

원저

흰쥐의 중대뇌동맥 결찰로 유발된 뇌허혈에서 凉膈散火湯이 신경세포에 미치는 효과

신길조, 오경환, 정승현, 이원철

동국대학교 한의과대학 내과학교실

The Effects of *Yanggyuksanhwa*-tang Extracts on Cerebral Ischemia Following the MCA Occlusion in Rats.

Gil-cho Shin, Kyung-hwan Oh, Sung-hyun Jeong, and Won-chul Lee

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University, Korea

Objectives: *Yanggyuksanhwa*-tang is a prescription used for cerebral infarction clinically.

Methods: According to previous research data, the effect of *Yanggyuksanhwa*-tang on cerebral infarction, we induced cerebral infarction by middle cerebral artery occlusion(MCAO) in rats, and the rats were administered *Yanggyuksanhwa*-tang.

Results: Infarct area, infarct volume were measured, and the level of elements such as c-Fos, Bax and caspase-3 in penumbra of infarct were expressed by immunohistochemical staining.

Conclusion: *Yanggyuksanhwa*-tang showed neuroprotective effect through preventing neuronal cell apoptosis.

Key Words: *Yanggyuksanhwa*-tang, MCAO, Infarct volume, Neuroprotective effect

서론

뇌졸중은 뇌혈관 질환의 일종으로 허혈성 뇌경색이 약 80%를 차지한다. 뇌졸중 발생시, 사망에 이르지 않더라도 뇌조직은 재생되지 않으므로 출혈이나 경색이 있었던 부위에는 섬유 교증 반응을 남기며, 편마비, 언어장애, 인지장애 등 많은 후유증을 남기게 된다¹. 이에 뇌경색을 예방하기 위한 대책으로 죽상혈전증의 방지와 향후 죽종형성 (atherogenesis)의 최소화, 혈압이나 angiotensin II 생성 등의 위험인자의 조

절 등이 연구되고 있다^{16,18}.

凉膈散火湯은 清熱涼血, 瀉火解毒, 除煩解鬱, 祛風解表, 勝濕解痙하는 효능^{2,3,10}으로 뇌졸중의 치료에 빈번하게 사용되는 처방이다^{9,11}. 실험연구에 의하면 凉膈散火湯은 지주막하 출혈 후 혈관내피세포의 손상과 혈관내막의 비후를 회복시키는 등 제반 병리적 변화를 복구시키고, 뇌허혈 손상을 일으키는 유전자 물질을 감소시킨다고 하였다^{8,12,13}.

이에 본 연구에서는 뇌경색에 대한 凉膈散火湯의 효능을 관찰하고자 하였다. 실험동물에 중대뇌동맥을 일시적으로 폐쇄시켜 뇌경색을 유발한 다음²⁴, 뇌경색의 크기와 신경세포 자연사 관련인자들의 발현 정도를 비교하였으며, 凉膈散火湯을 투여한 다음 뇌경색의 크기와 동일 인자들을 면역조직화학염색을 통하여 관찰하

교신저자 : 신길조

주소 : 경기도 성남시 분당구 87-2 동국대학교 분당한방병원 1내과

전화 : 031-710-3710

E-mail : shingcho@naver.com

이 논문은 2006학년도 동국대학교 논문게재장려금 지원으로 이루어졌음.

였다. 그 결과 뇌경색에 대한 涼膈散火湯의 효능에 관하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

방법

1. 동물

실험동물은 바이오지노믹스(주)에서 구입한 8주령, 약 250g 전후의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 흰쥐는 온도 (21~23℃), 습도 (40~60%), 조명 (12시간 명/암)이 자동적으로 유지되는 사육실에서 무균음수와 사료가 자유롭게 공급되었으며, 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

2. 약물의 조제 및 투여

본 실험에 사용한 약물은 涼膈散火湯(*Yanggyuksan-hwa-tang*, YGT)으로 처방의 내용은 아래 (Table 1)와 같다^{2,14)}. 약물의 조제는 일반적인 물추출 엑기스 제조 방법에 의하여, 10첩 분량 480g을 3,000mℓ의 물과 함께 냉각기가 장착된 전탕기에서 2시간동안 전탕한 다음 여과하고 증류농축장치(rotary evaporator)로 감압농축 후 동결건조하여 1첩 분량 당 17.3g의 물추출액을 얻었다. 실험동물의 1회 투여량은 흰쥐 체중 100g 당 체중비례 계산량의 10배인 57.6mg으로 하였다. 약물투여는 뇌경색 유발 3시간 전 1회 및 뇌경색 유발 후 1일 1회 5일간 경구투여 하였다.

