

원 저

## 사삼맥문동탕이 Indomethacin으로 유발된 mouse의 대장 점막 손상에 미치는 영향

최준혁, 임성우

동국대학교 한의과대학 내과학 교실

### The Effects of *Sasammaickmoondong-tang* against Colonic Mucosal Lesions

Jun-Hyuk Choi, Seong-Woo Lim

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University

**Objectives :** This study was carried out to investigate the effects of *Sasammaickmoondong-tang*(SME) on colonic mucosal lesions induced by indomethacin in mouse.

**Methods :** The normal group is that no inflammation elicited mouse. Control group is that gastro-inflammation elicited mouse. Sample group is that SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation.

**Results :** In the common morphology and histochemical change, control group was observed various injury - mucous surface cell, micro-villi, paneth cell, surface epithelial cell, goblet cell - by hemorrhagic erosion, while sample group was as same as normal group. In the immunohistochemical change, the distributions of COX-1, Bcl-2, and BrdU treated with SME noticeably increased than control group(P<0.05). The distributions of TUNEL, NF- $\kappa$ B, COX-2, IL-2R- $\alpha$ , NK-1.1, ICAM-1, and CD11b/18 treated with SME noticeably decreased than control group(P<0.05). And the distribution of SBA was as same as normal group.

**Conclusions :** According to the above results, it is supposed that *Sasammaickmoondong-tang* is applicable to colonic mucosal lesions. (J Korean Oriental Med 2002;23(4):169-185)

**Key Words:** *Sasammaickmoondong-tang*, colonic mucosal lesions

## 서론

염증성 장질환은 장에 만성적인 원인불명의 염증을 일으키는 질환으로 통상 궤양성 대장염과 크론병을 지칭하며<sup>1)</sup>, 임상증상은 혈성 설사와 복통, 배변후 후중감 등이 있으며 복부 종괴, 체중감소, 발열 등이

동반되기도 한다. 원인과 병태 생리는 확실히 밝혀진 바가 없어서 근원적인 약물 요법은 없고 증상의 완화와 관해의 유지가 치료의 요점이 된다<sup>2,3)</sup>.

한의학에서는泄瀉, 下痢, 腸澼, 腸風, 腹痛의 범주로 인식하고, 약물치료와 침구치료 외에 최근에는 항장요법이 많이 이용되고 있으며<sup>4)</sup>, 한약 중에는 악성체질에 대하여 뛰어난扶正효과가 있는 약물이 많은 것으로 보고되고 있다<sup>5,7)</sup>.

沙蔘麥門冬湯은 吳鞠通의《溫病條辨》<sup>8)</sup>에 처음 수록된 처방으로 淸養肺胃, 生津潤燥의 효능을 가지고 있

· 접수 : 2002년 9월 5일 · 채택 : 2002년 11월 4일  
· 교신저자 : 최준혁, 서울시 강남구 논현동 37-21 동국대 강남한방병원  
(Tel. 02-3416-9796, Fax : 02-3416-9790, E-mail : address : ana1913@hanmail.net)

어, 肺胃陰虛로 인한 脣燥口乾, 喜飲, 胃脘痛, 飲食不思, 食後飽脹, 泄瀉無度로 인한 傷津脫液 등을 치료한다<sup>11)</sup>.

점막 손상으로 유발된 염증성 소화기 질환에 관한 실험적 연구는 주로 위염과 소화성 궤양에 관련된 연구가 주를 이루며<sup>12-18)</sup>, 염증성 장질환에 대한 연구는 부족한 실정이다.

이에 저자는 설사와 이질로 인해 점막이 손상된 만성 염증성 장질환에 養陰潤燥의 효능이 있는 사삼맥문동탕이 점막 손상을 회복시킬 것으로 사료되어, indomethacin으로 유발된 대장 점막 손상에 대한 사삼맥문동탕의 효과를 실험적으로 규명하기 위하여, 대장 점막 구조의 형태, 미세구조, 표면상피세포, 점막보호인자, 세포자기살해, 세포증식, 복합당질, 염증 관련매개물질, 세포성 면역 및 세포기능 등의 변화를 관찰하였던 바 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 실 험

### 1. 재료

#### 1) 동물

대한실험동물센터에서 분양 받은 태령 4주된 ICR 계 수컷 생쥐를 무균사육장치에서 2주일 동안 적응시킨 후 체중이 30g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 동물은 정상군, 대장내 염증 유발군(대조군), 대장내 염증 유발 후 사삼맥문동탕(*Sasammaickmoondong-tang*) 추출액 투여군(실험군)으로 나누었고, 시간의 경과에 따라 1, 4 및 7일군으로 세분화시켜 각 군에 10마리씩 배정하였다.

#### 2) 약물의 제조 및 투여

사삼맥문동탕은 《溫病條辨》<sup>9)</sup>에 준하여 동국대학교 한의과대학 부속 경주한방병원에서 조제된 것으로, 1첩을 증류수 1,000ml에 넣고 3시간 동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 100ml으로 감압농축하여 실험군에 대장내 염증 유발 후 1, 4 및 7일 동안 각각 3.3ml/kg씩 경구투여 하였다.(Table 1).

### 2. 방법

#### 1) 대장내 염증 유발

대장내 염증을 유발하기 위해서 indomethacin (Sigma, USA)을 0.9% NaCl이 포함된 70% 에탄올에 희석시킨 후 10mg/kg를 대조군과 실험군에 5일 동안 경구투여 하였다.

#### 2) 조직표본 제작

대장내 염증유발 후 1, 4 및 7일이 경과되었을 때 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 내림창자(descending colon)을 적출하여 실온에서 24시간 동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 $\mu$ m 두께의 연속절편으로 제작하였다. 대장 점막의 일반적인 형태 변화를 관찰하기 위해 연속절편을 hematoxylin과 eosin에 염색한 후 광학현미경(BX50, Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

#### 3) 미세조직 및 전자현미경 표본 제작

Semi-thin 절편 제작은 절취된 피부 절편을 1/2

Table 1. The Amount and Composition of *Sasammaickmoondong-tang* Extracts(SME)

Species	Part used	Latin name	Weight(g)
<i>Adenophora tetraphylla</i> FISCH.	Roots	<i>Adenophorae Radix</i>	11.25
<i>Ophiopogon japonicus</i> KER-GAWL.	Roots	<i>Ophiopogonis Tubel</i>	11.25
<i>Trichosanthes kirtowii</i> MAXM.	Roots	<i>Trichosanthis Radix</i>	5.63
<i>Morus alba</i> L.	Herb	<i>Mori Folium</i>	5.63
<i>Dolichos lablab</i> L.	Seed	<i>Dolichoris Semen</i>	5.63
<i>Polygonatum odoratum</i> MILL.	Rhizomes	<i>Polygonati odorati Rhizoma</i>	7.50
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	Roots	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	3.75
Total amount			50.64

Karnovsky 용액에 고정한 후 1% OsO<sub>4</sub> 용액에 고정하였다. Uranyl acetate에 90분 동안 염색한 후 통상적인 방법으로 epon에 포매하였다. 조직 절편은 ultramicrotome(LKB, Nova)으로 1 $\mu$ m 두께로 절편을 만들어 toluidine blue로 염색한 후 광학현미경으로 피부 미세구조의 변화를 관찰하였다. 전자현미경 관찰은 ultramicrotome(LKB, Nova)으로 60-80nm 두께로 절편을 만든 다음 투과전자현미경(Hitach H-600)으로 관찰하였다.

