

滋潤湯이 腦血流 變化에 미치는 影響

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

The Effects of *Jayun-tang* on the Changes of Cerebral Flow

Yong-Jin Kim, Sang-Yoon Jeon, Jeong-Jo Ann, Chang-Won Choi, Seok Hong

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongshin University

Objectives : This study was designed to investigate the effects of *Jayun-tang* extract (JYT) 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 to determine the mechanisms of action of JYT.

Methods : We investigated whether JYT inhibits lactate dehydrogenase activity in neuronal cells and cytokines production in serum of cerebral ischemic rats.

Results : 1. JYT significantly increased rCBF and PAD in a dose-dependent manner, but MABP was not changed by injecting JYT. These results suggested that JYT significantly increased rCBF by dilating PAD.

2. The JYT-induced increase in rCBF was significantly inhibited from pretreatment with indomethacin (1 mg/kg, i.p.), an inhibitor of cyclooxygenase and methylene blue (10 μ g/kg, i.p.), an inhibitor of guanylate cyclase.

3. The JYT-induced dilation in PAD was significantly inhibited from pretreatment with indomethacin, but was increased by pretreatment with methylene blue.

4. The JYT-induced increase in MABP was reduced by pretreatment with indomethacin and methylene blue.

5. JYT significantly inhibited lactate dehydrogenase activity in neuronal cells. These results suggest that JYT prevented the neuronal death.

6. Both rCBF and PAD were significantly and stably increased by JYT (10 μ g/kg, i.p.) during the period of cerebral reperfusion, which contrasted with the findings of rapid and marked increase in the control group.

7. In cytokine production in the serum drawn from femoral artery 1 hr after middle cerebral artery occlusion, the sample group showed significantly decreased production of IL-1 β and TNF- α as well as increased production of IL-10 and TGF- β compared with the control group.

8. In cytokine production in the serum drawn from femoral artery 1 hr after reperfusion, the sample group showed significantly decreased production of IL-1 β and TNF- α as well as significantly increased production of IL-10 and TGF- β compared with the control group.

Conclusions : JYT mediated by cyclooxygenase had an inhibitive effect on brain damage by inhibiting lactate dehydrogenase activity, IL-1 β and TNF- α production, and by accelerating IL-10 and TGF- β production.

The author feels that JYT had anti-ischemic effects through the improvement of cerebral hemodynamics and inhibitive effects on brain damage.

Key Words: cerebral hemodynamics, brain damage, *Jayun-tang*

· 접수 : 2005년 6월 27일 · 논문심사 : 2005년 7월 28일

· 채택 : 2005년 8월 18일

· 교신저자 : 김용진, 광주광역시 남구 월산2동 377-12 동신대학교
부속한방병원, (Tel:062-350-7282, Fax:062-366-1882,
E-mail: riv2000@hanmail.net)

緒 論

滋潤湯은 龔 등이 九竅가 滯하고 脣緩失音, 耳聾鼻塞, 目瞤, 二便閉澀, 面紅, 舌苔黃膩, 脈弦滑數 등의 中臟 陽閉에 滋液潤下할 목적으로 활용하였다².

中風은 張³ 등이 病證의 경중에 따라 中絡, 中經, 中腑, 中臟으로 구분하고 卒然昏迷, 言語不能, 脣緩不收, 口角流涎 등 九竅 증상이 主인 中臟證을 다시 閉證, 脫證으로 구분하였는데, 서양의학의 뇌혈류 장애로 인한 뇌혈관 질환을 포함한다⁴.

뇌혈류 장애로 뇌조직에 산소와 포도당 공급이 제한되면 뇌조직에서는 에너지 소실이 초래되고, 신경세포막의 투과성 변화로 세포내외 이온들의 동적 평형 파괴, 신경조직의 산성화, 뇌부종 형성, 신경진달물질의 과다생산, 세포내 Ca²⁺의 증가로 여러가지 대사물질 생성 및 뇌조직 손상물질의 증가, 신경세포내 phospholipid 대사의 변화, 자유기 형성 등으로 조직에 적절한 치료가 없으면 뇌조직은 비가역적 손상을 입게 되며, 또 재관류시에도 비특이성 독소, 혈관반응성 물질, 젖산, 특히 산소유래성 자유기 등에 의해 손상을 받는다. 이 과정에서 세포막의 손상으로 LDH가 유리되고 전신적인 염증반응 증후군과 관련되어 사이토카인이 생성된다⁵.

뇌혈류역학 및 신경손상에 대한 연구 중 中經絡證을 치료하는 小續命湯⁶, 疎風湯⁷, 羌活愈風湯⁸과 中臟腑證을 치료하는 三化湯⁹, 祛風至寶丹¹⁰, 排風湯¹¹ 등에 대한 보고는 있었으나 실제 임상에서 中臟 陽閉에 활용되는 滋潤湯의 뇌혈류 개선 및 허혈성 뇌손상 억제 효과에 대한 연구는 없었다.

이에 저자는 滋潤湯 추출물이 뇌혈류 변화에 미치는 영향을 연구하기 위하여 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변화, 혈관확장인자 억제제를 통한 작용기전 및 생쥐의 LDH 활성도, 중대뇌동맥 폐색을 통한 뇌허혈 흰쥐의 뇌혈류역학 변화와 사이토카인 생성능을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 재료

1) 동물

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

2) 약재

실험에 사용한 약재는 동신대학교 부속한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였다. 滋潤湯의 구성은 《東醫寶鑑》¹²에 準하였고 용량은 다음과 같다 (Table 1).

2. 방법

1) 검액의 제조

滋潤湯(Jayun-Tang, 이하 JYT) 2 첩 분량(67.50 g)을

Table 1. Prescription of Jayun-tang(JYT)

	Herbal Name	Quantity(g)
當歸	RADIX ANGELICAE GIGANTIS	3.750
生地黃	RHIZOMA REHMANNIAE	3.750
枳殼	FRUCTUS PONCIRI	3.750
厚朴	CORTEX MAGNOLIAE	3.750
檳榔	SEMEN ARECAE	3.750
大黃	RHIZOMA RHEI	3.750
麻子仁	SEMEN CANNABIS	3.750
杏仁	SEMEN ARMENIACAЕ	3.750
羌活	RADIX OSTERICI KOREANI	2.625
紅花(酒焙)	FLOS CARTHAMI	1.125
Totality		33.750

3,000 ml 환저 플라스크에 넣어 증류수 1,500 ml와 함께 120 분간 가열한 후 전당액을 여과지로 여과하고 5,000 rpm으로 30 분간 원심분리기(VS 6000CFN, vision, Korea)로 원심분리하여 얻은 상청액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)로 감압농축, freeze dryer로 동결 건조시켜 9.50 g(수득율 14.07 %)을 얻었다.

2) 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변동 관찰

(1) 국소 뇌혈류량 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 craniotomy를 시행하였다. 이때 두개골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막의 출혈을 방지하도록 하였다. Laser doppler flowmeter(Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe(직경 0.8 mm)를 stereotaxic micromanipulator로 대뇌(두정엽)피질 표면에 수직이 되도록 뇌연막 동맥에 조심스럽게 근접시켰다. 일정시간 동안 안정시킨 후 JYT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여하여 각각 30 분 동안 변동되는 국소 뇌혈류량(regional cerebral blood flow, 이하 rCBF)을 측정하였다.

