

시호가 총담관결찰 및 taurocholate 부하 흰쥐 간의 COMT 활성에 미치는 영향

김승모, 윤주현, 박재현
경산대학교 한의과대학 간계내과학교실

Effects of *Bupleuri Radix* on Rat Hepatic COMT by Common Bile Duct Ligation and Taurocholate Load after Common Bile Duct Ligation

Seong-Mo Kim, Ju-Hyun Yoon, Jae-Hyun Park

Department of internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyungsan University

Object : This study was carried out to examine the effect of *Bupleuri Radix* on experimental cholestasis, and make clear a part of this mechanism.

Methods : Two models of common bile duct ligation group and taurocholate load group after common bile duct ligation were induced, and *Bupleuri Radix* extract was taken orally for 14 days. In the 1, 2, 4, 7 and 14days after treatment, cytosolic, mitochondrial and microsomal catechol-O-methyltransferase(COMT) activities in liver were measured.

Results : The activities of cytosolic, mitochondrial and microsomal COMT increased in the *Bupleuri Radix* treated group after common bile duct ligation and after taurocholate load and common bile duct ligation. The activities of cytosolic and mitochondrial COMT increased particularly in *Bupleuri Radix* treated group after taurocholate load and common bile duct ligation.

Conclusions : According to the result, it is considered that *Bupleuri Radix* not only improves cholestatis in liver, but also decreases a genetic synthesis of taurocholic acid. (*J Korean Oriental Med* 2000;21(3):68-76)

Key Words: COMT, *Bupleuri Radix*, TCA, Common bile duct ligation

서 론

간조직에서 담즙울체는 담즙울체형 간염, 원발성 담즙성 간경변증, 담관염 등의 질환에 이환되었거나 선천성 담도폐쇄, 종양 및 담석 등에 의하여 담도가

폐쇄되었을 때 야기되며¹⁾, 담즙울체가 유발된 간장은 형태학적 변화와 함께 기능 장애도 나타난다²⁾.

담즙울체시에는 간장내 각종 효소들의 활성이 우선적으로 변동되는데, 담도계 효소인 alkaline phosphatase, 5'-nucleotidase, γ -glutamyl transpeptidase³⁾, xanthine oxidase⁴⁾ 등은 활성이 증가되며, arylesterase, carboxylesterase⁵⁾, monoamine oxidase⁶⁾, catechol-O-methyltransferase⁷⁾ 등은 그 활성도가 현저히 감소된다.

· 접수 : 2000년 8월 10일 · 수정 : 9월 29일 · 채택 : 10월 11일
· 교신저자 : 박재현, 대구광역시 수성구 상동 경산대부속 한방병원 1 내과
(Tel. 053-770-2101, Fax. 053-764-0566, E-mail : jhpark@ksucc.ac.kr)

Catechol-O-methyltransferase (COMT)는 catechol 및 catecholamine을 methyl화 시키는 효소로 간세포의 cytosol, mitochondria 및 endoplasmic reticulum에 분포되어 있다⁸⁾. 이들 효소들은 실험적 담즙울체시에 간조직에서 활성이 감소하며, 이는 담즙울체로 간조직에서 증가된 taurocholic acid(TCA)가 이 효소의 유전자 발현을 감소시키는 것으로 알려져 있다⁹⁾.

한의학에서 肝은 疏泄機能을 주관하여, 氣機를 通暢시키고 담즙의 분비·배설을 도와 신체 기능을 정상으로 유지하며, 담즙의 울체는 肝의 疏泄機能의 失調로 설명된다^{10,11)}.

시호는 繖形科에 속한 다년생 本草인 시호의 뿌리를 건조한 것으로 性은 微寒하고, 味는 微苦無毒¹²⁻¹⁵⁾하여 傷寒의 寒熱往來를 治하며, 疏肝解鬱의 작용이 있어 胸脇苦滿 月經不調 頭痛目眩 등에 응용한다^{16,17)}. 이와 관련된 시호의 실험적 연구로는 강¹⁸⁾이 시호의 AAP로 유도된 급성 간독성에 대한 회복 효과를, 한¹⁹⁾은 시호수침이 혈청중 LDH, ALP, γ -GPT의 활성을 감소시키는 효능이 있음을 보고하였으며, 손²⁰⁾은 시호의 Hep G2에 대해 항종양효과와 항암제중 MMC와의 상승적 작용에 대해 보고한 바 있다. 그러나 담즙 배설과 관련된 그 작용 기전에 대한 연구는 시행된 바 없으며, 이에 저자는 COMT의 활성도가 담즙울체간에서 감소되는 기전이 일부 밝혀진 점에 착안하여 실험하였다.

