

동의신경정신과 학회지

J. of Oriental Neuropsychiatry

Vol. 12, No. 2, 2001

## 生體外 알츠하이머병 實驗 모델에서 星香正氣散加蒲公英의 效果에 關한 研究

박진성 · 강형원 · 유영수

원광대학교 한의과대학 신경정신과교실

### A Study on the Effects of Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung on In-vitro Alzheimer's Disease Experimental Model

Jin-Sung Park, Hyung-Won Kang, Yeoung-Su Lyu

Dept. of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Wonkwang Univ. Iksan, Korea.

Astrocytes are glial cells that play a major role in the inflammation observed in Alzheimer's disease (AD). Upon stimulation from various agents, these cells adopt a reactive phenotype, a morphological hallmark in AD pathology, during which they themselves may produce still more inflammatory cytokines. Substance P (SP) can stimulate secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) from astrocytes stimulated with lipopolysaccharide (LPS). Here I report that Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung(Sgp) can modulate cytokines secretion from primary cultures of rat astrocytes. Sgp (10 to 1000  $\mu$ g/ml) significantly inhibited the TNF- $\alpha$  secretion by astrocytes stimulated with LPS and SP. Interleukin-1 (IL-1) has been shown to elevate TNF- $\alpha$  secretion from LPS-stimulated astrocytes while having no effect on astrocytes in the absence of LPS. Treatment of Sgp (10 to 1000  $\mu$ g/ml) to astrocytes stimulated with both LPS and SP decreased IL-1 secretion significantly. The secretion of TNF- $\alpha$  by LPS and SP in astrocytes was progressively inhibited with increasing amount of IL-1 neutralizing antibody. Neurodegenerative processes in AD are thought to be driven in part by the deposition of  $\beta$ -amyloid (A $\beta$ ), a 39- to 43-amino acid peptide product resulting from an alternative cleavage of amyloid precursor protein. Sgp (10 to 1000  $\mu$ g/ml) significantly inhibited the TNF- $\alpha$  secretion by astrocytes stimulated with A $\beta$  and IL-1. These results suggest that Sgp may inhibit TNF- $\alpha$  secretion by inhibiting IL-1 secretion and that Sgp has an antiinflammatory activity in AD brain

**Key words** : Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); astrocytes; Interleukin-1(IL-1);  $\beta$ -amyloid (A $\beta$ ); Alzheimer's disease (AD); Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung(Sgp); Substance P (SP)

### I. 緒 論

교신저자 : 박진성, 전북 전주시 덕진동 2가 142-1 원광  
대학교 부속 전주한방병원 신경정신과 (Tel.  
063-270-1021, Fax. 063-270-1199, E-mail:  
yslyu@wonkwang.ac.kr)

韓醫學에서 腦는 6개 奇恆之府의 하나로 腎과  
매우 밀접한 관계를 가지고 있다 하였으니<sup>1)</sup>, 나  
이가 들어 노화가 진행됨에 따라 腎氣가 점차 衰

하여 陰精이 虧損하게 되면 腎精이 결핍되어 腦에 上衝하지 못해 髓海가 空虚해지게 되어 頭痛이나 眩暈, 耳鳴, 失眠, 健忘 등의 증상과 함께 심하면 知能低下, 痴呆 등을 발생하게 된다 하였다<sup>2, 3)</sup>.

痴呆는 보통 뇌의 만성, 또는 진행성 질환에서 생긴 뇌 증후군(syndrome)이며, 이로 인해 기억·사고·지남력·이해·계산·학습능력·언어와 판단력을 포함하는 여러 가지 고위대뇌피질기능의 장애가 있는 것을 말한다<sup>4, 5)</sup>. 이중 Alzheimer's disease (AD)는 진행성 치매로 점진적인 뇌위축에 따른 현저한 기억장애를 특징으로 한 원발성 퇴행성 대뇌질환으로, 그 원인에 대해서는 다양한 가설들이 있다<sup>6)</sup>.

AD의 원인으로는 amyloid precursor protein (APP)의 과다생성과 이로 인한 amyloid  $\beta$  protein ( $A\beta$ )의 침적으로 형성되는 neuritic plaques 와 최근에는 presenilin (PS) 1, 2 유전자의 변형에 의한 돌연변이설이 대두되고 있다<sup>7)</sup>.

이외에도 염증매개물질과 다른 면역체계가 AD의 병태생리에 중요한 역할을 한다고 추정되는데, 종양괴사인자 알파 (Tumor necrosis factor- $\alpha$ : TNF- $\alpha$ )와 인터루킨-1 (Interleukin-1: IL-1), 인터루킨-6 (Interleukin-6: IL-6) 등의 세포활성물질들이 과다하게 생성되어 이로 인한 세포독성으로 痴呆와 같은 뇌의 퇴행성 병변이 발생하는 것으로 알려져 있다<sup>8, 9)</sup>. 특히 신경병리질환 중에서 AD는 TNF- $\alpha$ 와 IL-1이 뇌척수액에 증가되어 있고<sup>10, 11)</sup>, 또한 IL-1은  $A\beta$  유전자의 발현을 촉진시키는 것으로 알려져 있다<sup>12)</sup>.

韓醫學에서 痴呆는 呆病과 유사한 용어로<sup>13)</sup>, 呆病은 明代 張<sup>14)</sup>의 《景岳全書·雜證謨》顛狂篇에서 처음으로 記載되었고, 그 主要 原因에 대하여 張<sup>15)</sup>은 呆從痰治라 하여 痰으로 보고 治療에 있어서도 이를 적극적으로 활용하여 왔다. 이에 著者는 理氣祛痰의 效能으로 腦病에 多用하고 있는 星香正氣散加蒲公英이 痴呆에 유효하리라 사료되어 본 실험을 착수하게 되었다.

星香正氣散은 藿香正氣散과 星香散을 合方하여 創方된 것으로 戴<sup>16)</sup>의 《證治要訣》에 처음 收載된 이래, 理氣祛痰의 대표적인 처방이고<sup>17)</sup>, 蒲公英은 清熱解毒과 消癰散結의 效能이 있어 임상에

서 각종 炎症과 癰腫에 多用하는 약재이다<sup>18)</sup>.

최근 韓醫學에서도 痴呆에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 문헌적<sup>19, 20)</sup>, 임상적 연구<sup>21, 22)</sup> 외에 실험적 연구로 鈔<sup>23)</sup>과 각종 한약재가 치매 실험동물에 있어 記憶과 行動에 미치는 영향에 대한 研究<sup>24)</sup>, 행동 및 생화학적 변화에 대한 研究<sup>25)</sup>, 그리고 염증성 뇌세포 활성물질에 대한 연구<sup>26)</sup>를 보고한 적이 있으나 星香正氣散加蒲公英을 이용한 효과에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 著者는 임상에서 腦의 신경변성질환에 효과가 있을 것으로 사료되는 星香正氣散加蒲公英의 생체의 AD 실험 모델에 의한 염증반응에 미치는 변화를 규명하기 위하여 신생 흰쥐의 뇌 성장세포(astrocytes)와 소교세포(microglia)를 분리 배양한 후 substance P (SP)와 Lipopolisaccharide (LPS)에 의한 TNF- $\alpha$ 의 분비량을 측정한 후 뇌 성장세포에서 星香正氣散加蒲公英에 의한 SP와 LPS 유도성 TNF- $\alpha$ 와 IL-1의 억제효과 및  $A\beta$ 와 IL-1 $\beta$  유도성 TNF- $\alpha$ 와 IL-1의 억제효과 규명을 위한 실험을 수행하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 실험재료

(1) 시약: substance P, LPS,  $A\beta$ 는 Sigma Chemical Co. (Chicago, IL)에서 구입하였다. ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 용 murine rTNF- $\alpha$ , rIL-1 $\beta$ , anti-murine IL-1 $\beta$  및 anti-murine TNF- $\alpha$ 는 Genzyme (Cambridge, MA)에서 구입하였다. ELISA 용 human IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ 는 R & D Systems (Minneapolis, MN)에서 IL-6는 PharMingen (Cambridge, UK)에서 구입하였다. 우태아혈청은 Life Technologies (Grand Island, NY)에서 구입하였다.

(2) 실험동물: 일차 신경교세포 (primary glial cell) 배양을 위한 실험동물은 Wistar계 임신한

흰쥐를 대한실험동물센터 (음성, 충북)에서 구입하여 출산 후 2~5일이 경과된 신생흰쥐를 이용하였다.

