

茵陳蒿湯加熊膽의 經口投與가 CCl₄ 投與로 誘發된 肝硬變에 미치는 影響

金建鎭* · 李衡殖** · 徐富一*** · 卞晟僖*** · 卞俊哲*** · 金相贊*

Abstract

Effect of oral administration of *Injinhotang* with bile extract of bear on carbon tetrachloride (CCl₄)-induced hepatic cirrhosis rat

Geonjin-Kim*, Hyungsik-Lee**, Buil-Seo***, Sunghui-Byun***, Joonseok-Byun***, Sangchan-Kim*
*College of Oriental Medicine, Kyungsan University, Daegu, 706-060, Korea
**Faculty of Natural Science, Kyungsan University, Kyungsan, 712-240, Korea
***Jeahan Oriental Medical Academy, Kyungsan University, Daegu, 706-060, Korea

In order to determine the effects of annexing bile extracts of bears on the anti-fibrotic effect of *Injinhotang*, Mix compound of *Injinhotang* and bile extracts of bears were administered to the carbon tetrachloride (CCl₄)-induced cirrhotic rats during 20 days and the changes of serum levels of GOT (glutamic-oxalacetic transaminase), GPT (glutamic pyruvic transaminase), LDH (lactate dehydrogenase), ALP (alanine phosphatase), GGT (gamma glutamyl transpeptidase) and T-BIL (total bilirubin) were monitored with comparison to the results of *Injinhotang* administered group.

* 경산대학교 한의과대학 방제학교실
** 경산대학교 자연과학부
*** 경산대학교 한의과대학 제한동의 학술원

The results were summarized as follows.

1. A significant ($p < 0.01$) increase of serum GOT levels were observed in control group compared to those of normal group but these increased levels were dramatically decreased in *Injinhotang* and *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group. In addition, a significant ($p < 0.05$) increase were also detected in *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group compared to that of *Injinhotang*-administered group.
2. A significant ($p < 0.01$) increase of serum GPT levels were observed in control group compared to those of normal group but these increased levels were dramatically decreased in *Injinhotang* and *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group. Although significances were not recorded, increase of serum GPT levels were also detected in *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group compared to that of *Injinhotang*-administered group.
3. A significant ($p < 0.01$) increase of serum LDH levels were observed in control group compared to those of normal group but these increased levels were dramatically decreased in *Injinhotang* and *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group. Although significances were not recorded, increase of serum LDH levels were also detected in *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group compared to that of *Injinhotang*-administered group.
4. A significant ($p < 0.01$ or $p < 0.05$) increase of serum ALP levels were observed in control group compared to those of normal group but these increased levels were dramatically decreased in *Injinhotang* and *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group. In addition, a significant ($p < 0.05$) increase were also detected in *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group compared to that of *Injinhotang*-administered group.
5. A significant ($p < 0.01$) increase of serum GGT levels were observed in control and *Injinhotang*-administered group compared to those of normal group but these increased levels were dramatically decreased in *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group.
6. A significant ($p < 0.01$) increase of serum T-BIL levels were observed in control group compared to those of normal group but these increased levels were dramatically decreased in *Injinhotang* and *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group. Although significances were not recorded, increase of serum T-BIL levels were also detected in *Injinhotang* with Fel Ursi-administered group compared to that of *Injinhotang*-administered group.

In conclusion, it is considered that bile extract of bears has some additional effect to the anti-fibrotic effect of *Injinhotang* but to know the exact mechanism of suitable dose and duration of administration, further studies such as pharmacokinetics and dose-dependent pharmacological studies were needed

I. 緒 論

바이러스와 중독성 藥物로 誘發되는 急性肝損傷은 전격성 肝炎, 急性 및 亞急性 肝壞死 등이 이에 속하고, 이 경우 肝組織이 破壞 萎縮되고 機能이 상실되며, 예후는 극히 불량한 것으로 알려져 있다¹⁾, 誘發因子로는 virus와 carbon tetrachloride (CCl₄), thioacet amide, chloroform, phosphorus, ethionine, dimethyl nitrosamine 등의 藥物이 있다²⁾. 肝損傷 또는 肝硬變時의 藥物의 효과를 평가하는 경우, 가장 널리 사용되는 지표는 血液化學의 지표인 血清 중의 GOT(glutamic oxalacetic transaminase), GPT(glutamic pyruvic transaminase), LDH(lactate dehydrogenase), GGT(gamma glutamyl transpeptidase), ALP(alkaline phosphatase) 및 T-BIL (total bilirubin)의 수치 變化와 肝의 직접적인 組織上的 變化 및 肝臟重量의 變化를 들 수 있으며, 이중 血清 GOT와 GPT는 心臟筋과 肝細胞 내에 있는 특성효소로서 조직세포의 손상에 의해 血清 중의 활성도가 증가된다.

이들 두 인자의 활성도上昇은 肝膽道疾患, 心臟疾患에서 일어나고, 특히 急性 또는 慢性 肝炎時에 현저한 것으로 알려져 있어^{3,4)}, 肝炎 또는 肝硬變時 藥物의 효과를 평가하는 가장 기본적인 지표로 알려져 있다. 또한 血清 LDH의上昇은 肝臟, 心臟, 腎臟 등의 각종 疾患과 惡性腫瘍, 惡性貧血 등에서 관찰되어 肝疾患에 대한 藥物의 효과를 평가하는 하나의 지표로 이용되고 있으며, 血清 ALP 活性도의 상승은 주로 骨疾患, 妊娠, 惡性腫瘍, 閉塞性黃疸, 急性肝炎, 肝硬變, 轉移性肝癌 등에서 나타나며, 이는 腸管, 肝, 胎盤 등에서 생성되어 膽汁中으로 배설되는데, 肝의 排泄機能에 장애가 일어나면 ALP의 합성이 증가되고 膽汁으로부터 혈액 내로 逆流現狀을 일으켜 血中濃度가 상승하게 되는데, 증상이 뚜렷

하지 않은 肝疾患의 진단에 유용하다⁵⁾. 또한 GGT는 膽汁 鬱滯性 肝疾患時 상승되므로 肝의 門脈-膽道疾患의 지표로 이용되고 있다³⁾. 血清 T-BIL의 상승은 體內 溶血의 亢進, 肝內 膽汁鬱滯, 肝外 膽汁鬱滯, 肝細胞의 bilirubin 처리 과정의 이상에서 나타나며, 肝硬變에 대한 藥物의 효과 평가시 매우 유용한 지표로 알려져 있다⁵⁾.

茵陳蒿湯은 A.D. 200년경 漢代 張仲景의 <傷寒論>⁶⁾ 245條에 “陽明病, …… 但頭汗出, 身無汗, 劑頸而還, 小便不利, 渴引水漿者, 此爲 瘀熱在裏, 身必發黃, 茵陳蒿湯主之.”라 하여 최초로 기재된 이후 韓醫學에서는 肝臟疾患에 주로 이용되어져 오고 있다.

한편 現在까지 CCl₄로 유발된 肝硬變 모델에서 化學合成藥物의 효과에 대해 Suzuki⁷⁾가 malotilate의 항섬유화(anti-fibrotic) 효과를 보고하였으며, Jiang 등⁸⁾은 16,16-dimethyl prostaglandin E₂(DMPGE₂), colchicine 및 zinc sulphate의 예방효과를 보고하였다. Simko 등⁹⁾은 acetylcysteine의 효과를 CCl₄의 장기투여로 유발된 rat 肝硬變 모델에서 관찰하는 등 化學合成物의 항섬유화 및 肝硬變 예방효과를 관찰한 보고는 매우 많이 존재하고, 한약제제의 효과를 관찰한 보고들로는 Radix Salviae Miltorrhizae (丹參: RSM), Flos Carthami (紅花: FC), Radix Angelicae Sinensis (當歸: RAS) 및 Semen Persicae (桃仁: SP)¹⁰⁻¹⁴⁾ 등의 藥材로 CCl₄로 유발된 rat 肝硬變 모델에서 肝硬變의 예방효과를 보고하는 등 쉽게 한약제제의 항섬유화 효과를 관찰한 논문을 찾아볼 수 있으나, 이들 대부분이 단기적인 CCl₄ 투여에 의해 유발된 肝損傷時의 효과를 평가하였을 뿐 장기적인 CCl₄ 투여에 의해 유발된 肝硬變時에 미치는 영향에 대한 보고는 극히 드물다.

