

Levothyroxine으로 유발된 갑상선기능항진증 랫트에 대한 양격산화탕, 팔물군자탕 및 청폐사간탕의 효능 비교연구

김성태 · 최애련

대구한의대학교 한의과대학 사상체질과

Abstract

Comparison of Effects of *Yangkyuksanhwa-tang*, *Palmulgunja-tang* and *Cheongpyesagan-tang* on the Rat Hyperthyroidism Induced by Levothyroxine

Seong-Tae Kim, Ae-Ryun Choi

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany Univ.

Objectives

This study's object was to observe the comparative effects of *Yangkyuksanhwa-tang*, *Palmulgunja-tang* and *Cheongpyesagan-tang* on the chronic LT₄(levothyroxine) induced hyperthyroidism in rats.

Methods

Six groups, each of 8 rats in group, were used in this study. Saline and distilled water treated rats are intact control group. Hyperthyroidism was induced by daily subcutaneous LT₄ 300 µg/kg treatment for 27 days(LT₄ control). Since 12th LT₄ treatment PTU(propylthiouracil) 10 mg/kg was intraperitoneal injected(PTU group) and aqueous extracts of *Yangkyuksanhwa-tang*, *Palmulgunja-tang* and *Cheongpyesagan-tang*(YS, PG and CS) 500 mg/kg were orally administered(YS, PG, CS group), once a day for 15 days. The differences in the body, thyroid gland and epididymal fat pad weights, serum T₃(tri-iodothyronine), T₄(thyroxine), TSH(thyroid-stimulating hormone), thyroid gland and epididymal fat pad histopathology, liver weight, AST(aspartate aminotransferase), ALT(alanine aminotransferase) concentrations, hepatic lipid peroxidation, GSH(glutathione), SOD(superoxide dismutase), CAT(catalase) activities, liver histopathology were observed to evaluate effects on hyperthyroidism, liver damages and antioxidant effects.

Results

As results of LT₄ treatment, hyperthyroidism and related liver damages such as lower body, thyroid weights, higher serum T₃, T₄, AST, ALT levels, thinner follicular lining epithelium in thyroid glands were observed. However, these symptoms were inhibited by oral treatment of YS, PG and CS. As compared with PTU treatment, these herbal prescriptions showed lower overall efficacy on the hyperthyroidism, but YS showed more favorable effects on the hepatic antioxidant defense systems.

Conclusions

This results suggest that YS, PG and CS favorably control the LT₄ induced hyperthyroidism and related liver damages in rats through modulation of the hepatic antioxidative defense systems.

Key Words: *Yangkyuksanhwa-tang*, *Palmulgunja-tang*, *Cheongpyesagan-tang*, *Hyperthyroidism*, *Levothyroxine*.

Received May 24, 2016 Revised May 28, 2016 Accepted June 20, 2016

Corresponding Author Ae-Ryun Choi

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany Univ.

136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu, 42158, Republic of Korea

Tel: +82-53-770-2079 Fax: +82-53-764-0566 E-mail: kmdchoi@dhu.ac.kr

© The Society of Sasang Constitutional Medicine. All rights reserved. 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/>)

I. 緒論

갑상선기능항진증이란 다양한 원인에 의해 지속적으로 갑상선 호르몬이 합성 및 분비되는 갑상선 기능항진 상태를 말하며, 혈중 갑상선 호르몬이 증가하여 생리학적 이상이 나타나는 갑상선중독증과 같은 의미로 사용되기도 한다¹.

갑상선기능항진증은 증가된 식욕에도 불구하고 체중감소, 과다활동, 신경질적이고 급한 성미, 피로, 불면증, 집중력 장애, 미세한 진전, 빈맥, 심계항진, 다한증, 열불내성, 설사와 같이 인체의 전반적인 대사 항진 증상이 발생하여 환자의 삶의 질을 심각하게 저해한다².

우리나라에서 갑상선기능항진증은 2014년 기준 국민건강보험에 가입된 5,000만명 중에 23만명이 치료받을 정도로 흔한 질환으로, 50~59세가 가장 많이 이환되어 있으며 여자가 남자보다 2~3배 정도 더 많다³. 하지만 치료는 방사선 요오드법, 갑상선절제술, 항갑상선제 투여요법 등 갑상선호르몬의 과도한 생산을 조절하여 정상화시키는 대증 요법에 국한되어 있을 뿐이다. 아직까지 근본적인 치료방법이 없는 실정으로⁴, 최근 갑상선기능항진증 환자에 단독 혹은 양약과의 병행 투여로 우수한 효과^{5,6}를 보인 한의학적 치료에 대한 연구가 절실하다.

이에 저자는 갑상선기능항진증을 각 체질별로 소

양인은 胸膈熱證, 소음인은 鬱狂證, 태음인은 肝燥熱證으로 변증하였으며, 주치료법으로 淸熱을 선택하였다. 따라서 『東醫四象新編』⁷에서 淸熱藥으로 제시하고 있는 소양인의 양격산화탕, 소음인의 팔물군자탕, 태음인의 청폐사간탕이 갑상선기능항진증에 효과가 있을 것으로 판단하여, 대표적 항갑상선제인 Propylthiouracil(PTU)와 함께 Levothyroxine(LT4)로 갑상선기능항진증을 유발시킨 랫트로 그 효과를 비교, 평가하고자 하였다.

II. 研究方法

1. 재료

1) 양격산화탕, 팔물군자탕, 청폐사간탕 추출물 (이하YS, PG, CS)

본 실험에 사용된 약제는 제천한방약조(Jecheon, Korea)에서 구매한 것을 현미경하 관능검사를 거쳐 선정 및 사용하였으며, 양격산화탕, 팔물군자탕 및 청폐사간탕 각 1첩 분량의 구성은 Table 1-3과 같다. 각각 선정된 10첩 분량의 약제를 취하여 정제수 10 L로, 100℃에서 4시간 가열 추출한 뒤, 흡인 여과한 여과액을 감압 농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 동결 건조시켜, 각각 수율 16.82, 17.54 및 21.00%의 YS, PG 및

Table 1. Composition of *Yangkyuksanhwa-tang*(YS) Used in This Study

Herb name	Scientific name	Amounts (g)
生地黃	<i>Rebmannia glutinosa</i> (Gaertner) Liboschitz ex Steudel	8
忍冬藤	<i>Lonicera japonica</i> Thunberg	8
連翹	<i>Forsythia viridissima</i> Lindley	8
梔子	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	4
薄荷	<i>Mentha arvensis</i> Linne var. <i>piperascens</i> Malinvaud ex Holmes	4
知母	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	4
石膏	<i>Gypsum</i>	4
防風	<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schischkin	4
荊芥	<i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briquet	4
Total	9 types	48

Table 2. Composition of *Palmulgunja-tang*(PG) Used in This Study

Herb name	Scientific name	Amounts (g)
人蔘	<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	8
黃芪	<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	4
白朮	<i>Atractylodes macrocephala</i> Koidzumi	4
白芍藥	<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas	4
當歸	<i>Angelica gigas</i> Nakai	4
陳皮	<i>Citrus unshiu</i> Markovich	4
炙甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer	4
生薑	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	4
大棗	<i>Zizyphus jujuba</i> Miller var. <i>inermis</i> Rebder	4
Total	9 types	40

Table 3. Composition of *Cheongpyesagan-tang*(CS) Used in This Study

Herb name	Scientific name	Amounts (g)
葛根	<i>Pueraria lobata</i> Obwi	16
黃芩	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	8
藜蘆	<i>Angelica tenuissima</i> Nakai	8
蘿蔔子	<i>Raphanus sativus</i> Linne	4
桔梗	<i>Platycodon grandiflorum</i> A. De Candolle	4
升麻	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> Komarov	4
白芷	<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi	4
大黃	<i>Rheum palmatum</i> Linne	4
Total	8 types	52

CS를 얻어 실험에 사용하였다. YS, PG 및 CS는 -20℃의 냉장고에 보관 후 용매인 증류수에 100 mg/ml의 농도까지 연갈색 또는 갈색의 용액으로 용해하여 사용하였다.

