

Mouse의 십이지장 점막 염증에 대한 사삼맥문동탕의 면역반응 연구

최준혁, 임성우

동국대학교 한의과대학 내과학교실

The Effects of *Sasammaickmoondong-tang* against Duodenal Mucosal Lesions

Jun-Hyuk Choi, Seong-Woo Lim

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University

Objectives : This study was carried out to investigate the effects of *Sasammaickmoondong-tang*(SME) on duodenal mucosal lesions induced by indomethacin in mouse.

Methods : The normal group is that no inflammation elicited mouse. Control group is that gastro-inflammation elicited mouse. Sample group is that SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation.

Results : In the common morphology and histochemical change, control group was observed various injury - mucous surface cell, micro-villi, paneth cell, surface epithelial cell, goblet cell - by hemorrhagic erosion, while sample group was as same as normal group.

In the immunohistochemical change, the distributions of COX-1, Bcl-2, and BrdU treated with SME noticeably increased than control group($p<0.05$). The distributions of TUNEL, NF- κ B, COX-2, IL-2R- α , NK-1.1, ICAM-1, and CD11b/18 treated with SME noticeably decreased than control group($p<0.05$). And the distribution of SBA was as same as normal group.

Conclusion : According to the above results, it is supposed that *Sasammaickmoondong-tang* is applicable to duodenal mucosal lesions.

Key Words: *Sasammaickmoondong-tang*, duodenal mucosal lesions

1. 緒 論

십이지장 점막 손상은 점막, 점막하조직 및 근육층까지 침범되는 조직의 결손으로, 점막을 보호하는 방어인자와 점막을 손상시키는 공격인자 사이의 균형이 깨어져 십이지장염과 소화성 궤양이 유발된다^{1,2}.

소화성 궤양은 상복부의 동통과 트림, 헛배부름, 구역 및 구토, 토혈과 변혈 등의 증상이 나타나며³, 한의

학적으로는 胃脘痛, 吞酸, 嘈雜, 懊憹, 心痛 등의 범주에 속한다. 이 중 소화성 궤양의 흔한 증상인 胃脘痛은 胃脘部에서 心窩部 가까운 곳에 疼痛이 발생하는 것으로 임상에서 주로 噯氣, 吞酸, 吐酸 등과 병발하며, 원인에 따라 食積, 瘀血 및 痰飲으로 나눈다⁴.

점막 손상으로 유발된 위염과 소화성 궤양의 치료에 대한 한의학적 연구에는 手拈散⁵, 丹蔘補血湯과 保和丸⁶, 歸脾湯, 內消散⁸, 地榆湯⁹, 香砂六君子湯¹⁰, 烏貝散¹¹, 四君子湯合蒼朮地榆湯¹², 桃花湯¹³, 槐花散¹⁴, 大建中湯¹⁵ 등 다양한 처방이 활용되었는데, 이들은 健脾, 消導, 溫中, 清熱, 祛風除濕, 止血, 止痛의 효능이 대부분이었으며, 위액 분비 기능과 조직학적 변화를

· 접수 : 2003년 4월 10일 · 채택 : 2003년 5월 10일
· 교신저자 : 최준혁, 서울특별시 강남구 논현동 37-21 동국대
강남한방병원
(Tel: 02-3416-9791 Fax: 02-3416-9790, E-mail:
ana1913@hanmail.net)

통해 점막 손상의 회복 효과를 보고하였으나, 점막 손상을 胃陰不足의 병리로 보고 점막 방어 기능과 염증반응의 효과를 관찰한 연구는 없었다.

沙蔘麥門冬湯은 吳鞠通의 《溫病條辨》¹⁶에 처음 수록된 처방으로 淸養肺胃, 生津潤燥의 효능을 가지고 있어, 胃陰不足으로 나타나는 胃脘痛, 口乾咽燥, 飲食不思, 食後飽脹, 大便乾燥, 心煩微熱 등에 적용된다¹⁷.

따라서, 점막 손상으로 인한 상복부 동통과 트림, 헛배부름 등의 증상이 胃陰不足으로 인한 증상과 유사하여, 養陰潤燥의 효능이 있는 沙蔘麥門冬湯이 십이지장 점막 손상을 회복시킬 수 있을 것으로 생각된다.

이에 저자는 indomethacin으로 유발된 십이지장 점막 손상에 대한 沙蔘麥門冬湯의 면역반응을 실험적으로 규명하기 위하여 점막 보호인자, 세포자기살해, 세포증식, 복합당질, 염증관련매개물질, 세포성 면역 및 세포기능 등의 변화를 관찰하였던 바 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 재료

1) 동물

대한실험동물센터에서 분양 받은 태령 4주된 ICR 계 수컷 생쥐를 무균사육장치에서 2주일 동안 적응시킨 후 체중이 30g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 동물은 정상군, 십이지장내 염증 유발군(대조군), 염증 유발 후 沙蔘麥門冬湯(Sasammaickmoondong-tang) 추출액 투여군(실험군)으로 나누었고, 시간의 경과에 따라 1, 4 및 7일군으로 세분화시켜 각 군에 10마리씩 배정하였다.

2) 약물의 제조 및 투여

沙蔘麥門冬湯은 《溫病條辨》¹⁶에 준하여 동국대학교 한의과대학 부속 경주한방병원에서 조제된 것으로, 1침을 증류수 1,000ml에 넣고 3시간 동안 전당한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 100ml로 감압농축하여 실험군에 십이지장내 염증 유발 후 1, 4 및 7일 동안 각각 3.3ml/kg씩 경구투

여 하였다.

2. 방법

1) 십이지장내 염증 유발

십이지장내 염증을 유발하기 위해서 indomethacin (Sigma, USA)을 0.9% NaCl이 포함된 70% 에탄올에 희석시킨 후 10mg/kg를 대조군과 실험군에 5일 동안 경구투여 하였다.

2) 조직표본 제작

십이지장내 염증유발 후 1, 4 및 7일이 경과되었을 때 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 위 연결 십이지장(duodenum)을 적출하여 실온에서 24시간 동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 μ m 두께의 연속절편으로 제작하였다.

