

# 對金飮子가 알코올 투여로 유발된 흰쥐의 간 지방 병증과 면역억제의 예방에 미치는 영향

김정자, 서부일, 최홍식, 김승모, 우창훈, 구진숙<sup>1</sup>, 박규열

대구한의대학교 한의학과, <sup>1</sup>부부한의원

## Preventive Effects of Daekumeumja on Fatty Degeneration of Liver and Immunosuppression Induced by Alcohol

Jeongja Kim, Buil Seo, Hongsik Choi, Seongmo Kim, Changhoon Woo, Jinsuk Koo<sup>1</sup>, Gyuryeol Park

Department of Oriental Internal Medicine, Daegu Haany University, Korea, <sup>1</sup>Couple Oriental Medical Hospital

**Objective** : The present study has been undertaken to investigate the preventive effects of Daekumeumja on fatty degeneration of liver and immunosuppression induced by alcohol in rats.

**Method** : Except for the normal group, we fed rat on 25% alcohol for 55 days. And Daekumeumja(DK) extract was administrated for the same period. We measured the serum component in rat's blood, weight of internal organs, liver triglyceride contents, histomorphometry and histopathological observation of internal organs.

- Results** :
1. In the change measurement of serum components, DK group(50 mg/kg, 200 mg/kg) showed significant decrease of AST, ALT, albumin, ALP and triglyceride in comparison with those of the alcohol control group.
  2. In the change measurement of internal organ's weight, DK group(50 mg/kg, 200 mg/kg) showed significant increase of relative body weights of liver, thymus and spleen in comparison with those of the alcohol control group.
  3. DK group(50 mg/kg, 200 mg/kg) showed significant decrease of hepatic triglyceride contents in comparison with those of the alcohol control group.
  4. In histomorphometrical changes of liver, DK group(50 mg/kg, 200 mg/kg) showed significant decrease of numbers of hepatocytes occupied by over 10 % lipid droplets, percentages of regions occupied by lipid droplets and mean diameters of hepatocytes in comparison with those of the alcohol control group. In histomorphometrical changes of thymus, DK group(50 mg/kg, 200 mg/kg) showed significant increase of lobular thickness and cortex thickness in comparison with those of the alcohol control group. In histomorphometrical changes of spleen, DK group(50 mg/kg, 200 mg/kg) showed significant increase of splenic thicknesses, numbers of white pulps and mean diameters of white pulps in comparison with those of the alcohol control group.
  5. In histopathological changes of liver, DK group(50 mg/kg, 200 mg/kg) showed effective inhibition of severe fatty changes in comparison with those of the alcohol control group. In histopathological changes of thymus and spleen, DK group(50 mg/kg, 200 mg/kg) showed effective inhibition of atrophic changes in comparison with those of the alcohol control group.

**Conclusions** : Reviewing these experimental results, it appears that Daekumeumja have pharmaceutical preventive efficacy on fatty degeneration of liver and immunosuppression induced by alcohol in rats.

Keywords : Daekumeumja, alcohol, fatty degeneration, liver, immunosuppression, thymus, spleen

접수 ▶ 2010년 6월 10일 수정 ▶ 2010년 7월 23일 채택 ▶ 2010년 7월 29일  
 교신저자 박규열. 대구시 수성구 상동 165번지 대구한의대 한의과대학 본초학교실  
 Tel 053-770-2258 E-mail foodhbvg@dhu.ac.kr

## I. 서 론

최근 다양한 스트레스가 쌓이는 현대사회에서는 술의 소비가 늘어나는 추세이고, 이에 따른 만성적 알코올의 섭취에 의한 환자의 증가는 전 세계적으로 큰 사회문제가 되고 있으며, 우리나라는 국민들이 마시는 술의 소비량이 많기로 세계적으로 유명한 나라이다. 우리나라는 세계 보건기구(WHO)에서 발간한 자료에 의하면 폭음하는 비율이 세계적으로 가장 높으며, 연간 음주율이 계속 증가추세에 있어 문제가 되고 있다<sup>1)</sup>. 또한 음주에 의한 질병비용도 전체 진료비 중 약 11.4 % 에 달하고 있다<sup>2)</sup>.

적당량의 알코올 섭취는 HDL - Cholesterol 농도를 상승시키고, 동맥경화를 비롯한 심혈관질환을 예방하며<sup>3)</sup>, 하루 적정 정도의 알코올 섭취는 건강에 도움이 되기도 한다<sup>4)</sup>. 그러나 술을 과도하게 지속적으로 섭취하면 육체적으로나 정신적으로 많은 문제점을 발생시키게 되는데, 간질환<sup>5)</sup>, 심혈관질환<sup>6)</sup>, 신경계통의 기능장애<sup>7)</sup>, 뇌 감각의 이상<sup>7)</sup> 등을 야기하며, 또한 알코올은 강력한 면역저해제로 알려져 있기 때문에, 만성적인 알코올 섭취는 면역계에 치명적인 영향을 미치고, 알코올 중독자는 비 알코올 중독자에 비하여 미생물 감염에 대한 감수성을 높게 한다<sup>8)</sup>. 따라서 음주로 인하여 유발되는 여러 가지 다양한 신체적 손상과 대사질환, 면역저하를 예방하고 치료하는 것은 대사질환에 장점을 발휘하고 있는 한의학에서 매우 중요하다고 생각된다.

한의학에서는 酒傷이라고 하여 음주로 인하여 발생하는 질환을 설명하고 있는데, 病因 분류로는 內傷 中 飮食傷에 포함되며, 이 酒傷과 관련되는 질환은 주로 酒癩, 酒癖, 酒積, 酒疸, 酒悖, 酒厥, 酒痰, 酒嗽, 酒癥, 酒鼻鼈, 酒毒, 酒濕, 酒風, 酒龜 등의 證候에서 관찰되고 있다<sup>9,10)</sup>. 酒傷의 치료를 위해서는 濕熱을 제거하는 것을 주로 하며, 發汗, 利小便하여 그 濕을 分消하는 방법을 활용하였고, 그 외에 寒濕이나 瘀血, 痰火, 氣虛 등의 證에 따라 치료하고 있다<sup>10)</sup>.

對金飲子は宋代『太平惠民和劑局方』<sup>11)</sup>에 처음 등장한 처방으로, “諸病無不愈者 常腹 固元益氣 健脾進食 和胃祛痰 自然營衛調暢”이라고 하여 모든 만성 질환에 응용할 수 있음을 기록하고 있으며, 『東醫寶鑑』에서는 酒食傷을 치료하고, 和胃消痰하는 효능을 지니고 있는 方劑로 주로 이용하였다<sup>12)</sup>.