(2) 폐쇄 두개창 설치

흰쥐의 체위를 복와위로 변경하여 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 mount 속에 세 개의 polyethylene tube(두개는 관류용, 나머지 한 개는 두개내압 측정용)를 심어 놓았다. 그 후 dental acrylic 위에 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 측정

흰쥐의 두정골에 폐쇄 두개창을 설치하고 JYT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여하여 각각 변동되는 뇌연막 동맥(안정시의 직경 약 19.44±1.59 μm)의 직경(pial arterial diameter, 이하 PAD)을 30 분 동안 측정하였다. 실험 중에 변동되는 PAD는 폐쇄 두개창을 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) 평균 혈압 측정

흰쥐를 urethane(750 mg/kg, i.p.)으로 마취시킨 후 체온이 37~38 °C로 유지될 수 있도록 heat pad 위에 복와위로 고정시켰다. JYT 투여 용량(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)에 따른 평균 혈압(mean arterial blood pressure, 이하 MABP)의 변화는 흰쥐의 대뇌동맥에 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 변동에 미치는 기전 관찰

JYT가 정상 흰쥐의 rCBF, PAD 및 MABP 변동에 미치는 기전을 알아보기 위하여 prostaglandin의 생성 효소인 cyclooxygenase 억제제 indomethacin(1 mg/kg, i.p., Sigma I7378) 그리고 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)의 생성효소인 guanylate cyclase 억제제 methylene blue(10 μg/kg, i.p., Sigma M9140)를 전처치한 후 JYT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여한 다음 각각 30분 동안 변화되는 rCBF, PAD 및 MABP를 측정하였다.

4) 뇌허혈 흰쥐의 뇌혈류역학 변동에 미치는 개선 효과 관찰

(1) 뇌허혈 병태모델 유발

뇌허혈 병태모델 유발은 Longa 등의 방법에 따라 중대뇌동맥(middle cerebral artery, 이하 MCA) 폐쇄법을 이용하였다. 흰쥐의 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고 내·외경동맥의 분지점으로부터 내경동맥내로 외경동맥을 통하여 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 흰쥐의 rCBF 측정

뇌허혈을 유발시킨 후 JYT(10 mg/kg, i.p.)를 투여하였다. 뇌허혈 유발 2 시간 후 혈액을 재관류시켜 변동되는 rCBF를 4 시간 동안 측정하였다.

(3) 뇌허혈 흰쥐의 PAD 측정

뇌허혈을 유발시킨 후 JYT(10 mg/kg, i.p.)를 투여하였다. 뇌허혈 유발 2 시간 후 혈액을 재관류시켜 변동되는 PAD를 4 시간 동안 측정하였다.

5) 뇌허혈 흰쥐의 혈청내 사이토카인 생성능 측정

(1) 채혈 및 혈청분리

뇌허혈을 유발시킨 후 JYT(10 mg/kg, i.p.)를 투여한 다음 폐쇄 후 1 시간, 재관류 후 1 시간이 경과한 다음 뇌허혈 흰쥐의 대뇌동맥에서 1.0 ml를 채혈하였다. 이때 뇌혈류역학 변동의 변화가 없도록 5.0 ml 주사기로 조심스럽게 채혈하였고, 만약 뇌혈류역학 변동의 이상이 발생되면 사이토카인 생성능 측정 혈청으로 사용하지 않았다. 채혈 후 30 분 동안 실온에 incubation하고 30 분 동안 3,000 rpm으로 원심분리시킨 후 혈청만을 취해 냉동 보관하면서 필요시마다 해동시켜 사용하였다.

(2) Interleukin(IL)-1 β 생성능 측정

뇌허혈 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 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

넣어 실온에서 3 시간 동안 incubation하고 washing buffer(WB)로 4 회 세척하였다. 다음으로 각 well에 biotin-labeled anti-rIL-1 β 100 μ l를 넣어 실온에서 1 시간 동안 incubation하고 WB로 4 회 세척하였다. 이후 각 well에 streptavidin -Peroxidase(HRP) 100 μ l를 넣어 실온에서 30 분 동안 incubation하고 WB로 4 회 세척한 후 stabilized chromogen(SC) 100 μ l를 넣어 빛이 차단된 실온에서 30 분 동안 incubation하였다. 그런 후에 stop solution(SS) 100 μ l를 넣어 microplate reader로 450 nm 파장에서 측정하였다.

(3) Tumor necrosis factor(TNF)- α 생성능 측정

뇌허혈 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 TNF- α 양 측정은 rTNF- α ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rTNF- α SDB 50 μ l를 농도별로 넣은 후, 나머지 well에는 혈청과 control(high, low)을 각각 50 μ l씩 분주하고 SDB 50 μ l를 넣었다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rTNF- α 50 μ l를 넣고 실온에서 90 분 동안 incubation하고 WB로 4 회 세척하였다. 다음으로 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100 μ l씩 분주하고 실온에서 45 분 동안 incubation한 후 WB로 4 회 세척하였다. 그런 후에 SC를 각 well에 100 μ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30 분 동안 incubation하고 SS를 각 well에 100 μ l씩 분주하여 microplate reader로 450 nm 파장에서 측정하였다.

(4) IL-10 생성능 측정

뇌허혈 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 IL-10 양 측정은 rIL-10 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 100 μ l씩 농도별로 넣은 후 나머지 well에는 혈청과 control을 각각 50 μ l씩 분주하고 SDB 50 μ l를 넣었다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rIL-10 50 μ l를 넣고 실온에서 2 시간 동안 incubation하고 WB로 4 회 세척하였다. 다음으로 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100 μ l씩 분주하고 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 WB로 4 회 세척하였다. 그런 후에 SC를 각 well에 100 μ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30 분 동안 incubation하고 SS를 각 well에 100 μ l씩 분주하여 microplate reader로 450 nm 파장에서 측정하였다.

(5) Transforming growth factor(TGF)- β 생성능 측정

뇌허혈 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 TGF- β 양 측정은 TGF- β 1 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 200 μ 씩 농도별로 넣은 후 나머지 well에는 혈청과 control을 각각 200 μ 씩 분주한 후 각 well에 biotin-labeled anti-TGF- β 1 50 μ 를 넣고 실온에서 3 시간 동안 incubation하고 WB로 4 회 세척하였다. 다음으로 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100 μ 씩 분주하고 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 WB로 4 회 세척하였다. 그런 후에 SC를 각 well에 100 μ 씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30 분 동안 incubation하고 SS를 각 well에 100 μ 씩 분주하여 microplate reader로 450 nm 파장에서 측정하였다.

6) 생쥐의 신경 세포내 lactate dehydrogenase(이하 LDH) 활성도 측정

LDH 활성도 측정은 Choi의 방법에 따라 Ca²⁺과 Mg²⁺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 적출한 생쥐의 뇌조직을 incubation한 후 입체현미경 하에서 뇌조직의 뇌막을 제거하고 얻은 대뇌피질을 잘게 조각을 내어 상기 배양액에 0.25 % trypsin이 첨가된 배양액에 넣어 37 °C에서 15 분간 처치한 후 1,000 rpm에서 5 분간 원심분리하였다. 그 후에 trypsin이 첨가된 배양액을 제거하고, 원심분리된 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.

10 ng/ml 농도의 Epidermal growth factor(Sigma E4127)를 첨가한 후 24 well plate(Primaria, Falcon)에 0.5 hemisphere/plate 밀도로 각 well 당 400 μ 씩 도포하여 37 °C, 5 % CO₂와 100 % 습도가 유지되는 CO₂ 배양기(VS-9108MS, Korea)에서 배양하였다.