우리나라에서는 李¹⁵⁾가 茵陳蒿湯의 약침과 경구투여가 CCl₄로 유발된 간 손상을 어느

정도 완화시킨다고 보고하였고, 朴¹⁶⁾은 인진호탕이 CCl₄중독가토의 간기능에 미치는 영향을 보고하였으며, Lee¹⁷⁾는茵陳蒿湯을 10주간의 CCl₄ 투여에 의해 유발된 rat 肝硬變 모델에서 20일간 경구투여한 결과 이 약물이 어느 정도 양호한 항섬유화 효과를 가지고 있다고 하였으나, 이러한 항섬유화 효과를 보기 위해서는 상당량의茵陳蒿湯 추출물을 오랫동안 투여하여야 한다고 보고하여,茵陳蒿湯을 肝硬變 치료에 적용하기 위해서는 다른 유효한 약물을 병용하여 투여량과 투여기간을 낮출 필요가 있을 것으로 지적하였다.

따라서 본 연구에서는茵陳蒿湯의 투여량과 투여기간을 낮추기 위한 방편으로 동물성 담즙성분인熊膽의 첨가가茵陳蒿湯의 항섬유화 효과에 미치는 영향을 관찰하기 위하여, CCl₄를 10주간투여 하여 유발된 rat 肝硬變 모델에茵陳蒿湯加熊膽을 20일 동안 경구투여하고, 肝硬變 진단 지표인血清 중 GOT, GPT, LDH, ALP, GGT 및 T-BIL 수치의變化를 관찰하여茵陳蒿湯 단독투여시의 결과와 비교하였다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗動物 및 飼養管理

체중 180g내외의 Fisher 344계 암컷 rat (Charles River, Japan)를 고형사료 (삼양사, 서울)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 1주일간 적응시킨 후 正常群, 對照群, 茵陳蒿湯 및 茵陳蒿湯加熊膽 投與群으로 구분하여 각각 10 마리씩 실험에 사용하였다. 실험동물은 온도 (20~25°C)와 습도 (30~35%)가 조절된 사육실에서 5 마리씩 polycarbonate rat cage에 수용하여 사육하였으며, 환기횟수는 11~12회/hr, 조명은 12hr/day를 유지하였

다. 실험 시작시의 체중은 암컷 200~210g이었다. 실험동물의 식별은 picric acid를 이용하여 표시하였다.

2. 藥材 및 經口用 檢液의 調製

1) 藥材

(1) 茵陳蒿湯

시중에서 구입한 것 중 HPLC (high performance lipid chromatography)를 이용하여 순도를 평가한 후 불순물의 농도가 1%이하인 약제를 선정하여 사용하였으며, 그 처방 내용 및 한貼의 분량은 Table 1과 같다.

(2) 熊膽

熊膽 (러시아산, 불곰)은 시중에서 구입하여 사용하였으며, 구입한 담즙은 HPLC를 이용하여 순도를 평가한 후 불순물의 농도가 1%이하인熊膽을 동결 건조하여 분말 상태로 만들어 습기가 없는 desiccator에 실험 기간 동안 보관하면서 사용하였다.

Table 1. Composition of *Injinhotang* used in this study.

Herbs	Amount(g)
Herba Artemisiae Capillaris(茵陳)	40g
Fructus Gardeniae (梔子)	20g
Rhizome Rhei (大黃)	8g
Total amount(g)	68g

2) 檢液의 調製

(1) 茵陳蒿湯

HPLC를 이용하여 순도를 측정된 약제 10貼 분량 680g을 취하여 물로 가열 추출한 후 흡입 여과한 여과액을 rotary evaporator로 감압 농축하여 점조성의 추출물 142.6g(수율 20.9%)을 얻어 실험에 사용하였다.

(2) 茵陳蒿湯加熊膽

상기에서 조제된 10貼 분량의 茵陳蒿湯 점 조성의 추출물 142.6g에 2g의 동결건조 熊膽을 첨가하여 실험에 사용하였다.

3. 肝硬變 誘發 및 檢液의 投與

1) 肝硬變 誘發

對照群 및 投與群에서는 Carbon tetrachloride를 0.5ml/kg body weight (10% dissolved in olive oil)씩 매일 10 주간 복강 투여하여 肝硬變을 유발하였으며, 正常群에서는 CCl₄를 투여하는 대신 동일한 량의 生理食鹽水를 동일한 방법으로 투여하였다. CCl₄를 10주간 투여한 후 체중을 측정하여 증체량의 감소가 유사한 실험동물 20마리를 선정하여 對照群, 茵陳蒿湯 및 茵陳蒿湯加熊膽 投與群으로 각 10마리씩 사용하였다.

2) 檢液의 投與

茵陳蒿湯 및 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 70% ethanol에 12시간 침적하여 멸균한 rat 용 철제 경구주입기 (직경 1.5×70mm, 명진사,

서울)를 사용하여 제조된 각각의 검액 1,000 mg/kg을 20일 동안 매일 경구 투여하였으며, 투여시 검액은 멸균된 주사용 증류수에 현탁하여 20ml/kg으로 투여하였다. 對照群 및 正常群에서는 멸균된 주사용 증류수를 동일한 방법으로 투여하였다. 실험동물의 검액 투여 및 식별은 Table 2에 기록하였다.

Table 2. Experimental design used in this study.

Group	Animal No.	No. of animal	Dosage (ml/kg)	Dose (mg/kg)
Normal	1~10	10	20	0
Control	11~20	10	20	0
Treatment 1	21~30	10	20	1,000
Treatment 2	31~40	10	20	1,000

Control: control grouped injected with 0.5 ml/kg (10% dissolved in olive oil) of CCl₄ by peritoneal injection during 10 weeks.

Treatment 1: *Injinhotang* administrated group
Treatment 2: *Injinhotang* plus bile extract from bear administered group

Table 3. Items for serum biochemistry measurements used in this study.

Item	Method	Unit
GOT (glutamic oxalacetic transaminase)	Retiman-Frankel ²⁾	IU/ℓ
GPT (glutamic pyruvic transaminase)	Retiman-Frankel ²⁾	IU/ℓ
LDH (lactate dehydrogenase)	Cabaud Wröblewski ²⁾	IU/ℓ
ALP (alkaline phosphatase)	Kind-King ²⁾	IU/ℓ
GGT (gamma glutamyl transpeptidase)	Kind-King ²⁾	IU/ℓ
T-BIL (total bilirubin)	Retiman-Frankel ²⁾	mg/dℓ

Items were measured by auto dry chemistry analyzer (Spotochem 406010, Kyoto daiichi kagaku Co., Ltd., Japan)

4. 血清成分 分析

모든 실험동물을 검액투여 20일 후 하루동안 절식시킨 다음 Rompun® (xylazine hydrochloride, 유한양행) 0.2mg/kg을 근육 주사하여 진정시키고, ketalar® (ketamine hydrochloride, 유한양행) 1mg/kg을 근육 주사하여 마취시킨 후, 복강을 절개한 다음 복대정맥을 노출시켜 5ml의 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 실온에서 24시간이상 방치시킨 후 3000rpm에서 15분간 원심 분리하여 血清 (serum)을 분리하고, Table 3과 같이 성분 함량을 검사하였다.

5. 統計分析

모든 수치는 Levene's test를 이용하여 자료의 분산성을 검정한 후 등분산일 경우 ANOVA 검정으로, 부등분산일 경우에는 Kruskal-Wallis 검정으로 군간의 차이를 측정하였으며, 유의성이 발견될 경우 Scheffe's test 또는 Mann-Whitney Wilcoxon's test를 실시하여 p value가 0.05 이하일 경우 유의성을 인정하였고, 통계처리는 SPSS for Windows (Release 6.1.2, SPSS Inc., USA)를 사용하였다.

Ⅲ. 實驗成績

1. 血清 중 GOT 數値의 變化

正常群에서는 81.47 ± 19.96 IU/ℓ로 관찰되었으나, 對照群에서는 正常群에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 증가되어 213.27 ± 45.35 IU/ℓ로 관찰되었다. 한편 茵陳蒿湯 投與群에서는 對照群에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 감소되어 123.49 ± 41.48 IU/ℓ를 나타내었으나, 여전히 正常群에 비해 유의성 있는 (p<0.05) 증가를 나타내었다. 한편 茵陳蒿湯 加熊膽 投與群에서는 98.37 ± 33.58 IU/ℓ로 관찰되어 對照群에 비해 유의성 있는 (p<0.01) 감소가 인정되었고, 茵陳蒿湯 投與群에 비해서도 유의성 있는 (p<0.05) 감소가 인정되었다 (Table 4, Fig 1).

