

肝陽上亢方이 高血壓에 미치는 영향

한덕희 · 오영선¹ · 설인찬 · 김윤식*

대전대학교 한의과대학 내과학교실, 1: 대전대학교 혜화병원

Effect of Ganyangsanghang-bang on Hypertension

Deok-hee Han, Young-seon Oh¹, In-chan Seol, Yoon-sik Kim*

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, 1: Hyehwa Hospital, Daejeon University

This study was done to investigate the effect of Ganyangsanghang(GYSHB) on hypertension. After administering GYSHB extract to SHR for 5 weeks, changes in blood pressure, pulse rate, aldosterone and catecholamine levels in plasma were examined, and immunohistochemical changes were observed, and liver function test was done. The following results were obtained; blood pressure decreased significantly as well as levels of aldosterone and norepinephrine in SHR. But levels of dopamine were unaffected. No capillary vessel dilation in adrenal cortex was observed. Safety against hepatic toxicity was showed. These results support a role for GYSHB might be usefully applied in treatment of hypertension.

Key words : Ganyangsanghang-bang(GYSHB), Hypertension

서 론

고혈압이란 18세 이상의 성인에게서 수축기 혈압이 135mmHg 이상이거나 이완기 혈압이 85mmHg 이상인 상태로 정의되는 혈관질환으로서, 고혈압 환자의 90% 이상이 원인질환을 알 수 없는 본태성 고혈압이다¹⁾. 원인질환에 의해 속발성으로 발생되는 이차성 고혈압은 일부 보고에 의하면 35%에 이르기도 하지만 일반적으로 10% 이내에 불과한 것으로 보고되고 있다^{2,3)}.

고혈압은 성인의 약 25% 이상에서 발견되는 매우 흔한 질환으로서 고령 인구의 증가에 따라 유병률이 크게 늘어나는 추세다. 일반적으로 고혈압은 자각 증상이 없으므로 혈압을 측정하지 않으면 고혈압의 유무에 대해 알 수가 없고, 비록 고혈압을 인지 하더라도 환자 자신이 치료의 필요성을 심각하게 느끼지 않는 경우가 대부분이다. 하지만 고혈압은 뇌졸증, 심부전, 관상동맥 질환 등의 치명적인 합병증을 유발할 수 있기 때문에 보다 적극적인 관리와 치료가 요구되고 있다⁴⁾.

고혈압의 주증상은 두통, 현훈, 이명, 심계, 호흡곤란, 피로, 면홍, 번조, 시력혼탁, 사지마비 등인데, 한의학에서는 고혈압이란 명칭이 없지만 증상으로 미루어 보아 중풍, 두통, 현훈, 항강

등과 유사하며, 그 원인으로 心火亢炎, 肝陽上亢, 肝風內動 등을 들 수 있다⁵⁻⁷⁾.

근래 고혈압 치방에 대한 실험적 연구로는 瘦8의 加味鷄血藤湯, 趙⁹의 導瘀湯, 金¹⁰의 地黃飲子, 申¹¹의 加味導赤散, 林¹²의 滲濕湯, 李¹³의 瀉心湯, 韓¹⁴의 大柴胡湯 등을 들 수 있다. 그러나 肝陽上亢에 의한 고혈압의 기전 연구는 활발한 반면 아직까지 그에 대한 적절한 치료 처방이 제시된 연구나 보고는 접하지 못하였다.

이에 저자는 대전대학교부속한방병원에서 고혈압 및 중풍초기 환자 치료에 사용되어온 肝陽上亢方을 시료로 혈압강하 효과를 밝히기 위해 간독성 검사를 통한 안정성을 검증한 뒤 혈압 및 심박수를 측정하였고, aldosterone의 함량, catecholamine의 함량, 혈중 calcium의 농도 및 IFN-γ의 함량을 측정하였으며, 고혈압의 표적장기에 해당하는 부신, 심장, 신장 등의 장기들에 대한 조직학적 관찰을 시행하였던 바 유의한 결과를 얻었기에 보고드리는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 체중 180~220g의 웅성 SHR(Spontaneous Hypertensive Rat, 자발성 고혈압백서)로서 실

* 교신저자 : 김윤식, 대전시 중구 대흥동 22-5 대전대학교 부속 한방병원

· E-mail : yoonsik@dju.ac.kr, · Tel : 042-229-6806

· 접수 : 2006/04/10 · 수정 : 2006/05/13 · 제작 : 2006/06/03

험 당일까지 고형사료(조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, calcium 0.6% 이상, 인 0.4% 이상, 삼양사 배합 사료 Co. Korea)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2°C, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300Lux로 설정하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 쥐만을 선별하여 실험에 사용하였다.

2) 약물

본 실험에 사용한 肝陽上亢方(GYSHB)은 대전대학교부속한방병원에서 구입하였고, 1첩의 내용과 용량은 다음과 같다.(Table 1)

Table 1. The Compositions of Ganyangsanghang-bang(GYSHB)

