

加減大黃牧丹皮湯의 급성 췌장염 억제 효과

안재선, 이해자, 박은정

원광대학교 한의과대학 소아과학교실

Inhibitory effect of acute pancreatitis by Gagam-daewhangmokdanpi-tang

Ahn Jae Sun, Lee Hai Ja, Park Eun Jung

Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Objectives : In this study, we investigated the effects of Daewhangmokdanpitang-gagambang(DMG) on treatment for cholecystokinin-octapeptide(CCK)-induced acute pancreatitis(AP) in rats.

Methods : Male Wistar rats weighing 200 to 250 g were divided into three groups. The first was normal untreated group, the second was in treatment with DMG group; DMG was administered orally, followed by 75 μ g/kg CCK subcutaneously three times, after 1, 3 and 5 h. This whole procedure was repeated for 5 days. The third was in treatment with saline group, the protocol was the same as in treatment group with DMG. We determined the pancreatic weight/body weight ratio, the levels of pancreatic HSP60, HSP72, ERK, p38 MAPK and the secretion of pro-inflammatory cytokines. Repeated CCK treatment resulted in the typical laboratory and morphological changes of experimentally induced pancreatitis.

Results : DMG was significantly decreased the pancreatic weight/body weight ratio in CCK-induced AP and DMG increased HSP60 and HSP72 compared with CCK-induced AP. DMG suppressed ERK and p38 MAPK activation. Additionally, the secretion of IL-1 β and TNF- α and the levels of amylase and lipase were lower than that saline.

Conclusions : DMG has an effect to treatment for CCK-induced AP.

Key words : Daewhangmokdanpitang-gagambang(DMG), pancreatitis, HSPs, ERK, p38, IL-1 β , TNF- α

접 수 : 2006년 11월 20일, 채택일자 : 2006년 12월 18일
교신저자 : 안재선, 수원시 영통구 영통동 968 동보신명상가 205호 삼성한의원
(Tel. 031-202-0005, E-mail: tag2000@hanmail.net)

I. 緒 論

大黃牧丹皮湯은 漢代에 張機의 金匱要略에 처음 收載된 以後로 腸癰을 비롯한 積熱과 瘀血로 인한 病症을 治療하는데 사용되어 온 處方이다¹⁾. 大黃牧丹皮湯加減方은 大黃牧丹皮湯에 消腫排膿하는 蒲公英 魚腥草 皂角子 薏苡仁和 清熱解毒하는 黃芩 金銀花 連翹 및 理氣祛濕하는 陳皮 木香 藿香 枳殼 桔梗 등을 加味한 處方으로 急性胃腸炎, 急性 및 亞急性 蟲垂炎과 腸間膜淋巴腺炎, 急性臍臟炎을 포함한 胃腸의 濕熱이나 瘀血로 인한 腸癰 등 응급치료를 要하는 小兒의 急性腹症에 활용되고 있다.

急性 臍臟炎은 蛋白分解酵素 전구물이 臍臟내에서 조기 活性化됨으로써 일어나는 自家 消和의 과정이다. 小兒에서는 耳下腺炎, 風疹, 肝炎, coxackie virus 등을 비롯한 여러 바이러스 감염, 損傷, 先天的 奇形, 대사 장애, 藥物 中毒 등의 다양한 원인에 의해 발생하고, 경한 임상 증상부터 쇼크, 장폐색, 괴사성의 심각한 증상 등 그 임상상이 매우 다양하며, 假性囊腫, 膿瘍, 敗血症 등과 같은 합병증을 동반하는 경우에는 사망을 초래하기도 한다. 急性 臍臟炎환자의 대부분은 후유증없이 회복되거나 약 20%에서 패혈증, 쇼크, 다발성 장기부전 등의 중한 합병증이 동반되고 臍臟炎과 연관된 死亡率은 약 10~15%로 보고되고 있다²⁾.

본 연구에서는 CCK로 유도된 急性 臍臟炎 動物모델에서 DMG의 치료효과를 규명하기 위해 몸무게에 대한 체장무게 비율과 체장조직에서 HSP60, HSP72 그리고 ERK와 p38의 발현정도를 조사하였고 전염증성 세포활성물질인 IL-1 β 와 TNF- α 의 분비량을 측정하였으며, amy-

lase와 lipase 수치를 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 試藥

CCK, avidin-peroxidase, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), Tris-HCl, NaCl, Triton X-100, benzanidine와 iodoacetamide는 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용했고, anti-HSP60과 anti-HSP72는 Stressgen (British Columbia, Canada)에서 구입했다. 또한 phospho-ERK specific monoclonal antibody, ERK specific polyclonal antibody와 phospho-p38 MAPK specific monoclonal antibody, p38 MAPK specific polyclonal antibody는 Santa Cruz (USA)에서 구입했다. Anti-rat IL-1 β TNF- α antibodies, 재조합 IL-1 β TNF- α 는 R&D Systems (Minneapolis, MN, USA)에서 구입했다.

