



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의학박사 학위논문

TUDCA의 위 점막 상피세포
NF- κ B 신호전달 억제를 통한
마우스 위염 억제효과

TUDCA inhibits NF- κ B signaling
in gastric epithelial cells
and ameliorates
gastric mucosal damage in mice

2017 년 2 월

서울대학교 대학원

임상의과학과

김 수 환

TUDCA의 위 점막 상피세포 NF- κ B 신호전달 억제를 통한 마우스 위염 억제효과

지도 교수 김 지 원

이 논문을 의학박사 학위논문으로 제출함

2016년 10월

서울대학교 의과대학 대학원
임상의학과
김 수 환

김수환의 의학박사 학위논문을 인준함

2017년 1월

위 원 장	이	국	래	(인)
부위원장	김	지	원	(인)
위 원	장	미	수	(인)
위 원	김	상	균	(인)
위 원	최	기	돈	(인)

초 록

서론: 위 점막의 손상 또는 위염의 원인은 다양하며, 위염은 전체 소화기질환 중에서 가장 흔한 질환 중의 하나이다. 알코올과 비스테로이드 소염제(nonsteroidal anti-inflammatory drug, NSAID)는 위염의 흔한 원인이다. Tauroursodeoxycholic acid (TUDCA)는 대장염 동물 모델에서 대장염 발생을 감소시키는 효과가 있다고 보고되었다. 또한, TUDCA가 동물실험에서 위 상피세포에 대해서 보호효과가 있다고 보고되었으나, 그 기전에 대해서는 명확히 알려진 바가 없다. 본 연구에서는 TUDCA가 위 점막 상피세포에서 NF- κ B 신호전달에 대한 억제효과를 가지는지 규명하고, 알코올 및 NSAID로 유발시킨 위염 마우스 모델에서 TUDCA의 항염증 효과를 규명하고 ursodeoxycholic acid (UDCA)와 효과를 비교해 보았다.

방법: 인간 위 상피세포주인 MKN-45 세포를 배양하고, TUDCA로 전처치를 한 후 NF- κ B 활성화를 위해 TNF- α 를 이용해서 다양한 농도로 자극했다. 인간 IL-1 α , IL-1 β 에 대한 특이 primer를 이용하여 실시간 중합효소연쇄반응(RT-PCR)을 시행했다. 위 상피세포주에서 TUDCA가 NF- κ B DNA 결합능에 미치는 영향을 보기 위해 electrophoretic mobility shift assay (EMSA)를 시행했다. NF- κ B 신호 전달 경로 중 I κ B의 인산화에 TUDCA가 미치는 영향을 파악하기 위해 면역블롯검사를 시행했다. 마우스 모델에서 TUDCA와 UDCA로 전처치를 한 후 알코올 및 NSAID로 위염을 유발하여 육안적 평가와 현미경적 평가를 수행하고 TUDCA와 UDCA의 위염 예방 효과를 분석하였다.

결과: 인간 위 상피세포주를 이용한 RT-PCR에서 TNF- α 에 의한 IL-1 α mRNA 발현이 TUDCA 전처치 시행시 감소하였다. EMSA에서 TNF- α 자극에 의한 NF- κ B 활성도 증가가

TUDCA 전처치 시행시 감소했다. 면역블롯검사에서 TNF- α 자극으로 유발된 I κ B의 인산화가 TUDCA 전처치 시행시 감소했다. 알코올 유발 위염 마우스 모델과 NSAID 유발 위염 마우스 모델의 육안적 평가 및 현미경적 평가에서 TUDCA는 위염 유발을 유의하게 억제했다.

결론: 본 연구를 통해 TUDCA가 알코올 또는 NSAID에 의해 유발된 위염 모델에서 위염에 대한 예방 효과를 가짐을 확인하였다. 본 연구의 결과는 TUDCA가 위염 예방 목적으로 사용될 수 있는 가능성을 제시하며, 향후 임상 연구 수행의 계기가 될 수 있을 것이다.

주요어: 위염, 알코올, 비스테로이드소염제, TUDCA, 마우스
학 번: 2015 - 30807

목 차

초록.....	i
목차.....	iii
그림 목록.....	iv
서론.....	1
재료 및 방법	3
결과.....	10
고찰.....	21
참고문헌	24
초록 (영문)	27

그림 목록

그림 1	MKN-45 세포주를 이용한 RT-PCR.....	10
그림 2	MKN-45 세포주를 이용한 EMSA	11
그림 3	MKN-45 세포주를 이용한 면역블롯검사.....	12
그림 4	알코올 유발 위염 모델의 육안적 평가.....	14
그림 5	알코올 유발 위염 모델의 현미경적 평가	16
그림 6	NSAID 유발 위염 모델의 육안적 평가.....	18
그림 7	NSAID 유발 위염 모델의 현미경적 평가	20

서 론

위 점막은 다양한 내인성, 외인성 손상에 노출된다. 여러 가지 원인에 의한 위 점막의 손상은 위염, 위궤양 등을 일으킬 수 있다. 위염은 전체 소화기질환 중에서 가장 흔한 질환 중의 하나로 소화불량증, 복통, 구토, 오심과 같은 증상을 유발할 수 있다고 알려져 있다. 2011년 보고된 바에 따르면, 외래 진료 실인원이 가장 많은 소화기질환은 위염이었고 소화기질환 중에서 28.2%를 차지했다. 이 보고에서 위염 환자의 총 진료비는 2500억원에 달했고, 전체소화기질환의 의료비용 중에서 6.9%를 차지했다.¹

