

# 分心氣飲加減方이 母性分離 stress 白鼠에 미치는 영향

김기봉 · 장규태\* · 김장현

동국대학교 한의과대학 소아과학교실

## Effect of Bunsimgieumgagambang on the Stress Due to the Maternal Separation in Rats

Ki Bong Kim, Gyu Tae Chang\*, Jang Hyun Kim

Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Dongguk University

This study was performed to investigate the effect of Bunsimgieumgagam on the stress due to the maternal separation in rat. In this study, we researched in 'the behavioral observation', 'the changes of body weight', 'quantitative analysis of the number of BrdU-positive cells per section in dentate gyrus of hippocampus', 'free radical scavenging assay' and 'MTT-based cytotoxicity assay of SK-N-SH cell line', in order to figure out the effect on which Bunsimgieumgagam has the increase of neuron in dentate gyrus of hippocampus damaged by the stress due to the maternal separation. In the behavioral Observation, Bunsimgieumgagam was also efficacious against the decline of one's behavior and anorexia derived from the stress by the maternal separation. In the change of body weight, it showed that the Bunsimgieumgagam is effective in the recovery of weight loss caused by heavy stress(P<0.05). Also, Bunsimgieumgagam had an increasing effect, which is similar to a normal state, on DG's neuron in hippocampus (P<0.001). In free radical scavenging assay, Bunsimgieumgagam had a superior free radical scavenging effect. And it showed a significant result with the high cell proliferation effect in MTT-based cytotoxicity assay(P<0.01, P<0.001). This result suggest that Bunsimgieumgagam has an anti-stress effect and a proliferation effect of neuron in dentate gyrus of hippocampus, and it shows the potential of Bunsimgieumgagam in the treatment for the various disorders derived from children's stress.

Key words : Bunsimgieum, stress, dentate gyrus

### 서 론

Stress란 생체에 가해진 각종 유해 자극에 대한 생체반응과 그에 따른 방어반응의 총화라 할 수 있으며, 이 때 가해지는 자극(stressor)은 외부에서 가해지는 물리적, 화학적, 생물학적 자극인 외적 자극과 체내에서 가해지는 육체적, 정신적 자극인 내적 자극으로 분류될 수 있다<sup>1)</sup>. stress에 대한 생체반응은 환경조건의 변화에 대한 생리적 안정을 유지하기 위하여 주로 내분비계와 자율신경계를 통한 변화가 일어나며, 반응이 지속적일 경우 조절계의 기능장애로 비특이적인 반응을 보이게 된다<sup>2)</sup>.

특히 소아에게 있어 stress는 피로, 식욕저하 등의 신체적 장

애뿐만 아니라 분노, 無快感, 자기연민, 우울증 등의 정서적 증상과 부정적 자기평가, 無望感, 集中困難, 학습능력 저하 등의 인지적 증상처럼 심각한 정신적 장애를 유발할 수 있어서<sup>3)</sup> 더욱 심각한 문제로 대두되고 있다.

소아는心和身이 불안정한 상태로써 육체적으로는 臟腑嬌嫩 形氣未充하고 정신적으로는 神氣怯弱 易受驚恐하여 주위로부터 영향을 받기 쉬워서 사소한 자극에도 곧 반응하므로<sup>4)</sup> 소아 stress 치료에 있어 이러한 생리적 특성을 고려해야 한다.

영아 발달 초기의 母性 缺乏 혹은 剝脫(maternal deprivation)이나 오랜 기간에 걸친 母性分離(maternal separation)는 신체적, 생리적인 기능의 변화를 가져오며, 감정, 행동, 인지, 사회화의 문제를 유발한다<sup>5)</sup>. 소아 stress 장애는 짜증, 분노발작, 신체증상의 호소를 흔히 보이고<sup>6)</sup>, 청소년의 경우 무단결석, 물질남용, 가출, 비행 등의 행동문제 형태로 나타나기도 한다<sup>7)</sup>. 대부분의 정신건

\* 교신저자 : 장규태, 경북 경주시 석장동 1090-1번지 동국대 경주한방병원

· E-mail : gtchang@dongguk.ac.kr, · Tel : 054-770-1260

· 접수 : 2005/07/21 · 수정 : 2005/08/19 · 채택 : 2005/09/20

강 관련 연구들은 소아의 경험과 교육이 인격성숙과 정신건강에 매우 중요하다는 것을 보여준다<sup>6,8)</sup>. 현재 우리사회에서도 소아 및 청소년의 자살, 우울, 정체감 혼란, 본드흡입, 청소년 범죄 등 정서적 문제와 행동적 문제가 증가하여 사회문제가 되고 있다.

分心氣飲은宋代 陳師文이 編한 『太平惠民和劑局方』에 최초로 기재된 處方으로서 男子와 婦人의 一切 氣不和를 治한다고 하였으며<sup>9)</sup>, 憂愁, 思慮, 怒氣 등으로 인하여 神의 손상에 유효하여 정신과 질환의 치료에 활용되고 있다<sup>10)</sup>.

分心氣飲에 관한 실험적 연구로는 金 등<sup>11)</sup>이 스트레스 억제 효과에 미치는 영향을, 池<sup>12)</sup>가 stress 관련 hormone의 함량변화에 미치는 영향을, 李<sup>13)</sup>가 우울증 모델 白鼠에 미치는 영향을 보고한 바 있으며, 또한 金<sup>14)</sup>과 許<sup>15)</sup>는 分心氣飲加味方이 수면장애에 미치는 영향을 보고하였다.

이에 저자는 分心氣飲加減方 투여가 소아의 정서적 장애에 미치는 영향을 조사하기 위하여 母性分離 白鼠를 이용한 행동변화, 체중변화, 신경세포 보호 및 증식효과, free radical scavenging을 관찰한 결과 유효한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

태어나면서부터 실험실 환경에 적응시킨 생후 2주령으로 체중 25±3g의 Sprague-Dawley계 白鼠(샘타코, 한국)를 사용하였다. 실험실 환경은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%를 유지하면서 白鼠용 고품사료(삼양사료, 한국)와 물을 공급하였다.

