

木香調氣散 추출물이 뇌허혈 흰쥐의 뇌혈류개선에 미치는 작용기전

심익현 · 최찬현 · 김영목¹ · 윤영제² · 정현우*

동신대학교 한의과대학, 1: 원광대학교 한의과대학, 2: 전남대학교 병원

Mechanism of Mokhyangjoki-san Extract on the Improvement in Cerebral Blood Flow in Ischemic Rats

Ik Hyun Shim, Chan Hun Choi, Yeong Mok Kim¹, Young Jeoi Yoon², Hyun Woo Jeong*

College of Oriental Medicine, Dongshin University, 1: College of Oriental Medicine, Wonkwang University, 2: Chonnam National University Hospital

This study was designed to investigate the effects of Mokhyangjoki-san extract (MJS) on the improvement in cerebral blood flow (rCBF) in cerebral ischemic rats, and further to determine cytokines production (IL-1 β , TNF- α , IL-10, TGF- β) of MJS. The results in cerebral ischemic rats were as follows ; The rCBF was significantly and stably increased by MJS (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 in serum from femoral arterial blood 1 hr after middle cerebral arterial occlusion, MJS significantly decreased IL-1 β and TNF- α production, and increased IL-10 production compared with control group. In cytokine production in serum from femoral arterial blood 1 hr after reperfusion, MJS significantly decreased IL-1 β and TNF- α production compared with control group. IL-10 and TGF- β 1 production in MJS group were significantly increased compared with control group. These results suggested that MJS significantly and stably increased rCBF by inhibiting the production IL-1 β and TNF- α , and accelerating that of IL-10 and TGF- β . The result in nerve cells was as follows ; MJS significantly inhibited lactate dehydrogenase activity in vitro in a dose-dependent manner. This result suggested that MJS prevented the neuronal death.

Key words : Mokhyangjoki-san(木香調氣散), cerebral ischemic, rCBF, cytokine, nerve cell, lactate dehydrogenase

서론

뇌는 생명을 유지시켜주는 중추적인 역할을 하는 장기로 체중의 2%에 해당되는 무게지만 혈액량에 있어서는 전체 18%에 해당되는 700~800 ml가 흐른다^{1,2)}. 그러나 뇌로 공급되는 혈류량이 20%이하로 감소하게 되면 신경세포에 필요한 에너지를 방해하려는 기전들이 발생해 허혈성 뇌손상이 유발되고, 5분 이상 지속될 경우에는 신경계 손상을 포함한 뇌기능 장애나 뇌조직의 손상이 비가역적으로 나타나^{1,3,4)} 운동마비나 지각마비 등을 포함한 치명적인 뇌신경 기능 소실 증상이 나타나게 되는데³⁾, 이를 한의학에서는 중풍의 한 범주에 포함시켜 다루고 있다⁵⁻⁶⁾.

중풍은 卒然昏倒·人事不省·口眼喎斜·半身不遂·言語不利 등이 나타나는 질환으로 역대 의가들은 그 원인에 대해 主火說⁷⁾ 및 濕痰說⁸⁾을 제기하였지만 劉⁷⁾와 屈 등⁹⁾은 情志抑鬱로 氣機가 阻滯되어 熱로 化하게 되면 氣機가 上逆해 心神을 요란시킴으로써 중풍이 발병된다 하여 主氣說을 주장하였다.

木香調氣散은 『萬病回春』¹⁰⁾에 최초로 수록되어 腹脹滿, 刺痛不舒의 氣鬱을 치료한다 하였고, 『東醫寶鑑』¹¹⁾에서는 理氣에 치중하여 氣滯를 다스린다 하였으며, 『醫宗必讀』¹²⁾에서도 七情內傷으로 痰이 형성되어 나타나는 昏塞이나 牙關緊急 등의 중풍과 유사한 증상에 사용된다 하였다.

최근, 식생활의 변화와 정신적 스트레스 등으로 고혈압 등의 성인병과 노인성 질환들의 발생이 높아지고 있고, 그 중에서도 뇌혈관계 질환의 발생 빈도가 높아 사회적으로 많은 관심이 요구되고 있어⁵⁾ 뇌혈관계에 관련된 연구 동향들을 살펴본 결과, 導

* 교신저자 : 정현우, 나주시 건재로 185, 동신대학교 한의과대학 병리학교실

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

· 접수 : 2011/08/19 · 수정 : 2011/09/29 · 채택 : 2011/10/05

痰湯¹³, 石菖蒲¹⁴, 當歸芍藥散¹⁵, 紅花 약침¹⁶ 등을 이용하여 뇌혈류역학에 대한 연구가 진행되고 있었다. 그러나 木香調氣散에 대한 연구는 진통 및 항경련에 대한 효과¹⁷, 肝硬變에 대한 효과¹⁸, 항 스트레스에 관한 효과¹⁹와 정상 흰쥐에서 유효하게 뇌혈류를 증가시켰다²⁰고 보고되었을 뿐 뇌허혈시에 나타나는 腦血流 변화에 대한 연구는 아직까지 접하지 못하였다.

