

쑥부쟁이 에탄올 추출물의 급성췌장염 보호 효과

서상완*

호남대학교 바이오융합학과

Protective Effects of Ethanol Extract from *Aster Yomena* on Acute Pancreatitis

Sang Wan Seo*

Department of Bio-Technology, Honam University

Aster Yomena (AY) has been used in traditional medicine to treat diseases such as obesity, hyperlipidemia, atherosclerosis, diabetes and osteoarthritis. However, protective effect of AY on acute pancreatitis (AP) has not been reported. The present study examined the anti-inflammatory effects of an ethanol extract of AY on cerulein-induced AP. AP was induced in mice by intraperitoneally injecting cerulein (50 µg/kg) hourly for 6 times. 70% ethanol extract of AY (0.1, 0.2, and 0.5 g/kg) was orally administered for 1 week before acute pancreatitis induction. The mouse was killed at 6 hours after the final cerulein injection. The pancreas and lung were rapidly removed for histological examination and myeloperoxidase (MPO) assay. Blood samples were taken to determine serum amylase and lipase activity. In addition real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was also performed to investigate mRNA expression of proinflammatory cytokines such as TNF- α , IL-1 β , and IL-6. Administration of AY significantly ameliorated pancreatic weight to body weight ratio, histological damages and MPO activity during AP. In addition, AY inhibited the serum amylase and lipase activity during AP. Also, mRNA expression of TNF- α , IL-1 β and IL-6 were inhibited by AY against AP. Our results revealed that pre-treatment of AY reduces the severity of cerulein-induced AP. Therefore, AY may have a protective effect drug against AP.

keywords : Acute pancreatitis, Amylase, *Aster Yomena*, Cytokines, Lipase

서론

급성췌장염은 췌장 내에서 소화효소의 활성화로 인해 일어나는 급성 염증성 질환으로 정의한다. 발병률은 100만 명당 300명 정도이며^{1,2)}, 구역감, 구토, 발열, 두근거림 등의 증상을 수반하는 질환이다^{3,4)}. 급성췌장염은 염증반응이 췌장에만 국한되어 나타나는 경미한 정도부터 다발성 장기부전의 합병증과 같은 중증 염증반응까지 그 증상이 다양하다⁵⁾. 췌장염 발병환자의 약 80% 정도는 경미한 염증반응을 보이며, 이 경우 보존적인 치료만으로 합병증 없이 완전히 치유된다. 나머지 약 20% 환자는 저혈압, 쇼크 및 폐 손상 등 다발성 장기부전의 합병증이 동반되는 중증 염증반응이 나타나게 되며, 이 경우 사망률이 약 20~50%로 보고되어 있다^{6,7)}. 발병 원인으로는 담석, 음주, 대사 장애, 약물 및 복부 손상 등이 있으며 담석에 의한 췌장염은 발병 원인의 약 60~80%로 대부분의 비율을 차지한다⁸⁻¹⁰⁾. 현재까지 급성췌장염의 발병기전을 밝히기 위해 수많은 연구가 진행되고 있으나 정확한 발병 기전은 밝혀내지 못하고

있는 상황이다.

우리나라의 대표적인 국화과(Asteraceae) 산채인 쑥부쟁이(*Aster Yomena*)는 다년생 초본으로 한국, 중국, 일본 및 러시아 등지에 서식하고 있다. 우리나라에서는 전국에서 자생하지만, 제주도, 울릉도, 남부지방 및 중부지방에서 주로 자생한다¹¹⁾. 쑥부쟁이에 대한 옛 문헌들을 찾아보게 되면 《본초강목》, 《본초습유》, 《중약대사전》, 《복건민간약초》, 《운남중포약》에서 清熱, 解毒, 祛痰의 효능이 있고, 특히 瘀血, 抗炎, 瘧疾, 吐血, 咽喉痛, 尿道炎, 水腫, 血痢, 創傷出血, 咽喉麻痺, 丹毒 등에 사용한다고 기록되어 있다. 또한 《동의보감》에서는 解熱劑, 利尿劑로 기록되어 있으며, 민간요법에서는 기침, 천식 등에 사용하며 앞에서는 별레물린데에 사용하고 있다¹²⁾. 쑥부쟁이에 대한 지금까지의 과학적 연구 결과로는 항암, 항균, 항산화, 항치매, 항비만효과 등이 보고되어 있지만 췌장염에 대한 연구는 이루어지지 않은 실정이다¹³⁻¹⁷⁾.

따라서 이번 연구에서는 cerulein으로 유도한 생쥐의 급성췌장염 모델에서 쑥부쟁이 에탄올 추출물이 보호 효과를 나타내는지

* Corresponding author

Sang Wan Seo, Department of Bio-Technology, Honam University, Eodeung-daero, Gwangsan-gu, Gwangju, 62399, Korea

E-mail : ssw@honam.ac.kr Tel : +82-62-940-5442

Received : 2019/02/25 Revised : 2019/04/22 Accepted : 2019/04/24

© 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.2019.04.33.2.109

Available online at https://kmpath.jams.or.kr

대해 연구를 진행하였으며, 이를 확인하기 위해 췌부쟁이 에탄올 추출물을 일주일간 경구투여 후 급성췌장염을 유도하였다. 급성췌장염의 진행에 따른 생쥐의 몸무게에 대한 췌장비를 변화, 췌장 및 폐의 조직학적 손상, 호중구 침윤, 췌장 소화 효소인 혈청 amylase와 lipase의 분비 및 염증성 사이토카인 분비 정도를 측정하였으며 이에 유의한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 췌부쟁이 원료