對金飲子에 관한 실험연구를 살펴보면, 황 등<sup>20)</sup>은 對金飲子が 알코올로 인한 이차적인 급성 염증성 점막 손상을 차단한다고 보고하였으며, 이 등<sup>21,22)</sup>은 對金飲子が 알코올 중독으로 유발된 학습 능력과 기억 능력의 저하를 방어하는데 효과가 있음을 밝혔고, 공<sup>23)</sup>은 alcohol, indomethacin 및 burn-stress로 유발된 생쥐의 위 점막 손상에 대한 對金飲子の 효과를 밝혔다. 그 외에 류 등<sup>24)</sup>은 對金飲子에 牽牛, 葛根, 草豆蔻, 赤茯苓, 高良薑을 加味한 加味對金飲子が 알코올로 인한 백서의 肝損傷에 효과가 있음을 밝혔고, 박 등<sup>25)</sup>은 알코올성 간염 환자에 葛根, 赤茯苓을 加味한 加味對金飲子를 투여하여 치료하였다고 證例를 발표하였다. 임상에서 酒毒을 치료하는데, 활용되는 對金飲子が 이미 실험연구나 임상치료에서 그 효과가 다양하게 입증되고 있으나, 음주가 장기적으로 지속된 간 지방 병증 및 면역저하에 미치는 예방이나 치료효과에 관한 연구는 보고된 바 없다.

알코올을 남용하면 간 손상을 유발하며<sup>26)</sup>, 알코올 간 손상은 알코올 자체 또는 알코올의 대사과정에서 생기는 화합물에 의해 초래된다<sup>27)</sup>. 또한 일정기간의 알코올(ethanol) 투여에 의해 간 지방병증<sup>28-31)</sup>과 면역억제<sup>32-36)</sup>가 초래되는 것으로 알려져 있어, 본 실험에서는 對金飲子が 알코올성 간 지방 병증 및 면역저하에 미치는 효과를 장기 중량, 혈액생화학적 방법, 조직 병리학적 방법을 통하여 비교 실험하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 실험재료

실험에 사용된 對金飲子(陳皮(중국산), 厚朴(중국산), 蒼朮(한국산), 甘草(중국산)) 韓藥材는 대원약업사(대구)에서 구입한 다음, 대구한의대학교 본초학교실에서 감정한 후 실험에 사용하였다.

對金飲子の 구성과 용량은 아래와 같다<sup>12)</sup>.

<Table 1> The Amount and Composition of Daekumeunjia

Herbal Name	Scientific Name	Amount(g)
陳皮	Citri Pericarpium	12.0
厚朴	Magnoliae Cortex	2.8
蒼朮	Atractylodis Rhizoma	2.8
甘草	glycyrrhizae Radix	2.8
Total amount		20.4

## 2) 실험동물

실험동물은 ANIMAL. SLC (JAPAN)에서 구입한 雄性的 Sprague Dawley Rat(200-250 g)를 사용하였으며, 모든 동물은 일정한 온도 (25 ± 2°C)와 습도 (50 ± 5%)가 유지되며 12시간의 명암주기 (12hr ; 12hr)가 조절되는 동물실에서 사육되었다. 퓨리나 사료(카질에그리퓨리나, 한국)로 사육하면서 물을 충분히 공급하였으며 식이는 자유 급식하였다. 약 2주일간 사육실 환경에 적응시킨 후, 평균체중이 247 ± 2.00 g인 흰쥐를 실험동물로 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) 검액의 조제

對金飲子 추출물은 10배의 증류수를 가하여 환류 냉각 장치에서 80°C로 가열, 3시간 3회를 추출, Whatman (No. 1) filter paper로 여과하고, 이 추출액을 다시 減壓濃縮한 다음 동결건조(LABCONCO, model freeZone, USA)하여 최종 추출물 對金飲子(收得率 ; 15.5%)를 얻어서 실험에 이용하였다.

### 2) 실험 군 분류 및 검액의 투여

실험 흰쥐를 동물실에서 1주일 동안 안정을 시킨 후 정상 군, 알코올 대조군, DK 투여군(對金飲子 投與群, 50 mg/kg, 200 mg/kg)의 4개의 그룹으로 10마리씩을 임의로 분리하였다. 정상군은 전 실험기간 동안 식이와 물을 제한 없이 섭취하였으며, 알코올 대조군과 DK 투여군은 전 실험기간 동안 식이를 제한 없이 섭취하게 하였으나, 물은 전 실험기간 동안 제한 없이 섭취하게 하였다. 정상 군과 알코올 대조군(간 지방 병증과 면역저하 유발군)에는 생리식염수를 체중 100 g 당 1 ml를 하루에 한번씩 8주간 경구 투여하였다. DK 투여군(간 지방

병증과 면역억제 유발하면서 對金飲子를 투여한 군)에는 같은 기간 동안 동결 건조된 對金飲子를 흰쥐에게 50 mg/kg, 200 mg/kg을 同量의 생리식염수와 함께 매일 하루 한 번씩 알코올 섭취기간과 동일하게 8주 (55일간) 경구 투여하였다.

### 3) 알코올성 간 지방 병증과 면역저하

유발동물들은 동물실에서 모든 그룹에게 처음 7일 동안 스트레스를 가하지 않았고 정상군은 고형사료와 물을 임의로 섭취하게 하였다. 알코올 대조군과 DK 투여 군에는 고형사료와 25% 알코올 용액(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) 순도 99.8%(Merck, Germany)를 8주간 경구투여를 하여 Sprague Dawley계 흰쥐를 알코올성 간 지방 병증과 면역저하를 유발시킨 후 실험에 사용하였다.

### 4) 체중의 측정

체중은 실험하기 직전, 실험 시작 후 4주, 실험 시작 후 8주에 각각 측정하였다.

### 5) 혈액생화학적 검사

최종 부검 시 복대정맥(vena cava)에서 약 8 ml의 혈액을 vacuum tube(Beacton, Dickinson and company, plrmouth, UK)에 채취하여, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 혈청(serum)을 분리하였다. 이후 자동 혈액 분석 장치(Hemagen Analyst, Hemagen Diagnostic, MO, USA 또는 SP-4410, Spoto chem Tokyo, Japan)을 이용하여, 혈청 중 AST(UV-Rate method; IU/l), ALT (UV-Rate method; IU/l), albumin(BCG method; g/dl), ALP(P-NPP method; IU/l), 및 TG(triglyceride, Enzyme method; mg/dl) 함량을 각각 측정하였다.

### 6) 장기 중량의 변화

최종 희생 일에 간, 가슴 샘 및 비장을 적출하여 절대 중량을 전자저울(Precise Instrument, Switzzland)을 이용하여 g 단위로 각각 측정하였다. 또한 각 개체의 체중에 따른 차이를 줄이기 위하여, 최종 희생의 체중에 대한 상대중량(% of body weight)을 각각 산출하였다.

