

加味大黃牧丹湯이 통풍유발 흰쥐에 미치는 영향

엄현섭*

동의대학교 한의과대학 병리학교실

Effects of Gami-Daehwangmokdan-tang on the Gout Induced ICR Mice

Hyun Sup Eom*

Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Donggeui University

In order to obtain practical application of Daehwangmokdan-tang against gout disease, water extract of Gami-daehwangmokdan-tang(GDMT) added with *Lonicera japonica* is prepared through decoction and freeze drying. The effects were evaluated with blood sample from ICR mice treated with MSU intra-peritoneal injection 1 time a day, 3 days consecutively. The results were as follows. GDMT decreased BUN, creatinine and C-reactive protein level in serum significantly. But the HDL and LDL cholesterol levels were not changed in spite of positive tendency in HDL cholesterol. Triglyceride and uric acid levels were decreased significantly too. These results show that GDMT can be used effectively against the urate-related gout disease.

Key words : Gami-daehwangmokdan-tang, Uric acid level, *Lonicera japonica*

서론

통풍은 단백질의 일부인 purine의 신진대사 장애로 혈액 중에 uric acid가 증가하여 생기는 대사성질환(metabolic disease)으로, 혈중의尿酸値가 상승하고 요산결정체가 관절이나 활액막이나 인대, 관절연골에 침착하여 2차적인 퇴행성 병변을 가져오기도 한다^{1,2)}.

임상 증상으로 급성 통풍성 관절염은 심한 관절통을 일으킨다. 85-90 %에서 처음에는 하나의 관절을 침범하는데 약 40-50 %는 엄지발가락 중족지 관절에서 일어난다. 통증은 갑자기 발작성으로 생기며 국소증상은 주로 야간에 시작되어 아침에 발을 디딜 때 심한 통증을 느낀다. 수 시간 후에 발적 및 피부 변색을 보이며, 종창과 더불어 통증이 심해진다. 그 외 전신 증상으로 발열, 두통, 빈맥 등이 나타나며 시간이 경과하면 여러 관절로 퍼지기도 한다. 질병의 경과는 다양하며 발작이 수 시간 내에 소실되기도 하나, 때로는 수 시간 또는 수주일 계속되기도 한다^{3,4)}.

한편 통풍은 95 % 정도가 성인 남자에게 이환되는 것으로 알려져 있으며 여자는 5 % 정도에 불과하고 사춘기 이전의 아동에게서도 거의 드물게 발견된다⁵⁾. 그렇지만 통풍성 관절염은 약 85-90 %가 엄지발가락, 발목, 무릎 등의 관절국소에 급성염증과

건드릴 수 없을 만큼의 심한 통증을 일으키며 만성적으로 경과하면 여러 장기조직을 침범하기 때문에 환자의 고통을 증가시킨다.

한의학에서 痛風에 관한 실험적 연구는 80년대부터 monosodium urate를 백서에 투여하여 급성 통풍성 관절염을 일으키고 藥鍼을 이용하여 치료효과를 확인한 연구가 있었고 처방을 활용한 연구는 아직 드문 실정이다. 또한 국내에서 통풍에 대한 연구는 주로 임상의학적인 증례보고^{6,7)} 형식이나 종설논문^{8,9)}으로 이루어지며 동물실험연구는 드문 실정이다.

저자는 백서에 MSU를 복강주사하여 통풍모델을 만들고 大黃牧丹皮湯을 투여하여 혈중요산의 변화를 관찰하고 이 처방에 의해 나타나는 염증제거관여 유전자 발현의 변화를 탐색한 후, 이를 통해 유의할만한 결과를 얻었기에 이미 보고한 바가 있다¹⁰⁾. 그러나 처방에 가미로 인한 효능을 더 관찰하기 위하여 대황목단탕에 금은화를 가미하여 가미대황목단탕을 만들어서 투여하여 살펴본 결과 유의할 결과를 얻어 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 생후 4주된 ICR 수컷 마우스이며 샘타코(주)에서 구입하였다. 고품사료와 물은 제한없이 공급하

* 교신저자 : 엄현섭, 부산시 부산진구 가야동 산24, 동의대학교 한의과대학

· E-mail : hseom@deu.ac.kr, · Tel : 051-850-8644

· 접수 : 2007/01/26 · 채택 : 2007/03/14

면서 12시간 낮, 12시간 밤의 생활리듬을 주었으며 항온항습상태에서 2주간 적응시킨 후 사용하였다. 실험동물은 마우스 9마리를 1군으로 하여 통풍을 유발시키지 않은 정상군(Normal)과 통풍을 유발시킨 대조군(Control), 통풍을 유발시킨 후 가미대황묵단탕을 투여한 약재투여군(Sample)으로 각각 배정하여 실험을 실시하였다.

