

역류성 식도염에 대한 半夏, 生薑, 小半夏湯의 효과 비교

이슬희, 백태현*

상지대학교 한의과대학 내과학 교실

A Comparative Study on the Effects of *Pinellia ternata*, *Zingiber officinale* and *Sobanhatang* on Reflux Esophagitis

Sul-hee Lee, Tai-Hyeun Baik*

Dept. of Internal Medicine, College of Korean Medicine, Sangji University

Objectives: This study was carried out to observe and compare the effects of *Pinellia ternata*, *Zingiber officinale* and *Sobanhatang* on the reflux esophagitis induced by gastric fundus and pylorus ligation in mice with esomeprazole.

Methods: Antioxidant effects were measured by DPPH radical scavenging activity at four different concentration of 0.125, 0.25, 0.5 and 1.0mg/102.μl. *Zingiber officinale* water extract(ZE), *Pinellia ternata* water extract(PE) and *Sobanhatang* water extract(SBE) and esomeprazole were treated orally for 14 days before gastric fundus and pylorus ligation. In the histochemistry, changes in surface mucous cells, muscle tissue and connective tissue in gastro esophageal junction(GEJ) and mast cell on the esophageal mucosa were observed. The change of Hemo oxygenase(HO)-1, ghrelin, gastrin and substance P in gastric body tissue were measured by immunohistochemistry.

Results: DPPH radical scavenging activity exhibited concentration dependently increases in ZE, PE, SBE. ZE was significantly higher at all concentrations than PE. The gastric surface mucous cells were more in the treated group than in the reflux esophagitis elicited group(GE) in the order of PE, SBE, ZE and esomeprazole treated group(PT, SBT, ZT, ET). Lower esophageal sphincter muscle damage and intercellular space in the GEJ were less in the treated group than GE. In the esophageal mucosa, the mast cell distribution and the migration of inflammatory cells were lower in the treated group than GE in order to ZT, SBT, PT and ET. The antioxidative enzyme, HO-1 was more in the order of ZT, SBT, control group, PT, ET than in GE. ZT was significantly higher than the other groups and SBT was significantly higher than ET. Ghrelin was found to be higher in ZT, ET, SBT and PT than in GE, and ZT was significantly higher than all other groups except ET. Gastrin showed the highest positivity in GE, and was lower in the order of ET, ZT, SBT, PT, and control group. Substance P was the highest in GE, and was lower in the order of ET, ZT, SBT, PT and control group, and PT were significantly lower than ET.

Conclusion: ZT, PT and SBT showed superior antioxidative, anti-inflammatory and mucosal protective effects on mouse reflux esophagitis as compared with ET. In particular, ZE was more effective in antioxidant and gastric motility enhancement, while PE was more effective in mucosal protection and anti-inflammatory effects. *Sobanhatang* is expected to be effective treatment because it has advantages of both drugs and reduces toxicity.

Key Words : Gastroesophageal Reflux, *Zingiber officinale*, *Pinellia ternata*, *Sobanhatang*, *Esomeprazole*

• Received : 9 May 2019

• Revised : 22 May 2019

• Accepted : 23 May 2019

• 이 논문은 2017년도 상지대학교 대학원 박사학위 논문임

• Correspondence to : 백태현

강원도 원주시 우산동 283번지, 상지대학교 부속한방병원 내과학교실

Tel : +82-33-741-9207, E-mail : white@sangji.ac.kr

서론

위식도 역류질환(gastroesophageal reflux disease; GERD)은 식도내로 위산이 역류해서 임상증상을 나타내거나 또는 식도에 형태조직학적 변화를 초래하는 경우를 말하며, 이 중 역류성 식도염(reflux esophagitis)은 내시경 검사에서 식도 점막의 미란이나 궤양 등의 결손이 관찰되는 경우를 칭한다¹⁾. 역류성 식도염의 증상은 가슴쓰림(heart burn)과 위산의 역류가 대표적이며 비전형적인 증상으로 만성기침과 천식 등 호흡기증상, 인후부 통증과 이물감, 연하곤란 등 이비인후과적 증상, 비심인성 흉통 등을 호소하기도 한다²⁾. 그 원인에 대해서는 아직 명확하지 않으나, 하부식도 괄약근(lower esophageal spincter; LES)의 기능부전, 식도 열공 헤르니아 같은 해부학적 결손, 식도의 산 청소능 감소, 식도 점막의 저항성 감소, 위 배출의 장애 등 여러 요소들이 복합적으로 작용하며^{2),3)}, 산화스트레스(oxidative stress)는 위식도 점막 손상의 주요한 원인으로 알려지고 있다^{4),5)}.

역류성 식도염의 약물치료로는 양성자펌프 차단제(Pronton pump inhibitor; PPI), H₂ 수용체 길항제, 운동촉진제 등이 이용되며, 강력한 위산 분비 억제 효과가 있는 PPI가 1차 치료제로 널리 사용되고 있다³⁾. 그러나 일부에서는 일반적인 치료에 반응하지 않는 경우가 있고, 또 초기에 치유되었더라도 약 복용을 중단하면 1년 이내 50~80%가 재발하는 것으로 알려져 있어 재발방지를 위한 장기간의 치료가 필요하다^{6),7)}.

한의학적으로 역류성 식도염은 ‘吞酸’, ‘吐酸’, ‘胸痺’, ‘噎膈’에서 유사성을 찾을 수 있으며 肝胃不和, 痰濕鬱阻, 胃氣虛逆 등으로 변증되고 있다²⁾. 역류성 식도염의 한약 치료와 관련하여 半夏瀉心湯⁸⁾, 二陳湯加味⁹⁻¹¹⁾, 二陳湯加味方 加 牡蠣¹²⁾, 金銀花¹³⁾, 吳茱萸¹⁴⁾, 檉根皮¹⁵⁾추출물 등의 효과에 대한 연구 보고가 있다.

半夏는 化痰止嘔, 燥濕降逆, 消痞散結하는 효능이

있고, 生薑은 溫中和胃, 降逆止嘔의 효능이 있다¹⁶⁾. 小半夏湯은 半夏와 生薑 두 가지 약으로 구성된 처방으로 溫胃降逆, 止嘔하여 停飲心下, 嘔吐不渴, 心下痞悶 등의 증상을 치료한다¹⁷⁾. 이와 같이 半夏와 生薑 및 小半夏湯이 역류성 식도염에도 효과를 보일 것으로 기대할 수 있으며, 半夏가 君藥인 二陳湯 및 半夏瀉心湯에 대한 연구는 있었으나, 半夏 단미제 및 半夏와 배오하여 많이 쓰이는 生薑 단미제, 그리고 이 두 가지 약재로 구성된 小半夏湯에 대한 실험연구는 아직 없었다.

이에 본 연구에서는 半夏, 生薑 단미제와 小半夏湯의 역류성 식도염에 대한 효과를 밝히고 비교하기 위해 추출물의 항산화효능을 측정하였고, 14일간 실험 약재와 비교약물인 esomeprazol을 사전투여한 생쥐에서 위저부와 유문부 결찰로 위산 역류를 유발시킨 위식도 연결부 조직절편을 제작하여 항산화효소인 hemo oxygenase(HO)-1과 위장관 펩티드 호르몬으로 위장의 운동과 분비 등에 관여하는 ghrelin과 gastrin, 동통과 염증 관련 신경전달물질인 substance P의 위 점막 내 생성변화와 표면점액세포 및 근육조직과 결합조직의 변화를 관찰하였으며, 비만세포의 분포 변화를 통해 식도 점막의 염증성 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 실험동물

오리엔트(한국)에서 분양 받은 태령 7주된 Balb/C 수컷 생쥐를 무균사육장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중 20 ± 2g의 생쥐를 선별하여 사용하였다. 정상 대조군(Ctrl군), 역류성식도염 유발군(GE군), esomeprazole(한국아스트라제네카, 한국) 투여 후 역류성식도염 유발군(ET군), 生薑(*Zingiber officinale*) 추출물 투여 후 역류성식도염 유발군(ZT군), 半夏(*Pinellia ternata*) 추출물 투여 후 역류성식도염 유발

군(PT군) 그리고 小半夏湯(*Sobanhatang*) 추출물 투여 후 역류성식도염 유발군(SBT군)으로 나누었으며, 각 군에 각 10마리씩 배정하였다. 실험기간 동안 고지방식이(fat, 60%; carbohydrate, 20%; protein, 20%; DIO DIET, USA)를 자유 섭식하게 하였다. 본 연구 과정은 동국대학교 동물실험윤리위원회(Institutional animal care and use committee; IACUC)의 승인을 받아 시행되었으며(IACUC number: 2015-005), 실험실 동물의 관리와 사용에 대해서는 NIH 가이드라인에 따라 시행되었다.

2) 추출물의 제조

生薑(*Zingiber officinale*), 半夏(*Pinellia ternata*), 小半夏湯(*Sobanhatang*) 100g을 증류수 500ml에 넣고 2시간 동안 전탕한 후 여과하였다. 본 실험에 사용된 약제는 제일약품사(원주, 한국)에서 구입하였다. 小半夏湯의 조성은 《傷寒論譯註》¹⁸⁾에 근거하였으며 한첩 분량은 Table 1과 같다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 감압, 농축 후 동결 건조하여 生薑 추출물(수득률 3%), 半夏 추출물(수득률 14.6%) 그리고 小半夏湯 추출물(수득률 11%)을 얻었다.