실험에 사용한 췌부쟁이 원료는 구례삼촌(구례, 대한민국)에서 구입하였다. 췌부쟁이를 세척한 다음 건조 한 후 건조된 췌부쟁이 1kg당 20ℓ 용량의 70% 에탄올을 첨가하여 80°C 3시간 동안 3회 추출한 후 여과필터를 사용한 후 불순물을 제거하였다. 3회 추출로 얻어진 추출물 47ℓ를 감압농축 하였으며 농축한 시료는 Freeze dryer(PVTFD 20R, (주)일신바이오베이스, 대한민국)를 사용하여 동결건조를 수행하였다. 동결건조 완료 후 얻어진 파우더 220g(수득률: 22%)를 실험 시료로 사용하였다.

2) 시약

Xylene, Formalin, Cerulein, Eosin, Hematoxylin, Hexadecyltrimethyl ammonium bromide (HTAB)는 Sigma(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Amylase assay kit, Lipase assay kit는 BioAssay(Hayward, CA, USA)에서 구입하였다.

3) 실험동물

급성췌장염 동물실험에 사용한 C57BL/6 mouse(6주령, 체중 15-20g, female)는 오리엔트 바이오 (성남, 대한민국)에서 구입하였다. 실험동물은 일정한 조건(온도:23±2 °C, 습도:50~60 %, 명암:12시간 주기)에서 일정한 양의 일반 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 일주일 동안 환경 적응시킨 후 실험하였다.

2. 방법

1) 췌부쟁이 투여와 급성췌장염 유발

췌부쟁이 70% 에탄올 추출물(0.1, 0.2, and 0.5g/kg)은 1주일간 1일 1회 경구 투여하였다. 대조군은 같은 양의 생리식염수를 경구 투여하였다. 마지막 7일째 되는 날 췌부쟁이 70% 에탄올 추출물을 경구 투여하고 1시간 뒤 급성췌장염을 유발하였다. 췌장염을 유도시키기 위해 마우스를 유도 전날부터 16시간 동안 금식한 후, cerulein(50µg/kg)을 1시간 간격으로 총 6번 복강에 주사하여 급성 췌장염을 유도하였다. 마지막으로 Cerulein을 주사하고 6시간 후에 혈액을 채취하고 췌장과 폐를 분리한다.

2) 혈청분리

마지막으로 Cerulein을 주사하고 6시간 후에 마우스를 마취시켰다. 심장에서 혈액을 채취하기 위해 Syringe를 이용하였으며 혈액은 3,000rpm, 4°C에서 15분간 원심 분리하여 혈청만 분리하였다.

3) 혈청 Amylase, Lipase 활성 측정

소화효소인 amylase, lipase는 심장에서 채혈한 혈액에서 분리한 혈청으로 측정하였다. 혈청 amylase의 정량은 ADIVA

1650(BAYER, USA) system으로 측정하였고, 혈청 lipase의 정량은 Cobas-mira(Rochs, USA) system으로 측정하였다.

4) 췌장 중량/체중 비율 측정

Cerulein을 마지막으로 투여하고 5시간 후에 췌장을 적출한 후 pancreas weight/body weight 비율은 췌장 무게 및 몸무게를 저울에 측정한 후 계산하였다.

5) 조직학적 관찰 및 분석

췌장과 폐 조직을 적출하고 4% formalin 용액을 통해 조직을 고정시킨 다음 조직표본 제작방법으로 Hematoxylin&Eosin(H&E) 염색을 하였다. 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하고 분석하였다. 손상의 정도는 췌장 선방세포위축, 췌관질부종, 염증세포침윤, 췌관주위 섬유화등을 판정한다.

6) Myeloperoxidase (MPO) 측정

췌장에서 호중구 침윤은 조직의 MPO 활성도로 측정하였다. 50mM phosphate buffer(pH 6.0)와 HTAB 용액에 췌장 조직을 담가 0°C에서 45초간 분쇄한 후 12,000 rpm, 4°C로 20분간 원심 분리하였다. 96well plate에 supernatant, 0.5% HTAB, O-dianisidine(0.68 mg/ml), 0.003% hydrogenperoxide를 각 50 µl씩 넣은 후 ELISA reader 분석장비를 활용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

7) RNA 추출

췌장에 Easy Blue(intron biotechnology, USA)용액을 1ml 넣어서 세포를 용해시킨 후 200µl의 chloroform용액을 넣어 잘 섞은뒤 13,000rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층액을 얻는다. 그 후 2-propanol과 1:1로 섞은 뒤 13,000rpm에서 10분간 원심 분리 한 후 위에 상층액은 버린후 남은 침전물에 80% ethanol로 2회 씻고 침전물을 건조시켰다. 마지막으로 침전물에 DEPC가 포함된 증류수를 100µl씩 넣어 RNA를 용해시키고 정량하였다.