韓藥名	學名	用 量(g)
酒蒸豨莶	<i>Siegesbeckia glabrescens herba</i>	8.0
丹 蔘	<i>Salviae miltiorrhizae radix</i>	6.0
玄 叢	<i>Scrophularia buergeriana radix</i>	6.0
牛 膝	<i>Achyranthes bidentata radix</i>	6.0
山 査 肉	<i>Crataegus pinnatifida var. major</i>	6.0
石 膏	<i>Gypsum fibrosum</i>	5.0
釣 鈎 藤	<i>Uncaria rhynchophylla ramulus</i>	4.0
陳 皮	<i>Citrus unshiu pericarpium</i>	4.0
半夏 壽 製	<i>Pinellia ternata rhizoma</i>	4.0
白 茯 苓	<i>Poria cocos</i>	4.0
麥 門 冬	<i>Liriopspolyphylla tuber</i>	4.0
羌 活	<i>Notopterygium incisum rhizoma</i>	4.0
獨 活	<i>Angelicae pubescens radix</i>	4.0
防 風	<i>Lebedourilla divaricata</i>	4.0
神 麵	<i>Massa medicata fermentata</i>	4.0
麥 芽	<i>Hordeum vulgare var. hexastichon</i>	4.0
貢 砂 仁	<i>Amomum villosum fructus</i>	4.0
甘 菊	<i>Chrysanthemum morifolium</i>	3.0
沙 蘿	<i>Adenophora triphylla var. japonica</i>	3.0
當 歸	<i>Angelicae gigantis radix</i>	2.0
天 麻	<i>Gastrodia elata rhizoma</i>	2.0
益 智 仁	<i>Alpinia oxyphylla fructus</i>	2.0
白 煙 蟲	<i>Bombyx mori batryticatus</i>	2.0
沈 香	<i>Aquilaria sinensis resinatum lignum</i>	1.5
甘 草	<i>Glycyrrhiza uralensis radix</i>	1.5
附 子	<i>Aconiti lateralis preparata radix</i>	0.5
Total amount		98.5

3) 시약 및 기기

실험에 사용한 시약은 Sigma Co.(U.S.A.)에서 구입한 dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS-A), HClO₄, toluidine blue, hematoxylin, eosin, xylene, acid washed alumina, cresyl glutaraldehyde, fast violet, paraformaldehyde, 2,3,5-triphenyl-2H-tetrazoliumchloride, H₂O₂, formalin, OsO₄, EDTA와 중외제약(Korea)에서 구입한 ether, alcohol, Au, paraffin, normal saline, 그리고 Bayer Dental Co.(Japan)에서 구입한 serum blocking solution, biotinylated anti-mouse immunoglobulin, streptavidin conjugate, DAB-chromogen과 aldosterone RIA diagnostic kit(Abbott Co., U.S.A.), superoxide dismutase (Stressgen Co., U.S.A.), histostain plus kit(Zymed Co., U.S.A.), gamma count Cobra II(Packard Co., U.S.A.) 등을 사용하였다.

기기는 Sigma Co.(U.S.A.)에서 구입한 Milli-QTM waters

system, ion depositor, distiller와 rotary vaccum evaporator(Büchi 461, Swiss), deep freezer(Sanyo Co., Japan), freeze dryer(Eyela Co., Japan), serum separator(녹십자, Korea), micro slide(Surgipath Co., U.S.A.), minos-ST(Cobas Co., France), ultrasonic cleaner(Branson Ultrasonics Corp., U.S.A.), roller mixer(Gowon scientific technology Co., Korea), vortex(Vision Co., Korea), centrifuge(Beckman Co., U.S.A.), physiograph Model 7(GRASS Instrument Co., Quincy, Mass., U.S.A.), ACL-100(Instrumentation Laboratory, U.S.A.), autoclave(Hirayama, Japan), data module(Waters Model 745, U.S.A.), HPLC(Waters Model U6K Injector, 510 pump, U.S.A.), C18 stainless steel column(Waters Model 460, U.S.A.), gel/mount(Biomedica Co., U.S.A.), camera(Nikon, Japan), optical microscope(Olympus BH-2, Japan), transmission electron microscope(Hitachi H-600, Japan), scanning electron microscope(Hitachi S-2500, Japan) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 제조

GYSHB 1첩 분량 98.5g을 깨끗이 씻어 3,000ml round flask에 넣고 증류수 2,000ml와 함께 3시간 동안 가열한 후 추출한 침전물을 3차례 여과(3M filter paper)하고, 이 여과액을 rotary vaccum evaporator에서 감압 농축하였다. 농축된 용액을 -70°C deep freezer에서 4시간 동안 방치하고, 24시간 동안 freeze dryer로 동결 건조하여 15.4 g의 분말을 얻어서 실험에 필요한 농도로 생리식염수에 희석하여 사용하였다.

2) 항고혈압 효과 실험

(1) 혈압 및 심박수 측정

혈압강하 효과를 평가하기 위해 SHR을 대조군과 GYSHB 투여군으로 나누어 대조군(n=5)에는 생리식염수를 매일 5ml/kg 씩, GYSHB 투여군(n=5)에는 GYSHB 검액을 매일 400mg/kg의 농도로 생리식염수에 타서 각각 5주간 경구 투여하였다.

5주 동안 GYSHB를 투여한 후, 대조군과 GYSHB 투여군의 혈압과 심박수를 측정하였다. 혈압 측정은 최종 약물 투여 후 SHR을 cage에서 2시간 동안 안정시킨 다음, 꼬리를 alcohol로 잘 닦고 37.5°C의 예비 보온기에 10分 동안 넣어 두었다가 physiograph Model 7의 7P8 channel로 마취하지 않은 상태에서 각 군(n=5)의 혈압을 측정하였다. chart paper 1cm에 혈압은 50mmHg (baseline : 0)으로 보정하였다.

(2) 채혈 및 혈장 분리

최종일까지 시료를 투여한 SHR을 ether로 마취시킨 후, 심장천자를 통해 혈액을 채취하여 일부의 혈액에서는 혈청을 얻고, 또 다른 일부의 혈액에서 혈장 1ml를 얻어 3mg/ml EDTA 용액을 0.5ml로 채운 용기에 가하여 4°C에서 3,000rpm으로 15분간 원심 분리시킨 다음, 혈장내 catecholamine과 aldosterone의 함량 측정을 위해 -80°C에서 보관하였다.