2. 血清 중 GPT 數値의 變化

正常群에서는 27.53 ± 9.39 IU/ℓ로 관찰되었으나, 對照群에서는 正常群에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 증가되어 99.35 ± 37.16 IU/ℓ로 관찰되었다. 茵陳蒿湯 投與群에서는 對照群에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 감소되

Table 4. Changes of serum GOT levels after administration of CCl₄

Group	No. of animal	Serum GOT level (IU/ ℓ)
Normal	10	81.47 ± 19.96 ^{A)}
Control	10	213.27 ± 45.35*
<i>Injinhotang</i>	10	123.49 ± 41.48**#
<i>Injinhotang</i> with Fel Ursi	10	98.37 ± 33.58 ^{#,a}

A : Mean ± Standard deviation
 * : p<0.01 compared with that of normal group
 ** : p<0.05 compared with that of normal group
 # : p<0.01 compared with that of control group
 a : P<0.05 compared with that of *Injinhotang* group

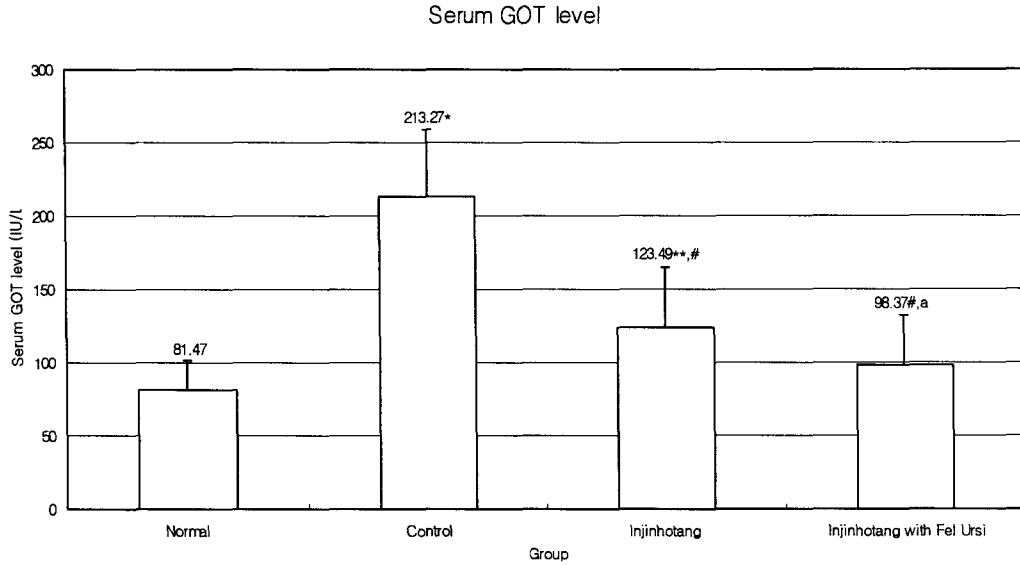


Fig 1. Changes of serum GOT levels after administration of CCl₄

- * : p<0.01 compared with that of normal group
- ** : p<0.05 compared with that of normal group
- # : p<0.01 compared with that of control group
- a : P<0.05 compared with that of *Injinhotang* group

Table 5. Changes of serum GPT levels after administration of CCl₄

Group	No. of animal	Serum GPT level (IU/ l)
Normal	10	27.53 ± 9.39 ^{A)}
Control	10	99.35 ± 37.16*
<i>Injinhotang</i>	10	53.25 ± 18.31 ^{**,#}
<i>Injinhotang</i> with Fel Ursi	10	48.27 ± 21.35 ^{**,#}

A : Mean ± Standard deviation

- * : p<0.01 compared with that of normal group
- ** : p<0.05 compared with that of normal group
- # : p<0.01 compared with that of control group

어 53.25 ± 18.31 IU/l 를 나타내었으나, 여전히 正常群에 비해 유의성 있는(p<0.05) 증가를 나타내었다. 한편 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 48.27 ± 21.35 IU/l 로 관찰되어 對照群에 비해 유의성 있는 (p<0.01) 감소가

인정되었으나, 茵陳蒿湯 投與群과 유사하게 여전히 正常群에 비해 유의성 있는 (p<0.05) 증가가 인정되었다 (Table 5, Fig 2).

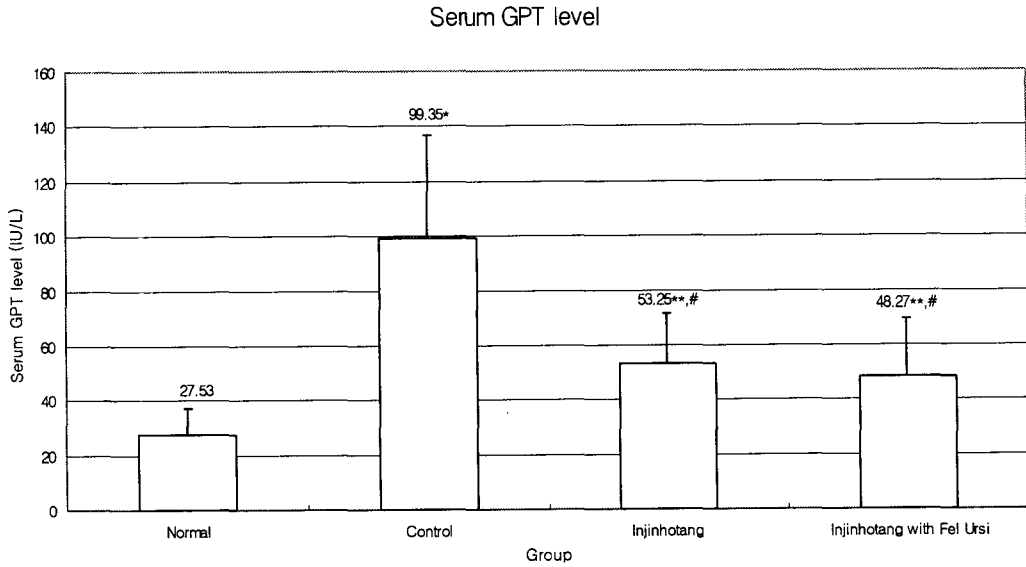


Fig 2. Changes of serum GPT levels after administration of CCl₄

- * : p<0.01 compared with that of normal group
- ** : p<0.05 compared with that of normal group
- # : p<0.01 compared with that of control group

Table 6. Changes of serum LDH levels after administration of CCl₄

Group	No. of animal	Serum LDH level (IU / l)
Normal	10	123.45 ± 31.27 ^{A)}
Control	10	243.27 ± 99.61*
<i>Injinhotang</i>	10	131.48 ± 21.35 [#]
<i>Injinhotang</i> with Fel Ursi	10	128.31 ± 21.55 [#]

- A : Mean ± Standard deviation
- * : p<0.01 compared with that of normal group
- # : p<0.01 compared with that of control group

3. 血清 중 LDH 數値의 變化

正常群에서는 123.45 ± 31.27 IU/ℓ 로 관찰되었으나, 對照群에서는 正常群에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 증가되어 243.27 ± 99.61 IU/ℓ 로 관찰되었다. 茵陳蒿湯 投與群에서는 對照群에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 감소되

어 131.48 ± 21.35 IU/ℓ 를 나타내어 正常群과 유사하게 관찰되었다. 한편 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 128.31 ± 21.55 IU/ℓ 로 관찰되어 對照群에 비해 유의성 있는 (p<0.01) 감소가 인정되었고, 茵陳蒿湯 投與群과 유사하게 正常群과 유사하게 관찰되었다 (Table 6, Fig 3).

