

腦神經膠 星狀細胞로부터 종양괴사인자 알파의 生成에 있어서 聰明湯의 效果

원광대학교 한의과대학 신경정신과 교실

이종길 · 강형원 · 류영수

I. 緒 論

腦에 관한 記錄은 《素問·五臟別論篇》¹⁸⁾에 “或而腦髓爲臟 或而爲腑……故藏而不寫, 名曰奇恒之府”라고 하여 6개의 奇恒之府 중의 하나로 보았으며, 또한 內經에서는 “腎生骨髓”¹⁸⁾ “腦爲髓之海”¹⁹⁾라 하여 腦의 發生學的인 關聯性을 말하였으며 또한 腦를 腎의 生理作用의 發現 場所로 認識하였다^{7,14,30,50)}. 後世에 이르러 腦의 機能에 대한 認識이 進一步하여 李²⁹⁾는 “腦爲元神之府”라 하여 腦가 神을 總括하는 主體의인 器官임을 처음으로 主唱한 이래^{14,48)}, 王⁴⁹⁾은 “人之記性 皆屬腦中”이라 하여 腦의 記憶作用을 말하여 오늘날 西洋醫學의인 腦와 類似的인 概念으로 認識하였다^{14,21)}.

腦의 病理에 對해서는 《靈樞·海論篇》¹⁹⁾에 “髓海有餘 輕徑多力……髓海不足 腦轉耳鳴 脛痠眩暈……”라고 하여 腦髓의 充足與否에 따라 人體의 五臟六腑와 四肢百骸 그리고 五官九竅活動의 盛衰도 關係됨을 말하였다^{14,21,48)}. 腦의 구체적인 病症으로는 頭痛, 眩暈, 耳鳴, 失眠, 健忘, 知能低下, 痴呆 등이^{23,44,47)} 나타나고 그 主要原因에 對해서는 肝腎虛弱과 痰瘀라고 하였다^{5,52)}.

西洋醫學에서 腦의 認識은 人間이 가진 高度의 感覺 및 知覺, 運動과 技術, 思考力, 想像力, 言語能力 등을 主管하는 것으로 알려져 있다^{4,42)}. 한편 腦의 病理變化로는 甚한 彌滿性 腦萎縮과 腦神經細胞의 消失 등 器質的 變成과 腦의 各種 神經傳達物質의 減少 등 生化學的 變化를 招來함으로써 記憶力과 知能低下 등 高等精神活動에 障礙를 일으키는데 이는 人間의 老化로 인한 腦의 退行性 疾

患과 不可分의 關係를 가지고 있다^{12,38,24,36)}. 이 밖에도 流行性 腦炎과 같은 腦의 炎症性 病變등도 腦의 退行性 變化로 인한 痴呆의 原因 疾患으로 認識되고 있다^{26,41)}.

聰明湯은 《東醫寶鑑》 內景篇⁴¹⁾에 “多忘”을 治療한다고 收載되었고, 《醫部全錄》⁵⁴⁾에 “不善記而多忘者”를 治한다고 記載된 處方으로, 歷代醫家들은 聰明湯을 利用하여 記憶力 減退, 健忘 등의 病症을 治療하는데 活用되어 왔다⁵⁵⁾.

韓醫學에서 腦에 關한 研究에 對하여, 李²⁷⁾는 麝香이 損傷된 生쥐 腦組織에 對한 保護作用을, 崔⁴⁰⁾는 定志丸이 老化된 腦機能을 改善키고 神經細胞毒性에 防禦效果를, 우²⁰⁾는 調胃升清湯을 白鼠에 投與하여 學習과 記憶을 增進시키는 效果가 있음을 報告하였다. 그러나 腦神經膠細胞로부터 分泌된 炎症性 腦細胞活性物質을 利用한 具體的인 實驗報告는 아직 미흡한 實情이다²⁾.

神經傳達物質 및 神經由來의 炎症媒介物質로서 잘 알려져 있는 substance P (SP)^{65,66)}는 炎症性 細胞活性物質인 종양괴사인자 알파 (Tumor necrosis factor- α , TNF- α), 인터루킨-1 (Interleukin -1, IL-1)^{64,67)} 및 인터루킨-6 (Interleukin-6, IL-6)⁶⁷⁾의 生成을 유발하고 中樞神經系의 損傷에 의한 SP 수용체 數의 增加에 影響을 미친다⁷¹⁾.

따라서 本 研究에서는 먼저 腦 星狀細胞를 利用하여 SP와 LPS에 의해 誘導되는 TNF- α 의 分泌量의 調節을 檢討한 후, 이어서 腦 星狀細胞에 SP와 LPS를 同時에 刺戟할 때 聰明湯 수침액의 첨가에 의한 炎症性 細胞活性物質인 TNF- α 와 IL-1의 抑制 效果 및 그 기전을 알아보기 위한 實驗을 修行하여 臨床의 重要性을 暗示하는 結果

를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 實驗材料

(1) 試藥 : SP, LPS, penicillin/streptomycin, LiCl, urea 는 Sigma Chemical Co. (Chicago, IL)에서 구입하였다. Mouse rTNF- α , polyclonal anti-mouse IL-1 α 및 antimouse TNF- α 는 Genzyme (Cambridge, MA)에서 구입하였다. Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), 우태아혈청은 Life Technologies (Grand Island, NY)에서 구입하였다.

(2) 實驗動物 : 一次 神經膠細胞 (primary glial cell) 培養을 위한 實驗動物은 6~8주령의 Balb/c계 임신한 생쥐를 대한실험동물센터(음성, 충북)에서 구입한 다음 출산된 지 2~3일이 경과된 신생 생쥐를 使用하였다.

(3) 聰明湯 수침액의 調製 : 本 實驗에 使用한 聰明湯은 圓光大學校 韓醫科大學 附屬 益山韓方病院에서 구입한 後 정선하여 약탕기에 適量의 蒸溜水를 넣고 약 3時間 다려서 調製하였다. 調製한 수침액은 濾過하여 냉동 건조한 다음 4C에 보관하여 實驗時 使用하였다.