(3) 혈청성분의 측정

① 간기능 검사 : GOT(Aspartate Aminotransferase)와

GPT(Alanine Aminotransferase)의 활성도는 JSCC UV method를 이용하여 생화학자동분석기로 측정하였다.

② Albumin의 정량 : Albumin의 함량은 enzymatic colorimetry method를 이용하여 생화학자동분석기로 측정하였다.

③ ALP(Akaline phosphatase)의 정량 : ALP의 함량 또한 enzymatic colorimetry method를 이용하여 생화학자동분석기로 측정하였다.

④ Calcium의 정량 : Calcium의 함량은 enzymatic colorimetry method를 이용하여 생화학자동분석기로 측정하였다.

⑤ IFN- γ 의 정량 : 분리한 혈청 중 약 100 μl 의 혈청을 ELISA에 사용하였다. ELISA는 IFN- γ Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay(ELISA, Endogen, U.S.A.)법으로 실시하였고, 각 항체를 코팅 완충용액에 희석하여 microwell에 코팅한 후 4°C에서 overnight하였다. 각 well을 3회 washing 완충용액으로 세척한 후 B 세포 배양상층액(culture supernatant)을 100 μl 씩 분주하였다. 이를 1시간 동안 실온에서 방지한 후 2회 washing 완충용액으로 세척한 다음 antibody Avidin-HRP conjugated 100 μl 를 처리하고 다시 1시간 동안 실온에 방지한 후 다시 세척하였다. TMB 기질을 100 μl 씩 분주하고 암소에서 30분간 방지한 후 50 μl 의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

(4) 혈장성분의 측정

① Aldosterone의 정량 : RIA법에 따라 동위원소 I-125 추적자를 이용한 시판용 aldosterone RIA diagnostic kit를 사용하였고, gamma counting은 gamma count Cobra II를 이용하여 정량하였다.

② Catecholamine의 정량 : Hjemdahl 변법에 따라 혈장내의 catecholamine를 4°C에서 추출하였다. 체혈한 혈장에 0.1M의 HClO₄를 가하여 단백을 제거한 후, acid washed alumina에 흡착시킨 다음 증류기로 수세하고, 0.1M의 HClO₄에 다시 용출시켜 용출액 20 μl 를 HPLC(High Performance Liquid Chromatography)에 주입하여 norepinephrine, epinephrine, dopamine의 함량을 측정하였다. HPLC에서 분리된 물질들을 data module을 통해 정량하였으며, 이 때 C18 stainless steel column(5 μ , 150mm×4.6mm; KCl reference electrode)에 가해진 전압은 +0.63V였다. 측정에 필요한 시약은 norepinephrine, epinephrine, dopamine 등으로 특급품을 사용하였으며, 증류수는 millipore(Milli-QTM waters system)를 통과시킨 초순수를 사용하였다.

(5) 면역조직화학적 관찰

조직학적 관찰 및 현미경적 관찰을 위해 실험동물을 '치사' 12시간 전에 식이를 중단시키고 공복 상태에서 ether를 흡입시켜 마취시킨 다음 복부와 흉곽을 절개한 뒤 심장, 대동맥, 신장 그리고 부신을 적출하였다. 적출한 각 조직들은 식염수로 혈액을 세척하고 적당한 크기로 절개하여 통상의 방법에 따라 10% 중성 formalin에 48시간 동안 고정하였다. 고정된 각 장기의 조직내 고정액 제거를 위해 흐르는 물에 수세하고, 60% alcohol로 농도를 상승시키면서 탈수하였다. 탈수된 조직들은 xylene 용액으로 투명 과정을 거친 다음 용해된 paraffin에 침투 및 포매 과정을 거쳐 블럭으로 제작하였다. 이 블럭을 4 μm 두께의 절편으로 잘라

micro slide에 부착하고 탈paraffin 및 합수 과정을 거친 다음 일반적인 방법과 동일하게 인산완충액(phosphate buffered saline; PBS)으로 5분간 세척하였다.

면역 염색은 histostain plus kit를 이용하였는데, 그 과정으로 먼저 내재성 peroxidase의 활성을 억제시키기 위해 3% H₂O₂에서 5분간 방지시킨 후 PBS로 세척하였고, 1차 항체에 대한 단백질의 결합을 억제하기 위해 혈청차단용액(serum blocking solution)에 10분간 반응시킨 후 1차 항체로 superoxide dismutase를 1:500으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 다음 다시 PBS로 세척하였다. 1차 면역반응이 끝난 다음 2차 항체로 biotinylated anti-mouse immunoglobulin에 10분간 반응시키고, PBS로 세척한 다음 streptavidin conjugate에 10분간 반응시킨 후 다시 PBS로 세척하고, DAB-chromogen에 발색시킨 다음 mayer hematoxylin에 대조염색을 하고, gel/mount에 봉입하여 광학현미경(optical microscope)으로 검경하였다.

3) 통계 처리

각 실험군 결과값은 unpaired student's T-test(Scheffler, 1980) 및 SPSS/PC 통계프로그램을 사용하여 통계 처리하였으며, P<0.05, P<0.01 및 P<0.001 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

성 적

1. 혈압 및 심박수의 변화(Table 2)

1) 혈압에 미치는 영향

SHR의 혈압 측정 결과, 대조군은 178.2±5.4mmHg인데 비하여 GYSHB 투여군은 149.5±4.2mmHg으로 나타나 유의성 있는 감압 효과를 보였다.