2) 藥材

본 실험에 사용된 약제는 원광대학교 전주 한방병원에서 구입하였으며, 처방구성은 다음과 같다.

DMG의 수침액 제조는 말린 약재를 증류수에 3시간 정도 끓인 다음 추출물을 여과한 후, 동결 건조하여 4 $^{\circ}$ C에 보관했다. 엑스 분말은 모두 100 mg/ml 농도로 생리식염수에 녹여 사용하였다.

구성 약물	생약명	용량
薏苡仁	<i>Semen Coicis</i>	20 g
金銀花	<i>Flos Lonicerae</i>	20 g
蒲公英	<i>Herba Taraxaci</i>	20 g
魚腥草	<i>Herba Houttuyniae</i>	16 g
連翹	<i>Fructus Forsythae</i>	12 g
黃芩	<i>Radix Scutellariae</i>	8 g
當歸	<i>Radix Angelicae Sinens</i>	6 g
牧丹皮	<i>Cortex Moutan Radicis</i>	6 g
皂角子	<i>Spina Gleditsiae</i>	6 g
瓜蒌仁	<i>Semen Trichosanthis</i>	4 g
大黃	<i>Radix et Rhizoma</i>	4 g
桃仁	<i>Semen Persicae</i>	4 g
杏仁	<i>Semen Armeniacae Amarum</i>	4 g
藿香	<i>Herba Agastaches</i>	4 g
枳殼	<i>Fructus Ponciri Auranth</i>	4 g
桔梗	<i>Radix Platycodi</i>	4 g
木香	<i>Radix Saussurea Seu Inulae</i>	4 g
陳皮	<i>Pericarpium Citri Peticulatae</i>	4 g
芒硝	<i>Natrii Sulfas</i>	4 g
甘草	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	4 g

3) 實驗動物

본 실험에 사용된 수컷 Wistar계 랫트(체중 200~250g)는 중앙실험동물(서울)에서 구입하여 환경 적응을 위해 일주일 후 실험을 진행했다. 실험하기 18시간 전에 금식시켰고 그룹당 6마리씩으로 나누었다. 한 그룹은 먼저 DMG (1g/kg)을 구강투여 하고 그 후에 CCK(75 µg/kg)를 1, 3, 5 시간단위로 3번 피하주사 하였다. 이러한 과정을 5일 동안 반복수행 하였다. 다른 한 그룹은 DMG 대신에 생리식염수를 구강투여 하였고 나머지 과정은 동일시하였다. CCK를 마지막으로 주입하고 나서 12시간 후에 개복하였다. 랫트는 <실험동물의 관리와 사용에 대한 NIH Guide>와 현행법에 따라 신중히 다루었다.

2. 方法

1) 몸무게에 대한 췌장무게의 비율

췌장의 부종정도를 측정하기 위해서 전체 몸무게에서 췌장무게를 나누어 비율을 나타냈다.

2) Western blot 분석

췌장은 0.02 M Tris-HCl, pH 7.8, 0.15 M NaCl 0.1% Triton X-100, 1 mM PMSF, 4 mM benzamidine, 5 mM iodoacetamide이 포함된 ice-cold buffer에 균질화시켰다. 균질 현탁액은 15,000 rpm에서 원심분리 하였으며, 단백질을 BCA 방법으로 정량하여 10% SDS-PAGE로 전기영동 하였다. Nitrocellulose paper에 transfer하고 5% skim milk로 1시간 blocking시킨 다음 HSP60, HSP72 그리고 pERK와

p38에 대한 항체를 1시간동안 처리하였다. 각각에 대한 2차 항체를 30분간 처리하고 ECL detection 용액(Amersham)으로 확인하였다.

3) 혈청 분리

CCK를 마지막으로 주입하고 나서 12시간 후에 랫트를 마취시켜 개복하였다. Syringe를 이용하여 심장에서 혈액을 채취했으며 혈액은 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청만 분리하였다. 분리한 혈청으로 세포활성 물질과 소화효소를 정량하였다.

4) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Cytokine 정량은 ELISA 방법을 사용했으며, 96 well plate에서 duplicate로 실행했다. 세포활성물질에 대한 단클론 항체 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 PBS(pH 7.4)로 희석하여 96 well plate에 100 μl 씩 각각 입힌 다음 4°C에서 12시간 동안 방치했다. 이 plate를 0.05% Tween이 포함된 PBS로 세정한 다음 1% BSA, 5% sucrose, 0.05% NaN_3 가 포함된 PBS로 1시간동안 blocking했다. 몇 번을 세정한 후 검체를 첨가한 후 37°C에서 2시간 동안 방치했다. plate wells를 다시 세정하고 biotin이 결합된 항체 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 첨가하여 다시 37°C에서 2시간 동안 방치했다. well을 세정한 다음 avidine peroxidase를 첨가하고 37°C에서 20분 동안 방치했다. well을 다시 세정한 다음에 ABTS 기질을 첨가했으며, 발색반응은 ELISA reader를 사용하여 405 nm에서 측정하고 표준 곡선은 순차적으로 희석된 재조합 cytokine을 사용하여 각각의 정량에 적용했다.

5) 혈청 amylase와 lipase 측정

혈청 amylase는 ADIVA 1650(BAYER, USA)

system으로 효소단계법에 의해 측정하였다. 한편 혈청 lipase는 Cobas-mira(Roche, USA) system으로 효소단계법에 의해 측정하였다.

6) 통계학적분석

모든 자료의 결과는 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 로 나타냈고, 통계분석은 SPSS 11.0(software)을 사용했으며, 평균치는 student's *t*-test, Mann-Whitney U, ANOVA, Kruskal-Wallis H test 등을 통해 분석했다.

III. 實驗 成績

1. 몸무게에 대한 췌장 무게의 비율에 미치는 DMG의 효과

CCK에 의해 유발된 급성 췌장염 랫트에서, DMG를 투여한 그룹의 췌장무게/몸무게 비율 (3.4 ± 0.29)은 생리식염수를 투여한 그룹 (6.4 ± 0.38)에 비해 현저히 낮았다($P < 0.05$) (Fig. 1).

2. HSPs 발현에 있어 DMG의 효과

CCK에 의해 유발된 급성 췌장염 랫트에서, DMG를 투여한 그룹은 생리식염수를 투여한 그룹에 비해 HSP72와 HSP60의 발현이 현저히 증가함을 관찰하였다(Fig. 2).

3. CCK 자극 후 ERK와 p38 활성화에 미치는 DMG의 효과

CCK에 의해 유발된 급성 췌장염 랫트에서, DMG를 투여한 그룹은 생리식염수를 투여한 그룹에 비해 ERK와 p38 인산화의 활성도가 현저히 감소함을 관찰하였다(Fig. 3).

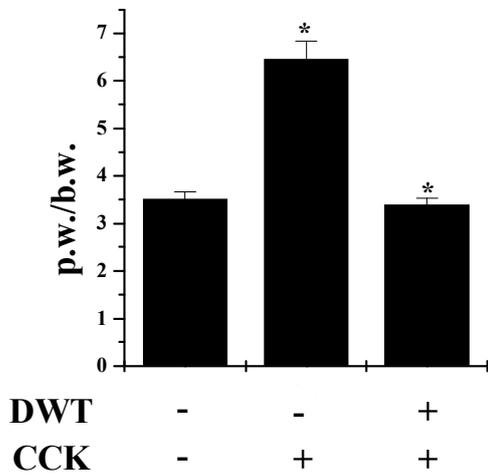


Fig. 1. Effect of DMG on the pancreatic weight/body weight ratio(p.w./b.w.) in CCK-induced acute pancreatitis. Groups were treated as indicated in the Experimental protocol. Mean±SE for 6 animals are shown. Significant difference(*P<0.05) vs. the saline-treated group.

4. IL-1 β 와 TNF- α 생성에 있어 DMG의 효과

CCK에 의해 유발된 급성 췌장염 랫트에서, DMG를 투여한 그룹의 IL-1 β (234.8±15.1 pg/ml) 분비량은 생리식염수를 투여한 그룹의 IL-1 β (334.7±8.6 pg/ml) 분비량보다 유의성 있게 감소했다(Table 1). 또한 DMG를 투여한 그룹에서도 TNF- α (215±5 pg/ml) 분비량은 유의성 있게 감소하였다(Table 1).

5. DMG에 의한 혈청 amylase 생성 변화

DMG를 처리한 그룹에서의 amylase 수치(12730±60 IU/L)는 생리식염수를 투여한 그룹에서의 amylase 수치(28466.66±750.12 IU/L)보다 유의성 있게 감소하였다(Fig. 4).

