동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 18. No. 1, 2007

소회향이 허혈성 뇌혈관 질환에 미치는 실험적 연구

강성용, 김남순* 정현우**
전북 군산 락강한의원, 서울 동작구 화남한의원*, 동신대학교 한의과대학 병리학교실**

The Experimental Study of FOENICULI FRUCTUS on the Ischemic Cerebrovascular Disease

Sung Yung Kang, Nam Soon Kim*, Hyun Woo Jeong**
Lacan Oriental Medicine Clinic, Kunsan, Chonbuk
Whanam Oriental Medicine Clinic, Seoul* Dept. of Oriental Pathology, College of oriental Medicine, Dongshin University**

Abstract

Objective : This experimental Study was designed to investigate the effects of FOENICULI FRUCTUS(FF) on the change of inhibition lactate dehydrogenase(LDH) activity in neuronal cells and cytokines production in serum of cerebral ischemic rats.

Method : FOENICULI FRUCTUS(FF)freeze dry powder and FF on the LDH activity in neuronal cells. Changes of FF on the physiological parameters(PaO2, PaCO2, MABP and HR) in crerbral ischemic rats. Effects of FF on the IL-1beta production, TNF-α production, TGF-β production, and IL-10 in serum of cerebral ischemic rats.

MCAO : cytokines production of serum by drawing from femoral arterial blood after MCAO 1 hr. Reperfusion : cytokines production of serum by drawing from femoral arterial blood after reperfusion 1 hr.

Results and Conclusion :

1. FF did not inhibit lactate dehydrogenase(LDH) activity in neuronal cells.
2. In serum by drawing from femoral arterial blood after middle cerebral arterial occlusion(MCAO) 1 hr and reperfusion 1 hr, sample group was significantly decreased IL-1 β production compared with control group.
3. In serum by drawing from femoral arterial blood after MCAO 1 hr and reperfusion 1 hr, sample group was significantly decreased TNF-α production compared with control group.
4. In serum by drawing from femoral arterial blood after MCAO 1 hr and reperfusion 1 hr, sample group was significantly increased TGF-β production compared with control group.
5. In serum by drawing from femoral arterial blood after reperfusion 1 hr, sample group was significantly increased IL-10 production compared with control group. This results were suggested that FF had inhibitive effect on the brain damage by inhibited LDH activity, IL-1β and TNF-α production, but accelerated TGF-β production and IL-10 production.

Key words : FOENICULI FRUCTUS(FF) extract, lactate dehydrogenase, cytokines, cerebral ischemia, middle cerebral arterial occlusion

---

투고일 : 2/12 수정일 : 3/12 채택일 : 3/13
교신저자: 강성용, 전북 군산시 수송동 427-6, 락강한의원
Tel : 063-443-5500 E-mail : klacan@naver.com

Ⅰ. 서 론

최근, 식생활과 환경의 변화 그리고 성인병의 증가와 고령 인구의 증가 등으로 인하여 심혈관계 질환과 허혈성 뇌혈류 장애를 수반하는 뇌혈관 질환들은 증가되고 있는 추세다.

뇌혈관 장애(cerebrovascular disease)는 뇌를 관류하는 혈관 병변에 의해 무엇인가 장애를 초래하는 것을 말하는 것이며, 뇌졸중이란 뇌순환 장애에 의해 급격히 의식 장애를 나타내며 편마비등의 운동마비를 초래하는 증후군이다.

한의학에서 뇌혈관 질환은 중풍의 범주에 속하며 중풍은 風, 癆, 臌, 膈 4가지의 難證으로 오랫동안 환자의 증상에 대해서 예방과 치료의 방법을 연구해오고 있으며, 이는 주로 침과 약물로 환자의 증상을 호전시켜왔다.

소회향[1]은 산형과에 속한 다년생 초본으로 性은 溫하고 無毒하며, 味는 辛한 약물이다. 효능은 溫腎散寒, 和胃利氣해 寒疝, 少腹冷痛, 腎虛腰痛, 胃痛, 嘔吐, 乾濕脚氣 등 裏寒으로 인한 증상에 응용된다.

이에 저자는 개별 한약재의 다양한 실험을 통하여 뇌혈관에 효과를 나타내는 약물들을 실험을 실시하였으며, 그 중 溫裏한 약물인 소회향이 뇌혈관계 질환에 해당되는 中風에 어떠한 영향을 미치는가에 대하여 알아보고자 뇌혈류 개선 및 보호에 미치는 기전을 확인한 결과 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 생후 2일째의 ICR 생쥐와 체중 300 g내외의 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 (주)다물사이언스 및 화인 실험 동물 센타로부터 구입하여 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고형사료 (삼양주식회사, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경 (실내온도 24±2℃, 습도 55±5%, 12시간 drak/light)에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약재 및 건조분말

실험에 사용된 소회향 (FOENICULI FRUCTUS, Foeniculum vulgare MILL.)[1]은 원광대학교 부속익산한방병원에서 구입한 후 정선해서 사용하였다. 소회향 100 g을 3,000 ㎖ 환저 플라스크에 증류수 1,500 ㎖와 함께 120분간 가열한 다음 전탕액을 여과지로 여과한 뒤 5,000 rpm으로 30분간 원심분리 한 후 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)에 넣어 감압 농축한 후 Freeze dryer (SFDSM 06, Korea)로 동결 건조시켜 9.6 g의 분말 (FF)을 얻었다.

