

柴胡抑肝湯이 스트레스로 인한 기억저하와 우울행동에 미치는 영향

조용국, 이태희
경원대학교 한의과대학 방제학교실

ABSTRACT

Anti-stress effects of Sihoueokgantang in the passive avoidance test and the forced swimming test

Jo Yong-Kook, Lee Tae-Hee
Dept. of Formulae Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

Objectives : This study is carried out to investigate the anti-stress effects of the sihoueokgantang in rats.

Methods : we performed the passive avoidance test and the forced swimming test. The degrees of TH were also measured with immunohistochemical method in the regions of VTA and LC.

Results :

1. As the results of the passive avoidance test, the sihoueokgantang showed tendency to improvement in compared with control group.

-
- 교신저자 : 이태희
 - 경원대학교 한의과대학 방제학교실
 - Tel : 031-750-5418 E-mail : ophm5418@kyungwon.ac.kr
 - 제1저자 : 조용국
 - 서울시 양천구 신정4동 981-16 팔복한의원
 - Tel : 02-2692-4848
 - 접수 : 2007/ 08/ 31 수정 : 2007/ 12/ 16 채택 : 2007/ 12/ 31

2. As the results of the forced swimming test, immobility of rats was significantly decreased in sihoueokgantang in compared with control group.

3. As the results of TH expression in the region of the LC, TH-immunoreactive cells were significantly decreased in the sihoueokgantang 100 mg/kg. As the results of TH expression in the region of the VTA, TH-immunoreactive cells were significantly decreased in the sihoueokgantang 400 mg/kg.

Conclusion : As the results above, it can be considered that sihoueokgantang has the effects of preventing depression and memory decrease caused by stress.

Key word : Sihoueokgantang, passive avoidance test,
forced swimming test, TH expression,
locus coeruleus, ventral tegmental area

1. 서 론

스트레스란 신체에 가해진 여러 가지의 유해인자에 응해서 체내에 생긴 상해와 그것을 방어하기 위한 반응의 합산이며, 생체의 균형을 깨뜨리는 내부 및 외부의 원인에 의해서 일어나는 유기체내의 변화를 말한다¹⁾. 내외적인 환경에서 스트레스가 가해지면 생체는 이것에 대항하여 여러 가지 반응을 일으키게 되는데, 그 반응으로 내분비계, 카테콜라민계 그리고 면역계의 변화가 일어난다^{2,3)}.

Irwin⁴⁾은 스트레스에 대한 생체 반응 중 카테콜라민 분비가 가장 예민하다는 것을 밝혔으며, Oliver와 Schaefer 등⁵⁾은 스트레스로 인한 교감신경 흥분작용이 부신수질추출물에 의한 작용과 동일함을 발견하였다. 이들 연구는 스트레스와 내분비계, 카테콜라민과의 연관성을 확립하는 기초가 되었다^{3,6)}.

뇌는 잠재적인 스트레스 자극에 반응하고 해석하는 주요 장기이며, 스트레스 호르몬이 작용하는

표적부위가 된다. 단기적으로는 스트레스에 의한 당질부신피질호르몬과 카테콜라민의 급성증가가 강한 정서와 관련된 사건의 기억형성을 촉진시키지만 만성적인 스트레스 호르몬은 특히 해마와 같은 뇌 구조물의 손상을 일으켜 인지기능의 장애를 가져오게 된다^{7,8)}.

스트레스의 원인에 대하여 한의학적 病因論에서는 外氣六淫의 변화를 外因, 七情의 편승을 內因, 기타 飲食傷, 勞倦傷, 房室不節, 疫癘, 創傷 등을 不內外因으로 나누었으며^{9,10)}, 이러한 스트레스에 대한 인체반응이 脈管 및 자율신경의 긴장과 이완이라는 현상을 가져와 氣의 不調를 유발한다고 하여 氣에 미치는 영향을 중심으로 설명하였고^{11,12)}, 그 病症을 七氣, 九氣, 中氣, 氣痛, 氣鬱, 氣逆 등으로 분류하였다^{3,9,13-15)}. 이에 대해 <素問·舉痛論>¹⁶⁾에서는 “怒則氣上 喜則氣緩 悲則氣消 恐則氣下 驚則氣亂 思則氣結 寒則氣收 熱則氣泄 勞則氣耗”라 하여 정신활동의 구체적 표현인 七情과 外氣의 변화에 따른 氣의 不調현상을 언급하였고, <靈樞·口問編>¹⁷⁾에서는 “夫百病之始生也 皆生於

風雨寒暑, 陰陽喜怒 飲食居處 大驚卒恐則 氣血分離”라고 하여 외부환경과 靜動, 음식, 기거 등을 스트레스의 원인으로 제시하였으며, 이후 宋代에 이르러서는 發病因子를 內因으로서 七情, 外因으로서 六淫, 不內外因으로 飲食, 勞倦, 中毒, 創傷 등으로 나누는 체계적인 三因論으로 분류하였으니 오늘날 현대의학의 정신적 스트레스, 기후 스트레스 및 외상·피로 스트레스 인자와 부합하는 일면이 있음을 알 수 있다^{18,20)}.

또한 한의학에서 말하는 七情鬱結, 肝氣鬱結 등의 병리현상은 이러한 스트레스반응을 나타내는 한의학적 표현이라 할 수 있다. 여기서 肝氣鬱結이란 정신적 긴장과 정서의 과도한 변화로 肝의 疏泄작용이 실조되고 氣血이 鬱滯되어 나타나는 병리적 현상으로서, 현대의학적 의미로는 스트레스에 의해 뇌하수체와 부신피질 호르몬의 분비가 촉진되어 혈압상승, 맥박증가, 체온상승 등의 자율신경계의 실조현상을 나타내는 것이라 할 수 있다^{11,21,22)}. 이러한 肝氣鬱結이 오래되면 氣鬱化火, 肝火上炎이 되고 肝火로 인해 陰血이 손상되면 肝陰不足證을 유발하게 된다. 또한 肝氣鬱結이 衝任二脈에 영향을 미치면 經痛, 經閉, 월경중 乳房脹痛, 乳房腫塊 및 月經不調 등의 증상이 나타난다^{21,23)}.

본 실험에서 사용한 柴胡抑肝湯은 이러한 병증에 주로 사용되는 처방으로, <醫學入門 婦人玉尺>²⁴⁾에 수록된 처방으로 鬱悶不舒, 心火煩熾, 惡風體倦, 似寒似熱, 面赤心煩, 自汗 등증을 치료할 목적으로 立方되었으며, 후대에 와서는 清肝解鬱작용을 주로 하여 肝氣鬱結로 인한 妊娠虛勞, 骨蒸潮熱 뿐 아니라 스트레스에 의한 獨身女經閉에 주로 활용되는 처방이다²⁵⁾.