6. DMG에 의한 혈청 lipase 생성 변화

DMG를 처리한 그룹에서의 lipase 수치(11±0.33 U/L)는 생리식염수를 투여한 그룹에서의 lipase 수치(19.33±0.88U/L)보다 유의성 있게 감소하였다(Fig. 5).

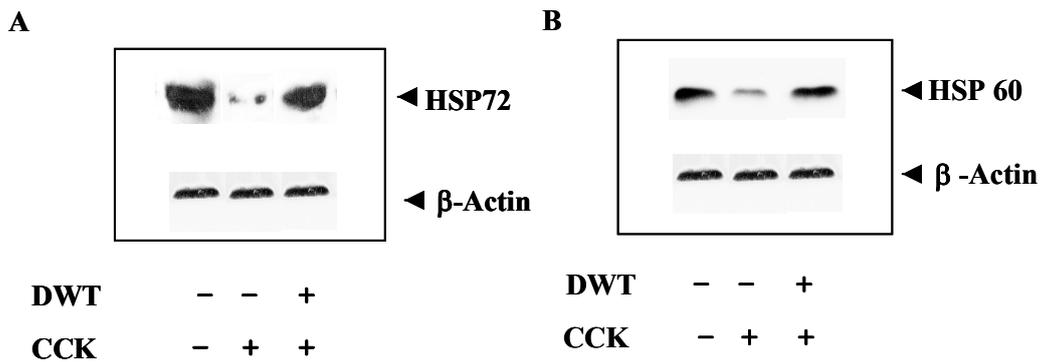


Fig. 2. Effect of DMG on HSP72 and HSP60 expression in CCK-induced AP. The figure depicts representative Western immunoblot analyses of protein lysates(30 μ g/lane) from the pancreas of rats, showing the expression of HSP60 (A) and HSP72 (B).

Table 1. Effect of TO on IL-1 β and TNF- α Secretion in CCK-induced AP.

Treatment		IL-1 β secretion (pg/ml)	TNF- α secretion (pg/ml)
CCK	DMG		
+	-	334.7 \pm 8.6	289.3 \pm 9.02
+	+	234.8 \pm 15.1*	215.2 \pm 5.1*

Rats were treated as indicated in the Experimental protocol. Mean \pm SE for 6 animals are shown. Significant difference (*P<0.05) vs. the saline-treated group.

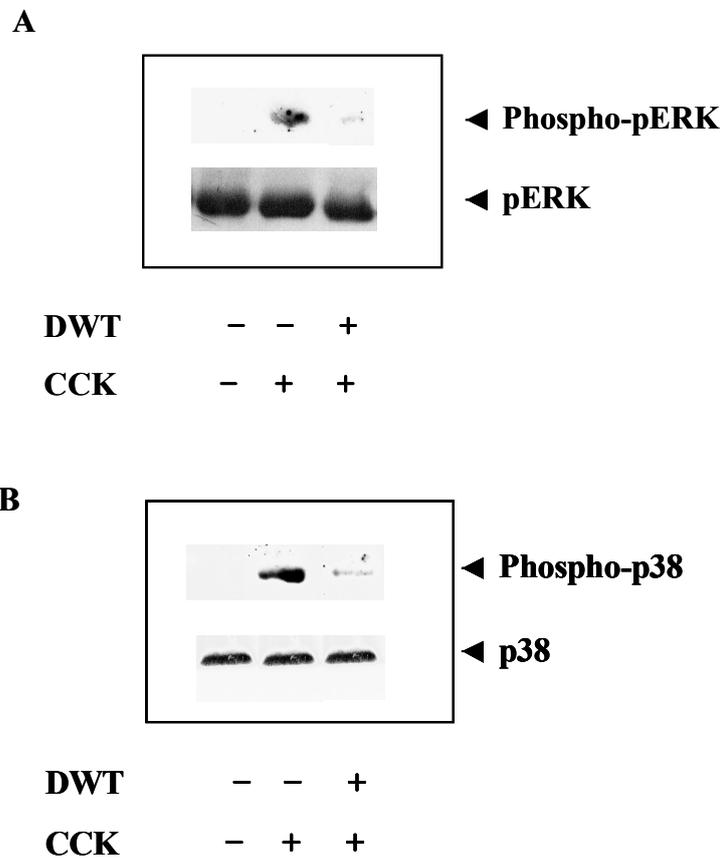


Fig. 3. CCK-induced activation of p38-MAPK, ERK1/2, and SAPK/JNK within protein lysates (30 μ g/lane) from the pancreas of rats, as compared to control values. Pre-treatment with DMG inhibited CCK-induced activation of ERK (A) in addition to inhibiting p38 MAPK (B).

