

化痰清火湯 煎湯液이 생쥐 胃의 Gastrin, Histamine 면역반응세포와 비장, 흉선의 Lymphocytes에 미치는 영향

오인균¹ · 최승열 · 고병문² · 이광규 · 오찬호³ · 이창현^{2*}

우석대학교 한의과대학 병리학교실, 1: 생리학교실, 2: 해부학교실, 3: 생물공학과

Immunoreactive Cells of Gastrin and Histamine and the Lymphocytes of Spleen and Thymus in Mice Stomach

In Kyun Oh¹, Seung Youl Choi, Byung Moon Ko², Kwang Gyu Lee, Chan Ho Oh³, Chang Hyun Lee^{2*}

Department of Oriental Pathology, 1 : Physiology, 2 : Anatomy and College of Oriental Medicine, 3 : Division of Biotechnology, Woosuk University

To examine effects of Whadamcheongwha-tang(WDCWT) extract, the mice investigated the gastrin and histamine secreting cells of the stomach by immunohistochemical method, and the lymphocytes of the spleen and thymus by flow cytometry after the oral administration of WDCWT extract(0.2ml/day) and omeprazole (1mg/day) for 7, 14 and 21 days. The result are as follows; 1. When WDCWT extract was administrated for 7 days, in result, gastrin secreting cells were unchanged. When omeprazole was administrated for 7 and 14 days, gastrin secreting cells were slightly increased than that of normal control group. When WDCWT extract was administrated for 21 days, in result, gastrin secreting cells were significantly increased 1.9 times than that of normal control group. When omeprazole was administrated for 21 days, gastrin secreting cells were increased 1.96 times than that of normal control group. 2. When WDCWT extract and omeprazole were administrated for 7 days, in result, histamine secreting cells were unchanged. When WDCWT extract was administrated for 21 days, in result, histamine secreting cells were significantly increased 1.9 times more than that of normal control group. When omeprazole was administrated for 21 days, in result, histamine secreting cells were increased 2.1 times compared with normal control group. 3. When WDCWT extract administrated for 7, 14 and 21 days, in result, splenic B and T lymphocytes, especially T_H lymphocytes were significantly increased compared with normal control group, and thymic T_H lymphocytes were also increased in WDCWT administrated group for 14 days. The results suggest that WDCWT extract inhibit a gastric acid secretion in mice stomach, and is useful in the treatment of the hyperacidity and gastric ulcer.

Key words : Whadamcheongwha-tang(化痰清火湯), Gastrin, Histamine, Omeprazole, Stomach

서 론

化痰清火湯은 명대 의가인 龔信¹⁾이 入方한 處方으로, 嘈雜을 다스리는데 사용되어 왔다. 嘈雜은 “似飢不飢 似痛不痛 而有懊惱 不自寧 其證 或兼噯氣 或兼痞滿 或兼惡心 漸至胃脘作痛” 한 證으로 痰火, 食傷, 思慮傷心 등에 의하여 발생된다²⁾. 치료방법으로는 消痰, 降火, 健脾行瀉, 消食, 補血 등의 방법이 이

용되나, 化痰清火湯은 痰火로 인한 嘈雜證에 消痰 降火 健脾의 목적으로 이용되는 처방이다³⁾. 이것은 현대의학의 과산성 위염, 위 및 십이지장 궤양, 위주위염, 소화성 궤양 등의 질환에 해당된다^{3),4)}. 潰瘍은 산-펩신(acid-pepsin)의 공격적 요인(aggressive factor)이 위와 십이지장 점막의 방어능력을 증가하기 때문에 발생된다⁵⁾. 공격적 효과의 위산 분비는 화학적, 신경적, 및 hormone적 요인들에 의해 조절된다. 이 중 hormone적 요인으로 위에서 분비되는 hormone은 gastrin, histamine, somatostatin, serotonin, cholecystokinin, secretin, glucagon 등으로 잠내분비 세포(enteroendocrine cells)에서 분비된다. 이 중 위산 분비와

* 교신저자 : 이창현, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 한의과대학
E-mail : chlee@woosuk.ac.kr Tel : 063-290-1559
· 접수: 2002/05/27 · 수정: 2002/07/05 · 채택 : 2002/07/31

