

中脘(CV₁₂) 手拈散약침이 Caerulein으로 유발된 흰쥐의 췌장염에 미치는 영향

김인수 · 전상윤 · 정태산 · 강성순 · 조재준 · 이영수*

동신대학교 대학원 한의학과

Abstract

Effects of *Sujeom* Powder Pharmacopuncture Injected at *Jung-wan*(CV₁₂) on the Caerulein-induced Acute Pancreatitis in the Rat

In Soo Kim, Sang Yun Jeon, Tae San Jeong, Sung Sun Kang,
Jae Jun Jo and Young Su Lee*

Dept. of Oriental Medicine, Graduate School of Dongshin University

Objectives : This study was designed to investigate Effects of *Sujeom* powder(SJP) pharmacopuncture Injected at *Jung-wan*(CV₁₂) in rats with caerulein-induced acute pancreatitis(AP).

Methods : We examined changes of organ weight, histology, immunohistochemistry and gene expression of cyclooxygenase 2(COX-2) in the pancreas. Twenty adult male Sprague-Dawley rats were divided into four groups as follow: normal(Nor), caerulein-induced(Con), caerulein+SJP pharmacopuncture 0.2mL injected at *Jung-wan*(CV₁₂)(SA), and caerulein+SJP pharmacopuncture 0.8 mL injected at *Jung-wan*(CV₁₂)(SB) groups.

Pancreatic tissues of rats from all groups were removed for histological observation and light microscopic examination. Interleukin-6(IL-6) levels were determined spectrophotometrically.

Results : The ratio of pancreas/body weights was significantly($p<0.05$) increased in the Con, the SA and the SB compared with the Nor, but was slightly decreased in the SA and in the SB groups compared

Acceptance : 2012. 11. 2. Adjustment : 2012. 11. 26. Adoption : 2012. 11. 27.

Corresponding author : Young Su Lee, Dongshin University Oriental Medicine Hospital in Affiliation, Internal Medicine of Bi's system, 141, Wolsan-ro, Nam-gu, Gwang-ju, 503-230, Republic of Korea

Tel : +82-10-2680-4147 E-mail : hefari92@hanmail.net

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society

with the Con. Caerulein administration has significantly($p<0.05$) increased in the levels of amylase, but the SA, the SB significantly($p<0.05$) decreased in the levels of these enzyme. The levels of amylase were increased significantly with caerulein administration, but were inhibited significantly in the SA and in the SB groups. Interleukin-6(IL-6) levels were significantly($p<0.05$) increased in all groups compared with the Nor, especially in the SB. were significantly increased. The levels of Tumor necrosis factor(TNF)- α levels were significantly increased in all groups compared with the Nor. In the conclusion, the datum of IL-6 and TNF- α are suggested that the inflammation was still existed actively at a point of measurement(24 hours later). The COX-2 positive materials are observed in the pancreas from the Con, but these positive materials are decreased in the SJP pharmacopuncture at *Jung-wan*(CV₁₂) treatment group.

Conclusion : SJP pharmacopuncture injected at *Jung-wan*(CV₁₂) is potentially capable of limiting pancreatic damage during AP by restoring the fine structure of acinar cells and tissues. Therefore we can say that SJP pharmacopuncture Injected at *Jung-wan*(CV₁₂) may have beneficial effects in the treatment of caerulein-induced AP. Further studies about the adequate amount of the SJP pharmacopuncture and about more effective route of administration is still required .

Key Words : *Sujeom* powder(SJP), pharmacopuncture, caerulein, pancreatitis, amylase

I. 서론

췌장염은 단백분해효소 전구물이 췌장 내에서 조기 활성화됨으로써 일어나는 자가소화의 과정으로 췌장에 浮腫, 腫脹을 동반하는 염증성 질환이다. 단기간에 치료가 되는 간질성·부종성 췌장염부터 염증, 탈락, 췌사가 심해서 전신증상을 유발하는 급성 췌장염¹⁾, 또한 췌장염이 수개월 혹은 수년 동안 지속되어 췌장을 파괴하는 만성·재발성 췌장염까지 다양하다²⁾. 췌장염의 발생빈도는 나라마다 다르며 우리나라는 근래 서구화된 생활로 그 발생이 증가하고 있으나 정확한 원인과 발생기전은 아직 규명되지 않은 상태이다³⁾.

한의학에서 췌장염은 주로 心胃痛, 脾心痛, 胃脘痛, 結胸 등의 범주에 속하며 腹痛, 惡心, 嘔吐 및 發熱 黃疸 등의 증상이 나타난다. 치료는 疏肝解鬱, 理氣止痛, 活血化瘀하는 大柴胡湯加味, 小腹逐瘀湯加味, 膈下逐瘀湯加味, 蟠蔥散, 手拈散 등이 善用되었다⁴⁾.

手拈散은 草果, 玄胡索, 五靈脂, 沒藥으로 구성되어 있으며 朱의 《丹溪心法》에 처음 수록된 이래 心痛, 脾心痛, 九種心痛에 사용된 活血祛瘀止痛劑의 대표적 처방이다⁵⁾. 췌장염 모델에 대한 억제효과를 보인 한 의학적 연구로는 金銀花·蒲公英·敗醬⁶⁾ 등의 약물이 보고되었고 복합처방으로는 正傳加味二陳湯⁷⁾, 手拈散⁸⁾,

加味大黃牡丹皮湯⁹⁾ 등이 보고되었으나 췌장염과 관련하여 약침의 효과를 살펴보는 연구는 전무한 실정이다.

약침요법은 질환과 연관된 경혈과 체표 축진에 의해 얻은 양성 반응점(壓通點, 阿是穴)에 주사기를 사용하여 약물을 주입하는 방법으로, 자침과 약물의 효능을 이용해 생체의 기능을 조정하고 병리상태를 개선시켜 질병을 치료하는 新鍼療法이다¹⁰⁾.