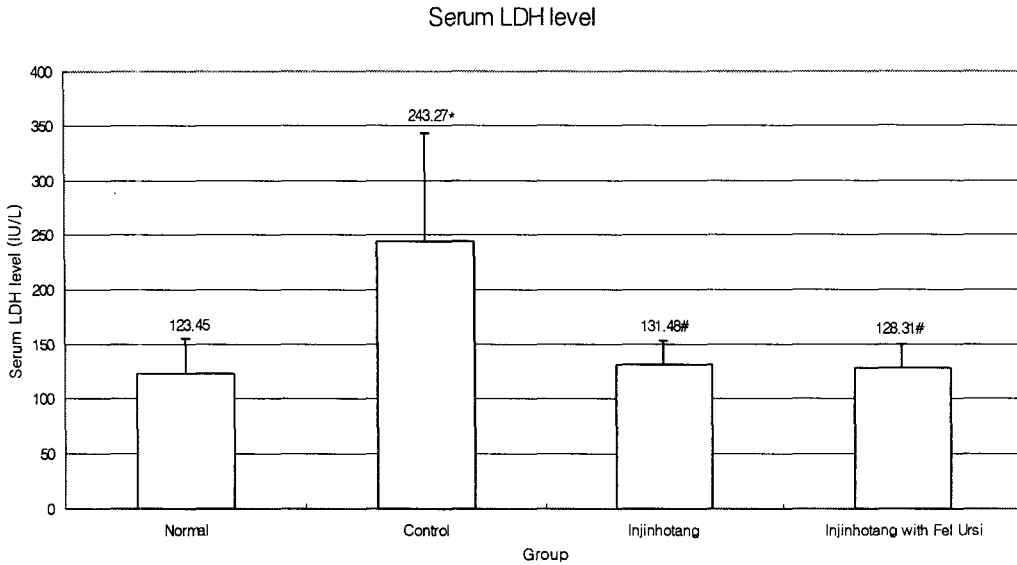


Fig 3. Changes of serum LDH levels after administration of CCl₄

* : p<0.01 compared with that of normal group
: p<0.01 compared with that of control group

Table 7. Changes of serum ALP levels after administration of CCl₄

Group	No. of animal	Serum ALP level (IU/l)
Normal	10	174.36 ± 28.45 ^{A)}
Control	10	335.78 ± 97.72*
<i>Injinhotang</i>	10	293.45 ± 98.31 ^{*,##}
<i>Injinhotang</i> with Fel Ursi	10	201.68 ± 51.19 ^{#,a}

A : Mean ± Standard deviation

* : p<0.01 compared with that of normal group

: p<0.01 compared with that of control group

: p<0.05 compared with that of control group

a : P<0.05 compared with that of *Injinhotang* group

4. 血清 중 ALP 數値의 變化

正常群에서는 174.36 ± 28.45 IU/l로 관찰되었으나, 對照群에서는 正常群에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 증가되어 335.78 ± 97.72 IU/l로 관찰되었다. 茵陳蒿湯 投與群에서는 對照群에 비해 유의성 있게 (p<0.05) 감소되어 293.45 ± 98.31 IU/l를 나타내었으나, 여

전히 正常群에 비해 유의성 있는(p<0.01) 증가를 나타내었다. 한편 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 201.68 ± 51.19 IU/l로 관찰되어 對照群에 비해 유의성 있는 (p<0.01) 감소가 인정되었고, 茵陳蒿湯 投與群에 비해서도 유의성 있게 (p<0.05) 감소하여 正常群과 유사하게 관찰되었다 (Table 7, Fig 4).

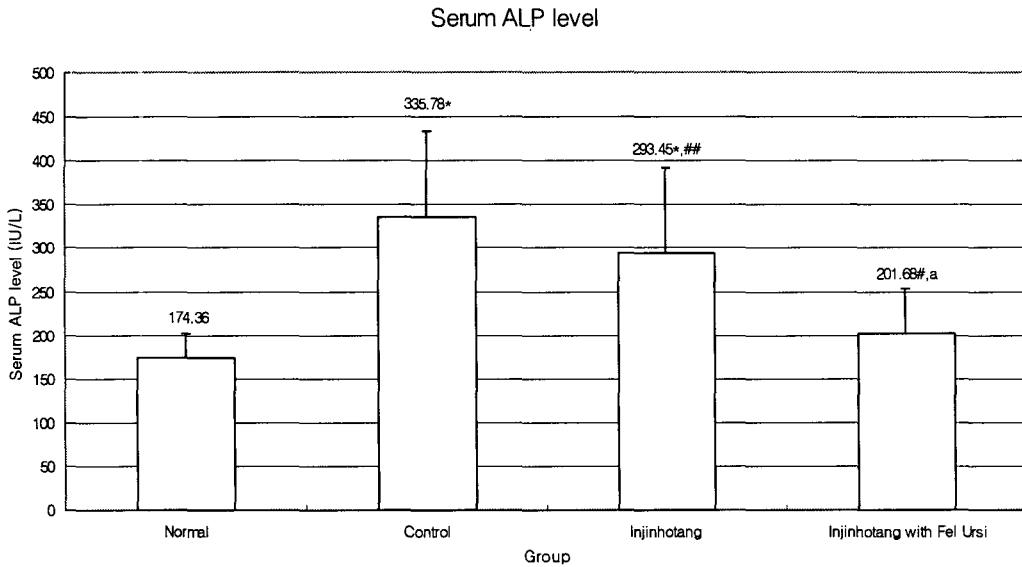


Fig 4. Changes of serum ALP levels after administration of CCl₄

- * : p<0.01 compared with that of normal group
- # : p<0.01 compared with that of control group
- ## : p<0.05 compared with that of control group
- a : P<0.05 compared with that of *Injinhotang* group

Table 8. Changes of serum GGT levels after administration of CCl₄

Group	No. of animal	Serum GGT level (IU/l)
Normal	10	2.36 ± 0.29 ^{A)}
Control	10	9.92 ± 4.25*
<i>Injinhotang</i>	10	8.27 ± 5.35*
<i>Injinhotang</i> with Fel Ursi	10	5.91 ± 1.39 ^{**, #, a}

- A : Mean ± Standard deviation
- * : p<0.01 compared with that of normal group
- ** : p<0.05 compared with that of normal group
- # : p<0.01 compared with that of control group
- a : P<0.05 compared with that of *Injinhotang* group

5. 血清 중 GGT 數値의 變化

正常群에서는 2.36 ± 0.29 IU/l로 관찰되었으나, 對照群 및 茵陳蒿湯 投與群에서는 正常群에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 증가되어 각각 9.92 ± 4.25 및 8.27 ± 5.35IU/l를 나

타내었다. 한편 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 5.91 ± 1.39 IU/l로 관찰되어 對照群에 비해 유의성 있는 (p<0.01) 감소가 인정되었고, 茵陳蒿湯 投與群에 비해서도 유의성 있게 (p<0.05) 감소하였다 (Table 8, Fig 5).

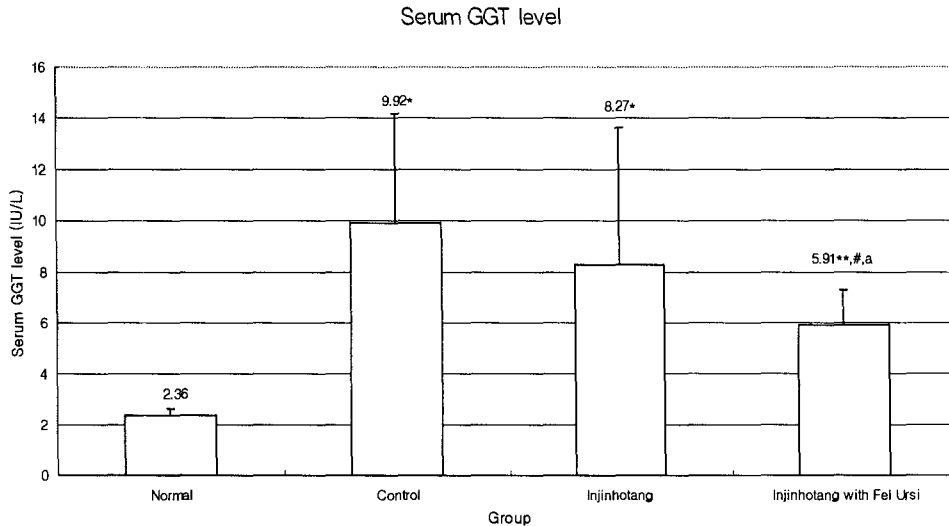


Fig 5. Changes of serum GGT levels after administration of CCl₄

- * : p<0.01 compared with that of normal group
- ** : p<0.05 compared with that of normal group
- # : p<0.01 compared with that of control group
- a : P<0.05 compared with that of *Injinhotang* group

6. 血清 중 T-BIL 數値의 變化

正常群에서는 0.31 ± 0.16 mg/dl로 관찰되었으나, 對照群에서는 正常群에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 증가되어 1.29 ± 0.97 mg/dl로 관찰되었다. 茵陳蒿湯 投與群에서는 對照群에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 감소되어 0.55 ± 0.31 mg/dl를 나타내었으나, 여전히 正常群에

비해 유의성 있는(p<0.01) 증가를 나타내었다. 한편 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 0.48 ± 0.21 mg/dl로 관찰되어 茵陳蒿湯 投與群과 유사하게 對照群에 비해 유의성 있는 (p<0.01) 감소가 인정되었으나, 여전히 正常群에 비해 유의성 있는 (p<0.05) 증가가 인정되었다 (Table 9, Fig 6).