3) 점액분비세포 변화 관찰을 위한 조직화학적 표본 제작

점액분비세포(mucous secreting cell)의 변화를 알아보기 위해 Alcian blue-PAS-Orange G 염색을 실시하였다. 먼저 절편을 alcian blue solution(pH 2.5 : Sigma)에 30분간 염색시켰다. 그 다음 periodic acid(Sigma)에서 10분간 산화시킨 후 schiff reagent에서 15분 동안 반응시켰다. 반응 완충을 위해 sulfurous rinse에 각 2분씩 3회 세척하고 hematoxylin에서 1분 동안 대조 염색 하였다. 그리고 0.5% orange G(Sigma) 용액에 처리한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

4) 면역조직화학적 표본 제작

(1) 점막 내 cyclooxygenase-1 분포 변화

점막상피세포의 보호기전에 관여하는 cyclooxygenase-1(COX-1)의 분포변화를 관찰하기 위해 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 proteinase K(20 μ g/ml, DAKO, Denmark)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum(DAKO)에서 1시간 동안 반응시켰다. 1차 항체인 rabbit anti-mouse COX-1(1:250, Chyman, USA)로 4 $^{\circ}$ C humidified chamber에서 48시간 동안 반

응시킨 후 2차 항체인 goat anti-rabbit IgG(1:100, DAKO)로 4℃ humidified chamber에서 24시간 동안 반응시켰다. avidin biotin complex(ABC : Vector Lab, USA)에 1시간 동안 실온에서 반응시킨 후 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(DAB : Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

(2) 점막 내 세포자기살해와 세포증식 변화

점막상피세포에서 일어나는 세포자기살해에 관여하는 신호분자의 하나인 Bcl-2의 분포 변화를 관찰하기 위해 rabbit anti-mouse Bcl-2(Pharmingen, USA) 단클론항체를 이용하였고, 점막 내 세포증식의 변화를 관찰하기 위해 BrdU를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 실험동물에서 조직을 적출하기 5시간 전, 3시간 전, 1시간 전에 생리식염수에 녹인 5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU, Sigma) 50mg/kg을 복강주사 하였다. 얻어진 연속절편은 4℃와 37℃의 2N HCl용액에서 각각 20분씩 반응시켜 DNA-denaturation을 일으켰다. 0.1M borate 완충용액 처리로 안정시킨 후 비특이적 면역반응을 억제하기 위해 0.01%의 proteinase K(DAKO, Denmark)가 포함된 normal goat serum(1:20, DAKO)에 1시간 동안 반응시켰다. 그 다음 1차 항체인 mouse anti-mouse BrdU(1:50, Amersham, UK)로 4℃ incubation chamber내에서 48시간 동안 반응시켰으며 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하였다.

(3) 복합당질의 분포 변화 관찰

복합당질(glycoNORjugate)인 soybean agglutinin(SBA)의 피부상피에서의 분포 변화를 조사하기 위해 lectin을 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 조직을 실온에서 1% bovine serum albumin(BSA : Sigma)에 30분간 처리한 다음 1:100으로 희석된 biotinylated anti SBA(Sigma)에 4℃ incubation chamber 내에서 24시간 동안 반응시켰다. 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하였다. Lectin 반응의 강도는 -, +, ++, 그리고 +++ 등으로 표시하였다.

(4) 염증관련 매개물질의 변화

점막 내 염증관련 신호에 관여하는 nuclear factor(NF)- κ B와 cyclooxygenase(COX)-2의 변화를 관찰하기 위해 rabbit anti-mouse NF- κ B p50(1:200, Santa Cruz Biotech) 그리고 rabbit anti-mouse COX-2(1:500, Chyman, USA) 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

(5) 세포성 면역 변화

점막 내 세포성 면역반응의 변화를 관찰하기 위해 세포성 면역 매개 사이토카인(cytokine)인 인터루킨(interleukin : IL)-2와 자연살해세포(natural killer cell : NK-cell)의 분포변화를 rat anti-mouse CD25R- α (1:200, Pharmingen)와 hamster anti-mouse NK-1.1(1:100, Pharmingen) 항체를 사용하여 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

(6) 세포기용 변화

점막 내 세포기용에 관여하는 세포부착분자(intercellular adhesion molecule : ICAM)-1과 그 관련된 ligand인 CD11b/18의 분포변화를 관찰하기 위해 rabbit anti-mouse ICAM-1(CD54 : Serotec)과 rat anti-mouse Mac-1(Serotec, UK) 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

5) Apoptosis 변화 관찰

Apoptotic 세포의 분포변화를 조사하기 위해 in situ apoptosis detection kit(Apoptag, Intergen, USA)를 이용한 TUNEL(terminal deoxynucleotid transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labelling) 방법을 실시하였다. 먼저 조직 절편을 proteinase K에 5분간 proteolysis시킨 다음 equilibration buffer에서 20초간 처리하였다. 그 다음 strength TdT enzyme(36 μ l TdT enzyme : 72 μ l reaction buffer)을 처리하여 37℃의 humidified chamber에서 1시간 동안 반응시킨 후 strength stop/wash buffer에서 10분 동안 처리하였다. anti-digoxigenin-peroxidase에 1시간 동안 반응시킨 후 DAB로 처리하였다. hematoxylin으로 대조 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

6) 영상분석과 통계처리

면역조직화학과 TUNEL 염색 결과의 수치화를 위

Table 1. The Amount and Composition of *Sasammaickmoondong-tang* Extracts(SME)

Species	Part used	Latin name	Weight(g)
<i>Adenophora tetraphylla</i> FISCH.	Roots	Adenophorae Radix	11.25
<i>Ophiopogon japonicus</i> KER-GAWL.	Roots	Ophiopogonis Tuber	11.25
<i>Trichosanthes kirilowii</i> MAXM.	Roots	Trichosanthis Radix	5.63
<i>Morus alba</i> L.	Herb	Mori Folium	5.63
<i>Dolichos lablab</i> L.	Seed	Dolichoris Semen	5.63
<i>Polygonatum odoratum</i> MILL.	Rhizomes	Polygonati odorati Rhizoma	7.50
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Roots	Glycyrrhizae Radix	3.75
Total			50.64

Table 2. Sugar Specificities and Inhibitory Carbohydrates of Lectins

Lectin	Optum dilution	Sugar specificity
SBA	4 μ g/ml	D-N-acetyl galactosamine

해 Optimas 5.2(Optima Co., USA)를 이용한 영상분석(image analysis)을 실시하였다. 영상분석 결과는 Sigma Plot 4.0(Sigma)을 통한 student T test로 유의성을 검증하였다.

III. 結 果

1. 조직화학적 변화

정상군에서 중성점액질(neutral mucin)을 분비하는 술잔세포는 검푸른색으로, 산성점액질(acid mucin)을 분비하는 술잔세포는 적자색으로 염색되었는데, 적자색의 술잔세포의 수가 검푸른색의 술잔세포보다 많았다.

대조군의 출혈성 미란 주변의 점막 상피에는 두 종류의 술잔세포가 모두 적었다(Fig. 1).

실험군에서는 정상군과 비슷한 분포경향을 보여 대조군에 비해 술잔세포의 수가 많았다. 또한 창자샘의 바닥부위에서도 분비과립이 가득 찬 술잔세포들이 많이 관찰되었다(Fig. 2, 3). 한편 대조군에서 흡수세포의 표면에서 솔 모양 가장자리는 관찰되지 않았지만, 실험군에서는 검푸른색 양성반응을 보인 솔 모양 가장자리가 흡수세포 표면에서 잘 관찰되었다.

2. 점막 방어 기능에 미치는 효과

1) 점막 내 COX-1 분포 변화

점막 고유층 창자샘주변에서 분포하는 COX-1 양성반응세포는 대조군에서 십이지장 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 그 분포가 감소하여 7일 후에는 정상군에 비해 85% 감소한 202.0 \pm 17.0 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Fig. 4, Table 3). 대조군의 이러한 감소에 비해 실험군은 COX-1 양성반응세포의 감소가 적었으며, 7일 후에는 대조군에 비해 642.5%가 증가된 1,298.0 \pm 58.3pick cell이 관찰되어 유의성 있는 증가를 나타내었다(Fig. 5, Table 3).