2) 실험동물 및 사양관리

81 마리의 수컷 Sprague-Dawley 랫트(6주령, OrientBio, Seungnam, Korea)를 10일간의 순화과정을 거쳐 실험에 사용하였다. 순화과정 및 실험 전 기간 동안 온도(20~25℃)와 습도(30~35%)가 조절된 사육실에서 사육하였고, 명암 주기는 12시간 주기로 조절하였고, 사료(Samyang, Seoul, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다. 10일간 실험실 환경에 순화시킨 다음 체중이 일정한 랫트(평균 250.00 ± 10.55 g, 231~260 g)를 선정

하여 군당 8마리씩 총 48마리를 실험에 사용하였다. 이중 8마리는 정상 대조군으로 사용하였고, 40마리는 LT4를 투여하여 갑상선기능항진증을 유발한 뒤 8마리는 LT4 유발 대조군으로 나머지 32마리는 실험물질 투여군으로 사용하였다.

본 실험에서 모든 실험동물은 Guide for the Care and Use of Laboratory Animals⁸ 및 대구한의대학교 실험동물윤리위원회의 동물윤리 기준에 따라 취급하였으며, 사전승인(Approval No. DHU2015-025)하에 실험을 실시하였다.

2. 방법

1) 실험군 분류 및 약물의 투여

실험동물은 군당 8마리씩 6그룹으로 구분하였다.

LT4(Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, USA) 대신 생리식염수를 피하 투여한 뒤 멸균 증류수를 경구 투여한 정상 매체 대조군(intact control), LT4 투여시작 12일 후부터 멸균 증류수를 투여한 LT4 유발 대조군(LT4 control), LT4 투여시작 12일 후부터 PTU 10 mg/kg를 복강 투여한 실험군(PTU), LT4 투여시작 12일 후부터 각각 YS, PG, CS 500 mg/kg을 15일간 경구 투여한 실험군(YS, PG, CS)으로 구분하여 실험하였다.

YS, PG 및 CS는 각각 100 mg/ml의 농도로 멸균 증류수에 용해시켜 동물 체중 kg 당 5 ml의 용량으로 LT4 투여시작 12일 후부터, LT4 투여 30분 후, 매일 1회씩 15일간 금속제 zonde가 부착된 5 ml 주사기를 이용하여 강제 경구 투여 하였으며, PTU는 10 mg/ml 농도로 생리식염수에 용해시켜, 1 ml/kg의 용량으로 동일 기간 동안 복강 투여하였다. 정상 매체 및 LT4 대조군에서는 YS, PG 및 CS 대신 동일한 용량의 멸균 증류수만 경구 투여하였다. PTU의 투여 용량 10 mg/kg 역시 이전의 문헌들⁹을 토대로 하여 선정하였으며, YS, PG 및 CS의 투여 용량은 이전 독성^{10,11} 및 실험적 연구¹²를 바탕으로 독성이 없는 범위 안에서 고용량인 500 mg/kg으로 선정하였다 (Figure 1).

2) 갑상선기능항진증 유발

LT4를 300 µg/ml의 농도로 생리 식염수에 용해시켜, 실험동물 체중 kg 당 1 ml의 용량으로 매일 1회씩 27일간 등 쪽의 경부 피하에 주사하여, 갑상선기능항진증을 유발하였다. 정상 매체 대조군에서는 LT4 대

신 동일한 용량의 생리 식염수를 동일한 방법과 기간 동안 투여하였다. 실험 약물과 동시 투여 시, LT4 및 동일한 용량의 생리식염수 피하 투여는 실험 약물 투여 30분전에 실시하였다 (Figure 1).

3) 체중 측정

모든 실험동물의 체중은 LT4 초회 투여 1일전, 초회 투여일, 초회 투여 후 6, 11, 12, 17, 22, 26 및 27(최종 희생일)일에 LT4 투여 30분 전인 오전 9~10시 사이에 automatic electronic balance(Precisa Instrument, Zuerich, Switzland)를 이용하여 측정하였다. 모든 실험동물은 사료섭취에 따른 체중 변화를 최소화하고자 LT4 및 후보물질 초회 투여일, 최종 희생일 전 18시간 이상 절식시켰으며, 실험 시작 시의 개체 차이로 인한 체중 변화를 최소화하고자 LT4 전투여기간(LT4 초회 투여일~LT4 투여 12일 후, 12일), 실험약물 투여기간(실험 약물 초회 투여일~최종 희생일; 15일) 및 실험 전체기간(LT4 초회 투여일~최종 희생일; 27일)동안의 체중 변화량인 증체량을 각각 측정하였다.

4) 장기중량의 측정

최종 희생일에 모든 실험동물의 간, 좌측 갑상선 및 좌측 부고환 주위 지방을 적출분리한 다음 각각 중량을 측정하여, 절대 중량으로 하였으며, 체중 변화에 따른 이차적 변화를 최소화하고자 체중에 대한 절대 중량의 비율, 즉 상대 중량을 각각 산출하였다.

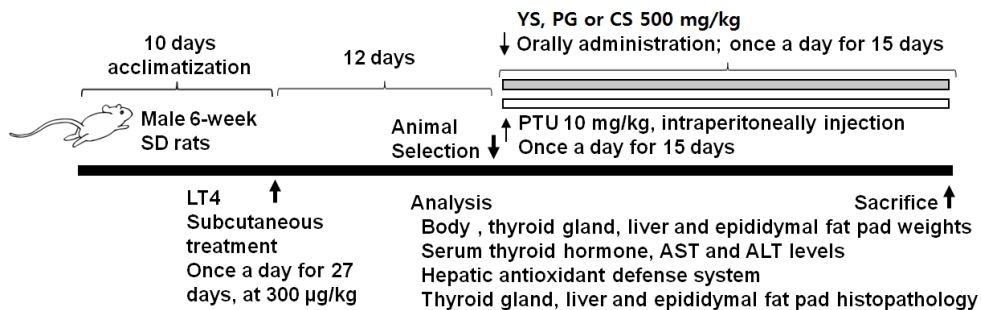


Figure 1. Experimental design used in this study

5) 혈중 갑상선 호르몬 함량의 측정

최종 희생일에 모든 실험동물을 18시간 이상 절식 후 후대정맥에서 각각 6 ml의 혈액을 채취하였으며, 상온에서 1시간 정도 방치한 다음 3,000 rpm으로 원심 분리하여 혈청을 분리하였고, 분석 전까지 -150°C 의 초저온냉장고(Sanyo, Tokyo, Japan)에 보관하였다. 분리한 혈청 중 tri-iodothyronine(T3), thyroxine(T4), thyroid-stimulating hormone(TSH)의 함량을 각각 commercial kit(DPC, Danville, CA, USA)를 사용하여, Gamma count Cobra II(Packard Co., Downers Grove, IL, USA)로 측정하였다.