2. 실험 방법

1) GC/MS를 이용한 추출물 분석

半夏, 生薑 그리고 小半夏湯의 생리활성 성분을 분석하기 위한 GC/MS로는 6890N GC/ 5975i MS (Agilent, USA)를 사용하였다. GC/MS 분석을 위한 컬럼은 DB-5MS UI(30m, 0.25mm, 0.25mm)을 사용하였다. 오븐 온도는 처음 80℃에서 2분 동안 머물게 한 후 1분당 10℃씩 올려 300℃까지 올리고 5분 동

안 유지하였다. 시료 2μl를 분할(split) 주입법을 사용하여 주입하였으며, 유속은 1.0ml/min으로 흘려주었다. 시료 주입구의 온도, 연결부분의 온도, 이온 원의 온도는 각각 280℃, 230℃ 및 150℃로 맞추었다. 질량분석범위 50~800m/z를 가지는 이온들을 순차적으로 반복 검출하는 방법(scan monitoring)을 사용하였다. 분석은 그 RT(retention time)에 대하여 Wiley 7 library를 기준으로 library 검색하였다.

2) 추출물의 항산화능 측정

DPPH radical scavenging activity (%)을 측정하기 위해 변형된 Blois법¹⁹⁾을 적용하였다. 시료 용액 (1.0~0.125mg) 100μl에 0.1mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 200 μl를 혼합하여 실온에서 30분간 반응시킨 후 micro-plate reader(Bio-Rad)를 사용하여 525nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. 시료처리군과 시료무처리군의 값을 비교하여 free radical 소거활성능을 계산하였으며, 7번 반복 시행하여 평균값을 구했다. 한편 양성대조군으로는 Ascorbic acid(Sigma, USA)를 사용하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{absorbance of sample}}{\text{absorbance of blank}} \right) \times 100$$

3) 역류성 식도염 동물모델을 이용한 치료 효과 측정

① 추출물 처리 후 역류성 식도염 유발

生薑 추출물(11mg/kg), 半夏 추출물(73mg/kg), 小半夏湯 추출물(96mg/kg) 그리고 esomeprazole(40mg/kg)을 14일 동안 oral injection needle을 사용하여 1일 1회 경구투여 하였으며, 수술 1시간 전에 마지막 약물

Table 1. The Amount and Composition of *Sobanhatang*

Herbs	Scientific Name	Amount (g)	
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma</i> Crudus	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	11.25
半夏	<i>Pinellia Rhizoma</i>	<i>Pinellia ternata</i> Breitenbach	15.00
Total Amount		26.25	

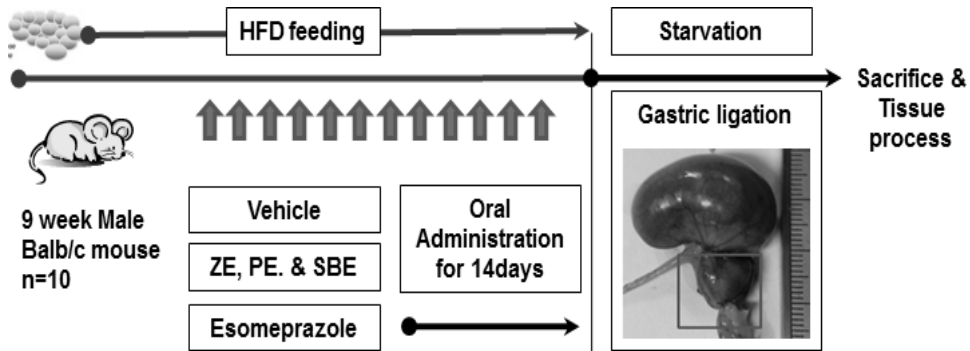


Fig. 1. Experimental design and reflux esophagitis animal model
HFD, high fat diet; ZE, *Zingiber officinale* water extract; PE, *Pinellia ternata* water extract; SBE, *Sobanhatang* water extract.

투여를 시행했다. Nakamura 등²⁰⁾의 방법을 이용한 역류성 식도염을 유발하였는데, 24시간 전부터 절식 시킨 실험쥐를 sodium pentobarbital로 마취시킨 후 복강을 열고 위의 위저부와 유문부를 실크실로 결찰 시켰다. 봉합 24시간 후 실험동물을 희생시켜 식도와 위 부위를 절취하여 실험에 이용하였다.(Fig. 1)

② 조직절편제작

vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 위 몸통(gastric body)과 하부 식도(esophagus)가 포함된 위식도연결부(gastroesophageal junction; GEJ)를 적출한 후 실온에서 24시간 동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 μ m 두께의 연속절편으로 제작되었다.

③ 조직화학적 검사

위산에 의한 자가분해(autolysis) 방벽작용을 하는 중성점액질(neutral mucin)을 분비하는 표면점액세포의 몸통내 변화를 조사하기 위해서 periodic acid-schiff reaction(PAS) stain을 실시하였는데, 우선 periodic acid에서 5분간 반응시킨 후 Schiff reagent에서 15분 동안 처리하였다. 그런 다음 sulfurous rinse에서 각 2분씩 3회 세척한 후 Hematoxylin에서 1분 동안 대조염색하여 관찰하였다. 위식도연결부내

근육조직과 결합조직의 변화는 Masson trichrome 염색을 통해 조사되었다. 우선 50~60 $^{\circ}$ C Bouin 용액에서 1시간 동안 매염 처리한 다음 70% 에탄올에서 picric acid를 제거하였다. Weigert iron hematoxylin에서 10분 동안 반응시켜 핵 염색하고, Biebrich scalet-acid fuchsin와 phosphomolybdic-phosphotungstic acid에서 각각 15분간, aniline blue에 5분간 처리한 후 관찰하였다. 식도내 점막(mucosa)내 염증성 변화는 비만세포의 분포 변화를 통해서 이루어졌다. 비만세포의 관찰을 위해 Luna's method를 실시하였다. 우선 진피내 비만세포 과립을 aldehyde fuchsin에 30분간 염색하였다. 그런 다음 Weigert's iron hematoxylin과 methyl orange 용액에 각각 1분, 5분 동안 대조염색한 후 관찰하였다.

④ 면역조직화학적 검사

위점막내 항산화 평가를 위해 hemo oxygenase (HO)-1을, 위꿈뜰운동의 평가를 위해 ghrelin을, 위산 분비조절 평가를 위해 gastrin을, 그리고 동통유발 조절평가를 위해 substance P 등의 변화를 면역조직화학법을 통해 관찰하였다. 위 몸통 조직을 proteinase K(20 μ g/ml)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum에 4시간 동안 실온에서 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 goat anti-HO-1(1:100, Santa Cruz Biotech, USA), goat

anti-ghrelin(1:200, Santa Cruz Biotech), goat anti-gastrin(1:50, Santa Cruz Biotec) 그리고 goat anti-SP(1:200, Santa Cruz Biotec)에 4°C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 2 차 항체인 biotinylated rabbit anti-goat IgG(1:100, Santa Cruz Biotec)에 실온에서 24시간 동안 반응하였고, 그런 다음 avidin biotin complex kit(Vector Lab, USA)를 이용하여 1시간 동안 실온에서 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine과 0.01% HCl이 포함된 0.05 M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하였다.

4) 영상분석과 통계처리

면역조직화학의 결과는 image Pro Plus(Media cybernetics, USA)를 이용한 영상분석을 통해 수치화 (means ± standard deviation) 했다. 각 군의 표본에서 임의로 선정된 점막을 x400배율에서 촬영한 다음 positive pixels/20,000,000 pixels로 영상분석하였다. 본 실험의 통계는 SPSS software(SPSS 24, SPSS Inc., USA)를 이루어졌으며, Kruskal-Wallis test 시행을 통해 유의성(유의수준 0.05)을 검정하고 Bonferroni Correction Method로 사후 검정하였다.

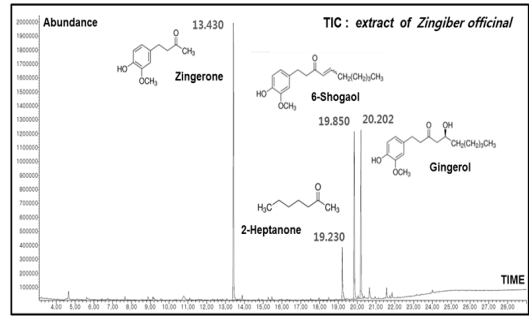
결 과

1. GC/MS을 이용한 추출물 분석

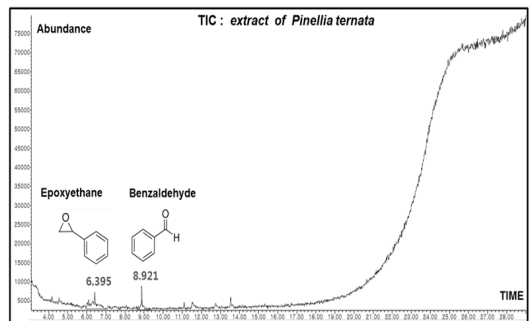
生薑의 GC/MS 분석 결과 zingerone, cis-6-shogaol, gingerol, 2-heptanone이 검출되었다. 항산화와 항염증 효능의 zingerone이 가장 높은 함량으로 측정되었고, 그 다음을 활성산소제거능이 있는 cis-6-shogaol이 차지했다(Fig. 2-a, Table 2).