2. 實驗方法

(1) 생쥐 腦의 星狀細胞 培養: 1차 腦의 神經膠細胞 培養은 Fontana 등⁽⁶⁾의 方法에 따랐다. 즉 生後 2~3일째 되는 새끼 생쥐의 腦膜을 제거한 후 腦를 적출하여 파이펫으로 교반하며 잘게 부수어 分離하였다. 分離하여 얻은 細胞는 20% 우태아혈청을 포함하는 DMEM 培養液에 부유시켜 직경 100 mm의 細胞培養用 petri-dish에 분주하여 3일마다 새로운 培養液을 添加해 주면서 3주동안 37C, 5% CO₂ 조건 的 培養기에서 培養하였다. 培養 10일째에, 培養 dish에 부착된 神經膠細胞는 0.25% Trypsin-0.05% EDTA를 처리하였다. 상정액을 제거한 후 조직 培養 plate에 한 well당 4 × 10⁵ cell을 분주하여 CO₂ 배양

기에서 3일 동안 培養하였다. 이상의 조건으로 分離한 細胞는 95%이상이 星狀細胞로 구성되어 있다. 星狀細胞 培養液에 LPS (1 μ g/ml), SP (1 μ M) 또는 聰明湯 수침액을 처리하여 實驗하였다.

(2) SP 製造 : SP 용액에 LPS 등의 오염이 되지 않도록 특별한 주의를 하면서 다음과 같이 제조하였다. 펩타이드 SP를 0.01% acetic acid에 용해하였다. Acetic acid는 glacial acetic acid를 1/10,000로 희석한 다음 0.2- μ m filter로 여과하였다. SP 저장용액 (1 mM)은 -20C에 보관하여 使用 직전에 내독소가 없는 증류수에 희석하여 使用하였다.

(3) TNF- α 測定 : 培養液內 生成된 TNF- α 의 測定은 Scuderi 등⁽⁷⁾이 記述한 方法에 準하여 약간 變형된 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)로 실시하였다. 즉 anti-murine TNF- α capture mAb는 flat-bottomed 96-well plate (Corning, Rochester, NY)에 coating buffer (0.02% sodium azide를 함유한 PBS, pH = 7.2)를 이용하여 각 well당 최종농도 6.25 ng으로 처리한 후 4C에서 12시간 동안 코팅하였다. 코팅 후, 비특이적 결합부위를 막기 위하여 2% BSA를 함유한 PBS로 구성된 blocking buffer를 첨가하여 37C에서 2시간 동안 blocking하였다. 다시 0.05% Tween 20을 함유한 PBS로 조성된 washing buffer로 4회 세척 후 recombinant mouse TNF- α 표준액과 각 sample의 배양 상정액을 각 well에 100 μ 씩 가하여 37C에서 2시간 동안 培養하였다. 다시 0.05% Tween 20을 함유한 PBS로 4회 세척 후 rabbit anti-murine TNF- α 를 1% BSA를 함유한 PBS를 이용하여 7.8 ng/ml 농도로 희석한 후 well에 처리하여 37C에서 2시간 동안 培養하였다. 다시 washing buffer로 7회 세척 후 phosphatase가 결합된 goat anti-rabbit IgG (Sigma Co.)를 100 ng/ml 농도로 각 well에 처리한 다음 37C에서 2시간 培養한 후 7회 세척하였다. 마지막 세척 후 0.05 M NaHCO₃와 0.05 mM MgCl₂로 조성된 buffer에 용해시킨 pnitro phenyl phosphate (PNPP) 발색제를 100 μ 씩 각 well에 가하여 10분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader

를 利用하여 405 nm 파장에서 TNF- α 의 量을 測定하였다.

(4) IL-1 測定 : 生物學的으로 活性있는 IL-1의 量은 TNF- α 測定法과 같은 方法으로 測定하였다.

(5) 統計學的 分析 : 모든 자료는 means \pm S.E.로 나타내었으며, 統計學的 分析은 student's *t*-test로 행하였다. 유의수준은 $P < 0.05$ 로 하였다.

III. 實驗成績

1. 腦 星狀細胞로부터 TNF- α 分泌에 對한 LPS와 SP의 上昇 效果

著者は LPS와 SP 처리조건에 따른 腦 星狀細胞로부터 TNF- α 의 分泌量을 조사하였다(Table. I). SP 혹은 LPS 단독 처리에 의해서는 星狀細胞로부터 TNF- α 의 分泌에 큰 영향을 미치지 못하였지만, LPS와 SP를 동시에 처리했을 때는 LPS 단독 처리시 보다 약 2.5 배가 증가하였다. 이미 알려진 바와 같이 腦 小膠細胞도 神經膠細胞이지만 LPS를 처리하였을 경우에 약간의 TNF- α 의 分泌만을 자극했으며, LPS와 SP를 동시에 가하고 培養하여도 TNF- α 의 分泌量은 현저하게 증가하지 않았다. 따라서 본 연구에서는 腦 星狀細胞를 利用하여 聰明湯 수침액에 의한 TNF- α 의 分泌에 미치는 영향을 연구하였다(Table. I).

Table. I. Effect of LPS and/or SP on TNF- α secretion by mouse astrocytes

Treatment		TNF- α secretion (ng/ml)
LPS	SP	
-	-	0.63 \pm 0.05
+	-	0.154 \pm 0.008
-	+	-0.001 \pm 0.003
+	+	2.691 \pm 0.027*

Astrocytes fraction (2×10^5 cells/well) were isolated as described in Materials and methods. The fractions were incubated for 18h in medium alone or in medium containing LPS (1 μ g/ml) and/or SP (1 μ M). The supernatants were collected and frozen at -80°C until assayed for TNF- α bioactivity. Each datum value indicates the mean \pm S.E. of three separated experiments. *: statistically significant differences from the control values (medium alone values) at $P < 0.05$.

2. 腦 星狀細胞로부터 LPS와 SP에 의하여 誘導되는 TNF- α 에 對한 聰明湯 수침액의 抑制 效果

腦 星狀細胞로부터 LPS와 SP에 의해 유도되는 TNF- α 의 分泌에 있어서 聰明湯 수침액의 抑制 效果를 Fig. 1 에 나타내었다. 聰明湯 수침액은 1, 10 μ g/ml의 농도에서 LPS와 SP에 의해 유도되는 TNF- α 의 分泌량을 현저하게 감소시켰다 ($P < 0.05$). 그러나 聰明湯 수침액 100 μ g/ml 농도에서는 현저한 效果를 나타내지 않았다.

