

順氣活血湯의 腦虛血 抑制效果에 관한 實驗的 研究

홍 석, 안정조, 전상윤, 최창원, 정영득
동신대학교 한의과대학 내과학교실

Abstract

The Experimental Study of Sunkihwalhyul-Tang against Inhibitive Effects on the Brain Ischemia

Seok Hong, Jeong-Jo Ann, Sang-Yoon Jeong, Chang-Won Choi, Young-Deuk Jeong
Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongshin University

This Study was designed to investigate the effect of Sunkihwalhyul -Tang extract(SHT) on the change of cerebral hemodynamics [regional cerebral blood flow(rCBF), pial arterial diameter(PAD) and mean arterial blood pressure(MABP)] in normal and cerebral ischemic rats, and further to determine the mechanisms of action of SHT on hemodynamics. In addition, this study was designed to investigate whether SHT inhibits lactate dehydrogenase(LDH) activity in neuronal cells and cytokines production in serum of cerebral ischemic rats.

The results were as follows ;

1. SHT significantly increased rCBF and PAD in a dose-dependent manner, but MABP was not changed by injecting SHT. These results suggest that SHT significantly increases rCBF by dilating PAD.
2. The SHT-induced increase in rCBF was significantly inhibited by pretreatment with indomethacin(IDN, 1 mg/kg, i.p.), an inhibitor of cyclooxygenase and methylene blue(MTB, 10 µg/kg, i.p.), an inhibitor of guanylate cyclase.

교신저자 : 정 영 득

전남 순천시 연향동 133-6번지 대추나무 한의원

Tel : 061-725-7575, E-mail : as3566@hanmail.net

접수 : 2005/ 06/ 12 수정 : 2005/ 06/ 15 채택 : 2005/ 06/ 18

3. The SHT-induced dilation in PAD was significantly inhibited by pretreatment with IDN and MTB.
4. The SHT-induced some increase in MABP was significantly increased by pretreatment with IDN. These results suggest that the mechanism of action of SHT is mediated by guanylate cyclase.
5. Both rCBF and PAD were significantly and stably increased by SHT(10 mg/kg, i.p.) during the period of cerebral reperfusion, which contrasted with the findings of rapid and marked increase in control group.
6. SHT significantly inhibited LDH activity in neuronal cells. These results suggest that SHT prevents the neuronal death.
7. In cytokine production in the serum drawn from femoral artery 1 hr after middle cerebral arterial occlusion, sample group showed significantly decreased production of IL-1 β production, decreased production of TNF- α and increased production of IL-10 compared with control group.
8. In cytokine production in the serum drawn from femoral artery 1 hr after reperfusion, sample group showed significantly decreased production of IL-1 β and TNF- α as well as significantly increased production of IL-10 compared with control group. These results suggest that SHT mediated by guanylate cyclase has inhibitive effect on the brain damage by inhibiting LDH activity, IL-1 β and TNF- α production, and by accelerating IL-10 production.

The present author thinks that SHT has an anti-ischemic effects through the improvement of cerebral hemodynamics and inhibitive effects on the brain damage.

Key Word : Sunkihwalhyul-Tang(SHT), Brain Ischemiai

I. 緒 論

順氣活血湯은 《晴崗醫鑑》¹⁾에 수록된

처방으로 中風後遺症 또는 中風前兆證으로 인한 口眼喎斜, 手指·偏身鈍麻, 疼痛, 不遂, 痺風 등에 順氣活血劑로 다용되고 있

다.

중풍은 뇌혈관의 경색과 출혈로 인해 갑작스런 국소 신경학적 결손이 초래되어 의식·운동·언어장애 등의 다양한 증상이 나타나는 질환이며 우리나라 3대 사망원인 중 하나로 허혈성과 출혈성으로 구분되고²⁾, 최근에는 생활습관 변화 및 평균수명 연장 등으로 점차 허혈성 뇌혈관질환 발생률이 증가하는 추세에 있다³⁾.

뇌의 무게는 전 체중의 2%임에도 불구하고, 휴식시 심장 박출 혈액량의 약 15%, 그리고 흡입하는 전체 산소 소비량의 약 20%를 소모하는 생명 중추로서 자체적으로 산소와 포도당의 비축능력이 없어 심장으로부터 지속적인 혈액을 공급받아야 활동을 유지할 수 있다^{2,4,5)}. 그러나 뇌혈류량이 감소하게 되면 뇌조직에 허혈이나 경색 등의 이상변인이 초래되어 뇌세포의 변성, 괴사가 일어나게 되고, 이러한 뇌세포 손상은 허혈의 정도와 지속시간에 따라 달라진다^{2,6)}.

뇌혈류역학 및 작용기전에 대한 연구로는 導痰湯, 牛黃清心元 등의 處方⁷⁻¹³⁾ 및 湧泉 등의 經穴을 이용한 연구¹⁵⁻¹⁷⁾가 다양하게 보고되었으나, 順氣活血湯에 대한 연구로는 흰쥐의 골절유합¹⁸⁾과 어혈병태모형에 미치는 영향¹⁹⁾에 대한 보고만 있을 뿐 뇌혈류 감소로 인한 뇌혈류역학 변동 개선 및 뇌손상 억제에 대해서는 아직까지 보고되지 않았다.

이에 저자는 順氣活血湯이 뇌혈류역학 변화에 따른 뇌손상 억제 효과를 알아보고자 흰쥐의 뇌혈류역학에 미치는 효과

작용기전, 뇌허혈시 변동되는 국소 뇌혈류량 및 뇌연막 동맥 직경에 미치는 개선 효과를 관찰하였으며, 생쥐의 신경 세포내

lactate dehydrogenase 활성화도 억제 효과 및 흰쥐의 뇌허혈시 혈액내에서 생성되는 염증 촉발 사이토카인과 항염증 사이토카인의 양을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 재료

1) 동물

동물은 생후 2 일째의 ICR계 생쥐(생쥐)와 체중 300 g내외의 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐(흰쥐)를 (주)다물사이언스 및 화인 실험 동물 센터에서 구입하여 사용하였다. 동물은 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고품사료(삼양주식회사, Korea)와 1 차 증류수를 충분히 공급하면서 실험실 환경(실내온도 24±2 °C, 습도 55±5%, 12 시간 dark/light)에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약재

실험에 사용된 약재는 동신대학교 부속 순천한방병원에서 구입한 후 정선해서 사용하였고, 順氣活血湯의 구성약물은 《晴崗醫鑑》¹⁾에 수록된 처방을 근거로 하였으며, 분량 및 생약명은 다음과 같다(Table I).

Table I. Prescription of Sunkihwalhyul-Tang(SHT)

Herbal Name	Quantity(g)	
香附子	<i>CYPERI RHIZOMA</i>	8.000
烏藥	<i>LINDERAE RADIX</i>	6.000
橘皮	<i>CITRI PERICARPIUM</i>	6.000
半夏	<i>PINELLIAE RHIZOMA</i>	4.000
赤茯苓	<i>PORIA</i>	4.000
蒼朮	<i>ATRACTYLODIS RHIZOMA</i>	4.000
當歸	<i>ANGELICAE GIGANTIS RADIX</i>	4.000
川芎	<i>CNIDII RHIZOMA</i>	4.000
赤芍藥	<i>PAEONIAE RADIX RUBRA</i>	4.000
桔梗	<i>PLATYCODI RADIX</i>	4.000
枳殼	<i>AURANTII FRUCTUS</i>	4.000
白芷	<i>ANGELICAE DAHURICAE RADIX</i>	3.000
木香	<i>AUCKLANDIAE RADIX</i>	3.000
甘草	<i>GLYCYRRHIZAE RADIX</i>	2.000
生薑	<i>ZINGIBERIS RHIZOMA RECENS</i>	4.000
Totality		64.000

2. 방법

1) 검액의 제조

順氣活血湯(Sunkihwalhyul-Tang, SHT) 2 첩 분량인 128.0 g을 3,000 ml 환저 플라스크에 증류수 1,500 ml와 함께 120 분 가열하고 전탕액을 여과지로 여과하여 5,000 rpm으로 30 분 원심분리하여 상청액을 취하였다. 그 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)에 넣어 감압 농축한 후 freeze dryer로 동결 건조시켜 15.4 g(수득율 11.85 %)을 얻어 검액으로 사용하였다.

2) 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변화 관찰

① 국소 뇌혈류량 변화 측정

흰쥐를 stereotaxic frame(DKI, U.S.A.)