2) 약물

실험에 사용된 약물은 부산광역시의 대화당건재약방에서 한약표준품 660 g을 구입하여 정제한 다음 粗末하여 圓底 flask에 넣고 증류수 4,000 ml을 가하여 3시간 가열하고 추출하였다. 이 여과액을 rotary vacuum evaporator로 감압 농축한 후 freeze dryer로 동결 및 건조하여 분말 110 g을 얻었다.

Table 1. Ingredients and each doses of Gami-Daihuangmudan-tang(GDMT)

| 한약명 | 학명 | 용량 |
|-----|-----------------------------|------|
| 大黃 | <i>Rheum coreanum Nakai</i> | 60g |
| 芒硝 | <i>Mirabilite</i> | 120g |
| 牡丹皮 | <i>Paeonia suffruticosa</i> | 100g |
| 桃仁 | <i>Prunus persica</i> | 100g |
| 瓜蒌仁 | <i>Benincasa hispida</i> | 120g |
| 萊菔子 | <i>Raphanus sativus L.</i> | 100g |
| 金銀花 | <i>Lonicera japonica</i> | 60g |

2. 방법

1) 통풍 유발

통풍은 Microcrystalline Sodium Urate(MSU)로 유발시켰는데, MSU의 조제는 1 Normal NaOH 49 ml를 포함한 1,600ml의 끓는 물에 8 g의 uric acid를 녹인 후 HCl을 가하여 pH를 7.2로 맞추고 용액을 저으면서 상온으로 식힌 다음 5 °에서 하루 밤을 보관하였다. MSU 생성여부를 현미경으로 확인한 후 saline과 혼합하여 20 % MSU 용액을 만들어 1ml/100 g용량으로 1일 1회, 3일 연속 복강 투여하였다. Control group은 3일간 정상식이와 함께 생리식염수만 공급하였다.

2) 약물 투여

가미대황묵단 냉동건조분말을 증류수에 용해(60 mg/100 g)한 검액을 1일 투여량으로 해서 3일간 경구 투여하였다.

3) 뇨와 혈액의 채취 및 혈청분리

뇨의 채취는 제 일회의 MSU 투여 직후로부터 24시간동안 metabolic cage에 넣고 채집하였다. 혈액의 채취는 최종 약물투여 후 24시간을 경과한 후에 마취(Ketamin : Lumpun=1 : 1)하고 심장천자에 의해 개체 당 약 1ml씩 채혈하여 혈액분석 샘플로 사용하였다.

4) 혈청중 Blood urea nitrogen 함량 측정

혈청중 BUN군은 urease의 작용으로 ammonia와 탄산가스로서 가수분해하고, 다시 ammonia는 2-oxoglutarate, NADH, H+ 및 GLDH(촉매)와 반응하여 NADH를 산화시켜 340nm에서 흡광도의 감소에 따라 혈중 BUN의 증가를 나타내는 Talke-Schubert¹¹⁾ 효소법을 원리로 자동생화학분석기(Express 550, Ciba-Coring Co)를 사용하여 측정하였다.

5) 혈청중 Creatinine 함량 측정

혈청중 creatinine은 Picric acid와 반응하여 creatinine-picric 복합물을 형성해서 510 nm에서 흡광도를 측정하는 Jaffe반응¹²⁾을

원리로 해서 자동생화학분석기(Express 550, Ciba-Coring Co)를 사용하여 측정하였다.

6) 혈청중 C-reactive protein 정량 측정

혈청 중 CRP(C-reactive protein)는 Anti-human CRP mouse monoclonal 항체 감도 작용 라텍스와 항원 반응을 일으켜 응집을 발생시켜 이 응집의 흡광도 변화를 측정하는 라텍스 응집 비탁법¹³⁾을 이용하여 측정하였다.

7) 혈청중 HDL Cholesterol과 LDL Cholesterol 측정:

혈청중 cholesterol 함량 측정은 Allian법¹⁴⁾에 준하여 Chemical analyzer(EXPRESS-550)로 자동 측정하였다.