이에 저자는 木香調氣散이 뇌허혈 손상에 미치는 효과를 실험적으로 구명하고자 뇌허혈이 유발된 흰쥐에서 변동되는 국소 뇌혈류량 개선 효과와 혈청 내에서 생성되는 염증 촉발 사이토카인 및 항염증 사이토카인의 양을 측정하였고, 또한 신경세포에서 생성되는 lactate dehydrogenase (LDH) 양을 측정한 결과 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 체중 300 g 내외의 웅성 Sprague-Dawley 계 흰쥐와 생후 2일째의 생쥐(Institute of Cancer Research, ICR 계)를 (주) 다물사이언스에서 구입하여 사용하였다. 동물은 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경 (실내온도 24±2℃, 습도 55±5%, 12시간 명암주기)에 1주일 이상 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약제

실험에 사용된 약제는 동신대학교 부속 광주한방병원에서 구입하여 사용하였고, 木香調氣散의 구성약물은 『萬病回春』¹⁰에 수록된 처방을 근거로 하였으며, 분량 및 생약명²¹은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Prescription of Mokhyangjoki-san

Herbal Name	Quantity(g)
木 香	<i>Aucklandiae Radix</i> 2.0
烏 藥	<i>Linderae Radix</i> 2.0
香附子	<i>Cyperii Rhizoma</i> 2.0
枳 殼	<i>Aurantii Fructus</i> 2.0
青 皮	<i>Citri Reyciculatae viride Pericarpium</i> 2.0
砂 仁	<i>Amomi Fructus</i> 2.0
厚 朴	<i>Magnoliae Cortex</i> 4.0
陳 皮	<i>Citri Pericarpium</i> 4.0
肉 桂	<i>Cinnamomi Cortex</i> 0.8
川 芎	<i>Cnidii Rhizoma</i> 4.0
蒼 朮	<i>Atractylodis Rhizoma</i> 4.0
甘 草	<i>Glycyrrhizae Radix</i> 1.2
生 薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i> 1.0
Totality	31.0

2. 방법

1) 검액의 조제

木香調氣散 4첩 분량 (124.0 g)을 3,000 ml 환저 플라스크에 증류수 1,500 ml와 함께 120분 가열하고 전탕액을 여과지로 여과하여 5,000 ×g로 30분 원심분리하여 상청액을 취하였다. 그 후 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)에 넣어 감압 농축한

다음 동결 건조시켜 목향조기산 추출물 (Mokhyangjokisan freeze dried powder, MJS) 15.9 g을 검액으로 얻었다.

2) 뇌허혈 유발 흰쥐의 뇌혈류역학 변동에 미치는 개선 효과 관찰

(1) 뇌허혈 유발

뇌허혈 유발은 Longa 등의 방법²²에 따라 중뇌동맥 (middle cerebral artery, MCA) 폐색법을 이용하였다. 병태 모델은 정상 흰쥐의 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고, 내·외경동맥의 분지점으로부터 내경동맥내로 외경동맥을 통하여 3-0 단선조 나일론 봉합사를 삽입함으로써 중뇌동맥 기저부를 폐색시켰다. 120분 후 내경동맥내에 삽입되어 있는 단선조 나일론 봉합사를 중뇌동맥 기저부로부터 제거해 줌으로써 혈액을 재관류시켰다.

(2) 뇌허혈 유발 흰쥐의 국소 뇌혈류량 변동 측정

뇌허혈을 유발시킨 후 실험 절차에 따라 목향조기산 추출물 (10 mg/kg, i.p.)을 투여한 실험군과 목향조기산 추출물을 투여하지 않은 대조군으로 분류하였다. 뇌허혈을 유발시킨 120분 후 혈류를 재관류시켜 변동되는 국소 뇌혈류량을 상기 방법으로 240분 동안 측정하였다²³.

3) 뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청내 사이토카인 양 측정

(1) 채혈 및 혈청분리

뇌허혈을 유발시킨 후 목향조기산 추출물을 투여하지 않은 대조군과 목향조기산 추출물을 투여한 실험군으로 분류하였다. 이후 중뇌동맥 폐색 1시간 후와 재관류 1시간 후에 병태 모델의 대뇌동맥에서 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 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 유발 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 IL-1β 양 측정은 rIL-1β ELISA kit (Biosource, CA, U.S.A.)를 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^{24,25}.

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

뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 TNF-α 양 측정은 rTNF-α ELISA kit (Biosource, CA, U.S.A.)를 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 μ l를 넣고 실온에서 90분 동안 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해 놓은 streptavidin-HRP를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 다시 실온에서 45분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 μ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다^{26,27}.

(4) IL-10 양 측정

뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 IL-10 양 측정은 rIL-10 ELISA kit (Biosource, CA, U.S.A.)를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 100 μ l씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control (high, low)을 각각 50 μ l씩 분주한 다음 SDB 50 μ l를 넣었다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rIL-10 50 μ l를 넣고 실온에서 2시간 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해 놓은 streptavidin-HRP를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 다시 실온에서 30분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 μ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다^{28,29}.

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

뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청내에서 생성되는 TGF- β 1 양 측정은 TGF- β 1 ELISA kit (Biosource, CA, U.S.A.)를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 200 μ l씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control을 각각 200 μ l씩 넣은 다음 각 well에 biotin-labeled anti-TGF- β 1 50 μ l를 분주한 후 실온에서 3시간 incubation한 다음 WB로 4회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해 놓은 streptavidin-HRP를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 다시 실온에서 30분 동안 incubation한 후 WB로 4회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100 μ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100 μ l씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다^{30,31}.