8) 실시간 정량적 역전사 중합 효소 연쇄반응(real time RT-PCR)

전염증성 사이토카인인 TNF-α, IL-1β 그리고 IL-6 mRNA의 발현을 정량하기 위해 정량 중합 효소 반응을 측정하였다. 합성된 cDNA 1µl에 Real time PCR master mix 4µl(ABI), primer 및 probe를 넣고 PCR 조건으로 증폭 시켰다. PCR 증폭 조건은 92°C에서 30초, 58°C에서 45초, 그 후에 72°C에서 30초로 60cycle 하였다. 정량 중합 효소반응에 쓰인 custom taqman probe(Cat.#4331182) 및 TaqMan master mix는 ABI(CA, USA)에서 구입하였다.

9) 통계처리

모든 실험 결과는 3회 이상 실시하였고 측정된 평균값을 기초로 Mean±S.E.로 나타내었다. 실험결과에 대한 통계처리는 SPSS 분석프로그램(v22.0)의 one way ANOVA에 적용시켰고, Duncan method로 사후검증을 하였다. P-value가 0.05미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 췌부쟁이 에탄올 추출물이 췌장 조직에 미치는 영향

급성췌장염의 유도한 후 췌장 조직의 손상도와 염증의 정도를

측정하기 위해 H&E 염색 방법으로 췌장의 조직학적 구조 및 염증 정도를 측정하였다. 분석 결과, 대조군에서는 췌장의 전형적인 조직 구조를 나타냈지만, cerulein 투여군에서는 조직 사이에 염증성 세포의 침윤과 부종으로 인해 조직 사이의 간격이 증가됨을 확인하였다. 반면 쑥부쟁이 에탄올 추출물을 처리한 군에서는 cerulein을 투여한 군과 비교하였을 때 농도 의존적으로 염증 및 부종을 감소됨을 보여주었다.

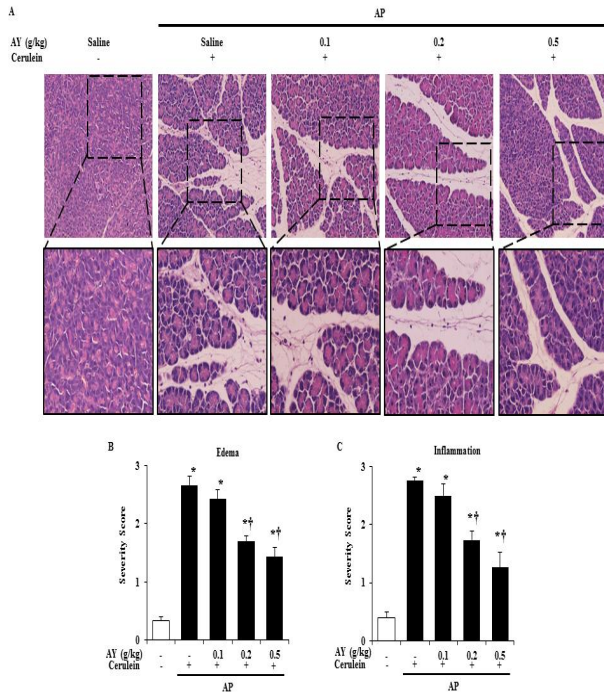


Fig. 1. Effects of AY ethanol extract on pancreatic inflammatory changes following AP. Mice were pre-treated with AY ethanol extract (0.1, 0.2, and 0.5 g/kg) for 1 week before AP induction. Mice were sacrificed 6 h after completion of the cerulein injections, then the pancreas was harvested. (A) 100x (upper row) and 200x (lower row) magnification of representative hematoxylin and eosin (H&E)-stained sections of pancreas. Histological scores for (B) edema and (C) inflammation. Data show the mean±S.E. for 5 mice for each group. The results were similar in 3 additional experiments. Significant difference *P < 0.05 vs. saline-treated group or †P < 0.05 vs cerulein treatment alone.

2. 쑥부쟁이 에탄올 추출물에서 췌장 중량/체중 비율(P.W./B.W) 변화에 미치는 영향

급성췌장염이 유발되면 일반적으로 구토와 탈수 등으로 체중은 감소하며, 췌장에는 부종이 증가하여 췌장무게가 증가하게 되므로 P.W./B.W. 비율은 췌장염의 중요한 마커로 사용되고 있다. 따라서 본 실험에서는 마지막으로 cerulein을 주사 후 6 시간 뒤 P.W./B.W. 비율 변화를 측정하였다. 분석 결과, 대조군과 비교하여 cerulein을 투여한 군에서 P.W./B.W. 비율이 증가하였으나, 쑥부쟁이 에탄올 추출물을 전 처리한 군에서는 P.W./B.W. 비율이 감소하는 것을 확인하였다.

3. 쑥부쟁이 에탄올 추출물이 혈청 amylase, lipase 수치에 미치는 영향

혈청 amylase, lipase의 수치는 임상적으로 급성췌장염을 판단 하는데 가장 일반적으로 사용되는 생화학적 지표이다. 따라서 쑥부쟁이 에탄올 추출물이 급성췌장염 동안 소화효소의 발현에 영향을 미치는지를 조사하였다. 분석 결과를 토대로 정상군과 비교하여 cerulein을 투여한 군에서는 혈청 amylase와 lipase 수치가 증가하였다. 반면, 쑥부쟁이 에탄올 추출물을 전 처리한 군에서는 혈청 amylase와 lipase의 수치가 유의하게 억제되었다.

