

# 益母草 추출물이 뇌허혈 흰쥐의 뇌혈류량 및 사이토카인에 미치는 효과

배인태 · 최찬현 · 윤대환 · 김형우 · 김경윤<sup>1</sup> · 윤영제<sup>1</sup> · 정현우\*

동신대학교 한의과대학, 1: 물리치료학과

## Effects of LEONURI HERBA Extract on the Cerebral Blood Flow and Cytokines in Cerebral Ischemic Rats

In Tae Bae, Chan Hun Choi, Dae Hwan Youn, Hyung Woo Kim, Kyung Yoon Kim<sup>1</sup>, Young Jeoi Yoon<sup>1</sup>, Hyun Woo Jeong\*

College of Oriental Medicine, 1: Department of Physical Therapy, Dongshin University

The study was designed to investigate the effects of Leonuri herba extract (LHE) on the change of regional cerebral blood flow (rCBF) and cytokines production (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-10, TGF- $\beta$ ) in ischemic rats. The results were as follows ; The rCBF was significantly and stably increased by LHE (10 mg/kg, i.p.) during the period of cerebral reperfusion, which contrasted with the findings of rapid and marked increase in control group. In cytokine production of serum by drawing from femoral arterial blood at 1 hr after middle cerebral arterial occlusion, experimental group (LHE 10 mg/kg treated group) was significantly decreased IL-1 $\beta$  production, and increased TGF- $\beta$  production compared with control group. In cytokine production of serum by drawing from femoral arterial blood at 1 hr after reperfusion, experimental group was significantly decreased IL-1 $\beta$  production compared with control group. IL-10 and TGF- $\beta$  production of sample group were significantly increased compared with control group. These results suggested that LHE was significantly and stably increased regional cerebral blood flow by inhibited IL-1 $\beta$  production, and accelerated IL-10 and TGF- $\beta$  production.

Key words : Leonuri herba extract, cerebral blood flow, cytokines, ischemia

### 서 론

뇌혈류량은 정상적으로 분당 700~800 ml가 공급되어야 하는데<sup>1)</sup>, 분당 10 ml/100 g/min이하로 감소하게 되면 ATP가 저하되어 산소 자유기나 글루탐산 등이 침착됨으로써 허혈성 세포손상이 나타나거나<sup>2,3)</sup> 혈액중의 다형 백혈구가 뇌조직내로 침윤되어 염증반응에 의한 허혈성 뇌조직 손상이 더욱 진행하게 되는데<sup>4,5)</sup>, 이 때 세포성장, 세포활성, 염증 등과 같은 중요한 생물학적 작용을 조절하기 위하여 각종의 사이토카인들도 작용하게 된다<sup>6,7)</sup>.

최근 뇌혈관계 질환의 발생빈도가 높아지고 있어<sup>8)</sup> 한의학적 연구가 다양하게 진행되고 있는데, 滋陰健脾湯加枳殼·天麻<sup>9,10)</sup>의 항허혈 작용, 六君子湯<sup>11)</sup>과 八物湯<sup>12)</sup>등의 뇌혈류 개선 효과 등

을 실험적으로 규명함으로써 뇌질환에 임상적으로 활용될 수 있음이 보고되었다.

益母草는 꿀풀과에 속한 益母草의 지상부를 건조시킨 것으로 活血調經·利水退腫·祛瘀生新·調經行血하는 효능을 갖고 있어 血分에 入하여 婦女子의 月經不調, 血風, 隱疹 및 부종 등에 광범위하게 활용되고 있다<sup>13,14)</sup>. 최근 익모초에 대한 연구 보고들을 살펴보면 대퇴동맥의 혈관경련 모델에서 혈관 수축력을 억제시키고<sup>15)</sup>, LDH 활성을 감소시키며<sup>16)</sup>, cyclooxygenase에 관련되어 뇌혈관을 확장시킴으로써 국소 뇌혈류량을 증가시키는 것<sup>17)</sup>으로 보고하고 있다.

이에 저자들은 익모초가 뇌혈관 장애로 발생하는 뇌허혈성 병변에도 효과가 있을 것으로 기대되어 뇌혈류 개선에 미치는 영향을 실험적으로 구명하고자 뇌허혈을 유발시킨 흰쥐에서 국소뇌혈류량의 개선과 혈청내 사이토카인 양을 측정하여 그 결과를 보고하는 바이다.

\* 교신저자 : 정현우, 전남 나주시 대호동 252, 동신대학교 한의과대학

· E-mail : hwdolsan@dsu.ac.kr, · Tel : 061-330-3524

· 접수 : 2007/04/13 · 채택 : 2007/05/31

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

동물은 체중 300 g내외의 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 (주) 다불 사이언스에서 구입하여 사용하였다. 동물은 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고품사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경 (실내온도 24±2°C, 습도 55±5%, 12시간 dark/light)에 1주일 이상 적응시킨 후 사용하였다.