4) 점액분비세포 변화 관찰을 위한 조직화학적 표본 제작

점액분비세포(mucous secreting cell)의 변화를 알아보기 위해 Alcian blue-PAS-Orange G 염색을 실시하였다. 먼저 절편을 alcian blue solution(pH 2.5 : Sigma)에 30분간 염색시켰다. 그 다음 periodic acid(Sigma)에서 10분간 산화시킨 후 schiff reagent에서 15분 동안 반응시켰다. 반응 완충을 위해 sulfurous rinse에 각 2분씩 3회 세척하고 hematoxylin에서 1분 동안 대조 염색 하였다. 그리고 0.5% orange G(Sigma) 용액에 처리한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

5) 면역조직화학적 표본 제작

(1) 점막 내 cyclooxygenase-1 분포

점막상피세포의 보호기전에 관여하는 cyclooxygenase-1(COX-1)의 분포변화를 관찰하기 위해 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 proteinase K(20 $\mu$ g/ml, DAKO, Denmark)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum(DAKO)에서 1시간 동안 반응시켰다. 1차 항체인 rabbit anti-mouse COX-1(1:250, Chyman, USA)로 4 $^{\circ}$ C humidified chamber에서 48시간 동안 반응시킨 후 2차 항체인 goat anti-rabbit IgG(1:100, DAKO)로 4 $^{\circ}$ C humidified chamber에서 24시간 동안 반응시켰다. avidin biotin complex(ABC : Vector Lab, USA)에 1시간 동안 실온에서 반응시킨 후 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(DAB : Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

(2) 점막 내 Apoptosis와 세포증식

점막상피세포에서 일어나는 세포자기살해에 관여하는 신호분자의 하나인 Bcl-2의 분포 변화를 관찰하기 위해 rabbit anti-mouse Bcl-2(Pharmingen, USA) 단클론항체를 이용하였고, 점막 내 세포증식의 변화를 관찰하기 위해 BrdU를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 실험동물에서 조직을 적출하기 5시간 전, 3시간 전, 1시간 전에 생리식염수에 녹인 5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU, Sigma) 50mg/kg을 복강주사 하였다. 얻어진 연속절편은 4 $^{\circ}$ C와 37 $^{\circ}$ C의 2N HCl용액에서 각각 20분씩 반응시켜 DNA-denaturation을 일으켰다. 0.1M borate 완충용액 처리로 안정시킨 후 비특이적 면역반응을 억제하기 위해 0.01%의 proteinase K(DAKO, Denmark)가 포함된 normal goat serum(1:20, DAKO)에 1시간 동안 반응시켰다. 그 다음 1차 항체인 mouse anti-mouse BrdU(1:50, Amersham, UK)로 4 $^{\circ}$ C incubation chamber내에서 48시간 동안 반응시켰으며 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하였다.

(3) 복합당질의 분포

복합당질(glycoconjugate)인 soybean agglutinin(SBA)의 피부상피에서의 분포 변화를 조사하기 위해 lectin을 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 조직을 실온에서 1% bovine serum albumin(BSA : Sigma)에 30분간 처리한 다음 1:100으로 희석된 biotinylated anti SBA(Sigma)에 4 $^{\circ}$ C incubation chamber 내에서 24시간 동안 반응시켰다. 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하였다. Lectin 반응의 강도는 -, +, ++, 그리고 +++ 등으로 표시하였다(Table2).

(4) 염증관련 매개물질

점막 내 염증관련 신호에 관여하는 nuclear factor(NF)- $\kappa$ B와 cyclooxygenase(COX)-2의 변화를

**Table 2.** Sugar Specificities and Inhibitory Carbohydrates of Lectins

Lectin	Optium dilution	Sugar specificity
SBA	4 $\mu$ g/ml	D-N-acetylgalactosamine

관찰하기 위해 rabbit anti-mouse NF- $\kappa$ B p50(1:200, Santa Cruz Biotec) 그리고 rabbit anti-mouse COX-2(1:500, Chyman, USA) 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

(5) 세포성 면역

점막 내 세포성 면역반응의 변화를 관찰하기 위해 세포성 면역 매개 사이토카인(cytokine)인 인터루킨(interleukin : IL)-2와 자연살해세포(natural killer cell : NK-cell)의 분포변화를 rat anti-mouse CD25R- $\alpha$  (1:200, Pharmingen)와 hamster anti-mouse NK-1.1 (1:100, Pharmingen) 항체를 사용하여 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

(6) 세포기용

점막 내 세포기용에 관여하는 세포부착분자(intercellular adhesion molecule : ICAM)-1과 그 관련된 ligand인 CD11b/18의 분포변화를 관찰하기 위해 rabbit anti-mouse ICAM-1(CD54 : Serotec)과 rat anti-mouse Mac-1(Serotec, UK) 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

6) Apoptosis

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 실시

하였다.

먼저 조직 절편을 proteinase K에 5분간 proteolysis 시킨 다음 equilibration buffer에서 20초간 처리하였다. 그 다음 strength TdT enzyme(36 $\mu$ l TdT enzyme : 72 $\mu$ l reaction buffer)을 처리하여 37 $^{\circ}$ C의 humidified chamber에서 1시간 동안 반응시킨 후 strength stop/wash buffer에서 10분 동안 처리하였다. anti-digoxigenin-peroxidase에 1시간 동안 반응시킨 후 DAB로 처리하였다. hematoxylin으로 대조 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

7) 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 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 형태 조직학적 변화

1) 일반적인 형태 변화

대조군의 점막 표면상피의 많은 부분에서 상피세포와 창자샘이 유실된 출혈성 미란 (hemorrhagic erosion)이 관찰되었는데, 이곳에는 많은 수의 림프구, 섬유모세포, 과립백혈구 등 염증관여세포의 침윤

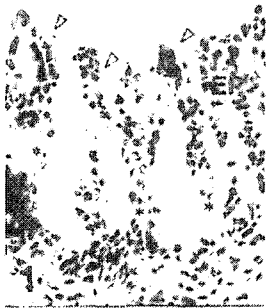


Fig. 1. The morphology of colonic mucosa from colitis elicited (CE) mouse. The surface superficial epithelium (vacanted arrow heads) and intestinal propria (asterisk) in hemorrhagic erosions invoked regions were disappeared. EP; Epithelium. H & E.  $\times$  200



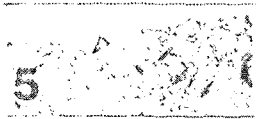
Fig. 2. The magnification of damaged absorption cell in colonic mucosa from CE mouse. Toluidine blue. The cytoplasm (asterisk) of absorption cell were disappeared.  $\times$ 1000



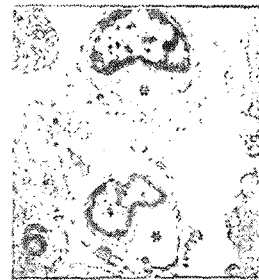
**Fig. 3.** The morphology of colonic mucosa from *Sasammaickmoondong-tang* administered (SMA) mouse. The configuration of epithelium and intestinal propria (IP) were the same as normal. H & E. ×200



**Fig. 4.** The magnification of absorption cell (AC) in colonic mucosa from CE mouse. arrow; microvilli. Toluidine blue. ×1000



**Fig. 5.** The morphology of colonic mucosa from CE mouse. The junctional complex (arrow) and villi of absorption cell (vacanted arrow head) were disappeared. EM. ×6000



**Fig. 6.** The morphology of colonic mucosa from CE mouse. The damage of absorption cell were seen and had enlarged vacuole (asterisk). EM. ×6000

(infiltration)이 관찰되었다 (Fig. 1, 2). 점막 표면상피와 고유층 (lamina propria)에서 일어난 출혈성 미란은 점차 확대되어 점막근층 (muscularis mucosae)을 지나 점막밑층 (submucosa)에서도 나타났다.