#### 2) 약재

약재는 동국대학교 부속 한방병원에서 구입하여 사용하였다. 分心氣飲加減方(이하 검액)은 楊<sup>16)</sup>의 처방에서 檳榔, 蓬朮, 麥門冬, 桔梗, 桂皮, 香附子, 枳殼, 木香, 赤茯苓, 藿香을 去하고, 桂枝, 白芍藥, 白茯苓, 羌活을 加하였으며, 처방약물과 분량은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The Amount and Composition of Bunsingieumgagam

韓藥名	生藥名	分量 (g)
桂枝	<i>Cinnamomi Ramulus</i>	6
白芍藥	<i>Paeoniae Radix Alba</i>	4
木通	<i>Akebiae Caulis</i>	4
半夏	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	4
胄皮	<i>Citri Reticulatae Viride Pericarpium</i>	4
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	4
白茯苓	<i>Poria</i>	4
羌活	<i>Notopterygii Rhizoma</i>	4
桑白皮	<i>Mori Cortex</i>	4
燈心草	<i>Junci Medulla</i>	4
大腹皮	<i>Arecae Pericarpium</i>	3
蘇葉	<i>Perillae Folium</i>	3
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	3
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	3
大棗	<i>Jujubae Fructus</i>	3
Total amount		56

### 3) 검액의 제조

경구투여용 검액은 560g의 약재에 70% 에탄올을 가한 후 가열하여 얻은 약물(63.5g, 수득률 11.34%)을 동결건조시켜 사용하였다. 세포실험용 검액은 phosphate buffered saline(이하 PBS, pH 7.2)에 필요한 농도로 시료를 녹여 0.22µm syringe filter로 여과한 후, 무균상태로 제조하여 사용하였다. 고농도에서 시료가 PBS에 완전히 용해되지 않을 경우 dimethyl sulfoxide(이하 DMSO, Sigma, USA)에 녹여서 DMSO의 최종농도가 0.1% 이하가 되도록 맞춘 후 무균조작으로 제조하였다. 경구투여용 검액은 종류수에 200mg/kg의 농도가 되도록 녹여 실험에 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) 실험군의 분류

행동관찰, 체중측정, BrdU immunohistochemistry에서는 모성의 보호를 받은 정상군(normal군)과 母性分離 stress를 형성한 대조군(control군), 母性分離 stress를 형성한 후 검액을 투여한 검액군(sample군)으로 분류하여 대조군과 검액군은 생후 14일이 경과하였을 때 모성과 분리하여 24×18cm 크기의 케이지에 한 마리씩 배치하였으며, 검액군은 매일 오전 10시에 체중 1kg당 검액 200mg씩을 7일간 경구투여 하였으며, 정상군과 대조군은 동량의 saline을 투여하였다. Free radical scavenging assay에서는 에탄올에 아무 처치도 않은 정상군과 20mM Vit. C를 처치한 대조군, 0.01, 0.1, 1 및 5mg/ml의 검액을 처치한 검액군으로 분류하였다. MTT-based cytotoxicity assay에서는 SK-N-SH (immortalized human neuroblastoma) cell line<sup>17)</sup>에 0.05M PBS(pH 7.4)을 처치한 대조군과 0.001, 0.01, 0.1 및 1mg/ml의 검액을 처치한 검액군으로 분류하였다.

### 2) 행동관찰

모성을 분리한 직후부터 7일동안 배정을 알지 못하는 제3자가 매일 동물의 행동을 방해하지 않도록 주의하면서 육안으로 각 개체의 움직임으로 관찰하고 기록하였다.

### 3) 체중측정

체중은 매일 약물을 투여하기 직전에 전자저울(OHAUS, USA)을 사용하여 측정하였다.

### 4) 뇌조직의 준비<sup>18)</sup>

실험개시 제8일에 5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)(Sigma, MO, USA)를 0.9% NaCl 용액에 녹여 0.45µM에서 여과하고, 白鼠를 희생하기 2시간 전 모든 白鼠에게 50mg/kg 농도로 복강주사 하였다. 두 시간 경과 후, 白鼠를 깊이 마취 시킨 뒤 흉부를 열어 심장이 드러나도록 하였다. 먼저 PBS를 사용하고, 뒤이어 4% formalin 용액을 사용하여 심장을 통해 관류 고정하였다. 고정이 끝난 白鼠는 뇌를 꺼내 같은 고정액에 48시간 동안 후고정시키고, 20% sucrose 용액에 담궈 4℃에서 보관하였다. 다음 날 뇌를 급속냉동한 뒤, 냉동절편기(Shandon, England)를 사용하여 40µm의 두께로 절편한 뒤 보관용액에 넣어 냉장보관하였다.

### 5) BrdU immunohistochemistry<sup>18)</sup>

조직을 0.5% Triton-X 100에서 前처리하고 65℃의 50% formamide-2×SSC 용액에서, 이어 37℃ 2N HCl 용액에서 배양

하였다. 이 조직을 0.1M sodium borate(pH 8.5)용액으로 씻어주었다. 이후, 조직을 BrdU-specific mouse monoclonal antibody(1:500)과 24시간동안 반응시킨 뒤 horseradish peroxidase 방법(Elite ABC system, Vector Laboratory, Burlingame, CA, USA)으로 발색을 시행하였다. 조직을 발색시키기 위하여 nickel chloride(40mg/ml)를 함유한 0.02% 3,3'-diaminobenzidine(DAB)를 사용하였다. 발색이 끝난 뒤, gelatine으로 코팅된 슬라이드에 얹어 실온에서 건조시킨 후 xylene으로 투명화시켜 polymount로 봉입하였다. 뇌조직의 염색성은 광학현미경으로 관찰하고 CCD 카메라를 통해 컴퓨터에 영상을 저장시킨 뒤, Optima 6.5(Media Cybernetics, MA, USA) 프로그램을 사용하여 hippocampus에 있는 dentate gyrus(DG)에서의 BrdU 발현을 분석하였다.

6) Free radical scavenging assay<sup>19)</sup>

검액 100mg/ml를 물에 녹인 뒤, 최종 농도를 0.01, 0.1, 1 및 5mg/ml로 각각 조정하고, 60µM α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH) 에탄올 용액(final volume of 100µl)을 가하였다. 반응 시킨 뒤 5분, 10분, 20분, 30분 및 60분이 경과 한 후, spectrophotometer를 사용하여 515nm에서 흡광도(absorbance, Abs)를 측정하였다. 모든 실험은 3회 반복하였고, 검액의 scavenging 효과는 아래의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Scavenging effect(\%)} = \frac{\text{Abs control} - \text{Abs sample}}{\text{Abs control}}$$

검액의 효과를 객관화 하기 위하여 scavenging 효과가 뛰어나다고 알려진 20mM Vit. C를 비교 약물로 사용하였다.