8) 혈청중 Triglyceride 함량측정

혈청중 Triglyceride치는 lipase,GK 및 GPO의 촉매작용으로 TG는 DHAP와 H₂O₂를 형성하고, 다시 H₂O₂는 Peroxidease(POD), 4-aminoantipyrine 및 TOOS와 반응하여 quinoneimine을 형성해서 540nm에서 흡광도를 측정하는 Nagele etal 방법¹⁵⁾ 및 Trinder¹⁶⁾방법을 원리로 해서 자동생화학분석기(Express 550, Ciba-Coring Co)를 사용하여 측정하였다.

9) 혈청중 Uric acid 함량측정

혈청중 uric acid는 uricase에 의해 allantoin, Co₂, H₂O₂로 산화되고, 다시 H₂O₂는 Peroxidase(HPO), 4-aminoantipyrine 및 TOOS와 반응하여 chromophere를 형성해서 540 nm에서 흡광도를 측정하는 Trinder¹⁷⁾방법을 원리로 하여 자동생화학분석기(Express 550, Ciba-Coring Co)를 사용하여 측정하였다.

10) 통계처리

모든 실험분석의 결과는 평균과 표준편차로 나타내었고, 각 실험군의 유의성은 P value 0.05-0.001 수준으로 나타내었으며, 대조군과 실험군의 비교는 T-test로 하였다.

성 적

1. 혈청중 BUN함량 측정

혈청 중 BUN 함량변화에 있어 정상군은 18.90±4.193군은, 대조군은 22.54±3.114인데 약물투여군은 19.69±1.965로 유의성 있는 감소 (p<0.01)를 나타내었다(Fig. 1).

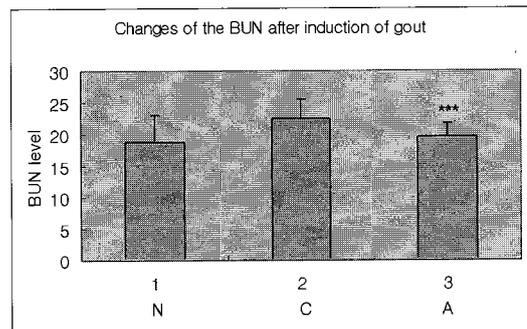


Fig. 1. Effects of GDMT on the changes of BUN level. N : normal mice. C : control group mice, A : sample group mice.

2. 혈청중 Creatinine함량 측정

혈청 중 Creatinine 함량변화에 있어 정상군은 0.347±0.0304,

대조군은 0.381 ± 0.0476 인데 약물투여군은 0.341 ± 0.0416 으로 유의성 있는 감소($p < 0.05$)를 나타내었다(Fig. 2).

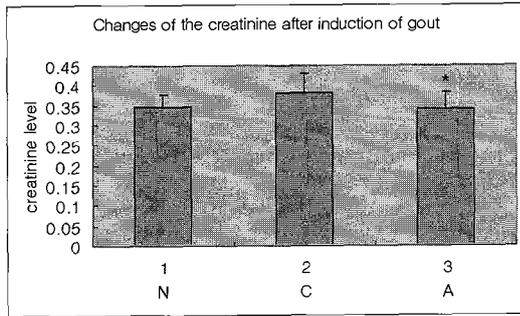


Fig. 2. Effects of GDMT on the changes of Creatine level. N : normal mice, C : control group mice, A : sample group mice.

3. 혈청중 CRP정량 측정

혈청 중 CRP 함량변화에 있어 정상군은 0.035 ± 0.0024 , 대조군은 0.038 ± 0.0028 인데 약물투여군은 0.034 ± 0.0051 로 유의성 있는 감소($p < 0.02$)를 나타내었다(Fig. 3).

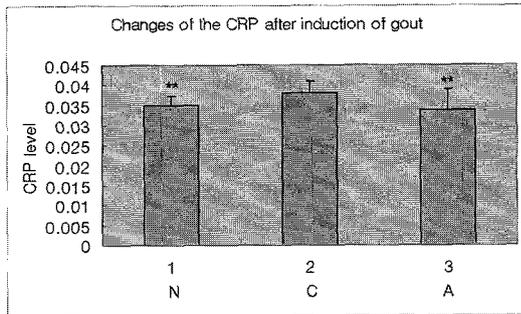


Fig. 3. Effects of GDMT on the changes of CRP level. N : normal mice, C : control group mice, A : sample group mice.

4. 혈청 중 HDL Cholesterol 측정

혈청 중 HDL Cholesterol 함량변화에 있어 정상군은 138.545 ± 10.1908 , 대조군은 124.100 ± 10.2575 인데 약물투여군은 140.727 ± 6.0130 으로 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 4).

