

調胃升清湯의 胃粘膜 損傷 防禦效果에 관한 研究

한진수* · 박성식*

Abstract

Study for defensive effect of Jowesungcheong-tang on gastric mucosal damage in mice

Han Jin-Soo · Park Seoung-Sik

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk Univ.

1. The Purpose of study

An experimental study has done to examine the effect of defense on gastric mucosal damage of Jowesungcheong-tang.

2. The Material and Method of study

Mice had intragastric injected with JST extract before indomethacin treatment which induces hemorrhage erosion artificially. General morphology, infiltrative cell in mucosa, the distribution of UEA-I, COX-1, MAC-1, ICAM, and Apoptotic cell were objected (Abbreviation) JST :Jowesungcheong-tang, UEA-I : ulex europaeus agglutinin-I, COX-1 : cyclooxygenase-1, ICAM : intercellular adhesion molecule-1, GPE : Gastropathy elicited mice

3. The results and Conclusions of study

- 1) The degree of hemorrhage erosion in GPE-group had increased conspicuously in gastric gland proper. JST-group were the same as normal
- 2) The noticeable increase of granular leucocytes and lymphocytes in GPE-group were seen, but in JST-group, the configuration is decreased
- 3) The decrease of UEA-I positive reacted cells, COX-1, surface epithelial cells and the increase of MAC-1 positive cells, ICAM-1 positive cells had shown in GPE-group, but in JST-group UEA-I positive cells, COX-1 surface epithelial cells were increased and MAC-1 positive cells, ICAM-1 positive cells were decreased than GPE-group.
- 4) A number of apoptotic cells were distributed in hemorrhage erosion. The remarkable decrease of apoptotic cells were shown in JST-group.

Key words: Jowesungcheong-tang, Gastric mucosal damage, COX-1, ICAM, Apoptosis

* 동국대학교 한의과대학 사상체질과
교신저자 : 한진수 (주소) 인천시 연수구 연수2동 600-3 안병상한의원 (전화) 032)815-9494

I. 서론

사상의학(四象醫學)은 인간의 자율적 조절기능과 음양승강(陰陽昇降)의 완속(緩速)으로 병증을 논하고, 보명지주(保命之主)가 어떤 상황에 처했느냐에 따라 인체의 불균형을 조절하는 치심치병(治心治病)의학이다.^{1,2)}

조위승청탕(調胃升清湯)은 『동의수세보원(東醫壽世保元)』에 최초로 수록된 태음조위탕(太陰調胃湯)의 가미방으로 그 입방(立方) 목적은 폐의 호산지기(呼散之氣)부족에서 오는 조한증(燥寒證)을 발한(發汗)과 윤조(潤燥)시키는 방법으로 치료하기 위한 것으로 태음인의 위완수한표한병(胃脘受寒表寒病)에 의한 폐조한증(肺燥寒證)에 응용되어 왔으며³⁾ 식후비만(食後痞滿)^{4~6)} · 도포(倒飽)^{5,7)} · 불사음식(不思飲食)^{5,7)} · 토혈(吐血)⁷⁾ 등의 위점막 손상 증상과 탄탄(癱瘓)^{5,7)} · 중풍허증(中風虛症)^{5,7)} · 퇴각무력(腿脚無力)^{4~6)} 등에 활용되어 왔다.

최근 위점막 손상에 대한 실험적 연구로는 목단피지황탕(牡丹皮地黃湯)⁸⁾, 태음조위탕(太陰調胃湯)⁹⁾, 삼출건비탕(參出健脾湯)¹⁰⁾, 삼황지출환(三黃枳朮丸)¹¹⁾, 평진건비탕(平陳健脾湯)¹²⁾, 가미귀비탕(加味歸脾湯)¹³⁾, 자음건비탕(滋陰健脾湯)¹⁴⁾, 육울탕(六鬱湯)¹⁵⁾, 보혈안신탕(補血安神湯)¹⁶⁾, 등 많은 보고가 있었으며 조위승청탕을 위점막 손상에 연구로 보고한 바는 없었다.

조위승청탕에 대한 실험적 연구로는 구속스트레스 흰쥐의 항스트레스와 면역반응에 미치는 영향¹⁷⁾, 흰쥐의 방사형 미로 학습과 기억에 미치는 영향¹⁸⁾, alzheimer's disease 모델 백서(白鼠)의 학습과 기억에 미치는 영향¹⁹⁾ 등의 연구는 있었으나 조위승청탕의 위점막 손상에 대한 방어효과에 관한 보고는 없었다.

이에 저자는 조위승청탕이 위점막 손상에 대한 방어효과를 규명하기 위하여 생쥐에 조

위승청탕을 투여한 후, 위점막의 일반적인 형태변화, 조직화학적 변화, 면역조직화학적 변화, apoptosis 변화 등을 관찰한 바, 유의성있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 동물

대령 4주된 ICR계 숫컷 생쥐(대한실험동물센터에서 분양받음)를 무균사육장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중 30g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 실험군의 분류는 무처치된 대조군, 위점막 손상 유발군 (이하 GPE군), 조위승청탕 추출물 사전 투여 후 위점막 손상 유발군 (이하 JST군)로 나누었으며 각 군당 10마리를 배정하였다. 한편 JST군은 다시 위점막 손상 유발 직전, 24시간전, 48시간전 그리고 72시간전으로 나누어 관찰하였다.

2. 위점막 손상 유발

위점막 손상을 유도하기위해 indomethacin (Sigma, USA)를 0.9% NaCl이 포함된 70% 에탄올에 희석시킨 후 25 mg/kg를 GPE군과 JST군에 응용투여하였다.