에 고정시키고 정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 bregma의 4~6 mm 측방, -2~1 mm 전방에 직경 5~6 mm의 두개창 수술을 시행하였다. 이때 두개골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막외 출혈을 방지하도록 하였다. Laser doppler flowmeter(Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe(직경 0.8 mm)를 대뇌(두정엽)피질 표면에 수직이 되도록 stereotaxic micromanipulator를 사용하여 뇌연막 동맥에 조심스럽게 근접시켰다. 일정시간 동안 안정시킨 후 실험 protocol에 따라 SHT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 국소 뇌혈류량(regional cerebral blood flow, rCBF)을 각각 30 분 동안 측정하였다.

② 폐쇄 두개창 설치

흰쥐의 체위를 복와위로 변경시키고 두부를 stereotaxic frame에 고정시킨 다음 정중선을 따라 두피를 절개한 후 두개골의 관상 봉합 미측 두정골에 saline-cooled drill(Dremel, U.S.A.)을 사용하여 craniotomy(5×5 mm)를 시행하였다. 뇌경막과 지주막을 절개하여 제거함으로써 뇌연막 표면을 노출시키고, craniotomy 주위를 dental acrylic으로 둘러싼 후 dental acrylic mount속에 세 개의 polyethylene tube(두 개는 관류용, 나머지 한 개는 두개내압 측정용)를 심어 놓았다. 그 후 dental acrylic위에 직경 12 mm의 cover glass를 놓고 cyanoacrylate를 사용하여 즉시 밀봉시킨 후 95 % O₂와 5 % CO₂로 포화시킨 인공 뇌척수액을 관류시켰다. 이때 두개창의 용적은 약 0.8 ml, 그리고 두개내압은 5~8 mmHg로 유지토록 하였다.

인공 뇌척수액의 조성은 다음과 같다. Na⁺ 156.5 mEq/l, K⁺ 2.95 mEq/l, Ca²⁺ 2.5 mEq/l, Mg²⁺ 1.33 mEq/l, Cl⁻ 138.7 mEq/l, HCO₃⁻ 24.6 mEq/l, dextrose 66.5 mg/dl 및 urea 40.2 mg/dl(pH 7.35~7.40).

③ 뇌연막 동맥 직경 변화 측정

흰쥐의 두정골에 폐쇄두개창을 설치하고 실험 protocol에 따라 SHT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 뇌연막 동맥(안정시의 직경 약 20.79±1.57 μm)의 직경(pial arterial diameter, PAD)을 각각 30 분 동안 측정하였다. 실험기간 동안 변화되는 PAD는 폐쇄두개창을 통한 video-microscopy 방법과 width analyzer(Model C3161, Hamamatsu

Photonics, Japan)를 사용하여 TV monitor에 나타나는 혈관 영상을 video cassette recorder(S-VHS, Mitsubishi)에 녹화 보존해 두었다가 필요시마다 재생 확인하였다.

④ 평균혈압 변화 측정

흰쥐를 urethane(750 mg/kg, i.p.)으로 마취시킨 후 체온이 37~38 °C로 유지될 수 있도록 heat pad 위에 복와위로 고정시켰다. SHT 투여 용량(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)에 따른 평균혈압(mean arterial blood pressure, MABP) 변화는 흰쥐의 대퇴동맥에 삽입된 polyethylene tube에 연결된 pressure transducer(Grass, U.S.A.)를 통하여 MacLab과 macintosh computer로 구성된 data acquisition system으로 각각 30 분 동안 측정하였다.

3) 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변화에 미치는 기전 관찰

SHT가 rCBF, PAD 및 MABP 변화에 미친 작용기전을 알아보기 위하여 prostaglandin의 생성효소인 cyclooxygenase 억제제 indomethacin(IDN, 1 mg/kg, i.p., Sigma I7378) 그리고 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)의 생성효소인 guanylate cyclase 억제제 methylene blue(MTB, 10 μg/kg, i.p., Sigma M9140)를 전 처치한 후 SHT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여한 다음 각각 변화되는 rCBF, PAD 및 MABP를 30 분 동안 측정하였다.

4) 뇌허혈 병태 모델의 뇌혈류역학 변동에 미치는 개선 효과 관찰

① 뇌허혈 병태 모델 유발

뇌허혈 병태 모델 유발은 Longa 등의 방법에 따라 중대뇌동맥(middle cerebral artery, MCA) 폐쇄법을 이용하였다. 정상 흰쥐의 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고 내·외경동맥의 분지점으로부터 외경동맥을 통하여 내경 동맥내로 3-0 단선조 나일론 봉합사를 삽입함으로써 MCA 기저부를 폐쇄하였다. 2 시간 후 내경 동맥내에 삽입되어 있는 단선조 나일론 봉합사를 MCA 기저부로부터 제거해 줌으로써 혈액을 재관류시켰다.

② 뇌허혈 병태 모델의 국소 뇌혈류량 변동 측정

뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 후 실험 protocol에 따라 SHT(10 mg/kg, i.p.)를 투여하였다. 병태 모델 유발 2 시간 후 혈류를 재관류시켜 변동되는 rCBF를 상기 방법으로 4 시간 측정하였다.

③ 뇌허혈 병태 모델의 뇌연막 동맥 직경 변동 측정

뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 후 실험 protocol에 따라 SHT(10 mg/kg, i.p.)를 투여하였다. 병태 모델 유발 2 시간 후 혈류를 재관류시켜 변동되는 PAD를 상기 방법으로 4 시간 측정하였다.

5) 생쥐의 신경 세포내 lactate dehydrogenase 활성도 측정

Lactate dehydrogenase(LDH) 활성도 측정은 Choi의 방법에 따라 생쥐의 뇌조직을 적출한 다음 Ca^{2+} 과 Mg^{2+} 이 들어 있지 않은 Hank's balanced salt solution(GibcoBRL 14180-061)에 5 mg/ml glucose, 7 mg/ml sucrose 및 0.35 mg/ml

NaHCO₃가 첨가된 배양액에 넣었다. 입체 현미경하에서 뇌막을 제거하고 대뇌피질을 얻어 잘게 조각을 낸 다음 0.25 % trypsin이 함유된 상기 배양액에 넣어 37 °C에서 15 분간 처치한 후 1,000 rpm에서 5 분간 원심분리한 다음 trypsin이 들어 있는 용액을 제거하고, 분리된 세포를 eagle's minimal essential medium(GibcoBRL 11430-030)에 2 mM glutamine과 10 % fetal bovine serum(Hyclone A1111-L) 및 10 % horse serum(Hyclone A3311-L)이 포함된 배양액 1~2 ml에 넣은 다음 구멍이 좁혀진 파이펫으로 약 10 회 분쇄하였다.

Epidermal growth factor(Sigma E4127)를 10 ng/ml 농도로 첨가한 후 24 well plate(Primaria, Falcon)에 0.5 hemisphere/plate 밀도로 각 well 당 400 μ l씩 도포하여 37 °C, 5 % CO₂와 100 % 습도가 유지되는 CO₂ 배양기에서 배양하였다.

2~4 주 후 교세포(glial cell)가 충분히 증식한 다음 약물 처리전 배양액으로 3 회 세척하고 나서 SHT를 용량별(1 μ g/ml, 10 μ g/ml, 100 μ g/ml)로 처리하였다. SHT 투여 24 시간 후 96 well plate의 각 well에 배양액 25 μ l를 넣고, buffer 125 μ l, 0.3 mg/ml NADH 100 μ l, 22.7 mM pyruvate 30 μ l를 넣은 다음 곧바로 microplate reader를 이용하여 340 nm 파장에서 LDH 양을 측정하였다.

6) 뇌허혈 병태 모델의 혈청내 사이토카인 생성능 측정

① 채혈 및 혈청분리

뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 후 실험 protocol에 따라 SHT(10 mg/kg, i.p.)를

투여한 다음 폐색 1 시간 후와 재관류 1 시간이 경과한 다음 병태 모델의 대퇴동맥에서 1.0 ml를 채혈하였다. 채혈시에는 반드시 뇌혈류역학 변동이 변화되지 않도록 하기 위하여 조심스럽게 5.0 ml 주사기를 통해 채혈하였고, 만약 채혈시 뇌혈류역학 변동에 이상이 발생되면 사이토카인 생성능 측정 혈청으로 사용하지 않았다. 채혈 후 30 분 동안 실온에 방치한 후 3,000 rpm으로 30 분 동안 원심분리시킨 후 혈청만을 취해 냉동 보관하면서 필요시마다 해동시켜 사용하였다.