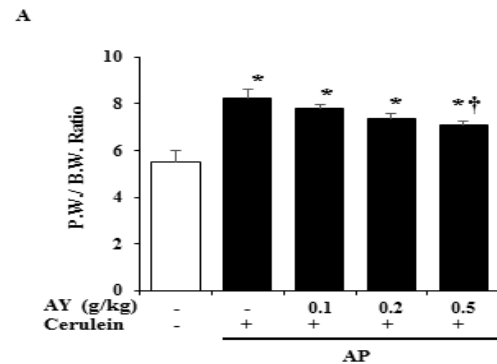


Fig. 2. Effects of AY ethanol extract on pancreatic weight/body weight ratio (P.W./B.W) during cerulein-induced AP. Mice were pre-treated with AY ethanol extract (0.1, 0.2, and 0.5 g/kg) for 1 week before AP induction. Mice were sacrificed 6 h after completion of the cerulein injections, then the pancreas was harvested. Data show the mean±S.E. for 3 mice for each group. The results were similar in 3 additional experiments. Significant difference *P < 0.05 vs. saline-treated group or †P < 0.05 vs cerulein treatment alone.

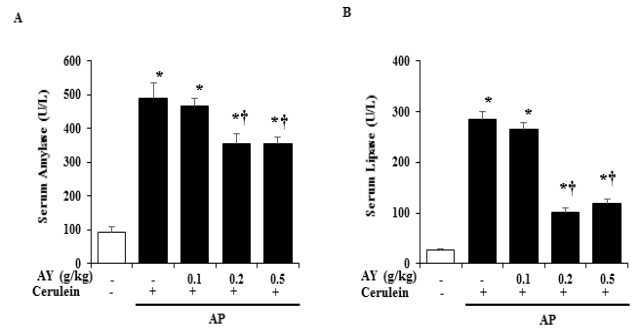


Fig. 3. Effects of AY ethanol extract on the production of (A) serum amylase activity and (B) lipase activity during cerulein-induced AP. Mice were pre-treated with AY ethanol extract (0.1, 0.2, and 0.5 g/kg) for 1 week before AP induction. Mice were sacrificed 6 h after completion of the cerulein injections, then serum was harvested. Data show the mean±S.E. for 3 mice for each group. The results were similar in 3 additional experiments. Significant difference *P < 0.05 vs. saline-treated group or †P < 0.05 vs cerulein treatment alone.

4. 쑥부쟁이 에탄올 추출물이 MPO활성에 미치는 영향

급성췌장염 유발 시 췌장내로 호중구의 유입이 증가하게 된다. MPO는 호중구의 과립내에 존재하는 효소로써 MPO의 활성측정은 호중구 침윤의 간접적인 지표로써 사용된다. 따라서 쑥부쟁이 에탄올 추출물이 급성췌장염에서 호중구 유입에 영향을 미치는지 확인 하기 위해 MPO 활성을 측정하였다. 분석 결과, 대조군과 비교하여 cerulein을 투여한 군에서는 MPO 활성도가 증가하는 것을 확인하

였다. 반면 쑥부쟁이 에탄올 추출물을 처리한 군에서는 cerulein을 투여한 군과 비교하였을 때 MPO 활성도가 감소하였다.

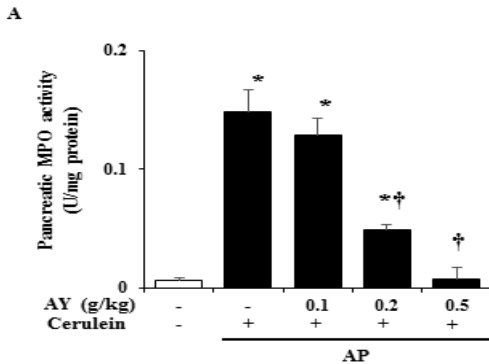


Fig. 4. Effects of AY ethanol extract on MPO activity during cerulein-induced AP. Mice were pre-treated with AY ethanol extract (0.1, 0.2, and 0.5 g/kg) for 1 week before AP induction. MPO activity was measured in pancreas 6 h after completion of the cerulein injections. Mice were sacrificed 6 h after the last cerulein injection, then the pancreas was harvested. Data show the mean±S.E. for 3 mice for each group. The results were similar in 3 additional experiments. Significant difference *P < 0.05 vs. saline-treated group or †P < 0.05 vs cerulein treatment alone.

5. 쑥부쟁이 에탄올 추출물에서 염증성 사이토카인 생산에 미치는 영향

급성췌장염이 유발되면 염증반응을 일으키는데 있어 중요한 인자로 작용하는 염증성 사이토카인이 증가된다. 본 실험에서는 쑥부쟁이 에탄올 추출물이 급성췌장염 동안 염증성 사이토카인에 미치는 영향을 조사하였다. 분석 결과, 대조군과 비교하여 cerulein을 투여한 군에서 염증성 사이토카인인 IL-1β, IL-6, TNF-α의 수치가 유의하게 증가하였다. 반면 쑥부쟁이 에탄올 추출물을 전 처리한 군에서는 IL-1β, IL-6, TNF-α의 수치가 유의하게 감소하였다.