2) 점막 내 세포자기살해와 세포증식 변화

(1) 세포자기살해의 변화

점막 상층(apical surface)에서 TUNEL 양성반응세포는 대조군에서 십이지장 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 그 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 389.2% 증가한 8,293.0 \pm 218.9 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Fig. 6, Table 4). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 TUNEL 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 60.3%가 감소된 3,296.0 \pm 125.1pick cell이 관찰되어 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 3, Table 4). (2) 세포 자기살해관련 신호분자의 변화

점막상피와 점막 고유층 창자샘주변에서 분포하는 Bcl-2 양성반응세포는 대조군에서 십이지장 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 그 분포가 감소하여 7일 후에는 정상군에 비해 89.1% 감소한 2,328.0 \pm 114.9 / 200,000pick cell로 관찰되었다(Fig. 8, Table 4).

대조군의 이러한 감소에 비해 실험군은 Bcl-2 양성반응세포의 감소가 적었으며, 7일 후에는 대조군에 비해 822.2%가 증가된 19,142.0±1,073.4pick cell이 관찰되어 유의성 있는 증가를 나타내었다(Fig. 9, Table 4).

(3) 세포증식 변화

점막상피와 점막 고유층 창자샘주변에서 분포하는 BrdU 양성반응세포는 대조군에서 십이지장 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 그 분포가 감소하여 7일 후에는 정상군에 비해 87.7% 감소한 845.0±20.1 / 200,000pick cell로 관찰되었다(Fig. 10, Table 4). 대조군의 이러한 감소에 비해 실험군은 BrdU 양성반응

세포의 감소가 적었으며, 7일 후에는 대조군에 비해 743.3%가 증가된 6,281.0±146.2pick cell이 관찰되어 유의성 있는 증가를 나타내었다(Fig. 11, Table 4).

3) 점막 내 복합당질 변화

정상군의 경우 SBA 양성반응이 흡수세포에서 약한 반응, 술잔세포와 파넛세포에서 중등정도의 반응을 보였다(Table 5). 그러나 대조군의 흡수세포와 술잔세포에서는 무반응, 파넛세포에서는 약한 반응을 보였다(Fig. 12, Table 5). 이에 비해 실험군에서는 흡수세포와 술잔세포에서 약한 반응, 파넛세포에서 중등정도의 반응을 보여 정상군과 유사한 SBA 양성반

Table 3. The Image Analysis of Immunohistochemistry for COX-1 in SME treated Mouse at Day-7 after Gastro-Inflammation Elicitation

Organ	Group		
	Normal	Control	Sample
duodenum	1,375.4±55.2	202.0±17.1	1,298.0± 58.3*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 50-150)

Abbreviation > M ± S.D. : Mean ± Standard Deviation

Normal : NO inflammation elicited mouse

Control : gastro-inflammation elicited mouse

Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation

* : p<0.05 compared with control group

Table 4. The Image Analysis of TUNEL and Immunohistochemistry for Bcl-2 and BrdU in SME treated Mouse at Day-7 after Gastro-Inflammation Elicitation

Antibody	Organ	Group		
		Normal	Control	Sample
Apoptosis	duodenum	2,131.0±130.6	8,293.0±218.9	3,296.0±125.1*
Bcl-2	duodenum	21,700.0±570.1	2,328.0±114.9	19,142.0±1,073.4*
BrdU	duodenum	6,859.4±183.8	845.0±20.1	6,281.0±146.2*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 50-150)

Abbreviation > M ± S.D. : Mean ± Standard Deviation

Normal : NO inflammation elicited mouse

Control : gastro-inflammation elicited mouse

Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation

* : p<0.05 compared with control group

Table 5. The Distribution of SBA in SME treated Mouse at Day-7 after Gastro-Inflammation Elicitation

Organ	Position	Group		
		Normal	Control	Sample
duodenum	absorption cell	+	-	+
	goblet cell	++	-	+
	paneth cell	++	+	++

Abbreviation > - : negative, + : weak, ++ : moderate, +++ : strong

Normal : NO inflammation elicited mouse

Control : gastro-inflammation elicited mouse

Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation

* : p<0.05 compared with control group

응을 보였다(Fig. 13, Table 5).

3. 염증반응에 대한 면역 효과

1) 염증관련 매개물질 변화

(1) NF-κB p50 변화

점막 고유층에서 NF-κB p50 양성반응세포는 대조군에서 십이지장 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 그 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 275.1% 증가한 5,053.0±129.2 / 200,000pick cell로 관찰되었다(Fig. 14, Table 6). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 NF-κB p50 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 30.0%가 감소된 3,892.0±153.1pick cell이 관찰되어 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 15, Table 6).

(2) 전염증적 물질 변화

점막 고유층에서 COX-2 양성반응세포는 대조군에서 십이지장 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 그 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 1,075.1% 증가한 11,888.0±1,510.7 / 200,000pick cell

로 관찰되었다(Fig. 16, Table 6). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 COX-2 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 77.4%가 감소된 2,687.0±120.0pick cell이 관찰되어 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 17, Table 6).

2) 세포성 면역 변화

(1) IL-2R-α 변화

점막 고유층에서 IL-2R-α 양성반응세포는 대조군에서는 십이지장 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 그 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 562.1% 증가한 1,945.0±77.5 / 200,000pick cell로 관찰되었다(Fig. 18, Table 7). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 IL-2R-α 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 35.8%가 감소된 1,249.0±78.7pick cell이 관찰되어 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 19, Table 7).

(2) 자연살해세포의 분포 변화

점막 고유층에서 NK-1.1 양성반응세포는 대조군에서 십이지장 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수

Table 6. The Image Analysis of Immunohistochemistry for NF-κB p50 and COX-2 in SME treated Mouse at Day-7 after Gastro-inflammation Elicitation

Antibody	Organ	Group		
		Normal	Control	Sample
NF-κB p50	duodenum	1,840.2±111.9	5,053.0±129.2	3,892.0±153.1*
COX-2	duodenum	1,105.0±135.0	11,888.0±1510.7	2,687.0±119.9*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 50-150)
 Abbreviation > M ± S.D. : Mean ± Standard Deviation
 Normal : NO inflammation elicited mouse
 Control : gastro-inflammation elicited mouse
 Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation
 * : p<0.05 compared with control group

Table 7. The Image Analysis of Immunohistochemistry for IL-2R-α and NK-1.1 in SME treated Mouse at Day-7 after Gastro-inflammation Elicitation

Antibody	Organ	Group		
		Normal	Control	Sample
IL-2R-α	duodenum	346.0±16.5	1,945.0±77.5	1,249.0±78.7*
NK-1.1	duodenum	1,378.2±86.2	16,446.0±774.2	4,106.0±103.0*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 50-150)
 Abbreviation > M ± S.D. : Mean ± Standard Deviation
 Normal : NO inflammation elicited mouse
 Control : gastro-inflammation elicited mouse
 Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation
 * : p<0.05 compared with control group

Table 8. The Image Analysis of Immunohistochemistry for ICAM-1 and CD11b/18 in SME treated Mouse at Day-7 after Gastro-Inflammation Elicitation

Antibody	Organ	Group		
		Normal	Control	Sample
ICAM-1	duodenum	2,100.0±79.1	9,978.0±144.4	3,347.0±125.7*
CD11b/18	duodenum	423.0±10.2	3,340.0±108.6	1,257.0±81.4*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 50-150)

Abbreviation > M ± S.D. : Mean ± Standard Deviation

Normal : NO inflammation elicited mouse

Control : gastro-inflammation elicited mouse

Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation

* : p<0.05 compared with control group



Fig. 1. The morphology of villi from control group. The goblet cell were disappeared. Alcian blue-PAS-Orange G. ×200.



