

大黃이 흰쥐의 위점막 손상에 미치는 영향

김범희*

동의대학교 한의과대학 해부학교실 & 한의학연구소

Effects of *Rhei Rhizoma* on Gastric Ulcer in Sprague-Dawley Rats

Bum Hoi Kim*

Department of Anatomy, College of Oriental Medicine and Research Institute of Oriental Medicine, Dong-Eui University

Gastric ulcer has multifactorial etiology, and the development of ulcer is known to be caused by gastric acidity, pepsin secretion, gastric motility and *gastric mucosal blood flow*. The ulcer results from the tissue necrosis and apoptotic cell death triggered by mucosal ischemia, free radical formation and cessation of nutrient delivery. The gastric mucosa is usually exposed to a wide range of aggressive insults, and has developed efficient mechanisms to repair tissue injury. The apoptotic process of gastric mucosa is triggered by the induction of such proapoptotic gene expression, such as BAX. The Bcl-2 family of proteins plays a pivotal role in the regulation of apoptosis. The maintenance of gastric mucosa integrity depends upon the ratio between cell proliferation and cell death. Stress-inducing factors may affect Bcl-2/BAX ratio and thus the rate of apoptosis through modulation of the expression of both proteins depends upon the experimental model. In addition to the regulation of apoptosis, new vessels have to be generated in order to ensure an adequate supply of oxygen and nutrients to the healing gastric mucosa. This events are regulated by several factors. Among them, such polypeptide growth factors, such as vascular endothelial growth factor (VEGF) regulates essential cell functions involved in tissue healing including cell proliferation and differentiation. The purpose of this study was carried to investigate whether *Rhei Rhizoma* administration might protect apoptotic cell death and promote angiogenesis in gastric mucosa. Sprague-Dawley rats were randomly divided into 4 groups; normal, saline, cimetidine and *Rhei Rhizoma*-treated group. The saline, cimetidine and *Rhei Rhizoma* extracts were orally administrated to each group and gastric ulcer was induced by HCl-EtOH solution. After 1 hour, the stomachs were collected for histological observation and immunohistochemistry. In results, *Rhei Rhizoma* proves to promote to heal wound in gastric ulcer in conclusion and the significant changes of BAX, Bcl-2 and VEGF quantity in gastric mucosa were observed. These results suggest that *Rhei Rhizoma* extract may promote incision wound healing and has protective effects on gastric ulcer in rats.

Key words : gastric ulcer, *Rhei Rhizoma*, BAX, Bcl-2, VEGF

서 론

위점막은 지속적으로 수많은 독성물질과 인자들에 노출되어 있다. 위점막 손상(gastric mucosal injury)은 위점막을 보호하는 방어인자와 위점막을 손상시키는 공격인자 사이의 균형이 깨어져 위염 및 소화성 궤양이 유발되는 것을 말한다^{1,2}. 소화성 궤양은 상복부 동통, 흉통, 위산과다, 위장관 출혈, 경련, 압박감 등의 증상이 나타나며 가끔 오심, 구토, 식욕부진, 체중감소 등

을 초래하는 질환으로, 주요 발병원인으로는 *Helicobacter pylori* 감염, 소염제 등 약물의 과다복용, 불규칙한 식습관, 음주, 정신적·육체적 스트레스 및 위 운동운동의 증가, 위액의 과다분비 및 위점막의 혈류장애 등이 있다². 한의학에서는 胃脘痛, 腹痛, 心痛에 해당되고³, 증상에 따라 脾胃虛寒, 肝胃不和, 胃陰不足, 脾胃濕熱, 瘀血阻絡 등으로 변증하며⁴ 특히, 알코올로 인한 위점막 손상은 한의학에서 '酒傷'이라고 하여 음주과도로 인한 내상으로 정의한다⁵.

대황은 마디풀과(Polygonaceae)에 속한 다년생 초목인 장엽대황(*Rheum palmatum* L.), 당고특대황(*Rheum tanguticum* Maximowicz), 혹은 약용대황(*Rheum officinale* Baillon)의 뿌리

* 교신저자 : 김범희, 부산시 부산진구 양정2동 산45-1 동의대학교 한의과대학

· E-mail : bume@deu.ac.kr, · Tel : 051-850-7411

· 접수 : 2011/01/19 · 수정 : 2011/01/31 · 채택 : 2011/02/14

줄기로 瀉熱通腸, 涼血解毒, 逐瘀通經하는 효능이 있어 積聚腹痛, 血熱吐衄, 跌打損傷, 상부소화기 출혈 등에 사용할 수 있다⁶⁾. 대황에 대한 실험적 연구로는 항어혈⁷⁾ 및 항혈전⁸⁾에 대한 효능, 혈중 지질⁹⁾ 및 관련 효소활성과 고지혈증¹⁰⁾에 대해 미치는 영향 등에 대한 연구결과가 있었으며, 대황이 위점막 손상에 미치는 영향에 대한 연구로는 위궤양을 유발시킨 흰쥐에서 대황성분이 방어효과가 있는 것으로 보고되었으나¹¹⁾, 그 기전에 대해서는 연구가 미흡한 실정이다.