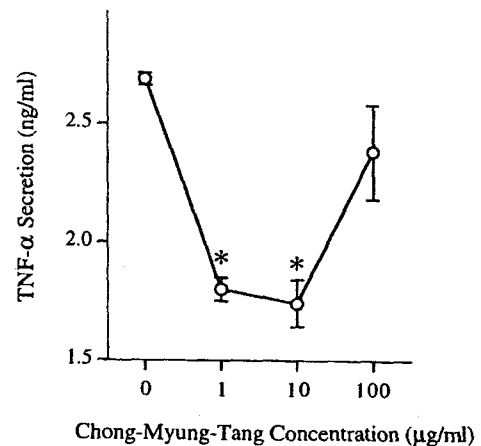


Fig. 1. Effect of Chong-Myung-Tang on LPS and SP induced TNF- α secretion in astrocytes.

The cells (2×10^5 cells/well) were incubated for 18 h in medium containing LPS (1 μ g/ml) plus SP (1 μ M)

with various concentrations of Chong-Myung-Tang and the supernatants were collected and frozen at -80°C until assayed for TNF- α bioactivity. Each datum value indicates the mean \pm S.E. of five separated experiments. *: statistically significant differences from the control values at $P < 0.05$.

3. 腦 星狀細胞로부터 IL-1 분비에 對한 LPS 와 SP의 上昇 效果

다음 實驗으로 著者は 또 하나의 炎症性 細胞活性物質 로 잘 알려진 IL-1의 생성여부를 實驗하기 위하여, LPS 혹은 SP 단독 그리고 두 物質을 同時에 처리한 腦 星狀 細胞의 培養 상정액에서 IL-1을 測定하였다. Table. 2에 나타낸 바와같이, LPS와 SP를 동시에 처리한 星狀細胞로 부터 IL-1의 分泌는 上昇의 으로 현저하게 증가시켰는데 ($P < 0.05$), 이러한 결과는 Lubet-Narod 등의 보고와도 일치한다²⁰⁾.

Table. II. Effect of LPS and/or SP on IL-1 secretion by astrocytes

Treatment		IL-1 secretion (ng/ml)
LPS	SP	
-	-	0.072 \pm 0.007
+	-	0.180 \pm 0.016
-	+	0.009 \pm 0.002
+	+	2.355 \pm 0.163*

The cells (2×10^5 cells/well) were incubated for 18h in medium alone or in medium containing LPS ($1 \mu\text{g/ml}$) and/or SP ($1 \mu\text{M}$). The supernatants were collected and frozen at -80°C until assayed for TNF- α bioactivity. Each datum value indicates the mean \pm S.E. of three separated experiments. *: statistically significant differences from the control values (medium alone values) at $P < 0.05$.

4. 腦 星狀細胞로부터 LPS와 SP에 의하여 誘導되는 IL-1에 對한 聰明湯 수침액의 抑制 效果

다음은 직접적으로 聰明湯 수침액이 腦 星狀細胞로부터 IL-1의 分泌에 미치는 影響을 實驗하기 위해 LPS, SP 및 약물을 다양한 조건으로 처리하여 IL-1의 分泌量을 測定하였다. Fig. 2에 나타낸 바와 같이 聰明湯 수침액은 1, 10 $\mu\text{g/ml}$ 에서 腦 星狀細胞로부터 현저하게 IL-1의 分泌量을 抑制하였는데 ($P < 0.05$), 聰明湯 수침액 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서는 腦 星狀細胞로부터 IL-1의 分泌를 현저하게 抑制시키지 못하였다.

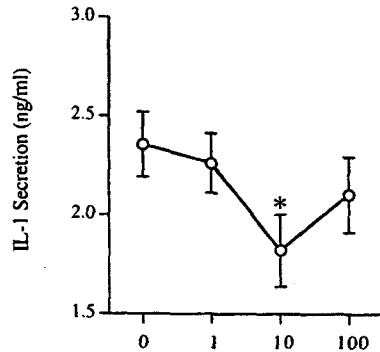


Fig. 2. Effect of Chong-Myung-Tang on LPS and SP induced IL-1 secretion in astrocytes.

The cells (2×10^5 cells/well) were incubated for 18h in medium containing LPS ($1 \mu\text{g/ml}$) plus SP ($1 \mu\text{M}$) with various concentrations of Chong-Myung-Tang and the supernatants were collected and frozen at -80°C until assayed for IL-1 bioactivity. Each datum value indicates the mean \pm S.E. of five separated experiments. *: statistically significant differences from the control values at $P < 0.05$.

5. 腦 星狀細胞로부터 TNF- α 의 分泌에 對한 IL-1 항체의 抑制 效果

마지막으로, 腦 星狀細胞로부터 聰明湯 수침액에 對한

TNF- α 의 分泌 抑制 效果가 IL-1 매개성 경로인가를 분석하기 위하여, 腦 星狀細胞에서 IL-1 β 항체의 效果를 실험하였다. 腦 星狀細胞 培養液에 LPS (1 μ g/ml)와 SP (1 μ M)를 처리한 다음 IL-1 β 항체를 첨가하여 18시간 후에 TNF- α 分泌量을 測定하였다(Fig. 3). Fig. 3에 나타낸 바와 같이 IL-1 β 항체를 처리한 군은 농도 의존적으로 TNF- α 分泌量은 감소하였는데, IL-1 β 항체에 의한 腦 星狀細胞로부터 TNF- α 의 分泌 抑制 效果는 10, 100 μ g/ml 농도에서 현저하였다 ($P < 0.05$).

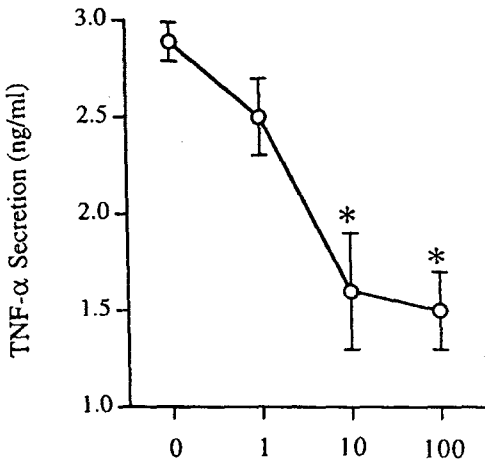


Fig. 3. Effect of IL-1 antibody on LPS and SP induced TNF- α secretion in astrocytes.