3. 통계처리

정상 흰쥐에 미치는 JYT의 효과에 대한 실험적 통계처리는 Student's *t*-test에 의하였고, JYT의 작용기전 및 뇌허혈 흰쥐와 관련된 JYT의 효과에 대한 실험적 통계처리는 paired *t*-test에 의하였다. *p*-value는 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다.

結果

1. JYT가 정상 흰쥐의 뇌혈류역학에 미치는 효과
JYT가 rCBF, PAD 및 MABP에 미치는 효과를 알아보기 위하여 JYT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여한 후 뇌혈류역학의 변동을 30 분 동안 관찰하였다(Fig. 1).

JYT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 rCBF를 100.00 ± 0.03 %로 하였을 때, JYT 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 투여시 각각 108.26 ± 0.06 %, 122.21 ± 0.06 %, 123.38 ± 0.06 %로 유의성(*p*<0.05) 있게 증가되었고, 특히 JYT 10.0 mg/kg 투여시 137.56 ± 0.05 %로 유의성(*p*<0.001) 있게 증가되었다.

JYT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 PAD를 100.00 ± 0.08 %로 하였을 때, JYT 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg 투여시 각각 106.14 ± 0.09 %, 110.57 ± 0.06 %, 118.88 ± 0.05 %로 용량 의존적으로 확장되었고, 특히 JYT 10.0 mg/kg 투여시 128.39 ± 0.03 %로 유의성(*p*<0.05) 있게 확장되었다.

JYT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 MABP를 100.00 ± 0.04 %로 하였을 때, JYT 용량별 투여시 각각 100.34 ± 0.05 %, 101.10 ± 0.05 %, 103.14 ± 0.04 %, 104.61 ± 0.05 %로 JYT를 투여하지 않았을 때와 유사하였다.

2. 정상 흰쥐에서의 JYT에 의한 뇌혈류역학 변동기전 관찰

1) 정상 흰쥐에서의 JYT에 의한 rCBF 변동기전 관찰
정상 흰쥐에서의 JYT에 의한 rCBF의 변동기전을 알아보기 위하여 JYT 투여로 유의성 있게 증가된 rCBF를 대조군, indomethacin 전처치 후 JYT 투여로

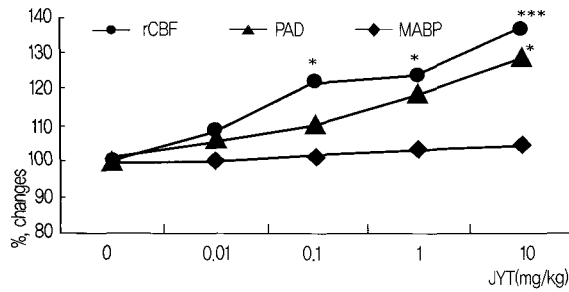


Fig. 1. Effect of JYT on the rCBF, PAD and MABP in normal rats.
 JYT : Jayun-Tang extract.
 0 : After JYT non-injected, group-measured during 30 min.
 0.01, 0.1, 1, 10 : After JYT 0.01, 0.1, 1.0, 10.0(mg/kg, i.p.) injected, group-measured during 30 min.
 rCBF : regional cerebral blood flow.
 PAD : pial arterial diameter.
 MABP ; mean arterial blood pressure.
 * : Statistically significant compared with 0 group.
 (* ; $p < 0.05$, *** ; $p < 0.001$).

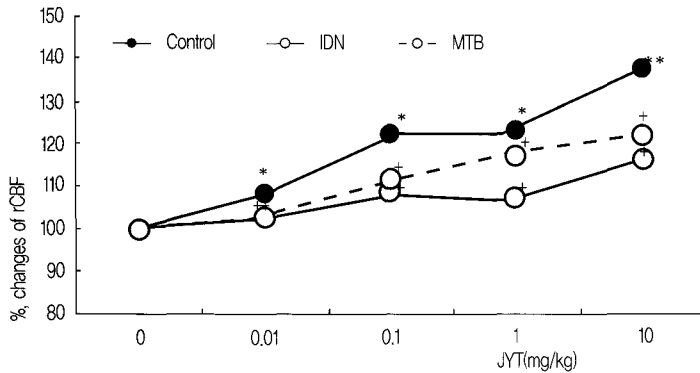


Fig. 2. Effect of pretreatments with IDN and MTB on the JYT-induced rCBF changes in normal rats.
 IDN : indomethacin(1mg/kg, i.p.).
 MTB : methylene blue(10 μ g/kg, i.p.).
 Control : JYT treated group.
 0 : After IDN or MTB treated but JYT non-treated, group-measured during 30 min.
 0.01, 0.1, 1, 10 : After IDN or MTB treated and JYT(0.01, 0.1, 1.0, 10.0mg/kg, i.p.) treated, group-measured during 30 min.
 Other legends are the same as Fig. 1.
 + : Statistically significant compared with control group(+ ; $p < 0.05$).

변화된 rCBF를 indomethacin 처리군, methylene blue 전처치 후 JYT 투여로 변화된 rCBF를 methylene blue 처리군으로 하였다(Fig. 2).

Indomethacin을 전처치하고 JYT를 투여하지 않았을 때의 rCBF를 100.00 \pm 0.04 %라 하였을 때,

indomethacin 전처치 후 JYT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.) 투여시 각각 103.01 \pm 0.09 %, 108.56 \pm 0.06 %, 107.17 \pm 0.05 %, 116.26 \pm 0.05 %로 용량 의존적으로 증가되었으나 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$) 있게 감소되었다.

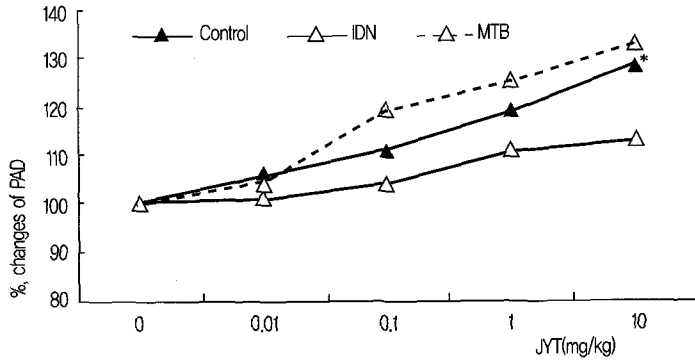


Fig. 3. Effect of pretreatments with IDN and MTB on the JYT-induced PAD changes in normal rats. Other legends are the same as Fig. 1.

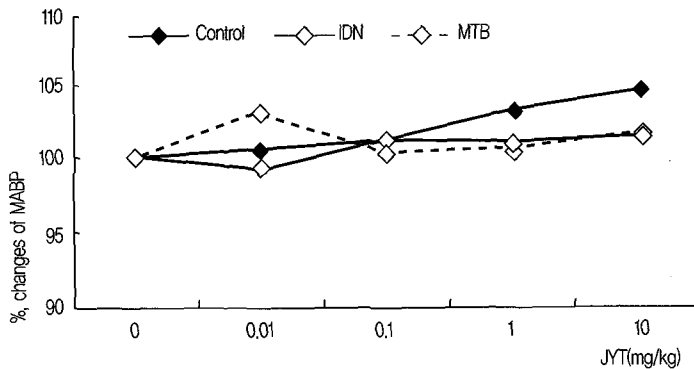


Fig. 4. Effect of pretreatments with IDN and MTB on the JYT-induced MABP changes in normal rats. Other legends are the same as Fig. 2.