위궤양을 포함한 위점막 손상은 조직 괴사(tissue necrosis)와 점막허혈(mucosal ischemia), 자유기 형성(free radical formation) 및 영양분 공급의 장애에 의해 유발된 세포자연사(apoptotic cell death)에 의해 일어나는 것으로 알려져 있다¹²⁾. 세포자연사에 의한 세포사멸에 있어서는 Bcl-2 family의 역할이 중요한데, pro-apoptosis 단백질인 BAX가 세포자연사를 유발하는 반면, anti-apoptosis 단백질인 Bcl-2는 세포자연사를 억제하는 것으로 알려졌다¹³⁾. 또한, 소화성 궤양의 치유과정에는 epithelial cell migration and proliferation, matrix remodeling, angiogenesis 등의 과정이 포함되는 것으로 알려져 있는데, 궤양의 회복은 여러 가지 성장인자들에 의해 조정되는 복잡한 과정을 거치게 된다¹⁴⁾. 또한, 궤양회복과정에 있어 신생혈관형성(angiogenesis)이 중요한 요소인데, 상처부위로 산소와 영양분을 공급해주기 때문이다¹⁵⁾. 이러한 신생혈관형성은 vascular endothelial growth factor (VEGF)와 같은 proangiogenic factor의 역할이 중요하다¹⁶⁾.

이에 본 연구에서는 흰쥐에 실험적으로 위점막 손상을 유발시킨 후, 대황추출물의 보호효과에 대해 검증하고 위점막손상이 진행되고 회복되는 기전에서의 대황의 영향에 대해 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 연구에서는 (주)샘타코 (경기도, 대한민국)에서 구입한 10주령, 약 300 g전후의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 40마리를 사용하였다. 흰쥐는 온도 21~23°C, 습도 40~60%, 조명 12시간 명/암이 자동적으로 유지되는 사육실에서 무균 음수와 사료를 자유롭게 공급하여 사육하고, 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

2. 약물의 제조와 실험군의 분리

大黃 200 g을 증류수 2 L와 함께 round flask에 담고 냉각기를 부착한 전탕기에서 2시간 동안 전탕한 다음 여과액을 감압농축하여 동결건조시켜 물추출액기스 42.1 g을 얻었다. 투여량은 흰쥐 체중 100 g당 10.7 mg을 음용수에 녹여 경구 투여하였으며, 양성 대조약물로는 cimetidine(100 mg/kg, 1 mL)을 사용하였다.

실험군의 분리는 흰쥐를 무작위로 10마리씩 나누어 HCl · EtOH를 주입하기 30분전 大黃 추출물을 경구 투여한 *Rhei Rhizoma*군과, 동일량의 생리식염수를 투여한 Control군,

cimetidine을 투여한 Cimetidine군, 그리고 아무런 처치도 가하지 않고 생리식염수를 경구 투여한 Normal군으로 분리하였다.

3. HCl · EtOH에 의한 위손상 유발

흰쥐를 24시간 절식시킨 후 Mizui 등¹⁷⁾의 방법으로 실험하였다. 즉, 大黃추출물, 생리식염수, cimetidine 약물을 각각 경구 투여하고 30분 뒤에 HCl · EtOH (60% EtOH + 150 mM HCl) 1 mL을 경구 투여하여 위손상을 유발하였다.

4. 위손상의 평가

위손상을 유발시킨 흰쥐를 절식, 절수 하에 1시간 동안 방치한 뒤 ether로 치사시켜 위를 적출하였다. 적출된 위는 유문부를 절찰하고 위내에 2% formalin 용액 10 mL을 넣어 10분간 고정된 후 대만부를 절개하여 PBS로 위내 잔류물을 제거한 후 육안으로 관찰하였다. 전체 손상의 길이(total lesion length)는 광학현미경 하에서 실험동물의 위손상 부위의 전체길이를 mm단위로 표시하였다¹⁸⁾.