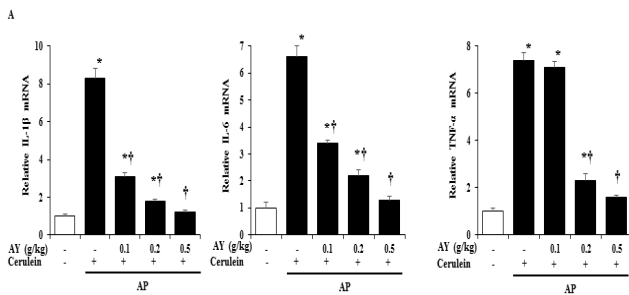


Fig. 5. Effects of AY ethanol extract on the cytokine secretion during cerulein-induced AP. Mice were pre-treated with AY ethanol extract (0.1, 0.2, and 0.5 g/kg) for 1 week before acute pancreatitis induction. Mice were sacrificed 6 h after completion of the cerulein injections, then the pancreas was harvested. The secretions of IL-1β, IL-6, and TNF-α in pancreatic mRNA were measured by quantitative RT-PCR. Data show the mean±S.E. for 5 mice for each group. The results were similar in 3 additional experiments. Significant difference *P < 0.05 vs. saline-treated group or †P < 0.05 vs cerulein treatment alone.

6. 쑥부쟁이 에탄올 추출물이 폐 조직에 미치는 영향

급성췌장염의 유도로 인한 폐 조직의 손상도와 염증의 정도를

측정하기 위해 췌장과 마찬가지로 H&E 염색 방법으로 폐의 조직학적 구조 및 염증 정도를 관찰하였다. 분석 결과, 대조군에서는 폐의 전형적인 조직 구조를 나타냈지만, cerulein을 투여한 군에서는 조직 사이에 염증성 세포들의 침윤이 발생하였고 세포벽이 두꺼워짐을 관찰하였다. 반면 쑥부쟁이 에탄올 추출물을 처리한 군에서는 cerulein을 투여한 군과 비교하였을 때 농도 의존적으로 염증 및 세포벽 두께가 감소함을 보여주었다.

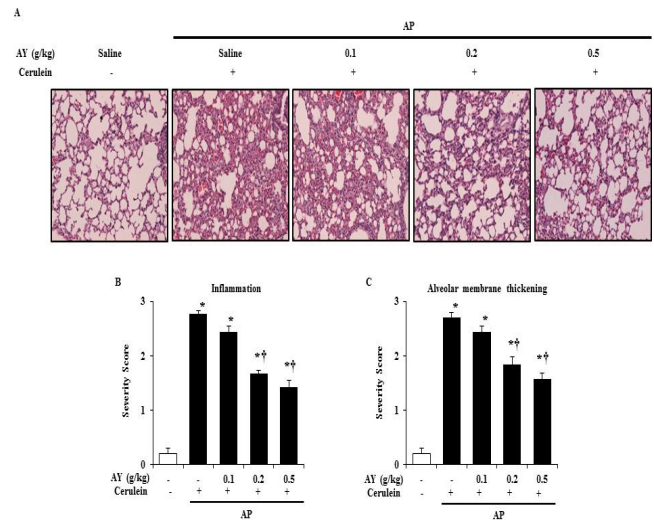


Fig. 6. Effects of AY ethanol extract on lung histology during cerulein-induced acute pancreatitis. Mice were pre-treated with AY ethanol extract (0.1, 0.2, and 0.5 g/kg) for 1 week before acute pancreatitis induction. Mice were sacrificed 6 h after completion of the cerulein injections, then the lung was harvested. (A) 100x magnification of representative hematoxylin and eosin (H&E)-stained sections of lung. Histological scores for (B) inflammation and (C) alveolar membrane thickening. Data show the mean±S.E. for 5 mice for each group. The results were similar in 3 additional experiments. Significant difference *P < 0.05 vs. saline-treated group or †P < 0.05 vs cerulein treatment alone.

고찰

급성췌장염은 다양한 원인으로 발병하며, 식욕저하, 미열 등과 같이 증상이 비교적 경미하게 나타나기도 하지만 구토, 저혈압, 극심한 복부통증, 췌장의 괴사 또는 출혈과 같이 심각한 증상이 나타나기도 하는 등 다양한 병리학적 양상을 보인다¹⁸⁾. 급성췌장염이 발병하게 되면 췌장내 부종, 선방세포 괴사, 호중구 침윤, 출혈, 소화효소 활성화 및 전염증성 사이토카인 등의 증가가 발생한다고 알려져 있다¹⁹⁻²²⁾. 급성췌장염의 치료약물은 단백질 분해 억제제로 Gabexate mesilate가 대표적인 약물로 현재 사용되고 있다²³⁾. 하지만 그 효능이 소화효소의 활성억제에 그치기 때문에 동반되는 염증 반응을 조절하지 못하는 한계점이 있어 임상적으로도 제한된 치료 방법이라고 할 수 있다. 따라서 소화효소의 활성을 억제함과 동시에 염증반응도 조절할 수 있는 치료제의 개발이 필요한 실정이다.

한의학 문헌을 참고하여보면 급성췌장염에 대한 명확하고 구체적인 기록은 되어있지 않지만, 환자의 증상이나 변증의 유사한 근거로 비교해 보았을 때心痛, 脾心痛, 胃脘痛, 結胸, 脇腹痛 등이 췌장염과 유사한 증상이라고 판단할 수 있다²⁴⁾. 췌장염은 소화효소

가 포함된 담즙의 정체 및 분비이상으로 발생하는 질병이기 때문에 췌부쟁이의 祛痰효능이 췌장염에 효과가 있을 것이라고 판단하였다. 또한, 췌부쟁이의 선행연구중 항염증에 관한 보고가 있기 때문에 염증조절에도 관여할 것이라 판단하였다^{25,26}. 따라서 본 실험에서는 췌부쟁이가 급성췌장염에 모델에 효과가 있는지를 규명하기 위해 실험을 진행하였다.