3. 조위승청탕 추출액의 제조와 投與

조위승청탕의 처방 내용과 분량은 『동의수세보원(東醫壽世保元)』에 준하였으며, 동국대학교 한방병원에서 구입하여 사용하였다(Table 1). 2침을 증류수 500 ml에 넣고 2시간동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액(濾液)을 rotary evaporator를 이용하여 50 ml으로 감압농축하여 JST군에 위점막 손상 유발 직전, 24시간전, 48시간전 그리고 72시간전에 2.5 ml/kg 량으로 구강투여 하였다.

Table 1. The amount and composition of Jowesungcheongtang (JST).

韓藥名	生藥名	重量 (g)
薏苡仁	Coicis Semen	12.0
乾菜	Castraneae Semen	12.0
蘿藦子	Raphani Semen	6.0
麥門冬	Ophiopogonis Radix	4.0
石菖蒲	Acori Graminei Rhizoma	4.0
桔梗	Platycodi Radix	4.0
五味子	Schizandrae Fructus	4.0
麻黃	Epedrae Herba	4.0
遠志	Polygalae Radix	4.0
天門冬	Asparagi Radix	4.0
酸棗仁	Zizyphi Spinosae Semen	4.0
龍眼肉	Longanae Arillus	4.0
總 量		66.0

4. 조직표본 제작

위점막 손상 유발 후 6시간이 경과되었을 때 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액 (neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 위(胃) 몸통(body)을 적출하여 실온에서 24시간동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 μm 두께의 연속절편으로 제작되었다. 위점막의 일반적인 형태변화를 관찰하기 위해 연속절편을 hematoxylin과 eosin에 염색한 후 광학현미경 (BX50, Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

5. 조직화학적 관찰

1) 위점막 침윤 세포의 변화 관찰

위점막에 침윤 (infiltration)된 세포의 변화를 조사하기 위해 Phloxine-tartrazine 염색법을 실시하였다. Mayer's hematoxylin에 5분간 핵 염색한 후 phloxine 용액에 30분간 반응시켰다. 그런 다음 tartrazine 용액에서 분별 후 광학현미경으로 관찰하였다.

2) 점막분비세포의 변화 관찰

표면점액세포 (surface mucose cell)의 변화를 조사하기 위해 Alcian blue-PAS-Orange G 염색을 실시하였다. 먼저 절편을 alcian blue soluti-

on (pH 2.5 : Sigma)에 30분간 염색시켰다. 그런 다음 periodic acid (Sigma)에서 10분간 산화시킨 후 schiff reagent에서 15분동안 반응시켰다. 반응 완충을 위해 sulfurous ri-nse에 각 2분씩 3회 세척하고 hematoxylin에서 1분동안 대조염색하였다. 그리고 0.5% orange G (Sigma)용액에 처리한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

6. 면역조직화학적 관찰

1) 복합당질의 분포 변화 관찰

복합당질(glycoconjugate)인 *ulex europaeus agglutinin I* (UEA I)의 점막에서의 분포 변화를 조사하기 위해 lectin을 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다(Table 2). 우선 조직을 실온에서 1% bovine serum albumin (BSA)에 30분간 처리한 다음 1:100으로 희석된 biotinylated anti SBA (Sigma)와 biotinylated anti UEA I (Sigma)에 4°C incubation chamber내에서 24시간동안 반응시켰다. Avidin biotin complex (ABC : Vector Lab, USA)에 1시간동안 실온에서 반응시킨 후 0.05% 3,3'-diaminobenzidine (DAB : Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액 (pH7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

Table 2. Sugar specificities and inhibitory carbohydrates of lectins.

Lectin	Optimum dilution	Sugar specificity	Inhibitory sugar
UEA I	40 μg/ml	α-fucose	galactose

2) 점막내 cyclooxygenase-1 분포 변화 관찰

점막상피세포의 보호기전에 관여하는 cyclooxygenase-1 (COX-1)의 분포변화를 관찰하기 위한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 proteinase K에 5분 동안 proteolysis 과정

을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum (DAKO, Denmark)에서 1시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 rabbit anti-mouse COX-1 (1:250, Chyman, USA)에 4°C humidified chamber에서 48시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 2차 항체인 goat anti-rabbit IgG (1:100, DAKO)에 4°C humidified chamber에서 24시간 동안 반응시켰다. Avidin biotin complex (ABC : Vector Lab, USA)에 1시간동안 실온에서 반응시킨 후 DAB에서 발색(發色)시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

3) 점막내 세포기용(細胞起用) 변화 관찰

점막내 세포기용 변화를 관찰하기위해서 rat anti-mouse CD11b/18 (Mac-1 : Serotec, UK) 와 rabbit anti-mouse ICAM-1 (CD54 : Serotec)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였으며, 위에서 기술한 동일한 방법으로 실시되었다.

4) 점막 상피세포 증식 변화 관찰

미분화세포로부터 증식·분화된 점막상피세포의 분포변화를 조사하기위해 BrdU를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 실험동물에서 위(胃)를 적출하기 5시간전, 3시간전, 1시간전에 생리식염수에 녹인 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU, Sigma) 50 mg/kg을 복강주사하였다. 얻어진 연속절편은 4°C와 37°C의 2N HCl용액에서 각각 20분씩 반응시켜 DNA-denaturation을 일으켰다. 0.1M borate 완충용액 처리로 안정시킨 후 비특이적 면역반응을 억제하기위해 0.01%의 proteinase K (DAKO, Denmark)가 포함된 normal goat serum (1:20, DAKO)에 1시간동안 반응시켰다. 그런 다음 1차 항체인 mouse anti-mouse BrdU (1:50, Amersham, UK)에 4°C incubation chamber내에서 48시간 반응시켰고 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG (1:100, DAKO)에 실온에서 4시간동

안 반응시켰다. 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하였다.