실험군에서는 사삼백문동탕 투여 후 시간에 따른 대장의 손상 차이가 관찰되어, 7일 후에서 가장 적은 조직 손상이 관찰되었는데, 일부분을 제외한 대부분에서 정상적인 조직형태가 나타났는데, 점막 표면상피세포와 창자샘의 배열, 점막 고유층 세포분포 등이 정상군과 유사한 형태로 나타났다 (Fig. 3, 4).

## 2) 미세구조의 변화

정상군에서 표면상피세포중 분비세포는 연접복합체가 잘 형성되어 있고, 분비관련 세포소기관이 잘 발달되어 있었다. 자유면쪽에는 분비과립이 산재되어 있었다. 대조군의 분비세포는 연접복합체의 이탈, 분비관련세포소기관의 소실, 액포화 등의 조직손상이 관찰되었다 (Fig. 5, 6). 이에 비해 실험군에서는 정상군과 유사한 흡수세포의 형태가 유지되었다 (Fig. 7, 8).

## 3) 조직화학적 변화

정상군에서 중성점액질 (neutral mucin)을 분비하는 술잔세포는 검푸른색으로 염색되었고, 산성점액질 (acid mucin)을 분비하는 술잔세포는 적보라색으로 염색되었는데, 세포기저부에 더 많은 분비과립을 축적하고 있었으며, 검푸른색의 술잔세포의 수가 적보라색의 술잔세포보다 많았다.

대조군에서 출혈성 침식 주변의 창자샘에서는 두 개의 술잔세포가 정상군에 비해 줄어들었는데, 표면상피 상층부 (apical surface)로 갈수록 숫자는 적었다 (Fig. 11).

실험군은 대조군에서 비해 술잔세포의 수가 많았는데, 이러한 차이는 표면상피 상층부로 갈수록 분명하게 나타났다 (Fig. 12).

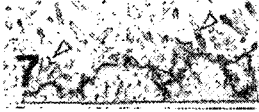


Fig. 7. The magnification of colonic mucosa from SMA mouse. The junctional complex (arrow) and villi (vacanted arrow head) of absorption cell were seen. EM. ×6000



Fig. 8. The morphology of colonic mucosa from SMA mouse. The absorption cell same as normal structure. EM. ×6000



Fig. 11. The morphology of colonic mucosa from CE mouse. The goblet cell were disappeared. Alcian blue-PAS-Orange G. ×200.

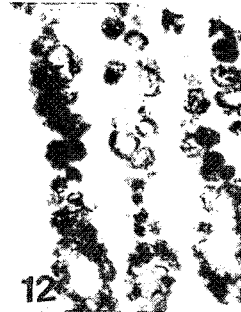


Fig. 12. The morphology of colonic mucosa from SMA mouse. The configuration of goblet cell same as normal. The dark blue colored goblet cell and purple reddish colored goblet cell were seen. Alcian blue-PAS-Orange G. ×200.

## 2. 점막 방어 기능에 미치는 효과

### 1) 점막 내 COX-1 분포 변화

점막표면과 점막고유층에서 분포하는 COX-1 양성반응세포는 대조군에서는 대장내 점막 손상 유발 후 시간의 경과할수록 분포가 감소하였다. 이러한 분포감소는 7일군에서는 정상군에 비해 86.2% 감소한  $68.2 \pm 7.6 / 200,000$  pick cell로 최저 수치로 관찰되었다 (Table 3, Fig. 15). 대조군의 이러한 감소에 비해 실험군은 COX-1 양성반응세포의 감소가 적었으며, 그 결과 7일군에서는 대조군에 비해 635.3%가 증가된  $432.0 \pm 17.1$  pick cell이 관찰되었다 (Table 3, Fig. 16).

### 2) 점막 내 Apoptosis와 세포증식 변화

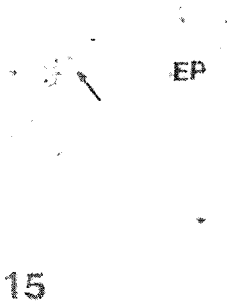
#### (1) Apoptosis의 변화

점막표면과 점막고유층에서 분포하는 TUNEL 양성반응세포는 대조군에서는 대장내 점막 손상 유발

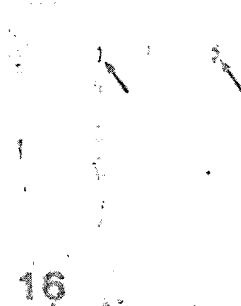
후 시간이 경과할수록 분포가 증가하여, 7일 후에는 정상군에 비해 723.5% 증가한  $12358.0 \pm 751.1 / 200,000$  pick cell로 관찰되었다 (Table 4, Fig. 19). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 TUNEL 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 83.6%가 감소된  $2030.0 \pm 116.0$  pick cell이 관찰되었다 (Table 4, Fig. 20).

#### (2) Apoptosis관련 신호분자의 변화

점막표면과 점막고유층에서 분포하는 Bcl-2 양성반응세포는 대조군에서는 대장내 점막 손상 유발후 시간이 경과할수록 분포가 감소하여, 7일 후에는 정상군에 비해 90.9% 감소한  $503.0 \pm 14.0 / 200,000$  pick



**Fig. 15.** The immunohistochemical stain for COX-1 in colonal mucosa from CE mouse. The COX-1 positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were disappeared.  $\times 200$ .



**Fig. 16.** The immunohistochemical stain for COX-1 in colonal mucosa from SMA mouse. The COX-1 positive cells (arrow) were seen.  $\times 200$ .



**Fig. 19.** The immunohistochemical stain for TUNEL in colonal mucosa from CE mouse. The TUNEL positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased. Right below square : The magnification of TUNEL positive cells.  $\times 200$ .



**Fig. 20.** The immunohistochemical stain for TUNEL in colonal mucosa from SMA mouse. The TUNEL positive cells (arrow) were decreased.  $\times 200$ .

**Table 3.** The Image Analysis of Immunohistochemistry for COX-1 in SME Treated Mouse at Day-7 after Gastro-Inflammation Elicitation

Organ	Group		
	Normal	Control	Sample
colon	492.8 $\pm$ 21.7	68.0 $\pm$ 7.6	432.0 $\pm$ 17.1*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 50-150)  
 Abbreviation > M  $\pm$  S.D. : Mean  $\pm$  Standard Deviation  
 Normal : NO inflammation elicited mouse  
 Control : gastro-inflammation elicited mouse  
 Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation  
 \* : P<0.05 compared with control group

cell로 관찰되었다 (Table 4, Fig. 21). 대조군의 이러한 감소에 비해 실험군은 Bcl-2 양성반응세포의 감소가

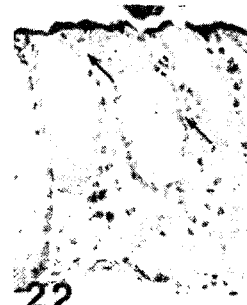
적었으며, 7일 후에는 대조군에 비해 997.2%가 증가 된 5016.0 $\pm$ 108.3 pick cell이 관찰되었다 (Table 4, Fig. 22).