4) In vitro 상에서 신경세포내 lactate dehydrogenase 활성도 측정

생쥐의 뇌조직을 적출한 다음 Hank's balanced salt solution (GibcoBRL 14185-052)에 5 mg/ml glucose, 7 mg/ml sucrose 및 0.35 mg/ml NaHCO₃가 첨가된 배양액에 넣었다. 입체 현미경하에서 뇌막을 제거하고 대뇌 피질을 얻어 잘게 조각을 낸 다음 0.25% trypsin이 함유된 상기 배양액에 넣어 37°C에서 15분 처치한 후 1,000 \times g에서 5분 원심 분리한 다음 trypsin이 들어 있는 용액을 제거하고, 분리된 세포를 eagle's minimal essential medium (GibcoBRL 11430-030)에 2 mM glutamine과 10% fetal bovine serum (Hyclone A1111-L) 및 10% horse serum (Hyclone A3311-L)이 포함된 배양액 1~2 ml에 넣은 다음 구멍이 좁혀진 파이펫으로 약 10회 분쇄하였다.

Epidermal growth factor (Sigma E4127)를 10 ng/ml 농도로 첨가한 후 24 well plate (Primaria, Falcon)에 0.5

hemisphere/plate 밀도로 각 well 당 400 μ l씩 도포하여 37°C, 5% CO₂와 100% 습도가 유지되는 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 2~4주 후 교세포 (glial cell)가 충분히 증식한 다음 약물 처리 전 배양액으로 3회 세척한 후 24 well plate에 N-methyl-D-aspartic acid (Sigma M3262, NMDA) 30 μ M을 처리하고 목향조기산 추출물을 처리하지 않은 대조군, NMDA 30 μ M 처리 후 목향조기산 추출물을 농도별 (0.001 mg/ml, 0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml)로 처리한 실험군으로 분류하였다. 모든 목향조기산 추출물은 증류수에 희석하여 원액을 만든 다음 각 well당 4~8 μ l씩 되게 배양액에 희석하여 배양액 교환과 함께 투여한 24시간 후 96 well plate의 각 well에 배양액 25 μ l를 넣고, buffer 125 μ l, 0.3 mg/ml NADH 100 μ l, 22.7 mM pyruvate 30 μ l를 넣은 다음 곧바로 microplate reader를 이용하여 340 nm 파장에서 lactate dehydrogenase (LDH) 양을 측정하였다³².

3. 통계처리

목향조기산 추출물이 국소 뇌혈류량 및 평균 혈압에 미치는 효과를 각각 30분 단위로 합산 통계 처리하였고, 각 군 간의 유의성 검정은 Student's t-test에 의하였으며, p-value는 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 뇌허혈 유발 흰쥐의 국소 뇌혈류량 변동에 미치는 개선 효과
 뇌허혈 유발 흰쥐의 국소 뇌혈류량 변동에 미치는 목향조기산 추출물의 개선 효과를 관찰하기 위하여 중뇌동맥 폐색법으로 뇌허혈을 유발시킨 흰쥐에게 목향조기산 추출물 (10 mg/kg, i.p.)을 투여한 다음 재관류 후에 변동되는 국소 뇌혈류량을 관찰하였다.

뇌허혈을 유발시킨 후 목향조기산 추출물을 투여하지 않고 측정된 국소 뇌혈류량의 변동을 대조군으로, 뇌허혈을 유발시킨 후 목향조기산 추출물을 투여한 후 측정된 국소 뇌혈류량의 변동을 실험군으로 하였다.

정상 흰쥐의 국소 뇌혈류량 기저치를 100.00 \pm 4.44%라 하였을 때, 뇌허혈 상태에서 대조군의 국소 뇌혈류량은 뇌허혈 120분 동안 30분 간격으로 각각 51.10 \pm 5.62%, 51.63 \pm 5.93%, 51.42 \pm 5.75%, 51.68 \pm 5.81%로 차단되었다. 그러나 대조군의 국소 뇌혈류량은 재관류 후 120분 동안 기저치보다 각각 111.44 \pm 5.16%, 118.85 \pm 5.38%, 132.36 \pm 6.98%, 142.56 \pm 7.00%로 불안정한 증가상태를 나타내었고, 이후 재관류 시간이 경과될수록 각각 134.07 \pm 4.04%, 128.01 \pm 4.08%, 121.37 \pm 4.48%, 110.79 \pm 5.36%로 감소되는 경향을 보였으나 기저치보다는 증가되었다.

정상 흰쥐의 국소 뇌혈류량 기저치를 100.00 \pm 4.83%라 하였을 때, 뇌허혈 상태에서 목향조기산 추출물 투여군의 국소 뇌혈류량은 뇌허혈 120분 동안 30분 간격으로 각각 43.90 \pm 5.00%, 43.32 \pm 5.90%, 44.65 \pm 4.98%, 46.03 \pm 4.42%로 차단되었고, 재관류 후 150분 동안에는 기저치보다 각각 107.21 \pm 3.86%, 114.57 \pm 4.99%, 121.81 \pm 5.12%, 122.79 \pm 5.52%, 124.98 \pm 5.12%로 불안정하게 증가되

었으나 재관류 시간이 경과될수록 각각 118.32±3.85%, 106.77±2.65%, 101.95±2.39%로 기저치와 유사하게 나타났다. 실험군의 국소 뇌혈류량은 대조군의 불안정한 국소 뇌혈류량의 변화에 비해 유의성 (p<0.001)있게 안정적으로 개선되었다(Fig. 1).