Table 9 Changes of serum T-BIL levels after administration of CCl₄

Group	No. of animal	Serum T-BIL level (mg/dl)
Normal	10	0.31 ± 0.16 ^{A)}
Control	10	1.29 ± 0.97*
<i>Injinhotang</i>	10	0.55 ± 0.31* [#]
<i>Injinhotang</i> with Fel Ursi	10	0.48 ± 0.21** [#]

A : Mean ± Standard deviation

- * : p<0.01 compared with that of normal group
- ** : p<0.05 compared with that of normal group
- # : p<0.01 compared with that of control group

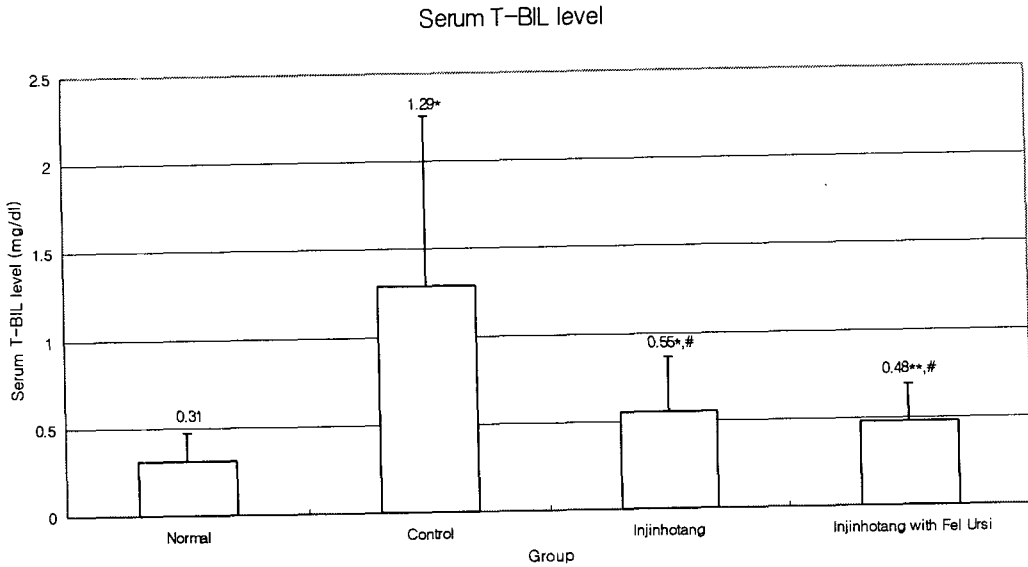


Fig 6 Changes of serum T-BIL levels after administration of CCl₄

- * : p<0.01 compared with that of normal group
- ** : p<0.05 compared with that of normal group
- # : p<0.01 compared with that of control group

IV. 考 察

肝硬變時에는 血液化學的으로 혈액중의 T-BIL, bile acid, GOT, GPT, GGT 및 ALP 의 상승되는 반면 BUN (blood urea nitrogen), glucose, albumin 및 총 단백질량은 감소되고, 그외 creatinine, cholesterol, triglyceride, Ca, P, Na, K, 탄산 (HCO₃), Cl, CPK (creatine phosphokinase), amylase, lipase 및 globulin의 양은 정상 수치를 나타낸다. 또한 혈액학적으로는 총赤血球數, hemoglobin, hematocrit 및 망상적혈구의 수 적감소가 관찰될 뿐 기타 총白血球數, band neutrophil, 중성호성백혈구, 임파구, 단핵구, 산호성 백혈구, 염기호성 백혈구, MCV, 유핵 적혈구, Heinz bodies 및 혈소판은 정상범위

로 관찰된다³⁾. 장기간의 CCl₄ 투여시 실험동물은 심한 복수의 형성과 탈수에 의한 체중 감소를 나타낸다.

특히 Jonassen 등¹⁸⁾은 CCl₄를 장기간 투여하면 Henle's loop에서 sodium 이온의 재흡수가 증가되며, 이 결과 다량의 복수가 형성된다고 하였다. 또한 Rothuizen 등¹⁹⁾은 肝硬變뿐만 아니라 대부분의 만성 肝疾患時 물과 sodium 이온의 恒常성이 파괴되어 sodium 이온의 체내 정체와 복수의 형성이 초래된다고 하였다. 한편 茵陳蒿湯은 傷寒論⁶⁾에서 茵陳, 梔子 및 大黃의 3종으로 구성된 이래 각 의학 서적에서 구성의 변화는 찾아볼 수 없었으며, 한의학에서는 다양한 肝疾患의 치료제로 사용되어져 왔다. 각 약물의 性味, 歸經, 效能 및 作用을 살펴보면 茵陳은 苦, 平, 微寒하며 膀胱, 脾, 胃, 肝, 膽經으로 入하여 發汗利水, 清熱利濕하고 黃疸, 小便不利, 頭重

등 濕熱로 인한 질환에 사용된다. 梔子는 性味가 苦, 寒하고 心, 肺, 胃, 三焦, 膀胱經으로 入하여 瀉心肺之邪, 三焦鬱火而解, 清利濕熱하며 熱病心煩, 五黃五淋, 目赤咽痛, 面赤, 吐血, 煩渴 등 火로 인한 질환에 사용한다. 大黃은 主로 苦, 寒하고 歸經으로 脾, 胃, 肝, 大腸, 三焦經으로 入하여 瀉下攻積, 瀉火涼血, 清熱解毒하며, 發熱譫語, 黃疸水腫, 腹痛裏急, 留飲宿食 등을 치료한다.

또 熊膽은 苦寒無毒하고 肝膽心經으로 入하여, 驚風 癲癇 抽搐 目赤腫痛 羞明 翳障 咽喉腫痛등을 치료하는 藥으로 主로 肝膽心の 熱을 제거하는데 사용된다²⁰⁾.

일반적으로 GOT로 알려져 있는 aspartate transferase는 미토콘드리아에 부착되어 있는 효소이다. 이 효소는 일반적인 체 조직에서 쉽게 관찰되나 간과 횡문근 (striated muscle)에 특히 높은 활성도를 나타내는 것으로 알려져 있다^{3,21)}. GOT는 횡문근의 괴사 또는 간세포의 변성 및 괴사 시에 증가됨에 따라, 용혈 (hemolysis) 또는 지방혈증 (lipema) 시에도 약간의 증가가 인정되나 일반적으로 GOT의 상승은 근육의 괴사 또는 간세포의 괴사를 의미하는 것으로 받아들여지고 있다^{3,21)}. 생후 6개월령 이하인 암컷 rat의 정상 GOT 수치는 93 ± 30.3 IU/l로 알려져 있으며, 보통 65~132 IU/l의 범위에 포함되면 정상으로 간주한다²²⁾.

한편 CCl₄투여 시 GOT의 급격한 상승은 이미 잘 알려져 있으며, Zhu 등²³⁾은 肝硬變시 상승된 GOT 수치가 감소됨으로 rapamycin이 간 섬유화를 억제한다고 하였고, 이와 유사하게 alpha tocopherol²⁴⁾ 및 colchicine²⁵⁾의 효과를 CCl₄로 유발된 肝硬變 모델 rat에서 평가함에 있어서 상승된 GOT수치의 감소가 초래됨으로 이들 약물이 유효할 것으로 생각된다고 하였다.

또한 Fontana 등²⁶⁾은 CCl₄로 유발되는 肝

硬變 모델에서 polyunsaturated fatty acid 및 nucleotide의 투여로 GOT의 상승이 더욱 촉진되므로 이물질이 肝硬變을 악화시킨다고 하였으며, 이와 유사하게 L-tryptophan 역시 CCl₄로 유발되는 肝硬變을 더욱 악화시킨다고 하였다²⁷⁾.