The cells (2×10^5 cells/well) were incubated for 18h in medium containing LPS (1 μ g/ml) plus SP (1 μ M) with various concentrations of IL-1 antibody. The supernatants were collected and frozen at -80°C until assayed for TNF- α bioactivity. Each data value indicates the mean \pm S.E. of three separated experiments. *: statistically significant differences from the control values at $P < 0.05$.

IV. 考 察

人口增加와 人類의 平均壽命 年長으로 老齡人口가 점

점 增加하게 됨에 따라 腦의 退行性 變化로 인한 疾患을 비롯한 여러 가지 의학적 문제점들이 社會問題로 대두되고 있다^{25,26}.

韓醫學에서 腦에 對한 認識은 內經에서 奇恒之府¹⁸⁾ 또는 髓之海¹⁹⁾라 하여 獨立된 器官이 아닌 臟腑의 機能이 발현되는 被動的인 器官으로 照明되어 왔다¹⁴⁾. 그러나 以後 시대적인 變遷過程을 걸치면서 精神·意識·思惟活動과 腦와의 關係에 對한 研究가 深化되면서 腦가 神을 總括하는 主體的인 器官으로도 理解되고 있다¹⁴⁾.

腦의 生理機能에 關하여 《靈樞·經脈篇》¹⁹⁾에 “人始生, 先成精, 精成而腦髓生”이라 하여 腦髓의 生成이 先天之精에 根源을 두고 있음을 말하였고, 韓醫學에서 腎은 先天之本으로 精을 藏하고 主骨生髓하므로 결국 腦는 腎精의 부단한 生化에 依存하여 成長·發育·老化한다는 것을 알 수 있다^{21,48,50)}. 또한 《靈樞·五癯津液別論》¹⁹⁾에 “五穀之津液 和合爲膏者 內滲于骨空 補益腦髓……”라 하여 腎의 先天之精 뿐만 아니라 水穀精微의 後天之精도 腦髓의 盛衰에 重要하게 作用하고 있음을 말하였다^{48,50)}.

한편 腦의 精神機能에 對해서는 《素問·脈要精微論》¹⁸⁾에 “頭者 精明之府”라 하였는데 즉 精明이란 神明을 意味하며 頭는 腦의 外廓을 말하고 腦는 頭의 中心處로 神明을 藏하기 때문에 “精明之府”라 하였다²¹⁾. 아울러 後世에 腦에 對한 認識이 進一步하여 明代 李時珍²⁹⁾은 “……腦爲 元神之府 而鼻爲命門之竅”라 하여 腦가 神을 總括하는 主體的인 器官임을 처음으로 主張하였고^{43,71)}, 清代 王清任⁴¹⁾은 “人之記性 皆屬腦中” “小兒無記性者 腦髓未滿 高年無記性者 腦髓漸空”이라 하여 사람의 精神·思惟活動과 腦의 記憶과의 關係가 關連이 있음을 말하여 오늘날 西洋醫學의 腦와 類似的인 認識을 하였다^{14,21)}. 이와같은 意味는 腦를 精髓의 集合處로 보아 腎에 歸屬시킴으로써 西醫學의 으로 밝혀진 記憶 등 精神活動이 中樞로서의 腦의 理論과 韓醫學에서 記憶作用을 腎 또는 腎에서 藏하는 精에 歸屬시키는 理論사이의 間隔을 說明하고 있는 것이다⁷⁾.

그러므로 腦는 全身을 統管하고 人體의 五臟六腑와 四肢百骸 및 五官九竅^{14,48)}의 機能活動과 生理·病理變化를 主宰하므로 腦의 機能의 正常與否가 整體生命活動의 進行과 關係가 깊다. 따라서 腦의 病變은 위와 같은 生理機能의 障礙나 失調로 나타나는데 이는 腦髓가 腎精으로부터

化生한 것에 依存하므로 나이가 많아지면 腎精의 虧虛로 髓海不足을 惹起하여 腦髓가 漸次로 空虛해져 腦의 機能이 失調되거나 減退되어 神識衰弱, 智力減退, 視·聽 및 言語應答遲鈍, 肢體活動不便 或 痿弱不用 등의 病理表現이 나타난다^{8,9,21}. 즉, 《素問·脈要精微論》¹⁸에서 “頭傾視深 精神將奪”이라 하고, 《靈樞·海論篇》¹⁹에서 “髓海有餘 輕徑多力 自過其度 髓海不足 腦轉耳鳴 脛痠眩冒 目無所見 懶怠安臥”라고 하여 腦髓의 充足與否에 따라 精神 및 身體의 生理活動의 盛衰도 關係됨을 말하였으며^{14,21}, 만약 腦의 이런 機能이 失調되거나 減退되면 頭痛, 眩暈, 耳鳴, 失眠, 健忘 등의 症狀^{23,44,47} 나타나고,甚하면 知能低下, 痴呆 등을 發한다고 하였으며^{21,47,50}, 그 主要原因에 對해서는 肝腎虛弱과 痰瘀라고 하였다^{5,52}.

韓醫學에서 腦에 關한 研究로는 健忘³⁹, 記憶障礙²², 痴呆^{5,13,26,35,43} 등을 中心으로 활발히 進行되고 있다. 이 가운데 최근 社會問題로 대두되고 있는 痴呆에 對한 臨床研究로는, 鄭 등³⁵이 痰瘀同治로 善忘, 痴呆 등의 腦萎縮에 有效한 效果를 보았다고 하였고, 徐⁴⁶는 補腎活血化痰法으로 老年性 痴呆 患者의 記憶力과 認知機能을 改善했다고 하였으며, 裴¹¹는 體質醫學의 研究를 통해 老年性 痴呆 환자 중 少陽人이 四象體質 中에 最高의 有病率을 보인다고 發表한 바 있고, 최근 黃 등⁴³이 痴呆에 對한 體質醫學의 治療로 우수한 治療效果를 보았다고 하였으며 그의 많은 臨床報告가 中國^{44-47,51,53}과 국내⁶에서 나오고 있지만 이를 뒤받침하는 具體的인 實驗報告^{2,12,16,20,40}는 아직 未洽한 實情이다.