관련이 깊은 hormone인 gastrin은 위산분비의 가장 강력한 자극제이고, 위산은 gastrin 분비를 억제한다. 또한 위산분비 조절작용에 관여하는 hormone에는 somatostatin이 있는데, 이것은 벽세포에서 위산의 분비를 직접적으로 억제하며, 위산 분비 촉진제의 분비를 감소시킴으로서 간접적으로도 억제한다⁶⁾. 이들 분비촉진제에는 장크롬친화세포(enterochromaffin-like cell)의 histamine⁷⁾과幽門洞에 주로 위치하는 gastrin 분비세포(G cell)의 gastrin⁸⁾이 있다. Omeprazole은 치환된 benzimidazole로 인체와 실험동물에 강력한 胃酸分泌 억제 작용을 하므로, 위궤양, 위산과다증 치료에 사용되고 있다. Benzimidazole 유도체는 벽세포(parietal cells)에서 H⁺, K⁺-ATPase에 직접적인 억제작용을 한다⁹⁻¹¹⁾. Omeprazole은 지속적인 위산분비 억제작용을 하므로¹²⁾, 胃潰瘍 치료와 다른 의학적 치료에 효과가 없는 Zollinger-Ellison syndrome¹³⁾에 이용되어 왔다. 胃內에서 일어나는 變化中, 無鹽酸症(achlorhydria)은 위내 분비세포¹⁴⁾와 혈청내의 gastrin 농도¹⁵⁾를 현저하게 증가시키는 것으로 알려져 왔다. 흰쥐에서 강력한 항분비유도약물(antiseoretagogues)을 대용량으로 장기 투여했을 때 胃癌腫(gastric carcinoid) 발생과 관련 있다는 보고가 있다¹⁶⁾. 산분비가 차단되면, 幽門洞 gastrin 세포가 자극되어 몇 주 내에 뚜렷한 gastrin 세포의 과다형성(hyperplasia)이 일어나고, 高gastrin혈증(hypergastronemia)이 유도된다^{17,18)}. 高gastrin血症이 지속되면 gastrin에 민감한 장크롬친화세포가 과다형성되어, 微細腺腫(microadenoma) 또는 癌腫(carcinoma)으로 진행된다¹⁶⁾. 이와 같이 omeprazole은 위산 억제제로 탁월한 효능을 지니고 있으나, 장기 투여시 癌腫 발생과 같은 중대한 副作用을 일으키므로 한방에서 사용되는 화담청화탕을 이용하여 위산분비와 관련된 호르몬들을 면역반응염색으로 관찰하여 이들의 변화를 조사하였다. 消痰降火 작용이 있는 化痰清火湯의 염증 치료효과를 확인하기 위해, 흉선과 비장의 lymphocytes를 조사하였다. 흉선은 미성숙한 T淋巴球의 증식과 분화를 담당하고 있는 중추면역장기 중 하나로서 骨髓에서 생성된 造血幹細胞(hematopoietic stem cell)가 유입되어 하루에 5,000만개 이상의 세포가 생성되며 이중 95%이상의 세포는 apoptosis에 의하여 제거되고 단지 1-2%의 세포만이 더 분열해서 성숙한 T細胞(CD4⁺-TH細胞 또는 CD8⁺-TC細胞)를 흉선으로부터 放出된다. 비장은 흉선과는 달리 분화가 완료된 면역 세포들로 구성된 대표적인 末梢免疫臟器의 하나이다. 비장을 구성하고 있는 면역세포들은 상기의 흉선에서 방출된 T세포와 骨髓에서 분화가 이루어져 이행된 B세포가 주를 이루며, 약 10% 내외의 大食細胞 및 NK세포들로 構成되어 있다^{19,20)}. 본 연구는 胃腸疾患 특히, 胃潰瘍, 胃酸過多症에 應用되고 있는 化痰清火湯의 효능을 규명할 목적으로, 양방에서 이용되는 위산억제제인 omeprazole과 化痰清火湯의 효능을 비교하기 위하여, 위산분비와 관련있는 위의 gastrin, histamine 면역반응세포를 면역조직화학적 방법으로 조사하여 비교하였고, 면역장기인 비장 및 흉선에서의 淋巴球의 아집단을 flow cytometer로 측정하였다.

재료 및 방법

1. 약재

實驗에 使用한 化痰清火湯의 處方은 東醫寶鑑²¹⁾에 依據하였으며, 藥材는 又石大學校 韓醫科大學 附屬韓方病院에서 購入한 後 使用하였고, 處方內容과 分量은 다음과 같다.

Table 1. Prescription of Whadamcheongwha-tang

本草名	生藥名	重量(gm)
天南星	ARISAEMATIS RHIZOMA	2.6
半夏	PINELLIAE RHIZOMA	2.6
枳殼	AURANTII FRUCTUS	2.6
白朮	ATRACYLODIS MACROCEPHALAE RHIZOMA	2.6
白芍藥	PAEONIAE RADIX ALBA	2.6
黃連	COPTIDIS RHIZOMA	2.6
黃芩	SCUTELLARIAE RADIX	2.6
梔子	GARDENIAE FRUCTUS	2.6
知母	ANEMARRHENAE RHIZOMA	2.6
石膏	GYPSUM FIBROSUM	2.6
甘草	GLYCYRRHIZAE RADIX	1.1
生薑	ZINGBERIS RHIZOMA RECENS	2.6
Total Amount		29.7

2. 실험동물

체중 25g 내외의 성숙한 생쥐 45 마리를 암수 구분 없이 사용하였다. 실험동물은 외부와 격리 20℃ 內외의 온도를 유지한 동물사육장에서 사료와 물을 충분히 공급하여 사육하였다.

3. 검액의 조제

化痰清火湯 10첩 분량을 3L 플라스크에 증류수 1500ml와 함께 넣은 다음, 120분간 가열하여 얻은 전탕액을 여과지로 여과한 후 5000rpm으로 30분간 원심분리 한 다음 rotary vacuum evaporator에 넣어 감압 농축하여 300ml가 되게 하여 검액으로 사용하였다(回收率, 20%).