6) 혈중 Aspartate Aminotransferase(AST) 및 Alanine Aminotransferase(ALT) 함량의 측정

분리된 혈청에서 자동혈액분석장치(Dri-chem NX500i, Fujifilm, Tokyo, Japan)를 이용하여 혈청 중 AST 및 ALT 함량을 각각 International unit (IU)/L 단위로 측정하였다.

7) 지질 과산화의 측정

적출한 간의 일부 조직을 얼음으로 냉각한 후 0.01 M Tris-HCl(pH 7.4)을 이용하여 homogenize 한 다음, $800 \times g$ 으로 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하고, 다시 $12,000 \times g$ 으로 15분간 원심분리하여, mitochondrial fraction(MF)을 준비하였다. 이후 단백질 함량은 bovine serum albumin(Invitrogen, Carlsbad CA, USA)을 standard로 이용하여 측정하였으며, 지질 과산화 정도는 2-thiobarbituric acid(Merck, San Francisco, CA, USA)를 이용하여, UV/VIS Spectrophotometer(OPTIZEN POP, Mecasys, Daejeon, Korea)로 525 nm에서 흡광도를 측정하여, nm/mg protein 단위로 malondialdehyde(MDA) 함량을 측정하였다.

8) 항산화 방어 system의 측정

준비된 MF homogenate를 25% trichloroacetic acid(Merck, San Francisco, CA, USA) 0.1 ml에 침전시킨

다음, 4°C 조건하에서 4,200 rpm으로 40분간 원심 분리하여 침전물을 제거하였다. 이후 상층액에서 5,5'-dithiobis(Sigma-Alrich, St. Louise, MO, USA)를 이용하여, UV/VIS spectrophotometer로 412 nm에서 흡광도를 측정하여, nm/mg tissue 단위로 glutathione(GSH) 함량을 측정하였다. H_2O_2 분해능을 이용하여 catalase(CAT) 활성을 흡광도 240 nm에서 측정하였다. 즉, pH 7.0, 온도 25°C 하에서 $1 \mu\text{M}$ 의 H_2O_2 를 분해하는데 필요한 CAT를 1 unit (U)로 정의하여, U/mg protein의 단위로 CAT의 활성을 평가하였고, superoxide dismutase(SOD) 활성은 nicotinamide adenine dinucleotide-phenazine methosulphate-nitroblue-tetrazolium(Sigma-Alrich, St. Louise, MO, USA)억제 반응을 변형 시킨 방법을 이용하여 평가하였으며, SOD 1 unit은 상온($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$)에서 1분 동안 formazan 형성을 50% 억제하는 농도로 정의하여 U/mg protein 단위로 측정하였다.

9) 조직병리학적 관찰

최종 희생일에 일부 갑상선, 간 및 부고환 주위 지방조직을 적출한 다음 세포로 절단하고, 10% 중성포르말린에 18시간 이상 고정시킨 후, 탈수를 거쳐 파라핀 포매 후 $4 \mu\text{m}$ 의 절편을 제작하였다. 이후 Hematoxylin & eosin(H&E)염색을 실시하고, 광학현미경 하에서 관찰하였으며, 갑상선 전체 두께($\mu\text{m}/\text{central regions}$), 평균 갑상선 여포 직경($\mu\text{m}/\text{follicle}$) 및 여포 lining 상피 두께($\mu\text{m}/\text{follicle}$)를 각각 computer based automated image analysis process(iSolution FL ver 9.1, IMT i-solution Inc., Vancouver, Quebec, Canada)를 이용하여 측정하였으며, 단위 면적당 간세포의 수 역시 image analysis process를 이용하여 nuclei numbers/ mm^2 단위로 산출하였고, 부고환 주위 지방세포의 평균 직경 역시 $\mu\text{m}/\text{adipoocyte}$ 단위로 산출하였다.

10) 통계처리

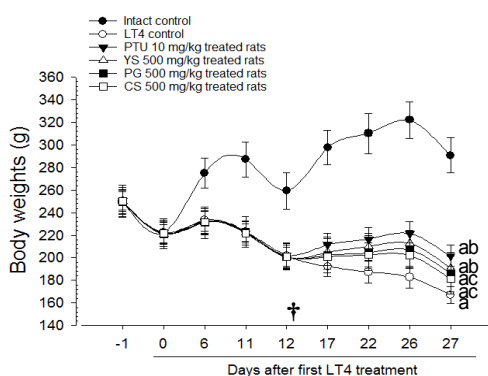
모든 수치는 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였고, 다중비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였으며, Levene

test를 통해 분산동질성을 검증 하였다. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 least-significant differences(LSD) test로 사후 검증을 실시하여 군 간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우, Mann-Whitney U(MW) test를 실시하여 군 간의 유의성을 검증하였다. 모든 통계처리는 SPSS(SPSS for Windows, Release 14.0K, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평가하였으며, p-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

III. 結果

1. 체중의 변화

정상 매체 대조군에 비해 LT4 대조군에서는 LT4 투여 6일 후부터 체중이 유의성 있게($p<0.01$) 감소하기 시작하여, 12일간의 LT4 전투여기간, 15일간의 실험물질 투여기간 및 27일간의 실험 전체기간 동안의 증체량 역시 정상 매체 대조군에 비해 각각 유의성 있게($p<0.01$) 낮았다.



Values are expressed Mean $\pm$ SD of eight rats

* Treatment of test substance was initiated at 12 days after first LT4 treatment

^a $p<0.01$ as compared with intact vehicle control by MW test

^b $p<0.01$ or $p<0.05$ as compared with LT4 control by MW test

Figure 2. Body weight changes in intact vehicle or levothyroxine-treated rats

PTU, YS, PG 및 CS 투여군에서는 각각 투여시작, 5 또는 10일 후부터 LT4 대조군에 비해 유의성 있게($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 체중이 증가하기 시작하여, 15일간의 실험물질 투여기간 및 27일간의 실험 전체 기간 동안의 증체량이 LT4 대조군에 비해 유의성 있게($p<0.01$) 높았고, PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 LT4에 의한 체중 감소가 유의성 있게($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 억제되었다 (Figure 2).

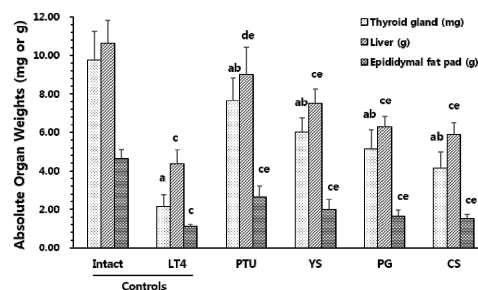
2. 장기증량의 차이

1) 갑상선 중량

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 현저한 갑상선 위축이 나타나, 절대 및 상대 갑상선 중량이 유의성 있게($p<0.01$) 낮았으나, 모든 실험물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 절대 및 상대 갑상선 중량이 PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 유의성 있게($p<0.01$) 높았다 (Figure 3, 4).

2) 간 중량

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 절대 및 상대 간 중량이 유의성 있게($p<0.01$) 낮았으나, 모든 실험물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 절대



Values are expressed Mean $\pm$ SD of eight rats

^a $p<0.01$ as compared with intact vehicle control by LSD test

^b $p<0.01$ as compared with LT4 control by LSD test

^c $p<0.01$ and ^d $p<0.05$ as compared with intact vehicle control by MW test

^e $p<0.01$ as compared with LT4 control by MW test

Figure 3. Absolute organ weights in intact vehicle or levothyroxine-treated rats

및 상대 간 중량이 PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 유의성 있게($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 높았다 (Figure 3, 4).

