

# 加味四物湯이 고혈압에 미치는 영향

조봉현 · 김윤식 · 설인찬\*

대전대학교부속한방병원 심계내과학교실

## Effect of Gamisamool-tang(GMSMT) on Hypertension

Bong Hyun Cho, Yoon Sik Kim, In Chan Seol\*

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

This study was done to investigate the effect of Gamisamool-tang(GMSMT) on hypertension. After administering GMSMT extract to SHR for 5 weeks, changes in blood pressure, pulse rate, aldosterone and catecholamine levels in plasma were examined, and immunohistochemical changes were observed, and liver function test was done. The following results were obtained; blood pressure decreased significantly as well as levels of aldosterone, norepinephrine and epinephrine in SHR. But levels of dopamine were unaffected. No capillary vessel dilation in adrenal cortex was observed. Safety against hepatic toxicity was showed. These results support a role for GMSMT might be usefully applied in treatment of hypertension.

Key words : Gamisamool-tang(加味四物湯), Hypertension

### 서론

고혈압이란 일반적으로 수축기 동맥압이 135mmHg 이상, 이완기 동맥압이 85mmHg 이상 상승된 혈압으로서 원인에 따라 크게 본태성 고혈압과 속발성 고혈압으로 구분할 수 있다. 전 세계적으로 고혈압 환자의 약 90% 이상이 원인질환이 불명확한 본태성 고혈압에 속해 있으나 아직 그 발생기전이 완전하게 구명되지 않은 상태다<sup>1,2</sup>. 고혈압은 만성 순환기계 질환 중 발생빈도가 가장 높은 질환으로서 최근 생활수준의 향상과 함께 염분섭취의 증가나 과음, 고지방식이와 같은 식생활의 변화, 비만인구 및 고령자의 증가, 주거의 혼잡, 정신적 긴장도의 증가 등으로 그 유병율이 급격하게 늘어나는 추세다<sup>3,5</sup>. 비교적 자각 증상이 없지만 腦出血, 腦梗塞, 高血壓性腦病症과 같은 뇌혈관질환과 협심증, 심근경색과 같은 관상동맥질환, 그리고 심부전이나 급사와 같은 치명적인 합병증을 유발할 수 있기 때문에 '소리없는 살인자(silent killer)'라 불리며, 보다 적극적인 예방 및 치료가 절실히 요구된다<sup>4</sup>.

한의학에서는 고혈압이란 병명이 기록된 고서의 내용이 없으나 頭痛, 眩暈, 項強, 耳鳴, 面赤, 煩躁, 視力混濁 등의 증상으로 이루어 頭痛, 眩暈, 心火亢炎, 肝陽上亢의 범주에 속한다 볼 수 있

며, 그 원인으로 心火暴盛, 肝風內動, 血虛生風, 陰陽兩虛, 痰濕壅盛 등을 들 수 있다<sup>4,5</sup>. 근래 고혈압의 처방에 대한 실험적 연구로는 申<sup>6</sup>의 加味導赤散, 南<sup>7</sup>의 涼膈散火湯, 金<sup>8</sup>의 地黃飲子, 俞<sup>9</sup>의 加味鷄血藤湯, 林<sup>10</sup> 滲濕湯, 金<sup>11</sup>의 黃連解毒湯, 李<sup>12</sup>의 瀉心湯 등이 있으며, 최근에는 임상에서 다용되는 고혈압 처방에 대한 기전적 연구와 더불어 이를 바탕으로 새로운 치료처방을 개발하려는 노력이 이루어지고 있다. 그러나 아직까지 四物湯 계열의 처방이 혈압에 어떠한 영향을 미치는가에 관한 보고는 접하지 못하였다.

이에 저자는 대전대학교부속한방병원에서 중풍 및 고혈압의 치료에 사용되고 있는 加味四物湯을 시료로 혈압강하 효과를 밝히기 위해 加味四物湯 추출물을 자발성고혈압백서에게 일정 기간동안 경구 투여한 후, 간독성 검사를 통한 안정성을 검증한 뒤 혈압 및 심박수의 변화, 혈장내 aldosterone 및 catecholamine 함량의 변화, 혈중 calcium 농도의 변화 및 IFN-γ의 함량 등을 측정하고 각 표적 장기들에 대한 면역조직화학적 관찰 등을 시행하였던 바, 유의한 결과를 얻었기에 보고드리는 바이다.

### 실 험

#### 1. 재료

##### 1) 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 체중 180~220g의 웅성

\* 교신저자 : 설인찬, 대전시 중구 대흥동 22-5 대전대학교 부속한방병원

· E-mail : seolinch@dju.ac.kr, · Tel : 042-229-6805

· 접수 : 2005/09/27 · 수정 : 2006/01/16 · 채택 : 2006/02/01

SHR(Spontaneous Hypertensive Rat, 자발성고혈압백서)로서 실험 당일까지 고형사료(조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, calcium 0.6% 이상, 인 0.4% 이상, 삼양사 배합 사료 Co. Korea)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2℃, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300Lux로 설정하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 쥐만을 선별하여 실험에 사용하였다.

2) 약물

본 실험에 사용한 加味四物湯(GMSMT)은 대전대학교부속한방병원에서 구입하였고, 1첩의 내용과 용량은 다음과 같다.(Table 1)

Table 1. The Compositions of Gamisamool-tang(GMSMT)