이러한 柴胡抑肝湯에 대한 기존의 실험연구보고로는, 안 등²⁶⁾은 구속스트레스로 유발된 생쥐 시상하부 내 모노아민의 변화를 측정하여 柴胡抑肝湯이 노르에피네프린, 도파민과 관련하여 억제 효과가 있음을 보고하였고, 김 등²⁷⁾은 구속스트레스로 유발된 생쥐의 코티코스테론에 미치는 효과

를 보고하였으며 박²⁸⁾은 구속스트레스 흰쥐의 뇌내 모노아민과 혈중 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT) 변화를 통해 柴胡抑肝湯이 항 스트레스 효과가 있는 것으로 보고하였다.

이에 저자는 柴胡抑肝湯이 스트레스를 가한 흰쥐의 기억저하와 우울행동에 미치는 효과를 알아보기 위해 수동회피실험과 강제수영부하실험을 실시하고 면역조직화학법으로 정반과 복측피개야에서 Tyrosine Hydroxylase(TH)를 측정하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

중량 200 g 내외의 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐 (Orient 사)를 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 2주일 간 실험실 환경에 적응 시킨 후, 실험에 사용하였다. 낮과 밤 주기는 오전 7시부터 오후 7시 까지를 낮으로, 다른 12시간을 밤으로 하여 자동 조절하였다. 그리고, 온도는 20 ~ 24 °C, 습도는 36 ~ 64 %로 유지 하였다.

(1) 실험군

실험은 4 그룹으로 나누어 실시하였다.

정상군 : 스트레스 부여 하지 않음, 약 투여 하지 않음. N=5

대조군 : 스트레스 부여, 생리식염수 투여. N=5

柴胡抑肝湯: 스트레스 부여, 柴胡抑肝湯(100 mg/kg), 柴胡抑肝湯(400 mg/kg) 투여. 각각 N=5.

2) 약재처방

柴胡抑肝湯의 처방내용은 <證脈 方藥合編>²⁵⁾에 수록된 것으로 구성내용과 1첩의 분량은 다음과 같이 준비하였다(1 錢을 4 g으로 환산하였다).

약재명	생약명	용량
시호(柴胡)	Bupleuri Radix	4 g
청피(靑皮)	Citri Reticulatae Viride Pericarpium	4 g
적작약(赤芍藥)	Paeoniae Radix	3.2 g
목단피(牡丹皮)	Moudan Cortex Radicis	3.2 g
지골피(地骨皮)	Lycii Cortex Radicis	2.4 g
향부자(香附子)	Cyperi Rhizoma	2.4 g
치자(梔子)	Gardeniae Fructus	2.4 g
창출(蒼朮)	Atractylodis Rhizoma	2.4 g
신곡(神麴)	Massa Medicata Fermentata	2 g
천궁(川芎)	Cnidii Rhizoma	2 g
생지황(生地黃)	Rehmanniae Radix	1.2 g
연교(連翹)	Forsythiae Fructus	1.2 g
감초(甘草)	Glycyrrhizae Radix	0.8 g
	합 계	31.2 g

3) 검액조제

柴胡抑肝湯은 7첩 분량 총 218.4 g에 10배 (w/v)량의 3차 증류수를 가하여 100 °C에서 4시간 동안 달인 후 거즈로 여과하여, 80 °C에서 증탕 농축하여 하루 동안 80°C에서 냉각시킨 후, 40 °C 온도로 동결건조시켜 柴胡抑肝湯분말이 60 g이 나왔다(수득율 27.47 %). 투약 시는 건조된 약재를 분량에 맞게 saline을 첨가하여 용액을 만들었다.

2. 실험방법

1) 스트레스 부여

약재는 스트레스 부가 1시간 전에 구강으로 400 mg/kg로 투여하였고, 1시간 후 플라스틱 비닐로 흰쥐를 구속 후, 22 °C 물을 넣어둔 수조에 흰쥐의 몸이 상체 1/4만 남겨놓고, 물에 잠기도록 고정시킨다. 이 상태로 두 시간 방치한다. 스트레스 부여 후에는 물을 잘 말려주고, 한 시간 안정시킨다.

2) 수동 회피 실험

(1) 수동 회피장치

회피 상자는 검은 아크릴로 만들어진 어두운

상자 (30X30X30 cm) 이고, 바닥에는 알루미늄 막대가 일정한 간격으로 깔려 있어서 이를 통해 동물의 발바닥에 전기충격을 가할 수 있다. 상자의 전면 바깥벽에는 한 마리의 동물을 가까스로 올려놓을 수 있는 크기 (5X15 cm) 의 난간이 설치되어 있고, 난간과 회피상자 사이에는 작은 슬라이드 문(5X5 cm) 이 장치되어 있다. 본 실험 전에 흰쥐를 수동회피장치 안에서 1분간 적응시킨다(적응시행1). 1분 후 흰쥐를 꺼내 난간 위 45 cm 지점에 놓고, 설치된 조명장치를 통해 50 W의 불빛을 동물에게 비춘다. 동물이 상자로 들어가면, 실험을 종료하게 된다(적응시행2). 다시 한번 난간 위에 쥐를 올려놓고 불빛을 비춰주고, 들어가는 동시에 흰쥐에게 0.5 mA의 전기쇼크를 발바닥에 주게 된다(학습시행). 곧바로, 흰쥐를 난간위에 올려놓고, 불을 비춰주고, 들어간 시간을 측정한다(pretest). 24, 48 시간 후, 전기 충격이 없이, 흰쥐를 난간 위 45 cm위에 올려놓고 들어가는 시간을 측정한다(파지검사 1, 파지검사 2). Pretest와 검사시행 모두에서 동물이 위험 상황인 높은 위치의 난간에서 어두운 상자를 들어가는 데 소요된 response latency가 기억성적으로 측정된다.

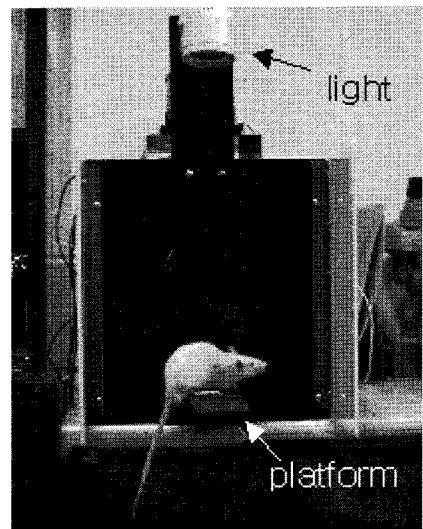


Fig. 1. Equipment of passive avoidance test

3) 강제 수영 부하 실험

1) 실험군

실험은 3 그룹으로 나누어 실시하였다.