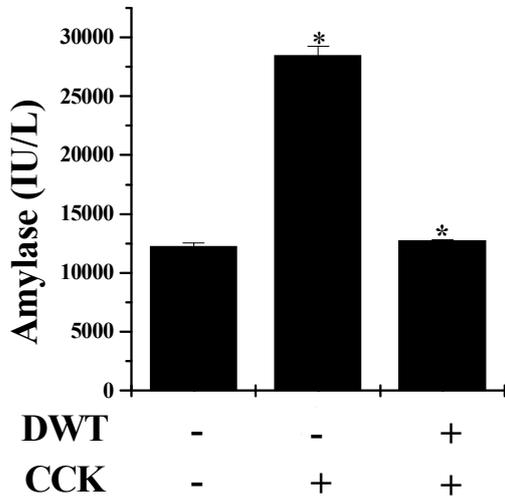


Fig. 4. Inhibitory effect of hyperamylasemia of DMG on CCK induced pancreatitis in rats. Serum amylase levels in control rats and with pancreatitis induced CCK, without and with administration of CCK. CCK was applied as described in experimental procedures. Values are mean±SE from at least 6 animals for each group. Values for animals with acute pancreatitis receiving DMG were significantly lower(P<0.05) than for those without DMG.

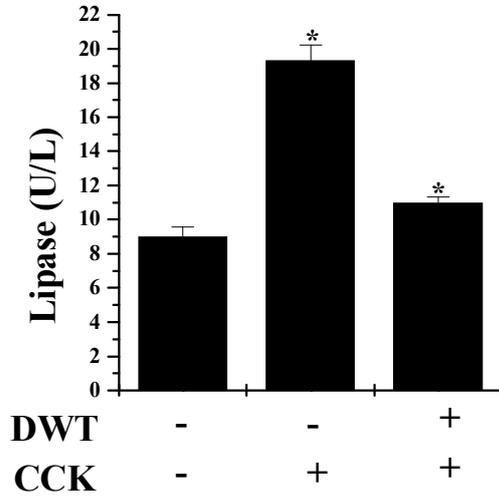


Fig. 5. Inhibitory effect of hyperlipasemia of DMG on CCK induced pancreatitis in rats. Serum lipase levels in control rats and with pancreatitis induced CCK, without and with administration of CCK. CCK was applied as described in experimental procedures. Values are mean±SE from at least 6 animals for each group. Values for animals with acute pancreatitis receiving DMG were significantly lower(P<0.05) than for those without DMG.

IV. 考 察

大黃牧丹皮湯은 漢代에 張機의 金匱要略에 처음 收載된 以後로 腸癰을 비롯한 積熱과 瘀血로 인한 病症을 治療하는데 사용되어 온 處方이다¹⁾. 大黃牧丹皮湯加減方을 구성하는 藥物의 效能을 살펴보면 薏苡仁은 利濕健脾 清熱排膿, 金銀花는 清熱解毒 涼血止痢, 蒲公英은 消癰散結 清熱解毒, 魚腥草는 清熱解毒 利尿消腫, 連翹는 透表清熱解毒 消癰

散結, 黃芩은 瀉火解毒 清熱燥濕止血, 當歸는 補血活血止痛 潤腸通便, 牧丹皮는 清熱涼血 活血散瘀, 皂角子는 消腫排膿 祛風殺蟲, 瓜蒌仁은 清肺化痰 滑腸通便, 大黃은 清熱解毒 瀉火利濕攻積, 桃仁은 破血祛瘀 潤燥滑腸, 杏仁은 止咳平喘 潤腸通便, 藿香은 化濕和中止嘔 發汗解暑, 枳殼은 破氣消積化痰 下氣通便, 桔梗은 止咳祛痰 排膿利咽, 木香은 行氣止痛 健脾消食, 陳皮는 行氣健脾 燥濕化痰, 芒硝는 瀉下軟堅 清熱瀉火, 甘草는 健脾益氣 清熱解毒 緩急止痛한다³⁾.

大黃牧丹皮湯加減方은 大黃牧丹皮湯에 消腫排膿하는 蒲公英 魚腥草 阜角子 薏苡仁과 清熱解毒하는 黃芩 金銀花 連翹 및 理氣祛濕하는 陳皮 木香 藿香 枳殼 桔梗 등을 加味한 處方으로 急性胃腸炎, 急性 및 亞急性 蟲垂炎과 腸間膜淋巴腺炎, 急性臍臟炎을 포함한 胃腸의 濕熱이나 瘀血로 인한 腸癰 등 응급치료를 要하는 小兒의 急性腹症에 광범위하게 활용되고 있다.