7) 세포배양

100mm culture dish(SPL, Korea)에 SK-N-SH cell line을 2×10<sup>6</sup>cells/10ml가 되도록 접종한 후 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(이하 DMEM, JBI, Korea)에 10% fetal bovine serum(이하 FBS, Gibco BRL, USA)및 1% antibiotic-antimycotic (10,000units/ml penicillin G sodium, 10,000units/ml streptomycin sulfate, 25µg/ml amphotericin B, Gibco BRL, USA)이 포함된 DMEM 배지를 이용하여 배양하였다. 이때 사용한 FBS는 사용하기 전 55 ℃에서 1시간 heat-inactivation시켜 사용하였다. 또한 일정한 습도와 온도가 유지되는 37℃ 배양기에서 O<sub>2</sub>(95%)/CO<sub>2</sub>(5%)의 혼합기체를 계속 공급하면서 細胞를 배양하였다. 배지는 10ml씩 2일에 한번 교체해 주었고 주 2-3회 계대배양하였다.

8) MTT-based cytotoxicity assay<sup>20)</sup>

처리한 시료의 농도에 따른 세포증식 및 독성을 검사하기 위하여 96-well plate(SPL, Korea)에 SK-N-SH cell을 2×10<sup>4</sup>cells/100µl/well의 농도로 접종하였다. 24시간 배양 후에 검액을 각각 0.001, 0.01, 0.1 및 1mg/ml가 최종 농도가 되도록 처리하고 6시간 혹은 12시간 동안 37℃, 5% CO<sub>2</sub>의 조건으로 배양한 후 MTT용액을 50µl 가한 뒤 알루미늄 호일로 덮어 빛을 차단한 채 4시간 배양한다. 500xg에서 5분간 centrifuge하여 상층액을

제거하고 DMSO 100µl를 첨가하여 침전물을 용해시킨 다음 효소결합면역흡착검사(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA)로 570nm에서 흡광도를 측정하였다.

9) 통계처리

각 군의 통계처리는 Window용 prism을 이용하여 실시하였다. 각 집단에서의 측정값은 평균±표준오차로 나타내었으며, 각 군간의 평균치 차이에 대한 유의성은 ANOVA test로 검정하고 Kruskal-wallis 방법에 의해 사후 검정하였다. P값이 0.05이하일 때 유의성 있는 것으로 판정하였다.

실험성적

1. 행동의 변화

실험 제1일, 제2일은 대조군과 검역군 사이에 별 차이가 없었으나 실험 제3일부터 검역군의 움직임이 관찰되기 시작하였으며, 실험 제4일 이후 실험 제7일까지는 행동과 먹이섭취량의 증가가 현저하게 나타났고, 대조군과 검역군 사이에 급격한 차이를 보였다(Table 2).

Table 2. The Behavioral Observation

Day	Group	Behavior			
		Movement	Feeding	Avoiding	Shine
1st	Normal	+++	+++	-	+++
	Control	-	-	+++	+
	Sample	-	-	+++	+
2nd	Normal	+++	+++	-	+++
	Control	-	-	+++	+
	Sample	-	-	+++	+
3th	Normal	+++	+++	-	+++
	Control	-	+	+++	+
	Sample	+	+	++	+
4th	Normal	+++	+++	-	+++
	Control	-	+	+++	+
	Sample	++	++	+	++
5th	Normal	+++	+++	-	+++
	Control	+	+	++	+
	Sample	++	++	+	++
6th	Normal	+++	+++	-	+++
	Control	-	+	++	+
	Sample	+++	+++	-	+++
7th	Normal	+++	+++	-	+++
	Control	+	+	+	+
	Sample	+++	+++	-	+++

실험 제1일에는 母性分離를 하지 않은 정상군은 활발하게 어미 젖을 빨며 활발한 움직임을 보였으나, 母性分離된 白鼠는 분리 직후부터 깔짚 밑으로 파고들고 빛이 안 들어오는 어두운 곳에서 움직이지 않고 있었으며, 먹이 또한 먹으려고 하지 않았다. 대조군과 검역을 투여한 검역군 간의 행동양상의 차이는 나

타나지 않았다. 실험 제2일에는 정상군은 전날과 동일하게 어미 젖을 빨며 활발한 움직임을 보였으나, 母性分離된 白鼠는 여전히 깔짚 밑으로 파고들고 빛이 안 들어오는 어두운 곳에서 움직이지 않고 있었으며, 먹이 또한 먹으려고 하지 않았다. 대조군과 검액군 간의 행동양상의 차이는 여전히 나타나지 않았다. 실험 제3일에는 정상군은 이전과 동일하게 어미 젖을 빨며 활발한 움직임을 보였으며, 대조군은 여전히 깔짚 밑으로 파고들고 빛이 안 들어오는 어두운 곳에서 움직이지 않고 있었으나, 먹이를 조금씩 먹기 시작하였고, 검액군은 깔짚 밑으로 숨으려는 경향이 조금 줄어들었으며, 밖으로 돌아 다니는 개체가 관찰되었고, 먹이의 감소가 관찰되었다. 실험 제4일에는 정상군은 이전과 동일하게 어미 젖을 빨며 활발한 움직임을 보였으며, 대조군은 여전히 깔짚 밑으로 파고들고 빛이 안 들어오는 어두운 곳에서 움직이지 않고 있었으며, 먹이의 감소가 조금 관찰되었고, 검액군은 깔짚 밑으로 숨으려는 경향이 많이 감소하였고, 밖으로 돌아다니는 개체가 5마리 관찰되었으며, 먹이의 감소가 현저하게 관찰되었다. 실험 제5일에는 정상군은 이전과 동일하게 어미 젖을 빨며 활발한 움직임을 보였으며, 대조군 중 세 마리는 여전히 깔짚 밑으로 파고들어 빛이 안 들어오는 어두운 곳에서 움직이지 않고 있었으나, 나머지는 조금씩 깔짚 밖에서 움직였으며, 검액군은 깔짚 밑으로 숨으려는 경향이 많이 감소하였고, 밖으로 돌아다니는 개체가 5마리 관찰되었으며, 먹이의 감소가 현저하게 관찰되었다. 실험 제6일에는 정상군은 이전과 동일하게 어미 젖을 빨며 활발한 움직임을 보였으며, 대조군의 5마리가 깔짚 바깥에서 관찰되었으나 움직이지 않았고, 검액군은 활발한 행동을 나타내었으며, 털의 윤기는 정상군과 유사하였다. 실험 제7일에는 정상군은 이전과 동일하게 어미 젖을 빨며 활발한 움직임을 보였으며, 대조군은 1마리가 여전히 깔짚 밑에 숨어 있었고 나머지 개체 역시 움직임이 활발하지 못한 반면에 검액군은 활발한 행동을 보였으며, 털의 윤기는 정상군과 유사하였다.