대조군 : 스트레스 부여, 생리식염수 투여.

N=5

柴胡抑肝湯 : 스트레스 부여, 柴胡抑肝湯(100 mg/kg), 柴胡抑肝湯(400 mg/kg) 투여. 각각

N=5.

(2) 강제수영부하실험

본 실험에서는 절망행동검사라고도 하는 표준화된 검사법인 강제수영부하실험을 이용하였다. 이 검사법은 약물개발시의 항 우울 효과를 검색하는 기본적인 실험으로 알려져 있다. 이 실험은 두 번에 걸쳐 이루어 지는데, 첫번째 날은 높이 65 cm, 지름 25 cm의 투명한 아크릴원통형 수조에 22℃의 물에 흰쥐의 꼬리가 바닥에 닿지 않을 정도의 물 높이에 강제로 빠뜨린 다음 15분간 있게 하였다. 처음 수분간은 이를 벗어나기 위해 흰쥐가 심한 저항을 보이나, 시간이 흐를수록 점점 부동자세를 보이는 시간이 늘어난다. 두 번째 날, 즉, 24시간 후에는 5분간 같은 환경에서 강제 수영을 시키고, 여기서 기어오르기, 수영, 부동행동 세가지를 측정한다. 전형적인 부동행동이란 흰쥐가 얼굴을 포함한 상체의 일부분만 수면 위로 드러낸 채 몸의 균형을 유지하기 위하여 약간의 움직임만을 나타낼 뿐 물 위에 떠 있는 상태이다. 한편, 수영은 흰쥐가 수면 위를 돌면서 움직이고, 간혹 물밑으로 잠수하기도 하는 상태이다. 기어오르는 가장 격렬한 운동 상태인데, 앞발을 적극적으로 사용하여 아크릴 원통 위로 올라 오려고 사지를 다 쓰는 상태이다. 실수와 사람에 의한 오차를 줄이기 위해 비디오 카메라로 측정하여 자료를 확보하였다. 이에 대한 간략한 실험 흐름도는 다음과 같다.

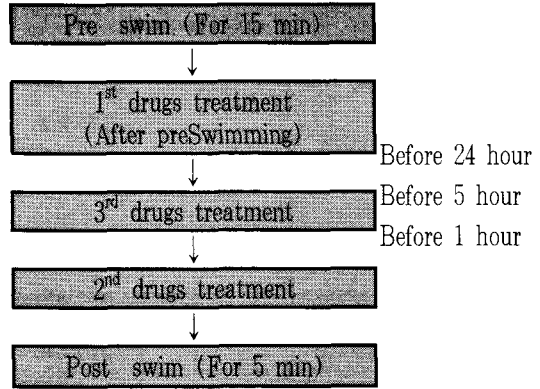


Fig. 2. Experimental Scheme of forced swimming test

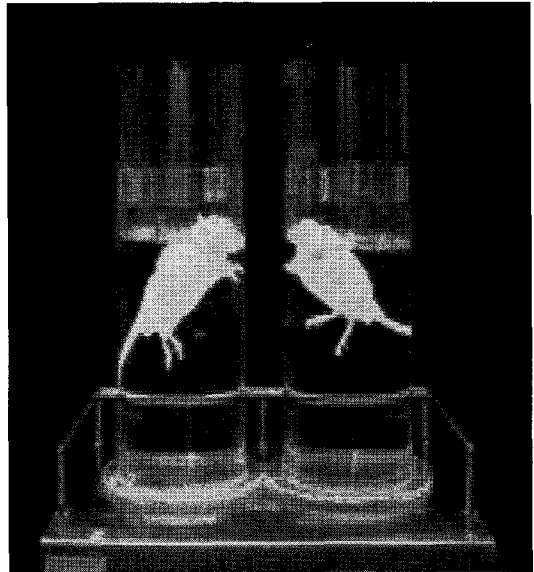


Fig. 3. Equipment of forced swimming test

4) 면역조직 화학법

마지막 행동실험이 끝난 쥐를 sodium pentobarbital (80 mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후, 0.9% saline 200 ml에 이어 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 용액 1000 ml을 심장을 통해 관류, 고정 하였다. 고정액의 처음 300ml은 2분간, 나머지 700 ml은 25분간에 걸쳐 관류 하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2시간 후 고정 시키고, 20 % sucrose가 함유된 phosphate

buffered saline (PBS)에 넣어 4°C에서 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌 조직을 30 μ m의 두께로 잘랐다. PBS로 3 차례 씻고, TH expression에 가장 널리 사용되는 Mouse anti Tyrosine Hydroxylase (Zymed Laboratories, Sanfrancisco, USA) 에 담구었다. primary antibody는 0.3 % Triton X100(PBST)에서 2 % normal goat serum과 0.001 % kehole limpit hemocyanin (sigma)으로 20000배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 primary antibody에서 72시간 반응시켰다. 그 후 뇌 조직을 PBST로 씻은 다음, 2 시간 동안 실온에서 2 % normal goat serum을 함유하는 PBST에서 200배로 희석한 biotinylates goat anti mouse serum(Santa Cruz Biotechnology, USA)에 반응시켰다. 다시 PBST로 씻은 다음 뇌 조직은 실온에서 1시간 동안 Santa Cruz ABC reagent (Santa Cruz Biotechnology)에 담구어 반응시켰다. PBST로 몇 번 행군 다음 뇌 조직을 착색제인 diaminobenzidine을 사용하여 발색시켰다. 발색이 끝난 조직은 slide에 올려 2시간 동안 실온에서 건조 시킨 후, xylene으로 투명화 시켜 polymount로 봉입하였다. 뇌 조직의 각 부위는 염색성을 광학 현미경으로 100배 확대 관찰하고 사진을 촬영 하였다. 뇌의 각 부위의 위치와 병칭은 Watson과 Paxinos의 부도를 참고하였다. 현상된 사진에서 격자 (2×2 cm)를 이용하여 동일한 지역에서 일정한 영역에 반응되어 나타난 염색성의 정도를 counting하였다.

3. 통계처리

모든 측정값은(평균값±표준오차)로 표시하였고, 각 실험군의 통계학적 분석은 window용 SPSS를 이용하였다. 행동 실험결과 및 면역조직 화학법에 대한 통계분석은 one-way ANOVA로 분석하였으며, 사후 검정은 LSD를 통해 검증하였다.