5. 위염 및 위궤양의 억제율

각 시료의 위염 및 위궤양에 대한 억제효과는 유발실험에서 측정된 손상길이를 다음과 같은 식으로 계산하여 억제율(%)로 나타냈다¹⁹⁾.

$$\text{억제율(\%)} = \frac{\text{control군의 손상길이} - \text{sample군의 손상길이}}{\text{control군의 손상길이}} \times 100$$

6. 해부조직학적 관찰

위장 내부를 육안으로 관찰한 후, 일정한 부위를 떼어내어 일부는 homogenize하여 사용하였다. 나머지 부위는 해부조직학적 염색을 위해 4% formalin에 48시간 동안 고정시키고 50, 80, 95 및 99.9%의 EtOH에 순차적으로 담궈서 탈수시킨 후, xylene으로 행구고 paraffin으로 포매하였다. 5 μm 두께로 자르고 hematoxylin-eosin으로 염색한 후, 현미경으로 통해 관찰하였다.

7. Superoxidase dismutase(SOD) 활성

SOD 활성은 SOD determination kit (Fluka, 19160, St. Louis, MO)를 사용하여 spectrophotometer로 측정하였다. SOD 활성은 xanthine oxidase와 novel color reagent를 이용한 indirect assay의 방법으로 측정하였다. SOD의 활성은 480 nm에서 색의 변화를 관찰하였는데, 이 방법은 adrenaline의 adrenochrome으로의 autoxidation을 저해하는 SOD의 capacity를 측정하는 것이다. 효소의 한 단위는 26°C에서 epinephrine autoxidation의 비율을 50% 감소시키는데 필요한 효소의 양으로 정의한다. 효소반응은 epinephrine 17 μL을 첨가하여 유발시켰으며, 효소활성은 Unit(U)/mg protein으로 표현하였다.

8. Immunohistochemistry

면역조직화학염색방법은 자유부유법(free-floating)을 사용하

였다. Primary antibody는 anti-BAX (ab7977, 1:200 dilution, rabbit polyclonal; ABCam), anti-Bcl-2 (sc-783, 1:200 dilution, rabbit polyclonal; Santacruz) 및 anti-VEGF (ab46154-100, 1:100 dilution, rabbit polyclonal; ABCam)로 PBS와 Triton X-100을 섞은 용액으로 희석한 후 4°C에서 12시간 반응시켰다. 이후 조직을 PBS로 씻어내고, abidin-biotin immunoperoxidase의 방법 (ABC Vectastain Kit)에 따라 각각 1시간씩 반응시켰다.

9. 통계학적 분석

측정된 모든 자료는 student's t-test를 사용하여 P<0.01 및 P<0.05의 유의수준으로 검증하였다.

결 과

1. 위손상의 육안적 평가

위 대만부를 절개하여 위점막을 육안으로 관찰한 결과, HCl · EtOH를 경구투여한 Control군에서 위점막 손상을 확인할 수 있었는데, 검붉은 출혈성 점막손상이 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 1C arrow). 반면에 Cimetidine군과 *Rhei Rhizoma*군에서는 출혈성 점막손상이 현저히 감소되었다(Fig. 1E, G).

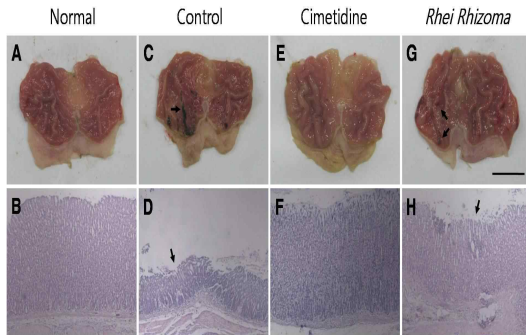


Fig. 1. Photomicrographs of HCl · EtOH induced gastric injury. The rats of Control group showed homrrhages with loss of mucosa exposing the muscularis mucosa(C, D). whereas, the hemorrhages induced by HCl · EtOH solution were markedly reduced(E), and mucosal layer which is peeled off with lesions was recovered almost th the normal condition in the Cimetidine group(F). The rats of *Rhei Rhizoma* group also showed increased epithelial regeneration(G, H). scale bar = 1 cm. Magnification(B, D, F, H): 40X

2. 위점막 손상길이

손상길이의 측정에서도 Control군은 8.4±0.7 mm, Cimetidine군은 5.4±0.7 mm, 그리고 *Rhei Rhizoma*군은 6.3±0.6 mm로 Cimetidine군과 *Rhei Rhizoma*군 모두 Control군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었는데, Cimetidine군이 *Rhei Rhizoma*군에 비해 감소율이 더 높았다. 위의 측정된 값으로 억제율을 계산해보면 Cimetidine군은 35.7%, *Rhei Rhizoma*군은 25.0%의 억제율을 나타내었다(Fig. 2).