흰쥐의 총담관을 결찰시켜 담관을 폐쇄시킨 후에 TCA를 정맥내 주입시킨 다음, 시호 엑기스를 경구 투여하여 간조직의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획 COMT 활성도를 측정하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 동물

대한실험동물센터에서 분양 받은 체중 250g 내외의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 실험동물용 고형 사료(삼양사료 주식회사)와 음용수를 자유롭게 섭취

시키면서 4주 이상 같은 조건으로 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약 재

실험에 사용한 시호(Bupleuri Radix, *Bupleurum Falcatum Linne*)는 경산대학교 부속 대구한방병원에서 구입한 것을 엄선하여 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 조제

시호 300g을 환류냉각장치가 부착된 round flask에 넣고 증류수를 가하여 가열 추출한 후 감압 농축한 다음 동결건조기(LABCONCO)를 이용하여 건조분말 52g(회수율 17.33%)을 얻었으며, 건조분말 엑기스는 필요한 농도에 따라 증류수로 희석하여 사용하였다.

2) 실험군의 배정

수컷 흰쥐 5마리를 1군으로 하여 무처리 정상군(Normal group) 1군, 가수술군(Sham group), 총담관결찰군(Control A group), 총담관결찰 직후에 taurocholic acid를 주입한 군(Control B group), 총담관결찰후 검액 투여군(Sample A group) 및 총담관결찰 직후에 taurocholic acid를 주입한 다음 검액을 투여한 군(Sample B group)을 각각 5군씩 배정하여 총 26군으로 구분하였으며, 정상군을 제외한 각 군은 실험 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 관찰하였다.

3) 가수술, 총담관결찰 및 taurocholic acid 주입

가수술과 총담관결찰수술은 효소활성의 일중 변동을 고려하여 흰쥐를 오후 2시에서 5시 사이에 회생시킬 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며, 수술전 12시간 금식시킨 후 ether 마취 하에서 실시하였다. 가수술은 단순 개복술만 시행하였으며, 총담관결찰수술은 간 근위부와 약 1cm아래쪽의 원위부의 총담관을 각각 이중 결찰한 후 그 중간 부위를 절단하였으며 간적출시 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. Taurocholic acid액은 총담관결찰 직후 syringe pump(Sage instruments, model 341A)를 사용하여 체중 100 g당 45 μ mol을 15분간 상대정맥 내에 주입하였다²¹⁾.

4) 검액의 투여

검액은 증류수 1ml에 건조분말 112mg을 녹여 체중 100 g당 0.4ml를 경구투여 하였으며, 이는 사람의 1일 1회 복용량의 4배에 해당하는 양으로 예비 실험을 통하여 가장 효과적인 용량으로 채택된 것이다.

5) 간적출 및 세포분획

모든 실험군에서 간의 적출은 12 시간 금식시킨 후 ether 마취 하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고는 간문맥에 삽관한 후 4℃의 0.25 M sucrose액으로 관류하여 간에 남아있던 혈액을 제거한 다음, 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아있던 sucrose액을 가능한 모두 제거하였다. 채혈한 혈액은 원심 분리하여 혈청은 얻은 다음 효소 활성도를 측정하였다.

간의 세포분획은 적출한 간을 즉시 2~4℃로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 가운데 약 5g를 취하여 9배량의 0.2M sucrose액을 넣은 다음, Tenfold pestle glass homogenizer(Thomas社, chamber clearance 0.005~0.007 inches)로 2~4℃를 유지하면서 400rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10%의 간조직 균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법²³⁾으로 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획을 분리하였다. 즉 이 마쇄균질액을 571 × g(average relative centrifugal force)에서 10분간 원심 분리하여 조직의 미마쇄부분, 핵 및 원형질막 부분을 제거한 다음 그 상청액을 7,796×g에서 20분간 원심 분리하여 pellet과 상청액을 얻었으며, 이 과정에서 얻은 상청액을 다시 104,400×g에서 1시간 원심 분리하여 얻은 상청액을 cytosol 분획으로 사용하였다. 위의 과정에서 얻은 pellet을 0.25 M sucrose액으로 현탁시키고 이 액을 10-30 % sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 88,500×g에서 15분간 원심 분리하여 얻은 원심분리관 중앙부와 상부에 형성된 pellet을 모아서 88,500×g에서 1시간 원심 분리하여 pellet을 얻고 이 pellet을 다시 0.25 M sucrose액에 재현탁시켜 88,500×g에서 1시간 재

원심분리하여 얻은 pellet을 microsome 분획으로 사용하였다.