#### 2) 시료

실험에 사용된 약제는 동신대학교 한의과대학 본초학교실에서 정선을 받은 익모초<sup>14)</sup>를 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 검액의 조제

익모초 100 g을 3,000 ml 환저 플라스크에 증류수 1,000 ml와 함께 120분 가열하고 전탕액을 여과지로 여과하여 5,000 ×g로 30분 원심분리하여 상청액을 취하였다. 그 후 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)에 넣어 100 ml로 감압 농축한 후 freeze dryer로 동결 건조시켜 13.2 g의 익모초 추출물 (Leonuri herba extract, LHE)을 얻었다.

#### 2) 뇌혈류역학 변동에 미치는 개선 효과 관찰

##### (1) 뇌허혈 유발

뇌허혈 유발은 Longa 등의 방법<sup>18)</sup>에 따라 중대뇌동맥 (middle cerebral artery, MCA) 폐쇄법을 이용하였다. 병태 모델은 정상 흰쥐의 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고, 내·외경동맥의 분지점으로부터 내경동맥내로 외경동맥을 통하여 3-0 단선조 나일론 봉합사를 삽입함으로써 MCA 기저부를 폐쇄하였다. 120 분 후 내경동맥내에 삽입되어 있는 단선조 나일론 봉합사를 MCA 기저부로부터 제거해 줌으로써 혈액을 재관류시켰다.

##### (2) 국소 뇌혈류량 변동 측정

뇌허혈을 유발시킨 후 stereotaxic frame (DKI, U.S.A.)에 고정시키고 정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 bregma의 4~6 mm 측방, -2~1 mm 전방에 직경 5~6 mm의 두개창 수술을 시행하였다. 이때 두개골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막의 출혈을 방지하도록 하였다. Laser doppler flowmeter (Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe (직경 0.8 mm)를 대뇌 (두정엽) 피질 표면에 수직이 되도록 stereotaxic micromanipulator를 사용하여 뇌연막 동맥에 조심스럽게 근접시켰다. 일정시간 동안 안정시킨 후 실험 절차에 따라 LHE (10 mg/kg, i.p.)를 투여한 실험군과 LHE를 투여하지 않은 대조군으로 분류한 다음 유발 120분 후 혈류를 재관류시켜 변동되는 국소 뇌혈류량 (regional cerebral blood flow, rCBF)을 240분 동안 측정하였다<sup>19)</sup>.

##### 3) 혈청내 사이토카인 양 측정

###### (1) 채혈 및 혈청분리

뇌허혈을 유발시킨 후 LHE (10 mg/kg, i.p.)를 투여한 실험군과 LHE를 투여하지 않은 대조군으로 분류하였다. 이후 MCA 폐쇄 1시간 후와 재관류 1시간 후에 병태 모델의 대뇌동맥에서 혈액

을 1.0 ml 채혈하였다. 채혈시에는 반드시 뇌혈류량과 평균 혈압이 변화되지 않도록 하기 위하여 조심스럽게 5.0 ml 주사기를 통해 채혈하였고, 만약 채혈시 뇌혈류량과 평균 혈압의 변동이 발생되면 사이토카인 생성능 측정 혈청으로 사용하지 않았다. 채혈 후 30분 동안 실온에 방치한 후 3,000 ×g로 30분 동안 원심 분리시킨 후 혈청만을 취해 냉동 보관하면서 필요시마다 해동시켜 사용하였다.

###### (2) Interleukin (IL)-1β 양 측정

뇌허혈 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 IL-1β 양 측정은 rIL-1β ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rIL-1β standard diluent buffer (SDB) 100 μl를 넣은 후, 나머지 well에는 혈청 50 μl와 SDB 50 μl를 넣은 다음 실온에서 3시간 방치한 뒤 washing buffer (WB)로 4회 세척하였다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rIL-1β 100 μl를 넣은 후 실온에서 1시간 방치한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 각 well에 streptavidin-HRP 100 μl를 넣은 다음 실온에서 30분 동안 방치한 뒤 WB로 4회 세척한 후 stabilized chromogen (SC) 100 μl를 넣은 다음 빛을 차단시킨 실온에서 30분 동안 방치하였다. 이후 stop solution (SS) 100 μl를 넣은 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다<sup>20,21)</sup>.

###### (3) Tumor necrosis factor (TNF)-α 양 측정

뇌허혈 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 TNF-α 양 측정은 rTNF-α ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rTNF-α SDB 50 μl를 넣은 다음, 나머지 well에 혈청과 control (high, low)을 각각 50 μl씩 분주한 후 SDB 50 μl를 넣었다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rTNF-α 50 μl를 넣고 실온에서 90분 동안 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해 놓은 streptavidin-HRP를 각 well에 100 μl씩 분주한 다음 다시 실온에서 45분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 μl씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 μl씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다<sup>22,23)</sup>.

###### (4) IL-10 양 측정

뇌허혈 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 IL-10 양 측정은 rIL-10 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 100 μl씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control (high, low)을 각각 50 μl씩 분주한 다음 SDB 50 μl를 넣었다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rIL-10 50 μl를 넣고 실온에서 2시간 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해 놓은 streptavidin-HRP를 각 well에 100 μl씩 분주한 다음 다시 실온에서 30분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 μl씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 μl씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다<sup>24,25)</sup>.