이에 본 연구에서는 手拈散약침의 췌장염 억제 효과를 확인하기 위해 caerulein으로 유발된 흰쥐에 투여량을 달리한 手拈散약침을 中脘에 시술한 후 췌장 중량/체중 비율, 백혈구변화, 호중구·림프구 함량비 측정, 혈청 amylase, interleukin 6 농도, TNF- α 농도, 광학현미경, COX-2 면역조직화학 등의 실험을 수행하여 유의한 결과를 얻었기에 보고한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 재료

1) 실험동물

체중 180±10 g 내외의 7주령 흰쥐(Sprague-Dawley, male, 20마리)를 샘타고((주), 오산)로부터 구입하였

다. 실험동물은 동신대학교 한의과대학 동물사육실에서 일정한 조건(온도 : 21± 2 ℃, 습도 : 50-60 % 12 시간 주기 명/암)하에서 일반 고형사료(샘타코, 흰쥐용)와 물을 충분히 공급하면서 1주 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 手拈散약침의 구성

실험에 사용한 약재는 동신대학교 부속한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였고, 手拈散약침(Soojeom powder, 이하 SJP)의 구성은 Table 1과 같다.

Table 1. Prescription of Medicinal Herbs

Herbal name	Scientific name	Weight(g)
玄胡索	Rhixoma corydalis	40
草果	Fructus amomi Tsaoko	40
五靈脂	Faeces trogopteroni	40
沒藥	Myrrha	40
Total amount		160

2. 방법

1) 급성 췌장염 유발

정상군을 제외한 모든 실험동물은 약 16시간 전부터 사료 공급을 중단한 다음 caerulein(40 µg/kg, Sigma, USA)을 1시간 간격으로 2회 복강 투여하여 급성 췌장염을 유발하였다.

2) 약침의 제조

분쇄기를 이용하여 手拈散 약재들을 분쇄하여 삼각 플라스크에 넣고 증류수 2 L를 가하여 약탕기로(대용약탕기) 1시간 30분 동안 전탕하여 1 L로 만든다. 전탕액을 감압여과기(KNF Neuberger Laboport/ 여과지 Adventec, filter paper no. 5A 110 mm 100 circles)로 3회 여과한 후, 감압농축기(BUCHI Rotavapor R-144/Buchi waterbath B-480)를 이용하여 온도 90 ℃, 압력 190 mbar로 감압 농축하였다. 농축액에 95 %에탄올 30 ml를 가하여 실온에서 교반한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 다시 여과하였다. 이 여과액을 다시 감압 농축하여 에탄올과 수분을 모두 제거하였을 때 얻은 분말은 34.4 g이었다. 이 분말에 Normal Saline 300 cc를 넣고 완전히 용해될 때까지 magnetic bar를 이용하여 stir한다(Trans sonic T890H(u/s) dissolve, 50 ℃). 용해시킨 용액은 8,000 rpm으로 20분 동안

Centrifuge(Beckman Coulter Avati J30I)시켜 침전물은 남기고 상층액을 취하였다. 이 용액을 10 % NaOH를 이용해 PH 7.4로 맞추고 마지막으로 생체 투여가 가능하도록 세균과 바이러스를 걸러내기 위해 0.45 µm와 0.2 µm필터(Adventec)를 이용하여 여과하여 약침으로 사용하였다.

3) 실험군 설정 및 약물투여

급성 췌장염을 유발시키지 않은 정상군(이하 Nor군)과 췌장염을 유발시킨 다음 1시간 후에 각각 생리 식염수 0.2 mL를 투여한 대조군(Con군), 0.2 mL SJP 약침을 투여한 SA군, 0.8 mL SJP 약침액을 투여한 SB군으로 구분하였다. 각 군의 N은 5마리로 하였다. 약침이 시술된 부위는 쥐의 中腕(CV₁₂)으로서, 白線을 따라 복부 정중선상에서 胸骨劍突尖과 13번째 肋骨端과 腸骨의 가상 수평선상의 중간점과의 1/2되는 부위를 취하였다.

3. 관찰방법

1) 체중측정

정상군 · 대조군 · 실험군 모두 도살하기 직전 체중을 측정하였다.

2) 췌장중량/체중비율

手拈散약침을 中腕에 시술한 다음 24시간 후, 실험이 끝난 모든 실험동물은 urethane(700 mg/kg)을 복강 투여하여 마취한 상태에서 채혈을 한 다음 췌장을 절취한 후 Grady et al¹¹⁾의 방법에 의하여 wet pancreas weight/wet body weight 계산식을 통하여 체중에 대한 췌장의 중량을 측정하였다. 측정에는 전자저울(UW420H, Shimadzu, J메무)을 사용하였다.

3) 혈구검사

手拈散약침을 中腕에 시술한 다음 24시간 후, 혈액은 urethane(700 mg/kg)을 복강 투여하여 마취한 다음 흉곽을 열고 심장 채혈을 하였다. 채혈된 혈액은 EDTA bottle에 넣은 다음 곧바로 Condo et al¹²⁾의 방법에 의하여 혈구측정기(HEMAVET 950, USA)를 사용하여 백혈구(호중구 · 림프구)를 측정하였다.

4) 혈청 amylase 측정

흰쥐에 手拈散약침을 中腕에 시술한 다음 24시간

후에 심장 채혈을 통하여 혈청을 얻은 다음 amylase SL kit(ELITTECH, France)를 사용하여 405 nm에서 혈청 amylase의 농도를 측정(PHOTOMETER 5010, Germany)하였다.

5) 혈청 IL-6 농도 측정

手拈散약침을 中腕에 시술한 다음 24시간 후, 혈청 중의 IL-6 농도는 Pezzilli et al¹³⁾의 방법에 의하여 Mouse IL-6 ELISA kit(BD, USA)를 이용하여 SpectraMax M2(Molecular Device, USA)로 450 nm에서 측정하였다. 먼저 각 well에 ELISA dilution 50 μ L와 혈청 50 μ L를 넣고 5초 동안 흔들여 준 후, 실온에서 2시간 동안 incubation하였다. Plate를 wash buffer로 5회 수세하고, 각 well에 Working detector를 100 μ L 넣고 실온에서 1시간 동안 incubation 하였다. Wash buffer를 이용하여 수세한 다음 DAB 발색제를 넣고, 다시 30분 동안 incubation 하고 stop solution을 분주한 다음 측정하였다.

6) 혈청 TNF- α 측정

手拈散약침을 中腕에 시술한 다음 24시간 후, 혈청 중의 TNF- α 농도의 측정은 ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)를 이용하여 solid phase sandwich ELISA kit (BD OptEIA TNF ELISA kit)로 측정하였으며, 검출 한계는 13 pg/mL이다.

