

역류성 식도염 유발 흰쥐에 대한 유근피 추출물의 억제 효과

신만호 · 김의수 · 이영수*

동신대학교 한의과대학 내과학교실

Suppressive Effects of Ulmi Pumilae Cortex Extracts on the Reflux Esophagitis in Rat

Man Ho Shin, Eui Su Kim, Young Su Lee*

Department of Internal Medicine, College of Korean Medicine, Dong-Shin University

The aim of this study was to investigate the effects of Ulmi Pumilae cortex extracts on acute reflux esophagitis rats induced by pylorus and forestomach ligation operation. 40 rats were divided into five groups; Normal group, Sham group, Control group, T1 group and T2 group. 4 groups has a laparotomy after controled 2weeks and sham group, T1 group, T2 group has ligation in stomach. After laparotomy, all group's body weight, gastric volume, gastric juice PH, SOD activities, catalase activities, lipid peroxidation, total glutathione, the effects on esophageal and stomach mucosa damage were checked. There was significant statistical differences between control group and Ulmi Pumilae cortex extracts administration groups(T1 and T2 group) in terms of gastric volume decreasing. Also, administration groups has significant effect than control group in decreasing mucosa damage. SOD(superoxide dismutase) and catalase activities has a significant statistical differences between control group and T2 group not in T1 group. These results suggest that the medication of Ulmi Pumilae cortex extracts is effective for the treatment of acute reflux esophagitis in terms of decerasing gastric volume and mucosa damage. Especially, the results were shown to be more positive in High-dose administration group (T2 group) than in Low-dose administration group (T1 group) in SOD and catalase activities.

keywords : Ulmi Pumilae Cortex, Reflux esophagitis, Gastric volume, SOD, Catalase

서 론

역류성 식도염(Reflux Esophagitis)은 위-식도괄약근의 불안정성으로 인해 위산이 역류하여 식도염을 유발하는 상태로써, 최근 서구식 식생활 습관과 비만 인구의 증가로 역류성 식도염이 매년 증가되고 있는 추세이다^{1,2)}. 치료 방법의 상당한 발전이 있었음에도 불구하고 일반적인 의학적 치료에 반응하지 않고 관해와 악화를 반복하면서 만성화되는 경향이 많은 실정이다³⁾.

역류성 식도염은 한의학에서 '呑酸' '吐酸' '胸痺' '噎膈' 심한 경우 '吐血'의 病證에서 그 유사성을 찾을 수 있으며 肝胃不和, 痰濕鬱阻, 胃氣虛逆으로 辨證하여 접근할 수 있다⁴⁾. 또한 역류성 식도염에 대한 한의학적 연구도 활발하게 진행되고 있으며, 二陳湯加味⁵⁻⁷⁾, 半夏瀉心湯⁸⁾ 등의 복합제제에 대한 연구와 金銀花⁹⁾, 吳茱萸¹⁰⁾ 등의 단미지제에 대한 연구를 통해서 항산화 및 항염효과를 통하여 위식도 점막의 조직손상을 감소시킨다는 보고가 있었다.

榆根皮(Ulmi Pumilae Cortex)는 榆白皮, 白榆皮, 榆皮 등으로

불리며, 느릅나무과(榆科; Ulmaceae)에 속한 落葉喬木인 느릅나무(木兪樹) *Ulmus pumila* L.의 樹皮 및 根皮로 봄, 가을에 內皮를 채취하여 曬乾한 것이다. 性平하고 味甘하여 太陰經과 膀胱經으로 歸經하며, 효능은 利水通淋, 祛痰, 消腫解毒하여 水腫 小便不利 淋濁 帶下 咳喘痰多 失眠 內外出血 難產胎死不下 癰疽 瘰癧 疥癩 등을 치료한다고 알려져 있다¹¹⁾.

榆根皮에 대한 실험적 연구로는 항산화¹²⁾, 면역 증진¹³⁾, 항염^{14,15)}, 항균¹⁶⁾, 항암¹⁷⁻²⁰⁾효과 등이 있음이 밝혀졌다.

그러나 아직까지 유근피가 급성 역류성 식도염에 미치는 영향에 대한 연구 결과는 보이지 않았다. 이에 저자는 항산화 및 항염 작용이 있는 柳根皮가 역류성 식도염에도 유효할 것으로 판단되어 유근피의 역류성 식도염 억제효과와 그 기전을 알아보고자 대만부 및 날문 결찰 수술로 유도된 역류성 식도염 흰쥐에 柳根皮 추출물을 투여하여 위내용물의 양(gastric volume), 위 산도(pH) 및 조직 병리학적 변화를 관찰하였다. 또한 SOD(superoxide dismutase), catalase, lipid peroxidation 그리고 glutathione을 통해 항산화

* Corresponding author

Young Su Lee, Gwangju Oriental Hospital of Dong-Shin University, 141, Wolsan-ro, Nam-gu, Gwangju, Korea

E-mail : hefari92@hanmail.net ·Tel : +82-62-350-7203

Received : 2016/05/30 ·Revised : 2016/07/30 ·Accepted : 2016/08/16

© The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 <http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2016.08.30.4.257>

Available online at <http://www.hantopic.com/kjopp/KJOPP.htm>

효과 활성에 미치는 영향을 관찰한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 샘타코(주)에서 생후 7주령된 체중 200 ± 20 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 분양 받아 1주일 동안 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 고히사료 (Dongaone Co., Korea)와 물을 충분히 공급하였다.

2) 약재

본 실험에 사용한 약재인 유근피(Ulmi Pumilae)는 동신대학교 부속광주한방병원에서 공급받아 사용하였다.

2. 실험방법

1) 시료 추출

유근피 300 g을 증류수 3,000 mL과 함께 100°C 에서 2시간 동안 열탕한 다음 추출액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 얻어진 상층액을 감압추출 장치 (Fisher Scientific, U.S.A.)로 농축하고, 농축액을 동결건조기(Ilshin, Korea)로 동결건조한 결과 20.18 g의 건조분말을 얻었다. 실험에 사용할 때는 1차 증류수를 사용하여 필요한 농도로 용해시켜 시료로 사용하였다.

2) 역류성 식도염 동물 모델

역류성 식도염 병태 모델의 구체적인 방법은 다음과 같다. S/D 계 수컷 쥐를 물을 충분히 공급하고 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $40 \pm 5\%$, 환경에서 1주일 동안 적응시킨 후 수술 전 24시간 절식시켰다. Indometacine(Sigma, U.S.A.) 8 mg/kg 의 용량을 경구 투여 한 다음 isoflurane(Hana Pham Co., Korea)을 O_2 에 2.5% 유지하여 호흡마취를 시킨 후 2 cm 정도 개복을 하였고, 위의 대만(大彎)부위를 실크실로 결찰 하였으며, 인접한 날문부위를 다른 실크실로 결찰 하였다(Fig. 1). 수술 후 봉합을 한 다음 케이지로 이동시켰다.