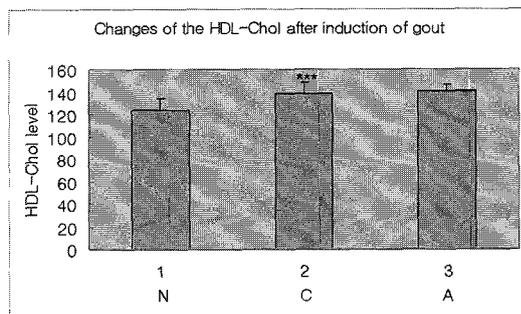


Fig. 4. Effects of GDMT on the changes of HDL-Chol level. N : normal mice, C : control group mice, A : sample group mice.

5. 혈청 중 LDL Cholesterol 측정

혈청 중 LDL Cholesterol 함량변화에 있어 정상군은 16.909 ± 4.2767 , 대조군은 19.571 ± 2.6992 인데 약물투여군은 20.067 ± 5.7500 으로 유의성은 확인되지 않았다(Fig. 5).

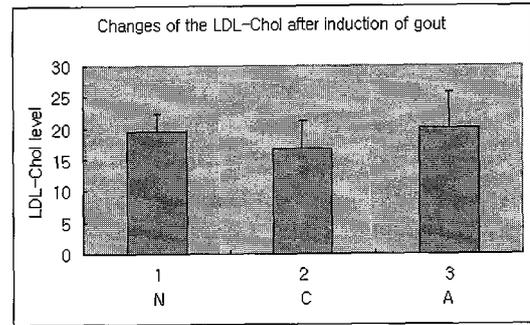


Fig. 5. Effects of GDMT on the changes of LDL Cholesterol level. N : normal mice, C : control group mice, A : sample group mice.

6. 혈청중 Triglyceride 함량측정

혈청 중 Triglyceride 함량변화에 있어 정상군은 44.286 ± 12.7765 , 대조군은 83.545 ± 43.7569 인데 약물투여군은 53.467 ± 19.1306 으로 유의성 있는 감소($p < 0.03$)를 나타내었다(Fig. 6).

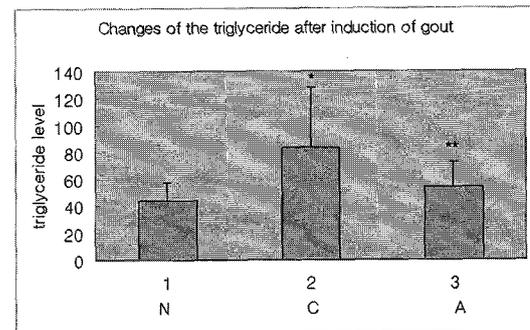


Fig. 6. Effects of GDMT on the changes of Triglyceride level. N : normal mice, C : control group mice, A : sample group mice.

7. 혈청중 Uric acid 함량측정

혈청 중 Uric acid 함량변화에 있어 정상군은 2.529 ± 1.6530 군, 대조군은 3.864 ± 2.7688 인데 약물투여군은 1.300 ± 0.4358 로 유의성 있는 감소($p < 0.002$)를 나타내었다(Fig. 7).

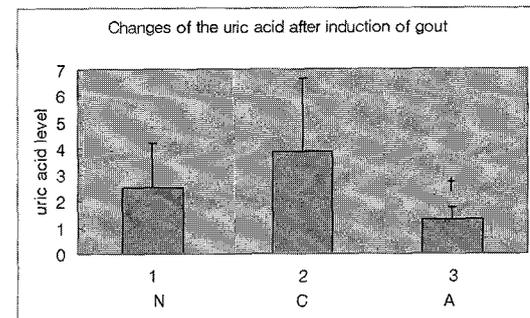


Fig. 7. Effects of GDMT on the changes of Uric acid level. N : normal mice, C : control group mice, A : sample group mice.

고찰

大黃牧丹湯은 <金匱要略>에서 “腸癰者 少腹腫痞 按之即痛 如淋 小便自調 時時發熱 自汗出 復惡寒 其脈遲緊者 癰未成 可下之 當有血 脈洪數者 膿已成 不可下也 大黃牧丹湯主之”라고 한 이래로 腸癰의 치료약물로 사용되어왔다.

