

Indomethacin으로 유발된 생쥐의 위점막 손상에 대한 消滯丸의 효과

송창훈, 백태현

상지대학교 한의과대학 비계내과학교실

Effect of *Socheh-wan* Extract on Indomethacin-induced Gastric Mucosal Lesions in Mice

Chang-hoon Song, Tae-hyeun Baek

College of Sang-Ji Oriental Medicine, Dept. of Internal medicine

ABSTRACT

Objectives : This study was carried out to investigate the effects of *Socheh-wan* extract on indomethacin-induced gastric mucosal lesions of mice.

Methods : Experimental mice were divided randomly into four groups. The normal group, the gastropathy group of gastro-inflammation elicited mice, the misoprostol group of mice administered misoprostol after gastro-inflammation elicitation and the *Socheh-wan* group of mice administered *Socheh-wan* after gastro-inflammation elicitation.

Results : The hemorrhagic erosion of gastric mucosa, the damage of arrangement of mucous secreted cells and HSP70 increased in the gastro-inflammation elicited group, but decreased significantly in the misoprostol and *Socheh-wan* extract administered groups. Cell proliferation of gastric mucosa decreased in the gastro-inflammation elicited group, but increased significantly in the misoprostol and *Socheh-wan* extract administered groups. The distribution of mucosal neck cells and mucosal surface cells and PNA positive reactions of surface mucus cells decreased in the gastro-inflammation elicited group, but increased significantly in the misoprostol and *Socheh-wan* extract administered groups. COX-1 positive cells decreased in the gastro-inflammation elicited group, but increased significantly in the misoprostol and *Socheh-wan* extract administered groups. iNOS mRNA and COX-2 mRNA increased in the gastro-inflammation elicited group, but decreased significantly in the *Socheh-wan* extract administered group. NF-kB p65, iNOS and COX-2 increased in the gastro-inflammation elicited group, but decreased significantly in the misoprostol and *Socheh-wan* extract administered groups.

Conclusion : *Socheh-wan* extract had excellent effects on indomethacin-induced gastric mucosal lesions in mice.

Key words : *Socheh-wan* extract, indomethacin, Misoprostol, Gastric mucosal lesions

1. 緒 論

소화성 궤양은 현대인의 건강을 위협하는 주요 소화기 질환의 하나로, 미국 및 유럽 등의 국가에서는 전체인구의 약 5-10%가 이로 인해 고통을 겪는 것으로 추정된다^{1,2}. 우리나라에서는 건강보험

심사평가원에서 발표한 최근 자료에 의하면, 소화기 질환으로 치료를 받은 환자 수는 연 2,111만인데, 이는 호흡기 질환에 이어 2위로, 인구의 과반수가 위장병에 시달리고 있음을 보여주며³, 특히 현대사회에서 상존하는 만성적 심리적 스트레스가 소화성 궤양의 발생과 악화에 중요한 역할을 하고 있다⁴.

소화성 궤양이란 위장관점막이 위산에 의하여 소화되어 궤양을 형성한 상태를 말하며, 소화성 궤양의 대부분은 십이지장궤양과 위궤양인데⁵, 모두

· 교신저자: 백태현 강원도 원주시 우산동 283번지
상지대학교 부속한방병원 비계내과학교실
TEL: 010-5282-0068
E-mail: white@sangji.ac.kr

심와부 동통이 가장 흔한 증상이다⁶. 기타 증상으로는 오심 및 구토, 공복감과 식욕감퇴, 상복부 불쾌감, 트림 등의 가벼운 소화불량증세와 궤양면에 출혈이 생김으로써 나타나는 토혈, 하혈도 종종 나타난다^{6,7}. 또한, 초기에 적절한 치료 및 관리를 하지 않으면 심각한 합병증을 유발하고 재발이 잦아 임상적으로 중요하다⁸.

소화성 궤양의 치료 목표는 궤양에 의한 복통, 속쓰림, 소화불량 등의 증상을 없애고, 궤양을 치유함으로써 궤양에 의한 합병증이 생기지 않게 하며, 재발을 방지하는 것이다. 소화성 궤양의 치료는 천공, 장폐쇄, 출혈 등의 합병증이 없는 한 약물요법이 우선하며 동시에 궤양을 일으키거나 악화시킬 수 있는 약물들의 복용을 금하는 것이다⁹.

소화성 궤양은 한의학적으로 胃脘痛, 腹痛, 心下痛 등의 병증에 해당한다고 볼 수 있고, 肝胃不和, 脾胃濕熱, 瘀血阻絡, 鬱熱型, 脾胃虛寒, 胃陰不足 등으로 변증시치한다^{10,11}.

消滯丸은 『東醫寶鑑』에 “消食, 消酒, 消水, 消氣, 消痞, 消脹, 消腫, 消積, 消痛. 此藥消而不見, 嚮而不動, 其功甚捷.” 라고 기재되어 胃脘痛, 腹痛, 心下痛에 사용되고 있어¹², 소화성 궤양에도 치료 효과가 있을 것으로 사료된다. 그러나 아직까지 消滯丸 처방이 위점막 손상의 치료효과에 대하여 보고된 바는 없었다.

이에 저자는 Indomethacin으로 위점막 손상을 유발시킨 생쥐에 消滯丸과 소화성 궤양의 치료와 예방에 활용도가 높은 Misoprostol을 각각 투여하여 위점막 손상 치료 효과(출혈성 잘라, 점액분비세포 배열, HSP70, BrdU), 위점막 방어장벽의 보호 효과(중성점액분비세포, 골지복합체, COX-1), 위점막내 항염증효과(iNOS와 COX-2의 mRNA 발현, NF-κB p65와 iNOS와 COX-2 변화)를 연구하였고, 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 실험 재료

1) 실험동물

대한실험동물센터에서 분양 받은 태령 4주된 ICR계 수컷 생쥐를 무균사육장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중 30 g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 정상군, Indomethacin 치료로 위점막 손상 유발군(GE군), Indomethacin 치료로 위점막 손상유발 후 misoprostol 투여군(MA군) 그리고 Indomethacin 치료로 위점막 손상유발 후 消滯丸 추출액 투여군(SA군)으로 나누었으며, 각 군에 각 10마리씩 배정하였다.

2) 세포주와 세포배양

실험에 사용한 마우스의 대식세포(macrophage)인 RAW264.7 세포는 Korean Cell Line Bank (KCLB; Korea)에서 구입하였다. 세포는 37°C, 5% CO² incubator에서 10% Fetal Bovine Serum (FBS; Sigma, USA)가 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, USA)를 사용하여 배양하였다. 오염방지를 위해 항생제로 100 unit/ml penicillin, 100 μg/ml streptomycin(Gibco/BRL, USA)을 첨가하였다. 세포는 플라스크의 80% 정도 자랐을 때 PBS로 씻어주고, Trypsin-EDTA(Gibco/BRL)를 처리하여 계대 배양하였다. 배지는 2일마다 교환하여 주었다.