韓藥名	學名	用量(g)
丹 蔘	<i>Salviae miltiorrhizae radix</i>	20.0
生 地 黃	<i>Rehmanniae glutinosa radix</i>	10.0
當 歸	<i>Angelicae gigantis radix</i>	10.0
蚯 蚓	<i>Pheretima aspergillum</i>	10.0
酒蒸獐 葜	<i>Siegesbeckia glabrescens herba</i>	8.0
沙 蔘	<i>Adenophora triphylla var. japonica</i>	6.0
麥 門 冬	<i>Liriope platyphylla tuber</i>	6.0
玄 麥	<i>Scrophularia buergeriana radix</i>	6.0
牧 丹 皮	<i>Paeonia suffruticosa cortex</i>	6.0
牛 膝南星	<i>Arisaema amurense var. serratum</i>	6.0
白 芍 藥	<i>Paeonia lactiflora radix alba</i>	6.0
鈞 鈎 藤	<i>Uncaria rhynchophylla ramulus</i>	6.0
牛 膝	<i>Achyranthes bidentata radix</i>	6.0
山 查 肉	<i>Crataegus pinnatifida var. major</i>	6.0
神 麩	<i>Massa medicata fermentata</i>	4.0
麥 芽	<i>Hordeum vulgare var. hexastichon</i>	4.0
貢 砂 仁	<i>Amomum villosum fructus</i>	4.0
沈 香	<i>Aquilaria sinensis resinatum lignum</i>	2.0
Total amount		126.0

3) 시약 및 기기

실험에 사용한 시약은 Sigma Co.(U.S.A.)에서 구입한 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, formalin, glutaraldehyde, OsO<sub>4</sub>, EDTA, HClO<sub>4</sub>, toluidine blue, hematoxylin, eosin, xylene, acid washed alumina, cresyl fast violet, paraformaldehyde, 2,3,5-triphenyl-2H-tetrazoliumchloride, dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS-A)과 중외제약(Korea)에서 구입한 ether, alcohol, Au, paraffin, normal saline, 그리고 Bayer Dental Co.(Japan)에서 구입한 serum blocking solution, biotinylated anti-mouse immunoglobulin, streptavidin conjugate, DAB-chromogen과 aldosterone RIA diagnostic kit(Abbott Co., U.S.A.), superoxide dismutase(Stressgen Co., U.S.A.), histostain plus kit(Zymed Co., U.S.A.), gamma count Cobra II(Packard Co., U.S.A) 등을 사용하였다.

기기는 Sigma Co.(U.S.A.)에서 구입한 Milli-QTM waters system, ion depositor, distiller와 rotary vaccum evaporator(Büchi 461, Swiss), deep freezer(Sanyo Co., Japan), freeze dryer(Eyela Co., Japan), serum separator(녹십자, Korea), micro slide(Surgipath Co., U.S.A.), minos-ST(Cobas Co., France), ultrasonic cleaner(Branson Ultrasonics Corp., U.S.A.),

roller mixer(Gowon scientific technology Co., Korea), vortex(Vision Co., Korea), centrifuge(Beckman Co., U.S.A.), physiograph Model 7(GRASS Instrument Co., Quincy, Mass., U.S.A.), ACL-100(Instrumentation Laboratory, U.S.A.), autoclave(Hirayama, Japan), data module(Waters Model 745, U.S.A.), HPLC(Waters Model U6K Injector, 510 pump, U.S.A.), C18 stainless steel column(Waters Model 460, U.S.A.), gel/mount(Biomedica Co., U.S.A.), camera(Nikon, Japan), optical microscope(Olympus BH-2, Japan), transmission electron microscope(Hitachi H-600, Japan), scanning electron microscope(Hitachi S-2500, Japan) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 제조

GMSMT 1첩 분량 126g을 깨끗이 씻어 3,000ml round flask 에 넣고 증류수 2,000ml와 함께 3시간 동안 가열한 후 추출한 침전물을 3차례 여과(3M filter paper)하고, 이 여과액을 rotary vaccum evaporator에서 감압 농축하였다. 농축된 용액을 -70℃ deep freezer에서 4시간 동안 방치하고, 24시간 동안 freeze dryer로 동결 건조하여 25.7g의 분말을 얻어서 실험에 필요한 농도로 생리식염수에 희석하여 사용하였다.

2) 항고혈압 효과 및 간독성에 대한 실험

(1) 혈압 및 심박수 측정

혈압강하 효과를 평가하기 위해 SHR을 대조군과 GMSMT 투여군으로 나누어 대조군(n=5)에는 생리식염수를 매일 5ml/kg 씩, GMSMT 투여군(n=5)에는 GMSMT 검액을 매일 400mg/kg의 농도로 생리식염수에 타서 각각 5주간 경구 투여하였다.

5주 동안 GMSMT를 투여한 후, 대조군과 GMSMT 투여군의 혈압과 심박수를 측정하였다. 혈압 측정은 최종 약물 투여 후 SHR을 cage에서 2시간 동안 안정시킨 다음, 꼬리를 alcohol로 잘 닦고 37.5℃의 예비 보온기에 10분 동안 넣어 두었다가 physiograph Model 7의 7P8 channel로 마취하지 않은 상태에서 각 군(n=5)의 혈압을 측정하였다. chart paper 1cm에 혈압은 50mmHg (baseline : 0)으로 보정하였다.

(2) 채혈 및 혈청, 혈장 분리

최종일까지 시료를 투여한 SHR을 ether로 마취시킨 후, 심장천자를 통해 혈액을 채취하여 일부의 혈액에서는 혈청을 얻고, 또 다른 일부의 혈액에서 혈장 1ml를 얻어 3mg/ml EDTA 용액을 0.5ml로 채운 용기에 가하여 4℃에서 3,000rpm으로 15분간 원심 분리시킨 다음, 혈장내 catecholamine과 aldosterone의 함량 측정을 위해 -80℃에서 보관하였다.

(3) 혈청성분의 측정

① 간기능 검사

GOT(Aspartate Aminotransferase)와 GPT(Alanine Aminotransferase)의 활성도는 JSCC UV method를 이용하여 생화학자동분석기로 측정하였다.

② Albumin의 정량

Albumin의 함량은 enzymatic colorimetry method를 이용하

여 생화학자동분석기로 측정하였다.

③ ALP(Alkaline phosphatase)의 정량

ALP의 함량 또한 enzymatic colorimetry method를 이용하여 생화학자동분석기로 측정하였다.

④ Calcium의 정량

Calcium의 함량도 enzymatic colorimetry method를 이용하여 생화학자동분석기로 측정하였다.

