

랫드에서 田螺 추출물의 간기능 개선, 간보호 및 항섬유화 효과 검색

김희석¹ · 김진숙³ · 김기영^{1,2*}

1: 원광대학교 한의학전문대학원, 2: 의과대학 병리학교실, 3: 한의학연구원 한약제제 연구부

The Screening of Hepatic Functional Improvement, Liver Protection and Antifibrotic Effect from Dried Extracts of *Concha Cipangopaludinae* in Rats

Hee Seok Kim¹, Jin Sook Kim³, Ki young Kim^{1,2*}

1: Professional Graduate School of Oriental Medicine, 2: Department of Pathology, Medical School Wonkwang University, 3: Department of Herbal Pharmaceutical Development, Korea Institute of Oriental Medicine

Oxidative stress and its consequent lipid peroxidation exert harmful effects, which have been currently involved in the generation of carbon tetrachloride (CCl₄)-induced fibrosis(cirrhosis). In this study, it was investigated whether dried extract of 田螺(*Concha Cipangopaludinae*; CC) has liver functional improvement, antioxidative and antifibrotic effect in rats those were induced liver fibrosis by CCl₄ administration. The female Sprague-Dawley rats were divided into 3 groups(Normal, AC, AC-CC) and were observed in 6 weeks. Except for normal group, liver fibrosis(cirrhosis) in rats were developed by CCl₄ administration(0.8 ml/rat/week). And the rats were treated with prepared CC(p. o. 2 ml/day/rat). At the time of sacrifice, the liver, kidney and spleen were weighed and the ratio of organ weight/body weight was calculated. The MDA, hyp and biochemical parameters(AST, ALT, ALP, t-bili) were measured in sera and liver tissue of rats. The strong yellow color of urine was observed in all CCl₄-treated group compared with normal group, but jaundice didn't appear in CCl₄-treated group. The mortality of CCl₄-treated group is very low(<13%) during 6 weeks of observation time. The ratio of liver/body as well as the weight of liver in CCl₄-treated rats significantly increased compared with that in normal group(p<0.001). The level of clinical parameters in sera of all liver fibrosis(cirrhosis) developed rats were significantly higher than that of normal group(p<0.001~0.05). Especially the value of BUN, ALP, t-bilirubin in AC-CC group showed 20.9%, 19.6%, 47.9% lower than that in AC group. The content of hyp in CCl₄-treated rats was significantly higher than normal group(p<0.001~<0.05), and showed 12.2% lower value in the AC-CC group than AC group(p<0.05). The production of lipid peroxidation(MDA) in sera and liver tissue significantly increased under the fibrotic(cirrhotic) condition(p<0.001~<0.05). Especially the MDA value of AC-CC group in sera significantly 46.5% decreased compared with that of AC group(p<0.05), and the MDA value of AC-CC in liver tissue showed 21.4% lower than that of AC group. *Concha Cipangopaludinae* can be improved hepatic function, and maybe have effect of liver protection, antioxidation and antifibrosis.

Key words : *Concha Cipangopaludinae*(田螺), liver fibrosis(cirrhosis), CCl₄, Malondi-aldehyde(MDA), hydroxyproline(hyp)

서 론

CCl₄는 cytochrome P-450에 의해 활성화되어 trichloro-

methyl free radical(CCl₃·)로 전환된 후에 O₂와 신속히 반응하여 trichloromethyl-peroxy radical(CCl₃O₂·)을 생성함으로써 독성을 나타내고¹⁾, 특히 Golgi apparatus에 손상을 주어 간세포로부터 단백질 방출과 packaging에 악영향을 끼침으로서 간섬유화와 경화의 원인인 collagen 합성을 증가시키는 것으로 알려져 있으며²⁾, alcohol³⁾, bleomycin⁴⁾ 또는 CCl₄^{2,5)}와 atherosclerosis⁶⁾, iron