3) 한약재

본 실험에 사용한 한약재는 『東醫寶鑑』¹² 雜病篇 內傷門에 수록된 消滯丸의 처방에 따른 구성약물로서 시중에서 구입하여 엄선된 약재만을 선택하였다.

Table 1. The amount and composition of *Sochehwan* extract

韓藥名	生藥名	重量(g)
黑丑	<i>Pharbitidis semen</i>	4.0
香附子	<i>Cyperi Rhizoma</i>	2.0
五靈脂	<i>Trogopterirum faeces</i>	2.0
總量		8.0

2. 실험 방법

1) 위점막 손상 유발

위점막 손상을 유발하기 위해 indomethacin(Sigma, USA)를 0.9% NaCl이 포함된 용액에 희석시킨 후 75 mg/kg를 3일 동안 GE군, MA군 그리고 SA군에 피하 주사하였다

2) Misoprostol의 투여

위점막 손상 후 MA군에 Misoprostol(Cytotec, Searle Korea)를 생리식염수에 희석시킨 다음 40 µg/kg량씩 3일 동안 구강투여 하였다.

3) 消滯丸 추출액의 제조와 투여

제조된 消滯丸 각 2첩을 증류수 500 ml에 넣고 2 시간동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 50 ml으로 감압·농축하였다. 위점막손상 유발 후 SA군에 2.5 ml/kg 량으로 3일간 경구투여 하였다. 한편 *In vitro* 실험의 약물 첨가량은 MTT assay에 의해 결정되었다. MTT assay는 우선 96well plate에 RAW264.7 세포(5×10^3 cells/well)를 12시간 배양한 후 FBS를 첨가하지 않은 serum free medium (Sigma)으로 교환하여 4 시간동안 안정화시키고, 1, 5, 10, 20 mg/ml 농도로 消滯丸추출물을 첨가하여 24시간 배양하였다. 그리고 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyl-2H-tetrazolium bromide(MTT; Sigma) 2mg/ml를 넣고, incubator에서 4시간 배양한 후 dimethylsulfoxide (DMSO; Sigma)로 용해시켜 595nm의 파장에서 microplate reader(Molecular devices, USA)로 흡광도를 측정하여 세포생존률을 계산하였다. 消滯丸추출물 20 mg/ml까지는 세포생존률의 변화가 일어나지 않아 0.5, 1, 1.5 그리고 2 mg/ml를 첨가량으로 결정하였다.

4) 위점막내 출혈성 찰과(hemorrhagic erosion) 유발 조사

위점막 손상 유도 후 일어난 출혈성 찰과의 유발 정도를 측정하기위해 otimus program 5.2(USA)를 이용한 영상분석을 실시하였다. 적출된 위의 날문과 몸통부위를 씻힌 후 x4 배율로 촬영한 후 Binary Morphology에서 invert 기능을 선택하여,

출혈성 찰과지역을 intensity 180-200으로 전환시킨다. 영상분석을 통해 pixel의 분포 수를 측정한 후 유의성을 검증하였다.

5) 조직표본 제작

위점막 손상 유발 후 72시간 경과되었을 때 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 위 체부와 유문부의 연결부위를 적출하여 실온에서 24시간동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 µm 두께의 연속절편으로 제작되었다. 위점막의 일반적인 형태변화를 관찰하기 위해 연속절편을 hematoxylin 과 eosin에 염색한 후 광학현미경(BX50, Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 한편 Semi-thin 절편 제작은 절취된 위장 절편을 1/2 Karnovsky 용액에 선 고정한 후 1% OsO₄ 용액에 후 고정하였다. Uranyl acetate에 90분 동안 염색한 후 통상적인 방법으로 epon에 포매하였다. ultramicrotome(LKB, Nova)으로 990nm 두께로 절편을 만들어 toluidine blue로 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

6) 위점막 손상 변화 관찰

(1) 위산에 의한 점막 손상 스트레스 변화

점막내 산성 과다분비로 인한 점막 손상 스트레스를 조사하기위해 스트레스에 대한 완충적 물질인 열 충격 단백질(heat shock protein, HSP)의 하나인 HSP70의 분포변화를 관찰하였다. 우선 절편을 proteinase K(20 µg/ml)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum에서 1시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 rabbit anti mouse HSP70(1:100, Santa Cruz Biotech)에 4 °C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(1:100, DAKO, USA)에 실온에서 24시간 link 하였고, 그런 다음 ABC kit(avidin biotin complex; Vector Lab, USA.)에 1시간동안 실온에서 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine

(DAB; Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하였다.

(2) 점액분비세포분열 변화 관찰

점막내 손상세포의 교체를 통한 점막회복에 관여하는 점막내 세포증식 변화를 조사하기위해 BrdU를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 실험동물에서 위 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 억제하기 위해 0.01%의 proteinase K(DAKO)가 포함된 normal goat serum에 1시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 1차 항체인 mouse anti-mouse BrdU(1:20, Amersham, UK)에 4 °C incubation chamber내에서 72시간 반응시켰고 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하였다.

7) 위점막 보호체계의 변화 관찰

(1) 중성점액장벽의 변화

위산에 의한 자가분해 방벽작용을 하는 중성점액질을 분비하는 표면점액세포의 변화를 조사하기 위해서 periodic acid-schiff reaction (PAS) stain을 실시하였는데 우선 periodic acid에서 5분간 반응시킨 후 Schiff reagent에서 15분동안 처리하였다. 그런 다음 sulfurous rinse에서 각 2분씩 3회 세척한 후 Hematoxylin에서 1분동안 대조염색하였다.

(2) 점액분비세포내 골지체의 변화

점액분비세포내 골지체에 대한 양성반응을 보이는 Peanut Agglutinin(PNA; Sigma, USA)의 표면 점액세포내 분포 변화를 조사하기 위해 lectin을 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 조직을 실온에서 1% bovine serum albumin(BSA; Sigma, USA)에 1시간동안 blocking한 다음 1:100으로 희석한 biotinylated anti-PNA(Sigma, USA)

에 4°C incubation chamber내에서 24시간동안 반응시켰다. 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하였다.

Table 2. Sugar specificities of peanet agglutinin

Lectin	Optium ditution	Sugar specificity
PNA	10 µg/ml	galactosyl-β-1,3-N-acetyl galactosamine

(2) 점막내 COX-1 분포 변화

점막고유층내에서 점막상피세포의 보호기전에 관여하는 cyclooxygenase(COX)-1의 분포변화를 관찰하기위한 rabbit anti-mouse COX-1(1:250, Chyman, USA)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

8) 위점막내 항염증 변화 관찰

(2) *In vitro* 실험을 통한 염증효소 관련 유전자 발현 변화 조사

消滯丸 추출물이 염증효소인 induce Nitric oxide synthase(iNOS)와 cyclooxygenase(COX)-2의 mRNA 발현에 미치는 영향을 조사하기 위해 역전사중합효소연쇄반응법(Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)을 실시하였다. RAW 264.7 cell - 5×10⁵ cells/well을 6 well에 plating하고 12시간 후에 lipopolysaccharide(LPS; Final 1 µg/ml)를 2시간 처리하여 mRNA 발현을 유도하였다. 消滯丸 추출물 0.5, 1, 1.5 그리고 2 mg/ml를 농도별로 첨가하여 24시간동안 배양한 다음 수거하여 RNA를 trizol reagent(Sigma)를 사용하여 추출한 다음 Qubit Quantitation System Starter kit(Invitrogen, USA)로 순도와 농도를 측정하였다. RT-PCR kit (Premega, USA)를 이용하여 cDNA를 합성한 후, iNOS와 COX-2 primer를 PCR machine으로 반응시켰다(Table 3). PCR 산물은 1-2% agarose gel 상에서 전기영동 하여 relative intensity로 측정하였다. 한편 RT-PCR의 정확성을 평가하기 위하여 internal standard인 beta-actin의 증폭을 동시에 실시하였다.

