

동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 12. No. 2. 2001

中樞神經系에서 七福飲의 抗炎症作用에 관한 研究

전창환, 민상준, 이성률, 강형원, 류영수
원광대학교 한의과대학 한방신경정신과학교실

Studies on the anti-inflammatory action of Chilbogyum extract in central nervous system

Chang-hwan Jeon, Jun-Sang Min, Sung-Ryull Lee, Hyung-Won Kang, Yeoung-Su Lyu
Department of Oriental Neuropsychiatry Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Substance P can stimulate secretion of tumor necrosis factor- α (TNF- α) from astrocytes stimulated with lipopolysaccharide (LPS). Here I report that Chilbogyum can modulate cytokines secretion from primary cultures of rat astrocytes. Chilbogyum (10 μ g/ml) significantly inhibited the TNF- α secretion by astrocytes stimulated with LPS and Substance P. 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. Treatment of Chilbogyum (10, 100 μ g/ml) to astrocytes stimulated with both LPS and Substance P decreased IL-1 secretion significantly. The secretion of TNF- α by LPS and Substance P in astrocytes was progressively inhibited with increasing amount of IL-1 neutralizing antibody. Upon stimulation from various agents, these cells adopt a reactive phenotype, a morphological hallmark in Alzheimer's disease (AD) pathology, during which they themselves may produce still more inflammatory cytokines. Chilbogyum (10, 100 μ g/ml) significantly inhibited the TNF- α secretion by CCF-STTG1 astrocytoma cells stimulated with A β and IL-1. These results suggest that Chilbogyum may inhibit TNF- α secretion by inhibiting IL-1 secretion and that Chilbogyum has an antiinflammatory activity in AD brain.

Key words : Tumor necrosis factor- α (TNF- α), astrocytes, Interleukin-1(IL-1), β -amyloid (A β), Chilbogyum, Substance P (SP), lipopolysaccharide (LPS)

I. 서 론

한의학에서 腦는 6개 奇恒之府의 하나로 腎과 매우 밀접한 관계를 가지고 있다 하였으니¹⁾, 나

이가 들어 노화가 진행됨에 따라 腎氣가 점차 衰하여 陰精이 虧損하게 되면 腎精이 결핍되어 腦에 上衝하지 못해 髓海가 空虛해지게 되어 頭痛이나 眩暈, 耳鳴, 失眠, 健忘 등의 증상과 함께 심하면 知能低下, 痴呆 등을 발생하게 된다 하였^{2, 3)}.

· 교신저자 : 전창환, 경기도 군포시 산본동 1126-1 원광대 군포한방병원 신경정신과학교실 ((Tel. 031-390-2762, Fax. 031-398-2223, E-mail: faithkhw@unitel.co.kr

七福飲은 人蔘, 熟地黃, 當歸, 白朮, 炙甘草, 遠志 酸棗仁으로 구성된 처방으로 明代 張景岳의 저

서인 《景岳全書》⁴⁾에 최초로 收載되었으며, 그 후 歷代醫書 및 임상에서 五臟氣血虛損으로 인한 不眠, 癲狂 등의 정신활동장애의 증상이 나타나는 질환에 활용하며⁵⁻¹²⁾, 또한 心脾陽虛, 稟受不足으로 인한 癡呆에 포괄적으로 응용되어 왔다¹³⁻¹⁵⁾. 또한 七福飲에 관한 연구로는 孫¹⁶⁾이 七福飲投與가 老化白鼠 뇌조직에서 noradrenalin 증가로 인해 뇌조직을 개선시켰다는 보고와 崔¹⁷⁾가 酸素自由基의 산화적 손상에 대한 七福飲의 방어작용을 보고하였다.

뇌 정상세포는 중추신경계에서 균형된 항상성 환경의 유지를 위하여 중요한 기능을 하고 있다¹⁸⁾. 또한 정상세포는 알츠하이머병에서 관찰되는 염증반응을 일으키는 중요한 세포로 알려져 있으며¹⁹⁾, 이러한 세포활성물질들은 알츠하이머병 이외에도 다발성 경화증, 에이즈 등 다양한 신경병리 질환의 발병에 관여하는 것으로 알려져 있다²⁰⁾. 뇌 정상세포는 리포다당질, 바이러스 등에 반응하여 종양괴사인자 알파 (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 인터루킨 1 (interleukin 1, IL-1) 등의 세포활성물질 (cytokine)을 분비한다. 한편 substance P는 신경계에서 신경전달물질 및 신경유래의 염증매개물질로서 잘 알려져 있다²²⁾. 또한 substance P는 염증성 세포활성물질인 TNF- α , IL-1,^{24, 25)} 및 IL-6²⁴⁾의 생성을 자극하고 중추신경계의 손상에 의한 substance P 수용체 수의 증가에 영향을 미친다²⁶⁾. substance P는 중추신경계에 광범위하게 분포되어 있으며 TNF- α , IL-1, IL-6와 같은 염증성 세포활성물질의 생성을 자극하여 중추신경계의 염증 진행에 영향을 미칠 것이 예상된다²²⁾.