7,796×g에서 20분간 원심 분리하는 과정에서 얻은 pellet을 0.25 M sucrose액에 현탁시키고 이 액을 20~40% sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 45,200×g에서 20분간 원심 분리하여 얻은 침전물을 0.25 M sucrose 액에 재현탁시켜 7,796×g에서 20분간 원심 분리하다 pellet을 얻었으며 이것을 mitochondria 분획으로 사용하였다.

모든 조작은 2-4℃에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 DuPont Sorvall社의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge 와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 이 때 사용한 rotor 는 DuPont Sorvall사의 SS-34 및 T865 rotor였고 sucrose linear density gradient 용액의 제조는 gradient former(ISCO model 570)를 사용하였다.

6) 시약

Benzylamine · HCL, 5-hydroxytryptamine · HCL(serotonin), S-adenosyl-L-methionine iodide, 3, 4-dihydroxybenzoic acid, DL-dithiothreitol, Triton X-100, phenol, catechol-O-methyl-transferase(porcine liver, C 1897), taurocholic acid(ox bile, sodium salt, T 0750) 및 단백질 표준액(10g/100ml bovine albumin) 등은 Sigma사 제품을 사용하였으며, [methyl-3H] S-adenosyl-L-methionine은 New England Nuclear사 제품을, 그리고 PPO(2, 5-diphenyloxazole), bis-MSB(ρ -bis-(O-methylstyryl benzene)), toluene(scintillation grade) 등은 Packard사의 제품을 사용하였다. 그 외 시약은 시판되는 특급 또는 일급품을 사용하였다.

7) 효소 시료 조제

COMT 활성 측정용 효소 시료의 조제는 분리한 microsome 분획 및 mitochondria 분획 4.5ml에 대해서 0.5ml의 sucrose-Triton X-100액(Triton X-100 10ml 와 sucrose 8.56g을 증류수에 녹여 100ml로 만든다)을 넣어 4℃에서 30분간 방치한 후 이 액을 이 효소 활성도 측정용 시료로 사용하였으며 cytosol분획은 아무런 처치 없이 원액 그대로를 사용하였다.

8) 효소 활성도 측정

Cytosol, mitochondria 및 microsome 분획 COMT 활성도 측정은 효소 시료와 함께 dihydroxybenzoic acid와 [methyl-H] S-adenosyl-L-methionine이 함유된 S-adenosyl-L-methionone iodide를 기질로 사용하여 37℃에서 30분간 반응시키는 동안에 생성된 방사성 3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid와 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid를 toluene-isoamylalcohol 혼합액으로 추출한 후 그 방사능을 측정하여 효소의 활성도를 산출하는 Borchartd의 법²⁹⁾에 준하였으며, 효소 활성도 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid 와 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid의 총량을 pmol로 나타내었다.

9) 성적 검정

유의성 검정은 Student's T-test로 하였으며 유의수준은 0.05이하로 하였다.

실험성적

1. COMT 활성도에 미치는 영향

1) Cytosol

총담관결찰후 검액을 투여한 실험군 A는 7일 및 14일군에서 각각 P<0.05, P<0.001의 유의성이 인정되었다. 총담관결찰후 TCA주입군에 검액을 투여한 실험군 B에서는 3일, 7일 및 14일군에서 각각 P<0.05, P<0.001, P<0.001 유의성을 보여, 실험군 A에 비하여 유의성이 높게 나타났다(Fig. 1).

2) Mitochondria

총담관결찰후 검액을 투여한 실험군 A는 7일 및 14일군에서 각각 P<0.01, P<0.001의 유의성이 인정되었다. 총담관결찰후 TCA주입군에 검액을 투여한 실험군 B는 7일 및 14일군에서 P<0.01, P<0.001의 유의성을 보여, 실험군 A에 비하여 유의성이 높게 나타났다(Fig. 2).