Fig. 2. The morphology of villi from sample group. The NORfrigation of goblet cell same as normal. Alcian blue-PAS-Orange G. ×200.



Fig. 3. The magnification of villi from sample group. The dark blue colored golbet cell and purple reddish colored goblet cell were seen. Alcian blue-PAS-Orange G. ×400.

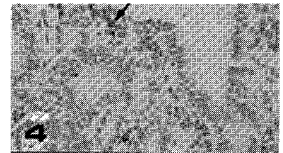


Fig. 4. The immunohistochemical stain for COX-1 in villi from control group. The COX-1 positive cells in region of hemorrhagic erosion were disappeared. ×200.

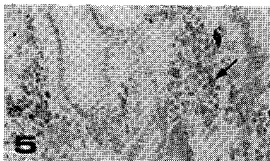


Fig. 5. The immunohistochemical stain for COX-1 in villi from sample group. The COX-1 positive cells in larmina propria were seen. ×200.



Fig. 6. The immunohistochemical stain for TUNEL in villi from control group. The TUNEL positive cells in region of hemorrhagic erosion were increased. ×200.



Fig. 7. The immunohistochemical stain for TUNEL in villi from sample group. The TUNEL positive cells in larmina propria were decreased. ×200.

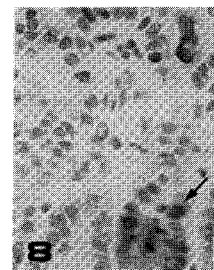


Fig. 8. The immunohistochemical stain for Bcl-2 in villi from control group. The Bcl-2 positive cells in region of hemorrhagic erosion were decreased. ×200.



Fig. 9. The immunohistochemical stain for Bcl-2 in villi from sample group. The Bcl-2 positive cells in lamina propria were increased. $\times 200$.

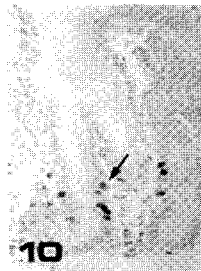


Fig. 10. The immunohistochemical stain for BrdU in villi from control group. The BrdU positive cells in region of hemorrhagic erosion were decreased. $\times 200$.

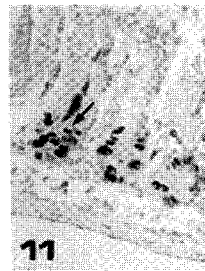


Fig. 11. The immunohistochemical stain for BrdU in villi from sample group. The BrdU positive cells in lamina propria were increased. $\times 200$.

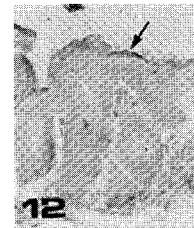


Fig. 12. The immunohistochemical stain for SBA reaction in villi from control group. The SBA positive reaction in region of hemorrhagic erosion were decreased. $\times 200$.



Fig. 13. The immunohistochemical stain for SBA reaction in villi from sample group. The SBA positive reaction in lamina propria were increased. $\times 200$.

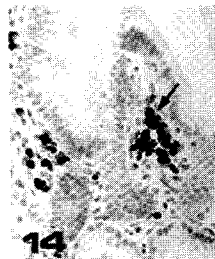


Fig. 14. The immunohistochemical stain for NF- κ B in villi from control group. The NF- κ B positive cells in region of hemorrhagic erosion were increased. $\times 200$.



Fig. 15. The immunohistochemical stain for NF- κ B in villi from sample group. The NF- κ B positive cells in lamina propria were decreased. $\times 200$.

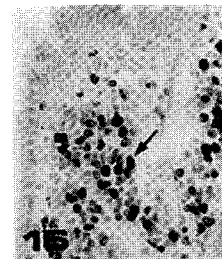


Fig. 16. The immunohistochemical stain for COX-2 in villi from control group. The COX-2 positive cells in region of hemorrhagic erosion were increased. $\times 200$.



Fig. 17. The immunohistochemical stain for COX-2 in villi from sample group. The COX-2 positive cells in lamina propria were decreased. $\times 200$.

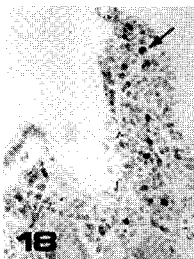


Fig. 18. The immunohistochemical stain for IL-2R- α in villi from control group. The IL-2R positive cells in region of hemorrhagic erosion were increased. $\times 200$.



Fig. 19. The immunohistochemical stain for IL-2R- α in villi from sample group. The IL-2R positive cells in lamina propria were decreased. $\times 200$.

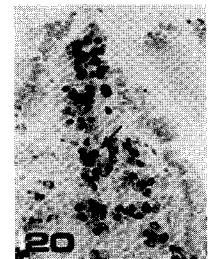


Fig. 20. The immunohistochemical stain for NK-1.1 in villi from control group. The NK-1.1 positive cells in region of hemorrhagic erosion were increased. $\times 200$.



Fig. 21. The immunohistochemical stain for NK-1.1 in villi from sample group. The NK-1,1 positive cells in lamina propria were decreased. $\times 200$.

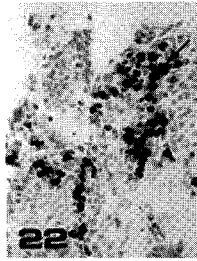


Fig. 22. The immunohistochemical stain for ICAM-1 in villi from control group. The ICAM-1 positive cells in region of hemorrhagic erosion were increased. $\times 200$.

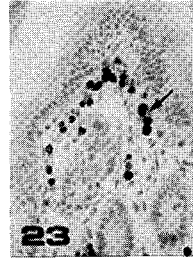


Fig. 23. The immunohistochemical stain for ICAM-1 in villi from sample group. The ICAM-1 positive cells in lamina propria were decreased. $\times 200$.

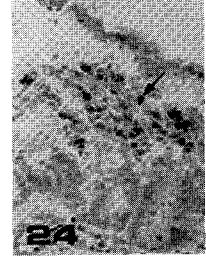


Fig. 24. The immunohistochemical stain for CD11b/18 in villi from control group. The CD11b/18 positive cells in region of hemorrhagic erosion were increased. $\times 200$.



Fig. 25. The immunohistochemical stain for CD11b/18 in villi from sample group. The CD11b/18 positive cells in lamina propria were decreased. $\times 200$.