3. 실험군의 구분

뇌경색에 대한 涼膈散火湯의 효능을 관찰하기 위하여 실험군을 다음과 같이 구분하였다. 뇌경색을 유발하기 위한 전치치 과정은 시행하였으나, 중대뇌동맥을 폐쇄(middle cerebral artery occlusion, MCAO) 시키지 않은 정상대조군(Sham), 흰쥐에 일시적으로 중대뇌동맥을 폐쇄시켜 뇌경색을 유발시킨 군(Control) 및 이에 대한 涼膈散火湯 투여군(Sample)으로 각각 나누었다. 각 군 당 실험동물은 12마리씩 배정하였으며, 그 중 6마리는 뇌경색 면적 측정용으로, 나머지 6마리는 면역염색화학염색용으로 사용하였다.

4. 뇌경색 유발

뇌경색은 총경동맥으로 나일론 수술실을 삽입하여 중대뇌동맥의 기시부를 폐쇄하는 방법을 사용하였다²⁵⁾. 전정부의 피부를 절개하고 총경동맥과 외경동맥 및 내경동맥의 분지 부위를 찾아 주위조직을 정리하고, 외경동맥에 나일론 수술실을 삽입할 수 있도록 입구를 만들고 절단하였다. 이후 총경동맥의 혈류를 일시적으로 차단한 상태에서, 약 4cm 길이의 나일론 수술실(4-0 monofilament, Ethicon, Edinburgh, Scotland)을 내경동맥을 통하여 약 20mm까지 천천히 삽입하여 중대뇌동맥의 기시부가 폐쇄되도록 하였다. 삽입된 나일론 수술실은 혈관과 함께 고정하고, 한쪽 끝은 피부 봉합부위 외부로 약간 노출되도록 한 상태로 전정부의 피부를 봉합하고 마취에서 깨어나게 하였다. 혈

Table 1. Contents of *Yanggyuksan-hwa-tang*

Species	Part used	Latin name	Weight(g)
<i>Rehmannia glutinosa</i> L _{BOSCH.}	Fresh roots	<i>Rehmanniae Radix Preparat</i> (生地黃)	8.0
<i>Lonicerae japonica</i> T _{HUNB.}	Lignum	<i>Lonicerae Caulis</i> (忍冬藤)	8.0
<i>Forsythia koreana</i> K _{AKAI.}	Fruits	<i>Forsythiae Fructus</i> (連翹)	8.0
<i>Gardenia jasminoides</i> E _{LLIS.}	Furits	<i>Gardeniae Fructus</i> (山梔子)	4.0
<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperasces</i> M _{AK}	Leaves	<i>Menthae Herba</i> (薄荷)	4.0
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> B _{GE.}	Rhizomes	<i>Anemarrhenae Rhizoma</i> (知母)	4.0
Gypsum	CaSO ₄ · 2H ₂ O	<i>Gypsum Fibrosum</i> (石膏)	4.0
<i>Ledebouriella divaricata</i> (T _{URCZ})U _{KEI.}	Roots	<i>Ledebouriellae Radix</i> (防風)	4.0
<i>Schizonepeta tenuifolia</i> var. <i>japonica</i> K _{ITAG.}	Leaves	<i>Schizonepetae Herba</i> (荊芥)	4.0

류의 재개통을 위하여, 폐쇄 2시간 후에 다시 마취한 상태에서 피부 봉합부위 밖으로 노출된 나일론 수술실을 조심스럽게 당겨내어 혈류를 재개통시키고 곧바로 마취에서 깨어나게 하였다.

5. 뇌경색 면적 및 총체적 측정

뇌경색 유발 5일 후 실험동물의 뇌를 적출하였다. 적출한 뇌는 흰쥐용 brain matrix(ASI, USA)를 사용하여 2mm 두께의 뇌조직 절편으로 만들었다. 뇌조직 절편을 2% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC)로 염색하고, digital camera로 촬영한 다음 “Image J” software를 사용하여 각 절편으로부터 뇌경색 면적을 측정하고, 측정값으로부터 총체적을 계산하였다²³⁾.

6. c-Fos, Bax 및 Caspase-3의 면역조직화학염색

1) 뇌조직의 처리

뇌경색 유발 5일 후 심장을 통하여 0.05M phosphate buffered saline(PBS)과 4% paraformaldehyde로 충분히 관류하였다. 이후 뇌를 적출한 다음 24시간 정도 post-fixation하고, sucrose 용액에 담구어 침전시켰다. 다음 뇌를 -40°C의 dry ice-isophentan 용액으로 동결시키고 조직절편을 제작할 때까지 -80°C에 보관하였다. 뇌조직은 cryocut으로 50 μ m 두께의 관상절편으로 제작하여 염색에 사용하였다.