### 7) 간 내 triglyceride 함량의 측정

간 조직 내 triglyceride 함량을 측정하기 위하여, 일부 간 조직(우엽)을 생리식염수를 이용하여 homogenize한 다음, chloroform과 methanol (2 : 1) 혼합물을 이용하여 지질 성분을 추출하였다<sup>14-16)</sup>. 이후 Zeolite(Sigma, MO, USA)를 첨가하여 인지질(phospholipids)을 제거하고, 질소를 이용하여 건조 시킨 다음, Plasmanate (1 ml)에 용해시켜, triglyceride 함량을 kits(Kyowa Modex, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다<sup>15-17)</sup>.

### 8) 조직처리

간, 가슴 샘 및 비장의 일부를 조직을 분리하여, 세로(cross)로 절단 한 다음 10% 중성포르말린에 고정하고, 일반적인 방법으로 탈수 및 파라핀 포매를 실시하고, 3-4 μm 의 절편을 제작하여 Hematoxylin-eosin 염색을 실시하고, 광학현미경하에서 관찰하였다.

### 9) Histomorphometry(조직형태계측)

총 100개의 간세포 중, 10% 이상의 지방소적(lipid droplets)을 함유한 간세포의 수 (cells/100 hepatocytes), 간 실질 조직 mm<sup>2</sup> 당 지방소적이 차지하는 비율(%/mm<sup>2</sup> of hepatic parenchyma), 간세포 직경(μm/hepatocyte), 세로로 절단한 가슴 샘 소엽 전체 및 피질 부분의 두께 (mm/cross trimmed thymus), 세로로 절단한 비장 조직표본에서 정중부(from apex of anterior border to centre of posterior border)의 비장 전체 두께 (mm/spleen), 백색수질(white pulp)의 수 (white pulp/mm<sup>2</sup> of spleen) 및 백색수질의 직경 (mm/white pulps)을 조직 자동영상 분석 장치(DMI-300 Image Processing ; DMI, Korea)를 이용하여 각각 측정하였다.

### 3. 통계

모든 수치는 평균 ± 표준편차로 표시하였으며, 다중 비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고, 분산 동질성을 Levene test를 실시하여 검증 하였다. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 leastsignificant differences(LSD) test로 사후 검증을 실시하여 군 간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일

경우에는 비모수검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W를 실시하여 군 간의 유의성을 검증하였다. 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 14.0K, SPSS Inc., USA)를 이용하여 평가하였으며, *p*-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

## III. 결 과

### 1. 혈청 성분의 변화에 미치는 영향

혈청 중 AST의 함량(IU/L) 변화를 보면, 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 116.18%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나(*p* < 0.01), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 각각 -25.08%와 -32.60%의 유의성 있는 변화를 각각 나타내었다(*p* < 0.01).

혈청 중 ALT의 함량(IU/L)을 보면, 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 162.70%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나(*p* < 0.01), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 각각 -19.01%와 -30.04%의 유의성 있는 변화를 각각 나타내었다(*p* < 0.01).

혈청 중 albumin 함량(g/dL)은 알코올 대조군에서 정상 대조군에 비해 64.41%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나(*p* < 0.01), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 각각 -16.82%와 -23.61%의 유의성 있는 변화를 각각 나타내었다(*p* < 0.01).

혈청 중 ALP 함량(IU/L)은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 83.81%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나(*p* < 0.01), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 각각 -23.44%와 -31.65%의 유의성 있는 변화를 각각 나타내었다(*p* < 0.01).

혈청 중 TG 함량(mg/dL)은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 295.42%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나 (*p* < 0.01), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 각각 -25.09%와 -31.17%의 유의성 있는 변화를 각각 나타내었다(*p* < 0.01)<Table 2>.

<Table 2> Serum Biochemical Items Measured in Ethanol and Test Article Treated Rats

Items	Serum Levels				
Groups	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	Albumin (g/dL)	ALP (IU/L)	Triglyceride (mg/dL)
Normal	75.63 ± 10.51	34.50 ± 3.66	3.40 ± 0.41	210.13 ± 37.08	38.25 ± 14.01
Alcohol	163.50 ± 18.56*	90.63 ± 10.31*	5.59 ± 0.66*	386.25 ± 70.24*	151.25 ± 25.71*
DK50 mg/kg	122.50 ± 24.35*#	73.40 ± 10.66*#	4.65 ± 0.48*#	295.70 ± 73.26*#	113.30 ± 17.03*#
DK200 mg/kg	110.20 ± 18.50*#	63.40 ± 14.78*#	4.27 ± 0.61*#	264.00 ± 60.80*#	104.10 ± 18.40*#

Values are expressed as mean ± SD of 10 rats ; \*  $p < 0.01$  and \*\*  $p < 0.05$  as compared with normal control ; #  $p < 0.01$  and ##  $p < 0.05$  as compared with alcohol control.

DK : Administration of Daekumeunja water extract

## 2. 장기 중량의 변화에 미치는 영향

### 1) 간 중량의 변화에 미치는 영향

간의 절대 중량(g)을 측정한 결과, 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 -12.98%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 각각 6.20% 와 7.45%의 유의한 증가가 있었다( $p < 0.01$ ).

간 상대 중량(% of body weights)을 측정한 결과, 알코올 대조군은 정상 군에 비해 21.10%의 유의성 있는 증가를 나타내었으며( $p < 0.05$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 13.75%와 15.69%의 유의성 있는 증가를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ ).

### 2) 가슴 샘 중량의 변화에 미치는 영향

가슴샘의 절대 중량(g)을 측정한 결과, 가슴 샘 절대 중량은 알코올 대조군이 정상군에 비해 -28.57%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 13.85%와 21.85%의 유의성 있는 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ ).

가슴 샘 상대 중량(% of body weights)을 측정한 결과, 가슴 샘 상대 중량은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 -25.00%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 20.00%와 29.33%의 유의성 있는 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ )<Table 3>.

<Table 3> Thymus weights Measured in Ethanol and Test Article Treated Rats

Items	Thymus weights Items	
Groups	Absolute (g)	Relative (% of body weights)
Normal	0.455 ± 0.071	0.100 ± 0.016
Alcohol	0.325 ± 0.049*	0.075 ± 0.010*
DK 50 mg/kg	0.370 ± 0.035*##	0.090 ± 0.012**#
DK 200 mg/kg	0.396 ± 0.054*#	0.097 ± 0.011#

Values are expressed as mean ± SD of 10 rats

\*  $p < 0.01$  and \*\*  $p < 0.05$  as compared with normal control ; #  $p < 0.01$  and ##  $p < 0.05$  as compared with alcohol control.