② Interleukin-1 β 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 Interleukin(IL)-1 β 양 측정은 rIL-1 β ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rIL-1 β standard diluent buffer(SDB) 100 μ l를 농도별로 넣은 후, 나머지 well에는 혈청 50 μ l와 SDB 50 μ l를 넣은 다음 실온에서 3 시간 동안 방치한 뒤 washing buffer(WB)로 4 회 세척하였다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rIL-1 β 100 μ l를 넣은 후 실온에서 1 시간 동안 방치한 다음 WB로 4 회 세척하였다. 이후 각 well에 streptavidin-Peroxidase(HRP) 100 μ l를 넣은 다음 실온에서 30 분 동안 방치한 뒤 WB로 4 회 세척한 후 stabilized chromogen(SC) 100 μ l를 넣은 다음 빛을 차단시킨 실온에서 30 분 동안 방치하였다. 이후 stop solution(SS) 100 μ l를 넣은 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다.

③ Tumor necrosis factor- α 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되

는 Tumor necrosis factor(TNF)- α 양 측정은 rTNF- α ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rTNF- α SDB 50 μ l를 농도별로 넣은 다음, 나머지 well에 혈청과 control(high, low)을 각각 50 μ l씩 분주한 후 SDB 50 μ l를 넣었다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rTNF- α 50 μ l를 넣고 실온에서 90 분 동안 incubation한 다음 WB로 4 회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 다시 실온에서 45 분 동안 incubation한 후 WB로 4 회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 μ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다.

④ IL-10 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 IL-10 양 측정은 rIL-10 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 100 μ l씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control(high, low)을 각각 50 μ l씩 분주한 다음 SDB 50 μ l를 넣었다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rIL-10 50 μ l를 넣고 실온에서 2 시간 동안 incubation한 다음 WB로 4 회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 다시 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 WB로 4 회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 μ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm

과장에서 측정하였다.

⑤ Transforming growth factor- β 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 Transforming growth factor (TG-F)- β 양 측정은 TGF- β 1 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 200 μ l씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control을 각각 200 μ l씩 넣은 다음 각 well에 biotin-labeled anti-TGF- β 1 50 μ l를 분주한 후 실온에서 3 시간 동안 incubation한 다음 WB로 4 회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 다시 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 WB로 4 회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 μ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다.

3. 통계처리

SHT의 효과에 대한 통계처리는 student's t-test에 의하였고, p-value는 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다.

Ⅲ. 實 驗 成 績

1. SHT가 정상 흰쥐의 뇌혈류역학에 미치는 효과

SHT가 rCBF, PAD 및 MABP에 미치는 효과를 알아보기 위하여 SHT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0

mg/kg, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 뇌혈류역학을 관찰하였다(Fig. 1).

SHT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 rCBF를 100.00 \pm 0.09 %로 환산하였을 때, SHT 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg을 투여하였을 때의 rCBF는 106.31 \pm 0.11 %, 117.99 \pm 0.08 %, 120.48 \pm 0.09 %로 정상시보다 용량 의존적으로 증가되었고, SHT 10.0 mg/kg을 투여하였을 때의 rCBF는 130.80 \pm 0.08 %로 정상시보다 유의성(P<0.05) 있게 증가되었다.

SHT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 PAD를 100.00 \pm 0.08 %로 환산하였을 때, SHT를 용량별로 투여하였을 때의 PAD는 115.50 \pm 0.09 %, 115.57 \pm 0.09 %, 118.13 \pm 0.07 %, 123.77 \pm 0.03 %로 용량 의존적으로 확장되었고, 특히 SHT 10.0 mg/kg을 투여하였을 때의 PAD는 정상시에 비해 유의성(P<0.05) 있게 확장되었다.

SHT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 MABP를 100.00 \pm 0.04 %로 환산하였을 때, SHT를 용량별로 투여하였을 때의 MABP는 각각 99.82 \pm 0.02 %, 100.67 \pm 0.02 %, 103.80 \pm 0.02 %, 104.68 \pm 0.02 %로 정상시와 유사하게 나타났다.

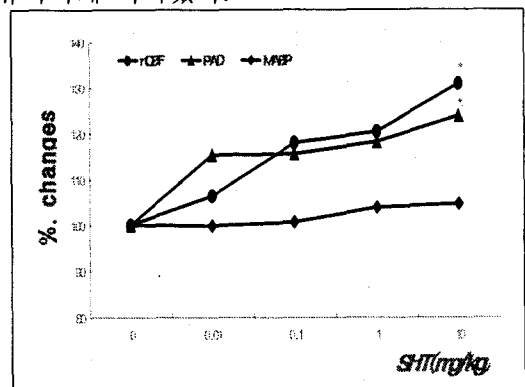


Fig. 1) Effect of SHT on the rCBF, PAD and MABP in normal rats.

SHT : Sunkihwalhwyul-Tang extract, **0** : After SHT non-injected, group-measured during 30 min, **0.01, 0.1, 1, 10** : After SHT(0.01, 0.1, 1.0, 10.0 mg/kg, i.p.) injected, group-measured during 30 min
rCBF ; regional cerebral blood flow, **PAD** ; pial arterial diameter,
MABP ; mean arterial blood pressure.
 * : Statistically significant compared with 0 group(* ; P<0.05).

2. SHT 투여로 변화된 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 작용기전 관찰

1) SHT 투여로 변화된 정상 흰쥐의 rCBF 작용기전 관찰

SHT 투여로 변화된 rCBF의 작용기전을 알아보기 위하여 SHT 투여로 유의성 있게 증가된 rCBF를 대조군, cyclooxygenase의 억제제인 IDN을 전처치한 다음 SHT 투여로 변화된 rCBF를 IDN 처리군, guanylate cyclase의 억제제인 MTB를 전처치한 다음 SHT 투여로 변화된 rCBF를 MTB 처리군으로 하였다(Fig. 2).

IDN을 전처치하고 SHT를 투여하지 않았을 때의 rCBF를 100.00±0.06 %라 하였을 때, IDN 전처치한 후 SHT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여하였을 때의 rCBF는 각각 96.05±0.07 %, 99.80±0.06 %, 104.42±0.06 %, 109.57±0.07 %로 증가되었으나, IDN 처리군의 rCBF 변화는 대조군의 rCBF 변화보다 용량 의존적으로 유의성(P< 0.05) 있게 감소되었다.

MTB를 전처치하고 SHT를 투여하지 않았을 때의 rCBF를 100.00±0.10 %라 하였을 때, MTB를 전처치한 후 SHT를 용량별로 투여하였을 때의 rCBF는 각각 100.77±0.09 %, 105.04±0.04 %, 106.59±0.05 %, 115.37±0.06 %로 용량 의존적으로

증가되었으나, MTB 처리군의 rCBF 변화는 대조군의 rCBF 변화보다 용량 의존적으로 유의성(P <0.05) 있게 감소되었다.

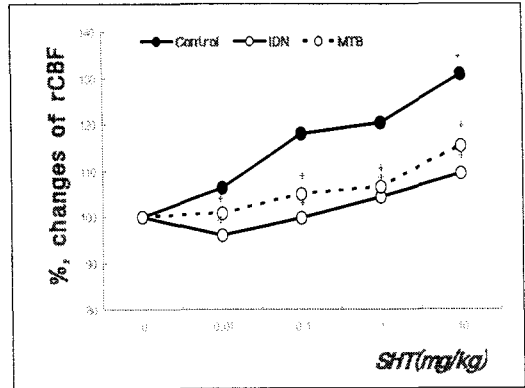


Fig. 2) Effect of pretreatments with IDN and MTB on the SHT-induced rCBF changes in normal rats.

IDN : indomethacin(1 mg/kg, i.p.), **MTB** : methylene blue(10 µg/kg, i.p.), **Control** : SHT treated group **0** : After IDN or MTB treated but SHT non-treated, group-measured during 30 min, **0.01, 0.1, 1, 10** : After IDN or MTB treated and SHT(0.01, 0.1, 1.0, 10.0 mg/kg, i.p.) treated, group-measured during 30 min. Other legends are the same as Fig. 1.

* : Statistically significant compared with control group(+ ; P<0.05).

2) SHT 투여로 변화된 정상 흰쥐의 PAD 작용기전 관찰

SHT 투여로 변화된 PAD의 작용기전을 알아보기 위하여 SHT 투여로 유의성 있게 확장된 PAD를 대조군으로, IDN을 전처치한 다음 SHT 투여로 변화된 PAD를 IDN 처리군으로, MTB를 전처치한 다음 SHT 투여로 변화된 PAD를 MTB 처리군으로 하였다(Fig. 3).

IDN을 전처치하고 SHT를 투여하지 않았을 때의 PAD를 100.00±0.52 %라 하였을 때, IDN 전처치한 후 SHT를 용량별로 투여하였을 때의 PAD 변화는 각각

94.97±0.53 %, 97.18±0.51 %, 98.86±0.50 %, 99.87±0.50 %로 정상시보다도 수축되었고, 대조군의 PAD 변화보다 용량 의존적으로 유의성(P<0.05) 있게 수축되었다.