7. Apoptosis 변화 관찰

Apoptotic 세포의 분포변화를 조사하기 위해 *in situ* apoptosis detection kit (Apoptag, Intergen, USA)를 이용한 TUNEL (terminal deoxynucleotid transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labelling) 방법을 실시하였다. 먼저 조직 절편을 proteinase K (20 µg/ml)에 5분간 proteolysis 시킨 다음 equilibration buffer에서 20초간 처리하였다. 그런 다음 strength TdT enzyme (36 µl TdT enzyme : 72 µl reaction buffer)을 처리하여 37°C의 humidified chamber에서 1시간 동안 반응시킨 후 strength stop/wash buffer에서 10분 동안 처리하였다. Anti-digoxigenin-peroxidase에 1시간 동안 반응시킨 후 DAB를 처리하였다. Hematoxylin으로 대조염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

8. 영상분석과 통계처리

면역조직화학과 TUNEL 염색 결과의 수치화를 위해 Optimas 5.2 (Optima Co., USA)를 이용한 영상분석 (image analysis)을 실시하였다. 영상분석 결과는 Sigma Plot 4.0 (Sigma)을 통한 student T test로 처리하였다. 유의성 여부는 P value 0.05 이하를 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 일반적인 형태변화

GPE군의 점막의 많은 지역에서 심각한 출혈성 침식이 관찰되었으며 일부에서는 점막근층까지의 궤양까지도 나타났다. 이러한 위점막 손상부위에서는 점액분비세포뿐만아니라 많은 수의 벽세포 (parietal cell)와 주세포(chief cell)의 유실도 관찰되었다(Fig. 1).

한편 위점막 손상 유발전에 조위승청탕 추출물을 투여한 JST군에서는 사전(事前)투여시간에 따른 손상 차이가 관찰되었다. 즉, 72시간 사전투여군에서 가장 적은 조직손상이 관찰되었는데, 일부 지역을 제외한 대부분의 지역에서 대조군에서 보이는 정상적인 위점막조직 형태가 관찰되었다(Fig. 2).

2. 조직화학적 변화

1) 위점막 침윤 세포의 변화

GPE군에서는 출혈성 침식이 일어난 주변에는 적혈구 염주(念珠), 중성호성백혈구를 비롯한 과립백혈구와 림프구의 침윤이 증가된 것으로 관찰되었다. 이러한 침윤은 위점막 상층뿐만 아니라 기저부까지 확산되어 있으며, 이 지역은 주로 과립백혈구 침윤이 두드러졌다 (Fig. 3).

JST 추출액 72시간 사전투여군에서는 간간히 점막고유판에서 백혈구와 혈관내 적혈구가 관찰될뿐 GPE에서 나타나는 과도한 침윤은 관찰되지 않았다 (Fig. 4).

2) 점액분비세포의 변화

GPE군에서 출혈성 침식 주변의 점막상피에서는 표면점액세포가 관찰되지 않았다 (Fig. 5).

JST 추출액 72시간 사전투여군에서는 세포상층부에 분비과립이 가득찬 표면점액세포가 대부분의 표면상피에서 나타났으며, 이러한 배열은 대조군과 유사하였다 (Fig. 6).

3. 면역조직화학적 변화

1) 복합당질의 분포 변화

GPE군에서 UEA-I 양성반응이 일부 벽세포 주변부에서 관찰되었지만 대조군에 비해서는 아주 낮았다 (Fig. 7).

이에 비해 JST 추출액 72시간 사전투여군에서는 UEA-I 양성반응은 표면상피, 벽세포 주변, 주세포주변등 많은 지역에서 관찰되었으며 (Fig. 8), 특히 점막 기저부의 고유위샘세포의 세포질에서 강한 양성반응을 보이는 세포

가 많이 관찰되었다 (Fig. 9).

2) 점막내 COX-1 분포 변화

GPE군에서 COX-1 양성반응이 관찰되지 않았다 (Fig. 10, Table 3).

이에 비해 JST 추출액 72시간 사전투여군에서는 COX-1 양성반응은 주로 표면상피에서 유의성 있게 관찰되었는데 대조군과 유사한 분포양상이었으며, 또한 고유판의 일부 세포에서도 COX-1의 유의성 있는 양성반응이 확인되었다(Fig. 11, 12, Table 3).

3) 점막내 세포기용 변화

MAC-1 양성반응세포는 GPE군에서 주로 점막밑층의 혈관주변에서 많은 수가 관찰되었으며 (Fig. 13, Table 3), 점막고유층에서도 일부 발견되었다. JST 추출액 72시간 사전투여군에서도 GPE군과 동일한 지역에서 관찰되지만 그 수가 훨씬 적었다 (Fig. 14, Table 3).

한편 ICAM 양성반응세포는 GPE군에서 점막말층의 세포침윤지역(Fig. 15, Table 3), 점막기저부의 세포침윤지역 (Fig. 17, Table 3)에서 많은 수로 관찰되었다. 이에 반해 JST 추출액 72시간 사전투여군의 이들 지역에서는 적은 수가 나타났다 (Fig. 16, 17, Table 3).

4) 점막 상피세포 증식 변화

GPE군의 출혈성 침식 지역에서는 BrdU 양성반응세포가 관찰되지 않았으며, 벽세포 주변에서 소수가 관찰되었다 (Fig. 19, Table 3).