Table 3. The primer of iNOS, COX-2 and β -actin mRNA

Primer		Primer sequences	Product(bp)	No. of cycles
COX-2	sense	5'-TCTCCAACCTCTCCTACTAC-3'	624	30
	antisense	5'-GCACGTAGTCTTCGATCACT-3'		
iNOS	sense	5'-AGACTGGATTTGGCTGGTCCCTCC-3'	527	30
	antisense	5'-AGAAGTGAAGGTTACATGCTGGAGCC-3'		
β -actin	antisense	5'-GGAGAAGATCTGGCACCACACC-3'	840	35
	sense	5'-CCTGCTTGCTGATCCACATCTGCTGG-3'		

Abbreviation.

iNOS, inducible nitric oxide synthase;

COX-2, cyclooxygenase-2

(2) *In vivo* 실험을 통한 NF- κ B 활성화와 염증 효소 분비 변화 조사

염증유발유전자들을 조절하는 전사인자 nuclear factor (NF)- κ B와 염증효소 iNOS와 COX-2의 변화를 조사하기 위해 mouse anti-nuclear factor (NF)- κ B p65(1:100, Santa Cruz Biotech), mouse anti-iNOS(1:100, Santa Cruz Biotech) 그리고 mouse anti-COX-2(1:100, Santa Cruz Biotech)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

9) 영상분석과 통계처리

출혈성 찰과, mRNA 발현의 relative intensity, 조직화학, 면역조직화학 결과의 수치화를 위해 Optimas 5.2(Optima, USA)를 이용한 영상분석(image analysis)을 실시하였다. 본 실험의 결과는 SPSS 8.0을 통한 ANOVA test로 유의성을 검증하였다.

III. 實驗結果

1. 위점막 손상에 대한 치료 효과

1) 외부 형태적 출혈성 찰과 억제 효과

GE군에서는 몸통과 날문유문연접 부위에서 심각한 출혈성 찰과가 관찰되었는데, 전체 면적에 25% 해당하는 51106 \pm 289/200,000 pixel로 측정되었다. 이에 비해 MA군은 GE군에 비해 40.2% 감소한 30554 \pm 476/200,000 pixel로, SA군은 MA군에 비해 26.1% 감소한 22572 \pm 425/200,000 pixel로 측정되

었다(Fig. 1). SA군에서 출혈성 찰과가 일어난 면적은 전체의 11.2%에 해당하였다.

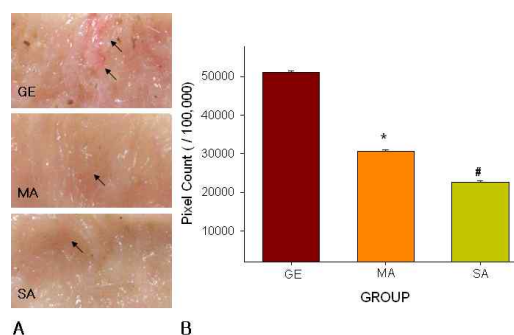


Fig. 1. The inhibition of hemorrhagic erosion.

The hemorrhagic erosion in mice treated with Misoprostol and *Sochehwan* noticeably decreased than GE group and this decrease had probability. A, external morphology. B, image analysis of hemorrhagic erosion: Abbreviation.

GE, gastropathy elicited group;

MA, misoprostol treated mice after gastropathy elicitation;

SA, *Sochehwan* treated mice after gastropathy elicitation;

arrow, hemorrhagic erosion;

*, P < 0.05 compared with GE;

#, P < 0.05 compared with MA

2) 위점막 조직 손상 완화 효과

GE군의 위점막에서는 심각한 출혈성 찰과 (hemorrhagic erosion)로 인한 점액분비세포의 배

열 유실이 관찰되었다. MA군은 일부 지역에서 점액분비세포의 배열 유실이 관찰되었으나, GE군에 비해 그 분포가 적었고, SA군은 정상군과 유사한 점액분비세포의 배열을 유지하였다. 한편 GE군의 점막손상부위에서 연접복합체 소실과 세포소기관의 손상과 공포화된 점액분비세포가 다수 관찰되었다. MA군은 GE군에 비해 손상 점액분비세포의 분포가 적었으나, SA군에 비해 많이 관찰되었다. SA군에서의 표면상피세포의 연접복합체는 유지되었고, 자유면쪽 세포질에서 점액원과립이 관찰되었다(Fig. 2).

3) 위산에 의한 점막 손상 스트레스 완화

위점막 손상 유발 후 스트레스에 대한 완충적 물질인 HSP70 분포는 점막고유층에 증가하였으며 핵과 주변세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었다. HSP70 분포는 정상군에 비해 GE군에서 837.7% 증가하였다. 이에 반해 MA군과 SA군에서는 GE군에 비해 HSP70 양성반응이 감소된 양상으로 관찰되었는데, MA군은 GE군에 비해 41.7%, SA군은 MA군에 비해 26.7% 감소하였다(Table 4, Fig. 2).

4) 점액분비세포분열 변화 관찰

정상군에서 관찰된 세포분열중인 세포의 BrdU 양성반응은 핵과 핵막주변 세포질에서 강한 양성을 보였으며, 주된 분포지역의 위오목(gastric pit)의 점액목(mucosal neck) 주변이었다. 위점막 손상 유발 후 BrdU 양성반응세포의 분포가 감소하였는데, 정상군에 비해 GE군에서 95.7% 감소하였다. 이에 반해 MA군과 SA군에서는 GE군에 비해 BrdU 양성반응이 증가된 양상으로 관찰되었는데, MA군은 GE군에 비해 279.9%, SA군은 MA군에 비해 328.1% 증가하였다(Table 4, Fig. 2).

Table 4. The image analysis of gastropathy evoked stress and cell proliferation changes

Objective	Group			
	NOR	GE	MA	SA
HSP70	636.7 ±13.6	5977.0 ±235.5	3486.3 ±231.1*	2556.7 ±28.2#
BrdU	2555.0 ±102.6	110.3 ±1.2	419.0 ±11.1*	1793.7 ±77.2#

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 80-120)

Abbreviation.