MTB를 전처치하고 SHT를 투여하지 않았을 때의 PAD를 100.00±0.75 %라 하였을 때, MTB를 전처치한 후 SHT를 용량별로 투여하였을 때의 PAD는 각각 99.52±0.20 %, 102.81±0.08 %, 105.10±0.07 %, 118.53±0.07 %로 용량 의존적으로 확장되었으나, 대조군의 PAD 변화에 비해 유의성(P<0.05) 있게 수축되었다.

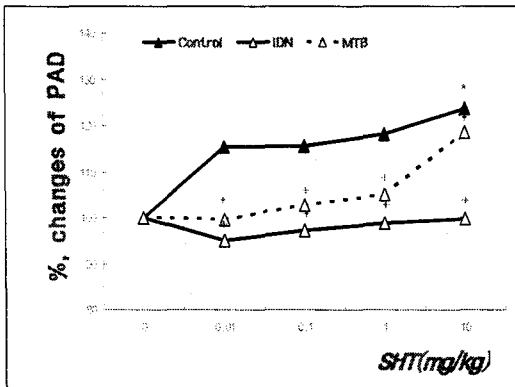


Fig. 3) Effect of pretreatments with IDN and MTB on the SHT-induced PAD changes in normal rats.

Other legends are the same as Fig. 1.

* : Statistically significant compared with control group(+ ; P<0.05).

3) SHT 투여로 변화된 정상 흰쥐의 MABP 작용기전 관찰

SHT 투여로 변화된 MABP의 작용기전을 알아보기 위하여 SHT 투여로 나타난 MABP 변화를 대조군으로, IDN을 전처치한 다음 SHT 투여로 변화된 MABP를 IDN 처리군으로, MTB를 전처치한 다음 SHT 투여로 변화된 MABP를 MTB 처리군으로 하였다(Fig. 4).

IDN을 전처치하고 SHT를 투여하지 않았을 때의 MABP를 100.00±0.04 %라 하였을 때, IDN을 전처치한 후 SHT를 용량별로 투여하였을 때의 MABP는 각각 102.33±0.03 %, 107.79±0.03 %, 110.45±0.04 %, 111.79±0.04 %로 대조군의 MABP 변화보다 용량 의존적으로 유의성(P<0.05) 있게 증가되었다.

MTB를 전처치하고 SHT를 투여하지 않았을 때의 MABP를 100.00±0.14 %라 하였을 때, MTB를 전처치한 후 SHT를 용량별로 투여하였을 때의 MABP는 각각 100.25±0.12 %, 100.96±0.10 %, 101.11±0.07 %, 101.32±0.07 %로 대조군의 MABP 변화와 유사하게 나타났다.

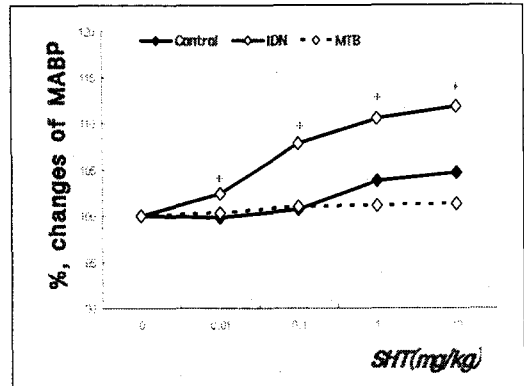


Fig. 4) Effect of pretreatments with IDN and MTB on the SHT-induced MABP changes in normal rats.

Other legends are the same as Fig. 2.

* : Statistically significant compared with control group(+ ; P<0.05).

3. SHT가 뇌허혈 병태 모델의 생리학적 변수에 미치는 영향

SHT(10 mg/kg, i.p.)가 뇌허혈-재관류 동안에 뇌허혈 병태 모델의 생리학적 변수(MABP, HR, pH, 동맥혈의 산소 분압, 동맥혈의 이산화탄소 분압 및 직장내 온도

등)에 미치는 영향을 알아보기 위하여 뇌허혈 전과 뇌허혈 1 시간 후, 그리고 혈액 재관류 6 시간 후의 생리학적 변수를 측정하였다(Table II). SHT를 투여하지 않은

상태에서 각각의 시간대별로 측정된 결과를 대조군으로 하였을 때, SHT를 투여하였을 때의 병태 모델 생리학적 변수는 대조군과 유사한 상태를 유지하였다.

Table II. Physiological parameters in cerebral ischemic rats

Groups	MABP (mmHg)	HR (bpm)	pH	PaO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)	Rectal temperature (°C)
Control						
Before ischemia	106±1.4	421±19	7.27±0.07	83±2.1	43±2.1	37.3±0.4
1 hr after ischemia	106±2.2	420±25	7.30±0.04	82±2.5	43±1.9	37.2±0.1
6 hr after reperfusion	106±1.5	422±21	7.29±0.02	83±1.3	43±1.9	37.1±0.3
SHT						
Before ischemia	107±1.1	420±18	7.29±0.04	80±2.1	43±1.8	37.2±0.3
1 hr after ischemia	106±1.5	420±24	7.31±0.04	81±1.8	43±1.2	37.4±0.1
6 hr after reperfusion	107±1.9	421±15	7.30±0.05	82±2.3	42±2.3	37.1±0.3

PaO₂ : partial pressure of oxygen in arterial blood.

PaCO₂ : partial pressure of carbon dioxide in arterial blood.

MABP : mean arterial blood pressure.

HR : heart rate.

4. SHT가 뇌허혈 병태 모델의 뇌혈류역학 변동에 미치는 개선 효과

1) SHT가 rCBF 변동에 미치는 개선 효과

뇌허혈 병태 모델의 rCBF 변동에 미치는 SHT의 개선효과를 관찰하기 위하여 MCA 폐쇄법으로 뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 다음 SHT(10 mg/kg, i.p.)를 투여하여 뇌허혈-재관류 후에 변동되는 rCBF를 관찰하였다(Fig. 5).

대조군의 rCBF 기저치를 100.00±0.00%라 하였을 때, 뇌허혈 상태 대조군의 rCBF 변동은 뇌허혈 2 시간 동안 각각 39.83±0.15 %, 34.58±0.26 %, 43.52±0.09

%, 44.27±0.13 %로 차단되었다. 그리고 재관류 후 2시간 동안 대조군의 rCBF 변동은 기저치보다 각각 143.70±0.06 %, 146.81±0.12 %, 144.05±0.21 %, 132.84±0.09 %로 불안정한 증가상태를 나타내었고, 이후 재관류 시간이 경과될수록 각각 129.02±0.15 %, 128.57±0.25 %, 127.03±0.09 %, 126.69±0.10 %로 감소되는 경향을 보였으나 기저치보다는 증가되었다.

실험군의 rCBF 기저치를 100.0±0.10%라 하였을 때, 뇌허혈 상태 실험군의 rCBF 변동은 뇌허혈 2 시간 동안 각각 48.57±0.16 %, 35.79±0.10 %, 45.42±0.12 %, 44.97±0.13 %로 차단되었고, 재관류 후

에는 기저치보다 각각 $114.27 \pm 0.07 \%$, $120.51 \pm 0.08 \%$, $117.07 \pm 0.06 \%$, $118.68 \pm 0.08 \%$, $116.18 \pm 0.09 \%$, $117.49 \pm 0.09 \%$, $112.38 \pm 0.11 \%$, $108.99 \pm 0.10 \%$ 로 증가되는 경향을 보였으나, 대조군의 불안정한 r-CBF 변동에 비해서는 유의성($P < 0.01$) 있게 안정적으로 개선되었다.

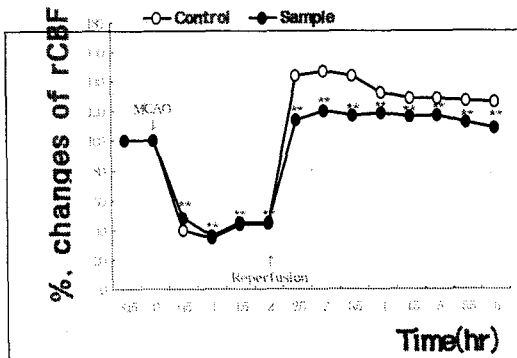


Fig. 5) Effect of SHT on the rCBF response in cerebral ischemic rats.

SHT : Sunkihwalhwyul-Tang extract, MCAO : middle cerebral artery occlusion, Control : After caused MCAO(5 min), SHT non-treated group. Sample : After caused MCAO, SHT(10 mg/kg, i.p.) treated group. rCBF ; regional cerebral blood flow. * : Statistically significant compared with control group(** ; $P < 0.01$).