위 점막 손상의 원인으로는 위산, 펩신, 헬리코박터필로리, 알코올, 비스테로이드 소염제 (nonsteroidal anti-inflammatory drug, NSAID) 등이 있다. 위염을 유발하는 여러 가지 유해한 자극 중에서 알코올과 NSAID는 흔하게 접하게 되는 요인이다. 알코올은 직접 위 점막 방어벽을 손상시키고, 또한 염증성 사이토카인을 분비하여 위염을 유발하는 것으로 알려졌다. 하지만, 알코올 섭취에 따른 위 점막 손상의 병태생리는 완전하게 밝혀져 있지 않다. NSAID는 널리 사용되는 진통제인데, 지속적으로 NSAID를 복용하는 환자들의 60-70%에서는 복용 기간 중 한 가지 이상의 위장관 합병증이 발생하는 것으로 알려졌다. 또한, NSAID에 의한 소화불량증 등의 증상은 NSAID 복용을 중단하게 되는 주요한 이유로 알려졌다.² NSAID에 의한 위 점막 손상은 COX-1 억제에 의한 것이 주된 기전이지만, 그 외에도 다른 병태생리 기전이 관여할 것으로 추측되고 있다.

Tauroursodeoxycholic acid (TUDCA)는 타우린과 ursodeoxycholic

acid (UDCA)의 접합체이다.³ TUDCA는 간세포의 세포자멸사를 억제하는 것으로 보고되었고,⁴ 최근 대장염 동물 모델에서 대장염 발생을 감소시키는 효과가 있다고 보고되었다.³ TUDCA가 배양한 토끼 위 상피세포에 대해 보호효과를 가지고 있음이 보고되었고,⁵ 또한 양서류 위 점막 모델에서 위 점막세포 손상을 감소시켰다는 보고가 있다.⁶ 하지만, TUDCA의 위 상피세포에 대한 보호효과의 병태생리와 기전에 대해서는 아직까지 알려진 바가 없다. 본 연구에서는 TUDCA가 위 점막 상피세포에서 nuclear factor- κ B (NF- κ B) 신호전달에 대한 억제효과를 가지는지 규명하고, 알코올 및 NSAID로 유발시킨 위염 마우스 모델에서 TUDCA의 항염증 효과를 규명하고 UDCA와 효과를 비교해 보고자 했다.

재료 및 방법

1. 인간 위 점막 상피세포주에서 TUDCA의 NF- κ B 신호 전달에 대한 억제효과

가. 세포 배양 및 TUDCA의 투여

인간 위 상피세포주인 MKN-45를 10% fetal bovine serum과 항생제를 혼합한 배양액에서 배양한다. TUDCA을 PBS에 녹인 후 다양한 농도로 24시간 동안 전처리 한 후 NF- κ B 활성화를 위해 TNF- α 를 이용해서 다양한 농도로 자극한다.

나. RNA 추출 및 실시간 중합효소연쇄반응(RT-PCR)

Trizol을 이용하여 총 1 μ g의 RNA를 분리한 후 역전사 시킨다. 인간 IL-1 α , IL-1 β 에 대한 특이 primer를 이용하여 RT-PCR을 시행한다.

다. Electrophoretic mobility shift assay (EMSA)

TUDCA가 위 상피세포주에서 NF- κ B DNA binding activity에 미치는 영향을 보기 위해 EMSA를 시행한다. 5 μ g의 핵 추출물을 이용하여 30,000-50,000 cpm의 32 P-labelled DNA와 실온에서 20분간 반응시킨 후 전기영동 한다. Gel을 말린 후 autoradiography를 시행하고 필름을 현상한다.

라. 면역블롯검사

NF- κ B 신호 전달 경로 중 I κ B의 phosphorylation/degradation에 미치는 영향을 파악하기 위해 면역블롯검사를 시행한다. TUDCA로 전처치한 세포와 그렇지 않은 세포를 TNF- α 로 1시간 동안 자극한다. 각각 phospho-I κ B, I κ B, 그리고 β -actin을 검출한다. 2차 항체로 HRP (horse radish peroxidase)-conjugated anti-rabbit antibody를 이용하여 ECL kit를 처리한 후에 X선 필름에 노출시켜 현상한다.

2. 알코올 유발 위염 마우스 모델에서 TUDCA의 항염증 효과 및 UDCA와 비교

가. 실험 동물

7주령의 C57BL/6 마우스를 사용하며, 사료와 물은 자유롭게 섭취할 수 있게 하고, 각 그룹당 5마리의 마우스를 사용한다.

나. 알코올 유발 위염 모델 및 TUDCA/UDCA 투여

총 5개의 그룹으로 나누어 진행한다. 각 군은 아래와 같이 나누며 PBS와 TUDCA/UDCA는 에탄올 투여 1시간 전에 처치한다. 이후 에탄올을 아래의 농도로 경구 투여하며 24 시간 후 마우스를 희생시켜 위를 적출한다.⁷

그룹 1. 음성 대조군

그룹 2. PBS 전처치 후 에탄올(5g/kg) 처치 군

그룹 3. TUDCA (50mg/kg) 전처치 후 에탄올(5g/kg) 처치 군

그룹 4. TUDCA (250mg/kg) 전처치 후 에탄올(5g/kg) 처치 군

그룹 5. UDCA (50mg/kg) 전처치 후 에탄올(5g/kg) 처치 군

다. 육안적 평가

위염 유발 후 마우스를 희생하고 위를 적출한 후 대만을 따라 열어 PBS로 씻은 다음 궤양 및 미란, 발적, 출혈 등의 육안적 평가를 시행한다.⁸ 아래와 같은 육안 소견 점수 기준에 따라 육안적 평가를 시행하고, 각 그룹별 점수를 비교한다.