半夏의 GC/MS 분석 결과 정유성분인 epoxyethane이 다수를 차지하였고, 항산화효능이 있는 benzaldehyde도 검출되었다(Fig. 2-b, Table 3).

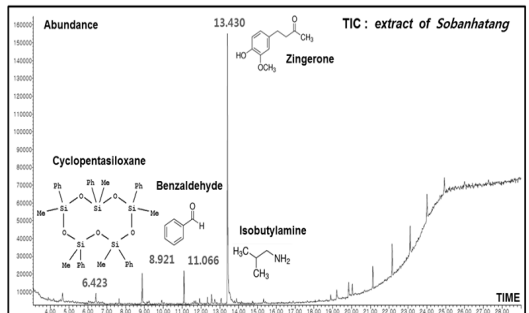
小半夏湯의 GC/MS 분석 결과 zingerone이 다수를 차지하였고, benzaldehyde, cyclopentasiloxane 그리



a. *Zingiber officinale*



b. *Pinellia ternata*



c. *Sobanhatang*

Fig. 2. The GC/MS of Component in water extracts of *Zingiber officinale*, *Pinellia ternata*, and *Sobanhatang*

Table 2. The GC/MS of Component in *Zingiber officinale* water extract

NO	RT(min)	Area(%)	Compounds
1	13.430	44.27	Zingerone
2	19.230	7.84	2-Heptanone
3	19.850	24.57	6-shogaol
4	20.202	23.32	Gingerol

RT, retention time.

Table 3. The GC/MS of Component in *Pinellia ternata* water extract

NO	RT(min)	Area(%)	Compounds
1	6.395	68.16	Epoxyethane
2	8.921	31.84	Benzaldehyde

Table 4. The GC/MS of Component in *Sobanhatang* water extract

NO	RT(min)	Area(%)	Compounds
1	6.423	12.52	Cyclopentasiloxane
2	8.921	13.07	Benzaldehyde
3	11.066	8.33	Isobutylamine
4	13.430	66.09	Zingerone

고 isobutylamin이 검출되었다(Fig. 2-c, Table 4).

2. 항산화효능

DPPH radical scavenging activity는 生薑 추출물에서 가장 높게 측정되었으며, 小半夏湯추출물, 半夏추출물 순으로 나타났으며 0.125~1.0mg에서 모두 농도 의존적으로 증가를 보였다. 半夏, 小半夏湯, 生薑의 추출물 모두 양성대조약물인 ascorbic acid에 비해 free radical 소거활성능이 낮은 것으로 측정되었다(Fig. 3, Table 5).

3. 역류성 식도염 유발 동물모델에 대한 치료효과

1) 항산화 효과

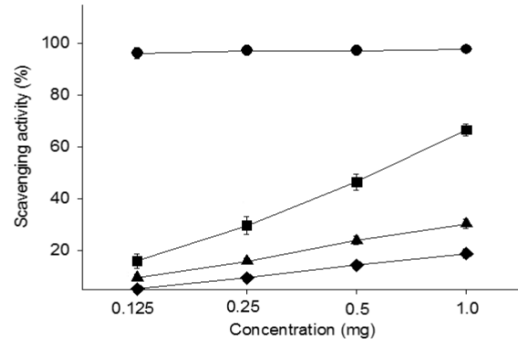


Fig. 3. The free radical scavenging activity of water extracts of *Pinellia ternata*, *Zingiber officinale* and *Sobanhatang*. The anti-oxidant ability of ZE and SBE is dose-dependently increased and the estimation of SBE is lower compared with ZE. ◆, *Pinellia ternata* water extract(PE); ■, *Zingiber officinale* water extract(ZE); ▲, *Sobanhatang* water extract(SBE); ●, Ascorbic acid as compared anti-oxidant.

항산화효소인 hemo oxygenase(HO)-1의 위 점막 내 생성 변화를 조사하기 위해 면역조직화학검사를 실시하였다. GE군에서는 낮은 HO-1 양성반응을 보였으며, 영상분석 결과 대조군에 비해 양성반응이 62% 감소한 것으로 측정되었다. 약물 투여군에서는 GE군에 비해 높은 양성반응을 보였는데, ZT군(94%), SBT군(494%), PT군(218%)에서 유의성있게 증가되었다(Fig. 4, Table 6).

2) Ghrelin 호르몬의 변화

위 꿈틀운동에 관여하는 호르몬인 ghrelin의 위 점

Table 5. DPPH Radical Scavenging Activity of Water Extracts of *Pinellia ternata*, *Zingiber officinale* and *Sobanhatang* Scavenging activity (%)

Concentration	PE (mean±SD)	ZE (mean±SD)	SBE (mean±SD)	p value*
1.0 mg	18.89±1.81 ^b	66.49±2.26 ^a	30.31±1.76 ^{a,b}	0.000
0.5 mg	14.38±1.31 ^b	46.44±3.10 ^a	23.88±1.64 ^{a,b}	0.000
0.25 mg	9.49±1.06 ^b	29.68±3.53 ^a	15.92±1.08 ^{a,b}	0.000
0.125 mg	5.18±1.28 ^b	16.05±2.83 ^a	9.61±1.24 ^{a,b}	0.000

PE, *Pinellia ternata* water extract; ZE, *Zingiber officinale* water extract; SBE, *Sobanhatang* water extract; ^{a,b}, a and b are groups separated by Bonferroni correction method, and represent the same group, respectively.
*, Statical significance was determined by Kruskal-Wallis test.

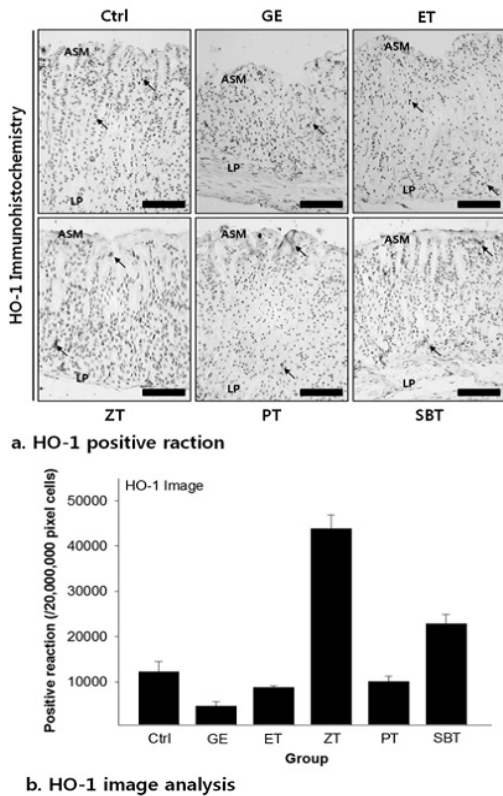


Fig. 4. The hemo oxygenase-1 positive reaction in gastric mucosa with reflux esophagitis

Ctrl, no reflux esophagitis elicited group; GE, reflux esophagitis elicited group; ET, esomeprazole treated group before reflux esophagitis elicitation; ZT, *Zingiber officinale* water extract treated group before reflux esophagitis elicitation; PT, *Pinellia ternata* water extract treated group before reflux esophagitis elicitation; SBT, *Sobanhatang* water extract treated group before reflux esophagitis elicitation; Bar size, 100 μ m; arrow, HO-1 positive reaction; ASM, apical surface of mucosa, LP, lamina propria.

막내 생성 변화를 조사하기 위해 면역조직화학검사를 실시하였다. GE군에서는 낮은 ghrelin 양성반응을 보였으며, 영상분석 결과 대조군에 비해 양성반응이 18% 감소한 것으로 측정되었다. 약물 투여군에서는 GE군에 비해 높은 양성반응을 보였는데, ZT군(332%), ET군(313%), SBT군(263%)에서 유의성있는 증가를 보였다(Fig. 5, Table 7).

3) Gastrin 호르몬의 변화

위산 분비에 관여하는 호르몬인 gastrin의 위 점막 내 생성 변화를 조사하기 위해 면역조직화학검사를 실시하였다. GE군에서는 높은 gastrin 양성반응을 보였으며, 영상분석 결과 대조군에 비해 양성반응이 60% 증가한 것으로 측정되었다. 약물 투여군에서는 GE군에 비해 낮은 양성반응을 보였는데, PT군(41%), SBT군(32%)에서 유의하게 감소되었다(Fig. 6, Table 8).