###### (5) Transforming growth factor (TGF)-β 양 측정

뇌허혈 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 TGF-β 양 측정은 TGF-β1 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 200 μl씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control을 각각 200 μl씩 넣은 다음 각 well에 biotin-labeled anti-TGF-β1 50 μl를 분주한 후 실온에서 3시간 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여

준비해 놓은 streptavidin-HRP를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 다음 다시 실온에서 30분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다<sup>26,27</sup>.

3. 통계처리

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

실험성적

1. 국소 뇌혈류량 변동에 미치는 개선 효과

뇌허혈 흰쥐의 국소 뇌혈류량 변동에 미치는 익모초 추출물의 개선 효과를 관찰하기 위하여 중대뇌동맥 폐쇄법으로 뇌허혈 흰쥐를 유발시킨 다음 익모초 추출물 (10 mg/kg, i.p.)을 투여하여 뇌허혈-재관류 후에 변동되는 국소 뇌혈류량을 관찰하였다. 대조군의 국소 뇌혈류량 기저치를 100%라 하였을 때, 뇌허혈 상태 대조군의 국소 뇌혈류량은 뇌허혈 120분 동안 30분 간격으로 각각 48.81 $\pm$ 0.02%, 48.02 $\pm$ 0.03%, 48.77 $\pm$ 0.03%, 49.01 $\pm$ 0.03%로 차단되었다. 그러나 대조군의 국소 뇌혈류량은 재관류 후 120분 동안 기저치보다 각각 110.10 $\pm$ 0.02%, 119.14 $\pm$ 0.02%, 127.70 $\pm$ 0.02%, 133.35 $\pm$ 0.03%로 불안정한 증가상태를 나타내었고, 이후 재관류 시간이 경과될수록 각각 127.05 $\pm$ 0.04%, 120.31 $\pm$ 0.05%, 113.62 $\pm$ 0.05%, 111.29 $\pm$ 0.04%로 감소되는 경향을 보였으나 기저치보다는 증가되었다. 실험군의 국소 뇌혈류량 기저치를 100%라 하였을 때, 익모초 추출물을 투여한 뇌허혈 상태 실험군의 국소 뇌혈류량은 뇌허혈 120분 동안 30분 간격으로 각각 48.86 $\pm$ 0.09%, 48.89 $\pm$ 0.12%, 49 $\pm$ 0.13%, 48.44 $\pm$ 0.11%로 차단되었고, 재관류 후 120분 동안에는 기저치보다 각각 100.15 $\pm$ 0.07%, 109.6 $\pm$ 0.09%, 113.48 $\pm$ 0.04%, 109.47 $\pm$ 0.02%로 불안정하게 증가되었으나 재관류 시간이 경과될수록 각각 105.86 $\pm$ 0.03%, 104.53 $\pm$ 0.05%, 104.87 $\pm$ 0.04%, 104.65 $\pm$ 0.04%로 기저치와 유사하게 나타났다. 실험군의 국소 뇌혈류량은 대조군의 불안정한 국소 뇌혈류량의 변화에 비해 유의성 (P<0.05) 있게 안정적으로 개선되었다(Fig. 1).

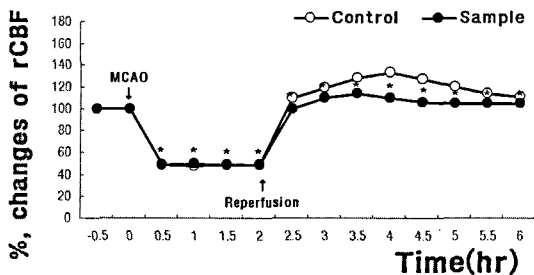


Fig. 1. Effect of LHE on the rCBF response in cerebral ischemic rats. LHE : Leonuri herba extract, MCAO : right middle cerebral artery occlusion, Control : LHE non-treated group, Sample : After caused MCAO, LHE (10 mg/kg, i.p.) treated group, rCBF : regional cerebral blood flow. The present data were expressed as mean $\pm$ SE of 6 experiments. \* : Statistically significant compared with Control group (\* ; P<0.05).

2. 중대뇌동맥 폐쇄 1시간 후 생성되는 사이토카인 양에 미치는 효과

뇌허혈 흰쥐의 혈청에서 생성되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 중대뇌동맥 폐쇄법으로 뇌허혈을 유발시킨 후 익모초 추출물을 투여하고, 유발 1시간이 경과된 다음 뇌허혈 흰쥐에서 혈청만을 취하여 생성되는 사이토카인 양을 측정하였다. 대조군의 혈청에서 생성되는 IL-1 $\beta$ 의 양을 100%라 하였을 때 실험군의 혈청에서 생성되는 IL-1 $\beta$ 의 양은 88.23 $\pm$ 0.03%로 대조군보다 유의성 (P<0.01) 있게 감소되었고, 대조군의 혈청에서 생성되는 TNF- $\alpha$ 의 양을 100%라 하였을 때 실험군의 혈청에서 생성되는 TNF- $\alpha$ 의 양은 99.34 $\pm$ 0.04%로 대조군과 유사하게 나타났다. 대조군의 혈청에서 생성되는 IL-10의 양을 100%라 하였을 때 실험군의 혈청에서 생성되는 IL-10의 양은 102.28 $\pm$ 0.08%로, 대조군의 혈청에서 생성되는 TGF- $\beta$ 의 양을 100%라 하였을 때 실험군의 혈청에서 생성되는 TGF- $\beta$ 의 양은 120.52 $\pm$ 0.03%로 대조군에 비해 유의성 (P<0.05) 있게 증가되었다(Fig. 2).