大腦皮質을 侵犯하는 代表的인 退行性 疾患은 알츠하이머병과 피크병이고, 이들은 包括적으로 痴呆라고 부른다. 痴呆는 意識이 淸명한 狀態에서 全般的인 認知機能의 障礙를 나타내는 疾患으로 보통 慢性, 또는 進行性 腦疾患에 의해 發生되며 記憶, 思考, 指南力, 理解, 計算, 學習, 言語, 判斷 등 多數의 高位大腦機能에 障礙가 나타나는 症候群이다¹⁰. 痴呆는 여러 原因에 의해 發病할 수 있는데 痴呆를 惹起하는 原因疾患으로는 腦의 萎縮性 變化, 腦血管障礙, 梅毒이나 流行性 腦炎과 같은 腦의 炎症性障礙, korsakoff 症候群과 같은 代謝性 內分泌疾患, 腫瘍, 外傷, 中毒 등이며 이중 腦萎縮性變化에 의한 老年痴呆와 腦血管性 痴呆가 많은 比率을 차지하고 있다²⁶.

韓醫學에서 痴呆라는 病名은 張景岳의 《景岳全書》雜

病謨³³에서 처음 言及된 이후, 呆病^{34,37,38}, 癡狂^{32,45}, 健忘^{3,31,32}, 虛勞¹⁵ 등의 範疇에서 다루어졌으며⁶⁷ 主要原因으로는 鄭 등³⁵이 痰飲, 七情傷, 稟賦不足, 肝腎不足으로 크게 나누었고. 郭 등⁴⁴은 年老氣衰, 久病, 或은 內風卒中, 外傷頭腦, 或은 邪毒內竄 등으로 腦絡이 痰瘀로 凝結되면 善忘, 痴呆 등의 症狀를 發한다고 하였다. 陳³⁷은 呆病의 主要原因을 痰으로 보았고, 최근 張⁵¹도 呆從痰治로 治療하는 藥物을 使用하여 痴呆를 治療하였다고 報告하였다. 이와같이 人間의 老化和 腦의 退行性 病變과 관련되어 있는 痴呆의 病因病機은 臟腑적으로는 肝腎不足이 重要하게 作用하고 痰의 生成이 腦에 停滯됨으로 인해 各種 症狀이 나타나는 것임을 알 수 있다⁵.

한편 腦疾患에 있어서 主要한 原因으로 작용하는 痰은 水液代謝障礙로 形成된 비고적 粘濁한 病理產物로, 痰濁이 上擾하면 淸竅를 蒙蔽하여 頭昏目眩, 精神不振하고 痰迷心竅하거나 痰火擾心하면 心神被蒙하여 神昏譫妄, 癡狂, 癲, 痴呆 등의 病症이 일어난다고 하였다⁹.

聰明湯은 記憶力 減退, 健忘 등 神志不安의 病證에 應用되어 왔다^{41,54,55}. 本方은 白茯神, 遠志, 石菖蒲 등 3가지 藥物로 構成되었는데, 白茯神은 甘, 平하여 寧心安神, 利水滲濕, 健脾補中시키고, 遠志는 苦, 辛, 溫하여 安神益智, 鎮心, 祛痰利竅시키는 效能이 있으며, 石菖蒲는 辛, 溫하여 開竅安神, 化痰濕, 和中辟濁의 效能이 있어^{1,26,17}, 本方은 安神定志시키는 處方으로 神志類 疾患에 多用하고 있는 바, 記憶力減退를 爲主로 한 精神活動障礙의 症狀이 나타나는 痴呆 등 腦의 退行性疾患에 活用할 수 있을 것으로 思慮된다. 聰明湯에 對한 實驗報告로는 徐¹²가 老화된 腦의 生化學的 變化에 影響을 미쳐 痴呆 등의 退行性 腦疾患에 效果가 있는 것으로 報告한 것이 전부이다.

일반적으로 알츠하이머병, 다발성 경화증, 에이즈 梅毒이나 流行性 腦炎과 같은 腦의 炎症性障礙 등은 腦의 退行性 變化로 인한 痴呆의 原因 疾患들로 認識^{26,40}되고 있는데 이런 다양한 神經病理疾患에는 細胞活性物質들이 關與하는 것으로 알려져 있다^{57,58,77}. 腦의 萎縮性變化에 의한 神經病理疾患 中에서 알츠하이머병은 TNF- α 와 IL-1이 腦脊髓液에 增加되어 있고^{57,58,62,77}, 주조직적합항원의 비정상적 발현이 나타나며⁷³, 또한 IL-1은 알츠하이머병 발병과 관계가 깊은 β -amyloid 유전자의 발현을 촉진시킨

다⁶¹⁾. SP는 中樞神經系에 광범위하게 분포되어 있는데 TNF- α , IL-1, IL-6와 같은 炎症性 細胞活性物質의 生成을 刺戟하여 中樞神經系의 炎症進行에 影響을 미치는 것으로 알려져 있다⁶⁶⁾.

腦에서 가장 많은 神經膠細胞인 星狀細胞는 中樞神經系에서 균형된 항상성 환경의 유지를 위하여 중요한 기능을 하고 있는데⁶⁹⁾, 그 이유는 星狀細胞가 면역 적응세포로서 기능을 수행할 수 있는 것은 다양한 면역조절 細胞活性物質을 합성하고 또 그들과 반응할 수 있는 능력이 있기 때문이다^{66,70)}. 腦 星狀細胞는 리포다당질, 바이러스 등에 반응하여 TNF- α , IL-1 등을 分泌한다. 다발성경화증에서 TNF- α 는 乏枝神經膠(oligodendrocyte)를 사멸시키고 髓鞘(myelin)을 파괴시킬 것으로 생각하고 있다⁶⁹⁾. 에이즈와 관련된 痴呆(dementia) 患者에 있어서도 腦脊髓液에 이들 物質이 역시 增加되어 있고⁷²⁾ 비정상적인 구조적 적합항원의 발현이 일어나며⁶³⁾, TNF- α 는 培養한 腦 小膠細胞에서 HIV-1의 발현을 增加시킨다⁷⁷⁾.