2. 체중의 변화

실험 제1일 및 제2일에는 대조군과 검액군 모두 체중이 감량되었고, 실험 제3일부터 체중이 증가하기 시작하였으나 정상군에 비해 체중 변화가 적었으며, 실험 제6일 및 제7일에는 각각 대조군 20.6±1.7, 23.9±1.0에 비하여 검액군이 29.3±4.6, 34.0±3.0으로 유의성있는(P<0.05) 체중증가량을 나타내었다(Table 3).

Table 3. The Changes of Body Weight in Rats

Group	No. of rats	The Changes of Body Weight (%)						
		1	2	3	4	5	6	7
Normal	6	14.7±1.4	25.6±1.4	37.7±1.0	49.3±2.8	57.1±2.9	65.1±3.5	72.3±3.7
Control	6	-7.4±0.6	-7.2±0.9	4.1±0.8	5.2±0.8	16.7±2.0	20.6±1.7	23.9±1.0
Sample	6	-8.6±0.6	-10.3±1.0	3.3±1.5	6.9±3.3	17.6±4.8	29.3±4.6*	34.0±3.0*

Values are Mean±S.E., Significantly different from control group(\*, P<0.05)

3. 신경세포 증식 효과

검액이 白鼠의 hippocampus에 있는 dentate gyrus(DG)의 신경세포 증식에 미치는 영향을 알아보기로자 BrdU immunohistochemistry

를 통하여 BrdU 발현을 분석하고 BrdU-positive cell의 갯수를 측정한 결과 정상군은 27.1±1.8로 나타났으며, 대조군은 14.1±2.3으로 감소한데 비하여 검액군은 25.9±1.2로 현저한 유의성있는(P<0.001) 증식 효과를 보였다(Table 4, Fig. 1).

Table 4. Quantitative Analysis of The Number of BrdU-positive Cells Per section in Dentate Gyrus(DG)

Group	No. of rats	BrdU-positive cells in DG
Normal	6	27.1 ± 1.8
Control	6	14.1 ± 2.3
Sample	6	25.9 ± 1.2***

Values are Mean±S.E., Significantly different from control group(\*\*\*, P<0.001)

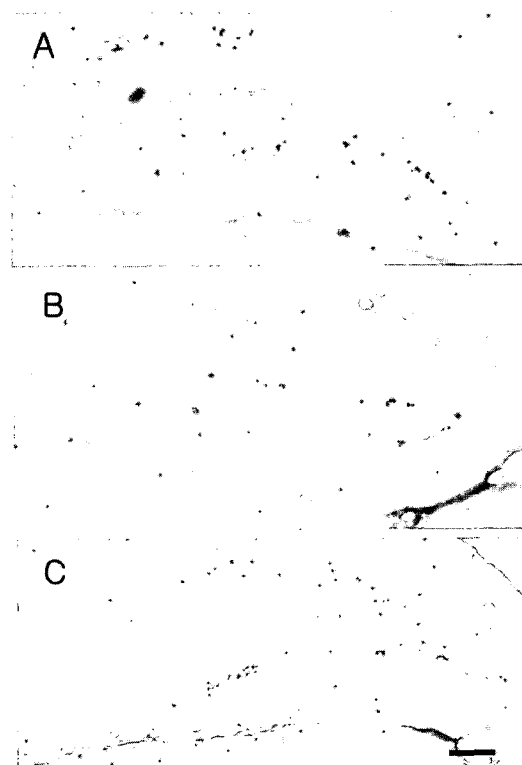


Fig. 1. Effects of sample on BrdU expression in dentate gyrus(DG) of hippocampus in rats. (A) Rats with no separation, (B) Maternally-separated rats for 7days with saline administration (p.o.), (C) Maternally-Separated rats for 7days with sample administration (200mg/kg, p.o.), bar = 250µm

4. free radical scavenging 효과

검액과 에탄올 용액을 반응시킨 뒤 5분, 10분, 20분, 30분 및 60분이 경과 한 후에 흡광도를 측정 한 결과 검액 5mg/ml 농도에서 20mM Vit. C보다 scavenging 효과가 우수하게 나타났으나 유의성은 인정되지 않았다(data not shown).

5. 세포증식 효과

세포배양 6시간 경과 후 0.1과 1mg/ml 농도의 검액군에서는 대조군에 비해 cell proliferation이 각각 129.5±4.2mg/ml, 190.4±4.7mg/ml로 높게 나타나 현저한 유의성(P<0.001)이 나타났으며, 0.01mg/ml 농도의 검액군에서는 119.5±9.3mg/ml로 유의성(P<0.01) 있는 증가를 보였다.(Table 5.) 세포배양 12시간 경과 후

0.1과 1mg/ml 농도의 검액군에서는 대조군에 비해 cell proliferation이 각각 115.2±1.0mg/ml, 187.8±5.2mg/ml로 높게 나타나 현저한 유의성(P<0.001)이 나타났으며, 0.01mg/ml 농도의 검액군에서는 111.4±2.9mg/ml로 유의성있는(P<0.01) 증가를 보였다 (Table 6).

Table 5. Effects of Sample on Cell Proliferation of SK-N-SH (6hrs)

group	Control	Sample (mg/ml)			
		0.001	0.01	0.1	1
mean(%)	100±2.3	109.7±6.3	119.5±9.3**	129.5±4.2***	190.4±4.7***

Values are Mean±S.E., Control: SK-N-SH treated with PBS for 6hrs (n=6), Sample 0.001, 0.01, 0.1: SK-N-SH treated with sample(0.001, 0.01, 0.1mg/ml) for 6hrs (n=4), Significantly different from control group(\*\*, P<0.01, \*\*\*, P<0.001)

Table 6. Effects of Sample on Cell Proliferation of SK-N-SH (12hrs)

group	Control	Sample (mg/ml)			
		0.001	0.01	0.1	1
mean (%)	100±2.3	104.5±3.2	111.4±2.9**	115.2±1.0***	187.8±5.2***

Values are Mean±S.E., Control: SK-N-SH treated with PBS for 6hrs (n=6), Sample 0.001, 0.01, 0.1: SK-N-SH treated with sample(0.001, 0.01, 0.1mg/ml) for 12hrs (n=4), Significantly different from control group(\*\*, P<0.01, \*\*\*, P<0.001)

## 고찰

韓醫學에서는 天人相應思想에 따라 인간의 생활양식과 생존의 지속을 자연에 대한 적응으로 인식하고 있으며, 정신과 육체도 유기적 관계로 인식하여 상호간의 협조와 통일을 중요시하고 있다<sup>1,21)</sup>. 이런 관점에서 볼 때, stress는 『三因方』<sup>22)</sup>에서 정립한 內因으로서의 七情, 外因으로서의 六淫과 기타 飮食, 痰飲, 瘀血 등의 不內外因을 포괄하는 병리적 개념으로 볼 수 있으며<sup>21,23)</sup>, 정신적 측면에서는 神이나 七情의 범주에 해당한다<sup>10,21)</sup>. 『素問·刺法論』에서는 “抑之鬱發”, 『素問·本病論』에서는 “久而化鬱”, “日久成鬱”, “抑之變鬱”, “伏之化鬱”이라하여 stress를 만성적인 억압으로 인하여 舒暢, 通暢이 되지 못하는 상태로 설명하고 있다<sup>24)</sup>. 이런 개념은 후대로 갈수록 정신적인 개념의 의미가 커져 明代의 張介賓<sup>25)</sup>은 “怒鬱”, “思鬱”, “憂鬱” 등의 “情志之鬱”이라는 개념을 설정하여 stress를 “鬱證”의 범주에 귀결시켰다.