HSP70, heat shock protein 70;

BrdU, 5-bromo-2'-deoxyuridine;

NOR, No-treated mice;

GE, gastropathy elicited group;

MA, misoprotol treated mice after gastropathy elicitation;

SA, Sochehwan treated mice after gastropathy elicitation;

*, P < 0.05 compared with GE;

#, P < 0.05 compared with MA.

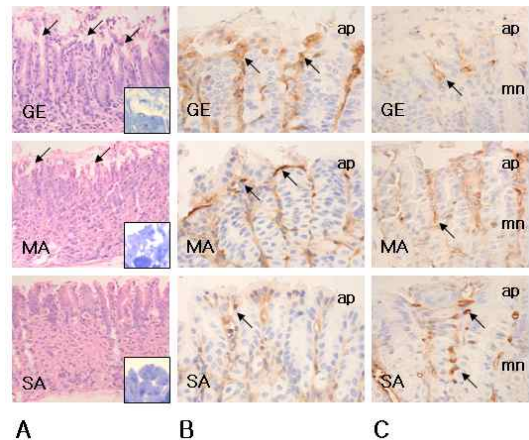


Fig. 2. The inhibition of hemorrhagic erosion.

A. The hemorrhagic erosion(arrow) in mice treated with *Sochehwan* noticeably decreased than MA group(H&E, x200; lower square, semi-thin section of mucosa secreting cell, x2000).

B. The Stress in mice treated with *Sochehwan* noticeably decreased than MA group(CD28(arrow) immunohistochemistry, x400).

C. The cell proliferation in mice treated with *Sochehwan* noticeably increased than MA group (BrdU (arrow) immunohistochemistry, x400).

Abbreviation.

ap, apical surface of mucosa;

mn, mucosal neck;

2. 위점막 방어체계의 보호 효과

1) 중성점액장벽 복구

GE군의 출혈성 침식 주변의 점막 상피에서는 PAS 양성반응을 보이는 표면점액세포와 목점액세포가 정상군에 비해 92.1% 감소하였는데, 이에 반해 MA군과 SA군에서는 GE군에 비해 PAS 양성반응이 증가된 양상으로 관찰되었다. MA군은 GE군에 비해 93.1%, SA군은 MA군에 비해 360.2% 증가하였다. SA군에서는 중성점액을 분비하는 PAS 양성반응 표면점액세포의 분포가 점막 상층 표면(apical surface)에서 위오목(gastric pit)까지 확장된 것으로 관찰되었다(Table 5, Fig. 3).

2) 점액분비세포의 골지복합체 분포 회복

표면점액세포내 골지복합체와 세포첨단부(apical surface)에서 강한 양성을 보이는 PNA 분포는 GE군에서 65.4% 감소하였다. 이에 반해 MA군과 SA군은 GE군에 비해 PNA 양성반응이 증가된 양상으로 나타났는데, MA군은 GE군에 비해 33.3%, SA군은 MA군에 비해 10.8% 증가한 것으로 관찰되었다(Table 5, Fig. 3).

3) 점막내 COX-1 분포 회복

정상군의 점막고유층내 COX-1 양성반응은 세포질에서 강하게 나타났으며, 양성반응세포는 주로 점막 상단부에서 다수 관찰되었다. 이러한 COX-1 양성반응은 GE군에서 55.4% 감소하였다. 이에 반해 MA군과 SA군은 GE군에 비해 COX-1 양성반응이 증가된 양상으로 나타났는데, MA군은 GE군에 비해 17.8%, SA군은 MA군에 비해 36.1% 증가한 것으로 관찰되었다(Table 5, Fig. 3).

Table 5. The image analysis of gastropathy evoked mucosal barrier damages

Objective	Group			
	NOR	GE	MA	SA
PAS	8583.3 ±84.7	682.0 ±30.4	1316.7 ±52.2*	6059.0 ±68.1#
PNA	30568.0 ±387.9	10579.3 ±165.4	24680.7 ±203.5*	27346.0 ±116.9#
COX-1	2097.3 ±50.2	936.0 ±31.4	1102.3 ±59.0*	1500.3 ±25.7#

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 80-120)

Abbreviation.

PAS, periodic acid-schiff reaction stain;

PNA, Peanut Agglutinin;

COX-1, cyclooxygenase-1;

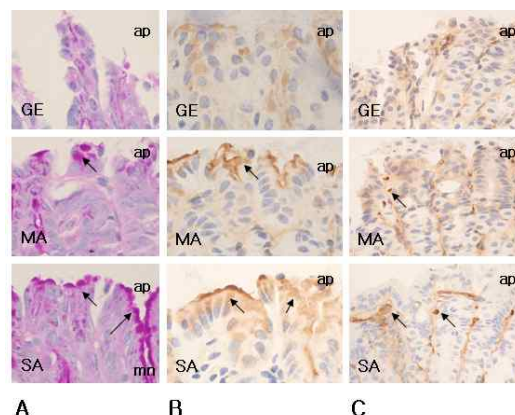


Fig. 3. The repair of mucosal barrier damages.

A. The PAS positive reaction(arrow) in mice treated with *Sochehwan* noticeably repaired than MA group(PAS, x400).

B. The distribution of golgi complex(arrow) in mice treated with *Sochehwan* noticeably increased than MA group(PNA immunohistochemistry, x400).

C. The COX-1 positive cell(arrow) in mice treated with *Sochehwan* noticeably increased than MA group(COX-1 immunohistochemistry, x400).

3. 위점막내 항염증효과

1) *In vitro* 실험을 통한 염증효소 발현 억제

LPS 자극에 의한 Raw264.7 세포에서의 iNOS

mRNA 발현은 증가하였는데, 消滯丸 추출물 처리 후 발현이 감소되었다. 즉, LPS 자극시 발현되는 iNOS mRNA 발현량에 비해 消滯丸 추출물 처리 시 0.5 mg/ml에서 9.6%, 1 mg/ml에서 11.7%, 1.5 mg/ml에서 14.7%, 2 mg/ml에서 17.7%가 감소하였다. 한편 COX-2 mRNA 발현도 동일한 결과를 보였는데 0.5 mg/ml에서 6%, 1 mg/ml에서 9.4%, 1.5 mg/ml에서 13.3%, 2 mg/ml에서 13.9%가 감소하였다(Fig. 4).

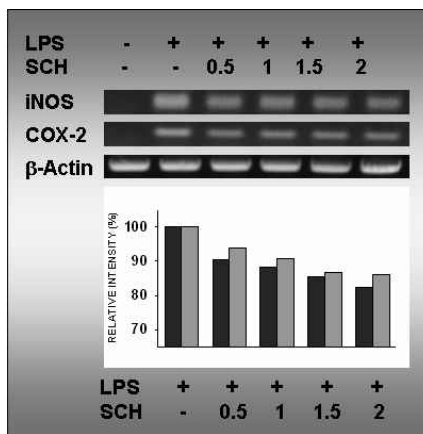


Fig. 4. *In vitro* test for Anti-inflammation effects of *Sochehwan*.