록 그 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 1,193.3% 증가한 $16,446.0 \pm 774.2 / 200,000$ pick cell로 관찰되었다(Fig. 20, Table 7). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 NK-1.1 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 75.0%가 감소된 $4,106.0 \pm 103.0$ pick cell이 관찰되어 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 21, Table 7).

3) 세포기능 변화

(1) ICAM-1 변화

점막 고유층에서 ICAM-1 양성반응세포는 대조군에서 십이지장 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수

록 그 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 475.1% 증가한 $9,978.0 \pm 144.3 / 200,000$ pick cell로 관찰되었다(Fig. 22, Table 7). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 ICAM-1 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 66.5%가 감소된 $3,347.0 \pm 125.7$ pick cell이 관찰되어 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 23, Table 7).

(2) CD11b/18 분포 변화

점막 고유층에서 CD11b/18 양성반응세포는 대조군에서 십이지장 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 그 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 789.6% 증가한 $1,257.0 \pm 81.2 / 200,000$ pick cell로 관찰되었다(Fig. 24, Table 8). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 CD11b/18 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 62.4%가 감소된 $1,257.0 \pm 81.4$ pick cell이 관찰되어 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 25, Table 8).

IV. 考 察

십이지장 점막 손상에 의한 십이지장염과 소화성 궤양은 강력한 위산분비 억제제와 점막방어인자 증강제의 사용에도 불구하고 난치성 궤양이 존재하고,

출혈, 천공 및 협착의 합병증이 감소되지 않고 있으며, 치유 후에도 재발하는 비율이 많은 것이 현재 치료의 문제점으로 지적되고 있다. 따라서, 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 기존의 위액 분비 기능과 조직학적 변화를 통한 효과 검증과 함께 점막 손상에 대한 방어기능과 염증반응에 대한 면역 효과까지 관찰되어야 실험적 유의성이 있을 것으로 생각된다.

본 연구는 沙蔘麥門冬湯의 투여로 인한 십이지장 점막 손상의 회복을 확인하기 위해 진행되었는데, 조직화학적 변화, 점막 방어 기능에 대한 효과 및 염증반응에 대한 면역 효과를 관찰하여 유의성이 있는 결과가 나타났다.

십이지장 점막 손상은 환경, 유전, 스트레스, 약물 등에 의해 점막을 보호하는 방어인자와 점막을 손상시키는 공격인자 사이의 균형이 깨어져, 점막과 점막하조직이 결손을 일으켜 위염과 소화성 궤양을 주도하는데, 주로 1차 보호장벽인 점액분비세포의 손상으로 기인된다. 이러한 점액분비의 손상은 위산과 pepsin의 분비증가, 점막 혈액 흐름의 차단, 내재성 prostaglandin 분비 감소, 세포분열의 억제 등을 들 수 있다¹².

십이지장 점막 손상 치료로는 공격인자를 억제시키거나 방어인자를 증강시키는 방법이 있는데, 공격인자를 억제하는 방법으로 제산제, 항choline작용 약물, 항pepsin약물, histamine H2-수용체 길항제 등이 있으며, 방어인자를 증강시키는 방법으로 소화관 점막보호약이나 점막재생촉진약물 등이 있다¹⁸.

십이지장 점막 손상으로 유발되는 대표적인 질환으로 십이지장염과 소화성 궤양을 들 수 있으며, 80% 이상에서 심와부 동통이 발생하고, 트림, 헛배부름, 구역 및 구토, 속쓰림이 있으며, 심한 경우 토혈과 변혈 등의 증상이 나타난다³.

소화성 궤양은 위와 상부십이지장에 발생하는 만성적 질환으로 인구의 약 10%가 생애 중 경험하는 흔한 질환으로 인체에 치명적 영향을 주지는 않으나 지속적인 통증을 유발해 환자의 일상생활에 장애를 준다. 초기에 잘 치료하지 않으면 심각한 합병증을 유발하고 재발이 잦다⁹. 소화성 궤양은 지역, 인종, 성

별, 연령 등에 따라서 그 발생 양상이 다르고, 직업, 식생활 습관 및 다른 질환 등과도 관련이 있는 것으로 알려져 있다²⁰. 우리 나라에서는 생활 수준의 향상과 건강에 대한 관심 증가, 그리고 상부위장관 내시경검사의 보편화로 소화성 궤양의 발견율이 높아지고 있으며, 1980년 이후 위궤양보다 십이지장궤양의 발생률이 더 높다는 보고²¹가 있었지만, 윤 등²²의 연구에 의하면 최근엔 소화성 궤양군의 평균 연령이 높아지고, 약제 복용에 의한 경우가 증가함으로써 위궤양이 증가하는 추세라 한다. 소화성 궤양의 치료제는 궤양의 발생 기전과 연관하여 위산이나 펩신 등 공격 인자를 감소시키는 약제와 방어 인자를 증강시키는 약제로 대별되고, 그 외에도 명확하게 구별하기 힘들나 양쪽 기전에 다 작용하는 약제들이 있다²³. 1970년대 강력한 위산분비 억제제인 히스타민 수용체 길항제가 치료제로 등장한 이후 탁월한 치료효과를 보여 현재는 H2 길항제가 널리 사용되고 있으며, prostaglandin 제제를 포함한 위점막 방어인자 증강제들이 개발되어 소화성 궤양 환자의 빠른 증상 호전과 신속한 궤양 병소 치유를 기대할 수 있게 되었다. 그러나 이러한 강력한 위산분비 억제제와 점막방어인자 증강제의 사용에도 불구하고 아직도 난치성궤양이 존재하고, 출혈, 천공 및 협착의 합병증의 빈도가 감소되지 않음이 보고되고 있으며, 치유 후 많은 환자에서 재발한다는 것이 현재 치료의 문제점이다²⁴.

최근 *Helicobacter pylori*(*H. pylori*)가 소화성 궤양 중 특히 난치화나 재발과 밀접한 관계가 있다는 것이 밝혀졌다. 우리 나라에서는 소화성 궤양환자에서 *H. pylori* 감염율에 대한 보고가 연구마다 차이를 보이는데, 위궤양은 52.6~81.3%, 십이지장 궤양에서는 72~100%로 소화성 궤양의 치료로 이의 박멸약제요법이 주장되고 있으나, 아직도 *H. pylori*의 감염경로, 감염된 모든 환자에서 궤양이 생기지 않는 이유, 유행지역에서 *H. pylori* 박멸후 재감염율 등이 밝혀지지 않아 일부에서는 아직 *H. pylori* 박멸약제요법에 완전히 동의하지 않고 있는 실정이다¹⁹. 김 등²⁵의 연구에 의하면 *H. pylori* 양성인 소화성 궤양 환자를 치료하였을 경우 84.9%에서 성공적인 박멸이 이루어졌으

나, 재균 후 9개월째 13.6%의 비교적 높은 재감염을 보였다 하였고, 따라서, 소화성 궤양의 치료는 합병증과 재발의 방지를 위한 근원적인 대책이 필요하다.