본 연구에서는 임상에서 신경변성질환에 많이 이용되는 七福飲의 효과를 생체의 뇌의 염증 실험 모델에서 실험적으로 증명하고자 하였다. 뇌 정상세포에서 七福飲에 의한 substance P와 lipopolysaccharide(LPS) 유도성 TNF- α 와 IL-1의 억제효과 및 A β 와 IL-1 β 유도성 TNF- α 와 IL-1의 억제효과 규명을 위한 실험을 수행하여 임상 응용에 유효할 것으로 사료되는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

(1) 시약: Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), substance P, LPS, A β 는 Sigma Chemical Co. (Chicago, IL)에서 구입하였다. ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 용 murine rTNF- α , rIL-1 β , anti-murine IL-1 β 및 anti-murine TNF- α 는 Genzyme (Cambridge, MA)에서 구입하였다. ELISA 용 human IL-1 β , TNF- α 는 R & D Systems (Minneapolis, MN)에서 IL-6는 PharMingen (Cambridge, UK)에서 구입하였다. 우태아혈청은 Life Technologies (Grand Island, NY)에서 구입하였다.

(2) 실험동물: 일차 신경교세포 (primary glial cells) 배양을 위한 실험동물은 Wistar계 임신한 흰쥐를 대한실험동물센터 (음성, 충북)에서 구입하여 출산후 2~5일이 경과된 신생흰쥐를 이용하였다.

(3) 인간 정상세포주: CCF-STTG1 astrocytoma 세포를 RPMI 1640에서 배양하였다.

(4) 七福飲 추출액의 조제: 본 실험에 사용한 七福飲은 원광대학교 한의과 대학 부속 전주한방병원에서 입수하여 약탕기에 적량의 증류수를 넣고 약 6시간 다려서 조제했다. 조제한 추출액은 여과하여 냉동 건조한 다음 4℃에 보관하여 실험 직전 용해하여 사용하였다.

2. 실험방법

(1) 흰쥐 뇌의 정상세포 배양: 1차 뇌의 신경교세포 배양은 Lotz 등²⁷⁾의 방법에 따랐다. 즉 생후 2~3일째 되는 새끼 흰쥐의 뇌막을 제거한 후 뇌를 적출하여 파이프트로 교반하며 잘게 부수어 분리하였다. 분리하여 얻은 세포는 20% 우태아혈

청을 포함하는 DMEM 배양액에 부유시켜 직경 100mm의 세포배양용 petri-dish에 분주하여 3일마다 새로운 배양액을 첨가해 주면서 3주동안 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 배양하였다. 배양 10일째에, 배양 dish에 부착된 신경교세포는 0.25% Trypsin-0.05% EDTA를 처리하였다. 상등액을 제거한후 조직 배양 plate에 한 well당 4 × 10⁵ cell을 분주하여 CO₂ 배양기에서 3일동안 배양하였다. 이상의 조건으로 분리한 세포는 95% 이상이 정상세포로 구성되어 있다. 정상세포 배양액에 LPS (1 µg/ml), substance P (1 µM) 또는 七福飲 추출액을 처리하여 실험하였다.

(2) 뇌 소교세포의 배양: 배양 신경교 세포로부터 소교세포를 분리하기 위하여 배양 플라스크를 회전 교반기에서 800 rpm으로 1 시간동안 흔들다음, 새로운 플라스크에서 15분 동안 배양하였다. 플라스크에 부착된 세포만을 회수하여 10% 우태아혈청을 함유한 DMEM에 재현탁하여 실험에 사용하였다.

(3) Substance P 제조: substance P 용액에 LPS 오염이 되지 않도록 특별한 주의를 하면서 다음과 같이 제조했다. 펩타이드 substance P를 0.01% acetic acid에 용해했다. Acetic acid는 glacial acetic acid를 1/10,000로 희석한 다음 0.2-µm filter로 여과하였다. Substance P 저장용액 (1 mM)은 -20°C에 보관하여 사용 직전에 내독소가 없는 증류수에 희석하여 사용하였다.