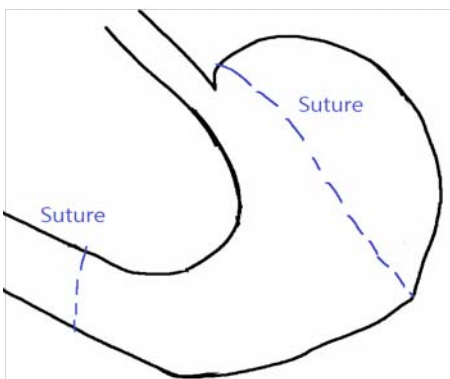


Fig. 1. The portion of ligation

3) 실험군 설정

실험동물은 아무런 처치를 하지 않은 정상군(Normal, n=8), 개복한 후 위 부위를 묶지 않고 개복한 부위만 봉합한 군(Sham, n=8), 수술 전 2주일 동안 생리식염수를 투여하고 개복 수술시 위를 묶은 대조군(Control, n=8), 수술 전 2주일 동안 유근피 추출물 280mg/kg/day를 투여하고 개복 수술 시 위를 묶은 군(T1, n=8), 수술 전 2주일 동안 유근피 추출물 560mg/kg/day를 투여하고 개복 수술 시 위를 묶은 군(T2, n=8)으로 구분하고 총 5개의 실험군으로 나누어 실험을 하였다. 유근피 추출물 280mg/kg 투여군과 유근피 추출물 560mg/kg 투여군은 해당 농도의 시료 추출물을 120mL의 생리식염수에 타서 투여하였다.

4) 체중 측정

각각의 실험군 흰쥐의 체중변화를 관찰하기 위하여 약물 투여하기 전 (0주차), 약물투여 시작 1주 경과 (1주차) 그리고 약물투여 2주후 (2주차)에 전자저울 (CAS SV-02, Korea)을 사용하여 체중을 측정하였다.

5) 위내용물 양 (Gastric volume)의 측정

대만부 및 날문부 결찰 수술 6시간 지난 후 실험동물에서 결찰한 위 부분을 적출한 다음 인산염완충액 (PBS) 1mL로 위 내부를 세척하였으며, 이를 모아 5분간 2000 rpm에서 원심분리한 후, 무게를 측정하였다. 측정된 무게를 다음 공식을 활용하여 계산하였다. Gastric volume (mL/kg of bodyweight) = collected amount of gastric contents / body weight of animal (g) \times 1,000

6) 위 산도 (pH) 측정

수집된 위 내용물은 pH paper (Johnson, U.K.)를 사용하여 pH를 측정하였다. pH paper를 위 내용물이 담긴 시험관에 담근 다음 측정 색상표와 비교하여 pH값을 측정하였다.

7) 혈청 내 cytokine 측정

부검시 심장천자를 통해 5 mL의 혈액을 얻었으며, 이를 15 mL 시험관에 옮겨 3,000 rpm에서 30분간 원심분리하였다. 원심분리한 튜브의 상층액을 혈청 분리관을 이용하여 1.5 mL 마이크로 튜브에 옮긴 후 -80°C 냉동 보관하였다. 이 혈청을 통해 Catalase (Abcam, U.S.A.), Total Glutathion (Dojindo, Japan), Lipid Peroxidation (Oxford Biomedical Research, U.S.A.) Assay kit 을 이용하여 실험매뉴얼에 따라 수행하였고, 분석기기는 Elisa reader (BioRad, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다.

8) 병태조직학적 관찰

흰쥐에서 위, 식도를 분리하였으며 이를 10% formalin 용액에 하루 정도 고정하였다. 생리식염수에 하루 정도 담근 다음 50% 에탄올에 1시간, 70% 에탄올에 1시간, 80% 에탄올에 1시간, 95% 에탄올에 1시간, 100% 에탄올에 1시간씩 3회 담귀 탈수시켰다. Alcohol:Xylen(1:2)에 1시간, Xylene에 1시간씩 2회 담구고 1시간 경과 후 paraffin:Xylene (1:1)에 1시간, paraffin:Xylene (1:2)에 1시간, paraffin:Xylene (1:3)에 1시간, paraffin에 1시간을 담귀둔다. 포매과정을 거쳐 약 6 μm 의 두께로 조직을 절편하여 slide 위에 얹고 dry시킨 후 Hematoxylin-Eosin염색을 실시하였다. Slide에 mounting medium (Sigma, MO, USA)을 떨어뜨려 cover glass를 덮는다. 조직 사진촬영은 I-Solution lite 프로그램 (Innerview Co., Korea)을 이용하였다.

3. 통계 분석

실험 결과에 대한 통계적 분석은 IBM SPSS statistics (version 21, U.S.A.) 통계 프로그램을 사용하였고, p-value가 0.05 미만인 경우 유의한 것으로 인정하였으며, 실험 결과는 평균 ± 표준편차 (mean±SD)로 표기하였다. 변수들의 차이는 one-way ANOVA로 검정하였고, 사후검정은 Turkey test를 이용하였다.

결 과

1. 체중 변화

체중 측정결과 1주차 때 T1 군과 T2 군에서 모두 유의하게 체중이 감소하는 경향이 보였으나 (p<0.01), 2주차가 되면서 체중이 다른 군과 비교해서 회복되는 모습이 관찰되었다(Tabel 1, Fig. 2).

Table 1. The changes of body weight

Characteristics	Normal	Control	Sham	T1	T2
0 week	225.6 ±7.50	222.4 ±6.20	221.4 ±6.72	218.5 ±5.23	221.6 ±4.05
Body weight (g) 1 week	269.3 ±5.97	260.3 ±5.78	274.7 ±13.85	249.2 ±4.95**	245.4 ±9.88**
2 week	298.4 ±11.16	300.1 ±12.49	295.0 ±15.48	302.7 ±10.65	312.5 ±6.96

Body weights were measured on day which drugs were firstly administered (0 week), on 1 week and on the end of experiment (2 week). Changes in body weight were represented as average weights. Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280 mg/kg/day) and stomach ligation treated group. T2 : Ulmus punila administered (560 mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean±SD of 8 rats. ** : Statistically significance compared with Sham group (** ; p<0.01).