3. Superoxidase dismutase(SOD) 활성 측정

위조직에서의 SOD를 측정한 결과, Normal군에서는 33.6±2.1 U/mg protein이었으나 Control군에서는 17.5±1.6

U/mg protein로 SOD 활성이 급격히 감소됨이 관찰되었다. 그러나, Cimetidine군은 27.2±1.7 U/mg protein, *Rhei Rhizoma*군은 23.3±1.7 U/mg protein으로 Cimetidine군은 Control군에 비해 약 55.4%의 증가율을, *Rhei Rhizoma*군은 약 33.1%의 증가율을 나타내어 Cimetidine군과 *Rhei Rhizoma*군 모두 Control군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다(Fig. 3).

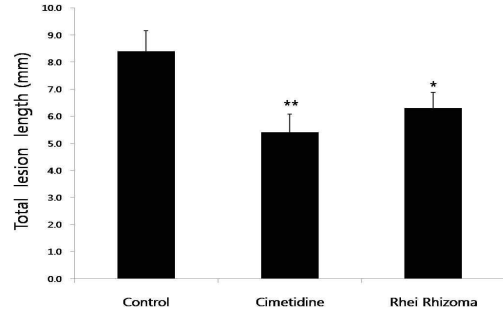


Fig. 2. Total lesion length induced by HCl · EtOH solution. The total lesion length of each group after gastric injury induced by HCl-EtOH solution. The lesion lengths of Cimetidine and *Rhei Rhizoma* group were significantly decreased compared with Control group. Mean±S.E. (*: P < 0.05 vs. Control, **: P < 0.01 vs. .Control)

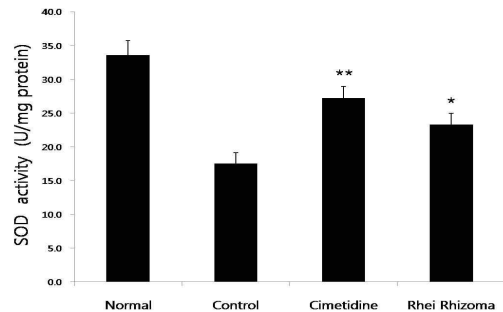


Fig. 3. Changes of superoxide dismutase (SOD) activity after gastric injury. SOD activities in stomach sample of different groups were expressed as U/mg protein. SOD activity of Control group was decrease compared with Normal group. Whereas, SOD activities of Cimetidine and *Rhei Rhizoma* group were significantly recovered. Mean±S.E. (*: P < 0.05 vs. Control, **: P < 0.01 vs. .Control)

4. 조직학적 관찰

H&E 염색을 통한 위장의 조직학적 검사에서는 Control군의 경우 전체적으로 muscularis mucosa에 가깝게 점막이 손상되었다(Fig. 4D). 반면에, Cimetidine군과 *Rhei Rhizoma*군에서는 점막 상피의 손상이 감소되었는데, Cimetidine군이 *Rhei Rhizoma*군에 비해 점막손상이 적은 편이었다(Fig. 4F, H).

5. 면역조직화학적 염색

1) BAX

Normal군에서는 BAX 단백질의 발현이 관찰되지 않았으며, Control군에서는 위 점막 부위에서 BAX의 발현이 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 4A). 반면, Cimetidine군과 *Rhei Rhizoma*군에서는 Control군에 비해 상대적으로 감소된 양상이었는데, Cimetidine

군에서의 감소가 더욱 뚜렷하였다(Fig. 4B, C).

2) Bcl-2

BAX 단백질과 마찬가지로 Bcl-2 단백질은 Normal군에서는 발현을 관찰할 수 없었으나, Control군, Cimetidine군과 *Rhei Rhizoma*군에서는 발현이 관찰되었다. Control군에서는 발현이 아주 미약하였으며(Fig. 4D), Cimetidine군과 *Rhei Rhizoma*군에서는 상대적으로 발현이 증가하였는데 Cimetidine군에서 더욱 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 4E, F).

3) VEGF

위장의 점막하 혈관(submucosal vessel)에서의 VEGF의 발현을 관찰한 결과, Normal군에서는 발현이 거의 관찰되지 않았으며, Control군에서는 발현이 아주 미약하였다(Fig. 5A). 반면, Cimetidine군과 *Rhei Rhizoma*군에서는 VEGF의 발현이 현저히 증가하였는데, *Rhei Rhizoma*군에서 Cimetidine군보다 상대적으로 발현이 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 5B, C).