2) SHT가 PAD 변동에 미치는 개선 효과

뇌허혈 병태 모델의 PAD 변동에 미치는 SHT의 개선 효과를 관찰하기 위하여 MCA 폐쇄법으로 뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 다음 SHT(10 mg/kg, i.p.)를 투여하여 뇌허혈-재관류 후에 변동되는 PAD를 관찰하였다(Fig. 6).

대조군의 PAD 기저치를 $100.00 \pm 0.10 \%$ 라 하였을 때, 뇌허혈 상태 대조군의 PAD 변동은 뇌허혈 2 시간 동안 각각 $54.17 \pm$

0.21% , $55.16 \pm 0.14 \%$, $53.64 \pm 0.19 \%$, $52.68 \pm 0.15 \%$ 로 차단되었고, 재관류 후 2 시간 동안의 PAD 변동은 각각 $138.16 \pm 0.11 \%$ 과 $143.08 \pm 0.09 \%$, $146.29 \pm 0.17 \%$, $139.27 \pm 0.21 \%$ 로 기저치보다 불안정한 확장상태를 나타내었다. 이후 재관류 시간이 경과될수록 각각 $131.52 \pm 0.08 \%$, $129.67 \pm 0.13 \%$, $128.32 \pm 0.11 \%$, $123.59 \pm 0.13 \%$ 로 감소되었지만 기저치보다는 확장된 PAD 변동을 나타내었다.

실험군의 PAD 기저치를 $100.00 \pm 0.15 \%$ 라 하였을 때, 뇌허혈 상태 실험군의 PAD 변동은 뇌허혈 2 시간 동안 각각 $59.15 \pm 0.17 \%$, $54.99 \pm 0.17 \%$, $61.44 \pm 0.20 \%$, $64.39 \pm 0.14 \%$ 로 차단되었고, 재관류 후 2 시간 동안의 PAD 변동은 각각 $112.00 \pm 0.12 \%$, $126.70 \pm 0.11 \%$, $123.81 \pm 0.14 \%$, $121.00 \pm 0.14 \%$ 로 확장되었으나 이후 재관류 시간이 경과될수록 실험군의 PAD 변동은 각각 $120.01 \pm 0.13 \%$, $112.11 \pm 0.12 \%$, $107.32 \pm 0.12 \%$, $101.24 \pm 0.13 \%$ 로 기저치와 유사하게 나타났다. 실험군의 PAD 변동은 대조군의 불안정한 PAD 변동에 비해서 유의성($P < 0.05$) 있게 안정적으로 개선되었다.

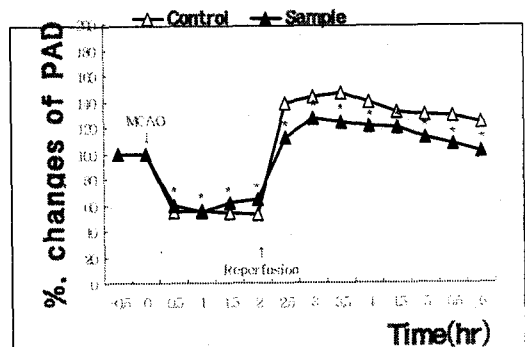


Fig. 6) Effect of SHT on the PAD response in cerebral ischemic rats.

PAD : pial arterial diameter.

Other legends are the same as Fig. 5.

* : Statistically significant compared with control group(* ; P<0.05).

5. SHT가 생쥐의 신경 세포의 LDH 활성도에 미치는 효과

SHT가 신경 세포 손상을 억제하는지에 대하여 알아보기 위하여 NMDA를 처리한 신경 세포에 SHT를 용량별(1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$)로 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 7).

SHT를 처리하지 않고 NMDA만을 처리한 대조군의 LDH 활성도를 100.00 ± 0.02 %라 하였을 때, NMDA와 SHT를 처리하지 않은 정상군의 LDH 활성도는 80.71 ± 0.02 %이었다. NMDA와 SHT를 처리한 실험군중 SHT 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여한 실험군의 LDH 활성도는 각각 89.43 ± 0.02 %와 86.04 ± 0.02 %로 대조군보다 유의성(P<0.01) 있게 감소되었고, SHT 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 투여한 실험군의 LDH 활성도도 83.37 ± 0.02 %로 대조군에 비해 용량의존적으로 유의성(P<0.001) 있게 감소되었다.

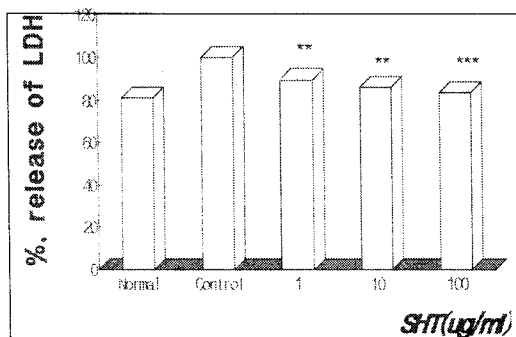


Fig. 7) Effect of SHT on the LDH activity in neuronal cells.

SHT : Sunkihwalhwyul-Tang extract, Normal : NMDA and SHT non treated group, Control : NMDA(30 μM) treated, but SHT non-treated group, 1, 10, 100 : SHT(1.0 $\mu\text{g/ml}$, 10.0 $\mu\text{g/ml}$, 100.0 $\mu\text{g/ml}$) and NMDA treated group.

* : Normal group vs Control group(+++ ; P<0.001).

* : Sample group vs Control group(** ; P<0.01, *** ; P<0.001).

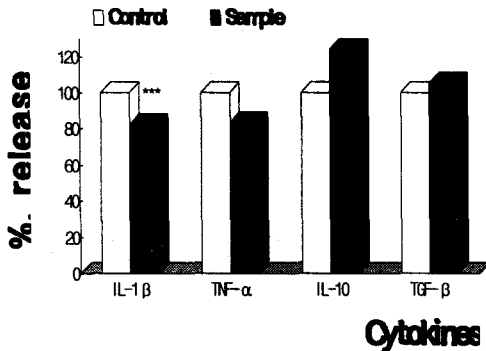
6. SHT가 뇌허혈 병태 모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양에 미치는 효과

1) MCA 폐색 1 시간 후 생산되는 사이토카인 양에 미치는 효과

뇌허혈 병태 모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 뇌허혈을 유발시킨 후 SHT를 투여하고, 유발 1 시간이 경과된 다음 뇌허혈 병태 모델의 혈액을 취하여 사이토카인 생성능을 측정하였다(Fig. 8).

대조군의 IL-1 β 생성능을 100.00 ± 0.02 %라 하였을 때 실험군의 IL-1 β 생성능은 82.64 ± 0.02 %로 대조군에 비해 유의성(P<0.001) 있게 감소되었고, 대조군의 TNF- α 생성능을 100.00 ± 0.03 %라 하였을 때 실험군의 TNF- α 생성능은 83.55 ± 0.12 %로 대조군에 비해 감소되었다. 대조군의 IL-10 생성능을 100.00 ± 0.11 %라 하였을 때 실험군의 IL-10 생성능은 124.20 ± 0.05 %로, 대조군의 TGF- β 생성능을 100.00 ± 0.05 %라 하였을 때 실험군의 TGF- β 생성능은 105.62 ± 0.05 %로 대조군에 비해 증가되었다.

Fig. 8) Effect of SHT on the cytokines pr-



duction in serum of cerebral ischemic rats 1 hr after MCAO.

Other legends are the same as Fig. 5.

* : Statistically significant compared with control group(*** ; $P < 0.001$).

2) 재관류 1 시간 후 생산되는 사이토카인 양에 미치는 효과

뇌허혈 병태 모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 유발된 뇌허혈 병태 모델을 재관류 시킨 다음 1 시간 후 뇌허혈 병태 모델의 혈액을 취하여 사이토카인 생성능을 측정하였다(Fig. 9).

대조군의 IL-1 β 생성능을 100.00 ± 0.03 %라 하였을 때 실험군의 IL-1 β 생성능은 75.09 ± 0.01 %로 대조군보다 유의성($P < 0.001$) 있게 감소되었고, 대조군의 TNF- α 생성능을 100.00 ± 0.02 %라 하였을 때 실험군의 TNF- α 생성능도 83.78 ± 0.07 %로 대조군보다 유의성($P < 0.05$) 있게 감소되었다. 대조군의 IL-10 생성능을 100.00 ± 0.03 %라 하였을 때 실험군의 IL-10 생성능은 122.91 ± 0.07 %로 대조군보다 유의성($P < 0.05$) 있게 증가되었고, 대조군의 TGF- β 생성능을 100.00 ± 0.03 %라 하였을 때 실험군의 TGF- β 생성능은 104.10 ± 0.03 %로 대조군과 유사하게 나타났다.