점막 손상으로 유발된 염증과 소화성 궤양의 치료에 대한 최근 한의학적 연구로는, 손¹¹이 四君子湯合蒼朮地榆湯이 위점막 손상에 대한 방어효과가 있다고 하였고, 이¹²가 桃花湯이 만성 유문부 협착성 소화성 궤양에 유효하다고 하였으며, 강¹³이 槐花散이 항궤양효과와 지혈 및 혈액응고효과가 있다고 했고, 김¹⁴은 大建中湯이 유문결찰궤양에 대해서는 궤양발생억제효과가 있으나 indomethacin 유발 궤양에 대해서는 유의성이 없다고 하였다. 이러한 연구들은 위액 분비 기능과 조직학적 변화를 통한 관찰로 유효성이 확인되었는데, 점막 방어 기능과 염증반응의 면역 효과에 대한 관찰은 이루어지지 않았다.

소화성 궤양은 한의학적으로, 胃脘痛, 吞酸, 嘈雜, 懊憹, 心痛 등의 범주에 속하며, 情志所傷과 飲食不節로 인한 脾胃의 升降失調와 燥濕失調를 기본 病理로 보았다. 胃脘痛은 胃脘部에서 心窩部 가까운 곳에 疼痛이 발생하는 것으로 임상에서 주로 暖氣, 吞酸, 吐酸 등과 병발하며, 원인에 따라 食積, 瘀血 및 痰飲으로 나눈다¹⁵. 치법으로는 和胃降逆, 消食化滯, 溫化痰飲, 疏肝利氣, 溫中健脾, 養陰潤燥, 清胃降火, 補益胃氣, 消導和胃, 順氣寬中, 祛濕化痰, 昇清降濁, 活血化瘀, 固澀止瀉 등이 다양하게 적용될 수 있는데¹⁶, 최근의 실험적 연구에 사용된 처방들은 健脾, 消導, 溫中, 清熱, 祛風除濕, 止血, 止痛의 효능이 대부분이었다.

이러한 위염과 소화성 궤양에 대한 치법 중 養陰潤燥의 효능이 있는 沙蔘麥門冬湯은 吳鞠通的 《溫病條辨》¹⁶에 처음 수록된 처방으로 沙蔘, 麥門冬, 天花粉, 桑葉, 白扁豆, 玉竹, 甘草로 구성되어 있으며, 胃陰不足으로 나타나는 胃脘痛, 口乾咽燥, 飲食不思, 食後飽脹, 大便乾燥, 心煩微熱 등에 적용된다^{16,17}.

方中の 沙蔘은 滋陰清肺, 祛痰, 生津養胃, 麥門冬은 益胃生津, 潤肺養陰, 清心除煩, 潤腸通便, 天花粉은 清熱生津, 排膿消腫, 桑葉은 疏風散熱, 清肝明目, 清肺潤

燥, 涼血止血, 白扁豆는 健脾化濕, 暑濕解毒, 玉竹은 滋陰潤肺, 生津養胃, 甘草는 清熱解毒, 潤肺止咳, 緩急止痛의 효능이 있다²⁵.

胃陰不足은 火熱로 인한 陰液의 손상으로, 胃의 津液不足으로 인해 생긴 熱이 胃中에 머물러 胃脘痛과 脘痞不暢이 나타나며, 津液이 상승하지 못해 口乾咽燥하고, 胃가 津液의 濡潤을 잃게 되어 飲食不思하게 되며, 腸道가 乾燥해지므로 인해 大便이 乾燥하게 된다. 이러한 胃陰不足은 주로 만성위염과 열성병 후기에 잘 나타난다²⁶.

점막 손상으로 인한 상복부 동통과 트림, 헛배부름 등의 증상은 胃陰不足으로 인한 胃脘痛, 食後飽脹 등의 증상과 유사하여, 養陰潤燥의 효능이 있는 沙蔘麥門冬湯이 십이지장 점막 손상을 회복시킬 수 있을 것으로 생각된다.

이에 저자는 沙蔘麥門冬湯의 십이지장 점막 손상에 대한 면역반응을 실험적으로 규명하기 위하여, indomethacin을 경구 투여하여 십이지장 점막 손상을 인위적으로 유발한 생쥐를 정상군, 십이지장내 염증유발군(대조군)과 沙蔘麥門冬湯 투여군(실험군)으로 나누어 각 군에 10마리씩 배정하였다. 점막의 조직학적 변화와 점막 방어 기능, 그리고 염증반응에 대한 면역 효과를 알아보기 위하여, 표면상피세포, 점막보호인자, 세포자기살해, 세포증식, 복합당질, 염증관련매개물질, 세포성 면역 및 세포기능 등의 변화를 관찰하였다.

조직화학적 변화에 있어서, 대조군의 대부분이 십이지장 점막에서 출혈성 미란이 관찰되었고, 미세용모, 연접복합체, 세포소기관 손상이 확인되었으며, 중성 점액질 분비세포의 유실 등의 점막 손상이 일어났다. 이러한 점막보호장벽의 손상 즉, 점막의 mucus와 bicarbonate 보호장벽의 결핍은 prostaglandin의 분비 차단에 의해 발생된 것인데²⁷, 이는 COX-1 mRNA 발현억제에 의한 세포내 arachidonic acid의 prostaglandin 전환과정 저해의 결과이다^{28,29}. 이에 비해 실험군에서는 점막의 일반적인 형태와 미세구조, 점액분비세포 등이 정상군과 유사한 형태로 관찰되었으며, 점막 손상 정도는 적었다.

점막상피세포의 보호 기전에 관여하는 COX-1은 위장관 보호, 신장의 혈류 조절 및 혈소판 응집과 같은 정상적인 생리 과정을 유지함으로써 세포의 항상성을 유지하는 중요한 역할을 한다. 본 실험의 대조군에서 나타난 출혈성 미란 지역주변에서는 COX-1에 대한 양성반응이 거의 나타나지 않았는데, Byron과 Andre³⁰, Choitsu³¹는 COX-1의 결핍이 점막손상의 일차적 원인으로 설명될 수 있다고 하였다. 한편 실험군에서는 COX-1 양성반응세포의 감소가 적어 7일군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다.

점막 손상지역에서는 점막상피세포의 세포자기살해(apoptosis)와 세포분열(proliferation)의 변화도 관찰되었다. 즉 세포분열을 통해 새로운 점막상피세포의 생성이 이루어지는데³², 본 실험에서는 이러한 세포분열이 감소한 것으로 관찰되었다. 이러한 세포분열의 변화는 thymidine analogue인 Brdu를 합성시켜 DNA에 끼워 넣은 후 면역조직화학을 통해 조사되었다³². 과도한 세포자기살해가 출혈성 침윤지역의 세포에서 발생하여 분열과 세포자기살해의 균형이 무너졌다. 이러한 세포자기살해는 점액분비세포의 oxidative stress와 미토콘드리아 기능 저하, caspase-3 activation, ceramide pathway activation, mitogen activated protein kinase activation 등과 같은 기전을 통해 이루어진 것으로 생각된다³³. apoptosis는 2개의 신호전달 체계에 의해 일어나는데, 즉 Bcl-2 계열의 유전자중 Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, EBV BHRF1, E1B19K 등은 세포의 생존(apoptosis antagonist)을 담당하는데 반해서, Bax, Bak, Bim, Bil (Nbk), BAD, BID 등은 세포의 사망(apoptosis agonist)을 유도한다³⁴. 본 실험에서는 Bcl-2의 분포변화가 관찰되었는데 대조군에서는 분포가 감소된 것으로 나타나 세포자기살해의 증가가 일어났다. 이에 비해 실험군에서는 세포자기살해의 변화가 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 나타났으며, 세포자기살해관련 신호분자인 Bcl-2와 증식중인 세포에서 관찰되는 Brdu는 대조군에 비해 유의성 있는 증가가 나타났다.