본 연구에서 급성췌장염 유도를 위해 사용한 cerulein은 cholecystokinin (CCK) 유사물질로 췌장 선방세포의 소화효소 활성을 촉진시킴으로써 선방세포 손상을 야기하고 이로 인해 인터루킨과 사이토카인 등 염증성 사이토카인이 분비됨으로써 췌장염을 유발시킨다²⁷⁻²⁹. 또한, cerulein을 이용한 급성췌장염 모델은 사람의 췌장염과 유사성이 높고 재현성이 뛰어나기 때문에 많이 사용하는 방법이다³⁰. 따라서 본 연구에서는 cerulein으로 유도한 췌장염 모델을 사용하여 췌부쟁이 에탄올 추출물의 효능을 실험하였다.

췌부쟁이 에탄올 추출물이 급성췌장염 유발 시 발생하는 췌장 조직의 손상에 대해 보호 효과를 가지는지 조사하기 위하여 조직학적 형태를 관찰할 수 있는 H&E Staining을 진행하였다. 급성췌장염이 유발되면 췌장 조직의 부종, 염증세포 유입, 공포 및 괴사가 발생하여 조직 손상이 일어나게 된다³¹. Cerulein으로 인한 급성췌장염 유발군에서는 췌장조직의 손상이 관찰되었지만, 췌부쟁이 에탄올 추출물 투여군에서는 췌장 조직의 손상이 개선됨을 확인하였다. 이는 췌부쟁이 에탄올 추출물이 췌장 조직 손상에 보호 효과가 있음을 제시한다.

급성췌장염이 유발되면 췌장에 부종이 발생하여 췌장의 무게가 증가하게 됨으로 몸무게에 대한 췌장의 비율이 높아지게 된다³². 따라서 이는 췌장염의 염증을 측정하는 지표 중 하나로써 사용되고 있다. 본 연구에서 췌부쟁이 에탄올 추출물은 급성췌장염 유발시 발생하는 몸무게에 대한 췌장 비율을 감소시켰으며, 이는 급성췌장염 시 증가하는 췌장의 부종을 감소시키는 효과가 있다는 것을 암시한다.

소화효소인 혈청 amylase와 lipase 또한 급성췌장염이 발생할 경우 증가하는 것으로 알려져 있다^{33,34}. 본 연구를 통해 췌부쟁이 에탄올 추출물을 투여한 군은 cerulein을 투여한 군과 비교하여 혈청 amylase와 lipase 수치가 유의성 있게 억제하는 것을 확인하였다.

최근에는 췌장 포상세포의 손상된 후 활성화된 췌장내 대식세포가 조직손상에 대한 반응으로 proinflammatory cytokine인 interleukin(IL)-1, IL-6, tumor necrosis factor(TNF- α)을 분비를 증가시키며 이들 세포활성물질이 염증세포의 순환, 췌장부종 및 췌장실질파괴에 결정적인 역할을 하는 것으로 밝혀졌다^{33,34}. 일반적으로 cytokine은 림프구와 대식세포 등의 면역세포 및 여러 장기의 상피세포에서 분비되는 단백질로서 국소 및 전신적 염증반응에 대한 체내 면역반응의 조절에 중요한 역할을 하나 세포활성물질이 자극에 의해 과다하게 지속적으로 생성되는 경우 조직손상을 유발하게 된다. 이와 같은 기전으로 급성췌장염에서 백혈구의 과다한 활성화에 의해 생성된 세포활성물질들은 췌장내 모세혈관의 투과성을 증진시키고 백혈구의 내피세포내 유착 및 혈관의 유출(extravasation)을 유도하고, 또한 단백질 대사에 영향을 주어 췌

장의 파괴를 촉진하고 지속시키는 역할을 담당하고 있다. 최근 연구 보고에 의하면 급성췌장염에서 NF- κ B가 활성화되면 염증성 사이토카인들이 유도된다는 보고가 있다³⁵. 저자는 췌부쟁이에서 급성 췌장염 억제 효과를 확인하기 위해 염증성 사이토카인을 측정할 결과 췌부쟁이 에탄올 추출물을 전 처리한 군에서는 IL-1 β , IL-6, TNF- α 의 수치가 유의하게 감소한다는 것을 보여 주었다. 이러한 결과는 췌부쟁이가 NF- κ B를 억제하여 염증성 사이토카인을 억제하는 것으로 예상된다. 그 이유는 LPS로 자극한 대식세포에서 췌부쟁이가 NF- κ B를 억제하여 항염증 효과를 나타낸다는 보고들이 있기 때문이다^{33,34}.

호중구는 염증이 발생한 부위로 이동하는데, 염증에 가장 먼저 반응하는 세포이다³⁶. 급성췌장염 유발 시 췌장에 호중구 유입이 급속히 증가하게 되는데 MPO수치를 통해 호중구 유입도를 측정할 수 있다. 실험결과 췌부쟁이 에탄올 추출물은 급성췌장염으로 인한 췌장의 MPO 수치 증가를 감소시켰다. 이는 췌부쟁이 에탄올 추출물이 호중구의 유입을 억제함으로써 췌장의 염증반응 및 손상을 개선하였음을 의미하는 바이다.