1. Inhibition of iNOS and COX-2 mRNA expression. The RAW 264.7 cells were treated with lipopoly saccharide(LPS) for 1 hour prior to the addition of indicated concentrations(0.5-2 mg/ml) of *Sochehwan* and the cells were further incubated for 24 hours. The LPS-induced iNOS and COX-2 mRNA expression were dose-dependently decreased in *Sochehwan* treated RAW 264.7 cell. 2. Relative intensity for iNOS(■) and COX-2(▒) mRNA expression.

2) 점막내 NF-κB 활성화 억제

염증 전사인자인 NF-κB p65 양성반응세포는 점막고유층에 분포하였으며 핵막과 주변세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었다. 위점막 손상 유발 후 NF-κB p65 양성반응세포의 분포가 증가하였는데, GE군이 정상군에 비해 1591.2% 증가하였다. 이에 반해 MA군과 SA군 GE군에 비

해 NF-κB p65 양성반응이 감소된 양상으로 관찰되었는데, MA군은 GE군에 비해 52.5%, SA군은 MA군에 비해 58.1% 감소한 것으로 나타났다 (Table 6, Fig. 5).

3) 점막내 iNOS 분비 억제

염증효소인 iNOS 양성반응세포는 점막고유층의 기저막주변에 분포하였으며 세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었다. 위점막 손상 유발 후 iNOS 양성반응세포의 분포가 증가하였는데, GE군에서 정상군에 비해 1586.9% 증가하였다. 이에 반해 MA군과 SA군에서는 GE군에 비해 iNOS 양성반응이 감소된 양상으로 관찰되었는데, MA군은 GE군에 비해 72.4%, SA군은 MA군에 비해 43.4% 감소한 것으로 관찰되었다(Table 6, Fig. 5).

4) 점막내 COX-2 분비 억제

염증효소인 COX-2 양성반응세포는 기저막 주변의 장내분비세포에 분포하였으며, 세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었다. 위점막 손상 유발 후 COX-2 양성반응세포의 분포가 증가하였는데, GE군에서 정상군에 비해 1314.9% 증가하였다. 이에 반해 MA군과 SA군에서는 GE군에 비해 COX-2 양성반응이 감소된 양상으로 관찰되었는데, MA군은 GE군에 비해 69.0%, SA군은 MA군에 비해 38.0% 감소한 것으로 나타났다(Table 6, Fig. 5).

Table 6. The image analysis of gastropathy evoked inflammation

Objective	Group			
	NOR	GE	MA	SA
NF-κB p65	227.0 ±13.1	3839.0 ±276.5	1824.3 ±29.3*	764.3 ±46.7#
iNOS	273.3 ±4.7	4610.3 ±16.1	1270.3 ±35.7*	719.0 ±44.9#
COX-2	210.0 ±7.8	2971.3 ±46.5	920.0 ±48.0*	570.0 ±30.1#

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 80-120)

Abbreviation.

NF-κB p65, Nuclear Factor-κB p65;

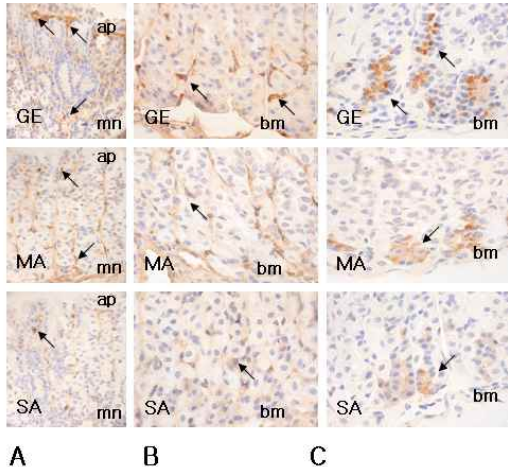


Fig. 5. The inhibition of inflammation.

A. The NF-κB p65 positive reaction(arrow) in mice treated with *Sochehwan* noticeably decreased than MA group(NF-κB p65 immunohistochemistry, x200). B. The distribution of iNOS positive cell (arrow) in mice treated with *Sochehwan* noticeably decreased than MA group(iNOS immunohistochemistry, x400). C. The distribution of COX-2 positive cell (arrow) in mice treated with *Sochehwan* noticeably decreased than MA group(COX-2 immunohistochemistry, x400).

IV. 考 察

위점막 손상은 환경, 유전, 정신적, 약물 등에 의해 위내벽의 점막, 점막하 조직 및 근육층까지 침범되는 조직의 결손으로, 위점막을 보호하는 방어 인자와 위점막을 손상시키는 공격인자 사이의 균형이 깨어져 위염 및 소화성 궤양을 유발하고 전체 소화기 질환 중에 10~20%를 차지한다¹³. 위염이란 위점막의 염증을 총칭하는 말이며, 소화성 궤양은 발생기전에 산-펩신(acid-pepsin)이 관여하는 십이지장의 근위부와 위를 포함한 상부위장관의 궤양성 질환을 가리킨다⁵. 병리학적으로 점막근관을 초과하여 조직이 결손되는 상태를 궤양이라 하고, 점막근관을 초과하지 않은 결손 상태는 미란이라고 하는데, 보통 급성 궤양이라 함은 양자를 함

께 일컫는 말이다⁷.

소화성 궤양 발병의 가장 흔한 원인은 비스테로이드성 소염제 복용과 *Helicobacter pylori* 감염이며, 이밖에도 aspirin, corticosteroid 등의 약물과 흡연, 정신적 스트레스, 가스트리노마 등 중양에 의한 위산분비의 항진, 바이러스 및 기타 감염, 십이지장 폐쇄 또는 파괴, 혈관부전, 방사선, 화학요법, 유전 등이 있다^{7,14}.

임상 증상으로는 심외부 통증 및 불쾌감이 가장 흔하며(61~86%), 구역, 구토, 식욕감퇴, 헛배부름, 트림, 체중감소, 토혈, 흑변이 있다. 그러나 궤양을 앓고 있으면서 증상이 전혀 없는 환자도 많고(십이지장궤양의 50%), 전형적인 궤양 증상을 가진 환자 중 궤양을 증명할 수 없는 경우도 많으며, 증상이 심하다고 하여 반드시 궤양이 심한 것은 아니기 때문에 임상증상만으로는 궤양을 진단할 수는 없다^{2,14}.

한의학적으로는 胃脘痛, 嘈雜, 腹痛, 噎膈, 嘔吐, 癉亂, 腹脹, 痞滿, 癥瘕, 積聚, 痞脹, 痰飲, 心胃氣痛, 吐血, 便血 등으로 볼 수 있고, 肝胃不和證, 胃陽虛衰證, 寒熱錯雜證, 瘀血阻絡證, 脾胃虛寒證, 肝鬱脾虛證, 氣虛血瘀證 등으로 辨證하여 舒肝利氣和胃止痛法, 益氣溫陽暖胃止痛法, 平調寒熱升降氣機法, 祛瘀生新理氣通絡法, 溫中健脾和胃止痛法, 舒肝理氣健脾和胃法, 益氣活血通絡止痛法 등을 治法으로 활용할 수 있다¹⁵.

