

발열 상태에서 투여된 鹿茸과 小兒補血湯 加 鹿茸이 발열 양상의 변화 및 학습과 기억에 미치는 영향

崔赫鏞 · 李進容 · 金德坤

慶熙大學校 大學院 韓醫學科 小兒科學 專攻

Effects of Cervi cornu parvum and Soahbohyul - tang combined with Cervi cornu parvum on LPS-induced fever pattern differences in rabbits, and learning and memory in rats.

Hyuk - yong Choi

Graduate school of Kyunghee Univ., Seoul, Korea
(Directed by prof. Deog - kon Kim, O.M.D., Ph.D.)

It has been widely said in Korea that early administrations of Cervi cornu parvum (deer antler) to febrile infants affect brain functions. Traditional Oriental Medicine states that the head is easily affected by fever and only an excess of heat causes headaches. Traditional Oriental Medicine also states that Cervi cornu parvum cannot be used in febrile conditions.

With the aim of investigating different febrile response to LPS, experiments using intravenous injection of LPS have been carried out on Cervi cornu parvum(CCP) and Soahbohyul - tang combined with Cervi cornu parvum(SB-CCP) administered rabbits. Experiments were also conducted to evaluate the effects of early administration of CCP on learning and memory in 3 week old rats with LPS fever. These were evaluated by using the Morris water maze and the radial arm maze. Changes in body weight were also observed during this period. The results of these experiments are as follows.

1. In the experiments with febrile rabbits, the CCP and SB-CCP administered group showed statistically significant reductions of fever ($p < 0.05$).
2. In the experiments with febrile rabbits, CCP and SB-CCP administered rabbits resulted in the tendency of lower body temperatures and shorter fever periods than the control group.

3. There were no differences of mean body weight and fever patterns among the 4 groups in the experiments on young rats with LPS fever.

4. There was no statistical difference of mean response latencies among the rats in Group I (DDW administered), Group III (CCP administered), and group IV (SB-CCP administered) in the Morris water maze. However, Group II (the scopolamine administered group) showed delayed latencies on the second day of the first session ($p < 0.05$), and the second and third day of the second session ($p < 0.05$).

5. There were no statistical differences of mean response latencies among the rats in Group I, III and IV in the radial arm maze, but Group II showed delayed latencies on the first and third day of the first session ($p < 0.05$).

6. There was no influence from the administration of CCP and SB-CCP on the general behavior of the rats in Irwin's test.

These results suggest that Cervi cornu parvum and Soahbohyul-tang combined with Cervi cornu parvum have anti-pyretic actions on LPS fever. The results also suggest that these drugs have no influence on learning and memory in young rats with LPS fever in the Morris water maze and the radial arm maze.

I. 서론

小兒科 領域에서 補藥은 주로 虛弱兒를 對象으로 使用되어 왔다. 虛弱兒란 先天的 稟賦不足과 後天的 攝生의 잘못으로 氣血이 充實하지 못하고 正氣가 虛弱한 體質을 의미한다. 이러한 虛弱兒는 韓醫學的으로 虛證의 範疇에 包含되며 一般的으로 五臟虛證의 觀點에서 治療해오고 있다¹⁾.

鹿茸을 비롯한 補藥들은 不足한 氣血을 補強하여 疾病을 豫防하는 效果가 있는 것으로 알려져 있다. 그런데, 上氣道 感染등 發熱이 있을 때, 또는 熱性 體質의 小兒에게 鹿茸이 들어간 補藥을 投與하면 후에 知能低下, 혹은 肥滿兒가 된다는 俗說이 있다. 그러나 小兒의 病은 발열을 수반하는 경우가 많고

통계적으로 1~4세 어린이는 年間 5~8回 정도 發熱을 同伴하는 上氣道 感染에 걸린다고 보고되고 있다^{2,3)}.

鹿茸 (Cervi cornu parvum)의 性味는 甘鹹溫하고 肝腎經으로 歸經하며 補腎助陽하는 作用이 있어 補督脈, 助腎陽, 生精髓, 強筋骨의 대표적인 藥材로 사용되어 왔다^{4,5,6)}.

小兒補血湯은 洪家定診秘傳⁷⁾의 白茸湯 加減方으로 주로 呼吸器를 補하는 藥材를 加味하여 小兒 呼吸器 虛弱兒에게 使用되는 處方이다⁸⁾.

그간 學習과 記憶에 대한 研究로는 鄭⁹⁾의 鹿茸과 補兒湯 加 鹿茸을 이용한 研究, 禹¹⁰⁾와 李¹¹⁾의 調胃 升清湯을 이용한 研究, 姜¹²⁾과 柳¹³⁾의 香附子八物湯을 이용한 研究 등이 있었고, 鹿茸과 發熱의 相關性에 대한 研究로는 崔¹⁴⁾의 水針用 鹿茸抽出液이

pyrogen으로 作用하지 않는다는 報告가 있었으나 지금까지 發熱 狀態에서 투여된 鹿茸이 發熱 自體 및 學習과 記憶에 미치는 影響에 대한 研究는 없었다.

이에 저자는 發熱 狀態에서 投與된 鹿茸 및 小兒補血湯 加 鹿茸이 發熱 樣相의 變化와 學習, 記憶 및 體重 增加에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 토끼를 이용한 발열 실험, 흰쥐를 이용한 Morris water maze와 radial arm maze^{15,16,17,18)} 학습 과제 실험, 체중 증가 및 Irwin 실험 등을 실시하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 약재의 제조

(1) 약재

이 실험에서 사용된 처방은 鹿茸과 慶熙韓方處方集⁸⁾에 기재된 小兒補血湯에 鹿茸을 加味하여 사용하였다. 鹿茸 單味는 3.75g을 한 첩으로 하였으며 小兒補血湯 加 鹿茸의 내용과 1첩 용량은 아래와 같다.

(2) 검액의 조제

상기 처방에 따라 鹿茸 10첩 분량인 37.5g과 小兒補血湯 加 鹿茸 10첩 분량인 357.5g을 증류수 1,500 ml를 가하여 전기약탕기로 3시간 가열, 추출한 용액을 3겹으로 된 거즈에 통과시킨 다음 용액을 rotary evaporator로 감압 농축한 후 냉장 보관하면서 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

2. 발열에 미치는 영향 평가

(1) 동물

이 실험에 사용된 동물은 Newzeland white rabbit 중 체중 2.9~3.0Kg 사이의 수컷 토끼이며, 이 동물은 국제 실험 동물 위원회 (International Council for Laboratory Animal Science)의 품질관리 규정에 적합하게 실험동물을 유지하는 삼육실험동물 연구센터에서 분양한 것으로 SPF (specific pathogen free) 동물이다. 실험에 사용하는 동물은 2주일간 실험실 환경에 적응시켜 馴化期間을 거친 뒤 건강한 동물 12마리를 실험에 사용하였다.

Table 1. The Content of Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum

藥 名	生 藥 名	用 量 (g)
白 茯 神	Poria	8.00
元 肉	Longanae arillus	4.00
白 朮	Atractylodis macrocephalae rhizoma	4.00
當 歸	Angelicae gigantis radix	4.00
山 茱 萸	Corni fructus	4.00
砂 仁	Amoni semen	2.00
木 香	Helenii radix	2.00
青 皮	Citri reticulatae viride pericarpium	2.00
麥 芽	Hordei fructus germinatus	2.00
鹿 茸	Cervi cornu parvum	3.75
總 量		35.75

실험동물은 스테인레스 사육상자(420X500X310mm, 대종기계제작)에 상자당 한 마리씩 넣어 사육하며, 실험실의 사육장에 입사시키면서 실내 조명을 타이머에 연결하여 낮과 밤의 주기를 각각 12시간으로 조정하였다(07:00 점등, 19:00 소등).

사육실의 실온은 $21 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하고, 상대습도는 $55 \pm 10\%$, 조도 150~300lux로 정숙한 환경을 유지하며, 시간당 20분씩 환풍기를 작동시켜 환기를 하고 평균 필터가 내장된 공기 청정기를 사용하여 사육실의 공기를 깨끗하게 유지하였다. 사육 상자의 깔짚은 3일에 한 번씩 갈아주고 토끼용 고행사료(퓨리나사료 Co.)와 자동음수 공급기로 상수도수를 자유 섭취시켰다.

(2) 실험방법

Wakabayashi G 등¹⁹⁾의 방법에 준하여 실시하되, 멸균된 주사기(3ml, 23G, pyrogen free, 녹십자 의료공업 Co.)를 사용하고 온도측정은 thermo probe가 연결된 자동온도측정기인 pyrogen-tester type APT 75(Ellab Co.)를 사용하였다.

실험을 시작할 때 실험실의 온도는 용이한 발열의 유발을 위해 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 중성환경온도(Neutral thermal range:NTR)로 조절하였다. 실험 시작 5일 전에 이틀간 직장 내에 probe를 삽입하지 않은 상태에서 하루에 6시간씩 고정틀에서 자세를 순화시킨 다음, 계속되는 3일간 직장 내에 체온 측정용 probe를 70mm 정도 삽입한 상태에서 적응훈련을 시켰다. 실험 당일 아침 7:30에 직장 내에 체온 측정용 probe를 삽입하고 기계를 작동시킨 후, 약 2시간동안 15분 간격으로 체온을 기록하며 안정시킨 다음, 아침 9:30에 실험동물을 고정틀에서 꺼내었다. 곧 이어 동물을 3개군으로 나누어, 동일 용량의 증류수만을 투여한 Group I, 鹿茸을 투여한 Group II, 小兒補血湯 加 鹿茸을 투여한 Group III로 나누고, Group

I에는 증류수 (distilled water:DDW) 1.0ml/kg, Group II에는 鹿茸 3.75g/kg, Group III에는 小兒補血湯 加 鹿茸 35.75g/kg을 경구 투여용 주사바늘(intubation needle)을 이용하여 직접 위(stomach)로 투여하였다. 투여 용량은 1세 영아(10kg)의 1회 정상 복용량의 10배가 되게 하였다. 경구투여 후 다시 토끼를 고정틀에 고정시킨 후 probe를 다시 항문에 삽입하였다. 1.5시간 안정화시킨 후 모든 실험동물에 lipopolysaccharide(LPS, 1mg/Kg, E.coli 0127:B8, Sigma, St.Louis, MO)를 marginal ear vein으로 서서히 정맥주사하고, 약 7시간 동안 체온을 15분 간격으로 측정하였다.

(3) 통계처리

실험 결과 분석은 시간대별 각 측정치에 대한 Mean \pm Standard Deviation을 구하여 χ -Square 검증을 실시하였고, 결과의 유의미성을 판단하기 위한 유의도 수준은 $p < 0.05$ 로 설정하였다.

3. 학습 및 기억에 미치는 영향 평가

(1) 동물

이 실험에 사용된 동물은 체중 38.4~52.8g의 Sprague-Dawley계 수컷 Rat로, 한국 화학 연구소(Korea Research Institute of Chemical Technology) 실험 동물 육종실에서 공급받아 검역 및 순화 기간을 거쳐 건강한 동물 40마리를 실험에 사용하였으며 입수시 주령은 3주령이었다.

투여 개시 전에 체중을 측정하여 무작위법에 의하여 군분리를 실시하여 동일한 군내에는 가능한 한 중복자가 없도록 하였으며 전 실험 기간 동안 cage에 개체 식별 카드를 첨부하여 식별하였다.