육안 소견 점수 기준

0: 정상

0.5: 가벼운 국소적 발적

1: 전반적 발적 또는 작은 점막 출혈(< 1mm)

2: 큰 점막 출혈(\geq 1mm)

3: 작은 궤양 (< 2mm)

4: 큰 궤양 (\geq 2mm)

5: 천공된 궤양

라. 현미경적 평가

위에서 2cm 크기의 조직을 채취하여 포르말린 용액에 넣어 고정시킨 후 파라핀 함몰 조직 절편을 만든다. 조직 절편은 H&E 염색을 시행하여 점막 손상의 정도와 범위를 점수로 환산한다.⁸ 아래와 같은 현미경 소견 점수 기준에 따라 현미경적 평가를 시행하고, 각 그룹별 점막 손상 지수를 비교한다.

점막 손상 점수

0: 정상

1: 위 점막 표면의 경미한 손상 또는 점막층 상부 선세포 2-3개 손상

2: 1점보다 손상이 심하지만, 위 점막 두께의 50% 미만 손상

3: 위 점막 두께의 50% 이상 손상

점막 손상 범위 점수

1: 위 점막의 10% 미만

2: 위 점막의 10% 이상, 25% 미만

3: 위 점막의 25% 이상, 50% 미만

4: 위 점막의 50% 이상

점막 손상 지수 = (점막 손상 점수) x (점막 손상 범위 점수)

3. NSAID 유발 위염 마우스 모델에서 TUDCA의 항염증 효과 및 UDCA와 비교

가. 실험 동물

7주령의 C57BL/6 마우스를 사용하며 사료와 물은 자유롭게 섭취할 수 있게 하며 각 그룹당 5마리의 마우스를 사용한다

나. 인도메타신 유발 위염 모델 및 TUDCA/UDCA 투여

총 5개의 그룹으로 나누어 진행함. 각 군은 아래와 같이 나누며 PBS와 TUDCA는 인도메타신 투여 1시간 전에 처치한다. 이후 인도메타신을 아래의 농도로 경구 투여하며 24 시간 후 마우스를 희생시켜 위를 적출한다.

그룹 1. 음성 대조군

그룹 2. PBS 전처치 후 인도메타신(30mg/kg in 5% NaHCO₃) 처치 군

그룹 3. TUDCA (50mg/kg) 전처치 후 인도메타신(30mg/kg in 5% NaHCO₃) 처치 군

그룹 4. TUDCA (250mg/kg) 전처치 후 인도메타신(30mg/kg in 5% NaHCO₃) 처치 군

그룹 5. UDCA (50mg/kg) 전처치 후 인도메타신(30mg/kg in 5% NaHCO₃) 처치 군

다. 육안적 평가 및 현미경적 평가

알코올 유발 위염 모델과 동일한 방법으로 평가

4. 통계 분석

SPSS Statistics version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL)을 이용해서 통계분석을 수행하였다. 그룹 간의 차이는 Kruskal-Wallis test 및 Mann-Whitney U test를 이용해서 분석하였다. P-value가 0.05보다 작으면 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

5. 연구 윤리

본 연구의 동물실험은 보라매병원 전임상실험실에서 수행되었고, 동물실험윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인을 받았다.

결 과

1. 인간 위 점막 상피세포주에서 TUDCA의 NF- κ B 신호 전달에 대한 억제효과

가. RT-PCR

위 점막 상피세포주를 배양하고, TUDCA 50mg/kg와 250mg/kg로 24시간 동안 전처리 한 후 TNF- α 로 1시간 자극하고, RNA를 분리하여 역전사 시키고, human IL-1 α , IL-1 β 에 대한 특이 primer를 이용하여 RT-PCR을 시행했다. TNF- α 에 의한 IL-1 α mRNA 발현이 TUDCA 전처리 시행시 감소함이 확인되었다.

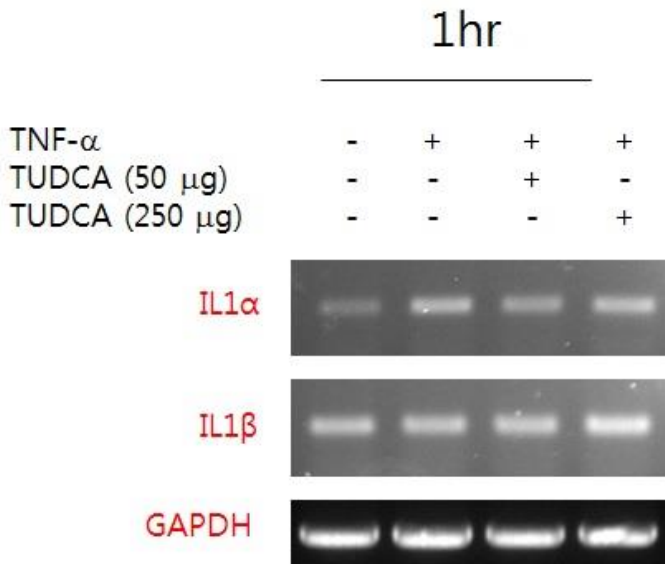


그림 1. MKN-45 세포주를 이용한 RT-PCR에서 TNF- α 자극에 의해 증가되는 IL-1 α mRNA 발현이 TUDCA 전처리 시행시 감소하였다.