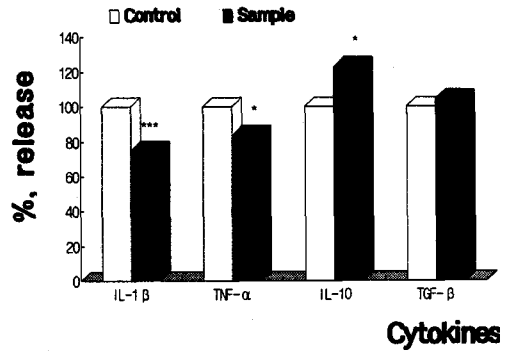


Fig. 9) Effect of SHT on the cytokines p-duction in serum of cerebral ischemic rats 1 hr after reperfusion.

Other legends are the same as Fig. 5.

* : Statistically significant compared with control group(* ; $P < 0.05$, *** ; $P < 0.001$).

IV. 考 察

최근 식생활 및 정신적 스트레스 등으로 인하여 각종 성인병과 노인성 질환들이 다발하고 있는데, 그 중에서도 뇌혈관계 질환의 발생빈도가 높아 사회적 관심이 집중되고 있다^{3,20}.

뇌혈류량은 뇌관류압에 비례하고 뇌혈관 저항에 반비례하는데, 뇌관류압은 생리적 상태에서 뇌정맥압이 매우 낮아 평균 동맥압에 비례하고 뇌혈관저항은 뇌혈관직경의 4승에 반비례하기 때문에 정상적인 뇌혈류가 유지되기 위해서는 혈압이 하강될 경우 뇌혈관은 확장되어야 하고, 혈압이 상승될 경우에는 수축되어야 한다²). 혈압은 심장의 박동과 수축력, 말초혈관, 자율신경의 활성 및 renin-angiotensin계를 포함한 각종 호르몬과 생체내 내인성 활성물질 등에 의해 조절된다^{4,21}).

혈관확장에 관여하는 인자로는 혈류 변화와 혈관내피세포에서 유리되는 prostaglandin 및 nitric oxide(NO) 등이 있다^{22,23)}. NO 중 constitutive NO는 주위의 혈소판에 작용하여 혈소판내 세포전령 분자물질인 cGMP 양을 증가시키는 동시에 그 생성효소로써 혈관을 이완시키는 guanylate cyclase도 활성화시킨다²⁴⁾. 그리고 prostaglandin은 renin-angiotensin계에 작용하는 약물로 혈관을 이완시켜 혈압을 낮추는 작용을 한다²²⁾. 혈관확장 인자들을 억제하는 약물로는 여러 가지가 있지만 그 중에서도 MTB는 cGMP의 생성효소인 guanylate cyclase를, IDN은 prostaglandin의 생성효소인 cyclooxygenase를 억제하는 약물이다^{25, 26)}.

뇌조직에서 필요한 산소와 포도당을 공급받기 위해서는 정상적으로 50 ml/100 g/min 정도의 혈액이 공급되어야 하는데 27), 만약 뇌혈류량이 15~18 ml/100 g/min로 감소되면 신경 접합부에서 신경 자극이 완전히 전달되지 못하여 특징적인 등전성 뇌파가 나타나지만 세포자체의 기능은 어느 정도 유지된다²⁸⁾. 그러나 10 ml/100 g/min이하로 감소되면 이온성 장애, adenosine triphosphate(ATP) 감소, 유리 지방산 및 젖산 증가에 의한 세포내 산증과 같은 에너지 대사장애가 초래되어 뇌조직에 치명적인 손상이 나타난다²⁹⁾.

중추신경세포의 사멸에는 여러 가지 인자가 관여하나 중추신경계의 주된 신경전달물질인 glutamate의 과잉분비에 의해 일어나는 흥분독성과 각종 활성산소에 의해 유도되는 산화성 손상이 있다. 이중 glutamate에 의한 흥분독성은 glutamate 수용체중 ionotropic 수용체(NMDA 혹은

non-NMDA)로 인해 신경세포가 사멸되어 신경학적 증상이 나타난다³⁰⁾.

신경세포의 손상이나 국소 뇌혈류 감소로 인해 허혈성 뇌손상이 나타나게 되면 일련의 대사물질(산소자유기 혹은 글루탐산 등)이 생성되거나 침착하게 되어 뇌신경세포를 포함한 뇌조직이 손상됨으로써 운동마비·지각마비 등의 신경학적 증상들이 출현하게 되는데, 이를 한의학에서는 중풍의 범주에 포함시켜 다루고 있다²⁾.

중풍의 원인에 대하여 《內經》³¹⁾에서는 正氣가 虛한 상태에서 外來風邪가 侵襲한다는 “內虛邪中”說이 언급되었고, 巢³²⁾는 “風偏枯者由血氣偏虛則腠理開受於風濕, 風濕客於半身 在分腠之間, 使血氣凝滯, 不能潤養, 俱不又眞氣去邪氣, 獨留則成偏枯”라 하여 그 내용을 보다 구체화하였다. 이후 金元時代에는 ‘外風說’보다는 ‘內因說’이 강조되었다. 劉³³⁾는 ‘主火說’, 李³⁴⁾는 ‘主氣說’, 朱³⁵⁾는 ‘主濕說’을 주장하였다. 近來에는 年老體衰, 肝腎陰虛 등의 本虛와 風·火·痰·瘀 등의 標實로 인한다 하였다³⁶⁾.

順氣活血湯은 《晴崗醫鑑》¹⁾에 처음 수록된 처방으로 中風의 前兆證, 卒中證, 後遺證은 물론이고 痺證, 神經痛, 血液循環障礙, 氣鬱, 濕痰 등 모든 疼痛, 痲痺性疾患에 우선적으로 이용되고 있는 처방이다. 본 처방의 구성약물에 대한 효능을 살펴보면, 香附子는 理氣解鬱, 止痛調經하고, 烏藥은 順氣開鬱, 散寒止痛하며, 橘皮는 理氣調中, 燥濕化痰하고, 半夏는 燥濕化痰, 降逆止嘔, 消痞散結하며, 赤茯苓은 行水, 泄利濕熱하고, 蒼朮은 燥濕健脾, 祛風散寒하며, 當歸는 補血和血, 調經止痛하고, 川芎은 活血行氣, 祛風止痛하며, 赤芍藥은 清熱涼血, 散瘀止痛하고, 桔梗은 宣肺利咽, 祛

痰排膿하며, 枳殼은 理氣行痰, 消積하고, 白芷는 祛風除濕, 通竅止痛, 消腫排膿하며, 木香은 行氣止痛, 溫中和胃하며, 生薑은 解表散寒, 溫中止嘔, 化痰止咳하고, 甘草는 諸藥을 調和하는 작용이 있다³⁷⁾.

최근의 뇌혈관질환에 대한 연구 동향을 살펴보면, 導痰湯⁷⁾과 清量化痰湯^{10,11)} 등의 祛痰之劑, 六君子湯¹⁴⁾ 등의 補氣之劑들이 뇌혈관을 확장시킴으로써 뇌혈류를 증가시켰다고 보고되었고, 牛黃清心元⁸⁾과 星香正氣散¹³⁾ 등의 芳香之劑, 滋陰健脾湯加味方¹²⁾ 등의 滋陰之劑들이 MCA 폐색법으로 유발된 뇌허혈 병태 모델에서 허혈로 인한 뇌손상을 억제시켰다고 보고되었다. 그러나 順氣活血湯에 대한 연구로는 흰쥐의 골절유합¹⁸⁾과 어혈병태모형에 미치는 영향¹⁹⁾에 대해서만 보고되었을 뿐 뇌허혈 억제효과에 대한 실험적 연구는 아직까지 보고되지 않았다.

이에 저자는 順氣活血, 解鬱化痰 등의 효능이 있는 順氣活血湯(SHT)을 정상 흰쥐에 투여하여 뇌혈류역학(rCBF, MABP, PAD)에 미치는 효과와 그 작용기전을 살펴보고, 뇌허혈 유발 흰쥐의 rCBF와 PAD 변화, 혈청내 항염증 사이토카인과 염증 촉발 사이토카인 생성능을 측정하였으며, 또한 생쥐의 신경세포 사멸과정에서 생성되는 LDH 양을 관찰하였다.