(3) 세포증식 변화

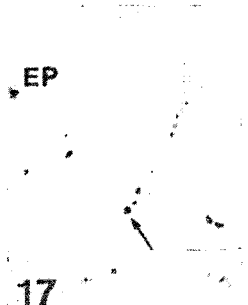
점막표면과 점막고유층에서 분포하는 BrdU 양성 반응세포는 대조군에서는 대장내 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 분포가 감소하여, 7일 후에는 정상군에 비해 66.4% 감소한 403.0 $\pm$ 13.9 / 200,000 pick cell로 관찰되었다 (Table 4, Fig. 17). 대조군의 이러한 감소에 비해 실험군은 BrdU 양성반응세포의 감소가 적었으며, 7일 후에는 대조군에 비해 278.7%가 증가 된 1123.0 $\pm$ 129.8 pick cell이 관찰되었다 (Table 4, Fig. 18).



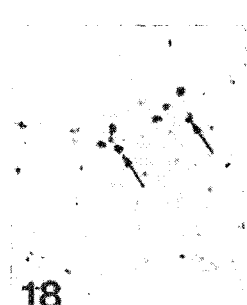
**Fig. 21.** The immunohistochemical stain for Bcl-2 in colonic mucosa from CE mouse. The Bcl-2 positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were decreased.  $\times 200$ .



**Fig. 22.** The immunohistochemical stain for Bcl-2 in colonic mucosa from SMA mouse. The Bcl-2 positive cells (arrow) were increased.  $\times 200$



**Fig. 17.** The immunohistochemical stain for BrdU in colonic mucosa from CE mouse. The BrdU positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were decreased. Right below square : The magnification of BrdU positive cells.  $\times 200$ .



**Fig. 18.** The immunohistochemical stain for BrdU in colonic mucosa from SMA mouse. The BrdU positive cells (arrow) were increased.  $\times 200$ .

**Table 4.** The Image Analysis of TUNEL and Immunohistochemistry for Bcl-2 and BrdU in SME Treated Mouse at Day-7 after Gastro-Inflammation Elicitation

Antibody	Organ	Group		
		Normal	Control	Sample
Apoptosis	colon	1708.4 $\pm$ 111.1	12358.0 $\pm$ 751.0	2030.0 $\pm$ 116.0*
Bcl-2	colon	5503.2 $\pm$ 163.3	503.0 $\pm$ 13.9	5016.0 $\pm$ 108.3*
BrdU	colon	1200.0 $\pm$ 72.9	403.0 $\pm$ 13.9	1123.0 $\pm$ 129.8*

image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 50-150)

Abbreviation > M  $\pm$  S.D. : Mean  $\pm$  Standard Deviation

Normal : NO inflammation elicited mouse

Control : gastro-inflammation elicited mouse

Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation

\* : P<0.05 compared with control group

### 3) 점막 내 복합당질 변화

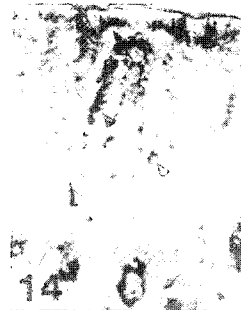
정상군에서 SBA 양성반응이 흡수세포와 분비세포에서 중등정도의 반응을 보였다 (Table 5). 그러나 대조군은 흡수세포에서 약한 반응, 술잔세포에서 무반

응을 보였다 (Table 5, Fig. 13). 이에 비해 실험군에서는 흡수세포와 분비세포에서 중등정도의 반응을 보여 정상군과 유사한 SBA 양성반응을 보였다 (Table 5, Fig. 14).





**Fig. 13.** The immunohistochemical stain for SBA reaction in colonic mucosa from CE mouse. The SBA positive reaction in region of hemorrhagic erosion were decreased.  $\times 200$ .



**Fig. 14.** The immunohistochemical stain for SBA reaction in colonic mucosa from SMA mouse. The SBA positive reaction were increased. arrow; absorption cell, vacanted arrow head ; goblet cell.  $\times 200$ .

**Table 5.** The Distribution of SBA in SME Treated Mouse at Day-7 after Gastro-Inflammation Elicitation

Organ	Position	Normal	Group	
			Control	Sample
colon	absorption cell	++	+	++
	secreting cell	++	-	++

Abbreviation > -: negative, + : weak, ++ : moderate, +++ : strong

Normal : NO inflammation elicited mouse

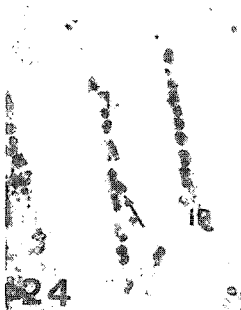
Control : gastro-inflammation elicited mouse

Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation

\* :  $P < 0.05$  compared with control group



**Fig. 23.** The immunohistochemical stain for NF-kB p50 in colonic mucosa from CE mouse. The NF-kB positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased.  $\times 200$ .



**Fig. 24.** The immunohistochemical stain for NF-kB p50 in colonic mucosa from SMA mouse. The NF-kB positive cells (arrow) in lamina propria were decreased.  $\times 200$ .

### 3. 염증반응에 대한 면역 효과

#### 1) 염증관련 매개물질 변화

##### (1) NF- $\kappa$ B p50 변화

점막표면과 점막고유층에서 분포하는 NF- $\kappa$ B p65 양성반응세포는 대조군에서는 대장내 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 분포가 증가하여 7일 후에

는 정상군에 비해 397.9% 증가한  $38555.0 \pm 1307.3 / 200,000$  pick cell로 관찰되었다 (Table 6, Fig. 23). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 NF- $\kappa$ B p65 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 67.4%가 감소된  $12582.0 \pm 818.1$  pick cell이 관찰되었다 (Table 6, Fig. 24).

**Table 6.** The Image Analysis of Immunohistochemistry for NF- $\kappa$ B p50 and COX-2 in SME treated Mouse at Day-7 after Gastro-Inflammation Elicitation

Antibody	Organ	Group		
		Normal	Control	Sample
NF- $\kappa$ B p50	colon	9689.8 $\pm$ 143.2	38555.0 $\pm$ 1307.3	12582.0 $\pm$ 818.1*
COX-2	colon	1171.0 $\pm$ 98.6	6757.0 $\pm$ 131.6	3450.0 $\pm$ 121.7*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 50-150)

Abbreviation > M  $\pm$  S.D. : Mean  $\pm$  Standard Deviation

Normal : NO inflammation elicited mouse

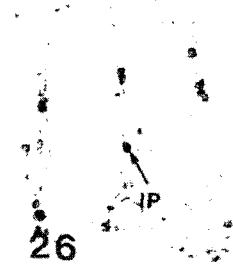
Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation

Control : gastro-inflammation elicited mouse

\* : P<0.05 compared with control group



**Fig. 25.** The immunohistochemical stain for COX-2 in colonic mucosa from CE mouse. The COX-2 positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased.  $\times$ 200.



**Fig. 26.** The immunohistochemical stain for COX-2 in colonic mucosa from SMA mouse. The COX-2 positive cells (arrow) in lamina propria were decreased.  $\times$ 200.