(3) 인간 정상세포주: CCF-STTG1 astrocytoma 세포를 RPMI 1640에서 배양하였다.

(4) 星香正氣散加蒲公英 검액의 조제: 星香正氣散의 處方 內容은 方藥合編<sup>17)</sup>에 의거하였으며, 여기에 蒲公英을 加한 星香正氣散加蒲公英의 內容과 1貼 分量은 다음과 같다. 본 실험에 사용한 星香正氣散加蒲公英은 원광대학교 한의과대학 전주한방병원에서 구입한 후 정선하여 약탕기에 적량의 증류수를 넣고 약 70℃에서 5시간 다려서 조제했다. 조제한 검액을 여과하여 냉동 건조한 다음 4℃에 보관하여 실험직전 용해하여 사용하였다.

## 2. 실험방법

(1) 흰쥐 뇌의 정상세포 배양: 1차 뇌의 신경교 세포 배양은 Lotz<sup>8)</sup> 등의 방법에 따랐다. 즉 생후 2~3일째 되는 새끼 흰쥐의 뇌막을 제거한 후 뇌를 적출하여 파이펫으로 교반하며 잘게 부수어 분리하였다. 분리하여 얻은 세포는 20% 우태아혈청을 포함하는 DMEM 배양액에 부유시켜 직경 100mm의 세포배양용 petri-dish에 분주하여 3일마다 새로운 배양액을 첨가해 주면서 3주 동안 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건의 배양기에서 배양하였다. 배양 10일째에, 배양 dish에 부착된 신경교세포는 0.25% Trypsin-0.05% EDTA를 처리하였다. 상정액을 제거한 후 조직 배양 plate에 한 well당 4 × 10<sup>5</sup> cell을 분주하여 CO<sub>2</sub> 배양기에서 3일 동안 배양하였다. 이상의 조건으로 분리한 세포는 95% 이상이 정상세포로 구성되어 있다. 정상세포 배양액에 LPS (1 µg/ml), SP (1 µM) 또는 星香正氣散加蒲公英을 처리하여 실험하였다.

Table 1. Prescription of Sunghyangjungisan-pogokyoung

韓藥名	生藥名	重量(g)
藿香	<i>Herba Pogostemi</i>	6.0
蘇葉	<i>Folium perillae</i>	4.0
白芷	<i>Radix Angelicae Dahuricae</i>	2.0
大腹皮	<i>Pericarpium Arecae</i>	2.0
白茯苓	<i>Poria</i>	2.0
厚朴	<i>Cortex Magnoliae</i>	2.0
白朮	<i>Rhizoma Atractylodis Macrocephalae</i>	2.0
陳皮	<i>Pericarpium Citri Nobilis</i>	2.0
半夏製	<i>Tuber Pinelliae</i>	2.0
桔梗	<i>Radix Platycodi</i>	2.0
甘草炙	<i>Radix Glycyrrhizae (Broiled)</i>	2.0
生薑	<i>Rhizoma Zingiberis</i>	3.0
大棗	<i>Fructus Zizyphi Jujubae</i>	3.0
南星	<i>Rhizoma Arisaematis</i>	4.0
木香	<i>Radix Saussurea</i>	4.0
蒲公英	<i>Taraxacum mongolicum</i>	8.0
Total amount		50.0

(2) 뇌 소교세포의 배양: 배양 신경교 세포로부터 소교세포를 분리하기 위하여 배양 플라스크를 회전 교반기에서 800 rpm으로 1 시간동안 혼든 다음, 새로운 플라스크에서 15분 동안 배양하였다. 플라스크에 부착된 세포만을 회수하여 10% 우태아혈청을 함유한 DMEM에 재현탁하여 실험에 사용하였다.

(3) SP 제조: SP 용액에 LPS 오염이 되지 않도록 특별한 주의를 하면서 다음과 같이 제조했다. 펩타이드 SP를 0.01% acetic acid에 용해했다. Acetic acid는 glacial acetic acid를 1/10,000로 희석한 다음 0.2-µm filter로 여과하였다. SP 저장용액 (1mM)은 -20℃에 보관하여 사용 직전에 내독소가 없는 증류수에 희석하여 사용하였다.

(4) 세포활성물질의 정량: 세포배양액 내에 생성된 세포활성물질의 측정은 Scuderi 등이 기술한 방법에 준하여 약간 변형된 ELISA 방법으로 실시하였다. 즉 세포활성물질 단클론 항체는 flat-bottomed 96-well plate (Corning, Rochester, NY)에 코팅 완충액 (0.02% sodium azide를 함유

한 PBS, pH = 7.2)을 이용하여 각 well에 처리한 후 4°C에서 12시간 동안 코팅하였다. 코팅 후 비특이적 결합부위를 없애기 위하여 2% bovine serum albumin을 함유한 phosphate buffered saline (PBS)로 조성된 차단 완충액을 첨가하여 37°C에서 2시간동안 차단하였다. 다시 0.05% tween 20을 함유한 PBS로 조성된 세정 완충액으로 4회 세척 후 재조합 세포활성물질 표준액과 각 검체의 배양 상정액을 각 well에 100 µl씩 가하여 37°C에서 2시간 동안 배양하였다. 다시 0.05% tween 20을 함유한 PBS로 4회 세척 후 rabbit 항체를 1% BSA가 함유된 PBS를 이용하여 일정 농도로 희석한 후 각 well에 처리하여 37°C에서 2시간동안 배양하였다. 다시 세정 완충액으로 7회 세척 후 phosphatase가 결합된 goat anti-rabbit IgG (Sigma Co.) 항체를 일정 농도로 각 well에 처리한 다음 37°C에서 2시간 배양한 후 수회 세척하였다. 마지막 세척 후 0.05 M NaHCO<sub>3</sub>와 0.05 mM MgCl<sub>2</sub>로 조성된 완충액에 용해시킨 p-nitro phenyl phosphate (PNPP) 발색제를 100 µl씩 각 well에 가하여 10분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader를 이용하여 405 nm 파장에서 각 세포활성물질의 양을 측정하였다.

(5) 통계학적 분석: 모든 자료는 means ± S.E.로 나타내었으며, 통계학적 분석은 student's t-test로 행하였다. 유의수준은 P<0.05로 하였다.

### III. 實 驗 成 績

1. LPS와 SP에 의한 흰쥐 뇌 성상세포에서 TNF- $\alpha$  분비의 상승 효과<sup>2)</sup>.

Table II에 나타낸바와 같이 뇌 신경교세포로부터 분리한 뇌 성상세포에 LPS와 SP의 자극에 의한 TNF- $\alpha$ 의 분비량을 확인한 결과, LPS를 단독 처리했을 때에는 뇌 성상세포로부터 TNF- $\alpha$ 의 분비를 약간 자극한 반면, LPS와 SP를 동시에 처리했을 때에는 대조군에 비해 10 배

이상 TNF- $\alpha$ 의 분비량이 증가하였다 (P<0.05). 뇌 성상세포에 SP 단독 처리에 의해서는 성상세포로부터 TNF- $\alpha$ 의 분비에 큰 영향을 미치지 못하였다.

Table II에 나타낸 바와 같이 뇌소교세포도 신경교세포이지만 LPS를 처리하였을 경우에 약간의 TNF- $\alpha$ 의 분비만을 자극했으며, LPS와 SP를 동시에 가하여 배양했을 때에도 TNF- $\alpha$ 의 분비량이 유의성있게 증가하지 않았다. 이러한 결과는姜 등<sup>26, 27)</sup>의 보고와 거의 일치한다. 따라서 본 연구에서는 뇌 성상세포만을 분리하여 星香正氣散加蒲公英의 효과를 연구하였다.

Table II. Effect of LPS and/or SP on TNF- $\alpha$  secretion by rat astrocytes or microglia

Treatment		TNF- $\alpha$ secretion (ng/ml)	
LPS	SP	astrocytes	microglia
-	-	0.10±0.01	0.09±0.02
+	-	0.21±0.07	0.23±0.11
-	+	0.15±0.02	0.08±0.06
+	+	1.21±0.18*	0.47±0.09

Astrocytes and microglia fraction ( $2 \times 10^5$  cells/well) were isolated as described in Materials and methods. The fractions were incubated for 18 h in medium alone or in medium containing LPS (1 µg/ml) and/or SP (1 µM). The supernatants were collected and frozen at -80°C until assayed for TNF- $\alpha$ . Each datum value indicates the mean ± S.E. of three separated experiments. \*: statistically significant differences from the control values (medium alone values) at P<0.05.