Stress로 인한 신체내부 기능의 변화는 기의 변화로 표현하며 이러한 기의 不調나 순환장애가 질병의 원인이 된다. 따라서 감정의 변화나 寒熱의 차이 등이 stress인자(stressor)로 작용하여 나타나는 신체반응, 특히 자율신경계의 긴장과 이완에서 오는 여러 증상 및 호흡작용과 穀氣로부터 얻는 생명활동의 여러 증상을 모두 기의 병증으로 볼 수 있다. 정신적 또는 寒熱 등에서 받는 자극에 의한 증상을 七氣, 九氣, 氣鬱, 中氣, 氣痛, 氣逆 등으로 나누며, 기의 원천이 되는 대기를 호흡하는 상태에 따라 少氣, 短氣로 나누고, 기의 승강상태에 따라 上氣, 下氣로 나누는데<sup>26)</sup>, 이중 七氣, 九氣, 中氣, 氣痛, 氣逆 등은 stress 증상이라고 할 수 있으며, 그 치료방법은 stress 치료에 유효하다고 보아진다.

정신을 五志로써 五臟과 결부되어 신체에 깃들여 있고, 靈敏한 神의 작용은 五臟의 원활한 활동과 상호협조로써 이루어진다. 또한 정신작용의 구체적 표현으로서 감정의 偏傾이나 過極은 五

臟의 기능에 영향을 주어 원활한 생리기능을 손상시킨다고 하여 心身一如의 생명현상을 설명하고 있다<sup>27)</sup>. 『內經』에서는 心身一體와 精神優位の 韓方精神醫學의 기본을 천명하여 기본 장기인 五臟과 정신을 결부시켜 心身の 기능을 모두 하나의 생명활동으로 인식하였다<sup>24)</sup>. 정신적 過勞, 즉 七情傷은 五臟의 생리기능에 직접적으로 손상을 주거나 臟腑氣機에 영향을 미쳐 氣機의 運行을 紊亂하게 해서 질병을 초래한다고 인식하였다<sup>28)</sup>. 이러한 감정의 편협이나 갈등과 같은 정신적인 과로, 즉 七情傷은 신체에 五臟의 虛實, 血虛, 氣虛, 精損, 氣의 순환장애, 痰의 造成 등 病的 要因을 만들어준다. 또한 육체적인 과로나 飮食不節, 過飮, 過色 등도 이러한 병적 요인을 이루며 정신작용에 그 영향을 미치게 되는 것이다.

또한 stress로 인한 心臟의 機能失調은 외부적으로 脈診소견에 직접적으로 반영되는 데 정신적인 변화는 기에 영향을 미치고 기의 변화가 발생하면 맥에도 변화가 나타나게 된다<sup>29)</sup>. 『內經』<sup>24)</sup>의 “心藏脈 脈舍神”은 神의 病變이 血脈의 흐름에 반영되는 것을 보여준다. 이런 점에서 볼 때, stress로 인한 病變은 心臟의 생리적 기능의 變調을 유발할 수 있다고 생각된다.

小兒 stress에 대한 관심은 1950년대에 나타나기 시작하여 1980년 DSM-III에서 처음 공식적으로 받아들여졌다. 이후 대부분의 정신건강 관련 연구들은 소아기의 경험과 교육이 인격성숙과 정신건강에 매우 중요하다는 것을 보여준다<sup>6,7)</sup>. 이에 비해 정신건강전문가 중 소아 정신과 의사나 소아에 관심있는 임상심리전문가, 상담심리전문가는 많지 않은 편이며, 소아의 정신병리를 체계적으로 다루는 상담교사, 정신보건간호사, 정신보건사회복지사 역시 소수에 불과하다<sup>3)</sup>. 특히 학교를 중심으로 하는 小兒의 정신건강문제는 최근에서야 학교정신보건사업 모델이 연구, 개발되고 있는 실정이다.

소아는 인격구조가 미숙하고 자아가 완전히 형성되지 않아서 소아기 stress 증상을 하나의 발달 현상으로 오인하여 독립된 질환으로 인식하지 못하는 경우가 많다. 소아의 stress 증상은 성인에서 흔히 보는 정동적인 반응은 드물고 대개 신체증상이나 행동증상으로 나타난다<sup>30)</sup>. 신체증상으로는 복통, 구토, 두통, 신경성 빈뇨, 기관지천식, 과호흡증 등을 들 수 있고, 행동증상으로는 수행능력의 저하, 식이장애(신경성 식욕부진증, 대식증), 수면장애(악몽, 야경증), 타인기피, 등교거부, 다동증 등이 있다. 또한 소아의 특유한 정신적 질환으로는 분노발작, Tic, 자폐증, 야뇨증, 주의력결핍, 언어발달장애, 학습장애, 지능저하 등이 있다<sup>10)</sup>. 또한 유아기의 심각한 stress는 퇴행성 행동이나 인격발달의 미숙을 초래할 수 있다고 하였다<sup>31)</sup>.

『東醫小兒科學』<sup>30)</sup>에서는 두통, 전신경련, 심계항진, 기립성 조절장애, 소아천식, 재발성 臍腹痛, 장관운동실조증, 유문경련, 遺糞症, 신경성 下痢, 야뇨증, 신경성 빈뇨, 난청, 失聲, 심인성 발열, 아토피성 피부염 등의 증상이 나타난다고 하였으며, 『東醫精神科學』<sup>10)</sup>에서는 소아천식, 가성빈혈, 주기성 구토증, 구역, 심장통, 호흡곤란발작, 오심, 두통, 수면장애, 호흡정지발작, Tic, 요폐, 야경증, 乳기피증, 말더듬, 분노발작 등의 증상을 보인다고 하였다.