Methylene blue를 전처치하고 JYT를 투여하지 않았을 때의 rCBF를 100.00 ± 0.06 %라 하였을 때, methylene blue 전처치 후 JYT를 용량별 투여시 각각 102.49 ± 0.07 %, 110.94 ± 0.06 %, 117.45 ± 0.08 %, 122.27 ± 0.08 %로 용량 의존적으로 증가되었으나 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$) 있게 감소되었다.

2) 정상 흰쥐에서의 JYT에 의한 PAD 변동기전 관찰
정상 흰쥐에서의 JYT에 의한 PAD의 변동기전을 알아보기 위하여 JYT 투여로 유의성 있게 확장된 PAD를 대조군, indomethacin 전처치 후 JYT 투여로 변화된 PAD를 indomethacin 처리군, methylene blue

전처치 후 JYT 투여로 변화된 PAD를 methylene blue 처리군으로 하였다(Fig. 3).

Indomethacin을 전처치하고 JYT를 투여하지 않았을 때의 PAD를 100.00 ± 0.11 %라 하였을 때, indomethacin 전처치 후 JYT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.) 투여시 각각 101.39 ± 0.07 %, 104.09 ± 0.09 %, 110.77 ± 0.05 %, 113.11 ± 0.13 %로 용량 의존적으로 확장되었으나 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$) 있게 수축되었다.

Methylene blue를 전처치하고 JYT를 투여하지 않았을 때의 PAD를 100.00 ± 0.29 %라 하였을 때,

Table 2. 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±0.9	419±18	7.31±0.05	83±1.8	43±1.6	37.3±0.6
1 hr after ischemia	106±1.1	422±14	7.30±0.04	82±1.7	42±1.4	37.4±0.4
6 hrs after reperfusion	107±1.5	420±15	7.31±0.02	82±1.9	43±1.7	37.4±0.3
JYT						
Before ischemia	106±1.1	421±13	7.31±0.03	83±1.9	42±1.8	37.2±0.2
1 hr after ischemia	107±0.9	418±16	7.29±0.03	83±2.5	42±1.6	37.3±0.4
6 hrs after reperfusion	106±1.0	423±12	7.30±0.04	83±2.1	43±1.8	37.3±0.5

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.

methylene blue 전처치 후 JYT를 용량별 투여시 각각 103.80±0.24 %, 119.17±0.23 %, 125.15±0.24 %, 132.84±0.25 %로 용량 의존적으로 대조군의 PAD 변화보다도 확장되었다.

3) 정상 흰쥐에서의 JYT에 의한 MABP 변동기전 관찰

정상 흰쥐에서의 JYT에 의한 MABP의 변동기전을 알아보기 위하여 JYT 투여로 나타난 MABP 변화를 대조군, indomethacin 전처치 후 JYT 투여로 변화된 MABP를 indomethacin 처리군, methylene blue 전처치 후 JYT 투여로 변화된 MABP를 methylene blue 처리군으로 하였다(Fig. 4).

Indomethacin을 전처치하고 JYT를 투여하지 않았을 때의 MABP를 100.00±0.06 %라 하였을 때, indomethacin 전처치 후 JYT를 용량별 투여시 각각 99.01±0.06 %, 101.20±0.04 %, 100.88±0.05 %, 101.60±0.06 %로 JYT를 투여하지 않았을 때와 유사하게 나타났다.

Methylene blue를 전처치하고 JYT를 투여하지 않았을 때의 MABP를 100.00±0.05 %라 하였을 때, methylene blue 전처치 후 JYT를 용량별 투여시 각각 103.00±0.06 %, 100.14±0.05 %, 100.45±0.05 %, 101.33±0.05 %로 JYT를 투여하지 않았을 때보다 저용량에서 증가하였다.

3. JYT가 뇌허혈 흰쥐의 생리학적 변수에 미치는 영향

JYT(10 mg/kg, i.p.)가 뇌허혈-재관류 동안에 뇌허혈 흰쥐의 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).

JYT를 투여하지 않은 상태에서 각각의 시간대별로 측정된 결과를 대조군으로 하였을 때, JYT를 투여하였을 때의 뇌허혈 흰쥐의 생리학적 변수는 대조군과 유사한 상태를 유지하였다.

4. JYT가 뇌허혈 흰쥐의 뇌혈류역학 변동에 미치는 개선 효과

1) JYT가 rCBF 변동에 미치는 개선 효과

뇌허혈 흰쥐의 rCBF 변동에 미치는 JYT의 개선효과를 관찰하기 위하여 MCA폐쇄법으로 뇌허혈을 유발시킨 다음 JYT(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 41.83±0.14 %, 38.26±0.16 %, 40.52±0.13 %, 40.52±0.12 %로 차단되었고, 재관류 후 2 시간 동안 기저치보다 각각 137.56±0.09 %, 145.39±0.13 %, 143.95±0.18 %, 132.84±0.11 %로 불안정

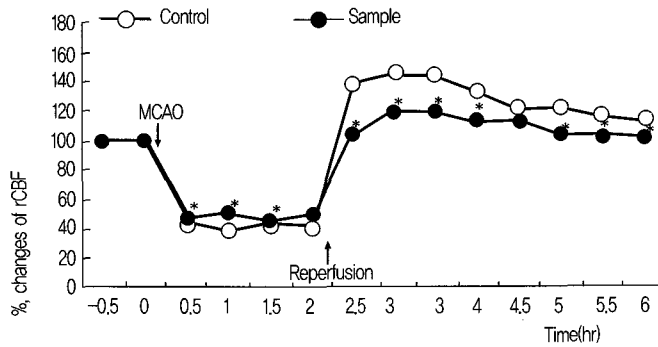


Fig. 5. Effect of JYT on the rCBF response in cerebral ischemic rats.

JYT : Jayun-Tang extract.

MCAO : middle cerebral artery occlusion.

Control : After caused MCAO(5 min), JYT non-treated group. Sample : After caused MCAO, JYT(10 mg/kg, i.p.) treated group.

rCBF : regional cerebral blood flow.

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

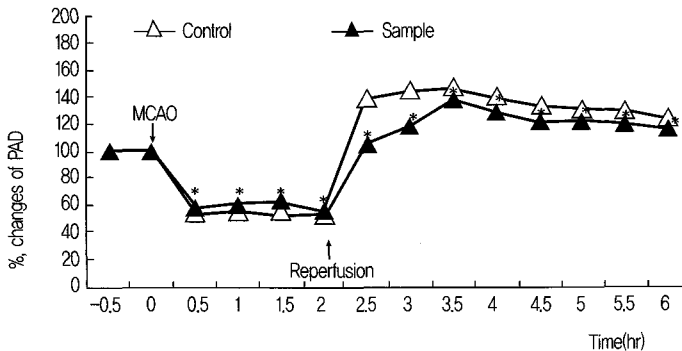


Fig. 6. Effect of JYT on the PAD response in cerebral ischemic rats.

PAD : pial arterial diameter.

Other legends are the same as Fig. 5.