이 시험은 온도 $30 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 조명 시간 12시간(오전 7시~오후 7시) 및 조도 150~300 Lux로 설정된 한국화학연구소 안전성연구센터

BS-2동 6호실에서 실시되었다. 실험 기간 중 동물실의 온, 습도는 자동온습도 측정기에 의하여 매시간 측정되었으며 환기 횟수 및 조도 등의 환경 조건은 정기적 (월 1회)으로 측정되었다. 환경 측정의 결과 시험에 영향을 미칠 것으로 사료되는 변동은 인정되지 않았다.

사료는 실험동물용 고형사료 (㈜ 제일사료)를 방사선 조사 (2.0Mrad)로 멸균하여 자유 섭취 시켰다. 물은 상수도를 자외선 살균기로 소독시킨 후 물병을 이용하여 자유섭취 시켰다.

(2) 검액의 투여

pyrogen의 투여에는 멸균된 주사기(3ml, 23G, pyrogen free, 녹십자 의료공업 Co.)를 사용하고 온도측정은 thermo probe가 연결된 자동온도측정기인 pyrogen-tester type APT 75(Ellab Co.)를 사용하였다.

실험 당일 아침 7:30에 직장 내에 체온 측정용 probe를 삽입하고 기계를 작동시킨 후, 2시간동안 30분 간격으로 체온을 기록하여 발열 상태가 아닌 것을 확인하고 아침 9:30에 모든 실험동물에 LPS(2.0mg/Kg, E.coli endotoxin 0127:B8, Sigma, St. Louis, MO)를 복강내주사(intraperitoneal injection) 하였다.

동물을 4개군으로 나누어, 증류수만을 투여한 Group I (n=10), 학습 및 기억 실험 직전에 scopolamine을 복강내 주사한 Group II (n=10), 鹿茸을 투여한 Group III (n=10), 小兒補血湯 加 鹿茸을 투여한 Group IV (n=10)로 나누고, Group I에는 증류수 (distilled water:DDW) 1.0ml/kg를 경구 투여, Group II에는 scopolamine 0.5mg/kg을 복강내 주사, Group III에는 鹿茸 3.75g/kg을 경구 투여, Group IV에는 小兒補血湯 加 鹿茸 35.75g/kg을 경구 투여하였다. Group I, III, IV의 약물은 LPS 투여 24시간

후에 경구 투여용 주사바늘 (intubation needle)을 이용하여 직접 위 (stomach)로 투여하였다. 투여 용량은 1세 영아(10kg)의 1회 정상 복용량의 10배가 되게 하였다.

첫 번째 약물 투여 후 24~72시간을 경과하여 발열이 완전히 자연 해소된 다음 동일한 방법으로 발열을 유발하고 약물을 투여하였다. 이와 같이 반복하여 총 2주간 4회의 약물 투여 기간을 가졌다. 검액의 투여는 3주령부터 시작하여 2주간 실시하였는데, 이는 이유 직후부터 발정기 전까지의 기간에 해당한다.

(3) 실험 장치

① Morris water maze (MWM)

이 장치는 원형의 수조와 도피대로 구성된다. 수조의 재질은 합성 수지이고 직경 160cm, 높이 50cm이다. 도피대의 높이는 20cm이고 직경 16cm인 백색 아크릴로 만들어져 있으며, 동물이 이 도피대를 찾아서 올라가면 물 밖으로 나갈 수 있다. 수조에는 21cm 높이로 물을 채우고 탈지 분유를 풀어 혼탁하게 하여 도피대가 보이지 않게 만들었으며 수온은 25°C를 유지하도록 하였다.

수조 위 천장 300cm에는 videotrack viewpoint (LYON, France)를 설치하고 전 실험 과정을 비디오 촬영하여 행동 분석에 사용하였다. Water maze의 주변은 비디오 카메라, 실험대, 그리고 실험대 위에 있는 수온 조절용 장치 등 공간 단서들을 일정하게 유지시켰고 실험 기간 동안 실험자의 위치도 동일하게 하였다.

② Radial arm maze (RAM)

이 장치의 재질은 흑색 아크릴이고 중앙의 출발 영역 (central platform)과 이곳에서 45도 각도로 뻗어 나온 8개의 주행로로 구성되어 있다. 중앙 출발 영역은 직경 40cm인 원에 내접하는 정팔각형 상자로

높이는 22cm이다. 주행로는 출발 상자의 각 면에 둘러린 가로 22cm, 세로 15cm 크기의 통로와 연결되어 있으며 길이는 70cm이고 뚜껑이 있어서 동물이 바깥으로 나가지 못한다. 주행로의 종착 지점에는 보상으로 제공하는 먹이나 물을 담을 수 있는 가로 3cm, 세로 8cm, 높이 8cm 크기의 용기 (음식 접시)가 설치되어 있다. 각 주로의 출발 지점과 주로의 종착 지점에는 각각 2개의 광전 탐지기를 부착하여 동물의 주로 출입 행동을 탐지하도록 만들었다.

주행로에 장치된 광전 탐지기에 동물의 움직임이 감지되면 이 신호가 컴퓨터 인터페이스를 거쳐 디지털 값이 되어 컴퓨터에 내장된 I/O port로 입력된다. 이 신호를 가지고 동물이 각 주로를 방문한 횟수와 오류 여부를 계산하였다. 그리고 실험과정 중의 행동 분석을 위해서 천장에 videotrack viewpoint (LYON, France)를 설치하여 전 실험 과정을 비디오로 촬영하였다.

(4) 학습 및 기억 실험

① Morris water maze 학습 기억 검사

Group I, II, III, IV를 대상으로 실험을 수행하였다. 2주 동안 LPS 복강투여로 체온을 상승시킨 후 Group I, III, IV에 해당 검액을 투여하는 과정을 총 4회 반복한 후 이 실험을 시작했다. Group II는 이 실험 시작과 동시에 scopolamine 0.5mg/kg을 매일 복강 주사를 하였다. 각각의 Group에 대해 연속해서 4일 동안 실험을 하고 4일 동안 휴식기를 가진 후, 연이어 4일 동안 재차 실험을 수행하였다. 또한 실험을 단순화하기 위하여 도피대의 위치는 북동(NE)쪽에 고정시키고, 쥐는 도피대에서 가장 먼 곳인 서쪽에 놓았다. 오전과 오후에 각각 실험을 수행하고 한번 실험에 도피대를 찾는 기회를 3번씩 부여하여 각 동물은 하루 6시행의 학습을 하였다. 도피대를 찾는 시간은 80초로 지정을 하여 실험을 실시

하였고 도피대를 찾을 경우 도피대 위에서 30초간 머물도록 한 뒤 연이어 다음 실험을 수행하였다. 만약 쥐가 도피대를 찾지 못할 경우 인위적으로 도피대 위에 올려놓은 후 30초간 휴식을 취하게 하였다. 각 시행에서 동물이 도피대를 찾은 시간 (반응 잠재기)과 거리가 측정되었다.

② Radial arm maze 학습 기억 검사

Morris water maze 실험을 마치고 7일간의 radial arm maze training을 거쳐 4일간 연속된 이 실험을 수행하였다. Group II는 Morris water maze 실험 때와 마찬가지로 실험 시작과 동시에 scopolamine으로 처치하였다. 7일간의 training 시기에는 하루에 2분 동안 rat를 손에 적응시키면서 매일 radial arm maze에서 먹이를 무작위로 두 군데 놓아둔 상태에서 10분간 training시켰다. 실험을 수행하기 전 12시간 동안 급수는 제한하지 않으면서 사료 공급을 중단하였다. 실험 당일부터 연속된 나흘간 먹이를 한 곳에만 두고 위치는 고정시킨 상태에서 하루에 3회 실험을 수행하였고 동물은 중간 지점에 놓아두었다. 만약 먹이를 찾지 못할 경우 먹이가 있는 곳에 잠시 머물도록 하여 위치를 확인시킨 후 다음 시행을 하였다.

(5) 체중 계측

체중은 2주간의 발열 유발 및 검액 투여 기간동안 전 동물에 대하여 체중계 (Sartorius LC6200)로 측정을 하였다.

(6) Irwin 실험

鹿茸 및 小兒補血湯 加 鹿茸의 투여가 동물의 일반 행동에 미치는 영향을 평가하기 위하여 2주간의 발열 유발 및 검액 투여 기간을 거친 후 변형된 Irwin 실험 방법²⁰⁾에 의해서 catalepsy, traction, tremor, convulsion, exophthalmos, piloerection, salivation, lacrimation, diarrhea, skin coloration, pinna

reflex, righting reflex, abdominal tone, tail elevation, ptosis, locomotion, respiration rate, death 등 항목을 측정하였다. 각 항목은 마지막 검액 투여 직전, 투여 후 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 5시간 등 여섯 번에 걸쳐 측정되었다.

(7) 통계 처리

통계 분석은 조사 시점별 각 실험 항목에 대하여 다중 비교 검정법을 실시하였다. Morris water maze의 경우, 도피대를 찾는 시간과 이동 거리, radial arm maze의 경우 먹이가 있는 지점을 찾는 시간과 이동 거리를 측정하여 일원배치 분산분석을 유의수준 $\alpha=0.05$ 로 검정하였다. 일원배치 분산분석의 검정 결과가 $p<0.05$ 인 경우에는 군들간에 유의한 차이가 있으므로 대조군과 투여군의 다중 비교 법인 Dunnett's test를 실시하여 군간의 유의차를 조사하였다.

여한 9:55의 체온을 기준으로 하여 온도 변화량을 계산한 결과도 마찬가지로 GroupⅡ에서는 12:55~14:40과 15:10~17:10, 17:40에, GroupⅢ에서는 13:55~14:40과 15:40~18:10에 유의성 있는 발열 감소 효과가 관찰되었다. 따라서 GroupⅡ와 GroupⅢ는 GroupⅠ에 비해 LPS에 의해 도달하는 최고 체온이 유의성 있게 낮으면서 시간의 흐름에 따라 발열 정도가 감약되고 발열 시간이 단축되는 경향성을 나타내었다 (TableⅡ, Ⅲ, Fig. 1, 2).

Ⅲ. 성적

1. 발열에 미치는 영향

鹿茸을 투여한 후 LPS로 체온상승을 일으켰을 때 鹿茸이 토끼의 발열양상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 증류수만을 투여한 그룹을 정상대조군 (GroupⅠ)으로 하여 NTR에서 鹿茸 및 小兒補血湯 加 鹿茸을 투여하고 1시간 30분간 안정한 다음 LPS를 주사하고 7시간 동안 15분 간격으로 체온을 측정했다. 세 Group 모두 최저 41.08℃에서 최고 42.15℃에 이르는 체온 상승이 관찰되어 LPS에 의해 정상적으로 발열이 유발되었음을 알 수 있었다.