III. 실험결과

1. 행동실험 결과

1) 수동 회피 실험

Pre-test에서는 그룹간 차이가 보이지 않았으나, 24, 48시간 후에, 파지검사 1에서는 柴胡抑肝湯 100 mg/kg투여 그룹은 58.2±19.4 초, 柴胡抑肝湯 400 mg/kg 투여 그룹은 61.2±12.8초로 대조군 41.0±11.8초 보다 수동회피학습이 향상되는 경향성을 보였다. 또한, 파지검사 2에서는 대조군 40.5±10.8초에 비해 柴胡抑肝湯 400mg/kg 투여한 그룹이 59.0±19.3초로 대조군에 비해 수동회피학습이 증가하는 경향이 있었다.

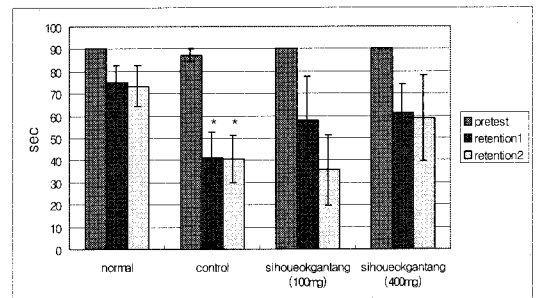


Fig 4. Effect of Sihouekgantang in the passive avoidance test after immobilization stress in water

Normal : No stress treated group

Control : Saline and stress treated group

Sihouekgantang(100 mg) : Sihouekgantang(100 mg/kg) and stress treated group

Sihouekgantang(400 mg) : Sihouekgantang(400 mg/kg) and stress treated group

Pretest : passive avoidance test performed immediately after electric shock

Retention 1 : passive avoidance test performed 24 hours after electric shock

Retention 2 : passive avoidance test performed 48 hours after electric shock

* : Significant difference from the normal group(* : p<0.05)

2) 강제 수영 부하 실험

강제수영 부하시험 결과는 Fig.5-7.과 같다. 柴胡抑肝湯을 투여한 그룹에서 대조군에 비해 현저하게 부동행동이 줄어들었다. 柴胡抑肝湯 100mg/kg 투여한 그룹 2.8±1.2초와 400mg/kg를 투여한 그룹 1.8±0.73초는 대조군 24.1±11.6초에 비해 부동행동이 현저하게 줄어드는 것을 관찰할 수 있었다.

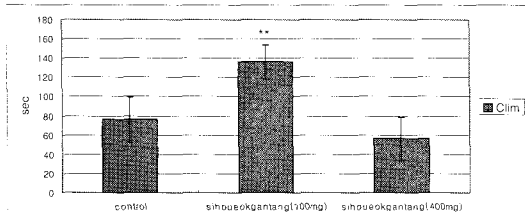


Fig. 5. Effect of Sihouekgantang in the forced swimming test (climbing)

Control : Saline and stress treated group
 Sihouekgantang(100 mg) : Sihouekgantang(100 mg/kg) and stress treated group
 Sihouekgantang(400 mg) : Sihouekgantang(400 mg/kg) and stress treated group
 ** : Significant difference from the control group(** : p<0.01)

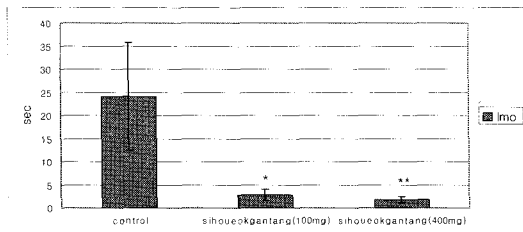


Fig. 6. Effect of Sihouekgantang in the forced swimming test (immobility)

Control : Saline and stress treated group
 Sihouekgantang(100 mg) : Sihouekgantang(100 mg/kg) and stress treated group
 Sihouekgantang(400 mg) : Sihouekgantang(400 mg/kg) and stress treated group
 *, ** : Significant difference from the control group
 (* : p<0.05, ** : p<0.01)

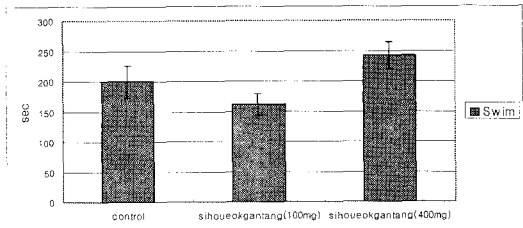


Fig. 7. Effect of Sihouekgantang in the forced swimming test (swimming)

Control : Saline and stress treated group
 Sihouekgantang(100 mg) : Sihouekgantang(100 mg/kg) and stress treated group
 Sihouekgantang(400 mg) : Sihouekgantang(400 mg/kg) and stress treated group

2. 면역조직 화학법

1) 청반 내에서의 tyrosine hydroxylase 발현
 강제수영 부하실험 후 청반내에서의 tyrosine hydroxylase 발현은 Fig.8,9. 와 같다. 대조군 17.38±1.45개에 비해, 柴胡抑肝湯 100 mg/kg투여 그룹은 5.18±0.37개로 청반내 tyrosine hydroxylase 발현 세포의 수가 유의하게 감소함을 알 수 있다.

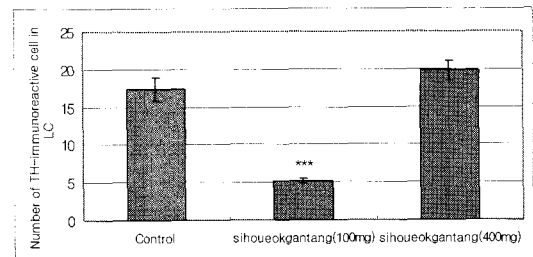


Fig.8. Expression of TH-immunoreactive cells in the locus coeruleus

Control : Saline and stress treated group
 Sihouekgantang(100 mg) : Sihouekgantang(100 mg/kg) and stress treated group
 Sihouekgantang(400 mg) : Sihouekgantang(400 mg/kg) and stress treated group
 *** : significant difference from the control group(*** : p<0.001)

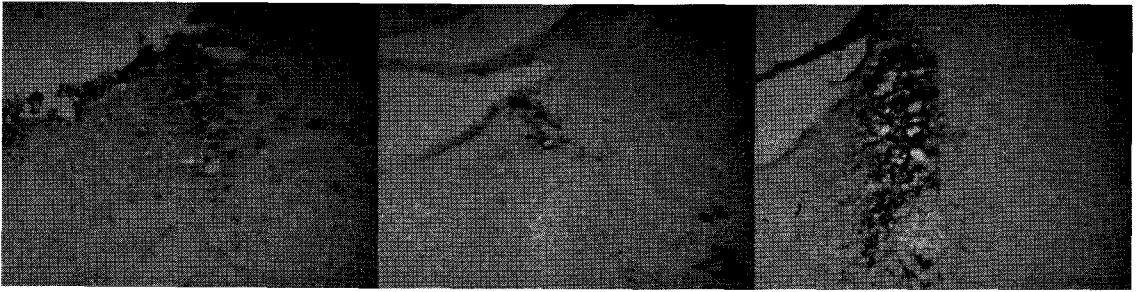


Fig. 9. Photographs of TH- immunoreactive cells in the locus coeruleus (scale bar represents 100 μ m)

A: Control, B: Sihouekgantang 100 mg/kg, C: Sihouekgantang 400 mg/kg

2) 복측피개야 내에서의 tyrosine hydroxylase 발현

복측피개야 내에서의 tyrosine hydroxylase 발현은 Fig.10,11. 과 같다. 대조군 9.11 ± 0.6 개에 비해, 柴胡抑肝湯 400 mg/kg투여 그룹은 5.71 ± 0.3 개로 복측피개야 내 tyrosine hydroxylase 발현 세포의 수가 현저하게 감소함을 알 수 있다.