7) 광학현미경 관찰

手拈散약침을 中腕에 시술한 다음 24시간 후, 흰쥐의 췌장을 적출하고 10% formalin용액을 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음(30, 50, 70, 80, 90, 95, 100 I, 100II) %와 같이 알코올 농도를 상승시켜 탈수한 다음 xylene으로 투명화 과정을 거친 후 파라핀으로 포매하였고, 포매된 조직을 자동조직절편기(MR-3, USA)를 사용하여 6 μ m두께로 절편을 제작하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시키고 xylene으로 paraffin을 제거한 다음 100 %, 90 %, 80 % ethanol과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담가 흡수과정을 거치게 하였다. Hematoxylin과 Eosin으로 이중 염색을 한 다음 탈수하였다. Canada balsam으로 봉합한 후 카메라 부착 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

8) 면역조직화학

手拈散약침을 中腕에 시술한 다음 24시간 후, 흰쥐

의 췌장을 적출하여 10 % formalin을 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음, 파라핀으로 포매한 후 자동조직절편기(MR-3, USA)를 사용하여 조직을 6 μ m 두께로 절편을 제작하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 이를 xylene에서 파라핀을 제거한 다음 100 %, 90 %, 80 % ethanol과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담가 흡수과정을 거치게 하였다. 12시간 후 pH 7.2, 0.1 M의 phosphate buffer saline(PBS, 0.9 % NaCl) 용액에 24시간 동안 배양시킨 다음 15분간 PBS로 세척한 뒤 10 % horse serum을 함유한 blocking solution을 사용하여 20분 동안 배양시키고 다시 PBS용액으로 15분간 세척하였다. 세척한 각각의 조직 위에 polyclonal anti mouse COX-2 항체(Cayman Chemical Co)를 각각 처리하고 습도가 높은 상온의 배양접시에서 2시간 동안 배양시킨 뒤 15분간 PBS용액으로 세척하였다. 그리고 2차 항체 biotinylated anti-mouse IgG를 처리하여 60분간 배양시킨 후 15분간 PBS용액으로 세척하였다. 이를 다시 3차 항체 avidin-biotinylated enzyme complex (ABC) reagent(Vector Lab, CA, USA)를 조직에 처리 30분간 반응시키고 다시 PBS용액에서 15분간 세척하였다.

DAB(3, 3'-diaminobenzide) 발색시약을 조직에 떨어뜨려 2분간 발색시키고 난 후 흐르는 물에 과량의 염색시약을 제거하였다. 물기를 제거한 후 여과시킨 hematoxylin에 20초간 대조염색을 한 다음 통상적인 방법에 따라 표본을 제작하여 카메라 부착 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

9) 통계처리

실험결과는 Mean \pm SE로 나타냈으며, 대조군과 실험군 사이의 평균 차이를 검정할 때에는 Student's *t*-test로 검정하여 *p*값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 결 과

1. 췌장 중량/체중 비율 변화

Con군(0.40 \pm 0.02%)은 Nor군(0.27 \pm 0.01%)에 비하여 유의성(**p*<0.05) 있게 증가하였다. 실험군인 SA군

(0.37±0.02 %)과 SB군(0.38±0.02 %)은 Con군에 비해 감소하였으나 Nor군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Fig. 1).

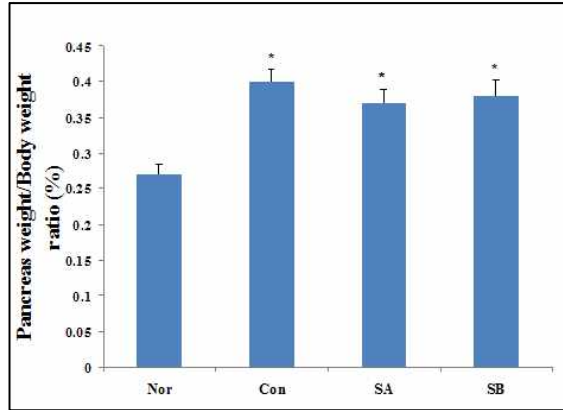


Fig. 1. The comparison of pancreas/body weight Normal group(Nor) was administrated with saline only. Control group(Con) was administrated with saline treatment with caerulein. SA and SB groups were administrated with SJP pharmacopuncture 1 hr after treatment with caerulein. All values are mean±SE(n=5). Significant differences were compared with normal/control at * $p<0.05$.

2. 백혈구의 변화

백혈구의 수는 Nor군(3.6±0.31 K/uL)에 비하여 Con군(4.5±0.73 K/uL)과 실험군인 SA군(4.8±0.61 K/uL), SB군(4.2±0.18 K/uL) 모두에서 증가하였으나 유의성은 없었다(Fig. 2).

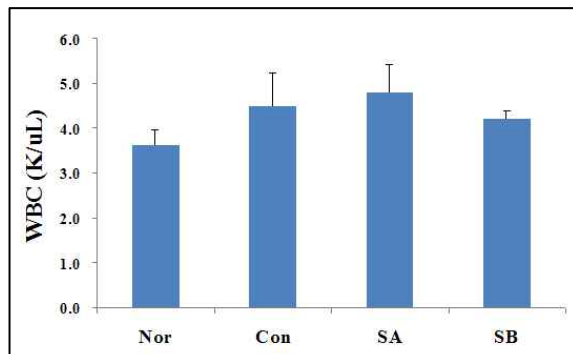


Fig. 2. The changes of white blood cells Normal group(Nor) was administrated with saline only. Control group(Con) was administrated with saline treatment with caerulein. SA and SB groups were administrated with SJP pharmacopuncture 1 hr after treatment with caerulein. All values are mean±SE(n=5).

3. 호중구 함량비의 변화

백혈구 중 호중구의 백분율은 Nor군(24.67±1.78 %)에 비하여 Con군(27.11±1.06 %)에서 다소 증가하였으나 SA군 (34.03±4.21%)은 약 10 % 증가하였고, SB군 (46.87±1.16 %)은 Nor군과 Con군에 비하여 통계적으로 유의성(* $p<0.05$) 있게 증가 하였다(Fig. 3).

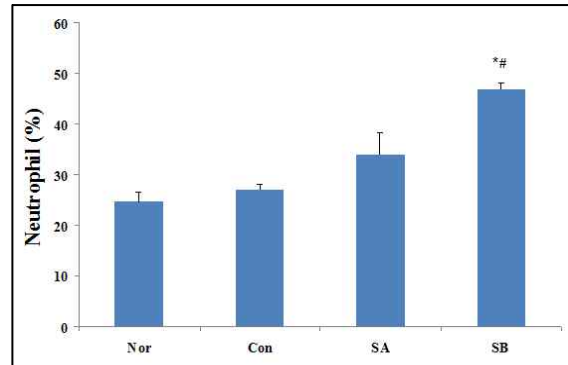


Fig. 3. The changes of neutrophil content ratio compared with WBC

Normal group(Nor) was administrated with saline only. Control group(Con) was administrated with saline treatment with caerulein. SA and SB groups were administrated with SJP pharmacopuncture 1 hr after treatment with caerulein. All values are mean±SE(n=5). Significant differences were compared with normal/control at * $p<0.05$.

