



Original Article / 원저

이진탕의 생쥐 소장 카할세포 향도잡이 전압에 미치는 효능에 관한 연구

한동훈¹, 김정남¹, 김병주^{1,2*}

¹부산대학교 한의학전문대학원 양생기능의학부
²미국 네바다 주립 대학교 의과대학 생리학교실

Effects of Yijin-tang on Pacemaker Potentials in Interstitial Cells of Cajal of Murine Small Intestine

Donghun Han¹, Jeong Nam Kim¹, Byung Joo Kim^{1,2*}

¹Division of Longevity and Biofunctional Medicine School of Korean Medicine, Pusan National University,

²Department of Physiology and Cell biology College of Medicine, University of Nevada

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this study was to investigate the effects of Yijin-tang on pacemaker potentials of small intestinal interstitial Cells of Cajal (ICC).

Methods : To dissociate the ICC, we used enzymatic digestions from the small intestine in mice. The electrophysiological whole-cell patch-clamp configuration was used to record pacemaker potentials in the cultured ICC and the *in vivo* effects of Yijin-tang on GI motility were investigated by calculating percent intestinal transit rates (ITR).

Results :

1. The ICC generated pacemaker potentials in the murine small intestine. Yijin-tang produced membrane depolarization with concentration-dependent manners in the current clamp mode.

2. Pretreatment with a Ca^{2+} free solution and thapsigargin, a Ca^{2+} -ATPase inhibitor in the endoplasmic reticulum, stopped the pacemaker potentials. In the case of Ca^{2+} -free solutions and thapsigargin, Yijin-tang did not induce membrane potential depolarizations.
3. U73122, a phospholipase C (PLC) inhibitors, blocked the Yijin-tang-induced membrane potential depolarizations. However, U73343, an inactive PLC inhibitors, did not block.
4. In the presence of protein kinase C (PKC) inhibitors, staurosporine or Rottlerin, Yijin-tang depolarized the pacemaker potentials. However, in the presence of Go6976, Yijin-tang did not depolarize the pacemaker potentials.
5. In mice, intestinal transit rate (ITR) values were significantly and dose-dependently increased by the intragastric administration of Yijin-tang.

Conclusions : These results suggest that Yijin-tang can modulate the pacemaker activity of ICC through an internal/external Ca^{2+} and PLC/PKC-dependent pathway in ICC. In addition, Yijin-tang is a good candidate for the development of a prokinetic agent.

Key words : Yijin-tang, Small intestine, Interstitial Cells of Cajal, Pacemaker potentials.

I. 서론

이진탕(二陳湯, Yijin-tang, 중국어로는 *Erchen-tang*, 일본어로는 *Nichin-to*)은 반하(半夏; *Pinellia ternate*), 진피(陳皮; *Citrus unshiu*), 적복령(赤茯苓; *Poria cocos*), 자감초(炙甘草; *Glycyrrhiza uralensis*), 생강(生薑; *Zingiber officinale*)으로 구성되어 있으며, 각종 질병의 예방과 치료를 위한 전통 처방으로서 구역질, 구토, 위염, 만성 위염 등 소화기 질환의 치료에 널리 사용되어 왔다^{1,2}. 이진탕은 에탄올에 의한 위 손상에 치료효과가 있으며³, 항산화효능도 있는 것으로 알려지고 있다.⁴ 또한 역류성 식도염 및 기능성 소화불량에 효능이 있음이 보고되고 있다.^{5,6} 최근에는 이진탕이 순환계 질환에 대한 치료와 보호에도 효과가 있는 것으로 알려지고 있다.^{3,7}

오래전부터 위장관의 평활근에서 자율적으로 발생하는 규칙적 수축운동(rhythmic contraction)은 서파(slow wave)라고 불리우면서 연동운동이나 분절운동과 같은 위장관의 운동의 기본이 된다^{8,9}. 따라서 위장관 운동은 평활근 자체의 특징에 의해 발생하는 것으로 알려져 왔으나, 카할세포(Interstitial Cells of Cajal, ICC)라는 특수한 세포가 연구되어 이 카할세포에 의해서 발생하는 향도잡이 전위(pacemaker

potential)에 의한 것으로 알려지고 있다^{10,11}. 카할세포는 신경과 밀접하게 위치하여 신경조직 말단과 평활근 근육 사이에 'intercalated' 되어 있고, 또한 카할세포는 카할세포 상호간과 인접한 평활근과 간극연접(gap junction)을 통해 연결되어 있는 것이 확인되었다¹². 따라서 카할세포에 대한 연구는 위장관 운동 조절 기전 연구에 중요하다. 하지만 이진탕에 의한 카할세포에서 작용에 대한 연구는 부족한 현실이다. 본 연구에서는 이진탕의 카할세포에서의 효능 및 작용기전을 확인하고 생체내(*in vivo*) 동물모델에서 장운동 영향을 확인하는 기초적 연구를 수행하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

(1) 약제

실험에 사용한 이진탕은 한국신약 제약회사(HANKOOKSHINYAK Pharmaceutical CO. LTD., Nonsan, Korea; <http://www.hsp.co.kr/>)에서 구입하여 사용하였다. 증류수에 0.5 g/ml의 농도로 녹인 후에 냉장고에 보관 사용하였다.