실험 결과 GroupⅡ에서는 14:25과 16:10~17:10에, GroupⅢ에서는 13:55~14:40과 15:40~18:25에 유의성 있게 체온 상승이 억제되었다. 검액을 투

Table II. Mean Temperatures after LPS Administration of Male Rabbits

Time	Group I	Group II	Group III
8:55	39.58±0.29	39.20±0.35	39.50±0.36
9:10	39.53±0.25	40.08±0.28	39.53±0.29
9:25	39.58±0.25	40.15±0.39	39.58±0.28
9:40	39.60±0.29	40.18±0.43	39.68±0.34
SAMPLE AD	39.90±0.24	40.40±0.22	39.90±0.23
11:25	40.18±0.22	39.98±0.61	40.10±0.55
LPS INJ	40.30±0.37	40.05±0.52	40.10±0.59
11:55	40.50±0.37	40.48±0.32	40.28±0.55
12:10	40.60±0.50	40.75±0.17	40.53±0.51
12:25	40.83±0.44	41.03±0.33	40.70±0.47
12:40	41.10±0.44	41.05±0.41	40.85±0.44
12:55	41.30±0.36	41.08±0.34	40.85±0.45
13:10	41.43±0.34	40.98±0.37	40.93±0.53
13:25	41.43±0.41	41.13±0.22	40.93±0.45
13:40	41.63±0.45	41.13±0.41	40.90±0.40
13:55	41.75±0.33	41.20±0.42	40.95±0.37*
14:10	41.90±0.29	41.43±0.30	41.00±0.41*
14:25	42.15±0.31	41.50±0.26*	41.05±0.39*
14:40	41.77±0.21	41.45±0.19	41.03±0.42*
14:55	41.60±0.17	41.43±0.22	41.08±0.43
15:10	41.53±0.23	41.33±0.21	41.00±0.37
15:25	41.50±0.17	41.38±0.31	40.90±0.45
15:40	41.67±0.15	41.35±0.31	40.78±0.46*
15:55	41.53±0.21	41.28±0.25	40.70±0.47*
16:10	41.60±0.26	41.05±0.26*	40.55±0.39*
16:25	41.53±0.23	40.80±0.22*	40.38±0.46*
16:40	41.40±0.20	40.75±0.10*	40.23±0.45*
16:55	41.20±0.20	40.63±0.17*	40.05±0.42*
17:10	41.07±0.32	40.50±0.24*	39.95±0.44*
17:25	41.00±0.30	40.53±0.38	39.90±0.42*
17:40	41.03±0.35	40.38±0.33	39.85±0.50*
17:55	40.90±0.35	40.35±0.31	39.78±0.41*
18:10	40.87±0.46	40.25±0.26	39.78±0.41*
18:25	40.63±0.40	40.30±0.37	39.78±0.41*

Significant difference from control group(Group I) (*;p<0.05)

Each value represents the mean±S.D (n=4)

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group

Group II : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group

Group III : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group

Table III. Mean Thermal Changes after LPS Administration of Male Rabbits

Time	Group I	Group II	Group III
8:55	-0.33±0.39	-0.53±0.32	-0.40±0.22
9:10	-0.38±0.38	-0.58±0.75	-0.38±0.13
9:25	-0.33±0.43	-0.25±0.37	-0.33±0.10
9:40	-0.30±0.45	-0.23±0.45	-0.23±0.15
SAMPLE AD	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
11:25	0.28±0.39	-0.43±0.72	0.20±0.41
LPS INJ	0.40±0.61	-0.35±0.64	0.20±0.41
11:55	0.60±0.59	0.08±0.48	0.38±0.36
12:10	0.70±0.64	0.35±0.30	0.63±0.29
12:25	0.93±0.57	0.63±0.25	0.80±0.24
12:40	1.20±0.47	0.65±0.45	0.95±0.25
12:55	1.40±0.44	0.68±0.37*	0.95±0.31
13:10	1.53±0.49	0.58±0.29*	1.03±0.39
13:25	1.53±0.57	0.73±0.28*	1.03±0.37
13:40	1.73±0.62	0.73±0.29*	1.00±0.33
13:55	1.85±0.49	0.80±0.29*	1.05±0.39*
14:10	2.00±0.39	1.03±0.17*	1.10±0.39*
14:25	2.25±0.42	1.10±0.27*	1.15±0.36*
14:40	1.77±0.15	1.05±0.17*	1.13±0.39*
14:55	1.17±0.92	1.03±0.15	1.18±0.31
15:10	1.53±0.21	0.93±0.10*	1.10±0.24
15:25	1.50±0.17	0.93±0.17*	1.00±0.32
15:40	1.67±0.06	0.95±0.19*	0.88±0.31*
15:55	1.53±0.06	0.88±0.22*	0.80±0.29*
16:10	1.63±0.25	0.65±0.13*	0.65±0.21*
16:25	1.57±0.25	0.40±0.12*	0.48±0.26*
16:40	1.40±0.26	0.35±0.17*	0.33±0.24*
16:55	1.20±0.26	0.23±0.29*	0.15±0.21*
17:10	1.07±0.45	0.10±0.29*	0.08±0.25*
17:25	1.00±0.46	0.13±0.43	0.00±0.26*
17:40	1.03±0.51	-0.03±0.40*	-0.05±0.34*
17:55	0.90±0.52	-0.05±0.47	-0.13±0.28*
18:10	0.87±0.64	-0.15±0.42	-0.13±0.28*
18:25	0.67±0.55	-0.10±0.56	-0.13±0.28

Significant difference from control group(Group I) (*;p<0.05)

Each value represents the mean±S.D (n=4)

Group I: DDW 1.0mg/kg administered group

Group II: Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group

Group III: Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group

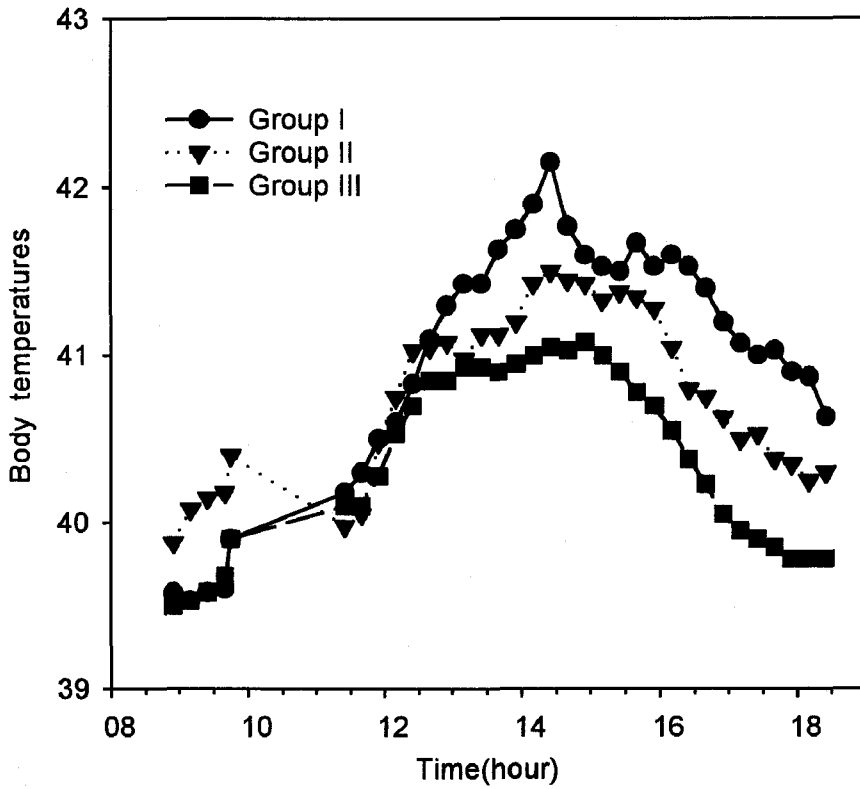


Fig. 1. Mean temperatures after LPS administration of male rabbits

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group(n=4)

Group II : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group(n=4)

Group III : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group(n=4)

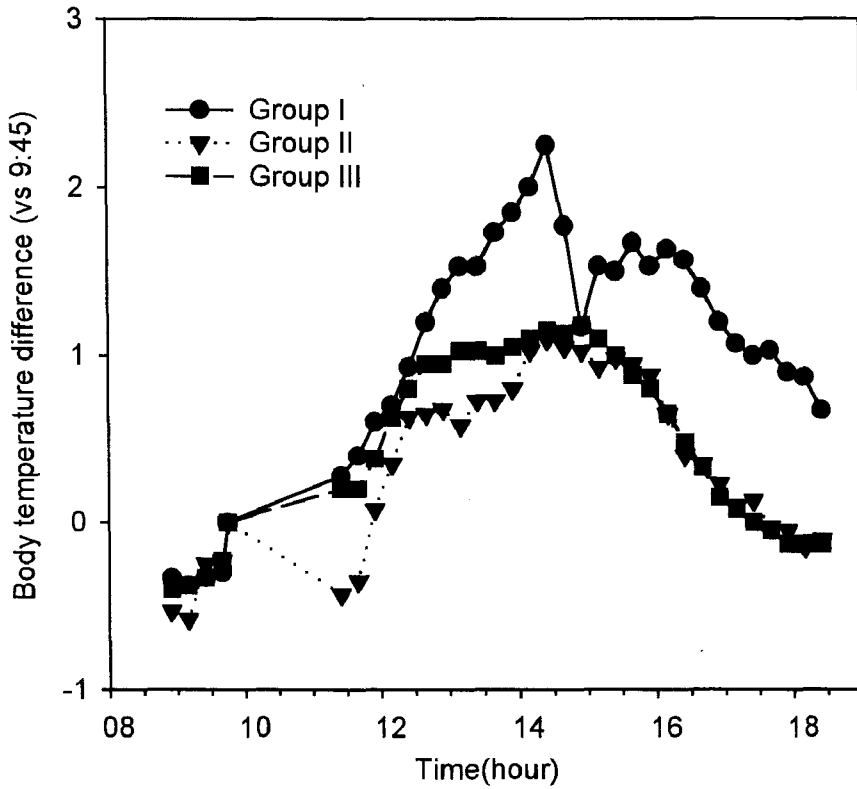


Fig. 2. Mean thermal changes after LPS administration of male rabbits

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group(n=4)

Group II : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group(n=4)

Group III : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group(n=4)

2. 학습과 기억에 미치는 영향

(1) 체온 및 체중의 변화

전 실험 기간 동안 체중의 변화는 실험 제 1일 평균 체중이 Group I, II, III, IV가 각각 $46.4 \pm 3.44g$, $46.4 \pm 4.03g$, $46.2 \pm 4.42g$, $46.3 \pm 4.69g$ 이었고, 실험 제 15일에 각각 $120.6 \pm 11.69g$, $116.3 \pm 8.79g$, $117.8 \pm 8.81g$, $116.3 \pm 10.08g$ 으로, Group간에 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다 (Fig. 3).

검액 투여 기간 14일 동안 체온은 Group I, II, III, IV 모두 LPS 투여 24시간 후인 검액 투여일에 가장 높은 체온을 나타내었고(제4, 6, 11, 13일) 각 군들 간의 유의한 체온 차이는 없었다 (Fig. 4).

(2) Morris water maze 실험

2주간 4회의 발열 유발 및 검액 투여 기간을 가진

후, scopolamine을 투여한 군을 양성대조군으로 사용하여 이 실험을 수행하였다.