4. 림프구 함량비의 변화

백혈구 중 림프구의 백분율은 Nor군(69.74±1.45 %)

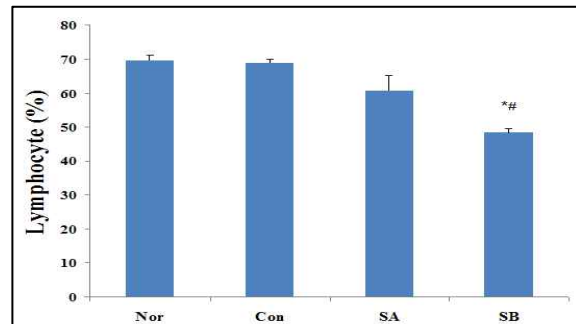


Fig. 4. The changes of lymphocyte content ratio compared with WBC

Normal group(Nor) was administrated with saline only. Control group(Con) was administrated with saline treatment with caerulein. SA and SB groups were administrated with SJP pharmacopuncture 1 hr after treatment with caerulein. All values are mean±SE(n=5). Significant differences were compared with normal/control at * $p<0.05$.

과 Con군(68.99±0.90 %)은 비슷하였으나 SA군(60.65±4.48 %)에서는 약 9 % 감소하였으며, SB군(48.33±1.15 %)은 Nor군과 Con군에 비하여 통계적으로 유의성(* $p<0.05$) 있게 감소하였다(Fig. 4).

5. 혈청 Amylase 측정

Amylase의 활성은 Nor군(1098±15.0 U/L)에 비하여 Con군(2028±106.4 U/L)에서 현저히 높아 통계적인 유의성(* $p<0.05$)을 보여 주었으며, 실험군인 SA군(1564.8±50.6 U/L)과 SB군(1637.4±62.3 U/L) amylase의 활성은 Nor군에 비하여 증가(* $p<0.05$)하였으나 대조군에 비하여 유의성(# $p<0.05$) 있게 감소하였다(Fig. 5).

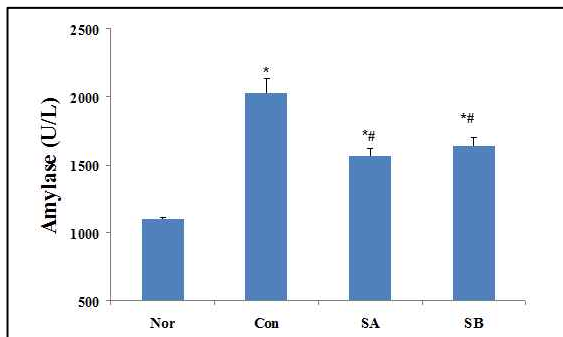


Fig. 5. The changes of serum amylase activities Normal group(Nor) was administrated with saline only. Control group(Con) was administrated with saline treatment with caerulein. SA and SB groups were administrated with SJP pharmacopuncture 1 hr after treatment with caerulein. All values are mean±SE(n=5). Significant differences were compared with normal/control at * $p<0.05$ /# $p<0.05$.

6. 혈청 IL-6 농도

혈청 내 IL-6의 농도를 측정 한 결과, Nor군(26.204±0.82 pg/mL)에 비하여 Con군(34.72±5.03 pg/mL)과 실험군인 SA군(37.15±0.06 pg/mL)과 SB군(44.20±5.20 pg/mL) 모두 증가하였으며, 특히 SB군은 통계적으로 유의성(* $p<0.05$) 있게 증가하였다(Fig. 6).

7. 혈청 TNF-α 농도

혈청 내 TNF-α의 농도를 검색한 결과, Nor군(5.33±0.14 pg/mL)에 비하여 Con군(52.38±7.38 pg/mL)과 실험군인 SA군(60.56±9.90 pg/mL), SB군(69.63±9.25 pg/mL) 모두 통계적으로 유의성(* $p<0.05$)

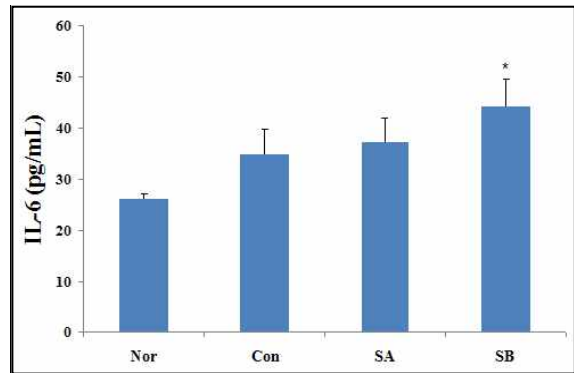


Fig. 6. The changes of IL-6 concentrations Normal group(Nor) was administrated with saline only. Control group(Con) was administrated with saline treatment with caerulein. SA and SB groups were administrated with SJP pharmacopuncture 1 hr after treatment with caerulein. All values are mean±SE(n=5). Significant differences were compared with normal/control at * $p<0.05$.

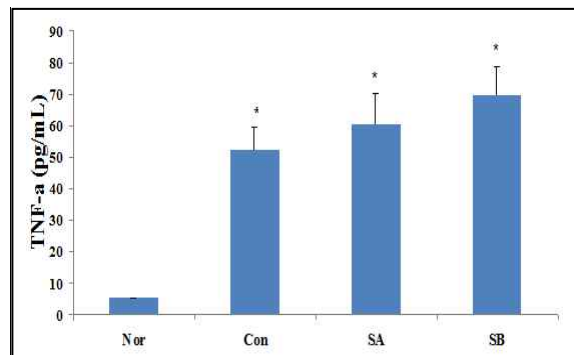


Fig. 7. The changes of TNF-α concentrations Normal group(Nor) was administrated with saline only. Control group(Con) was administrated with saline treatment with caerulein. SA and SB groups were administrated with SJP pharmacopuncture 1 hr after treatment with caerulein. All values are mean±SE(n=5). Significant differences were compared with normal/control at * $p<0.05$.