⑤ IFN- $\gamma$ 의 정량

분리한 혈청 중 약 100  $\mu$ l의 혈청을 ELISA에 사용하였다. ELISA는 IFN- $\gamma$  Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay(ELISA, Endogen, U.S.A.)법으로 실시하였고, 각 항체를 코팅 완충용액에 희석하여 microwell에 코팅한 후 4 $^{\circ}$ C에서 overnight하였다. 각 well을 3회 washing 완충용액으로 세척한 후 B 세포 배양상층액(culture supernatant)을 100 $\mu$ l씩 분주하였다. 이를 1시간 동안 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충용액으로 세척한 다음 antibody Avidin-HRP conjugated 100 $\mu$ l를 처리하고 다시 1시간 동안 실온에 방치한 후 다시 세척하였다. TMB 기질을 100 $\mu$ l씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 50 $\mu$ l의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

(4) 혈장성분의 측정

① Aldosterone의 정량

RIA법에 따라 동위원소 I-125 추적자를 이용한 시판용 aldosterone RIA diagnostic kit를 사용하였고, gamma counting은 gamma count Cobra II를 이용하여 정량하였다.

② Catecholamine의 정량

Hjendahl 변법에 따라 혈장내의 catecholamine을 4 $^{\circ}$ C에서 추출하였다. 채혈한 혈장에 0.1M의 HClO<sub>4</sub>를 가하여 단백을 제거한 후, acid washed alumina에 흡착시킨 다음 증류기로 수세하고, 0.1M의 HClO<sub>4</sub>에 다시 용출시켜 용출액 20 $\mu$ l를 HPLC(High Performance Liquid Chromatography)에 주입하여 norepinephrine, epinephrine, dopamine의 함량을 측정하였다. HPLC에서 분리된 물질들을 data module을 통해 정량하였으며, 이 때 C18 stainless steel column(5 $\mu$ , 150mm $\times$ 4.6mm; KCl reference electrode)에 가해진 전압은 +0.63V였다. 측정에 필요한 시약은 norepinephrine, epinephrine, dopamine 등으로 특급품을 사용하였으며, 증류수는 millipore(Milli-QTM waters system)를 통과시킨 초순수를 사용하였다.

(5) 면역조직화학적 관찰

조직학적 관찰 및 현미경적 관찰을 위해 실험 동물을 처사 12시간 전에 식이를 중단시키고 공복 상태에서 ether를 흡입시켜 마취시킨 다음 복부와 흉곽을 절개한 뒤 심장, 신장 그리고 부신을 적출하였다. 적출한 각 조직들은 식염수로 혈액을 세척하고 적당한 크기로 절개하여 통상의 방법에 따라 10% 중성 formalin에 48시간 동안 고정하였다. 고정된 각 장기의 조직내 고정액 제거를 위해 흐르는 물에 수세하고, 60% alcohol로 농도를 상승시키면서 탈수하였다. 탈수된 조직들은 xylene 용액으로 투명 과정을 거친 다음 용해된 paraffin에 침투 및 포매 과정을 거쳐 불력으로 제작하였다. 이 불력을 4 $\mu$ m 두께의 절편으로 잘라 micro

slide에 부착하고 탈paraffin 및 함유 과정을 거친 다음 일반적인 방법과 동일하게 인산완충액(phosphate buffered saline; PBS)으로 5분간 세척하였다.

면역 염색은 histostain plus kit를 이용하였는데, 그 과정으로 먼저 내재성 peroxidase의 활성을 억제시키기 위해 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에서 5분간 방치시킨 후 PBS로 세척하였고, 1차 항체에 대한 단백질의 결합을 억제하기 위해 혈청차단용액(serum blocking solution)에 10분간 반응시킨 후 1차 항체로 superoxide dismutase를 1:500으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 다음 다시 PBS로 세척하였다. 1차 면역반응이 끝난 다음 2차 항체로 biotinylated anti-mouse immunoglobulin에 10분간 반응시키고, PBS로 세척한 다음 streptavidin conjugate에 10분간 반응시킨 후 다시 PBS로 세척하고, DAB-chromogen에 발색시킨 다음 mayer hematoxylin에 대조염색을 하고, gel/mount에 봉입하여 광학현미경(optical microscope)으로 검경하였다.

3) 통계 처리

각 실험군 결과값은 unpaired student's T-test(Scheffler, 1980) 및 SPSS/PC 통계프로그램을 사용하여 통계 처리하였으며, P<0.05, P<0.01 및 P<0.001 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

결 과

1. 혈압 및 심박수의 변화(Table 2)

1) 혈압에 미치는 영향

SHR의 혈압 측정 결과, 대조군은 178.2 $\pm$ 5.4mmHg인데 비하여 GMSMT 투여군은 150.4 $\pm$ 4.2mmHg으로 나타나 유의성 있는 강압 효과를 보였다.

2) 심박수에 미치는 영향

SHR의 심박수 측정 결과, 대조군은 400.0 $\pm$ 30.6회/분, GMSMT 투여군은 380.5 $\pm$ 2.5회/분으로 나타났다.

Table 2. The Effect of GMSMT on Blood Pressure & Pulse Rate

	Control	GMSMT
BP(mmHg)	178.2 $\pm$ 5.4	150.4 $\pm$ 4.2*
Pulse Rate(times/min)	400.0 $\pm$ 30.6	380.5 $\pm$ 2.5

Control : Normal saline(5ml/kg/rat) treated group, GMSMT : GMSMT(400mg/kg/rat) treated group. Statistically significant value compared with control data by T-test.( \* : P<0.05 )

2. 혈장 성분의 변화(Table 3)

1) Aldosterone의 농도 변화에 미치는 영향

혈장 성분 분석 결과, aldosterone의 농도는 대조군 29.6 $\pm$ 2.6pg/ml, GMSMT 투여군 19.4 $\pm$ 1.6pg/ml로 나타나 대조군에 비해 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

2) Catecholamine의 함량 변화에 미치는 영향

(1) Dopamine의 농도 변화

Catecholamine 중 dopamine의 농도는 대조군 115.4 $\pm$ 4.8pg/ml, GMSMT 투여군 132.8 $\pm$ 18.2pg/ml로 나타나 유의성 있는 변화는 보이지 않았다.