MWM에서 도피대를 찾는 시간은 첫 4일간 연속된 실험에서 GroupIII 및 IV는 Group I에 비하여 유의성 있는 차이가 나타나지 않았으나 GroupII는 제 2일에서 Group I 32.30 ± 4.03 초에 비하여 43.37 ± 3.55 초로 유의성 있게 증가하였다 (Table IV, Fig. 5). 4일을 휴식하고 4일 동안 연속된 실험에서도 GroupIII 및 IV는 Group I에 비하여 유의성 있는 차이가 인정되지 않았으나 GroupII는 제 2일과 제 3일에서 Group I 12.61 ± 1.45 초, 10.88 ± 1.60 초에 비하여 각각 20.41 ± 1.46 초, 17.83 ± 1.64 초로 유의성 있게 증가하였다 (Table V, Fig. 6).

이동 거리는 그룹간에 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다 (Table VI, VII, Fig. 7, 8).

Table IV. Mean Response Latencies on 4 Retention Trials of Male Rats

	Dose (mg/Kg)	Route	Test Day (sec)			
			1	2	3	4
Group I	0	p.o.	53.90 ± 4.61	32.30 ± 4.03	22.67 ± 2.29	17.97 ± 2.29
Group II	0.5	i.p.	59.14 ± 2.86	$43.37 \pm 3.55^*$	24.32 ± 3.21	21.10 ± 2.40
Group III	3750	p.o.	56.45 ± 2.92	35.55 ± 3.83	21.94 ± 2.60	15.45 ± 2.14
Group IV	35750	p.o.	52.96 ± 4.70	35.09 ± 3.60	23.81 ± 3.04	16.28 ± 1.64

Significant difference from control group(Group I) (*; $p < 0.05$)

Each value represents the mean \pm S.E (n=10)

Group I : DDW administered group

Group II : Scopolamine administered group

Group III : Cervi cornu parvum administered group

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum administered group

Table V. Mean Response Latencies on 4 Retention Trials of Male Rats after First Trial Session

	Dose (mg/Kg)	Route	Test Day (sec)			
			1	2	3	4
Group I	0	p.o.	25.20±1.94	12.61±1.45	10.88±1.60	9.16±0.82
Group II	0.5	i.p.	29.01±3.52	20.41±1.46*	17.83±1.64*	14.77±1.06
Group III	3750	p.o.	25.13±2.60	15.03±1.61	11.31±0.79	10.71±0.83
Group IV	35750	p.o.	27.07±1.94	15.40±1.33	10.24±1.34	9.94±0.83

Significant difference from control group(Group I) (*;p<0.05)
Each value represents the mean±S.E (n=10)

- Group I : DDW administered group
- Group II : Scopolamine administered group
- Group III : Cervi cornu parvum administered group
- Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum administered group

Table VI. Mean Response Distances on 4 Retention Trials of Male Rats

	Dose (mg/Kg)	Route	Test Day (cm)			
			1	2	3	4
Group I	0	p.o.	888.00±84.49	595.21±77.20	350.57±42.27	286.63±35.88
Group II	0.5	i.p.	1036.41±76.73	686.04±74.27	419.67±58.60	354.18±30.56
Group III	3750	p.o.	869.98±55.79	562.88±66.99	339.07±44.07	288.04±39.74
Group IV	35750	p.o.	834.32±93.04	545.97±77.51	361.00±44.96	291.37±26.83

Each value represents the mean±S.E (n=10)

- Group I : DDW administered group
- Group II : Scopolamine administered group
- Group III : Cervi cornu parvum administered group
- Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum administered group

Table VII. Mean Response Distances on 4 Retention Trials of Male Rats after First Trial Session

	Dose (mg/Kg)	Route	Test Day (cm)			
			1	2	3	4
Group I	0	p.o.	534.66±49.58	258.49±35.79	208.10±29.22	189.40±22.98
Group II	0.5	i.p.	606.37±81.06	382.47±34.12	273.10±31.82	252.60±31.35
Group III	3750	p.o.	556.37±68.50	313.56±37.58	189.35±17.22	187.29±16.28
Group IV	35750	p.o.	560.61±57.06	338.35±44.21	192.31±24.25	196.94±22.48

Each value represents the mean±S.E (n=10)

- Group I : DDW administered group
- Group II : Scopolamine administered group
- Group III : Cervi cornu parvum administered group
- Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum administered group

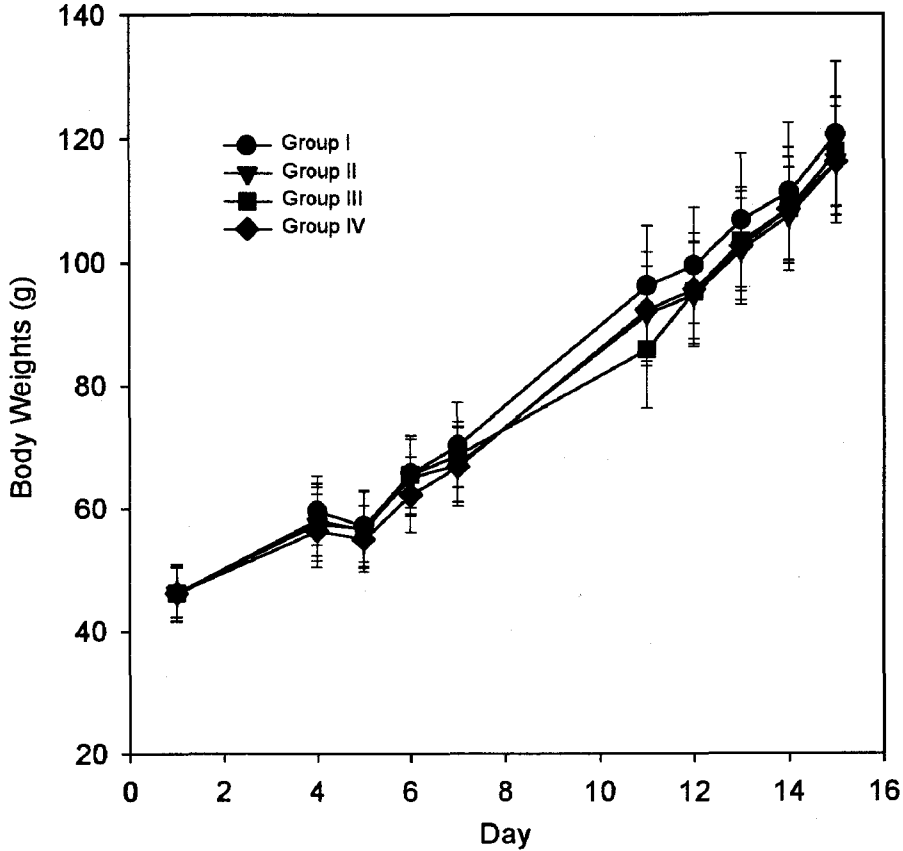


Fig. 3. Body weights of male rats

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group(n=10)

Group II : Scopolamine 0.5mg/kg administered group(n=10)

Group III : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group(n=10)

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group(n=10)

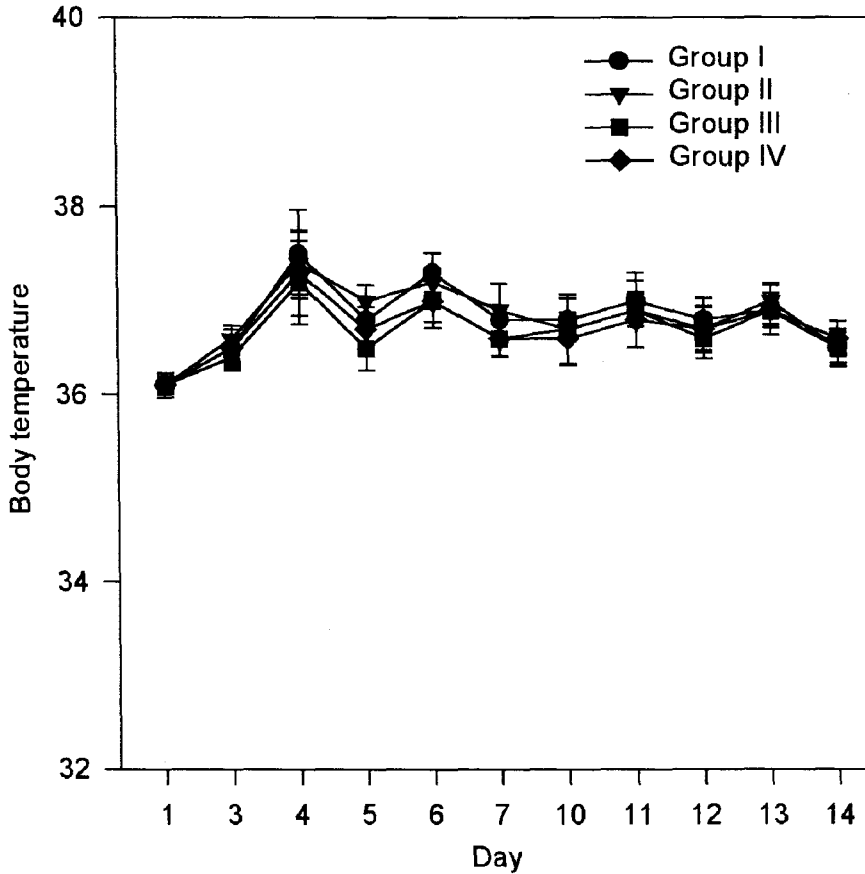


Fig. 4. Body temperatures of male rats

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group(n=10)

Group II : Scopolamine 0.5mg/kg administered group(n=10)

Group III : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group(n=10)

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group(n=10)

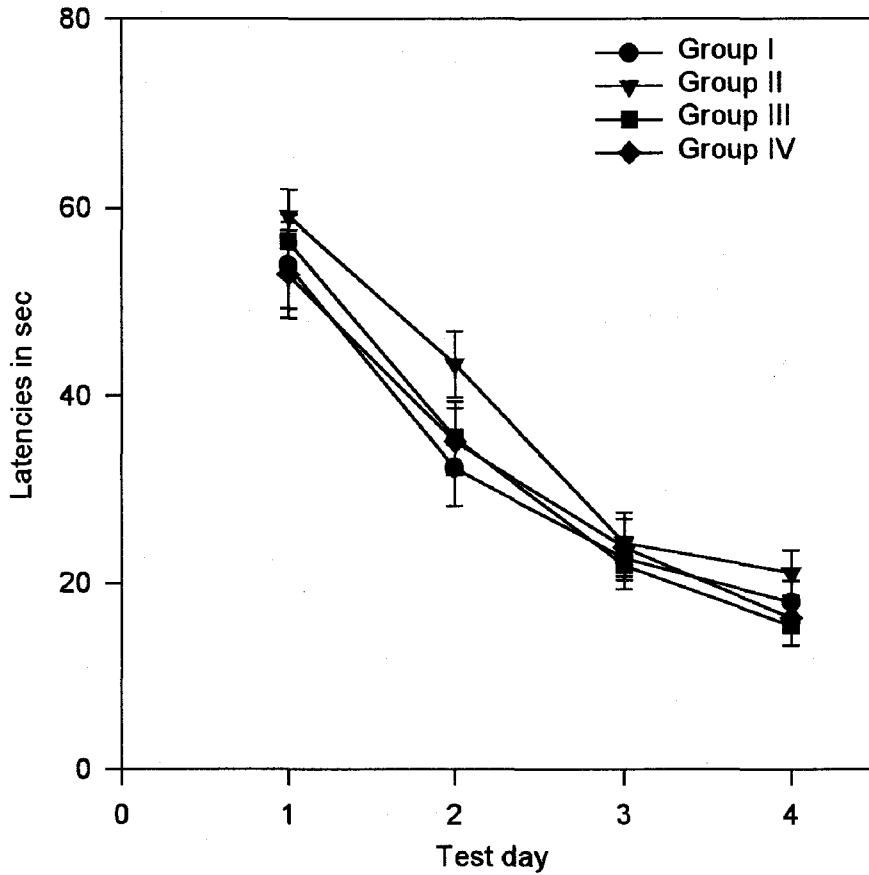


Fig. 5. Mean response latencies on 4 retention trials of male rats in morris water maze test.