4) Substance P의 변화

동통과 염증 관련 신경전달물질인 substance P의 위 점막하층 내 생성 변화를 조사하기 위해 면역조직화학검사를 실시하였다. GE군에서는 높은 substance P 양성반응을 보였으며, 영상분석 결과 대조군에 비해 양성반응이 1027% 증가한 것으로 측정되었다. 약물 투여군에서는 GE군에 비해 낮은 양성반응을 보였는데, PT군(79%), SBT군(60%)에서 유의하게 감소

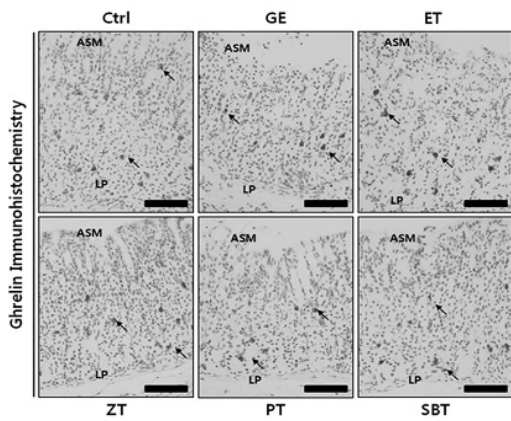
Table 6. The Image Analysis for the Hemo Oxygenase-1 Positive Reaction in Gastric Mucosa

Objective	Group						p value*
	Ctrl (mean \pm SD)	GE (mean \pm SD)	ET (mean \pm SD)	ZT (mean \pm SD)	PT (mean \pm SD)	SBT (mean \pm SD)	
Hemo oxygenase-1	12225 \pm 2251 ^b	4631 \pm 317 ^d	8730 \pm 366 ^{c,d}	43866 \pm 3023 ^a	10082 \pm 1214 ^{b,c}	22876 \pm 2025 ^b	0.000

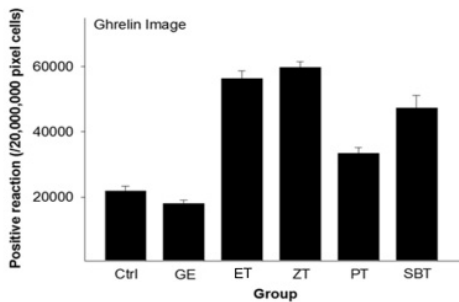
(image analysis for 20,000,000 particles / range of intensity : 80-100)

Ctrl, no reflux esophagitis elicited group; GE, reflux esophagitis elicited group; ET, esomeprazole treated group before reflux esophagitis elicitation; ZT, *Zingiber officinale* water extract treated group before reflux esophagitis elicitation; PT, *Pinellia ternata* water extract treated group before reflux esophagitis elicitation; SBT, *Sobanhatang* water extract treated group before reflux esophagitis elicitation; ^{a, b, c, d}, a, b, c and d are groups separated by Bonferroni correction method, and represent the same group, respectively.

*, Statical significance was determined by Kruskal-Wallis test.



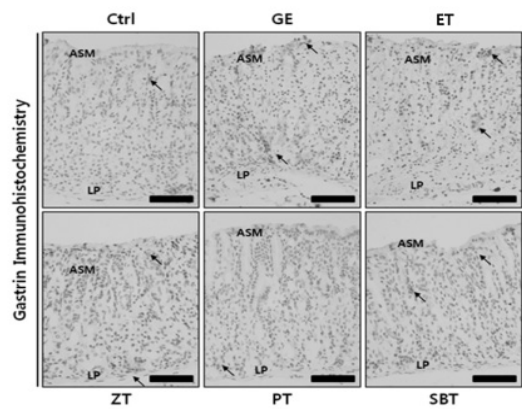
a. Ghrelin positive reaction



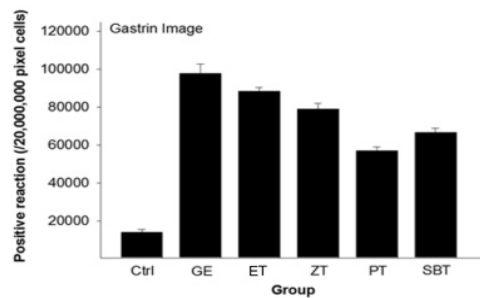
b. Ghrelin image analysis

Fig. 5. The ghrelin positive reaction in gastric mucosa with reflux esophagitis

Bar size, 100 μ m; arrow, ghrelin positive reaction; ASM, apical surface of mucosa, LP, lamina propria.



a. Gastrin positive reaction



b. Gastrin image analysis

Fig. 6. The gastrin positive reaction in gastric mucosa with reflux esophagitis

Bar size, 100 μ m; arrow, gastrin positive reaction; ASM, apical surface of mucosa, LP, lamina propria.

Table 7. The Image Analysis for the Ghrelin Positive Reaction in Gastric Mucosa

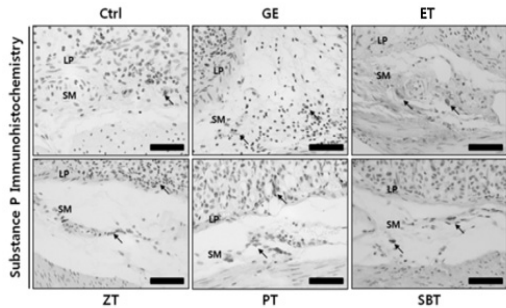
Objective	Group						p value*
	Ctrl (mean \pm SD)	GE (mean \pm SD)	ET (mean \pm SD)	ZT (mean \pm SD)	PT (mean \pm SD)	SBT (mean \pm SD)	
Ghrelin	21888 \pm 1469 ^{c,d}	18008 \pm 1077 ^d	56342 \pm 2276 ^{a,b}	59743 \pm 1704 ^a	33323 \pm 1907 ^{b,c,d}	47361 \pm 3862 ^{b,c}	0.000

(image analysis for 20,000,000 particles / range of intensity : 80-100)

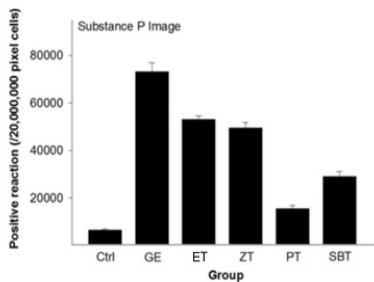
Table 8. The Image Analysis for the Gastrin Positive Reaction in Gastric Mucosa

Objective	Group						p value*
	Ctrl (mean \pm SD)	GE (mean \pm SD)	ET (mean \pm SD)	ZT (mean \pm SD)	PT (mean \pm SD)	SBT (mean \pm SD)	
Gastrin	13897 \pm 1463 ^d	97618 \pm 5148 ^a	88260 \pm 1991 ^{a,b}	78867 \pm 2963 ^{a,b,c}	57045 \pm 1962 ^{c,d}	66541 \pm 2351 ^{b,c,d}	0.000

(image analysis for 20,000,000 particles / range of intensity : 80-100)



a. Substance P positive reaction



b. Substance P image analysis

Fig. 7. The substance P positive reaction in gastric mucosa with reflux esophagitis

Bar size, 100µm; arrow, gastrin positive reaction; ASM, apical surface of mucosa, LP, lamina propria

하였다(Fig. 7, Table 9).

5) 중성점액장벽 손상 보호 효과

GE군의 출혈성 침식 주변의 점막 상피에서는 PAS 양성반응을 보이는 표면점액세포와 목점액세포가 대조군에 비해 감소하였다. 이에 반해 약물 투여군에서는 GE군에 비해 높은 분포를 보였는데, PT군, SBT군, ZT군 그리고 ET군 순으로 관찰되었다(Fig.

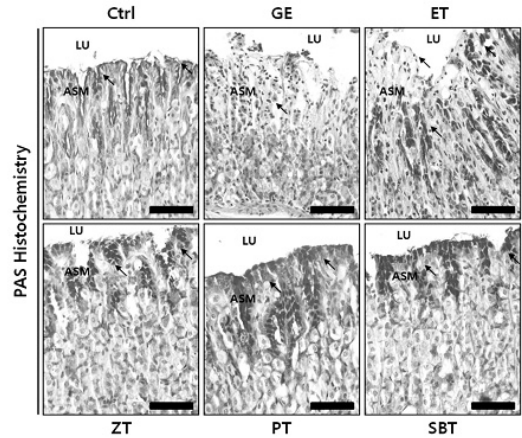


Fig. 8. The protective effect of damaged mucosal barrier by *Pinellia ternata* water extract, *Sobanhatang* water extract, *Zingiber officinale* water extract and esomeprazole

The PAS positive reaction (arrow) in mice pre-treated with PE, SBE, ZE and esomeprazole noticeably maintain (PAS stain; Bar size, 50µm).

ASM, apical surface of mucosa; LU, lumen.

8).

6) 식도 점막 손상 감소 효과

GE군의 위식도 접합부에서 하부식도괄약근의 일부가 유실되었고, 식도 점막의 첨단부(apical surface)에서 식도 각질과 점막세포사이 이음 손상에 따른 세포사이 간극이 확인되었다. 약물 투여군에서는 이러한 손상이 적었다(Fig. 9-a).