3) 부고환 주위 축적 지방 중량

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 절대 및 상대 부고환 주위 축적 지방 중량이 유의성 있게

($p<0.01$) 현저히 낮았으나, 모든 실험물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 절대 및 상대 부고환 주위 축적 지방 중량이 PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 유의성 있게($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 현저히 높았다 (Figure 3, 4).

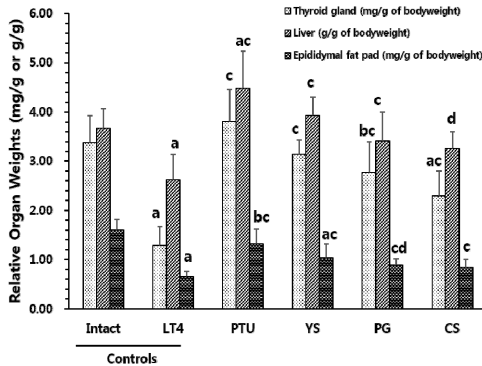
3. 혈중 갑상선 호르몬 함량의 차이

1) 혈중 TSH 함량

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 혈중 TSH 함량이 유의성 있게($p<0.01$) 낮았으나, 모든 실험 물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 혈중 TSH 함량이 PTU, YS, CS = PG 투여군 순으로 유의성 있게 ($p<0.01$) 높았다 (Table 4).

2) 혈중 T3 함량

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 혈중 T3 함량이 유의성 있게($p<0.01$) 높았으나, 모든 실험 물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 혈중 T3 함량이 PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 유의성 있게 ($p<0.01$) 낮았다 (Table 4).



Values are expressed Mean±SD of eight rats

^a $p<0.01$ and ^b $p<0.05$ as compared with intact vehicle control by LSD test

^c $p<0.01$ and ^d $p<0.05$ as compared with LT4 control by LSD test

Figure 4. Relative organ weights in intact vehicle or levothyroxine-treated rats

Table 4. Serum Thyroid Hormone Levels in Intact Vehicle or Levothyroxine-treated Rats

Hormones Groups	Serum thyroid hormone levels		
	TSH (ng/ml)	T3 (ng/ml)	T4 (μg/ml)
Controls			
Intact vehicle	1.66±0.18	0.48±0.22	46.39±12.38
LT4	0.66±0.11 ^a	1.69±0.17 ^a	162.71±30.91 ^c
Treated materials			
PTU	1.35±0.16 ^{a,b}	0.79±0.15 ^{a,b}	76.64±10.20 ^{c,d}
YS	1.23±0.20 ^{a,b}	0.89±0.25 ^{a,b}	92.77±12.49 ^{c,d}
PG	1.07±0.17 ^{a,b}	1.14±0.20 ^{a,b}	110.71±10.03 ^{c,d}
CS	1.07±0.22 ^{a,b}	1.26±0.09 ^{a,b}	124.40±8.88 ^{c,e}

LT4: Levothyroxine, PTU: propylthiouracil, YS: YangKyuksanhwa-tang, PG: palmulgunja-tang, CS: cheongpyesagan-tang, TSH: thyroid-stimulating hormone, T3: tri-iodothyronine, T4: thyroxine.

Values are expressed Mean±SD of eight rats

^a $p<0.01$ as compared with intact vehicle control by LSD test

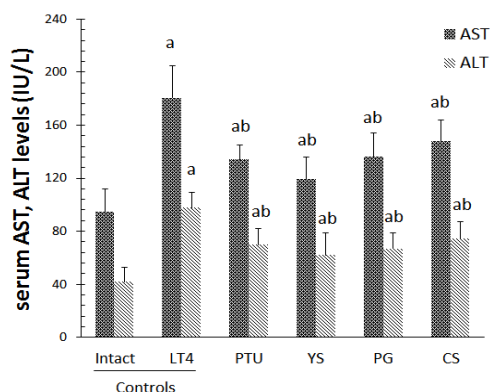
^b $p<0.01$ as compared with LT4 control by LSD test

^c $p<0.01$ as compared with intact vehicle control by MW test

^d $p<0.01$ and ^e $p<0.05$ as compared with LT4 control by MW test

3) 혈중 T4 함량

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 혈중 T4 함량이 유의성 있게($p<0.01$) 높았으나, 모든 실험 물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 혈중 T4 함량이 PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 유의성 있게($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 낮았다 (Table 4).



Values are expressed Mean±SD of eight rats

^a $p<0.01$ as compared with intact vehicle control by LSD test

^b $p<0.01$ as compared with LT4 control by LSD test

Figure 5. Serum AST, ALT levels in intact vehicle or levothyroxine-treated rats

4. 혈중 AST 및 ALT 함량의 차이

1) 혈중 AST 함량

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 혈중 AST 함량이 유의성 있게($p<0.01$) 높았으나, 모든 실험 물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 혈중 AST 함량이 YS, PTU, PG, CS 투여군 순으로 유의성 있게($p<0.01$) 낮았다 (Figure 5).

2) 혈중 ALT 함량

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 혈중 ALT 함량이 유의성 있게($p<0.01$) 높았으나, 모든 실험 물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 혈중 ALT 함량이 YS, PG, PTU, CS 투여군 순으로 유의성 있게($p<0.01$) 낮았다 (Figure 5).

5. 간 조직내 지질과산화 및 항산화 방어 system의 차이

1) 간 조직내 지질 과산화, MDA 함량

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 조직

Table 5. Hepatic Lipid Peroxidation and Antioxidant Defense Systems in Intact Vehicle or Levothyroxine-treated Rats

Groups	Items	Hepatic antioxidant defense systems			
		Hepatic lipid peroxidation	Glutathione	Superoxide dismutase	Catalase
		(nmol/mg protein)	(μ mol/mg protein)	(U/mg protein)	(U/mg protein)
Controls					
Intact vehicle		1.48±0.32	29.36±3.29	19.27±5.26	19.58±3.35
LT4		3.74±0.75 ^d	11.85±3.07 ^a	45.92±11.84 ^a	37.43±2.60 ^a
Treated materials					
PTU		2.17±0.43 ^{d,f}	19.17±2.48 ^{a,c}	26.11±5.10 ^{b,c}	25.22±3.49 ^{a,c}
YS		1.80±0.14 ^{c,f}	22.48±5.53 ^{a,c}	21.33±5.58 ^c	21.53±2.44 ^a
PG		2.16±0.46 ^{d,f}	19.15±2.79 ^{a,c}	26.09±5.63 ^{b,c}	25.08±4.23 ^{a,c}
CS		2.41±0.62 ^{d,f}	16.88±1.93 ^{a,c}	30.44±2.25 ^{a,c}	28.97±3.28 ^{a,c}

LT4: Levothyroxine, PTU: propylthiouracil, YS: Yang Kyuksanhwa-tang, PG: palmulgunja-tang, CS: cheongpyesagan-tang.

Values are expressed Mean±SD of eight rats

^a $p<0.01$ and ^b $p<0.05$ as compared with intact vehicle control by LSD test

^c $p<0.01$ as compared with LT4 control by LSD test

^d $p<0.01$ and ^e $p<0.05$ as compared with intact vehicle control by MW test

^f $p<0.01$ as compared with LT4 control by MW test

내 지질 과산화의 증가, 즉 MDA 함량이 유의성 있게 ($p<0.01$) 높았으나, 모든 실험물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 MDA 함량이 YS, PG, PTU, CS 투여군 순으로 유의성 있게($p<0.01$) 낮았다 (Table 5).