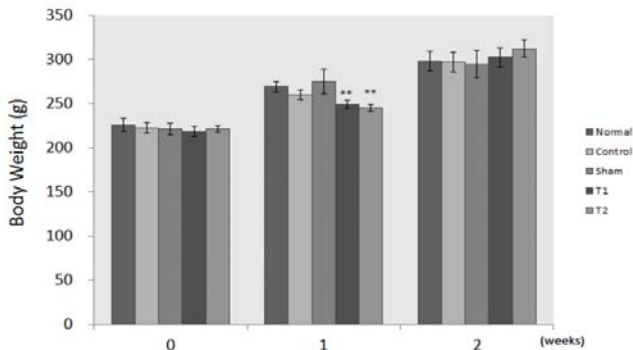


Fig. 2. The Changes of body weight by administration in rats. Body weights were measured on day which drugs were firstly administered (0 week), on 1 week and on the end of experiment (2 week). Changes in body weight were represented as average weights. Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280 mg/kg/day) and stomach ligation treated group. T2 : Ulmus punila administered (560 mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean±SD of 8 rats. ** : Statistically significance compared with Sham group (** ; p<0.01).

2. 위내용물 양 (Gastric volume) 측정 결과

위내용물 양을 측정한 결과 control 군 (5.08±0.93mg/kg)에 비해 T1 군 (3.04±0.85mg/kg, p<0.05)과 T2 군 (2.71±0.90mg/kg, p<0.01)에서 모두 유의하게 위 내용물 양이 감소한 것으로 관찰되었다(Table 2, Fig. 3).

Table 2. The Change of the gastric volume in reflux esophagitis rats

Characteristics	Normal	Sham	Control	T1	T2
Gastric volume (mg/kg)	1.62±0.58	3.12±0.49	5.08±0.93	3.04±0.85*	2.71±0.90**

Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group. T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean±SD of 8 rats. * : Statistically significance compared with control group (* ; p<0.05). ** : Statistically significance compared with control group (** ; p<0.01).

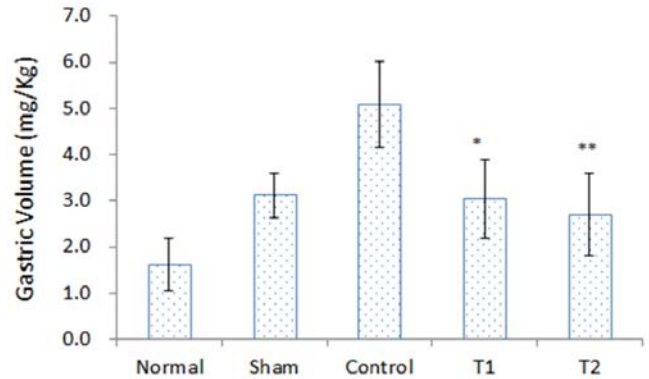


Fig. 3. The Change of the gastric volume in reflux esophagitis rats. Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group. T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean±SD of 8 rats. * : Statistically significance compared with control group (* ; p<0.05). ** : Statistically significance compared with control group (** ; p<0.01).

Table 3. The effects on gastric juice pH in reflux esophagitis rats

Characteristics	Normal	Sham	Control	T1	T2
gastric juice (pH)	3.5±0.67	3.9±0.43	2.0±0.41	2.1±0.45	2.36±0.085

Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group. T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean±SD of 8 rats.

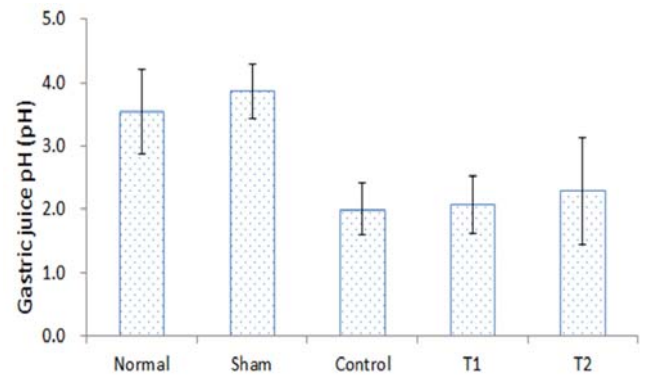


Fig. 4. The effects on gastric juice pH in reflux esophagitis rats. Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group. T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean±SD of 8 rats.

3. 위 산도 (pH) 측정결과

실험군들의 위 내용물을 수집하여 산도 (pH)를 측정한 결과

control 군 (2.0 ± 0.41 pH)에 비해 T1 군 (2.1 ± 0.45 pH)과 T2 군 (2.3 ± 0.85 pH)이 다소 pH가 증가하는 경향이 있었으나 유의성은 없었다(Table 3, Fig. 4).

4. SOD 측정 결과

SOD 활성을 측정한 결과 control 군 (85.13 ± 4.14 U/mg)에 비해 T1 군과 T2 군의 SOD 활성이 증가하는 경향을 보였으나 T1 군은 통계적으로 유의성이 없었고, T2 군 (0.8 ± 0.26 U/mg, $p < 0.05$)에서 유의하게 SOD 활성이 증가한 것으로 관찰되었다(Table 4, Fig. 5).

Table 4 The Change of SOD activities in reflux esophagitis rats

Characteristics	Normal	Sham	Control	T1	T2
SOD (U/mg)	96.37 ± 1.79	93.94 ± 3.50	85.13 ± 4.14	88.91 ± 4.88	$93.92 \pm 1.41^*$

Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group, T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean \pm SD of 8 rats. * : Statistically significance compared with control group (* ; $p < 0.05$).

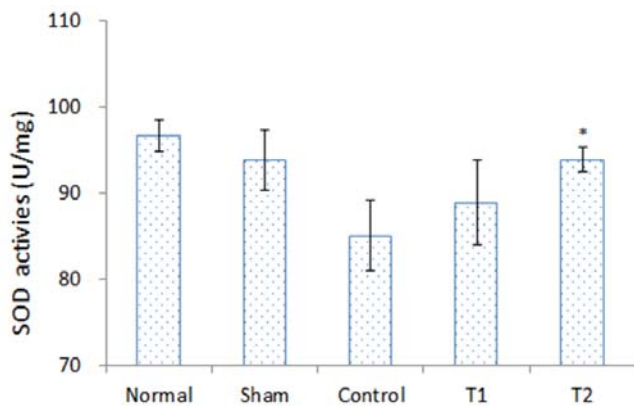


Fig. 5. The Changes on SOD activities in reflux esophagitis rats. Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group, T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean \pm SD of 8 rats. * : Statistically significance compared with control group (* ; $p < 0.05$).

