

天門冬에 의한 腦神經膠細胞로부터 炎症性 細胞活性物質 分泌의 抑制 效果

圓光大韓醫科大學 神經精神科學教室

강형원 · 류영수

I. 緒 論

天門冬은 百合科(나라과: Liliaceae)에 屬한 多年生 攀援狀 草本으로 바닷가 근처나 山野의 陰濕地에 自生하거나 栽培하는데 塊根을 藥用으로 하고 있다^{5,9,11,24}. 우리나라 말로는 부지깽나물²⁴, 호라지쫄²⁸ 등으로 불리우며 天門·地門冬, 萬年松 등의 異名이 있다.

韓醫學에서 腦에 대한 言及으로는 《素問·五臟別論篇》¹²⁾에 “或而腦髓爲臟 或而爲腑……腦髓骨脈膽女子胞 此六者 地氣之所生也. 皆藏於陰而象於地 故藏而不寫, 名曰奇恒之府”라고 말한 바와 같이 腦는 6개의 奇恒之附中的 하나이며, 그것의 機能特徵은 “藏而不瀉”라고 하였다. 또한 腦는 腎과 매우 밀접한 關係를 가지고 있어서 腎精이 不足하면 嬰幼兒의 大腦發育이 障礙를 받게 되고 成人이나 老人들의 腦機能이 減退되며 따라서 補腎, 滋腎하는 藥物들은 腦의 機能을 改善하는데 일정한 作用을 하는 것으로 알려져 있다³⁾.

痴呆란 意識이 清明한 狀態에서 全般的인 認知機能의 障礙를 나타내는 疾患으로 보통 慢性, 또는 進行性 腦疾患에 의해 發生되며 記憶, 思考, 指力, 理解, 計算, 學習, 言語, 判斷 등 多數의 高位大腦機能에 障礙가 나타나는 症候群이다^{6,33}. 韓醫學에서의 痴呆는 呆病^{23,25,26}, 癡狂^{1,21}, 健忘^{2,20,21}, 虛勞¹⁰ 등의 範疇에 屬하며, 心脾虛, 肝腎不足, 髓海不足 등의 原因으로 發生하는 것으로 알려져 있다^{17,22,33}.

現代醫學으로 腦의 退行性 變化로 인한 痴呆의 原因 疾患으로는^{33,36} 알츠하이머병, 다발성 경화증, 에이

즈 등이 있는데 이런 다양한 神經病理疾患에 細胞活性物質들이 關여하는 것으로 알려져 있다^{38,39,56}.

Substance P는 神經系에서 神經傳達物質 및 神經由來의 炎症媒介物質로서 잘 알려져 있고^{46,47}, 또한 substance P는 炎症性 細胞活性物質인 TNF- α , IL-1^{45,48}, 및 IL-6⁴⁸의 生成을 자극하고 中樞神經系 損傷에 의한 substance P 수용체 數의 增加에 影響을 미친다⁴⁹. substance P는 中樞神經系에 광범위하게 분포되어 있으며⁴⁷, TNF- α , IL-1, IL-6와 같은 炎症性 細胞活性物質의 生成을 자극하여 中樞神經系의 炎症 進行에 影響을 미칠 것이 예상된다. 현재까지 腦神經傳達物質들이 腦에 작용한다는 사실은 여러 例가 보고 되었지만³⁶, 그 중 Substance P가 腦神經 病理에 미치는 影響에 대해서는 아직까지 보고된 바가 없었다. 따라서 저자는 神經膠細胞에 LPS와 substance P의 동시자극시 天門冬의 첨가에 의하여 炎症性 細胞活性物質인 TNF- α 및 IL-1의 分泌가 농도의존적으로 抑制되는 것을 發見하여 이에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

(1) 시약 : substance P, LPS, penicillin/ streptomycin은 Sigma Chemical Co.(Chicago, IL)에서 구입하였다. Mouse rTNF- α , polyclonal anti-mouse IL-1 α 및 anti-mouse TNF- α 는 Genzyme (Cambridge, MA)

에서 구입하였다. Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), 우태아혈청은 Life Technologies (Grand Island, NY)에서 구입하였다.

(2) 실험동물 : 一次 腦神經膠細胞(primary brain neuroglial cell) 培養을 위한 실험동물은 6~8주령의 Balb/c계 임신한 생쥐를 대한실험동물센터(음성, 충북)에서 구입하여 출산 후 2~3일이 경과된 신생생쥐를 이용하였다.

(3) 天門冬 수침액의 조제 : 본 實驗에 使用한 天門冬(RADIX ASPARAGI)은 원광대학교 한의과대학 부속 익산한방병원에서 75g 구입한후 정선하여 약탕기에 적당량의 증류수(200cc)를 넣고 약 3시간 다려서 조제했다. 조제한 수침액은 濾過하여(약10g) 냉동건조한 다음 4°C에 보관하여 실험시 사용하였다.