韓醫學의 소아 전문서적에는 주로 藥物과 鍼灸치료를 위주로 하고 있으며, 대표적으로 安神鎮驚의 처방을 사용하였다<sup>26)</sup>. 그러나 兒科書籍에는 stress치료에 관한 구체적인 언급이 없으며, 단지 『素問·陰陽應象大論』<sup>24)</sup>에 현대의 精神療法에 상응할만한 일반적 내용으로 정서가 각각 속하는 것과 “悲勝怒, 恐勝喜, 怒勝思, 喜勝憂, 思勝恐” 라고 하였다.

分心氣飲은 心胸間의 鬱氣를 풀어준다는 의미이며, 胸膈에 기가 鬱結하면 水 또한 이를 따라서 정체하게 되므로 이것을 분해하여 水道로 順하게 하는 효능이 있다고 하였다<sup>32)</sup>. 宋代 陳師文<sup>9)</sup>이 편한 『太平惠民和劑局方』에 최초로 기재된 처방으로써, 男子와 婦人의 一切 氣不和로 인해 抑鬱된 기가 정체되어 胸中에 머물러 소통되지 못하고 心胸痞悶, 胸脇虛脹, 噎塞不通, 噎氣吞酸, 嘔噦, 惡心, 頭目昏眩, 四肢倦怠, 勞倦, 面色萎黃, 口舌舌乾, 攝食減少, 大腸虛閉 등의 증상을 보일 때 時候에 구애받지 않고 사용할 수 있으며, 정체된 기를 소통시키고 陰陽을 승강시켜 三焦를 조화시키고 脾胃를 화하여 음식을 먹을 수 있게 한다고 하였다. 宋代 楊士瀛<sup>16)</sup>은 『仁齋直指』에서 『太平惠民和劑局方』의 分心氣飲에 丁香皮, 大腹子, 草果, 白朮, 人參, 厚朴을 去하고, 半夏, 枳殼, 青皮, 木通, 赤茯苓, 檳榔, 蓬朮, 桂皮를 加하여 分心氣飲方이라 하였으며, 治憂思鬱怒 諸氣痞滿停滯 通利大小便한다고 하였다.

본 연구에서는 楊<sup>16)</sup>의 處方에서 檳榔, 蓬朮, 麥門冬, 桔梗, 桂皮, 香附子, 枳殼, 木香, 赤茯苓, 藿香을 去하고, 桂枝, 白芍藥, 白茯苓, 羌活을 加하였다. 檳榔, 蓬朮, 香附子, 枳殼, 木香, 藿香은 理氣, 下氣 및 解表作用이 강하고, 桔梗은 開泄宣散하여 陰虛에 禁하며, 麥門冬은 藥性이 寒하여 脾胃虛寒에 禁하므로 脾常不足, 陰常不足한 小兒의 특성상 사용하기에는 부적합하다. 桂皮, 赤茯苓은 각각 桂枝와 白茯苓으로 바꾸어 溫經通脈, 通陽化氣 및 寧心安神하는 作用을 강조하였다. 小兒은 肝常有餘한데다 stress로 肝氣鬱結되기 쉬우므로 白芍藥을 加하였으며, 羌活을 加하여 周身の 鬱氣를 開散하였다.

생리학적 stress반응은 psychoendocrine systems, sympathetic-adrenomedullary와 pituitary-adrenocortical systems에 의해 일어난다<sup>33)</sup>. 뇌에 stress가 감지되면 시상하부에서 부신피질자극 hormone放出hormone (corticotropin releasing hormone, CRH)이 분비되고, 이것이 뇌하수체전엽(anterior pituitary gland)에 작용하여 부신피질자극 hormone (adrenocorticotropin hormone, ACTH)을 분비한다<sup>34)</sup>. 이 hormone는 부신피질(adrenal cortex)을 자극하여 그 기능을 촉진시키고 부신피질hormone을 분비한다. 그 중 하나가 탄수화물의 대사를 행하는 당질대사hormone (glucocorticoid)이며<sup>35)</sup>, 당의 신진대사에 깊이 관여한다. 단백질은 당으로 변형시키고 몸에 축적된 지방을 에너지로 사용하도록 하며, 혈액순환을 증가시키고 뇌로 하여금 외부상황에 민첩하게 대응하도록 한다. glucocorticoid는 cortisol, cortisone, corticosterone (CORT)으로 구성되며, 이 중 cortisol이 glucocorticoid 작용의 95%를 차지한다<sup>36)</sup>. cortisol은 CRH에 대한 ACTH 분비세포의 반응을 감소시키며, glucocorticoid는 CRH 방출을 억제한다<sup>34)</sup>.

또한 부신수질(adrenal medulla)은 자율신경계의 뇌세포와

연결되어 있고, epinephrine과 norepinephrine을 혈액속으로 분비한다<sup>36)</sup>. norepinephrine은 부신에서 분비되는 hormone인 동시에 뇌에서는 신경전달물질로 작용한다. 특히 stress의 자극이 오면 시상하부와 그의 뇌의 다른 부위에서 norepinephrine이 많이 분비된다. 이 stress hormone은 외부로부터 stress를 받을 때 신체를 보호하도록 되어있다. glucocorticoid나 norepinephrine이 없으면 외부에서 오는 stress에 대해 적절한 대응을 할 수 없게된다. 그러나 장기적인 만성stress인 경우에는 이런 hormone이 계속 분비되어 건강을 해치고 질병을 초래하게 된다<sup>37)</sup>.

소아가 만성stress를 받는 경우, 뇌세포가 성장하는 과정에서 일어나기 때문에 그 영향은 상상 이상으로 막대하다고 보아진다. 특히 glucocorticoid는 세포의 분화를 저해하여 신경전달을 원활하지 못하게 한다. 따라서 어릴 때부터 기억력이 저하되고 여러 가지 질병에 잘 견디내지 못하게 된다. 영아의 경우 glucocorticoid는 뇌세포의 성장을 억제하고, hippocampus 뇌세포의 손상으로 기억력을 상실시킬 뿐만 아니라 뇌의 변연계(limbic system)까지 손상을 가하여 감성적인 부분에 기능장애를 초래한다<sup>37)</sup>.