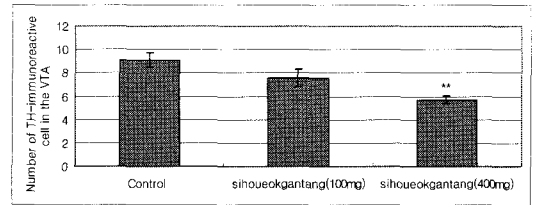


Fig. 10. Expression of TH-immunoreactive cells in the ventral tegmental area

Control : Saline and stress treated group
 Sihouekgantang(100 mg) : Sihouekgantang(100 mg/kg) and stress treated group
 Sihouekgantang(400 mg) : Sihouekgantang(400 mg/kg) and stress treated group
 ** : Significant difference from the control group(** : $p < 0.01$)

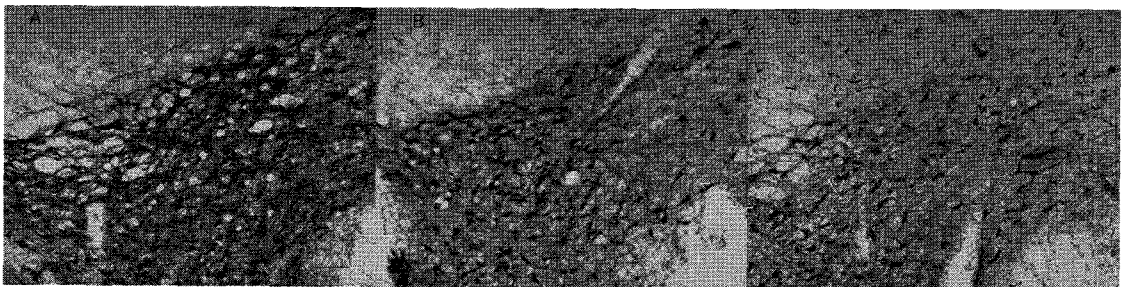


Fig. 11. Photographs of TH-immunoreactive cells in the ventral tegmental area (scale bar represents 100 μ m)

A: Control, B: Sihouekgantang 100 mg/kg, C: Sihouekgantang 400 mg/kg

N. 고 찰

스트레스의 원인에 대하여 한의학적 病因論에서는 外氣六淫의 변화를 外因, 七情의 편승을 內

因, 기타 飮食傷, 勞倦傷, 房室不節, 疫癘, 創傷 등을 不外因으로 나누었으며^{7,8)}, 이러한 스트레스에 대한 인체반응이 맥관 및 자율신경의 긴장과 이완이라는 현상을 가져와 氣의 不調나 순환장애를 유발한다고 하여 氣에 미치는 영향을 중심으로 설명하였고^{9,10)}, 그 병증을 七氣, 九氣 등으로 분류하였다^{7,11)}.

〈素問·陰陽應象大論〉¹⁴⁾에서는 “喜傷心 怒傷肝 思傷脾 憂傷肺 恐傷腎”이라는 표현으로 감정 스트레스와 내장의 생리기능과의 상관성을 언급하고 있다. 정신적 표현인 感情의 근원은 心이 주재하는 神이지만 그 표현인 감정은 곧 氣의 순환상태에 영향을 주어 여러 가지 현상으로 나타나게 된다. 사고와 감정 그리고 판단 중추인 腦는 자율신경과 내분비계의 집합체로 항상성이 유지되며, 이 항상성은 氣의 順調狀態라 할 수 있다. 인체를 순환하는 氣는 정신적 충격이나 寒冷 등의 외부 자극이 일정한 강도 이상이 되면 그 순환에 장애를 초래하게 된다. 따라서 감정이나 外氣의 변화가 하나의 스트레스 인자로 작용되고 그 반응으로서 나타나는 현상이 氣의 변화이며, 그 증후에 따라서 七氣, 九氣, 氣鬱, 氣逆 등의 스트레스 현상으로 분류하고, 氣虛, 氣鬱, 氣의 循環障礙, 血虛, 精損, 五臟의 虛實, 痰涎 혹은 火 등의 병적 요인을 제공하게 된다고 인식하고 있다.^{1,12,27)}

또한 한의학에서 말하는 七情鬱結, 肝氣鬱結 등의 병리현상은 이러한 스트레스반응을 나타내는 한의학적 표현이라 할 수 있다. 〈臨症指南醫案〉²⁹⁾에서는 “鬱則氣滯, 氣滯或在形軀或在臟腑, 必有不舒之現症. 蓋氣本無形, 鬱則氣聚, 聚則氣似有形而無實質, 筋脈不舒”라 하여 氣가 울체되는 것을 표현하고 “氣鬱不舒 木不條達”이라 하여 肝의 疏泄기능과 肝氣의 鬱結의 관계를 설명하고, “悒鬱動肝致病”이라 하여 鬱이 肝病을 일으킨다고 하였다. 여기서 肝氣鬱結이란 정신적 긴장과 정서의 과도한 변화로 肝의 疏泄작용이 실조되고 氣血이 울체되어 나타나는 병리적 현상으로서^{9,19-22)}, 현대

의학적 의미로 스트레스에 의해 뇌하수체와 부신 피질호르몬의 분비가 촉진되어 혈압상승, 맥박증가, 체온 상승 등의 자율신경실조현상을 나타내는 것과 같다고 할 수 있다.

본 실험에서 사용한 柴胡抑肝湯은 이러한 병증에 주로 사용되는 처방으로 婦女가 獨陰無陽하여 肝氣가 鬱結되어 熱이 되고, 熱이 攻心하여 나타나는 面赤心煩, 寒熱往來, 自汗, 經閉 등을 主治證으로 한다²³⁾.