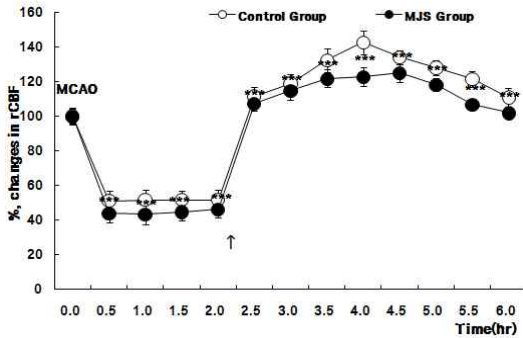


Fig. 1. Effect of MJS on the rCBF response in cerebral ischemic rats. MJS : Mokhyangjokisan freeze dried powder (10mg/kg, i.p.), MCAO : right middle cerebral artery occlusion, rCBF : regional cerebral blood flow. The data are expressed as Mean±SE of 6 experiments. * : Statistically significant compared with Control group (***) ; p<0.001).

2. 뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청에서 생성되는 사이토카인 양에 미치는 효과

1) 중뇌동맥 폐색 1시간 후 생성되는 사이토카인 양에 미치는 효과

뇌허혈 흰쥐의 혈청에서 생성되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 중뇌동맥 폐색법으로 뇌허혈을 유발시킨 후 목향조기산 추출물 (10 mg/kg, i.p.)을 투여하고, 유발 1시간이 경과된 다음 뇌허혈 흰쥐에서 혈청만을 취하여 생성되는 사이토카인 양을 측정하였다.

염증 촉발 사이토카인의 경우, 대조군의 혈청에서 생성되는 IL-1β의 양을 100.00±1.42%라 하였을 때 목향조기산 추출물 투여군의 혈청에서 생성되는 IL-1β의 양은 77.54±1.15%로 대조군보다 유의성 (p<0.001) 있게 감소되었고, 대조군의 혈청에서 생성되는 TNF-α의 양을 100.00±8.28%라 하였을 때 목향조기산 추출물 투여군의 혈청에서 생성되는 TNF-α의 양은 61.38±3.36%로 대조군보다 유의성 (p<0.01)있게 감소되었다.

항염증 사이토카인의 경우, 대조군의 혈청에서 생성되는 IL-10의 양을 100.00±2.60%라 하였을 때 목향조기산 추출물 투여군의 혈청에서 생성되는 IL-10의 양은 129.18±6.49%로 대조군보다 유의성 (p<0.01) 있게 증가되었고, 대조군의 혈청에서 생성되는 TGF-β1의 양을 100.00±5.39%라 하였을 때 목향조기산 추출물 투여군의 혈청에서 생성되는 TGF-β1의 양은 111.91±3.49%로 대조군에 비해 증가되었다(Fig. 2).

2) 재관류 1시간 후 생성되는 사이토카인 양에 미치는 효과

뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청에서 생성되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 중뇌동맥 폐색법으로 유발된 뇌허혈 흰쥐를 재관류시킨 다음 1시간이 경과된 후 뇌허혈 흰쥐에서 혈청만을 취하여 생성되는 사이토카인 양을 측정하였다.

염증 촉발 사이토카인의 경우, 대조군의 혈청에서 생성되는 IL-1β의 양을 100.00±2.60%라 하였을 때 목향조기산 추출물 투

여군의 혈청에서 생성되는 IL-1β의 양은 89.92±0.53%로 유의성 (p<0.01) 있게 감소되었고, 대조군의 혈청에서 생성되는 TNF-α의 양을 100.00±22.97%라 하였을 때 목향조기산 추출물 투여군의 혈청에서 생성되는 TNF-α의 양도 44.62±6.92%로 대조군에 비해 유의성 (p<0.05) 있게 감소되었다.

항염증 사이토카인의 경우, 대조군의 혈청에서 생성되는 IL-10의 양을 100.00±2.60%라 하였을 때 목향조기산 추출물 투여군의 혈청에서 생성되는 IL-10의 양은 150.22±3.80%로, 대조군의 혈청에서 생성되는 TGF-β1의 양을 100.00±3.54%라 하였을 때 목향조기산 추출물 투여군의 혈청에서 생성되는 TGF-β1의 양도 120.10±1.38%로 대조군에 비해 유의성 (p<0.001) 있게 증가되었다(Fig. 3).

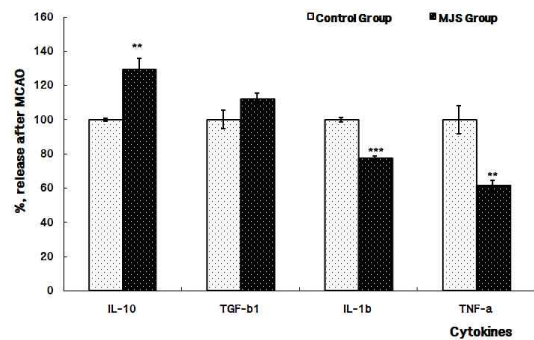


Fig. 2. Effect of MJS on the production of cytokines in the serum from femoral arterial blood 1 hr after MCAO. The data are expressed as Mean±SE of 6 experiments. * : Statistically significant compared with Control group (** ; p<0.01, *** ; p<0.001). Legends are the same as Fig. 1.