3)일반 수술 조작

실험 동물에게 기관절개술을 행하여 14G catheter로써 기도를 확보하고 gallamine (3~5 mg/kg, i.m.)을 투여하여 골격근을 마비시킨다. 동물용 호흡기 (Harvard, USA)를 사용하여 분당 50~60 회의 호흡을 유지시킨다. 경동맥에 PE-50 polyethylene tube를 삽관하고 이를 통하여 혈액 gas 및 pH를 측정하고 $PaCO_2$가 33~45 mmHg가 되도록 호흡을 조절한 후 이를 유지시킨다. 전신 혈압 변동을 관찰하기 위하여 실험 동물의 대퇴동맥에 삽입된 polyethylene tube (PE-50)에 연결된 Statham pressure transducer (Gould, USA)를 통하여 혈압을 MacLab과 Macintosh computer로 구

성된 data acquisition system에 기록한다.

4) 신경 세포내 lactate dehydrogenase (LDH) 활성도 측정

생쥐의 뇌조직을 적출한 다음 Hank's balanced salt solution(GibcoBRL 14180-061)에 5 ㎎/㎖ glucose, 7 ㎎/㎖ sucrose 및 0.35 ㎎/㎖ $NaHCO_3$가 첨가된 배양액에 넣었다. 입체현미경하에서 뇌막을 제거하고 대뇌피질을 얻어 잘게 조각을 낸 다음 0.25% trypsin이 함유된 상기 배양액에 넣어 37℃에서 15분간 처치한 후 1,000 rpm에서 5분간 원심분리한 다음 trypsin이 들어 있는 용액을 제거하고, 분리된 세포를 Eagle's minimal essential medium (GibcoBRL 11430-030)에 2 mM glutamine과 10% fetal bovine serum (Hyclone A1111-L) 및 10% horse serum (Hyclone A3311-L)이 포함된 배양액 1~2 ㎖에 넣은 다음 구멍이 좁혀진 파이펫으로 약 10회 분쇄하였다.

Epidermal growth factor (Sigma E4127)를 10 *ng*/㎖ 농도로 첨가한 후 24 well plate (Primaria, Falcon)에 0.5 hemisphere/plate 밀도로 각 well 당 400 ㎕씩 도포하여 37℃, 5% CO_2와 100% 습도가 유지되는 CO_2 배양기 (VS-9108MS, Korea)에서 배양하였다.

2~4주 후 교세포 (glial cell)가 충분히 증식한 다음 약물 처리전 배양액으로 3번 씻어주고 나서 FF를 농도별(1 ㎍/㎖, 10 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖)로 처리하였다. 소회향 투여 24시간 후 96 well plate의 각 well에 배양액 25 ㎕를 넣고, buffer 125 ㎕, 0.3 ㎎/㎖ NADH 100 ㎕, 22.7 mM pyruvate 30 ㎕를 넣은 다음 곧 바로 microplate reader를 이용하여 340 ㎚ 파장에서 LDH 양을 측정하였다[2].

약물처리 방법은 24 well plate를 이용하여 맨 첫 줄(4 well)은 약물처리하지 않은 허위군으로, 둘째 줄(4 well)은 N-methyl-D-aspartate(NMDA, 30 μM)를 처리한 대조군으로, 셋째 줄부터 다섯째 줄까지는 소회향을 처리한 실험군으로 하였다.

5) 뇌허혈 병태 모델의 혈청내 사이토카인 생성능 측정

① 뇌허혈 병태모델 유발

뇌허혈 병태 모델 유발은 널리 사용하는 중대뇌동맥(middle cerebral artery, MCA) 폐쇄법을 이용하였다. 병태 모델은 Longa 등의 방법[3]에 따라 정상 흰쥐의 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고 내·외경동맥의 분지점으로부터 내경 동맥내로 외경동맥을 통하여 3-0 단선조 나일론 봉합사를 삽입함으로써 MCA 기저부를 폐쇄하였다. 2시간 후 내경 동맥내에 삽입되어 있는 단선조 나일론 봉합사를 MCA 기저부로부터 제거해 줌으로써 혈액을 재관류시켰다.

② 채혈 및 혈청분리

5)-①와 같이 뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 다음 protocol에 따라 소회향 (10.0 ㎎/㎏, i.p.)를 투여한 다음 폐색 1시간 후와 재관류 1시간이 경과한 후 병태 모델의 대퇴동맥에서 1.0 ㎖를 채혈하였다. 채혈시에는 반드시 뇌혈류역학 변동이 변화되지 않도록 하기 위하여 조심스럽게 5.0 ㎖ 주사기를 통해 채혈하였고, 만약 채혈시 뇌혈류역학 변동에 이상이 발생되면 사이토카인 생성능 측정 혈청으로 사용하지 않았다. 채혈 후 30분동안 실온에 방치한 후 3,000 rpm으로 30분동안 원심분리시킨 다음 혈청만을 취해 냉동 보관하면서 필요시마다 해동시켜 사용하였다.