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group(n=10)

Group II : Scopolamine 0.5mg/kg administered group(n=10)

Group III : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group(n=10)

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group(n=10)

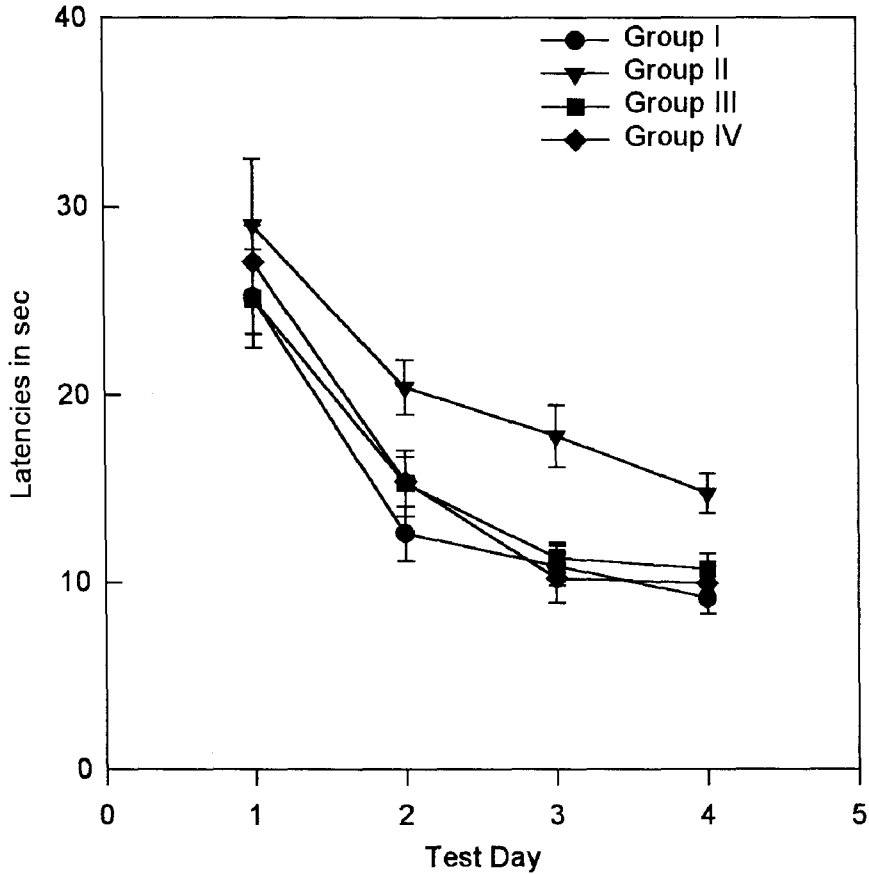


Fig. 6. Mean response latencies on 4 retention trials of male rats after first trial session in morris water maze test.

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group(n=10)

Group II : Scopolamine 0.5mg/kg administered group(n=10)

Group III : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group(n=10)

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group(n=10)

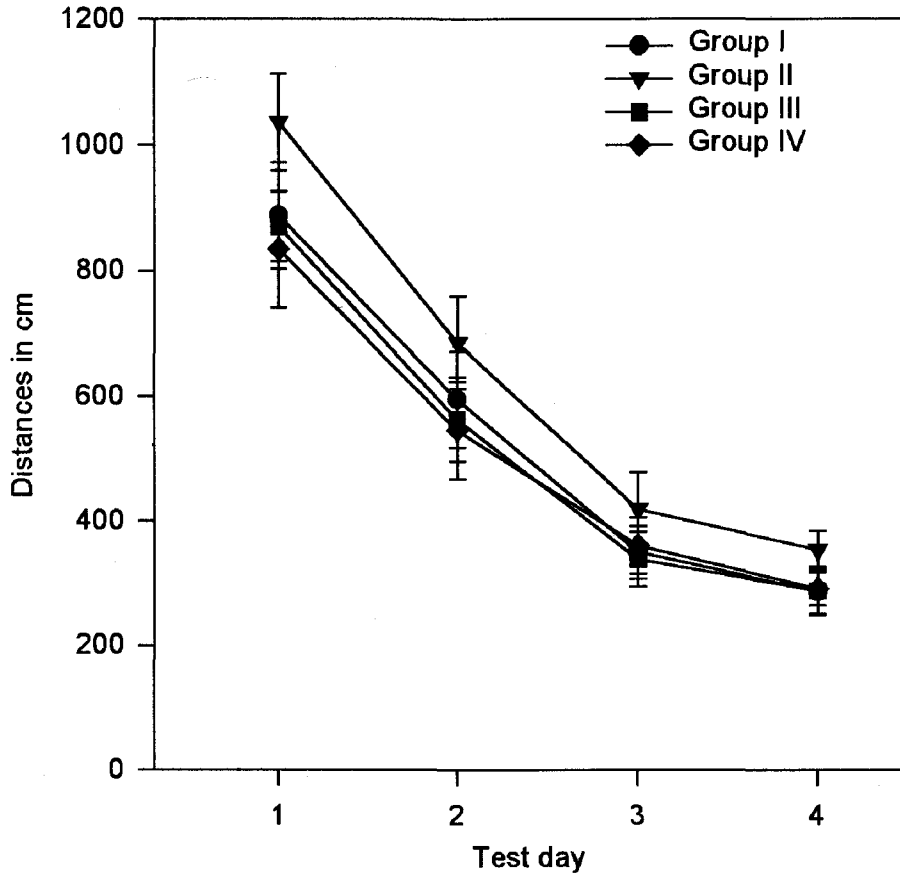


Fig. 7. Mean response distances on 4 retention trials of male rats in morris water maze test.

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group(n=10)

Group II : Scopolamine 0.5mg/kg administered group(n=10)

Group III : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group(n=10)

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group(n=10)

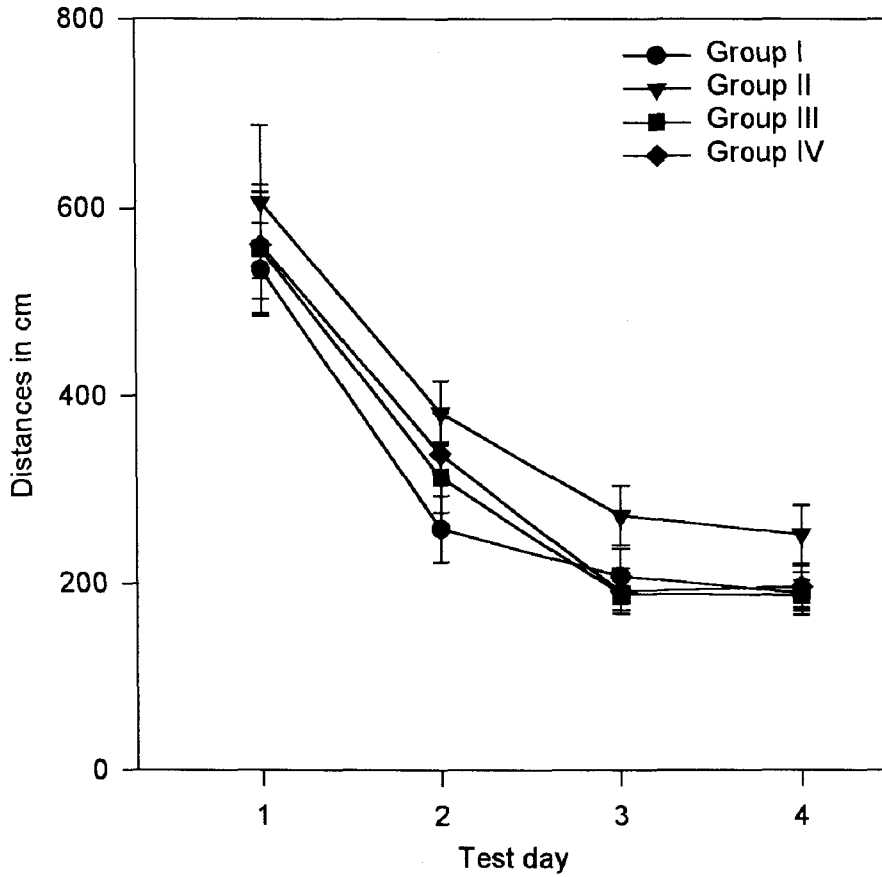


Fig. 8. Mean response distances on 4 retention trials of male rats after first trial session in morris water maze test.

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group(n=10)

Group II : Scopolamine 0.5mg/kg administered group(n=10)

Group III : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group(n=10)

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group(n=10)

(3) Radial arm maze 실험

MWM 실험에 이어 계속된 RAM 실험의 경우 먹이를 찾는데 걸린 시간은 4일간 연속된 실험에서 Group III 및 IV는 Group I에 비하여 유의성 있는 증가가 없었으나 Group II는 제 1일, 제 3일에서

Group I 86.54±12.33초, 59.18±4.75초에 비하여 119.99±7.21초, 75.15±3.55초로 유의성 있게 증가하였다. 이동 거리는 4일간 연속된 실험에서 Group I, II, III, IV는 유의한 차이가 없었다 (Table VIII, IX, Fig. 9, 10).