나. EMSA

위 점막 상피세포주에서 TUDCA가 NF- κ B DNA binding activity에 영향을 미치는지 보기 위해서 EMSA를 시행했다. TUDCA 전처리 시행시 NF- κ B DNA binding activity가 억제되는 것을 확인할 수 있었다.

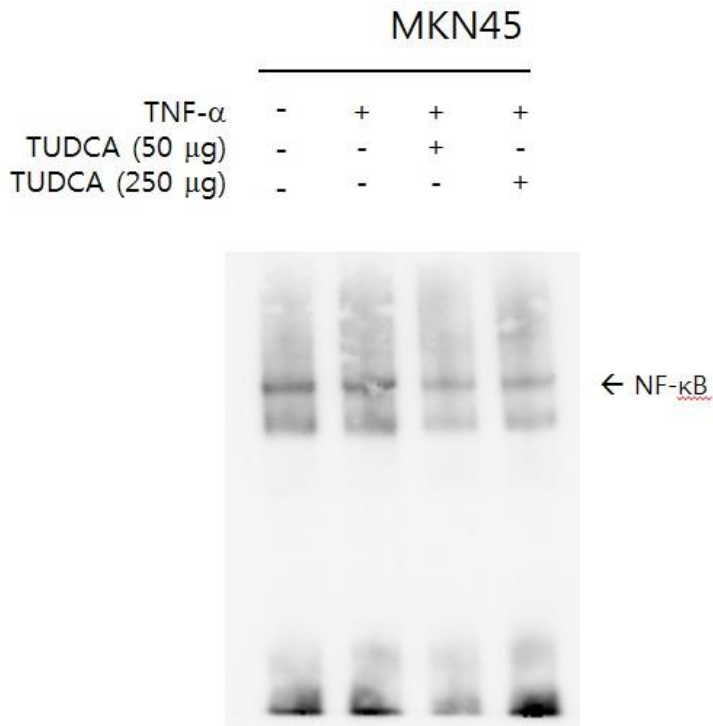


그림 2. MKN-45 세포주를 이용한 EMSA에서 TNF- α 자극에 의한 NF- κ B 활성화 증가가 TUDCA 전처리 시행시 감소하였다.

다. 면역블롯검사

위 점막 상피세포주를 TUDCA로 전처리 했을 때, TNF- α 자극으로 유발된 I κ B의 인산화가 감소했다. TUDCA 50mg/kg로 전처치를 했을 때 보다 TUDCA 250mg/kg으로 전처치를 했을 때 I κ B의 인산화가 더욱 감소함이 확인되었다.

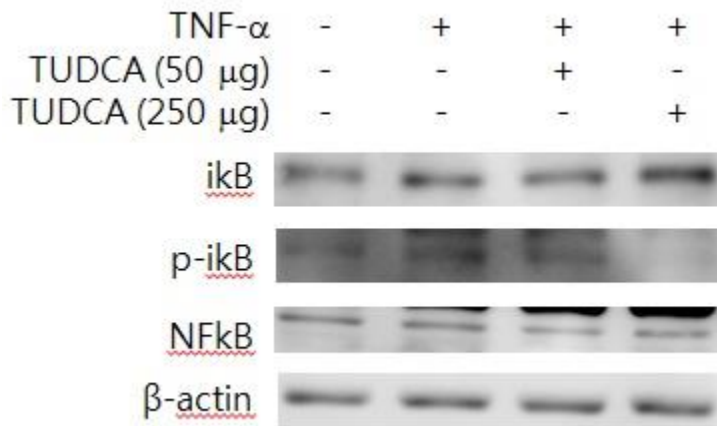


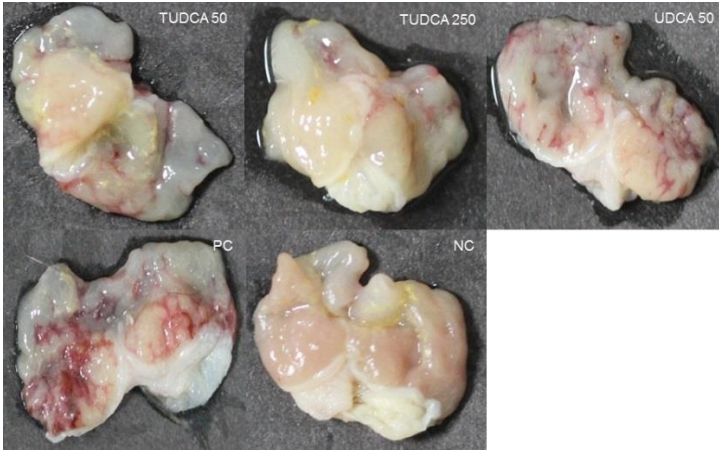
그림 3. MKN-45 세포주를 이용한 면역블롯검사에서 TNF- α 자극에 의해 증가되는 I κ B의 인산화가 TUDCA 전처리 시행시 감소하였다.