그러나 JST 추출액 72시간 사전투여군에서는 핵에 강한 양성반응을 보이는 BrdU 양성반응세포가 많은 수로 관찰되었으며, 출현지역은 목점액분비세포 주변과 벽세포 주변지역이었다 (Fig. 20, 21, Table 3).

4. Apoptosis 변화

Apoptotic 변화를 조사하기 위해 TUNEL 방법을 실시하였는데 대조군에서는 핵과 주변부에 양성반응을 보이는 apoptotic 세포가 일부 점막표면상피세포에서 적은 수로 관찰되었다.

GPE群의 출혈성 침식 지역에서 많은 수의 apoptotic 세포가 관찰되었고 (Fig. 22) 이러한 apoptotic 세포의 분포는 점막의 기저부까지 확대되어 나타났다.

이에 반해 JST 추출액 72시간 사전투여군에서는 대조군과 비슷한 apoptotic 세포의 분포를 보여 표면상피세포에서만 apoptotic 세포가 나타났다 (Fig. 23).

Table 3. The image analysis of immunohistochemistry and TUNEL in JST treated murine stomach before gastropathy.

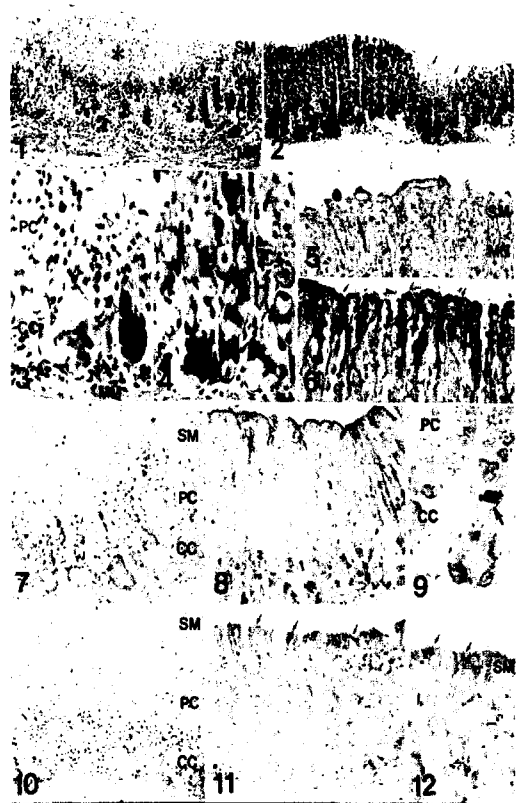
Antibody	CONTROL		GPE		JST	
	particle	intensity	particle	intensity	particle	intensity
COX-1	9078±25	128.5±23.4	2482±54	133.9±15.2	8768±57*	129.5±18.2
MAC-1	1015±54	127.5±12.5	4380±21	126.0±22.4	1540±42.1*	126.3±21.9
ICAM	4857±36	129.8±15.7	13416±85	118.7±21.4	6043±38*	128.6±28.4
BrdU	1345±98	105.8±16.8	35±2	137.7±11.2	1156±42*	110.3±29.0
Apoptosis	11042±91	129.7±28.1	29282±79	119.5±23.4	13109±74*	125.2±25.8

(image analysis for 200000 particles / range of intensity : 50 - 150)

Abbreviation : M ± S.D, Mean ± Standard Deviation; CONTROL, No treated mice; GPE, Gastropathy elicited mice; JST, JST treated mice before gastropathy elicitation; COX-1, cyclooxygenase-1; BrdU, bromodeoxyuridine; *, P < 0.05 compared with GPE.

Fig. 1. The morphology of gastric mucosa from GPE mice. The hemorrhagic erosions (asterisk) and aggregation of leucocytes (arrow) are seen. SM, surface mucous cell; PC, parietal cell; CC, chief cell; MM, muscularis mucosa. H & E. ×200.

Fig. 2. The morphology of gastric mucosa from JST treated mice at 72 hours before GPE. The decrease of hemorrhagic erosions (arrow) were appeared. H & E. ×200.



Legends for figure

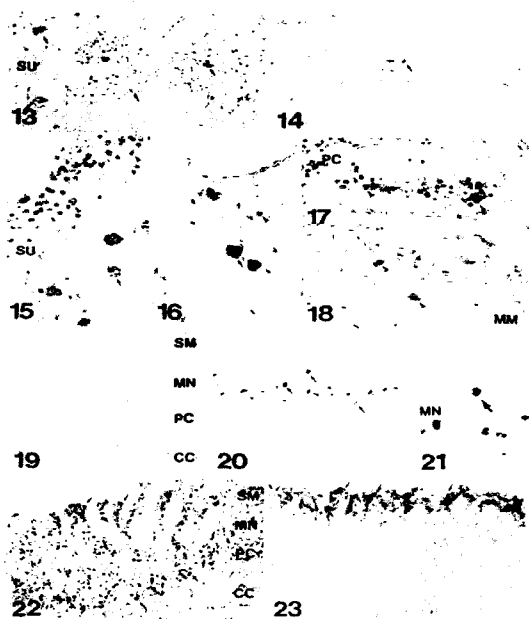
Fig. 3. The morphology of gastric mucosa from GPE mice. The noticeable increase of granular leucocyte (arrow) and lymphocytes (vacanted arrow head) in base of hemorrhagic erosion evoked region were seen. Phloxine-tartrazine. ×400.

Fig. 4. The morphology of gastric mucosa from JST treated mice at 72 hours before GPE. The configuration of base in gastric gland proper were the same as normal. Phloxine-tartrazine. ×400.

Fig. 5. The morphology of surface epithelial cells from GPE mice. The surface mucous cell were disappeared. Alcian blue-PAS-Orange G. ×200.