**Fig. 27.** The immunohistochemical stain for IL-2R in colonic mucosa from CE mouse. The IL-2R positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased. Right below square : The magnification of IL-2R positive cells.  $\times$ 200.



**Fig. 28.** The immunohistochemical stain for IL-2R in colonic mucosa from SMA mouse. The IL-2R positive cells (arrow) in lamina propria were decreased.  $\times$ 200.

(2) 전염증적 물질 변화

점막표면과 점막고유층에 분포하는 COX-2 양성반응세포는 대조군에서는 대장내 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 577.0% 증가한 6757.0  $\pm$  131.6 / 200,000 pick cell로 관찰되었다 (Table 6, Fig. 25). 대조군의 이

러한 증가에 비해 실험군은 COX-2 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 47.6%가 감소된 3540.0  $\pm$  121.7 pick cell이 관찰되었다 (Table 6, Fig. 26).

2) 세포성 면역 변화

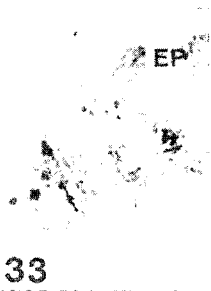
(1) IL-2R- $\alpha$  변화

점막표면과 점막고유층에서 분포하는 IL-2R- $\alpha$  양

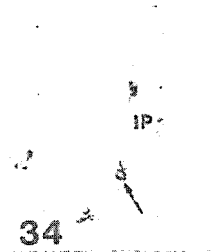
**Table 7.** The Image Analysis of Immunohistochemistry for IL-2R- $\alpha$  and NK-1.1 in SME treated Mouse at Day-7 after Gastro-Inflammation Elicitation

Antibody	Organ	Group		
		Normal	Control	Sample
IL-2R- $\alpha$	colon	425.2 $\pm$ 14.5	1722.0 $\pm$ 72.4	1198.0 $\pm$ 78.4*
NK-1.1	colon	1148.0 $\pm$ 71.4	13931.0 $\pm$ 966.1	3380.0 $\pm$ 145.6*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 50-150)  
 Abbreviation > M  $\pm$  S.D. : Mean  $\pm$  Standard Deviation  
 Normal : NO inflammation elicited mouse  
 Control : gastro-inflammation elicited mouse  
 Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation  
 \* : P<0.05 compared with control group



**Fig. 33.** The immunohistochemical stain for NK-1,1 in colonic mucosa from CE mouse. The NK-1,1 positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased.  $\times 200$ .



**Fig. 34.** The immunohistochemical stain for NK-1,1 in colonic mucosa from SMA mouse. The NK-1,1 positive cells (arrow) in lamina propria were decreased.  $\times 200$ .



**Fig. 29.** The immunohistochemical stain for ICAM-1 in colonic mucosa from CE mouse. The ICAM-1 positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased.  $\times 200$ .



**Fig. 30.** The immunohistochemical stain for ICAM-1 in colonic mucosa from SMA mouse. The ICAM-1 positive cells (arrow) in lamina propria were decreased.  $\times 200$

성반응세포는 대조군에서는 대장내 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 405.2% 증가한 1722.0 $\pm$ 72.4 / 200,000 pick cell로 관찰되었다 (Table 7, Fig. 27). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 IL-2R- $\alpha$  양성반응세포의

증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 30.4%가 감소된 1198.0 $\pm$ 78.4 pick cell이 관찰되었다 (Table 7, Fig. 28).

(2) 자연살해세포의 분포 변화

점막고유층에서 분포하는 NK-1.1 양성반응세포는

대조군에서는 대장내 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 1213.5% 증가한  $13931.0 \pm 966.1 / 200,000$  pick cell로 관찰되었다 (Table 7, Fig. 33). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 NK-1.1 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 75.7%가 감소된  $3380.0 \pm 145.6$  pick cell이 관찰되었다 (Table 7, Fig. 34).

3) 세포기용 변화

(1) ICAM-1 변화

점막표면과 점막고유층에서 분포하는 ICAM-1 양성반응세포는 대조군에서는 대장내 점막 손상 유발 후 시간의 경과할수록 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 1169.5% 증가한  $22022.0 \pm 790.6 / 200,000$  pick cell로 관찰되었다 (Table 8, Fig. 29). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 ICAM-1 양성

반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 85.5%가 감소된  $3186.0 \pm 93.3$  pick cell이 관찰되었다 (Table 8, Fig. 30).

(2) CD11b/18 분포 변화

점막고유층에서 분포하는 CD11b/18 양성반응세포는 대조군에서는 대장내 점막 손상 유발 후 시간이 경과할수록 분포가 증가하여 7일 후에는 정상군에 비해 1448.0% 증가한  $5633.0 \pm 83.7 / 200,000$  pick cell로 관찰되었다 (Table 8, Fig. 31). 대조군의 이러한 증가에 비해 실험군은 CD11b/18 양성반응세포의 증가가 낮았으며, 7일 후에는 대조군에 비해 79.9%가 감소된  $1135.0 \pm 74.9$  pick cell이 관찰되었다 (Table 8, Fig. 32).

고 찰

염증성 장질환이란, 장에 만성적인 원인불명의 염



Fig. 31. The immunohistochemical stain for CD11b/18 in colonic mucosa from CE mouse. The CD11b/18 positive cells (arrow) in region of hemorrhagic erosion were increased.  $\times 200$ .

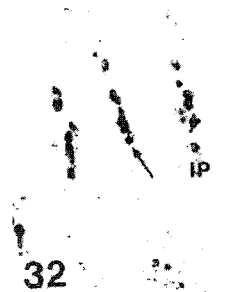


Fig. 32. The immunohistochemical stain for CD11b/18 in colonic mucosa from SMA mouse. The CD11b/18 positive cells (arrow) in lamina propria were decreased.  $\times 200$ .

Table 8. The Image Analysis of Immunohistochemistry for ICAM-1 and CD11b/18 in SME treated Mouse at Day-7 after Gastro-Inflammation Elicitation

Antibody	Organ	Group		
		Normal	Control	Sample
ICAM-1	colon	$1883.0 \pm 88.6$	$22022.0 \pm 790.6$	$3186.0 \pm 93.3^*$
CD11b/18	colon	$389.0 \pm 6.6$	$5633.0 \pm 83.7$	$1135.0 \pm 74.9^*$

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 50-150)

Abbreviation > M  $\pm$  S.D. : Mean  $\pm$  Standard Deviation

Normal : NO inflammation elicited mouse

Control : gastro-inflammation elicited mouse

Sample : SME administered mouse after gastro-inflammation elicitation

\* : P<0.05 compared with control group

증을 일으키는 질환으로 넓은 의미에서 세균성 장염, 아메바성 이질, 결핵성 장염, 베체트 장염, 허혈성 장염, 방사선 조사 후 장염 등이 모두 장에 발생하는 염증성 질환이지만, 일반적 의미에서 염증성 장질환이라고 할 때는 협의로 궤양성 대장염과 크론병을 지칭한다<sup>2,3,19)</sup>.