母性の 초기 剝奪은 불안, 인격장애, 우울 등과 같은 소아의 신경정신장애에 유발 가능성을 증가시킨다. 반면에 모성 표현이 활발할수록 hippocampus의 glucocorticoid receptor가 증가한다. 최근 이 등<sup>18)</sup>은 母性分離가 hippocampus에서 세포증식을 감소시키며 신경세포 고사를 일으킨다고 보고하였다. 이런 점에서 볼 때, 소아의 초기 母性分離 및 결핍은 성장발달에 상당한 영향을 주며, 이로 인한 stress가 정신장애와 행동장애를 유발할 가능성이 높다. 실제로 정상군과 母性分離된 대조군의 행동검사와 체중 측정치를 비교한 결과 상당한 차이를 보였으며, 이는 母性分離가 심각한 stress를 유발함을 알 수 있다. 반면에 검액을 투여한 검액군은 실험 6일째부터 행동이 정상군과 거의 다를 바가 없음이 관찰되었으며, 체중의 증가 역시 대조군에 비해 더 많음을 알 수 있다. 이는 검액이 母性分離로 야기된 stress에 유효하다는 것을 보여준다. 김<sup>14)</sup>은 미로실험을 통한 행동실험에서 분심기유가미방이 항불안작용에 유효함을 보고한 바 있다.

stress를 심하게 받는 동물일수록 체중이 현저하게 감소한다는 것은 이미 실험을 통하여 증명된 바 있으며<sup>38)</sup>, Kashani와 Barbero 등<sup>39)</sup>은 우울증 아동표본의 58%에서 섭식에 장애가 있음을 보고하였다.

母性分離로 stress를 받은 白鼠에 검액을 투여하여 BrdU immuno-histochemistry한 결과 정상군과 유사한 결과치를 보였다. BrdU를 사용한 Cell Proliferation ELISA는 세포 분열이 왕성한 세포가 DNA합성이 활발하다는 것을 이용하여 세포 활성을 check하는 kit로써, DNA 합성 시 BrdU를 첨가하여 새로 합성되는 DNA에 incorporation되게 하고, 첨가된 BrdU의 양을 측정함으로써 세포 분열 정도를 알 수 있다. 검액군에서 발현된 BrdU의 양은 정상군과 거의 유사하였으며, 대조군과는 심한 차이를 보였다. 이런 결과로 볼 때 검액이 hippocampus의 신경세포 증식효과에 유효하다고 생각된다. 검액을 투여하여 stress관련 hormone의 함량 변화를 측정한 보고<sup>11-15)</sup>들은 과거에 많았으나 신경세포와 관련된 연구는 보고된 바가 없다.

검액은 free radical scavenging assay를 통하여 세포보호에 유효한 결과를 보였다. 활성산소(free radical)란 산소라디칼(oxygen free radical) 및 이것으로부터 파생된 여러 산소화합물들을 통칭하는 것으로, 이들은 모두 반응성이 높은 특징을 가지고 있다. 활성산소는 1956년 Harman<sup>40)</sup>에 의해 제안되었으며, 정상적인 대사과정에서 부수적으로 생성되는 활성산소에 의하여 생체구성 성분들이 산화적 손상을 받게 되고 이러한 손상이 축적되어 노화와 사망에 이르게 된다고 하였다. 활성산소에 의한 손상은 생체가 가지고 있는 방어능력으로 대처되고 있지만, 방어가 100% 완전히 못하므로 일부의 활성산소에 의해 유해작용을 받게된다. 따라서 면역체계가 완전히 형성되지 않은 소아에게 활성산소에 의한 유해작용은 치명적일 수 있다. 이 유해작용은 서서히 진행되며, 경우에 따라 수년 내지는 일생을 통하여 만성적으로 일어나고, 누적되어 세포나 조직의 기능을 저하시키며, 질병 및 노화의 원인이 된다. 또한 이러한 유해작용이 지속되면 사망하게 된다. 오늘날에는 stress이외에 흡연, 음주, 과산화지질 식품의 섭취, 대기오염 등의 문명 발달로 인한 사회적 변화로 활성산소가 대량발생하는 경우가 많아졌으며, 세포를 죽이거나 상하게 하여 암, 백혈병, 심근경색, 뇌졸중, 고혈압, 백내장, 당뇨, 간염, 류머티즘, 위궤양 등 각종 질병의 원인이 되고 있다.

검액을 투여한 후 MTT-based cytotoxicity assay를 한 결과 SK-N-SH cell line의 세포증식(cell proliferation)에 유효한 결과를 보였다. MTT-based cytotoxicity assay는 세포배양에서 생존하는 세포의 수를 측정하는 방법으로써, 살아있는 세포의 mitochondrial succinic dehydrogenase가 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT, Sigma, USA)를 푸른색의 formazan으로 환원되는 작용을 이용하며, 흡광도의 값은 살아있는 세포의 수를 반영한다.

free radical scavenging assay와 MTT-based cytotoxicity assay의 결과는 검액이 stress로 인하여 발생하는 체내 독성물질로부터 세포보호 및 증식효과가 있음을 보여주며, 이러한 결과는 母性分離 stress로 인한 소아의 세포손상에도 역시 효과가 있을 것이라 생각된다.

이런 연구 결과는 다양한 小兒 stress 관련 질환에서 검액의 사용범위를 확장시키는 기초적 자료가 될 것이며, 향후 보다 객관적이고 지속적인 연구를 통해 더욱 발전시킬 필요가 있다고 보아진다.

## 결 론

검액이 母性分離로 인한 소아 stress에 미치는 영향을 연구하기 위해 母性分離한 白鼠를 대상으로 검액을 투여한 후 행동 관찰, 체중측정, hippocampus의 신경세포에 대한 BrdU immunohistochemistry, Free radical scavenging assay 및 SK-N-SH cell line에 대한 MTT-based cytotoxicity assay를 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

행동변화에서 실험 제1일, 제2일은 대조군과 검액군 사이에 별 차이가 없었으나 실험 제3일부터는 검액군의 움직임이 관찰

되기 시작하였으며, 실험 제4일 이후부터는 행동과 먹이 섭취량이 현저하게 증가하여 대조군과 검액군 사이에 급격한 차이를 보였다.

체중을 측정한 결과 실험 제1일 및 제2일에는 대조군과 검액군 모두 체중이 감량되었고, 실험 제3일부터 체중이 증가하기 시작하였으나 정상군에 비해 체중 변화가 적었으며, 실험 제6일 및 제7일에는 각각 대조군에 비하여 검액군이 유의성(P<0.05) 있는 체중증가량을 나타내었다.

BrdU immunohistochemistry를 통하여 BrdU-positive cell의 갯수를 측정한 결과 hippocampus에 있는 dentate gyrus(DG)의 신경세포에 있어 검액을 투여한 검액군은 정상군과 유사한 정도로 유의성(P<0.001) 있는 증식 효과를 보였다.