2. 星香正氣散加蒲公英에 의한 흰쥐 뇌 성상세포에서 LPS와 SP에 의해 유도되는 TNF- $\alpha$  분비의 억제효과

뇌 성상세포로부터 LPS와 SP 유도성 TNF- $\alpha$ 의 분비에 있어서 星香正氣散加蒲公英의 효과를 확인하기 위해서 분리한 흰쥐 뇌 성상세포에 다양한 농도의 星香正氣散加蒲公英을 부가하여 18 시간 동안 배양한 다음 TNF- $\alpha$ 의 분비량을 측

정하였다.

Fig. 1에 나타낸바와 같이 星香正氣散加蒲公英 (1-1000  $\mu\text{g/ml}$ )을 뇌 정상세포로부터 LPS와 SP에 의해 유도되는  $\text{TNF-}\alpha$ 의 분비를 용량 의존적으로 감소시켰다. 특히 星香正氣散加蒲公英의 억제효과는 10-1000  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 현저하였다 ( $P < 0.05$ ).

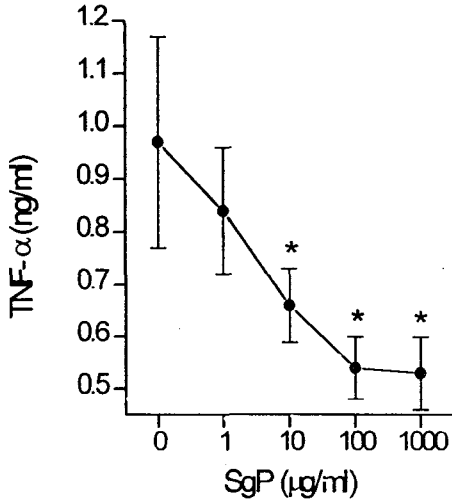


Fig. 1. Effect of Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung (Sgp) on LPS and SP induced  $\text{TNF-}\alpha$  secretion in astrocytes. The cells ( $2 \times 10^5$  cells/well) were incubated for 18 h in medium containing LPS (1  $\mu\text{g/ml}$ ) plus SP (1  $\mu\text{M}$ ) with various concentrations of Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung (Sgp) and the supernatants were collected and frozen at  $-80^\circ\text{C}$  until assayed for  $\text{TNF-}\alpha$ . Each datum value indicates the mean  $\pm$  S.E. of six separated experiments. \*: statistically significant differences from the control values at  $P < 0.05$ .

### 3. LPS와 SP에 의한 흰쥐 뇌 정상세포에서 IL-1 분비의 상승 효과

뇌 정상세포에 LPS 및 SP를 처리하여 배양한 상정액에서 또 하나의 중요한 염증성 세포활성물질로 알려진 IL-1의 양을 측정하였다.

Table III에 나타낸 것처럼, SP는 LPS로 자극한 정상세포로부터 IL-1의 분비를 더 증가시켰다. 이러한 결과 역시 姜 등<sup>26, 27</sup>의 보고와 거의 일치한다. 뇌소교세포에서는 그 상승 효과가 미약하였다 (data not shown).

Table III. Effect of LPS and/or SP on IL-1 secretion by rat astrocytes

Treatment		IL-1 secretion (ng/ml)
LPS	SP	
-	-	0.04 $\pm$ 0.02
+	-	0.09 $\pm$ 0.03
-	+	0.04 $\pm$ 0.01
+	+	0.91 $\pm$ 0.05*

Astrocytes ( $2 \times 10^5$  cells/well) were incubated for 18 h in medium alone or in medium containing LPS (1  $\mu\text{g/ml}$ ) and/or SP (1  $\mu\text{M}$ ). The supernatants were collected and frozen at  $-80^\circ\text{C}$  until assayed for IL-1. Each datum value indicates the mean  $\pm$  S.E. of three separated experiments. \*: statistically significant differences from the control values (medium alone values) at  $P < 0.05$ .

### 4. 星香正氣散加蒲公英에 의한 흰쥐 뇌 정상세포에서 LPS와 SP에 의해 유도되는 IL-1 분비의 억제 효과

뇌 정상세포로부터 LPS와 SP 유도성 IL-1의 분비에 있어서 星香正氣散加蒲公英의 효과를 확인하기 위해서 분리한 흰쥐 뇌 정상세포에 다양한 농도의 星香正氣散加蒲公英을 부가하여 18 시간 동안 배양한 다음 IL-1의 분비량을 측정하였다. 星香正氣散加蒲公英 (1-1000  $\mu\text{g/ml}$ )을 뇌 정상세포로부터 IL-1의 분비를 억제하였다 (Fig. 2). 이러한 星香正氣散加蒲公英의 억제 효과는 10-1000  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 통계학적으로 유의성이 있었다 ( $P < 0.05$ ).

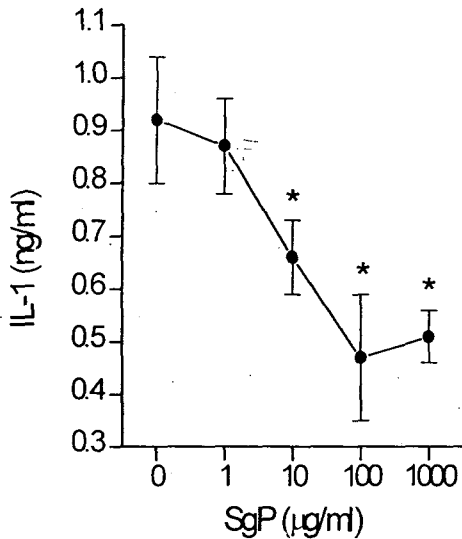


Fig. 2. Effect of Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung (Sgp) on LPS and SP induced IL-1 secretion in astrocytes. The cells ( $2 \times 10^5$  cells/well) were incubated for 18 h in medium containing LPS (1 µg/ml) plus SP (1µM) with various concentrations of Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung (Sgp) and the supernatants were collected and frozen at  $-80^\circ\text{C}$  until assayed for IL-1. Each datum value indicates the mean  $\pm$  S.E. of five separated experiments. \*: statistically significant differences from the control values at  $P<0.05$ .

5. 星香正氣散加蒲公英에 의한 흰쥐 뇌 성상세포에서 TNF- $\alpha$ 의 분비 억제과정 중 IL-1 경로 관련성

Bethea<sup>28)</sup> 등은 뇌 성상세포에서 IL-1에 의한 TNF- $\alpha$  mRNA의 유도 및 분비조절 능력을 보고하였다. 星香正氣散加蒲公英에 의한 뇌 성상세포로부터 TNF- $\alpha$ 의 분비 억제 효과가 IL-1 매개성 경로인가를 분석하기 위하여, 자극된 뇌 성상세포에서 항 IL-1 $\beta$  항체의 효과를 실험하였다. 뇌 성상세포 배양액에 LPS (1 µg/ml)와 SP (1 µ

M)를 처리한 다음 항 IL-1 $\beta$  항체를 첨가하여 18 시간 후에 TNF- $\alpha$  분비량을 측정하였다.

Fig. 3에 나타낸 바와 같이 항 IL-1 $\beta$  항체를 처리한 군은 TNF- $\alpha$  분비량이 감소하였다. 항 IL-1 $\beta$  항체의 억제 효과는 10-100 ng/ml 농도에서 현저하였다 ( $P<0.05$ ).

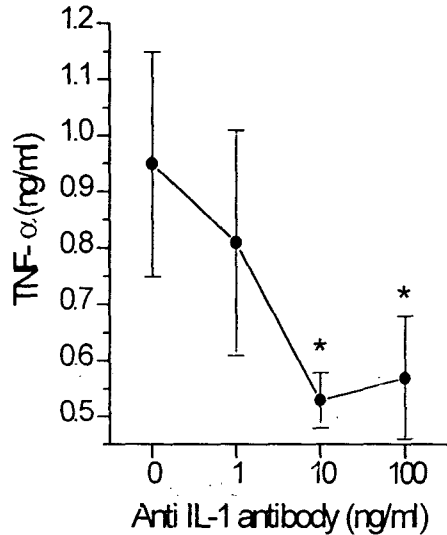


Fig. 3. Effect of IL-1 antibody on LPS and SP induced TNF- $\alpha$  secretion in astrocytes. The cells ( $4 \times 10^5$  cells/well) were incubated for 18 h in medium containing LPS (1 µg/ml) plus SP (1 µM) with various concentrations of IL-1 antibody. The supernatants were collected and frozen at  $-80^\circ\text{C}$  until assayed for TNF- $\alpha$ . Each data value indicates the mean  $\pm$  S.E. of three separated experiments. \*: statistically significant differences from the control values at  $P<0.05$ .