急性 臍臟炎은 小兒에서 복부의 둔상, 耳下腺炎, 風疹, 肝炎, coxackie virus 등 여러 바이러스 감염, 先天的 奇形, 대사장애, 약물중독 등의 다양한 원인에 의해 발생하는 炎症性 질환이다. 腹痛이 上腹部에서 갑자기 시작하여 1/3에서 등쪽으로 통증이 방사되어 惡心, 嘔吐, 食慾不振, 微熱을 동반하며 경한 증상에서부터 쇼크 장폐색 괴사성의 심각한 증상 등 그 임상상이 매우 다양하다. 가성낭종, 농양, 패혈증 등과 같은 합병증을 동반하는 경우에는 높은 사망률을 초래하므로 임상에서 관심의 대상이 되고 있다. 급성 췌장염은 췌장 실질 내 췌장 효소원의 부적절한 활성화로 활성화 효소가 되어 췌장의 자가분해가 일어나기 때문에 발생한다. 병리 조직 소견은 활성화된 단백 분해 효소와 지질 분해 효소의 유리와 관계가 있는데 초기에 간질성 부종이 나타나고 염증이 진행됨에 따라 괴사, 혈관파열에 의한 출혈, 복막의 염증이 발생한다. 만성췌장염은 소아에서는 드물다⁴⁾.

臍臟은 상복부에 비스듬히, 가늘고 길게 위(胃)의 뒤쪽에 위치하는 길이 약 15cm의 장기로서 體部는 제 1 또는 제 2 요추전방을 지나며 尾部는 脾臟에 접하고 두부와 체부사이를 頸部라고 부른다. 十二指腸과 지라 사이에 수평으로 가로지르는 선(線)으로, 그 중앙을 췌관이 통하고 있으며, 十二指腸의 乳頭部에

개구한다. 이자액을 분비하는 선조직 사이에는 섬 모양의 특수한 조직인 랑게르한스섬이 존재한다. 췌도의 총용적은 이자 전체의 1~2%로서 α 세포와 β 세포 2종류의 세포가 있다. α 세포는 아닐린에 의해 붉게 염색되는 과립이 있어서 글루카곤을 분비하며, β 세포는 아닐린에 의해 청자색으로 염색되는 과립을 함유하여 인슐린을 분비한다. 따라서 이자는 이자액을 분비하는 외분비선인 동시에 당대사 호르몬의 내분비선이기도 하다. 이자액은 무색 투명하며 1일의 분비량은 평균 700mg이다. 약알칼리성으로, 위액에 의하여 산성으로 된 미즙(汁)을 중화함으로써 이자액 중의 소화효소(단백질분해효소·지방분해효소·탄수화물분해효소)가 작용하게 된다. 인슐린은 랑게르한스섬의 β 세포에서 분비되는 호르몬으로, 포도당에서 글리코젠을 생성하고 포도당의 산화 및 지방에의 전화(轉化)를 촉진하는 작용을 한다⁵⁾.

급성췌장염의 초음파상 소견이 췌장의 크기가 증가하며 실질음영이 감소하고 췌관이 경도의 확장소견을 보이는 점⁶⁾, 병리적으로 부종, 종괴, 농양이 생기는 점, 大黃牧丹皮湯加減方이 清熱解毒, 消腫排膿, 理氣祛濕, 化瘀의 효능이 있는 약물로 구성된 점에 착안하여 CCK로 동물모델에 급성췌장염을 유도하여 분 실험연구를 하게 되었다.

Cholecystokinin(CCK)는 Jorpes와 Mult에 의해 분리 및 정제된 후 CCK의 구조가 결정되었으며^{18,19)} 지방섭취 후 담낭수축을 유발하는 주요 매개물질이라는 것이 밝혀진 이후, 임상에서 유용한 담낭수축제로 담낭 수축을 유도하는데 쓰여진다^{7,8)}. CCK로 유도한 급성 췌장염에서 몸무게에 대한 췌장 비율이 높아지는 것으로 알려졌다⁹⁾.

HSPs의 발현은 Cerulein으로 유도한 급성 췌장염이나 choline결핍 다이어트 모델 췌장염

을 보호하는 효과가 있다^{9,10}. HSPs는 세포가 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 하며, 췌장을 포함한 모든 기관들에서 다양한 스트레스 조건에서 구성적으로 발현되거나 수치가 올라간다. 또한 HSPs는 단백질들의 합성, 분리, 접합 및 수송에 관여한다. Strowski 등에 의하면 cerulein으로 유도된 급성췌장염에서 HSPs의 수치는 감소된다¹¹. 이런 결과는 췌장에서 HSPs의 발현량이 낮으면 cerulein으로 유도된 급성췌장염이 중증으로 가는데 중요한 역할을 하고 있음을 예측할 수 있다. 瀉熱破瘀, 散結小腫의 효능이 있는 것으로 알려져 급만성 충수염이나 하복 이하의 염증에 사용돼 온 DMG의 효과를 CCK로 유도된 급성췌장염 동물실험모델에서 확인했다. 과도한 양의 CCK는 HSP60과 HSP72의 단백질 발현을 감소시키지만¹², DMG를 투여함으로써 증가하는 것을 관찰했다.