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

한 증가상태를 나타내었고 이후 재관류 시간이 경과될수록 각각 121.39±0.09 %, 120.89±0.17 %, 115.64±0.08 %, 113.20±0.14 %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 46.05±0.16 %, 49.55±0.11 %, 45.29±

0.09 %, 48.19±0.21 %로 차단되었고, 재관류 후 2 시간 동안 기저치보다 각각 104.49±0.11 %, 118.91±0.12 %, 120.43±0.16 %로 증가하였으나 이후 재관류 시간이 경과될수록 각각 113.57±0.08 %, 111.54±0.14 %, 102.49±0.06 %, 101.74±0.09 %, 100.86±0.12 %로 기저치와 유사한 안정상태를 보였으며, 대조군의 불안정한 rCBF 변동에 비해서 유의성

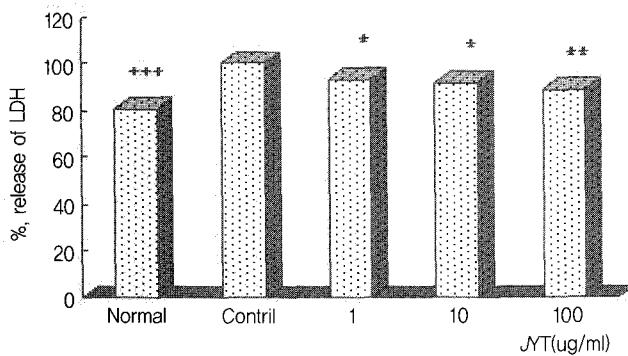


Fig. 7. Effect of JYT on the LDH activity in neuronal cells of mice.
 JYT : Jayun-Tang extract.
 Normal : NMDA and JYT non treated group.
 Control : NMDA(30 μ M) treated, but JYT non-treated group.
 1, 10, 100 : JYT(1.0 μ g/ml, 10.0 μ g/ml, 100.0 μ g/ml) and NMDA treated group.
 + : Normal group vs Control group(+++ ; $p < 0.001$).
 * : Sample group vs Control group(* ; $p < 0.05$, ** ; $p < 0.01$).

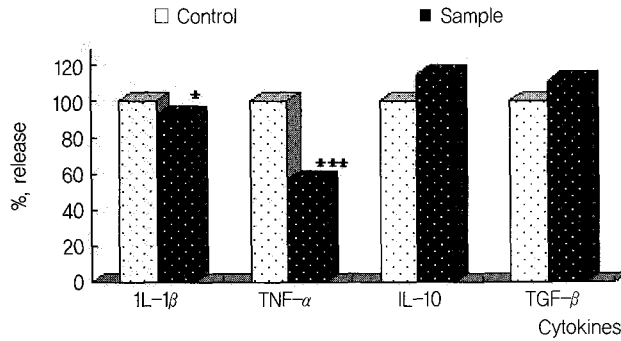


Fig. 8. Effect of JYT on the cytokines production in serum of cerebral ischemic rats 1 hr after MCAO.
 Other legends are the same as Fig. 5.
 * : Statistically significant compared with control group(* ; $p < 0.05$, *** ; $p < 0.001$).

($p < 0.05$) 있게 안정적으로 개선되었다.

2) JYT가 PAD 변동에 미치는 개선 효과

뇌허혈 흰쥐의 PAD 변동에 미치는 JYT의 개선효과를 관찰하기 위하여 MCA폐쇄법으로 뇌허혈을 유발시킨 다음 JYT(10 mg/kg, i.p.)를 투여하여 뇌허혈-재관류 후에 변동되는 PAD를 관찰하였다(Fig. 6).

대조군의 PAD 기저치를 100.00 ± 0.10 %라 하였을 때, 뇌허혈 상태 대조군의 PAD 변동은 뇌허혈 2 시간 동안 각각 54.17 ± 0.21 %, 55.16 ± 0.14 %, $53.64 \pm$

0.19 %, 52.68 ± 0.15 %로 차단되었고, 재관류 후 2 시간 동안 기저치보다 각각 138.16 ± 0.11 %과 143.08 ± 0.09 %, 146.29 ± 0.17 %, 139.27 ± 0.21 %로 불안정한 확장상태를 나타내었고 이후 재관류 시간이 경과될 수록 각각 131.52 ± 0.08 %, 129.67 ± 0.13 %, 128.32 ± 0.11 %, 123.59 ± 0.13 %로 감소되는 경향을 보였으나 기저치보다는 확장되었다.

실험군의 PAD 기저치를 100.00 ± 0.04 %라 하였을 때, 뇌허혈 상태 실험군의 PAD 변동은 뇌허혈 2 시

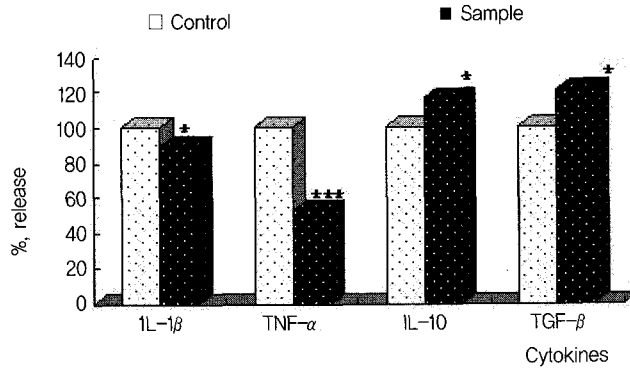


Fig. 9. Effect of JYT on the cytokines production in serum of cerebral ischemic rats 1 hr after reperfusion.

Other legends are the same as Fig. 5.

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

간 동안 각각 $57.34 \pm 0.12\%$, $59.72 \pm 0.13\%$, $63.23 \pm 0.11\%$, $54.94 \pm 0.12\%$ 로 차단되었고, 재관류 후 2 시간 동안 기저치보다 각각 $105.07 \pm 0.07\%$, $117.98 \pm 0.04\%$, $137.51 \pm 0.05\%$, $128.41 \pm 0.06\%$ 로 확장되었으나 이후 재관류 시간이 경과될수록 각각 $121.51 \pm 0.05\%$, $121.41 \pm 0.05\%$, $119.90 \pm 0.07\%$, $114.48 \pm 0.07\%$ 로 안정적으로 증가되었으며, 대조군의 불안정한 PAD 변동에 비해서 유의성($p < 0.05$) 있게 안정적으로 개선되었다.

5. JYT가 생쥐의 신경 세포 LDH 활성도에 미치는 효과

JYT가 생쥐의 신경 세포 손상을 억제하는지에 대하여 알아보기 위하여 N-Methyl-D-Aspartate(이하 NMDA)를 처리한 신경 세포에 JYT를 농도별($1 \mu\text{g/ml}$, $10 \mu\text{g/ml}$, $100 \mu\text{g/ml}$)로 투여하였다(Fig. 7).

NMDA 처리만 하고 JYT를 투여하지 않은 대조군의 LDH 활성도를 $100.00 \pm 0.02\%$ 라 하였을 때, NMDA, JYT 모두 처리하지 않은 정상군은 $80.71 \pm 0.02\%$ 이었다. NMDA, JYT 모두 처리한 실험군 중 JYT $1 \mu\text{g/ml}$, $10 \mu\text{g/ml}$ 를 투여한 군은 각각 $93.22 \pm 0.02\%$, $91.69 \pm 0.02\%$ 로 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 감소되었고, 특히 JYT $100 \mu\text{g/ml}$ 를 투

여한 군은 $88.70 \pm 0.02\%$ 로 대조군에 비해 유의성($p < 0.01$) 있게 감소되었다.

6. JYT가 뇌허혈 흰쥐 혈청의 사이토카인 생성능에 미치는 효과

1) MCA 폐색 1 시간 후 사이토카인 생성능에 미치는 효과

뇌허혈 흰쥐 혈청의 사이토카인 생성능을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 유발된 뇌허혈 흰쥐에 JYT를 투여하고, 유발 1 시간 후 혈액을 취하여 사이토카인 생성능을 측정하였다(Fig. 8).