2. 알코올 유발 위염 마우스 모델에서 TUDCA의 항염증 효과 및 UDCA와 비교

가. 육안적 평가

알코올 유발 위염 모델의 육안적 평가에서 TUDCA는 50mg/kg와 250mg/kg 두 용량 모두에서 알코올에 의한 위염 유발을 유의하게 억제 하였으나, UDCA 50mg/kg에서는 유의한 억제 효과가 나타나지 않았다.

(A)



(B)

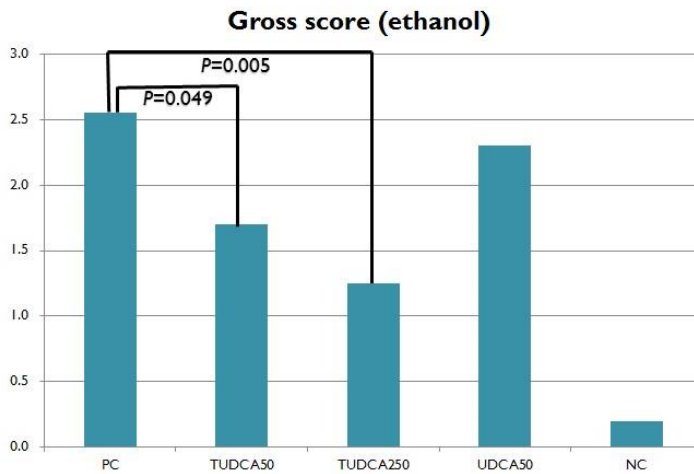
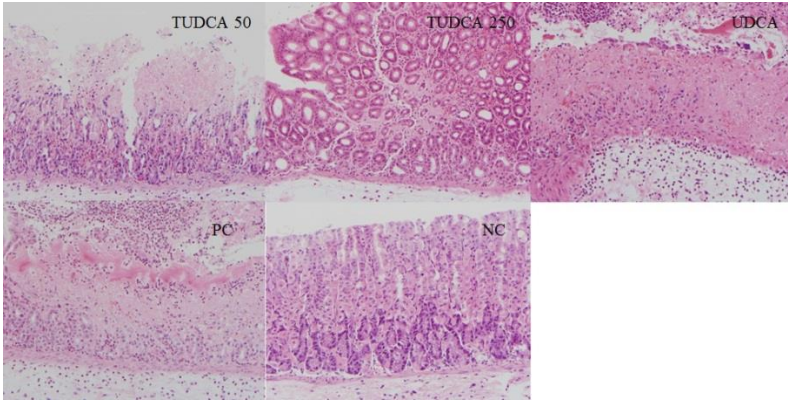


그림 4. 알코올 유발 위염 모델의 육안적 평가에서 TUDCA는 50mg/kg와 250mg/kg 두 용량 모두에서 알코올에 의한 위염 유발을 유의하게 억제하였다. (A) 알코올 유발 위염 모델의 육안 소견 (B) 알코올 유발 위염 모델의 각 그룹별 육안 소견 점수 비교

나. 현미경적 평가

알코올 유발 위염 모델의 현미경적 평가에서 TUDCA 250mg/kg 용량에서 알코올에 의한 위염 유발을 유의하게 억제하였으나 TUDCA 50mg/kg와 UDCA 50mg/kg에서는 유의한 억제 효과가 나타나지 않았다.

(A)



(B)

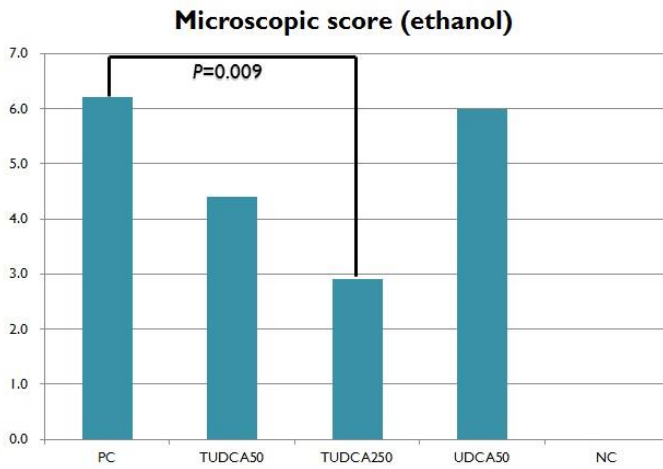


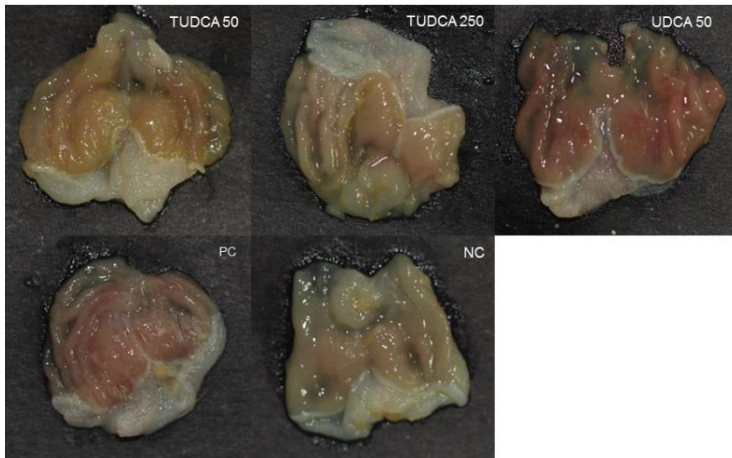
그림 5. 알코올 유발 위염 모델의 현미경적 평가에서 TUDCA는 250mg/kg 용량에서 알코올에 의한 위염 유발을 유의하게 억제하였다. (A) 알코올 유발 위염 모델의 현미경 소견 (B) 알코올 유발 위염 모델의 각 그룹별 현미경 소견 점수 비교

3. NSAID 유발 위염 마우스 모델에서 TUDCA의 항염증 효과 및 UDCA와 비교

가. 육안적 평가

NSAID 유발 위염 모델의 육안적 평가에서 TUDCA는 250mg/kg 용량에서 NSAID에 의한 위염 유발을 유의하게 억제하였으나 TUDCA 50mg/kg와 UDCA 50mg/kg에서는 유의한 억제 효과가 나타나지 않았다.