6. 星香正氣散加蒲公英에 의한 흰쥐 뇌 성상세포에서 A $\beta$ 와 IL-1 $\beta$ 에 의해 유도되는 TNF- $\alpha$  분비의 억제 효과

A $\beta$ 는 IL-1 $\beta$ 에 의해 활성화된 인간 성상세포로부터 다양한 세포활성물질의 분비를 촉진시킨다<sup>29)</sup>.

Fig. 4에 나타낸 바와 같이 A $\beta$ 와 IL-1 $\beta$  단독 처리한 경우보다 동시에 처리했을 때 정상세포로부터 TNF- $\alpha$ 의 분비량이 더욱 증가하며, 이 때 星香正氣散加蒲公英(10-1,000  $\mu$ g/ml)을 처리하면 그 분비량이 현저하게 감소함을 알 수 있다. 특히 星香正氣散加蒲公英 1,000  $\mu$ g/ml 농도에서는 TNF- $\alpha$ 의 분비량이 대조군 수준으로 감소되었다.

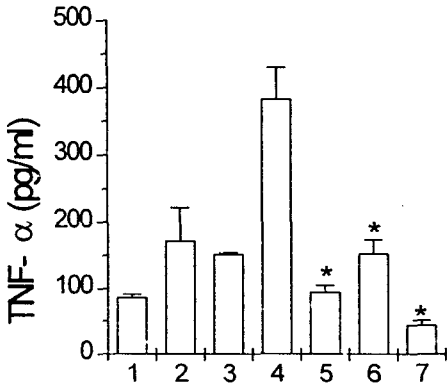


Fig. 4. Effect of Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung (Sgp) on A $\beta$  plus IL-1 induced TNF- $\alpha$  secretion in astrocytes. The cells ( $2 \times 10^5$  cells/well) were incubated for 24 h in medium containing A $\beta$  (20  $\mu$ g/ml) plus IL-1 $\beta$  (10 ng/ml) with various concentrations of Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung (Sgp) and the supernatants were collected and frozen at  $-80^\circ\text{C}$  until assayed for TNF- $\alpha$ . Each datum value indicates the mean  $\pm$  S.E. of five separated experiments. 1, Con; 2, A $\beta$ ; 3, IL-1 $\beta$  4, A $\beta$  + IL-1 $\beta$ ; 5, SgP (10  $\mu$ g/ml) + A $\beta$  + IL-1 $\beta$ ; 6, SgP (100  $\mu$ g/ml) + A $\beta$  + IL-1 $\beta$  7, SgP (1000  $\mu$ g/ml) + A $\beta$  + IL-1 $\beta$  \*: statistically significant differences from the A $\beta$  plus IL-1 $\beta$  control values at  $P < 0.05$ .

7. 星香正氣散加蒲公英에 의한 인간 뇌 정상세포에서 A $\beta$ 와 IL-1 $\beta$ 에 의해 유도되는 IL-6 분비의 억제 효과

星香正氣散加蒲公英이 A $\beta$ 와 IL-1 $\beta$ 에 의해 활성화된 인간 정상세포로부터 분비되는 세포활성물질 중 IL-6의 분비에 미치는 효과를 분석하였다. Fig. 5에 나타낸 바와 같이 A $\beta$ 와 IL-1 $\beta$  단독 처리한 경우보다 동시에 처리했을 때 정상세포로부터 IL-6의 분비량이 더욱 증가하였다.

星香正氣散加蒲公英은 100  $\mu$ g/ml 농도에서 IL-6의 분비량 억제 효과가 현저하였다. 그러나 星香正氣散加蒲公英 10, 1,000  $\mu$ g/ml 농도에서는 오히려 IL-6의 분비량이 증가하였다. 위의 모든 실험에서 星香正氣散加蒲公英에 의한 세포독성은 관찰되지 않았다.

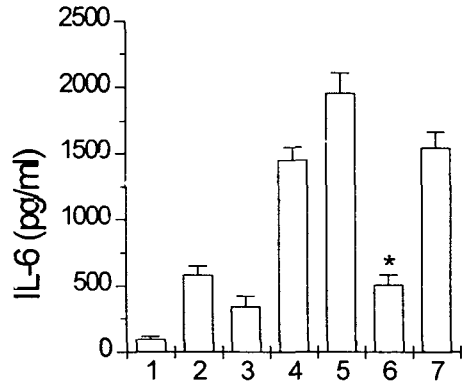


Fig. 5. Effect of Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung (Sgp) on A $\beta$  plus IL-1 induced IL-6 secretion in astrocytes. The cells ( $2 \times 10^5$  cells/well) were incubated for 24 h in medium containing A $\beta$  (20  $\mu$ g/ml) plus IL-1 $\beta$  (10 ng/ml) with various concentrations of Sunghyangjungkisan-ga-pogokyoung (Sgp) and the supernatants were collected and frozen at  $-80^\circ\text{C}$  until assayed for IL-6. Each datum value indicates the mean  $\pm$  S.E. of three separated experiments. 1, Con; 2, A $\beta$ ; 3, IL-1 $\beta$  4, A $\beta$  + IL-1 $\beta$ ; 5, SgP (10  $\mu$ g/ml) + A $\beta$  + IL-1 $\beta$ ; 6, SgP (100  $\mu$ g/ml) + A $\beta$  + IL-1 $\beta$  7, SgP (1000  $\mu$ g/ml) + A $\beta$  + IL-1 $\beta$  \*: statistically significant differences from the A $\beta$  plus IL-1 $\beta$  control values at  $P < 0.05$ .

#### IV. 考 察

痴呆는 전반적인 인지기능의 장애를 주증상으로 하며, 보통 만성 또는 진행성 뇌 질환과 같은 병적인 노화로 인한 뇌 증후군으로<sup>4, 5)</sup> 腦의 退行性 變化에 의한 알츠하이머형 치매 (AD)와 腦梗塞 등으로 誘發된 腦血管性 痴呆 그리고 兩者가 混在된 混合型 痴呆가 있는데, 이중 전 세계적으로 가장 많은 비율을 차지하는 것이 AD이다<sup>5)</sup>.

AD는 뇌의 전반적 위축에 따른 현저한 기억장애를 특징으로 지남력 저하, 판단력, 추리력, 사고력, 계산력 등이 쇠퇴하여 점차적으로 방향상실, 일상생활능력저하 및 대소변 실금 등의 인격의 본질적인 면까지 상실되는 질병이다<sup>4-6)</sup>.

AD를 유발하는 원인으로는 A $\beta$ , estrogen, apolipoprotein E(Apo E), presenilin, Oxidants (hydrogen peroxide, superoxide, hydroxyl radicals), 炎症, 사고에 의한 손상, 신경전달물질, 신경영양인자 등의 많은 유발인자가 관여하는 것으로 알려져 있으며<sup>30)</sup>, 이 중 A $\beta$ 의 침적으로 생기는 축색반 (neuritic plaques)의 신경독성으로 신경세포의 파괴가 일어나는 것과 과인산화 타우 (Tau) 단백질의 침적에 의한 신경원섬유농축체 (neurofibrillary tangles, NFTs)의 작용으로 신경 퇴행이 생기는 것이 대표적이므로<sup>31)</sup> NFTs와 neuritic plaques는 AD의 지표로 인식되고 있다<sup>32)</sup>.

NFTs와 neuritic plaques는 정상 뇌에도 존재하며 나이가 많아짐에 따라 그 수가 증가하나 AD의 경우 뇌의 기억과 인지를 담당하는 부위에 상당히 많이 증가하여 신경전달을 방해하게 되고 부교감신경과 뇌의 다른 신경전달경로를 파괴하는 것으로 알려져 있다<sup>32)</sup>. 이에 따라 acetylcholine, serotonin, noradrenaline, dopamine, glutamate, substance P 등의 많은 신경전달물질이 크게 감소하게 되고 이 중 acetylcholine의 결핍은 가장 중요한 현상이며 이것을 회복시키는 것이 현재까지의 주 치료목표의 하나가 되고 있다<sup>33)</sup>.