따라서 臨床에서 記憶力 減退, 健忘 등의 精神·神經系統疾患에 多用되고 있는 聰明湯의 腦疾患에 對한 效能 與否를 알아보고자 먼저 本 實驗에 착수하게 되었다. 이에 著者는 聰明湯 수침액이 腦 星狀細胞로부터 LPS와 SP의 同時刺戟에 의해 生成되는 炎症性 細胞活性物質인 TNF- α 및 IL-1의 分泌를 유의성있게 抑制하는 것을 觀察하였다(Fig. 1, 2). 또한 腦 星狀細胞로부터 TNF- α 및 IL-1의 分泌에는 LPS의 刺戟이 필요하고 SP에 의해 刺戟이 더욱 增加되는 것을 확인하였다. Torrens 등⁷⁶⁾의 보고와 같이 本 實驗에서도 一次 混合 神經膠細胞에서 SP의 결합부위를 발견했으나, 腦 小膠細胞에서는 SP의 수용체를 검출할 수 없었다. 이러한 결과는 SP 수용체가 腦의 星狀細胞에 있다는 것을 意味한다. 本 研究의 결과는 小膠細胞에서는 SP의 反應性이 관찰되지 않았기 때문에 이들 결과와 일치하고 있다. 그러나 SP 단독으로는 腦 星狀細胞로부터 TNF- α 및 IL-1의 分泌에 影響을 미치지 못하였다. 腦 星狀細胞로부터 SP에 의한 IL-1의 分泌 增加 역시 LPS의 同時刺戟에 의해서 上昇의인 效果를 나타내었다(Table I).

聰明湯 수침액에 의한 腦 星狀細胞로부터 TNF- α 의

分泌 抑制 效果가 IL-1 매개성 경로인가를 分析하기 위하여 腦 星狀細胞에서 IL-1 β 항체의 效果를 실험하였는데, IL-1 β 항체의 抑制 效果는 10 - 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 현저하였다($P < 0.05$). IL-1 항체에 의해 SP 유도성 TNF- α 分泌의 增加가 抑制되기 때문에 IL-1은 TNF- α 增加를 매개하는 役割을 하는 것으로 思料된다(Fig. 3). 이와같은 결과는 SP가 中樞神經系의 神經에서 生成되는 神經傳達物質로서 炎症反應에 關與하는 중요한 분자임을 意味하는 證據이다. 최근 Sharief 등⁷⁵⁾은 활성화상태(active) 다발성경화증 患者의 腦脊髓液에 存在하는 TNF- α 의 양이 안정상태(stable) 다발성경화증 患者 및 정상 대조군보다 현저히 높은 수준인 것을 報告하였다. 이러한 발견은 활성화상태(active) 다발성 化증에서 병리학적인 변화를 TNF- α 의 測定에 의해 인식할 수 있는 중요한 지표를 제공해 준다. 또한 TNF- α 는 탈수초化(demyelination)에 있어서 중요한 役割을 하고 있음을 예상할 수 있다.

이상의 實驗結果를 종합하면 聰明湯 수침액이 腦 星狀細胞에서 TNF- α 分泌量은 물론 또 하나의 중요한 炎症性 細胞活性物質인 IL-1의 分泌量도 抑制하기 때문에 이에 對한 보다 더 많은 연구가 進行된 다음, 痴呆 등의 다양한 腦疾患의 臨床 應用이 可能할 것으로 생각된다.

V. 結 論

聰明湯 수침액이 腦 星狀細胞로부터 炎症性 細胞活性物質의 生成 調節에 미치는 影響을 實驗한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 腦 星狀細胞에 LPS와 SP를 각자 刺戟 했을 때보다 동시에 刺戟했을때, TNF- α 및 IL-1 分泌量이 가장 크게 增加되는 것을 確認하였다.
2. 聰明湯 수침액 1, 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 濃度에서, 腦 星狀細胞로부터 LPS와 SP의 刺戟에 의하여 生成되는 TNF- α 및 IL-1의 分泌를 현저히 抑制하였으나($P < 0.05$), 聰明湯 수침액 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 濃度에서는 현저한 效果를 나타내지 않았다.

3. 聰明湯 수침액에 의한 腦 星狀細胞로부터 TNF- α 의 分泌 抑制 效果는 IL-1의 媒介에 의해 일어났다.