2) 간 조직내 GSH 함량

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 간 조직내 내인성 항산화제인 GSH 함량이 유의성 있게 ($p<0.01$) 낮았으나, 모든 실험물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 GSH 함량이 YS, PTU = PG, CS 투여군 순으로 유의성 있게($p<0.01$) 높았다 (Table 5).

3) 간 조직내 SOD 활성도

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 간 조직내 내인성 항산화 효소인 SOD의 활성도가 유의성 있게($p<0.01$) 높았으나, 모든 실험물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 SOD의 활성도가 YS, PG = PTU, CS 투여군 순으로 유의성 있게($p<0.01$) 낮았다 (Table 5).

4) 간 조직내 CAT 활성도

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 간 조

직내 내인성 항산화 효소인 CAT의 활성도가 유의성 있게($p<0.01$) 높았으나, 모든 실험물질 투여군에서는 각각 LT4 대조군에 비해 CAT의 활성도가 YS, PG = PTU, CS 투여군 순으로 유의성 있게($p<0.01$) 낮았다 (Table 5).

6. 조직병리학적 차이

1) 갑상선의 조직병리학적 차이

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 갑상선 전체 두께 및 평균 여포 상피 두께가 유의성 있게 ($p<0.01$) 얇았고, 평균 여포 직경이 유의성 있게 ($p<0.01$) 컸다. 이러한 갑상선 조직 위축 소견이 모든 실험물질 투여군에서 억제되었다. 즉, LT4 대조군에 비해 PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 갑상선 전체 두께 및 여포 lining 상피 두께가 유의성 있게($p<0.01$) 두꺼웠고, 평균 갑상선 여포 직경이 유의성 있게 ($p<0.01$) 작았다 (Table 6).

2) 간의 조직병리학적 차이

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 현저한 간세포 증생에 의한 sinusoid의 감소 소견이 나타났고, 단위 면적당 간세포의 수가 유의성 있게($p<0.01$) 높았으나, 이러한 LT4 투여에 의한 간세포의 증생 소

Table 6. Histomorphometry of the Thyroid Glands in Intact Vehicle or Levothyroxine-treated Rats

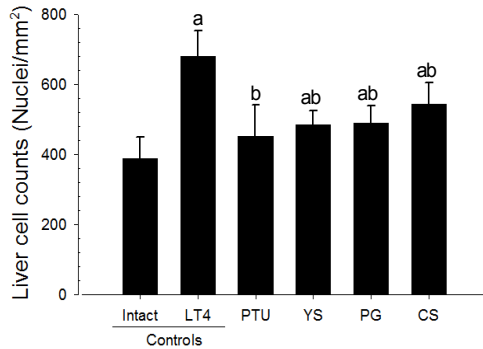
Items	Histomorphometry on the thyroid glands (at sacrifice)		
	Total thickness (μm /central region)	Mean follicular epithelium thickness (μm /follicle)	Mean follicular thickness (μm /follicle)
Controls			
Intact vehicle	1661.23 $\pm$ 217.49	21.53 $\pm$ 2.63	48.12 $\pm$ 13.04
LT4	626.95 $\pm$ 150.25 ^a	5.31 $\pm$ 1.30 ^a	118.22 $\pm$ 18.67 ^a
Treated materials			
PTU	1225.36 $\pm$ 210.05 ^{a,c}	13.25 $\pm$ 2.46 ^{a,c}	64.21 $\pm$ 14.19 ^{bc}
YS	1170.64 $\pm$ 143.61 ^{a,c}	11.31 $\pm$ 1.67 ^{a,c}	71.33 $\pm$ 11.47 ^{ac}
PG	1112.66 $\pm$ 149.59 ^{a,c}	9.71 $\pm$ 1.04 ^{a,c}	89.13 $\pm$ 10.72 ^{ac}
CS	1034.22 $\pm$ 147.39 ^{a,c}	8.76 $\pm$ 1.74 ^{a,c}	93.94 $\pm$ 9.48 ^{ac}

LT4: Levothyroxine, PTU: propylthiouracil, YS: Yang Kyuksanhwa-tang, PG: palmulgunja-tang, CS: cheongpyesagan-tang.

Values are expressed Mean $\pm$ SD of eight rats

^a $p<0.01$ and ^b $p<0.05$ as compared with intact vehicle control by LSD test

^c $p<0.01$ as compared with LT4 control by LSD test

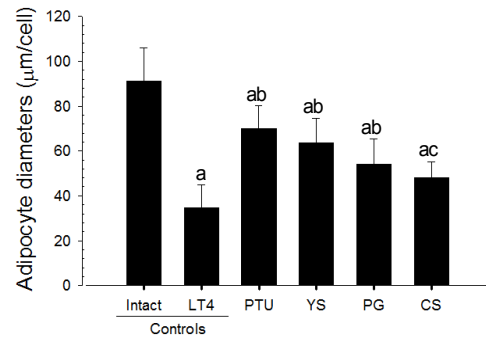


Values are expressed Mean±SD of eight rats

^ap<0.01 as compared with intact vehicle control by LSD test

^bp<0.01 as compared with LT4 control by LSD test

Figure 6. Liver cell counts in intact vehicle or levothyroxine-treated rats



Values are expressed Mean±SD of eight rats

^ap<0.01 as compared with intact vehicle control by LSD test

^bp<0.01 and ^cp<0.05 as compared with LT4 control by LSD test

Figure 7. Mean diameters of epididymal adipocytes in intact vehicle or levothyroxine-treated rats

견이 모든 실험물질 투여군에서 억제되었다. 즉, LT4 대조군에 비해 PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 단위 면적당 간세포의 수가 유의성 있게($p<0.01$) 낮았다 (Figure 6).

3) 부고환 주위 축적 지방의 조직병리학적 차이

LT4 대조군에서는 정상 매체 대조군에 비해 현저한 부고환 주위 축적 지방 조직의 위축 소견이 나타나, 평균 지방세포 직경이 유의성 있게($p<0.01$) 작았으나, 이러한 LT4 투여에 의한 부고환 주위 축적 지방의 위축소견이 모든 실험물질 투여군에서 억제되었다. 즉, LT4 대조군에 비해 PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 평균 부고환 주위 지방세포 직경이 유의성 있게 ($p<0.01$) 컸다 (Figure 7).

IV. 考 察

현재까지 갑상선기능항진증에 대한 四象醫學의 연구로는 Yi 등⁵과 Lee 등¹³이 갑상선기능항진증으로 진단된 소양인 환자를 양격산화탕으로 치료한 증례 보고와 Lee 등¹⁴이 그레이브스 병으로 진단된 소음인 환자를 팔물군자탕으로 치료한 증례 보고가 있으며,

Choi 등¹⁵이 체질별 갑상선 호르몬을 비교한 연구가 있다. 이 외 韓醫學의 연구로 Chang 등¹⁶이 갑상선중독증 유발 백서에 현상갑상항방의 투여량을 달리하여 효과를 관찰한 연구가 있으나 기존 항갑상선제와의 비교나 관련 장기 손상 및 항산화효과에 대한 관찰이 없으며, Kim¹⁷이 갑상선기능항진증 유발 백서에 억간산과 PTU의 효과를 비교하여 본 연구 방법과 유사하나, 사상체질별로 약물을 달리하여 PTU와 효과를 비교한 것은 본 연구가 처음이다.