* 교신저자 : 김기영, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과전문대학원
E-mail : kkyoung@wonkwang.ac.kr, Tel : 063-850-5105
· 접수 : 2002/11/11 · 수정 : 2002/12/20 · 채택 : 2003/01/25

overload⁷⁾, porphyria⁸⁾와 같은 pathological disorder에 의해 유발되는 fibrogenesis와 연관성이 있다고 보고되고 있다. 지질과산화물을 억제하거나 방지할 수 있는 기능이 있는 항산화 물질⁹⁾은 반응성 산소중간생성물(reactive oxygen intermediate)에 의한 공격에 대해서 간보호와 항염증 작용이 있는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 지금까지의 연구에서 지질과산화와 간섬유화에 효과적인 물질로는 flavonoid, silymarin 또는 vitamin E와 같은 항산화제가 알려져 있고^{11,12)}, N-acetylcysteine(NAC)는 항산화 활성을 통해 liver fibrogenesis의 초기 단계에서 간섬유화와 oxidative stress를 저해한다고 알려져 있다¹³⁾. 최근에 *Silybum marianum*과 함께 *Picrorhiza kurroa*는 간보호, 항섬유화 효과 뿐만 아니라 항산화 효과가 있고¹⁴⁾, antioxidant agents 또는 glutathion(GSH) 전구체가 HSC(hepatic stellate cell)의 활성을 억제하는 작용이 있다고 보고되고 있다¹⁵⁾. 또한 熊膽의 주성분인 UDCA (Ursodesoxycholic acid), 五味子에서 추출한 DDB(Biphenyl dimethyl dicarboxylate), *Silybum marianum*에서 추출한 silymarin이 임상에서 사용되고 있으며, 丹蔘¹⁶⁾, 柴胡¹⁷⁾, 黃芩¹⁸⁾, 人蔘¹⁹⁾, 葛根²⁰⁾, 車前子, 桂枝茯苓丸, 葛花解醒湯, 靈芝菌絲體, 茵陳藜湯²¹⁾, 小柴胡湯과 울증과 적취에 사용하는 木香調氣散²²⁾, 香砂平胃散 및 當歸活血湯^{23,24)}, 梔子柏皮湯²⁵⁾, 茵陳五靈散²⁶⁾, 六鬱湯 및 散鬱湯²⁷⁾, 龍膽瀉肝湯 및 茵陳五苓散²⁸⁾, 加減茵陳蒿湯²⁹⁾ 등이 한방에서 사용되고, 檉根皮, 田螺, 산머루목, 들나물 등은 민간약으로 알려져 있다. 특히 田螺는 우리나라에서는 간에 효과가 있다하여 오래 전부터 사용되고 있으며, <東醫寶鑑·湯液篇>에 田螺는 우렁이이며 “性寒味甘, 無毒, 解熱毒, 止渴, 治肝熱目赤腫痛, 利大小便, 除腹中熱結” “療熱醒酒” 라고 설명되어 있다. 학명은 *Cipangopaludina chinensis*(GRAY)이고, 性味는 味咸, 寒하다. 田螺는 전체를 사용하였고, 복방으로 腹脹如鼓方<類偏>, 腸風下血方<百一>, 腦瘤積水方이 있다. 이에 본 논문에서는 현재 민방에서 사용하고 있는 田螺를 간섬유화(경화)의 치료에 사용할 수 있는 가능성을 조사하기 위하여 CCl₄로 간섬유화(경화)를 유도한 동물에 田螺와 산머루목 농축액을 3주간 투여하여 간보호 및 항섬유화 효과를 검색하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험동물군

실험동물은 체중이 약 180~210g인 12주령 Sprague-Dawley 랫드(다물사이언스, 오산, 한국)를 사용하였고, 사육환경은 온도 23 ± 2℃, 상대습도 60 ± 10%를 유지하였다. 사료(퓨리나 사료)와 식수는 자유로이 공급하였고, 밤과 낮을 구분하여 주었다. 정상군(normal)은 6마리, CCl₄ 투여군(AC) 및 CCl₄ 약물 투여군(AC-CC)으로 각각 8마리씩을 한군으로 설정하였다.

2. 간섬유화(경화)의 유도

정상군을 제외한 AC, AC-CC군에 Olive oil과 CCl₄ 혼합액 0.15~0.25 ml/rat를 일주일에 3회 6주간 투여하여 간섬유화(경화)를 유도하였다.

3. 관찰기간 및 약물용량

AC군과 AC-CC군의 동물에 CCl₄를 6주 동안 투여하고 AC-CC군 랫드에 6주 동안 전처리한 CC 농축액을 2~3 ml /rat/day를 경구투여하였다. 그리고 관찰기간동안에 주 1회 체중을 측정하였다.

4. 약물의 전처리

田螺와 산머루목을 섬진강 식품으로부터 공급받아 건류증류법(田螺 2 kg, 산머루목 200 g)으로 얻은 농축 엑기스(700 ml)를 한지로 여과한 후에 다시 여과지(Whatman, No. 2)로 한번 여과하여 동물에 경구투여하였다.