Free radical scavenging assay에서 5mg/ml 농도의 검액은 비교 약물로 사용한 20mM Vit. C보다 scavenging 효과가 우수하였으며, 0.01, 0.1 및 1mg/ml 농도의 검액 역시 free radical scavenging 효과가 우수하였으나 유의성은 인정되지 않았다.

MTT-based cytotoxicity assay에서 0.1 및 1mg/ml 농도의 검액을 투여한 검액군에서는 대조군에 비해 cell proliferation이 모두 높게 나타나 현저한 유의성(P<0.001)이 나타났으며, 0.01mg/ml 농도의 검액군에서는 유의성(P<0.01) 있는 증가를 보였다.

## 감사의 글

본 연구는 동국대학교 논문게재장려금 지원으로 이루어졌음

## 참고문헌

1. 金鐘佑. Stress의 韓醫學的 理解, 東醫神經精神科學會誌, 4(1):19-26, 1993.
2. Selye, H. The alarm reaction, Canad. Med. Ass. J., 34:706-713, 1936.
3. Kevin, D. Stark. Childhood Depression, Guilford Press, pp 11-45, 109-112, 1990.
4. Gray, M., & Hayman, L.L. Assessing stress in children research and clinical implications, Journal of Pediatric Nursing, 2(5):316-326, 1987.
5. Lehmann, J., Pryce, C.R., Bettschen, D., & Feldon, J. The maternal separation paradigm and adult emotionality and cognition in male female Wistar rat, Pharmac Biochem Behav 64:705-715, 2002.
6. Carlson, G.A., & Cantwell, D.P. A survey of depressive symptoms in a child and adolescent psychiatric population, Interview data, Journal of the American Academy of Child Psychiatry, 18:587-599, 1979.
7. Annette Spence. 청소년 스트레스와 정신건강, 학지사, pp 31-49, 1998.
8. Kendall, P.C., Stark, K.D., & Adam, T. Cognitive deficit or cognitive distortion in childhood depression, Journal of Abnormal Child Psychology, 18:255-270, 1990.

9. 陳師文 編. 太平惠民和劑局方, 台北, 旋風出版社, pp 112-113, 1980.
10. 黃義完, 金知赫. 東醫精神科學, 現代醫學書籍社 pp 53-56, 87-94, 99-109, 617-619, 624, 651-657, 727-751, 783, 786-787, 1987.
11. 吉宰藩. 分心氣飲의 抗스트레스效果에 關한 實驗的 研究, 경희대학교 대학원, 1990.
12. 池鮮洪. 分心氣飲 投與에 따른 Stress關聯 Hormone의 含量變化에 關한 實驗的 研究, 대구한의과대학 대학원, 1990.
13. 李升基. 分心氣飲의 憂鬱症 모델 흰쥐에 對한 實驗的 研究, 경희대학교 대학원, 2000.
14. 金京昱. 分心氣飲加味方이 흰쥐의 睡眠障礙와 不眠에 미치는 影響, 경희대학교 대학원, 2001.
15. 許容碩. 分心氣飲加味方이 睡眠障礙와 情緒性에 미치는 影響, 경희대학교 대학원, 2001.
16. 楊士瀛. 仁齋直指, 中國醫學大系 12卷, 서울, 驪江出版社, pp 131-132. 1987.
17. Ren, R.F., & Flanders, K.C. Transforming growth factors-beta protect primary rat hippocampal neuronal cultures from degeneration induced by beta-amyloid peptide, Brain Res, Sep 2, 732(1-2):16-24, 1996.
18. Lee, H.J., Yim, S.V., Kim, M.J., Kim, S.A., Kim, Y.J., Kim, C.J. & Chung, J.H. Fluoxetine enhances cell proliferation and prevents apoptosis in dentate gyrus of maternally separated rats, Mol. Psychiatry, 6:725-728, 2001.
19. Papetti A., Daglia M., & Gazzani, G. Anti- and pro-oxidant water soluble activity of Cichorium genus vegetables and effect of thermal treatment, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(16):4696-4704, 2002.
20. Guangjun Nie, Yuanlin Cao, & Baolu Zhao. Protective effects of green tea polyphenols and their major component, (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), on 6-hydroxydopamine -induced apoptosis in PC12 cells, Redox Report 7(3):171-177, 2002.
21. 金鍾佑, 黃義完. stress에 대한 한의학의 이해, 대한스트레스학회지, 1(1):119-125, 1993.
22. 陳言. 三因方(卷2), 臺北, 臺聯國風出版社, pp 6-7, 1985.
23. 최승훈. 東醫病理學, 서울, 고문사, pp 318-319, 1990.
24. 洪元植. 精校皇帝內經素問, 서울, 동양의학연구원, pp 18-20, 34, 36, 44, 46, 51, 68-69, 79, 92, 127, 131, 172, 277, 282, 288-289, 303, 1985.
25. 張介賓. 景岳全書, 서울,大成文化社, pp 413-419, 1988.
26. 許俊. 東醫寶鑑, 서울, 여강출판사, pp 73-89, 99-101, 1738-1742, 2431, 1994.
27. 조흥건. 스트레스병과 火病의 한방치료, 열린책들, pp 57-60, 1991.
29. 이봉교. 한방진단학(제1권), 서울, 상보사, pp 228-234, 1986.
30. 丁奎萬. 東醫小兒科學, 서울, 杏林出版, pp 99-104, 651, 1985.
31. Forman, M.A., Kerschbaum, W.E., & Hetznecker, J.M. Nelson textbook of Pediatrics(13th Ed), Philadelphia, WB Saunders Co, pp 35-37, 1987.
32. 失數道明. 漢方後世要方解説, 대구, 東洋綜合通信教育出版部, pp 169-176, 1983.
33. 이정수, 김덕훈, 김정혜, 노민희, 용준환. 인체생리학, 서울, 정담, pp 397-402, 2002.
34. Kurt, J. Isselbacher. 내과학, 서울, 도서출판 정담, pp 2114-2119, 1997.
35. 柳鍾鳴. 生理學, 서울, 螢雪出版社, pp 211-217, 1988.
36. 정희근, 이광배, 조경, 김광호. 최신 인체생리학, 서울, 光文閣, pp 331-332, 2002.
37. 강성중. 두뇌의 신비, 서울, 전파과학사, pp 143-151, 1999.
38. 김상균. 시간적 단서의 확실성이 흰쥐의 위궤양에 미치는 효과, 행동과학연구, 18:65-75, 1986.
39. Kashani, J.H., Barbero, G.J. & Bolander, F.D. Depression in hospitalized pediatric patients, Journal of the American Academy of Child Psychiatry, 20:123-134, 1981.
40. Harman, D. A theory based on free radical and radiation chemistry, J Gerontol, 11:298-303, 1956.