두 질환 모두 혈성 설사를 대표적인 증상으로 하고 있지만, 혈성 설사 그 자체는 궤양성 대장염의 경우에 더 심하고 크론병의 경우는 복통, 복부 종괴, 항문 열상이나 누공 등의 증상이 흔하다. 내시경적 소견을 보면 궤양성 대장염은 거의 항상 직장을 침범하는 얇은 궤양성 병변으로 정상 점막 부위없이 병변이 연속되는 양상을 보인다. 이에 비해 크론병은 장의 길이 방향으로 종주하는 깊은 궤양성 병변이 정상 점막을 사이에 두고 여기 저기 건너뛰면서 관찰된다. 조직학적 소견은 궤양성 대장염에서의 염증 반응은 대개 점막에 국한되는데 음와의 구조를 파괴하고 배세포들이 소실되며 특징적으로 음와 농양이 관찰되는 반면, 크론병의 경우는 점막하층과 근육층을 지나 장막층까지 염증 세포가 침윤할 수 있고 전형적인 예에서는 비건락성 육아종을 관찰할 수 있다. 그러나 이상의 감별점들 중 어느 하나도 절대적으로 두 질환을 구분하는 기준이 될 수 없으며, 실제 임상에서는 두 질환의 특징이 혼재되어 있어서 어느 한 쪽으로도 분류하기 어려운 미확정성 대장염이 5-20%에서 관찰된다<sup>20)</sup>.

최근 생활환경이 서구화되면서 과거에는 빈도가 낮았던 궤양성 대장염과 크론병 등이 우리나라에서도 늘어나고 있는 추세인데<sup>3)</sup>, 송의 연구<sup>1)</sup>에 의하면 직장, 대장경 검사에 중 염증성 장질환으로 진단된 예의 비율이 궤양성 대장염이 1980년에 3.8%에서 1995년에 8.1%로 증가하였고, 크론병도 0.2%에서 1.7%로 증가하였으며, 환자수도 궤양성 대장염은 1978년부터 1980년까지 3년간 39에서 1995년에는 173으로 증가했고, 크론병은 2에서 36으로 증가했다.

염증성 장질환의 원인, 염증의 개시 및 유발요인, 정확한 면역조절 기전은 아직까지 밝혀져 있지 않지만, 최근의 역학적 연구, 실험동물을 이용한 연구, 장

내 미생물에 대한 연구, 장내 점막의 면역기전 및 염증유발에 관여하는 면역체계에 대한 광범위한 연구 등에 의하면 유전적 감수성에 장내에 만성적, 지속적 으로 작용하는 세균 및 세균 유래 성분의 상호작용이 임상적으로 잘 낫지 않는 만성, 재발성의 염증을 유발하는 것으로 여겨진다<sup>21)</sup>.

궤양성 대장염과 크론병에 대한 원인과 병태생리를 정확히 모르는 상태이므로 근원적인 약물 요법은 없다. 따라서 현재 이들 대장 질환에 대한 치료는 보조적이고 대증적일 수 밖에 없다. 혈관 투과성을 감소시키거나, 염증의 생화학적 발현을 일으키는 매개인자를 억제시키거나, 면역학적 조직손상을 억제시키면서 동시에 환자의 영양상태를 개선시켜 숙주 방어기전을 증가시키고 감염을 조절하는 것 등이 치료의 주가 된다<sup>3)</sup>.

염증성 장질환은 한의학적으로泄瀉, 下痢, 腸滯, 腸風, 腹痛의 범주에 속하고 원인은 대개 濕熱, 脾胃兩虛, 脾虛, 腎虛, 肝脾不和, 血瘀 등으로 볼 수 있으며, 暴瀉無度하거나 熱盛傷陰하면 傷津脫液의 증상이 나타난다. 치료는 清熱利濕을 위주로 하여 健脾益腎, 活血化瘀, 理氣化血이 기본적으로 쓰이며, 暴瀉로 인해 진액의 손실이 심하거나, 熱盛傷陰하여 痢下赤白膿血, 量少難出, 腹痛綿綿, 心煩, 口乾, 舌質紅, 脈細數 등의 증상이 나타나는 陰虛痢에는 養陰增液시키거나 養陰清熱의 처방을 쓴다<sup>4,11)</sup>.

사삼맥문동탕은 吳鞠通의 《溫病條辨》<sup>8)</sup>에 처음 수록된 처방으로 沙蔞, 麥門冬, 天花粉, 桑葉, 白扁豆, 玉竹, 甘草로 구성되어 있으며, 胃陰不足으로 나타나는 胃脘痛, 口乾咽燥, 飲食不思, 食後飽脹, 大便乾燥, 心煩微熱 등에 적용된다<sup>10)</sup>. 方中の 沙蔞은 滋陰清肺, 祛痰, 生津養胃, 麥門冬은 益胃生津, 潤肺養陰, 清心除煩, 潤腸通便, 天花粉은 清熱生津, 排膿消腫, 桑葉은 疏風散熱, 清肝明目, 清肺潤燥, 涼血止血, 白扁豆는 健脾化濕, 暑濕解毒, 玉竹은 滋陰潤肺, 生津養胃, 甘草는 清熱解毒, 潤肺止咳, 緩急止痛의 효능이 있다<sup>22)</sup>.

점막 손상으로 유발된 염증성 장질환의 치료에 대한 실험적 연구로는, 김<sup>23)</sup>이 導赤地榆湯이 대장 점막의 조직 손상의 회복과 염증의 감소에 유효하다고

했으며, 사삼맥문동탕에 대한 연구로는 김<sup>24)</sup>이 위·십이지장 점막의 조직학적 변화, 점막 방어기능과 염증반응의 면역효과에 관한 실험적 연구를 통해 위·십이지장 점막 손상의 회복에 사삼맥문동탕이 유의한 효과가 있다고 하였다.

이에 저자는 사삼맥문동탕의 대장 점막 손상에 대한 치료 효과를 실험적으로 규명하기 위하여, indomethacin을 경구 투여하여 대장 점막 손상을 인위적으로 유발한 생쥐를 정상군, 대장내 염증유발군(대조군)과 사삼맥문동탕 투여군(실험군)으로 나누어 각 군에 10마리씩 배정하였다. 점막의 형태 조직학적 변화와 점막 방어 기능, 그리고 염증반응에 대한 면역 효과를 알아보기 위하여, 점막의 일반적인 형태, 미세구조, 표면상피세포, 점막보호인자, 세포자기살해, 세포증식, 복합당질, 염증관련매개물질, 세포성 면역 및 세포기능 등의 변화를 관찰하였다.

형태 조직학적 변화에 있어서, 대조군의 대부분에서 점막의 출혈성 미란이 관찰되었고, 미세용모, 연접복합체, 세포소기관의 손상이 확인되었으며, 중성 점액질 분비세포의 유실 등의 점막 손상이 일어났다. 이러한 점막보호장벽의 손상 즉, 점막의 mucus와 bicarbonate 보호장벽의 결핍은 prostaglandin의 분비 차단에 의해 발생된 것인데<sup>25)</sup>, 이는 COX-1 mRNA 발현억제에 의한 세포내 arachidonic acid의 prostaglandin 전환과정 저해의 결과이다<sup>26,27)</sup>. 이에 비해 실험군에서는 점막의 일반적인 형태와 미세구조, 점액분비세포 등이 정상군과 유사한 형태로 관찰되었으며, 점막 손상 정도도 적었다.

점막상피세포의 보호 기전에 관여하는 COX-1은 위장관 보호, 신장의 혈류 조절 및 혈소판 응집과 같은 정상적인 생리 과정을 유지함으로써 세포의 항상성을 유지하는 중요한 역할을 한다. 본 실험의 대조군에서 나타난 출혈성 미란 지역주변에서는 COX-1에 대한 양성반응이 거의 나타나지 않았는데, Byron과 Andre<sup>28)</sup>, Choitsu<sup>29)</sup>는 COX-1의 결핍이 점막손상의 일차적 원인으로 설명될 수 있다고 하였다. 한편 실험군에서는 COX-1 양성반응세포의 감소가 적어 7일 군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내

었다.