저자는 그것을 응용하여 MSU로 유발된 ICR mouse의 통풍 모델에 대하여 요산과 중성지방을 낮춤으로써 유의한 치료 작용을 하였으며, gene sequencing에 의한 DEG의 Blast searching 결과로부터 그 기전으로서 synovial fibroblast의 염증이 진행되는 과정에서 microfibril의 섬유화와 구축을 저해하는 것으로 해석할 수 있었다. 이것을 임상에 활용하기 위하여 금은화를 가미하고 처방의 약물 배합을 일부 변경하여 임상 활용에 대한 효능의 검증이 필요하다고 생각하였다.

加味한 金銀花의 味는 甘하고 性은 寒하여 解毒散腫과 清熱涼血의 효능¹⁹⁾이 있기 때문에 熱毒으로 인한 각종 염증성 질환, 특히 통풍의 치료에 보다 나은 효능을 기대하여, 大黃牧丹湯에 金銀花를 가미하여 가미대황목단탕을 만든 후에 MSU로 유발된 ICR mouse의 통풍모델에 투여하여 혈청 중 BUN, creatinine, CRP, HDL cholesterol, HDL cholesterol, triglyceride, uric acid를 관찰하였다.

BUN의 증가는 대부분 신장질환 또는 요도의 obstruction이 있어 배설이 잘 안 되는 경우에 발생한다. 예를 들면 신장기능의 저하, 탈수, 뇨독증, 전해질 이상 등에서 볼 수 있다. 그런데 본 실험에서 가미대황목단탕을 사용한 군에서 BUN을 유의성 있게 감소시켰다. 그러므로 obstruction의 제거에 도움이 됨을 알 수 있다.

Creatinine은 신질환, 근육괴사 등에서 증가하는데 그 중에서 신장질환에 많이 나타난다. 또한 통풍성관절염의 90%에서 신장의 기능장애가 발생되고 대표적인 증상으로서 단백뇨, 신결석, 농축능 감소 등이 있으며 이러한 증상들은 혈액중의 creatinine 함량에 영향을 미치는데, 가미대황목단탕을 사용한 군에서 유의성 있게 감소시키므로 통풍성 신장질환을 저지하는데 효과가 있음을 추측할 수 있다.

C-reactive protein은 여러 가지 염증 또는 조직괴사 때에 나타나는 것으로 급성염증의 indicator가 되고 있다. CRP가 흔히 나타나는 질병으로 세균감염, 활동성 류마티스 발열, 급성심근과열, 정이된 악성 종양 등이 있다. 따라서 가미대황목단탕은 급성염증을 억제하는 효능이 있는 것으로 추측된다.

Cholesterol은 주로 간에서 만들어 지며 담즙으로 배설된다. 부신이나 생식기에서 만들어진 cholesterol은 주로 그 장기에서 일어나는 스테로이드 호르몬 합성에 쓰인다. 간장의 cholesterol은 80%가 담즙산이 되고 나머지는 혈액 속에 들어가 여러 장기 에 운반된다. 운반되는 에스테르 형태의 Cholesterol로서 저밀도 지단백(LDL) 속에 들어가 운반된다. 이 LDL은 cholesterol을 필요로 하는 장기의 표면에 있는 LDL수용기라는 수용체와 결합하여 세포속으로 들어간다. 이에 반하여 HDL(고비중 지단백) 속의 cholesterol은 장기에서 불필요한 cholesterol을 간장으로 운반하는 이로운 cholesterol이다.

High Density Lipoprotein Cholesterol은 그 혈중 농도가 높 아지면 관상동맥경화증을 비롯한 각종 동맥경화증을 예방하는

인자로 여겨지고 있다. 그러나 실험에서 함량변화에 있어 효능을 확인할 수 없었기에 가미대황목단탕은 여기에 크게 관여하지 않는 것으로 추측된다.

LDL Cholesterol은 총 cholesterol보다 관상동맥질환 위험인자로 판정하는데 많이 활용되고 있으나, 함량변화에 있어 효능을 확인할 수 없었기에 가미대황목단탕은 여기에 크게 관여하지 않는 것으로 추측된다.

Triglyceride는 지방의 양, 장관에서의 흡수, 간장에서의 NEFA 및 탄수화물로부터 Triglyceride 방출과 합성, 간장으로부터의 triglyceride의 지방조직에서의 섭취 등 여러 인자에 의하여 좌우되며 주로 동맥경화, 고지혈증, 통풍, 다발성골수종 등에서 볼 수 있는데 본 실험에서 가미대황목단탕 군은 유의성 있게 감소하였다.