2) 심박수에 미치는 영향

SHR의 심박수 측정 결과, 대조군은 398.0±32.5回/分, GYSHB 투여군은 352.2±15.4回/分으로 나타났다.

Table 2. The Effect of GYSHB on Blood Pressure & Pulse Rate

	Control	GYSHB
BP(mmHg)	178.2±5.4	149.5±4.2*
Pulse Rate(times/min)	398.0±32.5	352.2±15.4

Control : Normal saline(5ml/kg/rat) treated group, GYSHB : GYSHB(400mg/kg/rat) treated group. Statistically significant value compared with control data by T-test. (* : P<0.05)

2. 혈장 성분의 변화(Table 3)

1) Aldosterone의 농도 변화에 미치는 영향

혈장 성분 분석 결과, aldosterone의 농도는 대조군 29.6±2.6pg/ml, GYSHB 투여군 18.2±3.0pg/ml로 나타나 대조군에 비해 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

2) Catecholamine의 함량 변화에 미치는 영향

(1) Dopamine의 농도 변화

Catecholamine 중 dopamine의 농도는 대조군 115.4±4.8pg/ml, GYSHB 투여군 130.5±11.5pg/ml로 나타나 유의성 있는 변화는 보이지 않았다.

(2) Norepinephrine의 농도 변화

Catecholamine 중 norepinephrine의 농도는 대조군

$596.4 \pm 27.5 \text{ pg/ml}$, GYSHB 투여군 $436.7 \pm 33.26 \text{ pg/ml}$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

(3) Epinephrine의 농도 변화

Catecholamine 중 epinephrine의 농도는 대조군의 경우 $5019 \pm 121.6 \text{ pg/ml}$, GYSHB 투여군의 경우 $2287.26 \pm 137.4 \text{ pg/ml}$ 로 나타나 대조군에 비해 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

Table 3. The Effect of GYSHB on the Plasma Levels of Aldosterone & Catecholamine in SHR

	Control	GYSHB
Plasma Aldosterone Levels(pg/ml)	29.6 ± 2.6	$18.2 \pm 3.0^*$
Plasma Dopamine Levels(pg/ml)	115.4 ± 4.8	130.5 ± 11.5
Plasma Norepinephrine Levels(pg/ml)	596.4 ± 27.5	$436.7 \pm 33.26^*$
Plasma Epinephrine Levels(pg/ml)	5019 ± 121.6	$2287.26 \pm 137.4^{**}$

Control : Normal saline(5ml/kg/rat) treated group, GYSHB : GYSHB(400mg/kg/rat) treated group. Statistically significant value compared with control data by T-test. (* : P<0.05, ** : P<0.001)

3. 혈중 calcium 수치 변화에 미치는 영향

SHR의 혈중 calcium량 측정 결과, 정상군은 $9.7 \pm 0.2 \text{ mg/dl}$, 대조군은 $9.1 \pm 0.04 \text{ mg/dl}$ 인데 비하여 GYSHB 투여군은 $9.43 \pm 0.13 \text{ mg/dl}$ 로 나타나 대조군보다 유의성 있는 증가 효과를 보였다.(Table 4)

Table 4. The Effects of GYSHB Extract on the Calcium & IFN- γ Level in SHR

	Normal	Control	GYSHB
Calcium(mg/dl)	9.7 ± 0.2	9.1 ± 0.04	$9.43 \pm 0.13^{**}$
IFN- γ (ng/dl)	11.4 ± 2.0	240 ± 21.8	$179.0 \pm 14.0^*$

Normal : No treated group. Normal rat, not SHR. Control : Normal saline(5ml/kg/rat) treated group. GYSHB : GYSHB(400mg/kg/rat) treated group. Statistically significant value compared with control data by T-test. (* : P<0.05, ** : P<0.01)

4. 혈중 IFN- γ 의 함유량 변화에 미치는 영향

SHR의 혈중 IFN- γ 함유량 측정 결과, 정상군은 $11.4 \pm 2.0 \text{ ng/dl}$, 대조군은 $240 \pm 21.8 \text{ ng/dl}$ 인데 비하여 GYSHB 투여군은 $179.0 \pm 14.0 \text{ ng/dl}$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 보였다.(Table 4)

5. 면역조직화학적 소견

1) 부신

SHR의 부신은 신장의 상단에 위치하며 $2 \times 2 \text{ mm}$ 정도의 크기로 주변에는 많은 체지방으로 둘러싸여 있다. 부신의 단면은 피질과 수질로 구분되며, 발생학적으로도 피질은 중배엽성이며 수질은 외배엽성으로 발생 기원이 서로 다르다.

Aldosterone은 부신내 피질의 토리층에서 분비되는데, 이 토리층 세포들은 피막 바로 아래쪽에 위치하며, 작은 원주형 세포들이 다발을 형성하고 있고, 세포의 핵은 진하고 둥글며, 세포질은 호산성으로 진하게 염색되어 있어 다발층과 분명히 경계를 이루고 있다.

대조군의 토리층에서는 피막 바로 아래 위치하는 세포들이 무리를 이루고 있고 사이사이에 확장된 모세혈관들이 관찰되었다. 전해질 corticoid를 분비하는 세포들의 수가 정상 쥐와 비교하여 상대적으로 적게 관찰되었다.