본 연구의 결과 正常群에서의 GOT수치는 정상 rat의 GOT범위²²⁾에 포함되는 것으로 관찰되었으나, CCl₄를 투여한 모든 실험동물에서 GOT의 급격한 상승이 관찰되어 이전의 보고들^{23~27)}과 유사하였다. 그러나 茵陳蒿湯 및 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 對照群에 비해 현저히 감소되는 것으로 관찰되어 이 약물이 肝硬變에 어느 정도 유효할 것으로 생각되나, 茵陳蒿湯의 경우 Lee의 보고¹⁷⁾와 유사하게 비교적 장기간의 투여로 생각되는 20일간의 투여 후에도 여전히 正常群에 비해 혈중 GOT의 상승이 인정된 점으로 보아 좀더 장기간의 약물 투여 또는 고용량의 투여가 필요할 것으로 생각되었다. 그러나 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 茵陳蒿湯 단독 투여 시보다 유의성 있는 ($p < 0.05$) GOT의 감소가 관찰되어 熊膽의 첨가로 茵陳蒿湯의 용량 및 투여시기를 줄일 수 있는 것으로 생각된다.

흔히 GPT라 불리는 alanine transferase는 포유류의 간세포 (hepatocyte)에 다량 존재하는 효소로, 간세포의 파괴 또는 손상시 혈중으로 유리되는 것으로 알려져 있다^{3,21)}. GPT의 상승은 그 原因과 가역성은 알 수 없으나, 심한 간세포의 손상이 존재한다는 하나의 지표로 이용될 수 있으며, 정상 수치 보다 3배 이상의 상승이 관찰되면 2~5일 이내에 심각한 간 손상이 유발되었다고 말할 수 있는 것으로 알려져 있다^{3,21)}.

생후 6개월령 이하인 암컷 rat의 정상 GPT 수치는 44 ± 23.9 IU/l로 26~59 IU/l의 범위내에 포함되면 정상수치로 간주한다²²⁾. GOT의 상승과 함께 GPT의 상승은 CCl₄투여

로 유발되는 肝硬變의 정도를 평가하는데 중요한 지표가 된다. 한편 CCl₄에 의해 유발된 肝硬變 모델에서 약물의 효과를 평가하는데 있어서 Fort 등²⁸⁾은 상승된 GPT수치가 장기간의 interferon alpha투여에 의해 감소되므로 이 약물이 肝硬變의 치유에 유효하다고 보고하였으며, 이와 유사한 방법으로 colchicine과 trimethylcolchicinic acide²⁹⁾, ellagic acid³⁰⁾, cimetidine³¹⁾, acyclic retinoid³²⁾, beta-hexosaminidase³³⁾ 및 silymarin³⁴⁾ 등 많은 약물의 효과가 CCl₄ 肝硬變모델에서 평가되었다. 본 연구의 결과 正常群에서의 GPT수치는 정상 rat의 GPT범위²²⁾에 포함되는 것으로 관찰되었으나, CCl₄를 투여한 모든 실험동물에서 GPT의 급격한 상승이 관찰되어 이전의 보고들²⁸⁻³⁴⁾과 유사하였다.

한편 茵陳蒿湯 및 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 對照群에 비해 GPT의 수치가 현저히 감소되는 것으로 관찰되어 이 약물이 肝硬變에 어느 정도 유효할 것으로 생각되나, 茵陳蒿湯 단독 투여의 경우 Lee의 보고¹⁷⁾와 유사하게 비교적 장기간의 투여로 생각되는 20일간의 투여후에도 여전히 正常群에 비해 혈중 GPT의 상승이 인정된 점으로 보아 좀더 장기간의 약물 투여 또는 고용량의 투여가 필요할 것으로 생각되었다. 그러나 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 유의성은 인정되지 않으나, 수치적으로 茵陳蒿湯 단독 투여시보다 GPT의 감소가 관찰되어 熊膽의 첨가로 茵陳蒿湯의 용량 및 투여시기를 줄일 수 있는 것으로 생각된다.

血清 LDH의 상승은 肝臟, 心臟, 腎臟 등의 각종 질환과 惡性腫瘍, 惡性貧血 등에서 관찰되어 간질환에 대한 약물의 효과를 평가하는 하나의 지표로 이용되고 있으며⁵⁾, 생후 10주령 이하인 암컷 rat의 정상 LDH수치는 평균 89.3 IU/l 이고, 통상 51~153 IU/l 의 범위 내에 존재하면 정상으로 간주한다³⁵⁾. 본 실험

의 결과 正常群의 LDH수치는 rat의 정상범위³⁵⁾내에 포함되는 것으로 관찰되었다.

한편 CCl₄ 투여로 유발된 肝硬變시 현저한 血清 LDH수치의 상승이 관찰된다고 보고되어 있으며³⁶⁾, Cutrin 등³⁷⁾은 CCl₄로 유발된 rat의 肝硬變 모델에서 상승된 LDH의 수치가 nifedipine 및 S-adenosylmethionine의 투여에 의해 감소되므로 이 약물이 肝硬變 치료에 유용할 것으로 보고하였다. 본 실험의 결과 CCl₄를 투여한 모든 실험동물에서 血清 LDH의 급격한 상승이 관찰되어 이전의 보고들^{36,37)}과 유사하였다. 본 실험에서 茵陳蒿湯 및 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 對照群에 비해 현저히 감소되는 것으로 관찰되어 이 약물이 肝硬變에 어느 정도 유효할 것으로 생각되었다. 또한 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 유의성은 인정되지 않았으나, 수치적으로 茵陳蒿湯 단독 투여시보다 LDH의 감소가 관찰되어 熊膽의 첨가로 茵陳蒿湯의 용량 및 투여시기를 줄일 수 있는 것으로 생각된다.

흔히 ALP로 알려져 있는 alkaline phosphatase는 간과 뼈 조직에서 확인되는 물질로 혈중 ALP 농도의 상승은 간의 담관 정체 및 corticosteroid 제제의 부작용 시 관찰된다^{3,21)}. 따라서 혈중 ALP의 상승은 간과 뼈의 괴사에 의해 유발되기보다는 담관울체성 질환의 존재를 의미한다. CCl₄ 투여시 유발되는 섬유화와 담관의 증식에 의해 담즙의 분비 장애가 초래되므로 혈중 ALP의 상승은 肝硬變을 진단하는 하나의 지표로 사용되어진다⁵⁾. 생후 6개월령 이하인 암컷 rat의 血清 중 정상 ALP수치는 140 ± 59.8 IU/l 로 알려져 있으나 일반적으로 66~218 IU/l 의 범위 내에 존재하면 정상수치로 생각한다²²⁾. Melen 등³⁸⁾은 CCl₄에 의해 유발된 rat 肝硬變 모델에서 ALP의 급격한 상승이 초래된다고 보고하였고, Palmerini 등³⁹⁾은 肝硬變시 증가된 血清 중의 ALP수치를 lactosaminated

serum albumine에 결합시킨 formylcolchicine 이 유리 colchicine 보다 더 빨리 감소시키므로 전자가 후자보다 肝硬變의 치료에 더 유용하다고 하였다. 본 연구의 결과 正常群에서의 ALP수치는 정상 rat의 ALP범위²²⁾에 포함되는 것으로 관찰되었으나, CCl₄를 투여한 모든 실험동물에서 ALP의 급격한 상승이 관찰되어 이전의 보고들^{38,39)}과 유사하였으며, 茵陳蒿湯 및 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 對照群에 비해 현저히 감소되는 것으로 관찰되어 이 약물이 肝硬變에 어느 정도 유효할 것으로 생각되나, 茵陳蒿湯의 경우 Lee의 보고¹⁷⁾와 유사하게 비교적 장기간의 투여로 생각되는 20일간의 투여 후에도 여전히 正常群에 비해 혈 중 ALP의 상승이 인정된 점으로 보아 좀더 장기간의 약물 투여 또는 고용량의 투여가 필요할 것으로 생각되었다. 그러나 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 茵陳蒿湯 단독 투여시보다 유의성 있는 ($p < 0.05$) ALP의 감소가 관찰되어 熊膽의 첨가로 茵陳蒿湯의 용량 및 투여시기를 줄일 수 있는 것으로 생각된다.