柴胡抑肝湯의 구성약물들의 性味와 효능을 살펴보면 柴胡는 性味가 苦微寒하여 疎肝, 開鬱, 調經하고, 赤芍藥은 性味가 苦微寒하여 肝火와 血中の 熱을 瀉하고 血中の 滯를 行하여 瀉肝散瘀, 清熱涼血하며, 牡丹皮는 性味가 辛苦微寒하여 血中の 伏火를 瀉하고 化血, 涼血, 生血하고, 靑皮는 苦辛溫하여 邪氣를 消散하고 鬱滯를 消導하여 推陳致新하며, 地骨皮는 苦寒하여 肺中の 伏火를 瀉하고 肝腎의 虛熱을 제거하고, 香附子는 辛溫하여 行氣, 開鬱, 調經하고, 梔子는 苦寒하여 三焦鬱火를 제거한다. 蒼朮은 辛苦溫하여 祛風除濕하면서 升陽散鬱하는 효능이 있고, 神麩는 化痰하여 調中溫胃, 行氣消導하며, 川芎은 辛苦溫하여 和血通肝, 補血潤燥, 行氣搜風하고, 連翹는 心火와 三焦火를 瀉하여 散結清火하고, 生地黃은 清火生血, 散瘀通經하며, 甘草는 瀉心火하고 여러 약물의 緩和劑로 쓰인다³⁰⁻³⁴⁾.

수동회피실험은 사건기억능력을 평가하는 방법의 하나로, 최 등³⁵⁾은 六味地黃湯加味方이 흰쥐의 기억능력과 중추신경계 유전자 발현에 미치는 영향에 대한 실험보고에서 수동회피실험을 통해 기억능력을 측정하였고 임³⁶⁾은 치매유발 흰쥐의 六味地黃湯加味方 투여효과에 대해 수동회피 실험을 이용한 실험을 보고하였다. 이와 같이 수동회피 실험은 불쾌 자극에 대한 기억의 지속시간을 측정하기 위해 사용되어 왔는데, 특히 흰쥐를 이용한 수동회피실험은 약물투여 후 기억능력 평가실험³⁵⁾, 환경 변화에 따른 기억능력 평가실험³⁷⁾, 성별에

따른 기억능력 평가실험³⁸⁾, 중풍이나 종양 등 뇌 질환 동물모델을 이용한 기억능력 평가실험³⁶⁾, 유전자의 차이에 따른 기억능력 평가실험⁴⁰⁾ 등 다양한 분야의 행동실험에 활용되었으며 만성스트레스로 유발되는 우울 상태를 측정하는 실험모델^{40,41)}로도 많이 활용되고 있다.

본 실험에서 수동회피학습이 증가한 결과로 볼 때 柴胡抑肝湯이 구속 스트레스로 유발된 수동회피실험에서 기억손상을 억제하는 효과가 있음을 알 수 있다.

강제수영부하실험은 흰쥐를 도피 불가능한 수조에 빠트리면 처음에는 출구를 찾아 격렬히 수영을 하다가 결국은 코를 수면 위에 내놓기 위한 최소한의 동작 이외에는 특징적인 부동자세를 취함을 관찰하고, 이를 스트레스로 유발된 학습된 무력감 혹은 절망행동으로 보고 우울증의 동물모형이라 제안한 것⁴²⁾으로 실험방법이 간단하고 예측 타당도가 인정되어 있어서 항우울제의 효과관정을 위한 방법으로 현재까지 널리 사용되고 있다⁴³⁻⁴⁵⁾. 흰쥐가 강제수영 중 보이는 행동은 이와 같이 활발한 수영, 출구를 찾는 탐색적 행동, 특별한 목적이 없어 보이는 상동중적 행동, 신체 균형을 유지하기 위한 행동, 가만히 떠 있는 것 등 다양하다. 따라서 어떤 행동들을 부동자세라 보느냐가 결과 해석에 중요하며, 애매함을 피하기 위해 부동자세 시간이 아니라 활발히 수영한 시간⁴⁶⁾이나 탈출지향적 행동을 한 횟수를 측정하는 경우⁴⁷⁾도 있었다.

이번 실험에서는 부동행동상태를 측정하였는데 부동 행동이 현저하게 줄어든 것을 관찰할 수 있었다. 이는 柴胡抑肝湯이 스트레스로 유발된 흰쥐의 우울 상태를 억제하였음을 보여주는 것이다.

또한 본 실험에서는 마지막 행동실험이 끝난 쥐의 뇌를 적출하여 면역조직 화학법으로 청반과 복측피개야에서 TH 발현세포의 수를 측정하였다.

동물이 스트레스 조건에 노출되면 그에 대한 적응 반응의 일환으로 도파민 체계가 활성화되어 도파민의 이용율과 전환율이 증가됨에 따라 도파

민의 수준은 감소되고 상대적으로 도파민 대사에 관여하는 TH의 수준은 증가하는 현상이 나타난다⁴⁸⁾. TH는 L-티로신, L-도파, 도파민, 노르에피네프린, 에피네프린으로 진행되는 카테콜라민 대사의 첫 번째 과정에서 사용되는 효소^{49,50)}로서 도파민과 노르에피네프린의 생합성에 가장 중요한 신경효소로 알려져 있으며 도파민과 노르에피네프린 신경세포에만 한정되어 분포하기 때문에 이들 물질들의 표현형 표식자로서 폭넓게 수용되고 있다⁵¹⁾. 또한 우울증의 신경생물학적 병인 중의 하나로 제안되는 모노아민의 결핍에 관련되어 있으며⁵²⁾, 도파민계 대사를 평가하고자 할 때 관찰되어지는 지표의 하나이다^{53,54)}.

본 실험에서는 뇌의 여러 영역중 도파민성 투사를 담당하는 복측피개야와 노르에피네프린을 방출하는 청반에서 TH의 수준을 면역조직화학법을 이용하여 측정하였는데 청반은 뇌교 부위 제4뇌실 바닥에 위치하며 주로 노르에피네프린을 신경전달 물질로 하는 세포들로 구성되어 있는 신경핵으로 중추신경계의 여러 부위와 신경로를 가지고 있다⁵⁵⁻⁵⁷⁾. 또한 복측피개야는 기존의 보고들에서 도파민계 대사에 관계하는 많은 신경세포들을 가지고 있는 부위이다⁵⁸⁻⁶²⁾.

스트레스가 청반과 복측피개야에서 TH의 발현을 증가시킨다는 선행보고⁶³⁻⁶⁷⁾가 많았는데, 본 실험의 결과를 볼 때 柴胡抑肝湯이 청반과 복측피개야에서 스트레스로 인한 TH의 발현의 증가를 억제하는 효과가 있었음을 알 수 있다.