(4) 세포활성물질의 정량: 세포배양액내에 생성된 세포활성물질의 측정은 Scuderi 등이 기술한 방법에 준하여 약간 변형된 ELISA 방법으로 실시하였다. 즉 세포활성물질 단클론 항체는 flat-bottomed 96-well plate (Corning, Rochester, NY)에 코팅 완충액 (0.02% sodium azide를 함유한 PBS, pH = 7.2)을 이용하여 각 well에 처리한 후 4°C에서 12시간 동안 코팅하였다. 코팅후 비특이적 결합부위를 없애기 위하여 2% bovine serum albumin을 함유한 phosphate buffered saline (PBS)로 조성된 차단 완충액을 첨가하여 37°C에서 2시간동안 차단하였다. 다시 0.05%

tween 20을 함유한 PBS로 조성된 세정 완충액으로 4회 세척후 재조합 세포활성물질 표준액과 각 검체의 배양상등액을 각 well에 100 µl씩 가하여 37°C에서 2시간 동안 배양하였다. 다시 0.05% tween 20을 함유한 PBS로 4회 세척후 rabbit 항체를 1% BSA가 함유된 PBS를 이용하여 일정 농도로 희석한 후 각 well에 처리하여 37°C에서 2시간동안 배양하였다. 다시 세정 완충액으로 7회 세척후 phosphatase가 결합된 goat anti-rabbit IgG (Sigma Co.) 항체를 일정 농도로 각 well에 처리한 다음 37°C에서 2시간 배양한 후 수회 세척하였다. 마지막 세척후 0.05 M NaHCO₃와 0.05 mM MgCl₂로 조성된 완충액에 용해시킨 p-nitro phenyl phosphate (PNPP) 발색제를 100 µl씩 각 well에 가하여 10분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader를 이용하여 405 nm 파장에서 각 세포활성물질의 양을 측정하였다.

(5) 통계학적 분석: 모든 자료는 means ± S.E.로 나타내었으며, 통계학적 분석은 student's t-test로 행하였다. 유의수준은 P<0.05로 하였다.

III. 실험 성적

1. LPS와 substance P에 의한 흰쥐 뇌 정상세포에서 TNF-α 분비의 상승 효과

Table I에 나타낸 바와 같이 뇌 신경교 세포로부터 분리한 뇌 정상세포에 LPS와 substance P의 자극에 의한 TNF-α의 분비량을 확인한 결과, LPS를 단독 처리했을 때에는 뇌 정상세포로부터 TNF-α의 분비를 약간 자극한 반면, LPS와 substance P를 동시에 처리했을 때에는 대조군에 비해 10 배 이상 TNF-α의 분비량이 증가하였다 (P<0.05). 뇌 정상세포에 substance P 단독 처리에 의해서는 정상세포로부터 TNF-α의 분비에 큰 영향을 미치지 못하였다. 표 1에 나타낸 바와 같이 뇌 소교 세포도 신경교 세포이지만 LPS를 처리하였을 경우에 약간의 TNF-α의 분비만을 자극했으며, LPS와 substance P를 동시에 가하

여 배양했을 때에도 TNF- α 의 분비량이 유의성 있게 증가하지 않았다. 이러한 결과는 강 등²⁷⁾의 보고와 거의 일치한다. 따라서 본 연구에서는 뇌 정상세포만을 분리하여 七福飲 추출액의 효과를 연구하였다 (Table I).

Table 1. Effect of LPS and/or SP on TNF- α secretion by rat astrocytes or microglia

Treatment		TNF- α secretion (ng/ml)	
LPS	SP	astrocytes	microglia
-	-	0.17 \pm 0.05	0.11 \pm 0.04
+	-	0.25 \pm 0.09	0.18 \pm 0.03
-	+	0.16 \pm 0.08	0.15 \pm 0.08
+	+	1.56 \pm 0.11*	0.23 \pm 0.12

Astrocytes and microglia fraction (2×10^5 cells/well) were isolated as described in Materials and methods. The fractions were incubated for 18 h 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 . 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. 七福飲 추출액에 의한 뇌 정상세포에서 LPS와 substance P에 의해 유도되는 TNF- α 분비의 억제효과

뇌 정상세포로부터 LPS와 substance P 유도성 TNF- α 의 분비에 있어서 七福飲 추출액의 효과를 확인하기 위해서 분리한 흰쥐 뇌 정상세포에 다양한 농도의 七福飲 추출액을 부가하여 18 시간 동안 배양한 다음 TNF- α 의 분비량을 측정하였다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 七福飲 추출액(1-100 μ g/ml)은 뇌 정상세포로부터 LPS와 substance P에 의해 유도되는 TNF- α 의 분비를 10 μ g/ml 농도에서 현저하게 감소시켰다 ($P < 0.05$) (Fig. 1).

