sup>K<sup>+</sup>) ATPase. Nature 290, 159-161, 1981.
14. Larsson, H., Carlsson, E., Junggren, U. Inhibition of gastric acid secretion by omeprazole in the dog and rat. Gastroenterology 85, 900-907, 1983.
15. Yamamoto, O. Okada, S. Effect of a proton pump inhibitor, omeprazole, on gastric secretion and gastric and duodenal ulcers or erosions in rats. Dig Dis Sic 29, 394-401, 1984.
16. Londong, W., Longdong, V., Cederberg, C., Steffen, H. Dose-response study of omeprazole on meal-stimulated gastric acid secretion and gastrin release. Gastroenterology 85, 1373-1378, 1983.
17. Lamer, C.B.H.W., Lind, T., Moberg, S. Omeprazole in Zollinger-Ellison syndrome. New Engl J Med 310, 758-761, 1984.
18. Arnold, R., Hülst, M.V., Neuhof, C.H., Schwarting, H., Becker, H.D., Creutzfeldt, W. Antral gastrin-producing G-cell and somatostatin-producing D-cell in different states of gastric acid secretion. Gut 23, 285-291, 1982.
19. Creutzfeldt, W., Arnold, R., Creutzfeldt, W., Feurle, G., Ketterer, H. Gastrin and G-cell in the antral mucosa of patients with pernicious anaemia, acromegaly and hyperparathyroidism and in a Zollinger-Ellison tumour of the pancreas. Eur J Clin Invest 1, 461-479, 1971.
20. Ekman, L., Hansson, E., Havu, N., Carlsson, E., Lundberg, C. Toxicological studies on omeprazole. Scand J Gastroent 20, suppl. 108, 53-69, 1985.
21. Carlsson, E., Larsson, H., Mattsson, H. Ryberg, B., Sundell, G. Pharmacology and toxicology of omeprazole—with special reference to the effects on the gastric mucosa. Scand J Gastroenterol Suppl. 118, 31-8, 1986.
22. Creutzfeldt, W., Stockmann F., Conlon, J.M. Effect of short- and long-term feeding of omeprazole on rat gastric endocrine cells. Digestion 35(suppl. 1), 84-97, 1986.
23. 許浚 : 東醫寶鑑, 南山堂, 서울, p438, 1979.
24. Takagi, K., Okabe, S., Saziki, R. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. Jap J Pharmacol 19, 418-426, 1969.
25. McManus, J.A., Mowry, R.W. Staining methods. New York : Hoeber Med. Div., Harper & Row, P63, P137, 1960.
26. 신민교 외 : 完譯中藥大辭典, 鼎談, 서울, pp 68-70, 1506, 1679, 1708, 2195, 2240, 4028, 4062, 4093, 5361, 5002, 5027, 1999.
27. Lehy, T., Viollemot, N., Dubrasquet, M., Dufougeray, F. Gastrin cell hyperplasia in rats with chronic antral stimulation. Gastroenterology 68, 71-82, 1975.
28. 崔正宇 외4인 : 二陳湯 煎湯液이 흰쥐 위의 gastrin, histamine, somatostatin 면역반응세포에 미치는 영향, 東醫生理病理學會誌 15, 554-559, 2001.
29. Creutzfeldt, W., Creutzfeldt, C., Arnold, R. The gastrin-producing cells under normal and pathological conditions. Rc Gastroent 7, 93-109, 1975.
30. Ichikawa, T., Ishiharam K., Saigenjim K., Hotta, K. Stimulation of mucus glycoprotein biosynthesis in rat gastric mucosa. Comp Biochem Pharmacol 46, 1551-1557, 1993.
31. Spee-Brand, R., Strous, G.J.A.M., Kramer, M.F. Isolation and partial characterization of rat gastric mucus glycoprotein. Biochem Biophys Acta 621, 104-116, 1980.

32. Ohara, S., Ishihara, K., Hotta, K. Two types of rat gastric mucus glycoprotein subunits. *J Biochem(Tokyo)* 103, 1050-1053, 1988.
33. Ishihara, K., Hotta, K. Comparison of the mucus glycoproteins present in the different layers of rat gastric mucosa. *Comp Biochem Physiol. A Physiol* 104B, 315-319, 1993.
34. Chuang, C.N., Tanner, M., Chen, M.C.Y., Davidson, S., Soll, A.H. Gastrin induction of histamine release from primary cultures of canine oxyntic mucosal cells. *Am J Physiol* 263, G460-G465, 1992.
35. Sandvik, A.K., Waldum, H.L. CCK-B(gastrin)receptor regulates gastric histamine release and acid secretion. *Am J Physiol* 260, G925-928, 1991.
36. Mardh, S., Song, Y.H., Carlsson, C., Bjorkman, T. Mechanism of stimulation of acid production in parietal cells isolated from the pig gastric mucosa. *Acta Physiol Scand* 131, 589-598, 1987.
37. Sewing, K.F.R., Beinborn, M. Prostaglandin(PG)E2 receptors on porcine chief cells. *Dig Dis Sci* 33, 909, 1988.
38. Yoshimura, K., Kraus, E.R., Shimakura, S., Scheiman, J.M., Boland, C.R. Role of prostaglandine E2 in cholinergic mediated glycoprotein synthesis in canine antrum. *Dig Dis Sci* 37, 1045-1050, 1992
39. Guslandi, M., Franceschi, M., Fanti, L., Pellegrini, A., Tittobello, A. Omeprazole-induced changes in gastric mucus secretion. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 14, 219-223, 1992.
40. Goddard, A.F., Spiller, R.C. The effect of omeprazole on gastric juice viscosity, pH and bacterial counts. *Aliment Pharmacol Ther* 10, 105-109, 1996.
41. Blandizzi, C., Gherardi, G., Marveggio, C., Natale, G., Carignani, D., Del Tacca, M. Mechanism of protection by omeprazole against experimental gastric mucosal damage in rats. *Digestion* 56, 220-229, 1995.