消滯丸은 明代 『古今醫鑑』에 처음 기재된 처방으로 『東醫寶鑑』에 “消食, 消酒, 消水, 消氣, 消痞, 消脹, 消腫, 消積, 消痛. 此藥消而不見, 嚮而不動, 其功甚捷. 黑丑炒頭末二兩, 香附炒, 五靈脂各一兩, 右爲末, 醋糊和丸菉豆大, 薑湯吞下二三十九.” 이라¹² 하였다. 처방 구성중 黑丑은 瀉水通便, 消痰滌飲, 殺蟲攻積 하는 효능이 있고, 마우스를 이용한 실험에서 瀉下효과를 나타냈으며, 기생충, 회충, 촌충에 유효하다. 또한 항진균 효과가 있다. 香附子는 理氣解鬱, 止痛調經 하는 효능이 있고, 소화기계 및 신경계에 작용하며, 消炎解熱작용도 있다. 五靈脂

는 活血散瘀, 止痛의 효능으로, 위 분비를 억제하고 점막 혈행 조절기전을 통해 위점막을 보호하는 작용이 있는 것으로 보고 되었다^{16,17}. 그러나 아직까지 消滯丸 처방이 위점막 손상의 치료효과에 대하여 보고된 바는 없다.

Indomethacin은 비스테로이드성소염(NSAIDs)로 항염증작용과 통증 완화 효과 때문에 임상에서 류마티스 관절염을 비롯한 여러 급만성 질환에 가장 많이 처방되며, 위점막 보호 기능을 하는 prostaglandin 합성을 저하하여 소화성 궤양을 유발한다^{10,18}. Misoprostol은 미국 FDA에서 인정된 비스테로이드성소염제(NSAIDs) 궤양 발생 예방제로 인정된 유일한 약제로 소화성 궤양의 예방 및 치료 목적으로 많이 사용되고 있다^{21,20}.

이에 저자는 消滯丸의 위점막 손상에 대한 치료 및 예방 효과를 연구하기 위하여 생쥐의 위점막 손상을 indomethacin으로 유발한 GE군, indomethacin 처리 후 misoprostol을 투여한 MA군, indomethacin 처리 후 消滯丸 추출액을 투여한 SA군 및 정상군으로 나누어 消滯丸의 치료효과를 알아보았다.

장기적 스트레스 상황에서는 위산 분비가 줄어들고, 아울러 mucus와 bicarbonate 분비도 줄어들며, 여기서 절약된 에너지원은 스트레스 반응에 사용된다. 그러나 스트레스 상황이 종료되면 부교감 신경계가 활성화되어 위산 분비는 스트레스 이전 수준으로 돌아오게 되나, 방어능력은 여전이 낮은 수준에 머문다. 즉, 앓아진 위점막층의 회복이 늦어지고, bicarbonate의 위산 중화 능력에 역부족인 상태에 놓임으로써 위점막이 손상을 받게 된다. 이런 스트레스 상황에 반복적으로 노출되면, 마침내 위궤양이 발생한다. 이는 스트레스에 의해 분비된 glucocorticoid의 prostaglandin 합성 차단에 의한 점막의 mucus와 bicarbonate 보호장벽의 결핍과²¹ 비이온화 된 약산성의 보호장벽 침투 증가로 인한 점막내 중성환경의 변화²²에 따른 결과이다. 이러한 조직손상은 점막고유층에 존재하면서 점막손상의 회복에 관여하는 표층모세혈관망의 손상과 glucocorticoid

에 의한 혈류량 감소를 초래한다²³. 또한 위기상황에서 많은 혈류가 Fight-or-Fight 반응에 사용되는 근육으로 흘러 들어감으로써 혈류량을 감소시키고, 그 결과 국지적 경색이 발생한다. 또한 모세혈관의 손상은 재관류시 허혈성 조직 손상을 유발하기도 하는데²⁴ 재관류시 일어난 산소기(oxygen radical)의 증가와 유리기 제거물질(free radical quencher)의 생산량 감소도 위점막 손상을 일으킨다²⁵. 또한 느리고 주기적인 수축도 혈류 차단에 의한 국지적 허혈상태와 위벽의 직접손상을 유도한다. 본 실험에서도 indomethacin에 의해 점막 보호장벽의 손상과 그에 따른 출혈성 찰과의 증가, HSP70 양성 세포 증가, 점액분비세포의 분열 감소 등의 위 점막 손상이 관찰되었다.

이러한 점막손상은 외부로부터 가해지는 여러 가지 스트레스로부터 항상성을 유지하기 위한 스트레스 단백질의 합성 증가를 유도하며, 열 충격 단백질(HSP)군이 대량 합성된다²⁶. 특히 HSP70은 72,000 mol의 질량을 가지고 있으며 HSP72, 73, glucose regulated protein(GRP)75, 78 등이 이 단백질 군에 속하며 대부분의 생물체에서 발견되는 스트레스 저항 단백질로써 허혈, 열, 저혈당, 바이러스 감염, 경련, 중금속 오염 등 다양한 형태의 스트레스 상황에서 농도가 증가하는 것^{27,28,29}으로 세포내 변성된 단백질은 열성단백질 인자를 자극하여 HSP70유전자의 전사를 유도하여 HSP70을 생성한다. HSP70은 원핵과 진핵세포의 세포질에서 생성되어 핵과 세포질에서 모두 분포하며 다양한 스트레스 상황에서는 그 위치가 세포질에서 핵, 특히 핵소체에 축적되며 회복기에 들어서면 다시 세포질로 돌아간다³⁰. 내인성 지방분해(endogenous lypolysis)를 증가시킴으로써 체온을 상승시키는 작용을 하는 교감신경유사 약물인 암페타민(amphetamine) 사용을 통한 열전치지의 경우 심장, 폐, 간, 뇌, 장 등의 모든 장기에서 HSP70이 발견되며^{31,32} ATP 의존성 대사를 통해 변성된 단백질의 변성을 억제하고 재생하는 허혈에 대항한 자기방어기전으로써의

분자적 보호자의 역할을 한다³³. 이와 같이 HSP70은 세포상해에 저항이 있는 지역에서 주로 발견되어, HSP70의 방어기전으로써의 역할을 하는 것으로 사료된다. 본 실험에서도 출혈성 찰과 유발 점막내에서 HSP70 양성반응이 증가하였으며, 이러한 HSP70의 양성반응은 핵내에서 강하게 나타났다.