2) 면역조직화학염색

뇌조직 절편을 0.05M PBS로 5분간 3회 씻어내고, 1% H₂O₂에서 10~15분 정도 반응시킨 다음 3회 씻어낸 뒤 10% normal horse serum(Vectastain)과 bovine serum albumin(Sigma)를 PBS에 섞은 blocking solution에 1시간 정도 반응시켰다. 이후 3회 씻어낸 후, primary antibody(c-Fos, Bax, caspase-3)를 PBS와 Triton X-100을 섞은 용액으로 희석한 후 4°C에서 overnight으로 반응시켰다. 이후 조직을 PBS로 씻어내고, abidin-biotin immuno-peroxidase의 방법(ABC Vectastain Kit)에 따라 각각 한 시간씩 반응시켰다. 다음 NiCl₂·H₂O(Sigma, USA)를 섞은 diaminobenzidine-tetrachloride(Sigma, USA)에서 5~10분간 발색 반응시키고, 조직을 poly-L-lysine 코팅된 슬라이드에 붙인 후 2~3시간 건조시킨 다음 탈수, 봉합하여 조직표본을 제작하였다.

7. 면역조직화학염색 양성반응 신경세포의 관찰

c-Fos, Bax 및 caspase-3 발현 변화를 정량적으로 관찰하기 위하여 면역조직화학적으로 염색된 뇌조직 영상을 CCD 카메라를 사용하여 영상분석시스템에 저장하고 “NIH Image” software를 사용하여, 뇌경색이 유발된 대뇌반구 쪽 대뇌피질의 뇌경색 경계영역(cortex penumbra, Fig. 1)에서 동일한 일정면적(137, 600 μ m²) 내의 양성반응 신경세포 수를 측정하였다.

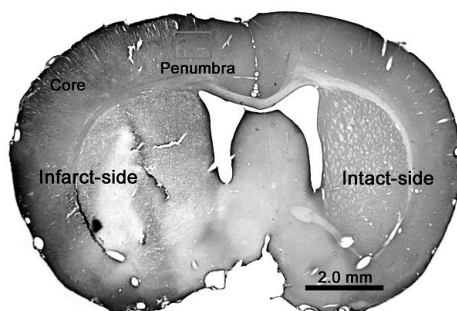


Fig. 1. Schematic diagram of the observed area (red box) in penumbra of the infarct-side cortex of Middle cerebral artery occlusion rat.

결과

1. 뇌경색 면적에 대한 영향

각 군의 TTC로 염색된 뇌조직 절편에서 경색이 유발된 부위의 면적을 측정된 결과, Sham군에서는 각각 2mm 두께의 뇌조직절편 모두에서 뇌의 전방에서부터 후방까지 뇌경색이 관찰되지 않았다. 일반적인 흰쥐에 뇌경색을 유발한 Control군은 뇌조직절편 6개에

서 뇌경색 면적이 각각 $29.3 \pm 2.3 \text{mm}^2$, $33.2 \pm 2.1 \text{mm}^2$, $36.1 \pm 1.9 \text{mm}^2$, $37.2 \pm 2.1 \text{mm}^2$, $26.4 \pm 2.3 \text{mm}^2$ 및 $14.5 \pm 1.8 \text{mm}^2$ 이었다(Table 2, Fig. 2, 4).

흰쥐에 뇌경색을 유발한 후 凉膈散火湯을 투여한 Sample군은 뇌조직절편 6개에서 뇌경색 면적이 각각 $27.8 \pm 2.5 \text{mm}^2$, $32.1 \pm 2.6 \text{mm}^2$, $33.2 \pm 2.2 \text{mm}^2$, $31.8 \pm 1.8 \text{mm}^2$, $23.3 \pm 1.4 \text{mm}^2$ 및 $11.4 \pm 1.6 \text{mm}^2$ 로 Control군에 비하여 4번째 뇌조직절편에서만 $P < 0.05$ 의 유의성 있는 뇌경색 감소가 나타났다(Table 2, Fig. 2, 4).