Neuritic plaques는 노인반 (senile plaque) 또는 아밀로이드반 (amyloid plaque)이라고도 하며 파괴된 축색돌기와 수상돌기들이 얽힌 덩어리가 A

$\beta$ 을 둘러싼 모양을 하고 있고 다시 신경교세포 (glial cell)와 얽히게 된다. 신경교세포는 염증매개물질 분비작용과 식세포 (scavenger cell)작용을 하기 때문에 이것은 AD의 염증성 기전을 설명하는데 매우 중요하다<sup>34)</sup>. Neuritic plaques의 수는 질병의 심한 정도와 비례하므로 이 plaques에 대한 연구가 AD연구의 초점이 되고 있다<sup>32)</sup>.

뇌의 amyloid palque 침적이 AD의 주요 특징이지만 이것이 신경과피의 원인인지 아니면 AD에 의한 부산물인지는 아직 명확히 밝혀지지 않고 있다. Amyloid 침적은 약 40개의 아미노산으로 구성된 A $\beta$ 이 응집한 결과물이며 A $\beta$ 는  $\beta$ -estrogen나  $\gamma$ -secretase에 의해 큰 分子量의 amyloid precursor protein (APP) 일부가 잘라져서 생성되는데 이 단백질은 疏水性 殘基가 대부분인 39-43개의 아미노산으로 構成되어 있어 스스로 凝集하는 性質을 가지고 있다<sup>35)</sup>. 따라서 A $\beta$ 을 변화시키거나 APP가 잘라지는 부분을 변화시키고자하는 치료법이 amyloid palque 침적과 질병의 진행을 억제할 수 있을 것이다.

어떤 유형의 AD는 家系 (family tree)를 따라 나타나므로 유전성일 가능성이 높은 것으로 알려져 있다. 다운 증후군 환자들의 뇌에도 amyloid 침전물이 있고 실제로 St. George-Hyslop<sup>36)</sup> 등은 21번 염색체에 APP을 생산하는 유전자가 있는 것으로 발견하였는데, 이것은 화학적으로 A $\beta$ 로 변형된다. 그밖에 14번, 19번 염색체에도 유전자 결함이 발견되어 AD의 유전적인 특징은 여러 가지 원인의 영향을 받는 것으로 나타났다<sup>37)</sup>. 아마도 APP 유전자에 결함이 있으면 A $\beta$ 가 과잉 생산되어 AD와 관련된 뇌손상을 일으키는 것 같다<sup>38)</sup>.

또한 최근의 연구 결과에 따르면 apolipoprotein E4가 65세 이후의 AD에 유전적으로 영향을 미친다고 한다<sup>32)</sup>. Apo E생성에 관계되는 유전자는 19번 염색체에 있으며 Apo E2, Apo E3, Apo E4의 세가지 주요 아형 (subtype)이 존재한다. 이중 Apo E3가 가장 흔하며 E2와 E4는 많지 않다. Apo E4가 많을수록 AD발병 가능성이 높아지는 반면 Apo E2는 AD발병을 억제하는 효과가 있다<sup>32)</sup>.

그 외에도 염증매개물질과 다른 면역체계가 AD



의 병태생리에 중요한 역할을 하는 것으로 추정되는데 이는 amyloid plaque가 생성된 주변에 IL-1, IL-6, complement 등 염증매개물질들이 증가되어 있는 것으로부터 알 수 있다<sup>32, 34</sup>. 특히, amyloid plaque은 반응성 소교세포(reactive microglia)를 함유하고 있는데, 이것은 식작용 교세포로서 특수한 형태의 백혈구와 비슷한 기능을 하는 것으로 이 소교세포에서 A $\beta$ 의 침전물이 생성하는 것으로 생각하고 있다<sup>39</sup>.

정상상태의 腦에서 성상세포 및 소교세포는 신경세포의 分化에 필요한 營養因子로서 cytokine들을 微量 分泌함으로써 腦의 生體 恒常性을 유지하는데 기여하지만 일단 물리적인 腦損傷, 感染 및 炎症 反應 등의 刺戟에 의해 손상된 腦血管 장벽을 통하여 免疫系 細胞들이 중추신경계로 侵入하면 活性化된 성상세포 및 소교세포들이 IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  등의 proinflammatory cytokine들을 過多하게 生成하여 腦에서의 cytokine 恒常性 (cytokines homeostasis)이 破壞됨으로써 中樞神經系의 炎症反應을 일으킨다는 假說이 최근 많은 研究結果들에 의하여 입증되고 있다<sup>40</sup>.

腦損傷에서 제일 먼저 病變 部位에 나타나는 神經膠細胞는 소교세포로 성상세포의 主要刺戟因子인 IL-1 및 TNF- $\alpha$ 를 誘導하여 中樞神經系의 炎症反應을 開始하는 중요한 役割을 갖고 있다고 생각된다<sup>41</sup>. 中樞神經系의 炎症反應은 일련의 단계로 진행되는데 소교세포에서 誘導發顯된 IL-1 및 TNF- $\alpha$ 는 성상세포를 活性化시켜 IL-6 등의 cytokine을 生成시키고, 活性 酸素의 일종인 peroxynitrite를 誘導함으로써 神經細胞의 死滅을 惹起하게 된다<sup>42</sup>. 또한 AD, Parkinson's disease 등의 退行性 腦疾患 病變 部位에서 IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  등의 cytokine 發顯을 보이는 성상세포와 소교세포의 活性化가 觀察됨으로써 이들 疾病과 proinflammatory cytokine이 밀접한 관계가 있으리라는 假說에 관심이 집중되고 있다<sup>42</sup>. 특히 A $\beta$ 가 沈積된 노인반 주변의 소교세포는 A $\beta$ 에 의해 活性化되어 IL-1, TNF- $\alpha$  등의 proinflammatory cytokine을 生成하므로써 AD의 病理機轉에 기여하는 것으로 알려져 있다<sup>43</sup>.

AD 치료제 연구에 있어서도 Rogers<sup>44</sup> 등이 소염제를 복용한 사람들은 AD의 발병률이 특히 낮

다는 연구결과를 보고한 이래 현재에도 AD 환자에게 있어 항염증제의 예방 및 치료에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

韓醫學에서 痴呆는 呆病과 유사한 용어로 呆病은 明代 張<sup>14</sup>의 《景岳全書·雜證謨》癡狂篇에서 처음으로 '痴獸'라고 記載되어 있으며, 清代 陳<sup>45</sup>에 의해 西洋醫學에서 말하는 痴呆의 概念과 유사한 뜻으로 상세하게 기술하였고, 呆病, 癡狂, 健忘, 虛勞 등이 이와 유사한 概念이다<sup>13, 14</sup>.

痴呆의 主要原因으로는 鄭<sup>20</sup> 등이 痰飲, 七情傷, 稟賦不足, 肝腎不足으로 크게 나누었고. 郭<sup>46</sup> 등은 年老氣衰, 久病, 或은 內風卒中, 外傷頭腦, 或은 邪毒內竄 등으로 腦絡이 痰瘀로 凝結되면 善忘, 痴呆 등의 症狀을 發한다고 하였다. 陳<sup>45</sup>은 呆病의 主要原因을 痰으로 보았고, 최근 張<sup>15</sup>도 呆從痰治으로 治痰하는 藥物을 使用하여 痴呆를 治療하였다고 報告하였다. 이와 같이 腦의 退行性 病變과 관련되어 있는 痴呆의 病因病機은 臟腑的으로는 肝腎不足이 重要하게 作用하고 痰·瘀血의 生成이 腦에 停滯됨으로 인해 各種 症狀이 나타나는 것임을 알 수 있다<sup>47</sup>. 최근 姜<sup>48</sup> 등은 痴呆의 병리학적 연구에서 痴呆의 老化和 遺傳的 要因이 韓醫學의 臟腑的으로는 腎虛와 밀접한 關係를 맺고, A $\beta$ 와 tau 단백질과 같은 뇌 속의 비정상적인 plaque는 痰濁과 瘀血 등의 韓方의 病理產物과 관련된다고 하였다.