JYT를 투여하지 않은 뇌허혈 상태 대조군의 IL-1 β 생성능을 $100.00 \pm 0.02\%$ 라 하였을 때 JYT를 투여한 뇌허혈 상태 실험군의 IL-1 β 생성능은 $92.49 \pm 0.02\%$ 로 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$) 있게 감소되었고, 특히 JYT를 투여하지 않은 대조군의 TNF- α 생성능을 $100.00 \pm 0.03\%$ 라 하였을 때 JYT를 투여한 실험군의 TNF- α 생성능도 $57.06 \pm 0.03\%$ 로 대조군에 비해 유의성($p < 0.001$) 있게 감소되었다. JYT를 투여하지 않은 대조군의 IL-10 생성능을 $100.00 \pm 0.11\%$ 라 하였을 때 JYT를 투여한 실험군의 IL-10 생성능은 $114.37 \pm 0.05\%$, JYT를 투여하지 않은 대조군의 TGF- β 생성능을 $100.00 \pm 0.09\%$ 라 하였을 때 JYT를

투여한 실험군의 TGF- β 생성능은 110.65 ± 0.15 %로 대조군에 비해 증가되는 경향은 있었으나 유의성은 없었다.

2) 재관류 1 시간 후 사이토카인 생성능에 미치는 효과

뇌허혈 흰쥐 혈청의 사이토카인 생성능을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 유발된 뇌허혈 흰쥐에 JYT를 투여하고 재관류 1 시간 후 혈액을 취하여 사이토카인 생성능을 측정하였다(Fig. 9).

JYT를 투여하지 않은 재관류 대조군의 IL-1 β 생성능을 100.00 ± 0.03 %라 하였을 때 JYT를 투여한 재관류 실험군의 IL-1 β 생성능은 89.11 ± 0.03 %로 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$) 있게 감소되었고, 특히 JYT를 투여하지 않은 대조군의 TNF- α 생성능을 100.00 ± 0.02 %라 하였을 때 JYT를 투여한 실험군의 TNF- α 생성능도 52.47 ± 0.06 %로 대조군에 비해 유의성($p < 0.001$) 있게 감소되었다. JYT를 투여하지 않은 대조군의 IL-10 생성능을 100.00 ± 0.03 %라 하였을 때 JYT를 투여한 실험군의 IL-10 생성능은 116.10 ± 0.04 %, JYT를 투여하지 않은 대조군의 TGF- β 생성능을 100.00 ± 0.08 %라 하였을 때 JYT를 투여한 실험군의 TGF- β 생성능도 120.66 ± 0.02 %로 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$) 있게 증가되었다.

考 察

인간 뇌의 무게는 전 체중의 약 2 % 정도임에도 불구하고, 휴식시 심장 박출량의 약 15 %, 그리고 흡입하는 전체 산소량의 약 20 %를 필요로 한다. 또한 뇌는 글리코겐의 저장능력이 거의 없어 뇌대사작용에 필요한 ATP생산을 포도당의 산화 부인산 반응에 전적으로 의존하게 된다⁵.

어느 정도의 뇌허혈량 감소는 보상기전으로 조절할 수 있으나 허혈의 지속시간과 범위가 증가, 확대되어 보상기전의 소실이 초래될 정도가 되면 뇌세포의 동적 평형을 유지할 수 없게 됨은 물론 단백질합성, 세포막의 기능유지, 전해질 및 여러 이온간의 균형을 유지하는데 필요한 에너지 생산 차질이 오게

되어 세포막에서의 여러 이온들의 선택적 투과성의 변화가 초래되어 비정상적으로 여러 가지 이온들(Na⁺, Ca²⁺, Cl⁻ 등)이 세포내로 주입되어지고, 이온 농도차를 유지하기 위해서는 더욱 많은 에너지 소비를 조장하게 된다. 이런 과정을 통해 신경세포내의 ATP치는 점차 감소되고 무기성 당분해작용이 일어나 젖산의 증가를 초래하여 세포외액의 pH가 낮추어져 산성화된다. 따라서 이런 일련의 변화를 차단하지 못하면 결국 신경조직은 괴사에 이르게 된다⁶.

또한 허혈부위의 재관류는 신경조직의 괴사를 더 가중시킬 수 있는데, 국소 해당조직에 손상을 야기시킬 뿐만 아니라 타 장기에도 손상을 일으키는 생화학적, 세포학적 반응이 복잡하게 연쇄적으로 일어나기 때문에 그 기전에 대해서는 아직 구체적으로 밝혀지지 않았지만 비특이성 독소, 혈관반응성 물질, 젖산, 특히 산소유래성 자유기가 중요한 역할을 한다고 알려져 있다^{5,13,14}.

뇌허혈량은 평균 동맥압과 뇌혈관저항에 비례하는데, 혈관확장으로 뇌혈관 저항 감소에 관여하는 인자로는 혈류량, 혈관내피세포에서 유리되는 nitric oxide(이하 NO) 및 prostaglandin 등이 있다^{13,16}. 중추신경계의 주된 신경전달물질인 glutamate는 NMDA 수용체를 자극하여 신경성, 유발성 효소에 의해 생성된 NO 등의 세포내 독성물질을 과다 합성시켜 중추신경세포 사멸을 초래한다^{5,17}.

뇌허혈 장애로 발생한 산혈증은 염증 매개물질들의 분비를 통해서 전신적인 염증반응 증후군을 유발하는데, 매개물질들에 의해 자극된 백혈구들은 전신적인 염증반응을 증폭시키고, 산소유래성 자유기를 생성시켜서, 세포막의 주 구성성분인 다중불포화지방산을 과산화시켜 세포막의 손상을 초래하고 LDH를 유리시킨다²⁰.

뇌허혈시 세포성장, 세포활성, 염증 등과 같은 중요한 생물학적 작용을 조절하기 위하여 각종 사이토카인들이 작용하는데, 염증에 관여하는 IL-1 β 와 TNF- α 등의 사이토카인 중 IL-1 β 는 내독소, 물리적 손상이나 염증반응에 의해 유발되고, 뇌로 이동될 경우 열을 발생시키고, TNF- α 는 종양의 출혈성 괴사

및 염증반응에 관여한다. 또 염증의 급성기에는 IL-1 β 와 TNF- α 가 서로 작용하여 생성능이 촉진된다고 알려져 있다²¹⁾. 염증 촉발 사이토카인을 억제하는 IL-10과 TGF- β 등의 사이토카인 중 IL-10은 IL-1 β 와 TNF- α 를 생성하는 대식세포의 생성을 억제하고, TGF- β 는 대식세포에서 생성되는 NO 등을 불활성화시킨다²¹⁾. 또 IL-10과 TGF- β 는 뇌허혈-재관류 후 뇌손상을 감소시킨다고 알려져 있다²²⁾.

張³⁾이 “邪在於絡 肌膚不仁 邪在於經 即重不勝 邪入於腑 即不識人 邪入於臟 舌即難言 口吐涎”이라 하여 처음으로 中風을 病證의 경중에 따라 中絡, 中經, 中腑, 中臟으로 구분하였다. 이후로 喻 등²³⁻²⁶⁾은 中臟證을 卒然昏迷, 不能言語, 脣緩不收, 口角流涎 등의 九竅 증상이 나타나는 것이라 구체적으로 언급하였으며, 최근에는 中臟證을 脫證과 閉證으로 구분하고 閉證은 陽閉와 陰閉로 세분하고 있다^{4,27)}.