2. 實驗方法

(1) 생쥐腦의 一次 腦神經膠細胞 培養 : 一次 腦의 神經膠細胞 培養은 Fontana 등⁴⁰⁾의 방법에 따랐다. 즉 생후 2~3일째 되는 새끼 생쥐의 腦膜을 제거한 후 腦를 적출하여 파이펫으로 교반하며 잘게 분리하였다. 분리하여 얻은 세포는 20% 우태아혈청을 포함하는 DMEM 培養液에 부유시켜 직경 100 mm의 세포배양용 petri-dish에 분주하여 3일마다 새 培養液을 첨가해 주면서 3주동안 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 培養하였다. 培養 21일째, 培養 dish에 부착된 腦神經膠細胞는 0.25% Trypsin-0.05% EDTA를 처리하여 수집한 후 800 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상등액을 제거한 후 組織 培養 plate에 한 well당 4 × 10⁵ cell을 분주하여 5% CO₂ 배양기에서 24시간동안 培養한 後, 培養液을 교환하여 부착된 腦神經膠細胞만을 實驗에 使用하였다. 이상의 조건하에서 부착된 腦神經膠細胞는 대부분 (약 90%)이 性狀細胞로 구성되어 있다. 腦神經膠細胞 培養液에 LPS (1 µg/ml), substance P (1 µM/ml) 또는 天門冬을 처리하여 18~24시간동안 계속 培養하였다.

(2) Substance P 제조 : substance P 용액에 내독소 오염이 되지 않도록 특별한 주의를 하면서 다음과 같이 제조했다. 펩타이드 substance P를 0.01% acetic acid에 용해했다. Acetic acid는 glacial acetic acid를 1/10,000로 희석한 다음 0.2-µm filter로 濾過하였다. Substance P 貯藏溶液 (1 mM)은 -20°C에 보관하여 使用 直前에 내독소가 없는 증류수에 희석하여 使用하였다.

(3) TNF-α 측정 : 培養液內 生成된 TNF-α의 측정은 Scuderi 등⁵⁰⁾이 기술한 方法에 준하여 약간 변형된 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)로 실시하였다. 즉 anti-murine TNF-α capture mAb는 flat-bottomed 96-well plate(Corning, Rochester, NY)에 coating buffer(0.02% sodium azide를 함유한 PBS, pH = 7.2)를 이용하여 각 well당 최종농도 6.25 ng으로 처리한후 4°C에서 12시간동안 코팅하였다. 코팅후, 비특이적 결합부위를 막기 위하여 2% BSA를 함유한 PBS로 구성된 blocking buffer를 첨가하여 37°C에서 2시간동안 blocking하였다. 다시 0.05% Tween 20을 함유한 PBS로 조성된 washing buffer로 4회 세척후 recombinant mouse TNF-α 표준액과 각 sample의 배양상등액을 각 well에 100 µl씩 가하여 37°C에서 2시간동안 培養하였다. 다시 0.05% Tween 20을 함유한 PBS로 4회 세척후 rabbit anti-murine TNF-α를 1% BSA를 함유한 PBS를 이용하여 7.8 ng/ml 농도로 희석한후 well에 처리하여 37°C에서 2시간동안 培養하였다. 다시 washing buffer로 7회 세척후 phosphatase가 결합된 goat anti-rabbit IgG(Sigma Co.)를 100 ng/ml 농도로 각 well에 처리한 다음 37°C에서 2시간 배양한후 7회 세척하였다. 마지막 세척후 0.05 M NaHCO₃와 0.05 mM MgCl₂로 조성된 buffer에 용해시킨 p-nitro phenyl phosphate(PNPP) 발색제를 100 µl씩 각 well에 가하여 10분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader를 이용하여 405 nm 파장에서 TNF-α의 양을 측정하였다.

(4) IL-1 측정 : 생물학적으로 활성있는 IL-1의 양은 Kaye 등⁴¹⁾의 方法을 변형하여 측정했다.

(5) 통계학적 분석 : 모든 자료는 means \pm S.E.로 나타내었으며, 통계학적 분석은 student's t-test로 행하였다. 유의수준은 $P < 0.01$ 로 하였다.

III. 實驗成績

1. LPS와 substance P 동시자극에 의한 腦神經膠細胞로부터 TNF- α 分泌의 增加

맨 먼저 가장 중요한 炎症性 細胞活性物質로서 알려진 TNF- α 가 腦神經膠細胞로부터 分泌되는 조건을 확립하였다. Fig. 1에 나타낸바와 같이 LPS(10^{-3} - $10^0 \mu\text{g/ml}$)는 一次 混合 腦神經膠細胞 培養(약 10% 정도의 腦小膠細胞 함유)으로 부터 농도의존적으로 TNF- α 의 分泌를 자극했다. LPS 처리에 의한 腦神經膠細胞로부터 TNF- α 의 分泌는 18~24시간 후에 최고치를 나타냈다(Fig. 2).

다음은 substance P 처리에 의한 腦神經膠細胞로부터 TNF- α 의 分泌量을 조사하였다. substance P의 단독처리에 의해서는 고농도($1 \mu\text{M}$)에서도 TNF- α 의 分泌에 큰 影響을 미치지 못하였다(Fig. 3). 따라서 저자는 LPS와 substance P 동시처리에 의한 上昇效果를 實驗하였다. Fig. 4에 보인 것처럼 腦神經膠細胞 배양액에 LPS($1 \mu\text{g/ml}$)와 substance P(10^{-1} , $10^0 \mu\text{M}$)를 동시에 처리하였을 때 TNF- α 의 分泌量은 LPS($1 \mu\text{g/ml}$) 단독 처리하였을 경우보다 약 3배 增加하였다. 이러한 상승적 效果는 LPS를 처리한 모든 농도에서 나타났다. 한편 腦小膠細胞만을 순수 분리하여 LPS 및 substance P 처리에 의한 TNF- α 의 分泌量을 측정하였다. 이 實驗에서는 유의성있는 결과를 얻지 못하였다 (data not shown).