DK : Administration of Daekumeunja water extract

### 3) 비장 중량의 변화에 미치는 영향

비장의 절대 중량(g)을 측정한 결과, 알코올 대조군이 정상 군에 비해 -16.94%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 11.49%와 18.93%의 변화를 각각 나타내었고, 이 중에서 200 mg/kg의 DK 투여 군에서 유의성이 있었다( $p < 0.01$ ).

비장 상대 중량(% of body weights)을 측정한 결과, 비장 상대 중량은 알코올 대조군에서 정상군에 비해 -12.73%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 16.67%와 25.00%의 유의성 있는 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ )<Table 4>.

<Table 4> Spleen Weights Measured in Ethanol and Test Article Treated Rats

Items	Spleen weights	
Groups	Absolute (g)	Relative (% of body weights)
Normal	0.744 ± 0.089	0.165 ± 0.018
Alcohol	0.618 ± 0.045 <sup>*</sup>	0.144 ± 0.012 <sup>*</sup>
DK 50 mg/kg	0.689 ± 0.065	0.168 ± 0.016 <sup>#</sup>
DK 200 mg/kg	0.735 ± 0.146 <sup>#</sup>	0.180 ± 0.038 <sup>#</sup>

Values are expressed as mean ± SD of 10 rats  
 \*  $p < 0.01$  as compared with normal control ; #  $p < 0.01$  and ##  $p < 0.05$  as compared with alcohol control.  
 DK : Administration of Daekumeunja water extract

### 3. 간 내 triglyceride 함량의 변화에 미치는 영향

간 내 triglyceride 함량은 알코올 대조군에서 정상 대조군에 비해 228.59%의 유의성 있는 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 -21.62%와 -34.43%의 유의성 있는 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ )<Table 5>.

<Table 5> Liver Triglyceride Contents Measured in Ethanol and Test Article Treated Rats

Items	Liver Triglyceride Contents
Groups	mg/g tissue
Normal	5.63 ± 2.0
Alcohol	18.50 ± 3.25 <sup>*</sup>
DK 50 mg/kg	14.50 ± 3.42 <sup>#</sup>
DK 200 mg/kg	12.13 ± 2.23 <sup>#</sup>

Values are expressed as mean ± SD of 10 rats  
 \*  $p < 0.01$  as compared with normal control ; #  $p < 0.01$  as compared with alcohol control.  
 DK : Administration of Daekumeunja water extract

<Table 6> Histomorphometrical Items of Liver Measured in Ethanol and Test Article Treated Rats

Items	Liver histomorphometry		
Groups	Numbers of hepatocytes occupied by over 10 lipid droplets (Numbers/100 hepatocytes)	Percentages of regions occupied by lipid droplets (%/mm <sup>2</sup> of hepatic parenchyma)	Mean diameters of hepatocytes (µm/cells)
Normal	5.00 ± 2.178	9.54 ± 5.07	39.65 ± 4.26
Alcohol	51.63 ± 12.19 <sup>*</sup>	51.31 ± 11.96 <sup>*</sup>	69.18 ± 7.27 <sup>*</sup>
DK 50 mg/kg	16.40 ± 9.66 <sup>*#</sup>	20.76 ± 11.12 <sup>#</sup>	53.86 ± 6.11 <sup>#</sup>
DK 200 mg/kg	8.80 ± 3.01 <sup>*#</sup>	12.77 ± 3.39 <sup>**#</sup>	50.00 ± 5.68 <sup>#</sup>

Values are expressed as mean ± SD of 10 organs ; \*  $p < 0.01$  and \*\*  $p < 0.05$  as compared with normal control ; #  $p < 0.01$  as compared with alcohol control.  
 DK : Administration of Daekumeunja water extract

### 4. Histomorphometry(조직형태계측)

#### 1) 간의 조직형태계측

조직형태계측을 통하여 장기의 변화를 관찰해 보았는데, 먼저 간의 조직 변화를 살펴본 결과, 간 조직 표본에서 10% 이상의 지방소적을 함유한 간세포의 수는 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 932.60%의 유의한 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 각각 -68.24%와 -82.96%의 유의한 변화를 나타내었다( $p < 0.01$ ).

간 조직 표본에서 지방소적이 차지하는 비율은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 437.84%의 유의한 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 -59.54%와 -75.11%의 유의한 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ ).

간 조직표본에서 간세포 평균 직경은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 74.48%의 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 -22.15%와 -27.72%의 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ )<Table 6>.

### 2) 가슴샘의 조직형태계측

가슴 샘 조직 표본에서 소엽의 전체 두께는 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 -52.92%의 유의한 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 45.72%와 74.79%의 유의한 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ ).

가슴 샘 조직 표본에서 피질의 두께는 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 -52.76%의 유의한 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50mg/kg, 200mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 55.47%와 71.53%의 유의한 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ )<Table 7>.

<Table 7> Histomorphometrical Items of Thymus Measured in Ethanol and TestArticle Treated Rats

Items Thymus histomorphometry		
Groups	Lobular thicknesses (mm/lobes)	Cortex thicknesses (mm/lobes)
Normal	4.97 ± 0.57	2.90 ± 0.29
Alcohol	2.34 ± 0.71*	1.37 ± 0.42*
DK 50mg/kg	3.41 ± 0.63*#	2.13 ± 0.44*#
DK 200mg/kg	4.09 ± 0.54*#	2.35 ± 0.36*#

Values are expressed as mean ± SD of 10 organs ; \*  $p < 0.01$  and \*\*  $p < 0.05$  as compared with normal control ; #  $p < 0.01$  as compared with alcohol

DK : Administration of Daekumeunjia water extract

### 3) 비장의 조직형태계측

비장 조직표본에서 중심부위의 두께는 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 -27.75%의 유의한 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 17.27% 와 29.77%의 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ ).

비장 조직표본에서 백색 수질의 수는 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 -58.30%의 유의한 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 91.79%와 133.85%의 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ ).

비장 조직표본에서 백색 수질의 직경은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 -50.00%의 유의한 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 56.96%와 72.15%의 변화를 각각 나타내었다( $p < 0.01$ )<Table 8>.

<Table 8> Histomorphometrical Items of Spleen Measured in Ethanol and Test Article Treated Rats

Items Spleen histomorphometry			
Groups	Splenic thicknesses (mm/central regions of crossly trimmed spleen)	Numbers of white pulps (Number/ 100 mm <sup>2</sup> of splenic parenchyma)	Mean diameters of white pulps (mm/white pulps)
Normal	6.09 ± 0.30	23.38 ± 4.60	1.58 ± 0.16
Alcohol	4.40 ± 0.66*	9.75 ± 2.12*	0.79 ± 0.19*
DK 50 mg/kg	5.16 ± 0.34*#	18.70 ± 2.00*#	1.24 ± 0.10*#
DK 200 mg/kg	5.71 ± 0.38**#	22.80 ± 2.20 <sup>‡</sup>	1.36 ± 0.14*#

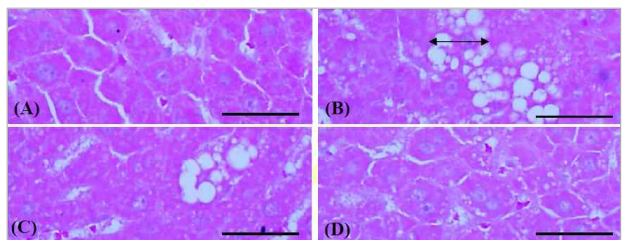
Values are expressed as mean ± SD of 10 organs ; \*  $p < 0.01$  and \*\*  $p < 0.05$  as compared with normal control ; #  $p < 0.01$  as compared with alcohol control.