혈청중 uric acid 함량은 purine대사의 종말 산물로 뇨중에서 유리노산 또는 뇨산염으로 배설되는데 증가하는 경우는 세포붕괴가 심한 경우 즉 다이어트시나 열성질환, 백혈병, 류마티즘, 통풍 발작 후 등이며, 감소하는 경우는 신기능장애시, 통풍발작 전 등으로 알려져 있는데 본 실험에서는 유의성 있게 감소하였다.

이상의 결과로 가미대황목단탕은 요도의 obstruction이 있어 배설을 도와 신장질환에 활용이 될 수 있으며, 혈액중의 creatinine 함량을 감소를 통하여 통풍성 신장질환을 저지하고, C-reactive protein을 억제하여 급성 염증을 억제하고, triglyceride와 혈청중 uric acid를 감소시키는 것을 통하여 고지혈증, 동맥경화, 통풍 등에 효능이 있는 것으로 생각할 수 있다. 이를 통하여 가미대황목단탕의 통풍성 질환에서 임상에 활용하는데 도움이 되리라 생각한다.

결론

MSU로 유발된 ICR 마우스의 통풍성 관절염 모델에 대하여 가미대황목단탕을 투여한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

가미대황목단탕은 혈청 중 BUN함량에 유의성 있는 감소를 나타내었다. 가미대황목단탕은 혈청 중 creatinine함량에 유의성 있는 감소를 나타내었다. 가미대황목단탕은 혈청 중 CRP함량에 유의성 있는 감소를 나타내었다. 가미대황목단탕은 혈청 중 HDL cholesterol 함량과 LDL cholesterol 함량에는 유의성이 나타나지 않았다. 가미대황목단탕은 혈청 중 triglyceride 함량에 유의성 있는 감소를 나타내었다. 가미대황목단탕은 혈청 중 uric acid 함량에 유의성 있는 감소를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 2005년도 동의대학교 교비 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

참고문헌

1. Harrison's 내과학. 해리슨내과학편찬위원회. 도서출판 정담, pp 2251-2261, 1997.

2. 이문호. 내과학. 서울, 박애출판사, pp 2304-2317, 1977.
3. H.F. Conn et al, Current Therapy, W.B. Saunders, 450-452, 1987.
4. Kelly, W.N. Gout disorders of purine metabolism in harrison Principles of internal Medicine, 10th, Mcgraw-hill, Annu. Rev. Biochem p 40, 811, 1971.
5. Wilson et al. Harrison's principles of internal medicine, Int. ed., Vol 2, Mcgraw Hill pp 1834-1835, 1992.
6. 박태수 외 5인. 관절경을 이용한 만성 통풍성관절의 치료. 대한정형외과학회지 33(1):202-206, 1998.
7. 차훈외 6인., 만성결절성 통풍 환자에 발생한 칸디다 관절염 1예. 대한내과학회지 54(1):105-108, 1998.
8. 조수미, 이인선. 통풍의 동서의학적 비교 고찰. 동의물리요법 과학회지 4(1):223-234, 1997.
9. 백한주 외 5인, 통풍성 관절염의 임상 양상에 관한 연구, 대한내과학회지 52(6):727-736,1997.
10. 김중배, 지구용, 엄현섭. 대황목단탕의 요산지표 개선효과와 관련 유전자 탐색. 동의생리병리학회지 19(6):1534-1540, 2005.
11. Talke, H. Schubert, G.E. Klin. Wschr. 43: 1974, 1965.
12. Jaffe, M. Uber den Niederschlag, welchen pikrin saure in normalen harn erzeugt und Uber eine Reaktion eskreugtinines Hoppe seylers Z. Physio. Chem. 391-400, 1980.
13. Patterson, L.T., Higginbotham, R.D. Mouse C-Reactive Protein and Endotoxin-Induced Resistance. J Bacteriol. 90(6):1520-1524, 1965.
14. Allain, C.C., Poon, L.S., Chan, C.G.S., Richmond. W., Fu. P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol Cli. Chem. 20(4), 1974.
15. Nagele, U., Haaagele, E.O., et al. J. Chin. Chem. Biochem 22: 165-174, 1984.
16. Trinder, P. Dertermination of glucose in blood using gluse oxidase with an alternativeoxy-gen-acceptor, Ann. clin. Biochem 6: 24, 1969.
17. Trinder, P. Dertermination of glucose in blood using gluse oxidase with an alternativeoxy-gen-acceptor, Ann, Clin. Biochem 6: 24, 1969.
18. 신민교. 임상분초학. 영림사, p 321, 1991.