4. 약물투여

化痰清火湯 투여군은 7日, 14日, 21日 투여군으로 나누어, 아침과 저녁에 각각 0.1ml씩(0.2ml/day)을 경구 투여하였다. Omeprazole도 化痰清火湯과 같이 7日, 14日, 21日 투여군으로 나누고, 아침과 저녁에 각각 0.5mg씩(1mg/day) 경구 투여하였다. 정상대조군은 생리적 식염수를 化痰清火湯과 같은 방법으로 투여하였다.

5. 조직처리

실험동물은 경추 탈구시켜 복강을 열어 위를 적출하였다. 胃는 幽門部를 분리한 후 4% paraformaldehyde에 조직을 沈積시켜 하루 동안 고정하였다. 고정된 조직은 하루 동안 수세한 후 ethanol 농도 상승 순으로 탈수하고 chloroform으로 투명 과정을 거친 후 paraffin에 포매 하였다. 포매된 조직은 microtome으로 7µm 두께의 切片을 만들어 면역조직화학적 염색을 시행하였다.

6. 면역조직화학 염색

뱃 절편들은 xylene으로 paraffin을 제거한 후 흡수과정을 거쳤다. 비특이적 항원반응을 차단하기 위하여 10% normal goat serum을 실온에서 1시간동안 처리하고 0.1M phosphate buffer(PB)로 세척하였다. 1차 항체는 gastrin(1:300, Dako), Histamine(1:100, Sigma)을 1% normal serum과 0.3% Triton-X 100이 함유된 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)으로 희석하여 사용하였으며, 4℃에서 12~24시간동안 반응시켰다. 이어 0.1M PB로 10분씩 3회 수세하고, 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vector)를 1:200으로 희석하여 실온에서 1시간동안 반응시킨 후, 0.1M PB로 수세하였다. 그리고 peroxidase가 표지된 avidin-biotin complex(ABC, Vector)를 1:100으로 희석하여 실온에서 1시간동안 반응시킨 후 0.1M PB로 10분씩 3회 수세하였다. 발색제는 3-3' diaminobenzidine(DAB, Sigma)을 0.1M PB에 0.05%가 되게 녹이고, 사용 직전에 H₂O₂를 0.003%가 되게 첨가하여 실온에서 5~20분동안 발색시켰다. 반응이 끝난 조직은 0.1M PB로 여러 차례 수세한 다음 건조시켰다. 이후 통상적인 조직처리 방법에 따라 탈수, 투명화 과정을 거친 다음 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

5) 흥선 및 비장세포의 아집단(subpopulation) 측정

생쥐를 경추 탈구시켜 비장 및 흥선을 적출한 후, 비장 및 흥선세포 부유액을 조제하고 1×10⁶cells/well에 PE conjugated-anti B220 및 FITC-anti Thy1 antibody와 PE -anti CD4/FITC -anti CD8 monoclonal antibody(1:40 dilution)로 2重 染色하여 4℃에서 30분간 반응시키고 laser flow cytometer(excitation: 488 nm, emission: 525 nm-FITC, 575 nm-PE)를 이용하여 각각의 세포 중의 lymphocytes의 아집단을 측정하였다²²⁾.

6) 면역반응 세포의 계수 및 통계처리

면역염색한 각 표본은 20×의 대물렌즈와 10×의 대안렌즈를 이용하여 면역반응세포를 조사하였다. 면역염색 세포의 계수는 각 표본의 절편에서 면역염색이 잘된 部位의 광학현미경 시야(visual field)를 선택하여 시행하였다.

결 과

1. 化痰清火湯과 Omeprazole 투여 시 gastrin 분비세포의 영향

化痰清火湯을 7일 동안 생쥐에 투여했을 때 면역염색된 gastrin 분비세포의 수는 33.0±6.3개였다. 이는 정상대조군(31.1±6.6)과 거의 비슷한 수이다. 化痰清火湯을 14일 동안 투여했을 때, 면역염색된 gastrin 분비세포의 수는 38.0±4.0개로 정상대조군(34.5±6.1)보다 약간 증가하였으나 유의한 차이를 보이지 않았고, 7일 투여군과도 큰 차이가 없었다. 그러나, 化痰清火湯 21일 투여군(61.8±3.7)의 gastrin 분비세포는 정상대조군에 비해 유의한 증가(1.9배)를 보였다. Omeprazole을 7일 동안 투여했을 때, 면역염색된 gastrin 분비세포의 수는 35.0±11.9개로 정상대조군(31.1±6.6)에 비해 큰 차이가 없었다. Omeprazole 14일 투여군에

서 면역염색된 gastrin 분비세포의 수는 46.0±6.5개로 1.3배 증가하였다. Omeprazole 21일 투여군은 63.6±13.0개로 정상대조군(32.4±5.9)에 비해 1.9배 증가하였다(Table 2). 胃壁에서 면역염색된 gastrin 분비세포는 幽門部에 주로 위치하였다. 贍막층에서 면역염색된 gastrin 분비세포는 기저부인 선부위(gland portion)에 주로 분포하고 있었다.

Table 2. Immunoreactive gastrin cell density after 7, 14 and 21 days of treatment with Whadamcheongwha-tang(0.2ml/day) and omeprazole (1mg/day).