뇌혈류역학 변화에 미치는 효과를 알아보고자 정상 흰쥐에 SHT를 투여한 결과 rCBF는 0.01, 0.1, 1.0 mg/kg 에서는 용량 의존적으로 증가되었으며, 특히 10.0 mg/kg 용량에서는 130.80±0.08 %로 유의성(P<0.05) 있게 증가되었으며, PAD도 용량 의존적으로 확장되었고, 특히 10.0 mg/kg 용량에서는 123.77±0.03 %로 유의성(P<

0.05) 있게 확장되었다. 그러나 MABP는 투여 용량에 관계없이 정상시와 유사하게 나타났다. 이와 같은 결과로 볼 때 SHT는 뇌연막동맥을 확장시켜 뇌혈류를 증가시킨 것이라고 볼 수 있다. 그러나 뇌혈류량 증가가 정상흰쥐에 반드시 긍정적으로 작용한 것인지는 향후 지속적인 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

뇌혈류역학 변화의 작용기전을 밝혀보고자 cyclooxygenase 억제제인 IDN을 전처치한 후 SHT를 투여한 결과 rCBF는 SHT 투여로 증가된 것보다 유의성 있게 감소되었고, PAD도 SHT 투여로 확장된 것보다 유의성 있게 수축되었다. 그러나 MABP는 SHT 투여로 약간 증가된 것보다 오히려 유의성 있게 증가되었다. 이는 Bakalova 등^{38,39)}이 IDN 처치로 rCBF가 감소되는 것은 cyclooxygenase와 관련이 있다는 보고와 일치되지만, MABP가 증가되었기 때문에 cyclooxygenase와 관련 있다고 단언하기는 어렵다고 사료된다.

한편, guanylate cyclase의 억제제인 MTB를 전처치한 후 SHT를 투여한 결과 rCBF는 SHT 투여로 증가된 것보다 유의성 있게 감소되었고, PAD도 SHT 투여로 확장된 것보다 유의성 있게 수축되었다. 그리고 MABP는 SHT 투여로 나타난 MABP와 같이 정상시와 유사하게 나타났다. 이는 Shin 등^{40,41)}이 MTB 전처치로 rCBF가 감소되는 것은 cGMP의 생성효소인 guanylate cyclase와 관련이 있다고 보고한 것에 미루어 보아 SHT의 작용기전은 guanylate cyclase와 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다.

최근 보고에 의하면, 허혈성 뇌손상은 허혈 당시보다는 허혈부위로 산소가 재공

급될 때 주로 일어난다고⁴²⁾ 하였는데, 일과성 뇌허혈을 유발한 흰쥐에 SHT를 투여하고 재관류시킨 결과 불안정한 증가상태를 보였던 대조군의 rCBF 변동보다 유의성 있게 안정적으로 증가되었다. 뇌허혈 병태 모델의 PAD 변동도 재관류 후 불안정한 확장 상태를 보였던 대조군의 변동보다 유의성 있게 안정적으로 확장되었으며, 재관류 4 시간 후에는 rCBF 변동에 미치는 개선 효과와 같이 기저치와 유사한 결과를 나타내었다. 이것으로 미루어 볼 때 SHT는 뇌허혈시에 뇌혈류역학을 유의성 있게 개선시킴으로써 허혈로 인한 뇌손상을 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

뇌허혈에 의해 ATP가 저하되면 ATP 의존성 Na⁺-K⁺ 수송계 억제, 세포내 Na⁺ 축적, Na⁺-Ca²⁺ antiport의 역전 및 내형질 세망으로부터 세포질로의 칼슘 유리, 특히 NMDA 수용체를 통한 칼슘유입이 나타남으로써 허혈성 세포손상이 나타난다⁴³⁾. 이에 SHT가 뇌세포 사멸시 분비되는 LDH 양을 억제시킬 수 있는지에 대해 알아보기 위하여 NMDA로 뇌세포 사멸을 유도한 후 SHT를 투여한 결과, 전 투여농도에서 유의성 있게 LDH 활성도를 억제하였다.

뇌허혈이 일어나면 혈액중의 다형 백혈구가 혈관 내벽에 부착되어 뇌조직내로 침윤되고, 조직내에 축적된 호중구로부터 여러 물질들이 유리되면서 염증반응에 의한 허혈성 뇌조직 손상은 더욱 진행하게 되며⁴⁴⁾, 허혈성 뇌손상시 세포성장, 세포활성, 염증 등과 같은 중요한 생물학적 작용을 조절하기 위하여 각종 사이토카인들이 작용하게 된다⁴⁵⁾. 염증에 관여하는 사이토카인에는 IL-1 β 와 TNF- α 등이 있는데, 이 중 IL-1 β 는 대식세포, 림프구 및 내피세포

등의 세포에서 유리되는 것으로 내독소, 물리적 손상, 염증반응에 의해 유발되고, 뇌로 이동될 경우 열을 발생시킨다. TNF- α 는 종양의 출혈성 괴사 및 염증반응에 관여하며, 염증의 급성기에는 IL-1 β 와 TNF- α 가 서로 작용하여 생성능이 촉진된다⁴⁶⁾. 염증 촉발 사이토카인을 억제하는 기전으로는 항염증 사이토카인인 IL-10과 TGF- β 등이 있는데, 이 중 IL-10은 IL-1 β 와 TNF- α 를 생성하는 대식세포의 생성을 억제하고, TGF- β 는 혈소판 및 내피세포 등에서 생산되는 것으로 대식세포에서 생성되는 NO의 양 등을 불활성화시킨다⁴⁶⁾. Daddi⁴⁷⁾ 등은 IL-10과 TGF- β 가 뇌허혈시 재관류로 인해 나타나는 뇌손상을 감소시킨다 하였다.

뇌허혈시 염증반응으로 인해 더욱 심한 뇌손상이 나타나기 때문에 SHT가 염증 촉발 사이토카인과 항염증 사이토카인 생성능에 미치는 효과를 관찰한 결과, MCA 폐색 1 시간 후 실험군의 IL-10 생성능은 대조군에 비해 증가되었지만 TGF- β 생성능은 대조군과 유사하였고, IL-1 β 생성능은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었으며, TNF- α 생성능은 대조군에 비하여 감소되었다. 이는 SHT가 뇌허혈 초기부터 염증 촉발 사이토카인이나 항염증 사이토카인 생성에 관여하고 있음을 보여준다. 재관류 1 시간 후 실험군의 IL-10 생성능은 대조군에 비해 유의성 있게 증가된 반면 TGF- β 생성능은 MCA 폐색 1시간 후와 같이 대조군과 유사하였다. 이는 SHT의 작용은 TGF- β 생성에는 관여하지 않고 IL-10 생성능만을 촉진시키는 것으로 생각된다. 한편, 염증 촉발 사이토카인의 경우에 실험군의 IL-1 β 생성능과 TNF- α

생성능이 모두 대조군에 비해 유의성 있게 감소되어 IL-10이 IL-1 β 와 TNF- α 생성을 억제하는 것으로 생각된다. 이와 같은 결과는 IL-10이 급성 뇌허혈시 조기치료의 기전으로 작용한다는 Vila 등⁴⁵⁾의 보고, cGMP가 IL-10과 관련된다는 Lei 등⁴⁸⁾의 보고 그리고 cGMP가 IL-1 β , TNF- α 및 산소자유기를 억제한다는 Schubert 등⁴⁹⁾의 보고에서 알 수 있듯이 SHT가 항염증 사이토카인인 IL-10의 생성능을 촉진시켜 염증 촉발 사이토카인의 생성을 억제함으로써 뇌혈류 변동을 개선시키고, 뇌손상을 억제하는 것으로 생각된다.

이상의 결과, SHT는 guanylate cyclase와 관련되어 항염증 사이토카인인 IL-10의 생성을 촉진시킴으로써 염증 촉발 사이토카인 생성이 억제되어 뇌혈류의 변동을 안정적으로 개선시킴을 알 수 있었다.

V. 結 論

뇌세포 사멸 및 허혈성 뇌손상에 대한 順氣活血湯의 억제효과를 알아보고자 정상 흰쥐에서 rCBF, MABP, PAD 등의 뇌혈류역학 인자에 미치는 효과 및 작용기전, 뇌허혈 병태 모델의 rCBF 및 PAD 변동 개선에 미치는 효과, 생쥐의 LDH 활성도 억제효과, 흰쥐의 혈청내 사이토카인 생성능을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상 흰쥐에 SHT를 투여한 결과, rCBF는 용량 의존적으로 유의성 있게 증가되었고, PAD도 유의성 있게 확장되었으며, MABP는 정상시와 유사하였다.
2. 정상 흰쥐에 IDN을 전처치한 후 SHT를 투여한 결과, rCBF는 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고, PAD도 대조군에 비해 유의성 있게 수축되었으며 MABP는 대조군에 비해 유의성 있게 증가되었다.
3. 정상 흰쥐에 MTB를 전처치한 후 SHT를 투여한 결과, rCBF는 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고, PAD도 대조군에 비해 유의성 있게 수축되었으며, MABP는 대조군과 유사하게 나타났다.
4. 뇌허혈 병태 모델에 SHT를 투여한 결과, 실험군의 rCBF 변동은 재관류시 대조군의 변동보다 유의성 있게 안정적으로 개선되었다.
5. 뇌허혈 병태 모델에 SHT를 투여한 결과, 실험군의 PAD 변동은 재관류시 대조군의 변동보다 유의성 있게 안정적으로 개선되었다.
6. 생쥐의 신경세포에 SHT를 투여한 결과, LDH 활성도는 전 투여 용량에서 유의성 있게 억제되었다.
7. 뇌허혈 병태 모델 유발 1 시간 후, 실험군의 IL-1 β 생성능은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고 TNF- α 생성능도 대조군에 비해 감소되었다. 실험군의 IL-10 생성능은 대조군에 비해 증가되었지만 TGF- β 생성능은 대조군과

유사하게 나타났다.