GYSHB 투여군에서는 토리층을 이루는 세포들의 배열 형태가 대조군과 유사하였으나, 대조군에 비해 세포의 수적 배열이 다소 뚜렷하였으며, 세포들 사이사이에 모세혈관의 뚜렷한 확장은 관찰되지 않아 정상 쥐에서와 유사한 조직구조를 하고 있었다.(Fig. 1)

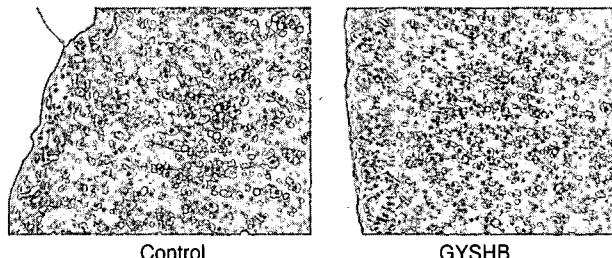


Fig. 1. Light Micrographs from the Adrenal Gland of SHR after Staining with the Immunohistochemistry for SOD. Control group and GYSHB treated group, $\times 400$.

2) 심장

SHR의 대조군에서 관찰된 심근의 조직학적 구조는 근육섬유의 주행 방향이 부위에 따라 아주 다양하게 배열되어 있었고, 사이사이에 크고 작은 모세혈관이 위치하고 있었다. 근육 섬유내에서 핵이 근육섬유의 중심부위에 위치하고 있었고, 근육 섬유에서는 불규칙한 계단모양의 사이원반(intercalated disc)이 관찰되고 일부에서는 과수축대(hypercontraction band)가 자주 관찰되었다.

GYSHB 투여군에서는 근육섬유의 배열정도, 세포핵, 모세혈관의 수와 위치, 사이원반 등이 대조군과 유사하여 조직학적 차이점은 관찰 할 수 없었으나, 대조군의 심근 섬유에서 자주 관찰되는 과수축대의 출현은 상대적으로 감소하였다.(Fig. 2)

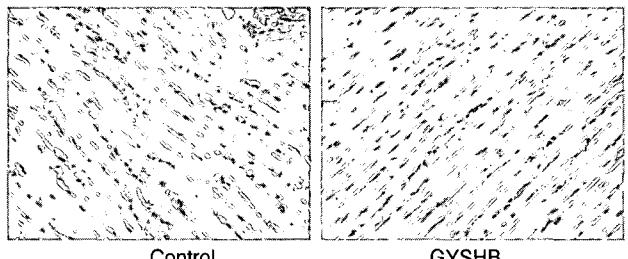


Fig. 2. Light Micrographs from the Cardiac Muscle of SHR after Staining with the Immunohistochemistry for SOD. Control group and GYSHB treated group, $\times 400$.

3) 신장

대조군의 신장 피질 부위에서 관찰되는 조직학적 소견으로는 신소체(renal corpuscle)들 사이에 근위세뇨관과 원위세뇨관 및 동맥과 정맥들이 잘 관찰되었다. 근위세뇨관은 세포질이 원위 세뇨관에 비해 좀더 붉게 염색되고, 내강의 빈공간은 거의 없고 경계도 분명하지 않고, 단면에 보이는 핵의 수도 많지 않았다. 반면, 원위세뇨관은 내강의 빈공간의 지름이 좀더 크고, 가장자리로 경계가 분명하며, 세포들은 좀더 작고, 세포핵의 수도 좀더 많이 관찰되었다.

GYSHB 투여군에서는 신 피질의 조직학적 차이점은 거의 구별 할 수 없었고, 정상 구조와 유사한 신소체, 근위 및 원위세

뇨관의 조직학적 소견을 보였다.(Fig. 3)

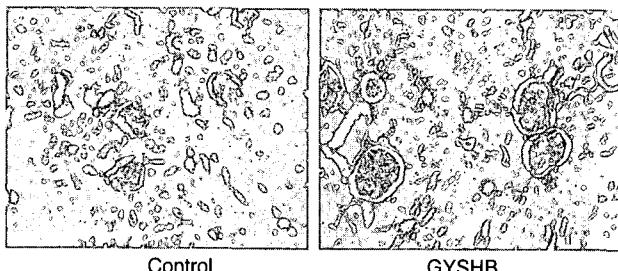


Fig. 3. Light Micrographs from the Kidney of SHR after Staining with the Immunohistochemistry for SOD. Control group and GYSHB treated group. $\times 400$.

6. 간독성 지표인자에 미치는 영향(Table 5)

1) 혈청 albumin 수치에 미치는 영향

SHR의 혈청 albumin 측정 결과, 정상군은 $3.85 \pm 0.05\text{g/dl}$, 대조군은 $3.87 \pm 0.07\text{g/dl}$ 인데 비하여 GYSHB 투여군은 $3.90 \pm 0.05\text{g/dl}$ 로 나타나 유의성 있는 albumin 보존 효과를 보였다.

2) 혈청 ALP(Alkaline phosphatase) 수치에 미치는 영향

SHR의 혈청 ALP 측정 결과, 정상군은 $251 \pm 26.0\text{U/L}$ 인데 비하여 대조군은 $353.25 \pm 14.0\text{U/L}$, GYSHB 투여군은 $353.3 \pm 4.09\text{U/L}$ 로 나타나 유의성은 없었다.