*Corresponding author : Byung Joo Kim. Division of Longevity and Biofunctional Medicine School of Korean Medicine, Pusan National University, 49, Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yongsan-si, Gyeongsangnam-do, 50612, Republic of Korea.
Tel : +82-51-510-8469, Fax : +82-51-510-8420, E-mail : vision@pusan.ac.kr

•Received : January 23, 2020 / Revised : February 17, 2020 / Accepted : February 26, 2020



2. 방법

(1) 카할세포 배양

카할세포의 배양을 위해 주로 이용되는 마우스는 Balb/C를 사용하고 ether로 마취 시킨 후 희생시킨 다음 개복하여 pyloric ring에서부터 회장에 해당하는 소장부위를 적출한다. 실온에서 Krebs-Ringer bicarbonate 용액으로 채워진 준비 용기속에서 창자 간막 가장자리를 따라 절개하여 점막층을 제거하고 윤상근을 노출시킨 후 분리된 소장 근육조직을 collagenase, bovine serum albumin, trypsin inhibitor, ATP 등이 들어 있고, Ca^{2+} 이 들어 있지 않은 Hank's 용액에 옮긴 다음 37°C에서 20분간 항산화 시킨 후 진탕시켜 세포를 분리한다. 분리된 세포들을 유리 coverglass 위에 분주하고, 10분 후에 stem cell factor와 antibiotic/antimycotic이 들어 있는 SmGm (smooth muscle growth medium) 용액을 분주한 후, 37°C (95% O_2 -5% CO_2) 배양기에서 배양시킨다. 배양된 다음날 전날 배양된 용액에서 antibiotic/antimycotic만 제외시켜 영양액을 바꾸어 주고 실험은 배양 2일째 후부터 시행한다.

(2) 전기생리학적 실험

카할세포에서 막전압 또는 전류를 기록하기 위해 patch clamp 실험기법 중 whole cell patch 방법이 많이 이용되고 있다. 전압 또는 전류는 standard patch clamp amplifiers를 통해 증폭시키며, 나오는 신호는 디지털 오실로스코프 및 생리적 기록기를 통해서 관찰된다. 세포막 전류는 -70 mV의 유지전압에 고정하여 기록하며 얻어진 결과는 pClamp 등의 프로그램을 통해 분석처리하게 된다. 막전압 또는 전류를 기록하는 동안 세포의 관류 용액의 조성은 다음과 같다. KCl 5 mM, NaCl 135 mM, $CaCl_2$ 1.2 mM, glucose 10 mM, HEPES 10 mM, Tris를 첨가하여 pH가 7.4가 되도록 적정한다. 전극내 용액의 조성은 KCl 140 mM, $MgCl_2$ 5 mM, K_2ATP 2.7 mM, Na_2GTP 0.1 mM, creatinine phosphate disodium 2.5 mM, HEPES 5 mM, EGTA 0.1 mM, Tris를 첨가하여 pH가 7.2가 되도록 적정한다. 배양된 카할간질세포에서 세포막 전압 또는 전류 고정법을 시행하면 자발적으로 발생하는 내향성 향도잡이 전류 및 전압이 기록된다.

(3) Evans blue에 의한 장 이동능(intestinal transit rate, ITR) 측정

이진탕에 의한 장 이동능력은 Evans blue solution (5%)에 의한 장 이동거리(distance)로 측정하였다. 정상 생쥐에 이진탕을 위내 투여(intragastric administration) 후 30분이 지나 Evans blue를 구위관(oro gastric tube)을 이용하여 위내 투여하였다. 다시 30분이 지난 후 생쥐 장에서 Evans blue가 유문(pylorus)에서 장까지 이동한 거리를 측정하였다. 전체 장 거리에서 Evans blue가 이동한 거리의 비율로 ITR을 결정하였다. 같은 날 정상 생쥐와 위장관 운동 질환 생쥐를 모두 실험하였고, 다른 한약재와의 위장관 운동능 비교를 위해서 지실(*Poncirus trifoliata* Raf., PF)을 사용하였다.¹³⁾ PF는 대한민국에서 가장 널리 이용되는 한약재로 강력한 위장관 운동 촉진제로 알려지고 있으며 다양한 위장관 운동 질환 치료에 이용되고 있다.^{14,15)}

(4) 통계 분석

실험성적은 평균±표준편차 (mean±SD)로 나타내었으며, 결과의 차이를 검정할 때에는 Student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 결과