(2) Norepinephrine의 농도 변화

Catecholamine 중 norepinephrine의 농도는 대조군

596.4±27.5pg/ml, GMSMT 투여군 405.2±11.5pg/ml로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

(3) Epinephrine의 농도 변화

Catecholamine 중 epinephrine의 농도는 대조군의 경우 5060.4±670.2pg/ml, GMSMT 투여군의 경우 635.5±120.9pg/ml로 나타나 대조군에 비해 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

Table 3. The Effect of GMSMT on the Plasma Levels of Aldosterone & Catecholamine in SHR

	Control	GMSMT
Plasma Aldosterone Levels(pg/ml)	29.6±2.6	19.4±1.6*
Plasma Dopamine Levels(pg/ml)	115.4±4.8	132.8±18.2
Plasma Norepinephrine Levels(pg/ml)	596.4±27.5	405.2±11.5***
Plasma Epinephrine Levels(pg/ml)	5019±121.6	635.5±120.9***

Control : Normal saline(5ml/kg/rat) treated group. GMSMT : GMSMT(400mg/kg/rat) treated group. Statistically significant value compared with control data by T-test.( \* : P<0.05, \*\*\* : P<0.001 )

3. 혈중 calcium 수치 변화에 미치는 영향

SHR의 혈중 calcium량 측정 결과, 정상군은 9.7±0.2mg/dl, 대조군은 9.1±0.04mg/dl인데 비하여 GMSMT 투여군은 9.3±0.05mg/dl로 나타나 대조군보다 유의성 있는 증가 효과를 보였다.(Table 4)

Table 4. The Effects of GMSMT Extract on the Calcium & IFN-γ Level in SHR

	Normal	Control	GMSMT
Calcium(mg/dl)	9.7±0.2	9.1±0.04	9.3±0.05*
IFN-γ(mg/dl)	11.4±2.0	240±21.8	173.7±13.9*

4. 혈중 IFN-γ의 함유량 변화에 미치는 영향

SHR의 혈중 IFN-γ 함유량 측정 결과, 정상군은 11.4±2.0mg/dl, 대조군은 240±21.8mg/dl인데 비하여 GMSMT 투여군은 173.7±13.9mg/dl로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 보였다.(Table 4)

5. 면역조직화학적 소견

1) 副腎

SHR의 副腎은 신장의 상단에 위치하며 2×2mm 정도의 크기로 주변에는 많은 體脂肪으로 둘러 싸여있다. 副腎의 단면은 皮質과 髓質로 구분되며, 발생학적으로도 皮質은 중배엽성이며 수질은 외배엽성으로 발생 기원이 서로 다르다. Aldosterone은 부신내 皮質의 토리층에서 분비되는데, 이 토리층 세포들은 皮質 바로 아래쪽에 위치하며, 작은 원주형 세포들이 다발을 형성하고 있고, 세포의 핵은 진하고 둥글며, 세포질은 호산성으로 진하게 염색되어 있어 다발층과 분명히 경계를 이루고 있다. 대조군의 토리층에서는 皮膜 바로 아래 위치하는 세포들이 무리를 이루고 있었고 사이사이에 확장된 모세혈관들이 관찰되었다. 전해질 corticoid를 분비하는 세포들의 수가 정상 쥐와 비교하여 상대적으로 적게 관찰되었다. GMSMT 투여군에서는 토리층을 이루는 세포들의 배열 형태가 대조군과 유사하였으나, 대조군에 비해 세포의 수적 배열이 다소 뚜렷하였으며, 세포들 사이사이에 모세혈

관의 뚜렷한 확장은 관찰되지 않아 정상 쥐에서의 유사한 조직 구조를 하고 있었다.(Fig. 1)

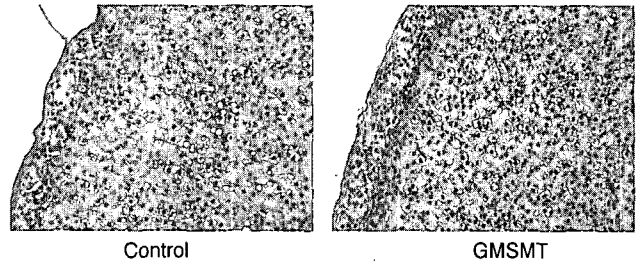


Fig. 1. Light Micrographs from the Adrenal Gland of SHR after Staining with the Immunohistochemistry for SOD. Control group and GMSMT treated group. ×400.

2) 心臓

SHR의 대조군에서 관찰된 心筋의 조직학적 구조는 근육섬유의 주행 방향이 부위에 따라 아주 다양하게 배열되어 있었고, 사이사이에 크고 작은 모세혈관이 위치하고 있었다. 근육 섬유내에서 핵이 근육섬유의 중심부위에 위치하고 있었고, 근육 섬유에서는 불규칙한 계단모양의 사이원반(intercalated disc)이 관찰되고 일부에서는 過收縮帶(hypercontraction band)가 자주 관찰되었다. GMSMT 투여군에서는 근육섬유의 배열정도, 세포핵, 모세혈관의 수와 위치, 사이원반 등이 대조군과 유사하여 조직학적 차이점은 관찰 할 수 없었으나, 대조군의 心筋 섬유에서 자주 관찰되는 過收縮帶의 출현은 상대적으로 감소하였다.(Fig. 2)

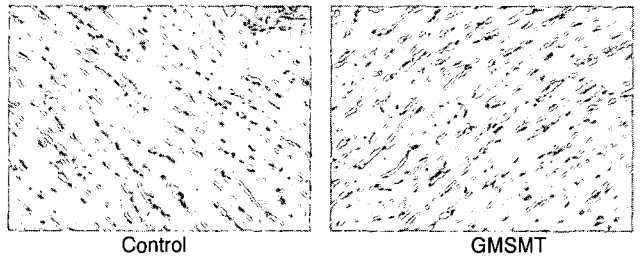


Fig. 2. Light Micrographs from the Cardiac Muscle of SHR after Staining with the Immunohistochemistry for SOD. Control group and GMSMT treated group. ×400.