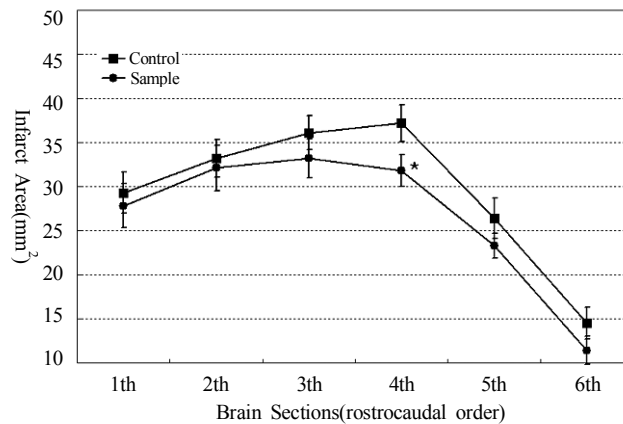


Fig. 2. Effect of *Yanggyuksanhwa*-tang on infarct area induced by Middle cerebral artery occlusion in rats. Sample group demonstrated significant decrease of the infarct area in 4th sections as compared to the control group.

* : $P < 0.05$ compared between Control and Sample.

Table 2. Effect of *Yanggyuksanhwa*-tang on Infarct Area Induced by Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats(mm^2)

	Order of Brain Sections					
	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th
Control	29.3 ± 2.3	33.2 ± 2.1	36.1 ± 1.9	37.2 ± 2.1	26.4 ± 2.3	14.5 ± 1.8
Sample	27.8 ± 2.5	32.1 ± 2.6	33.2 ± 2.2	$31.8 \pm 1.8^*$	23.3 ± 1.4	11.4 ± 1.6

Data presented as mean \pm standard error.

Control : group of temporal Middle Cerebral Artery Occlusion in rats.

Sample : group treated with *Yanggyuksanhwa*-tang on temporal Middle Cerebral Artery Occlusion in rats.

* : $P < 0.05$ compared between Control and Sample.

Table 3. Effect of *Yanggyuksanhwa*-tang on Infarct Volume Induced by Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats(mm^3)

	Infarct Volume	Increase or Decrease (%)
Control	354.4 ± 11.9	
Sample	$319.2 \pm 9.2^*$	-9.7

* : $P < 0.05$ compared between Control and Sample.

Increase or Decrease % was calculated between Control and Sample.

3. 뇌경색 총체적에 대한 영향

TTC로 염색된 각 군의 뇌조직 절편 뇌경색 면적에서 계산된 뇌경색의 총체적은, 흰쥐에 뇌경색을 유발한 Control군에서는 $354.4 \pm 11.9 \text{mm}^3$ 이었다(Table 3, Fig. 3, 4).

흰쥐에 뇌경색을 유발한 후 凉膈散火湯을 투여한 Sample군의 뇌경색 총체적은 $319.2 \pm 9.2 \text{mm}^3$ 으로 Control군에 비하여 9.7%, $P < 0.05$ 의 유의성 있는 뇌경색 총체적 감소를 나타내었다(Table 3, Fig. 3, 4).

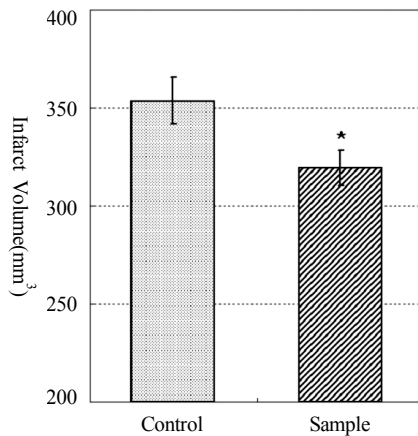


Fig. 3. Effect of *Yanggyuksanhwa*-tang on infarct volume induced by Middle cerebral artery occlusion in rats. Sample group demonstrated significant decrease of the infarct volume as compared to the control group. * : $P < 0.05$ compared between Control and Sample.

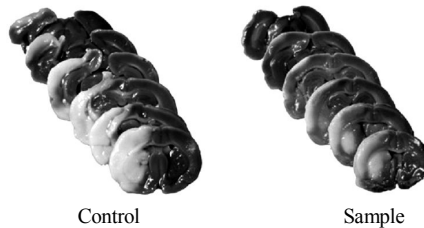


Fig. 4. TTC-stained brain sections of Middle cerebral artery occlusion rats. Red colored region is intact tissue and white colored region demonstrates infarct area induced by Middle cerebral artery occlusion. Sample group shows significant decrease of the brain infarct volume as compared to the control group.

Table 4. Effect of *Yanggyuksanhwa*-tang on c-Fos Positive Cells in Penumbra of Infarct Induced by Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats

	c-Fos positive cells	Increase or Decrease (%)
Sham	31.5 ± 2.5	
Control	365.7 ± 31.9	
Sample	278.8 ± 32.2*	-23.8

Data presented as mean ± standard error.