점막 내 복합당질의 분포 변화는 정상군과 실험군

에서 유사한 반응이 나타났으나, 대조군에서는 무반응 또는 약한 반응을 보여 실험군과 차이를 나타내었다.

점막손상은 oxygen free radical에 의한 lipid peroxidation(지질과산화)은 세포막의 polyunsaturated fatty acids를 퇴화시켜 막구조의 붕괴를 초래하는데 이러한 외부자극에 의한 세포내 산화환원상태 및 외부에서 첨가된 산화제, 항산화 등에 의해 nuclear factor (NF)- κ B의 세포내 작용이 유도된다. 이러한 NF- κ B의 조절이 깨어졌을 때 급성 염증상황에 의한 조직손상이 초래된다. 전사인자인 NF- κ B는 세포질 내에서 I- κ B라는 inhibitory protein이 부착된 상태로 존재하다가 자극이 오면 I- κ B가 떨어져 나가면서 분해되며 남은 dimer (보통 p50-p65 heterodimer)가 세포질에서 핵으로 이동하게 된다. 이동 후 cytokine, cytokine receptor, cell adhesion molecule, growth factor 등의 발현에 관여하는 유전자의 promoter나 enhancer의 B site에 결합함으로써 전사를 유도한다. 본 실험에서는 NF- κ B의 변화를 NF- κ B p50 항체를 이용한 면역조직화학적 표본을 이용하여 조사하였는데 점막상피 손상지역에서 급격하게 증가된 양상을 보였다. 이는 전염증성 물질인 COX-2를 비롯해, 세포성 면역과 세포 기용 등의 과도한 증가를 촉발시켰다. 먼저 COX-2의 증가가 대조군에서 관찰되었는데, COX-2는 외부자극에 의해 염증이 유발되어 전달되는 과정에서 유도성 동종효소(inducible isoform)로 섬유모세포와 큰 포식세포를 포함한 여러 세포에서 발현되어 염증이 일어나는 곳에서 proinflammatory prostaglandin을 과량 방출한다³⁵⁻³⁷. COX-2의 과도한 발현은 IL-2R 분비 증가를 통한 세포성 면역연쇄반응 작동을 유발시키게 되었고, 조직손상부위에서의 자연살해세포의 증가도 관찰되었다. 이러한 결과는 점막고유판에서 시작된 염증관여세포의 침식을 점막근판을 지나 점막밑층까지 확대시켰는데, 이는 이미 보고 38된 염증성 협착의 또 하나의 원인이다. 이러한 기전은 대조군에서도 나타났는데, 沙蔘麥門冬湯을 투여한 실험군에서는 NF- κ B, COX-2, IL-2R 및 NK-1.1의 변화가 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타

내었다.

관련 점막 손상시 염증관여세포의 이주에는 CD 11b/18과 세포유착분자(cellular adhesion molecular; CAM)가 관여하게 되는데³⁷, 본 실험에서도 점막 기저부와 점막하 조직의 세동맥 주변부에서 CD11b/18과 ICAM-1 양성반응세포의 분포증가가 확인되었다. 이러한 형상은 소화기 조직손상과 염증 증가시 세포성 면역체계를 자극하여 세포유착분자인 ICAM-1의 발현증가를 유도한다는 이전에 보고^{35,36}와 일치하였는데, 이러한 염증관여세포의 유입은 조직손상을 가속화시키는 결과를 초래할 것으로 생각된다. 이에 비해 실험군에서는 CD11b/18과 ICAM-1 양성반응세포의 분포가 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다.

이러한 염증반응에 대한 면역 효과는 沙蔘麥門冬湯의 補陰작용이 扶正祛邪의 효능으로 작용하여 세포성 면역체계의 안정성을 유지한 것으로 생각된다.

이상의 결과로 볼 때, 沙蔘麥門冬湯을 투여한 실험군에서는 COX-1 발현을 통한 prostaglandin의 정상적인 분비로 mucus와 bicarbonate 보호장벽을 유지시켰으며, 점막세포의 세포분열 지속과 세포자기살해의 감소로 균형이 이루어져 대조군의 점막에서 관찰된 과도한 점막세포의 손상과 염증반응이 나타나지 않았다. 또한 실험군에서는 대조군과는 달리 D-N-acetylgalactosamine와 관련된 복합당질인 SBA 양성반응의 유지가 점막표면에서 관찰되었는데, 이는 이전의 보고^{39,40}로 미루어 보아 점막 보호에 관여하는 것으로 생각된다.

향후에는 점막 손상에 의한 소화성 궤양의 원인으로 알려진 H. pylori의 항체 형성 반응과 항균 반응, 재발과 난치성 궤양에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다.

V. 結 論

십이지장 점막 손상에 대한 沙蔘麥門冬湯의 효능을 연구하기 위하여, 생쥐에 indomethacin을 투여하여 인위적인 점막 손상을 유발시켜 沙蔘麥門冬湯 추

출물을 경구 투여한 후, 십이지장에서 발생하는 표면상피세포, 점막보호인자(COX-1), 세포자기살해(TUNEL, Bcl-2), 세포증식(BrdU), 복합당질(SBA), 염증관련매개물질(NF- κ B, COX-2), 세포성 면역(IL-2R- α , NK-1,1) 및 세포기용(ICAM-1, CD11b/18) 등의 변화를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 십이지장 점막 손상은 沙蔘麥門冬湯 처리 후 회복되어 점막에서 다발적으로 야기된 출혈성 미란과 궤양이 줄었다.
2. 점액을 분비하는 표면상피세포가 유지되었으며, 점막보호인자인 COX-1의 분포가 증가하였고, 표면상피세포의 apoptosis 감소와 세포분열이 증가하였다.
3. 조직 손상을 가속화시키는 유전자 발현을 유도하는 NF- κ B의 활성화가 감소되었는데, 이는 염증유도성 동종효소인 COX-2의 과발현을 억제하였고, 세포성 면역의 중추 사이토카인 IL-2R- α , 자연살해세포, 세포기용에 관여하는 ICAM-1과 CD11b/18 등의 분포가 감소되어 조직 손상이 적었다.

이상의 결과로 생쥐의 십이지장 점막 손상을 야기하는 과도한 염증반응은 沙蔘麥門冬湯에 의해 감소되었다.