3) 腎臟

대조군의 腎臟 皮질 부위에서 관찰되는 조직학적 소견으로는 腎小體(renal corpuscle)들 사이에 近衛細尿管과 遠位細尿管 및 동맥과 정맥들이 잘 관찰되었다.

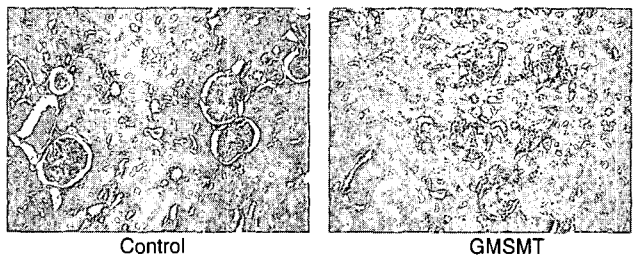


Fig. 3. Light Micrographs from the Kidney of SHR after Staining with the Immunohistochemistry for SOD. Control group and GMSMT treated group. ×400.

近衛細尿管은 세포질이 遠位細尿管에 비해 좀 더 붉게 염색되고, 內腔의 빈공간은 거의 없고 경계도 분명하지 않고, 단면에 보이는 핵의 수도 많지 않았다. 반면, 遠位細尿管은 內腔의 빈공간의 지름이 좀 더 크고, 가장자리도 경계가 분명하며, 세포들은 좀더 작고, 세포핵의 수도 좀더 많이 관찰되었다. GMSMT 투여군에서는 腎皮質의 조직학적 차이점은 거의 구별 할 수 없었고, 정상 구조와 유사한 腎小體, 近衛 및 遠位細尿管의 조직학적 소견을 보였다.(Fig. 3)

6. 간독성 지표인자에 미치는 영향(Table 5)

1) 혈청 albumin 수치에 미치는 영향

SHR의 혈청 albumin 측정 결과, 정상군은 3.85±0.05g/dl, 대조군은 3.87±0.07g/dl인데 비하여 GMSMT 투여군은 3.93±0.03g/dl로 나타나 정상군보다 높은 수치를 나타내었다.

2) 혈청 ALP(Alkaline phosphatase) 수치에 미치는 영향

SHR의 혈청 ALP 측정 결과, 정상군은 251±26.0U/L인데 비하여 대조군은 353.25±14.0U/L, GMSMT 투여군은 353.6±26.4U/L로 나타나 유의성은 없었다.

3) 혈청 GOT(Aspartate Aminotransferase) 수치에 미치는 영향

SHR의 혈청 GOT 측정 결과, 정상군은 137.5±27.5U/L, 대조군은 309.0±56.17U/L인데 비하여 GMSMT 투여군은 285.0±66.0U/L로 나타나 대조군보다 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

4) 혈청 GPT(Alanine Aminotransferase) 수치에 미치는 영향

SHR의 혈청 GPT 측정 결과, 정상군은 41.0±0.22U/L, 대조군은 59.7±3.68 U/L인데 비하여 GMSMT 투여군은 57.3±3.17U/L로 나타나 대조군보다 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

Table 5. The Effects of GMSMT Extract on the Albumin, ALP, GOT & GPT Level in SHR

	Normal	Control	GMSMT
Albumin(g/dl)	3.85±0.05	3.87±0.07	3.93±0.03*
ALP(U/L)	251±26.0	353.25±14.0	353.6±26.4
GOT(U/L)	137.5±27.5	309.0±56.17	285.0±66.0*
GPT(U/L)	41.0±0.22	59.7±3.68	57.3±3.17*

Normal : No treated group. Normal rat, not SHR. Control : Normal saline(5ml/kg/rat) treated group. GMSMT : GMSMT(400mg/kg/rat) treated group. Statistically significant value compared with control data by T-test( \* : P(0.05) )

고찰

고혈압이란 미국립보건원산하 '國立 心臟·肺·血液研究所'에서 분류한 기준(JNC 7; JAMA 2003)에 따르면 수축기 동맥압이 135mmHg 이상, 이완기 동맥압이 85mmHg 이상 상승된 상태로, 자각 증상은 비교적 뚜렷하지 않으나 주로 頭痛, 眩暈, 項強, 耳鳴, 疲勞, 面赤, 煩躁, 視力混濁 등을 동반하기도 하며, 그 발생기전이 완전하게 구명되지 않는 본태성 고혈압과 신실질 질환, 신장혈관 질환, 내분비 이상 등으로 인해 이차적으로 발생하는 속발성 고혈압으로 크게 구분할 수 있다.<sup>24,13)</sup>

고혈압은 현대 성인병 중에서 가장 기본이 되는 원인 질환으로서, 우리나라의 주요사망원인인 뇌졸중, 심근경색 등과 밀접한 관계가 있으며, 최근 생활수준의 향상과 주변 환경의 변화 등

으로 인해 동맥경화, 고지혈증, 당뇨병, 비만 등의 성인병 질환과 더불어 증가 추세에 있다<sup>14)</sup>.