Sham : group without Middle cerebral artery occlusion.

Control : group of temporal Middle cerebral artery occlusion in rats.

Sample : group treated with *Yanggyuksanhwa*-tang on temporal Middle cerebral artery occlusion in rats.

* : $P < 0.05$ compared between Control and Sample.

Increase or Decrease % was calculated between Control and Sample.

4. 뇌경색 경계영역의 c-Fos 양성반응 신경세포에 대한 영향

뇌조직 절편의 뇌경색 경계영역 일정면적 내에서 관찰되는 c-Fos 양성반응 신경세포 수는, Sham군에서는 31.5±2.5개가 관찰되었으며, 흰쥐에 뇌경색을 유발한 Control군은 365.7±31.9개로 Sham군에 비하여 확연한 증가를 나타내었다(Table 4, Fig. 5, 6).

흰쥐에 뇌경색을 유발한 후 凉膈散火湯을 투여한 Sample군의 뇌경색 경계영역 일정면적 내에서 관찰되는 c-Fos 양성반응 신경세포 수는 278.8±32.2개로 Control군에 비하여 23.8%, P<0.05의 유의성 있는 감소를 나타내었다(Table 4, Fig. 5, 6).

5. 뇌경색 경계영역의 Bax 양성반응 신경세포에 대한 영향

각 군의 면역조직화학법으로 염색된 뇌조직 절편의 뇌경색 경계영역 일정면적 내에서 관찰되는 Bax 양성반응 신경세포의 수는, Sham군에서는 2.8±0.8개가 관찰되었으며, 흰쥐에 뇌경색을 유발한 Control군에서는 38.2±4.1개로 Sham군에 비하여 확연한 증가를 나타내었다(Table 5, Fig. 7, 8).

흰쥐에 뇌경색을 유발한 후 凉膈散火湯을 투여한 Sample군의 뇌경색 경계영역 일정면적 내에서 관찰되는 Bax 양성반응 신경세포의 수는 22.1±3.8개로 Control군에 비하여 42.1%, P<0.01의 유의성 있는 Bax 양성반응 신경세포 수가 감소되었다(Table 5, Fig. 7, 8).

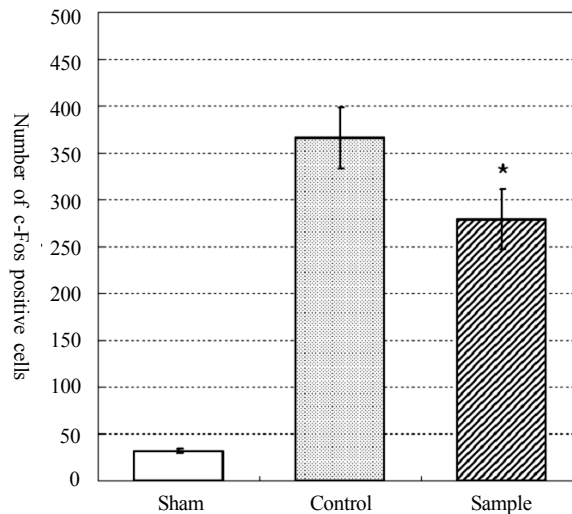


Fig. 5. Effect of *Yanggyuksanhwa*-tang on c-Fos positive cells in infarct penumbra induced by Middle cerebral artery occlusion in rats. Sample group showed significant decrease of c-Fos positive cells as compared to the control group.

* : P<0.05 compared between Control and Sample.

Table 5. Effect of *Yanggyuksanhwa*-tang on Bax Positive Cells in Penumbra of Infarct Induced by Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats

	Bax positive cells	Increase or Decrease (%)
Sham	2.8±0.8	
Control	38.2±4.1	
Sample	22.1±3.8*	-42.1

* : P<0.01 compared between Control and Sample.

Increase or Decrease % was calculated between Control and Sample.

6. 뇌경색 경계영역의 Caspase-3 양성반응 신경세포에 대한 영향

각 군의 면역조직화학법으로 염색된 뇌조직 절편의 뇌경색 경계영역 일정면적 내에서 관찰되는 caspase-3 양성반응 신경세포의 수는, Sham군에서는 10.2±1.1개, 흰쥐에 뇌경색을 유발한 Control군에서는 72.1±5.1개로 Sham군에 비하여 확연한 증가를 나타내었다(Table 6, Fig. 9, 10).

흰쥐에 뇌경색을 유발한 후 涼膈散火湯을 투여한 Sample군의 뇌경색 경계영역 일정면적 내에서 관찰되는 caspase-3 양성반응 신경세포 수는 51.8±5.9개로, Control군에 비하여 28.2%, P<0.05의 유의성 있는 caspase-3 양성반응 신경세포 수의 감소를 나타내

었다(Table 6, Fig. 9, 10).