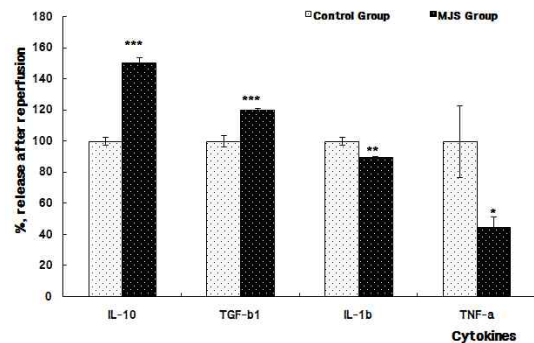


Fig. 3. Effect of MJS on the production of cytokines in the serum from femoral arterial blood 1 hr after reperfusion. The data are expressed as Mean±SE of 6 experiments. * : Statistically significant compared with Control group (* ; p<0.05, ** ; p<0.01, *** ; p<0.001).

3. 생쥐의 신경세포내 LDH 활성도에 미치는 효과

목향조기산 추출물이 신경세포의 손상을 억제하는지에 대하여 알아보기 위하여 NMDA 30 μM를 처리한 신경세포에 목향조기산 추출물을 농도별 (0.001 mg/ml, 0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml)로 투여한 결과 LDH의 활성도는 다음과 같았다.

목향조기산 추출물을 처리하지 않고 NMDA만을 처리한 대조군의 LDH 활성도를 100.00±0.11%라 하였을 때, NMDA와 목향조기산 추출물을 처리한 실험군의 LDH 활성도는 각각 98.65±0.16%, 97.86±0.27%, 97.53±0.29%로 대조군에 비해 유의성

($p < 0.001$) 있게 감소되었다(Fig. 4).

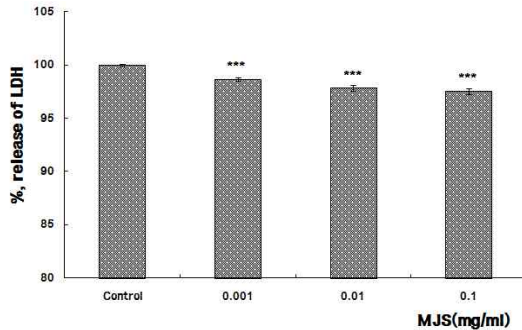


Fig. 4. Effect of MJS on the lactate dehydrogenase activity induced by NMDA (30 μ M) in nerve cells in vitro. MJS : Mokhyangjokisan freeze dried powder. The data are expressed as Mean \pm SE of 6 experiments. * : Statistically significant compared with Control group (***) ; $p < 0.001$).

고찰

뇌혈관 질환은 노령인구의 증가와 식생활의 변화 등으로 각종 성인병 및 노인성 질환들과 함께 그 발생빈도가 점차 증가되어 1998년에는 사망자 중 14.3%에 해당되었지만 최근에는 압도적으로 사망률이 높고, 단일질환으로는 1위를 차지할 정도로 증가되었다⁵⁾. 특히 뇌혈관 질환은 다른 질환과 달리 회복이 되더라도 운동 장애나 신경학적 기능에 후유 장애가 나타나 사회로의 복귀가 어려울 뿐만 아니라 그에 따른 사회적 손실도 높기 때문에³³⁾ 많은 관심을 갖고 있다.

뇌로 공급되는 혈류는 정상적으로 분당 50~60 ml/100 mg 씩, 700~800 ml가 흐르지만²⁾ 만약 뇌로 공급되는 혈류량이 20% 이하로 감소되면 충분한 양의 혈액이 뇌로 관류되지 못하거나 혈액 내 산소 농도가 떨어지게 됨으로써 산소와 글루코스 등의 공급이 떨어지고, 일련의 생화학적 반응들이 일어나 신경세포에 필요한 에너지를 방해하는 다양한 기전들이 발생하여 허혈성 뇌손상이 유발되며, 이것이 5분 이상 경과될 경우 신경계 손상을 포함한 뇌기능 장애나 뇌조직의 손상이 비가역적으로 나타나게 된다.^{1,3,4)}

뇌혈류량의 감소는 뇌 안에서 유발된 허혈의 위치, 기간, 정도에 따라 일련의 복잡한 병리-생리학적 과정이 발생되는데^{34,35)}, 그 중 허혈로 인해 에너지가 고갈되면 신경세포의 탈분극이 일어나게 되고, 세포내로 물의 유입이 증가되며, 산소유리기가 생성됨으로써 뇌조직에 구조적인 이상을 초래하게 됨으로써 뇌부종이 발생하게 된다.³⁶⁻³⁸⁾

뇌허혈로 인해 손상이 이루어지면 글루타메이트 수용체가 활성화되고, 글루타메이트 수용체 중 ionotropic 수용체 (N-methyl-D-aspartic acid 혹은 non-N-methyl-D-aspartic acid)가 흥분됨으로써 신경세포에 독성을 나타내³²⁾ 아포토시스가 발생³⁹⁾은 물론 다양한 생화학적 경로를 통해 형성된 자유라디칼도 혈소판활성인자, TNF- α 및 인터루킨과 같은 다양한 염증매체의 형성을 유도한다.^{35,40)} 그러나 상반된 작용으로 항염증 사이토카인, 신경영양인자, 내인성 항산화물질 합성 등도 일어나 자

가보호적인 반응을 나타낸다⁴¹⁻⁴³⁾.