5. 실험재료의 채취

혈청은 심장에서 채혈하여 2시간 이상 실온에 방치하여 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후에 -20℃에 보관하고, 간조직의 일부는 -75℃에 보관하여 혈청생화학적 검사와 malondialdehyde(MDA), hydroxyproline 측정에 사용하였다.

6. 혈청생화학적 검사

EMBIEL-kit를 사용하여 Alanine transaminase(ALT), aspartate transaminase(AST), alkaline phosphatase(ALP), total bilirubin (t-bili), blood urea nitrogen(BUN)을 분석하였다.

7. Hydroxyproline(hyp)양 측정

간조직내 hyp양의 측정은 Jamall 등³⁰⁾의 방법에 따라 간조직을 염산으로 가수분해시켜 isopropylalcohol을 넣고 chloramine-T로 산화시켜서 Ehrlich's reagent solution(p-dimethyl aminobenzaldehyde)으로 발색시킨 후에 558nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

8. MDA 측정

Okawa 등³¹⁾의 방법에 따라 혈청과 조직 및 표준물질(tetramethoxypropane)에, 0.2% SDS, 20% acetic acid, 0.8% thiobarbiturate를 가하여 95℃에서 반응시킨 후에 냉각시켜 butanol을 가하고 원심분리하여 532nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

9. 통계처리

Student's t-test를 사용하여 median ± standard deviation과 p-value를 구하여 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 일반적인 관찰

간섬유화(경화)를 유도한 실험군(AC군)과 CC 투약군(AC-CC군)에서 황달의 출현은 관찰되지 않았고 6주간의 관찰기간 동안에 AC군에서 치사율이 13%이었으나 AC-CC군에서 사망한 동물은 없었다.

2. 체중, 장기 무게 및 장기/체중 변화

정상군에 비해서 간섬유화(경화)를 유도한 AC군과 AC-CC군에서 체중감소와 간중대가 나타났다. 간무게와 간/체중비는 AC군과 AC-CC군에서 정상군보다 56%, 50.1% 유의성 있게 높았으나(p<0.05, Tab. 1), AC군과 AC-CC군에서는 큰 차이가 없었다(Tab. 1).

Table 1. The Body Weight and the Ratio of Liver/Body Weight in Normal, Fibrotic (Cirrhotic) and CC Treated Rats

Group	Normal	AC	AC-CC
Body weight(g)	276±12.7	260±9.7	262.9±6.9
Liver weight(g)	8.39±1.46	13.1±0.7*	12.6±0.6*
The ratio of L/W/BW(%)	3.29±0.31	5.03±0.71*	4.8±0.57*
Number of animal	6	7	8

*: The significantly different from normal (p<0.05), AC: The liver fibrosis-induced group by CCl₄ administration, AC-CC: The liver fibrosis-induced group by CCl₄ administration and treated with CC

3. 혈청생화학적 변화

AST, ALT 수치는 AC군과 AC-CC군에서 모두 정상군보다 유의성 있게 높게 나타났으나(p<0.001, Tab. II), AC군과 비교했을 때 AC-CC군에서 약간 낮게 나타났다. BUN의 수치는 정상군보다 CC군과 AC-CC군에서 2.0배, 1.6배 유의성 있게 높게 나타났으며(p<0.001~0.05, Tab. 2), AC-CC군의 수치가 AC군보다 20.9% 낮았다(Fig. 1a). ALP의 수치는 AC군과 AC-CC군에서 정상군보다 4.4배, 3.6배 유의성 있게 높게 나타났고(p<0.001~0.05), AC-CC군에서 AC군보다 19.6% 낮았다(Fig. 1b). 그리고 t-bilirubin의 수치는 정상군과 비교했을 때 AC군과 AC-CC군에서 3.3배, 2.5배 유의성 있게 높았으며(p<0.001~0.05), AC-CC군에서는 AC군보다 47.9% 낮았다.

Table 2. The Value of Clinical Parameter in Sera of Normal, Fibrotic (Cirrhotic) and CC Treated Rats.