고찰

흰쥐에 일시적으로 중대뇌동맥을 폐쇄하는 방법으로 뇌경색을 유발시키고 涼膈散火湯 물추출액을 5일간 투여한 결과, 涼膈散火湯 투여군은 대조군에 비하여 뇌경색의 면적과 총체적을 유의하게 감소시키는 효능을 나타내었다. 또한 대뇌피질의 뇌경색 경계영역의 신경세포에서 c-Fos와 Bax 및 caspase-3 발현 역시 유의하게 억제하는 효능을 나타내었다.

c-Fos는 immediate early genes에 의하여 발현되는

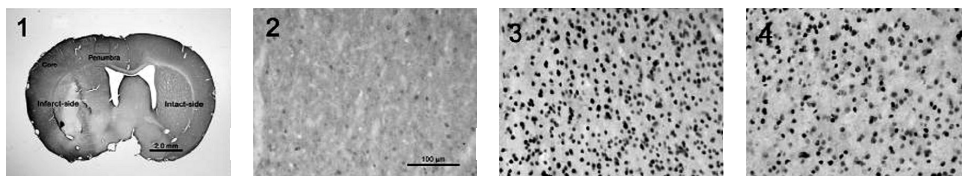


Fig. 6. c-Fos positive cells in infarct penumbra induced by Middle cerebral artery occlusion in rats(section 1, schematic diagram of penumbra; section 2, sham). Sample group(section 4) shows significant decrease of c-Fos positive cells as compared to the control group(section 3).

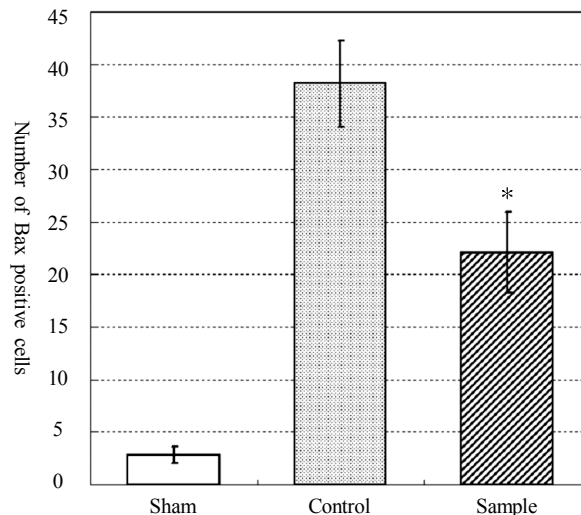


Fig. 7. Effect of *Yanqiyuksanhwa*-tang on Bax positive cells in infarct penumbra induced by Middle cerebral artery occlusion in rats. Sample group showed significant decrease of Bax positive cells as compared to the control group.

* : P<0.01 compared between Control and Sample.

단백질로 세포의 손상스트레스에 대한 매우 빠른 반응으로 발현이 증가하며, 특히 뇌허혈 손상에서 민감한 발현을 나타낸다^{19,21}). Bax와 caspase-3는 신경세포의 자연사 기전에 관여하는 조절인자로서 이들의 억제 는 세포자연사가 억제됨을 나타낸다^{15,17,20,22}). 이는 涼膈散火湯이 뇌허혈에 의한 뇌경색 유발을 억제하고, 신경세포 자연사에 대한 보호효능이 있음을 보여주는 결과로 涼膈散火湯의 효능을 입증한 기존의 실험연구

결과들을 재확인하는 결과이다.

涼膈散火湯은 李⁵⁾의 「東醫壽世保元」 少陽人の 胃受熱裡熱病編에 처음으로 기재된 처방으로, 주로 中風熱證, 中風痰盛, 歷節風, 痰滯, 頭痛, 面熱, 風熱, 心火上盛, 多渴頭昏, 目赤, 舌腫, 大小便秘, 譫語, 發狂 등에 사용된다²³. 涼膈散火湯의 구성약재 중 忍冬藤, 連翹, 梔子, 知母, 防風, 荊芥는 抗炎 및 解熱하는 효과가 있다. 특히 梔子는 죽상동맥경화의 예방과 치료에 효과

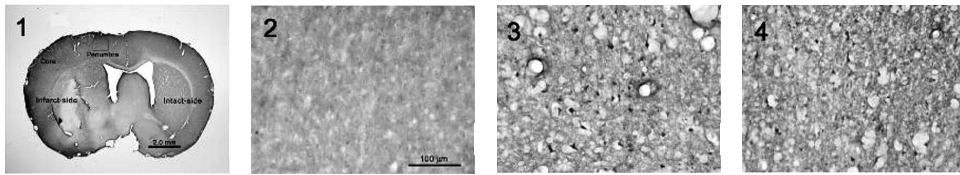


Fig. 8. Bax positive cells in infract penumbra induced by Middle cerebral artery occlusion in rats(section 1, schematic diagram of penumbra; section 2, sham). Sample group(section 4) shows significant decrease of Bax positive cells as compared to the control group(section 3).