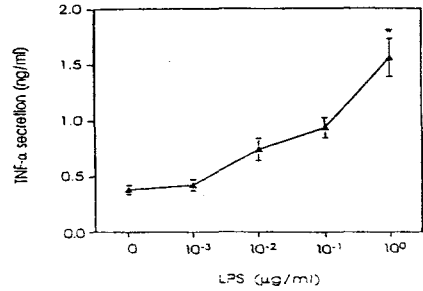


Fig. 1. Dose-dependent effect of LPS on TNF- α secretion in primary glial cultures. The cells(4×10^5 cells/well) were stimulated with various concentrations of LPS. After 18 h of culture TNF- α secretion was measured by ELISA method. TNF- α secreted into the medium is presented as the mean \pm S. E. of three independent experiments each run in duplicate. $P < 0.01$ level: significantly different from the control.

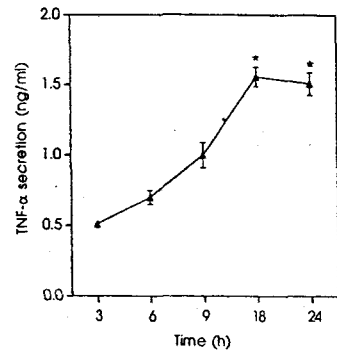


Fig. 2. Time-dependent effect of LPS on TNF- α secretion in primary glial cell cultures. The cells(4×10^5 cells/well) were stimulated with various times of LPS treatment. After the various times of culture TNF- α secretion was measured by ELISA method. TNF- α secreted into the medium is

presented as the mean \pm S. E. of three independent experiments each run in duplicate. $P < 0.01$ level; significantly different from the control.

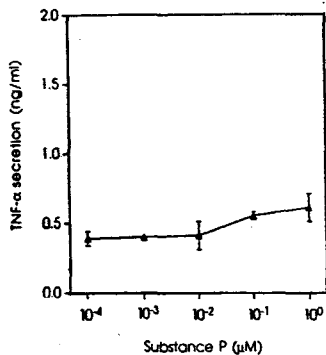


Fig. 3. Dose-dependent effect of substance P on TNF- α secretion in primary glial cell cultures. The cells(4×10^5 cells/well) were stimulated with various concentrations of substance P. After 18 h of culture TNF- α secretion was measured by ELISA method. TNF- α secreted into the medium is presented as the mean \pm S. E. of three independent experiments each run in duplicate.

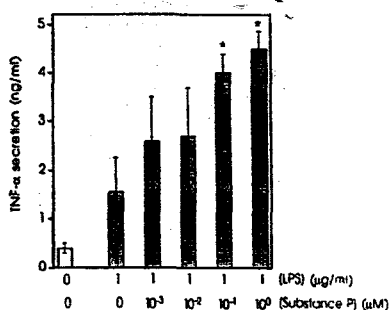


Fig. 4. Synergistic effect of LPS and substance P on TNF- α secretion. The cells(4×10^5 cells/well) were stimulated with various concentrations of substance P. After 18 h of culture TNF- α secretion was measured by

ELISA method. TNF- α secreted into the medium is presented as the mean \pm S. E. of three independent experiments each run in duplicate. $P < 0.01$ level; significantly different from the control.

2. 腦神經膠細胞로 부터 TNF- α 分泌에 있어서 天門冬의 效果

腦神經膠細胞에서 LPS(1 μ g/ml)와 substance P(1 μ M)의 동시 처리에 의한 최대치의 TNF- α 分泌量을 나타내는 조건에서 天門冬 처리 效果를 분석하였다. 天門冬(10-1-103 μ g/ml)은 용량의존적으로 LPS와 substance P에 의해 유도되는 TNF- α 의 分泌量을 감소시켰다(Fig. 5). 특히 天門冬 101-103 μ g/ml 농도에서는 매우 현저한 抑制效果를 나타내었다($P < 0.01$). 天門冬은 LPS와 substance P를 처리한 다음 부가하였다.

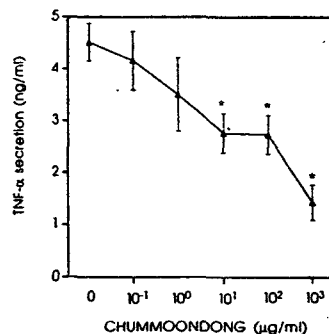


Fig. 5. Effect of RADIX ASPARAGI on LPS plus substance P induced-TNF- α secretion in primary glial cell cultures. The cells(4×10^5 cells/well) were stimulated with various concentrations of RADIX ASPARAGI. After 18 h of culture TNF- α secretion was measured by ELISA method. TNF- α secreted into the medium is presented as the mean \pm S. E. of five independent experiments each run in duplicate. $P < 0.01$ level; significantly different from the control.