8. 뇌허혈 병태 모델에서 재관류 1 시간 후, 실험군의 IL-1 β 생성능과 TNF- α 생성능은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고, 실험군의 IL-10 생성능은 대조군에 비해 유의성 있게 증가되었으나 TGF- β 생성능은 대조군과 유사하게 나타났다.

參 考 文 獻

1. 金永勳. 晴崗醫鑑. 서울: 成輔社; 2001, p. 224-5.
2. 대한신경외과학회. 신경외과학. 서울: 중앙문화사; 1998, p. 150~6, 275~9, 284-5.
3. 나영설 외. 최근 뇌졸중에 대한 역학적 고찰. 서울: 경희의학; 1991, p. 280~6.
4. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 내과학. 서울: 군자출판사; 1996, p. 146 ~ 58.
5. Heiss W.D.. Pathophysiology of Ischemic Stroke as Determined by PET. Stroke 1990;21:1 2~I 3.
6. 이광우 외. 임상신경학. 서울: 고려의학; 1997, p. 128~31, 203~4.
7. 정현우, 김희성. 導痰湯이 白鼠의 뇌혈류개선 및 작용기전에 미치는 효과. 대한동의병리학회지 2000;14(2):233~44
8. 조규선 외. 牛黃清心元이 중대뇌동맥 결찰로 유발된 뇌허혈에 미치는 영향. 대한한의학회지 2001;22(1):78~9
9. 김희성, 정현우. 淸熱導痰湯이 뇌혈류개선 및 작용기전에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 2001;15(2):325~31
10. 김천중. 淸量化痰湯 및 그 加味方이 국소뇌혈류량에 미치는 실험적 연구. 동신대학교 대학원, 2002.
11. 민병일 외. 淸量化痰湯加荊芥로 인해 변동된 국소뇌혈류량 및 평균혈압의 작용기전. 동의생리병리학회지 2002;16(4):701~6
12. 양기호 외. 滋陰健脾湯이 국소뇌혈류량, 평균혈압, 심박동수에 미치는 작용기전. 동의생리병리학회지 2002;16(3):507~13
13. 김선영, 이원철. 흰쥐의 중대뇌동맥 결찰로 유발된 뇌허혈에서 星香正氣散과 藿香正氣散이 신경세포에 미치는 효과. 대한한의학회지 2001;22(4): 142~50
14. 김희성. 六君子湯이 腦虛血 抑制效果에 미치는 實驗的 研究. 동신대학교 대학원, 2004.
15. 조남근. 湧泉穴의 자침 및 艾灸 시술이 혈압과 국소뇌혈류량에 미치는 영향. 대한침구학회지 1998;15(2):227~36
16. 조남근. 足三里 자침이 혈압과 뇌혈류역학에 미치는 영향. 대한침구학회지 1999;16(4):307~19
17. 김경식, 조남근. 肝·心·腎俞에 艾灸 施術과 Laser光線鍼이 혈압과 뇌혈류량에 미치는 영향. 대한침구학회지 1998;15(1):249~63
18. 손원택 외. 順氣活血湯이 흰쥐의 골절유합에 미치는 영향. 한방재활학회지 1999;9(2):350~62
19. 박창국. 順氣活血湯 및 加味順氣活血湯이 어혈병태모형에 미치는 영향. 동서의학 1998;23(2):1~15
20. Eric, R. and Raymond, D.. Principles

- of neural science(2nd ed.). NewYork: Elsevier Science Publishing Co.; 1985, p. 845~61.
21. 이문호 외. 內科學(上). 서울: 學林社; 1986, p. 77~81.
 22. 김경환. 이우주의 약리학 강의(제4판). 서울: 의학문화사; 1998, p. 82, 120~4, 146, 355, 397, 404, 432~42.
 23. 성호경. 생리학(제6판). 서울: 의학문화사; 1996, p. 110.
 24. Garthwaite, J. et al. Endothelium--derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the Brain. *Nature* 1988;336:385~8
 25. Iwamoto, J. et al. Methylene blue inhibits hypoxic cerebral vasodilation in awake sheep. *J. Appl Physiol* 1992;73(6):2226~32
 26. Wang, Q. et al. Comparison of the effects of NG-nitro-L-arginine and indomethacin on the hypercapnic cerebral blood flow increase in rats. *Brain Res.* 1994;641(2):257~64
 27. Kety, S.S., Schmidt, C.F.. The nitrous oxide method for the man : theory, procedure and normal values. *J. Clin Invest* 1948;27:476~83
 28. Sharbrough, F.W. et al. Correlation of continous electroencephalograms with cerebral blood flow measurements during carotid endarterectomy. *Stroke* 1973;4:672~83
 29. Harris, R.J. et al. Changes in extracellular calcium activity in cerebral ischemia. *J. Cerebral Blood Flow Metab* 1981;1:203~9
 30. Choi. D.W.. Excitotoxic cell death. *J. Neurobiology.* 1992;23:1261~76
 31. 裴秉哲 譯. 今釋黃帝內經《靈樞》. 서울: 傳統醫學研究所; 1995, p. 296~9, 401~7, 551~69, 567.
 32. 巢元方. 巢氏諸病源候論. 서울: 대성문화사; 1992, p. 9.
 33. 劉完素. 素問玄機原病式. 浙江: 浙江科學技術出版社; 1984, p. 170~2.
 34. 李東垣. 東垣十種醫書. 서울: 成輔社; 1983, p. 635~6.
 35. 方 廣. 丹溪心法附錄(上). 서울: 大星文化社; 1982, p. 67~9.
 36. 歐陽忠興 主編. 心腦病證治精要. 北京: 科學技術文獻出版社; 1999, p. 430-51.
 37. 전국한의과대학 본초학교수. 본초학. 서울: 영림사; 1999, p. 130, 137, 195, 290, 303, 348, 352~6, 409, 448, 460, 541, 579.
 38. Bakalova, R. et al. The cyclooxygenase inhibitors indomethacin and Rofecoxib reduced regional cerebral blood flow evoked by somatosensory stimulation in rats. *Exp. Biol. Med.* 2002;227(7):465~73
 39. Okamoto, H. et al. Role of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 endotoxin-induced cerebral hyperemia. *Stroke* 1998;29 (6):-1209~18
 40. Shin, H.K. et al. Role of adenosine A(2B) receptors in vasodilation of rat pial artery and cerebral blood flow autoregulation. *Am J. Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278(2):339~44

41. Yamamoto, S. et al. Subarachnoid hemorrhage impairs cerebral blood flow response to nitric oxide but not to cyclic GMP in large cerebral arteries. *Brain Res.* 1997;757(1):1~9
42. McCord, J.M.. Mechanisms of disease : oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New Eng J. Med.* 1985;312:159-63
43. Cheung, J.Y. et al. Mechanism of disease : calcium and ischemic injury. *New Eng J. Med.* 1986;26:1670~6
44. Hallenbeck, J.M. et al. Polymorphonuclear leukocyteaccumulation in brain region with low blood flow during the early postischemic period. *Stroke* 1986;17:246~53.
45. Vila, N. et al. Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke. *Stroke* 2003;34(3): 671~5
46. 대한병리학회. 병리학.서울: 고문사; 1994, p. 87~99, 1263~4.
47. Daddi, N. et al. Recipient intramuscular cotransfection of naked plasmid transforming growth factor beta and interleukin 10 ameliorates lung graft ischemia-reperfusion injury. *J. Thorac Cardiovasc Surg.* 2002 ;124(2):259~69
48. Lei, Y. et al. Induction of higher expression of IL-beta and TNF-alpha, lower expression of IL-10 and cyclic guanosine monophosphate by pulmonary arterial hypertension following cardiopulmonary bypass. *Asian J. Surg.* 2002;25(3):203~8
49. Schubert, P. et al. Cascading glia reactions : a common pathomechanism and its differentiated control by cyclic nucleotide signaling. *Ann. N. Y. Acad Sci.* 2000;903:24~33