5. Catalase 측정 결과

Catalase 활성 변화를 측정한 결과 control 군 (13.42 ± 2.04 U/mg)에 비해 T1 군과 T2 군에서 모두 catalase 활성이 증가하는 경향이 보였으나 T1 군은 통계적으로 유의성이 없었고, T2 군 (20.96 ± 3.44 U/mg, $p < 0.05$)에서 유의하게 catalase 활성이 증가한 것으로 관찰되었다(Table 5, Fig. 6).

Table 5. The Change of catalase activities in reflux esophagitis rats

Characteristics	Normal	Sham	Control	T1	T2
Catalase (U/mg)	19.13 ± 3.18	19.02 ± 2.55	13.42 ± 2.04	16.98 ± 4.24	$20.96 \pm 3.44^*$

Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group, T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean \pm SD of 8 rats. * : Statistically significance compared with control group (* ; $p < 0.05$).

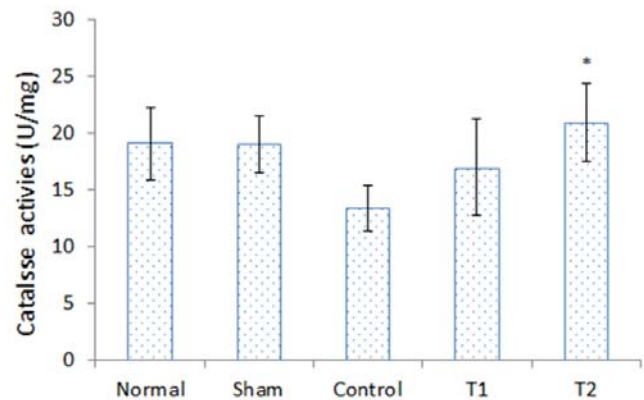


Fig. 6. The Changes on catalase activities in reflux esophagitis rats. Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group, T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean \pm SD of 8 rats. * : Statistically significance compared with control group (* ; $p < 0.05$).

6. Lipid Peroxidation 측정 결과

항산화효과 관찰을 위해 lipid peroxidation의 변화를 측정한 결과 control 군에 비해 T1 군과 T2 군이 다소 감소하는 경향이 보였으나 통계적으로 유의성은 없었다(Table 6, Fig. 7).

Table 6. The Change of lipid peroxidation in reflux esophagitis rats

Characteristics	Normal	Sha	Control	T1	T2
Lipid peroxidation (nM/mg)	2.32 ± 0.32	2.56 ± 0.35	2.58 ± 0.19	2.41 ± 0.12	2.42 ± 0.13

Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group, T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean \pm SD of 8 rats.

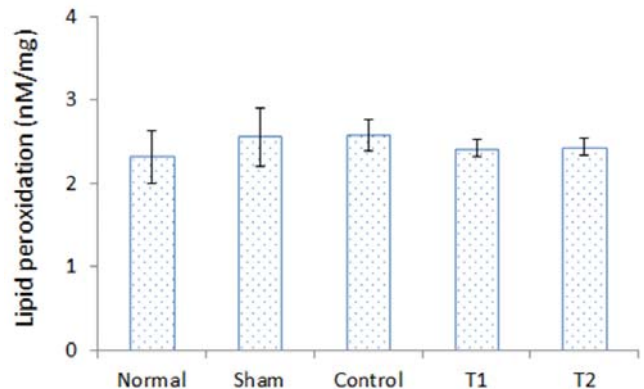


Fig. 6. The Changes on lipid peroxidation in reflux esophagitis rats. Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group, T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean \pm SD of 8 rats.

7. Total glutathione 측정 결과

항산화효과 관찰을 위해 Total glutathione의 변화를 측정한 결과 control 군에 비해 T1 군과 T2 군간에 통계적인 유의성은 없었다(Table 7, Fig. 8).

Table 7. The Change of total glutathione in reflux esophagitis rats.

Characteristics	Normal	Sham	Control	T1	T2
Total glutathione (nM/mg)	2.36±0.10	2.39±0.06	2.43±0.31	2.38±0.11	2.37±0.13

Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group, T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean±SD of 8 rats.

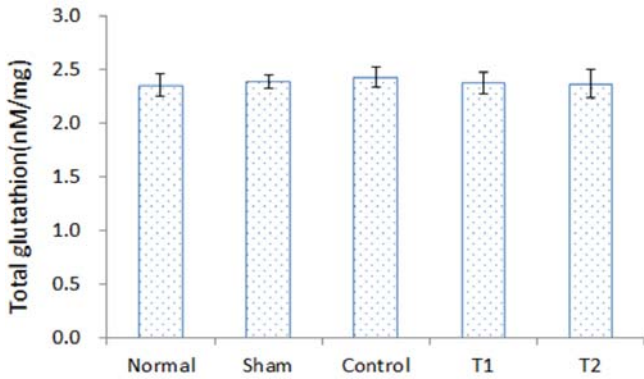


Fig. 8 The Change of total glutathione in reflux esophagitis rats. Normal : naive rats, Control : saline administered and stomach ligation treated group, Sham : only treated ventrotomy group, T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group. T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group. Values are represented as mean±SD of 8 rats.

8. 병리조직학적 검사 결과

희생시킨 흰쥐의 위와 식도 조직을 H&E로 염색한 후 이미지를 촬영하고 이를 분석한 결과 control 군에서는 식도의 점막층의 파괴가 두드러졌으며 점막내 근육층의 부종성 변화가 뚜렷했지만 나머지 실험군에서는 이러한 병리적 변화가 현저하게 감소된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 9).

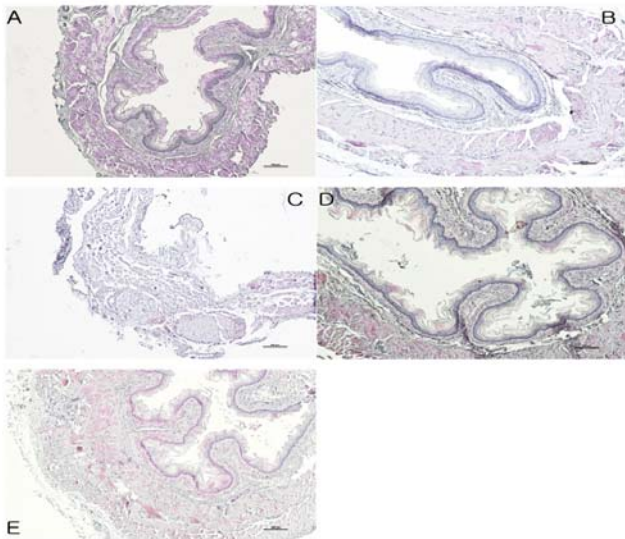


Fig. 9. The effects on esophageal mucosa damage in reflux esophagitis rat.(x10) A: Normal group(naive rats) B: Sham group(only treated ventrotomy group) C: control group(saline administered and stomach ligation treated group) D: T1 : Ulmus punila administered (280 mg/kg/day) and stomach ligation treated group. E: T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group.