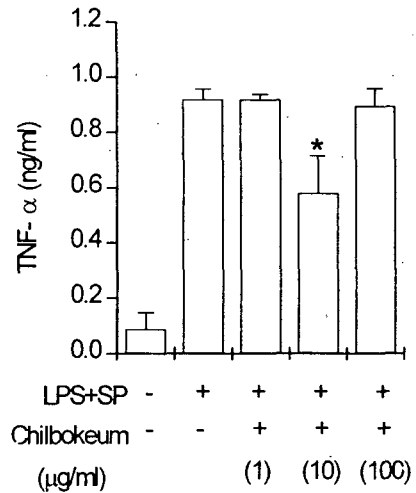


Fig. 1. Effect of Chilbokeum on LPS and SP induced TNF- α secretion in astrocytes. The cells (2×10^5 cells/well) were incubated for 18 h in medium containing LPS (1 μ g/ml) plus SP (1 μ M) with various concentrations of Chilbokeum and the supernatants were collected and frozen at -80°C until assayed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

3. LPS와 substance P에 의한 흰쥐 뇌 정상세포에서 IL-1 분비의 상승 효과

뇌 정상세포에 LPS 및 substance P를 처리하여 배양한 상등액에서 또 하나의 중요한 염증성 세포활성물질로 알려진 IL-1의 양을 측정하였다. Table II에 나타난 것처럼, substance P는 LPS로 자극한 정상세포로부터 IL-1의 분비를 상승적으로 증가시켰다. 이러한 결과 역시 강 등²⁷⁾의 보고와 거의 일치한다. 뇌 소교 세포에서는 그 상승 효과가 미약하였다 (Table II).

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

Treatment		IL-1 secretion (ng/ml)
LPS	SP	
-	-	0.15±0.08
+	-	0.26±0.06
-	+	0.23±0.06
+	+	1.67±0.17*

Astrocytes (2×10^5 cells/well) were incubated for 18 h 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 IL-1. 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. 七福飲 추출액에 의한 뇌 정상세포에서 LPS와 substance P에 의해 유도되는 IL-1 분비의 억제 효과

뇌 정상세포로부터 LPS와 substance P 유도성 IL-1의 분비에 있어서, 七福飲 추출액의 효과를 확인하기 위해서, 분리한 흰쥐 뇌 정상세포에 다양한 농도의 七福飲 추출액을 부가하여 18 시간 동안 배양한 다음 IL-1의 분비량을 측정하였다. 七福飲 추출액 (1-100 μ g/ml)은 뇌 정상세포로부터 IL-1의 분비를 억제하였다 (Fig. 2). 이러한 七福飲 추출액의 효과는 10, 100 μ g/ml 농도에서 현저하게 억제시켰다 ($P < 0.05$).

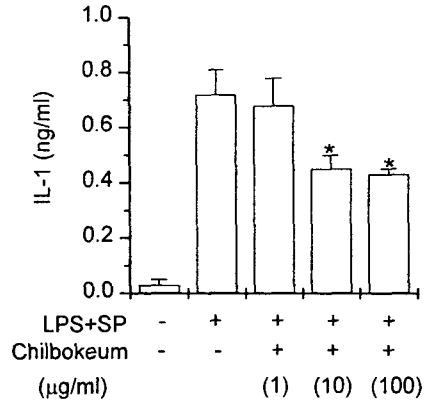


Fig. 2. Effect of Chilbogeum on LPS and SP induced IL-1 secretion in astrocytes. The cells (2×10^5 cells/well) were incubated for 18 h in medium containing LPS (1 μ g/ml) plus SP (1 μ M) with various concentrations of Chilbogeum and the supernatants were collected and frozen at -80°C until assayed for IL-1. 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. 七福飲 추출액에 의한 뇌 정상세포에서 TNF- α 의 분비 억제과정 중 IL-1 경로 관련성

Bethea 등은 뇌 정상세포에서 IL-1에 의한 TNF- α mRNA의 유도 및 분비조절 능력을 보고하였다²⁸⁾. 七福飲 추출액에 의한 뇌 정상세포로부터 TNF- α 의 분비 억제 효과가 IL-1 매개성 경로인가를 분석하기 위하여, 자극된 뇌 정상세포에서 항 IL-1 β 항체의 효과를 실험하였다. 뇌 정상세포 배양액에 LPS (1 μ g/ml)와 substance P (1 μ M)를 처리한 다음 항 IL-1 β 항체를 첨가하여 18시간후에 TNF- α 분비량을 측정하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 항 IL-1 β 항체를 처리한 군은 TNF- α 분비량이 감소하였다. 항 IL-1 β 항체의 억제 효과는 10, 100 ng/ml 농도에서 현저하였다 ($P < 0.05$) (Fig. 3).

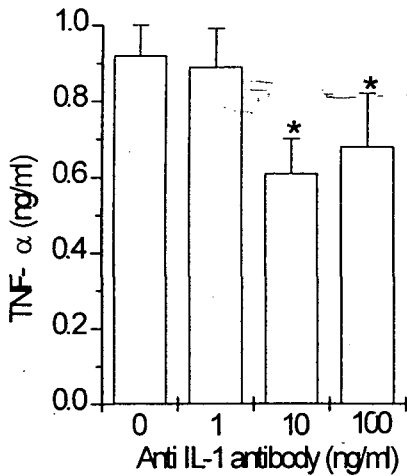


Fig. 3. Effect of IL-1 antibody on LPS and SP induced TNF- α secretion in astrocytes. The cells (4×10^5 cells/well) were incubated for 18 h in medium containing LPS (1 μ g/ml) plus SP (1 μ M) with various concentrations of IL-1 antibody. The supernatants were collected and frozen at -80°C until assayed for TNF- α . Each data value indicates the mean \pm S.E. of three separated experiments. *statistically significant differences from the control values at $P < 0.05$.