3) Microsome

총담관결찰후 검액을 투여한 실험군 A는 7일, 14일군에서 각각 P<0.01, P<0.001의 유의성이 인정되

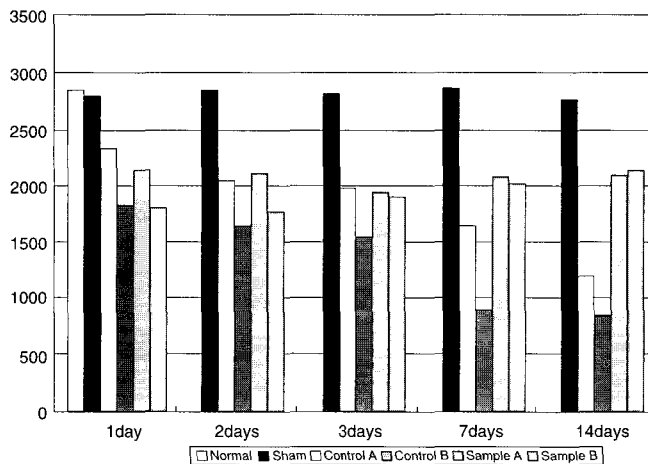


Fig. 1. Effects of *Blupleuri Radix* on cytosolic catechol-O-methyltransferase in rats induced experimental cholestasis by common bile duct ligation(CBDL) and taurocholic acid infusion after CBDL.

Sham : Group of sham operation
 Control A : Group of common bile duct ligation
 Control B : Group of taurocholic acid infusion after common bile duct ligation
 Sample A : *Blupleuri Radix* treated group after common bile duct ligation
 Sample B : *Blupleuri Radix* treated group after common bile duct ligation and taurocholic acid infusion

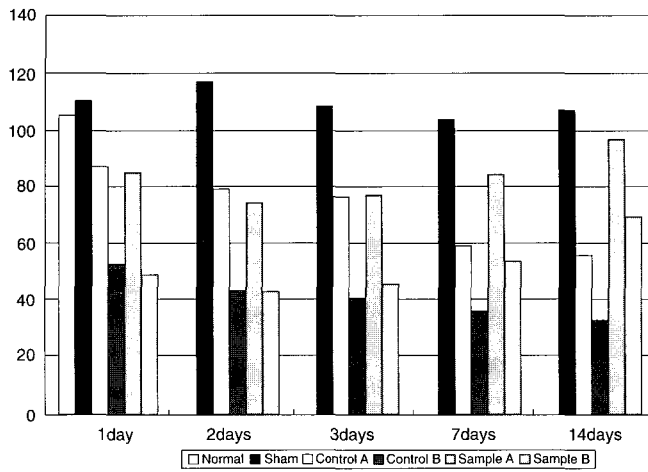


Fig. 2. Effects of *Blupleuri Radix* on mitochondrial catechol-O-methyltransferase in rats induced experimental cholestasis by common bile duct ligation(CBDL) and taurocholic acid infusion after CBDL.

Sham : Group of sham operation
 Control A : Group of common bile duct ligation
 Control B : Group of taurocholic acid infusion after common bile duct ligation
 Sample A : *Blupleuri Radix* treated group after common bile duct ligation
 Sample B : *Blupleuri Radix* treated group after common bile duct ligation and taurocholic acid infusion

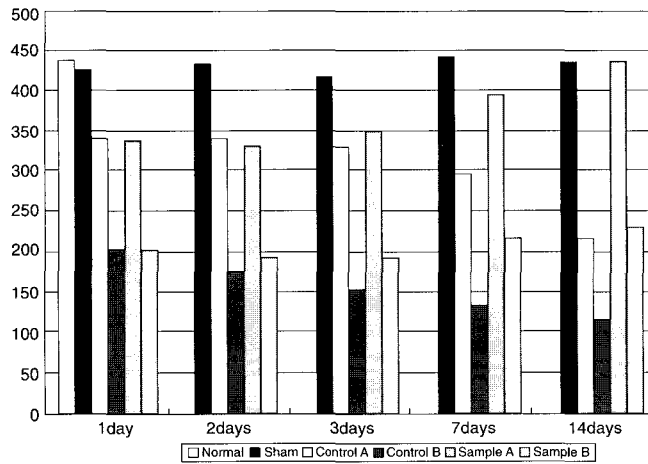


Fig. 3. Effects of *Blupleuri Radix* on microsomal catechol-O-methyltransferase in rats induced experimental cholestasis by common bile duct ligation(CBDL) and taurocholic acid infusion after CBDL.

