

蘇葉 추출물이 뇌허혈이 유발된 백서의 cytokine 분비에 미치는 영향

양기호^{#1}, 김형우^{#1}, 조수진², 김상대¹, 윤관희¹, 김부여¹, 정현우¹, 조수인^{*1}

1: 동신대학교 한의과대학 2: 고려대학교 의과대학

Effects of Folium Perillae on cytokine productions in ischemic rats

Gi-Ho Yang^{#1}, Hyung-Woo Kim^{#1}, Su-Jin Cho², Sang-Dae Kim¹, Kwan-Hee Yoon¹,
Bu-Yeo Kim¹, Hyun-Woo Jeong¹, Su-In Cho^{*1}

1: College of Oriental medicine, Dongshin University 2: College of medicine, Korea University.

#: Equally contributed to this work

ABSTRACT

Objective : The present study was carried out to investigate the effects of Folium Perillae (FP) on several cytokine production such as IL-1 β , TNF- α , IL-10 and TGF- β to determine related mechanisms in Rats.

Methods : So, we investigated the effects of FP on levels of several cytokines such as IL-1 β , TNF- α , IL-10 and TGF- β in ischemic rats.

Results : In this experiment, IL-10, an immuno-modulatory cytokine, level was elevated by treatment with FP, but another regulatory cytokine, TGF- β 1 level was not affected. On the other hand, levels of IL-1 β and TNF- α , an inflammatory cytokines, were lowered by treatment with FP effectively.

Conclusion : In conclusion, these results suggest that FP is useful to treat patient with disease related to cerebral ischemia, because FP can elevate IL-10 level, lower IL-1 β and TNF- α levels.

Key words : Folium Perillae, IL-1 β , TNF- α , IL-10, TGF- β

*교신저자 : 조수인, 전남 나주시 대호동 동신대학교 한의과대학 본초학교실 520-714

· Tel : 061-330-3513 · FAX : 061-330-3519 · E-mail : sicho@dsu.ac.kr

#제 1저자 : 양기호, 김형우, 전남 나주시 대호동 동신대학교 한의과대학 본초학교실 520-714

· Tel : 061) 330-2972 · FAX : 061-330-3519 · E-mail : kronos7@hanmail.net

· 접수 : 2007년 7월 31일 · 수정 : 2007년 9월 20일 · 채택 : 2007년 9월 21일

서 론

최근 식생활의 변화와 정신적 스트레스 등으로 고혈압 등의 성인병과 노인성 질환들이 다발되고 있고, 그 중에서도 뇌혈관계 질환의 발생 빈도가 높아 사회적으로 많은 관심이 요구되고 있다¹⁾.

뇌혈류 감소로 인해 비가역적 뇌손상이 나타나게 되면 뇌신경세포를 포함한 뇌조직에 손상이 발생되어 운동마비나 지각마비 등을 포함한 치명적인 뇌신경 기능 소실 증상이 나타나게 되는데²⁾, 이를 한의학에서는 中風의 한 범주에 포함시켜 다루고 있다³⁾. 뇌허혈이 발생하게 되면, 세포의 활성화 및 염증 등과 같은 생물학적 작용을 조절하기 위하여 각종의 cytokine들도 작용하게 된다^{4,5)}. 뇌허혈의 증상을 더욱 악화시키는 대표적인 요인으로 면역 반응의 항진으로 인한 염증 반응을 들 수 있다⁶⁾. IL-1 β 는 생체 내에서 열발생 및 급성기 염증 반응에 관여하고, 대부분의 면역세포의 활성화에 관여한다. TNF- α 는 염증을 포함한 면역 반응의 강력한 매개자이다⁷⁾. IL-10은 대표적인 immuno-modulatory cytokine으로 대부분의 cytokine 생성을 억제하고, TGF- β 1은 일부 세포에 대하여 성장 억제 작용을 하고, 일부 세포에 대하여서는 증식을 항진시키는 등 다양한 반응을 보인다. TGF- β 1은 뇌허혈에서 뇌손상을 방지하는 것이 알려져 있다⁷⁾.

蘇葉은 꿀풀과 (Labiatae)에 속한 1년생 초본인 차조기 (*Perilla frutescens* (L.) BRITT. var. *acuta* (THUMB.) KUDO)와 주름차조기 (*Perilla frutescens* (L.) BRITT. var. *crispa* (THUMB.) HAND.-MAZZ.)의 잎으로 性味는 辛 溫 無毒하고 肺, 脾經에 작용한다⁸⁾.