점막 손상지역에서는 점막상피세포의 세포자기살해(apoptosis)와 세포분열 (proliferation)의 변화도 관찰되었다. 즉 세포분열을 통해 새로운 점막상피세포의 생성이 이루어지는데<sup>30)</sup>, 본 실험에서는 이러한 세포분열이 감소한 것으로 관찰되었다. 이러한 세포분열의 변화는 thymidine analogue인 Brdu를 합성시켜 DNA에 끼워 넣은 후 면역조직화학을 통해 조사되었다<sup>30)</sup>. 과도한 세포자기살해가 출혈성 침윤지역의 세포에서 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 생각된다<sup>31-33)</sup>. apoptosis는 2개의 신호전달 체계에 의해 일어나는데, 즉 Bcl-2 계열의 유전자중 Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, EBV BHRF1, E1B19K 등은 세포의 생존(apoptosis antagonist)을 담당하는데 반해서, Bax, Bak, Bim, Bil (Nbk), BAD, BID 등은 세포의 사망(apoptosis agonist)을 유도한다<sup>34)</sup>. 본 실험에서는 Bcl-2의 분포변화가 관찰되었는데 대조군에서는 분포가 감소된 것으로 나타나 세포자기살해의 증가가 일어났다. 이에 비해 실험군에서는 세포자기살해의 변화가 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었으며, 세포자기살해관련 신호분자인 Bcl-2와 증식중인 세포에서 관찰되는 Brdu는 대조군에 비해 유의성 있게 증가되었다.

점막 내 복합당질의 분포 변화는 정상군과 실험군에서 유사한 반응이 나타났으나, 대조군에서는 무반응 또는 약한 반응을 보여 실험군과 차이를 나타내었다.

점막손상은 oxygen free radical에 의한 lipid peroxidation(지질과산화)은 세포막의 polyunsaturated fatty acids를 퇴화시켜 막 구조의 붕괴를 초래하는데 이러한 외부자극에 의한 세포내 산화환원상태 및 외부에서 첨가된 산화제, 항산화 등에 의해 nuclear factor (NF)- $\kappa$ B의 세포내 작용이 유도된다. 이러한 NF- $\kappa$ B의 조절이 깨어졌을 때 급성 염증상황에 의한

조직손상이 초래된다. 전사인자인 NF- $\kappa$ B는 세포질 내에서 I- $\kappa$ B라는 inhibitory protein이 부착된 상태로 존재하다가 자극이 오면 I- $\kappa$ B가 떨어져 나가면서 분해되며 남은 dimer (보통 p50-p65 heterodimer)가 세포질에서 핵으로 이동하게 된다. 이동 후 cytokine, cytokine receptor, cell adhesion molecule, growth factor 등의 발현에 관여하는 유전자의 promoter나 enhancer의 B site에 결합함으로써 전사를 유도한다. 본 실험에서는 NF- $\kappa$ B의 변화를 NF- $\kappa$ B p50 항체를 이용한 면역조직화학적 표본을 이용하여 조사하였는데 점막 상피 손상지역에서 급격하게 증가된 양상을 보였다. 이는 전염증성 물질인 COX-2를 비롯해, 세포성 면역과 세포기능 등의 과도한 증가를 촉발시켰다. 먼저 COX-2의 증가가 대조군에서 관찰되었는데, COX-2는 외부자극에 의해 염증이 유발되어 전달되는 과정에서 유도성 동종효소 (inducible isoform)로 섬유모세포와 큰 포식세포를 포함한 여러 세포에서 발현되어 염증이 일어나는 곳에서 proinflammatory prostaglandin을 과량 방출한다<sup>35,37)</sup>. COX-2의 과도한 발현은 IL-2R 분비 증가를 통한 세포성 면역연쇄반응 작용을 유발시키게 되었고, 조직손상부위에서의 자연살해세포의 증가도 관찰되었다. 이러한 결과는 점막 고유판에서 시작된 염증관여세포의 침식을 점막근판을 지나 점막밑층까지 확대시켰는데, 이는 이미 보고<sup>38)</sup>된 염증성 협착의 또 하나의 원인이다. 이러한 기전은 대조군에서도 나타났는데, 사삼맥문동탕을 투여한 실험군에서는 NF- $\kappa$ B, COX-2, IL-2R 및 NK-1.1의 변화가 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다.

한편 점막 손상시 염증관여세포의 이주에는 CD11b/18과 세포유착분자 (cellular adhesion molecular; CAM)가 관여하게 되는데<sup>37)</sup>, 본 실험에서도 점막 기저부와 점막하 조직의 세동맥 주변부에서 CD11b/18과 ICAM-1 양성반응세포의 분포증가가 확인되었다. 이러한 현상은 소화기 조직손상과 염증 증가시 세포성 면역체계를 자극하여 세포유착분자인 ICAM-1의 발현증가를 유도한다는 이전에 보고<sup>35,36)</sup>와 일치하였는데, 이러한 염증관여세포의 유입은 조직

손상을 가속화시키는 결과를 초래할 것으로 생각된다. 이에 비해 실험군에서는 CD11b/18과 ICAM-1 양성반응세포의 분포가 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다.

이상의 결과로 볼 때, 사삼맥문동탕을 투여한 실험군에서는 COX-1 발현을 통한 prostaglandin의 정상적인 분비로 mucus와 bicarbonate 보호장벽을 유지시켰으며, 점막세포의 세포분열 지속과 세포자기살해의 감소로 균형이 이루어져 대조군의 점막에서 관찰된 과도한 점막세포의 손상과 염증반응이 나타나지 않았다. 또한 실험군에서는 대조군과는 달리 D-N-acetylgalactosamine와 관련된 복합당질인 SBA 양성반응의 유지가 점막표면에서 관찰되었는데, 이는 이전의 보고<sup>39,40)</sup>로 미루어 보아 점막 보호에 관여하는 것으로 생각된다.

## 결론

대장 점막 손상에 대한 사삼맥문동탕의 효능을 연구하기 위하여, indomethacin을 투여하여 인위적인 점막 손상을 유발시킨 생쥐에 사삼맥문동탕 추출물을 경구 투여한 후, 대장에서 발생하는 일반적인 형태, 미세구조, 표면상피세포, 점막보호인자(COX-1), 세포자기살해 (TUNEL, Bcl-2), 세포증식(BrdU), 복합당질(SBA), 염증관련매개물질(NF- $\kappa$ B, COX-2), 세포성 면역(IL-2R- $\alpha$ , NK-1.1) 및 세포기능(ICAM-1, CD11b/18) 등의 변화를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대장 점막 손상은 사삼맥문동탕 처리 후 회복되어 점막에서 다발적으로 야기된 출혈성 미란과 궤양이 감소하였다.
2. 점액을 분비하는 표면상피세포가 유지되었으며, 점막보호인자인 COX-1의 분포가 증가하였고, 표면상피세포의 apoptosis 감소와 세포분열이 증가하였다.
3. 조직 손상을 가속화시키는 유전자 발현을 유도하는 NF- $\kappa$ B의 활성화가 감소되었는데, 이는 염

증유도성 동종효소인 COX-2의 과발현을 억제하였고, 세포성 면역의 중추 사이토카인 IL-2R- $\alpha$ , 자연살해세포, 세포기능에 관여하는 ICAM-1과 CD11b/18 등의 분포가 감소되어 조직 손상이 적었다.