위 점막에서도 control 군에서는 점막의 국소적 탈락이 두드러졌으며 점막하 조직층의 부종성 변화와 함께 궤양, 침윤의 소견이 보이는데 비해 다른 실험군에서는 현저하게 궤양, 침윤의 감소가 관찰되었다(Fig. 10).

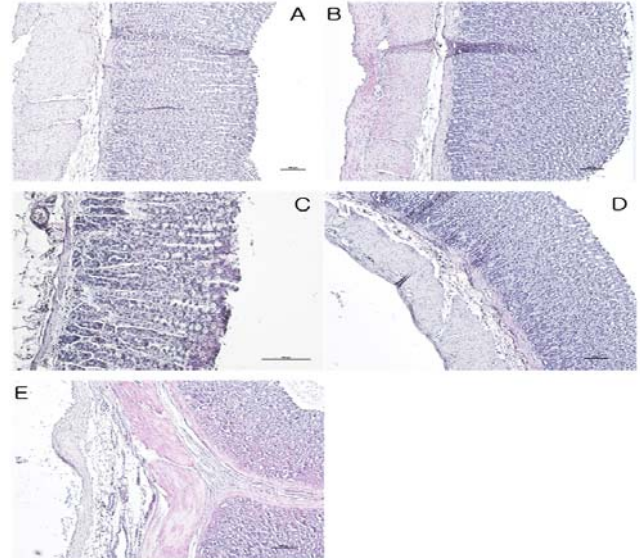


Fig. 10. The effects on stomach mucosa damage in reflux esophagitis rat. (x10) A: Normal group(naive rats) B: Sham group(only treated ventrotomy group) C: control group(saline administered and stomach ligation treated group) D: T1 : Ulmus punila administered (280mg/kg/day) and stomach ligation treated group. E: T2 : Ulmus punila administered (560mg/kg/day) and stomach ligation treated group.

고찰

1990년대 초반까지 역류성 식도염은 우리나라를 포함한 아시아권 국가에서 유병율이 매우 적었기 때문에 주요 관심질환이 아니었으나 2000년대에 들어서면서부터 유병율이 증가함으로써 역류성 식도염에 대한 관심 및 연구가 증가하게 되었다. 즉, 2000년대 초에 발표된 우리나라 일반 인구 집단에서의 역류성 식도염 증상의 유병율은 3.5%였으나¹⁾ 2009년에는 8.5%로 증가되어²⁾ 우리나라에서도 역류성 식도염이 점진적으로 증가되고 있음을 알 수 있다.

역류성 식도염은 위액의 역류에 의한 반복적인 임상증상이 있고, 육안적 혹은 조직학적으로 하부식도 점막에 염증이 생기면서 식도 조직의 부종, 출혈, 점막의 괴사 박리 등이 일어나고 결국에는 섬유화 협착이 되는 질환이다^{21,22)}. 최근 내시경이 보편화되면서 위액의 역류로 인한 식도 점막의 발적, 미란, 궤양이 가장 흔히 보이는 식도염증의 하나가 되었다²¹⁾.

일반적인 소화불량의 범주에 속해있는 질환들과 마찬가지로 역류성 식도염의 원인도 매우 다양하지만 일반적으로 하부식도조임근(lower esophageal spincter, LES)의 이완과 낮은 압력에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 현재까지 알려진 역류성 식도염의 병태생리는 해부학적 결손없이 수시로 일어나는 하부식도조임근의 일시적인 이완현상, 열공헤르니아와 같은 해부학적 결손, 하부식도조임근의 낮은 압력 등으로²³⁾, 특히 음식을 삼킬 때와 트림할 때만 이완되는 하부식도조임근이 부적절하게 이완되는 것으로 알려져 있

다²⁴). 그 밖에 식도의 연동운동 저하로 인한 위식도 접합부에서 역류를 방지하는 장벽의 기능부전에 의한 식도점막의 손상, 중력에 의해 옆으로 눕거나 취침시에 역류로 인한 손상, 비만이나 변비로 인한 복압의 상승도 원인이 될 수 있다고 하였다^{23,25}).

역류성 식도염의 증상은 신체적 합병증인 식도염으로 인한 국소적 식도 합병증, 천식, 흡인성 폐렴 및 인후염 등이 있고, 역류에 관련된 증상인 흉부작열감, 산 역류와 같은 전형적 증상과 흉통, 연하곤란, 인두 이물감, 소화불량증, 천식, 폐렴, 嘔聲 등의 비전형적인 증상 등이 있다. 대개 흉부작열감(heart burn, 가슴쓰림)은 주로 식후 30분~2시간에 나타나고 10분이상 지속되고, 재산체에 완화되며, 식사후나 누울 때 그리고 몸을 구부릴 때 야기되는 경향이 있고, 산 역류(acid regurgitation)는 위 내용물이 인두로 역류하는 현상으로 시고 쓴맛을 호소하며, 오심이나 구역과 연관되어 오지는 않는 것으로 알려져 있다^{25,26}).

재산체는 펩신을 불활성화시켜 궤양의 진전을 방지하고, 염증 부위를 보호하는 효과가 있다²⁷). 소화관운동 촉진제는 도파민 D2 수용길항제, 5-HT4(세로토닌) 수용체 작용제, Motilin 수용체 작용제 등이 있다. 도파민 D2 수용길항제는 도파민이 위장관 운동을 억제하는 역할을 하며, 위장관 콜린성 운동 신경원에 존재하여 도파민의 자극을 받아 콜린성 운동 신경(cholinergic motor neuron)을 억제하게 된다. 이러한 작용으로 수용체가 억제되면 운동 신경원에서 아세틸콜린의 분비가 증가하여 평활근의 무스카린성 수용체(muscarinic receptor, M2)를 통해서 평활근의 수축이 증가하게 된다. 5-HT4(세로토닌) 수용체 작용제는 콜린성 신경과 평활근의 작용으로 세포내 AMP가 활성화되면서 평활근이 수축하면서 소화관 운동이 촉진된다. Motilin 수용체 작용제는 평활근 세포나 콜린성 신경원에 분포하여 직접, 혹은 간접적으로 평활근 세포내 칼슘 농도를 증가시켜 수축을 유발한다²⁸). 그러나 소화관운동 촉진제의 경우 그 효능이 약하거나 부작용으로 인체사용이 제한되고 있다²⁹).