급성췌장염의 경우 다양한 합병증을 동반한다고 알려져 있으며, 특히 폐와 관련한 병변인 급성호흡부전이나 급성 폐기능 부전 등을 흔히 동반하는 것으로 알려져 있다³⁸. 이러한 췌장염과 관련된 폐 병변의 과정은 초기에 폐 조직내로 호중구의 유입 및 침착이 증가되고, 이로 인해 폐포 내피세포가 손상을 받으며 이러한 결과로 혈관 투과성이 증가됨으로써 부종이 발생하는 것으로 알려져 있다³⁷. 따라서 본 연구에서는 급성췌장염 유발시 폐의 손상여부를 관찰하기 위하여 폐의 조직적 관찰을 수행하였다. 급성췌장염을 유발하게 되면 폐 세포의 손상, 염증성 세포의 침윤이 증가하는 것을 관찰하였지만, 췌부쟁이 에탄올 추출물 투여로 인해 이러한 폐 조직의 손상이 억제됨을 관찰하였다. 이는 췌부쟁이 에탄올 추출물이 급성췌장염 유발시 발생하는 폐 조직 손상에 대해서도 보호 효과가 있음을 의미한다.

이와 같은 결과를 토대로, 췌부쟁이 에탄올 추출물은 cerulein으로 유도한 급성췌장염에서 췌장의 손상을 억제하였고, 췌장의 중량/체중 비율 감소, 소화효소 분비 억제, 호중구의 침윤 억제 및 염증성 사이토카인 분비를 억제함으로써 췌장염 보호에 효과적인 약물임을 확인하였다. 더불어 췌장염으로 인한 폐 손상의 합병증에도 유의한 효과가 있음을 확인하였다. 따라서 췌부쟁이가 급성췌장염 예방 및 치료제로서의 가능성이 있는 물질이라는 것으로 판단된다.

결 론

본 연구를 토대로 급성췌장염에 대한 췌부쟁이 에탄올 추출물의 개선효과를 알아보기 위하여 cerulein으로 유도한 급성췌장염 모델에서 췌장의 중량/체중 비율, 조직학적 관찰, 혈청 amylase와 lipase 수치, 호중구 침윤도, 염증성 사이토카인 및 폐 조직손상을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

췌부쟁이 에탄올 추출물 투여군은 췌장염 유발군과 비교하여 췌장과 폐 조직의 조직학적 손상을 통계학적으로 유의성 있게 억제하는 것을 확인하였다.

쑥부쟁이 에탄올 추출물 투여군은 췌장염 유발군과 비교하여 몸무게에 대한 췌장무게의 비율을 통계학적으로 유의성 있게 억제하는 것을 확인하였다.

쑥부쟁이 에탄올 추출물 투여군은 췌장염 유발군과 비교하여 혈청 amylase, lipase 활성을 통계학적으로 유의성 있게 억제하는 것을 확인하였다.

쑥부쟁이 에탄올 추출물 투여군은 췌장염 유발군과 비교하여 췌장의 호중구 침윤을 통계학적으로 유의성 있게 억제하는 것을 확인하였다.

쑥부쟁이 에탄올 추출물 투여군은 췌장염 유발군과 비교하여 염증성 사이토카인 분비를 통계학적으로 유의성 있게 억제하는 것을 확인하였다.

이와 같은 결과로 보아 쑥부쟁이 에탄올 추출물이 급성췌장염에 대한 개선 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2016년도 정부(농림축산식품부)의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 고부가가치식품기술개발사업(NO.116035-32-2-HD020) 및 2016년도 호남대학교 학술연구비 지원을 받아 수행되었다.