이상의 결과로 생쥐의 대장 점막 손상을 야기하는 과도한 염증반응은 사삼맥문동탕에 의해 감소되었다.

### 참고문헌

1. 송인성. 한국인의 염증성 장질환. 대한내과학회지. 1999;57(4):661-674.
2. 헤리슨 내과학 편찬위원회. 헤리슨 내과학. 서울:정담. 1997:1276-1285.
3. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 1996 최신지견 내과학 I. 서울:군자출판사. 1997:420-436.
4. 강태희, 원진희. 케양성 대장염의 한의학적 접근방식에 관한 연구. 한방성인병학회지. 1999;5(1):137-162.
5. 齊錦生. 健脾祛濕方藥對慢性潰瘍性直腸炎變態反應影響的對照觀察. 中醫雜誌. 1996;37(1):32-33.
6. 蘇路俠. 中藥口服及灌腸治療慢性非特異性潰瘍性結腸炎124例. 北京中醫. 1997;4:19-20.
7. 苗青. 中醫藥治療難治性潰瘍性結腸炎臨床觀察. 天津中醫. 1998;15(5):211-212.
8. 吳鞠通. 溫病條辨. 북경:인민위생출판사. 1998:46.
9. 전국한의과대학 비계내과학교수 공저. 비계내과학. 서울:아트동방. 1998:69-71,363.
10. 신재용 편저. 방약합편해설. 서울:성보사. 1991:433.
11. 張伯臾. 중의내과학. 북경:인민위생출판사. 1988:306-335.
12. 김혁규, 백태현. 大建中湯의 항케양 및 위장관에 미치는 효과에 관한 실험적 연구. 대한한의학회지. 1997;18(1):238-250.
13. 김경선, 신홍묵. 加味香砂六君子湯의 Indomethacin 유도 위점막손상에 미치는 항산화효과. 대한한의학회지. 1998;19(1):165-178.
14. 한상순, 한상원, 박순달. 오페산이 HCL-aspirin으로 유발된 백서의 위궤양에 미치는 면역조직학적 연구. 대한한방내과학회지. 1998;19(2):185-207.
15. 손정숙, 임성우. 四君子湯合蒼朮地榆湯이 위점막손상에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1999;20(2):231-248.
16. 김종대. 향사육군자탕 및 향사육군자탕가미방이 흰쥐의 실험적 위궤양에 미치는 면역조직학적 연구. 대한한방내과학회지. 1999;20(2):67-76.
17. 전창민, 민건우, 박종혁, 윤철호, 정지천, 강정준, 신억섭, 김형진. 단삼음이 흰쥐의 소화성 궤양에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2000;21(4):597-604.
18. 김태중, 이윤희, 최우석, 변준석, 박순달. 소견중탕가용골·모려가 흰쥐의 실험적 위궤양에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2001;22(1):13-20.
19. 송인성. 염증성 장질환의 분류 및 역학. 녹십자 의보. 1997;25(1):2-7.
20. 유은실. 염증성 장질환의 병리학적 특징. 녹십자 의보. 1997;25(1):8-13.
21. 홍은경. 염증성 장질환의 원인과 발생기전. 녹십자 의보. 1997;25(1):14-24.
22. 전국한의과대학 본초학교실 공편. 본초학. 서울:영림사. 1991:145, 165, 539, 540, 587, 588, 593.
23. 김승욱, 임성우. 도적지유탕이 케양성 대장염 유발 흰쥐에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2002;23(3):200-210.
24. 김주성. 사삼맥문동탕이 위·십이지장 점막 손상의 회복에 미치는 영향. 동국대학교 대학원. 2001.
25. Arakawa T, Higuchi K, Fukuda T, Fujiwara Y, Kobayashi K, Kuroki T. Prostaglandins in the stomach. an update. J. Clin. Gastroenterol. 1998;27:1-11
26. Cryer B, Kimmey MB. Gastrointestinal side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug. Am J med. 1998;105:20s-30s.
27. Siomon LS. Biology and toxic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Current Opinion in Rheumatology. 1998;10:153-158.
28. Cryer B, Dubois A. The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase-a review. Prostaglandins



- & other Lipid Mediators. 1998;56: 341-361.
29. Sakamoto C. Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal pathophysiology. *J Gastroenterol.* 1998;33:618-624.
  30. Kulldorff M, McShane LM, Schatzkin A, Freedman LS, Wargovich MJ, Woods C, Purewal M, Burt RW, Lawson M, Mateski DJ, Lanza E, Corle DK, O'Brien B, Moler J. Measuring cell proliferation in rectal mucosa : Comparing bromodeoxyuridine(BrdU) and proliferating cell nuclear antigen(PCNA) assays. *J Clin Epidemiol.* 2000;53:875-883.
  31. Konturek PC, Brozowski T, Konturek SJ, Taut A, Sliwowski Z, Stachura J, Hahn EG. Activation of gene growth factors and cyclooxygenases in rat gastric mucosa during recovery from stress damage. *Europe J Pharmacol.* 1998;342:55-65.
  32. Porter SN, Howarth GS, Butler RN. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and apoptosis in the gastrointestinal tract : potential role of the pentose phosphate pathways. *Europe J Pharmacol.* 2000;397:1-9.
  33. Kim TI, Jin SH, Kim WH, Kang EH, Choi KY, Kim HJ, Shin SK, Kang JK. Prolonged activation of mitogen-activated protein kinases during NSAID-induced apoptosis in HT-29 colon cancer cells. *Int J Colorectal Dis.* 2001;16:167-173.
  34. Akbar AN, Borthick N, Salmon M, Gombert W, Bofill M, Shamsadeen N, Pilling D, Pett S, Grundy JE, Janosy G. The significance of low Bcl-2 expression by CD45RO+ T cell in normal individuals and patients with acute viral infections : The role of apoptosis in T cell memory. *J. Exp. Med.* 1993;178:427-438.
  35. Rothkotter HJ, Pabst R, Bailey M. Lymphocyte migration in the intestinal mucosa : entry, transit and emigration of lymphoid cells and the influence of antigen. *Veterinary Immunology Immunopathology.* 1999;72:157-165.
  36. Kirman I, Vainer B, Nielsen OH. Interleukin-15 and its role in chronic inflammatory diseases. *Inflamm res.* 1998;47:285-289.
  37. Li YX, Li N, Li YS, Wu B, Li JS. Upregulated intragraft gene expression, ICAM-1 and IL-2R molecules, and apoptotic epithelial cells during rejection of rat SAMII intestine allografts. *Transplant Proceed.* 2000;32:1283-1286.
  38. Zalev AH, Gardiner GW, Warren RE. NSAID injury to the SAMII intestine. *Abdom Imaging.* 1998;23:40-44.
  39. Kitajima M, Mogi M, Kiuchi T, Shimizu A, Nakajima M, Oshima A, Kawakami H, Hirano H. Alteration of gastric mucosal glycoprotein in gastric mucosa in stress : A light and electron microscopic study. *J. Clin Gastroenterol.* 1990;12:1-7.
  40. Falk P, Roth KA, Gordon JI. Lectins are sensitive tools for defining the differentiation programs of mouse gut epithelial cell lineages. 1994;266:987-1003.