위산억제제는 H2수용체 길항제(H2 receptor antagonist, H2RA), 프로스타글란딘 E 유사체, 공격인자 억제제인 프로톤 펌프 억제제(proton pump inhibitors, PPIs) 등이 있다. 특히, PPIs제제는 역류성 식도염 환자에게 사용하는 약물치료방법이다³⁰). 다만 위산 억제제들은 복용을 중단했을 경우 50-80% 환자에게서 재발 위험이 높은 것으로 알려져 있다³¹). 이중 omeprazole은 대표적인 PPI제제로, 현재 역류성 식도염 치료제 개발에 있어 하나의 대조약물(reference drug)로 흔히 이용되고 있고³²), 유문 결찰 역류성 식도염 모델에서도 그 치료효과가 이미 잘 알려져 있으며³³), 근래에 들어 유리 활성산소 제거에 의한 항산화 효과 역시 밝혀져 있다³⁴).

역류성 식도염에 대한 한약물의 실험적 연구로는 이진탕가미방의 항산화 효과를 통한 역류성 식도염에 대한 효과⁵⁻⁷), 반하사심탕의 하부식도 조임근의 수축조절을 통한 초기 역류성 식도염유발 억제에 대한 효과⁸), 금은화의 위산분비 억제 및 식도점막의 점액분비 증강을 통한 식도염 억제효과⁹), 오수유¹⁰의 항산화 및 항염효과를 통한 식도염에 대한 효과 등의 보고가 있었다.

최근 역류성 식도염의 원인이 산의 역류에 의한 점막 손상뿐만 아니라 산화 스트레스(oxidative stress)가 주된 원인이 되는 것으

로 알려져 있으며³⁵), 이에 따라 다양한 항산화제(anti-oxidant)가 역류성 식도염에 비교적 유효한 것으로 알려져 있다³⁴).

楡根皮도 항산화¹²) 및 항염^{13,14}), 항균¹⁵)효과 외에 면역 증진¹⁶), 항암¹⁷⁻²⁰) 효과 등이 실험적으로 입증되는 연구들이 보고되었다. 그러나 아직까지 유근피가 급성 역류성 식도염에 미치는 영향에 대한 연구 결과는 보이지 않았다.

이에 저자는 항산화, 항염, 항균 효과가 있는 楡根皮가 역류성 식도염에도 유효할 것으로 판단되어 유근피의 역류성 식도염 억제 효과와 그 기전을 알아보고자 기존의 역류성 식도염 실험 모델⁵⁻¹⁰)을 참조하여 위의 대만(大彎)부위와 인접한 날문부위를 결찰하여 식도염 병태모델을 유도했다. 그리고 수술 2주 전부터 각각의 실험군에 나누어 약물을 투여했는데, 정상군은 아무처치를 하지 않은 군(Normal)이며 Sham군은 2주 전부터 식염수를 복용시키고 수술 당일날은 개복한 후 위 대만부위 및 날문부위를 결찰하지 않고 개복한 부위만 봉합한 군으로 실제적인 정상군에 해당된다. 또한 수술전 2주일 간 생리식염수를 투여하고 개복 수술시 위를 결찰한 군을 대조군(Control), 수술전 2주일 간 유근피 추출물 280mg/kg/day 씩을 투여하고 개복 수술 시 위를 결찰한 군을 T1 군, 수술전 2주일 간 유근피 추출물 560mg/kg/day 씩 투여하고 개복 수술 시 위를 결찰한 군을 T2 군으로 구분하여 투여하였으며 이에 흰쥐에 유근피의 역류성 식도염 억제효과와 그 기전을 알아보고자 위내용물의 양(gastric volume), 위내 산도(pH) 및 조직병리학적 변화를 측정하였고, SOD, catalase, lipid peroxidation 그리고 glutathione을 통해 항산화 효과를 관찰하였다.

체중 변화를 관찰한 결과 특이하게 유근피 추출액을 투여한 T1과 T2군에서 투여 1주차 때 유의하게 체중이 감소한 것으로 관찰되었다. 이는 유근피의 투여가 흰쥐의 체중을 감소하게 한 것으로 보이며 이러한 결과는 기존에 수행했던 유근피를 흰쥐의 지질대사에 연관지어 연구한 결과³⁶)와 다소 유사성이 관찰되며 유근피를 체중감량의 약재로 차후 연구해 볼 수도 있으리라 사료된다.

역류성 식도염은 여러 가지 원인으로 발생하지만 그 중 하부식도 조임근(LES)의 기능저하가 가장 큰 원인으로 지적되었다³⁷). 이는 위 내용물의 양을 측정함으로써 위의 팽창에 의한 하부식도 조임근 압력이 저하될 수 있다⁶). 일반적으로 정상적인 식도의 연동운동은 식도에 역류된 위 내용물이 제거되는데 매우 중요하며 위식도 역류 환자에서 흔히 연동 운동이 저하되거나 비정상적인 연동운동을 관찰할 수 있다. 또한 위 내용물이 소장으로 비워지는 시간이 연장되어 위 내용물이 위내에 축적되는 것도 위식도 역류의 원인 중 하나로 생각된다³⁸).

본 실험에서 위 내용물의 양을 관찰한 결과 식염수를 2주간 투여하고 위결찰술을 시술하여 역류성 식도염을 유발한 control 군 (5.08±0.93mg/kg)에 비해 유근피 추출물 280mg/kg/day를 투여한 T1 군 (3.04±0.85mg/kg, p<0.05)과 유근피 추출물 560mg/kg/day를 투여한 T2 군 (2.71±0.90mg/kg, p<0.01)에서 모두 유의하게 위 내용물이 감소한 것으로 관찰되었다.

위산은 역류성 식도염을 유발하는 가장 중요한 인자 중 하나⁶)으로써 역류성 식도염 및 위점막 손상을 치료하기 위해 중요한 요소로 꼽히는 데 본 실험의 결과에서는 control군에 비해 유근피 추

출물 투여군에서 유의한 위 내용물의 감소를 보인 반면 다소 pH가 증가하는 경향이 있었으나 유의성은 없었다.

역류성 식도염에 대한 효능을 파악하기 위해서 본 실험에서는 항산화 방어체계에 대한 인자를 관찰하였고, 이러한 항산화 효과는 식도 지질과산화 (lipid peroxidation), 내인성 항산화제 (glutathione) 및 항산화 효소 (superoxide dismutase, catalase) 의 함량 변화로 평가하였다³⁹⁾.