③ Interleukin(IL)-1β 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 IL-1β 양 측정은 rIL-1β ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rIL-1β Standard diluent buffer(SDB) 100 ㎕를 넣은 후, 나머지 well에는 혈청 50 ㎕와 SDB 50 ㎕를 넣은 다음 실온에서 3시간 방치한 뒤 washing buffer(WB)로 4

회 세척하였다. 이후 각 well에 Biotin-labeled anti-rIL-1β 100 ㎕를 넣은 후 실온에서 1시간 동안 방치한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 각 well에 Streptavidin-Peroxidase(HRP) 100 ㎕를 넣은 다음 실온에서 30분 동안 방치한 뒤 WB로 4 회 세척한 후 Stabilized chromogen(SC) 100 ㎕를 넣은 다음 빛을 차단시킨 실온에서 30분 동안 방치하였다. 이후 Stop solution(SB) 100 ㎕를 넣은 다음 microplate reader를 이용하여 450 ㎚ 파장에서 측정하였다[4-5].

④ Tumor necrosis factor(TNF)-α 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 TNF-α 양 측정은 rTNF-α ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rTNF-α SDB 50 ㎕를 넣은 다음, 나머지 well에 혈청과 control(high, low)을 각각 50 ㎕씩 분주한 후 SDB 50 ㎕를 넣었다. 이후 각 well에 Biotin-labeled anti-rTNF-α 50 ㎕를 넣고 실온에서 90분 동안 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100 ㎕씩 분주한 다음 다시 실온에서 45분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 ㎕씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 ㎕씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 ㎚ 파장에서 측정하였다[6-7].

⑤ IL-10 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 IL-10 양 측정은 rIL-10 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 100 ㎕씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control(high, low)을 각각 50 ㎕씩 분주한 다음 SDB 50 ㎕를 넣었다. 이후 각 well에 Biotin-labeled anti-rIL-10 50 ㎕를 넣고 실온에서 2시간 동안 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100 ㎕씩 분주한 다음 다시 실온에서 30분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 ㎕씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 을 각 well에 100 ㎕씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 ㎚ 파장에서 측정하였다[8-9].

⑥ Transforming growth factor(TGF)-β 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 TGF-β 양 측정은 TGF-β1 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 200 ㎕씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control을 각각 200 ㎕씩 넣은 다음 각 well에 Biotin-labeled anti-TGF-β1 50 ㎕를 분주한 후 실온에서 3시간 동안 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100 ㎕씩 분주한 다음 다시 실온에서 30분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 ㎕씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 ㎕씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 ㎚ 파장에서 측정하였다[10-11].

3. 통계처리

소회향의 효과에 대한 통계처리는 Student's t-test에 의하였고, p-value는 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다.

Ⅲ. 실 험 성 적

1. 소회향이 신경 세포의 LDH 활성도에 미치는 효과

소회향이 신경 세포의 손상을 억제하는지에 대하여 알아보기 위하여 NMDA를 처리한 신경 세포에 소회향을 농도별 (1 ㎍/㎖, 10 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖)로 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 1).

소회향을 처리하지 않고 NMDA만을 처리한 대조군의 LDH 활성도를 100.00±0.04%라 하였을 때, NMDA와 소회향을 처리하지 않은 정상군의 LDH 활성도는 72.66±0.02%이었다. NMDA와 소회향을 각 농도별로 처리한 실험군의 LDH 활성도는 각각 99.64±0.02%, 98.56±0.02%와 97.66±0.01%로 대조군에 비해 감소되는 경향을 보였지만 유의성은 인정되지 않았다.

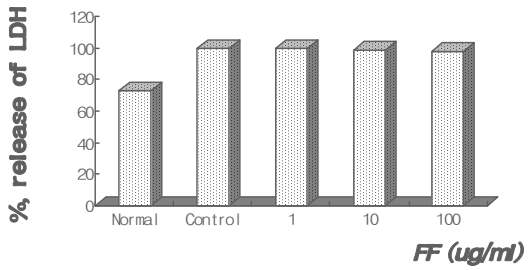


Fig. 1. Effects of FF on the LDH activity in neuronal cells. FF : FOENICULI FRUCTUS freeze dry powder, Normal : NMDA and FF non treated group, Control : NMDA(30 ㎛M) treated, but FF non-treated group, 1, 10, 100 : FF (1.0 ㎍/㎖, 10.0 ㎍/㎖, 100.0 ㎍/㎖) and NMDA treated group.

2. 소회향이 뇌허혈 병태 모델의 생리학적 변수에 미치는 영향

소회향 (10 ㎎/㎏, i.p.)가 뇌허혈-재관류 동안에 뇌허혈 병태 모델의 생리학적 변수 (MABP, HR, pH, 동맥혈의 산소 분압, 동맥혈의 이산화탄소 분압 및 직장내 온도 등)에 미치는 영향을 알아보기 위하여 뇌허혈 전과 뇌허혈 1 시간 후 그리고 혈액 재관류 6 시간 후의 생리학적 변수를 측정하였다 (Table Ⅰ).

소회향을 투여하지 않은 상태에서 각각의 시간대별로 측정한 결과를 대조군으로 하였을 때, 소회향을 투여하였을 때의 병태 모델 생리학적 변수는 대조군과 유사한 상태를 유지하였다.