3) 혈청 GOT(Aspartate Aminotransferase) 수치에 미치는 영향

SHR의 혈청 GOT 측정 결과, 정상군은 $137.5 \pm 27.5\text{U/L}$, 대조군은 $309.0 \pm 56.17\text{U/L}$ 인데 비하여 GYSHB 투여군은 $272.66 \pm 29.9\text{U/L}$ 로 나타나 대조군보다 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

4) 혈청 GPT(Alanine Aminotransferase) 수치에 미치는 영향

SHR의 혈청 GPT 측정 결과, 정상군은 $41.0 \pm 0.22\text{U/L}$, 대조군은 $59.7 \pm 3.68\text{U/L}$ 인데 비하여 GYSHB 투여군은 $55.6 \pm 4.70\text{U/L}$ 로 나타나 대조군보다 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

Table 5. The Effects of GYSHB Extract on the Albumin, ALP, GOT & GPT Level in SHR

	Normal	Control	GYSHB
Albumin(g/dl)	3.85 ± 0.05	3.87 ± 0.07	$3.90 \pm 0.05^*$
ALP(U/L)	251 ± 26.0	353.25 ± 14.0	353.3 ± 4.09
GOT(U/L)	137.5 ± 27.5	309.0 ± 56.17	$272.66 \pm 29.9^*$
GPT(U/L)	41.0 ± 0.22	59.7 ± 3.68	$55.6 \pm 4.70^*$

Normal : No treated group. Normal rat, not SHR. Control : Normal saline(5ml/kg/rat) treated group. GYSHB : GYSHB(400mg/kg/rat) treated group. Statistically significant value compared with control data by T-test. (* : P<0.05)

고찰

고혈압은 만성 순환기계 질환 중 발생빈도가 가장 높은 질환으로서 최근 고령자의 증가, 식생활의 변화, 정신적 긴장도 증가 등으로 인해 각종 성인병과 더불어 증가 추세에 있다^[15,16].

미국립보건원산하 '국립 심장·폐·혈액연구소'에서 분류한 기준(JNC 7; JAMA 2003)에 따르면, 고혈압이란 18세 이상의 성인에게서 수축기 동맥압이 135mmHg 이상, 이완기 동맥압이 85mmHg 이상 상승된 상태로서, 원인에 따라 본태성 고혈압과 이차성 고혈압으로 구분할 수 있다^[1,2].

고혈압 환자의 90% 이상을 차지하는 본태성 고혈압의 경우 원인질환이 확실하게 밝혀지지 않았지만 유전이나 고령, 신장에서의 염분 배설이상, 교감신경계의 활진, renin-angiotensin계 및 endothelin계의 활성, 혈관 내피세포의 기능장애, 인슐린 저항성 등에 기인한 심박출량의 증가나 말초혈관저항의 증가가 그 원인으로 여겨지며, 이차성 고혈압은 원인질환이 명확한 고혈압으로 신실질질환, 신혈관질환, 내분비질환, 임신, 약제 등에 의해 유발된다^[15-19].

일반적으로 고혈압의 발생기전에 대해서는 완전하게 규명되어 있지는 않지만 renin-angiotension계의 활성에 의한 혈관수축과 이에 따른 aldosterone 분비에 의한 혈장량 증가, 교감신경 활성도 증가에 의한 심박동수 및 심박출량 증가, 세포내 sodium 증가로 인한 말초혈관평활근의 긴장도 증가 등의 기전이 제시되고 있다^[39].

단백 분해 효소인 renin은 angiotensin에 작용해 angiotensin I을 분비하고 이 웨티드는 angiotensin 전환효소에 작용해 angiotensin II를 형성하는데, 이는 강한 혈관수축제이며 부신피질에서 aldosterone를 분비하는 중요 인자로 혈압조절에서 중요한 역할을 하고 있으며, 신질환의 병변으로 유발된 2차성 고혈압의 주요 요소다. aldosterone의 분비는 간접적으로 체액량 결핍에 의해 자극되어 부신피질에서 분비되는데 전형적인 고aldosterone증은 고혈압의 약 0.7%에 해당된다^[3,9,19,20].

교감신경계는 직접적으로 혈관을 자극하여 말초저항을 증가시키고 renin-angiotensin계를 활성화하여, 심근수축력을 증강시키고 정맥환류를 증가시켜 심박출량을 증가시킨다. 자연적으로 생성되는 세 가지의 dopamine, norepinephrine, epinephrine과 같은 catecholamine은 모든 중추신경계의 신경전달 물질로 작용한다. catecholamine은 모든 중요한 장기에 영향을 미친는데 그 효과가 수 초 내에 나타나 심맥관계에 작용하여 혈관수축을 하고, 대사속도를 증진시키고, 체액 및 전해질, 내장기에 직접적 작용을 하며, 또한 renin 등의 분비에 간접적으로 영향을 미친다^[19,21].

또 최근 혈중 calcium ion 농도가 높을수록 혈압이 하강한다는 보고가 있는데, 이는 혈관내피의 세포내로 calcium ion이 유입되는 것이 차단되므로써 혈압이 조절되는 현상을 의미한다고 하였다^[3].

현재 사용되고 있는 고혈압 치료제에는 교감신경수용체 차단제, 혈관확장제, 전환효소 억제제, calcium 통로 차단제 및 이뇨제 등이 있으나 혈압을 높이는 제반요인들을 개선하는 비약물 요법 즉, 규칙적인 운동, 금연, 저염식, 식이요법에 의한 체중감소, 과다한 음주의 제한, 명상 등과 같은 이완요법이 강조되고 있다^[19,22].

한의학에 있어서 고혈압의 증상은 중풍전조증, 두통, 현운, 항강 등과 유사하며, 그 병인으로는 心火亢炎, 肝陽上亢, 肝風內動, 陰陽兩虛, 痰濕壅盛 등을 인식하는데 平肝鎮陽, 順氣導痰, 清熱化痰, 補氣血 등의 치법이 활용되고 있다^[5-7].