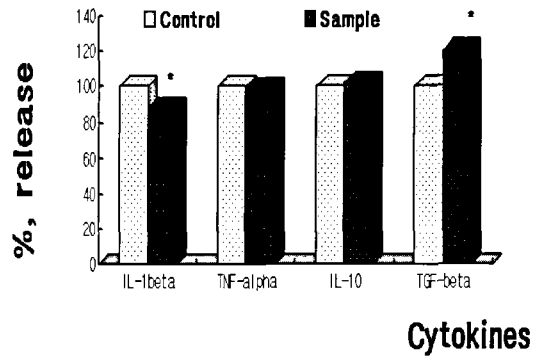


Fig. 2. Effect of LHE on the cytokines production in the serum at 1 hr after MCAO. This figure is cytokines production of serum by drawing from femoral arterial blood at 1 hr after MCAO (middle cerebral artery occlusion). Other legends are the same as Fig. The present data were expressed as mean $\pm$ SE of 6 experiments. \* : Statistically significant compared with Control group (\* ; P<0.05).

3. 재관류 1시간 후 생성되는 사이토카인 양에 미치는 효과

뇌허혈 흰쥐의 혈청에서 생성되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 중대뇌동맥 폐쇄법으로 유발된 뇌허혈 흰쥐에게 재관류시킨 다음 1시간이 경과된 후 뇌허혈 병태 모델에서 혈청만을 취하여 생성되는 사이토카인 양을 측정하였다. 대조군의 혈청에서 생성되는 IL-1 $\beta$ 의 양을 100%라 하였을 때 실험군의 혈청에서 생성되는 IL-1 $\beta$ 의 양은 78.64 $\pm$ 0.03%로 유의성 (P<0.001) 있게 감소되었고, 대조군의 혈청에서 생성되는 TNF- $\alpha$ 의 양을 100%라 하였을 때 실험군의 혈청에서 생성되는 TNF- $\alpha$ 의 양도 99.37 $\pm$ 0.06%로 대조군에 비해 감소되었다. 대조군의 혈청에서 생성되는 IL-10의 양을 100%라 하였을 때 실험군의 혈청에서 생성되는 IL-10의 양은 113.52 $\pm$ 0.01%로 대조군보다 유의성 (P<0.01) 있게 증가되었고, 대조군의 혈청에서 생성되는 TGF- $\beta$ 의 양을 100%라 하였을 때 실험군의 혈청에서 생성되는 TGF- $\beta$ 의 양도 126.45 $\pm$ 0.01%로 대조군에 비해 유의성 (P<0.001) 있게 증가되었다(Fig. 3).

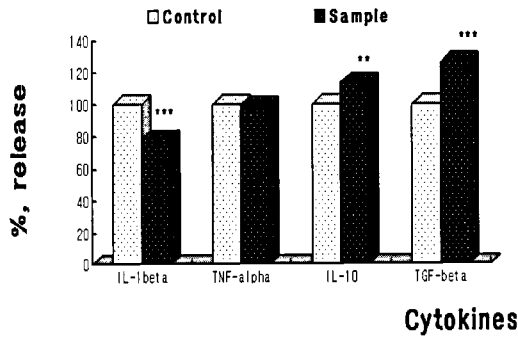


Fig. 3. Effect of LHE on the cytokines production in the serum at 1 hr after reperfusion. This figure is cytokines production of serum by drawing from femoral arterial blood at 1 hr after reperfusion. Other legends are the same as Fig. 2. The present data were expressed as mean±SE of 6 experiments. \* : Statistically significant compared with Control group (\*\* ; P<0.01, \*\*\* ; P<0.001).

## 고찰

뇌기능 장애에는 일과성 뇌허혈발작·가역성 뇌허혈손상·동맥경화성 뇌경색 등을 포함한 허혈성 뇌졸중과 지주막하강 출혈·고혈압성 뇌출혈을 포함한 출혈성 뇌졸중으로 대별되는데, 그 중에서 허혈성 뇌졸중은 충분한 양의 혈액이 뇌를 관류하지 못하거나 혈액내의 산소 농도가 떨어졌을 때 발생된다. 뇌혈류가 분당 10 ml/100 g이하로 감소하게 되면 이온성 장애, ATP 감소, 유리 지방산 증가 그리고 젖산 증가에 의한 세포내 산증과 같은 에너지 대사 장애, 산소자유기 혹은 글루탐산 등이 생성되거나 침착하게 되어 뇌신경세포를 포함한 뇌조직이 손상되어 운동마비나 지각마비 등을 포함한 치명적인 뇌신경기능 소실 증상이 나타나게 되는데<sup>29)</sup>, 이를 한의학에서는 中風의 한 범주에 포함시켜 다루고 있다<sup>8,29)</sup>.