Table Ⅰ. Changes of FF on the physiological parameters in crerbral ischemic rats

Groups	MABP (mmHg)	HR (bpm)	pH	PaO2 (mm Hg)	PaCO2 (mm Hg)	Rectal temperature (oC)
Control						
Before ischemia	106± 1.4	414± 14	7.24± 0.04	83± 2.1	42± 1.9	37.4± 0.4
1 hr after ischemia	106± 5.4	415± 15	7.32± 0.02	81± 2.3	43± 2.4	37.2± 0.1
6 hr after reperfusion	105± 3.1	418± 13	7.30± 0.03	84± 1.9	41± 2.1	37.5± 0.3
FF						
Before ischemia	107± 1.3	423± 15	7.19± 0.01	81± 2.1	42± 2.0	37.5± 0.2
1 hr after ischemia	105± 2.1	418± 15	7.25± 0.03	83± 1.9	41± 1.8	37.3± 0.5
6 hr after reperfusion	106± 2.7	420± 14	7.24± 0.02	84± 2.1	43± 2.3	37.4± 0.3

FF : FOENICULI FRUCTUS freeze dry powder, PaO2 : partial pressure of oxygen in arterial blood, PaCO2 : partial pressure of carbon dioxide in arterial blood, MABP : mean arterial blood pressure, HR : heart rate.

3. 소회향이 뇌허혈 흰쥐의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양에 미치는 효과

1) IL-1β 생성능에 미치는 효과

뇌허혈 흰쥐의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 뇌허혈을 유발시킨 후 소회향을 투여하고, 유발 1시간 후와 재관류 1시간이 경과된 다음 뇌허혈 병태 모델의 혈액을 취하여 IL-1β 생성능을 측정하였다 (Fig. 2).

폐색 1시간 후 대조군의 IL-1β 생성능을 100.00±0.02%라 하였을 때 실험군의 IL-1β 생성능은 85.95±0.03%로 대조군보다 유의성 (P<0.01)있게 감소되었고, 재관류 1시간 후 대조군의 IL-1β 생성능을 100.00±0.03%라 하였을 때 실험군의 IL-1β 생성능은 82.49±0.03%로 대조군보다 유의성(P<0.01)있게 감소되었다.

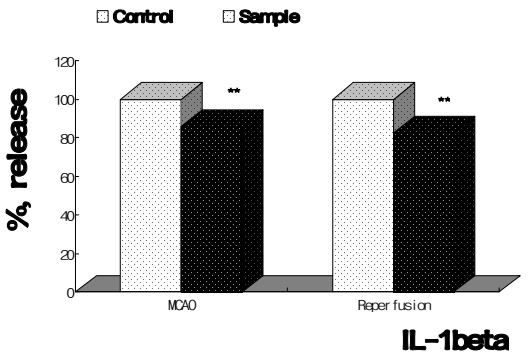


Fig. 2. Effects of FF on the IL-1beta production in serum of cerebral ischemic rats.
FF : FOENICULI FRUCTUS freeze dry powder, MCAO : cytokines production of serum by drawing from femoral arterial blood after MCAO 1 hr. Reperfusion : cytokines production of serum by drawing from femoral arterial blood after reperfusion 1 hr.
* : Statistically significance compared with Control group(** ; P<0.01).

2) TNF-α 생성능에 미치는 효과

뇌허혈 병태 모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 뇌허혈을 유발시킨 후 소회향을 투여하고, 유발 1시간 후와 재관류 1시간이 경과된 다음 뇌허혈 병태 모델의 혈액을 취하여 TNF-α 생성능을 측정하였다 (Fig. 3).

폐색 1시간 후 대조군의 TNF-α 생성능을 100.00±0.03%라 하였을 때 실험군의 TNF-α 생성능은 76.59±0.02%로 대조군보다 유의성 (P<0.001)있게 감소되었고, 재관류 1시간 후 대조군의 TNF-α 생성능을 100.00±0.02%라 하였을 때 실험군의 TNF-α 생성능은 71.85±0.09%로 대조군보다 유의성 (P<0.01)있게 감소되었다.

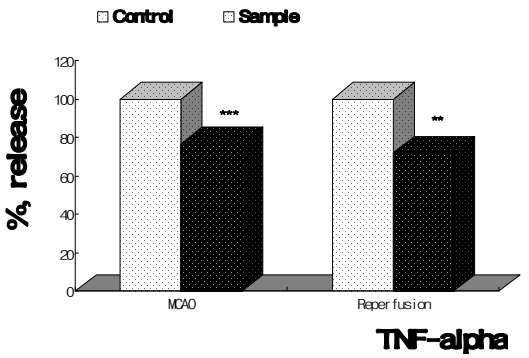


Fig. 3. Effects of FF on the TNF-α production in serum of cerebral ischemic rats.
Other legends are the same as Fig. 2.
* : Statistically significance compared with Control group(** ; P<0.01, *** : P<0.001).

3) TGF-β 생성능에 미치는 효과

뇌허혈 병태 모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 뇌허혈을 유발시킨 후 소회향을 투여하고, 유발 1시간 후와 재관류 1시간이 경과된 다음 뇌허혈 병태 모델의 혈액을 취하여 TGF-β 생성능을 측정하였다 (Fig. 4).

폐색 1시간 후 대조군의 TGF-β 생성능을 100.00±0.05%라 하였을 때 실험군의 TGF-β 생성능은 122.18±0.03%로 대조군보다 유의성 (P<0.01)있게 증가되었고, 재관류 1시간 후 대조군의 TGF-β 생성능을 100.00±0.03%라 하였을 때 실험군의 TGF-β 생성능은

128.12±0.03%로 대조군보다 유의성 (P<0.001) 있게 증가되었다.