蘇葉에 대한 최근의 연구로는 한 등⁷⁾과 조 등⁸⁾이 蘇葉의 항암작용에 대하여 연구한 결과가 보고 되어 있고, 문 등⁹⁾은 숙취해소에 관련된 연구 결과를 발표하였다. 최근 강 등¹⁰⁾은 蘇葉이 알레르기 천식을 치료하는 효과가 있다는 연구 결과를 발표하는 등 蘇葉은 다방면으로 활용 폭이 확대 되고 있다. 그러나, 蘇葉이 뇌허혈 상태에서 각종 사이토카인에 미치는 영향을 현대적으로 검증한 연구는 아직까지 없었다.

이에 저자는 蘇葉 추출물이 뇌허혈의 개선에 관련된 기전을 실험적으로 구명하고자 蘇葉 추출물을 뇌허혈이 유발된 흰쥐에 투여하고, 혈청 내에서 생성되는 염증 촉발 cytokine 및 항염증 cytokine의 양

을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 생후 2일째의 ICR계 생쥐와 체중 300 g 내외의 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 (주) 다물 사이언스에서 구입하여 사용하였다. 동물은 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고품사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경 (실내온도 24 \pm 2 $^{\circ}$ C, 습도 55 \pm 5%, 12시간 dark/light)에 1주일 이상 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약재

본 연구에 사용한 蘇葉 (FP, Folium Perillae) 은 꿀풀과에 속한 차조기의 잎으로써 동신대학교 광주 한방병원을 통하여 구입하였다.

2. 방법

1) 시료의 제조

蘇葉 200 g을 증류수 1,500 ml와 함께 전기 약탕기 (대웅, 한국)를 이용하여 3시간 가열하고 전탕액을 여과지로 여과하여 5,000 \times g로 10분 원심분리하여 상청액을 취하였다. 얻어진 상청액을 減壓 加溫法으로 농축하여 추출 분말(FP)을 조제 하였다.

2) 뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청 내 cytokine 양 측정

① 채혈 및 혈청분리

뇌허혈을 유발시킨 후 FP를 투여하지 않은 대조군과 FP (10 mg/kg, i.p.)를 투여한 실험군으로 분류하였다. 이후 MCA 폐색 1시간 후와 재관류 1시간 후에 병태 모델의 대퇴동맥에서 혈액을 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 cytokine 생성능 측정 혈청으로 사용하지 않았다. 채혈 후 30분 동안 실온에 방치한 후 3,000 \times g로 30분 동안 원심분리시킨 후 혈청만을 취해 냉동 보관하면서 필요시마다 해동시켜 사용하였다.

② Interleukin (IL)-1 β 양 측정

뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 IL-1 β 양 측정은 rIL-1 β ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rIL-1 β standard diluent buffer (SDB) 100 μ 를 넣은 후, 나머지 well에는 혈청 50 μ 와 SDB 50 μ 를 넣은 다음 실온에서 3시간 방치한 뒤 washing buffer (WB)로 4회 세척하였다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rIL-1 β 100 μ 를 넣은 후 실온에서 1시간 방치한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 각 well에 streptavidin-HRP 100 μ 를 넣은 다음 실온에서 30분 동안 방치한 뒤 WB로 4회 세척한 후 stabilized chromogen (SC) 100 μ 를 넣은 다음 빛을 차단시킨 실온에서 30분 동안 방치하였다. 이후 stop solution (SS) 100 μ 를 넣은 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다(19,20).

③ Tumor necrosis factor (TNF)- α 양 측정

뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 TNF- α 양 측정은 rTNF- α ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rTNF- α SDB 50 μ 를 넣은 다음, 나머지 well에 혈청과 control (high, low)을 각각 50 μ 씩 분주한 후 SDB 50 μ 를 넣었다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rTNF- α 50 μ 를 넣고 실온에서 90분 동안 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해 놓은 streptavidin-HRP를 각 well에 100 μ 씩 분주한 다음 다시 실온에서 45분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 μ 씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 μ 씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다(21,22).

④ IL-10 양 측정

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

450 nm 파장에서 측정하였다(23,24).

⑤ Transforming growth factor (TGF)- β 1 양 측정

뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 TGF- β 1 양 측정은 TGF- β 1 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 200 μ 씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control을 각각 200 μ 씩 넣은 다음 각 well에 biotin-labeled anti-TGF- β 1 50 μ 를 분주한 후 실온에서 3시간 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해 놓은 streptavidin-HRP를 각 well에 100 μ 씩 분주한 다음 다시 실온에서 30분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 μ 씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 μ 씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다(24,25).