실험결과를 살펴보면 활성산소 제거에 중요한 역할을 하는 SOD와 catalase에서 모두 control군에 비해 유근피 추출물 투여군에서 활성이 증가하는 경향이 보였으나 T1 군은 통계적으로 유의성이 없었고, T2 군에서 유의하게 SOD와 catalase의 활성이 증가한 것으로 관찰되어 용량의존적인 경향을 보였다.

그 외 항산화효과 관찰을 위해 시행한 catalase와 total glutathione의 변화를 측정 한 결과 control군에 비해 유근피 추출물을 투여한 T1 군과 T2 군 간에 통계적인 유의성은 없었다.

역류성 식도염의 조직병리학적 소견은 발적, 미란, 국소궤양, 염증세포 침윤, 출혈과 점막하조직의 부종성 변화가 나타나며²¹⁾ 이러한 변화는 역류성 식도염에 대한 효능 평가시 중요한 지표³⁶⁾로 삼을 수 있다. 본 실험에서는 식도부위와 위점막을 각각 H&E로 염색하여 관찰하였으며 그 결과 control군에 비해 유근피 추출물 투여군에서 현저한 병변 침습 비율의 감소가 관찰되었으며 그 정도가 T2 군에서 더욱 두드러지는 용량 의존적인 결과를 보였다.

이상의 결과를 종합해 보면 유근피 투여군은 위의 대만부 및 날문 부위 결찰로 유발된 흰 쥐의 역류성 식도염에 일정부분 효과를 나타내는 것으로 관찰되었으며, 유근피 추출물 280mg/kg/day을 투여한 T1 군보다는 유근피 추출물 560mg/kg/day을 투여한 T2 군에서 더 우수한 억제 효과를 나타내는 용량의존적인 결과를 나타내었다. 이는 유근피의 장기적인 투여에 따른 치료 효과에 대한 평가 및 용량에 따른 유의성을 정확히 판단하기 위한 추가적인 연구가 필요하리라 생각된다. 또한, 본 연구를 바탕으로 향후 유근피에 대한 역류성 식도염에 대한 다양한 방법의 기전적인 연구도 필요할 것으로 사료된다.

결 론

유근피 추출물의 2주간 투여가 급성으로 유발된 역류성 식도염에 미치는 영향을 알아보기 위하여 대만부 및 날문 부위 결찰로 유도된 식도염 모델 흰쥐의 체중, 위 내용물의 양, 위산도, 항산화 지표 및 조직학적 변화를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

유근피 추출물을 투여한 T1 군과 T2 군에서 1주차 때 유의성 있는 체중의 감소가 보였으나 2주차에서 회복되었다.

위 내용물의 양을 측정 한 결과 control 군에 비해 유근피 추출물 280mg/kg/day을 투여한 T1 군과 유근피 추출물 560mg/kg/day을 투여한 T2 군에서 모두 유의하게 위 내용물이 감소한 것으로 관찰되었다.

SOD 활성을 관찰한 결과 control 군에 비해 유근피 추출물 560mg/kg/day을 투여한 T2 군에서 유의하게 SOD 활성이 증가한 것으로 관찰되었다

Catalase 활성을 관찰한 결과 control군에 비해 유근피 추출물 560mg/kg/day을 투여한 T2 군에서 유의하게 catalase 활성이 증가한 것으로 관찰되었다.

조직병리학적 변화를 관찰한 결과 대조군에 비해 유근피 추출물을 투여한 T1 군과 T2 군에서 모두 현저한 조직병리학적 개선 효과가 관찰되었다.

이상의 결과, 유근피 추출물은 역류성 식도염의 예방에 효과적이고 더 나아가 치료에도 응용될 수 있으리라 생각되며 용량 의존적인 결과를 통하여 고용량 투여가 더욱 효과적일 것으로 판단된다.

References

1. Cho, Y.S., Choi, M.G., Jeong, J.J., Chung, W.C., Lee, I.S., Kim S.W., Han, S.W., Choi, K.Y. Prevalence and clinical spectrum of gastroesophageal reflux: a population-based study in Asan-si, Korea. *Am J Gastroenterol* 100: 747-753, 2005.
2. Lee, S.Y., Lee, K.J., Kim, S.J., Cho, S.W. Prevalence and risk factors for overlaps between gastroesophageal reflux disease, dyspepsia, and irritable bowel syndrome: a population-based study. *Digestion* 79: 196-201, 2009.
3. Lee, S.Y. Bio psychosocial understanding and quality of life of gastroesophageal reflux disease. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*. 7(2):367-374, 2001.
4. Digestive Internal Medicine Editorial Committee of Korean Medicine schools, Bigyenaegwa-hag, Seoul, Koonja publisher, pp 317-318, 2008.
5. Hwang, J.Y., Kim, D.J., Byun, J.S. Effects of Yijin-tang-gamibang Extracts on Reflux Esophagitis. *Journal of physiology & pathology in Korean Medicine*. 23(5):1073-1079, 2009.
6. Choi, B.H., Kwak, M.A., Kim, D.J., Byun, J.S. Suppressive Effects of Yijintang-gamibang on Reflux Esophagitis. *Journal of Korean Oriental Medicine*. 31(5):64-81, 2010.
7. Park, K., Kwak, M.A., Kim, D.J., Byun, J.S. Protective Effects of Yijin-tang-gamibang Aqueous Extracts on Reflux Esophagitis Mediated by Antioxidant Defense Systems. *Journal of physiology & pathology in Korean Medicine*. 24(3):416-425, 2010.
8. Jang, M.W., Lim, S.W. Experimental Study for Effect of Banhasasim-tang on Mice with Reflux Esophagitis. *Journal of Korean Oriental Internal Medicine*. 34(4):362-374, 2013.
9. Lee, Y.J., Park, J.H., Roh, S.S. Effects on Rats with Reflux Esophagitis Treated with Lonicerae Flos Extract. *Journal of physiology & pathology in Korean Medicine*. 24(6):970-975, 2010.
10. Kim, D.J., Roh, S.S. Effect on Acute reflux Esophagitis