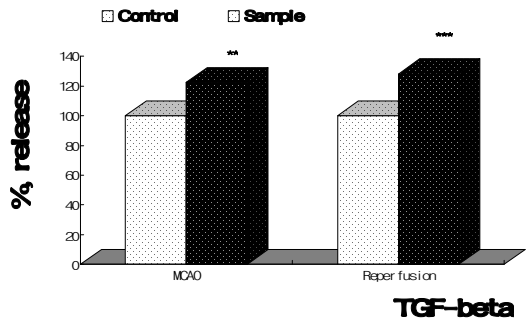


Fig. 4. Effects of FF on the TGF-β production in serum of cerebral ischemic rats.
Other legends are the same as Fig. 2.
* : Statistically significance compared with Control group(** ; P<0.01, *** : P<0.001).

4) IL-10 생성능에 미치는 효과

뇌허혈 병태 모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 뇌허혈을 유발시킨 후 소회향을 투여하고, 유발 1시간 후와 재관류 1시간이 경과된 다음 뇌허혈 병태 모델의 혈액을 취하여 IL-10 생성능을 측정하였다 (Fig. 5).

폐색 1시간 후 대조군의 IL-10 생성능을 100.00±0.11%라 하였을 때 실험군의 IL-10 생성능은 100.18±0.01%로 대조군과 유사하였고, 재관류 1시간 후 대조군의 IL-10 생성능을 100.00±0.06%라 하였을 때 실험군의 IL-10 생성능은 126.94±0.04%로 대조군보다 유의성 (P<0.05)있게 증가되었다.

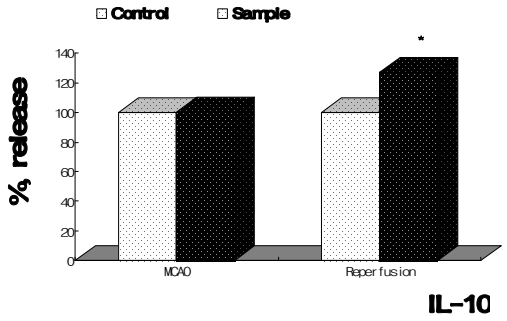


Fig. 5. Effects of FF on the IL-10 production in serum of cerebral ischemic rats.
Other legends are the same as Fig. 2.
* : Statistically significance compared with Control group(* ; P<0.05).

Ⅳ. 고 찰

뇌혈류량은 뇌관류압에 비례하고 뇌혈관 저항에 반비례하는데, 뇌관류압은 생리적 상태하에서 뇌정맥압이 매우 낮아 평균 동맥압에 비례하며, 뇌혈관저항은 뇌혈관직경의 4승에 반비례하기 때문에 정상적인 뇌혈류 유지를 위해 혈압이 하강될 경우 뇌혈관은 확장되어야 하고, 혈압이 상승하게 될 경우 반대로 뇌혈관은 수축되어야 한다[12]. 혈압은 심장의 박동과 수축력, 말초혈관, 자율신경의 활성 및 renin-angiotensin계를 포함한 각종 호르몬과 생체내 내인성 활성물질 등에 의해 조절된다[13-15].

정상적인 뇌혈류는 50 ㎖/100 g/min씩 흘러 뇌조직에서 필요로하는 산소와 포도당을 충분히 공급[16]해야 하지만 만약 15~18 ㎖/100 g/min으로 감소되면 신경 접합부에서 신경자극이 완전히 전달되지 못하여 특징적인 等電性 뇌파가 나타나나 세포자체의 기능은 어느 정도 유지된다[17-18]. 그러나 뇌혈류량 10 ㎖/100 g/min이하로 감소하게 되면 이온성 장애, ATP 감소, 유리지방산 증가 그리고 젖산 증가에 의

한 세포내 산증과 같은 에너지 대사 장애가 초래되어 치명적인 뇌신경 조직의 손상이 나타난다[19-21].

중추신경세포의 사멸에는 여러 가지 인자가 관여하나 중추신경계의 주된 신경전달물질인 glutamate의 과잉분비에 의해 일어나는 흥분독성[2,22] 때문에 신경세포가 사멸되어 신경학적인 증상이 나타나고[2], 이로 인해 운동마비・지각마비 등의 신경학적 증상들이 출현하게 된다[12,23]. 이를 한의학에서는 중풍이라 표현하고 있다[24-25].

중풍은 卒然昏倒・人事不省・口眼喎斜・半身不遂・言語不利 등이 나타나는 질환으로 역대 의가들은 그 원인에 대해 主火說[26], 主氣說[27] 및 濕痰說[28] 등을 제창하였지만 근래에 이르러서는 年老體衰과 肝腎陰虛 등으로 발생된다[29]하여 그 치료법은 원인 및 病機에 따라 救陰回陽固脫法, 祛風豁痰法, 熄風淸火法, 豁痰通絡法, 芳香醒神開竅法 등이 활용된다[1,30-33].

최근까지 보고되어진 뇌허혈에 관한 연구로는 牛黃淸心元[34], 星香正氣散[35], 滋陰健脾湯加味方[36], 天麻半夏湯[37]이 MCA 폐색법으로 유발된 뇌허혈 병태 모델에 있어서 항허혈 및 뇌손상 억제 효과가 있다는 보고가 있다. 이에 저자는 小茴香이 방향성이 있으면서 행산하는 힘이 비교적 강한 약물이지만 지금까지 발표된 山小茴香의 연구는 소염진통 효과를 관찰한 관절염 연구[38]와 성분 함량 연구[39]만 접하였을 뿐 芳香性 약물을 주로 사용하는 중풍치료에 관한 연구는 없었다.