GE군의 위식도 접합부와 하부식도 내 점막고유층에서는 비만세포의 분포 증가와 염증관여세포의 이주 증가가 관찰된 반면 약물 투여군에서는 GE군에

Table 9. The Image Analysis for the Substance P Positive Reaction in Gastric Mucosa

Objective	Group						p value*
	Ctrl (mean±SD)	GE (mean±SD)	ET (mean±SD)	ZT (mean±SD)	PT (mean±SD)	SBT (mean±SD)	
Substance P	6498±535 ^d	73238±3667 ^a	53105±1580 ^{a,b}	49622±2138 ^{a,b,c}	15515±1332 ^{c,d}	29171±1999 ^{b,c,d}	0.000

(image analysis for 20,000,000 particles / range of intensity : 80-100)

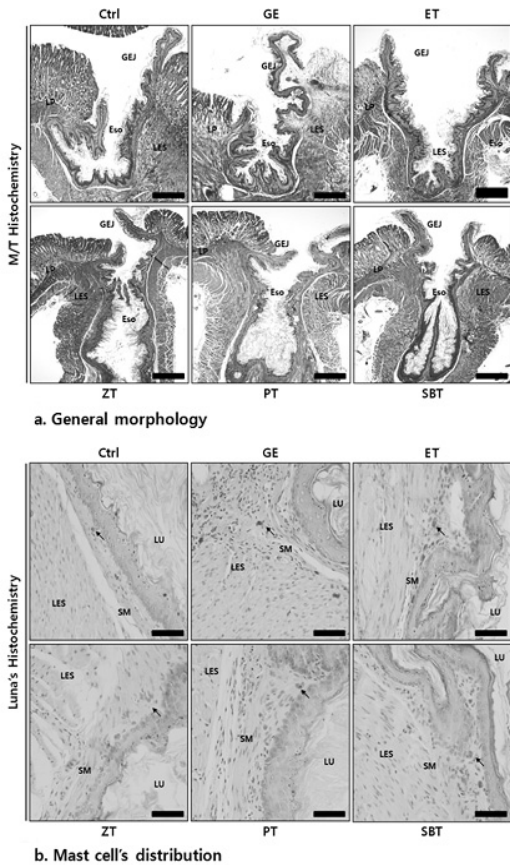


Fig. 9. The mitigrative effect of muscular damage & mucosal inflammation by *Pinellia ternata* water extract, *Sobanhatang* water extract, *Zingiber officinale* water extract and esomeprazole

A photo Bar size, 200 μ m; B photo Bar size, 50 μ m. GEJ, gastroesophageal junction; LES, lower esophageal sphincter; ES, esophagus; SM, submucosa; LU, lumen.

비해 낮은 분포를 보였는데, ZT군, SBT군, PT군 그리고 ET군 순으로 관찰되었다(Fig. 9-b).

고찰

위식도 역류질환은 흔한 위장관 질환의 하나로 삶의 질을 떨어뜨리고 Barrett식도, 식도협착, 식도암 등의 합병증을 발생시키는 질환으로 위식도 역류질환 환

자들 중 약 40~80% 정도에서 역류성 식도염이 관찰된다고 알려져 있다¹⁾.

위식도 역류는 위장내용물이 역류되고 식도 하부의 역류방지 기전이 깨졌을 때 일어나게 되는데 역류의 가장 중요한 기전은 하부식도괄약근의 일시적인 이완현상(transient LES relaxations; tLESR), 열공헤르니아와 같은 해부학적 결손, 하부식도괄약근의 낮은 압력 등이다²¹⁾. 또한 위산이 역류가 되더라도 거의 대부분은 식도의 연동운동에 의해 제거되며 그 후에도 남아있는 위산은 타액속의 중탄산에 의해 중화됨으로써 식도점막 손상을 방지해 주는데, 식도 연동운동의 장애가 있거나 타액분비가 저하되면 역류된 위산의 중화에 시간이 더 소요되므로 식도염의 정도에 영향을 줄 수 있으며²⁾ 또한 산화 스트레스가 식도 및 위 점막의 손상의 가장 주요한 원인이 되는 것으로 알려져 있다²²⁾. 따라서 역류성 식도염 치료의 목적은 위식도 역류를 감소시키고, 역류물을 중화시키면서, 식도 청소율을 향상시킴으로써 식도점막을 보호하는 것이며, 식도 점막 보호에 있어서 free radical 소거를 통한 항산화작용이 치료에 중요하게 인식되고 있다^{21),23)}.

과거에 주로 시행되었던 초기치료는 생활습관의 개선과 함께 제산제 또는 H₂ 수용체 길항제의 투여로 증상을 조절하며, 이에 반응이 없을 경우 단계적으로 치료강도를 높이는 것이었으나, PPI의 단기적 사용에 비해 효과가 낮은 것으로 나타나, 현재에는 PPI를 1차적인 치료제로 사용하는 추세이다³⁾.

본 실험에서 비교약으로 쓰인 esomeprazole은 omeprazole의 광이성질체(S-isomer)이며 PPI 중 치료효과가 우수하며 비교적 안전한 약물로 알려져 있다²⁴⁾. 그러나 PPI를 사용한 일부에서 두통, 설사, 변비, 어지러움, 구역, 소양감 등이 보고되고 있고, 장기간 투여하게 될 경우 위산분비 억제에 따른 혈중 gastrin 분비 증가가 enterochromaffin-like cell(ECL) 세포에 작용하여 동물에게 유암종을 유발한 보고가 있다.^{3,25)} 또한 치료에 불응성인 경우가 있으며, 초기

치료 효과는 상당히 우수하지만 투여를 중지하면 50~80%은 재발하는 것으로 알려져 있어³⁾, 이를 대체할 수 있는 안전하며 효과적인 약에 대한 지속적인 연구가 필요한 실정이다.

최근 한약의 역류성 식도염 치료에 대한 동물실험 연구는 주로 약물 사전투여 후 위저부 및 유문부 결찰로 유발된 rat의 역류성 식도염에 대한 효과를 관찰하는 방법이 많이 이용되고 있으며 지금까지 황 등⁹⁾의 二陳湯加味方的 역류성 식도염 억제효과에 대한 연구, 박 등¹⁰⁾의 二陳湯加味方的 항산화효과를 통한 역류성 식도염 억제효과, 허 등¹²⁾의 二陳湯加味方に 牡蠣를 가한 처방의 식도 보호효과 및 단미제로는 金銀花¹³⁾와 吳茱萸¹⁴⁾, 檣根皮¹⁵⁾ 추출물의 역류성 식도염 억제효과에 대한 보고가 있다. 또한 장 등⁸⁾은 半夏瀉心湯의 알코올로 유발된 역류성 식도염에 대한 치료 효과를 보고한 바 있다.

본 실험에 사용된 小半夏湯은 半夏와 生薑으로 구성되어 和中止嘔하고 去痰시키는 효과가 있어 痰飲으로 인한 구토를 치료한다고 하였다²⁶⁾. 半夏는 辛散降逆하고 溫燥化痰하는 약재로서 脾胃를 조절하고 上逆을 降下하며 痰飲을 제거하는 要藥이며, 生薑은 解表散寒, 溫中止嘔하는 약재로 濕痰을 제거하고 降逆하며 우수한 止嘔효과로 “嘔家에 聖藥”이라 하며, 또한 半夏 天南星, 魚蟹의 中毒을 제거하는 작용이 있다¹⁷⁾. 이 두 약은 다 같이 胃의 기능을 조절하여 嘔氣를 멈추고 痰飲을 제거하는 효능이 있으며, 生半夏는 有毒하여 인후에 자극을 줄 수 있기에, 生薑을 사용해서 법제하거나 生薑과 같이 배합해서 많이 사용한다^{17),27)}. 生薑은 매운맛이 점막을 자극할 우려가 있으나, 찌거나 볶는 법제과정을 거치면 자극성이 감소하고 gingerol 등의 항산화성분이 증가되어 치료효과를 증진시킨다고 하였다²⁸⁾. 위와 같이 半夏, 生薑 및 小半夏湯은 脾胃를 조절하고 降逆시키는 효능이 있다고 알려져 있으며 半夏의 항염증 효능²⁹⁾ 및 生薑의 항산화효능^{30),31)}, 구토개선³²⁾, 위점막 손상에 대한 억제효과³³⁾ 등이 연구된 바 있어 위산의 역류와 위 식도의

운동성 저하, 점막의 손상과 관련하여 역류성 식도염에 대한 치료효과를 기대할 수 있으나 지금까지 小半夏湯에 관련된 실험연구는 없었고, 半夏는 주로 半夏瀉心湯이나 二陳湯 등 半夏가 들어간 처방을 사용한 역류성 식도염의 치료효과가 연구되었으나, 半夏 단미제에 대한 위식도 관련 연구는 아직 미미한 실정이며, 生薑 단미제의 역류성 식도염 치료효과에 관한 연구는 아직 없었다.

본 연구에서는 小半夏湯과 半夏, 生薑의 역류성 식도염 치료효과를 알아보기 위하여 약재들을 증류수에 전탕하여 얻은 추출물을 GC/MS를 이용하여 분석하고 항산화효능을 측정하였으며 14일간 小半夏湯, 生薑, 半夏 각각의 추출물과 비교약인 esomeprazole을 생쥐에 사전투여 후 위저부와 유문부 결찰로 역류성 식도염을 유발시키고 봉합 24시간 후 식도와 위 부위를 절취하여 실험에 이용하였다. 조직화학에서는 표면점액세포의 변화와 위식도 연결부 내 근육조직과 결합조직의 변화를 관찰하고, 비만세포 분포변화를 통해 식도 점막의 염증성 변화를 관찰하였다. 또한 면역조직화학검사에서는 항산화 평가를 위해 hemo oxygenase(HO)-1을, 위 꿈틀운동의 평가를 위해 ghrelin을, 위산분비조절 평가를 위해 gastrin을, 그리고 염증유발조절 평가를 위해 substance P의 변화를 관찰하여 비교평가하였다.