DK : Administration of Daekumeunjia water extract

## 5. 장기의 조직병리학적 관찰

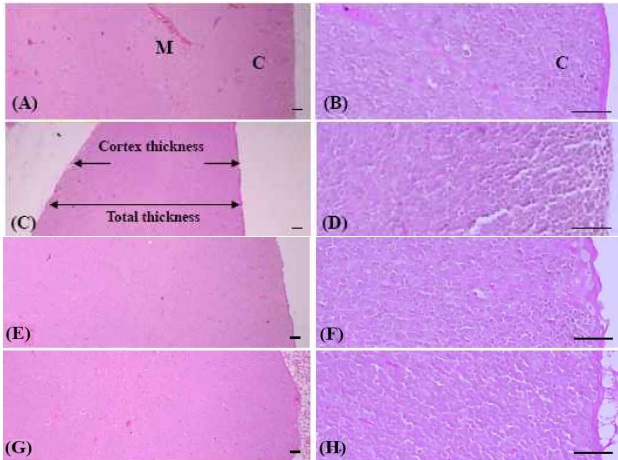
### 1) 간의 조직병리학적 관찰

간에 대한 조직병리학적 관찰을 실시한 결과, 알코올 대조군에서는 정상 군과 비교해서 간세포에 지질의 작은 방울의 침전이 있었고, 간세포의 비대를 관찰할 수 있었으며, 심각한 간세포의 지방 변성이 관찰되었고, 10% 이상의 지질의 작은 방울에 의해서 간세포가 점령당했으며, 이 지역의 비율과 간세포의 직경이 뚜렷하게 증가되었다. 반면에 DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 간세포의 지방 변성이 뚜렷하게 억제되었다<Figure 1.>.



<Figure 1> Histopathological observations of liver in the normal control (A), alcohol control (B), DK 50 (C) and 200 (D) mg/kg treated groups.

Note that deposition of lipid droplets in hepatocytes and related hypertrophy of hepatocytes: severe fatty changes were detected in alcohol control as compared with normal control; consequently the numbers of hepatocytes occupied by over 10% lipid droplets, percentages of lipid droplet occupied regions and mean diameters of hepatocytes were markedly increased. However, these severe fatty changes were effectively inhibited by treatment of all four types of test articles, respectively; Arrows indicated the diameters of hepatocytes measured; All H&E stain; Scale bars = 80µm.



<Figure 2> Histopathological observations of thymus in the normal control (A, B), alcohol control (C, D), DK 50 (E, F) and 200 (g, H) mg/kg treated groups.

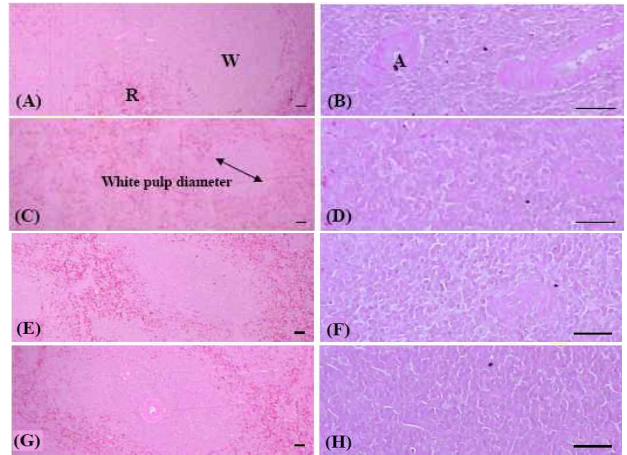
Note that atrophic changes related to the decrease of cortex thymocytes were detected in alcohol control as compared with normal control; consequently the total and cortex thicknesses were markedly decreased. However, these atrophic changes were effectively inhibited by treatment of all four types of test articles, respectively. C, cortex; M, medulla, Arrows indicated the total or cortex thicknesses measured; All H&E stain; Scale bars = 80µm.

## 2) 가슴샘의 조직병리학적 관찰

가슴샘에 대한 조직병리학적 관찰을 실시한 결과, 알코올 대조군에서는 정상 군과 비교해서 피질의 가슴샘 소체세포의 감소와 관련된 위축성 변화가 관찰되었으며, 그 결과로 인해서 전체 및 피질의 두께가 뚜렷하게 감소되었다. 반면에 DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 이와 같은 위축성 변화가 뚜렷하게 억제되었다<Figure 2>.

## 3) 비장의 조직병리학적 관찰

비장에 대한 조직병리학적 관찰을 실시한 결과, 알코올 대조군에서는 정상 군과 비교해서 비장의 white pulp (白髓)의 림프구의 감소와 관련된 위축성 변화가 관찰되었으며, 그 결과로서 전체 비장의 두께와 white pulp (白髓)의 수와 직경이 뚜렷하게 정상 군과 비교해서 알코올 대조군에서 감소되었다. 반면에 DK 투여군(50 mg/kg, 200 mg/kg)에서는 알코올 대조군에 비해 이와 같은 비장의 위축성 변화가 뚜렷하게 억제되었다<Figure 3>.



<Figure 3> Histopathological observations of spleen in the normal control (A, B), alcohol control (C, D), DK 50 (E, F) and 200 (g, H) mg/kg treated groups.

Note that atrophic changes related to the decrease of splenic white pulp lymphoid cells were detected in alcohol control as compared with normal control; consequently the total splenic thicknesses, white pulp numbers and diameters were markedly decreased in alcohol control as compared with normal control, respectively. However, these splenic atrophic changes were effectively inhibited by treatment of all four types of test articles, respectively. W, white pulp; R, red pulps; A, central arteriole; Arrows indicated the white pulp diameters measured; All H&E stain; Scale bars = 80µm.

## IV. 고 찰

알코올을 남용하면 간 손상을 유발하며<sup>26)</sup>, 알코올 간 손상은 알코올 자체 또는 알코올의 대사과정에서 생기는 화합물에 의해 초래된다<sup>27)</sup>. 또한 일정기간의 알코올(ethanol) 투여에 의해 간 지방병증<sup>28-31)</sup>과 면역저하<sup>32-36)</sup>가 초래되는 것으로 알려져 있어, 본 실험에서는 對金飮子가 알코올성 간 지방 병증 및 면역 억제에 미치는 효과를 장기 중량, 혈액생화학적 방법, 조직병리학적 방법을 통하여 관찰하였다.