Fig. 6. The morphology of surface epithelial cells from JST treated mice at 72 hours before GPE. The purple reddish colored surface mucous cell (arrow) were seen.

- w) were seen. Alcian blue-PAS-Orange G. $\times 200$.
- Fig. 7.** The immunohistochemical stain for UEA-I in gastric mucosa from GPE mice. The UEA-I positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were disappeared. $\times 200$.
- Fig. 8.** The immunohistochemical stain for UEA-I in gastric mucosa from JST tread mice at 72 hours before GPE. The UEA-I positive cells (arrow) in various regions were seen. $\times 200$.
- Fig. 9.** The magnification of UEA-I positive cells in base of gastric gland proper. $\times 400$.
- Fig. 10.** The immunohistochemical stain for COX-1 in gastric mucosa from GPE mice. The COX-1 positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were disappeared. $\times 200$.
- Fig. 11.** The immunohistochemical stain for COX-1 in gastric mucosa from JST tread mice at 72 hours before GPE. The COX-1 positive cells (arrow) in apical surface of mucosa were seen. $\times 200$.
- Fig. 12.** The magnification of COX-1 positive cells in Fig. 11. $\times 400$.



- Fig. 13.** The immunohistochemical stain for MAC-1 in submucosa (SU) from GPE mice. The MAC-1 positive cells (arrow) were increased. $\times 200$.
- Fig. 14.** The immunohistochemical stain for MAC-1 in SU from JST tread mice at 72 hours before GPE. The remarkable decrease of MAC-1 positive cells (arrow) were seen. $\times 200$.
- Fig. 15.** The immunohistochemical stain for ICAM in SU from GPE mice. The ICAM positive cells (arrow) were increased. $\times 400$.
- Fig. 16.** The immunohistochemical stain for ICAM in SU from JST tread mice at 72 hours before GPE. The noticeable decrease of ICAM positive cells (arrow) were seen. $\times 400$.
- Fig. 17.** The immunohistochemical stain for ICAM in base of hemorrhagic erosions from GPE mice. The ICAM positive cells (arrow) were increased. $\times 400$.
- Fig. 18.** The immunohistochemical stain for ICAM in base of gastric gland proper from JST tread mice at 72 hours before GPE. The noticeable decrease of ICAM positive cells (arrow) were seen. $\times 400$.
- Fig. 19.** The immunohistochemical stain for BrdU in gastric mucosa from GPE mice. The BrdU positive cells (arrow) were disappeared. $\times 200$.
- Fig. 20.** The immunohistochemical stain for BrdU in gastric mucosa from JST tread mice at 72 hours before GPE. The noticeable increase of BrdU positive cells (arrow) were seen. $\times 200$.
- Fig. 21.** The magnification of BrdU positive cells in Fig. 21. $\times 200$.
- Fig. 22.** The distribution of apoptotic cells in gastric mucosa from GPE mice. The noticeable increase of apoptotic cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion in seen. TUNEL Method. $\times 200$.
- Fig. 23.** The distribution of apoptotic cells in gastric mucosa from JST tread mice at 72 hours before GPE. The noticeable decrease of apoptotic cells (arrow) were seen. TUNEL Method. $\times 200$.

ore GPE. The remarkable decrease of apoptotic cells (arrow) were seen. TUNEL Method. ×200.

IV. 고찰

조위승청탕은 『동의수세보원(東醫壽世保元)』에 최초로 수록된 처방으로 태음인의 위수한표한병(胃脘受寒表寒病)에 의한 폐조한증(肺燥寒證)에 응용되어 왔다³⁾.

本方은 태음조위탕의 가미방으로 의이인, 건울, 나복자, 마황, 길경, 맥문동, 오미자, 석창포, 원지, 천문동, 산조인, 용안육으로 구성되었으며, 그 입방(立方) 목적은 폐의 호산지기(呼吸之氣) 부족에서 오는 조한증(燥寒證)을 발한(發汗)과 윤조(潤燥)시키는 방법으로 치료하기 위한 것이다³⁾.

본방(本方)을 이(李)⁴⁾는 식후비만(食後痞滿)·퇴각무력(腿脚無力) 등, 박(朴)⁷⁾은 탄탄(癱瘓)·중풍허증(中風虛症)·도포(倒飽)·불사음식(不思飲食)·허로(虛勞)·표한(表寒)·중소(中消)·건망(健忘)·토혈(吐血) 등, 윤(尹)⁵⁾은 탄탄(癱瘓)·중풍허증(中風虛證)·중풍통치(中風通治)·도포(倒飽)·식후비만(食後痞滿)·불사음식(不思飲食)·허로통치(虛勞通治)·퇴각무력(腿脚無力)·중소(中消)·건망(健忘)·자한도한(自汗盜汗) 등, 서(徐)⁶⁾는 식후비만(食後痞滿)·태음인 중소(中消)·퇴각무력(腿脚無力)·중풍(中風)·구안와사·알츠하이머형 치매·허증(虛症) 등에 응용할 수 있다고 하였다.

위점막 손상에 의한 궤양은 복통(심와부동통(心窩部疼痛), 공복통), 소화불양, 오심, 탄산, 속쓰림, 복부팽만, 혹은 식욕부진, 체중감소 등의 증상을 호소하며 대개 만성적인 경과와 주기성을 가지고 반복된다^{20,21)}. 한의학(韓醫學)에서는 위완통, 탄산, 조잡, 구토 등의 병증으로 언급되어 왔으며 이는 식후비만(食滯痞滿), 도포(倒飽), 불사음식(不思飲食) 등에 활용해온 조위승청탕의 적응증과 유사하다 하겠다.