Sham : Group of sham operation
 Control A : Group of common bile duct ligation
 Control B : Group of taurocholic acid infusion after common bile duct ligation
 Sample A : *Blupleuri Radix* treated group after common bile duct ligation
 Sample B : *Blupleuri Radix* treated group after common bile duct ligation and taurocholic acid infusion

었으며, 총담관결찰후 TCA주입군에 검액을 투여한 실험군 B는 3일, 7일 및 14일군에서 각각 $P < 0.01$, $P < 0.001$ 및 $P < 0.001$ 의 유의성이 인정되었다(Fig. 3).

고찰

간장은 물질대사의 중추기관으로서 체외에서 흡수되거나 체내에서 생성된 유해물질을 해독하여 소변이나 담즙으로 배설시키는 해독기능을 통하여 생체를 보호하고 있다²⁴⁾.

담즙정체성 간염, 원발성 담즙성 간경변증, 담관염 등의 질환에 이환 되었거나 선천성 담도 폐쇄, 종양 및 담석 등에 의하여 담도가 폐쇄되었을 때 간조직에는 담즙이 울체된다²⁵⁾. 담즙울체의 시간이 경과하면 간조직은 괴사, 지방변성, 담도 증식, 섬유화, 경화성 변화 등 여러 가지 형태학적인 변화와 함께 기능 장애도 야기된다^{2,26)}.

간장의 기능 장애시에는 각종 효소의 활성 변동이 우선적으로 나타나는데, 담도계 효소인 alkaline phosphatase, 5'-nucleotidase, γ -glutamyl transpeptidase 등은 담즙 배설기능의 지표로 임상에서 흔히 이용되며²⁷⁾, 실험적으로도 효소의 활성 변동은 많은 부분 밝혀져 있다.

실험적으로 담즙울체시에 활성이 증가하는 효소는 microsomal ethanol oxidizing system³⁾, xanthine oxidase⁴⁾, γ -glutamyl transpeptidase²⁸⁾, microsomal 및 mitochondrial thiol methyltransferase²⁹⁾ 등이며, 활성도가 감소되는 효소들은 catalase, alcohol dehydrogenase³⁾, arylesterase, carboxylesterase⁵⁾, monoamine oxidase(MAO)⁶⁾, catechol-O-methyltransferase (COMT)³⁰⁾, cholinesterase³¹⁾, 등으로 알려져 있으나, 담즙울체시에 이들 효소의 활성 변동 기전에 대해서는 현재까지 명확하게 알려진 것은 없다. 단지 담즙울체로 간조직에서 증가된 taurocholic acid(TCA)가 COMT⁹⁾, arylesterase³²⁾, carboxylesterase³³⁾의 활성을 억제한다는 기전은 일부 밝혀져 있다.

COMT는 catechol 및 catecholamine을 methyl化시키는 효소로 간세포의 cytosol, mitochondria 및 endoplasmic reticulum에 분포되어 있다²³⁾.

시호는 織形科에 속한 다년생 본초인 시호의 뿌리를 건조한 것으로 性은 微寒하고, 味는 微苦無毒¹²⁻¹⁵⁾하여 傷寒의 寒熱往來를 治하고, 陽氣를 升擧하는 작

용이 있어 氣虛下陷한 久瀉, 脫肛, 子宮下垂 등의 병증을 다스리며, 疏肝解鬱의 작용이 있어 胸脇苦滿 月經不調 頭痛目眩 등에 응용한다^{16,17)}. 이와 관련된 시호의 실험적 연구로는 강¹⁸⁾이 시호의 AAP로 유도된 급성 간독성에 대한 회복 효과를, 한¹⁹⁾은 시호수침이 혈청중 LDH, ALP, γ -GPT의 활성을 감소시키는 효능이 있음을 보고하였으며, 손²⁰⁾이 Hep G2에 대해 항종양효과와 항암제중 MMC와의 상승적 작용에 대해 보고하였다. 그러나 담즙 배설과 관련된 그 작용 기전에 대한 연구는 시행된 바 없다.