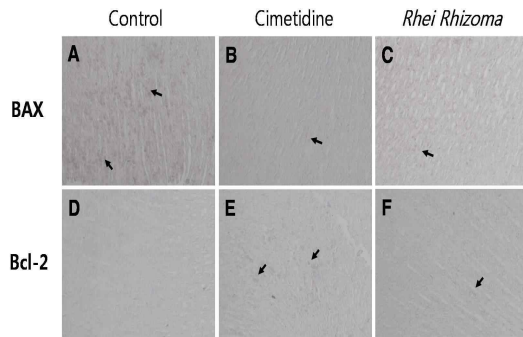


Fig. 4. Effects of *Rhei Rhizoma* on expression of BAX and Bcl-2 proteins in the rat gastric mucosa. The increased level of BAX protein was observed in the Control group(A arrows). Whereas, the expressions of BAX protein in Cimetidine and *Rhei Rhizoma* group were decreased to compared with Control group(B, C). Bcl-2 expression of Control group was hardly observed(D) and the expressions of Bcl-2 protein in Cimetidine and *Rhei Rhizoma* group were increased to compared with Control group(E, F). Magnification: 100X

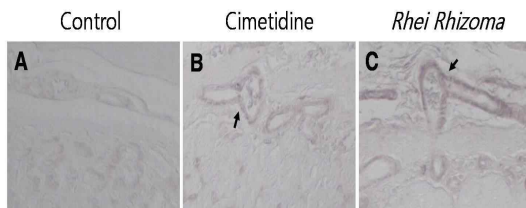


Fig. 5. Effects of *Rhei Rhizoma* on expression of VEGF protein in submucosal vessel. The expressions of VEGF in submucosal vessel were slightly observed in the Control group(A). The increased levels of VEGF protein were observed in Cimetidine and *Rhei Rhizoma* group(B, C arrow). VEGF expressions of *Rhei Rhizoma* group were more significant than those of Cimetidine group. Magnification: 100X

고찰

본 실험에서 급성적인 위점막 손상 유발물질로 HCl · EtOH을 사용한 것은 무수 EtOH을 산성화함으로써 위손상의 정도를 높이기 위함이었으며, 60% EtOH을 사용하였을 때 가장 손상이 크다는 보고가 있었기 때문이다²⁰). HCl · EtOH으로 유발되는 위

손상은 위점막 장벽(gastric mucosal barrier)의 직접적인 자극에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다²¹). 동물실험 모델에서 HCl과 EtOH을 함께 투여하면, 위벽에 출혈을 동반한 손상이 나타나며 위점막의 지질과산화 반응을 촉진시키는 것으로 알려졌다²²). 동물 및 사람의 위점막 손상에 영향을 주는 인자로서 산화작용의 관련성이 보고된 바 있으며²³), 세포 밖에 존재하는 산소 대사체가 위 점막 세포자체에 영향을 준다는 보고가 있다²⁴). 본 실험에서 생리식염수, 대황추출물, 그리고 cimetidine 약물을 각각 전처리하고 HCl · EtOH를 경구투여한 후, 위점막을 육안으로 관찰한 결과, Control군에서 검붉은 출혈성 점막손상이 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 1C arrow). 그러나, *Rhei Rhizoma*군에서는 출혈성 점막손상이 현저히 감소되었으며, 손상갈이에서도 Control군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다. 또한 H&E 염색을 통한 조직학적 검사에서도 *Rhei Rhizoma*군에서는 점막상피의 손상이 Control군에 비해 현저히 감소되었다. 이러한 결과는 대황이 위점막 손상에 방어작용을 가지고 있음을 나타내는 것이라 할 수 있다.

Superoxidase dismutase(SOD)는 superoxidase anion radical에 의해 발생하는 산화적 손상에 대한 세포의 방어에 일차적으로 관여하며, 위점막 손상에 대해 직접적인 억제작용이 있는 것으로 알려져 있다²⁵). 본 실험에서 위조직에서의 SOD를 측정된 결과, *Rhei Rhizoma*군에서 Control군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다. 이러한 결과는 HCl · EtOH로 인해 손상된 위조직에서 생성된 free radical의 지질 과산화에 대한 대황의 방어작용으로 증가된 것으로 생각된다.

위점막이 정상적인 기능을 유지하기 위해서는 세포증식과 세포사멸의 비율이 일정하게 조절되어야 한다. Apoptosis에 의한 세포사멸에 있어 Bcl-2 family의 역할이 중요한데, pro-apoptosis 단백질인 BAX가 apoptosis를 유발하는 반면, anti-apoptosis 단백질인 Bcl-2는 apoptosis를 억제하는 것으로 알려졌다¹³). 즉, apoptosis의 조절에 있어 Bcl-2와 BAX 단백질의 비율이 중요한데, 실험연구를 통해 stress를 유발하는 조건들에 의해 Bcl-2와 BAX의 비율이 영향을 받게 되고 apoptosis가 유발되는 것으로 밝혀졌다²⁶). 위점막 손상의 치유에 있어서도 위점막의 Bcl-2 발현증가에 의해 apoptosis가 약화되면서 회복이 촉진되었음이 관찰되었다¹³).