본 연구에서는 갑상선기능항진증을 체질별로 소양인은 胸膈熱證, 소음인은 鬱狂證, 태음인은 肝燥熱證으로 변증한 후 각 증에 사용되는 약물인 양격산화탕, 팔물군자탕 및 청폐사간탕¹⁸이 갑상선기능항진증에 효과가 있을 것으로 생각하여, 대표적 항갑상선제인 PTU와 함께 LT4로 유발된 갑상선기능항진증 랫트에 미치는 영향을 관찰하였다.

『東醫壽世保元』¹⁸「少陽人 胃受熱裏熱病論」에서 胸膈熱證의 병리로 平心定思하면 陽氣가 위쪽으로 올라가 頭面四肢에 충족하니 이것이 元氣요 淸陽이며, 勞心焦思하면 陽氣가 아래로 떨어져 頭面四肢에 鬱熱되니 이것이 火氣요 耗陽이라 하였다. 치료는 淸裏熱 및 補眞陰하여 腎局의 淸陽을 상승시키는 방법을 사용하였으며, 양격산화탕을 대표

적인 처방으로 사용하였다. 양격산화탕에 대해 현재 까지 실험적 및 임상적으로 항동맥경화 효능¹⁹, 항 스트레스 효과²⁰, 항염²¹ 및 면역 활성 효과²² 등이 보고되어 있다.

팔물군자탕은 『東醫壽世保元』¹⁸에 처음 수록된 처방으로 少陰人 腎受熱表熱病에서 表熱이 상승하지 못하고 鬱滯되어 생긴 腎陽困熱로 기운의 소통이 원활하지 않은 상황에서, 回陽生津하고 升陽益氣 작용을 하여 少陰人의 中風, 癱瘓, 鬱狂證, 上消, 下消, 虛勞 등 여러 가지 병증에 폭넓게 응용되는 처방이다. 현재까지 그레이브스병에 대한 치료 효과¹⁴, 생식 기능 강화 효과²³ 및 간 보호 효과²⁴ 등이 보고되어 있다.

청폐사간탕은 『東醫壽世保元』¹⁸에 처방명은 기록되어 있지 않고 太陰人 肝燥熱證에서 熱多寒小湯 加大黃의 형태로 사용되다가 『東醫四象新編』⁷에 처음 언급되었다. 太陰人 肝燥熱證은 侈樂無厭 및 慾火外馳로 인해 肝熱太盛하고 肺燥太枯하여 발생하는 병증으로 飲一洩二한 消渴病, 手指焦黑 斑瘡病, 虛勞夢泄證 등이 肝燥熱證의 범주에 속한다. 현대 임상에서는 태음인 중풍에 응용하고 있으며²⁵, 대장암에 대한 양약 (CPT-11)과의 병용에 따른 항암 효과²⁶, 대사증후군 개선 효과²⁷ 등 다양한 약리 효과가 잘 알려져 있다.

PTU는 갑상선 기능을 억제하는 대표적인 항갑상선제로, tyrosine과 iodine의 결합을 억제하여 T4의 합성을 차단하고, 말초 장기에서 T4의 T3로의 전환 역시 억제하므로, 현재 갑상선기능항진증에 가장 널리 사용되는 치료 약물 중 하나이다. 갑상선기능항진증 치료제 개발에 있어 대조 약물로 흔히 사용되고, LT4 유발 랫트 및 마우스 갑상선기능항진증에서의 항산화 효과 역시 비교적 잘 알려져 있다²⁸.

갑상선 호르몬은 대표적인 이화성 호르몬으로, 갑상선호르몬 분비의 증가는 신체 대사를 증가시키고, 조직내 에너지를 소모하여 갑상선기능항진증시 원인에 상관없이 현저한 체중의 감소가 초래되는 것으로 알려져 있다²⁹. 본 실험에서도, LT4 대조군에서 체중과

증체량 모두 유의성 있게 낮았고, 육안 및 조직병리학 적 검사에서 부고환 주위 축적 지방의 현저한 감소와 지방세포 위축 소견이 나타났다. 이러한 체중 및 축적 지방의 소모가 PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 현저히 억제되었다 (Figure 2, 3, 4, 7). 따라서 YS, PG 및 CS는 각각 LT4 투여 갑상선기능항진증시 유발되는 체중 및 축적 지방의 감소를 효과적으로 억제하는 것으로 판단되며, LT4로 초래되는 신체 전반의 장기 손상을 어느 정도 보호하는 것으로 보여, 추후 다양한 장기에 대한 이들 처방의 보호 효과 평가가 필요하다고 생각된다.

갑상선기능항진증의 기전은 명확히 알려져 있지 않지만, 현재까지는 자가면역질환의 일종으로 인식되고 있다. 이러한 갑상선기능항진증은 방사능 요오드 섭취율의 증가, 기초 대사율의 증가, TSH 감소, T3와 T4, T3-uptake 증가 등으로 진단할 수 있다³⁰. 본 실험에서도 LT4 투여군에서는 TSH 함량이 현저히 낮았고 T3, T4 함량이 절대적으로 높았으나, PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 TSH 함량이 높고 T3, T4 함량이 낮게 나타났다 (Table 4). 갑상선 조절에 있어 YS, PG 및 CS는 PTU보다 효과가 비교적 낮았으나, PTU와 유사한 기전으로 항산화 방어 시스템 활성화와 이를 통한 갑상선 여포세포 변화의 억제로 갑상선기능항진증에 유효한 효과를 나타낸 것으로 생각된다. 하지만 정확한 기전은 본 실험에서 알 수 없기에 다양한 기전 연구가 추후 수행되어야 할 것으로 판단된다.

설치류에서 LT4의 지속적인 투여로 사람과 유사한 갑상선기능항진증이 비교적 쉽게 유발되며, 현저한 갑상선 중량의 감소와 함께 조직병리학적으로 갑상선 여포 lining 상피의 두께 감소가 특징인 갑상선 위축 소견이 여포내 colloid 물질의 축적과 함께 나타난다⁹. 본 실험에서도 LT4 대조군에서 갑상선 중량이 현저히 낮았고 갑상선 위축 및 여포내 colloid 물질 축적 등의 조직 병리학적 변화가 나타났으나, PTU, YS, PG, CS 투여군 순으로 이러한 갑상선 위축이 억제되었다 (Table 6, Fig. 3, 4). 이러한 결과는 YS, PG 및 CS 중에서도 YS가 LT4에 의한 갑상선의 변화를 가장 효과적으로 억제하는 직접적인 증거로 판단된다.

간은 갑상선 호르몬의 영향을 받는 장기들 중 대표적인 장기로, 혈중 갑상선 호르몬의 균형이 맞지 않으면 심각한 간 손상이 나타나는 것으로 알려져 있다³¹. 한편 AST와 ALT는 간세포 내의 효소로, 혈청 중 이들 효소의 상승을 간 손상 평가지표로 활용하고 있으며, 갑상선기능항진증시에도 혈청 중 이들 효소의 함량이 현저히 상승한다³². 또한 조직병리학적으로 갑상선기능항진증시 간세포가 현저하게 증생하여 sinusoid 공간이 감소한다³³. 본 실험에서도 LT4 투여군에서 낮은 간 중량, 현저하게 높은 혈중 AST 및 ALT 함량, 높은 단위 면적당 간세포의 수와 같이 현저한 간 손상이 나타났다. 한편 PTU, YS, PG, CS 투여군에서는 간 중량이 높았고, 혈중 AST, ALT 함량 및 단위 면적당 간세포 수가 낮게 나타났다 (Figure 3, 4, 5, 6). 이러한 결과는 YS, PG, CS 중에서 YS가 LT4에 의한 갑상선기능항진증에 수반되는 간 손상을 가장 효과적으로 억제하는 증거로 판단된다.