이에 저자는 뇌혈류가 감소하게 되면 허혈성 뇌손상이 나타나게 되고, 이로 말미암아 대사산물이 침착되어 각종의 뇌조직내 염증과 뇌세포 사멸이 발생되기 때문에 소회향이 신경세포 사멸과정에서 생성되는 LDH 양에 미치는 억제 효과와 뇌허혈이 유발된 흰쥐의 혈청내에서 항염증 사이토카인의 생성능과 염증촉발 사이토카인의 생성능을 살펴보았다.

뇌허혈에 의해 ATP가 저하되면 ATP 의존성 Na^+-K^+ 수송계 억제, 세포내 Na^+ 축적, Na^+-Ca^{2+} antiport의 역전 및 내형질 세망으로부터 세포질로의 칼슘 유리, 특히 NMDA 수용체를 통한 칼슘유입이 나타남으로써 허혈성 세포손상이 나타난다[40-41]. 이에 뇌혈류를 유의성 있게 변화시킨 소회향이 뇌세포의 사멸시 분비되는 LDH의 양을 억제시킬 수 있는지 알아보기 위하여 NMDA로 뇌세포 사멸을 유도한 후 소회향을 처리한 결과, 전 처리농도에서 LDH 활성도를 유의하게 억제시키지 못하였다. 이는 소회향이 뇌혈류가 감소되면 이를 증가시키는 데는 유의하게 작용하지만 이미 발생된 뇌세포의 손상에는 아무런 효과를 발휘하지 못하는 것으로 생각되어 소회향은 중풍 후유증을 치료하기 보다는 중풍을 예방하거나 조기 치료시에 활용하면 효과가 있을 것으로 여겨진다.

최근 보고에 의하면 허혈성 뇌손상은 허혈 당시보다는 허혈이 일어난 조직으로 산소가 재공급될 때 주로 일어난다[42]하였고, 뇌허혈이 일어나면 혈액중의 다형 백혈구가 혈관 내벽에 부착하여 뇌조직내로 침윤을 하게되며, 조직내에 축적된 호중구로부터 여러 물질들이 유리되면서 염증반응에 의한 허혈성 뇌조직 손상은 더욱 진행하게 된다[43-44]. 허혈성 뇌손상시 세포성장, 세포활성, 염증 등과 같은 중요한 생물학적 작용을 조절하기 위하여 각종의 사이토카인들이 작용한다[45-46]. 염증에 관여하는 사이토카인에는 IL-1β와 TNF-α 등이 있는데, 이 중 IL-1β는 대식세포, 림프구 및 내피세포 등의 세포에서 유리되는 것으로 내독소, 물리적 손상이나 염증반응에 의해 유발되고, 뇌로 이동될 경우 열을 유발시키며, TNF-α는 종양의 출혈성 괴사 및 염증반응에 관여하고, IL-1β와 TNF-α는 염증의 급성기에 서로 작용하여 상승작용을 나타낸다. 염증촉발 사이토카인을 억

제하는 기전으로는 항염증 사이토카인인 IL-10과 TGF-β 등이 있는데, 이 중 IL-10은 IL-1β와 TNF-α를 생성하는 대식세포의 생성을 억제하고, TGF-β는 혈소판 및 내피세포 등에서 생산되는 것으로 대식세포에서 생성되는 NO의 양 등을 불활성화시킨다[46-47]. 또한 Daddi 등은 IL-10과 TGF-β가 뇌허혈시 재관류로 인해 나타나는 뇌손상을 감소시킨다고 보고하였다[48].

뇌허혈시 염증반응이 나타나고, 염증반응으로 인해 더욱 더 심한 뇌손상이 나타난다하여 허혈로 인해 야기되는 뇌손상 억제효과를 나타낸 소회향이 염증촉발 사이토카인의 생성능과 항염증 사이토카인의 생성능에 미치는 효과를 관찰하였다.

MCA 폐색 1시간 후 실험군의 TNF-α의 생성능은 대조군보다 유의성있게 감소되었고, IL-10의 생성능도 대조군보다 감소되었으나 IL-1β 및 TNF-α의 생성능은 대조군에 비하여 감소되었다. 이와 같은 결과는 소회향이 뇌허혈 초기에서부터 항염증 사이토카인인 TGF-β 생성능을 촉진시켜 염증촉발 사이토카인인 IL-1β 및 TNF-α의 생성능을 억제함을 알 수 있었다. 재관류 1시간 후 실험군의 IL-1β 및 TNF-α의 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 감소되었나 실험군의 TGF-β 및 IL-10의 생성능은 대조군에 비하여 유의성있게 증가되어 본 방이 뇌허혈 초기를 포함한 뇌허혈 기간동안 항염증 사이토카인의 생성능을 촉진시킴으로써 염증촉발 사이토카인의 생성능을 억제시켜 항허혈 작용이 있음을 보여주었다.

이상의 결과, 뇌허혈시 IL-1β와 TNF-α가 상승된다는 보고[49-50]와 NOS 억제제인 처리하게 되면 IL-1β와 TNF-α가 상승하게 된다는 보고[51]에서 볼 수 있듯이 소회향은 NOS를 활성화시켜 염증촉발 사이토카인의 생성을 억제하여 허혈시 나타나는 염증반응을 억제한 것으로 생각된다.