본 실험에서는 DPPH radical scavenging activity를 측정하여 항산화효능을 평가하였다. DPPH는 화학적으로 안정된 free radical을 가지고 있는 수용성 물질로 ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxy 방향족 화합물 등에 의해 환원되어 짙은 자색이 탈색되는데, 다양한 천연 소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다³⁰⁾.

DPPH radical scavenging activity실험에서는 모든 약물이 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 mg/10²μl에서 농도 의존적으로 증가하였다. 生薑, 小半夏湯, 半夏 추출물 순으로 높게 나타났는데 生薑은 모든 농도에서 半夏에 비해 유의하게 높았다. 세 약물들 중 生薑의 DPPH

소거능이 가장 높게 나타나 우수한 항산화효능을 보였는데, DPPH에 대한 라디칼 소거활성은 페놀성 화합물에 의해 기인된다고 하여³⁰⁾, 生薑 추출물의 gingerol 류나 shogaol류 같은 페놀성 화합물이 DPPH소거능에 밀접하게 관여했을 것으로 보이며 이에 대한 연구 보고가 있다³¹⁾.

역류성 식도염을 유발시킨 동물실험모델의 조직화학에서는 위식도 점막 손상에 대한 보호효과를 평가하기 위해 표면점액세포와 목점액세포의 분포, 위식도 점막 손상 정도 및 점막 내 비만세포의 분포변화를 관찰하였다.

위 점막에는 점액을 분비하여 자가소화를 방지하는 표면점액세포와 위선의 목 부위에 위치하며 점액과 dipeptidase를 분비하는 목점액세포가 있다³⁾. 본 실험에서는 중성점액질을 분비하는 표면점액세포의 변화를 조사하기 위해 PAS stain을 실시하여 관찰하였고, 역류성식도염 유발군에서는 PAS 양성반응을 보이는 표면점액세포가 대조군에 비해 감소한데 반해 약물 투여군에서는 역류성식도염 유발군에 비해 높은 분포를 보였고, 半夏 투여군, 小半夏湯 투여군, 生薑 투여군 그리고 esomeprazole 투여군 순으로 관찰되었다. 半夏 투여군의 점액세포의 분포가 높게 관찰된 것은 항산화 성분으로 알려진 benzaldehyde³⁴⁾와 관련이 있을 것으로 생각된다.

역류성 식도염에서 조기의 변화는 상피에 국한되어 반응성 변화나 염증세포의 침윤으로 나타나는데, 이 상피 세포의 온전한 상태가 유지되지 못할 때 산에 대한 투과성이 증가하고 저항성이 떨어져 미란이나 궤양이 발생하게 되므로, 세포사이 간극의 확장은 위식도 역류질환의 초기 표지자로 여겨지고 있다³⁵⁾. 최근 PPI 치료로 세포사이 간극이 먼저 호전되면서 점막 손상이 회복되었고 가슴쓰림 등의 증상이 호전되었다는 보고가 있다³⁶⁾. 본 실험에서는 역류성식도염 유발군의 위식도연결부에서 하부식도괄약근 일부가 유실되었고, 식도 점막의 침단부에서 식도각질과 점막세포사이 이음손상에 따른 세포사이 간극이 확

인되었으나, 약물 투여군에서는 이러한 손상이 적게 나타나 점막손상에 대한 보호효과가 있음을 보였다.

비만세포는 신체 거의 모든 조직에 존재하지만 외부 환경과 접하는 부분, 즉 피부, 내장 및 호흡기에서 많이 발견되며³⁷⁾, 알러지 유발물질이나 기생충, 세균, 바이러스, 그리고 병원체 감염 후 증가하는 펩타이드들에 의해 활성화되어 다양한 종류의 매개물질들을 분비하는데³⁸⁾, 미리 만들어져 있어서 비만세포가 활성화되면 즉시 분비되는 물질인 histamine, heparin, chondroitin sulfates, chymase, trypsin 등과 새롭게 합성되어 분비되는 물질인 prostaglandin, leukotriene, 여러 가지 cytokine 및 chemokine 등이 있으며^{39),40)}, 이러한 매개 물질들은 염증촉진작용을 하여 급성 혹은 만성 염증을 유발한다⁴¹⁾. 역류성식도염 유발군은 비만세포의 분포 증가와 염증세포의 증가가 관찰된 반면 치료 약물 투여군에서는 역류성식도염 유발군에 비해 낮은 분포를 보였고, 生薑 투여군, 小半夏湯 투여군, 半夏 투여군, esomeprazole 투여군 순으로 염증반응이 적었음을 보였다.

면역조직화학에서는 hemo oxygenase(HO)-1, ghrelin 및 gastrin의 위 점막내 변화를 관찰하였다.

급성 위손상에 관련된 병변의 발생에 있어서 중요한 역할을 하는 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)은 산소의 산화물로서 매우 큰 반응성으로 인하여 세포내 단백질, 지질 뿐만 아니라 핵산과 결합하여 구조의 변화를 유발하며 각종 질환의 원인이 되는 것으로 알려져 있다⁴¹⁾. 이러한 손상으로부터의 보호를 위해 세포방어체계가 유도되는데, 항산화효소인 HO-1은 이것의 기질인 heme과 그 외에 자외선, 저산소증, 염증, 과산화수소화 산화질소 등의 다양한 자극들에 의해 유도되며, heme을 일산화탄소(carbon monoxide; CO), biliverdin과 free heme iron으로 산화적으로 분해시키는데 이 생성물들은 산화적 스트레스로 인한 손상에 대한 방어작용과 함께 항염증 효과가 있어 조직 손상과 관련된 다양한 질병들에 대해 보호작용을 갖는다⁴²⁻⁴⁴⁾. HO-1의 생성변화 조사에서

는 역류성식도염 유발군 대비 生薑 투여군에서 947%, 小半夏湯 투여군 494%, 半夏 투여군 218%의 높은 양성반응으로 esomeprazole 투여군의 189%에 비해 많은 증가를 보였고 특히 生薑 추출물 투여군의 반응이 현저하게 높게 나타났다. esomeprazole 투여군을 제외한 실험 약물 투여군에서는 모두 역류성식도염 유발군에 비해 유의하게 증가하였고 그 중 生薑 투여군은 다른 모든 실험군에 비해 유의하게 높았으며, 小半夏湯 투여군은 esomeprazole 투여군에 비해 유의하게 높았고半夏 투여군은 esomeprazole 투여군과 유의한 차이를 보이지 않았다. 小半夏湯과半夏 투여군은 대조군과는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. HO-1 측정에서도 역시 生薑 추출물이 다른 실험군에 비해 우수한 항산화효과가 있음을 보였다.

Ghrelin은 28개의 아미노산으로 구성된 폴리펩티드로 대부분 위장에서 생성되고, 십이지장, 소장, 신장과 시상하부에서도 생성된다³⁾. Ghrelin은 성장호르몬분비를 자극하고⁴⁵⁾ 식욕의 촉진에 관여하며⁴⁶⁾, 항염증성으로 면역체세포들에 ghrelin에 대한 수용체가 존재하여 염증 반응을 조절하며⁴⁷⁾, 위장관 상피세포의 증식과 분화에 영향을 주는 것으로 알려져 있다⁴⁸⁾. 위 기능과 관련하여 위꿈틀운동을 증가시키고 위산 분비를 촉진하지만, 아직 명확한 기전은 밝혀지지 않았다⁴⁹⁾. 이전의 연구들에서 각종 유해 물질로 유발된 위장, 십이지장 등의 궤양에 대한 ghrelin의 보호와 치료효과에 대한 보고가 있다^{50),51)}. 한편 ghrelin이 위산분비를 촉진한다고 알려져 있으나, PPI를 장기간 투여하였을 때 혈청 ghrelin의 농도가 증가하지 않았고 혈청 gastrin과의 상관관계가 없으며 ghrelin은 전혀 다른 경로를 통하여 위산분비에 영향을 주고 있음을 시사한 보고가 있다⁵²⁾. 점막 내 ghrelin 생성변화에서는 GE군에 비하여 ZT군 332%, ET군 313%, SBT군 263%, PT군 185%순으로 生薑 투여군에서 가장 많은 증가율을 보였다. 生薑 투여군에서 esomeprazole을 제외한 모든 실험군에 비해 유의하게 높은 수치를 나타내었고, 小半夏湯 투여군은 역류성식도염 유발군

에 비해서는 높았으나半夏와 esomeprazole 투여군에 비해서는 유의한 차이를 보이지 않았으며,半夏 투여군에서는 生薑에 비해 유의하게 낮았고 나머지 실험군들과는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 위 꿈틀운동은 하부식도괄약근의 압력과 식도 청소율 및 위 배출기능과 관련하여 위식도 역류질환치료에 있어 중요한 부분으로, 위 운동을 증진시키고 항염증작용과 점막보호작용이 있다고 알려진 ghrelin의 증가로 치료효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각된다. 향후 ghrelin이 위 기능에 작용하는 기전에 대한 폭넓고 다양한 연구가 필요할 것으로 보인다.