이상을 종합해 보면, 柴胡抑肝湯이 구속 스트레스로 유발된 스트레스 상태의 흰쥐의 수동회피실험에서 스트레스로 인한 기억손상을 억제하였고, 강제수영부하실험에서 흰쥐의 부동행동을 현저히 감소시켰으며, 청반과 복측피개야에서의 TH 발현의 증가를 억제하는 효능이 있음을 알 수 있다. 따라서 柴胡抑肝湯이 항스트레스효과가 있다고 생각된다.

IV. 결 론

柴胡抑肝湯이 스트레스를 가한 흰쥐에게 미치는 효과를 확인하기 위해 수동회피실험과 강제수영부하실험을 실시하고 면역조직화학법으로 청반과 복측피개야에서 TH를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 수동회피실험 결과 柴胡抑肝湯투여군이 대조군에 비해 수동회피학습이 증가되는 경향성을 보였다.
2. 강제수영부하실험 결과 柴胡抑肝湯투여군이 대조군에 비해 부동행동이 유의성있게 줄어들었다.
3. 면역조직화학법으로 TH의 발현을 관찰한 결과 청반에서는 柴胡抑肝湯 100mg/kg 투여군에서는 TH의 발현이 유의성있게 감소하였고, 복측피개야에서는 柴胡抑肝湯 400mg/kg 투여군에서 유의성있게 감소하였다.

이상과 같은 실험결과를 볼 때, 柴胡抑肝湯이 스트레스로 인한 기억저하와 우울행동을 억제하는 효과가 있다고 생각된다.

참고문헌

1. 황의완 : 심신증, 서울, 행림출판사, pp.18-24, 36-44, 1985.
2. 백인호 : Stress에 따른 生物學的 反應, 漢陽大學校 精神健康研究, 10:51-64, 1991.
3. 양병환, 스트레스와 精神神經內分泌學, 漢陽大學校 精神健康研究, 3:81-89, 1985.
4. Irwin, J.K : Catecholamine, adrenal hormones, and stress, Hospital Practice, pp.49-55, 1976.
5. Oliver, G. and Schaefer, E.A.: the physiological effects of the extracts of the suprarenal capsules, J. Physiol.18:p.230-238, 1985.
6. 이동진, 김지혁, 황의완 : 補血安神湯 加味補血安神湯의 抗stress 효과에 관한 실험적 연구, 동의신경정신과 학회지 4(1):77-97, 1993.
7. Shors TJ, Weiss C, Thompson RF :stress-induced facilitation of classical conditioning, Science, 257:537-539, 1992.
8. 김수정, 변광호, 심인섭 : 스트레스와 인지장애, 스트레스연구 13(4):283-288, 2005.
9. 안상우 : 스트레스의 개념에 대한 한의학적 해석, 한국한의학회연구원논문집 3(1):119-151, 1997.
10. 문충모 : Stress와 화에 관한 동서의학적 고찰, 대한한방내과학회지 9(1):153-160, 1988.
11. 송로영 : 중의병인병기학, 서울, 일증사, pp.104-112, 199-207, 1983.
12. 대한신경정신의학회 : 신경정신과학, 서울, 하나의학사, pp.71-76, 1997.
13. 김완희 외 : 동의학원론, 서울, 정보사, pp.46-48, 77-97, 154-155, 278-284, 1982.
14. 황의완, 김지혁 : 동의정신의학, 서울, 현대의학서적사, p.54, pp.99-109, 651-64, 1987.
15. 권순주, 정대규, 김연섭 : 소음인 소합항원이 Stress 생쥐의 뇌 Serotonin 함량에 미치는 영향, 동의신경정신과학회지, 9(2):87-91, 1998.
16. 양유걸 : 황제내경소문역해, 서울, 정보사, p.52, 77,305-306, 1980.
17. 양유걸 : 황제내경영추역해, 서울, 정보사, p.255, 1980.
18. 김종우 : stress의 한의학적 이해, 동의신경정신과학회지 4(1):19-26, 1993.
19. 문충모 : stress에 관한 문헌적 고찰, 동의신경정신과학회지 2(1):38-50, 1991.
20. 한국한의학회연구원 : 스트레스의 한의요법에 관한 연구, 대전, pp.7-35, 1997.
21. 전국한의과대학간계내과학교실 : 간계내과학, 서울, 동양의학연구원, pp.30-38, 44-51, 1989.
22. 대전대학교한의과대학병리학교실 : 동의병리

- 학, 서울, pp.8-9, 1991.
23. 송병기 : 한방부인과학, 서울, 행림출판, pp.182-193, 1986.
 24. 이천 : 의학입문, 서울, 한성사, p.409, 534, 1994.
 25. 황도연 : 증맥 방약합편, 서울, 남산당, p.332, 1989.
 26. 안수진, 이태희 : 구속스트레스로 유발된 생쥐 시상하부내 단가아민의 변화에 대한 시호소간산과 柴胡抑肝湯의 효능, 대한한의학방제학회지 11(1):99-114, 2003.
 27. 김현준, 이태희 : 柴胡抑肝湯 등 약물의 전 처치가 구속 스트레스로 유발된 생쥐의 혈중 Corticosterone 변화에 미치는 영향, 대한한의학방제학회지 10(2):57-72, 2002.
 28. 박미순, 정진홍, 유동열 : 柴胡抑肝湯의 항 stress 효능에 대한 연구, 대한한방부인과학회지 13(1):219-261, 2000.
 29. 김상호 : 동의신경정신과학, 서울, 행림출판사, pp.53-63, 139-150, 263-264, 277-284, 1980.
 30. 구본홍 : 동의심계내과학, 서울, 서원당, pp.169-170, 1987.
 31. 섭천사 : 신교본 임증지남의안, 대만, 신문풍출판공사, pp.398-399, p.406, 1980.
 32. 이정래 : 대한의학전집, 서울, 제일문화사, pp.1885-1886, 1989.
 33. 이상인 : 본초학, 서울, 학림사, pp.58-60, 108-110, 198-200, 244-246, 369-371, 378-380, 382-383, 407-409, 430-431, 495-496, 514-515, 533-534, 1986.
 34. 신길구 : 신씨본초학, 서울, 수문사, pp.16-20, 88-95, 228-236, 305-308, 486-489, 497-498, 501-503, 521-52, 600-603, 663-666, 694-695, 724, 1987.
 35. 최보업, 배현수, 신민규, 홍무창 : 육미지황탕 가미방이 흰쥐의 기억능력과 중추신경계 유전자 발현에 미치는 영향, 동의생리병리학회지 16(5):p.1025-1034, 2002.
 36. 임재국 : 치매유발 흰쥐의 육미지황탕가미방 투여효과 및 발현유전자 profile 분석, 경희대학교 대학원, 2004.
 37. Belcheva I : Lateralized learning and memory effects of angiotensin II microinjected into the rat CA1 hippocampal area, Peptides 21(3):407-411, 2000.
 38. Mc Quade R. : A microdialysis study of the noradrenergic response in rat frontal cortex and hypothalamus to a conditioned cue for aversive, naturalistic environmental stimuli, Psychopharmacology (Berl) 148(2):201-208, 2000.
 39. Vinogradova EP : The differences between sexes and strains in the capacity to acquire a passive avoidance conditioned reflex in KLA- and KHA-strain rats, Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova 50(2):244-251, 2000.
 40. 현성용 : 우울증에 대한 동물 모형으로서 CMS 처치가 흰쥐의 수동회피학습에 미치는 효과, 사회과학연구 6(3):537-556, 1999.
 41. 심상민 : 백강잠의 항우울 효과에 대한 실험적 연구, 동국대학교 대학원, 2005.
 42. Kato M : Focal cerebral ischemia-induced escape deficit in rats is ameliorated by a reversible inhibitor of monoamine oxidase-a, implications for a novel animal model of post-stroke depression, Biol. Pharm. Bull., 23(4): 406-410, 2000.
 43. Kappers WA : Comparison of three different in vitro mutation assays used for the investigation of cytochrome P450-mediated mutagenicity of nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons, Mutat. Res. 466(2):143-159, 2000.
 44. 박제민, 김종백, 강철중 : 흰쥐의 중추성 serotonin 고갈이 강제수영 중 부동자세 시간,