1. 생쥐 소장 카할세포에서 이진탕의 향도잡이 전위 조절 효과

생쥐 소장 카할세포의 향도잡이 전위에서 이진탕에 의한 조절능을 알아 보았다. 이진탕은 농도 의존적으로 향도잡이 전위를 탈분극(depolarization)을 일으키지만 진폭(amplitude)은 변함없음을 알 수 있다 (Fig. 1A-1D). 탈분극이 일어나는 정도는 1 mg/ml 이진탕에서는 6.2 ± 0.6 mV ($P < 0.01$), 10 mg/ml 에서는 15.4 ± 0.6 mV ($P < 0.01$), 30 mg/ml 에서는 23.5 ± 1.1 mV ($P < 0.01$), 50 mg/ml 에서는 27.4 ± 0.6 mV ($P < 0.01$)를 나타내었다 (Fig. 1E). 진폭의 정도는 1 mg/ml 이진탕에서는 24.1 ± 1.3 mV, 10 mg/ml 에서는 23.8 ± 1.0 mV, 30 mg/ml 에서는 24.7 ± 1.1 mV, 50 mg/ml 에서는 24.0 ± 1.8 mV 정도를 나타내었다 (Fig. 1F).

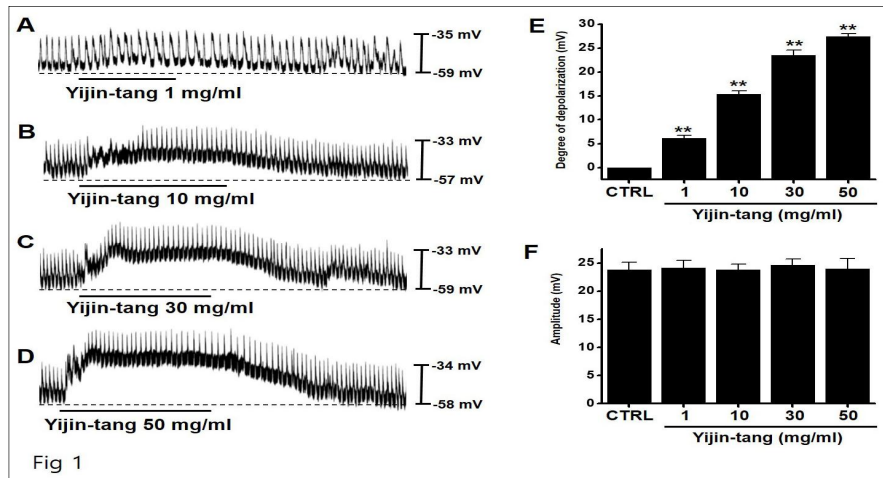


Fig. 1. Effects of Yijin-tang on pacemaker potentials in cultured murine small intestinal ICC. (A-D) After the primary ICC culture in the mouse small intestine, various dose of Yijin-tang were applied in a bath and the membrane potentials in current clamp mode ($I = 0$) were estimated. Depolarization and amplitude responses to Yijin-tang are summarized in E and F. Bars represent mean values \pm S.D. ** $P < 0.01$. CTRL: Control.

2. 생쥐 소장 카할세포에서 이진탕의 세포 내의 Ca^{2+} 농도 조절 효과

생쥐 소장 카할세포의 향도잡이 전위에서 세포 내의 Ca^{2+} 농도 조절능을 알아 보았다. 세포밖 Ca^{2+} 을 제거하면 향도잡이 전위 발생이 억제되고 이 조건에서 이진탕에 의한 탈분극 반응이 나타나지 않았다 (Fig. 2A). 또한 세포내 Ca^{2+} 농도 조절 기관인 근소

포체의 Ca^{2+} -ATPase 작용을 억제하는 thapsigargin에 의해서 향도잡이 전위 발생이 억제되고 이 조건에서 이진탕에 의한 탈분극 반응 역시 억제 되었다 (Fig. 2B). 30 mg/ml 이진탕에서 탈분극이 일어나는 정도는 세포밖 Ca^{2+} 제거한 경우는 0.8 ± 0.8 mV ($P < 0.01$), thapsigargin을 처치한 경우는 0.7 ± 0.6 mV ($P < 0.01$)를 나타내었다 (Fig. 2C).