장기적으로 알코올을 섭취하게 되면 말초 지방 조직에서 지질 분해가 증가하여 지방산이 과잉으로 생산되고, NADH와 NADPH 증가에 따라서 지방산의 산화가 감소하며, triglyceride와 단백질 결합하는 과정에서 장애가 발생하여, 간세포에 triglyceride가 축적됨으로써 알코올에 의한 지방변성이 발생된다<sup>27)</sup>. 장기적인 알코올 투여로 인하여 유발되는 알코올성 간 지방병증 시에는 현저한 혈중 AST, ALT, albumin, ALP 및 TG (triglyceride) 등 간 혈액 화학적 지표들의 상승이 나타난다<sup>28-31)</sup>. 對金飮子를 투여한 본 실험의 혈청 변화에 대한 결과를 살펴보면, 먼저 혈청 중 AST의



함량 변화에 있어서는, 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 증가하였으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 감소되었다( $p < 0.01$ ). 혈청 중 ALT의 함량의 변화를 보면, 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 증가하였으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다( $p < 0.01$ ). 혈청 중 albumin 함량은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 증가 하였으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 감소되었다( $p < 0.01$ ). 혈청 중 ALP 함량은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 증가되었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다( $p < 0.01$ ). 혈청 중 triglyceride 함량은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 증가되었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 감소되었다( $p < 0.01$ ).

만성 알코올 섭취는 간에서의 지질의 대사에 변화를 가져오며, 이로 인하여 간 경변이나 간암의 위험성을 높이기도 한다<sup>37</sup>. 알코올성 간 지방병증시에 지방 축적에 따른 간 실질세포의 감소로 현저한 간 중량의 감소가 유발 되는 것으로 알려져있다<sup>28-31</sup>. 본 실험에서 간의 중량(g)을 살펴본 결과, 간의 절대 중량은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 감소되었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 유의한 증가가 있었다( $p < 0.01$ ). 간의 상대 중량(% of body weights)은 알코올 대조군은 정상 군에 비해 증가를 나타내었으며( $p < 0.05$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 유의한 증가되었다( $p < 0.01$ ).

만성적으로 에탄올을 흡수하게 되면 가슴 샘의 중량은 줄어드는 것으로 관찰 된다<sup>38,39</sup>. 본 실험에서 가슴샘의 중량(g)을 살펴본 결과, 가슴 샘 절대 중량은 알코올 대조군이 정상 군에 비해 감소되었으며( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 증가되었다( $p < 0.01$ ). 가슴 샘 상대 중량(% of body weights)은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 감소되었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 증가되었다( $p < 0.01$ ).

장기간 에탄올을 흡수하게 되면 비장의 중량은 줄어드는 것으로 관찰 된다<sup>38</sup>. 본 실험에서 비장의 중량(g)을 측정할 결과, 비장의 절대 중량은 알코올 대조군이 정상 군에 비해 감소하였으며( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 증가하였다( $p < 0.01$ ). 비장의

상대 중량(% of body weights)은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 감소하였으며( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 증가하였다( $p < 0.01$ ).

알코올에 의한 지방변성은 간세포에 triglyceride가 축적되는 것이므로<sup>27</sup>, 만성적인 에탄올 섭취는 간 내 triglyceride의 함량을 상승 시킨다<sup>40</sup>. 본 실험에서 간 내 triglyceride 함량은 알코올 대조군에서 정상 대조군에 비해 유의성 있는 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 감소하였다( $p < 0.01$ ).

조직형태계측을 통한 장기의 변화로는, 알코올성 간 지방병증시에는 간 혈액 화학적 지표들의 상승과 함께 간 세포내 지방 침윤이 특징적으로 관찰 된다<sup>28-31</sup>. 알코올 지방 변성은 주로 소엽 중심대에서 시작하나, 악화되면 소엽 전체로 확산 된다<sup>27</sup>. 먼저 간의 조직 변화를 살펴본 결과, 간 조직 표본에서 10% 이상의 지방소적을 함유한 간세포의 수는 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 크게 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 감소되었다( $p < 0.01$ ). 간 조직 표본에서 지방소적이 차지하는 비율은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 크게 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 작게 나타내었다( $p < 0.01$ ). 간 조직표본에서 간세포 평균 직경은 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 큰 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 작게 나타내었다( $p < 0.01$ ).

가슴샘의 조직형태계측을 살펴보면, 가슴 샘 조직 표본에서 소엽의 전체 두께는 알코올 대조군에서 정상 대조군에 비해 작게 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 크게 변화를 나타내었다( $p < 0.01$ ). 가슴 샘 조직 표본에서 피질의 두께는 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 적게 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 증가 되었다( $p < 0.01$ ).

비장의 조직형태계측을 살펴보면, 비장 조직표본에서 중심부위의 두께는 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 감소되었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 증가하였다( $p < 0.01$ ). 비장 조직표본에서 백색 수질의 수는 알코올 대조군에서 정상 군에 비해 적었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 증가하였다( $p < 0.01$ ). 비장 조직표본에서 백색 수질의 직경은 알코올 대조군에서 정상 대조군에 비해

유의한 변화를 나타내었으나( $p < 0.01$ ), DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 증가되었다( $p < 0.01$ ).

다음은 장기의 조직병리학적 관찰을 살펴보았다. 먼저, 간에 대한 조직병리학적 관찰을 실시한 결과, 알코올 대조군에서는 정상 군과 비교해서 간세포에 지질의 작은 방울의 침전이 있었고, 간세포의 비대를 관찰할 수 있었으며, 간세포의 지방 변성이 관찰되었고, 10% 이상의 지질의 작은 방울에 의해서 간세포가 점령당했으며, 이 지역의 비율과 간세포의 직경이 뚜렷하게 증가되었다. 반면에 DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 심각한 지방 변성이 뚜렷하게 억제되었다.

에탄올에 의한 면역저하는 비교적 잘 알려져 있으나<sup>32-36</sup>, 그 기전은 명확하지 않다<sup>36</sup>. 그러나 알코올의 남용은 감염성 질환과 특정 암에 대하여 감수성을 증가시키는 것으로 알려져 있다<sup>33</sup>. 또한 에탄올에 의한 면역억제는 가슴샘과 비장의 임파구 감소가 특징적으로 초래되므로<sup>34</sup>, 임파 장기 내 임파구 감소에 의한 면역억제가 초래되어, 결국 감염과 종양에 쉽게 노출된다<sup>34,36</sup>. 또한 알코올을 섭취한 생쥐의 면역체계도 현저하게 낮아지므로<sup>41</sup>, 본 실험의 알코올 투여군의 결과와 일치한다.