MAPK는 진핵세포의 세포성장, 분화등의 조절에 중요한 역할을 하는 신호전달체계에 관여하는 효소로 ERK, JNK 및 p38 kinase의 MAPKs는 췌장에서 모두 발현되는 것으로 알려져 있으며 CCK, cerulein, bombesin 등에 의해 활성화 된다. 췌장 선방세포에서 과도한 양의 CCK를 자극하면 ERK와 p38 인산화가 활성화된다고 알려져 있다^{13,14}. DMG가 ERK와 p38 kinase 활성화를 억제하는 것도 확인했다. 이런 결과는 DMG가 세포내 ERK와 p38 MAPK를 경유하여 급성 췌장염 억제 효과를 나타냄을 의미한다.

CCK로 유도한 급성췌장염에서 혈청내 IL-1 β 와 TNF- α 의 생성 증가는 잘 알려져 있다^{15,16}. TNF- α 나 IL-1 β 같은 염증성 cytokine은 열, 저혈압, 쇼크 같은 췌장염과 관련이 되어 있다¹⁵. TNF- α 는 췌장염이 유발되는 동안 중요한 개시제로 알려져 있다¹⁶. 게다가 혈청에서의 TNF- α 는 사람에서 급성췌장염을 일으키는 중

요인자이다¹⁷. IL-1 β 는 급성췌장염에서 중요한 cytokine으로 알려져 이런 cytokine들의 분비량 조절로 급성췌장염을 억제할 수 있다¹⁸. DMG에 의한 IL-1 β 와 TNF- α 수준을 측정한 결과 생리식염수만 투여한 군에 비해 유의성 있게 감소하여 이들 염증 유발인자 생성 억제 효과도 확인했다.

또한 5일 동안 과도한 양의 CCK의 주입은 CCK로 유도한 급성췌장염에서 형태학적(아밀라제나 리파아제 수치의 증가) 그리고 생화학적인 변화(몸무게에 대한 췌장의 비율의 증가)를 유도한다¹⁹. 혈청 아밀라제 수준은 급성췌장염을 예측할 수 있는 중요한 바이오마커 중 하나로 급성췌장염에서 그 수치가 올라간다²⁰. 또한 혈청 lipase 수치 역시 급성췌장염에서 증가한다²¹. DMG가 5일 동안 CCK를 주입하였을 때 생리식염수만 투여한 군에 비해 몸무게에 대한 췌장의 비율과 amylase나 lipase 수치가 유의성 있게 감소하는 것을 확인했다. 이런 결과들은 CCK로 유도된 급성 췌장염의 발현조절에 DMG가 매우 유용하게 활용될 수 있음을 의미한다.

결론적으로 5일 동안 DMG를 투여했을 때 CCK로 유도된 급성췌장염 방어 효과가 분명함을 규명했다. 또한 DMG는 HSP60과 HSP72의 발현량을 증가시켰고 IL-1 β 와 TNF- α 분비를 감소시켰다. 이러한 효과들은 DMG에 의한 HSPs의 발현 증가에 기인한 것임을 예상할 수 있다.

V. 結 論

본 연구에서 CCK로 유도된 급성 췌장염에서 大黃牧丹皮湯加減方(DMG)의 효과를 조사하기 위해 전체 몸무게에 대한 췌장무게의

비율, HSP60, HSP72의 발현량 변화, ERK와 p38 MAPK의 활성변화, 전염증성 cytokine인 IL-1 β 와 TNF- α 분비량 및 amylase와 lipase 수준변화를 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DMG-투여군은 생리식염수-투여군에 비해 전체 몸무게에 대한 췌장무게의 비율이 유의성 있게 감소하였다.
2. DMG-투여군은 생리식염수-투여군에 비해 췌장의 HSP60과 HSP72의 발현량을 유의성 있게 증가시켰다.
3. DMG-투여군은 생리식염수-투여군에 비해 췌장의 ERK와 p38 MAPK 활성화를 억제하였다.
4. DMG-투여군은 생리식염수-투여군에 비해 IL-1 β 와 TNF- α 의 생성을 유의성 있게 감소시켰다.
5. DMG-투여군은 생리식염수-투여군에 비해 amylase와 lipase 수치를 유의성 있게 감소시켰다.