고혈압을 유발하는 위험 인자로 염분, 유전, 연령, 비만, 혈청지질, 흡연, stress, alcohol 등을 들 수 있으며, 그 기전으로는 renin-angiotensin계의 활성화에 의한 혈관수축과 이에 따른 aldosterone 분비에 의한 혈장량 증가, 교감신경 활성화 증가에 의한 심박동수 및 심박출량 증가, 세포내 Na<sup>+</sup> 및 Ca<sup>2+</sup> 증가로 인한 末梢血管平滑筋의 緊張度 증가 등에 의해 상승하는 것으로 밝혀져 있다<sup>15-16)</sup>. 특히 腦와 副腎髓質에서 분비되는 dopamine, epinephrine, norepinephrine과 같은 catecholamine은 交感神經의 adrenergic β-수용체와 함께 심박출량을 증가시키고 긴장성 혈관수축을 유발하여 혈압을 상승시키는 것으로 보고되고 있다<sup>17)</sup>. Catecholamine은 생리활성을 갖는 다양한 amine의 총칭으로서 그 효과가 수초 내에 나타나는데, dopamine, norepinephrine, epinephrine 등이 바로 catecholamine에 속하는 중요 호르몬이다. 이들은 주로 심박관계에 작용하여 혈관수축을 촉진하고, 대사속도를 증진시키며, 체액량과 전해질의 조절 및 내장기에 대해 직접적인 영향을 미치고, renin의 분비에 간접적으로 관여하기도 한다<sup>16)</sup>.

또한 혈압을 조절하는 중요한 기전으로 소위 renin-angiotensin-aldosterone계라는 腎性 hormone에 의한 혈압調節 體系를 들 수 있는데, 이 기전에서 생성된 aldosterone의 분비가 細動脈 內壓이 떨어지면 증가하고, 반대로 細動脈 內壓이 올라가면 감소하면서 혈압이 조절된다<sup>18)</sup>. aldosterone은 신장질환의 병변으로 유발된 2차성 고혈압의 중요한 지표로서 뇌하수체 전엽에서 분비되는 부신피질자극 hormone(adreno cortico tropic hormone; ACTH)에 의해서도 분비가 촉진되어 腎藏의 원위세뇨관과 집합관에 작용하므로써 Na<sup>+</sup>의 재흡수를 증가시키고, K<sup>+</sup>의 배설을 촉진시켜 혈액량의 증가와 함께 혈압을 상승시킨다<sup>3,18)</sup>.

또 최근 혈중 Ca<sup>2+</sup> 농도와 혈압이 밀접한 연관이 있는 것으로 보고되고 있는데, 일부 연구에 따르면 혈청 Ca<sup>2+</sup> 수치가 증가하면 혈압이 상승한다는 보고가 있지만, 일반적으로 calcium의 다량 섭취가 혈압을 하강시키는 효과가 있는 것으로 보고되고 있다<sup>3,19)</sup>. 그리고 혈중 Ca<sup>2+</sup>이 혈관내피세포의 채널을 통해 세포 내로 유입이 되면 혈관내피의 평활근을 수축시켜 혈압이 상승되지만, 이로 인한 혈압의 상승을 억제하기 위해 항고혈압 약물로 Ca<sup>2+</sup> 차단제를 사용하여 Ca<sup>2+</sup>의 세포내 유입을 억제하면 혈중 Ca<sup>2+</sup> 수치는 증가하지만 혈압은 하강하는 것으로 알려져 있다<sup>3,13)</sup>. 그러므로 혈중 Ca<sup>2+</sup>의 농도가 상승했다는 것은 Ca<sup>2+</sup>의 세포내 유입이 차단되어 혈압의 상승이 억제되었다는 사실을 반증하는 중요한 근거를 제시하는 것으로 사료된다.

한의학에서는 고혈압이란 명칭이 없으나 이에 준하는 증후로 頭痛, 眩暈, 心火亢炎, 血虛生風 肝風內動 등을 들 수 있으며, 특히 중풍의 원인은 고혈압과 밀접한 관계가 있다<sup>4)</sup>.

중풍의 범주 안에서 고혈압의 원인을 문헌적으로 고찰해보면, 《內經》의 <至眞要大論><sup>20)</sup>에 '諸暴強直 皆屬於肝', '諸風掉眩 皆屬於肝'이라 하여 肝風을 주요 원인으로 보았고, 이후 孫<sup>21)</sup>, 王<sup>22)</sup>, 張<sup>23)</sup>, 巢<sup>24)</sup>는 體虛한데 狹風하여 발생된다고 주장하였다. 金元時代의 劉<sup>25)</sup>는 五志過極하면 心火暴盛하고 腎水虛衰하

여 心火를 抑制하지 못하면 陰虛陽實하게 된다고 하여 主火說을 主張하였고, 李<sup>26)</sup>는 憂喜忿怒로 傷氣하거나 形盛氣衰하면 發病한다 하였으며, 朱<sup>27)</sup>는 濕生痰 痰生熱 熱生風이라 하여 濕痰이 元인임을 밝혔다. 결국 고혈압의 원인은 風, 火, 痰, 虛으로 大別된다고 볼 수 있다. 특히 腎의 眞陰이 부족하게 되면 眞陽이 虛衰하게 되고 水升火降의 不調로 인하여 虛火逆上, 血虛生風하게 되므로 결국 火란 心肝腎의 陰陽失調로 야기된다고 볼 수 있다<sup>4,28)</sup>.

이상으로 미루어 보아 고혈압의 발생원인은 風, 火, 痰 및 血虛로 요약할 수 있으며, 그 治法으로 調氣, 疎風, 祛痰, 清熱瀉火 및 補陰, 養血 등을 기본원칙으로 하고 있음을 알 수 있다.

加味四物湯은 丹蔘, 生地黃, 當歸, 虻蛭, 酒蒸稀莖, 沙蔘, 麥門冬, 玄蔘, 牡丹皮, 牛膽南星, 白芍藥, 釣鈎藤, 牛膝, 山查肉, 神麩, 麥芽, 貢砂仁, 沈香으로 구성된 처방으로서 養血, 祛風除濕, 活血行氣, 平肝潛陽 등의 효능이 있어 임상적으로 고혈압과 증풍 등의 질환에 활용되고 있다. 生地黃, 當歸, 麥門冬, 玄蔘, 沙蔘, 白芍藥은 養血하는 효능이 있고, 丹蔘, 牡丹皮, 虻蛭, 牛膝, 沈香, 貢砂仁은 活血行氣祛痰하는 효능이 있으며, 牛膽南星은 祛痰하는 效能이 있고, 酒蒸稀莖, 釣鈎藤은 平肝潛陽하는 역할을 하고, 神麩, 麥芽, 山查肉은 健脾消導시키는 효능을 가지고 있어 본 고혈압 연구의 시료로 선택하였다.