中風은 卒然昏倒·人事不省·口眼喎斜·半身不隨·言語不利 등의 증상이 나타나는 질환으로 역대 의가들은 그 원인에 대해 主火說<sup>30)</sup>, 主氣說<sup>31)</sup>, 濕痰說<sup>32)</sup> 등을 제창하였고, 清代의 王清任은 中風으로 인해 半身不隨, 遍身麻木이 나타나는 것은 氣虛血瘀에 의한다<sup>33)</sup>하여 중풍이 瘀血로 발생됨을 인식하였다.

瘀血이란 각종 원인에 의하여 체내에서 발생된 일종의 병리적 산물로 혈액 순환 장애를 초래하는 중요한 원인이 된다. 그러나 이 瘀血은 단순히 非生理的 血毒의 물질적 개념만으로 이해하는 것이 아니라 血滯라는 순환 장애의 병리적 상태를 기반으로 나타나는 어떤 특수한 증후군까지도 포함하는 기능 개념으로 이해해야 한다<sup>34)</sup>. 그렇기 때문에 王清任도 치료적인 측면에서 “血實에는 決之하고 氣虛에는 引之하라” 하여 瘀血을 치료하는데 逐瘀와 補氣의 양면성을 중시하였으니<sup>33)</sup> 이는 瘀血을 停滯의 血毒 物質로만 보는 것이 아니라 순환의 기능적인 면을 중시한 것으로 氣와 血의 상호관계에서 病理觀을 세웠다할 것이다.

최근 노령인구의 증가와 생활의 변화 등으로 각종의 성인병과 노인성 질환들이 다발되고 있는데, 그 중에서도 뇌혈관계 질환의 발생빈도가 높아 사회적으로 많은 관심을 기울이고 있다<sup>8)</sup>.

뇌혈류에 대한 연구 동향을 살펴보면 중대뇌동맥 폐쇄범위로 유발된 뇌허혈 병태 모델에 미치는 연구에서 임 등<sup>9,10)</sup>이 滋陰

健脾湯加枳殼·天麻가 교감신경 β수용체와 cyclooxygenase에 영향을 주어 뇌연막 동맥의 직경을 확장시킴으로써 뇌혈류역학을 안정적으로 개선시키는 등의 항허혈 작용이 있었다고, 김 등<sup>11)</sup>은 六君子湯이 cGMP의 생성 효소인 guanylate cyclase와 관련되어 IL-10의 생성능을 촉진시키고, 염증 촉발 사이토카인의 생성능을 억제하여 뇌혈류 변동을 개선시킴과 동시에 LDH의 활성도를 감소시킴으로써 뇌허혈로 인해 나타나는 초기 뇌손상을 억제시킬 수 있는 약물이라고, 朴 등<sup>12)</sup>은 八物湯이 cyclooxygenase와 관련되어 뇌연막 동맥의 직경을 확장시킴으로써 뇌혈류를 개선시키는 것으로 나타나 血虛로 인한 뇌질환에 임상적으로 이용될 수 있을 것이라고 보고하였다.

益母草는 藥名 자체에도 “母를 유약하게 한다”는 의미가 있듯이 婦科 經産의 요약으로서 그 性味는 苦辛·微寒하고, 心經과 肝經에 들어가 活血調經, 祛瘀生新, 利水退腫, 調經行血하는 효능을 갖고 있어 月經不調, 通經, 經廢, 惡露不盡, 水腫尿小, 瘀滯腹痛, 打撲損傷, 瘀血腹痛, 産後血暈, 崩中瀉下 및 血風, 隱疹, 부종 등을 치료하여 血分에 작용하는 대표적인 活血祛瘀 藥物 중의 하나로 애용되고 있다<sup>14)</sup>.

益母草에 대한 연구 활동을 살펴보면 정 등<sup>15)</sup>은 흰쥐의 대뇌 동맥의 혈관경련 모델을 이용하여 혈관 운동성을 살펴본 결과 익모초가 혈관 수축력을 억제시킨다고, 김 등<sup>16)</sup>은 益母草 추출물이 LDH 활성을 감소시킨다고, 배 등<sup>17)</sup>은 익모초가 정상 흰쥐의 뇌혈류역학에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 인도메타신으로 전처리한 결과 cyclooxygenase에 관련되어 뇌혈관을 확장시킴으로써 국소 뇌혈류를 증가시켰다고 보고하였다.