胃粘膜(gastric mucosa)과 점막밑조직의 결손(hemorrhage infarct and erosion)은 위궤양을 주도하며, 원인으로는 위산 (gastric acid)과 pepsin의 분비증가, 점막 혈액 흐름의 차단, 내재성 prostaglandins 분비 감소; 세포분열의 억제 등을 들 수 있다²²⁾. 특히 이러한 손상은 nonsteroidal anti-inflammatory drug(NASID)의 사용 급증으로 인해 매년 증가하는 추세이다²³⁾.

이에 저자는 동물실험을 통해 위점막의 일반적인 형태변화, 조직화학적 변화, 면역조직화학적 변화, apoptosis 변화 관찰을 통해, 조위승청탕의 위점막 손상에 대한 방어효과에 관하여 실험을 한 결과 유의성있는 결과를 얻었다.

본 실험에서 GPE군의 대부분 점막에서 출혈성 침식과 중성점액질 분비세포의 유실 등의 점막 손상이 일어났다. 이러한 점막보호장벽의 손상 즉, 점막의 mucus와 bicarbonate 보호장벽의 결핍은 prostaglandin의 分泌 차단에 의해 발생된 것인데²⁴⁾, 이는 COX-1 mRNA 발현 억제에 의한 세포내 arachidonic acid의 prostaglandin 전환과정 저해의 결과이다^{25,26)}. 본 실험에서도 출혈성 침식 지역주변에서는 COX-1에 대한 양성반응이 거의 나타나지않아 COX-1의 결핍이 점막손상의 일차적 원인으로 설명될 수 있었다^{27,28)}.

또한, 이러한 조직손상은 점막고유층에 존재하면서 위점막손상의 회복에 관여하는 표층 모세혈관망의 손상을 초래하였고²⁹⁾, 그 결과 그 주변부에서 적혈구 울혈이 관찰되었다. 이러한 모세혈관의 손상은 reperfusion시 허혈성 조직손상을 유발하기도 한다³⁰⁾.

이러한 손상부위에서는 중성호성 백혈구를 비롯한 백혈구, 대식세포, 비만세포 등의 염증 관여세포들의 침윤증가도 확인되었다³¹⁾. 염증 관여세포의 이주에는 MAC-1와 세포유착분자(cellular adhesion molecular; CAM)이 관여하게 되는데^{32,33)}, 본 실험에서도 위기저부와 점막밑조

직의 세동맥 주변부에서 MAC-1과 ICAM-1 양성반응세포의 분포증가가 확인되었다. 이러한 현상은 다른 소화기 장기의 점막에서도 관찰되는 것으로 소장과 대장 조직손상과 염증증가시 세포성 면역체계를 자극하여 세포유착분자인 ICAM-1의 발현증가를 유도한다고 이전에 보고되었다^{34,35)}. 그리고 염증관여세포의 유입은 조직손상을 가속화시키는 결과를 초래할 것으로 생각된다.

점막 손상 이외에도 점막표피세포의 분열(proliferation)과 자기살해(apoptosis)의 변화도 관찰되었다. 즉 고유위생 주변에서 일어나는 세포분열을 통해 새로운 점막표피세포의 생성이 이루어지는데³⁶⁾, 본 실험에서는 이러한 세포분열이 감소한 것으로 관찰되었다. 이와 반대로 과도한 세포자기살해가 출혈성 침윤지역의 표피세포에서 발생하여 분열과 세포자기살해의 균형이 무너졌다. 이러한 세포자기살해는 점액분비세포의 oxidative stress와 미토콘드리아 기능 저하, caspase-3 activation, ceramide pathway activation, mitogen activated protein kinase activation 등과 같은 기전을 통해 이루어진 것으로 생각된다³⁷⁻³⁹⁾.

한편, 조위승청탕의 사전(事前) 투여시간이 증가할수록 COX-1의 증가, MAC-1과 ICAM-1의 감소, BrdU의 증가, Apoptosis의 감소 등이 현저하였다(Table 4).

결론적으로 조위승청탕을 투여한 JST군에서는 COX-1 발현을 통한 prostaglandin의 정상적인 분비는 mucus와 bicarbonate 보호장벽을 유지시켰으며 점막세포의 세포분열 지속과 세포자기살해 감소의 균형이 이루어졌다. 그 결과 GPE군의 점막에서 관찰된 과도한 점막세포의 손상과 염증반응은 JST군에서는 나타나지 않았다. 또한 JST군에서는 GPE군과는 달리 α-fucose와 관련된 복합당질인 UEA-I 양성반응세포가 고유위생과 점막표면에서 관찰되었는데, 이전의 보고^{40,41)}를 미루어보아 위점막 보호에 관여

하는 것으로 사료된다.

이상에서 조위승청탕 추출액을 사전(事前) 음용투여한 생쥐에 인위적인 위점막 손상을 유발시켜 나타난 위점막 손상의 정도를 형태학적 측면에서 조사한 바, 조위승청탕이 점막 상피의 방어기전을 통해 위점막손상으로 기인되는 조직손상에 대해 방어효과가 있는 것으로 나타났다. 본 실험의 결과를 토대로 조위승청탕이 위점막 손상에 의한 조직손상에 방어와 치료라는 양 측면에서 광범위하게 이용될 수 있을 것으로 사료되며, 보다 더 뛰어난 효능을 발휘하기 위해서는 치료기전을 중심으로 하는 지속적인 연구가 필요한 것으로 생각된다.

Table 4. The image analysis of immunohistochemistry and TUNEL in JST treated murine stomach before gastropathy.