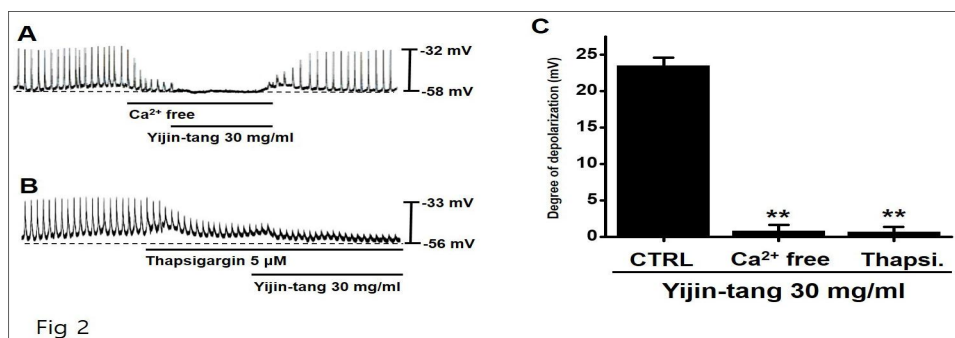


Fig. 2. Effects of an external Ca^{2+} -free solution or thapsigargin, a Ca^{2+} -ATPase inhibitor of endoplasmic reticulum on Yijin-tang-induced pacemaker potentials in cultured murine small intestinal ICC. (A) The external Ca^{2+} -free solution stopped the generation of pacemaker potentials. Under these conditions, Yijin-tang-induced membrane depolarizations were inhibited. (B) Thapsigargin (5 μ M) stopped the generation of pacemaker potentials and thapsigargin blocked the Yijin-tang-induced membrane depolarizations. (C) Depolarization responses to Yijin-tang in the external Ca^{2+} -free solution and in the presence of thapsigargin are summarized. Bars represent the mean values \pm S.D. ** $P < 0.01$. CTRL: Control. Thapsi.: Thapsigargin.

3. 생쥐 소장 카할세포에서 이진탕의 포스포리페이스 (phospholipase) C 기전 조절 효과

포스포리페이스(phospholipase) C (PLC) 기전의 관련성을 알아보기 위해서 활성화형 PLC 억제제인 U73122을 이용하였다. U73122을 주면 카할세포의 향도잡이 전위 발생이 억제되고, 이때 이진탕에 의한 카할세포 향도잡이 탈분극은 억제 되었다 (Fig.

3A). U73122의 작용을 확인하기 위해서 U73122의 비활성형인 U73343을 처치해 보니 이진탕에 의한 카할세포 향도잡이 탈분극이 나타났다 (Fig. 3B). 30mg/ml 이진탕에서 탈분극이 일어나는 정도는 U73122가 있는 경우 0.9 ± 0.5 mV ($P < 0.01$), U73343이 있는 경우는 23.5 ± 0.4 mV 정도를 나타내었다 (Fig. 3C).

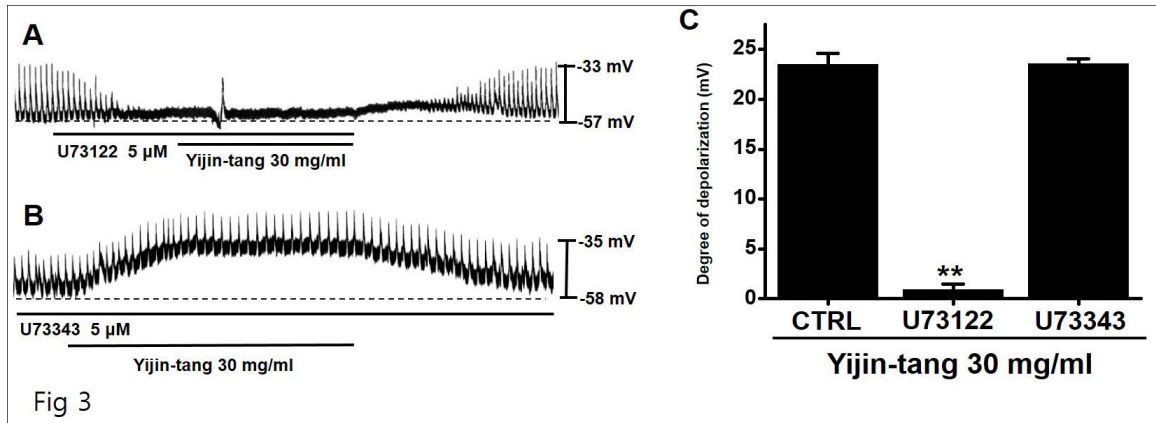


Fig. 3. Effects of phospholipase C (PLC) inhibitors on Yijin-tang-induced pacemaker potentials in cultured murine small intestinal ICC. (A) U73122, a PLC inhibitor, stopped the generation of pacemaker potentials and U73122 blocked the Yijin-tang-induced membrane depolarizations. (B) The application of U73343, an inactive PLC inhibitor did not show any influence on the generation of pacemaker currents and U73343 did not block the Yijin-tang-induced membrane depolarizations. (C) Depolarization responses to Yijin-tang in PLC inhibitors are summarized. Bars represent the mean values \pm S.D. $**P < 0.01$. CTRL: Control.

4. 생쥐 소장 카할세포에서 이진탕의 단백질인산화효소 C (protein kinase C) 기전 조절 효과

단백질인산화효소 C (protein kinase C, PKC) 기전의 관련성을 알아보기 위해서 다양한 PKC 억제제를 이용하였다. PKC 억제제로는 폭넓은 효능(broad-spectrum)을 지닌 PKC 억제제인 staurosporine, 칼슘 의존적(calcium-dependent) PKC 억제제인 Go6976, 칼슘 비의존적 (calcium-independent) PKC 억제제인 rottlerin 등이 있다.¹⁶⁾ 일단 모든 PKC 억제제는 카할세포의 향도잡이 전위 발생에는 아무런 영향이

없었다 (Fig. 4A-4C). Staurosporine과 rottlerin을 주면 이진탕에 의한 카할세포 향도잡이 탈분극이 나타났고 (Fig. 4A and 4C), Go6976을 주면 이진탕에 의한 카할세포 향도잡이 탈분극은 억제 되었다 (Fig. 4B). 30 mg/ml 이진탕에서 탈분극이 일어나는 정도는 staurosporine가 있는 경우 23.9 ± 0.7 mV, Go6976이 있는 경우는 4.5 ± 0.6 mV ($P < 0.01$), rottlerin이 있는 경우는 25.0 ± 0.7 mV를 나타내었다 (Fig. 4D).