가슴샘은 T세포의 증식과 기능적 분화에 꼭 필요한 장소이며, 상피 성 세포와 미숙한 T세포와의 접촉 및 가슴 샘 호르몬의 분비, 즉 이른 바 가슴샘의 미세 환경이 T세포의 면역담당세포로서의 기능획득에 중요한 역할을 한다<sup>42,43</sup>. 가슴 샘에 대한 조직병리학적 관찰을 실시한 결과, 알코올 대조군에서는 정상 군과 비교해서 피질의 가슴 샘 소체세포의 감소와 관련된 위축성 변화가 관찰되었으며, 그 결과로 인해서 전체 및 피질의 두께가 뚜렷하게 감소되었다. 이러한 알코올에 의한 가슴 샘 세포의 분화, 성숙의 저해는 세포성 면역을 근원적으로 저해하는 결과로 알려지고 있다<sup>39</sup>. 반면에 DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 이와 같은 위축성 변화가 뚜렷하게 억제되었다.

비장은 혈액에서 유래되는 항원에 대한 주된 보호 면역 반응의 부위인데<sup>44,45</sup>, 비장에 대한 조직병리학적 관찰을 실시한 결과, 알코올 대조군에서는 정상 군과 비교해서 비장의 white pulp(白髓)의 림프구의 감소와 관련된 위축성 변화가 관찰되었으며, 그 결과로서 전체 비장의 두께와 white pulp(白髓)의 수와 직경이 뚜렷하게 정상 군과 비교해서 알코올 대조군에서 감소되었다. 반면에

DK 투여 군에서는 알코올 대조군에 비해 이와 같은 비장의 위축성 변화가 뚜렷하게 억제되었다.

본 연구에서는 현저한 가슴 샘 및 비장의 임파구 중량 감소와 함께, 가슴 샘 피질 및 전체 소엽 두께의 감소, 비장두께, 백색수질 수 및 직경의 감소와 같은 조직병리학적 위축 소견이 장기적인 에탄올 투여에 의해 유발되었다. 한편 이러한 알코올에 의한 면역억제 소견이 對金飮子 투여에 의해 현저히 억제되어 對金飮子が 알코올 유도 면역억제에 매우 유효한 효과를 나타낼 것으로 판단된다. 對金飮子 투여군 모두 우수한 용량 의존성 면역 활성화 효과를 나타내었다.

알코올 투여 rat에서 對金飮子の 효과를 간 내 triglyceride 함량과 함께 혈액생화학적 및 조직병리학적 방법으로 관찰한 결과, 對金飮子の 동시 투여는 ethanol 유발 간 지방병증과 면역저하를 현저히 용량 의존적으로 억제하는 것으로 관찰되어, 對金飮子が 알코올 유도 간 손상 및 면역저하에 매우 유효한 효과를 나타낼 것으로 판단된다.

## V. 결 론

DK(對金飮子)가 장기적인 알코올 섭취로 인한 간 지방병증과 면역저하의 예방에 미치는 효과에 관하여 혈액생화학적 검사, 장기중량의 변화, 간 조직 내 triglyceride의 함량 변화, 조직형태계측, 조직병리학적 관찰을 통한 비교 실험을 한 결과, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 혈액 생화학적 검사 결과, DK 투여군은 알코올 대조군에 비해 혈중 AST, ALT, albumin, ALP 및 triglyceride 함량을 유의하게 감소시켰다.
2. 장기중량의 변화에 미치는 효과를 살펴본 결과, DK 투여군은 알코올 대조군에 비해 간, 가슴 샘, 비장의 상대적 중량을 유의하게 증가시켰다.
3. 간 조직 내 triglyceride의 함량 변화를 살펴본 결과, DK 투여군은 알코올 대조군에 비해 감소하였다.
4. 조직형태계측을 살펴본 결과,
  - 1) 간에서는 10% 이상의 지방소적을 함유한 간세포의 수가 알코올 대조군에 비하여 DK 투여 군에서 감소

하였고, 지방소적이 차지하는 비율과 간세포 평균 직경도 DK 투여 군에서 감소하였다.

- 2) 가슴샘에서는 소엽의 전체 두께와 피질의 두께가 알코올 대조군에 비하여 DK 투여 군에서는 증가하였다.
  - 3) 비장에서는 중심 부위의 두께, 백색 수질의 수 및 백색 수질의 직경이 알코올 대조군에 비하여 DK 투여 군에서는 증가하였다.
5. 장기의 조직병리학적 변화를 살펴본 결과, 간에서는 알코올 대조군에 비하여 DK 투여 군에서 간세포의 지방 변성을 뚜렷하게 억제하였고, 가슴샘과 비장에서는 위축성변화를 뚜렷하게 억제하였다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 對金飮子是 알코올성 간 지방 병증에 매우 유효한 예방 효과를 나타낼 것으로 기대되며, 아울러 알코올성 면역저하에도 효과가 우수할 것으로 생각된다.