3. 腦神經膠細胞로 부터 TNF- α 分泌에 있어서 IL-1의 效果

면역계에서 IL-1은 TNF- α 분비조절제로 알려져 있기 때문에 LPS 및 substance P 동시 자극에 의한 TNF- α 의 分泌量 增加時에 IL-1 抗血清의 效果를 實驗하였다. 腦神經膠細胞 培養液에 LPS(1 μ g/ml)와 substance P(1 μ M)를 처리한 다음 IL-1 α 抗血清을 1/500로 희석하여 18시간후에 TNF- α 分泌量을 측정하였다. Fig. 6에 나타낸 바와 같이 IL-1 α 抗血清을 처리한 군은 현저히 TNF- α 分泌量이 감소하여 LPS(1 μ g/ml)만을 단독처리한 군보다 오히려 낮았다.

다음은 직접적으로 天門冬이 IL-1의 分泌에 미치는 影響을 實驗하기 위해 LPS, substance P 및 약물을 다양한 용량으로 처리하여 腦神經膠細胞에서 分泌되는 IL-1의 양을 측정하였다. 腦神經膠細胞로 부터 IL-1의 分泌는 TNF- α 의 分泌 조건과 유사하게 나타났으며 天門冬은 용량 의존적으로 IL-1의 分泌를 抑制하였다(Fig. 7).

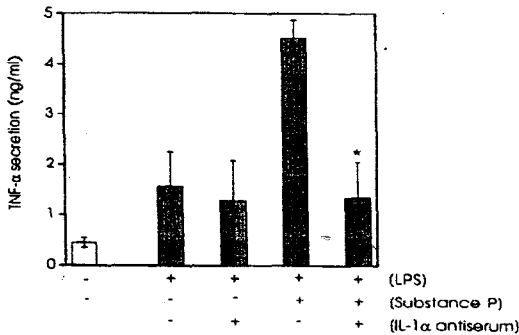


Fig. 6. Effect of IL-1 antiserum on TNF- α secretion in primary glial cell cultures. The cells(4 \times 10⁵ cells/well) were stimulated with various combination of LPS, substance P, or IL-1 α antiserum. After 18 h of culture TNF- α secretion was measured by ELISA method. TNF- α secreted into the medium is presented as the mean \pm S. E. of three independent experiments each run in duplicate. P < 0.01

level; significantly different from the control.

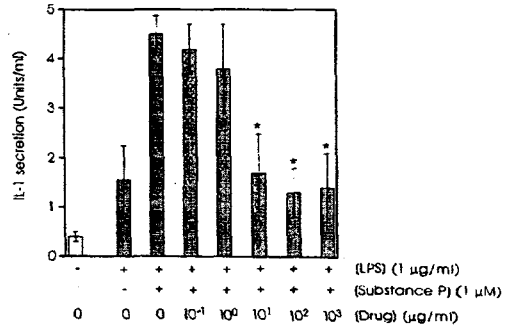


Fig. 7. Effect of RADIX ASPARAGI on IL-1 secretion in primary glial cell cultures. The cells(4 \times 10⁵ cells/well) were stimulated with LPS, substance P, or various concentrations of RADIX ASPARAGI. After 18 h of culture IL-1 secretion was measured by ELISA method. IL-1 secreted into the medium is presented as the mean \pm S. E. of three independent experiments each run in duplicate. P < 0.01 level; significantly different from the control.

IV. 考 察

人口增加와 人類의 平均壽命 年長으로 老齡人口가 점점 增加하게 됨에 따라 腦의 退行性 變化로 인한 疾患을 비롯한 여러 가지 의학적 문제점들이 社會問題로 대두되고 있다^{18,33}. 보건사회연구원은 97년 1월 “痴呆老人의 복지 서비스 현황과 정책과제”라는 報告書에서 96년 12월 현재 60세이상 痴呆老人이 145,000명이며, 2020년에는 2.7배로 397,000명으로 늘어날것으로 전망했다. 또 우리나라 痴呆老人의 症狀는 輕症이 59.2%, 中等症이 27.2%, 重症이 13.6%로 분석했으나, 治療를 통해 完治되는 患者는 14%에 불과했고, 症勢의 단순지연이 20%였으며 66%는 治療가 불가능한것으로 드러났다. 그리고 95년도 統計廳이 발표한 95년 死亡原因 統計結

果에 따르면 86년 이후 10년간 增加幅이 가장 큰 死亡原因은 알콜 中毒, 痴呆와 같은 精神 및 行動障礙로 무려 660%의 增加率을 기록했다.(高血壓, 腦血管疾患, 動脈硬化症과 같은 循環系疾患, 癌, 交通事故 등의 각종 사고순)

痴呆는 人間の 老化 와 腦의 退行性 病變과 관련되어 있는데 腦의 老化는 神經細胞의 減數 및 萎縮를 비롯하여 神經원섬유의 엉킴(Neurofibrillary tangles), 노인성 神經반(Senile plaque), 顆粒空胞變性(Granulovacuolar degeneration) 및 Lewy 小體 등이 출현하는 組織病理學的 變化 이외에도 Cholinergic 계, Noradrenergic 계, Dopamine 등의 神經傳達物質(neurotransmitters) 減少와 Aluminium 등의 금속 Ion 축적 등과 같은 생화학적 변화를 유발시킨다^{30,32,35}. 이러한 腦의 退行性 疾患으로는 大腦皮質에 침범하여 精神活動 障礙를 수반하는 老人性 痴呆(Alzheimer's disease), Pick's disease 등과 기저부 神經질을 침범하여 운동신경계에 장애를 발생시키는 Huntington's disease, Parkinson's disease 등이 있다³⁶.