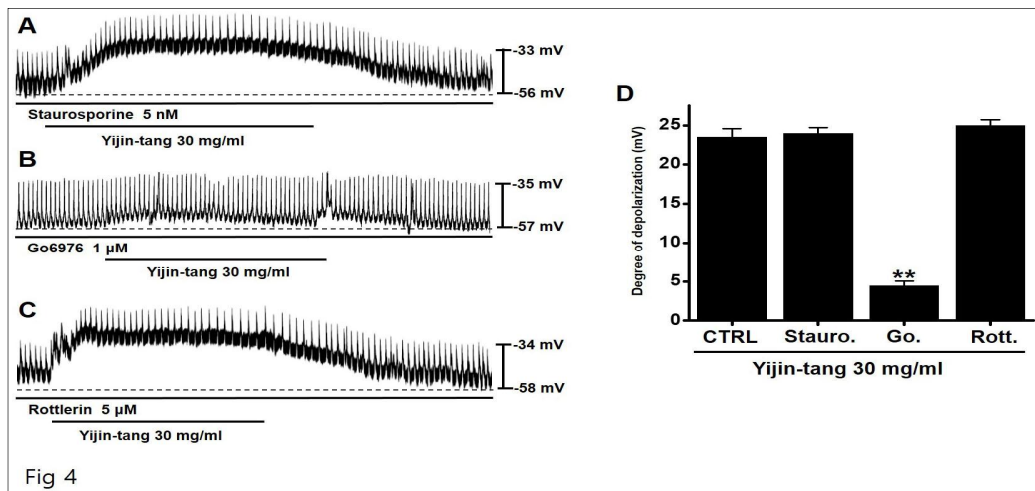


Fig. 4. Effects of protein kinase C (PKC) inhibitors on Yijin-tang-induced pacemaker potentials in cultured murine small intestinal ICC. (A) Staurosporine did not block the Yijin-tang-induced membrane depolarizations. (B) Go6976 blocked the Yijin-tang-induced membrane depolarizations. (C) Rottlerin did not block the Yijin-tang-induced membrane depolarizations. (D) Depolarization responses to Yijin-tang in PKC inhibitors are summarized. Bars represent the mean values \pm S.D. $**P < 0.01$. CTRL: Control. Stauro.: Staurosporine. Go.: Go6976. Rott.: Rottlerin.

5. 생쥐의 장 이동능(ITR)에서 이진탕의 효과

생쥐에서는 30.3 ± 2.0 %의 평균 ITR을 나타냈으며, 이진탕 0.01 g/kg 투여 시에는 31.0 ± 2.6 %, 0.1 g/kg에서는 35.3 ± 1.5 %, 1 g/kg에서는 57.7 ± 1.6 % ($P < 0.01$)를 나타냈다 (Fig. 5). 이진탕 농도가 증가할

수록 ITR이 증가하는 현상을 보였다. 다른 한약재와의 효능 비교를 위해 위장관 운동성 연구에 많이 사용되는 PF (1 g/kg)를 투여해보니 평균 ITR은 54.3 ± 1.5 % ($P < 0.01$)로 나타났다.

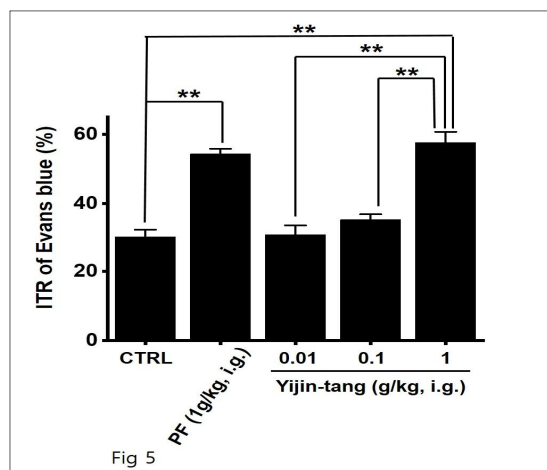


Fig. 5. Effect of Yijin-tang on intestinal transit rate (ITR) in mice. Mice were treated with Yijin-tang and then intragastrically administered Evans blue 30 minutes later. ITR (%) values were determined 30 minutes after Evans blue administration. Bars represent the mean values \pm S.D. $*P < 0.05$. $**P < 0.01$. CTRL: Control. PF: Poncirus trifoliata Raf., i.g.: intragastric infusion.