있게 증가하였다(Fig. 7).

8. 광학현미경 관찰

정상군 샘파리세포들은 둥글게 배열되어 있었다. 샘파리세포의 핵은 세포의 바닥 쪽에 위치하였고, 핵 주변 세포질은 eosin에 강한 염색성을 보였다(Fig. 8A). 대조군 췌장의 샘파리세포에서는 다소의 액포들이 관찰되었다(Fig. 8B). SA군(Fig. 8C)과 SB군(Fig. 8D) 췌장의 샘파리세포에서는 액포가 관찰되지 않았으며, 세포질의 eosin에 대한 염색성은 보다 높게 관찰되었다.

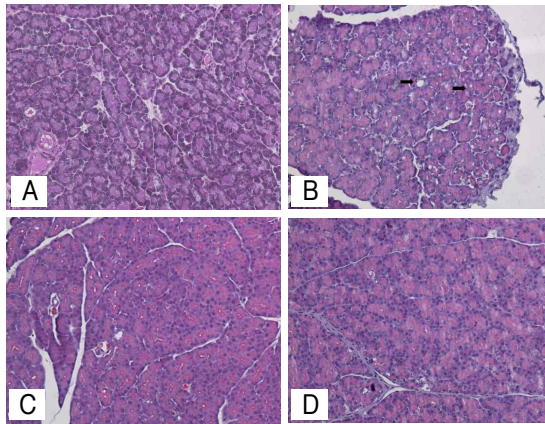


Fig. 8. Light micrographs of pancreatitis in 24 hours groups

Morphological changes in caerulein-induced pancreatitis. Representative hemotoxylin-eosin-stained sections of pancreas were examined by light microscopy in normal rats(A), caerulein treatment control rats(B) shows a number of vacuoles(arrows). SA(C) and SB(D) groups were administrated with SJP pharmacopuncture 1 hr after treatment with caerulein Original magnification set at $\times 200$.

9. COX-2 발현

Nor군 췌장의 샘파리세포와 결합조직에서는 COX-2

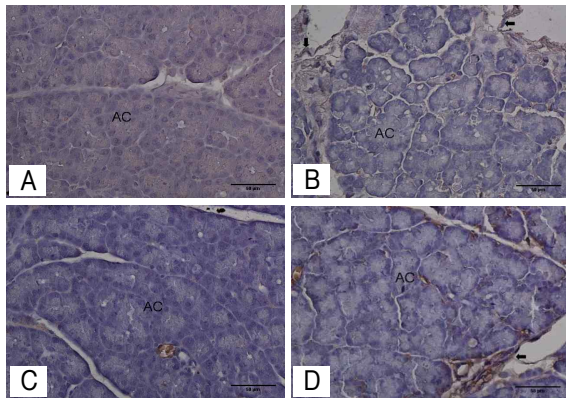


Fig. 9. COX-2 immunohistochemical analysis in 24 hours groups

Immuno histochemical changes in caerulein-induced pancreatitis. Representative COX-2 immunoreactive sections of pancreas were examined by light microscopy in normal rats(A), caerulein treatment control rats(B), SA(C) and SB(D) groups were administrated with SJP pharmacopuncture 1 hr after treatment with caerulein. Con group shows extensive COX-2 expression(arrows). Pancreas from SA group shows marked reduction in COX-2 expression. A, normal group; B, control group; C, SA group, D, SB group. AC, acinar cells. Original magnification is $\times 400$.

면역반응성이 거의 나타나지 않았다(Fig. 9A). Con군에서는 COX-2에 대한 면역반응성이 췌장의 결합조직에서 Nor군에 비하여 높았으며, 샘파리세포에서는 미약하게 관찰되었다(Fig. 9B). SA군에서는 췌장의 결합조직에서 낮은 COX-2 면역반응성이 보였으며 (Fig. 9C), SB군에서는 SA군에 비하여 다소 높은 면역반응성을 보였다(Fig. 9D).

IV. 고찰

췌장염은 대부분이 알코올 및 담도질환과 연관되어 있고 이외에도 대사 장애, 약물, 복부 손상 등의 다양한 원인에 의해 췌장선세포의 손상, 광범위한 간질성 부종, 출혈 및 손상 부위로의 호중구성 과립구의 이동 등을 유발하는 췌장의 염증성 질환이다. 이 질환의 약 80 % 정도는 경한 임상 양상을 보이나 약 20 %에서 췌장 조직의 괴사 및 손상 등이 다발성 장기부전과 전신적인 합병증을 수반하는 중증의 임상경과를 밟게 되며 이 경우 약 30 %의 높은 사망률이 보고되고 있다¹⁴⁾.

췌장염은 아직 정확한 병태 생리기전이 알려져 있지 않으나 그 증상으로 나타나는 것은 자가소화인데, 췌장효소가 췌장 안에서 활성화되면, 췌장의 細葉 자신을 소화해 버리고 이어서 염증이 발생하여 조직의 탈락, 괴사가 일어난다¹⁵⁾. 최근에는 췌장 선방세포의 손상 후 활성화 된 췌장 내로 대식세포가 유입되어 조직손상에 대한 반응으로 proinflammatory cytokine 인 interleukin-1, IL-6, tumor necrosis factor- α 를 분비해 이들 cytokine들이 염증세포의 순환, 췌장 부종 및 췌장 실질 파괴에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다¹⁶⁾.

급성 췌장염의 주 증상은 보통으로 환자가 바로 누웠을 때 심해지며 상체를 구부리거나 무릎을 굽히는 경우에 호전된다. 또 위장관의 운동성 저하나 화학적 복막염으로 인한 惡心, 嘔吐, 腹部膨滿 등이 흔히 동반 된다¹⁷⁾. 환자는 대부분 갑자기 발생된 복통을 주소로 병원에 오는데 통증이 매우 심하여 이 통증만으로도 쇼크를 일으킬 수 있다. 또한 미열, 빈맥 및 저혈압을 동반한다. 만성 췌장염의 경우 통증 발작 시에는 급성 췌장염과 감별이 어려울 정도로 통증의 양상이 비슷하나 그 외에 체중감소, 지방변 등이 동반되며 임상적인 세 징후는 췌장부위의 석회화, 지방변 및 당뇨

병이다¹⁸⁾.