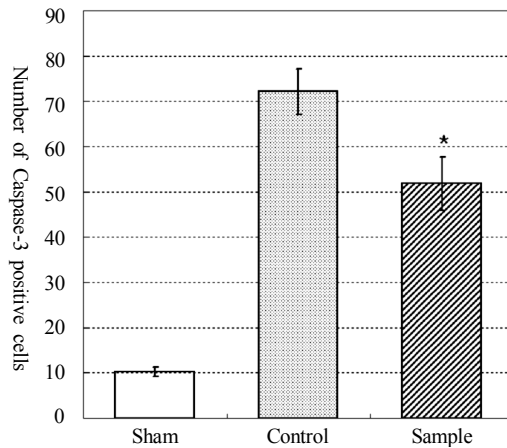


Fig. 9. Effect of *Yanqiyuksanhwa*-tang on caspase-3 positive cells in infract penumbra induced by Middle cerebral artery occlusion in rats. Sample group showed significant decrease of Bax positive cells as compared to the control group.

* : P<0.05 compared between Control and Sample.

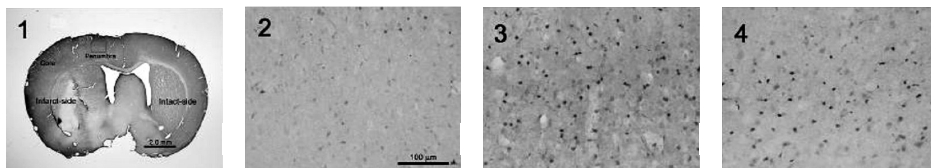


Fig. 10. Caspase-3 positive cells in infract penumbra induced by Middle cerebral artery occlusion in rats(section 1, schematic diagram of penumbra; section 2, sham). Sample group(section 4) shows significant decrease of caspase-3 positive cells as compared to the control groups(section 3).

가 있으며, 知母는 혈소판응집 억제작용이 있다. 또한 石膏는 鎮靜 및 解熱하고, 生地黃, 薄荷는 鎮靜 및 抗 炎작용을 한다^{4,6,7)}.

涼膈散火湯에 대한 실험연구로는 뇌혈관질환과 관련하여 혈압 상승 및 국소뇌혈류 증가 효능, 뇌허혈 손상 억제 효능이 보고되었다^{6,7)}. 또한 지주막하 출혈 이후의 혈관경련에 대하여 혈관내피세포의 손상과 혈관내막의 비후를 회복시키고, 평활근의 수축을 감소시키는 동시에 과사를 호전시키는 등 제반 병리적 변화를 회복시키는 효과가 있다^{12,13)}. 그 기전과 관련된 연구결과로는 혈관확장에 관여하는 신경전달물질과 신경 peptide의 활성화에 기여하고, 특히 혈관확장에 관여하는 CGRP(Calcitonin Gene-related Peptide)와 VIP(Vasoactive Intestinal Peptide) 면역양성반응 신경섬유에 현저한 변화를 유발하는 것으로 보고되었다^{12,13)}.

이상의 결과들을 종합해보면, 涼膈散火湯은 실험동물의 중대뇌동맥 폐쇄에 의한 뇌경색을 유의하게 감소시키고, 뇌경색 경계영역의 c-Fos, Bax 및 caspase-3 발현을 유의하게 감소시켰다. 이러한 결과로 보아 涼膈散火湯은 뇌경색에 대한 뇌신경세포 보호효능을 가지고 있으며, 뇌경색 유발 및 신경세포 자연사의 억제 효능을 나타내는 것으로 생각된다.

결론

고지혈증이 뇌경색 유발에 미치는 영향과 고지혈증 상태의 뇌경색에 대한 涼膈散火湯의 효능을 실험적으로 연구하기 위하여, 흰쥐에 중대뇌동맥을 폐쇄하여 뇌경색을 유발한 후, 涼膈散火湯을 투여하고, 이후 뇌경색의 면적과 총체적, 뇌경색 경계영역의 c-Fos, Bax 및 caspase-3의 발현에 미치는 영향을 관찰하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 涼膈散火湯은 실험동물의 중대뇌동맥 폐쇄에 의한 뇌경색을 유의하게 감소시키는 효능을 나타내었다.