聰明湯 수침액은 腦의 炎症을 일으키는 主要한 細胞活性物質의 生成을 抑制하였으므로, 各種 炎症性 腦 疾患 및 이로 인한 腦의 退行性 病變인 痴呆에 對해서도 臨床的 活用이 可能할 것으로 생각되며 向後 이에 대한 지속적인 研究가 進行되어야 할 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 康秉秀外 : 本草學, 서울, 永林社, pp.302-303, 496-497, 523-524, 531-533, 1995.
2. 姜亨沅 : 天門冬에 의한 腦神經膠細胞로부터 炎症性 細胞活性物質 分泌의 抑制 效果, 圓光大學校 大學院 碩士論文, 1997.
3. 龔廷賢 : 增補萬病回春, 서울, 一中社, pp.229-230, 1994.
4. 金基錫譯, Richard F. Thompson著 : 腦, 서울, 星苑社, pp.28, 35.
5. 金利和外 : 痴呆治療의 最近 研究動向에 關한 考察, 大韓鍼灸學會誌, 14 (2):115-126, 1997.
6. 金保罔外 : Alzheimer型 痴呆患者 2例에 對한 臨床的 考察, 서울, 東醫神經精神科學會誌, 8(2):97-106, 1997.
7. 金完熙外 編著 : 東醫生理學, 서울, 慶熙大學校 出版局, p.384, 1993.
8. 金진수 : Alzheimer's disease의 神經화학적 變化에 關한 高찰, 大韓神經科學會誌, 3(1):10-15, 1985.
9. 文濬典外 : 東醫病理學, 서울, 高文社, p.73, 215-216, 1990.
10. 배영철外 : 老人醫學, 서울, 高麗醫學, pp.193-209, 1996.
11. 裴旻星 : 老人性 痴呆에 關한 體質醫學的 研究, 大韓 韓醫學會誌, 13(2): 101-106, 1992.
12. 徐敏華 : 聰明湯이 腦組織의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 實驗的 研究, 圓光大學校 大學院 博士論文, 1997.
13. 徐政烈外 : 痴呆에 對한 東西醫學的 文獻的 考察, 서울, 大韓鍼灸學會誌, 14(1):226-238, 1997.
14. 成弧慶 : 腦의 機能에 對한 臟象論的 考察, 서울, 大韓 韓醫學會誌, 16 (1):468-474, 1995.
15. 孫思邈 : 備急千急要方(卷四十), 서울, 杏林出版社, pp. 12-13, 1976.
16. 손정석 : 七福飲이 老化 白鼠 腦組織의 生化學的 變化에 미치는 影響, 東醫神經精神科學會誌, 8(2):25-38, 1997.
17. 辛民教 : 原色臨床本草學, 서울, 永林社, pp.166-167, 250-251, 370- 371, 374-375, 1991.
18. 楊維傑編 : 黃帝內經譯解(素問), 서울, 成輔社, pp.1-12, 42-61, 100- 103, 131-145, 206-211, 455-468, 701- 704, 1980.
19. 楊維傑編 : 黃帝內經譯解(靈樞), 서울, 成輔社, pp.84- 89, 104-145, 280-283, 1980.
20. 우주영 : 調胃升清湯이 暈吐의 방사형 미로 학습과 기억에 미치는 영향, 서울, 東醫神經精神科學會誌, 8(1): 69-79, 1997.
21. 柳道坤 : 東醫生理學講義, 益山, 圓光大學校出版局, pp. 267-270, 365- 377, 413-415, 506-507, 1996.
22. 柳泳秀外 : 記憶障礙에 關한 東·西醫學的 比較, 研究, 東醫神經精神科學會誌, 7(1):155-166, 1996.
23. 李京燮外 : 東醫心系內科學(上), 서울, 書苑堂, pp.36- 37, 43-44, 1995.
24. 이근후 : 精神科 영역에서의 痴呆, 大韓神經科學會誌, 3(1):25-27, 1985.
25. 이근후 : 최신심상정신의학, 서울, 하나의학사, pp.138, 216-228, 1988.
26. 李東垣外 : 痴呆에 關한 東西醫學的 比較 考察, 大韓 韓方內科學會誌, 16(1):2-5, 11, 14, 1995.
27. 李保英·姜錫峯 : 麝香이 생쥐이 腦損傷에 미치는 影響, 서울, 大韓韓醫學會誌, 16(2):299-311, 1995.
28. 李商仁外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp.151-153, 308-313, 419- 420, 426-428, 1990.
29. 李時珍 : 本草綱目, 서울, 高文社, pp.603-604, 1973.
30. 이원철外 : 內經에 나타난 腦의 考察, 서울, 大韓韓醫學會誌, 4(2):73- 77, 1983.
31. 李中樞 : 醫宗必讀, 서울, 一中社, pp.323-324, 1991.

32. 李挺：編註醫學入門(卷二)，서울，大成文化社，pp.180-182，1984.
33. 張介賓：張氏景岳全書，서울，翰成社，pp.610-611，1978.
34. 錢鏡湖：辨證奇門全書，서울，甘地出版社，pp.233-235，1990.
35. 鄭仁哲外：痴呆에 對한 文獻의 考察，東醫神經精神科學會誌，7(1)：77-94，1996.
36. 지재근：치매(Dementia)의 병리，大韓神經科學會誌，3(1)：5-9，1985.
37. 陣士鐸：國譯石室秘錄，서울，書苑堂，pp.102，1984.
38. 陳士鐸：辨證錄，서울，醫聖堂，pp.241-246，1989.
39. 崔龍坡：健忘의 辨證分型에 對한 研究，서울，大韓韓醫學會誌，17(1)：374-406，1996.
40. 崔龍坡：定志丸이 腦組織의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 實驗的 研究，圓光大學校 大學院 博士論文，1996.
41. 許 浚：東醫寶鑑，서울，南山堂，pp.98-99，1987.
42. 黃義完外：東醫神經醫學，서울，現代醫學書籍社，pp.256-257，262-264，266，269-271，1987.
43. 黃義完外：치매에 대한 한의학적 임상연구，서울，東醫神經精神科學會誌，7(1)：1-13，1996.
44. 郭宇鵬外：謝海洲治療腦萎縮經驗，北京，中醫雜誌，38(10)：586-587，1997.
45. 龔信：古今醫鑑，江西，江西科學技術出版社，pp.193-194，1990.
46. 徐恒旺：補腎活血化痰法治療老年性痴呆 32例，廣州省，《新中醫》編輯部，29(5)：55，1997.
47. 王乃石：益氣聰明湯治療腦血管神經性病變的 体会，湖北中醫雜誌，18(124)：41，1996.
48. 王彩霞：論腦爲元神之府，中醫函授通訊，16(2)：11-12，1997.
49. 王清任：醫林改錯，臺聯，國風出版社，pp.22-25，1975.
50. 李清福·劉渡舟 編著：中醫精神醫學，天津，天津科學技術出版社，pp.211-212，1988.
51. 張覺人：呆從痰治，上海，上海中醫藥雜誌，3：20-21，1995.
52. 張明准外：心-腦-神志病辨證論治，黑龍江科學技術出版社出版，pp.5-10，100-112，1988.
53. 趙學軍外：腦力康口服液治療血管性痴呆患者 神經心理障礙 47 例 臨床現察，廣州省，新中醫，29(11)：15-16，1997.
54. 陳羅雷等：古今圖書集成醫部全錄(第7冊)，北京，人民衛生出版社，p.2150，1983.
55. 彭怀仁：中華名醫方劑大全，北京，金盾出版社，p.748，1990.
56. Benveniste, E. N., Saparcio, S. M., Norris, J. G., Grenett, H. E. and Fuller, G. M. (1990) Induction and regulation of interleukin-6 gene expression in rat astrocytes. J. Neuroimmunol. 30, 201.
57. Brosnan, C. F., Selmaj, F. K. and Raine, C. S. (1988) Hypothesis: a role for tumor necrosis factor in immune-related demyelination and its relevance to multiple sclerosis. J. Neuroimmunol. 18, 87.
58. Fillit, H., Ding, W. H., Buce, L., Kalman, J., Altstiel, L., Lawlor, B. and Wolf-Klein, G. (1991) Elevated circulating tumor necrosis factor levels in Alzheimer's disease. Neuroscience Lett. 129, 318D.
59. Fontana, A., Frei, K., Bodmer, S. and Hofer, E. (1987) Immune-mediated encephalitis: on the role of antigen-presenting cells in brain tissue. Immunol. Rev. 100, 185.
60. Fontana, A., Kristensen, F., Dubs, R., Gemsa, D. and Webew, E. (1982) Production of prostaglandin E and an interleukin-1 like factor by cultured astrocytes and C-6 glioma cells. J. Immunol. 129, 2413.
61. Forloni, G., Demicheli, F., Giorgi, S., Bendotti, C. and Angeretti, N. (1992) Expression of amyloid precursor protein mRNAs in endothelial, neuronal and glial cells: modulation by interleukin-1. Brain Res. (Mol. Brain Res.) 16, 128.
62. Giffin, W. S., Stanley, L. C., Lung, C., White, L., MacLeod, V., Perott, L. J., White, C. L. and Araoz, C. (1989) Brain interleukin-1 and S-100 immunoreactivity