GGT는 간의 문맥 이상시 증가되는 효소로 근본적인 상승 원인과 상승폭은 ALP와 유사하나, 더 민감하게 반응하는 효소로 알려져 있다^{3,21)}. 정상 암컷 rat의 GGT수치는 2.36 ± 1.65 IU/ℓ로 알려져 있다⁴⁰⁾. 한편 CCl₄ 투여시 GGT는 매우 큰 폭으로 상승되는 것으로 알려져 있으며^{33,41~43)}, Canturk 등²⁴⁾은 CCl₄로 유발된 肝硬變 모델에서 상승된 GGT수치가 alpha tocopherol의 투여에 의해 감소되므로 이 약물이 肝硬變의 예방 및 치료에 유용할 것으로 기대된다고 하였고, 이와 유사한 cimetidine³¹⁾ 및 arachidonate lipoxigenase inhibitor 인 BW755C⁴²⁾의 효과가 보고되어 있다. 본 연구의 결과 正常群에서의 GGT수치는 정상 rat의 GGT 범위⁴⁰⁾에 포함되는 것으로 관찰되었으나, 對照群 및 茵陳蒿湯 投與

群에서는 GGT의 급격한 상승이 관찰되어 이전의 보고들^{24,31,42)}과 유사하였다. 그러나 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 茵陳蒿湯단독 투여시와 對照群보다 유의성 있는 ($p < 0.05$ 및 $p < 0.01$) GGT의 감소가 관찰되어 熊膽의 첨가로 茵陳蒿湯의 용량 및 투여시기를 줄일 수 있는 것으로 생각되었다.

T-BIL은 혈액소 (hemoglobin)의 파괴 시 생산되는 물질로 혈 중에서 conjugate 또는 unconjugate 형태로 순환되며, 血清 중 T-BIL의 상승은 간질환을 의미하는 하나의 지표로 사용되고 있다^{3,44,45)}. 생후 6개월령 이하인 암컷 rat의 血清 중 정상 T-BIL수치는 0.3 ± 0.24 mg/dℓ로 알려져 있으나 일반적으로 0.1~0.7mg/dℓ의 범위 내에 존재하면 정상수치로 생각한다²²⁾. 본 실험의 결과 正常群의 T-BIL수치는 rat의 정상범위²²⁾내에 포함되는 것으로 관찰되었다. Vorne와 Alavaikko⁴⁶⁾는 CCl₄로 유발된 肝硬變時 혈중 T-BIL의 급격한 상승이 관찰된다고 보고하였으며, 肝硬變 모델에 colchicine²⁵⁾, Bosentan⁴⁷⁾, silymarin⁴⁸⁾, tamoxifen 및 levonorgestrel⁴⁹⁾의 투여시 이들 상승된 T-BIL수치의 감소가 관찰되므로 이들 약물이 肝硬變에 유효할 것으로 기대된다고 보고되었다. 한편 본 실험의 결과 CCl₄를 투여한 모든 실험동물에서 血清 T-BIL의 급격한 상승이 관찰되어 이전의 보고들^{25,46~49)}과 유사하였다. 실험에서 茵陳蒿湯 및 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 對照群에 비해 현저히 감소되는 것으로 관찰되어 이 약물이 肝硬變에 어느 정도 유효할 것으로 생각되나, 茵陳蒿湯의 경우 Lee의 보고¹⁷⁾와 유사하게 비교적 장기간의 투여로 생각되는 20일간의 투여 후에도 여전히 正常群에 비해 혈 중 T-BIL의 상승이 인정된 점으로 보아 좀더 장기간의 약물 투여 또는 고용량의 투여가 필요할 것으로 생각되었다. 茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 유의성은 인정되지 않았지만

茵陳蒿湯 단독 투여시보다 숫자적으로 T-BIL의 감소가 관찰되어 熊膽의 첨가로茵陳蒿湯의 용량 및 투여시기를 줄일 수 있는 것으로 생각된다.

이상에서 熊膽의 첨가가茵陳蒿湯의 항섬유화 효과에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 CCl₄를 10주간투여 하여 유발된 rat 肝硬變 모델에茵陳蒿湯加熊膽을 20일 동안 경구투여하고, 肝硬變 진단 지표인 血清 중 GOT, GPT, LDH, ALP, GGT 및 T-BIL 수치의變化를 관찰하여茵陳蒿湯 단독투여시의 결과와 비교하였던 결과 熊膽의 첨가에 의해茵陳蒿湯의 항섬유화 효과가 증가되는 것으로 관찰되었으며, 이로 인해 肝硬變의 치료에 사용되는茵陳蒿湯의 투여 용량 및 투여 기간을 어느 정도 줄일 수 있을 것으로 기대되었으나, 첨가되어야 할 熊膽의 정확한 양 및 이들의 투여 기간을 알기 위해서는 좀더 많은 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

V. 結 論

熊膽의 첨가가茵陳蒿湯의 항섬유화 효과에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 CCl₄를 10주간투여 하여 유발된 rat 肝硬變 모델에茵陳蒿湯加熊膽을 20일 동안 경구투여하고, 肝硬變 진단 지표인 血清 중 GOT, GPT, LDH, ALP, GGT 및 T-BIL 수치의變化를 관찰하여茵陳蒿湯 단독투여시의 결과와 비교한 결과 다음과 같은 결론은 얻었다.

1. 血清 GOT level은 對照群에 비해茵陳蒿湯 및茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서 유의성 있는 ($p < 0.01$) 감소가 관찰되었고, 특히茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는茵陳蒿湯 단독 投與群보다 유의성 있는 ($p < 0.05$) 감소가 관찰되었다.

2. 血清 GPT level은 對照群에 비해茵陳蒿湯 및茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서 유의성 있는 ($p < 0.01$) 감소가 관찰되었고, 특히茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 유의성은 인정되지 않았으나 수치적으로茵陳蒿湯 단독 投與群보다 더욱 감소되는 것으로 관찰되었다.

3. 血清 LDH level은 對照群에 비해茵陳蒿湯 및茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서 유의성 있는 ($p < 0.01$) 감소가 관찰되었고, 특히茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 유의성은 인정되지 않았으나 수치적으로茵陳蒿湯 단독 投與群보다 더욱 감소되는 것으로 관찰되었다.

4. 血清 ALP level은 對照群에 비해茵陳蒿湯 및茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서 유의성 있는 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) 감소가 관찰되었고, 특히茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는茵陳蒿湯 단독 投與群보다 유의성 있는 ($p < 0.05$) 감소가 관찰되었다.

5. 血清 GGT level은茵陳蒿湯 投與群의 경우 對照群과 유사하게 관찰되었으나,茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 對照群 및茵陳蒿湯 단독 投與群에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) 감소가 관찰되었다.

6. 血清 T-BIL level은 對照群에 비해茵陳蒿湯 및茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서 유의성 있는 ($p < 0.01$) 감소가 관찰되었고, 특히茵陳蒿湯加熊膽 投與群에서는 유의성은 인정되지 않았으나 수치적으로茵陳蒿湯 단독 投與群보다 더욱 감소되는 것으로 관찰되었다.

이상의 결과 熊膽의 첨가에 의해茵陳蒿湯의 항섬유화 효과가 증가되는 것으로 관찰되었으며, 이로 인해 肝硬變의 치료에 사용되는茵陳蒿湯의 투여 용량 및 투여 기간을 어느 정도 줄일 수 있을 것으로 기대되었으나, 첨가되어야 할 熊膽의 정확한 양 및 이들의 투여 기간을 알기 위해서는 좀더 많은 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

VI. 參考文獻

1. 全國韓醫科大學 肝系內科學教授 (1989) : 肝系內科學, pp. 26~247, 東洋醫學研究院, 서울.
2. Hayes AW (1994) : Principles and Methods of Toxicology, pp. 842~853, 3rd ed., Raven press.
3. Sodikoff CH (1995) : Laboratory profiles of small animal diseases. A guide to laboratory diagnosis. 2nd ed., Mosby-Year Book Inc., St. Louis.
4. Wyngaarden JB & Smith LH (1985) : Cecil Text book of Medicine. pp. 809~810, 17th edition, Vol 1., WB Saunders, Philadelphia.
5. Millward-Sadler W & Karran A (1985) : Liver and biliary disease, pp. 470~483, 2nd edition, Bailliere Tindall, London.
6. 蔡仁植 (1995) : 傷寒論譯詮, p. 176, 高文社, 서울.
7. Suzuki T (1992) : Malotile completely inhibits CCl₄-induced liver cirrhosis in rats: biochemical and morphological analysis. Fukushima J Med Sci, 38, 19~33.
8. Jiang Z, You DY, Chen XC & Wu j (1992) : Monitoring of serum markers for fibrosis during CCl₄-induced liver damage. Effects of anti-fibrotic agents. J Hepatol, 16, 282~289.
9. Smiko V, Michael S, Katz J, Oberstein E & Popescu A (1992) : Protective effect of oral acetylcysteine against the hepatorenal toxicity of carbon tetrachloride potentiated by ethyl alcohol. Alcohol Clin Exp Res, 16, 795~799.
10. Li CX, Li L, Lou J, Yang WX, Lei TW, Li YH, Liu J, Cheng ML & Huang LH (1998) : The protective effects of traditional Chinese medicine prescription, han-dan-gan-le, on CCl₄-induced liver fibrosis in rats. Am J Chin Med, 26, 325~332.
11. Zhang M, Song G & Minuk GY (1996) : Effects of hepatic stimulator substance, herbal medicine, selenium/vitamin E, and ciprofloxacin on cirrhosis in the rat. Gastroenterology, 110, 1150~1155.
12. Xu LM, Liu P, Liu C, Hong JH, Lu G, Xue HM, Zhu JL & Hu YY (1994) : Observation on the action of extractum Persicae on anti-fibrosis of liver. Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih 14, 237~241.
13. Wang ZL (1992) : Experimental study of preventing liver cirrhosis by using four kinds of Chinese herbs. Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 12, 357~358.
14. Fu QL (1992) : Experimental study on YiQi-Huoxue therapy of liver fibrosis. Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 12, 228~229.
15. 李承雨 (1997) : 茵陳蒿湯의 藥鍼과 經口投與가 肝損傷에 미치는 影響의 比較研究. 경산대학교 석사학위논문, pp. 1~35.
16. 朴東源 (1979) : 茵陳蒿湯 投與方法이 CCl₄ 中毒家兔의 肝機能에 미치는 효과에 관한 연구. 慶熙韓醫大論文集, 제2집.
17. Lee MS (2000) : The effect of oral administration of Injinhotang on the CCl₄ induced hepatic cirrhosis. Korean J Lab Anim Sci, in press.
18. Jonassen TE, Sorensen AM, Petersen JS, Andreasen F & Christensen S (2000) : Increased natriuretic efficiency of