韓醫學에서 腎은 臟腑學說 가운데 하나의 중요한 器官으로서 人體 生命活動의 物質基礎이다⁷. 腎은 精을 藏하고 精은 氣로 化할수 있어 腎精에서 化生되어진 腎臟精氣의 盛衰는 人間の 生殖 및 生長發育의 능력에 결정적인 작용을 한다. 그러므로 《素問·上古天真論篇》¹²에서는 “丈夫八歲 腎氣實……二八 腎氣盛……七八……腎臟衰形體皆極……”라 하여 腎이 人體의 生殖·生長發育·老衰에 密接하게 關係하고 있음을 말하였다⁷.

그리고 《素問·宣明五氣篇》¹²에서는 “五臟所主……腎主骨”이라 하여 腎이 骨髓의 生長과 密接한 관련이 있음을 설명하고 있다. 腎은 精을 藏하고 精은 水을 生하며 髓는 骨을 養하는데, 髓가 骨中에 所藏되어 있기 때문에 骨髓라고 부른다. 그러므로 腎精이 充足하면 骨髓가 풍부해지고 骨格도 生長·堅實해지므로 “腎主骨”이라는 說이 생겨나게 되었다. 그러나 만약 腎精이 虛小하면 骨髓의 化源이 不足해져서 骨格을 滋養하지 못함으로써 骨髓가 脆弱·無力하게 되고,甚하면 發育不全이 되기도 한다. 骨髓는 脊髓까지도 포괄하고 있고 脊髓는 腦로 通하며 腦는 髓가 모여서 이루어진 것이

기 때문에 “腦爲髓之海”¹³라고 부른다. 腦는 精神思考 活動을 主管하므로 李³¹은 “腦爲元神之府”라고도 하였는데, 腦의 機能은 腎精의 부단한 生化에 依存하지 않을 수 없으므로 사람의 思考活動은 神明을 주관하는 心 뿐만 아니라 腎精과도 밀접한 관련을 맺게 되는 것이다. 그러므로 腎精이 充足하면 生體機能이 旺盛해지고 髓가 充滿하면 腦로 上通하는 까닭에 腦가 精神思考 活動을 주관하는 것도 궁극적으로는 腎精機能의 한 가지 표현이라고 말할 수 있다. 주로 精神, 思惟 등의 各種 高位 中樞神經의 活動이 腎과 서로 連繫됨을 《素問·宣明五氣篇》과 《素問·調經論篇》에서는 “腎藏志”로 표현하였다¹². 志는 事物을 잊지 않고 記憶하는 堅定不移의 표현이므로 만약 腎精이 充足하면 意志가 堅強하고 記憶력이 좋아지며, 腎精이 不足하면 腦髓가 不足해짐에 따라 意志가 衰退하고 頭暈·健忘·失眠 등의 症狀이 나타나고 甚하면 思考하는 것이 遲延해지기도 한다³⁷.

天門冬은 《神農本草經》¹⁴의 上品에 “天門冬 味甘平 主諸暴風濕痺痺 強骨髓 殺三蟲 去伏尸 久服輕身 益氣延年”으로 처음 記錄되고 한글명으로는 “부지깅이”²⁴ “호라지쫘”²⁸으로 記錄되어 있다. 天門冬의 效能으로는 通腎氣, 鎮心利小便, 潤五臟한다^{19,27} 하였으며 이외에도 滋腎陰, 抗腫瘤한다¹⁵ 하였다. 天門冬에 關한 文獻의 研究로 金 등²⁹이 麥門冬과 比較하여 天門冬은 肺, 腎經으로 入하여 養陰潤肺, 滋腎陰, 強骨髓의 效能으로 腎陰虛로 因한 潮熱, 消渴, 遺精, 五勞七傷, 失眠, 多夢 등에 쓰인다고 하였다.

이를 綜合해보면 天門冬은 寒性이 比較的 強하며 肺經뿐만 아니라 腎經에도 入하여 滋腎養陰의 效能으로 腎陰虛로 因한 潮熱, 消渴, 遺精, 五勞七傷, 失眠, 多夢 등을 치료하는데 쓰이며 특히 腎과 密接한 關係를 가지고 있음을 알수 있다. 한편 韓醫學의 腎의 概念은 腦와 相關性을 가지고 있어 腦髓는 腎精이 變化한 것으로 이에 의해 腦髓의 正常과 病態는 腎臟精氣의 盛衰에 따라 診斷되며, 腎精이 不足하면 嬰幼兒의 大腦發育이 障礙를 받게 되고 成人이나 老人들의 腦機能이 減退된다. 그러므로 補腎, 滋腎하는 藥物들은 腦의 機能을 改善하는데 일정한 作用을 가지고 있는 것으로 알려져 있다³.

일반적으로 알츠하이머병, 다발성 경화증, 에이즈 등은 腦의 退行性 變化로 인한 痴呆의 原因 疾患들로 認識^{33,36)} 되고 있는데 이런 다양한 神經病理疾患에는 細胞活性物質들이 關與하는 것으로 알려져 있다^{38,39,56)}. 알츠하이머병에 있어서 종양괴사인자 알파(tumor necrosis factor α , TNF- α)와 인터루킨 1 (interleukin 1, IL-1)이 뇌척수액에 增加되어 있고^{38,39,42,56)}, 주조직적합항원의 비정상적 발현이 나타나며,⁵¹⁾ IL-1은 β -amyloid 유전자의 발현을 촉진시킨다⁴¹⁾.