최근 韓醫學에서도 痴呆에 대한 연구가 다양하게 진행되고 있는데 AD의 원인인 아밀로이드 전구단백질과 presenilin 유전자의 과다 발현에 대한 연구<sup>49</sup>, 腦의 老化和 연계하여 老화를 유발하는 항산화작용에 대한 研究<sup>50</sup>, 白鼠의 記憶과 行動에 미치는 영향에 대한 研究<sup>24</sup>, 白鼠의 행동과 生화학적 變化에 대한 연구<sup>25</sup>, 그리고 姜 등<sup>26, 27</sup>이 중추신경계의 항염증작용에 관한 연구를 보고한 적이 있으나 임상에서 뇌의 신경변성질환에 대응하는 星香正氣散加蒲公英을 이용한 효과에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다.

星香正氣散은 戴<sup>16</sup>의 《證治要訣》에 처음 收載된 處方으로 藿香正氣散과 星香散을 合方하여 創方되었는데 理氣祛痰의 效能이 있어, 中風, 中氣, 痰厥, 食厥 등 症에 先用되는 대표적 처방이며, 임상에서 中風昏倒, 人事不省, 痰涎壅盛 등

症에 救急處方으로 調氣의 목적으로 활용되고 있고<sup>51)</sup>, 實驗的 研究에서 文<sup>52)</sup>은 星香正氣散이 血壓, 心搏動, 腦壓, 腦損傷 등에 유의한 효과가 있는 것으로 보고하였다.

星香正氣散은 藿香正氣散에 祛風痰之劑인 南星과 理氣劑인 木香을 加한 理氣祛風痰之劑로 처방 약물의 藥理作用을 보면, 藿香은 辛溫하여 理氣和中, 化濕止嘔하며 表裏를 兼治하는 효능이 있고, 蘇葉, 白芷, 桔梗은 散寒利膈하여 邪氣를 發表시키고 理氣機하며, 厚朴, 大腹皮는 行水小滿하고 下氣寬中하며, 半夏, 陳皮는 燥濕祛痰, 和胃降逆하여 裡滯를 疏通시키며, 茯苓, 白朮, 炙甘草는 益脾祛濕하여 正氣를 補하고, 生薑, 大棗는 益胃和中하며<sup>53)</sup>, 南星은 燥濕化痰, 祛風解痙하는 효능이 있어 風痰을 除去하며, 木香은 行氣止痛하는 효능이 있어 腸胃의 滯氣를 疏通시킨다<sup>54)</sup>.

蒲公英은 菊花科에 속한 多年生草本인 민들레의 帶根全草이며, 性味에 있어서는 甘苦寒하고 肝·胃에 歸經하며 效能과 主治症을 살펴보면 清熱解毒, 消癰散結, 清肝明目, 利尿 등의 效能으로 急性 乳腺炎, 淋腺炎, 結膜炎, 中耳炎, 扁桃腺炎, 氣管支炎, 胃炎, 肝炎, 膽囊炎, 尿路感染, 痢疾, 十二指腸潰瘍, 乳癌, 胃癌, 肝癌 등의 각종 炎症과 癰腫 症狀를 治療한다고 하였다<sup>55)</sup>.

성상세포는 중추신경계에서 균형된 항상성 환경의 유지를 위하여 중요한 기능을 하고 있다. 성상세포가 면역 적응세포로서 기능을 수행할 수 있는 것은 다양한 면역조절 세포활성물질을 합성하고 또 그들과 반응할 수 있는 능력이 있기 때문이다<sup>56)</sup>. 또한 뇌 성상세포는 AD에서 관찰되는 염증반응을 일으키는 중요한 세포로 알려져 있으며<sup>10)</sup>, 이러한 세포활성물질들은 알츠하이머병 이외에도 다발성 경화증, 에이즈 등 다양한 신경병리질환의 발병에 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>57)</sup>. 뇌 성상세포는 리포다당질, 바이러스 등에 반응하여 TNF- $\alpha$ , IL-1 등의 세포활성물질(cytokine)을 분비한다. 특히, 신경병리질환 중에서 AD는 TNF- $\alpha$ 와 IL-1이 뇌척수액에 증가되어 있고, 주요조직적합항원(major histocompatibility complex antigen)의 비정상적 발현이 나타나며, 또한 IL-1은 A $\beta$  유전자의 발현을 촉진시킨다<sup>12)</sup>. 다발성경화증에서 TNF- $\alpha$ 는 乏枝神經膠

(oligodendrocyte)를 사멸시키고 髓素(myelin)를 파괴시킬 것으로 생각하고 있다<sup>58)</sup>. 에이즈와 관련된 痴呆 환자에 있어서도 뇌척수액에 이들 물질이 역시 증가되어 있고, 비정상적인 주요조직적합항원의 발현이 일어나며<sup>57)</sup>, TNF- $\alpha$ 는 배양한 뇌 소교세포에서 HIV-1의 발현을 증가시킨다. 한편 SP는 신경계에서 신경전달물질 및 신경유래의 염증매개물질로서 잘 알려져 있다. 또한 SP는 염증성 세포활성물질인 TNF- $\alpha$ 와 IL-112, 13), IL-612)의 생성을 자극하고 중추신경계의 손상에 의한 SP 수용체 수의 증가에 영향을 미친다<sup>58)</sup>. SP는 중추신경계에 광범위하게 분포되어 있으며 TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6와 같은 염증성 세포활성물질의 생성을 자극하여 중추신경계의 염증 진행에 영향을 미칠 것이 예상된다.

이에 著者는 중추신경계의 염증 및 퇴행성 변화가 AD를 비롯한 노인성 痴呆의 중요 병인 중에 일부로 사료되어 한의학에서 뇌 신경변성질환에 多用하고 있는 星香正氣散에 항염증작용이 뚜렷한 蒲公英을 加하여 AD에 대한 효용성 여부를 알아보기 위해 본 실험에 착수하게 되었다.

우선 星香正氣散加蒲公英이 뇌 성상세포로부터 LPS와 SP의 동시자극에 의해 생성되는 염증성 세포활성물질인 TNF- $\alpha$  및 IL-1의 분비를 유의성있게 억제하는 것을 증명했다(Fig. 1, 2). 또한 星香正氣散加蒲公英은 신경 독성을 매개하는 물질로 알려진 A $\beta$ 와 IL-1의 자극에 의한 뇌 성상세포로부터 TNF- $\alpha$  및 IL-6의 분비를 억제하는 것을 관찰했다(Fig. 4, 5). 이러한 결과는 星香正氣散加蒲公英이 AD의 신경 병리와 밀접한 관련이 있는 만성 염증 조절에 유효한 효능을 나타내는 것으로 사료된다.

Torrrens<sup>59)</sup> 등은 일차 혼합 신경교세포에서 SP의 결합부위를 발견했으나, 뇌 소교세포에서는 SP의 수용체를 검출할 수 없었다. 이러한 결과는 SP 수용체가 뇌의 성상세포에 있다는 것을 의미한다. 본 연구의 결과는 소교세포에서는 SP의 반응성이 관찰되지 않았기 때문에 이들 결과와 상관성이 있다. 그러나 SP 단독으로는 뇌 성상세포로부터 TNF- $\alpha$  및 IL-1의 분비에 영향을 미치지 못했다. 뇌 성상세포로부터 SP에 의한 IL-1의 분비 증가 역시 LPS의 동시자극에 의해서 상승

적인 효과를 나타내었다(Table III).

星香正氣散加蒲公英에 의한 뇌 정상세포로부터 TNF- $\alpha$ 의 분비 억제 효과가 IL-1 매개성 경로 인가를 분석하기 위하여, 자극된 뇌 정상세포에서 항 IL-1 $\beta$  항체의 효과를 실험하였는데, Fig. 3에서 보는 바와 같이 항 IL-1 $\beta$  항체의 억제 효과는 10-100 ng/ml 농도에서 현저하였다( $P < 0.05$ ). 이것은 IL-1 항체에 의해 SP 유도성 TNF- $\alpha$  분비의 증가가 억제되기 때문에 IL-1은 TNF- $\alpha$  증가를 매개하는 역할을 하는 것으로 사료된다. 이와 같은 결과는 SP가 중추신경계의 신경에서 생성되는 신경전달물질로서 염증반응에 관여하는 중요한 분자임을 의미하는 증거이다. Sharief<sup>60</sup> 등은 활성화상태(active) 다발성경화증 환자의 뇌척수액에 존재하는 TNF- $\alpha$ 의 양이 안정상태(stable) 다발성경화증 환자 및 정상 대조군보다 현저히 높은 수준인 것을 報告하였고, 이러한 발견은 활성화상태(active) 다발성경화증에서 병리학적인 변화를 TNF- $\alpha$ 의 측정에 의해 인식할 수 있는 중요한 지표를 제공해준다. 또한 TNF- $\alpha$ 는 탈수초화(demyelination)에 있어서 중요한 役割을 하고 있음을 예상할 수 있다.