내과적 치료는 췌장효소의 활성화를 억제하는 것이 목적이며, 일반적인 치료법은 음식섭취를 금지하여 췌장효소의 방출을 억제한 상태에서 통증의 경감을 위한 진통제나 혈관 내 혈량 유지를 위한 정맥 내 수액제나 교질용액제의 사용, 위에서 가스트린 배출 감소와 십이지장으로의 위 내용물 유입방지를 위한 經鼻 胃吸引 등이다. 통증이 제어되지 않으면 마약성 진통제를 사용하여 중독이 되므로 통증완화를 위한 부분절제술이나 췌관감압술 같은 외과적 수술법을 사용하기도 한다¹⁶⁾.

급성 췌장염은 《黃帝內經·靈樞·厥病》에 “腹脹 胸滿 心尤痛心 胃心痛也. … 痛如以錐針刺其心 心痛甚者 脾心痛也”라 하여 脾心痛 胃心痛 結胸 등과 가장 유사하며, 肝鬱氣滯 脾胃實熱 肝膽濕熱 등으로 변증할 수 있는데, 肝氣鬱結은 疏肝理氣 清熱通腑시키고, 脾胃實熱은 清熱攻下시키고, 肝膽濕熱은 疏肝理膽 通腑泄熱시킨다⁴⁾.

手拈散은 임상적인 증상에서 췌장염과 많은 유사성을 지닌 ‘脾心痛’, ‘結胸’에 사용하는 처방으로 草果·玄胡索·沒藥·五靈脂로 구성되어있으며, 대표적인 活血去瘀 行氣止痛劑로 활용되고 있다¹⁹⁾.

약침요법은 經絡論을 기본으로 하는 침구요법과 氣味論을 기본으로 하는 약물요법을 결합한 新鍼療法으로 경혈에 특정 한약에서 정제 추출한 약침제제를 주입하는 한방 의료행위이다. 약침은 적응증이 광범위하고, 치료효과가 빠르며, 臟腑虛實이 복잡한 질환에 사용할 수 있고, 치료횟수와 간격을 조절할 수 있다는 장점이 있다.

中脘穴(CV₁₂)은 胸骨劍突尖과 臍를 잇는 腹部 正中線을 8寸으로 하는 骨度法을 적용하였을 때 胸骨劍突起와 臍間의 中點에 取穴하는 穴로서 胃痛, 腹脹, 慢性胃炎, 臍臟炎, 腸炎, 胃潰瘍, 鼓脹, 腹鳴, 癉亂, 泄瀉, 黃疸, 吞酸 등 소화기계 질환 전반에 광범위하게 응용할 수 있는 穴位이다¹⁰⁾.

췌장염에 대한 연구로는 金銀花·蒲公英·敗醬⁶⁾ 등의 단일약제와 正傳加味二陳湯⁷⁾, 手拈散⁸⁾, 加味大黃牧丹皮湯⁹⁾ 등의 복합처방의 경구투여 연구가 있었으나 약침을 이용하여 췌장염에 대한 억제효과를 규명한 연구는 없었다. 이에 手拈散 약침을 선택하여 caerulein으로 유발된 급성 췌장염 흰쥐의 中脘에 시술한 후 그 효과를 검증하였다.

동물 실험을 위한 급성 췌장염 유발 방법 중에서 최근 caerulein 유도 췌장염 모델은 재현성이 뛰어나

고 경제적인 이유로 가장 널리 사용되는 실험동물 모델로 그동안 많은 연구에 의하여 발생기전에 관하여 비교적 잘 연구되어진 실험모델이다^{20,21)}.

Caerulein으로 유도된 급성 췌장염에서 체중에 대한 췌장 중량의 비율이 높아지는 것으로 알려져 있다^{22,23)}. 본 실험에서 手拈散약침은 급성 췌장염 유발 시 몸무게에 대한 췌장 중량 비율을 비교적 감소시켰는데, 이는 手拈散약침이 급성 췌장염에 발생하는 췌장부종을 억제할 수 있음을 시사한다.

혈구 수치는 급성 췌장염의 경과를 관찰할 수 있는 지표로서 염증진행과 그 회복을 시사하는 중요한 수치이다. 먼저 백혈구는 급성 췌장염이 발생할 경우 그 수치가 올라가는데²⁴⁾, 백혈구의 수는 Nor군에 비해 Con군·SA군·SB군 모두에서 증가하였으나 유의성은 없었다. 두 번째로 호중구의 함량비를 측정된 결과 Nor군에 비해 Con군은 다소 증가하는 경향을 보였고 SA군은 10 %증가, SB군은 Nor군과 Con군에 비해 유의성 있게 증가하는 경향을 보였다. 마지막으로 림프구의 함량비는 Con군과 Nor군은 비슷하였으나 SA군에서는 9 %감소, SB군에서는 유의성 있게 감소하는 경향을 보였다.

이들 혈구 수치들은 급성 췌장염이 발생한 24시간 이후에 최대치로 증가하는 인자로서 치료가 진행되면서 정상수치로 돌아오는데, 혈구 실험 전반에서 대조군이 정상군과 비교하여 다소 증가하는 경향을 보여 주긴 했으나 유의성 있는 증가를 나타내지 못해 측정 당시(24시간 후) 활발한 염증 상태가 아니었음을 보여준다. 본 연구를 Park⁸⁾의 연구와 비교하였을 때, 박의 실험이 측정 당시(24시간 후) 대조군의 활발한 염증상태를 나타냈던 것과는 차이가 있는 결과로서 추후 연구가 진행된다면 충분한 염증반응이 일어날 수 있는 시간을 확보하고 caerulein량을 충분히 투여하여 염증반응이 명확히 일어난 상태에서 실험이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

혈청 amylase 수준은 급성 췌장염을 예측할 수 있는 주요 지표의 하나로²⁵⁾ 췌장에 염증이 있을 때 amylase가 직접 또는 림프관을 통해 혈중으로 들어가 혈청 amylase가 상승하는데 amylase는 혈중에서 제거되며 반감기는 10시간 정도이므로 아주 높은 고 amylase 혈중이라도 이 효소가 지속적으로 혈중에 공급되지 않으면 24시간 내에 정상으로 되기 때문에 되도록 빨리 측정하는 것이 중요하다²⁶⁾. 본 실험에서도 caerulein을 투여한 다음 amylase 활성을 측정된 결과, Con군이 Nor군에 비해 유의성 있게 증가하였고

SA군·SB군은 Con군에 비해 유의성 있게 감소하였는데 이는 caerulein으로 유도된 급성 췌장염에서 手拈散약침이 유용하게 활용될 수 있음을 의미한다.