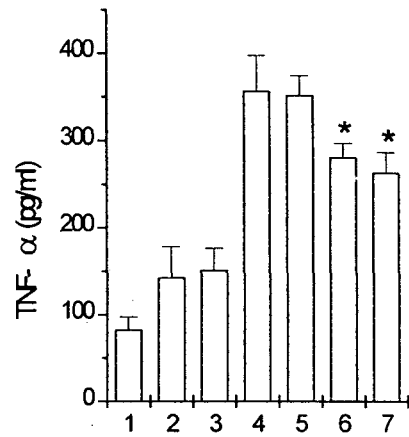


Fig. 4. Effect of Chilbogeum on A β plus IL-1 β induced TNF- α secretion in astrocytes. The cells (2×10^5 cells/well) were incubated for 24 h in medium containing A β (20 μ g/ml) plus IL-1 β (10 ng/ml) with various concentrations of Chilbogeum and the supernatants were collected and frozen at -80°C until assayed for TNF- α . Each datum value indicates the mean \pm S.E. of five separated experiments. 1, Con; 2, A β ; 3, IL-1 β 4, A β + IL-1 β ; 5, Chilbogeum (1 μ g/ml) + A β + IL-1 β ; 6, Chilbogeum (10 μ g/ml) + A β + IL-1 β ; 7, Chilbogeum (100 μ g/ml) + A β + IL-1 β * statistically significant differences from the A β plus IL-1 control values at $P < 0.05$.

6. 七福飲 추출액에 의한 뇌 정상세포에서 A β 와 IL-1 β 에 의해 유도되는 TNF- α 분비의 억제 효과

A β 는 IL-1 β 에 의해 활성화된 인간 정상세포로부터 다양한 세포활성물질의 분비를 촉진시킨다²⁹⁾. Fig. 4에 나타낸 바와 같이 A β 와 IL-1 β 단독 처리한 경우보다 동시에 처리했을 때 정상세포로부터 TNF- α 의 분비량이 더욱 증가하며, 이 때 七福飲 추출액 (10, 100 μ g/ml)을 처리하였을 때 그 분비량이 현저하게 감소하는 것을 알 수 있었다 (Fig. 4).

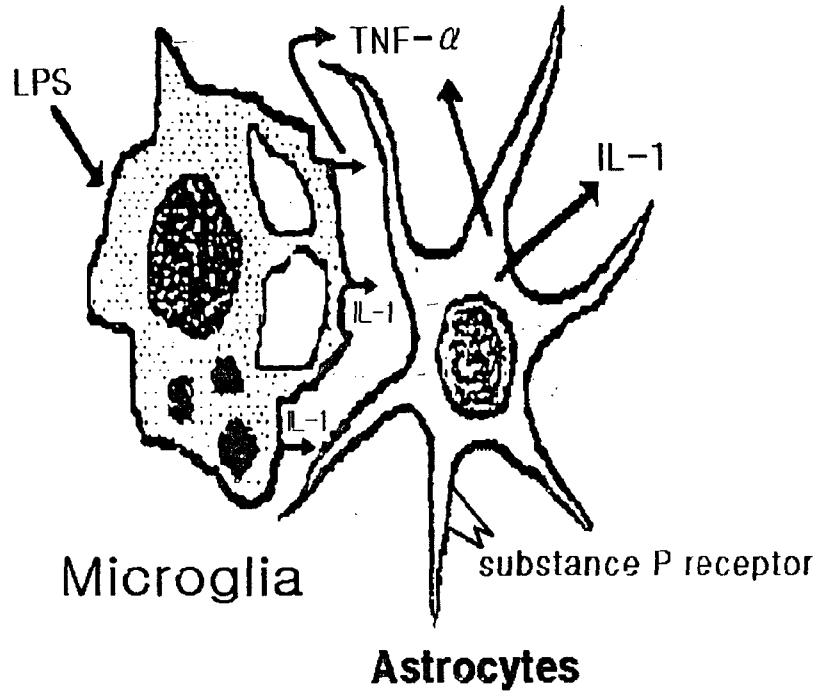


Fig. 5. Schematic representation of cytokine network in glial cells

V. 고 찰

七福飲은 明代 張景岳의 저서인 《景岳全書》⁴⁾에 최초로 收載되었으며, 그 후 歷代醫書 및 임상에서 五臟氣血虛損으로 인한 不眠, 癡狂 등의 精神活動障礙의 증상이 나타나는 질환에 활용되어온 處方이다⁵⁻¹²⁾.