이에 저자들은 뇌허혈 병변이 중풍의 범주에 속하고, 중풍의 원인에는 瘀血이 있으며, 瘀血을 치료하는 活血化瘀 작용이 있는 익모초가 혈관을 이완시키는 것으로 밝혀지고 있어 뇌혈관 장애로 발생하는 뇌허혈성 병변에도 효과가 있을 것으로 기대되어 뇌혈류 개선에 미치는 영향을 실험적으로 구명하고자 뇌허혈을 유발시킨 흰쥐의 변동되는 국소 뇌혈류량에 미치는 개선 효과와 혈청내 염증 촉발 사이토카인과 항염증 사이토카인의 생성능을 관찰하였다.

허혈성 뇌손상은 허혈 당시보다는 허혈이 일어난 조직으로 산소가 재공급될 때 주로 일어난다<sup>35)</sup>하였다. 일과성 뇌허혈을 유발시킨 후 익모초 추출물을 투여한 결과 재관류 후 불안정한 증가 상태를 보였던 대조군의 국소 뇌혈류량 변동보다 유의성 있게 안정적으로 증가되었고, 재관류 4시간 후에는 기저치와 유사한 결과를 나타내었다. 이로 미루어 볼 때 정상 흰쥐에서 뇌혈류역학을 유의성 있게 변화시킨 익모초 추출물은 뇌허혈시에도 뇌혈류역학 변동을 개선시킴으로써 허혈로 인한 뇌손상을 억제할 수 있을 것으로 생각된다.

뇌허혈이 일어나면 혈액중의 다형 백혈구가 혈관 내벽에 부착되어 뇌조직내로 침윤을 하게 되고, 조직내에 축적된 호중구로부터 여러 물질들이 유리되면서 염증반응에 의한 허혈성 뇌조직 손상이 더욱 진행하게 되며<sup>45)</sup>, 허혈성 뇌손상시 세포성장, 세포활성, 염증 등과 같은 중요한 생물학적 작용을 조절하기 위하여 각종의 사이토카인들도 작용하게 된다<sup>7,8)</sup>.

염증에 관여하는 사이토카인에는 IL-1 $\beta$ 와 TNF- $\alpha$  등이 있는데, 이 중 IL-1 $\beta$ 는 대식세포, 림프구 및 내피세포 등의 세포에서 유리되는 것으로 내독소, 물리적 손상이나 염증반응에 의해 유발되고, 뇌로 이동될 경우 열을 발생시킨다. TNF- $\alpha$ 는 종양의 출혈성 괴사 및 염증반응에 관여하며, 염증의 급성기에는 IL-1 $\beta$ 와 TNF- $\alpha$ 가 서로 작용하여 생성이 촉진된다<sup>7,36</sup>.

염증 촉발 사이토카인을 억제하는 기전으로는 항염증 사이토카인인 IL-10과 TGF- $\beta$  등이 있는데, 이 중 IL-10은 IL-1 $\beta$ 와 TNF- $\alpha$ 를 생성하는 대식세포의 생성을 억제하고, TGF- $\beta$ 는 혈소판 및 내피세포 등에서 생성되는 것으로 대식세포에서 생성되는 NO의 양 등을 불활성화시킨다<sup>7,36</sup>. Daddi 등도 IL-10과 TGF- $\beta$ 가 뇌허혈시 재관류로 인해 나타나는 뇌손상을 감소시킨다 하였다<sup>37</sup>.

뇌허혈시 염증반응이 나타나고, 염증반응으로 인해 더욱 더 심한 뇌손상이 나타나기 때문에 익모초 추출물이 항염증 사이토카인의 양과 염증 촉발 사이토카인의 양에 미치는 효과를 관찰한 결과, MCA 폐쇄 1시간 후 실험군의 IL-10의 양은 대조군보다 약간 증가하였고, TGF- $\beta$ 의 양은 대조군보다 유의성 있게 증가되었으며, IL-1 $\beta$ 의 양은 대조군보다 유의성 있게 감소되었고, TNF- $\alpha$ 의 양은 대조군과 유사하게 나타났다. 재관류 1시간 후에는 실험군의 IL-1 $\beta$ 의 양은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고 TNF- $\alpha$ 의 양은 대조군과 유사하게 나왔으며, IL-10의 양과 TGF- $\beta$ 의 양이 대조군에 비해 유의성 있게 증가되었다. 이는 허혈시 IL-1 $\beta$ 와 TNF- $\alpha$ 가 상승된다는 보고<sup>38,39</sup>에서 볼 수 있듯이 익모초 추출물이 IL-10의 양을 촉진시켜 IL-1 $\beta$ 의 생성을 억제함으로써 허혈시 나타나는 염증반응을 억제하고, 허혈성 뇌손상을 억제하는 것으로 생각된다.

이상의 결과, 뇌허혈시 IL-1 $\beta$ 의 양이 상승된다는 보고<sup>38,39</sup>, 뇌허혈 후 prostaglandin E2와 관련되어 TGF- $\beta$ 가 허혈-재관류시 뇌미세 혈관을 감소시킨다는 Armstead 등의 보고<sup>40</sup>를 볼 때 익모초 추출물은 정상 흰쥐에서 나타난 작용기전과 같이 prostaglandin의 생성 효소인 cyclooxygenase에 작용하여 항염증 사이토카인인 TGF- $\beta$ 의 생성능을 촉진시킴으로써 염증 촉발 사이토카인인 IL-1 $\beta$ 의 생성을 억제하는 것으로 생각된다.