龔 등¹⁾은 滋潤湯을 九竅가 滯하고 脣緩失音, 耳聾鼻塞, 目瞽, 二便閉澀, 面紅, 舌苔黃膩, 脈弦滑數의 증상이 나타나는 中臟 陽閉에 滋液潤下할 목적으로 활용하였다²⁾. 滋潤湯은 三化湯³⁾에 去桃仁하고, 合潤腸丸⁴⁾ 加杏仁 紅花 檳榔 한 방제로 볼 수 있는데 小承氣湯의 變方으로 中臟證의 便尿不利에 활용하는 三化湯에 潤腸丸, 杏仁 紅花 檳榔을 加味하여 三化湯의 작용을 완화시키는 동시에 潤燥理氣시켜 大便을 通利시킨다. 즉 當歸 生地黃은 清血潤血, 杏仁 麻子仁은 潤腸潤燥, 檳榔 枳殼은 行氣理氣하여 장 운동 활성화, 紅花는 소량의 引經藥으로 血分에 入하게 한다²⁸⁾.

뇌혈류역학 및 신경손상에 대한 연구 중 中經絡證을 치료하는 小續命湯⁶⁾, 疎風湯⁷⁾, 羌活愈風湯⁸⁾과 中臟腑證을 치료하는 三化湯⁹⁾, 祛風至寶丹¹⁰⁾, 排風湯¹¹⁾ 등에 대한 보고는 있으나 滋潤湯의 뇌혈류 개선 및 허혈성 뇌손상 억제 효과에 대한 연구는 없어 실험적으로 규명하고자 하였다.

이에 대한 방법으로 JYT가 뇌혈류 변화에 미치는 영향을 연구하기 위하여 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변화, 혈관확장인자 억제제를 통한 작용기전 및 생쥐의 LDH 활성도, 중대뇌동맥 폐색을 통한 뇌허혈 흰쥐의 뇌혈류역학 변화와 사이토카인 생성능을 관찰하였다.

JYT가 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변화에 미치는 효과를 알아보기 위하여 JYT를 투여한 결과 rCBF는 용량 의존적으로 정상시보다 유의성 있게 증가되었고, PAD도 용량 의존적으로 정상시보다 유의성 있게 확장되었으며, MABP는 투여 용량에 관계없이 정상시와 유사하게 나타났다. 이 결과는 뇌혈류가 혈압과 뇌연막동맥 직경 변화에 비례한다는 측면에서 볼 때, JYT 투여로 뇌연막동맥 직경이 확장됨으로써 뇌혈류량이 증가된 것으로 생각된다.

JYT 투여로 변화된 뇌혈류역학의 작용기전을 밝히고자 indomethacin을 전처치한 후 JYT를 투여한 결과 rCBF 변화는 대조군보다 유의성 있게 감소되었고, PAD 변화도 대조군보다 유의성 있게 수축되었으며, MABP 변화는 대조군과 유사하였다. 이 결과는 indomethacin 처치로 rCBF가 감소되는 것은 cyclooxygenase와 관련이 있다는 Bakalova 등²⁹⁾의 보고를 근거로, JYT 투여로 나타난 뇌혈류역학 변화의 기전은 cyclooxygenase와 관련이 있는 것으로 생각된다.

JYT 투여로 변화된 뇌혈류역학의 다른 작용기전을 알아보고자 methylene blue를 전처치한 후 JYT를 투여한 결과 rCBF 변화는 대조군보다 유의성 있게 감소되었으나 PAD 변화는 대조군에 비해 더욱 유의성 있게 확장되었고, MABP 변화도 대조군보다 저용량에서 증가되는 경향을 나타내었다. 이 결과는 methylene blue 전처치로 rCBF가 감소되는 것은 cGMP의 생성효소인 guanylate cyclase와 관련이 있다는 Shin 등³⁰⁾의 보고를 근거로, PAD와 MABP의 변화를 고려하였을 때 JYT의 작용기전은 guanylate cyclase와 관련이 없는 것으로 생각된다.

뇌혈류를 유의성 있게 변화시킨 JYT가 뇌신경세포막의 파괴시 분비되는 LDH 활성도³¹⁾를 억제시킬

주1) 三化湯: 大黃 厚朴 枳實 羌活, 中風의 邪氣作實로 二便不通함을 다스린다.

주2) 潤腸丸: 生地黃 當歸 枳殼 桃仁 麻子仁, 老人 血少로 腸胃가 말라서 便秘가 된 것을 치료한다.

수 있는지에 대하여 알아보하고자 NMDA로 뇌신경세포 괴사를 유도한 후 JYT를 투여한 결과, 전 투여농도에서 유의성 있게 LDH 활성도를 억제하였다. 이 결과는 뇌혈류 감소로 인해 뇌신경세포가 괴사되는 과정에 JYT를 투여하게 되면 뇌혈류 변화를 통한 뇌신경세포의 괴사를 억제할 수 있다는 것을 의미한다고 하겠다.

흰쥐에 일과성 뇌허혈을 유발시킨 후 JYT를 투여한 결과 재관류 후 불안정한 증가상태를 보였던 대조군의 rCBF 변동보다 유의성 있게 개선되었고, PAD 변동도 대조군보다 유의성 있게 개선되었다. 이 결과는 정상 흰쥐에서 뇌혈류역학을 유의성 있게 변화시킨 JYT가 뇌허혈-재관류시에도 유의하게 뇌혈류역학 변동을 개선시킴으로써 뇌손상을 억제한다는 것을 보여주는 것이다.

뇌허혈시 염증반응이 나타나고, 염증반응으로 인해 더 심한 뇌손상이 나타나기 때문에 허혈성 뇌손상에 억제효과를 나타낸 JYT가 염증촉발 사이토카인과 항염증 사이토카인의 생성능에 미치는 효과를 관찰한 결과, MCA 폐색 1 시간 후 실험군의 IL-1 β 와 TNF- α 의 생성능은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다. 이 결과는 JYT가 뇌허혈 초기에서부터 염증촉발 사이토카인 생성에 관여하고 있음을 보여준다. 재관류 1 시간 후 항염증 사이토카인 생성능의 경우 모든 실험군에서 대조군에 비해 유의성 있게 증가된 반면 염증 촉발 사이토카인의 경우에 있어서는 모든 실험군에서 MCA 폐색 1 시간 후와 마찬가지로 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다. 이는 뇌허혈시 IL-1 β 와 TNF- α 가 상승된다는 보고³²⁾, IL-10이 급성 뇌허혈시 조기치료의 기전으로 작용한다는 Vila 등³³⁾의 보고, 뇌허혈 후 prostaglandin E2와 관련되어 TGF- β 가 허혈-재관류시 뇌미세혈관 손상을 감소시킨다는 Armstead 등³⁴⁾의 보고와 같이 JYT가 항염증 사이토카인인 IL-10과 TGF- β 의 생성능을 촉진시켜 염증 촉발 사이토카인의 생성을 억제함으로써 뇌혈류 변동을 개선시키고, 뇌손상을 억제하는 것으로 생각된다.