### 參考文獻

1. 오상우. 음주가 비만 및 대사증후군에 미치는 영향. 대한비만학회지. 2009;18(1):1-7.
2. 정영호, 고숙자. 흡연, 음주, 비만에 기인한 질병의 사회경제적 비용 및 관련품목 조세제도. 2009 한국사회보장학회 춘계학술대회 자료집. 2009:275-309.
3. 유옥순. 알코올 섭취자와 비섭취자의 영양섭취실태 및 혈청 지질수준에 대한 비교연구. 1997. 공주대학교 석사학위논문.
4. William M.H. Effect of small and moderate doses of alcohol on exercise heart rate and oxygen consumption. Res Q. 1972 Mar;43(1):94-104.
5. Lieber C. S. Hepatic, metabolic and toxic effects of ethanol:1991 update. Alcohol Clin. Exp. Res. 1991; 15:573-592.
6. 박성희, 강영희, 박현영. 한국인에서 알코올 섭취가 관상동맥질환 관련 위험요인에 미치는 영향:국민건강영양조사 제 3기(2005년). 한국영양학회지. 2008;41(3):232-241.
7. Morrow. A. L. Researchers study alcohol's channels to the brain. Center Line. 1997;(8):1-3.
8. Macgregor RR. Alcohol and immune defense. JAMA. 1986 Sep 19;256(11):1474-9.
9. 김병운, 우홍정, 김덕호, 강병기, 임재훈, 강운호 외 3인. 간계내과학. 서울:동양의학연구원출판부. 1989:109-111, 598-611.
10. 박중현, 김연섭. 酒傷에 관한 문헌적 고찰. 제한동의 학술원논문집. 2000;5(1):22-30.
11. 徽宗. 太平惠民和劑局方. 北京:中國中醫藥出版社. 1996:48-49.
12. 허준 지음, 동의문헌연구실 옮김. 신대역 동의보감. 서울:법인문화사. 2007:826, 1164, 1208, 1848.
13. Liu S.J. Ramsey, R.K. Fallon, H.J. Effects of ethanol on hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes in the rat. Biochem. Pharmacol. 1975; 24(3):369-378.
14. Folch J. Lees M. Stone-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissue. J Biol Chem. 1957;226: 497-509.
15. Brodie BB. Butler WM. Horning MG. Maickel RP. Maling HM. Alcohol-induced triglyceride deposition in liver through derangement of fat transport. Am J Clin Nutr. 1961;9:432-435.
16. Butler WM. Maling HM. Horning MG. Brodie BB. The direct determination of liver triglycerides. J Lipid Res. 1961;2:95-96.
17. Bucolo G. David H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. Clin Chem. 1973;19:476-482.
18. 장수미. 가정폭력 피해여성의 음주문제와 영향요인. 정신보건과 사회사업. 2008;28:152-174.
19. 박승만, 조종관. 술이 인체에 미치는 영향에 관한 동서 의학적 연구. 한의학논문집(대전대학교 한의학연구소). 1993;2(1):67-78.
20. 황대현, 최준혁, 임성우. 에탄올과 스트레스로 유발된 생쥐의 공장 점막 손상에 대한 對金飮子の 방어 효과. 대한한방내과학회지. 2003;24(4):735-746.
21. 이태호, 이은용. 대금음자 약침이 알코올 독성 흰쥐의 해마에서 c-Fos 발현에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2006;23(3):37-45.
22. 김현중, 김이화, 이은용. 對金飮子 약침이 알코올 독성 흰쥐의 해마에서 신경세포생성과 NOS 발현에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2006;23(5):187-198.

23. 공경환 Alcohol, indomethacin 및 burn-stress로 유발된 생쥐의 위 점막 손상에 대한 對金飮子, 益胃湯, 柴胡疏肝散의 효과. 大韓韓醫學會誌. 2007;28(2):166-184.
24. 류기원, 구분홍. 주상병에 응용되는 加味對金飮子가 ethanol로 인한 白鼠의 肝損傷에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1980;3:1-14.
25. 박영준, 선중기, 조철준, 문병하, 김제관, 박주환, 구창모. 加味對金飮子 處方을 사용한 알코올성 간염환자의 치험 2례. 대한한의정보학회지. 2003;9(2):8-14.
26. Klassen LW. Thiele GM. Duryee MJ. Schaffert CS. DeVeney AL. Hunter CD. Olinga P. Tuma DJ. An in vitro method of alcoholic liver injury using precision-cut liver slices from rats. *Biochem Pharmacol.* 2008 Aug 1;76(3):426-36. Epub 2008 May 21.
27. 이재혁. 지방간의 병리 소견. 대한간학회지. 2008; 14(4s): 22-28.
28. Adeneye AA. Benebo AS. Oral metformin-ascorbic acid co-administration ameliorates alcohol-induced hepatotoxicity in rats. *Nig Q J Hosp Med.* 2007;17 :155-159.
29. Faremi TY. Suru SM. Fafunso MA. Obioha UE. Hepatoprotective potentials of *Phyllanthusamarus* against ethanol-induced oxidative stress in rats. *Food Chem Toxicol.* 2008;46:2658-2664.
30. Gopumadhavan S. Rafiq M. Azeemuddin M. Mitra SK. Ameliorative effect of Partysmart in rat model of alcoholic liver disease. *Indian J Exp Biol.* 2008;46:132-137.
31. Pari L. Suresh A. Effect of grape (*Vitis vinifera* L.) leaf extract on alcohol induced oxidative stress in rats. *Food Chem Toxicol.* 2008;46:1627-1634.
32. Jerrells TR. Marietta CA. Weight FF. Eckardt MJ. Effect of adrenalectomy on ethanol-associated immunosuppression. *Int J Immunopharmacol.* 1990a; 12:435-442.
33. Jerrells TR. Smith W. Eckardt MJ. Murine model of ethanol-induced immunosuppression. *Alcohol Clin Exp Res.* 1990b;14:546-550.
34. Saad AJ. Jerrells TR. Flow cytometric and immunohistochemical evaluation of ethanol-induced changes in splenic and thymic lymphoid cell populations. *Alcohol Clin Exp Res.* 1991;15:796-803.
35. Holsapple MP. Eads M. Stevens WD. Wood SC. Kaminski NE. Morris DL. Poklis A. Kaminski EJ. Jordan SD. Immunosuppression in adult female B6C3F1 mice by chronic exposure to ethanol in a liquid diet. *Immunopharmacology.* 1993;26:31-51.
36. Budec M. Leposavi G. Karapetrovi B. Kosec D. Naltrexone prevents ethanol-induced changes in rat thymus. *Alcohol.* 1996;13:533-537.
37. Kudo T. Tamagawa T. Shibata S. Effect of chronic ethanol exposure on the liver of Clock-mutant mice. *J Circadian Rhythms.* 2009 Apr 1;7:4.
38. Jiménez V. Cardinali DP. Alvarez MP. Fernández MP. Boggio V. Esquifino AI. Effect of chronic ethanol feeding on 24-hour rhythms of mitogenic responses and lymphocyte subset populations in thymus and spleen of peripubertal male rats. *Neuroimmunomodulation.* 2005;12(6):357-65.
39. 김진택, 박인식, 안상현. 장기간 알콜 투여가 생쥐 가슴샘에서 T 림프구의 분화와 IL-2 분비 저해에 미치는 면역조직화학적 연구. *The Journal of Dongguk Oriental Medicine.* 1996;5(1):187-196.
40. Khanal T. Choi JH. Hwang YP. Chung YC. Jeong H G. Protective effects of saponins from the root of *Platycodon grandiflorum* against fatty liver in chronic ethanol feeding via the activation of AMP-dependent protein kinase. *Food Chem Toxicol.* 2009 Nov; 47(11):2749-54. Epub 2009 Aug 13.
41. 趙涓修. 에틸 알코올이 ICR계 생쥐의 면역체계에 미치는 영향. 1989. 한양대학교 대학원 석사학위논문.
42. Blalock JE. Harbour-McMenamin D. Smith EM. Peptide hormones shared by the neuroendocrine and immunologic systems. *J Immunol.* 1985 Aug; 135(2 Suppl):858s-861s.
43. Szein MB. Goldstein AL. Thymic hormones—a clinical update. *Springer Semin Immunopathol.* 1986; 9(1):1-18.

44. Cyster JG. Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. *Science*. 1999 Dec 10;286(5447): 2098-102.
45. 류덕선, 김선희, 이동석. 함초 추출물의 마우스 면역 증강 활성. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 2008;36(2): 135-141.