IL-6와 TNF- α 는 급성기 단백질반응의 주 매개체이며 숙주의 자연방어기전에 관여하는 물질로 caerulein으로 유도한 급성 췌장염에서는 수치가 올라가는 것으로 알려져 있다²⁷⁾. 급성 췌장염이 발생하면 췌장 내 대식세포는 proinflammatory cytokine인 IL-6, TNF- α 를 분비하여 이들 cytokine이 염증세포의 순환, 췌장 부종 및 췌장조직파괴에 중요한 역할을 한다²⁸⁾. 혈청 내 IL-6는 급성기 염증 시 24~48시간 내에 기준치의 3~6배 정도로 상승하며 급성기 단백질은 CRP (C-reactive protein)의 상승보다도 선행하는 것으로 밝혀졌다²⁹⁾. 본 실험에서 caerulein을 투여하여 급성 췌장염을 유발시킨 다음 혈청 내 IL-6 농도를 관찰한 결과 Nor군에 비해 Con군·SA군·SB군 모두 증가하였으며, 특히 SB군은 통계적으로 유의성 있게 증가하였다. 혈청 TNF- α 의 결과도 흡사하여 Nor군에 비하여 Con군·SA군·SB군 모두 유의성 있게 증가하였으며 또한 SA군·SB군은 모두 Con군에 비해서 다소 높은 경향을 보였다.

IL-6, TNF- α 모두 급성 염증 시 높은 증가를 보였다가 염증이 치료되면서 줄어드는 인자로서 본 실험에서 Con군보다 SA군·SB군이 다소 높은 경향을 보여 24시간 후 측정시점에서 염증작용이 활발하게 일어난다는 것을 보여주었다. 24시간 후뿐만 아니라 36시간, 48시간 후 다시 측정하였다면 항염증작용이 유의성 있게 나타났을 것이라는 아쉬움이 있으나 동시에 手拈散약침이 caerulein으로 유발된 급성 췌장염 모델에서 IL-6, TNF- α 의 변화에 관여한다는 것을 알 수 있었다.

Caerulein으로 유도한 급성 췌장염에서는 췌장 조직의 염증, 부종, 액포현상, 괴저가 일어나는 것으로 알려져 있다. 정상군 썸파리세포들은 둥글게 배열되어 있고 썸파리세포의 핵은 세포의 바닥 쪽에 위치하였으며, 핵 주변 세포질은 eosin에 강한 염색성을 보였다(Fig. 8A). 대조군 췌장의 썸파리세포에서는 다소의 액포들이 관찰되었다. SA군과 SB군 췌장의 썸파리세포에서는 액포는 관찰되지 않았으며, 세포질의 eosin에 대한 염색성은 보다 높게 관찰되었다.

COX-2 면역조직화학적 반응은 프로스타사이클린(prostacyclin)과 트롬복산(thromboxane)이란 두 가지 주요한 산물을 형성하여 염증반응을 나타나게 하는 효소로서 대조군에서는 COX-2에 대한 면역반응성이

췌장의 결합조직에서 정상군에 비하여 높았고, SA군에서는 췌장의 결합조직에서 다소 낮은 COX-2 면역반응성이 보였으며, SB군에서는 SA군에 비하여 높은 면역반응성을 보여주었다.

이상의 실험결과를 보면 手拈散약침을 응용한 실험군(SA군·SB군)은 Con군에 비해 췌장 중량/체중 비율, 백혈구 측정, 혈청 amylase 측정 등에서 유의성 있는 효과를 보였으며, 광학현미경 관찰과 COX-2 면역조직 화학적 반응관찰 등을 통해 급성 췌장염 억제 효과와 췌장조직 보호효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 염증반응이 일어나고 있음을 나타내는 혈구 수치(백혈구·호중구·림프구) 실험에서 Nor군과 Con군 간의 명확한 차이가 보이지 않은 점은 측정 당시 염증반응이 활발하게 일어나지 않았다는 것을 의미하기 때문에 혈구 감소 효과면에서 약침에 의한 효과가 실험군들에서 명확하게 나타났다고 보기 어렵다. 또한 IL-6, TNF- α 과 같은 보체 측정값의 경우, Con군과 비교해 실험군(SA군·SB군)이 오히려 더욱 활발한 염증반응이 일어나고 있음을 나타낸 결과도 나타났다.

본 연구에서는 手拈散약침의 제조 시 사용한 용매의 종류에 따라 나타날 수 있는 약제의 유효성분 추출량의 차이, 手拈散약침의 中腕穴 투여 시 다양한 투여량을 통한 적정 투여량, 手拈散의 경구투여 연구와 약침투여 비교연구, 정상군과 대조군 간의 명확한 염증유발 여부, 실험동물 수와 기간에 따른 현실적인 제약 등이 있어 앞으로 췌장염 발생 과정에서의 역할과 적정 투여량, 경구투여와 비교한 효과성 면에서 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

Caerulein으로 유발된 급성 췌장염 흰쥐에 대한 手拈散약침의 효과를 알아보기 위해 췌장염을 유발시키지 않은 정상군과 caerulein으로 급성 췌장염을 유발시킨 후 생리식염수 0.2 mL을 투여한 대조군, 手拈散약침 0.2 mL를 투여한 실험군(SA), 手拈散약침 0.8 mL를 투여한 실험군(SB)으로 나누어 각각 中腕에 시술하여 24시간이 지난 후 그 효과를 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중에 대한 췌장비율은 정상군에 비하여 대조군이 유의성 있게 증가하였고, 실험군(SA군·

- SB군)은 정상군보다는 높으나 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다.
2. 백혈구의 변화는 정상군에 비해 실험군(SA군 · SB군) 모두에서 증가상태로 대조군과 비교할 때 SA군은 다소 증가, SB군은 다소 감소 상태를 보여 유의성은 없었다.
 3. 호중구 함량비는 대조군에 비해 SA군에서 다소 증가, SB군에서는 유의성 있게 증가하였고, 림프구의 함량비는 대조군에 비해 SA군에서 다소 감소, SB군에서는 유의성 있게 감소하여 결과적으로 SB군에서 유의성 있는 염증 관여 효과를 관찰할 수 있었다.
 4. 실험군(SA군 · SB군)에서 amylase활성은 대조군과 비교하여 유의성 있게 감소하였다.
 5. 실험군(SA군 · SB군)에서 IL-6 농도는 증가하는 경향을 보였고, 특히 SB군에서 IL-6 농도는 유의성 있게 증가하였다.
 6. TNF- α 농도는 실험군과 대조군 모두에서 정상군과 비교해 유의성 있게 증가하였다.
 7. 광학현미경 관찰결과 실험군은 대조군과 달리 액포가 관찰되지 않았으며 eosin에 강한 염색성을 보여 면역효과를 나타냈다.
 8. 면역조직화학적 반응 관찰 결과 췌장의 결합조직에서 대조군의 COX-2에 대한 면역반응성은 정상군에 비하여 높았으며, 실험군들(SA군 · SB군)은 대조군에 비해 낮은 COX-2 면역반응성을 보였다. 그러나 SB군에서는 SA군에 비하여 다소 높은 면역반응성을 보여주었다.