(A)



(B)

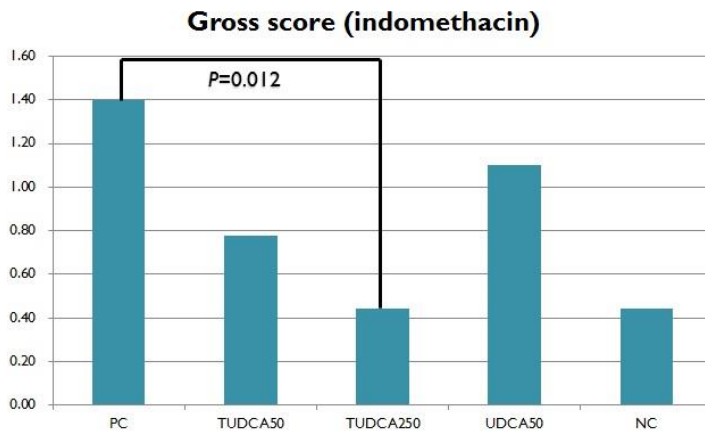
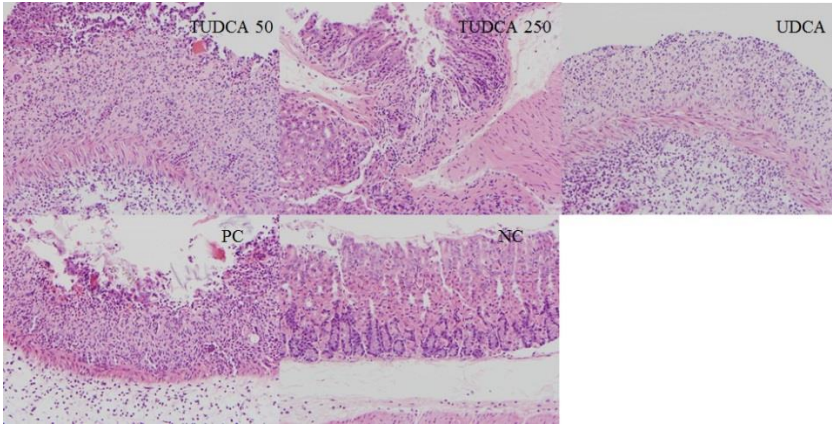


그림 6. NSAID 유발 위염 모델의 육안적 평가에서 TUDCA는 250mg/kg 용량에서 NSAID에 의한 위염 유발을 유의하게 억제하였다. (A) NSAID 유발 위염 모델의 육안 소견 (B) NSAID 유발 위염 모델의 각 그룹별 육안 소견 점수 비교

나. 현미경적 평가

NSAID 유발 위염 모델의 현미경적 평가에서 TUDCA는 250mg/kg 용량에서 NSAID에 의한 위염 유발을 유의하게 억제하였으나 TUDCA 50mg/kg와 UDCA 50mg/kg에서는 유의한 억제 효과가 나타나지 않았다.

(A)



(B)

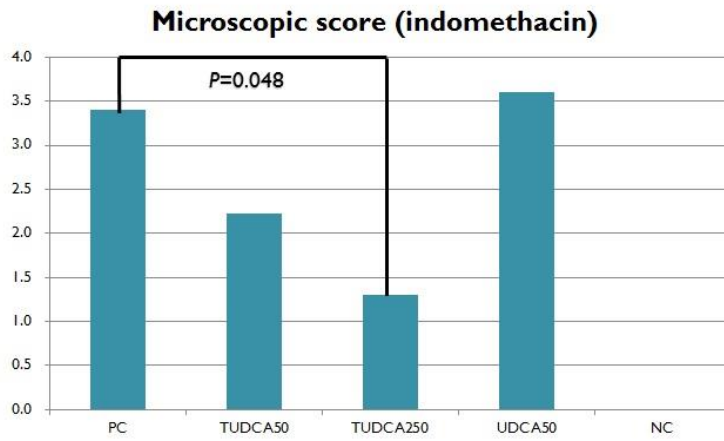


그림 7. NSAID 유발 위염 모델의 현미경적 평가에서 TUDCA는 250mg/kg 용량에서 NSAID에 의한 위염 유발을 유의하게 억제하였다. (A) NSAID 유발 위염 모델의 현미경 소견 (B) NSAID 유발 위염 모델의 각 그룹별 현미경 소견 점수 비교