- 불안 및 수동적 회피학습에 미치는 효과, *신경정신의학* 35(3): 699-709, 1996.
45. Detke MJ, Johnson J, Lucki : Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression, *Exp. Clin. Psychopharmacol.* 5:107-112, 1997.
 46. David DJ, Bourin M, Hascoet M, Colombel MC, Baker GB, Jolliet P : Comparison of antidepressant activity in 4- and 40-week-old male mice in the forced swimming test : involvement of 5-HT1A and 5-HT1B receptors in old mice, *Psychopharmacology* 153(4):443-449, 2001.
 47. Masuda Y, Sugiyama T : The effect of globopentaosylceramide on a depression model, mouse forced swimming, *Tohoku J. Exp. Med.* 191(1):47-54, 2000.
 48. Cervo L, Bendotti C, Tarizzo G, Cagnotto A, Skorupska M, Mennini T, Samanin R : Potential antidepressant properties of SR 57746A, a novel compound with selectivity and high affinity for 5-HT(1A) receptors, *Eur. J. Pharmacol.* 253:139-147, 1994.
 49. Miller WR : Psychological deficit in depression, *Psychology Bulletin* 82: 238-260, 1975.
 50. Haavik J, Almas B, Flatmark T : Generation of reactive oxygen species by tyrosine hydroxylase : a possible contribution to the degeneration of dopaminergic neuron, *J. Neurochem.* 68:661-668, 1997.
 51. Nishimura H, Tanaka M : Effects of alprazolam on anxiety-related behavior of rats in a modified forced-swim test employing straw suspension, *Pharmac. Biochem. Behav.* 41:425-427, 1992.
 52. Beithner-Johnson D, Guitart X, Nestler EJ : Neurofilament proteins and the mesolimbic dopamine system : common regulation by chronic morphine and chronic cocaine in the rat ventral tegmental area, *J. Neurosci.* 12(6): 2165-2176, 1992.
 53. 이정균 : *정신의학*, 서울, 일조각, pp.212-25, 1996.
 54. 김용주, 김지윤, 김동선, 조희중, 배용철, 박매자 : 흰쥐 척수 및 등뿌리신경절에서 Tyrosine Hydroxylase 함유구조물의 분포, *대한해부학회지* 30(2):147-15, 1997.
 55. Wang P, Kitayama I, Nomura J : Tyrosine hydroxylase gene expression in the locus coeruleus of depression-model rats and rats exposed to short- and long-term forced walking stress, *Life Sci.* 62(23):2083-2092, 1998.
 56. Lee, Y : Tyrosine hydroxylase activity and mRNA in rat locus coeruleus and adrenals following chronic ethanol treatment and acute cold stress, *Journal of Biochemistry & Molecular biology* 29(5):393-397, 1996.
 57. Jeong JH, Park KD, Choi KG : Relationship between different brain regions in hierarchical order of neurofibrillary tangles and senile plaques in alzheimer brain, *대한치매학회지* 2(1):17-22, 2003.
 58. Ortiz J, Fitzgerald LW, Lane S, Terwilliger R, Nestler EJ : Biochemical adaptations in the mesolimbic dopamine system in response to repeated stress, *Neuropsychopharmacology* 14(6):443-452, 1996.
 59. 이기철, 이정호, 최영민, 정주호, 정홍경, 이용민, 김도형, 이대환 : Fluoxetine이 schedule-induced polydipsia가 유발된 백서 뇌에서 Throsine Hydroxylase 발현에 미치는 영향, *신경정신의학* 40(2):348-355, 2001.
 60. 박성우, 이윤희, 하은경, 김영경, 이용규, 정도

- 운, 류정환, 공보금, 김영훈 : 백서에서 알코올 장기 투여가 도파민과 세로토닌 신경전달계에 미치는 영향, 대한정신약물학회지 16(1):81-92, 2005.
61. Kim HC : The role of fos-related antigen(FRA) in behavioral sensitization following repeated microinjection with methamphetamine(METH) into the ventral tegmental area(VTA) in the rat, 약학연구 11(1):231-243, 1999.
62. 김진양 : Effects of nicotine and smoking exposure on dopamine transporter and tyrosine hydroxylase in rat midbrain, 경상대학교 대학원, 2002.
63. 현경철 : 원지석창포산이 CMS를 받은 흰쥐의 우울, 학습, 그리고 뇌의 TH 및 c-Fos 발현에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, 2002.
64. Serova L, Sabban EL, Zangen A, Overstreet DH, Ya양 G : Altered gene expression for catecholamine biosynthetic enzymes and stress response in rat genetic model of depression, Brain Res. Mol. Brain Res. 63(1):133-138, 1998.
65. 홍성원 : 황련해독탕이 우울증 모형 동물의 수증미로학습과 뇌의 Tyrosine Hydroxylase 발현 수준에 미치는 효과, 경희대학교 대학원, 2003.
66. 김종찬 : 우울증모델 흰쥐의 수증미로학습과 VTA의 TH 수준에 대한 고암심신환거주사방의 효과, 경희대학교 대학원, 2002.
67. 조충훈 : 청화보심탕이 우울증 모형동물의 절망행동, 불안 및 뇌의 TH와 c-Fos 발현에 미치는 효과, 경희대학교 대학원, 2003.