다발성경화증에서 TNF- α 는 乏枝神經膠(oligodendrocyte)를 사멸시키고 髓素(myelin)를 파괴시킬 것으로 생각하고 있다⁵³⁾.

에이즈와 관련된 痴呆(dementia)患者에 있어서도 뇌척수액에 이들 細胞活性物質이 역시 增加되어 있고⁵⁰⁾ 비정상적인 주조직적합항원의 발현이 일어나며⁴⁴⁾ TNF- α 는 培養한 뇌소교세포에서 HIV-1의 발현을 增加시킨다⁵⁶⁾.

저자는 본 研究에서 滋腎陰 強骨髓 養陰 潤肺하는 天門冬이 腦의 神經膠細胞에서 LPS와 substance P의 동시자극에 의해 생성되는 炎症性 細胞活性物質인 TNF- α 및 IL-1의 分泌를 抑制하는 것을 證明했다. 腦神經膠細胞로부터 TNF- α 및 IL-1의 分泌에는 LPS의 자극이 필요하고 substance P의 존재에 의해 자극이 더욱 增加되는 것을 확인했다. 이들 培養에서 substance P 단독으로는 TNF- α 및 IL-1의 分泌에 影響을 미치지 못했다. Torrens 등⁵⁵⁾은 混合 神經膠細胞에서 substance P의 결합부위를 발견했으며 小膠細胞에서는 substance P의 수용체를 검출할 수 없었다. 이러한 결과는 substance P 수용체가 神經膠性狀細胞에 존재하고 있는 것을 의미하고 있다. 본 研究의 結果에서도 小膠細胞에서는 substance P의 반응성이 관찰되지 않았기 때문에 이들 결과와 일치하고 있다. 또한 저자는 substance P가 순수한 腦小膠細胞가 아닌 混合된 腦神經膠細胞에서 IL-1의 分泌를 促進시키는 것을 발견했다. Substance P에 의한 IL-1의 分泌 增加 역시 LPS의 동시자극에 의해서 상승적인 效果를 나타내었다. IL-1 抗血清에 의해 substance P 유도성 TNF- α 分泌의 增加가 抑制되기 때문에 IL-1은 TNF- α 增加를 媒介하는 역할을 하는 것으로 思料된다. 이와같은 結果는

substance P가 中樞神經系의 神經에서 生成되는 神經傳達物質로서 炎症反應에 關여하는 중요한 분자임을 의미하는 증거이다. Substance P가 생체내에서 내독소에 의한 낮은 수준의 細胞活性物質의 生成을 현저하게 增加시키는 役割을 하는 것은 알츠하이머병, 다발성경화증, 에이즈관련치매와 같은 神經病理疾患과 直接的인 關聯性이 있는 것을 암시하고 있다. 최근, 활성화상태(active) 다발성경화증 患者의 뇌척수액에 존재하는 TNF- α 의 양이 안정상태(stable) 다발성경화증 患者 및 정상대조군보다 현저히 높은 수준인 것을 보고했다⁵⁴⁾. 이러한 發見은 활성화 다발성경화증에서 病理學的인 變化를 TNF- α 의 측정에 의해 인식할 수 있는 중요한 지표를 제공해준다. 실험동물을 이용한 天門冬의 炎症性 細胞活性物質 生成의 抑制效果의 발견은 天門冬의 臨床의 效果 기전을 규명하는 것으로 장차 계속적인 研究에 의해 생체내 實驗에 의한 天門冬의 效果 확인은 물론 substance P를 함유하는 神經細胞領域에서 病理學的 探究에 의한 특별한 腦疾患과의 關聯性 규명이 필요할 것으로 思料된다.

V. 結 論

腦神經膠細胞를 이용한 天門冬의 炎症性 細胞活性物質의 分泌 抑制 效果를 규명하기 위하여 實驗한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 腦神經膠細胞로부터 LPS에 의한 TNF- α 의 分泌는 substance P에 의해 상승적으로 增加했다. 그러나 substance P만으로는 TNF- α 의 分泌에 影響을 미치지 못하였다.
2. 天門冬은 LPS와 substance P에 의한 TNF- α 의 分泌를 용량의존적으로 抑制했다.
3. 腦神經膠細胞로부터 TNF- α 의 分泌는 IL-1의 매개에 의해 일어났다.
4. 腦神經膠細胞로부터 IL-1의 分泌는 substance P 농도 의존적으로 增加했다.
5. 天門冬은 LPS 존재하에 substance P 첨가에 의한 IL-1의 分泌를 용량의존적으로 抑制했다.