Table VIII. Mean Response Latencies on 4 Retention Trials of Male Rats

	Dose (mg/Kg)	Route	Test Day (sec)			
			1	2	3	4
Group I	0	p.o.	86.54±12.33	68.84±5.72	59.18±4.75	56.71±4.10
Group II	0.5	i.p.	119.99±7.21*	86.78±4.91	75.15±3.55*	66.77±3.61
Group III	3750	p.o.	85.86±4.86	69.44±4.88	59.73±3.29	51.08±3.74
Group IV	35750	p.o.	87.21±2.48	68.32±5.58	56.92±2.99	54.00±5.56

Significant difference from control group(Group I) (*; p<0.05)

Each value represents the mean±S.E (n=10)

Group I : DDW administered group

Group II : Scopolamine administered group

Group III : Cervi cornu parvum administered group

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum administered group

Table IX. Mean Response Distances on 4 Retention Trials of Male Rats

	Dose (mg/Kg)	Route	Test Day (cm)			
			1	2	3	4
Group I	0	p.o.	534.09±66.66	302.32±31.51	260.47±17.39	258.27±36.20
Group II	0.5	i.p.	606.58±87.02	407.48±29.87	295.05±34.97	458.38±74.97
Group III	3750	p.o.	730.18±75.25	395.19±36.24	334.37±27.55	363.27±55.28
Group IV	35750	p.o.	549.86±72.73	308.43±31.07	319.62±32.42	348.99±25.73

Each value represents the mean±S.E (n=10)

Group I : DDW administered group

Group II : Scopolamine administered group

Group III : Cervi cornu parvum administered group

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum administered group

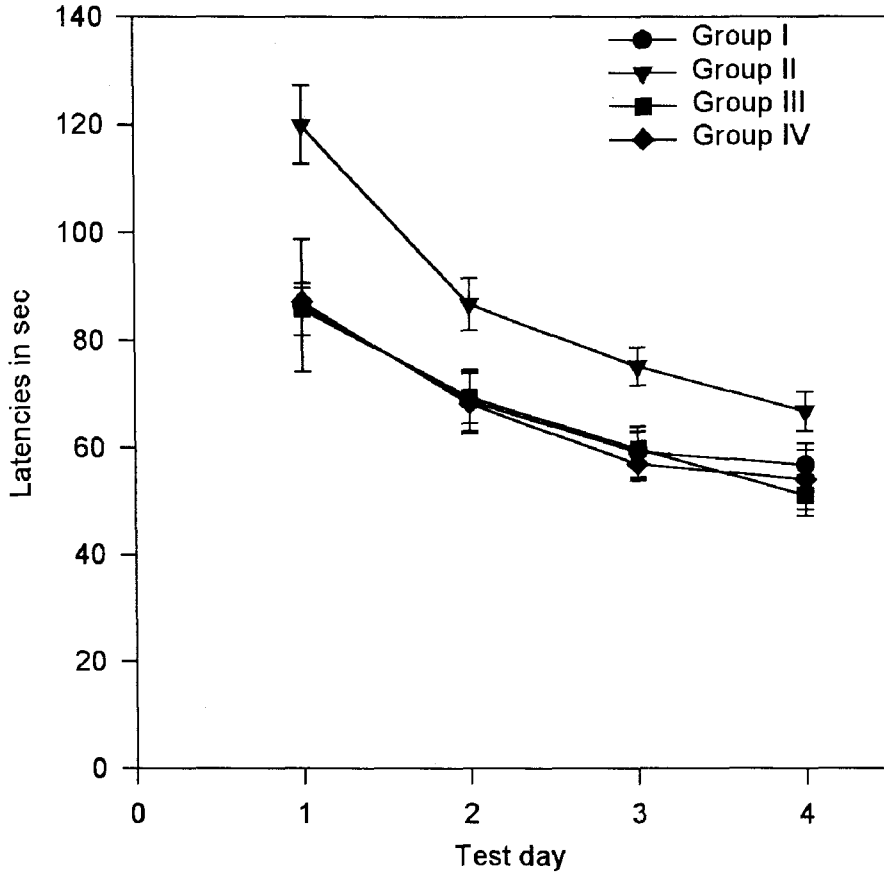


Fig. 9. Mean response latencies on 4 retention trials of male rats in radial 8-arm maze test.

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group(n=10)

Group II : Scopolamine 0.5mg/kg administered group(n=10)

Group III : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group(n=10)

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group(n=10)

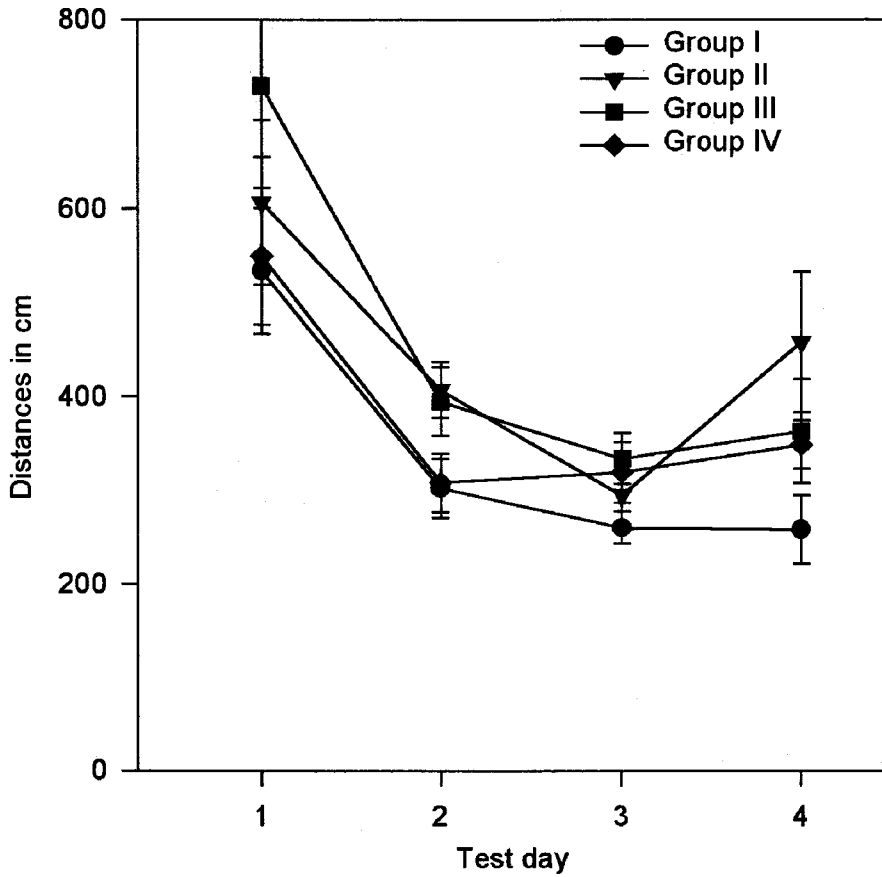


Fig. 10. Mean response distances on 4 retention trials of male rats in radial 8-arm maze test.

Group I : DDW 1.0mg/kg administered group(n=10)

Group II : Scopolamine 0.5mg/kg administered group(n=10)

Group III : Cervi cornu parvum 3.75g/kg administered group(n=10)

Group IV : Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum 35.75g/kg administered group(n=10)

(4) Irwin 실험

변형된 Irwin 실험 방법에 의하여 아래 항목에 대한 시험 물질의 영향을 검사하였다.

catalepsy, traction, tremor, convulsion, exophthalmos, piloerection, salivation, lacrimation, diarrhea, skin coloration, pinna reflex, righting

reflex, abdominal tone, tail elevation, ptosis, locomotion, respiration rate, death

실험 결과 鹿茸 및 小兒補血湯 加 鹿茸의 투여가 동물의 일반 행동에 미치는 영향은 없었다 (Table X).

Table X. Effects of Cervi cornu parvum and Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum on General Behavior in Rats (group summary)

SUMMARY OF GENERAL BEHAVIOR																		
compounds	Vehicle						Cervi cornu parvum						Soahbohyul - tang plus Cervi cornu parvum					
Dose (g/kg.p.o)	-						3.75						35.75					
Time (hr)	0	0.5	1	2	3	5	0	0.5	1	2	3	5	0	0.5	1	2	3	5
1.Catalepsy	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
2.Traction	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
3.Tremor	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
4.Convulsion	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
5.Exophthalmos	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
6.Piloerection	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
7.Salivation	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
8.Lacrimation	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
9.Diarrhea	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
10.Skin coloration	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
11.Pinna reflex	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
12.Righting reflex	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
13.Abdominal tone	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
14.Tail elevation	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
15.Ptosis	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
16.Locomotion	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
17.Respiration rate	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
18.Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Each number represents the number of positive/tested (1~12)

The mean score; max 8 min 0(13~17) and number of animals(18)

IV. 고찰

小兒科 領域에서 補藥은 주로 虛弱兒를 對象으로 하여 使用되어 특이한 效果를 보아 왔고 小兒 健康 增進에 큰 기여를 하여 왔다. 虛弱兒란 용어는 옛 文獻들에는 잘 언급되어 있지 않으나 近現代로 접어들면서 韓方 小兒科學의 중요한 한 분야로 자리잡았다. 虛弱兒의 定意에 관해서는 여러 見解가 있으나 일반적으로 先天的 稟賦不足과 後天的 攝生の 잘못으로 氣血이 充實하지 못하고 正氣가 虛弱한 體質을 의미한다¹⁾. 이들은 대체로 감기에 잘 걸리고 原因不明의 微熱이 잘 생기며 별다른 疾病이 없는데도 發育에 지장이 있는 경우가 많다. 이외에 신경질을 잘 부리거나 肥滿한 아이, 腹痛, 泄瀉, 便秘 등 消化器 系統의 문제가 잦은 아이, 筋骨이 약하고 疲勞, 無氣力을 자주 呼訴하는 등의 症狀도 虛弱兒의 범주에 포함된다⁶⁾.

이러한 虛弱兒의 여러 症狀 중에서도 가장 큰 比重을 차지하는 것은 잦은 感染으로 인한 呼吸器 症狀이며, 補藥을 投與하는 대표적인 目的도 呼吸器 疾患 豫防 效果에 대한 것이다. 그러나 1~4세의 아이들에게 年 5~8回 程度의 上氣道 感染은 正常狀態로 認定될 程度로 아이들은 쉽게 發熱을 同伴하는 疾病에 시달리기 때문에 鹿茸이 加味된 補藥을 投與하는 동안에 發熱이 생길 可能性이 常存하고 있는 實情이다^{21,22,23,24)}. 또한 發熱이 있을 때 鹿茸을 먹게 되면 知能低下, 혹은 過體重을 誘發한다는 俗說이 있어 臨牀的인 補藥 運用에 하나의 障礙要因이 되고 있다²⁵⁾.

鹿茸 (Cervi cornu parvum)은 脊椎動物門 哺乳綱 偶蹄目 鹿科에 속한 사슴의 未骨化된 袋角을 말하는 것으로 神農本草經²⁶⁾에 처음 기재된 후 補督脈, 助腎陽, 生精髓, 強筋骨의 效능이 있어 일체 虛損證에

널리 사용되어 왔다⁴⁾. 鹿茸의 性味는 甘, 鹹, 溫하고 肝腎經으로 歸經하며 補腎助陽, 生精強骨하는 效능이 있어 소아과에서는 주로 發育不良, 齒遲, 行遲 등 五遲症, 顛門不合 등에 응용하고 있다^{27,28,29,30)}.

小兒補血湯은 洪家定診秘傳⁷⁾의 白茸湯 加減方인데, 白茸湯은 小兒의 心腎이 虛하고 貧血症이 있을 때 많이 活用되는 處方이다. 小兒補血湯의 구성 약물은 白茯苓, 元肉, 白朮, 當歸, 山茱萸, 砂仁, 木香, 靑皮, 麥芽 등으로, 補心虛勞, 強壯補腎, 補脾健胃, 行氣消滯⁴⁾하여 體力을 增進하고 免疫力을 強化하므로 小兒期의 잦은 感染 症狀을 豫防해주는 效果가 있다. 小兒科 領域에서는 주로 鹿茸 및 桔梗, 麥門冬, 五味子, 石斛 등 呼吸器를 補하는 藥材를 加味하여 呼吸器 虛弱者에게 사용된다⁸⁾.

그간 鹿茸에 대하여 崔¹⁴⁾는 水針用 鹿茸抽出液의 安全性 評價에 관한 研究에서 鹿茸抽出液이 rabbit pyrogen test를 이용한 發熱試驗에서 陰性을 나타낸다고 하였고, 鄭⁹⁾은 성장기의 어린 흰쥐에 과량의 鹿茸을 투여해도 학습과 기억에 아무런 영향을 미치지 않는다고 보고하였다. 이러한 결과로 볼 때 鹿茸 자체는 발열원이 되지도 않고 학습, 기억능력에 장애를 일으키지도 않는다고 판단할 수 있다.