이상의 결과들을 종합해 보면, 滋潤湯은 정상 흰

쥐에서 prostaglandin의 생성 효소인 cyclooxygenase와 관련된 뇌연막동맥 확장 및 뇌혈류량 증가로 뇌신경손상을 억제시키고, 뇌허혈 흰쥐에서도 뇌연막동맥 및 뇌혈류량의 안정적 개선으로 뇌신경손상을 억제시켰으므로 임상에서 뇌혈관질환의 예방과 치료에 응용될 수 있으리라 보여지며, 향후 뇌혈관 확장 기전 및 뇌허혈 흰쥐의 개선효과에 대한 지속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

結 論

滋潤湯이 腦血流 變化에 미치는 影響을 알아보기 위하여 정상 흰쥐에서 rCBF, MABP, PAD 등의 뇌혈류역학 인자에 미치는 효과 및 작용기전, 생쥐의 LDH 활성도 억제효과, 뇌허혈 흰쥐의 rCBF 및 PAD 변동 개선에 미치는 효과, 혈액내 사이토카인 생성능을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상 흰쥐에 滋潤湯을 투여한 결과, rCBF는 용량 의존적으로 유의성 있게 증가되었고, PAD도 유의성 있게 확장되었으며, MABP는 정상시와 유사하였다.
2. 정상 흰쥐에 indomethacin를 전처치한 후 滋潤湯을 투여한 결과, rCBF는 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고, PAD도 대조군에 비해 유의성 있게 수축되었으며, MABP는 대조군과 유사하였다.
3. 정상 흰쥐에 methylene blue를 전처치한 후 滋潤湯을 투여한 결과, rCBF는 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었지만, PAD는 대조군에 비해 확장되었고, MABP도 저용량에서 대조군에 비해 증가되었다.
4. 뇌허혈 흰쥐에 滋潤湯을 투여한 결과, 실험군의 rCBF는 재관류시 대조군의 불안정한 변동보다 유의성 있게 개선되었다.
5. 뇌허혈 흰쥐에 滋潤湯을 투여한 결과, 실험군의 PAD는 재관류시 대조군의 불안정한 변동보다 유의성 있게 개선되었다.
6. 생쥐의 신경세포에 滋潤湯을 투여한 결과, LDH 활성도는 모든 투여 농도에서 유의성 있게 억제되

었다.

7. 뇌허혈 흰쥐에 있어 유발 1 시간 후, 실험군의 IL-1 β 와 TNF- α 는 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다.

8. 뇌허혈 흰쥐에 있어 재관류 1 시간 후, 실험군의 IL-1 β 와 TNF- α 는 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고, 실험군의 IL-10과 TGF- β 는 대조군에 비해 유의성 있게 증가되었다.

이상의 결과, 滋潤湯은 cyclooxygenase와 관련되어 흰쥐의 뇌연막동맥 직경을 확장시킴으로써 국소뇌혈류량을 증가시키며, 항염증 사이토카인의 생성능을 촉진함으로써 염증 촉발 사이토카인의 생성능을 억제시켜 뇌혈류 변동을 안정적으로 개선시키고 뇌손상을 억제한 것으로 보여지며, 임상에서 허혈성 뇌혈관질환에 응용될 수 있으리라 사료된다.

參考文獻

1. 龔廷賢. 萬病回春. 北京: 人民衛生出版社. 1988:54~5.
2. 申載鏞. 방약합편해설. 서울: 전통의학연구소. 1993:207
3. 張機. 仲景全書. 서울: 大星文化社. 1992: 364~5.
4. 張茂珍. 中風條辨. 서울: 醫聖堂. 1991:10~2.
5. 대한신경외과학회. 신경외과학. 서울: 중앙문화사. 1998:150~6,275~6.
6. 조영철, 손락원. 소속명당이 중뇌동맥 폐쇄에 의한 허혈성 뇌손상에 미치는 영향. 경희대논문집. 1998;21(1):41~54
7. 안일희, 김동웅. 중풍초기에 응용되는 소풍탕에 대한 동서의학적 고찰. 대한한의학회지. 1992;13(2):253~8
8. 이성근, 문병순, 황충연, 김경요, 이견목, 성강경 등. 강활유풍탕이 뇌허혈로 유도된 대뇌신경세포손상에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2003;24(1):11~20
9. 김동은, 정승현, 박인식, 신길조, 이원철. 삼화탕이 중간대뇌동맥 결찰로 유발된 뇌허혈에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2001;22(2):127~34
10. 정완우, 정승현, 박인식, 신길조, 이원철. 거풍지보단이 Mongolian Gerbil의 가역성 전뇌허혈 모델에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2001;22(2):145~60
11. 유진덕, 윤용갑. 배풍탕 전탕액이 XO/HX에 의해 손상된 배양 척수감각신경세포에 미치는 효과. 대한한방방제학회지. 2000;8(1): 319~28
12. 許浚. 東醫寶鑑. 서울: 南山堂. 2000:514
13. 이경은, 김경환. 허혈, 재관류 손상에서 뇌조직 아민 변동과 Free Radical과의 관련성. 대한신경과학회지. 1993;11(3):329~40
14. 박장상. 허혈-재관류 손상. 대한맥관외과학회지. 1996;12(1):11~21
15. 김경환. 이우주의 약리학 강의(제4판). 서울: 의학문화사. 1998:82,120~4,146,355, 397,404, 432~42.
16. 성호경. 생리학(제6판). 서울: 의학문화사. 1996:110.
17. 전영진, 김성은, 김용재, 구혜수. Gerbil 전뇌허혈-재관류 모델에서 L-Arginine과 7-Nitroindazole이 뇌손상에 미치는 영향. 대한응급의학회지. 2003;14(1):23~8
18. Iwamoto J, Yoshinaga M, Yang SP, Krasney E, Krasney J. Methylene blue inhibits hypoxic cerebral vasodilation in awake sheep. J Appl Physiol. 1992;73(6):2226~32
19. Wang Q, Pelligrino DA, Paulson OB, Lassen NA. 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
20. 이중의, 김성혜, 신상도, 표창해, 서길준, 정성은 등. 항산화제 및 산화질소 조절인자가 백서 뇌 허혈-재관류 손상에 미치는 영향. 대한

- 외과학회지. 1999;57(6):935~46
21. 변광호. 사이토카인의 분자 및 면역작용. 대한신장학회지. 1992;11:19~32
 22. Daddi N, Suda T, D' Ovidio F, Kanaan SA, Tagawa T, Grapperhaus K et al. Recipient intramuscular cotransfection of naked plasmid transforming growth factor beta1 and interleukin 10 ameliorates lung graft ischemia-reperfusion injury. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002;124(2):259~69
 23. 喻嘉言. 醫門法律. 香港: 東南出版社. 1986:357
 24. 吳謙. 醫宗金鑑. 서울: 大星文化社. 1994: 335
 25. 虞搏. 醫學正傳. 서울: 成輔社. 1986:27~8.
 26. 劉守眞. 河間醫集. 北京: 人民衛生出版社. 1998:423~4.
 27. 李京燮 外. 東醫心系內科學. 서울: 書苑堂. 1995:100~4.
 28. 尹用甲. 東醫方劑와 處方解說. 서울: 醫聖堂. 1998:399
 29. Bakalova R, Matsuura T, Kanno I. The cyclooxygenase inhibitors indomethacin and Rofecoxib reduce regional cerebral blood flow evoked by somatosensory stimulation in rats. *Exp Biol Med.* 2002;227(7):465~73
 30. Shin HK, Shin YW, Hong KW. 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
 31. 김병채, 김명규, 조기현, 김용숙, 이기영. PC12 세포에서 저산소로 유발된 세포 고사시 Mitogen-activated Protein Kinase 동족 효소의 활성화. 대한신경과학회지. 2001;19(4): 384~92
 32. Cain BS, Meldrum DR, Dinarello CA, Meng X, Joo KS, Banerjee A et al. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta synergistically depress human myocardial function. *Crit Care Med.* 1999;27(7):1309~18
 33. Vila N, Castillo J, Davalos A, Esteve A, Planas AM, Chamorro A. Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke. *Stroke.* 2003;34(3):671~5
 34. Armstead WM, Mirro R, Zuckerman SL, Shibata M, Leffler CW. Transforming growth factor-beta attenuates ischemia-induced alterations in cerebrovascular responses. *Am J Physiol.* 1993;264