以上과 같은 結論은 天門冬이 腦神經膠細胞에 效果

的으로 作用하여 主要한 炎症性 細胞活性物質의 生成을 抑制한 것을 意味하며 계속적인 研究에 의해 痴呆 등의 다양한 腦疾患에 臨床應用이 可能할 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 龔信 : 古今醫鑑, 江西, 江西科學技術出版社, pp.193-194, 1990.
2. 龔廷賢 : 增補萬病回春, 서울, 一中社, pp.229-230, 1994.
3. 金完熙·崔達永 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, pp.281-288, 1985.
4. 金完熙 : 한의학원론, 서울, 成輔社, pp.184-185, 1978.
5. 戴新民 : 中國藥材學, 北京, 啓業書局, pp.693-698, 1974.
6. 大友英一 : 老年期痴呆의 對應, 日本, 永井書店, p.1, 1993.
7. 류도곤 : 東醫生理學講義, 益山, 圓光大學校出版社, pp.365-377, 413-415, 506-507, 1996.
8. 배영철외 : 노인의학, 서울, 고려의학, pp.193-209, 1996.
9. 北京中醫學院中藥教研室編 : 藥性歌括四百味白話解, 北京, 人民衛生出版社, pp. 10-11, 1962.
10. 孫思邈 : 備急千急要方(卷四十), 서울, 杏林出版社, pp.12-13, 1976.
11. 新民教 : 原色臨床本草學, 서울, 永林社, pp.231, 1995.
12. 楊維禎 : 黃帝內經譯解(素問), 서울, 成輔社, pp.1-12, 100-103, 206-211, 455-468, 1980.
13. 楊維禎 : 黃帝內經譯解(靈樞), 서울, 成輔社, pp.280-283, 1980.
14. 吳普 : 神農本草經, 서울, 醫道韓國社, p.12, 16, 1973.
15. 王大觀 : 本草經義疏, 北京, 人民衛生出版社, pp.28-31, 42-43, 1990.
16. 王青任 : 醫林改錯, 台聯, 國風出版社, pp.22-25, 1975.
17. 袁立人外 : 中醫老年病學, 上海, 上海中醫院出版社, pp.317-320, 1992.
18. 이근후 : 최신임상정신의학, 서울, 하나의학사, pp.138, 216-228, 1988.
19. 李時珍 : 本草綱目, 서울, 高文社, pp.603-604, 1973.
20. 李中梓 : 醫宗必讀, 서울, 一中社, pp.323-324, 1991.
21. 李槿 : 編註醫學入門(卷二), 서울, 大成文化社, pp.180-182, 1984.
22. 張介賓 : 經岳全書, 上海, 上海科學技術出版社, p.576, 1991.
23. 錢鏡湖 : 辨證奇門全書, 서울, 甘地出版社, pp.233-235, 1990.
24. 鄭普燮·新民教 : 鄉藥大事典, 서울, 永林社, pp.164-165, 1990.
25. 陳士鐸 : 辨證錄, 서울, 醫聖堂, pp.241-246, 1989.
26. 陳士鐸 : 石室秘錄, 서울, 杏林出版社, pp.208, 1987.
27. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, pp.79, 104, 142, 146, 273, 455, 510, 720-721, 1980.
28. 黃道淵 : 方藥合篇, 서울, 南山堂, pp.178, 205, 1978.
29. 金在煥·朱榮丞 : 麥門冬과 天門冬의 效能에 關한 文獻的 考察, 本草分科學會誌 第9卷 第1號, pp.127-141, 1994.
30. 김진수 : Alzheimer's disease의 신경화학적 변화에 관한 고찰, 大韓神經科學會誌, 3(1):10-15, 1985.
31. 류영수·최공한 : 記憶障礙에 關한 東·西醫學的 比較, 研究, 東醫神經精神科學會誌 7(1):155-166, 1996.
32. 이근후 : 精神科 영역에서의 痴呆, 大韓神經科學會誌, 3(1):25-27, 1985.
33. 李東垣外 : 痴呆에 關한 東西醫學的 比較 考察, 大韓韓方內科學會誌 16(1): 2-5, 11, 14, 1995.
34. 鄭仁哲·李相龍 : 痴呆에 對한 文獻的 考察, 東醫神經精神科學會誌 7(1): 77-94, 1996.
35. 지제근 : 치매(Dementia)의 병리, 大韓神經科學