이에 담즙울체에 대한 시호의 작용 기전을 일부 밝히기 위하여 Ogawa²¹⁾의 방법에 따라 두 가지 실험 모델을 만들었다. 첫 번째 모델은 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체를 유발하였고, 두 번째 모델은 총담관결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 taurocholic acid를 상대정맥에 주입하여 담즙울체를 더욱 심화시켰다. 이상의 두 가지 모델에 시호 엑기스를 투여하면서 각각 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 실험 동물을 희생시켜 TCA에 의하여 활성이 감소한다는 간조직의 COMT의 활성을 관찰하여 담즙울체의 유발방법에 대한 시호의 효능을 상호 비교하였다.

흰쥐 간의 cytosol 분획 COMT 활성은 총담관을 결찰한 대조군 A와 총담관결찰후 TCA를 주입한 대조군 B 모두에서 시간이 경과함에 따라 활성이 감소되었으며, 특히 대조군 B에서 대조군 A에 비하여 활성이 감소하였으며, 이는 TCA가 cytosol 분획 COMT 활성을 강하게 억제한 결과로 생각된다. 총담관결찰후 검액을 투여한 실험군 A의 7일, 14일군에서 대조군 A에 비하여 각각 27% 및 74% 증가하였으며, 총담관결찰후 TCA주입군에 검액을 투여한 실험군 B에서는 2일, 3일, 7일 및 14일군에서 대조군 B에 비하여 각각 8%, 24%, 122% 및 152% 증가하여 실험군 A에 비하여 활성이 크게 증가되었다.

Mitochondria 분획 COMT 활성은 총담관을 결찰한 대조군 A와 총담관결찰후 TCA를 주입한 대조군 B 모두에서 시간이 경과함에 따라 활성이 감소되었으며, 특히 대조군 B에서 대조군 A에 비하여 활성이 감소하였으며, 이는 TCA가 mitochondria 분획

COMT 활성을 강하게 억제한 결과로 생각된다. 총담관결찰후 검액을 투여한 실험군 A의 7일, 14일군에서는 대조군 A에 비하여 각각 41%, 75% 증가하였으며, 총담관결찰후 TCA주입군에 검액을 투여한 실험군 B에서는 3일, 7일 및 14일군에서 대조군 B에 비하여 각각 13%, 71% 및 116% 증가하여 실험군 A에 비하여 높은 활성을 나타내었다.

Microsome 분획 COMT 활성은 총담관을 결찰한 대조군 A와 총담관결찰후 TCA를 주입한 대조군 B 모두에서 시간이 경과함에 따라 활성이 감소하였으며, 특히 대조군 B에서 대조군 A에 비하여 활성이 크게 감소하였다. 이는 TCA가 microsome 분획 COMT 활성을 강하게 억제한 결과로 생각된다. 총담관결찰후 검액을 투여한 실험군 A의 3일, 7일 및 14일군에서 대조군 A에 비하여 각각 6%, 34% 및 102% 증가하였으며, 총담관결찰후 TCA주입군에 검액을 투여한 실험군 B에서는 2일, 3일, 7일 및 14일군에서 대조군 B에 비하여 각각 11%, 25%, 80% 및 96% 증가하여 실험군 A에 비하여 활성의 증가폭은 상대적으로 크지는 않았다.

이상의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획 COMT 활성에서 총담관 결찰후 검액을 투여한 군과 총담관 결찰후 TCA를 주입한 다음 검액을 투여한 군 모두에서 유의성 있는 증가를 보였으며, cytosol 및 mitochondria 분획에서는 총담관 결찰후 TCA를 주입한 다음 검액을 투여한 군에서 유의성이 더 높게 나타났다.