최근 임상에서 사용되는 고혈압 처방에 대한 기전적 연구와 더불어 이를 바탕으로 새로운 치료처방을 개발하려는 노력이 이루어지고 있으나, 加味四物湯에 대한 실험적 연구는 전무한 실정이다. 이에 저자는 加味四物湯의 항고혈압 효과를 밝히고자 자발성고혈압백서를 대조군과 加味四物湯 투여군(GMSMT)으로 나누어 생리식염수와 加味四物湯 추출물을 각각 5주 동안 경구 투여한 후 간독성에 대한 안정성을 검증한 뒤 혈압 및 심박수의 변화, 혈장내 aldosterone 및 dopamine, norepinephrine, epinephrine 함량의 변화, 혈청내 calcium 함량의 변화 등을 측정하고 각 표본 장기들에 대한 면역조직화학적 관찰 및 주사전자현미경적 관찰 등을 시행하였다.

먼저 대조군과 GMSMT 투여군의 혈압 및 심박수를 측정하였는데, 혈압은 대조군이 178.2±5.4mmHg인데 비하여 GMSMT 투여군은 150.4±4.2mmHg으로 나타나 유의성 있는 강압 효과를 보였으나, 심박수 측정 결과 대조군은 400.0±30.6회/분, GMSMT 투여군은 380.5±2.5회/분으로 나타났다. 이처럼 加味四物湯 투여군이 심박수도 감소시키고, 혈압의 하강에도 유의한 효과를 나타내는 것으로 미루어 보아 加味四物湯이 부분적으로 혈압 조절 기전에 영향을 미칠 것으로 기대하였다.

Renin-angiotensin-aldosterone계에 의한 혈압상승에 對한 抑制力을 알아보기 위해 혈장내 aldosterone의 수치를 비교 분석하였고, 심맥관계에 작용하는 부신수질 hormone의 분비 및 혈압상승에 대한 억제력을 알아보기 위해 혈장내 catecholamine 중 dopamine, norepinephrine, epinephrine의 함량을 측정하였다. 혈장 성분 분석 결과, aldosterone의 농도는 대조군이 29.6±2.6pg/ml인데 비하여 GMSMT 투여군은 19.4±1.6pg/ml로 나타나 GMSMT 투여군에서 유의성 있는 감소를 보였고, catecholamine 중 norepinephrine의 농도는 대조군 596.4±27.5pg/ml, GMSMT 투여

군 405.2±11.5pg/ml로 나타나 역시 대조군에 비해 GMSMT 투여군에서 유의성 있는 감소를 보였으며, epinephrine의 농도 또한 대조군의 경우 5060.4±670.2pg/ml인데 비하여 GMSMT 투여군은 635.5±120.9pg/ml로 나타나 유의성 있는 감소를 보였다. 그러나 catecholamine 중 dopamine의 농도는 대조군 115.4±4.8pg/ml, GMSMT 투여군 132.8±18.2pg/ml로 대조군에 비하여 GMSMT 투여군에서 오히려 증가한 것으로 나타났다. 이처럼 加味四物湯 투여군에서 aldosterone 및 norepinephrine, epinephrine의 함량이 대조군에 비해 유의성 있게 감소된 것으로 미루어 보아 加味四物湯이 renin-angiotensin-aldosterone계에 의한 혈압조절에서 체액량 증가에 의한 혈압상승을 억제하고, 또한 교감신경계를 안정시키면서 심근에 존재하는 β1-수용체의 흥분을 억제하여 심근수축과 심박출량을 감소시키며, 혈관의 α-수용체에 대한 흥분 또한 억제하여 혈관수축을 감소시킴으로써 혈압강하 효과를 나타내는 것으로 사료된다<sup>18)</sup>.

또 혈관내피 세포내로 유입이 억제된 혈중 calcium의 량을 측정하여 보았는데, 정상군은 9.7±0.2mg/dl, 대조군은 9.1±0.04mg/dl인데 비하여 GMSMT 투여군은 9.3±0.05mg/dl로 나타나 대조군보다 유의성 있는 증가 효과를 보여 加味四物湯 투여군에서 혈압이 잘 조절되고 있다는 것을 반증하는 것으로 사료된다.

마지막으로 혈관내피세포를 활성화시켜 혈관 수축력을 향상 시킴으로써 혈압을 상승시키는 물질로 알려진 혈중 IFN-γ의 함량을 측정한 결과, 정상군은 11.4±2.0mg/dl, 대조군은 240±21.8mg/dl인데 비하여 GMSMT 투여군은 173.7±13.9mg/dl로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 보인 것으로 나타났다.

이를 종합하여 보면 加味四物湯은 여러 가지 기전을 통해 결국 혈압을 하강시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

加味四物湯 투여 후의 조직학적 변화를 관찰하기 위해 대조군과 GMSMT 투여군의 부신피질, 심장근육, 신장조직을 선택하여 각각 광학현미경으로 관찰을 한 결과, 부신피질의 경우 대조군과 GMSMT 투여군의 전반적인 형태는 서로 유사하였으나 대조군의 토리층에서는 확장된 모세혈관들이 많이 관찰된 반면, GMSMT 투여군에서는 모세혈관의 확장을 볼 수 없었고, 정상 쥐와 유사하였다. 그리고 심장과 신장에서 관찰된 조직검사상 대조군과 GMSMT 투여군 사이에 뚜렷할만한 차이가 관찰되지 않았다. 즉 대조군의 부신피질에서 모세혈관의 확장이 일어난 반면 GMSMT 투여군에서는 모세혈관의 확장을 관찰할 수 없었다는 것은, 加味四物湯이 혈압을 상승시키는 hormone인 aldosterone의 분비를 억제했다는 것을 시사하는 소견이라 사료된다.