	Intact Control	WDCWT	Omeprazole
7 days	31.1±6.6	33.0±6.3	35.0±11.9
14 days	34.5±6.1	38.0±4.0	46.0±6.5
21 days	32.4±5.9	61.8±3.7*	63.6±13.0*

Values are mean ± SE(n=8). *: Significantly different from intact control group(p<0.05)

2. 化痰清火湯과 Omeprazole 投與時 Histamine 分泌細胞의 影響

化痰清火湯을 7일 동안 생쥐에 投與했을 때 면역염색된 histamine 분비세포의 수는 27.4±3.6개였다. 이는 正常對照群(25.0±7.7)과 비슷한 수이다. 化痰清火湯을 14일 동안 投與했을 때 면역염색된 histamine 분비세포의 수는 39.0±4.2개로 정상대조군(27.2±6.8)에 비해 1.4배 증가하였다. 이에 비해 化痰清火湯을 21일 동안 투여했을 때 histamine 분비세포의 수는 51.1±9.5개로 正常對照群(26.5±7.1)에 비해 1.9배 증가하여 유의한 증가양상을 보였다. Omeprazole을 7일 동안 투여했을 때, 면역염색된 histamine 분비세포의 수는 27.5±3.9개로 정상대조군(25.0±7.7)과 비슷하였다. Omeprazole 14일 投與群에서 免疫染色된 histamine 분비세포의 수는 28.3±2.1개로 正常對照群(27.2±6.8)과 별다른 차이를 보이지 않았다. Omeprazole 21일 투여군에서 histamine 분비세포의 수는 55.0±12.5개로 정상대조군(26.5±7.1)에 비해 2.1배 증가하여 유의한 변화를 나타냈다(Table 3). 胃의 贍門部, 體部, 幽門部에서 면역염색된 histamine 분비세포는 體部와 贍門部에 주로 位置하였다. 粘膜層에서 면역염색된 histamine 분비세포는 基底部에 주로 分포하고 있었다.

Table 3. Immunoreactive histamine cell density after 7, 14 and 21 days of treatment with Whadamcheongwha-tang(0.2ml/day) and omeprazole(1mg/day).

	Intact Control	WDCWT	Omeprazole
7 days	25.0±7.7	27.4±3.6	27.5±3.9
14 days	27.2±6.8	39.0±4.2	28.3±2.1
21 days	26.5±7.1	51.1±9.5*	55.0±12.5*

Values are mean ± SE(n=8). *: Significantly different from control group(p<0.05)

3. 化痰清火湯과 omeprazole이 비장세포와 흥선세포의 아집단에 미치는 영향

化痰清火湯을 21일 동안 생쥐에 投與했을 때 비장 및 흥선세포의 아집단을 비교 검토하였는데 투여 7일 후에는 정상대조군의 脾臟 내 B세포와 T세포가 각각 34.5±2.7 및 16.1±1.5% 이었으며, 약물대조군인 omeprazole 투여군에서는 각각 41.7±1.8% 및 19.5±1.7%로 B세포가 증가되었고, 化痰清火湯 투여군은 각각 44.1±2.9% 및 22.6±2.3%로 B 및 T세포 모두 증가하였

는데, T세포 중 특히 TH세포의 population이 유의하게 증가했다. 그러나 흉선세포에서는 정상대조군, omeprazole 투여군,化痰清火湯 투여군에서 별 차이가 없었다(Table 4).

Table 4. Effect of Whadamcheongwha-tang(7 days) on the subpopulation of murine splenocytes and thymocytes in vivo.

Treatment	Cell Type	Splenocytes(%)		Thymocytes(%)		
		B cell	T cell		TH	TC/TS
			TH	TC/TS		
Controle		34.5±2.7	16.1±1.5		10.4±0.8	3.0±0.3
			10.7±1.0	5.1±0.4		
Omeprazole		41.7±1.8*	19.5±1.7		11.2±1.3	3.3±0.4
			12.7±1.4	5.6±0.3		
WDCWT		44.1±2.9*	22.6±2.3*		12.7±1.1	3.5±0.2
			14.1±1.2*	5.4±0.2		

Whadamcheongwha-tang administered p.o. twice a day for 7 days, thereafter the cells were collected and the subpopulation was measured by a laser flow cytometer staining with PE/FITC conjugated anti-B220/Thy1 or CD4/CD8 monoclonal antibody. The data represents the mean±SE of 3 mice. *: Significantly different from control group(p<0.05).

Table 5. Effect of Whadamcheongwha-tang(14 days) on the subpopulation of murine splenocytes and thymocytes in vivo.

Treatment	Cell Type	Splenocytes(%)		Thymocytes(%)		
		B cell	T cell		TH	TC/TS
			TH	TC/TS		
Controle		34.7±2.9	17.4±1.7		10.1±0.7	3.1±0.3
			14.7±1.0	4.4±0.4		
Omeprazole		38.7±3.8	20.4±2.4		11.3±1.1	3.4±0.4
			15.1±1.5	4.2±0.3		
WDCWT		40.9±1.9*	23.7±2.1*		14.3±1.2*	3.5±0.3
			18.9±1.7*	5.1±0.5		

Whadamcheongwha-tang administered p.o. twice a day for 14 days, thereafter the cells were collected and the subpopulation was measured by a laser flow cytometer staining with PE/FITC conjugated anti-B220/Thy1 or CD4/CD8 monoclonal antibody. The data represents the mean±SE of 3 mice. *: Significantly different from control group(p<0.05).