이상의 실험 결과로 보아 大黃牧丹皮湯加減方은 급성 췌장염 치료에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

參 考 文 獻

1. 江蘇新醫學院編. 中藥大辭典. 上海:上海科學技術出版社. 1977:2459-62.
2. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 최신지견 내과학II. 서울:군자출판사. 1966:40.
3. 강병수, 김영관. 임상배합본초학. 서울:永林社. 1994:94, 598.
4. 홍창의. 소아과학. 서울:대한고과서주식회사, 2001:580-3.
5. 이장훈. 동의임상내과학. 서울:법인문화사. 1999: 426-38.
6. 심찬섭. 복부초음파진단학, 서울:여문각. 2000: 277, 288.
7. Fink-Bennet, DeRidder P., Kolozsi WZ., Gordon R., Jaros R. Cholecystokinin chole-scintigraphy:Detection of abnormal gallbladder motor fuction in patients with chronic acalculous gallbladder diseaes. J Nucl Med. 1991;32:1695-9.
8. Krishnamurthy GT., Bobba VR., Kingston E. Radionuclide ejection fraction: A technique for quantitative analysis of motor function of the human gallbladder. Gastroenterology. 1981;80:482-90.
9. Rakonczay Z. Jr, Takacs T., Mandi Y., Ivanyi B., Varga I., Papai G. Boros I., Lonovics J. Water immersion pretreatment decreases pro-inflammatory cytokine production in cholecystokinin-octapeptide-induced acute pancreatitis in rats: possible role of HSP72. Int. J. Hyperthermia. 2001;17:520-35.
10. Otaka M., Okuyama A., Otani S., Jin M., Okayama A., Itoh S., Iwabuchi A., Sasahara H., Itoh H., Tashima Y., Komatsu M., Masamune O. Differential induction of HSP60 and HSP72 by different stress situations in rats. Dig. Dis. Sci. 1997;42:1473-9.
11. Strowski MZ., Sparmann G., Weber H., Fiedler F., Printz H., Jonas L., Goke B., Wagner AC. Caerulein pancreatitis increases mRNA but reduces protein levels of

- rat pancreatic heat shock proteins. *Am J Physiol.* 1997;273:937-945.
12. Lee H.S., Bhagat L., Frossard J.L., Hietaranta A., Singh V.P., Steer M.L., Saluja A.K. Water immersion stress induces heat shock protein 60 expression and protects against pancreatitis in rats. *Gastroenterology.* 2000;119:220-9.
 13. Dabrowski A., Groblewski G.E., Schafer C., Guan K.L., Williams J.A. Cholecystokinin and EGF activate a MAPK cascade by different mechanisms in rat pancreatic acinar cells. *Am J Physiol.* 1997;273:1472-9.
 14. Dabrowski A., Grady T., Logsdon C.D., Williams J.A. Jun kinases are rapidly activated by cholecystokinin in rat pancreas both in vitro and in vivo. *J Biol Chem.* 1996;271:5686-90.
 15. Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am J Surg.* 1998;175:76-83.
 16. Lane J.S., Todd K.E., Gloor B., Chandler C.F., Kau A.W., Ashley S.W., Reber H.A., McFadden D.W. Platelet activating factor antagonism reduces the systemic inflammatory response in a murine model of acute pancreatitis. *J Surg Res.* 2001;99:365-70.
 17. Exley A.R., Leese T., Holliday M.P., Swann R.A., Cohen J. Endotoxaemia and serum tumour necrosis factor as prognostic markers in severe acute pancreatitis. *Gut.* 1992;33:1126-8.
 18. Panozzo M.P., Basso D., Fabris C., Faggian D., Meggiato T., Plebani M., Del Favero G., Fogar P., Scalon P., Ferrara C. Diagnostic utility of a new monoclonal antibody pancreatic isoamylase assay in chronic pancreatic diseases. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1990;28:485-8.
 19. Lampel M., Kern H.F. Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol.* 1977;373:97-117.
 20. Panozzo M.P., Basso D., Fabris C., Faggian D., Meggiato T., Plebani M., Del Favero G., Fogar P., Scalon P., Ferrara C. Diagnostic utility of a new monoclonal antibody pancreatic isoamylase assay in chronic pancreatic diseases. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1990;28:485-8.
 21. Panteghini M., Pagani F., Bonora R. Clinical and analytical evaluation of a continuous enzymatic method for measuring pancreatic lipase activity. *Clin Chem.* 1993;39:304-8.