그러나 鹿茸의 禁忌로 陰虛陽亢, 血分有熱, 胃火熾盛, 肺有痰熱, 外感熱病者 등의 熱證들이 제시되어 있고 일반적인 문제점으로 知能低下와 過體重 誘發의 可能性이 의심되고 있어서 이에 대한 연구가 필요한 실정이나 지금까지 발열 상태에서 투여된 鹿茸이 발열 자체 및 지능, 체중 증가 등에 미치는 영향이 연구되지는 않았다.

이에 저자는 토끼 및 흰쥐를 이용하여 발열을 유발한 상태에서 鹿茸 및 小兒補血湯 加 鹿茸을 투여하여 발열 양상의 변화와 학습, 기억 및 체중 증가 등에 미치는 영향을 관찰하였다.

이 실험에서 발열을 유발하기 위해 사용된

lipopolysaccharide(LPS)^{31,32,33)}는 그람음성 세균의 세포벽의 구성성분 중 하나로서, 강력한 외인성 발열물질(exogenous pyrogen)로 작용하여 시상하부의 체온 조절 중추(thermoregulatory center)에서 기준 온도(thermostatic set-point)를 상승시킨다^{34,35)}.

대개 체중이 적게 나가는 생쥐나 어린 흰쥐는 체중에 비해 넓은 체표면적을 갖고 있어서 체온의 소실이 많기 때문에 LPS에 의해 오히려 저체온을 유발할 수도 있으므로^{36,37)} 이것을 막기 위해서 이 실험에서는 중성환경온도(Neutral Thermal Range:NTR)에서 LPS를 주입하여 대사율을 떨어뜨림으로써 발열을 유도했다³⁸⁾. 어린 흰쥐와 토끼 모두에서 몇 차례의 예비실험을 통하여 가장 적절한 LPS의 투여량을 결정하였다.

흰쥐는 사소한 주변 환경의 변화에도 급격하게 체온이 변하기 때문에 온도 측정이 용이하지 않다. 이런 이유로 발열에 미치는 영향은 일반적으로 발열 실험에 흔히 쓰이는 토끼를 실험동물로 사용하였고 학습과 기억에 미치는 영향은 어린 흰쥐를 이용해서 평가하였다.

실험동물에 투여하는 검액의 농도는 아직까지 객관적인 기준이 없고 대개 사람에게 투여하는 용량의 5배~10배 정도를 사용하는 것이 통례이다. 이 실험에서는 鹿茸을 비롯한 보약의 오남용을 유발한다는 의미에서 정상 영유아 복용량의 10배를 투여했는데, 발열 실험에 사용된 토끼의 경우에는 1회의 검액 투여로 발열의 형태를 평가했고 학습과 기억실험에 사용된 어린 흰쥐의 경우에는 이유기부터 발정기에 이르는 2주간 가능한 최대의 횟수인 4회에 걸쳐 발열을 유발하고 검액을 투여하였다.

鹿茸과 小兒補血湯 加 鹿茸의 투여가 토끼의 발열 상태에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 먼저 검액을 투여하고 1시간 30분 안정시킨 다음 marginal ear vein으로 LPS를 투여하여 발열을 유도했다. 예비실험

결과 LPS 투여 직후부터 발열이 유발되기 시작해서 약물의 흡수, 분포에 걸리는 시간을 고려하여 검액을 먼저 투여하였다. 세 Group 모두 발열 상태라고 평가할 수 있는 정도의 체온 상승이 관찰되어 LPS에 의해 정상적으로 발열이 유발되었음을 알 수 있었다.

매 15분 간격으로 7시간동안 체온을 측정한 결과 Group II와 Group III는 Group I에 비해 LPS에 의해 도달하는 최고 체온이 유의성 있게 낮으면서 시간의 흐름에 따라 발열 정도가 감약되고 발열 시간이 단축되는 경향성을 나타내었다.

위의 결과는 발열 증상이 나타났을 때 이미 투여된 鹿茸이 발열 상태를 악화시키지 않으며 오히려 발열 자체에 긍정적인 효과를 미친다는 사실을 보여준다. James MS 등³⁹⁾은 생쥐의 복강 내로 thioglycollate를 주사하여 염증을 유발시킨 후 鹿茸 추출액을 투여하는 방법으로 鹿茸에 강력한 항염증 작용이 있음을 보고하였다. 鹿茸은 다수의 cytokines를 생산하는 것으로 알려졌는데 이것이 항염증 작용의 원인이라고 생각할 수 있으나 아직 이 작용의 기전은 규명되지 않았다³⁹⁾. 또한 鹿茸 및 小兒補血湯은 면역력을 강화시키고 호흡기 질환을 예방하는 효과가 인정된다^{40,41,42)}. 이 연구에서 발열에 미치는 鹿茸의 효과 기전을 완전히 규명하기는 어렵지만 이러한 사실들로 미루어 鹿茸의 항염증 효과와 면역 강화 효과가 발열 자체에도 긍정적인 역할을 하는 것으로 사료된다.

鹿茸과 小兒補血湯 加 鹿茸의 투여가 어린 흰쥐의 학습과 기억에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 먼저 LPS를 복강 내에 주사하고 24시간을 경과한 후 검액을 투여하는 처치를 2주간 4회 실시하여 이 시기의 체중과 발열에 미치는 영향을 확인한 다음 MWM과 RAM 두 가지 방법으로 학습 및 기억 검사를 실시하였다. 예비실험 결과 LPS를 투여한 후 흰쥐의

발열양상은 주사 후 24~26시간에 최고조에 달하며 이후 약 24시간에 걸쳐 정상 체온으로 돌아옴을 관찰할 수 있었다. 따라서 이 실험에서는 발열을 유발하고 24시간을 경과한 다음 실험약물을 투여하였다.

이 실험에 양성 대조군 (Group II)으로 사용된 scopolamine은 항콜린성 약물의 일종으로 무스카린성 수용체에 경쟁적으로 작용하여 졸림, 피로감, 기억 상실, 도취감 등의 증상을 나타낸다^{43,44,45}. Scopolamine은 MWM, RAM 실험 등에서 기억 장애를 유발하는 데 흔히 사용되어 왔다^{46,47,48}.

Morris water maze (MWM)^{49,50,51}는 동물의 공간 학습과 기억을 검사하기 위해 사용되는데, 공간 정보 이외의 단서들을 통제하기 쉬운 장점이 있다. 이는 주로 장기 기억 능력을 측정하는 과제로서 동물이 주변에 있는 단서들을 사용하여 기억하는 능력, 즉 공간 관련 기억 (spatial reference memory)을 측정하는 것이다¹⁵. 이는 사람에서 외부에서 일어나는 사실들에 대한 정보를 습득하여 기억하고 그 사실들의 시공간적 위치를 근거로 행동하는 능력에 해당한다.

Radial arm maze (RAM)^{52,53,54}는 Olton^{17,55}에 의해 고안되었고 동물은 미로를 학습하는 과정에서 후각 단서를 이용하는 것이 아니라 미로들 사이의 공간 관계를 규정하는 심적 표상인 일종의 정신적인 지도를 획득하게 되는데 이를 인지도 (cognitive map)⁵⁵라고 한다. 그러므로 이 실험 장치는 작업 기억(working memory)의 성질에 대한 특별한 정보를 제공해 줄 수 있다. 작업 기억이란 정보가 처리되고 있는 동안에 그것을 유지하는 기억을 말하는 것으로 짧고 한정된 시간 내에서만 정보저장이 요구되며 즉시 사라지는 단기 기억의 한 유형이다¹⁷. 하지만 현재 사용되고 있는 RAM은 복잡한 자동화 기계가 필요하고, 단서가 될 수 있는 냄새를 제거하고 음식을 박탈해야 하는 단점이 있다⁵⁶.

실험 기간 동안 체중의 변화는 각 Group간에 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다. 鄭⁹은 補兒湯 加 鹿茸과 鹿茸 單味劑의 투여로 체중에 영향을 미치지 않았다고 보고하였고, 裴⁴²도 小兒補血湯 등의 투여로 체중에는 유의성 있는 변화가 없었음을 보고한 바 있다. 이상으로 미루어 발열이 유발된 상태에서 투여된 鹿茸 및 小兒補血湯 加 鹿茸이 과체중의 유발 요소가 되지는 않을 것으로 생각된다.

체온의 변동은 예비실험 결과와 마찬가지로 LPS 투여 다음날이 검액 투여일에 체온이 대체로 높은 경향을 보였으나 Group I, II, III, IV 각 군간의 유의한 차이는 인정되지 않았다. 이것은 어린 흰쥐가 체온변화에 예민하지 못하고 움직임이 활발하여 측정시의 오차가 심한 등의 이유로 사료된다.

MWM에서 도피대를 찾는 시간은 첫 4일간 연속된 실험에서 Group III 및 IV는 Group I에 비하여 유의성 있는 차이가 나타나지 않았으나 Group II는 제 2일에서 Group I에 비하여 유의성 있게 증가하였다. 4일을 휴식하고 4일 동안 연속된 실험에서도 Group III 및 IV는 Group I에 비하여 유의성 있는 차이가 인정되지 않았으나 Group II는 제 2일과 제 3일에서 Group I에 비하여 유의성 있게 증가하였다.

이동 거리는 그룹간에 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다.

위의 결과는 MWM 실험이 실험 방법상 학습과 기억을 검증하는데 타당한 모델이었으며 鹿茸 및 小兒補血湯 加 鹿茸 투여군이 증류수 투여군에 비하여 이동시간과 이동 거리의 통계학적인 차이가 없어 발열이 있는 상태에서 鹿茸 및 小兒補血湯 加 鹿茸의 과량 투여가 어린 흰쥐의 학습 및 기억에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 따라서 이 결과로 미루어 발열증상이 있는 영유아에게 鹿茸을 투여한다고 해도 이것으로 인해 후에 지능 발달을 저해시키지는 않는다고 판단된다.

RAM에서 경과 시간은 4일간 연속된 실험에서 GroupⅢ 및 Ⅳ는 Group I에 비하여 유의성 있는 증가 없었으나 GroupⅡ는 제 1일, 제 3일에서 Group I에 비하여 유의성 있게 증가하였다. 이동 거리는 4일간 연속된 실험에서 Group I, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ는 유의한 차이가 없었다.

단기 기억을 평가하는 과제인 RAM에서도 MWM과 같은 결과를 보여 발열이 있는 상태에서 투여된 鹿茸이 영유아의 학습 및 기억 능력의 저하를 유발하지 않을 것으로 생각된다.

변형된 Irwin 실험 방법에 의해 쥐의 운동, 강직, 진전 등 18가지 항목을 측정 한 결과 鹿茸과 小兒補血湯 加 鹿茸이 흰쥐의 일반 행동에 미치는 영향은 없었다.

이상의 실험 결과로 보아 LPS로 발열을 유발한 후 투여된 鹿茸 및 小兒補血湯 加 鹿茸은 토끼의 발열 정도를 감소시키면서 어린 흰쥐의 학습 및 기억에 영향을 미치지 않고 또한 체중에도 특이한 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다.