Ⅴ. 결 론

소회향이 허혈성 뇌손상 억제에 미치는 효과를 알아본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 뇌허혈 병태 모델에 소회향을 투여한 결과, MCA 폐색 1시간 후와 재관류 1시간 후에서 실험군의 IL-1β 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 감소되었다.

2. 뇌허혈 병태 모델에 소회향을 투여한 결과, MCA 폐색 1시간 후와 재관류 1시간 후에서 실험군의 TNF-α 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 감소되었다.

3. 뇌허혈 병태 모델에 소회향을 투여한 결과, MCA 폐색 1시간 후와 재관류 1시간 후에서 실험군의 TGF-β 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 증가되었다.

4. 뇌허혈 병태 모델에 소회향을 투여한 결과, 재관류 1시간 후에서 실험군의 IL-10 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 증가되었다.

이상의 결과, 소회향은 항염증 사이토카인의 생성을 촉진시킴으로써 염증 촉발 사이토카인의 생성을 억제해 허혈로 인한 뇌손상을 억제하는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 全國韓醫科大學 本草學敎授 共編 : 本草學, pp. 344~345, 永林社, 서울, 1999.
2. Choi, D.W. : Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system, J. Neuron 1988;1:623~34
3. Longa, E.Z., Weinstein, P.R., Carlson, S., Cummins, R. : Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats, Stroke 1989;20(1):84~91
4. Trembaly, L.F., Valenza, S.P. and Ribelro, J.Li. : Injurious ventilatory strategiea increase cytokines and c-fos mRNA expression in an isolated rat lung model, J. Clin. Invest 1999;99(5):944~52
5. Wang, C.X., Olschowka, J.A. and Wrathall, J.R. : Increase of interleukin-1beta mRNA and protein in the spinal cord following experimental traumatic injury in the rat, Brain Res. 1997;759(2):190~6
6. Stepaniak, J.A., Gould, K.E, Sun, D., Swanborg, R.H. : A comparative study of experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis and DA rats, J. Immunol. 1995;155:2762~9
7. Rivera, D.L., Olister, S.M., Liu, X., Thompson, J.H., Zhang, X.J., Pennline, K., Azuero, R., Clark, D.A., Miller, M.J. : Interleukin-10 attenuates experimental fetal growth restriction and demise, FASEB J. 1998;12(2):189~97
8. Okura, Y., Takeda, K., Honda, S., Hanawa, H., Watanabe, H., Kodama, M., Izumi, T., Aizawa, Y., Seki, S., Abo, T. : Recombinant murine interleukin-12 facilitates induction of cardiac myosin-specific type 1 helper T cells in rats, Circ Res. 1998;82(10):1035~42
9. Lobell, A., Weissert, R., Storch, M.K., Svanholm, C., de Graaf, K.L., Lassmann, H., Andersson, R,, Olsson, T., Wigzell, H. : Vaccination with DNA encoding an immunodominant myelin basic protein peptide targeted to Fc of immunoglobulin G suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis, J. Exp. Med. 1998;187(9):1543~8
10. Kim, S.J., Romeo, D., Yoo, Y.D., Park, K. : Transforming growth factor-beta ; expression in normal and pathological conditions, Horm. Res. 1994;42(1-2):5~8
11. Kloen, P., Gebhardt, M.C., Perez-Atayde, A., Rosenberg, A.E., Springfield, D.S., Gold, L.I., Mankin, H.J. : Expression of transforming growth factor-beta(TGF-beta) isoforms in osteosarcomas ; TGF-beta3 is related to disease progression, Cancer, 1997;80(12):2230~9
12. 대한신경외과학회. 신경외과학, 중앙문화사: 서울, 1997:150~6, 275~9, 284~5, 299
13. 서울대학교 의과대학 내과학교실편 : 내과학, 군자출판사, 서울, 1996:146~58
14. 李文鎬, 金鍾暉, 許仁穆 : 內科學(上)學林社, 서울, 1986:77~81
15. 金祐謙 : 인체의 생리, 서울대학교 출판부, 서울, 1985:30~47, 107~118
16. Kety, S.S., Schmidt, C.F. : The nitrous oxide method for the man ; theory, procedure and normal values, J. Clin Invest 1948;27:476~83