Table 6. Effect of Whadamcheongwha-tang(21 days) on the subpopulation of murine splenocytes and thymocytes in vivo.

Treatment	Cell Type	Splenocytes(%)		Thymocytes(%)		
		B cell	T cell		TH	TC/TS
			TH	TC/TS		
Controle		32.9±1.8	17.9±1.3		10.5±1.0	2.9±0.3
			13.7±1.2	3.4±0.2		
Omeprazole		34.7±3.1	19.9±1.9		11.5±1.3	3.6±0.4
			15.1±1.4	4.0±0.3		
HDCHT		38.3±2.5*	21.6±2.5		13.2±1.4	3.4±0.2
			17.4±1.4*	4.1±0.3		

Whadamcheongwha-tang administered p.o. twice a day for 21 days, thereafter the cells were collected and the subpopulation was measured by a laser flow cytometer staining with PE/FITC conjugated anti-B220/Thy1 or CD4/CD8 monoclonal antibody. The data represents the mean±SE of 3 mice. *: Significantly different from control group(p<0.05).

약물투여 14일 후의 비장 및 흉선세포의 아집단분석에서 정상대조군의 비장 내 B세포와 T세포가 각각 34.7±2.9 및 17.4±1.7% 였고, omeprazole 투여군에서는 각각 38.7±3.8% 및 20.4±2.4% 였으며,化痰清火湯 투여군은 각각 40.9±1.9% 및 23.7±2.1%로 B 및 T세포 모두 증가하였고, T세포 중 TH세포가 14.7±10.0%에서 18.9±1.7%로 유의하게 증가되었다. 흉선세포에서는 정상대조군(10.1±0.7%)에 비하여化痰清火湯투여군(14.3±1.2%)에서 TH세포가 증가하였다(Table 5). 또한 약물투여 21일 후에는 정상대조군의 비장내 B세포와 T세포가 각각 32.9±1.8 및 17.9±

1.3% 였고, omeprazole 投與群에서는 각각 34.7±3.1% 및 19.9±1.9%였으며,化痰清火湯 투여군은 각각 38.3±2.5% 및 21.6±2.5%로 B세포가 증가하였고 T세포 중 TH세포의 population도 증가되었다. 흉선에서는 유의한 차가 認定되지 않았다(Table 6). 이상의 실험결과,化痰清火湯은 특히 비장세포 중 B 및 T림파구를 함께 증가시키며 비장 T세포 중 특히 TH세포의 population을 증가시켜 면역력을 증강시키는 것으로 추정된다.

고찰

嘈雜은脾胃의病으로“似飢不飢 似痛不痛 而有懊悞 不自寧 其證 或兼噯氣 或兼痞滿 或兼惡心 漸至胃脘作痛”한證으로 痰火, 食傷, 思慮傷心 등에 의하여 발생되며, 消痰, 降火, 健脾行濕, 消食, 補血 등의 방법으로 치료한다²⁾. 오늘날의 의학과 비교하면 過酸性 위염, 위 및 십이지장 궤양, 위주위염, 소화성 궤양 등의 질환에 해당된다^{3,4)}.化痰清火湯은 龔信的 古今醫鑑¹⁾에 痰火로 인한 嘈雜을 치료하는데 사용되어 왔다.方中 天南星, 半夏, 陳皮는 濕痰을 삭히며, 黃連, 黃芩, 梔子, 知母, 石膏는 熱을 없애고, 白朮, 蒼朮, 白芍藥은 補脾하여 水濕을 除去하며, 甘草는 健脾瀉火中和하고, 生薑은 降逆化痰시킴뿐만 아니라,半夏의 毒을 除去시키는 效能을 가지고 있다^{3,25)}. 실험적으로 天南星은 抗痙攣 作用이,半夏는 鎮咳去痰, 鎮吐 作用이, 陳皮는 抗炎, 抗潰瘍 作用이, 蒼朮, 白朮은 抗菌作用이, 白芍藥은 抗炎, 抗潰瘍 作用이, 黃連은 抗炎作用이, 黃芩은 抗炎, 抗알레르기 作用이, 梔子は 鎮靜作用이, 石膏는 解熱作用이, 甘草는 抗炎, 抗潰瘍 作用이, 生薑은 단백질에 대한 消火抑制 作用이 보고되었다²⁴⁾. 한방에서 胃潰瘍, 胃酸過多症 치료에化痰清火湯이 사용된다면, 양방에서는 omeprazole이 이용되고 있다. Omeprazole은 치환된 benzimidazole로 사람과 실험동물에서 胃酸分泌의 강력한 억제 작용을 하는데, 이것은 벽세포(parietal cells)에서 H⁺ 운반체인 H⁺, K⁺-ATPase에 直接 作用하여 위산분비를 억제한다^{9,12)}. 胃酸分泌의 끊임없는 抑制作用으로 인해, omeprazole은 胃潰瘍 치료와 다른 醫學的 치료에 효과가 없는 Zollinger-Ellison syndrome¹³⁾에 利用되어 왔다.