IV. 고찰

이진탕은 반하(半夏), 진피(陳皮), 적복령(赤茯苓), 자감초(炙甘草), 생강(生薑)으로 구성되어 있으며, 전통적으로 위장관 질환의 치료에 이용되고 있다.^{1,2)} 이진탕은 위염 및 위궤양 동물모델에 대해 위액 분비를 억제하고 위 보호효과가 있음이 알려지고 있다.^{17,18)} 또한 인체를 대상으로 한 임상실험에서 이진탕의 투여가 장조절단백 (gut-regulated protein)의 혈중 농도를 증가시킴으로서 소화 및 흡수 기능을 향상시키는 것으로 나타났다.¹⁹⁾ 이와같이 과민성 장 증후군, 위식도 역류질환, 위염 및 위궤양의 치료에 주로 사용된다.

위장관의 운동은 수많은 요인들에 의해 결정되는데, 교감신경, 부교감신경 등으로 대변되는 외부신경계 (extrinsic nervous system), 위장관 자체의 내부신경계 (intrinsic nervous system), 내분비 등이 관여한다. 그리고 위장관 자체의 자율적인 요소, 즉, 위장관 평활근의 자발적 활동도와 마지막으로 카할세포가 관여하는 것으로 알려지고 있다.²⁰⁾ 카할세포가 pacemaker로서의 기능을 가진다는 사실이 발견된 것은 최근에 들어서야 알려진 사실이다. 특히 특정 부위의 카할세포가 소실된 W mutant mouse의 경우 카할세포 연구에 있어서 중추적인 역할을 하였다. W/Wv mouse의 경우 소장 myenteric 카할세포가 소실되어 있으며, 위의 fundus와 antrum에서 근육 내의 카할세포가 소실되어 있다.^{21,22)} 따라서 이 mouse의 경우 소장에서 서파가 나타나지 않는다. 카할세포가 위장관 운동에서의 알려진 기능은 ① 서파를 유발하는 향도잡이 세포로서의 역할, ② 유발된 향도잡이전압의 전파 (propagation)를 담당하며, ③ stretch에 관련된 이온통로가 존재하여 위장관 평활근의 흥분도(excitability)에 관여, ④ 신경총과 평활근층 사이에 존재함으로써 신경에서 평활근에 전달되는 억제성(inhibitory)과 흥분성(excitatory) 조절을 매개하는 역할에 관여하고 있는 것으로 알려지고 있다.²³⁻²⁷⁾ 따라서 위장관 운동 기전에 대한 연구에 있어서 카할세포는 중요한 도구로 생각되고 있고 많은 실험실에서 관련 연구를 진행중에 있다. 현재까지 카할세포의 손실이나 과발현과 관련된 질환으로는 achalasia, Chaga's disease, infantile hypertrophic pyloric stenosis, diabetic gastroparesis, chronic

idiopathic intestinal pseudoobstruction, Hirschsprung's disease, slow transit constipation, ulcerative colitis, induced inflammatory bowel disease, gastrointestinal stromal tumor (GIST) 등이 있다.²⁸⁾ GIST를 제외한 대부분의 질환에서는 카할세포의 수가 감소함으로써 pacemaker 기능 손실로 인한 위장관 운동 장애로 추정하고 있다.

이번 연구에서는 이진탕에 의한 소장 카할세포에서 향도잡이 전압에 미치는 효능과 작용 기전 및 위장관 운동성에 미치는 효능을 알아보았다. 본 연구에서 보면 이진탕은 카할세포 향도잡이 전압의 탈분극을 일으키고 (Fig. 1) 이러한 탈분극은 세포밖 Ca^{2+} 및 세포내 Ca^{2+} 농도 조절 기관인 근소포체의 Ca^{2+} -ATPase 작용에 의해 조절 되고 있음을 알 수 있었다 (Fig. 2). 또 세포내 PLC 기전의 관련성을 알아보기 위해서 PLC 억제제인 U73122을 이용하여 보니 이진탕에 의한 카할세포 향도잡이 탈분극은 억제 됨을 알 수 있었다 (Fig. 3). 세포내 PKC 기전의 관련성을 알아보기 위해서 다양한 PKC 억제제를 이용하여 보니 칼슘 의존적(calcium-dependent) PKC 억제제인 Go6976에 의해 이진탕에 의한 카할세포 향도잡이 탈분극은 억제 되었고, 그 외 다른 PKC 억제제인 staurosporine이나 rottlerin 등에 의해서는 이진탕에 의한 카할세포 향도잡이 탈분극에 아무런 영향을 미치지 못했다 (Fig. 4). 마지막으로 이진탕에 의한 장 이동능(ITR)을 조사해 보니 이진탕 농도가 증가할수록 ITR이 증가하는 현상을 확인하였다 (Fig. 5). 따라서, 이진탕이 소장 카할세포와 결합해서 다양한 세포내 작용을 통하여 장이동능을 증가시킬수 있다고 생각되고, 이진탕에 의한 위장관 다른 부위인 위나 대장에서의 효능도 알아볼 필요가 있다고 생각된다. 물론 이진탕에 의한 장 이동능 증가가 카할세포작용이 아닌 위장관 평활근이나 신경에서의 작용으로 반응이 나타날수도 있다고 생각된다. 따라서, 앞으로 이진탕에 의한 위장관 평활근이나 신경에서의 작용을 연구하여 각각이 어떻게 상호작용을 통하여 위장관 운동성을 조절하는지도 필요한 연구라 생각된다.