기존에 양격산화당³⁴과 팔물군자탕²⁴이 cytochrome P450(CYP450) 효소의 활성을 억제하여 간을 보호한 효과와, 청폐사간탕³⁵이 carbon chloride(CCl₄)로 유발된 간 독성에 있어 간을 보호한 효과가 있었다. 본 실험에서도 갑상선기능항진증으로 유발된 간 손상에 있어 간 보호 효과를 나타내어, 이들 약물에 직접적인 간 보호 효과가 있을 것으로 판단되며, 추후 간 보호 효과에 대한 더 많은 기전 연구가 필요할 것으로 생각된다.

갑상선 기능항진증으로 인한 장기 손상은 주로 항산화 방어 시스템의 장애로 강력한 oxidative stress 물질이 축적되어 나타나고³⁶, 지방세포 역시 oxidative stress로 인해 현저하게 위축 및 감소하여, 전체적인 체중 감소가 나타나는 것으로 알려져 있다³⁷. 갑상선기능항진증시 초래되는 여러 가지 병태적 변화에 oxidative stress가 중요한 역할을 담당하며³³ 다양한 항산화제들로 이러한 갑상선기능항진증 및 관련된 여러 장기 손상들이 억제되어 왔다^{38,39}. MDA는 지질 과산화의 최종 산물로, 간 조직내 MDA 함량의 증가를 대표적인 지질 과산화 지표로 사용하여 왔으며, 갑상선기능항진증시에도 지질 과산화가 증가하여 간 조직내 MDA 함량이 증가한다⁴⁰. GSH, SOD 및 CAT는 대표적인 내인성 항산화제 및 항산화 효소로, 갑상선기능항진증시 조직내 GSH가 현저하게 감소하고, 과도하게 생산된 활성 산소를 제거하기 위해 SOD와 CAT의 활성은 증가되는 것으로 알려져 있다⁴⁰.

본 실험의 결과에서도 LT4 투여군에서는 간 조직내 MDA 함량이 현저하게 높았고, 내인성 항산화제인 GSH 함량이 낮았으며, 증가된 reactive oxygen species의 제거를 위해 SOD 및 CAT의 활성도가 높게 나타났으나, 모든 실험군에서는 LT4 대조군에 비해 간 지질 과산화, SOD 및 CAT 활성이 낮았고 GSH 함량이 높게 나타났다. 특히 MDA 함량이 YS, PG, PTU, CS 투여군 순으로 낮았고, 간 조직내 GSH 함량은 YS, PTU = PG, CS 투여군 순으로 높았으며, 간 조직내 SOD 및 CAT의 활성도는 YS, PG = PTU, CS 투여군 순으로 낮았다 (Table 5). 이러한 결과는 PTU와 유사하게 YS, PG, 및 CS의 항산화 효과를 통한 장기 보호 효과를 잘 나타내 주는 직접적인 결과로 판단된다. 이들 중 YS가 가장 강력한 항산화 효과를 나타내었으며, 특히 PTU보다 우수한 간 항산화 방어 시스템의 조절과 이를 통한 지질 과산화 감소를 나타내었다.

이상 YS, PG 및 CS는 항산화 효과를 통해 LT4 대조군에 비해서 유의한 갑상선호르몬 조절, 갑상선 위축 억제 및 간 보호 효과를 보였으며, 이는 갑상선기능항진증에 양격산화당과 팔물군자탕을 이용하여 좋은 결과를 얻은 기존 치험례³⁴와도 부합한다. 세 약물 모두 PTU에 비해 갑상선기능항진증에 대한 효과는 낮았으나 YS는 다른 두 약물에 비해 우수한 효과를 보였으며, 특히 갑상선기능항진증으로 유발된 간 손상과 항산화에 있어 YS는 PTU보다 우수한 효과를 보였다. 이러한 결과를 바탕으로 본 연구는 갑상선기능항진증의 임상 시험 및 임상진료에 있어 양격산화당, 팔물군자탕 및 청폐사간탕을 사용하는 근거로 활용되며 또한 갑상선기능항진증에 대한 四象醫學的 연구를 더욱 촉진시킬 것으로 기대된다.

YS, PG, 및 CS는 각각 수많은 생리활성 물질을 함유

하고 있어, 추후 구성 약제 각각에 대한 효능과 생리활성을 나타내는 화학성분의 검색 및 다양한 방법의 기본적인 연구가 필요할 것으로 판단되며, 임상에 이용 중인 四象醫學 각 체질과의 약효 상관관계 또한 세밀하게 검토해야 할 것으로 판단된다.

V. 結論

L-thyroxine으로 유발된 갑상선기능항진증 랫트를 이용하여 四象醫學에서 소양인의 胸膈熱證, 소음인의 鬱狂證, 태음인의 肝燥熱證에 사용할 수 있는 대표적 약물인 양격산화탕, 팔물군자탕 및 청폐사간탕의 갑상선기능항진증에 대한 효과를 비교 평가하여 다음의 결과를 얻었다.

1. 체중 감소 억제 효과: 체중 변화와 부고환 주위 지방 중량 및 지방세포의 조직병리학적 차이를 평가하여, YS, PG, CS 순으로 체중 감소 억제 효과가 나타났다.
2. 갑상선 호르몬 조절 효과: 혈중 TSH, T3, 및 T4 함량의 차이를 평가하여, YS, PG, CS 순으로 갑상선 호르몬 조절 효과가 나타났다.
3. 갑상선 위축 억제 효과: 갑상선 중량과 갑상선의 조직병리학적 차이를 평가하여, YS, PG, CS 순으로 갑상선 위축 억제 효과가 나타났다.
4. 간 손상 억제 효과: 간 중량과, 혈중 AST, ALT 함량, 간의 조직병리학적 차이를 평가하여, YS, PG, CS 순으로 간 손상 억제 효과가 나타났다.
5. 항산화 효과: 간 조직내 MDA, GSH 함량과 CAT, SOD의 활성도를 평가하여, YS, PG, CS 순으로 항산화 효과가 나타났다.

이상의 결과에서 양격산화탕, 팔물군자탕, 청폐사간탕은 각각 항산화 방어 시스템의 조절을 통하여 LT4로 유발된 갑상선기능항진증과 관련 간 손상에 유효한 효과를 나타내었으며, 특히 양격산화탕이 갑상선

기능항진증에 가장 유효한 효과를 나타내었다.