본 실험에서 흰쥐 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획 COMT 활성은 총담관결찰후 TCA를 주입한 군에서 총담관을 결찰한 군에 비하여 억제되는 것으로 나타났다. 이는 담즙울체시에 이들 효소의 활성이 억제되는 것은 담즙울체로 간조직내에서 증가된 TCA가 관여함을 의미하며, 이는 TCA가 간 세포막을 손상시켜 간에서 이들 효소의 유출량을 증가시켜 나타난 결과라고 주장한 도⁹⁾의 보고와 일치하는 결과로 생각된다. 또한 실험군에서도 총담관결찰후 TCA주입군에 검액을 투여한 군에서 총담관결찰후 검액을 투여한 군에 비하여 이들 효소의 활

성 증가가 유의성이 더 높게 나타났으며, 이는 시호가 담즙울체로 간조직내 증가된 TCA를 억제함으로써 이들 효소의 활성을 증가시킨 것으로 생각된다. 하지만 총담관결찰후 ethanol을 투여하였을 때 이들 효소의 활성이 증가된다는 정¹⁰⁾의 보고와 비교할 때 시호의 효능에 대한 검증에는 더욱 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

실험에서 검액 투여 기간에 따른 활성 변동폭은 7일군과 14일군은 cytosol 분획 COMT의 활성 증가가 가장 뚜렷하였다. 즉, 총담관결찰만으로 담즙울체를 유발한 경우에 시호는 microsome 분획 COMT의 활성에 가장 예민하게 반응하는 것으로 나타났으며, 7일은 cytosol 분획 COMT 활성이, 14일군은 microsome 분획 COMT 활성이 가장 높은 활성의 증가를 나타내고, 총담관결찰후 TCA를 주입한 경우 시호는 mitochondria의 효소에 민감하게 작용함을 알 수 있다.

실험에서 측정된 여러 효소의 활성 가운데 검액 투여 후 1일과 2일 및 3일군에서 효소의 활성이 오히려 감소하거나 유의성이 나타나지 않은 경우는 경구 투여된 검액이 흡수되기까지의 시간과 관계가 있을 것으로 생각된다. 또한 총담관결찰에 따른 간조직의 변화는 총담관결찰 12시간 후에는 많은 간세포들의 괴사와 동시에 담도 세포도 증식되기 시작하며, 1일 후에는 간의 모든 부위에 괴사가 확산되고 괴사 부위에는 염증세포가 침윤하는 등 비교적 짧은 기간에 담즙울체가 심화되는데 비하여 검액 투여기간이 짧았던 이유에 기인하는 것으로 생각된다.

이상에서 총담관결찰과 총담관결찰후 TCA 주입으로 유발된 실험적 담즙울체간에서 시호는 mitochondria와 microsome 및 cytosol 분획의 억제된 COMT의 활성을 증가시키는 효능이 있었다. 또한 총담관결찰의 경우 이들 효소의 활성이 뚜렷하게 증가하였으며, 총담관결찰후 TCA를 주입한 경우에는 더욱 증가한 것으로 보아 시호는 담즙울체의 개선뿐만 아니라 담즙울체로 간조직내에서 증가된 TCA로 억제된 COMT 관련 유전자 발현을 증가시키는 것으로 추정되며, 향후 이에 관한 연구가 지속되어야 할 것

으로 생각된다.

결론

시호가 실험적 담즙울체에 미치는 효과의 기전을 일부 규명하기 위하여 총담관결찰 및 총담관결찰후 taurocholic acid를 주입하여 담즙울체를 유발시킨 다음, 시호 엑기스를 경구 투여하여 간조직의 mitochondria, microsome 및 cytosol 분획 COMT 활성을 측정 한 결과, cytosol, mitochondria 및 microsome 분획 COMT 활성은 총담관결찰후 시호를 투여한 군과 총담관결찰후 TCA를 주입한 다음 시호를 투여한 군 모두에서 유의성있게 증가하였으며, cytosol 및 mitochondria 분획에서는 총담관결찰후 TCA를 주입한 다음 시호를 투여한 군에서 유의성이 더 높게 나타났다.

참고문헌

1. Sherlock S, Dooley J. Diseases of the Liver and Biliary System. Cambridge Blackwell Scientific Publications. 1993;370-389.
2. Desmet VJ. Cholestasis; extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis. In: MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, Burt AD, Portman BC(eds), Pathology of the Liver 3rd ed.. New York: Churchill Livingstone. 1994;425-474.
3. 곽춘식, 김여희, 문교철. 흰쥐 담즙울체간의 Plasma Membrane, Mitochondria 및 Microsome의 5'-nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의대논문집. 1987;6(1):67-76.
4. 곽춘식. 흰쥐 담즙울체간의 Xanthine oxidase의 활성치. 계명의대논문집. 1985;4(2):125-130.
5. 곽춘식, 이숙형. 흰쥐 담즙울체간의 Carboxylesterase, Arylesterase 및 Cholinesterase의 활성도. 한국생화학회지. 1992;25(3):251-261.
6. 문교철, 곽춘식. 흰쥐 담즙울체간의 Monoamine oxidase의 활성치. 계명의대논문집. 1989;8(1): 69-77.
7. Mun KC. Catechol-O-methyltransferase activity in cholestatic rat's liver induced by bile duct ligation. J Biochem Mol Biol. 1996;29(2):142-145.