Group	Normal	AC	AC-CC
AST(IU/ml)	60.0±11.4	161.2±46.8**	141±16.6**
ALT(IU/ml)	13.8±1.6	89.7±14.5**	74.8±15.2**
BUN(mg/dl)	11.1±1.0	22.63±10.1*	17.89±1.7**
ALP(K-A)	35.1±5.9	156.11±29.9**	125.5±55.4*
T-bilirubin(mg/dl)	0.35±0.1	1.71±1.09*	0.89±0.207**
Number of animal	6	7	8

*: The significantly different from normal(p<0.05), **: The significantly different from normal(p<0.001), AC: The liver fibrosis-induced group by CCl₄ administration, AC-CC: The liver fibrosis-induced group by CCl₄ administration and treated with CC

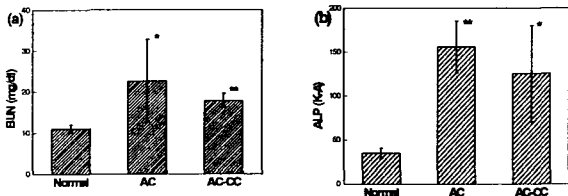


Fig. 1. (a)The value of blood urea nitrogen in sera of normal, fibrotic (cirrhotic) and CC treated rats. (b)The value of alkaline phosphatase in sera of normal, fibrotic (cirrhotic) and CC treated rats. *: The significantly different from normal(p<0.05), **: The significantly different from normal (p<0.001), AC: The liver fibrosis-induced group by CCl₄ administration, AC-CC: The liver fibrosis-induced group by CCl₄ administration and treated with CC

4. Hydroxyproline(hyp) 양의 변화

AC군과 AC-CC군에서 정상군보다 간조직중 hyp 수치가 2.1배, 1.8배 유의성 있게 높게 관찰되었다(p<0.001, p<0.05). AC-CC군에서 정상군보다 높았으나 AC군보다 12.2% 낮게 나타났다(Fig. 2).

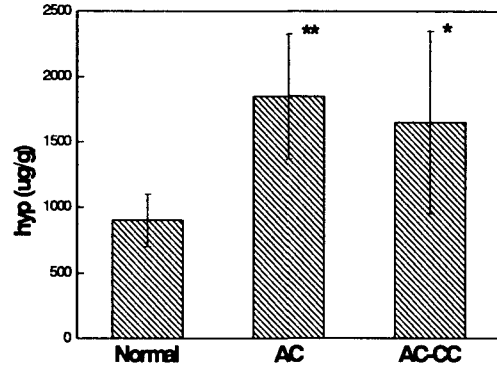


Fig. 2. The diagram of hydroxyproline content in liver tissue of 3 differential rats group. *: The significantly different from normal(p<0.05), **: The significantly different from normal(p<0.005), AC: The liver fibrosis-induced group by CCl₄ administration, AC-CC: The liver fibrosis-induced group by CCl₄ administration and treated with CC.

5. MDA 농도변화

혈청중 MDA 농도는 정상군보다 AC군에서는 2.9배 증가하였으며 AC-CC군에서는 1.6배 높게 나타났고, AC-CC군에서는 AC군보다 46.5% 유의성 있게 낮았다(p<0.05, Fig. 3a). 간조직중 MDA 농도는 정상군에서 215.2 umol/g±61.8, AC군에서는 454.9 umol/g±131.6, AC-CC군에서는 357.5 umol/g±75.4로 나타났으며, AC-CC군에서 AC군보다 21.4% 낮았으나 유의성은 관찰되지 않았다(Fig. 3b).

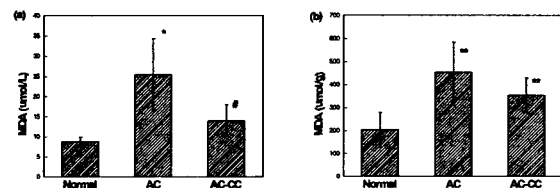


Fig. 3. The diagram of malondialdehyde concentration in sera(a) and in liver tissue(b) of rats. *: The significantly different from normal(p<0.05), **: The significantly different from normal (p<0.005), #: The significantly different from AC group(p<0.05), AC: The liver fibrosis-induced group by CCl₄ administration, AC-CC: The liver fibrosis-induced group by CCl₄ administration and treated with CC

고찰

지질과산화는 collagen gene expression 조절에 의한 간섬유화, 조직손상과 상호 연관성이 있으며⁸⁾, in vitro에서 지질과산화는 fibroblast와 HSC(hepatic stellate cell)을 자극하여 collagen 생성을 촉진하고³²⁾, 지질과산화물인 MDA는 cytopathic change