參考文獻

1. Shay H, Sun DCH. Etiology and pathology of peptic ulcer. Bockus' s gastroenterology 3rd ed. Phyladelphia London and Toronto:W.B. Saunders Co;1974, p.512.
2. 의학교육연수원. 가정의학. 서울:서울대학교 출판부; 1988, p.206.
3. 서울대학교 의과대학 편. 소화기학. 서울:서울대학교 출판부; 1996, p.75-83.
4. 陳貴廷, 楊思謝. 實用中西醫結合診斷治療學. 서울:일중사; 1992, p.46-9, 437-41.
5. 金英俊, 柳基遠. 手拈散이 胃潰瘍 및 鎮痛에 미치는 영향. 경희한의대 논문집. 1989;9:29-50.
6. 朴東源. 丹蔘補血湯 및 保和丸이 胃潰瘍에 미치는 영향. 경희한의대 논문집. 1985;8:111-27.
7. 백동진. 加味歸脾湯이 흰쥐의 위궤양에 미치는 영향.

- 대한한의학회지. 1996;17(2):277-90.
8. 洪起喆. 內消散과 加味內消散이 胃液分泌 및 胃潰瘍에 미치는 영향. 경희의학. 1990;6(3):313-9.
 9. 柳基遠, 朴東源. 地榆湯의 抗消化性潰瘍과 止血 및 補血效果에 관한 연구. 경희의학. 1989;5:432-47.
 10. 김경선, 신홍목. 加味香砂六君子湯의 Indomethacin 유도 위점막손상에 미치는 항산화효과. 대한한의학회지. 1998;19(1):165-78.
 11. 黃奎東, 朴東源, 柳基遠. 烏貝散과 三七根 및 烏貝散合三七根이 위십이지장 궤양에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1992;13(1):90-101.
 12. 손정숙, 임성우. 四君子湯合蒼朮地榆湯이 위점막손상에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1999;20(2):231-48.
 13. 이익행, 김수정, 김진규, 백정환, 강석봉. 桃花湯이 백서의 소화성 궤양 및 장관수송능에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2001;22(2):207-13.
 14. 姜在春, 朴東源, 柳基遠. 槐花散이 항산화성궤양 및 혈액응고작용에 미치는 실험적 연구. 대한한의학회지. 1997;19(1):179-204.
 15. 金革圭, 白泰鉉. 大建中湯의 항궤양 및 위장관에 미치는 효과에 관한 실험적 연구. 대한한의학회지. 1997;18(1):238-50.
 16. 吳鞠通. 溫病條辨. 북경:인민위생출판사; 1998, p.46.
 17. 申載鏞 編著. 方藥合編解說. 서울:성보사; 1991, p.433.
 18. 임승욱 외 12인. 위장질환 치료용 의약조성물(DWP 301)의 일반 약리작용. 응용약물학회지. 1994;2:347.
 19. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 내과학 II. 서울:군자출판사; 1998, p.4, 12, 556-7.
 20. Sonnenberg A, Sengupta A, Bauerfeind P. Epidemiology of peptic ulcer disease. In *Advances in Peptic Ulcer Pathogenesis*, edited by Rees WDW, MTP Press Limited. 1988:1-50.
 21. 이은경 외 9인. 최근 10년간 상부소화관 내시경으로 진단된 소화성 궤양의 변모. 대한내과학회지. 1987;32(1):31-40.
 22. 이동필, 정영채, 이재복. 한국인의 소화성 궤양에 대한 임상적 고찰. 대한내과학회지. 1995;48:773-82.
 23. 송인성. 소화성 궤양의 내과적 치료와 합병증에 대한 대책. 대한소화기병학회지. 1988;20:14-9.
 24. 김유선 외 10인. 소화성 궤양 환자에서 *Helicobacter pylori* 박멸 전후의 전정부 위염 양상의 변화. 대한소화기학회지. 1999;34(5):572-81.
 25. 康秉秀, 金永坂. 臨床配合本草學. 서울:영림사; 1994, p.94, 104, 173, 179, 183, 488, 596.
 26. 文潯典, 安圭錫, 崔昇勳. 東醫病理學. 서울:고문사; 1990, p.341-2.
 27. Arakawa T, Higuchi K, Fukuda T, Fujiwara Y, Kobayashi K, Kuroki T. Prostaglandins in the stomach. an update. *J. Clin. Gastroenterol.* 1998;27:1-11.
 28. Cryer B, Kimmey M. Gastrointestinal side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Am J med.* 1998;105:20s-30s.
 29. Siomon LS. Biology and toxic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Current Opinion in Rheumatology.* 1998;10:153-8.
 30. Cryer B, Dubois A. The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase-a review. *Prostaglandins & other Lipid Mediators.* 1998;56: 341-61.
 31. Sakamoto C. Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal pathophysiology. *J Gastroenterol.* 1998;33:618-24.
 32. Kulldorff M, McShane LM, Schatzkin A, Freedman LS, Wargovich MJ, Woods C, Purewal M, Burt RW, Lawson M, Mateski DJ, Lanza E, Corle DK, O'Brien B, Moler J. Measuring cell proliferation in rectal mucosa : Comparing bromodeoxyuridine(BrdU) and proliferating cell nuclear antigen(PCNA) assays. *J Clin Epidem.* 2000;53:875-83.
 33. Konturek PC, Brozowski T, Konturek SJ, Taut A, Sliwowski Z, Stachura J, Hahn EG. Activation of gene growth factors and cyclooxygenases in rat gastric mucosa during recovery from stress damage. *Europe J Pharmacol.* 1998;342:55-65.
 34. Akbar AN, Borthick N, Salmon M, Gombert W, Bofill M, Shamsadeen N, Pilling D, Pett S, Grundy JE, Janossy G. The significance of low Bcl-2 expression by CD45RO+ T cell in normal individuals and patients with acute viral infections. The role of apoptosis in T cell memory. *J. Exp. Med.* 1993;178:427-38.
 35. Rothkotter HJ, Pabst R, Bailey M. Lymphocyte migration in the intestinal mucosa : entry, transit and emigration of lymphoid cells and the influence of antigen. *Vetrinary Immuno immunopath.* 1999;72:157-65.
 36. Kirman I, Vainer B, Nielsen OH. Interleukin-15 and its role in chronic inflammatory diseases. *Inflamm res.*

- 1998;47:285-9.
37. Li YX, Li N, Li YS, Wu B, Li JS. Upregulated intragraft gene expression, ICAM-1 and IL-2R molecules, and apoptotic epithelial cells during rejection of rat SAMll intestine allografts. *Transplant Proceed.* 2000;32:1283-6.
 38. Zalev AH, Gardiner GW, Warren RE. NSAID injury to the SAMll intestine. *Abodm Imaging.* 1998;23:40-4.
 39. Kitajima M, Mogi M, Kiuchi T, Shimizu A, Nakajima M, Oshima A, Kawakami H, Hirano H. Alteration of gastric mucosal glycoprotein in gastric mucosa in stress. A light and electron microscopic study. *J. Clin Gastroenterol.* 1990;12:1-7.
 40. Falk P, Roth KA, Gordon JI. Lectins are sensitive tools for defining the differentiation programs of mouse gut epithelial cell lineages. 1994;266:987-1003.