고 찰

일련의 연구를 통해 NF- κ B의 지속적인 활성화가 만성적인 점막의 염증을 유도하는 중요한 요소로 생각되고 있다.⁹ 또한, 소포체 스트레스 반응이 염증성 장질환의 병태생리에 관여하며 NF- κ B 신호 전달에도 관련되어 있음이 밝혀져 있다.¹⁰ 최근 대장염 동물 모델에서 TUDCA가 항염증 효과가 있다고 보고되었고,³ 배양한 토끼 위 상피세포에 대해 보호효과를 가지고 있음이 보고되었지만,⁵ TUDCA의 위 상피세포에 대한 보호효과의 병태생리와 기전에 대해서는 아직까지 알려진 바가 없었다. 본 연구에서는 TUDCA가 위 점막 상피세포에서 IL-1 α 발현을 억제함을 보여주었다. 또한, TUDCA에 의해 위 점막 상피세포에서 I κ B의 인산화와 NF- κ B의 활성화가 억제되는 것이 확인되었다. *In vitro* 실험에서 확인된 효과를 *In vivo*에서 확인하기 위해 알코올 및 NSAID로 유발시킨 위염 마우스 모델을 이용해서 연구를 수행했고, 이를 통해 TUDCA가 알코올 및 NSAID로 유발시킨 마우스의 위염을 개선시킴을 규명하였다.

NF- κ B는 대부분의 세포에 존재하는 신호전달 체계로 세균, 바이러스 감염, 염증성 사이토카인, lipopolysaccharide, 자외선 등의 자극에 의해 활성화되어 염증반응에 영향을 미친다. 대부분의 NF- κ B는 homodimer 혹은 heterodimer로 존재하는데 자극이 없는 경우에는 핵 내로 이동을 억제하는 I κ B와 결합하여 세포질 내에 존재한다. 하지만 바이러스나 TNF- α 와 같은 자극에 의해 I κ B가 I κ B kinase에 의해 인산화되면 I κ B가 분해되고 NF- κ B는 핵내로 이동하여 많은 전염증성 유전자의 발현을 증가시키는 것으로 알려져 있다.⁹ 본 연구에서는 TUDCA에 의해 위 점막 상피에서 I κ B의 인산화가 억제되고 IL-1 α 발현이 감소함을

확인하였다. 이 연구는 TUDCA의 위 점막 상피세포에 대한 보호효과의 병태생리와 기전을 분석하고 이를 마우스 위염모델을 적용한 첫 번째 연구이다.

TUDCA가 마우스 위염을 억제하는 효과가 있음을 증명하기 위해 본 연구에서는 알코올과 NSAID를 이용한 두 가지 모델을 통해 연구를 수행하였다. 알코올 유발 위염 모델의 육안적 평가에서 TUDCA는 50mg/kg와 250mg/kg 두 용량 모두에서 알코올에 의한 위염 유발이 유의하게 억제되었으나, UDCA 50mg/kg에서는 이러한 억제 효과가 나타나지 않았다. 알코올 유발 위염 모델의 현미경적 평가에서 TUDCA는 250mg/kg 용량에서는 알코올에 의한 위염 유발이 유의하게 억제되었으나 TUDCA 50mg/kg와 UDCA 50mg/kg에서는 유의한 억제 효과가 나타나지 않았다. NSAID 유발 위염 모델에서는 육안적 평가와 현미경적 평가 모두 TUDCA 250mg/kg 용량에서 NSAID에 의한 위염 유발이 유의하게 억제되었으나 TUDCA 50mg/kg와 UDCA 50mg/kg에서는 유의한 억제 효과가 나타나지 않았다.

위 점막 염증의 주요 치료 원칙은 위산 분비의 억제이고, 위산 분비를 억제하는 대표적인 약물이 H₂ 수용체 길항제와 프로톤 펌프 억제제인데, 이들 약제는 위산분비 억제를 통해 비교적 높은 치료효과를 나타내는 것으로 보고되었다. 하지만 H₂ 수용체 길항제는 내성이 빠르게 유발되고 약 중단시 위산 분비가 급격히 증가하는 문제가 있었다.¹¹ 프로톤 펌프 억제제의 경우에는 장기 사용시 다양한 부작용의 위험성 증가가 보고되었는데, 위 용종, 폐렴이나 *Clostridium difficile* 감염의 위험을 높이는 것으로 보고되었다.¹²⁻¹⁴ 또한 간경화가 동반된 환자에서는 자발성 복막염의 위험과 사망률을 높였다.¹⁵ 게다가, 알코올은 그 자체로서 혈중 가

스트린 농도를 높이지 않아서, 알코올 섭취시 위산에 의한 점막 손상은 그 역할이 적다.¹⁶ 즉, 알코올에 의한 위 점막 손상의 치료에 있어서 프로톤 펌프 억제제와 같은 약물은 유용하지 않을 것으로 보인다. 따라서, 알코올에 의한 위 점막 손상으로부터 위를 보호하기 위한 새로운 약제의 개발이 요구되는 현 상황에서, 본 연구를 통해 TUDCA가 알코올 유발 위염 모델에서 위염에 대한 예방적 효과를 가짐을 그 병태생리와 기전과 함께 확인할 수 있었다. 또한, NSAID 유발 위염 모델에서도 TUDCA가 예방적 효과를 가짐을 함께 확인할 수 있었다.