본 실험에 사용한 七福飲의 구성약물의 효능을 本草學的으로 고찰하면, 人蔘은 甘·微溫하여 大補元氣·安精神·健脾益氣의 效能이 있고, 熟地黃은 甘·微溫하여 補血·滋陰·補五臟하고, 當歸는 甘·辛·溫하여 補血和血하며, 白朮은 甘·苦·微溫하여 補脾益氣·燥濕利水하고 甘草는 甘·平(灸後微溫)하여 補脾益氣·調和諸藥하는데 특히 補中을 목적으로 할 때는 灸用한다고 하였다. 遠志는 苦·辛·溫하여 安神益智·鎮心·祛痰利竅시키는 효능이 있으며 酸棗仁은 甘·酸·平하여 補肝膽·寧心安神한다³⁰⁾.

따라서 本方은 五臟氣血虛損으로 인한 不眠, 癡狂 등의 정신활동장애의 증상이 나타나는 질환에 활용될 뿐 아니라, 근래에는 虛勞에 의한 여러 질환, 특히 心脾陽虛, 稟受不足으로 인한 癡呆에 대표적으로 응용되고 있다¹²⁻¹⁴⁾.

성상세포는 중추신경계에서 균형된 항상성 환경의 유지를 위하여 중요한 기능을 하고 있다¹⁹⁾. 성상세포가 면역 적응세포로서 기능을 수행할 수 있는 것은 다양한 면역조절 세포활성물질을 합성하고 또 그들과 반응할 수 있는 능력이 있기 때문이다^{31, 32)}. 또한 뇌 성상세포는 AD에서 관찰되는 염증반응을 일으키는 중요한 세포로 알려져 있으며¹⁹⁾, 이러한 세포활성물질들은 AD 이외에도 다발성 경화증, 에이즈 등 다양한 신경병리질환의 발병에 관여하는 것으로 알려져 있다^{20, 21)}. 뇌 성상세포는 리포다당질, 바이러스 등에 반응하여 TNF- α , IL-1 등의 세포활성물질 (cytokine)을 분비한다. 특히, 신경병리질환 중에서 AD는 TNF- α 와 IL-1이 뇌척수액에 증가되어 있고¹⁹⁻²¹⁾, 주요조직적합원(major histocompatibility complex antigen)의 비정상적 발현이 나타나며³³⁾, 또한 IL-1은 A β 유전자의 발현을 촉진시킨다³⁴⁾. 다발성경화증에서 TNF- α 는 乏枝神經膠(oligodendrocyte)

를 사멸시키고 髓素(myelin)를 파괴시킬 것으로 생각하고 있다³⁵⁾. 에이즈와 관련된 癡呆 환자에 있어서도 뇌척수액에 이들 물질이 역시 증가되어 있고³⁶⁾ 비정상적인 구조적적합원의 발현이 일어나며³⁷⁾, TNF- α 는 배양한 뇌소교세포에서 HIV-1의 발현을 증가시킨다²¹⁾. 한편 substance P는 신경계에서 신경전달물질 및 신경유래의 염증매개물질로서 잘 알려져 있다^{22, 26)}. 또한 substance P는 염증성 세포활성물질인 TNF- α 와 IL-1^{24, 25)}, IL-6²⁴⁾의 생성을 자극하고 중추신경계의 손상에 의한 SP 수용체 수의 증가에 영향을 미친다²⁶⁾. SP는 중추신경계에 광범위하게 분포되어 있으며 TNF- α , IL-1, IL-6와 같은 염증성 세포활성물질의 생성을 자극하여 중추신경계의 염증 진행에 영향을 미칠 것이 예상된다 (Fig. 5).

이에 저자는 중추신경계의 염증 및 퇴행성 변화가 AD를 비롯한 노인성 癡呆의 중요 병인 중에 일부로 사료되어 한의학에서 뇌 신경변성질환에 多用하고 있는 七福飲의 중추신경계에서의 변화를 확인하고 효용 가능성을 알아보기 위해 본 실험에 착수하게 되었다.

본 연구에서 저자는 七福飲추출액이 뇌 성상세포로부터 LPS와 substance P의 동시자극에 의해 생성되는 염증성 세포활성물질인 TNF- α 및 IL-1의 분비를 유의성 있게 억제하는 것을 증명했다. 또한 七福飲 추출액은 신경 독성을 매개하는 물질로 알려진 A β 와 IL-1의 자극에 의한 뇌 성상세포로부터 TNF- α 및 IL-6의 분비를 억제하는 것을 관찰했다. 이러한 결과는 七福飲 추출액이 AD의 신경 병리와 밀접한 관련이 있는 만성 염증 조절에 유효한 약제임을 의미한다.