3. 통계 처리

FP가 국소 뇌허혈량 및 평균 혈압에 미치는 효과를 각각 30분 단위로 합산 통계 처리하였고, 그에 대한 통계처리 방법은 student's t-test에 의하였으며, p-value는 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청에서 생성되는 IL-10 양에 미치는 효과

아무것도 처리하지 않은 대조군에서 허혈 유발 1시간 후에 비하여 재관류 1시간 후에 IL-10 생성량은 통계적으로 유의한 증가를 보였다. 蘇葉 추출물을 투여한 군에서는 허혈 유발 1시간 후와 재관류 1시간 후 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 IL-10 생성량의 증가를 보였다 (Fig. 1).

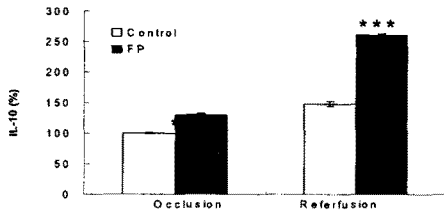


Fig. 1. Effects of Folium Perillae on IL-10 production in cerebral ischemic rats. Production levels of IL-10 in serum from cerebral ischemic rats were measured using ELISA method. Control : non-treated group. FP : Folium Perillae (蘇葉) extract (10 mg/kg) treated group. The present data were expressed as mean±SE of 6 experiments. ***P<0.001 compared to non-treated control.

2. 뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청에서 생성되는 TGF-β 1 양에 미치는 효과

아무것도 처리하지 않은 대조군에서 허혈 유발 1 시간 후에 비하여 재관류 1시간 후에 TGF-β 1 생성량은 감소하는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의하지 않았다. 蘇葉 추출물을 투여한 군에서는 허혈 유발 1시간 후와 재관류 1시간 후 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 TGF-β 1 생성량의 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 2).

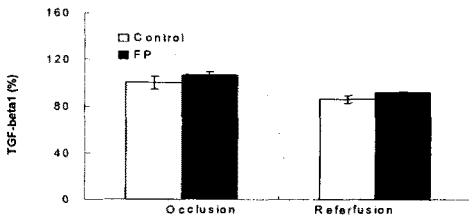


Fig. 2. Effects of Folium Perillae on TGF-β 1 production, in cerebral ischemic rats. Production levels of TGF-β 1 in serum from cerebral ischemic rats were measured using ELISA method. Control : non-treated group. FP : Folium Perillae (蘇葉) extract (10 mg/kg) treated group. The present data were expressed as mean±SE of 6 experiments.

3. 뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청에서 생성되는 IL-1β 양에 미치는 효과

아무것도 처리하지 않은 대조군에서 허혈 유발 1 시간 후에 비하여 재관류 1시간 후에 IL-β 1 생성량은 증가하는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의하

지 않았다. 蘇葉 추출물을 투여한 군에서는 허혈 유발 1시간 후와 재관류 1시간 후 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 IL-1β 생성량의 감소를 보였다 (Fig. 3).

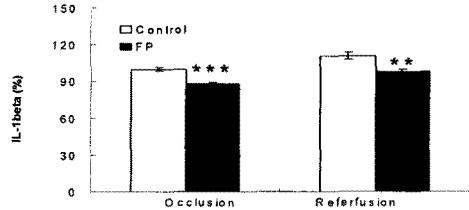


Fig. 3. Effects of Folium Perillae on IL-1β production in cerebral ischemic rats. Production levels of IL-1β in serum from cerebral ischemic rats were measured using ELISA method. Control : non-treated group. FP : Folium Perillae (蘇葉) extract (10 mg/kg) treated group. The present data were expressed as mean±SE of 6 experiments. **P<0.005, ***P<0.001 compared to non-treated control.

4. 뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청에서 생성되는 TNF-α 양에 미치는 효과

아무것도 처리하지 않은 대조군에서 허혈 유발 1 시간 후에 비하여 재관류 1시간 후에 TNF-α 생성량은 증가하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지 않았다. 蘇葉 추출물을 투여한 군에서는 허혈 유발 1시간 후에는 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 TNF-α 생성량의 증가를 보였으나, 재관류 1시간 후에는 감소하는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의하지 않았다 (Fig. 4).