마지막으로 GMSMT가 간에 미치는 손상 정도를 알아보기 위해 정상군, 대조군, GMSMT 투여군의 혈청 albumin 및 ALP, GOT, GPT 수치를 측정한 결과, GMSMT 투여군의 albumin 보존 효과가 높게 나타나고, GOT, GPT 수치가 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 보임에 따라 加味四物湯이 간독성을 유발하지는 않는 것으로 사료된다.

이상의 실험 결과 加味四物湯은 aldosterone 및 norepinephrine, epinephrine, IFN-γ의 함량을 유의성 있게 감소시키고, 세포내 Ca<sup>2+</sup>의 유입을 억제함으로써 표면적인 혈압 강하에도 효과를 나

타내는 것으로 생각되며, 조직학적 검사상 혈압과 관련이 있는 부신피질 hormone의 분비를 억제하는 것으로 파악되었다. 또 加味四物湯이 간독성에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 밝혀졌다. 따라서 加味四物湯이 고혈압의 치료에 활용 가치가 높을 것으로 생각되며, 향후 이에 대한 지속적인 보충 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 결 론

혈압 및 심박수의 변화, 혈장내 aldosterone 및 catecholamine 함량의 변화 등을 측정하고 각 표적 장기들에 대한 조직학적 관찰을 시행하여 加味四物湯의 항고혈압 효과를 살펴본 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

加味四物湯은 자발성고혈압백서에서 유의성 있는 혈압 강하 효과를 나타냈다. 가미사물탕은 부신피질 hormone 중 aldosterone의 함량을 유의성 있게 감소시켰다. 加味四物湯은 catecholamine 중 norepinephrine과 epinephrine의 함량을 유의성 있게 감소시켰다. 加味四物湯은 catecholamine 중 dopamine의 함량 감소에 유의성 있는 영향을 주지 못했다. 加味四物湯은 혈중 Ca<sup>2+</sup>의 농도를 유의성 있게 증가시켰다. 加味四物湯은 혈중 IFN- $\gamma$ 의 농도를 유의성 있게 감소시켰다. 加味四物湯은 조직학적 검사상 대조군에 비해 부신피질에서의 모세혈관 확장을 억제하는 효과를 보였다. 加味四物湯은 자발성고혈압백서의 간독성을 검증하는 실험에서 유의성 있는 안전성을 나타냈다.

이상의 결과들로 미루어 보아 加味四物湯은 고혈압의 치료에 우수한 활용 가치가 있을 것으로 생각되나, 그 작용 기전에 대해 보다 더 많은 보충 연구가 지속적으 필요하리라 사료된다.

## 참고문헌

1. 新谷太. Pathophysiology로 이해하는 내과학. 서울, 정담, Part 9, pp 85-86, 112-118, 124-127, 2002.
2. National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee : The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure, JAMA; URL:http://jama.ama-assn.org/cgi/content/full/289.19. 2560v1, 2003.
3. 대한내과학회 해리슨내과학 편집위원회 편. 해리슨내과학 제 1권. 서울, 도서출판 MIP, pp 1456-1461, 2003.
4. 全國韓醫科大學心系內科學教室 편. 心系內科學. 서울, 書苑堂, pp 189-201, 1999.
5. 屈松柏 외. 實用中醫心血管病學. 北京, 科學技術文獻出版社, pp 347-354, 1993.
6. 申皇秀. 加味導赤散이 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2004.
7. 南昌圭. 涼膈散火湯이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響. 大田大學校 大學院 韓醫學科碩博論考, 2:226-228, 1999.
8. 金鍾仁. 地黃飲子가 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2001.
9. 兪炳嶺. 加味鷄血藤湯이 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2004.
10. 林俊植. 滲濕湯이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響. 大田大學校 大學院 韓醫學科碩博論考 2, 337-339, 1999.
11. 金恩善. 黃連解毒湯과 溫清飲이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌 20(1):185-196, 1999.
12. 이기상 외. 瀉心湯이 白鼠의 血壓 및 局所 腦血流量에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌 21(3):417-424, 2000.
13. 大韓病理學會. 病理學. 서울, 고문사, pp 112-116, 118-122, 1995.
14. 김기훈, 문재우. 公衆保健學. 서울, 정문각, pp 373-347, 1999.
15. 全國醫科大學臨床教授 편. 臨床醫學. 서울, 한우리, pp 255-256, 1999.
16. 해리슨번역편찬위원회 역. Harrison 내과학. 서울, 정담, pp 341-346, 451-453, 1145-1165, 1944-1958, 2409-2435, 1997.
17. 김종규. 生理學. 서울, 정문각, p 46, 300, 301, 1998.
18. 趙顯慶. 導痰湯이 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2001.
19. 이정원. 식이 칼슘 섭취수준이 고혈압 가족력이 있는 청년기 여성의 혈압 및 칼슘대사에 미치는 영향. 한국영양학회지 26(6):728-742, 1993.
20. 楊維傑. 黃帝內經素問靈樞譯解. 서울, 成輔社, 素問 p 662, 靈樞 p 262, 390, 1980.
21. 孫思邈. 備急千金要方. 臺北, 中國醫藥研究所, p 153, 167, 1965.
22. 王燾. 外臺秘要. 서울, 成輔社, pp 361-362, 1975.
23. 張機. 仲景全書. 서울, 裕昌德書店, p 141, 149, 195, 198, 1961.
24. 巢元方. 諸病源候論. 臺北, 文光圖書有限公司, p 1, 53-61, 1969.
25. 劉完素. 素問玄機原病式. 北京, 人民衛生出版社, pp 29-33, 1983.
26. 李東垣. 蘭室秘藏(東垣十書). 上海, 工海鴻文書局, pp 2-10, 1914.
27. 朱震亨. 丹溪心法. 臺北, 五洲出版社, pp 65-105, 1969.
28. 薛仁燦. 清暈化痰湯이 家兔의 血壓降下에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 1991.