결론적으로, 본 연구의 결과는 TUDCA가 알코올 또는 NSAID에 의한 위염의 예방 목적으로 사용될 수 있는 가능성을 제시하며, 향후 임상 연구 수행의 계기가 될 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

1. Jung HK, Jang B, Kim YH, et al. [Health care costs of digestive diseases in Korea]. The Korean journal of gastroenterology = Taehan Sohwagi Hakhoe chi 2011;58:323-31.
2. Lanas A. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and cyclooxygenase inhibition in the gastrointestinal tract: a trip from peptic ulcer to colon cancer. The American journal of the medical sciences 2009;338:96-106.
3. Laukens D, Devisscher L, Van den Bossche L, et al. Tauroursodeoxycholic acid inhibits experimental colitis by preventing early intestinal epithelial cell death. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology 2014;94:1419-30.
4. Amaral JD, Viana RJ, Ramalho RM, Steer CJ, Rodrigues CM. Bile acids: regulation of apoptosis by ursodeoxycholic acid. Journal of lipid research 2009;50:1721-34.
5. Ota S, Tsukahara H, Terano A, et al. Protective effect of tauroursodeoxycholate against chenodeoxycholate-induced damage to cultured rabbit gastric cells. Digestive diseases and sciences 1991;36:409-16.
6. Piepoli AL, Caroppo R, Armentano R, Caruso ML, Guerra V, Maselli MA. Tauroursodeoxycholic acid reduces damaging effects of taurodeoxycholic acid on fundus gastric mucosa. Archives of physiology and biochemistry 2002;110:197-202.

7. Park JM, Han YM, Kangwan N, et al. S-allyl cysteine alleviates nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric mucosal damages by increasing cyclooxygenase-2 inhibition, heme oxygenase-1 induction, and histone deacetylation inhibition. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2014;29 Suppl 4:80-92.
8. Kim JM, Kim SH, Ko SH, et al. The guggulsterone derivative GG-52 inhibits NF-kappaB signaling in gastric epithelial cells and ameliorates ethanol-induced gastric mucosal lesions in mice. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology* 2013;304:G193-202.
9. Jobin C, Sartor RB. The I kappa B/NF-kappa B system: a key determinant of mucosal inflammation and protection. *American journal of physiology Cell physiology* 2000;278:C451-62.
10. Berger E, Haller D. Structure-function analysis of the tertiary bile acid TUDCA for the resolution of endoplasmic reticulum stress in intestinal epithelial cells. *Biochemical and biophysical research communications* 2011;409:610-5.
11. Fackler WK, Ours TM, Vaezi MF, Richter JE. Long-term effect of H2RA therapy on nocturnal gastric acid breakthrough. *Gastroenterology* 2002;122:625-32.
12. Sarkar M, Hennessy S, Yang YX. Proton-pump inhibitor use and the risk for community-acquired pneumonia. *Annals of internal medicine* 2008;149:391-8.
13. Janarthanan S, Ditah I, Adler DG, Ehrinpreis MN. Clostridium difficile-associated diarrhea and proton pump inhibitor therapy: a

meta-analysis. *The American journal of gastroenterology* 2012;107:1001-10.

14. Choudhry U, Boyce HW, Jr., Coppola D. Proton pump inhibitor-associated gastric polyps: a retrospective analysis of their frequency, and endoscopic, histologic, and ultrastructural characteristics. *American journal of clinical pathology* 1998;110:615-21.

15. Kwon JH, Koh SJ, Kim W, et al. Mortality associated with proton pump inhibitors in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2014;29:775-81.

16. Singer MV, Leffmann C, Eysselein VE, Calden H, Goebell H. Action of ethanol and some alcoholic beverages on gastric acid secretion and release of gastrin in humans. *Gastroenterology* 1987;93:1247-54.

Abstract

Introduction: The causes of gastric mucosal injury are various, and gastritis is one of the most common digestive diseases. Alcohol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are common causes of gastritis. Tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) has been shown to inhibit experimental colitis by preventing intestinal epithelial cell death. Protective effects of TUDCA on gastric epithelial cells have been reported in some animal models, but the precise mechanisms have not been elucidated. In this study, we aimed to investigate the effects of TUDCA on NF- κ B signaling in gastric epithelial cells. We also aimed to evaluate the protective effects of TUDCA in experimental gastritis models induced by alcohol and NSAIDs and compare with ursodeoxycholic acid (UDCA).

Methods: Human gastric epithelial MKN-45 cell lines were cultured. After pretreatment with TUDCA or UDCA, cells were stimulated with TNF- α . Real time polymerase chain reaction (RT-PCR) for human IL-1 α and IL-1 β mRNA was performed. Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) was performed. Immunoblot analyses were performed. In models of murine gastritis, after pretreatment with TUDCA or UDCA, ethanol and indomethacin were administered by oral gavage. Macroscopic and microscopic assessment was performed to evaluate preventive effect of TUDCA and UDCA on murine gastritis.

Results: Pretreatment with TUDCA downregulated IL-1 α mRNA level in MKN-45 cells stimulated with TNF- α , as assessed by real-time RT-PCR. As determined by EMSA, pretreatment with TUDCA reduced the TNF- α -induced NF- κ B DNA binding activity. Pretreatment with TUDCA inhibited I κ B phosphorylation induced by TNF- α , as assessed by immunoblot analysis. TUDCA attenuated alcohol-induced and NSAID-induced gastritis in a murine model, as determined by macroscopic and microscopic assessment.

Conclusions: TUDCA was found to prevent alcohol-induced and NSAID-induced gastritis in a murine model. These results support the potential of TUDCA for the prevention of gastritis in human.

Keywords: gastritis, alcohol, NSAID, TUDCA, mouse

Student number: 2015 - 30807