카할세포를 이용한 다양한 한약제제에서의 연구는 많이 이루어지고 있다. 갈근탕은 소장 카할세포의 α_2 와 β_1 adrenoceptor를 통해서 과분극을 일으키고,²⁹⁾ 대견중탕은 주로 인삼 (*Ginseng radix*)과 건강 (*Zingiberis rhizomes*)에 의한 반응으로 소장 카할세포에서 5-HT₄와

M₃ 수용체를 통해서 탈분극을 일으킨다.³⁰⁾ 황련해독탕은 5-HT₃와 5-HT₄ 수용체를 통해서 세포내외의 Ca²⁺ 조절로 탈분극을 일으킨다.³¹⁾ 본 연구에서는 여러 다양한 억제제들을 사용하여 이진탕의 반응에 관여하는 수용체 연구를 해 보았지만 아직 확실한 결론을 얻지는 못했다. 앞으로 좀 더 연구를 지속할 예정이다.

한약제제를 이용하는 전통 의학은 그들의 "자연적인" 접근법에 대한 인식과 위장관 질병에서의 부작용의 낮은 위험 때문에 매력적인 대안일 수 있다. 현재 한약제제를 이용한 의학의 치료목표는 대부분 기능장애 개선이며, 한약을 포함한 보완적이고 대체적인 의학의 사용은 임상에서 상당한 매력을 얻고 있다. 따라서 현재 많은 사람들이 천연의학으로 위장관 관련 질병을 치료하는 것에 관심이 많아지고 있다. 본 연구로 이진탕이 카탈세포 조절을 통해서 위장관 운동성을 조절할 수 있는 가능성을 확인하였고 앞으로 좀 더 많은 연구를 통하여 이진탕이 장운동 이상으로 고생하는 환자에게 좋은 치료약이 될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 과제는 2018년도 부산대학교 교수국외장기파견 지원비에 의하여 연구되었음.

References

1. Yang HJ, Yim NH, Lee KJ, Gu MJ, Lee B, Hwang YH, et al. Simultaneous determination of nine bioactive compounds in Yijin-tang via high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. *Integr Med Res.* 2016;5:140-150.
2. Katagiri F, Inoue S, Sato Y, Itoh H, Takeyama M. The Effect of Nichin-to on the Plasma Gut-Regulatory Peptide Level in Healthy Human Subjects. *J Health Sci.* 2005;51:172-177.
3. Choi JW, Lee CH, Ko BM, Lee KG. Effects of Yijin-tang extract on the immunoreactive cells of gastrin, histamine and somatostatin in rats stomach. *Korean J Orient Med Med Physiol Path.* 2007;15:554-559.
4. Park K, Kwak MA, Kim DJ, Byun JS. Protective effects of Yijintang-gamibang aqueous extracts on reflux esophagitis mediated by antioxidant defense systems. *Korean J Orient Physiol Path.* 2010;24:416-425.
5. Kim HJ, Lim SY, Kwak MA, Kim DJ, Byun JS. Effects of Yijintang-gamibang on Reflux Esophagitis Induced by Pylorus and Forestomach Ligation in Rat. *Korean J Orient Int Med.* 2010;31:128-141.
6. Oh JH, Kim BS, Lim HY, Kim DW, Choi BH, Hur JI, et al. Three Cases Report of Functional Dyspepsia Patients Who were Administered by LJTG (Ljintang-Gamibang(二陳湯 加味方)). *Korean J Orient Int Med.* 2005;26:641-651.
7. Lee SJ, Kim SG. Effects of the *Ijintang*, *Sagoonjatang*, and *Yugoonjatang* on the hyperlipidemia induced rabbits. *J Korean Orient Intern Med.* 1994;15:45-59.
8. Ward SM, Burns AJ, Torihashi S, Sanders KM. Mutation of the proto-oncogene c-kit blocks development of interstitial cells and electrical rhythmicity in murine intestine. *J Physiol.* 1994;480:91-99.
9. Ward SM, Burns AJ, Torihashi S, Harney SC, Sanders KM. Impaired development of interstitial cells and intestinal electrical rhythmicity in steel mutants. *Am J Physiol.* 1995;269:1577-1585.
10. Farrugia G. Ionic conductances in gastrointestinal smooth muscles and interstitial cells of Cajal. *Annu Rev Physiol.* 1999;61:45-84.
11. Sanders KM. A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology.* 1996;111:492-515.
12. Torihashi S, Ward SM, Sanders KM. Development of c-kit-positive cells and the onset of electrical rhythmicity in murine small intestine. *Gastroenterology.* 1997;112:144-155.