Animals	COX-1		MAC-1		ICAM-1		BrdU		Apoptosis	
	particle	intensity	particle	intensity	particle	intensity	particle	intensity	particle	intensity
CONTROL	9078 ±25	128.5 ±23.4	1015 ±54	127.5 ±12.5	4657 ±136	129.8 ±15.7	1345 ±98	105.8 ±16.8	11042 ±91	129.7 ±28.1
GPE	1402±54	155.9±15.2	4980±21	136.0±22.4	15416±685	118.7±23.4	33 ±2	157.7±11.2	28202±79	119.5±25.4
JST-ON	2545±48	132.4±12.6	4265±67	126.1±16.7	13365±95	122.4±21.7	45 ±8	151.4±15.5	20162±84	121.4±21.5
JST-24	5421±56	131.9±18.7	3940±42	126.2±17.5	8945±56	125.3±20.4	71 ±8	126.5±12.8	18432±79	125.1±22.8
JST-48	6327±65	131.2±14.5	2168±39	126.2±16.4	7415±76	126.8±19.8	89 ±9	122.5±13.9	16991±94	122.3±21.9
JST-72	6768±57	129.5±18.2	1540±42	126.3±21.9	6045±36	128.6±28.4	1156±42	110.3±29.0	13109±74	125.2±25.8

(image analysis for 200000 particles / range of intensity : 50 - 150)

Abbreviation : M ± S.D, Mean ± Standard Deviation; CONTROL, No treated mice; GPE, Gastropathy elicited mice; JST-ON, JST treated mice just before gastropathy elicitation; JST-24, JST treated mice at 24 hours before gastropathy elicitation; JST-48, JST treated mice at 48 hours before gastropathy elicitation; JST-72, JST treated mice at 72 h

ours before gastropathy elicitation; COX-1, cyclooxygenase-1; ICAM, intercellular adhesion molecule-1; BrdU, bromodeoxyuridine; *, P < 0.05 compared with GPE.

4. Apoptosis 변화는 GPE군에서는 증가한 반면, JST군에서는 사전(事前) 투여시간이 증가할수록 대조군에 가까운 apoptotic 세포의 분포를 보였다.

V. 결론

조위승청탕의 위점막 손상에 대한 방어효과를 규명하기 위하여 조위승청탕 추출액을 사전(事前) 음용투여한 생쥐에 인위적인 위점막 손상을 유발시켜 나타난 일반적인 위점막 형태, 점막내 침윤세포, 점막표면점액세포, 복합당질인 UEA-I, 점막보호인자인 COX-1, 세포기능에 관여하는 MAC-1과 ICAM-1, 점막표면상피세포의 증식 그리고 apoptotic 세포의 분포 등의 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 일반적인 형태변화는 GPE군의 대부분의 점막에서 출혈성 침식이 관찰되었으며 이러한 손상이 점막 고유위샘까지 확대된 것에 비해, JST군에서는 대조군에 가까운 정상적인 형태로 관찰되었다.

2. 조직화학적 변화는 GPE군에서는 과립백혈구의 침윤과 표면점액세포의 유실 증가가 나타난 반면, JST군에서는 과립백혈구의 침윤과 표면점액세포의 유실이 감소한 것으로 나타났다.

3. 면역조직화학적 변화는 GPE군에서는 UEA-I 양성반응, COX-1, 표면상피세포 증식의 감소와 MAC-1과 ICAM-1 증가 등 위점막 손상을 유도하는 인자들의 변화가 관찰된 반면, JST군에서는 사전(事前) 투여시간이 증가할수록 GPE군에 비해 UEA-I 양성반응, COX-1, 표면상피세포 증식의 증가와 MAC-1과 ICAM-1은 감소하는 경향을 보였다.

참고 문헌

1. 송일병. 성인병과 사상체질의학. 사상의학회지. 1993; 5(1): 1-6
2. 송일병. 알기 쉬운 사상의학. 서울: 하나미디어. 1993: 214-225, 248-251
3. 송일병. 사상인 체질증과 체질병증의 성립과정에 대한 연구. 사상의학회지. 1994; 6(1): 71-79
4. 이제마. 동의수세보원. 서울: 행림출판사. 1986: 116
5. 윤길영. 사상의학체질론. 서울: 명보출판사. 1986: 412
6. 서민욱. 체질의학원론. 서울: 성보사. 1998: 541
7. 박인상. 동의사상요결. 서울: 소나무. 1997: 154
8. 비계내과학교수공저. 비계내과학. 서울: 그린문화사. 1991: 234-236, 244-277, 264-266
9. 김종숙. 소화성궤양. 서울: 고려의학. 1995: 93~96
10. 이지영. 목단피지황탕이 위점막 손상에 미치는 영향. 사상의학회지. 2000; 12(2): 172-182
11. 박동연. 태음조위탕의 궤양억제 효능에 관한 연구. 사상의학회지. 1997; 9(2): 228-242
12. 김태균. 삼출진비탕이 위장 및 중추신경계에 미치는 영향. 원주:상지대학교 석사학위논문. 1995.
13. 정재숙. 삼황지출환의 궤양억제효능에 관한 실험적 연구. 원주:상지대학교 석사학위논문: 1995.
14. 김남희. 평진진비탕이 백서의 alcohol성