1. Gastrin 분비세포

化痰清火湯을 7일 동안 투여했을 때 면역염색된 gastrin 분비세포의 수는 정상대조군과 별다른 차이를 보이지 않았고, 14일 투여군은 정상대조군에 비해 약간 증가하였으나 유의한 차이를 보이지는 않았다. Omeprazole을 7일 동안 투여한 군은 정상대조군과 거의 차이를 보이지 않았고, 14일 투여군은 정상대조군에 비해 약간 增加하였으나化痰清火湯 14일 투여군과 마찬가지로 유의한 변화는 없었다. 이에 비해化痰清火湯을 21일 동안 투여했을 때, 정상대조군에 비해 gastrin 분비세포의 수가 1.9배, 14일 투여군에 비해서는 1.6배가 증가하여 유의한 변화를 보였다. Omeprazole을 21일 동안 투여한 군도 정상대조군에 비해 1.96 배, 14일 투여군에 비해 1.38배 증가하여 역시 유의한 변화를 나타내었다. 21일 동안化痰清火湯과 omeprazole을 투여했을 때

양쪽 모두 정상대조군에 비해 유의한 차이를 보였으며, 특히 化痰清火湯은 gastrin 분비세포의 수에 있어 omeprazole과 비슷한 수치(97%)를 나타내, 胃酸 억제작용이 탁월한 omeprazole과 거의 비슷한 효능이 있는 것으로 보여진다. Gastrin 분비세포의 증가율에 있어, omeprazole은 단계적으로 유사한 증가율을 보인 반면 化痰清火湯은 14일과 21일 투여군 사이 기간동안 상대적으로 급격하게 1.62배가 증가하였다(Table 2). 이는 化痰清火湯이 위의 gastrin 분비세포에 작용하기 위해 일정한 기간을 필요로 한다는 것을 의미한다. Omeprazole을 投與하면, 胃 벽세포의 H⁺, K⁺-ATPase 억제제 위산분비가 완벽하게 차단되어^{9),10)}, 위내 중화(neutralization)가 일어난다. 이러한 胃內 변화, 특히 無鹽酸症(achlorhydria)은 위내 분비세포¹⁴⁾와 gastrin 세포를 변화시키고, 胃腸 hormone인 gastrin의 혈청 농도¹⁵⁾를 현저하게 증가시킨다. 본 연구에서 化痰清火湯과 omeprazole 투여 시 gastrin 세포의 증가율이 비슷하다는 것은, omeprazole과 化痰清火湯이 위산 분비 억제효과에 있어 그 효능이 유사하다는 것을 의미한다. 그리고 化痰清火湯은 같은 방법으로 조사된 二陳湯²³⁾보다 더 뛰어난 효능을 보이는 것으로 조사되었다. Omeprazole을 하루에 두 번 40 μmol/kg b.w.로 투여하는 것은 胃內를 pH 6.0 이상으로 계속 유지시키는데 적절한 용량이다^{10),11)}. Omeprazole에 의한 이러한 胃酸分泌 抑制作用은 胃에서 持續적으로 일어난다¹²⁾. 본 실험에서 omeprazole 투여 후 지속적인 gastrin 분비세포의 증가도 위산분비의 계속된 억제작용에 의한 것으로 설명할 수 있다. 실험적으로 誘導되거나^{12),25)}, 자연적인 無鹽酸症^{14),15),26)}은 禁食 시에 血清 gastrin 농도를 유의하게 증가시키고, 幽門洞의 gastrin세포 과형성(hyperplasia)을 유발시킨다는 사실이 앞선 연구에서 입증되었다. 이러한 현상은 위내의 산도와 幽門洞의 gastrin세포에서 분비된 gastrin과의 negative feedback control에 의해 설명된다¹⁸⁾.

2. Histamine 分泌細胞

化痰清火湯을 7일 동안 투여했을 때 면역염색된 histamine 분비세포의 수는 정상대조군과 비슷하였고, 14일 투여군은 정상대조군에 비해 1.4배 증가하였다. Omeprazole을 7일, 14일 동안 投與한 群은 정상대조군과 별다른 변화를 보이지 않았다. 이에 비해 化痰清火湯을 21일 동안 투여한 군은 정상대조군에 비해 histamine 분비세포의 수가 1.9배 증가하였고, omeprazole을 21일 동안 투여한 군도 정상대조군에 비해 2.1배 증가하여 유의한 차이를 보였다. 이와 같은 histamine 분비세포의 증가는, gastrin이 histamine 분비세포(ECL cells)의 cholecystinin 수용체를 경유하여 histamine 分泌를 자극하므로, gastrin 분비세포들의 증가에 따른 血中 gastrin 농도의 상승으로 histamine 分泌가 증가하는 것으로 생각된다. 그리고 gastrin 분비세포에서와 마찬가지로 histamine 분비세포에서도 化痰清火湯과 omeprazole 21일 투여군이 정상대조군에 비해 유사한 증가 양상을 나타내는 것은 化痰清火湯의 위산분비 억제효과를 입증하는 증거로 생각된다. Hakanson 等²⁷⁾은 위산분비부위에 있는 內皮細胞의 66%는 장크롬친화세포라 하였고, 장크롬친화세포 만이 histidine decarboxylase를 함유하고 있다고 하였다. 따라서 본 연구에서