본 실험에서 BAX와 Bcl-2 단백질의 발현을 면역조직화학염색법으로 관찰한 결과, Control군에서 위 점막 부위의 BAX 발현이 뚜렷이 관찰되었으나 Bcl-2의 발현은 미약하였다. 반면, *Rhei Rhizoma*군에서는 BAX의 발현이 Control군에 비해 상대적으로 감소되었으며, Bcl-2의 발현은 증가하였다. 이러한 결과는 대황의 위점막 보호효과가 BAX/Bcl-2 비율의 조절을 통한 apoptosis의 과정의 억제에 의한 것임을 나타내는 것이라 할 수 있다.

한편, 위점막은 일반적으로 광범위한 외부적인 손상에 항상 노출되어 있으며 조직회복을 위한 효과적인 방어기전을 보유하고 있다. 위점막손상의 회복은 2가지 기전에 의해 일어난다. 첫째, 손상부위를 둘러싸고 있는 상피세포의 이동에 의해 점막의 회복 또는 재생피화가 빠르게 일어나며, 세포 분화에 의해 손실

된 세포들이 대체된다. 둘째, 위점막 손상 치료의 또 다른 기전은 점막의 혈류증가와 관련이 있는데, 점막의 혈류는 손상에 대한 점막의 보호에 있어 중요한 역할을 담당한다²⁷⁾.

이전 연구를 통해 위장에 적절한 혈류가 유지되는 한 유해한 환경에 노출되어도 위점막은 손상을 거의 입지 않는 것으로 밝혀졌다²⁸⁾. 반면에, 위점막 혈류감소는 심각한 위손상으로 이어졌다. 즉, 상피조직구조의 회복과 더불어 새로운 혈관이 생성되어 위점막과 결합조직세포 등의 복구를 위해 충분한 산소와 영양분을 공급해야 한다.

이러한 복잡한 과정은 각기 다른 세포들 사이의 긴밀한 협조가 요구되며 여러 가지 인자들에 의해 조절된다. 특히 근래 성장인자의 역할에 대한 연구가 주목받고 있다. 성장인자는 세포의 증식, 이동, 분화를 포함하는 조직의 회복과정에서 필수적인 세포기능을 조절하는 능력이 있는 것으로 알려져 있으며, 많은 연구를 통해 위궤양치료의 과정 중에 성장인자의 그 수용체들이 발현됨이 관찰되었고 외부적인 성장인자의 투여가 회복기전을 촉진하는 것으로 밝혀졌다²⁹⁾.

Vascular endothelial growth factor (VEGF)는 6-kDa homodimeric glycoprotein으로 angiogenesis의 가장 강력한 자극인자이다³⁰⁾. VEGF는 macrophages, smooth muscle cells, fibroblasts, megakaryocytes, neoplastic cell 등의 다양한 세포유형으로부터 생성된다³¹⁾. 이전의 연구를 통해 위점막 손상의 치유에 있어서의 VEGF의 역할이 밝혀졌는데, 예를 들어 인간에서 위궤양 주변부에 VEGF의 발현이 관찰되었으며³²⁾, 흰쥐에서 위궤양 치유를 촉진하는 성장인자에 노출된 fibroblast에서 VEGF의 발현이 증가되었다는 보고³³⁾와 흰쥐에서 위궤양 유발 후에 신생혈관생성의 증가와 동시에 VEGF의 발현이 관찰되었다는 보고가 있었다³⁴⁾.

즉, 위궤양에서의 VEGF의 치료효과는 신생혈관 생성과 granulation tissue의 형성을 자극함으로써 일어나는 것으로 알려졌다³⁵⁾, VEGF는 위점막의 보호와 손상회복에 있어 2가지 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. 하나는 혈관투과성(vascular permeability)의 증가를 통해 위장관 독소를 희석시키고 출혈부위를 감소시킴으로써 점막저항성을 증가시키는 것이고, 또 하나는 다른 성장인자들과 함께 신생혈관 형성에 기여하는 것이다³⁶⁾.

본 실험에서는 VEGF의 발현을 위장의 점막하 혈관에서 관찰한 결과, Control군에서는 발현이 아주 미약한 반면, *Rhei Rhizoma*군에서는 VEGF의 발현이 현저히 증가하였다. 이러한 결과는 대황이 apoptosis의 억제뿐만 아니라 VEGF의 발현을 증가시킴으로써 손상부위의 신생혈관형성을 자극하여 산소, 영양분을 적절히 공급함으로써 위점막 손상의 회복을 촉진하는 것이라 할 수 있다. 여기서 주목할 만한 점은 SOD 활성의 증가나 BAX/Bcl-2의 비율조절이라는 면에서 *Rhei Rhizoma*군이 Cimetidine군에 비해 월등한 효과를 나타내지 못한 반면, VEGF의 발현에 있어서는 *Rhei Rhizoma*군이 Cimetidine군에 비해 상대적으로 발현이 증가되었다는 것이다. 다시 말해, 위점막 보호효능에 있어서 대황이 Cimetidine에 비해 신생혈관형성이라는 점에서는 더 유효한 효과를 발휘하는 약물이라 사료된다. 이러한

점은 대황의 逐瘀通經하는 효능과도 관련이 있다고 생각된다.