- 會誌 3(1), 1985.
36. 崔龍竣 : 定志丸이 腦組織의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 實驗的 研究, 1997.
 37. 黃義完外 : 痴呆에 對한 韓醫學的 臨床研究, 東醫神經精神科學會誌 7(1): 01 -13, 1996.
 38. Brosnan, C. F., Selmaj, F. K. and Raine, C. S. (1988) Hypothesis: a role for tumor necrosis factor in immune-related demyelination and its relevance to multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 18, 87.
 39. Fillit, H., Ding, W. H., Buce, L., Kalman, J., Altstiel, L., Lawlor, B. and Wolf-Klein, G. (1991) Elevated circulating tumor necrosis factor levels in Alzheimer's disease. *Neuroscience Lett.* 129, 318.
 40. Fontana, A., Kristensen, F., Dubs, R., Gemsa, D., Webew, E. (1982) Production of prostaglandin E and an interleukin-1 like factor by cultured astrocytes and C-6 glioma cells. *J. Immunol.* 129, 2413.
 41. Forloni, G., Demicheli, F., Giorgi, S., Bendotti, C. and Angeretti, N. (1992) Expression of amyloid precursor protein mRNAs in endothelial, neuronal, and glial cells: modulation by interleukin-1. *Brain Res. (Mol. Brain Res.)* 16, 128.
 42. Giffin, W. S., Stanley, L. C., Lung, C., White, L., MacLeod, V., Perott, L. J., White, C. L. and Araoz, C. (1989) Brain interleukin-1 and S-100 immunoreactivity are elevated in Down syndrome and Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 7611.
 43. Kaye, J., Jones, B. and Janesay, C. (1984) The structure and function of T cell receptor complexes. *Immunol. rev.* 81, 39.
 44. Koenig, S., Gendelman, H. E., Orenstein, J. M., Dal Canto, M. C., Pezeshkpour, G. H., Yungbluth, M., Janotla, F., Aksamit, A., Martin, M. A. and Fauci, A. S. (1986) Detection of AIDS virus in macrophages in brain tissue from AIDS patients with encephalopathy. *Science* 233, 1089.
 45. Laurenzi, M. A., Persson, M. A. A., Dalsgaard, C.-J. and Haegerstrand, A. (1990) The neuropeptide substance P stimulates production of interleukin 1 in human blood monocytes: activated cells are preferentially influenced by the neuropeptide. *Scand. J. Immunol.* 31, 529.
 46. Lembeck, F. and Holzer, P. (1979) Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilation and neurogenic plasma extravasation. *Naunym-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 310, 175.
 47. Ljungdahl, A., Hokfelt, T. and Nilsson, G. (1978) Distribution of substance P-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat-I. Cell bodies and nerve terminals. *Neuroscience* 3, 861.
 48. Lotz, M., Vaughan, J. H. and Carson, D. A. (1988) Effect of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes. *Science* 241, 1218.
 49. Mantyh, P. W., Johnson, D. J., Boehmer, C. G., Catton, M. D., Vinters, H. V., Maggio, J. E., Too, H. -P. and Vigna, S. R. (1989) Substance P receptor binding sites are expressed by glia in vivo after neuronal injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 5193.
 50. Perrella, O., Carrieri, P. B., Guarmaccia, D. and Soscia, M. (1992) Cerebrospinal fluid cytokines in AIDS dementia complex. *J. Neurol.* 239, 387.
 51. Rogers, J. and Lubner-Narod, J. (1988) Immune actions in the nervous system: a brief review with special emphasis on Alzheimer's Disease. *Drug Devel. Res.* 15, 227.
 52. Scuderi, P., Sterling, K. E., Lam, K. S., Finley, P. R., Ryan, K. J., Ray, C. G., Petersen, E., Slymen, D. J. and Salmon, S. E. (1986) Raised serum levels of tumor necrosis factor in

parasitic infections. *Lancet* 2, 1364.

53. Selmaj, K. W. Raine, C. S. (1988) Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. *Ann. Neurol.* 23, 339.
54. Sharief, M. K. and Thompson, E. J. (1992) In vivo relationship of tumor necrosis factor- α to blood-brain barrier damage in patients with active multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 38, 27.
55. Torrens, Y., Beaujouan, J. C., Saffroy, M., Daguat de Montety, M. C., Bergstrom, L. and Glowinski, J. (1986) Substance P receptors in primary cultures of cortical astrocytes from the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 9216.
55. Vitkovic, L., Kalevic, T., de Cunha, A. and Fauci, A. S. (1990) Astrocyte conditioned medium stimulates HIV-1 expression in a chronically infected promonocyte clone. *J. Neuroimmunol.* 30, 153.

= ABSTRACT =

Inhibitory Effect of Inflammatory Cytokines Secretion from Brain Neuroglial Cells by RADIX ASPARAGI

Heong Won Kang,
Yeong Su Lyu

Dept. of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Won Kwang University

Substantial evidence has accumulated that Alzheimer's disease is associated with a local inflammatory reaction in senile plaques which may be immunemediated, and includes extensive Brain Neuroglial invasion, lymphocytic infiltration, cytokine depo-

sition. Tumor necrosis factor α (TNF- α) is a cytokine which plays an important immunoenhancing role in the local acute and chronic inflammatory response in response to a variety of stimuli. The neuropeptide, substance P, can stimulate secretion of TNF- α from Brain Neuroglial cells. Neuroglia have substance P receptors in the central nervous system. We investigated whether RADIX ASPARAGI inhibits secretion of TNF- α from primary cultures of Brain Neuroglial cells containing both astrocyte (~90%) and microglia (~10%). RADIX ASPARAGI dose-dependently inhibited the TNF- α secretion induced by substance P plus lipopolysaccharide (LPS). In cultures enriched for microglia (>95% pure), LPS stimulated the secretion of TNF- α but substance P caused no enhancement. Because there was no synergism between substance P and LPS in the microglial cultures it is reasonable to conclude that astrocytes are necessary for the substance P mediated enhancement of TNF- α secretion. IL-1 is a modulator of TNF- α secretion in the immune system. Also IL-1 has been shown to elevate TNF- α secretion from LPS-stimulated Brain Neuroglial cells while having no effect on Brain Neuroglial cells in the absence of LPS. We therefore investigated whether IL-1 mediates the RADIX ASPARAGI inhibition of TNF- α secretion from primary Brain Neuroglial cells. Treatment of RADIX ASPARAGI to mixed cultures stimulated with both substance P and LPS decreased TNF- α secretion to the level observed with LPS alone. These results indicate that RADIX ASPARAGI possess strong antiinflammatory activity in the central nervous system by inhibition of inflammatory cytokines secretion from Brain Neuroglial cells.