면역염색된 histamine 분비세포는 모두 장크롬친화세포로 생각되고, 이들 세포가 시간에 따라 그 수가 증가하는 것은 다른 연구 결과¹⁸⁾와 일치하였다. Omeprazole을 처리한 생쥐에서 histamine 분비세포가 증가된 것은 高gastrin血症(hypergastrinaemia)이 장크롬친화세포의 증가를 자극하므로²⁷⁾, histamine을 분비하는 장크롬친화세포의 증가에 따른 것으로 보여진다. 이러한 장크롬친화세포에서의 變化는 無鹽酸症(achlorhydria) 또는 腫瘍과 관련된 高Gastrin혈증이 있는 患者에서 觀察되어왔다^{27),28)}. Ekman 等¹⁶⁾의 omeprazole 독성연구에 의하면, 口腔 투여 후 급성 독성은 낮았으나, 酸分泌性粘膜이 두꺼워지고 주름져, 胃의 중량이 증가하는 점막세포의 과형성이 관찰되었고, 2년 동안 omeprazole을 長期間 투여시에는 癌腫(carcinoid)이 發生한다고 하였다. 이들 結果는 高Gastrin血症이 있는 無鹽酸症과 관련이 있다고 하였다.

3. 비장과 흉선의 淋巴球

化痰清火湯을 21일 동안 投與했을 때 주된 면역세포인 T세포와 B세포의 亞集團分析은 생체 免疫能調節과 관련하여 중요한 지표실험이 된다. 化痰清火湯은 비장 내 B세포 및 T세포의 population을 증가시키며 T淋巴球 중에서는 특히 CD4⁺細胞인 T_H세포를 증가시켜 면역력을 증가시키는 것으로 사료된다. 흉선 세포에서는 약물투여 14일째에 흉선세포 중 T_H淋巴球가 증가되었으며, 藥物對照群으로 사용한 omeprazole 또한 비장내 B세포를 증가시키는 작용이 관찰되었으나 化痰清火湯에 비하여 그 작용이 微微하였다. 化痰清火湯은 omeprazole과 유사한 효능을 갖고 있으면서, 장기 투여에 따른 부작용이 적어 胃酸分泌 억제와 胃潰瘍 治療에 유용하리라 사료된다. 化痰清火湯은 흉선과 비장의 B세포와 T세포의 population을 증가시켜 염증치료 효과도 있는 것으로 사료된다. 그리고, 化痰清火湯의 胃酸分泌 억제기전을 보다 명확히 이해하기 위하여 위궤양을 일으킨 실험동물 모델로 효능실험이 이어져야 하리라 생각된다.

결론

化痰清火湯의 효능을 실험적으로 구명하고, 그 작용기전을 이해하기 위하여 생쥐에 化痰清火湯(0.2ml/day)과 omeprazole (1mg/day)을 각각 투여한 후, 위산분비와 관련있는 gastrin과 histamine 분비세포를 면역조직화학적 방법으로 조사하고, 비장과 흉선의 림프구를 flow cytometry로 측정된 결과, 化痰清火湯을 7일과 14일 동안 생쥐에 투여했을 때 면역염색된 gastrin 분비세포는 정상대조군과 별다른 차이가 없었고, omeprazole을 7일과 14일 동안 투여했을 때 면역염색된 gastrin 분비세포는 정상대조군에 비해 약간씩 증가하는 양상을 보였다. 化痰清火湯을 21일 동안 투여했을 때 면역염색된 gastrin 분비세포는 정상대조군에 비해 1.9배정도 증가하였고, omeprazole 21일 투여군도 면역염색된 gastrin 분비세포가 정상대조군에 비해 1.96배 증가하였고, histamine 분비세포는 정상대조군과 차이가 없었으나, 21일 투여군은 정상대조군에 비해 1.9배 증가하였다. Omeprazole을 7일 동안 투여했을 때 면역염색된 histamine 분비세포는 정상대조

군과 거의 변화가 없었으나, 21일 투여군은 정상대조군에 비해 2.1 배 증가하였다. 또, 비장 內 B세포 및 T세포의 population을 증가 시키며, T임파구 중에서 특히 CD4⁺세포인 T_H세포가 증가되었다. 흉선도 투여 14일 군에서 흉선 T세포 中 T_H세포가 증가되었다.

이상의 결과로 보아 化痰清火湯 전탕액은 위산분비억제 효과가 있음을 알 수 있고, 이것을 이용하여 胃酸過多, 胃炎, 胃潰瘍 치료에 이용할 수 있음을 시사하고 있다.