肝陽上亢方은 酒蒸豨莶, 丹蔘, 玄蔘, 牛膝, 山楂肉, 石膏, 釣鉤藤, 陳皮, 半夏蠶製, 白茯苓, 麥門冬, 羌活, 獨活, 防風, 神曲, 麥

芽, 貢砂仁, 甘菊, 沙蔴, 當歸, 天麻, 益智仁, 白蘆蠶, 沈香, 甘草, 附子로 구성된 처방으로서 平肝潛陽, 灸火淸心, 祛風 등의 효능이 있어 임상적으로 고혈압 및 중풍초기 환자 등의 치료에 활용되고 있다. 이에 저자는 肝陽上亢方의 항고혈압 효과를 밝히고자 SHR을 대조군과 肝陽上亢方 투여군(GYSHB)으로 나누어 생리식염수와 肝陽上亢方 추출물을 각각 5주 동안 경구 투여한 후 간독성 실험을 거쳐 혈압 및 심박수의 변화, 혈장내 aldosterone 및 dopamine, norepinephrine, epinephrine 함량의 변화, 그리고 혈청내 calcium 농도의 변화 등을 측정하고 각 장기들에 대한 조직학적 관찰 등을 시행하였다.

먼저 대조군과 GYSHB 투여군의 혈압 및 심박수를 측정하였는데, 혈압은 대조군이 178.2 ± 5.4 mmHg인데 비하여 GYSHB 투여군은 149.5 ± 4.2 mmHg으로 나타나 유의성 있는 강압 효과를 보였으나, 심박수 측정 결과 대조군은 398.0 ± 32.5 회/분, GYSHB 투여군은 352.2 ± 15.4 회/분으로 나타났다. 이처럼 肝陽上亢方 투여군이 심박수도 감소시키고, 혈압의 하강에도 유의한 효과를 나타내는 것으로 미루어 보아 肝陽上亢方이 부분적으로 혈압 조절 기전에 영향을 미칠 것으로 기대하였다.

Renin-angiotensin-aldosterone계에 의한 혈압상승에 대한 억제력을 알아보기 위해 혈장내 aldosterone의 수치를 비교 분석하였고, 심박관계에 작용하는 부신수질 hormone의 분비 및 혈압 상승에 대한 억제력을 알아보기 위해 혈장내 catecholamine 중 dopamine, norepinephrine, epinephrine의 함량을 측정하였다. 혈장 성분 분석 결과, aldosterone의 농도는 대조군이 29.6 ± 2.6 pg/ml인데 비하여 GYSHB 투여군은 18.2 ± 3.0 pg/ml로 나타나 GYSHB 투여군에서 유의성 있는 감소를 보였고, catecholamine 중 norepinephrine의 농도는 대조군 596.4 ± 27.5 pg/ml, GYSHB 투여군 436.7 ± 33.26 pg/ml로 나타나 역시 대조군에 비해 GYSHB 투여군에서 유의성 있는 감소를 보였으며, epinephrine의 농도 또한 대조군의 경우 5019.0 ± 124.6 pg/ml인데 비하여 GYSHB 투여군은 2287.26 ± 137.4 pg/ml로 나타나 유의성 있는 감소를 보였다. 그러나 catecholamine 중 dopamine의 농도는 대조군 115.4 ± 4.8 pg/ml, GYSHB 투여군 130.5 ± 11.5 pg/ml로 대조군에 비하여 GYSHB 투여군에서 오히려 증가한 것으로 나타났다. 이처럼 肝陽上亢方 투여군에서 aldosterone 및 norepinephrine, epinephrine의 함량이 대조군에 비해 유의성 있게 감소된 것으로 미루어 보아 肝陽上亢方が renin-angiotensin-aldosterone계에 의한 혈압조절에서 체액량 증가에 의한 혈압상승을 억제하고, 또한 교감신경계를 안정시키면서 심근에 존재하는 β_1 -수용체의 흥분을 억제하여 심근수축과 심박출량을 감소시키며, 혈관의 α -수용체에 대한 흥분 또한 억제하여 혈관수축을 감소시킴으로써 혈압강하 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

또 혈관내피 세포내로 유입이 억제된 혈중 calcium의 량을 측정하여 보았는데, 정상군은 9.7 ± 0.2 mg/dl, 대조군은 9.1 ± 0.04 mg/dl인데 비하여 GYSHB 투여군은 9.43 ± 0.13 mg/dl로 나타나 대조군보다 유의성 있는 증가 효과를 보여 肝陽上亢方 투여군에서 혈압이 잘 조절되고 있다는 것을 반증하는 것으로 사료된다.

마지막으로 혈관내피세포를 활성화시켜 혈관 수축력을 향상시키므로써 혈압을 상승시키는 물질로 알려진 혈중 IFN- γ 의 함량을 측정한 결과, 정상군은 11.4 ± 2.0 ng/dl, 대조군은 240 ± 21.8 ng/dl인데 비하여 GYSHB 투여군은 173.7 ± 13.9 ng/dl로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 감소 효과를 보인 것으로 나타났다.

이를 종합하여 보면 肝陽上亢方은 여러 가지 기전을 통해 결국 혈압을 하강시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

肝陽上亢方 투여 후의 조직학적 변화를 관찰하기 위해 대조군과 GYSHB 투여군의 부신피질, 심장근육, 신장조직을 선택하여 각각 광학현미경으로 관찰을 한 결과, 부신피질의 경우 대조군과 GYSHB 투여군의 전반적인 형태는 서로 유사하였으나 대조군의 토리층에서는 확장된 모세혈관들이 많이 관찰된 반면, GYSHB 투여군에서는 모세혈관의 확장을 볼 수 없었고, 정상 쥐와 유사하였다. 그리고 심장과 신장에서 관찰된 조직검사상 대조군과 GYSHB 투여군 사이에 뚜렷할만한 차이가 관찰되지 않았다. 즉 대조군의 부신피질에서 모세혈관의 확장이 일어난 반면 GYSHB 투여군에서는 모세혈관의 확장을 관찰할 수 없었다는 것은, 肝陽上亢方が 혈압을 상승시키는 hormone인 aldosterone의 분비를 억제했다는 것을 시사하는 소견이라 사료된다.