이에 익모초 추출물이 항허혈 작용이 있는 것으로 판단되어 임상상 허혈성 뇌혈관 질환의 예방과 치료에 응용될 수 있으리라 보여지며, 향후 다양한 活血祛瘀 약물들에 대한 연구가 진행된다면 뇌혈관 질환에 대한 치료효과를 높이는 데 기여할 것으로 생각된다.

## 결 론

허혈성 뇌손상에 대한 익모초 추출물의 억제 효과를 알아보기 위하여 뇌허혈이 유발된 흰쥐의 국소 뇌혈류량 변동에 미치는 개선 효과와 혈청내에서 생성되는 사이토카인 양에 미치는 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

뇌허혈 흰쥐에 익모초 추출물을 투여한 결과, 실험군의 국소 뇌혈류량은 재관류시 대조군의 불안정한 변동에 비해 유의성 있고 안정적으로 개선되었다. 뇌허혈 흰쥐에 익모초 추출물을 투여

한 결과, 중대뇌동맥 폐쇄 1시간 후 실험군의 IL-1 $\beta$ 의 양은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었지만 TNF- $\alpha$ 의 양은 대조군과 유사하였고, 실험군의 IL-10의 양도 대조군과 유사하였지만 TGF- $\beta$ 의 양은 대조군에 비해 유의성 있게 증가되었다. 뇌허혈 흰쥐에 익모초 추출물을 투여한 결과, 재관류 1시간 후 실험군의 IL-1 $\beta$ 의 양은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고, TNF- $\alpha$ 의 양은 대조군과 유사하였지만 실험군의 IL-10의 양과 TGF- $\beta$ 의 양은 대조군에 비해 유의성 있게 증가되었다.

이상의 결과, 익모초 추출물은 뇌혈류량을 개선시키고, 항염증 사이토카인의 생성을 촉진시키는 동시에 염증 촉발 사이토카인의 생성을 억제시키는 것으로 나타났다.

## 참고문헌

1. Kety, S.S., Schmidt, C.F. The nitrous oxide method for the man ; theory, procedure and normal values. *J. Clin Invest* 27: 476-483, 1948.
2. Cheung, J.Y., Bonventre, J.V., Malis, C.D., Leaf, A. Mechanism of disease ; calcium and ischemic injury. *New Eng J. Med.* 26: 1670-1676, 1986.
3. Weisfeldt, M.L. Reperfusion and Reperfusion injury. *Clin Res.* 35: 13-20, 1987.
4. Hallenbeck, J.M., Dutka, A.J., Tanishima, T., Kochanek, P.M., Kumaroo, K.K., Thompson, C.B., Obrenovich, T.P., Contreras, T.J. Polymorphonuclear leukocyteaccumulation in brain region with low blood flow during the early postischemic period. *Stroke* 17: 246-253, 1986.
5. Garcia, J.H., Liu, K.F., Yoshida, Y., Lian, J., Chen, S., del Zoppo, G.J. Influx of leukocytes and platelets in an evolving brain infarct(Wistar rat). *Am J. Pathol.* 144: 188-199, 1994.
6. Vila, N., Castillo, J., Davalos, A., Esteve, A., Planas, A.M., Chamorro, A. Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke. *Stroke* 34(3):671-675, 2003.
7. 하대유 외 25인. 면역학. 고문사, 서울, pp 100-105, 1994.
8. 나영설, 윤상협, 민병일. 최근 뇌졸중에 대한 역학적 고찰. *경희의학* 7: 280-286, 1991.
9. 임광모, 박철훈, 정현우. 자음건비탕가지각·천마가 뇌세포 및 뇌혈류역학 변동에 미치는 영향. *동의생리병리학회지* 17(1):64-70, 2003.
10. 정현우. 자음건비탕가지각·천마가 뇌허혈 동물의 뇌혈류역학 변동 개선에 미치는 작용기전. *동의생리병리학회지* 17(5):1194-1201, 2003.
11. 김희성, 이상록, 정현우. 육군자탕이 뇌허혈에 미치는 억제효과. *동의생리병리학회지* 18(2):419-426, 2004.
12. 박철훈, 배인태, 정현우. 팔물탕이 뇌혈류역학 변화에 미치는 효과. *동의생리병리학회지* 18(4):1014-1020, 2004.