와 trigger collagen transcription의 원인이 된다고 보고되고 있다³³⁾. 따라서 본 논문에서는 건류증류법으로 농축한 田螺와 산머루 목 엑기스(CC)의 간기능 개선, 항산화, 항섬유화 효과를 검색하였다. 실험적 간경화는 CCl₄ 투여로 유도하고 CC는 2~3 ml /rat/day를 경구투여하여 6주간 관찰하고 희생시킨 동물의 혈청과 간조직에서 간기능의 지표인 생화학적 수치, 결합단백의 변화를 나타내는 collagen(hyp)의 양, 지질과산화물인 MDA의 농도를 측정하였다. 김³⁴⁾ 등이 보고한 담즙울체(cholestasis) 동물모델에서 2주부터 황달이 출현한다는 결과와는 달리 본 실험에서 정상군에 비해 실험군(AC군)과 투약군(AC-CC군)에서 모두 소변이 진황색이었고 t-bilirubin 수치가 유의성 있게 높게 나타난 반면에 육안적으로 황달의 출현이 6주 동안에 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 담즙울체 모델은 담즙대사의 장애로 인해 혈중 bilirubin 수치가 매우 증가된 것이고 CCl₄ 모델은 CCl₄를 투여할 때 사용한 olive oil에 의해 지방적 생성과 CCl₄가 CCl₃·로 변화되는 과정에서 지방간과 지질과산화에 의한 간섬유화가 유도된 것으로 사료된다. 이를 뒷받침 할 수 있는 근거는 정상군과 비교했을 때 AC, AC-CC군에서 증가된 간무게/체중비(56.1%, 50.1%, p<0.001~0.05, Tab. 1), 간기능의 지표인 ALT, AST, BUN, ALP의 높은 수치(p<0.001~0.05), 지질과산화물인 혈청과 조직 중 MDA농도(1.6배~2.9배)와 간섬유화 지표인 hyp수치 모두 유의성이 나타났으나(p<0.001, p<0.05, Fig. 2, 3), 혈중 t-bilirubin 수치가 황달이 나타날 정도로 높지는 않았다는 것이다. 田螺를 BDO(bile duct obstruction) 동물모델에 4주간 투여했을 때 간기능개선 효과가 있었다는 보고³⁵⁾와 마찬가지로 본 실험에서도 혈청중 AST, ALT의 수치가 AC-CC군에서 AC군보다 약간 낮았고 (Tab. 2), BUN, ALP의 수치는 각각 20.9%, 19.6% 낮게 나타났다 (Fig. 1a, b). 이와 유사한 결과로 신³⁶⁾은 CCl₄로 간손상을 유도한 실험동물에서 桂枝茯苓丸을 투여했을 때 CCl₄로 인해 증가된 AST, ALT 수치가 감소했을 뿐만 아니라 특히 ALP 수치는 유의성 있게 감소되었다고 보고하고 있고, 조³⁷⁾는 加減小柴胡湯이 CCl₄에 의한 간섬유화 실험동물의 AST 수치를 유의성 있게 감소시킨다고 하였다. 또한 DMN (dimethylnitrosamine)에 의해 간손상이 유도된 실험동물에 木香調氣散과 解鬱調胃湯을 투여했을 때 AST 수치는 별다른 차이가 없었으나 ALT 수치는 유의성 있게 감소되었다는 보고도 있다²⁶⁾. 간경화로 인해서 나타나는 단백뇨(proteinuria)와 혈뇨(hematurin)^{38,39)}의 지표가 되는 혈청중 BUN과 ALP의 수치는 AC-CC군에서 AC군보다 20.9%, 19.6% 낮게 나타났다(Tab. 2, Fig. 1a, b). 이러한 결과는 CC의 투여가 간경화에 의한 glomerular nephritis의 발생을 예방하고 간기능 개선 효과가 있다고 사료된다. 간조직중 hyp는 총 collagen 양을 반영하는 것으로 fibrogenesis와 fibrolysis의 불균형에 의한 collagen의 지나친 축적은 간조직 구조의 변화를 초래한다. 서³⁵⁾는 담즙울체로 간섬유화(경화)를 유도한 동물에 田螺를 4주간 투여했을 때, 간조직중 hyp 수치가 비투여군 보다 유의성 있게 낮았다고 보고했는데, 이와 유사하게 본 실험에서도 AC군과 AC-CC군을 비교했을 때 AC-CC의 hyp양이 AC군보다 12.2% 낮게 나타남으로서 항섬유화 효과가 관찰되었다(Fig. 2). 항산화 효