V. 결론

LPS로 발열을 유발한 상태에서 鹿茸과 小兒補血湯 加 鹿茸의 투여가 토끼의 발열 상태의 변화와 어린 흰쥐의 학습 및 기억능력, 체중에 미치는 영향을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 발열에 미치는 영향 실험에서 鹿茸 및 小兒補血湯 加 鹿茸을 투여한 각 Group에서 대조군에 비해 LPS에 의해 도달하는 최고 체온이 유의성 있게 낮으면서 시간의 흐름에 따라 발열 정도가 감소되고 발열 시간이 단축되는 경향성을 나타내었다.
2. 鹿茸, 小兒補血湯 加 鹿茸, scopolamine을 투여

한 모든 Group에서 대조군과 비교하여 체온과 체중에 유의성 있는 영향은 나타나지 않았다.

3. Morris water maze 실험에서 鹿茸, 小兒補血湯 加 鹿茸을 투여한 각 Group은 전 실험 기간 동안 대조군에 비해 평균 반응 시간 (mean response latency)의 증가가 없었으나, scopolamine을 투여한 Group은 첫 4일간 연속된 실험의 제 2일에서, 4일을 휴식하고 4일 동안 연속된 실험에서는 제 2일과 제 3일에서 유의성 있게 증가하였다.
4. Radial arm maze 실험에서 鹿茸, 小兒補血湯 加 鹿茸을 투여한 각 Group은 전 실험 기간 동안 대조군에 비해 평균 반응 시간의 증가가 없었으나, scopolamine을 투여한 Group은 제 1, 3일에서 유의성 있게 증가하였다.
5. 변형된 Irwin 실험 방법에 의해 쥐의 운동, 강직, 진전 등 18가지 항목을 측정 한 결과 鹿茸과 小兒補血湯 加 鹿茸의 투여가 어린 흰쥐의 일반 행동에 미치는 영향은 없었다.

참고문헌

1. 金德坤外 : 東醫小兒科 臨床實習. 서울, 경희대학교 출판국, p.25, 1998.
2. 홍창의 : 소아과 진료. 서울, 대한교과서 주식회사, pp. 198~212, 1999.
3. 홍창의 : 소아과학. 서울, 대한교과서 주식회사, pp. 325~328, 1997.
4. 李尙仁 : 本草學. 서울, 學林社, pp. 54~60, 80~81, 87~88, 101~105, 112~115, 119~120, 203~204, 281~284, 348~349, 393~394, 397~399, 401~403, 407~409, 1986.

5. 許 浚 : 東醫寶鑑. 서울, 南山堂, p. 98~99, 447, 1986.
6. 俞太燮 外 : 虛弱兒에 對한 文獻的 考察. 서울, 大韓韓方小兒科學會誌 4(1):67-78, 1990.
7. 洪淳昇 : 洪家定診秘傳. 서울, 대성문화사, p.100, 1963.
8. 慶熙醫療院韓方病院編 : 慶熙韓方處方集. 서울, 경희대학교 한의과대학 부속한방병원, p.74, 141, 1997.
9. 鄭幸煥 : 鹿茸 및 補兒湯 加 鹿茸이 어린 흰쥐의 학습과 기억에 미치는 영향. 서울, 경희대학교대학원 박사학위논문, 1999.
10. 禹周始·黃義完 : 調胃升清湯이 흰쥐의 방사형 미로 학습과 기억에 미치는 影響. 서울, 경희대학교대학원 석사학위논문, 1997.
11. 李雄錫·黃義完 : 調胃升清湯이 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 학습과 기억에 미치는 影響. 서울, 경희대학교대학원 박사학위논문, 1998.
12. 姜賢根 : 香附子八物湯이 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 학습과 기억에 미치는 影響. 서울, 경희대학교대학원 박사학위논문, 1999.
13. 柳在勉 : 香附子八物湯이 흰쥐의 방사형 迷路學習과 記憶에 미치는 影響. 서울, 경희대학교대학원 석사학위논문, 1999.
14. 崔文圭·李潤浩 : 水鍼用 鹿茸抽出液의 安全性 平價에 關한 研究 I. 서울, 慶熙韓醫大論文集 15:203-229, 1992.
15. Beatty WW, Shavalia DA : Rat spatial memory. USA, Animal Learning and Behavior 8(4):550~552, 1980.
16. Hodges H : Maze procedure : the radial - arm and water maze compared. USA, Brain Res 3:167-181, 1996.
17. Olton DS : Mazes, maps and memory. USA, American Psychologist 34(7):583-596, 1979.
18. Whishaw IQ, Tomie J : Of mice and mazes. USA, Physiol Behav 60(5):1191-1197, 1996.
19. Wakabayashi G et al : Altered interleukin-1 and tumor necrosis factor production and secretion during pyrogenic tolerance to LPS in rabbits. Am J Physiol 267(Regulatory Integrative Comp.Physiol. 36):R329~R336, 1994.
20. Irwin. et al. : Animal and clinical pharmacologic techniques in drug evaluation. USA, Yearbook Medical publishers, pp. 36~54, 1964.
21. 丁奎萬 : 東醫小兒科學. 서울, 杏林出版, pp. 34~35, 613, 1990.
22. 周命新 : 醫門寶鑑. 서울, 杏林出版, p.391, 1975.
23. 巢元方 : 巢氏諸病源候論. 서울, 大星文化社, pp. 324~326, 1992.
24. 王伯岳 外 : 中醫兒科學. 서울, 鼎談, pp. 109~117, 1994.
25. 裴元植 : 小兒에게 鹿茸을 먹이면 바보가 된다는 說에 對하여. 서울, 大韓韓方小兒科學會誌 3(1):73-74, 1989.
26. 黃奭輯 : 神農本草經. 中國, 中醫古籍出版社, pp. 222~223, 1991.
27. 江蘇新醫學院編 : 中藥大辭典(下). 中國, 上海科學技術出版, pp. 2232~2235, 1994.
28. 郭國華 : 臨床中藥辭典. 中國, 湖南科學技術出版社, pp. 492~493, 1994.
29. 劉道清 : 中藥名大典. 中國, 中原農民出版社, pp. 498~501, 1994.
30. 李時珍 : 本草綱目. 서울, 醫聖堂, pp. 2847~2849, 1993.

31. Matthew JK, Karin R, Dariusz S, Carole AC, Lisa RL, Wieslaw K, Eric SW, Pope LM : Effect of heat stress on LPS-induced fever and tumor necrosis factor. *Am J Physiol* 273(Regulatory Integrative Comp. Physiol. 42):R858-R863, 1997.
32. M Buttini, H Boddeke : Peripheral lipopolysaccharide stimulation induces interleukin-1 β messenger RNA in rat brain microglial cells. *Neuroscience* 65(2):523-530, 1995.
33. Nancy CL, Steven LK, Arthur JV, Matthew JK : Antiserum against tumor necrosis factor enhances lipopolysaccharide fever in rats. *Am J Physiol* 258(Regulatory Integrative Comp. Physiol. 27):R332-R337, 1990.
34. Akio M, Tatsuo W, Takuya O, Yoshiyuki S, Naotoshi M : Rat endogenous pyrogen and fever. *Am J Physiol* 250(Regulatory Integrative Comp. Physiol. 19):R776-R782, 1986.
35. Matthew JK : Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiological Reviews* 71(1):93-127, 1991.
36. Connor DG, EH Dass : Effect of artificial fever in increasing susceptibility to bacterial endotoxin. *Nature Lond* 190:453-454, 1961.
37. Feldberg W, PN Saxena : Prostaglandins, endotoxins and lipid A on body temperature in rats. *J Physiol Lond* 249:601-615, 1975.
38. Wieslaw K, Carole AC, Matthew JK : Lipopolysaccharide induces fever and depresses locomotor activity in unrestrained mice. *Am J Physiol* 266(Regulatory Integrative Comp. Physiol. 35):R125-R135, 1994.
39. James MS, Stephen RH : Evaluation of New Zealand Velvet Antler Efficacy and Diagnostic Testing. 97 Korea-New Zealand Deer Velvet Efficacy Research Result Seminar, 1997.
40. 高炳熙·宋一炳 : 鹿茸, 熟地黃, 人參, 五加皮가 免疫反應 및 NK 細胞 活性도에 미치는 影響. 서울, 慶熙韓醫大論文集 9:193-216, 1986.
41. 金聖洙·金光湖 : 鹿補散의 呼吸器疾患 豫防效果에 關한 研究. 서울, 慶熙韓醫大論文集 12:163-178, 1989.
42. 裴廷燁 : 小兒補血湯, 加味小兒補血湯 및 加減小兒補血湯이 생쥐의 면역반응에 미치는 영향. 서울, 경희대학교대학원 박사학위논문, 1989.
43. 강건일 : 최신의약화학. 서울, 회성출판사, pp. 130~131, 1993.
44. 한국약학대학협의회 약전분과회 : 대한약전해설 제4개정. 서울, 文聖社, pp. 212~213, 1982.
45. 홍사석 : 이우주의 약리학강의. 서울, 의학문화사, pp. 160~168, 1993.
46. Blanchard JG, Duncan PM : Effect of combinations of insulin, glucose and scopolamine on radial arm maze performance. USA, *Pharmacol Biochem Behav* 58(1):209-214, 1997.
47. Means LW, Holsten RD, Long M, High KM : Scopolamine - and morphine - induced deficits in water maze alternation. USA, *Neurobiol Learn Mem* 66(2):167-175, 1996.
48. Sessions GR, Pilcher JJ, Elsmore TF : Scopolamine - induced impairment in concurrent fixed - interval responding in a radial maze task. USA, *Pharmacol Biochem Behav* 59(3):641-647, 1998.
49. Arolfo MP, Tinari RJ, Ramirez OA :

- Equivalent performance in the water maze by rats with an inborn high or low learning capacity in a shuttle box paradigm. *Physiol Behav* 59(1):209-212, 1996.
50. Barrow P, Leconte I : The influence of body weight on open field and swimming maze performance during the post - weaning period in the rat. *England, Lab Anim* 30(1):22-27, 1996.
51. Gasbarri A, Sulli A, Innocenzi R, Pacitti C, Brioni JD. : *Spatial memory impairment induced by lesion of the mesohippocampal dopaminergic system in the rat.* USA, *Neurosci* 74(4):1037-1044, 1996.
52. Endo Y, Nishimura J, Kimura F : Impairment of maze learning in rats following long - term glucocorticoid treatments. *Ireland, Neurosci Lett* 203(3):199-202, 1996.
53. Floresco SB, Seamans JK, Phillips AG : Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial - arm maze tasks with or without a delay. USA, *J Neurosci* 17(5):1880-1890, 1997.
54. Levin ED, Wilkerson A, Jones JP, Christopher NC, Briggs SJ : Prenatal nicotine effects on memory in rats. *Netherlands, Brain Res Dev Brain Res* 97(2):207-215, 1996.
55. Olton DS, Collison C : Intramaze cues and 'odor trails' fail to direct choice behavior on an elevated maze. USA, *Animal Learning and Behavior* 7(2):221-223, 1979.
56. Hyde LA, Hoplight BJ, Denenberg VH : Water version of the radial - arm maze. USA, *Brain Res* 785:236-244, 1998.