- 위궤양에 미치는 영향. 경산: 경산대학교 석사학위논문. 1995.
15. 백동진. 가미귀비탕이 흰쥐의 위궤양에 미치는 영향. 부산: 동의대학교 석사학위논문. 1995.
 16. 강현근. 자음건비탕이 구속스트레스 흰쥐의 위궤양 및 혈중 Ca techolamine 함량에 미치는 영향. 서울: 경희대학교 석사학위논문. 1991.
 17. 조영도. 육울탕이 구속스트레스 흰쥐의 위궤양 및 혈중 Catec holamine 함량에 미치는 영향. 서울: 경희대학교 석사학위논문. 1991.
 18. 김영원. 보혈안신탕이 구속스트레스 흰쥐의 위궤양 및 혈중 Ca techolamine 함량에 미치는 영향. 서울: 경희대학교 석사학위논문. 1991.
 19. 엄효진. 조위승청탕가늑용이 구속스트레스 흰쥐의 스트레스와 면역반응에 미치는 영향. 서울: 경희대학교 석사학위논문. 1997.
 20. 우주영. 조위승청탕이 흰쥐의 방사형 미로 학습과 기억에 미치는 영향. 서울: 경희대학교 석사학위논문. 1997.
 21. 이응석. 조위승청탕이 Alzheimer's disease 모델 백서의 학습과 기억에 미치는 영향. 서울: 경희대학교 석사학위논문. 1998.
 22. Georg D. Arlt, Maarkus Leyh. Incidence and patho physiology of peptic ulcer bleeding. *Langenbeck's Arch Surg.* 386. 2001: 75-81
 23. David Y. Graham. NSAID ulcers. prevalence and prevention. *Mod Rheumatol.* 10. 2000 :2-7
 24. Tetsuo Arakawa, Kazuhide Higuchi, Takashi Fukuda, Yasuhiro Fujiwara, Kenzo Kobayashi, Tetsuo kuroki. Prostaglandins in the stomach. an update. *J. Clin. Gastroenterol.* 27. 1998: 1-11
 25. Byron Cryer and Michael B. Kimmey. Gastrointestinal side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Am J med.* 105. 1998: 20s-30s
 26. Lee S. Siomon. Biology and toxic effects of nonst eroi dalanti-inflammatory drugs. *Curre nt Opinion in Rheumatology.* 10.1998: 153 -158
 27. Byron Cryer and Andre Dubois. The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase-a review. *Prostaglandins & other Lipid Mediators.* 56. 1998: 341-361
 28. Choitsu Sakamoto. Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal patho physiology. *J Gastroenterol.* 33. 1998: 618-624
 29. Wallace, J. L., Granger, D. N.. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *FASEB J.* 10. 1996:731-740
 30. John L. Wallace. Gastric ulceration. critical eventsat the neutrophil- endothelium interface. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 71. 1993: 98 -102
 31. Kathleen B. Bamford. Chronic gastrointestinal inflammation. *FEMS Immuno Med Micro bio.* 24. 1999: 161-169
 32. Z. Morise, S. Komatsu, J. W. Fuseler, D. N. Granger, M. Perry, A.C. Issekutz, M. B. Grisham. ICAM-1and P-selectinexp ressi on in a model of NSAID-induced gastropathy. *Am J Physi o.* 27. 1998: 246-252
 33. Y.-X. Li, N. Li, Y.-S Li, B. Wu, J.-S. Li.. Upregulated intragraft gene expression, ICAM-1 and IL-2R molecules, and ap optotic epithelial cells during regection of rat small intestine allg rafts. *Transplant Proceed.* 32. 2000: 1283-1286
 34. H. J. Rothkötter, R. Pabst, M. Bailey. Lym

- phocyte migration in the intestinal mucosa. entry, transit and emigration of lymphoid cells and the influence of antigen. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 72. 1999: 157-165
35. I. Kirman, B. Vainer, and O. H. Nielsen. Interleukin-15 and its role in chronic inflammatory diseases. *Inflamm res.* 47. 1998: 285-289
36. Martin Kulldorff, Lisa M. McShane, Arthur Schatzkin, Laurence S. Freedman, Michael J. Wargovich, Cindy Woods, Madhu P. Rewal, Randall W. Burt, Michael Lawson, Donna J. Mateski, Elaine Lanza, Donald K. Corle, Barbara O'Brien, James Moler. Measuring cell proliferation in rectal mucosa. Comparing bromodeoxyuridine (BrdU) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) assays. *J Clin Epidemiol.* 53. 2000: 875-883
37. Peter Ch. Konturek, Tomasz Brozowski, Stanislaw J. Konturek, Astrid Taut, Zbigniew Sliwowski, Jerzy Stachura, Eckhart G. Hahn. Activation of gene growth factors and cyclooxygenases in rat gastric mucosa during recovery from stress damage. *European J Pharmacol.* 342. 1998: 55-65
38. Shane N. Porter, Gordon S. Howarth, Ross N. Butler. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and apoptosis in the gastrointestinal tract. potential role of the pentose phosphate pathways. *European J Pharmacol.* 397. 2000: 1-9
39. Tae Il Kim, Soo Hyun Jin, Won Ho Kim, Eun Hye Kang, Kang Yel Choi, Hyun Jin Kim, Sung Kwan Shin, Jin Kyung Kang. Prolonged activation of mitogen-activated protein kinases during NSAID-induced apoptosis in HT-29 colon cancer cells. *Int j colorectal Dis.* 16. 2001: 167-173
40. Masaki Kitajima, Mizuhiro Mogi, Tatsuo Kiyouchi, Atsushi Shimizu, Masanobu Nakajima, Atsushi Oshima, Hayato Kawakami, Hiroshi Hirano. Alternation of gastric mucosal glycoprotein in gastric mucosa in stress. A light and electron microscopic study. *J. Clin Gastroenterol.* 12. 1990: 1-7
41. Per Falk, Kevin A. Roth, and Jeffrey I. Gordon. Lectins are sensitive tools for defining the differentiation programs of mouse gut epithelial cell lineages. 266. 1994: 987-1003