마지막으로 星香正氣散加蒲公英이 A $\beta$ 와 IL-1 $\beta$ 에 의해 활성화된 인간 정상세포로부터 분비되는 세포활성물질 중 IL-6의 분비에 미치는 효과를 분석하였는데, Fig. 5에 나타낸 바와 같이 A $\beta$ 와 IL-1 $\beta$  단독 처리한 경우보다 동시에 처리했을 때 정상세포로부터 IL-6의 분비량이 더욱 증가하였고 본 연구에서는 星香正氣散加蒲公英 특정 농도 (100  $\mu$ g/ml)에서만 현저한 억제 효과가 있었다(Fig. 5). 이러한 결과로부터 星香正氣散加蒲公英에 의한 세포활성물질의 분비 조절 효과가 다양한 기전을 통하여 일어남을 예상할 수 있고, TNF- $\alpha$ 와 IL-6 사이의 autoregulation도 생각해 볼 수 있다. 특히 TNF- $\alpha$ 는 AD 환자에서 많이 분비되기 때문에 星香正氣散加蒲公英의 투여에 의한 AD 환자에서 일어나고 있는 염증반응을 감소시킬 수 있을 것으로 사료된다.

이 같은 實驗 結果를 종합해보면, 星香正氣散加蒲公英이 AD의 신경 병리와 밀접한 관련이 있는 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 및 A $\beta$ 와 IL-1 $\beta$ 유도성 TNF- $\alpha$ 와 IL-1의 생성을 억제하는 뚜렷한 효과

가 있어 임상적으로 AD 환자에 효과적으로 이용할 수 있을 것으로 사료되며, 계속적인 연구로 AD 실험 모델 등에서 염증반응 경로의 이해에 의한 星香正氣散加蒲公英의 효과를 구명하여 새로운 개념의 치료 방안이 강구될 수 있을 것으로 기대된다.

## V. 結 論

생체 외 알츠하이머병 실험 모델에서 星香正氣散加蒲公英의 효과를 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 뇌 정상세포에 LPS와 SP의 자극에 의한 TNF- $\alpha$ 와 IL-1의 분비량을 확인한 결과, 단독 처리했을 때에는 이들 물질의 분비를 약간 자극한 반면, LPS와 SP를 동시에 처리했을 때에는 대조군에 비해 TNF- $\alpha$ 는 10배 이상, IL-1은 20배 이상 그 분비량이 증가하였다.

2. 星香正氣散加蒲公英(1-1000  $\mu$ g/ml)은 뇌 정상세포로부터 LPS와 SP에 의해 유도되는 TNF- $\alpha$ 의 분비를 용량 의존적으로 감소시켰다. 특히 星香正氣散加蒲公英의 억제효과는 10-1000  $\mu$ g/ml 농도에서 현저하였다.

3. 星香正氣散加蒲公英(1-1000  $\mu$ g/ml)은 뇌 정상세포로부터 IL-1의 분비를 억제하였다. 이러한 星香正氣散加蒲公英의 억제 효과는 10-1000  $\mu$ g/ml 농도에서 통계학적으로 유의성이 있었다

4. 뇌 정상세포 배양액에 LPS (1  $\mu$ g/ml)와 SP (1  $\mu$ M)를 처리한 다음 항 IL-1 $\beta$  항체를 첨가하여 TNF- $\alpha$  분비량을 측정된 결과, 항 IL-1 $\beta$  항체를 처리한 군은 TNF- $\alpha$  분비량이 감소하였다. 항 IL-1 $\beta$  항체의 억제 효과는 10-100 ng/ml 농도에서 현저하였다.

5. A $\beta$ 와 IL-1 $\beta$ 의 동시 처리에 의해 정상세포로부터 TNF- $\alpha$ 의 분비량이 더욱 증가하였으며,

이 때 星香正氣散加蒲公英(10-1,000 µg/ml)은 그 분비량을 현저하게 감소시켰다. 특히 星香正氣散加蒲公英 1,000 µg/ml 농도에서는 TNF-α의 분비량이 대조군 수준으로 감소되었다.

6. 星香正氣散加蒲公英이  $\text{A}\beta$ 와 IL-1 $\beta$ 에 의해 활성화된 인간 성상세포로부터 분비되는 IL-6의 분비 억제에 미치는 효과를 분석한 결과, 100 µg/ml 농도에서 그 효과가 현저하였다. 그러나 星香正氣散加蒲公英 10, 1,000 µg/ml 농도에서는 오히려 IL-6의 분비량이 증가하였다.

本研究에서 著者は 다양한 자극원에 의한 생체의 알츠하이머병 실험 모델에서 星香正氣散加蒲公英의 유의성 있는 효과를 관찰하여 AD 환자의 臨床的 활용 근거를 제공한 것으로 사료되며, 尙後 이 약물의 항염증효과 작용기전에 대한 研究가 계속적으로 進行되어져야 할 것으로 생각된다.

### 參 考 文 獻

1. 金完熙 외 編著. 臟腑辨證論治. 서울:成輔社. 1985:47.
2. 許 浚 原著. 東醫寶鑑 外形篇. 서울:대성문화사. 1992:263.
3. 李清福·劉渡舟 編著. 中醫精神醫學 天津:天津科學技術出版社. 1988:211-212.
4. 李符永 譯. ICD-10 정신 및 행동장애 분류. 서울:一潮閣. 1994:63-66.
5. 김지혁·황의완. 동의정신의학. 서울:현대의학서적사. 1992:256-271, 327-330, 663-664.
6. 서순규. 성인병·노인의학. 서울:고려의학. 1992 :225-228, 230-232.
7. Tabaton M, Cammarata S, Mandybur T, Richy P, Kawai M, Perry G, Gambetti P. Senile plaques in cerebral amyloid angiopathy show accumulation of amyloid precursor protein without cytoskeletal

- abnormalities, Brain Res, 1992;593(2):299-303.
8. Lotz, M., Vaughan, J.H, and Carson, DA. Effect of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes, Science 1988:241, 1218.
9. Laurenzi, MA, Persson, MAA, Dalsgaard, CJ and Haegerstrand, A. The neuropeptide substance P stimulates production of interleukin 1 in human blood monocytes; activated cells are preferentially influenced by the neuropeptide, Scand. J. Immunol. 1990:31, 529.
10. Griffin, WST and Stanley, LC. In Biology and Pathology of Astrocyte-Neuron Interactions. New York:Plenum Press. 1993:359-381.
11. Giffin, WS, Stanley, LC, Lung, C, White, L, MacLeod, V, Perott, LJ, White, C L and Araoz, C. Brain interleukin-1 and S-100 immunoreactivity are elevated in Down syndrome and Alzheimer's disease. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1989;86:7611.
12. Forloni, G, Demicheli, F, Giorgi, S, Bendotti, C and Angeretti, N. Expression of amyloid precursor protein mRNAs in endothelial neuronal and glial cells; modulation by interleukin-1, Brain Res. (Mol. Brain Res.) 1992:16, 128.
13. 洪元植. 精校黃帝內經素問. 서울:東洋醫學研究院 1985:217-218, 229.
14. 張介賓. 景岳全書. 上海:上海科學技術出版社. 1985:573-578.
15. 張覺人. 呆從痰治. 上海:上海中醫藥雜誌. 1995 ;3:20-21.
16. 戴思恭. 證治要訣(醫部全錄. VI). 香港:文光出版社. 1976:35, 36.
17. 黃度淵. 證脈方藥合編. 서울:南山堂. 1978: 138-140.
18. 辛民教. 臨床本草學. 서울:永林社. 1997: 445-446.
19. 金賢兒. 老人性 癡呆에 대한 文獻的 考察.