- by Evodiae Fructus Aquous Extract. The Korea journal of Herbology. 27(1):51-58, 2012.
11. Herbology Editorial Committee of Korean Medicine schools, Boncho-hag, Seoul, Yeonglim publisher, p 735, 2004.
 12. Lee, K.H., Jeon, E.K., Yoo, S.Y., Oh, M.J.. Antioxidative activity of Ulmi cortex extract. Korean J. postharvest sci. technol. 7(4):373-379, 2000.
 13. Park, K.S., Jang, I.A., Kim, Y.C., Lee, M.H., Shin, H.Y., Choi, D.Y., Park, H., Youn, Y.G. Composition Comprising the Extract of Salicis Radicis Cortex for Immune Activity. Journal of physiology & pathology in Korean Medicine. 21(1):209-213, 2007.
 14. Shin, Y.S., Lee, J.S., Rho, S.S. Experimental Study of Anti-inflammation and Tissue Replication by Ulmi Cortex. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 14(1):190-208, 2001.
 15. Cho, E.Y., Jung, J.C. The Inhibitory Effects of Ulmus davidiana on the Reactive Species and Proinflammatory Proteins. Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 29(2):421-431, 2008.
 16. Yoon, J.H., Lee, J.H., Kim, T.H., Ryu, Y.S., Kang, H.W. Study on Antigastritic and Anti Helicobacter Pylori Effects from Water Extract of Ulmus Davidiana var. Japonica Nakai. Journal of physiology & pathology in Korean Medicine. 22(1):108-114, 2008.
 17. Moon, M.H., Jeon, J.Y., Lee, S.A., Shin, Y.J., Ko, S.J., Moon, G. Ulmi Cortex Prevents Cisplatin-Induced Apoptosis in Mice. Herbal formula science. 16(2):229-241, 2008.
 18. Choi, S.D., Park, Y.K., Kim, G.S., Kang, B.K., Han, S.I. A Study on Antitumor Effect and Mechanism of Cortex ulmi pumilae Water Extract on HepG2 Hepatoma cell. Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 21(2):259-266, 2000.
 19. Kim, H.S., Cho, J.H., Lee, J.M., Lee, C.H., Jang, J.B., Lee, K.S. Experimental Studies on Antimetastatic and Immunomodulating Effects of Ulmus davidiana. The Journal of Oriental obstetrics & gynecology. 23(1):1-11, 2010.
 20. Cho, S.H., Cho, S.I., Na, W.M., Yang, S.J. Anti-proliferative Effect of Ulmi Pumilae Cortex Extracts on MCF-7 cells. The Journal of Oriental obstetrics & gynecology. 20(3):35-44, 2007
 21. Johnson, F., Joelsson, B., Gudmundsson, K., Grieff, L. Symptoms and endoscopic findings in the diagnosis of gastroesophageal reflux disease. Scandinavian Journal of Gastroenterology. 22(6):714-718, 1987.
 22. Lee, G.N., Lee, J.S. Clinical Pathology files. Seoul, Uihagmunwha publisher, p 138, 1996.
 23. Harrison's Principles of Internal Medicine. Edit committee of the Korean Association of Internal Medicine. 16th Edition Vol 2. Seoul: MPI corporation; p 1902, 2006.
 24. Zou, D., Chen, W.H., Iwakiri, K., Rigda, R., Tippett, M., Holloway, R.H. Inhibition of transient lower esophageal sphincter relaxations by electrical acupoint stimulation. American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology, 289(2):197-201, 2005.
 25. Lee, Y.C. Step to internal Medicine. Seoul, Jeongdam publisher, pp 63-65, 2008.
 26. Kenneth, R.D., Donald, O.C. Upddated Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Gastroesophageal Reflux Disease. The American Journal of Gastroenterology 100: 190-200, 2005.
 27. Drossman, D.A. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. Gastroenterology. 130: 1377-1390, 2006.
 28. Lee, J.S. Treatment strategy. Korean journal of neurogastroenterology and motility. 7: 340-354, 2001.
 29. Association of Korean Clinical Pharmacy. Drug therapy Studies(Second edition). Sinll Books, pp 287-300, 2009.
 30. Shimatani, T., Inoue, M., Kuroiwa, T., Xu, J., Nakamura, M., Tazuma, S., et al. Lafutidine, a Newly Developed Antiulcer Drug, Elevates Postprandial Intra gastric pH and Increases Plasma Calcitonin Gene-Related Peptide and Somatostatin Concentrations in Humans: Comparisons with Famotidine. Digestive Diseases and Sciences. 51(1):114-120, 2006.
 31. Harris, R.A., Kuppermann, M., Richter, J.E. Prevention of Recurrences of Erosive Reflux Esophagitis: A Cost-Effectiveness Analysis of Maintenance Proton Pump Inhibition. The American Journal of Medicine. 102(1):78-88, 1996.
 32. McKeage, K., Blick, S.K.A., Croxtall, J.D., Lyseng-Williamson K.A., Keating, G.M. Eesomeparazole: a review of its use in the management of gastric acid-related disease in adults. Drugs. 68(11):1571-1607, 2008.
 33. Min, Y.S., Bai, K.L., Yim, S.H., Lee, Y.J., Song, H.J., Kim, J.H., Han, I.H., Whang, W.K., Sohn, U.D. The effect of luteolin-7-o-beta-D-glucuronopyranoside on gastritis on gastritis and esophagitis in rats. Archives of Pharmacal Research. 29: 484-489, 2006.
 34. Rao, C.V., Vijauakumar, M. Effect of quercetin, flavonoids and alpha-tocopherol, an antioxidant vitamin

- on experimental reflux oesophagitis in rats. *Journal of Pharmacology*. 589: 233-238, 2008.
35. Oh, T.Y., Lee, J.S., Ahn, B.O., Cho, H., Kim, W.B., Kim, Y.B., Surh, Y.J., Cho, S.W., Hahm, K.B. Oxidative damages are critical in pathogenesis of reflux esophagitis: implication of antioxidants in its treatment. *Free Radical Biology and Medicine*. 30(8):905-915, 2001.
36. Lee, M.J., Ha, J.O., Lee, J.J., Lee, M.R. The effect of Ulmi Pumilae Cortex on Lipid Metabolism in High Cholesterol Diet Fed Rats. *The Medical Journal of Chosun University*. 34(1):26-35, 2009.
37. Lee, Y.C. Translation. *Pathophysiology*. Seoul, Jeongdam publisher. pp 58-59, 2008.
38. Gaynor, E.B. Otolaryngologic manifestations of gastroesophageal reflux. *American Journal of Gastroenterology*. 86: 801-808, 1991.
39. Cho, S.Y., Song, C.H., Lee, J.E., Choi, S.H., Park, S.J., Ku, S.K. Effects of platycodin D on reflux esophagitis due to modulation of antioxidant defense systems. *Toxicology Letters*. 229: S214, 2014.