Torrens 등은 일차 혼합 신경교세포에서 substance P의 결합부위를 발견했으나, 뇌 소교세포에서는 substance P의 수용체를 검출할 수 없었다³⁸⁾. 이러한 결과는 substance P 수용체가 뇌의 성상세포에 있다는 것을 의미한다. 본 연구의 결과는 소교세포에서는 substance P의 반응성이 관찰되지 않았기 때문에 이들 결과와 상관성이 있다. 그러나 substance P 단독으로는 뇌 성상세포로부터 TNF- α 및 IL-1의 분비에 영향을 미치지 못했다. 뇌 성상세포로부터 substance P

에 의한 IL-1의 분비 증가 역시 LPS의 동시자극에 의해서 상승적인 효과를 나타내었다. IL-1 항체에 의해 substance P 유도성 TNF- α 분비의 증가가 억제되기 때문에 IL-1은 TNF- α 증가를 매개하는 역할을 하는 것으로 사료된다. 이와 같은 결과는 substance P가 중추신경계의 신경에서 생성되는 신경전달물질로서 염증반응에 관여하는 중요한 분자임을 의미하는 증거이다. 최근 활성화 상태 (active) 다발성경화증 환자의 뇌척수액에 존재하는 TNF- α 의 양이 안정상태 (stable) 다발성경화증 환자 및 정상 대조군보다 현저히 높은 수준인 것을 보고했다³³⁾. 이러한 발견은 활성화 다발성경화증에서 병리학적인 변화를 TNF- α 의 측정에 의해 인식할 수 있는 중요한 지표를 제공해 준다. 또한 TNF- α 는 demyelination에 있어서 중요한 역할을 하고 있음을 예상할 수 있다. 특히 TNF- α 는 AD 환자에서 많이 분비되기 때문에 七福飲의 투여에 의한 AD 환자에서 일어나고 있는 염증반응을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다. 계속적인 연구로 AD실험 모델 등에서 염증반응 경로의 이해에 의한 七福飲 추출액의 효과를 구명하여 새로운 개념의 치료 방안이 강구될 수 있기를 기대한다.

V. 결 론

생체의 뇌의 염증 실험 모델에서 七福飲의 효과를 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 七福飲 추출액(1-100 $\mu\text{g/ml}$)은 뇌 정상세포로부터 LPS와 substance P에 의해 유도되는 TNF- α 의 분비를 10 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 유의성 있게 감소시켰다 ($P < 0.05$).
 2. 七福飲 추출액 (1-100 $\mu\text{g/ml}$)은 뇌 정상세포로부터 IL-1의 분비를 억제하였다. 이러한 七福飲 추출액의 억제 효과는 10, 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 현저하였다 ($P < 0.05$).
 3. 七福飲 추출액에 의한 뇌 정상세포로부터 TNF- α 의 분비 억제 효과가 IL-1 매개성 경로인가를 분석한 실험에서 항 IL-1 β 항체 처리에 의해 TNF- α 분비량이 감소하였다. 항 IL-1 β 항체의 억제 효과는 10, 100 ng/ml 농도에서 현저하였다 ($P < 0.05$).
 4. A β 와 IL-1 β 동시에 처리에 의한 정상세포로부터 TNF- α 의 분비량 증가에 七福飲 추출액 (10, 100 $\mu\text{g/ml}$)은 그 분비량을 현저하게 감소시켰다.
- 본 연구에서 저자는 다양한 자극원에 의한 생체의 뇌의 염증 실험 모델에서 七福飲의 유의성 있는 효과를 관찰하여 AD 환자의 임상적 활용 근거를 제공한 것으로 중요한 의미를 가지며, 향후 이 약물의 항염증효과 작용기전에 대한 연구가 계속적으로 진행되어야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. 金完熙 의 編著. 臟腑辨證論治. 서울:成輔社. 1985:47.
2. 許 浚 原著. 東醫寶鑑 外形篇. 서울:대성문화사. 1992:263.
3. 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. 1988:211-212.
4. 張介賓. 景岳全書. 上海:上海科學技術出版社, 1984:576, 981.
5. 彭懷仁 主編. 中華名醫方劑大全. 北京:金盾出版社出版總發行. 1995:56-57.
6. 江克明·包明惠 編著. 簡明方劑辭典. 上海:上海科學技術出版社. 1989:29.
7. 楊思澍 外. 中醫臨床大全(上卷). 北京:北京科學技術出版社. 大成文化社影印. 1991: 227.
8. 彭 仁. 中醫名醫方劑大全. 北京:金盾出版社: 1990:22.
9. 王云凱. 中國名醫名著名方. 河北:河北科學技