Gastrin은 위산분비를 조절하는 가장 중요한 호르몬으로 대부분이 위 유문부의 G세포에서 생산되며, 위산 분비를 촉진시키고 위 운동을 활발하게 한다⁵³⁾. gastrin 분비를 향진시키는 가장 중요한 인자는 주로 티로신이나 페닐알라닌 같은 아미노산이며 미주신경 자극으로 유리되는 acetylcholine이나 위벽의 신전도 gastrin 촉진 인자로 작용하며, 유문부의 산과 이온에 의해 형성된 아민들에 의한 음성피드백기전이나 secretin 등은 gastrin 분비를 억제한다³⁾. 본 실험에서 역류성식도염 유발군에서 가장 높은 gastrin 양성 반응을 보였고 이는 유문부 결찰로 인한 위 팽창에 따른 G세포 자극으로 분비가 촉진된 것으로 보이며⁵⁴⁾, 실험약물 투여군에서는 모두 이에 비해 낮은 양성반응이었는데, 역류성식도염 유발군에 비해서半夏투여군에서 41%, 小半夏湯 투여군에서 32%, 生薑 투여군에서 19%, esomeprazole 투여군에서 10%가 낮게 측정되었다. 生薑 투여군에서는 정상대조군을 제외한 다른 투여군과 유의한 차이를 보이지 않았고, 小半夏湯 투여군에서는 역류성식도염 유발군에 비해서는 유의하게 낮게 나타났고半夏 투여군에서는 역류성식도염 유발군 및 esomeprazole 투여군보다 유의하게 낮은 양성반응을 나타내었다. 생쥐에 生薑 추출물을 투여 후 위염을 유발시킨 실험에서 투여 용량의 증가에 따라 유의적으로 높은 위 손상 억제와 위액분비감소 및 유리산도의 감소를 보였다는 이전의 보고에 비추

어볼 때³³⁾, 모든 실험 약물군에서 역류성식도염 유발군보다 낮은 수치를 보인 것은 위 손상에 대한 보호작용으로 G세포 자극을 완화시켜 gastrin 수치가 비교적 낮게 나타난 것으로 보이며, 그 중 半夏 추출물이 가장 효과적으로 나타났다. 향후 이 약물들의 투여기간과 용량에 따른 위산과 gastrin의 변화에 대한 연구가 다양하게 이루어져야 할 것으로 보인다.

신경전달물질인 substance P는 신경성 염증과 관련되어 미세혈관을 확장하여 투과성을 증가시키고 mast cell의 탈과립과 염증세포 이주 및 증식을 유도하며⁵⁵⁾ 장의 일부 염증성 질환에서 substance P 및 그 수용체가 항진된다³⁾. Substance P는 neurokinin-1 (NK-1) 수용체를 통하여 작용하는데, 항암제에 의한 구토에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, NK-1 수용체 길항제가 항구토제로서 사용되고 있다⁵³⁾. 또한 substance P를 흰 쥐에 정맥 주사하는 실험에서 위산 분비를 촉진시킨다는 보고가 있다⁵⁶⁾. Substance P 양성반응 측정에서 모든 실험군은 대조군보다 유의하게 높은 양성반응이 나타났으며, 역류성식도염 유발군에서 가장 높은 양성반응을 보였는데, 대조군에 비해 1027% 증가한 것으로 측정되었다. 모든 실험약물 투여군에서 역류성식도염 유발군에 비해 낮은 양성반응으로, 半夏 투여군 79%, 小半夏湯 투여군 60%, 生薑 투여군 32%, esomeprazole 투여군 28%순으로 감소되었다. 半夏 투여군과 小半夏湯 투여군에서는 대조군과 유의한 차이가 없으며 半夏 투여군은 역류성식도염 유발군과 esomeprazole 투여군에 비해 유의하게 낮게 나타났고, 小半夏湯 투여군은 esomeprazole 투여군과 유의한 차이가 나타나지 않았으나 역류성식도염 유발군에 비해서는 유의하게 낮은 양성반응이 나타났다. 生薑 투여군에서는 대조군에 비해 유의하게 높은 양성반응이 나타났으며 다른 약물 투여군 및 역류성식도염 유발군과는 유의한 차이가 나지 않았다. 약물 투여군에서 낮은 양성반응이 나타난 것은 역류성식도염 유발군에 비해 염증반응이 적게 일어나 점막 손상의 억제효과가

있는 것으로 보이며 半夏 추출물의 효과가 우수한 것으로 나타났다.

이상의 결과로 半夏, 生薑, 小半夏湯추출물은 위저부 및 유문부 결찰로 유발된 생쥐의 역류성 식도염에 억제효과를 나타내는 것으로 관찰되었으며, 세 가지 실험약물이 비교약물인 esomeprazole 투여군에 비해 항산화효과와 염증억제, 점막손상방지 면에서 우수한 효과를 보였다. 실험 약물들은 위산분비의 조절과 주로 항산화효과 및 항염증작용으로 방어체계를 강화시키는 역할을 통해 역류성 식도염에 효과를 나타내는 것으로 보인다. 항산화효과와 위 운동증진, 비만세포 및 염증세포의 분포에서는 生薑 추출물이, 표면점액세포 분포와 substance P 수치에서는 半夏 추출물의 치료효과가 우수한 것으로 나타났다. 生薑, 半夏, 小半夏湯 추출물들의 비교에서 生薑과 半夏 추출물이 각기 다른 부분에서 더 효과를 나타내었고 小半夏湯은 그 사이의 값으로 측정되었는데, 한편으로는 小半夏湯이 두 가지 약제의 장점을 취하면서 生薑이 半夏의 독성을 완화시킨다고 알려져 있어 더 안전하며 효율적으로 쓰일 수 있을 것으로 기대되며, 生薑과 半夏를 배합함으로써 생기는 성분의 변화와 그것이 작용하는 기전에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것이다. 본 실험에서는 사람에게 대한 투여용량으로 환산하여 단일용량으로 실험을 하였으나 향후 약물들의 투여용량과 투여기간의 변동에 따른 효과 및 위산분비 조절에 대한 추가적인 연구와 실제 환자의 임상례를 통한 다방면의 연구가 이루어져야 할 것으로 보인다.

결론

半夏, 生薑, 小半夏湯의 역류성 식도염 발병억제효과를 비교연구하기 위해 본 연구에서는 각 추출물의 DPPH 소거능을 측정하여 항산화효능을 평가하였으며, 14일간 각 약물의 추출물과 비교약물인 esomeprazole을 생쥐에 투여한 후 위 기저부와 유문부 결찰로 역류성 식도염을 유발시켜 점막의 표면점액세포 분포

및 점막손상정도, 비만세포와 염증세포의 분포변화를 관찰하고, 조직면역화학 실험으로는 항산화효소인 hemo oxygenase(HO)-1과 위 운동 및 분비 기능관련 호르몬인 ghrelin과 gastrin, 염증관련 신경전달물질인 substance P 등을 관찰하였다. 이상의 결과에서 半夏는 점막손상방지와 염증억제효과가, 生薑은 항산화작용 및 위 운동 증진효과가 우수하여 역류성 식도염에 대한 억제 효과가 있는 것으로 보이며, 小半夏湯은 두 약물의 장점을 가지며 독성을 완화시켜 효과적으로 쓰일 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. The Korean Society of Neurogastroenterology and Motility. gastroesophageal reflux disease. Seoul: Korean Med Publisher. 2009:2-22.
2. National Professors of Bikeye Internal Medicine. Bikeye Internal Medicine. Seoul: Kunja Publisher. 2009:314-8.
3. Kim JR. 2nd Kim's Digestive Diseases. Seoul: Ilchokak. 2008:158-70.
4. Malfertheiner P, Hallerback B. Clinical manifestations and complications of gastroesophageal reflux disease(reflux esophagitis). *Int J Clin Pract* 2005;59(3):346-355.
5. Jiménez P, Piazuelo E, Sánchez MT, Ortego J, Soteras F, Lanás A. Free radicals and antioxidant systems in reflux esophagitis and Barrett's esophagus. *World J Gastroenterol* 2005;11(18):2697-703.
6. Harris RA, Kuppermann M, Richter JE. Prevention of recurrences of erosive reflux esophagitis: a cost-effectiveness analysis of maintenance proton pump inhibition. *Am J Med* 1997;102(1):78-88.
7. Kim JU, Kim HS, Lee DG, Seog GT, Kim JM, Baik SG, et al. Therapeutic Effect of Low-Dose Omeprazole vs. Standard-Dose Ranitidine in Mild to Moderate Reflux Esophagitis. *Korean J of Gastroenterology*. 2004;43(3):153-9.
8. Jang MW, Lim SW. Experimental Study for Effect of Banhasasim-tang on Mice with Reflux Esophagitis. *J. Int. Korean Med*. 2013; 34(4):362-74.
9. Hwang JY, Kim DJ, Byeon JS. Effects of Yijin-tang-gamibang Extracts on Reflux Esophagitis. *J. Physiol & Pathol Korean Med*. 2009;23(5):1073-1079.
10. Park K, Gwak MA, Kim DJ, Byeon JS. Protective Effects of Yijin-tang-gamibang Aqueous Extracts on Reflux Esophagitis Mediated by Antioxidant Defense Systems. *J. Physiol & Pathol Korean Med*. 2010;24(3):416-425.
11. Lee ST, Gwak MA. Effects of Individual Herbal Components of Yijintang-gamibang in the Rat Reflux Esophagitis. *J. Int. Korean Med*. 2013;34(2):165-177.
12. Hur JL. Esophageal Protective Effects of Yijintanggamibangamoryo. Unpublished doctoral dissertation. Daegu Haany University. 2011.
13. Lee YJ, Park JH, No SS. Effects on Rats with Reflux Esophagitis Treated with Lonicerae Flos Extract. *J. Physiol & Pathol Korean Med*. 2010;24(6):970-975.
14. Kim DJ, No SS. Effect on Acute reflux Esophagitis by Evodiae Fructus Aquous Extract. *Kor. J. Herbol*. 2013;27(1):51-58.
15. Sin MH, Kim ES, Lee YS. Suppressive Effects of Ulmi Pumilae Cortex Extracts on the Reflux Esophagitis in Rat. *J. Physiol & Pathol Korean Med*. 2016;30(4):257-265.
16. National Professors of Herbology. Herbology.