13. 黃宮綉. 本草求真. 人民衛生出版社, 北京, pp 226-227, 1987.
14. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編. 本草學. 永林社, 서울, pp 422-423, 1999.
15. 정용발, 김형완, 이송득, 안덕균, 신해승, 백태현, 최호영. 益母草 물추출물이 흰쥐 대퇴동맥의 혈관경련에 미치는 영향. 대한본초학회지 18(2):169-178, 2003.
16. 김학순, 윤수흥. 익모초 추출액이 간장해에 미치는 영향. 한국위생과학회지 5(2):98-99, 1999
17. 배인태, 정현우. 익모초 추출액이 국소 뇌혈류량 및 평균혈압에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 19(6):1599-1603, 2005.
18. Longa, E.Z., Weinstein, P.R., Carlson, S., Cummins, R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke 20(1):84-91, 1989.
19. Chen, S.T., Hsu, C.Y., Hogan, E.L., Maricque, H., Balentine, J.D. A model of focal ischemic stroke in the rat : reproducible extension cortical infarction. Stroke 17: 738-743, 1986.
20. Trembaly, L.F., Valenza, S.P. and Ribello, J.Li. Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos mRNA expression in an isolated rat lung model. J. Clin. Invest 99(5):944-952, 1999.
21. Wang, C.X., Olschowka, J.A. and Wrathall, J.R. Increase of interleukin-1beta mRNA and protein in the spinal cord following experimental traumatic injury in the rat. Brain Res. 759(2):190-196, 1997.
22. Stepaniak, J.A., Gould, K.E, Sun, D., Swanborg, R.H. A comparative study of experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis and DA rats, J. Immunol. 155: 2762-2769, 1995.
23. Rivera, D.L., Ollister, S.M., Liu, X., Thompson, J.H., Zhang, X.J., Pennline, K., Azuero, R., Clark, D.A., Miller, M.J. Interleukin-10 attenuates experimental fetal growth restriction and demise. FASEB J. 12(2):189-197, 1998.
24. Okura, Y., Takeda, K., Honda, S., Hanawa, H., Watanabe, H., Kodama, M., Izumi, T., Aizawa, Y., Seki, S., Abo, T. Recombinant murine interleukin-12 facilitates induction of cardiac myosin-specific type 1 helper T cells in rats. Circ Res. 82(10):1035-1042, 1998.
25. Lobell, A., Weissert, R., Storch, M.K., Svanholm, C., de Graaf, K.L., Lassmann, H., Andersson, R., Olsson, T., Wigzell, H. Vaccination with DNA encoding an immunodominant myelin basic protein peptide targeted to Fc of immunoglobulin G suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis. J. Exp. Med. 187(9):1543-1548, 1998.
26. Kim, S.J., Romeo, D., Yoo, Y.D., Park, K. Transforming growth factor-beta ; expression in normal and pathological conditions. Horm. Res. 42(1-2):5-8, 1994.
27. Kloen, P., Gebhardt, M.C., Perez-Atayde, A., Rosenberg, A.E., Springfield, D.S., Gold, L.I., Mankin, H.J. Expression of transforming growth factor-beta(TGF-beta) isoforms in osteosarcomas; TGF-beta3 is related to disease progression. Cancer, 80(12):2230-2239, 1997.
28. 이경은, 김경환. 허혈, 재관류 손상에서 뇌조직 아민 변동과 Free Radical과의 관련성. 大韓神經科學會誌 8(1):2-8, 1990.
29. 中國中醫研究院廣安門醫院. 實用中醫腦病學. 學苑出版社, 北京, pp 62-63, 1993.
30. 劉完素. 素問玄機原病式. 浙江科學技術出版社, 浙江, pp 170-172, 1984.
31. 李東垣. 東垣十種醫書. 成輔社, 서울, pp 635-636, 1983.
32. 方 廣. 丹溪心法附餘(상). 大星文化社, 서울, pp 67-69, 1982.
33. 王清任. 醫林改錯. 일증사, 서울, pp 69-75, 84-86, 1992.
34. 鄭遇悅. 瘀血의 概念에 관한 東醫學의 考察. 東醫病理學會誌 5: 93-102, 1989.
35. McCord, J.M. Mechanisms of disease : oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. New Eng J. Med. 312: 159-163, 1985.
36. 대한병리학회. 병리학. 고문사, 서울, pp 87-99, 1263-1264, 1994.
37. Daddi, N., Suda, T., D'Ovidio, F., Kanaan, S.A., Tagawa, T., Grapperhaus, K., Kozower, B.D., Ritter, J.H., Yew, N.S., Mohanakumar, T., Patterson, G.A. Recipient intramuscular cotransfection of naked plasmid transforming growth factor beta1 and interleukin 10 ameliorates lung graft ischemia-reperfusion injury. J. Thorac Cardiovasc Surg. 124(2):259-269, 2002.
38. Hayashi, Y., Jikihara, I., Yagi, T., Fukumura, M., Ohashi, Y., Ohta, Y., Takagi, H., Maeda, M. Immunohistochemical investigation of caspase-1 and effect of caspase-1 inhibitor in delayed neuronal death after transient cerebral ischemia. Brain Res. 893(1-2):113-120, 2001.
39. Cain, B.S., Meldrum, D.R., Dinarello, C.A., Meng, X., Joo, K.S., Banerjee, A., Harken, A.H. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta synergistically depress human myocardial function. Crit Care Med. 27(7):1309-1318, 1999.
40. Armstead, W.M., Mirro, R., Zuckerman, S.L., Shibata, M., Leffler, C.W. Transforming growth factor-beta attenuates ischemia-induced alterations in cerebrovascular responses. Am J. Physiol. 264: 381-385, 1993.