과와 관련하여 Shimizu 등⁴⁰⁾은 DMN(dimethyl-nitrosamine)으로 유도한 간섬유화 동물의 간조직중 지질과산화 분해물인 MDA 수치의 유의성 없는 감소를 보고하였으나, 본 실험에서는 혈청중 MDA의 농도가 AC군보다 46.5%로 유의성 있게 낮게 나타났으며(p<0.05, Fig. 3a), 조직에서는 21.4%로 낮았으나 유의성은 관찰되지 않았다(Fig. 3b). 이는 CCl₄로 유도한 실험동물에 加味柴陳湯을 투여했을 때 지질과산화가 감소했다는 왕⁴¹⁾의 결과와 유사하다. 정상군과 비교했을 때 간섬유화 유도군에서 증가하는 hyp 양과 MDA농도는 *in vivo*에서 지질과산화가 collagen gene expression을 조절하고, 조직손상과 섬유화와의 상호연관성을 나타낸다는 Houghum 등¹⁵⁾의 보고와 일치하는 결과이다. 따라서 田螺는 CCl₄에 의한 간섬유화(경화) 동물에서 간기능 개선, 항산화, 항섬유화 효과가 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 원광대학교 한의학전문대학원 BK 사업비와 2002년 교비 연구비에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Benedetti A, Fulceri R, Ferrali M, Ciccoli L, Esterbauer H, Comporti M. Detection of carbonyl functions in phospholipids of microsomes in CCl₄- and Br CCl₃-poisoned rats. *Biochem. Biophys. Acta.* 712:628-638, 1982.
2. Das D, Pemberton PW, Burrows PC, Gordon C, Smith A, McMahon Raymond FT, Warnes TW. Antioxidant properties of colchicine in acute carbon tetrachloride induced rat liver injury and its role in the resolution of established cirrhosis. *Biochem. Biophysica. Acta.* 1502:351-362, 2000.
3. Phan SH, Thrall RS, Ward PA. Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats: Biochemical demonstration of increased rate of collagen synthesis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 121:501-506, 1980.
4. Slater TF, Sawyer BC. The hepatotoxic action of carbon tetrachloride stimulatory effect of carbon tetrachloride on lipid peroxidation in microsomal suspensions. *FEBS Lett.* 18;11(2):132-136, 1970.
5. Parola M, Leonarduzzi G, Biasi F, Albano E, Biocca ME, Poli G, Dianzani MU. Vitamin E dietary supplementation protects against carbon tetrachloride-induced chronic liver damage and cirrhosis. *Hepatology.* 16:1014-1021, 1992.
6. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TF, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.* 320:915-924, 1989.
7. Bacon BR, Tavill AT, Brittenham GM, Park CH, Recknagel