VI. References

1. Min HK. Clinical endocrinology. Seoul: Korea Medical Book. 1999:155-169. (Korean)
2. Kasper, Braunwald, Fauci, Hauser, Longo, Jameson. Harrison's principles of internal medicine. 1st ed. Seoul: MIP. 2006:2308-2323.
3. National Health Insurance Service. Statistics of national health insurance 2004-2014[cited 2015 Dec 15]. Available from: URL: http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=350&tblId=TX_35001_A061&vw_cd=MT_OTITLE&list_id=350_35001_6&seqNo=&lang_mode=ko&language=kor&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=K2
4. Seoul national university college of medicine. Internal medicine. 2nd rev, ed. Seoul: Seoul national university press. 2006:139-158. (Korean)
5. Yi JW, Chou JS, Jang MH, Ahn TW. A Case Study of Soyangin Hyperthyroidism Patient. J Sasang Constitut Med. 2013;21(2):149-156. (Korean)
6. Kim DH, Park SC, Cho MK, Han CW, Choi JY, Kwon JN et al. Clinical Case Report of Hyperthyroidism Patient Treated with Only Traditional Korean Herbal Medicin. Korean J Oriental Physiology & Pathology. 2012;26(3):376-380. (Korean)
7. Won JS. DongyiSasangShinpyun. Seoul: Koyusha. 1929:51-57. (Korean)
8. Institute for Laboratory Animal Research. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington, D. C.: The national academics press. 1985:162-166.
9. Kim SM, Kim SC, Chung IK, Cheon WH, Ku SK. Antioxidant and Protective Effects of Bupleurum falcatum on the L-Thyroxine-Induced Hyperthyroidism in

- Rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2012; Article ID 578497.
10. MA JY, Huang DS, Seo CS, Lee SW, Kim JY, Shin HK. Acute Toxicity Study on Yangkyuksanhwa-tang in Mice. *J Sasang Constitut Med.* 2009;21(3):131-137. (Korean)
 11. MA JY, Huang DS, Lee SW, Kim JY, Shin HK. Acute Toxicity Study on Yeoldahanso-tang in Mice. *J Sasang Constitut Med.* 2009;21(1):247-253. (Korean)
 12. Choi YW. The effect of PalMoolGoonJaTang and SipIMiGwanJungTang to wistar rat's aging. Graduate School College of Oriental Medicine Daejeon Univ. 2005;6. (Korean)
 13. Lee KL, Kim YW, Lim MK, Song JM. A Case Study about Soyangin Heat Sensation in the Chest(胸膈熱證) Patient Diagnosed as Hyperthyroidism, Used Sasang-bang with Western Medicine. *J Sasang Constitut Med.* 2006;18(3):198-201. (Korean)
 14. Lee SH, Choi AR, Goo DM. The clinical study on 1 case of soeumin patient diagnosed as Grave's disease, treated with Palmulgunja-tang and western medicine. *J Sasang Constitut Med.* 2010;22(4):98-105. (Korean)
 15. Choi AR, Lee SW, Koo DM. A Study on the Serum Lipid, Digestive Enzymes and Thyroid Hormone in Sasang Constitutional Medicine. *J Sasang Constitut Med.* 2010;22(2):60-69. (Korean)
 16. Lee JM. DongyiSuseBowon. Seoul:Eulyoo Pub. 2002; 27-278. (Korean)
 17. Kim OS, Kim YJ, Shin HK. Anti-atherosclerotic Effects of Herbal Formulas for Sasang Constitutional Medicine. *J Sasang Constitut Med.* 2012;24(4):51-61. (Korean)
 18. Lee SY, Choi AR, Ha JH, Lee JH, Kim PJ, Goo DM. An experimental study on the anti-stress effect by soyangin hyeongbangdojeok-san and yanggyeok-sanhwa-tang. *J Sasang Constitutional Med.* 2008;20(3): 151-163. (Korean)
 19. Tak M, Tark M, Kang K, Ko W, Yoon H. The Inhibitory effects of Yang Geouk San Hwa-Tang on LPS-stimulated inflammation in RAW264.7 macrophage cells. *J Korean Oriental Med Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology.* 2010;23(1):118-134. (Korean)
 20. Jung DY, Ha H, Lee H, Lee J, Lee N, Lee JK et al. Stimulation of the immune response by Yanggyuksanhwa-tang. *J Sasang Constitut Med.* 2010;22(4):77-84. (Korean)
 21. Lee SK, Kim DC. The Effect of Palmulgunjatang gamibang on the ovarian functions in female mice. *J Oriental Obstetrics & Gynecology.* 2010;23(4):20-34. (Korean)
 22. Ryu JM, Park SS. The effects of Palmulgunja-tang enzyme activity on cytochrome P450 isozyme. *J Sasang Constitut Med.* 2005;17(2):64-73. (Korean)
 23. Park YJ, Kim SJ, Yang GE, Lee MJ, Lee JS, Kang DH et al. Anti-platelet aggregation effect of Cheongpyesagan-tang In Vitro. *Korean J Orient Int Med.* 2010;31(4):714-721. (Korean)
 24. Ahn HM, Han SY, Kim JH, Rho TW, Chong MS, Kim YK. Effects of Cheongpyesagan-tang and YKK012 on in vitro and in vivo colon cancer cell growth with and without CPT-11. *Kor J Herbology.* 2015;30(1): 33-42. (Korean)
 25. Kim EY, Sul YK, Choi JJ, Jeon SH, Kim H, Kim JW. Effect of Cheongpesagan-tang on the change of inhibitory effect against lipase activity and weight loss, plasma and UCP1, 2 mRNA expression in db/db mouse. *J Sasang Constitut Med.* 2007;19(1):171-185. (Korean)
 26. Panda S, Kar A. Amelioration of L-thyroxine-induced hyperthyroidism by coumarin (1,2-benzopyrone) in female rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007;34(11): 1217-1219.
 27. Pierpaoli W, Lesnikov VA. Effects of long-term intra-

- peritoneal injection of thyrotropin-releasing hormone (TRH) on aging- and obesity-related changes in body weight, lipid metabolism, and thyroid functions. *Curr Aging Sci.* 2011;4(1):25-32.
28. Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology. Philadelphia : Saunders. 2007;303-325.
 29. Das K, Chainy GB. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone. *Biochim Biophys Acta.* 2001;1537(1):1-13.
 30. Chattopadhyay S, Sahoo DK, Subudhi U, Chainy GB. Differential expression profiles of antioxidant enzymes and glutathione redox status in hyperthyroid rats: a temporal analysis. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2007;146(3):383-391.
 31. Subudhi U, Das K, Paital B, Bhanja S, Chainy GB. Alleviation of enhanced oxidative stress and oxygen consumption of L-thyroxine induced hyperthyroid rat liver mitochondria by vitamin E and curcumin. *Chem Biol Interact.* 2008;173(2):105-114.
 32. Ha HK, Jin SE, Shin HK. In vitro inhibitory effects of Yanggyuksanhwa-tang and Taeumjow-i-tang on CYP450 isozymes. *Kor J Oriental Preventive Medical Society.* 2012;16(3):129-137. (Korean)
 33. Kim JY, Shin MR, Heo WY, Kim DR, Jeon JW. The Effects of Chungpyesagan-tang on the Recovery of Liver Function in Rat Injured by CCl₄. *J Sasang Constitut Med.* 2005;17(1):130-141. (Korean)
 34. Venditti P, Di Meo S. Thyroid hormone-induced oxidative stress. *Cell Mol Life Sci.* 2006;63(4):414-434.
 35. Voldstedlund M, Trandum-Jensen J, Handberg A, Vinten J. Quantity of Na/K-ATPase and glucose transporters in the plasma membrane of rat adipocytes is reduced by in vivo triiodothyronine. *Eur J Endocrinol.* 1995;133(5):626-634.
 36. Makay O, Yenisey C, Icoz G, Genc Simsek N, Ozgen G, Akyildiz M et al. The role of allopurinol on oxidative stress in experimental hyperthyroidism. *J Endocrinol Invest.* 2009;32(8):641-646.
 37. Giriş M, Erbil Y, Depboylu B, Mete O, Türkoğlu U, Abbasoğlu SD et al. Heme oxygenase-1 prevents hyperthyroidism induced hepatic damage via an antioxidant and antiapoptotic pathway. *J Surg Res.* 2010;164(2):266-275.
 38. Messarah M, Boumendjel A, Chouabia A, Klibet F, Abdennour C, Boulakoud MS et al. Influence of thyroid dysfunction on liver lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats. *Exp Toxicol Pathol.* 2010;62(3):301-310.