- Seoul: Younglimsa. 2000: 487-8, 172-3.
17. Kang BS, kim YP. Practical Combined Herbology. Seoul: Younglimsa. 1996: 464-6, 572-4, 771.
 18. Chae JS. Sanghannonyeokjeon. Seoul: Gomoonsa. 1984: 468-9.
 19. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 1958;181: 1199-1200.
 20. Nakamura K, Ozawa Y, Furuta Y, Omd Miyazaki H. Effects of sodiumpolyacrylate (PANa) on acute esophagitis by gastric juice in rats. *Japan J Pharmacol* 1982;32(3):445-456.
 21. Kurt J. Isselbacher. Harrison's Principles of Internal Medicine. Seoul: Jungdam. 1997: 1462-3.
 22. Lee JS, Oh TY, Ahn BO, Cho H, Kim WB, Kim YB, et al. Involvement of oxidative stress in experimentally induced reflux esophagitis and Barrett's esophagus: clue for the chemoprevention of esophageal carcinoma by antioxidants. *Mutat Res* 2001 Sep 1;480-481: 189-200.
 23. Wetscher GJ, Perdakis G, Kretchmar DH, Stinson RG, Baqchi D, Redmond EJ, et al. Esophagitis in sprague, dawley rats is mediated by free radicals. *Diq Dis Sci* 1995;40(6):1297-1305.
 24. Kim JJ, Lee SY, Lee PR, Myoung SJ, Kim JH, Choi YK, et al. Multicenter Study to Evaluate the Effect of Esomeprozole in Gastro-esophageal Reflux Disease. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*. 2003;9(2):92-101.
 25. Tielemans Y, Hakanson R, Sundler F, Willems G. Proliferation of enterochromaffinlike cells in omeprazole-treated hypergastrinemic rats. *Gastroenterology* 1989;96(2):723-729.
 26. National Professors of Herbal Frmula. Herbal Frmula. Seoul: Younglimsa. 1999:400.
 27. Korea Institute of Korean Medicine. A study of Processed *Pinellia ternata*. Korea Institute of Korean Medicine Reports. 2001:1-23.
 28. Seo BI, Choi HY. Clinical oriental medicine galenic pharmacy. Seoul 2004. p 72-99.
 29. Kim SH, Lim HB. Antiasthmatic effects on *Pinellia ternate* Breitenbach(PTB) water extracts against airway inflammation and hyperresponsiveness induced by diesel exhaust particles with ovalbumin sensitization in BALB/c mice. *Kor J Herbology* 2013;28(1): 65-71.
 30. Jung YS, Park SJ, Park JH, Jee GH, Lee IS, Yang SA. Effects of Ethanol Extracts from *Zingiber officinale* Rosc., *Curcuma longa* L., and *Curcuma aromatica* Salisb. on Acetylcholinesterase and Antioxidant Activities as well as GABA Contents. *J. Korean Soc Food Sci Nutr*. 2012;41(10):1395-1401.
 31. Bae JS, Kim TH. Pancreatic lipase inhibitory and antioxidant activities of *Zingiber officinale* water extracts. *Korean J Food Preserv* 2011;18(3):390-396.
 32. Gwak JS, Baik JE, Jung SW, Kim JH, Kim JY, Kweon OR. Systematic review of the effect of dried ginger powder on improvement of nausea and vomiting associated with early pregnancy or motion sickness. *Journal of Nutrition and Health* .2014;47(1):45-50
 33. Kim SJ. Inhibitory Effects of Ginger and Processed (Beopje) Ginger Extracts on HCl-ethanol Induced Gastritis in Rats. *J. Korean Soc Food Sci Nutr*. 2012;41(11):

- 1528-1533.
34. Im DY. Volatile compounds analysis of the water extract from dried bark of prunus sargentii and physiological activity of the main compound, benzaldehyde. *Kor J Aesthet Cosmetol* 2014;12(2):155-162.
 35. De Hertogh G, Ectors N, Van Eyken P, Geboes K. Review article: the nature of oesophageal injury in gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24(Suppl2): 17-26.
 36. Kim JH, Jee SR, Park SJ, Yang SY, Park ET, Lee YJ, et al. Dilated Intercellular Spaces of Esophageal Epithelium in Korean Reflux Esophagitis and Its Reversibility after Esomeprazole Treatment. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*. 2006;12(1): 19-24.
 37. Weber A, Knop J, Maurer M. Pattern analysis of human cutaneous mast cell populations by total body surface mapping. *Br J Dermatol* 2003;148(2):224-228.
 38. Kim YH. The Role of Mast Cells in Innate and Adaptive Immunity. *Journal of Life Science*. 2008;18(6):891-896.
 39. Brown JM, Wilson TM, Metcalfe DD. The mast cell and allergic diseases: Role in pathogenesis and implications for therapy. *Clin Exp Allergy* 2008;38(1):4-18.
 40. Boesiger J, Tsai M, Maurer M, Yamaguchi M, Brown LF, Claffey KP, et al. Mast cells can secrete vascular permeability factor/ vascular endothelial cell growth factor and exhibit enhanced release after immunoglobulin E-dependent upregulation of fc epsilon receptor I expression. *J Exp Med* 1998;188(6):1135-1145.
 41. Park JH, Kweon GR. Clinical applications of antioxidants. *Hanyang Med Rev* 2013;33:130-136.
 42. Schipper HM. Heme oxygenase-1: role in brain aging and neurodegeneration. *Exp. Gerontol* 2000;35(6-7):821-30.
 43. Nakao A, Otterbein L.E, Overhaus M, Sarady J.K, Tsung A, Kimizuka K, et al. Biliverdin protects the functional integrity of a transplanted syngeneic small bowel. *Gastroenterology* 2004; 127(2):595-606.
 44. Kim EH, Kim SH, Na HK, Surh YJ. Chemoprevention and Chemoprotection Through Heme Oxygenase-1 Induction and Underlying Molecular Mechanisms. *Journal of Korea Environmental Mutagen Society*. 2006;26(4): 97-112.
 45. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(6): 2988-2991.
 46. Tschop M, Flora DB, Mayer JP, Heiman ML. Hypophysectomy prevents ghrelin-induced adiposity and increases gastric ghrelin secretion in rats. *Obes Res* 2002;20(20):991-999.
 47. Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, et al. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004; 114(1):57-66.
 48. Konturek SJ, Konturek PC, Pawlik T, Sliwowski Z, Ochmański W, Hahn EG. Duodenal mucosal protection by bicarbonate secretion and its mechanisms. *J Physiol Pharmacol* 2004;55(suppl 2):5-17.

49. Schubert ML. Gastric secretion. *Curr Opin Gastroenterol* 2010;26(6):598-603.
50. Ceranowicz P, Warzecha Z, Dembinski A, et al. treatment with ghrelin accelerates the healing of acetic acid-induced gastric and duodenal ulcers in rats. *J Physiol Pharmacol* 2009;60(1):87-98.
51. Warzecha Z, Ceranowicz P, Dembinski M, et al. Involvement of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 activity in the therapeutic effect of ghrelin in the course of ethanol-induced gastric ulcers in rats. *J Physiol Pharmacol* 2014; 65(1): 95-106.
52. Kim BW, Lee BI, Kim HG, Jo YS, Chae HS, Lee HK, et al. Influence of Long-term Gastric Acid Suppression Therapy on the Expression of Serum Gastrin, Chromogranin A, and Ghrelin. *Korean Journal of Gastroenterology*. 2009;53(2): 84-89.
53. Lee JK. Gastrointestinal Hormones and Digestion. *Korean J Pancreas Biliary Tract* 2014;19 (Suppl 1):29-33.
54. Kim JS, Lee SJ. Effect of Pylorus Ligation on Serum Gastrin Release and Gastric Secretion in the Rat. *Korean Journal of Medicine*. 1981;24(8):730-737.
55. Ebner K, Singewald N. The role of substance P in stress and anxiety responses. *Amino Acids* 2006;31(3):251-72.
56. Seo SC, Kim MS, Park BK, Park SM, Kim JS. An Experimental Study on the Effects of Substance P on Gastric Secretion in Rats. *Korean Journal of Gastroenterology*.1982;14(2): 13-16.

ORCID

이슬희 <https://orcid.org/0000-0002-2993-8620>

백태현 <https://orcid.org/0000-0002-3099-2528>