- RO. Hepatic lipid peroxidation *in vivo* in rats with chronic iron overload. *J. Clin. Invest.* 71:429-439, 1983.
8. Poh-Fitzpatrick MB. Pathogenesis and treatment of photocutaneous manifestations of the porphyrias. *Semin. Liv. Dis.* 2:164-176, 1982.
 9. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Rad. Biol. Med.* 11:81-128, 1991.
 10. Peres W, Tunon MJ, Collado PS, Herrmann S, Marroni N, Gonzalez-Gallego J. The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction. *J. Hepatol.* 33:742, 2000.
 11. Thurnham DI. Carotenoids; Functions and fallacies. *Proc. Nutr. Soc.* 53:77, 1994.
 12. Riemersma RA, Wood DA, Macintyre CA, Elton RA, Gey KF, Oliver MF. Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamin A, C and E and carotene. *Lancet.* 337:1, 1991.
 13. Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T. Effect of antioxidants, reveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and kuffer cells. *Hepatology.* 27:1265-1274, 1998.
 14. Luper SA. Review of plants used in the treatment of liver disease: Part 1. *Altern. Med. Rev.* 3(6):410, 1998.
 15. Houglum K, Venkataramani A, Lyche K, Chojkier M. A pilot study of the effects of D- α -tocopherol on hepatic stellate cell activation in chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 113:1069-1073, 1997.
 16. 朴二圭. 急性 肝損傷에 대한 丹蔘의 保護作用. 又石大 大學院, 碩士學位論文, 1996.
 17. 李在靛. 柴胡四物湯이 CCl₄로 誘發된 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響. 尙志大 大學院, 碩士學位論文, 1996.
 18. 姜秉淇. 黃芩煎湯液이 肝損傷에 대한 防禦 및 恢復에 미치는 影響. 圓光大 大學院, 博士學位論文, 1986.
 19. 崔榮植. 人蔘이 CCl₄中毒 흰쥐의 肝損傷에 미치는 影響에 관한 研究. 慶熙大 大學院, 碩士學位論文, 1998.
 20. 李潤璟. 葛根, 大棗 및 五味子の 肝機能 保護 效果에 관한 研究. 嶺南大 大學院, 博士學位論文, 1994.
 21. 裴文弘. 茵陳蒿湯이 carbon tetrachloride 中毒으로 인한 白鼠 肝臟損傷의 效果에 관한 實驗的 研究. 慶熙大學校 論文集, 1972.
 22. 朴庸權. 木香調氣散과 解鬱調胃湯의 實驗的 肝硬變에 對한 效果. 圓光大 大學院, 碩士學位論文, 1996.
 23. 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 大學院, 碩士學位論文, 1994.
 24. 金英吉. 當歸藥鍼 및 黃芪藥鍼이 CCl₄에 의한 肝損傷의 恢復 效果에 관한 實驗的 研究. 圓光大 大學院, 碩士學位論文, 1994.
 25. 李相祿. 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 大學院, 碩士學位論文, 1994.
 26. 金宇煥. 茵陳五苓散의 白鼠 肝硬變에 對한 保護 및 回復作用. 圓光大 大學院, 博士學位論文, 1989.
 27. 洪碩義. 六鬱湯 및 散鬱湯이 膽道結紮과 Dimethylnitrosamine 으로 誘發된 白鼠의 肝硬變症에 미치는 影響. 圓光大 大學院, 碩士學位論文, 1995.
 28. 金定濟外. 清肺瀉肝湯의 治療效果에 관한 實驗的 研究. 慶熙 韓醫大 論文集 9-13, 1978.
 29. 李建穆. 加減茵陳蒿湯이 水浸液이 膽管結紮로 誘導된 肝損傷에 미치는 影響. 大田大 大學院, 博士學位論文, 1993.
 30. Jamall I. S., Finelli V. N. A single method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissue. *Anal. Biochem.*, 112:70, 1981.
 31. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95:351, 1979.
 32. Paola M., Leonardizzi G., Robino G., Albano E., Poli G., Dianzani M. U. On the role of lipid peroxidation in the pathogenesis of liver damage induced by long-standing cholestasis. *Free Radic. Biol. Med.*, 20:351, 1996.
 33. Bedossa P., Houglum K., Trautwein C., Holstege A., Chojkier M. Stimulation of collagen $\alpha 1(I)$ gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury: A link to tissue fibrosis? *Hepatology*, 19:1262-1270, 1994.
 34. 김기영, 김중수, 유병수. 실험적 간경화(섬유화) 동물모델의 비교에 관한 연구. *Kor. J. Lab. Anim. Sci.* 16(4) 317-326, 2000.
 35. 徐毅錫 田螺 抽出物의 肝機能 改善과 抗纖維化 作用에 대한 研究. 圓光大 大學院, 博士學位 論文, 2001
 36. 申鎭琨. 桂枝茯苓丸이 四塩化炭素로 因한 白鼠肝損傷에 미치는 影響. 慶熙大 大學院, 碩士學位論文, 1981.
 37. 趙鍾寬. 加減小柴胡湯의 解熱 鎮痛 및 損傷肝에 미치는 影響. 慶熙大 大學院, 碩士學位論文, 1981.
 38. Gerok W. ed. *Hepatology* : Urban & Schwarzenberg, p547, 1987.
 39. Cotran-Humar R. ed. *Robbins pathologic basis of disease.* 4th ed. p918, 1989.
 40. Shimizu I., Ma Y. R., Mizobuchi Y., Liu F., Miura T., Nakai Y., Yasuda M., Shiba M., Horie T., Amagaya S., Kawada N., Hori H., Ito S. Effects of Sho-saiko-to, a Japanese herbal medicine, on hepatic fibrosis in rats. *Hepatology*, 29:149-60, 1999.
 41. 王泰錫. 加味柴陣湯이 白鼠 肝損傷에 대한 效果. 圓光大 大學院, 博士學位論文, 1989.