VI. 참고문헌

1. Lee YC translation. Steps to Internal Medicine. vol 6. Seoul : Jungdam. 2008 : 283.
2. The Korean Society of Pathologists. Pathology. vol 2. Seoul : Gomoonsa. 2005 : 642-3.
3. Moon SJ, Moon G, Won JH. New Internal Medicine of Bi's System. Iksan : Wonkwang Univ Press. 2006 : 87-8, 476-82, 628.
4. Department of Internal Medicine of Bi's System National College of Oriental Medicine. Internal Medicine of Bi's System. Seoul : Goon Ja. 2008 : 437-74.
5. Sin JY. Bangyakhappyunhaesul. Seoul : Sungbosa. 1991 : 174-5.
6. Park SJ, JUNG JG, SEO SW et al. Inhibitory Effect of Aacute Pancreatitis by Patriniae Herba. The Korea Journal of Herbology. 2005 ; 20(3) : 59-65.
7. Choi HM, Kim HJ, Han IS, Lim SW. The effects of *Jengjengamiyjin*-tang on Pancreatitis induced by DBTC in Mouse. The Journal of Korean Oriental Medicine. 2007 ; 28(3) : 273-88.
8. Park JS. The Effect of SuJeom-san on Caerulein-induced Acute Pancreatitis in Rats. The Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 2010 ; 31(3) : 500-12.
9. Park SJ, JUNG JG, SEO SW et al. Effects of *Gami-Daehwangmokdanpi*-Tang against CCK-induced Acute Pancreatitis. The Korean Journal of Herbology. 2005 ; 20(3) : 59-65.
10. Korean Acupuncture & Moxibustion Society Textbook Compilation Committee. Acupuncture and Moxibustion(上). Kyunggi : Jipmoondang. 2008 : 408.
11. Grady T, Liang P, Ernst SA and Logsdon CD. Chemokine gene expression in rat pancreatic acinar cells is an early event associated with acute pancreatitis. Gastroenterology. 1977 ; 113 : 1966-1975.
12. Condo SG, Giardina B, Barra D, Gill SG, Brunori M. Purification and functional properties of the hemoglobin components from the rat(Wistar). Eur J Biochem., 1981 ; 15 : 116(2) : 243-7.
13. Pezzilli R, Billi P, Miniero R et al. Serum interleukin-6, interleukin-8, and β_2 -microglobulin in early assessment of severity of acute pancreatitis. Comparison with serum C-reactive protein. Dig Dis Sci 1995 ; 40 : 2341-8.
14. Kim CD. Current status of Acute Pancreatitis in Korea. The Korean Journal of Gastroenterology. 2003 ; (42) : 1-11.
15. Lee YC translation. Steps to Internal Medicine. vol 6. Seoul : Jungdam. 2005 : 253-9.
16. Bhatia M. Novel therapeutic targets for acute pancreatitis and associated multiple organ

- dysfunction syndrome. *Current Drug Targets - Inflammation & Allergy*. 2002 ; (1) : 343-51.
17. Harrison's Principles of Internal Medicine Compilation Committee. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Seoul: Jungdam. 1997 : 638, 1644.
 18. The Korean Society of Pathologists. *Pathology*(2). Seoul : Gomoonsa. 2005 : 642-3.
 19. Shin MG. *Clinical Herbology*. Seoul: Young-limsa; 2007 : 417-8, 454-5, 466-71.
 20. Kim JS. Pathogenesis of Acute Pancreatitis & Complications. *The Congress of The Korean Society of Gastroenterology*. 2004 : 11-8.
 21. Sim SS, Kim HJ, Lee YH et al. Characterization of Acute Pancreatic Model Induced by Caerulein and Common Bile-Pancreatic Duct Ligation. *Chung-Ang Journal of Pharmacal Sciences*. 2000 ; (14) : 11-5.
 22. Granger J, Remick D. Acute pancreatitis: models, markers, and mediators. *Shock* 2005 ; 24 Suppl 1 : 45-51.
 23. Panteghini M, Pagani F, Bonora R. Clinica and analytical evaluation of a continuous enzymetic method for measuring pancreatic lipase activity. *Clin Chem*. 1998 ; (39) : 304-8.
 24. Harrison, Tinsley Randolph, Kasper, Dennis L, Braunwald, Eugene, Fauci, Anthony S, Hauser, Stephen L, Longo, Dan L, Jameson, J. Larry. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York : Mc Graw Hill. 2006 : 1891-906.
 25. Panozzo MP, Basso D, Fabris C et al. Diagnostic utility of a new monoclonal antibody pancreatic isoamylase assay: in chronic pancreatic diseases. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1990 ; 28(7) : 485-8.
 26. Department of Internal Medicine Seoul University College of Medicine. *Clinical Internal Medicine*. Seoul : Korea Medical Book. 2004 : 377-91, 468.
 27. Brivet FG, Emilie D, Galanaud P. Pro-and anti-inflammatory cytokines during acute severe pancreatitis: an early and sustained response, although unpredictable of death. *Parisian Study Group on Acute Pancreatitis. Crit Care Med* 1999 ; 27(4) : 749-55.
 28. Mayer J, Rau B, Gansauge F, Begar HG. Inflammatory mediators in human acute pancreatitis: clinical and pathophysiological implications. *Gut*. 2000 ; 47(4) : 546-52.
 29. Pooran N, Indaram A, Singh P, Bank S. Cytokines (IL-6, IL-8, TNF) early and reliable predictors of severe acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterology*. 2003 ; 37(3) : 263-6.