- furosemide in rats with carbon tetrachloride - induced cirrhosis. *Hepatology*, 31, 1224~1230.
19. Rothuizen J, Biewenga WJ & Mol JA (1995) : Chronic glucocorticoid excess and impaired osmoregulation of vasopressin release in dogs with hepatic encephalopathy. *Domest Anim Endocrinol*, 12, 13~24.
20. 강병수, 고운채, 김선희 등 (1992) : 본초학, p.167, 224, 242, 328. 영림사, 서울.
21. Willard MD (1989) : Small animal clinical diagnosis by laboratory methods. Saunders, Philadelphia.
22. Wolford ST, Schroer RA, Gohs FX, Gallo PP, Brodeck M, Falk HB & Ruhren R (1986) : Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J Toxicol Environm Health*, 18, 161~188.
23. Zhu J, Wu J, Frizell E, Liu SL, Bashey R, Rubin R, Norton P & Zern MA (1999) : Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation in vitro and limits fibrogenesis in an in vivo model of liver fibrosis. *Gastroenterology*, 117, 1198~1204.
24. Canturk Z, Canturk NZ, Ozbilim G & Yenisey C (1999) : Experimental cirrhosis of the liver and cytoprotective effects of alpha tocopherol. *East Afr Med J*, 76, 223~227.
25. Rhoden EL, Pereira-Lima J, Rhoden CR, Mauri M, Pereira-Lima JC, Zettler CG & Barros EG (1999) : The role of colchicine in prevention of hepatic cirrhosis induced by carbon tetrachloride. *Hepatogastroenterology*, 46, 1111~1115.
26. Fontana L, Moreira E, Torres MI, Periago JL, Sanchez de Medina F & Gil A (1999) : Effects of dietary polyunsaturated fatty acids and nucleotides on tissue fatty acid profiles of rats with carbon tetrachloride-induced liver damage. *Clin Nutr*, 18, 93~101.
27. Ohta Y, Sahashi D, Sasaki E & Ishiguro I (1999) : Alleviation of carbon tetrachloride-induced chronic liver injury and related dysfunction by L-tryptophan in rats. *Ann Clin Biochem*, 36, 504~510.
28. Fort J, Pilette C, Veal N, Oberti F, Gallois Y, Douay O, Rosenbaum J & Cales P (1998) : Effects of long-term administration of interferon alpha in two models of liver fibrosis in rats. *J Hepatol*, 29, 263~270.
29. Cedillo A, Murelle M & Muriel P (1996) : Effect of colchicine and trimethylcolchicinic acid on CCl₄-induced cirrhosis in the rat. *Pharmacol Toxicol*, 79, 241~246.
30. Thresiamma KC & Kuttan R (1996) : Inhibition of liver fibrosis by ellagic acid. *Indian J Physiol Pharmacol*, 40, 363~366.
31. Mera E, Muriel P, Castillo C & Murelle M (1994) : Cimetidine prevents and partially reverse CCl₄-induced liver cirrhosis. *J Appl Toxicol*, 14, 87~90.
32. Okuno M, Muto Y, Moriwaki H, Kato M, Noma A, Tagaya O, Nozaki Y & Suzuki Y (1990) : Inhibitory effect of acyclic retinoid(polyprenoic acid) on hepatic fibrosis in CCl₄-treated rats. *Gastroenterol Jpn*, 25, 223~229.
33. Antoniello S, Auletta M, Vatiro V,

- Nigro C & Cacciatore L (1989) : Beta-hexosaminidase activity in alcoholic fatty liver and CCl₄-induced liver fibrosis of the rat. *Enzyme*, 42, 68~72.
34. Mourelle M, Muriel P, Favari L & Franco T (1989) : Prevention of CCl₄-induced liver cirrhosis by silymarin. *Fundam Clin Pharmacol*, 3, 183~191.
35. 田嶋嘉雄 (1989) : Biological reference data book on experimental animals, Soft Science, Inc., Tokyo.
36. Wexler BC & Greenberg BP (1979) : Effect of CCl₄-induced cirrhosis on the pathophysiologic course of acute myocardial infarction in nonarteriosclerotic vs arteriosclerotic male rats. *Atherosclerosis*, 32, 231~235.
37. Cutrin C, Menino MJ, Otero X, Miguez J, Perez-Becerra E & Barrio E (1992) : Effect of nifedipine and S-adenosylmethionine in liver of rats treated with CCl₄ and ethanol for one month. *Life Sci*, 51, 113~118.
38. Melen K, Hultberg B, Hagerstrand I, Isaksson A, Joelsson B & Bengmark S (1985) : Lysosomal enzymes in plasma, liver and spleen from rats with carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis. *Enzyme*, 33, 84~88.
39. Palmerni CA, Saccardi C, Floridi A & Arienti G (1996) : Formylcolchicine bound to lactosaminated serum albumin is a more active antifibrotic agent than free colchicine. *Clin Chim Acta*, 29, 149~157.
40. Yu L, Pragay DA, Chang D & Wicher K (1979) : Biochemical parameters of normal rabbit serum. *Clin Biochem*. 12, 83~87.
41. Kovalszky I, Szeberenyi S, Zalatnai A, Vincze I, Lapis K & Jeney A (1992) : Modification of DENA-induced hepatocarcinogenesis by CCl₄ cirrhosis. Comparison of the marker enzyme patterns. *Carcinogenesis*, 13, 773~778.
42. Mourelle M, Amezcua JL & Perez-Alvarez V (1987) : Reduction of apparent indicators of liver cirrhosis in rats by the arachidonate lipoxygenase inhibitor BW755C. *Eur J Pharmacol*, 134, 175~180.
43. Ideo G, Morganti A & Dioguardi N (1972) : Gamma-glutamyl transpeptidase: a clinical and experimental study. *Digestion*, 5, 326~336.
44. Coles EH (1986) : Veterinary clinical pathology. 4th ed., Saunders, Philadelphia.
45. Kaneko JJ (1980) : Clinical biochemistry of domestic animals. 3rd ed., Academic press, San Diego.
46. Vorne M & Alavaikko M (1971) : Effect of carbon tetrachloride induced progressive liver damage on the metabolism of hexobarbital and bilirubin in vivo. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 29, 402~416.
47. Reichen J, Gerbes AL, Steiner MJ, Sagesser H & Clozel M (1998) : The effect of endothelin and its antagonist Bosentan on hemodynamics and microvascular exchange in cirrhotic rat liver. *J Hepatol*, 28, 1020~1030.
48. Favari L & Perez-Alvarez V (1997) : Comparative effects of colchicine and silymarin on CCl₄-chronic liver damage in rats. *Arch Med Res*. 28, 11~17.

49. Kulcsar A & Kulcsar-Gergely J (1991)
: Effects of tamoxifen and levonorgestrel
treatment on carbon tetrachloride
induced alterations in rats.
Arzneimittelforschung, 41,1298~1301.