8. Borchardt RT. N- and O-methylation. In: Jakoby WB(ed), Method in Enzymology Vol. II, New York: Academic Press. 1980:43-62.
9. 도준영. Taurocholate 부하에 의한 흰쥐 간의 MAO A 및 B와 COMT의 합성 억제. 계명대학교대학원. 1998.
10. 전국한의과대학 간계내과학교수. 간계내과학. 서울: 동양의학연구원. 1992:24-30.
11. 김완희, 김광중. 장부학의 이론과 임상. 서울:일중사.1992:94-97.
12. 과학백과사전출판사. 약초의 성분과 이용. 서울:일월서각. 1991:435-438.
13. 이상인, 안덕균, 신민교, 노승현, 이영중, 김선희. 한약림상응용. 서울:성보사. 1990:63-65.
14. 신민교. 임상본초학. 4. 서울:영림사. 1997:354-355.
15. 전국한의과대학 본초학교수. 본초학. 서울:永林社. 1992:149-150.
16. 허준. 동의보감(三). 서울:대성문화사. 1992:230.
17. 안정화. 중약학. 북경:인민위생출판사.1991:102-103.
18. 강혜경. Acetaminophen에 의해 유도된 급성 간독성에 미치는 시호의 효과. 덕성여자대학교대학원. 1992.
19. 한상원. 용담초 및 시호 수침이 CCl4로 유발된 흰쥐의 손상간에 미치는 영향. 경산대학교대학원. 1992.
20. 손갑호. 시호 · 인진의 간암세포에 대한 항암활성 및 항암제와의 병용 투여효과. 대전대학교대학원. 1995.
21. Ogawa H, Mink J, hardison WGM, Miyai K. Alkaline phosphate activity in hepatic tissue and serum correlate with amount and type of bile acid load. Lab Invest. 1990;62(1):87-95.
22. 곽춘식, 곽정식, 흰쥐 간세포 분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명대의대논문집, 1986; 5(1):45-53.
23. Borchardt RT. Catechol-O-methyltransferase. In: Jakoby WB(ed). Method in Enzymology Vol. II. New York:Academic Press. 1980:43-62.
24. Jakoby WB, Bend JR, Caldwell J. Metabolic Basis of Detoxication(Metabolism of Functional Groups). New York:Academic Press. 1982:317.
25. Sherlock S, Dooley J. Diseases of the Liver and Biliary System. Cambridge:Blacjwell Scientific Publications. 1993:370-389.
26. Halsted JA. The Laboratory in Clinical Medicine. Interpretation and Application, Lodon: Saunders.

- 1976:426-429.
27. 해리스 내과학 편찬위원회. HARRISON'S 내과학. 서울:정담출판사. 1997:1554.
 28. 박춘식, 김여희, 문교철. 흰쥐 담즙울체간의 Plasma Membrane, Mitochondria 및 Microsome의 5'-nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의대논문집. 1987;6(1):67-76.
 29. 주일. 흰쥐 재생간과 담즙울체간에서의 Arylamine N-methyltransferase 및 Thiol methyltransferase 의 활성도. 계명대학교대학원. 1998.
 30. Mun KC Catechol-O-methyltransferase activity in cholestatic rat's liver induced by bile duct ligation, J Biochem Mol Biol. 1996;29(2):142-145.
 31. 김영진. 흰쥐 재생간과 담즙울체간에서의 Benzoyl-transferase 및 Phenylacetyltransferase의 활성도. 계명대학교 대학원. 1996.
 32. 한병훈, 김여희. 흰쥐 간의 Arylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향, 대한간학회지. 1997;3(2):154-169.
 33. 한병훈. 흰쥐 간의 Arylesterase와 Carboxylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향. 계명대학교 대학원. 1996.
 34. 정성광. Ethnol 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 간의 Monoamine Oxidase 및 Xanthine 활성에 미치는 영향. 계명대학교대학원. 1990.