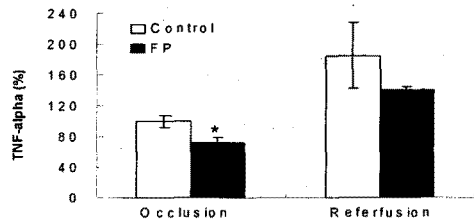


Fig. 4. Effects of Folium Perillae on TNF-α production in cerebral ischemic rats. Production levels of TNF-α in serum from cerebral ischemic rats were measured using ELISA method. Control : non-treated group. FP : Folium Perillae (蘇葉) extract (10 mg/kg) treated group. The present data were expressed as mean±SE of 6 experiments. *P<0.05 compared to non-treated control.

고찰

2005년 우리나라의 총 사망자는 24만 5,511명으로 1일 평균 673명이 사망하였는데, 이를 사망원인별로 보면, 암으로 179명, 뇌혈관 질환으로 86명, 심장 질환으로 53명, 고의적 자해(자살)로 33명, 당뇨병으로 32명이 사망하였다. 이렇듯 뇌혈관 질환은 암 다음으로 사망 원인 2위를 차지하고 있으며, 생활 습관의 서구화, 인구의 고령화로 인해 더욱 증가할 가능성이 높다¹¹⁾. 또한, 뇌혈관 질환은 다른 질환과 달리 회복이 되더라도 운동 장애나 신경학적 기능에 후유 장애가 나타나 사회로의 복귀가 어려운 뿐만 아니라 그에 따른 사회적 손실도 높기 때문에¹²⁾ 많은 관심을 갖고 있다.

뇌허혈로 인해 손상이 이루어지면 글루타메이트 수용체가 활성화되고, 글루타메이트 수용체중 ionotropic 수용체 (NMDA 혹은 non-NMDA)가 흥분됨으로써 신경세포에 독성을 나타내 Apoptosis가 발생됨¹³⁾은 물론 다양한 생화학적 경로를 통해 형성된 자유라디칼, 혈소판활성인자(PAF), TNF- α 및 인터루킨과 같은 다양한 염증매개체의 형성을 유도한다^{32,33)}. 이와는 반대로, 항염증 cytokine, 신경영양인자, 내인성 항산화물질 합성 등도 일어나 자가보호적인 반응을 나타낸다¹⁴⁻¹⁶⁾.

뇌혈류 감소로 인해 비가역적 뇌손상이 나타나게 되면 뇌신경세포를 포함한 뇌조직에 손상이 발생되어 운동마비나 지각마비 등을 포함한 치명적인 뇌신경 기능 소실 증상이 나타나게 되는데¹⁷⁾, 이를 한의학에서는 中風의 한 범주에 포함시켜 다루고 있다¹⁸⁾.

蘇葉은 꿀풀과 (Labiatae)에 속한 1년생 초목인 차조기와 주름차조기의 잎으로 發汗解表, 行氣寬中, 調和營衛의 효능이 있다¹⁹⁾. 또한, 《本草綱目》²⁰⁾에 “蘇葉, 近世要藥也. 其味辛 入氣分, 其色紫 入血分. … 同川芎 當歸 則和血散血.” 이라 하여 蘇葉이 血分으로 들어가 和血散血하는 작용이 있음을 설명하였다.

蘇葉에 대한 최근의 연구로는 한 등⁷⁾이 蘇葉의 세포독성 및 항암작용에 관한 연구를 발표한 이래로 蘇葉의 메탄올분획이 인체 구강유상피암세포에 미치는 항암효과²¹⁾가 보고 되었고 조 등⁸⁾은 蘇葉의 Ethyl Acetate 분획이 인체구강유상피암종세포와 인체 피부흑색종세포에 끼치는 성장억제효과를 보고하였다. 또한, 문 등⁹⁾은 蘇葉의 추출물이 혈장알콜농도와 간의 알콜대사효소의 미치는 영향을 보고하였고, 정 등²²⁾은 蘇葉의 휘발성 향미성분 분석 및 향신료

로서의 관능적 평가 결과를 보고 하였다. 최근 강 등¹⁰⁾은 蘇葉에 의한 알레르기 천식효과에 대한 연구를 발표하여 蘇葉에 대한 활용 가능성을 한층 확장하였다. 그러나, 《本草綱目》²⁰⁾에서 혈액 순환을 강화할 수 있다는 문장이 존재하는데도 불구하고 蘇葉이 뇌혈관계 질환의 예방 및 치료에 사용될 수 있는지를 현대적으로 검증한 연구는 아직까지 없었다.