뇌혈류 감소로 인해 비가역적 뇌손상이 나타나게 되면 신경세포를 포함한 뇌조직에 손상이 발생되어 운동마비나 지각마비 등을 포함한 치명적인 뇌신경 기능 소실 증상이 나타나게 되는데³⁾, 이를 한의학에서는 中風의 한 범주에 포함시켜 다루고 있다^{5,6)}.

木香調氣散은 龔¹⁰⁾의 『萬病回春』에 최초로 氣鬱을 치료한다 수록되어 있고, 『東醫寶鑑』¹¹⁾에서도 『萬病回春』과 같이 氣滯를 다스린다 하여 理氣시키는데 중점을 둔 方劑라 생각된다. 氣滯는 氣機의 흐름이 阻滯된 것으로 氣滯로 야기되는 임상 증후는 다양하지만 劉⁷⁾는 『素問玄機原病式·火類』에서 七情의 변화로 氣機가 鬱結된 것이 火로 化하게 되면 중풍이 발생된다 하였고, 屈⁹⁾도 情志抑鬱이 熱로 化하게 되면 氣機가 上逆해 心神을 요란시킴으로써 중풍이 발병된다 하였으며, 『醫宗必讀』¹²⁾에서는 목향조기산이 七情內傷으로 氣가 上逆해 痰이 형성됨으로써 나타난 昏塞과 牙關緊急 등의 중풍 유사증에 사용된다 하여 氣滯가 중풍을 일으키는 한 因子이고, 목향조기산이 중풍에 사용될 수 있음을 설명하였다.

이에 목향조기산이 중풍 등에 활용될 수 있을 것으로 생각되어 뇌혈류에 관련된 연구 보고를 살펴본 결과, 정 등¹⁴⁾은 石菖蒲가 뇌혈류역학 변화에 미치는 효과와 그 작용 기전을, 최 등¹⁵⁾은 當歸芍藥散이 중뇌동맥 폐색으로 유발된 뇌허혈 흰쥐에서 변화되는 여성 호르몬 분비와 뇌위축에 대한 효과를, 윤 등⁴⁴⁾은 intraluminal suture technique에 의해 뇌허혈을 유발시킨 후 재관류시켰을 때 국소 뇌혈류량, 혈압, 뇌경색 및 뇌부종에 미치는 영향을, 김 등¹⁶⁾은 紅花 약침이 흰쥐의 국소 뇌혈류량 및 평균 혈압에 미치는 실험적 효과 등을 다양하게 보고하고 있었지만 氣滯를 다스리는 방제에 대한 연구는 아직까지 접할 수 없었고, 본방에 대한 연구 보고도 없¹⁹⁾이 혈청 중 norepinephrine, epinephrine, cortisol, aldosterone 농도, 뇌 중 norepinephrine, dopamine, serotonin 함량에 유의하게 작용해 스트레스 조절 작용이 있음을 보고한 것과 심 등²⁰⁾이 혈관 확장 인자 중 guanylate cyclase를 활성화시켜 뇌혈관을 확장시킴으로써 국소 뇌혈류량을 증가시켰다고 보고하였을 뿐 중풍과 관련된 연구, 특히 뇌허혈로 인한 뇌혈류 변화에 대한 연구는 진행되지 않았다. 이에 저자는 이미 정상 흰쥐에서 본방이 유효한 뇌혈류 증가 효과를 나타냈다고 보고²⁰⁾하였기에 본방을 이용해 중뇌동맥 폐색법 (MCAO)으로 유발된 뇌허혈 흰쥐의 국소 뇌혈류량 변동 개선에 미치는 효과와 혈청 내 염증 촉발 사이토카인과 항염증 사이토카인의 양을 측정하였다. 또한 뇌허혈시 뇌 신경세포의 손상이 이루어지므로 이에 대한 목향조기산 추출물의 효과를 알아보고자 NMDA 처리로 손상된 생쥐의 뇌세포에 본방 추출물을 투여하여 뇌세포에서 생성되는 LDH의 양을 관찰하였다.