References

- Zhou MT, Chen CS, Chen BC, Zhang QY, Andersson R. Acute lung injury and ARDS in acute pancreatitis: mechanisms and potential intervention. *World J Gastroenterol.* 2010;16(17):2094-9.
- Andersson R, Andersson B, Haraldsen P, Drewsen G, Eckerwall G. Incidence, management and recurrence rate of acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol.* 2004;39(9):891-4.
- Kingsnorth A, O'Reilly D. Acute pancreatitis. *Br Med J.* 2006;332:1072-6.
- Steinberg W, Tenner S. Acute pancreatitis. *N Engl J Med.* 1994;330:1198-210.
- Pandol SJ, Saluja AK, Imrie CW, Banks PA. Acute pancreatitis: bench to the bedside. *Gastroenterology.* 2007;132(3):1127-51.
- Beger HG, Rau B, Isenmann R. Natural history of necrotizing pancreatitis. *Pancreatology.* 2003;3(2):93-101.
- Yoon YK, Ji JH, Mun BS. Hypertriglyceridemia-induced pancreatitis. *Korean J Gastroenterol.* 2008;51:309-13.
- Wang GJ, Gao CF, Wei D, Wang C, Ding SQ. Acute pancreatitis: Etiology and common pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2009;15:1427-30.
- Baron TH, Morgan DE. Acute necrotizing pancreatitis. *N Engl J Med.* 1999;340:1412-7.
- Ho HS, Frey CF. Gastrointestinal and pancreatic complications associated with severe pancreatitis. *Arch Surg.* 1995;130:817-22.
- Kapoor LD. *CRC handbook of ayurvedic medicinal plants.* Boca Raton: CRC Press; 1990.
- Yoon HR, Yook CS. Studies on the constituents of *Angelica gigas*. *Bull KH pharma Sci.* 1995;23:55-71.
- Jung BM, Lim SS, Park YJ, Bae SJ. Inhibitory effects on cell survival and quinone reductase induced activity of *Aster yomena* fractions on human cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutri.* 2005;34:8-12.
- Chon SU, Kim DI, Choi YS. Assessments on insecticidal and fungicidal activities by aerial part extracts from several compositae plants. *Kor J Weed Sci.* 2003;23:81-91.
- Kim MJ, Kim JH, Lee SH, Cho EJ, Kim HY. Determination of radical scavenging activity of *aster yomena*. *Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society.* 2018;19(9):402-7.
- Bae JS, Kim TH. Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *aster yomena* extract. *Kor J Herbology.* 2009;24(4):121-6.
- Lee HJ, Kim HS, Seo SW. Anti-obesity effect of *aster yomena* ethanol extract in high fat diet-induced obese mice. *J Physiol & Pathol Korean Med* 2017;31(6):348-55.
- Nissen SE, Wolski K, Topol EJ. Effect of muraglitazar on death and major adverse cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2005;294:2581-6.
- Bhatia M, Wong FL, Cao Y, et al. Pathophysiology of acute pancreatitis. *Pancreatology.* 2005;5(2-3):132-44.
- Regner S, Manjer J, Appelros S, Hjalmarsson C, Sadic J, Borgström A. Protease activation, pancreatic leakage, and inflammation in acute pancreatitis: differences between mild and severe cases and changes over the first three days. *Pancreatology.* 2008;8(6):600-7.
- Büchler MW, Gloor B, Müller CA, Friess H, Seiler CA, Uhl W. Acute necrotizing pancreatitis: treatment strategy according to the status of infection. *Ann Surg.* 2000;232(5):619-26.
- Rau BM, Krüger CM, Schilling MK. Anti-cytokine strategies in acute pancreatitis: pathophysiological insights and clinical implications. *Rocz Akad Med Białymst.* 2005;50:106-15.
- Kim SC, Yang HR. Clinical efficacy of gabexate mesilate for acute pancreatitis in children. *Eur J Pediatr.* 2013;172(11):1483-90.
- Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, et al. Glycemic

- index: Overview of implications in health and disease. *Am J clin Nutr.* 2002;76(1):266S-73S.
25. Kang HJ, Jeong JS, Park NJ, et al. An ethanol extract of *Aster yomena* (Kitam.) Honda inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine RAW 264.7 macrophages. *Biosci Trends.* 2017;11(1):85-94.
 26. Hwang KA, Hwang YJ, Song J. *Aster yomena* extract ameliorates pro-inflammatory immune response by suppressing NF- κ B activation in RAW 264.7 cells. *J Chin Med Assoc.* 2018;81(2):102-10.
 27. Kim TH, Bae Gs, Oh HJ, et al. 2',4',6'-Tris (methoxymethoxy) chalcone (TMMC) attenuates the severity of cerulein-induced acute pancreatitis and associated lung injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;301(4):694-706.
 28. Bae Gs, Kim MS, Park KC, et al. Effect of biologically active fraction of *Nardostachys jatamansi* on cerulein-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol.* 2012;18(25):3223-34.
 29. Cope O, Culver PJ, Mixter CG Jr, Nardi GL. Pancreatitis, a diagnostic clue to hyperparathyroidism. *Ann Surg.* 1957;145(6):857-63.
 30. Lee HS. Experimental animal models of pancreatic disease. *Kor J Gastroenterol seminar.* 2002:144-51.
 31. Granger J, Remick D. Acute pancreatitis: models, markers, nad mediators. *Shock.* 2005;24(1):45-51.
 32. Panteghini M, Pagani F, bonora R. Clinical and analytical evaluation of a continuous enzymatic methods for measuring pancreatic lipase activity. *Clin chem.* 1993;39(2):304-8.
 33. Jung WS, Chae YS, Kim DY, et al. *Gardenia jasminoides* protects against cerulein-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol.* 2008;14(40):6188-94.
 34. Heath DI, Cruickshank A, Gudgeon AM, Jehanli A, Shenkin A, Imrie CW. The relationship between pancreatic enzyme release and activation and the acute-phase protein response in patients with acute pancreatitis. *Pancreas.* 1995;10(4):347-53.
 35. Jaworek J, Szklarczyk J, Kot M, et al. Chemerin alleviates acute pancreatitis in the rat thorough modulation of NF- κ B signal. *Pancreatology.* 2019;19(3):401-8.
 36. Colgan SP, Ehrentraut SF, Glover LE, Kominsky DJ, Campbell EL. Contributions of neutrophils to resolution of mucosal inflammation. *Immunol Res.* 2013;55(1-3):75-82.
 37. Interiano B, Stuard ID, Hyde RW. Acute respiratory distress syndrome in pancreatitis. *Ann Int Med.* 1972;77:923-6.
 38. Guice KS, Oldham KT, Johnson KJ, Kunkel RG, Morganroth ML, Ward PA. Pancreatitis-induced acute lung injury, an ARDS model. *Ann Surg.* 1988;208(1):71-7.