이에 저자는 蘇葉 추출물 (FP)이 뇌혈류 변화에 미치는 효과를 실험적으로 알아보고자 중대뇌동맥 폐색법 (MCAO)으로 유발된 뇌허혈 흰쥐의 혈청 내 염증 촉발 cytokine과 항염증 cytokine의 양을 측정하였다.

뇌허혈의 증상을 더욱 악화시키는 대표적 요인으로 면역 반응의 항진으로 인한 염증 반응을 들 수 있다⁴⁾. IL-1 β 는 생체 내에서 열발생 및 급성기 염증 반응에 관여하고, 대부분의 면역세포의 활성화에 관여한다. TNF- α 는 염증을 포함한 면역 반응의 강력한 매개자이다⁵⁾. IL-1 β 와 TNF- α 는 뇌허혈이 유발되면 상승된다는 사실이 알려져 있다^{23,24)}. IL-10은 대표적인 immuno-modulatory cytokine으로 대부분의 cytokine 생성을 억제하고, TGF- β 1은 일부 세포에 대하여 성장 억제 작용을 하고, 일부 세포에 대하여서는 증식을 항진시키는 등 다양한 반응을 보인다. TGF- β 1은 뇌허혈에서 뇌손상을 방지하는 것이 알려져 있다⁵⁾. 따라서, 뇌허혈시 반응하는 염증 촉발 cytokine과 항염증 cytokine에 대한 영향을 관찰하기 위하여 蘇葉 추출물을 투여한 결과, IL-10의 생성량은 폐색 후 1시간과 재관류 후 1시간 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 증가를 확인할 수 있었다 (Fig. 1). 그러나, 또 다른 뇌허혈 손상 방지 요소인 TGF- β 1 생성량은 蘇葉 추출물의 투여가 특별한 영향을 미치지 못하였다 (Fig. 2). 蘇葉 추출물은 뇌허혈에서 뇌손상을 촉진하는 cytokine인 IL-1 β 에 대하여 폐색 후 1시간, 재관류 후 1시간 모두에서 통계적으로 유의하게 생성량을 감소시켰다 (Fig. 3). 그리고, 또 다른 뇌손상 악화 인자인 TNF- α 에 대해서는 폐색 후 1시간에 통계적으로 유의한 생성량 감소를 나타냈지만, 재관류 후 1시간에는 특별한 영향을 미치지 못하였다 (Fig. 4). 이러한 결과로부터 저자는 蘇葉 추출물이 뇌허혈 모델에서 IL-10의 생성을 증가시킴으로써 IL-1 β 와 TNF- α 의 생성을 억제하여 궁극적으로 뇌손상을 방지한다는 것을 알 수 있었다. 일반적으로, 뇌혈류 감소로 인한 뇌손상은 뇌혈류가 감소되는 당시보다 허혈이 일어난 조직으로 혈액이 재관류됨으로써 산소가 다시 공

급될 때 심각하게 발생된다²⁵⁾. 이러한 과정에서 염증 반응이 뇌손상의 주요한 원인 중의 하나인데, IL-10은 이러한 재판류시의 염증 반응을 효율적으로 방지하여 줄 수 있는 cytokine이다. 본 논문의 결과에서 蘇葉 추출물은 재판류 시에 더욱 많은 양의 IL-10 분비를 유발 하였다. 이러한 IL-10의 감소는 소엽이 가진 뇌혈류 감소로 인한 뇌손상에 대한 억제 작용의 가능성 있는 기전 중 하나라고 생각된다. 또한, 허혈로 인한 뇌손상을 방지하는 것으로 알려져 있는 TGF- β 가 蘇葉 추출물에 의하여 특별한 영향을 받지 않는 이유도 역시 IL-10의 면역 억제 기능에 기인했을 가능성을 생각해 볼 수 있다.

결론

이상의 결과들을 종합하여 보면, 蘇葉 추출물은 뇌허혈을 악화시키는 중요한 인자인 염증 반응을 억제할 수 있는데, 그와 관련된 기전으로는 IL-10의 생성량 증가를 통한 IL-1 β 와 TNF- α 의 생성 억제를 들 수 있다.