뇌혈류 감소로 인한 뇌손상은 뇌혈류가 감소되는 당시보다는 허혈이 일어난 조직으로 혈액이 재관류됨으로써 산소가 다시 공급될 때 심각하게 발생된다⁴⁵⁾. 그리하여 뇌허혈을 유발시킨 흰쥐의 국소 뇌혈류량이 뇌허혈이 진행될 때와 재관류시에 어떠한 변동을 나타내고, 이에 대한 개선 효과를 관찰하기 위하여 뇌허혈을 유발시킨 흰쥐에게 목향조기산 추출물을 투여한 결과 재관

류 후 불안정한 증가 상태를 보였던 대조군의 국소 뇌혈류량 변동보다 유의성 ($p < 0.001$) 있게 안정적으로 증가되었고, 재관류 4 시간 후에는 기저치와 비슷한 국소 뇌혈류량을 나타내었다(Fig. 1). 이와 같은 결과를 통해서 볼 때 정상 흰쥐에서 국소 뇌혈류량을 유의성 있게 변화시킨 목향조기산 추출물이 뇌허혈시에도 국소 뇌혈류량의 변동을 유의하게 개선시킴으로써 허혈로 인한 뇌손상을 억제할 수 있을 것으로 생각된다. 다만, 본 연구 결과 뇌혈관 직경을 확장시킴으로써 나타나는 결과들로는 생각되지만 목향조기산 추출물이 뇌혈류역학, 특히 뇌혈관의 직경에 미치는 작용에 대해서는 직접적으로 관찰하지 못하였기 때문에 이에 대해서는 앞으로 계속 진행하고자 한다.

뇌허혈이 일어나면 혈액중의 백혈구가 혈관 내벽에 부착되어 뇌 조직내로 침윤하게 됨으로써 염증 반응에 의한 허혈성 뇌조직 손상이 더욱 더 진행하게 된다^{46,47}. 허혈로 인한 뇌손상이 발생되면 각종의 사이토카인들도 작용하게 되는데, 그 중 염증에 관여하는 IL-1 β 는 대식세포, 림프구 및 내피세포 등의 세포에서 유리되는 것으로 내독소, 물리적 손상이나 염증반응에 의해 유발되고, TNF- α 는 종양의 출혈성 괴사 및 염증반응에 관여하며, 염증의 급성기에 IL-1 β 와 TNF- α 가 서로 작용하여 생성이 촉진되기도 하기 때문에^{4,48,49} 허혈시 IL-1 β 와 TNF- α 는 상승된다^{50,51}. 반대로 염증 촉발 사이토카인을 억제하는 항염증 사이토카인인 IL-10은 IL-1 β 와 TNF- α 를 생성하는 대식세포의 생성을 억제하고, TGF- β 1는 혈소판 및 내피세포 등에서 생성되는 것으로 대식세포에서 생성되는 NO의 양 등을 불활성화시키기 때문에^{4,49}, IL-10과 TGF- β 1는 뇌허혈시 재관류로 인해 나타나는 뇌손상을 감소시킨다⁵².

뇌허혈시 반응하는 염증 촉발 사이토카인과 항염증 사이토카인에 대한 영향을 관찰하기 위하여 목향조기산 추출물을 투여한 결과, 중뇌동맥 폐색 1시간 후 목향조기산 추출물 투여군의 IL-10의 양은 대조군보다 유의성 ($p < 0.01$) 있게 증가되었고, TGF- β 1의 양은 대조군보다 증가되었으며, IL-1 β 와 TNF의 양은 대조군보다 유의성 ($p < 0.001$, $p < 0.01$) 있게 감소되었다(Fig. 2). 재관류 1시간 후에도 목향조기산 추출물 투여군의 IL-10과 TGF- β 1의 양은 대조군보다 유의성 ($p < 0.001$) 있게 증가되었고, IL-1 β 와 TNF- α 의 양은 대조군에 비해 유의성 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) 있게 감소되었다(Fig. 3).

이와 같은 결과는 IL-10이 cGMP와 관련되어 있고⁵³, cGMP의 억제제가 TGF- β 1의 양을 억제하며⁵⁴, cGMP가 IL-1 β , TNF- α 및 산소자유기를 억제하고⁵⁵, IL-10은 급성시 조기 치료기전으로 작용하여 뇌손상을 감소시키며^{48,56}, TGF- β 1은 뇌손상시 신경세포를 보호하고 혈관 생성에 관여하여 조직을 복구시킨다^{57,58}는 것에 비추어 볼 때 목향조기산 추출물은 cGMP의 생성효소인 guanylate cyclase를 활성화시켜 뇌혈관의 직경을 확장시키고, 혈관 생성에 관여하는 TGF- β 1를 활성화시켜 조직을 복구시키며, 허혈로 인한 뇌손상 초기에 IL-10을 활성화시켜 염증 촉발 사이토카인인 IL-1 β , TNF- α 등을 감소시킴으로써 항허혈 작용을 나타낸 것으로 생각된다.

한편, 뇌혈류가 감소하게 되면 신경세포의 탈분극이 일어나

게 됨으로써 글루타메이트가 활성화되고, 이로 인해 글루타메이트 수용체중 ionotropic 수용체 (NMDA 혹은 non-NMDA)를 통한 칼슘유입이 나타나게 됨으로써 허혈성 세포손상이 발생되는^{59,60} 동시에 뇌신경 세포막이 파괴됨으로써 LDH가 분비된다^{4,61}. 그리하여 항허혈 효과를 나타낸 목향조기산 추출물이 뇌 신경세포 사멸시 분비되는 LDH 양을 억제시킬 수 있는지에 대하여 알아보자 NMDA로 뇌세포 사멸을 유도시킨 후 목향조기산 추출물을 투여한 결과, 전 투여 농도에서 유의성 ($p < 0.001$) 있게 LDH 활성도를 억제하였다(Fig. 4). 이는 목향조기산 추출물이 뇌 신경세포가 괴사되는 과정에서 뇌 신경세포의 손상을 억제하는 것으로 생각된다.