위의 결과들을 종합하면, 대황은 흰쥐에서 HCl · EtOH로 유발된 위점막 손상에 있어서 보호효과를 나타내는 것을 알 수 있다. 다만, 본 연구에서는 HCl · EtOH에 의한 손상의 단시간의 변화만을 관찰하였기 때문에 장기적인 위점막의 변화와 대황의 보호효과를 관찰하지는 못하였다. 이러한 부분은 추후 연구를 통해 밝혀져야 되리라 사료된다.

결 론

흰쥐에 HCl · EtOH를 경구투여 하여 급성 위점막손상을 일으키고 대황의 효과를 검증한 결과, 대황추출물을 경구투여한 실험군에서 위점막 출혈증상과 조직학적 손상이 감소되었으며, 손상깊이도 유의성 있게 감소되었다. 또한, SOD의 유의성 있는 증가가 관찰되었으며 면역조직화학적 검사 상 BAX/Bcl-2 단백질의 비율 변화, 그리고 VEGF의 발현 증가가 관찰되었다. 이로써, 대황은 흰쥐에서 HCl · EtOH로 유발된 위점막 손상에 있어서 보호효과를 가진 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2010학년도 동의대학교 교내연구비에 의해 연구되었음(과제번호 2010AA127).

참고문헌

1. Tulassay, Z., Herszényi, L. Gastric mucosal defense and cytoprotection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 24(2):99-108, 2010.
2. Nayeb-Hashemi, H., Kaunitz, J.D. Gastroduodenal mucosal defense. *Curr Opin Gastroenterol.* 25(6):537-543, 2009.
3. 진귀연. 양사수. 실용중서의결합진단치료학. 서울, 일지사, p 437, 1992.
4. 마귀동. 실용중의비위병학. 상해, 상해중의약대학출판, pp 669-672, 1996.
5. 김학재, 최준혁, 임상우. 스트레스와 에탄올로 유발된 mouse의 위점막 손상에 대한 귀비탕의 예방효과. *대한한의학회지* 24(1):155-168, 2003.
6. 전국한의과대학 본초학 교수. 본초학. 서울, 영림사, pp 242-243, 1995.
7. 김도완, 박창국. 전탕시간에 따른 생대황 및 주대황이 어혈병태모형에 미치는 영향. *대한한방내과학회지* 19(1):114-133, 1998.
8. Park, E.K., Choo, M.K., Yoon, H.K., Kim, D.H. Antithrombotic and antiallergic activities of rhaponticin from *Rhei Rhizoma* are activated by human intestinal bacteria. *Arch Pharm Res.* 25(4):528-533, 2002.
9. 이영중. 대황 전탕액 분획이 고지사료 투여 흰쥐의 혈중 지질