감사의 글

본 논문은 우석대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행되었음

참고문헌

1. 龔信. 古今醫鑑, 江西科學技術出版社, 南昌, p.142, 1990.
2. 柳基遠 외10인. 비계내과학, 그린문화사, 서울, pp.57, 58, 247, 1991.
3. 李順東. 東醫處方大全, 여강출판사, 서울, p.492, 1993.
4. 姜允皓. 嘈雜·呑酸에 미치는 消食清鬱湯의 효능에 대한 연구, 동국대학교, 석사학위논문, 1991.
5. Isselbacher, K.J. Principles of internal medicine, 3rd ed., McGraw-Hill, pp.1466-1478, 1997.
6. Schubert, M.L. Makhlof G.M.: The somatostatin cell as a local modulator of gastric function. Hakanson R, Sundler F(ed) The stomach as an endocrine organ. Elsevier, pp.99-108, 1991.
7. Sanvic, A.K., Waldum H.L. The effect of somatostatin on baseline and stimulated acid secretion and vascular histamine release from the totally isolated vasculary perfused rat stomach. Regul. Pept. 20, 233-239, 1988.
8. Shulkes, A. Somatostatin. Fuller, P., Shulkes, A.(eds). The gut as an endocrine organ. Bailliere Thndall, London, 8, 215-236, 1994.
9. Fellenius, E., Berglinth, T., Sachs, G. Substituted benzimidazoles inhibit gastric acid secretion by (H⁺K⁺)ATPase. Nature 290, 159-161, 1981.
10. Larsson, H., Carlsson, E., Junggren, U. Inhibition of gastric acid secretion by omeprazole in the dog and rat. Gastroenterology 85, 900-907, 1983.
11. Yamamoto, O., Okada, S. Effect of a proton pump inhibitor, omeprazole, on gastric secretion and gastric and duodenal ulcers or erosions in rats. Dig. Dis, Sic, 29, 394-401, 1984.
12. Londong, W., Longdong, V., Cederberg, C., Steffen, H. Dose-response study of omeprazole on meal-stimulated gastric acid secretion and gastrin release. Gastroenterology 85, 1373-1378, 1983.
13. Lamer, C.B.H.W., Lind, T., Moberg, S. Omeprazole in Zollinger-Ellison syndrome. New Engl. J. Med. 310, 758-761, 1984.
14. Arnold, R., Hülst, M.V., Neuhoef C.H., Schwarting H., Becker, H.D., Creutzfeldt, W. Antral gastrin-producing G-cell and somatostatin-producing D-cell in different states of gastric acid secretion. Gut 23, 285-291, 1982.
15. Creutzfeldt, W., Arnold, R., Creutzfeldt, W., Feurle, G., Ketterer, H. Gastrin and G-cell in the antral mucosa of patients with pernicious anaemia. acromegaly and hyperparathyroidism and in a Zollinger-Ellison tumour of the pancreas. Eur. J. Clin. Invest. 1, 461-479, 1971.
16. Ekman, L., Hansson, E., Havu, N., Carlsson, E., Lundberg, C. Toxicological studies on omeprazole. Scand. J. Gastroent. 20, suppl. 108, pp. 53-69, 1985.
17. Carlsson, E., Larsson, H., Mattsson, H., Ryberg, B., Sundell, G. Pharmacology and toxicology of omeprazole--with special reference to the effects on the gastric mucosa. Scand. J. Gastroenterol. Suppl.118, 31-8, 1986.
18. Creutzfeldt, W., Stockmann, F., Conlon, J.M. Effect of short- and long-term feeding of omeprazole on rat gastric endocrine cells. Digestion 35(suppl. 1), 84-97, 1986.
19. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Poper, J.S. Cellular and molecular immunology. 2, 241-260, W.B. Saunders Co., U.S.A, 1994.
20. Roitt, I., Brostoff, J., Male, D., Immunology. 4th Ed. 1.1-2.18, Mosby Publishing, U.K , 1998.
21. 許浚. 東醫寶鑑, 南山堂, 서울, p.438, 1979.
22. Shortman, K., Backson, H. The differentiation of T lymphocytes. I. Proliferation kinetics and interrelationships of subpopulations of mouse thymus cells. Cell. Immunol., 12, 230-246, 1974.
23. 崔正宇 외 4인. 二陳湯 전탕액이 흰쥐 위의 gastrin, histamine, somatostatin 면역반응세포에 미치는 영향, 동의생리병리학회지 15(4), 554-559, 2001.
24. 신민교 외. 完譯中藥大辭典, 鼎談, 서울, pp 68-70, 1506, 1679, 1708, 2195, 2240, 4028, 4062, 4093, 5361, 5002, 5027, 1999.
25. Lehy, T., Viollemot, N., Dubrasquet, M., Dufougeray, F. Gastrin cell hyperplasia in rats with chronic antral stimulation. Gastroenterology 68, 71-82, 1975.
26. Creutzfeldt, W., Creutzfeldt, C., Arnold, R. The gastrin-producing cells under normal and pathological conditions. Rc. Gastroent. 7, 93-109, 1975.
27. Håkanson, R., Ekelund, M., Sundler, F. Activation and proliferation of gastric endocrine cells; in Falkmer, Håkanson, Sundler, Evolution and tumour pathology of the neuroendocrine system, Elsevier, Amsterdam, pp. 371-398, 1984.
28. Bordi, C., Costa, A., Missale, G. ECL cell proliferation and gastrin levels. Gastroenterology 68, 205-206, 1975.
29. Solcia, E., Capella, C., Buffa, R., Usellini, L., Frigerio, B., Fontana, P. Endocrine cells of the gastrointestinal tract and related tumors. Pathobiol. Annu. 9, 163-204, 1979.