17. Sharbrough, F.W., Messick, M.K. Jr., Sundt, T.M. Jr. : Correlation of continnous electroencephalograms with cerebral blood flow measurments during carotid endarterectomy, Stroke 1973;4:672～83
18. Trojaborg, W., Boysen, G. : Relation between EEG, regional cerebral blood flow and internal carotid artery pressure during carotid endarterectomy, Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1973;34:61～9
19. Harris, R.J., Symon, L., Branston, N.M., Bayhan, M. : Changes in extracellular calcium activity in cerebral ischemia, J. Cereb Blood Flow Metab. 1981;1:203～9
20. Wieloch, T., Siesjo, B.K. : Ischemic brain injury ; the importance of calcium, lipolytic activities and free fatty acids, Pathol Biol(Paris). 1982;30:269～77
21. 이경은, 김경환 : 허혈, 재관류 손상에서 뇌조직 아민 변동과 Free Radical과의 관련성, 大韓神經科學會誌 1990;8(1):2～8
22. Choi, D.W. : Excitotoxic cell death, J. Neurobiology 1992;23:1261～76
23. 의학교육연구원 : 물리요법, 서울대학교 출판부, 서울, 1996:399～403
24. 나영설 · 윤상협 · 민병일 : 최근 뇌졸중에 대한 역학적 고찰, 서울, 경희의학, 1991;7:280～6
25. 中國中醫研究院廣安門醫院 : 實用中醫腦病學, 學苑出版社, 北京, 1993:62～3
26. 劉完素 : 素問玄機原病式, 浙江科學技術出版社, 浙江, 1984.:170～2
27. 李東垣 : 東垣十種醫書, 成輔社, 서울, 1983:635～6
28. 方 廣 : 丹溪心法附錄(上), 大星文化社, 서울, 1982:67～9
29. 歐陽忠興 主編 : 心腦病證治精要, 科學技術文獻出版社, 北京, 1999:430～51
30. 李中梓 : 醫宗必讀, 大方出版社, 臺北, 1978:343
31. 康命吉 .濟衆新篇, 杏林書院, 서울, 1971:83
32. 嚴用和 : 嚴氏濟生方, 人民衛生出版社, 北京, 1980:79
33. 孟景春, 周仲瑛 : 中醫學概論, 人民衛生出版社, 北京, 1987:401～3
34. 조규선, 정승현, 신길조, 이원철 : 牛黃淸心元이 중대뇌동맥 결찰로 유발된 뇌허혈에 미치는 영향, 대한한의학회지 2001;22(1):78～89
35. 김선영, 이원철 : 흰쥐의 중대뇌동맥 결찰로 유발된 腦虛血에서 星香正氣散과 藿香正氣散이 神經細胞에 미치는 효과, 大韓韓醫學會誌 2001;22(4):142～50
36. 임광모, 정현우 : 滋陰健脾湯加枳殼 · 天麻가 腦細胞 및 腦血流力學 變動에 미치는 영향, 동의생리병리학회지. 2003;17(1):64～70
37. 梁起豪, 鄭鉉雨 : 天麻半夏湯이 腦血流力學에 미치는 影響, 東醫生理病理學會誌 2004;18(1):94～199
38. 반상석, 박지하, 이은숙, 최해윤, 이병욱, 서부일 : 鎭痛, 消炎效果 및 關節炎에 미치는 小茴香과 蒔羅子의 效能 比較硏究, 대한본초학회지 2002;17(2):1～10
39. 황진봉, 양미옥, 신현경 : 약초중의 아미노산 함량 조사, 한국식품과학회지 1998;30(1):35～41
40. Cheung, J.Y., Bonventre, J.V., Malis, C.D., Leaf, A. : Mechani는 of disease ; calcium and ischemic injury, New Eng J. Med. 1986;26:1670～76
41. Weisfeldt, M.L. : Reperfusion and Reperfusion injury, Clin Res.1987;35:13～20

42. McCord, J.M. : Mechanisms of disease : oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury, New Eng J. Med. 1985;312:159~63
43. Hallenbeck, J.M., Dutka, A.J., Tanishima, T., Kochanek, P.M., Kumaroo, K.K., Thompson, C.B., Obrenovich, T.P., Contreras, T.J. : Polymorphonuclear leukocyteaccumulation in brain region with low blood flow during the early postischemic period, Stroke. 1986;17:246~53
44. Garcia, J.H., Liu, K.F., Yoshida, Y., Lian, J., Chen, S., del Zoppo, G.J. : Influx of leukocytes and platelets in an evolving brain infarct(Wistar rat), Am J. Pathol. 1994;144:188~99
45. Vila, N., Castillo, J., Davalos, A., Esteve, A., Planas, A.M., Chamorro, A. : Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke, Stroke 2003;34(3):671~75
46. 하대유 외 25인 : 면역학, 고문사, 서울, 1994.pp. 100~5
47. 대한병리학회 : 병리학, 고문사, 서울, 1994:87~99, 1263~64
48. Daddi, N., Suda, T., D'Ovidio, F., Kanaan, S.A., Tagawa, T., Grapperhaus, K., Kozower, B.D., Ritter, J.H., Yew, N.S., Mohanakumar, T., Patterson, G.A. : Recipient intramuscular cotransfection of naked plasmid transforming growth factor beta1 and interleukin 10 ameliorates lung graft ischemia-reperfusion injury, J. Thorac Cardiovasc Surg. 2002;124(2):259~69
49. Hayashi, Y., Jikihara, I., Yagi, T., Fukumura, M., Ohashi, Y., Ohta, Y., Takagi, H., Maeda, M. : Immunohistochemical investigation of caspase-1 and effect of caspase-1 inhibitor in delayed neuronal death after transient cerebral ischemia, Brain Res. 2001;893(1-2):113~20
50. Cain, B.S., Meldrum, D.R., Dinarello, C.A., Meng, X., Joo, K.S., Banerjee, A., Harken, A.H. : Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta synergistically depress human myocardial function, Crit Care Med. 1999;27(7):1309~18
51. Stein, B., Frank, P., Schmitz, W., Scholz, H., Thoenes, M. : Endotoxin and cytokines induce direct cardiodepressive effects in mammalian cardiomyocytes via induction of nitric oxide synthase, J. Mol Cell Cardiol. 1996;28(8):1631~9