Indomethacin에 의해 유도된 위 점막 손상시 중성 점액분비세포의 손상 그리고 점액분비세포내 골지체 감소가 관찰되었는데, 이는 prostaglandin의 분비 차단에 의한 점막의 mucus와 bicarbonate 보호장벽의 결핍^{32,45}과 nonionized 된 약산성의 보호장벽 침투 증가로 인한 점막내 중성환경의 변화³³의 결과이다. 이는 세포내 arachidonic acid의 prostaglandin 전환과정에 관여하는 COX-1 mRNA 발현이 indomethacin에 의해 억제된 것이다^{35,36}. House-keeping enzyme인 COX-1은 위장관 보호(gastroprotection), 신장의 혈류조절 및 혈소판 응집과 같은 정상적인 생리적 과정을 유지함으로써 세포의 항상성 유지에 중요한 역할을 한다. 본 실험에서 출혈성 찰과 지역주변의 점막고유층내에서 COX-1에 대한 양성반응이 거의 나타나지 않아, COX-1의 결핍이 의한 점막손상의 일차적 원인으로 설명될 수 있었다^{37,38}. 점막 손상의 회복을 위해 세포분열을 통한 점액분비세포 대체가 필요한데, 세포분열을 통해 새로운 점막표피세포의 생성이 이루어지는데 위샘 목의 세포분열이 감소한 것을 본 실험에서는 thymidine analogue인 BrdU³⁹를 통해 확인하였다.

한편 재관류시 나타나는 oxidative stress 증가는 inhibitor인 I κ B protein들과 결합하고 있어 불활성화된 상태로 세포질에 존재하는 nuclear factor (NF)- κ B의 세포내 작용을 유도한다. I κ B kinase로 알려진 IKK(IKK α , β)에 의해서 일어나는 I κ B protein의 인산화는 IKK의 활성화가 다양한 자극에 의해 유도되며, I κ B protein의 serine residue를 인산화시킴으로써 인산화된 I κ B protein은 ubiquitination되어 26S proteasom에 의해서 분해된다. I κ B protein이 인산화되어 분해됨으로써 유리된 NF- κ B는 핵

으로 들어가 target 유전자의 NF- κ B binding site (consensus sequence: 5'-GGGpuNNPyPyCC-3')에 결합하여 염증관련유전자, anti-apoptosis유전자 등의 발현을 유도한다⁴⁰. 염증이 전사인자 NF- κ B는 TNF- α , IL-1 β 등의 pro-inflammatory cytokine과 과도한 oxidative stress에 활성화 되어, 혈관투과성의 증가를 유도하는 iNOS, COX-2 등의 염증효소의 발현 증가를 통해 염증반응의 가속화에 의한 조직손상을 유도한다⁴¹. 본 실험에서는 NF- κ B의 변화를 NF- κ B p65 항체를 이용한 면역조직화학으로 조사하였는데, 점막상피 손상지역에서 NF- κ B p65의 증가를 확인할 수 있었다.

iNOS는 ROS의 일종인 산화질소를 생성하는데, 산화질소(NO)는 세포내 2차 신호전달자로서 전염증성 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 특히 생체내 고농도의 NO 생성은 숙주세포의 파괴, eosinophil의 증가 유도, shock에 의한 혈관확장, 염증유발에 의한 조직의 상해를 초래할 수 있는 이중적 생물학적 성질을 가지고 있다. 또한 생성된 NO는 superoxide anion의 반응으로 peroxynitrite나 hydroxyl radical이 형성되고⁴², 이는 세포막지질을 peroxidation시키며, thiorl, SH기를 oxidation하여 세포독성을 유발한다⁴³. 또한 단백질인 tyrosine에 nitration을 시켜 3-nitrotyrosine을 형성하여 세포대사에 중요한 cytochrome p450을 억제하거나, protein phosphorylation을 억제하고 DNA 합성에 관여하는 효소계를 억제하는 독성효과가 있다⁴⁴. 본 실험에서는 iNOS의 변화를 iNOS 항체를 이용한 면역조직화학으로 조사하였는데 점막상피 손상지역에서 iNOS의 증가를 확인할 수 있었다.

본 실험에서 消滯丸을 투여한 SA군에서는 점막의 mucus와 bicarbonate 보호장벽 손상이 회복되어 출혈성 찰과등의 조직손상이 적었다. 또한 허혈성 재관류시 유도된 과도한 oxidative stress를 차단함으로써 NF- κ B의 활성화로 인한 과도한 염증성 점막손상을 막은 결과로 사료된다.

In vitro 실험에서 항산화능과 iNOS mRNA와

COX-2 mRNA의 발현이 억제 되었고, *in vivo* 실험에서는 실제 손상 위 점막내의 NF-κB p65, iNOS 그리고 COX-2 양성반응의 감소도 확인할 수 있었다. 또한 현재 사용되는 약제인 misoprostol 과 비교했을 때에도 消滯丸이 더 우수한 치료 및 예방효과를 보임을 확인할 수 있었다. 따라서 消滯丸이 위점막 손상의 치료 및 예방제로 효과가 있을 것으로 사료되며, 향후 이에 대한 지속적인 연구 및 임상적 활용이 기대된다.

V. 結 論

Indomethacin으로 유도된 위점막 손상에 대한 Misoprostol과 消滯丸의 치료효과를 비교·조사하기 위해서 행해진 본 연구는 위 점막 손상 치료 효과(출혈성 찰과, 점액분비세포 배열, HSP70, BrdU), 위 점막 방어장벽의 보호 효과(중성점액분비세포, 골지복합체, COX-1), 위점막내 항염증효과(iNOS와 COX-2의 mRNA 발현, NF-κB p65와 iNOS, COX-2 변화)를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 외부 형태적 출혈성 찰과 면적, 이로인한 점액분비세포의 배열 유실, 스트레스에 대한 완충적 물질 (HSP70)은 Misoprostol 투여군과 消滯丸 투여군에서 모두 감소하였으나, 消滯丸 투여군이 더 유의한 결과를 나타내었다.
2. 세포증식에서 관찰되는 BrdU 양성반응은 Misoprostol 투여군과 消滯丸 투여군에서 모두 증가 하였으나, 消滯丸 투여군이 더 유의한 결과를 나타내었다.
3. 목점액세포와 표면점액세포의 분포 및 표면점액세포내 골지복합체와 세포첨단부에서의 PNA양성 반응은 Misoprostol 투여군과 消滯丸 투여군에서 모두 증가 하였으나, 消滯丸 투여군이 더 유의한 결과를 나타내었다.
4. 세포내 보호기전에 관계하는 점막내 COX-1의

분포는 Misoprostol 투여군과 消滯丸 투여군에서 모두 증가 하였으나, 消滯丸 투여군이 더 유의한 결과를 나타내었다.

5. 염증 효소 발현 물질인 iNOS mRNA와 COX-2 mRNA가 消滯丸 투여군에서 감소하였다.
6. 염증 전사인자인 NF-κB p65와 염증효소인 iNOS, COX-2는 Misoprostol 투여군과 消滯丸 투여군에서 모두 감소하였으나, 消滯丸 투여군이 더 유의한 결과를 나타내었다.