- 함량에 미치는 영향. *대한본초학회지* 15(2):87-93, 2000.
10. 손영중, 김운상, 이영중. 대황이 고지혈증 흰쥐의 혈중지질 및 효소활성에 미치는 영향. *대한본초학회지* 14(1):61-68, 1999.
 11. 김옥녀. 대황성분과 그 외 약물들의 흰쥐 위궤양 방어작용. *카톨릭대학교논문집*. 23: 37-48, 1972.
 12. Tarnawski, A.S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. *Dig Dis Sci* 50: 24-33, 2005.
 13. Konturek, P.C., Brzozowski, T., Konturek, S.J., Pajdo, R., Konturek, J.E., Kwiecien´ S. Apoptosis in gastric mucosa with stress-induced gastric ulcers. *J Physiol Pharmacol* 50: 211-225, 1999.
 14. Ma, L., Soldato, P.D., Wallace, J.L. Divergent effects of new cyclooxygenase inhibitors on gastric ulcer healing: shifting the angiogenic balance. *Proc Nat Acad Sci USA* 99: 13243-13247, 2002.
 15. Szabo, S., Kusstatscher, S., Sakoulas, G., Sandor, Z., Vincze, A., Jadus, M. Growth factors: new 'endogenous drugs' for ulcer healing. *Scand J Gastroenterol Suppl* 210: 15-18, 1995.
 16. Tarnawski, A.S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. *Dig Dis Sci* 50: 24-33, 2005.
 17. Mizui, T., Doteuchi, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. *Jpn J Pharmacol*. 33(5):939-945, 1983.
 18. Jeong, C.S. Effect of butanol fraction of Panax ginseng head on gastric lesion and ulcer. *Arch Pharm Res*. 25(1):61-66, 2002.
 19. Kurebayashi, Y., Ikeda, T., Osada, Y. Cytoprotective action of cetraxate against HCl.ethanol-induced gastric lesion in rats. *Jpn J Pharmacol*. 46(1):17-25, 1988.
 20. Mizui, T., Doteuchi, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. *Jpn J Pharmacol*. 33(5):939-945, 1983.
 21. Seiki, M., Ueki, S., Tanaka, Y., Soeda, M., Hori, Y., Aita, H., Yoneta, T., Morita, H., Tagashira, E., Okabe, S. Studies on anti-ulcer effects of a new compound, zinc L-carnosine(Z-103). *Nippon Yakurigaku Zasshi*. 95(5):257-269, 1990.
 22. Ito, M., Shii, D., Segami, T., Kojima, R., Suzuki, Y. Preventive actions of N-(3-aminopropionyl)-L-histidinato zinc (Z-103) through increases in the activities of oxygen-derived free radical scavenging enzymes in the gastric mucosa on ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *Jpn J Pharmacol*. 59(3):267-274, 1992.
 23. Itoh, M., Guth, P.H. Role of oxygen-derived free radicals in hemorrhagic shock-induced gastric lesions in the rat. *Gastroenterology*. 88(5):1162-1167, 1985.
 24. Perry, M.A., Wadhwa, S., Parks, D.A., Pickard, W., Granger, D.N. Role of oxygen radicals in ischemia-induced lesions in the cat stomach. *Gastroenterology*. 90(2):362-367, 1986.
 25. Yoshikawa, T., Minamiyama, Y., Ichikawa, H., Takahashi, S., Naito, Y., Kondo, M. Role of lipid peroxidation and antioxidants in gastric mucosal injury induced by the hypoxanthine-xanthine oxidase system in rats. *Free Radic Biol Med*. 23(2):243-250, 1997.
 26. Maroto, R., Perez-Polo, J.R. BCL-2-related protein expression in apoptosis: oxidative stress versus serum deprivation in PC12 cells. *J Neurochem*. 69(2):514-523, 1997.
 27. Takahashi, M., Kawabe, T., Ogura, K., Maeda, S., Mikami, Y., Kaneko, N., Terano, A., Omata, M. Expression of vascular endothelial growth factor at the human gastric ulcer margin and in cultured gastric fibroblasts: a new angiogenic factor for gastric ulcer healing. *Biochem Biophys Res Commun* 234: 493-498, 1997.
 28. Miyake, T., Suzaki, T., Oishi, M. Correlation of gastric ulcer healing features by endoscopy, stereoscopic microscopy, and histology, and a reclassification of the epithelial regenerative process. *Dig Dis Sci*. 25(1):8-14, 1980.
 29. Tarnawski, A.S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. *Dig Dis Sci* 50: 24-33, 2005.
 30. Szabo, S., Vincze, A. Growth factors in ulcer healing: lessons from recent studies. *J Physiol Paris* 94: 77-81, 2000.
 31. Berse, B., Brown, L.F., Van de Water L, Dvorak, H.F., Senger, D.R. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors. *Mol Biol Cell* 3: 211-220, 1992.
 32. Takahashi, M., Kawabe, T., Ogura, K., Maeda, S., Mikami, Y., Kaneko, N., Terano, A., Omata, M. Expression of vascular endothelial growth factor at the human gastric ulcer margin and in cultured gastric fibroblasts: a new angiogenic factor for gastric ulcer healing. *Biochem Biophys Res Commun* 234: 493-498, 1980.
 33. Takahashi, M., Maeda, S., Ogura, K., Terano, A., Omata, M. The possible role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in gastric ulcer healing: effect of sofalcone on VEGF release in vitro. *J Clin Gastroenterol* 27: 178-182, 1998.
 34. Suzuki, N., Takahashi, S., Okabe, S. Relationship between vascular endothelial growth factor and angiogenesis in spontaneous and indomethacindelayed healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats. *J Physiol Pharmacol* 49: 515-527, 1998.
 35. Szabo, S., Vincze, A., Sandor, Z., Jadus, M., Gombos, Z., Pedram, A., Levin, E., Hagar, J., Iaquinto, G. Vascular approach to gastroduodenal ulceration: new studies with

endothelins and VEGF. Dig Dis Sci 43(9):40-45, 1998.
36. Milani, S., Calabrò, A. Role of growth factors and their

receptors in gastric ulcer healing. Microsc Res Tech.
3(5):360-371, 2001.