13. Hasler WL, Soudah HC, Dulai G, Owyang C. Mediation of hyperglycemia-evoked gastric slow-wave dysrhythmias by endogenous prostaglandins. *Gastroenterology*. 1995;108:727-736.
14. Kim BJ, Kim HW, Lee GS, Choi S, Jun JY, So I, et al. Poncirus trifoliata fruit modulates pacemaker activity in interstitial cells of Cajal from the murine small intestine. *J Ethnopharmacol*. 2013;149:668-675.
15. Lee HT, Seo EK, Chung SJ, Shim CK. Prokinetic activity of an aqueous extract from dried immature fruit of Poncirus trifoliata (L.) Raf. *J Ethnopharmacol*. 2005;102:131-136.
16. Lee YM, Kim YK, Kim KH, Park SJ, Kim SJ, Chung JH. A novel role for the TRPV1 channel in UV-induced matrix metalloproteinase (MMP)-1 expression in HaCaT cells. *J Cell Physiol*. 2009;219:766-775.
17. Shin IS, Lee MY, Seo CS, Lim HS, Ha HK, Shin HK. Yijin-tang, an Oriental Herbal Formula Reduces Ethanol-induced Acute Gastric Injury in Rats. *J Korean Soc Appl Biol Chem*. 2012;55:197-204.
18. Choi JW, Lee CH, Ko BM, Lee KG. Effects of Yijin-tang Extract on the Immunoreactive Cells of Gastrin, Histamine and Somatostatin in Rats Stomach. *Korean J Oriental Medical Physiology & Pathology*. 2001;15:554-559.
19. Katagiri F, Inoue S, Sato Y, Itoh H, Takeyama M. The effect of Nichin-to on plasma gut-regulatory peptide level in healthy human subjects. *J Health Sci*. 2005;51:172-177.
20. Park KJ. Interstitial Cells of Cajal and GI Motility. *J Neurogastroenterol Motil*. 2004;10:93-99.
21. Ordog T, Ward SM, Sanders KM. Interstitial cells of cajal generate electrical slow waves in the murine stomach. *J Physiol*. 1999;518:257-269.
22. Ordog T, Baldo M, Danko R, Sanders KM. Plasticity and electrical pacemaking by interstitial cells of Cajal and gastric dysrhythmias in W/WV mutant mice. *Gastroenterology*. 2002;123:2028-2040.
23. Kim BJ, Lim HH, Yang DK, Jun JY, Chang IY, Park CS, et al. Melastatin-type transient receptor potential channel 7 is required for intestinal pacemaking activity. *Gastroenterology*. 2005;129(5):1504-1517.
24. Zhu MH, Kim TW, Ro S, Yan W, Ward SM, Koh SD, et al. A Ca(2+)-activated Cl(-) conductance in interstitial cells of Cajal linked to slow wave currents and pacemaker activity. *J Physiol*. 2009;587(Pt 20):4905-4918.
25. Tokutomi N, Maeda H, Tokutomi Y, Sato D, Sugita M, Nishikawa S, et al. Rhythmic Cl-current and physiological roles of the intestinal c-kit positive cells. *Pflugers Arch*. 1995;431:169-177.
26. Ward SM, Morris G, Reese L, Wang XY, Sanders KM. Interstitial cells of Cajal mediate enteric inhibitory neurotransmission in the lower esophageal and pyloric sphincters. *Gastroenterology* 1998;115:314-329.
27. Koh SD, Sanders KM, Ward SM. Spontaneous electrical rhythmicity in cultured interstitial cells of cajal from the murine small intestine. *J Physiol*. 1998;513:203-213.
28. Vanderwinden JM, Rumessen JJ. Interstitial cells of cajal in human gut and gastrointestinal disease. *Microsc Res Tech*. 1999;47:344-360.
29. Lee S, Gim H, Shim JH, Jung Kim H, Lee JR, Kim SC, et al. The traditional herbal medicine, Ge-Gen-Tang, inhibits pacemaker potentials by nitric oxide/cGMP dependent ATP-sensitive K(+) channels in cultured interstitial cells of Cajal from mouse small intestine. *J Ethnopharmacol*. 2015;170:201-209.
30. Kim H, Kim HJ, Yang D, Jung MH, Kim BJ. Depolarizing Effects of Daikenchuto on Interstitial Cells of Cajal from Mouse Small Intestine. *Pharmacogn Mag*. 2017;13:141-147.
31. Kim HJ, Lee GS, Kim H, Kim BJ. Hwangryunhaedok-tang induces the depolarization of

pacemaker potentials through 5-HT₃ and 5-HT₄ receptors in cultured murine small intestine interstitial cells of Cajal. World J Gastroenterol. 2017;23:5313-5323.