2. 涼膈散火湯은 뇌경색 경계영역의 c-Fos, Bax 및 caspase-3 발현을 유의하게 감소시키는 효능을 나타내었다.

이상의 결과로 보아, 涼膈散火湯은 뇌경색 유발과 신경세포 자연사의 억제 등 유의한 뇌신경세포 보호 효능을 나타내는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 김영석. 임상중풍학. 서울:서원당. 1997:303-8, 313-29.
2. 廉泰煥. 東醫四象處方集. 서울:금강출판사. 1975: 83.
3. 元持常. 東醫四象新編. 서울:종합의원사. 1974: 20-54, 66.
4. 이원철, 조기호. 입문한방의학. 서울:고려의학. 2005:171-81.
5. 李濟馬. 東醫壽世保元. 서울:신일문화사. 1964: 70.
6. 한종현, 김기영. 한방약리학. 서울:의성당. 2004: 153-82.
7. 김진성, 송일병. 涼膈散火湯의 효능에 관한 실험적 연구. 경희한의대논문집. 1984;7:273-85.
8. 김성준, 신정원, 손영주 등. 노령 흰쥐의 뇌허혈 손상시 涼膈散火湯이 뇌해마의 c-Fos 및 c-Jun 발현에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2003; 24(2):337-47.
9. 배철환, 조기호, 이원철 등. 폐쇄성 뇌졸중에 대한 임상적 연구. 경희한의대논문집. 1987;10: 665-87.
10. 송일병. 사상의학적 중풍관리의 임상적 연구. 사상의학회지. 1996;8(2):117-29.
11. 윤진구, 조기호, 김영석 등. 뇌졸중에 관한 임상통계적 연구. 대한한방내과학회지. 1989;10(1): 25-38.
12. 이동원, 이원철. 지주막하출혈에 의한 뇌기저동맥의 형태학적 변화에 미치는 양적산화당의 효과. 대한한의학회지. 1999;20(2):146-56.
13. 이동원, 이원철. 지주막하출혈 후 뇌기저동맥벽

- 에 존재하는 면역양성 신경섬유의 변화에 미치는 양격산화당의 효과. 한의학연구소논문집. 1999; 8(1):117-31.
14. 최병일, 고병희, 송일병. 소양인 양격산화당과 인동등지골피탕 및 숙지황고삼탕이 alloxan 투여 고혈당 백서에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1992;15:113-33.
 15. Chen J, Nagayama T, Jin K. Induction of caspase-3 like protease may mediate delayed neuronal death in the hippocampus after transient cerebral ischemia. *J Neurosci.* 1998;18:4914-28.
 16. Flemming KD, Brown RD Jr, Petty GW et al. Evaluation and management of transient ischemic attack and minor cerebral infarction. *Mayo Clin Proc.* 2004;79(8):1071-86.
 17. Gillardon F, Wickert H, Zimmermann M. Up-regulation of Bax and down-regulation of Bcl-2 is associated with kainate- induced apoptosis in mouse brain. *Neurosci Lett.* 1995;192:85-8.
 18. Hankey GJ. Role of lipid-modifying therapy in the prevention of initial and recurrent stroke. *Curr Opin Lipidol.* 2002;13(6):645-51.
 19. Neumann-Haefelin T, Wiessner C, Vogel P et al. Differential expression of the immediate early genes c-fos, c-jun, junB, and NGFI-B in the rat brain following transient forebrain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1994;14:206-16.
 20. Nicholson DW. Mechanisms of apoptotic control. *Nature.* 2000;407:810-6.
 21. Onodera H, Kogure K, Ono Y et al. Proto-oncogene c-fos is transiently induced in the rat cerebral cortex after forebrain ischemia. *Neurosci Lett.* 1989;98:101-4.
 22. Patel T, Gores G, Kaufmann SH. The role of proteases during apoptosis. *FASEB J.* 1996;10: 587-97.
 23. Swanson RA, Morton MT, Tsao-Wu G et al. A semiautomated method for measuring brain infarct volume. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1990;10(2): 290-3.
 24. Zhang RL, Chopp M, Chen H et al. Temporal profile of ischemic tissue damage, neutrophil response and vascular plugging following permanent and transient (2H) middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Neurol Sci.* 1994;125:3-10.
 25. Zea Longa EL, Weinstein PR, Carlson S et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *stroke.* 1989;20:84-91.