- 大韓韓方內科學會誌. 1992;13(2):57-68.
20. 鄭仁哲·李相龍. 痴呆에 對한 文獻의 考察. 東醫神經精神科學會誌. 1996;7(1): 77-94.
21. 나창수 외. 치매에 관한 최근의 연구 동향. 大韓韓方內科學會誌. 1998;19(1):291-317.
22. 현경철·김종우·황의완. Vascular Dementia 에 관한 한의학적 임상연구. 동의신경정신과학회지. 1999;10(1):147-158.
23. 서정렬 : 침구 자극이 치매와 관련된 melatonin 분비와 SOD 합성에 미치는 영향, 익산, 원광대 대학원, 1997.
24. 황의완. 麝香蘇合元이 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 학습과 기억에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 1999;10(1):1-16.
25. 최병만·이상룡. 익정지황탕이 치매병태모델에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 2000;11(2):23-42.
26. 강형원·유영수. 天門冬에 의한 腦神經細胞로부터 炎症性 細胞活性物質 分泌의 抑制 效果. 東醫神經精神科學會誌. 1998;9(1):73-82.
27. 고재왕 외. 중추신경계에서 蒲公英의 항염증 작용에 관한 연구. 東醫神經精神科學會誌. 2000;11(2):11-21.
28. Bethea, JR, Chung, IY, Sparacio, SM, Gillespie, GY and Benveniste, EN. Interleukin-1 beta induction of tumor necrosis factor-alpha gene expression in human astrogloma cells, J. Neuroimmunol. 1992;36, 179.
29. Gitter, BD, Cox, LM, Rydel, RE, May, PC. Amyloid  $\beta$  peptide potentiates cytokine secretion by interleukin-1 $\beta$ -activated human astrocytoma cells, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1995;92, 10738.
30. Da Cruz e Silva OA, Iverfeldt K, Oltersdorf T, Sinha S, Lieberburg I, Ramabhadran TV, Suzuki T, Sisodia SS, Gandy S, Greengard P. Regulated deavage of Alzheimer beta-amyloid precursor protein in the absence of the cytoplasm tail, Neuroscience. 1993;57(4):873-877.
31. Buxbaum JD, Greengard P. Regulation of APP processing by intra and intercellular signals, Am NY Acad Sci. 1996;17(777):327-331.
32. Andrea Eggert, M. Lynn Crismon, Larry Ereshefsky. Alzheimer's Disease In Pharmacotherapy; a pathophysiologic approach, Dipiro J. T. et al. Ed., New York; Elsevier Science Publishing Co., Inc. 1996:1325-1344.
33. Lucilla Parnetti, Umberto Senin, Patrizia Mecocci. Cognitive enhancement therapy for Alzheimer's disease Drugs, May. 1997;53(5):752-768.
34. Jeffrey L. Cummings, MD; Harry V. Vinters, MD; Gregory M. Cole, PhD; and Zaven S. Khachaturian, PhD. Alzheimer's Disease Etiologies, pathophysiology, cognitive reserve and treatment opportunities, Neurology. 1998;51(Suppl 1):S1-S17.
35. Reznik-Wolf H, Machado J, Haroutian V, DeMacro L, Walter GF, Goldman B, Davidson M, Johnston JA, Lannfelt L, Dani SU, Friedman E. Somatic mutation analysis of the APP and Presenilin 1 and 2 genes in Alzheimer's disease brain. J Neurogenet. 1998;12(1):55-65.
36. St. George-Hyslop, Tanzi RE, Polinsky RJ, Haines JL, Nee L, Watkins PC, Myers RH, Feldman RG, Pollen D, Drachman D, Growdon J, Bruni A, Foncin J-F, Salmon D, Frommelt P, Amaducci L, Sorbi S, Piacentini S, Stewart GD, Hobbs WJ, Conneally PM and Gusella JF. The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21, Science. 1987;235, 885-890.
37. Tanzi R, Gaston S, Bush A, Romano D, Pettingell W, Peppercorn J, Paradis M, gurubhagavatula S, Jenkins B and Wasco W. Genetic-heterogeneity of gene defects responsible for familial Alzheimer -disease, Genetica, 1993;91, 255-263.

38. Neil R. Carlson. Foundations of Physiological Psychology 4th Edition, USA, Allyn and Bacon. 1999:429-431.
39. McGeer, PL, and rogers, J. Anti-inflammatory agents as a therapeutic approach to Alzheimer's disease, Neurology, 1992;42:447-449.
40. Frei K, Malipiero UV, Leist TP, Zinkernagel RM, Schwab ME, Fontana A. On the cellular souese and fucion of interleukin 6 prodused in the central nervous system in viral disases, Eur J Immunol, 1989;19(4):689-694.
41. Lee SC, Liu W, Dickson DW, Brosnan CF, Berman JW. Cytokine production by human fetal microglia and astocytes, Differential by lipopolysaccharide and IL-1 beta, J Immunol, 1993;150(7):2659-2667.
42. Selmaj K, Shafit Zagardo B, Aquino DA, Farooq M, Raine CS, Norton WT, Brosnan CK. Tumor necrosis factor-induced proliferation of astrocytes from mature brain is associated with down-reguation of glial fibrillary acidic protein mRNA, J Neurochem. 1991;57(3):823-830.
43. Staphen LY, Loyd HB, June KA, Joyce MA, michael DD, Paula BE, Anthony MP, Piorkowski, Kurt RB. Amyloid B and amylin fibrils induce increases in proinflammatory cytokines and murine microglia, J Neurochem. 2000;74(3):1017-1025.
44. Rogers J, Kirby LC, Hempelman SR, Beery DL, McGeer PL, Kaszniak AW, Zalinshi J, Cofield M, Mansukhani L, Willson P, and Kogan F. Clinical-trial of indomethacin in Alzheimer's disease, Neurology. 1993;43, 1609-1611.
45. 陳士鐸. 辨證錄, 서울:醫聖堂. 1989:241-246.
46. 郭字鵬 외. 謝海洲治療腦萎縮經驗. 北京:中醫雜誌. 1997;38(10):586-587.
47. 배영철 외. 老人醫學. 서울:高麗醫學. 1996: 193-209.
48. 강형원 외. 痴呆의 병리에 대한 동·서의학적 고찰. 동의병리학회지. 1999;13(1):36-45.
49. Gomez-Isla T, Price JL, McKeel DW Jr, Morris JC, Growdon JH, Hyman B T. Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease, J Neurosci. 1996;16(14):4491-4500.
50. 백봉숙 외. 녹차로부터 분리된 Epicatechin 3-O-Gallate의 항산화작용 기전에 관한 연구. 釜山:釜山大學校 藥學研究誌 1995;29(2):49-56.
51. 龔延腎. 新刊醫林狀元濟生全書. 臺北:新文堂出版社. 1982:21, 23, 27.
52. 文炳淳. 星香正氣散이 家兔의 頭蓋內壓 및 血壓에 미치는 영향. 익산:圓光大學校. 1988.
53. 康舜洙 외. 方劑學. 서울:癸丑文化社. 1984: 101-103.
54. 柳鐘三. 星香正氣散이 흰쥐의 腦損傷에 미치는 영향. 대전:大田大學校. 1992.
55. Fillit, H, Ding, WH, Buce, L, Kalman, J, Altstiel, L, Lawlor, B and Wolf-Klein, G. Elevated circulating tumor necrosis factor levels in Alzheimer's disease, Neuroscience Lett. 1991:129, 318D.
56. Selmaj KW and Raine CS. Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro, Ann. Neurol. 1998;23:339.
57. Koenig S, Gendelman HE, Orenstein JM, Dal Canto MC, Pezeshkpour GH, Yungbluth M, Janotla F, Aksamit A, Martin MA and Fauci AS. Detection of AIDS virus in macrophages in brain tissue from AIDS patients with encephalopathy, Science. 1986:233, 1089.
58. Mantyh PW, Johnson DJ, Boehmer CG, Catton MD, Vinters HV, Maggio JE, Too HP and Vigna SR. Substance P receptor binding sites are expressed by glia in vivo after neuronal injury, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986;86:5193.
59. Torrens Y, Beaujouan JC, Saffroy M, Daguét de Montety MC, Bergstrom L and Glowinski J. Substance P receptors in

primary cultures of cortical astrocytes from the mouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA1986;83:9216.

60. Sharief MK, and Thompson EJ. In vivo relationship of tumor necrosis factor- $\alpha$  to blood-brain barrier damage in patients with active multiple sclerosis, J. Neuroimmunol, 1992;38, 27.