- 術出版社. 1993:1083.
10. 東醫學研究所. 東醫處方學. 서울:麗江出版社. 1993:109.
 11. 彭怀仁 編著. 中醫處方大辭典(原名:中醫方劑大辭典)1冊. 익산:泳信文化社. 1988:262.
 12. 程紹思·夏洪生. 中醫證候診斷治療學. 北京:北京科學技術出版社. 1993:395-409.
 13. 김지혁, 황의완. 동의정신의학. 서울:현대의학서적사. 1987:256-257, 262-264, 266, 269-271, 327-330, 663-664, 920.
 14. 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. 1988:5-10, 100-112.
 15. 董黎明. 實用中醫內科學. 서울:一中社. 1986:378-380, 408.
 16. 손정석 外. 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, 1997;8(2):25-38.
 17. 최공한 外. 七福飲加味方이 Glucose Oxidase 에 의해 損傷된 大腦皮質 神經細胞에 미치는 影響. 東醫神經精神科學會誌. 1999;10(1):53-78.
 18. Fontana A, Frei K, Bodmer S and Hofer E. Immune-mediated encephalitis; on the role of antigen-presenting cells in brain tissue. Immunol. Rev. 1987:100, 185.
 19. Griffin WST, and Stanley LC. In Biology and Pathology of Astrocyte-Neuron Interactions (Federoff S, Juurlink BH J, Doucette R and Burkholder G eds). New York:Plenum Press. 1983:359-381.
 20. Fillit H, Ding WH, Buce L, Kalman J, Altstiel L, Lawlor B and Wolf-Klein G. Elevated circulating tumor necrosis factor levels in Alzheimer's disease, Neuroscience Lett: 1991:129, 318D.
 21. Brosnan CF, Selmaj FK and Raine CS. Hypothesis a role for tumor necrosis factor in immune-related demyelination and its relevance to multiple sclerosis, J. Neuroimmunol. 1988:18, 87.
 22. Ljungdahl A, Hokfelt T. and Nilsson G. Distribution of substance P-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat-I. Cell bodies and nerve terminals. Neuroscience. 1978:3, 861.
 23. Lembeck F. and Holzer P. Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilation and neurogenic plasma extravasation. Naunym-Schmieddeberg's Arch. Pharmacol. 1979:310, 175.
 24. Lotz M, Vaughan JH and Carson DA. Effect of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes, Science. 1988:241, 1218.
 25. Laurenzi MA, Persson MAA, Dalsgaard CJ and Haegerstrand A. The neuropeptide substance P stimulates production of interleukin 1 in human blood monocytes; activated cells are preferentially influenced by the neuropeptide, Scand. J. Immunol. 1990:31, 529.
 26. Mantyh PW, Johnson DJ, Boehmer CG, Catton MD, Vinters HV, Maggio JE, Too HP and Vigna SR. Substance P receptor binding sites are expressed by glia in vivo after neuronal injury, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1986:86, 5193.
 27. 강형원 外. 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, 東醫神經精神科學會誌 1998;9(1):73-82.
 28. Bethea JR, Chung IY, Sparacio SM, Gillespie GY, and Benveniste EN. Interleukin-1 beta induction of tumor necrosis factor-alpha gene expression in human astrogloma cells. J. Neuroimmunol. 1992:36, 179.
 29. Gitter BD, Cox LM, Rydel RE, May PC. Amyloid β peptide potentiates cytokine secretion by interleukin-1 β -activated human astrocytoma cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1995:92, 10738.
 30. 辛民教. 原色 臨床本草學. 서울:三光印刷社. 1996:166-167, 172-173, 175-177, 221-223, 368-369, 374-375, 370-371.
 31. Benveniste EN, Sparacio SM, Norris JG,

- Grenett HE and Fuller GM.: Induction and regulation of interleukin-6 gene expression in rat astrocytes, *J. Neuroimmunol.* 1990:30, 201.
32. Malipiero UV, Frei K and Fontana A. Production of hemopoietic colony-stimulating factors by astrocytes *J. Immunol.* 1990:144, 3816.
33. Sharief MK and Thompson EJ. In vivo relationship of tumor necrosis factor- α to blood-brain barrier damage in patients with active multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 1992:38, 27.
34. Forloni G, Demicheli F, Giorgi S, Bendotti C and Angeretti N. Expression of amyloid precursor protein mRNAs in endothelial neuronal and glial cells; modulation by interleukin-1, *Brain Res. (Mol. Brain Res.)* 1992:16, 128.
35. Selmaj KW and Raine CS. Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. *Ann. Neurol.* 1998:23, 339.
36. Perrella O, Carrieri PB, Guarmaccia D and Soccia M.: Cerebrospinal fluid cytokines in AIDS dementia complex. *J. Neurol.* 1992:239, 387.
37. Koenig S, Gendelman HE, Orenstein JM, Dal Canto MC, Pezeshkpour GH, Yungbluth M, Janotla F, Aksamit A, Martin MA and Fauci AS.: Detection of AIDS virus in macrophages in brain tissue from AIDS patients with encephalopathy. *Science.* 1986:233, 1089.
38. Torrens Y, Beaujouan JC, Saffroy M, Daguet de Montety MC, Bergstrom L. and Glowinski J. Substance P receptors in primary cultures of cortical astrocytes from the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1986:83, 9216.