마지막으로 GYSHB가 간에 미치는 손상 정도를 알아보기 위해 정상군, 대조군, GYSHB 투여군의 혈청 albumin 및 ALP, GOT, GPT 수치를 측정한 결과, GYSHB 투여군의 albumin 보존 효과가 높게 나타나고, GOT, GPT 수치가 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 보임에 따라 肝陽上亢方が 간독성을 유발하지는 않는 것으로 사료된다.

이상의 실험 결과 肝陽上亢方은 aldosterone 및 norepinephrine, epinephrine, IFN- γ 의 함량을 유의성 있게減少시키고, 세포내 Ca^{2+} 의 유입을 억제함으로써 표면적인 혈압 강하에도 효과를 나타내는 것으로 생각되며, 조직학적 검사상 혈압과 관련이 있는 부신피질 hormone의 분비를 억제하는 것으로 파악되었다. 또 肝陽上亢方が 간독성에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 밝혀졌다. 따라서 肝陽上亢方が 고혈압의 치료에 활용 가치가 높을 것으로 생각되며, 향후 이에 대한 지속적인 보충 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

혈압 및 심박수의 변화, 혈장내 aldosterone 및 catecholamine 함량의 변화 등을 측정하고 각 표적 장기들에 대한 조직학적 관찰을 시행하여 肝陽上亢方의 항고혈압 효과를 살펴본 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

肝陽上亢方은 자발성고혈압백서에서 유의성 있는 혈압 강하 효과를 나타냈다. 肝陽上亢方은 부신피질 hormone 중 aldosterone의 함량을 유의성 있게 감소시켰다. 肝陽上亢方은 catecholamine 중 norepinephrine과 epinephrine의 함량을 유의성 있게 감소시켰다. 肝陽上亢方은 catecholamine 중 dopamine의 함량 감소에 유의성 있는 영향을 주지 못했다. 肝陽上亢方은 혈중 Ca^{2+} 의 농도를 유의성 있게 증가시켰다. 肝陽上亢方은 혈

증 IFN- γ 의 농도를 유의성 있게 감소시켰다. 肝陽上亢方은 조직학적 검사상 대조군에 비해 부신피질에서의 모세혈관 확장을 억제하는 효과를 보였다. 肝陽上亢方은 자발성고혈압백서의 간독성을 검증하는 실험에서 유의성 있는 안전성을 나타냈다.

이상의 결과들로 미루어 보아 肝陽上亢方은 고혈압의 치료에 우수한 활용 가치가 있을 것으로 생각되나, 그 작용 기전에 대해 보다 더 많은 보충 연구가 지속적으로 필요하리라 사료된다.

참고문헌

1. JNC. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure, December 1, 2003.
2. 이영우. 순환기학. 서울, 일조각, pp 93-195, 205, 2001
3. 대한내과학회 해리슨내과학 편집위원회 편. 해리슨내과학 제1권. 서울, 도서출판 MIP, pp 1456-1461, 2003.
4. 의학교육연수원 편. 가정의학. 서울, 서울대학교출판부, pp 294-299, 1999.
5. 張元昌 외. 實用中醫內科學(下), 北京, 人民衛生出版社, 1981, p 1530.
6. 上海中醫學院 편. 中醫內科學, 商務印書館, p 150, 1977.
7. 屈松柏 외. 實用中醫心血管病學. 北京, 科學技術文獻出版社, pp 347-354, 1993.
8. 俞炳讚. 加味鷄血藤湯이 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2004.
9. 趙顯慶. 導痰湯이 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2001.
10. 金鍾仁. 地黃飲子가 腦損傷 및 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2001.
11. 申皇秀. 加味導赤散이 高血壓에 미치는 影響. 大田大學校 大學院, 2004.
12. 林俊植. 渗濕湯이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響. 大田大學校 大學院 韓醫學科碩博論考, 2, 337-339, 1999.
13. 이기상 외. 獭心湯이 白鼠의 血壓 및 局所 腦血流量에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌 21(3):417-424, 2000.
14. 韓承東. 大柴胡湯加味方이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響. 慶山大學校 大學院, 1999.
15. 김영석 외. 고혈압에 대한 임상적 관찰. 대한한의학회지, 4(2):321-331, 1983.
16. 김기훈, 문재우. 공중보건학. 서울, 정문각, pp 373-347, 1999.
17. 이원로. 임상심장학. 서울, 고려의학, pp 479-481, 1998
18. Eugene, Braunwald, Stephen L., Anthony, S., Dan, L., Dennis, L., J. Larry Jameson. harrison's principles of internal medicine 15th edition, McGrawHill, pp 1414-1430, 2001
19. 이영우 외. 고혈압. 서울, 고려의학, pp 11-55, 2000.
20. Walter, F., Emile, L. medical physiology, saunders, pp 534-545, 1057-1061, 2003.
21. 서울대학교 의과대학 편. 내분비학. 서울, 서울대학교출판부, pp 199, 203-204, 1994
22. 김정진. 생리학. 서울, 고문사, pp 115-118, 1997.