參 考 文 獻

1. 대한소화기학회, 소화성궤양. 서울: 군자출판사; 2002, p. 1-5, 68-70, 110.
2. 全國韓醫科大學 脾系內科學校室 共著. 脾系內科學. 서울: 아트동방; 1998, p. 239-40.
3. 건강보험통계연보. 국민건강보험공단. 서울: 2005, p. 368.
4. 이동필, 정영채, 이재복 등. 한국인의 소화성궤양에 대한 임상적 고찰. 대한내과학회지. 1995;48: 773-82.
5. 해리슨 내과학 편찬위원회. 해리슨 내과학. 서울: 정담; 1997, p.1466-85.
6. 新谷太. 문영명 역. Steps to internal medicine pathophysiology로 이해하는 내과학 소화기질환 (6). 서울: 정담; 2002, p. 63-79.
7. 서울대학교 의과대학편. 소화기학원론. 서울: 서울대학교출판부; 1998, p. 46, 122-9.
8. 윤종구, 김재광, 이대훈, 김진일, 김상우, 김성수 등. 소화성 궤양에 대한 임상적 고찰. 대한소화기학회지. 2000;36:336-47.
9. 윤봉영, 김준환, 이학준, 장병익, 김태년, 정문관 등. 비스테로이드성 항염증제에 의한 급성 위점막 손상에 있어 호중구의 역할. 대한소화기학회지. 2000;35:154-62.
10. 陳貴廷, 楊思澍. 實用中西醫結合診斷治療學. 서울: 一中社; 1992, p. 437.

11. 危北海, 越榮萊, 李乾构. 中醫脾胃學說應用研究. 北京: 北京出版社: 1993, p. 203-10.
12. 허준. 동의보감. 경남: 동의보감출판사; 2005, p. 1208.
13. 손정숙, 임성우. 四君子湯合蒼朮地榆湯이 위점막손상에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1999; 20(2):231-48.
14. 김정룡. 소화기계질환. 서울: 일조각; 2005, p. 209, 213-4.
15. 김갑성, 김명동, 김윤범, 김장현, 김중호, 이원철 등. 實用東西醫學臨床總書. 서울: 정담; 2001, p. 453-555.
16. 康秉秀, 高雲彩, 金先熙, 盧昇鉉, 朴通基, 徐富一等. 本草學. 서울: 永林社; 1998, p. 252-4, 354-5, 425-6.
17. 한방약리학 교재편찬위원회 저. 한방약리학. 서울: 도서출판 신일상사; 2006, p. 532-4, 633-5, 732-4.
18. Mitchell JA & Warner TD(1999): Cyclooxygenase-2: Pharmacology, physiology, biochemistry and relevance to NSAID therapy; British J Pharmacol 128. p. 1121-31.
19. 김경환 엮음. 이우주의 약리학 강의. 서울: 의학문화사; 1997, p. 719-28.
20. 권오윤, 강경원, 함준수, 이종철, 이동후, 기춘석 등. 실험적으로 일으킨 위궤양 발생에 대한 Misoprostol(PG E2)의 보호효과에 대한 연구. 대한소화기병학회지. 1990;22(4):44-5.
21. David Y Graham. NSAID ulcers : prevalence and prevention. *Mod Rheumatol*. 2000;10:2-7.
22. Schoen R T and Vender R J. Mechanism of NASID-induced gastric damage. *AM, J Med* 1989;86:449-58.
23. Wallace, J L, Granger, D N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *FASEB*. 1996;10:731-40.
24. Wallace, J L. Gastric ulceration:critical events at the neutrophil-endothelium interface. *Can J Physiol Pharmacol*. 1993;71:98-102.
25. Yi, L and Sohn, J H. Behavioral and physiological correlated of activity stress-induced ulcers. A critical review. *Exp. Neurobio*. 1995;4:61-80.
26. De Maio A. The heat-shock response. *New Horiz* 1995;2:198-207.
27. Gonzalez M F, Shiraiishi K, Hisanaga K, Sagar S M, Mandabach M, Sharp F R. Heat shock protein as markers of neuronal injury. *Mol. Brain Res*. 1989;6:93-100.
28. Vass K, Beger M L, Nowak T S, Jr Lassmann H. Induction of stress protein HSP70 in nerve cell after status epilepticus in the rat. *Neurosci Lett*. 1989;100:259-64.
29. Bergstedt K, Hu B R, Weiloch T. Initiation of protein synthesis and heat shock protein-72 expression in the rat brain following severe insulin induced hypoglycemia. *Acta Neuropathol*. 1989;86:259-64.
30. Valazquez J M and Lindquist S H. Hsp 70-Nuclear concentration during environmental stress and cytoplasmic storage during recovery. *Cell*. 1984;36:622-55.
31. Maulik N, Engelman R M, Wei Z, Liu X, Rousou J A, Flack J E, Deaton D W, Das D K. Drug-induced heat-shock preconditioning improves postischemic ventricular recovery after cardiopulmonary bypass. *Circulation*. 1995;92:381-8.
32. Maulik N, Wei Z, Liu X, Engelman R M, Rousou J A, Das D K. Improved postischemic ventricular functional recovery by amphetamine is linked with its ability to induce heat shock. *Mol cell Biochem*. 1994;137:17-24.
33. Criag E A, Gambill B D, Nelson R J. Heat shock protein:molecular chaperone of protein

- biogenesis. *Microbiol Rev.* 1993;57:402-14.
34. Tetsuo Arakawa, Kazuhide Higuchi, Takashi Fukuda, Yasuhiro Fujiwara, Kenzo Kobayashi, Tetsuo kuroki. Prostaglandins in the stomach: an update. *J Clin Gastroenterol.* 1998;27:1-11.
 35. Byron Cryer, Andre Dubois. The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase-a review. *Prostaglandins & other Lipid Mediators.* 1998;56:341-61.
 36. Lee S Siomon. Biology and toxic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Current Opinion in Rheumatology.* 1998;10:153-8.
 37. Byron Cryer, Michael B. Kimmey. Gastrointestinal side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Am J med.* 1998;105:20-30.
 38. Choitsu Sakamoto. Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal pathophysiology. *J Gastroenterol.* 1998;33:618-24.
 39. Martin Kulldorff, Lisa M McShane, Arthur Schatzkin, Laurence S Freedman, Michael J Wargovich, Cindy Woods et al. Measuring cell proliferation in rectal mucosa: Comparing bromodeoxyuridine(BrdU) and proliferating cell nuclear antigen(PCNA) assays. *J Clin Epidem.* 2000;53:875-83.
 40. Baeuerle P A and Baltimore D. NF- κ B-Ten years after. *Cell.* 1996;87:13-20.
 41. Baeuerle P A. I κ B-NF- κ B structure : at the interface of inflammation control. *Cell.* 1998; 95:729-31.
 42. Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet.* 1994;9:1199-206.
 43. Radi R, Beckman J S, Bush K M, Freeman B A. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys.* 1991;288(2) :481-7.
 44. Villa L M, Salas E, Darley-USmar V M, Radomski M W, Moncada S. Peroxynitrite induces both vasodilatation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;20: 91(26):12383-7.