- are elevated in Down syndrome and Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 7611.
63. Koenig, S., Gendelman, H. E., Orenstein, J. M., Dal Canto, M. C., Pezeshkpour, G. H., Yungbluth, M., Janotla, F., Aksamit, A., Martin, M. A. and Fauci, A. S. (1986) Detection of AIDS virus in macrophages in brain tissue from AIDS patients with encephalopathy. *Science* 233, 1089.
64. Laurenzi, M. A., Persson, M. A. A., Dalsgaard, C. -J. and Haegerstrand, A. (1990) The neuropeptide substance P stimulates production of interleukin 1 in human blood monocytes: activated cells are preferentially influenced by the neuropeptide. *Scand. J. Immunol.* 31, 529.
65. Lembeck, F. and Holzer, P. (1979) Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilation and neurogenic plasma extravasation. *Naunym-Schmiedebert's Arch. Pharmacol.* 310, 175.
66. Ljungdahl, A., Hokfelt, T. and Nilsson, G. (1978) Distribution of substance P-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat-I. Cell bodies and nerve terminals. *Neuroscience* 3, 861.
67. Lotz, M., Vaughan, J. H. and Carson, D. A. (1988) Effect of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes. *Science* 241, 1218.
68. Lubet-Narod, J., Kage, R. and Leeman, S. E. (1994) Substance P enhances the secretion of tumor necrosis factor- α from neuroglial cells stimulated with lipopolysaccharide. *J. Immunol.* 152, 819.
69. Selmaj, K. W. and Raine, C. S. (1988) Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. *Ann. Neurol.* 23, 339.
70. Malipiero, U. V., Frei, K. and Fontana, A. (1990) Production of hemopoietic colony-stimulating factors by astrocytes. *J. Immunol.* 144, 3816.
71. Mantyh, P. W., Johnson, D. J., Boehmer, C. G., Catton, M. D., Vinters, H. V., Maggio, J. E., Too, H. -P. and Vigna, S. R. (1989) Substance P receptor binding sites are expressed by glia in vivo after neuronal injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 5193.
72. Perrella, O., Carrieri, P. B., Guarmaccia, D. and Soscia, M. (1992) Cerebrospinal fluid cytokines in AIDS dementia complex. *J. Neurol.* 239, 387.
73. Rogers, J. and Lubet-Narod, J. (1988) Immune actions in the nervous system: a brief review with special emphasis on Alzheimer's Disease. *Drug Devel. Res.* 15, 227.
74. Scuderi, P., Sterling, K. E., Lam, K. S., Finley, P. R., Ryan, K. J., Ray, C. G., Petersen, E., Slymen, D. J. and Salmon, S. E. (1986) Raised serum levels of tumor necrosis factor in parasitic infections. *Lancet* 2, 1364.
75. Sharief, M. K. and Thompson, E. J. (1992) In vivo relationship of tumor necrosis factor- α to blood-brain barrier damage in patients with active multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 38, 27.
76. Torrens, Y., Beaujouan, J. C., Saffroy, M., Daguet de Montety, M. C., Bergstrom, L. and Glowinski, J. (1986) Substance P receptors in primary cultures of cortical astrocytes from the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 9216.
77. Vitkovic, L., Kalevic, T., de Cunha, A. and Fauci, A. S. (1990) Astrocyte conditioned medium stimulates HIV-1 expression in a chronically infected promonocyte clone. *J. Neuroimmunol.* 30, 153.

=Abstract=

Effect of Chong-Myung-Tang on the Production of Tumor Necrosis Factor α from Brain Astrocytes

Jong-Gil Lee
Yeong-Su Lyu

Dept. of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental
Medicine, Won Kwang University, Iksan, Korea

We investigated whether an aqueous extract of Chong-Myung-Tang inhibits secretion of tumor necrosis factor- α (TNF- α) from primary cultures of mouse astrocytes. Chong-Myung-Tang dosedependently

inhibited the TNF- α secretion by astrocytes stimulated with substance P (SP) and lipopolysaccharide (LPS). Interleukin-1 (IL-1) has been shown to elevate TNF- α secretion from LPS-stimulated astrocytes while having no effect on astrocytes in the absence of LPS. We therefore investigated whether IL-1 mediated inhibition of TNF- α secretion from astrocytes by Chong-Myung-Tang. Treatment of Chong-Myung-Tang to astrocytes stimulated with both LPS and SP decreased IL-1 secretion. Moreover, incubation of astrocytes with IL-1 antibody abolished the synergistic cooperative effect of LPS and SP. These results suggest that Chong-Myung-Tang may inhibit TNF- α secretion by inhibiting IL-1 secretion and that Chong-Myung-Tang has an antiinflammatory activity in the central nervous system.