이러한 결과들에서 본 저자는 蘇葉이 허혈성 뇌혈관 질환에 사용되어 뇌손상을 억제할 가능성이 높으며 이와 관련된 기전은 IL-10의 생성량 증가를 통한 IL-1 β 와 TNF- α 의 생성 억제와 관련이 깊다는 것을 천명하는 바이다. 또한, 면역기능 향진에 의하여 발생하는 천식 또는 류머티스 관절염 등에도 사용할 수 있는 가능성을 발견하였으며, 추후 이에 대한 많은 연구가 계속 되어야 한다고 생각한다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지정 동신대학교산학협력단 부설 산업융가속기이용생물연구센터(RIC)로부터 연구비의 일부를 지원받아 수행되었습니다

참고문헌

1. 나영설, 윤상협, 민병일. 최근 뇌졸중에 대한 역학적 고찰. 서울: 경희의학. 7:280-286, 1991.
2. 하대유 외 25인. 서울: 고문사. 면역학. p100-105, 1994.
3. Vila N, Castillo J, Davalos A, Esteve A, Planas AM, Chamorro A. Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological

worsening in acute ischemic stroke, Stroke 34(3):671-675, 2003.

4. Hallenbeck JM, Dutka AJ, Tanishima T, Kochanek, PM, Kumaroo KK, Thompson CB, Obrenovich TP, Contreras TJ. Polymorphonuclear leukocyteaccumulation in brain region with low blood flow during the early postischemic period, Stroke 17:246-253, 1986.

5. Kindt, Goldsby, Osborne. Kuby Immunology 6th edition ; New York, W. H. Freeman and company. A:27-31. 2006.

6. 신민교. 임상본초학. 서울: 영림사. p330, 2000.

7. 한두석, 정병호, 유현경, 김영옥, 백승화. 蘇葉의 세포독성 및 항암작용에 관한 연구. 생약학회지. 25(3):249-257, 1994.

8. 조재천, 한두석. 蘇葉의 Ethyl Acetate 분획이 인체구강유상 피암종세포와 인체 피부흑색종세포에 끼치는 성장억제효과. 원광치의학. 10(3):215-229. 2001.

9. 문형인, 지옥표, 신국현. 蘇葉의 추출물이 혈장 알콜농도와 간의 알콜대사효소의 미치는 영향. 한국약용작물학회지. 6(2):126-130. 1998.

10. 강영성, 이성철, 신호동, 신민교, 김재홍, 송호준. 蘇葉에 의한 알레르기 천식효과에 대한 연구. 대한본초학회지, 19(3):25-34. 2004.

11. 통계청. 사망원인 통계 연보. 통계청. 2006.

12. Glanz M, Klawansky S, Stason W, Berkey C. and Chalmers TC. Functional electrostimulation in poststroke rehabilitation ; a meta-analysis of the randomized controlled trials, Arch. Phys. Med. Rehabil. 77(6):549-553, 1996.

13. Choi DW. Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system, J. Neuron. 1:623~634, 1988.

14. Connor, B. and Dragunow, M. The role of neuronal growth factors in neurodegenerative disorders of the human brain, Brain Res. Reviews 27(1):1-39, 1998.

15. Leker RR. and Shohami E. Cerebral ischemia and trauma-different etiologies yet similar mechanisms ; neuroprotective opportunities, Brain Res. Rev. 39(1):55-73, 2002.

16. Morrison III B, Eberwine JH, Meaney DF, McIntosh TK. Traumatic injury induces differential expression of cell death gene in

organotypic brain slice cultures determined by complementary DNA array hybridization, *Neuroscience* 96(1):131-139, 2000.

17. 이경은, 김경환. 허혈, 재관류 손상에서 뇌조직 아민 변동과 Free Radical과의 관련성, *대한신경과학회지* 8(1):2-8, 1990.

18. 中國中醫研究院廣安門醫院. 實用中醫腦病學, 北京: 學苑出版社. 62,63, 1993.

19. 신문출판공사편. *신편중약대사전*. 대북: 신문출판공사. :3436-3438, 1982

20. 이시진. 본초강목. 인민위생출판사. p967, 1982.

21. 한두석, 박정희. 蘇葉의 메탄올분획이 인체 구강유상피암세포에 미치는 항암효과. *원광치의학*. 6(3):161-173. 1996.

22. 정미숙, 이미순. 蘇葉의 휘발성 향미성분 분석 및 향신료로서의 관능적 평가. *한국조리과학회지*. 16(3):221-225. 2000.

23. Cain BS, Meldrum DR, Dinarello CA, Meng X, Joo KS, Banerjee A, Harken AH. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta synergistically depress human myocardial function. *Crit Care Med*. 27(7), 1309-1318, 1999.

24. 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*. 893:113-120, 2001