이상의 결과들을 종합하여 보면, 목향조기산 추출물이 氣滯를 주로 다스리는 方劑이지만 뇌허혈로 인한 뇌손상이 발생될 때, 뇌혈류를 안정적으로 공급할 수 있도록 뇌혈관의 직경을 확장시켜 주고, 뇌허혈로 야기되는 초기 뇌손상에도 항염증 사이토카인을 생성시킴으로써 염증 촉발 사이토카인을 억제해 항허혈 효과를 나타내었으며, 뇌손상시 뇌 신경세포에서 생성되는 LDH 양을 감소시켜 괴사를 억제하는 것으로 나타났다.

현대인들은 사회적으로 많은 스트레스로 인해 고통을 받고 있고, 이로 인해 뇌혈관 질환이 다발되고 있는 최근의 상황들을 고려할 때, 목향조기산의 실험적 결과는 임상상 매우 중요한 가치를 제공하리라 생각된다.

결론

목향조기산 추출물이 뇌허혈 손상에 미치는 효과를 실험적으로 알아보기 위하여 뇌허혈이 유발된 흰쥐의 국소 뇌혈류량 변동에 미치는 개선 효과, 뇌허혈이 유발된 흰쥐의 혈청 내에서 생성되는 사이토카인 양에 미치는 효과 그리고 생쥐의 신경세포에서 LDH 양에 미치는 효과를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

목향조기산 추출물은 뇌허혈 유발 1시간 후 뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청내 IL-1 β 와 TNF- α 양을 유의성 있게 감소시킨 반면 IL-10의 양을 유의성 있게 증가시켰다.

목향조기산 추출물은 재관류 1시간 후 뇌허혈 유발 흰쥐의 혈청내 IL-1 β 와 TNF- α 양을 유의성 있게 감소시킨 반면 IL-10과 TGF- β 1의 양을 유의성 있게 증가시켰다.

목향조기산 추출물은 *in vitro* 상에서 NMDA로 손상된 신경세포에서 생성되는 LDH 활성도를 유의성 있게 억제시켰다.

이상의 결과로부터 목향조기산 추출물은 항염증 사이토카인의 생성을 촉진시키는 동시에 염증 촉발 사이토카인의 생성을 억제하여 뇌혈류를 개선시켰으며, 뇌허혈로 인한 뇌세포 사멸에도 유의성 있는 억제 효과를 나타내어 허혈성 뇌질환에 효과가 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 의과대학 신경해부학교수 편. 증례를 통한 임상신경해부학.

- 한우리, 서울, p. 191, 1998.
2. 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.
 3. 이경은, 김경환. 허혈, 재판류 손상에서 뇌조직 아민 변동과 Free Radical과의 관련성. *大韓神經科學會誌* 8(1):2-8, 1990.
 4. 대한병리학회. 병리학. 서울, 고문사, pp 87-99, 1263-1264, 1994.
 5. 나영설, 윤상협, 민병일. 최근 뇌졸중에 대한 역학적 고찰. *경희의학*, 7: 280-286, 1991.
 6. 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, pp 62-63, 1993.
 7. 劉完素. 素問玄機原病式. 浙江, 浙江科學技術出版社, pp 170-172, 1984.
 8. 方 廣. 丹溪心法附錄(上). 서울, 大星文化社, pp 67-69, 1982.
 9. 屈松柏, 李家庚. 實用中醫心血管病學. 北京, 科學技術文獻出版社, pp 254-266, 2000.
 10. 龔廷賢. 萬病回春. 서울, 東洋綜合通信教育院出版部, pp 107-108, 1985.
 11. 許 浚. 東醫寶鑑. 서울, 南山堂, p 487, 983.
 12. 李仲梓. 醫宗必讀. 台南, 綜合出版社, p 223, 1984.
 13. 최정화, 정현우. 도담탕 및 그 가미방이 국소뇌혈류량 및 혈압에 미치는 영향. *동의병리학회지* 14(1):99-106, 2000.
 14. 정현우, 강성용, 백승화. 석창포가 혈압 및 국소 뇌혈류량에 미치는 영향. *대한본초학회지* 14(2):81-88, 1999.
 15. 최재영, 이원철, 윤상협. 흰쥐의 중대뇌동맥 폐쇄후 當歸芍藥散 투여가 여성호르몬 및 뇌위축에 미치는 영향. *한방성인병학회지* 4(1):70-154, 1998.
 16. 김성욱, 정현우, 위통순, 조명래, 윤여충. 홍화 약침이 국소 뇌혈류량 및 평균 혈압에 미치는 실험적 영향. *대한침구학회지* 21(2):167-181, 2004.
 17. 문한주. 木香調氣散의 實驗的 研究. *方劑學會誌* 4(1):99-112, 1996.
 18. 박용권. 木香調氣散과 解鬱調胃湯의 실험적 肝硬變에 대한 효과. *圓光大學校 大學院*, 1997.
 19. 엄현섭. 木香調氣散과 當歸活血湯의 항 Stress효과에 관한 실험적 연구. *東國大學校 大學院*, 1994.
 20. 심익현, 정현우. 목향조기산 추출물이 국소뇌혈류량 및 평균 혈압에 미치는 작용기전. *동의생리병리학회지* 20(6):1538-1542, 2006.
 21. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編. 本草學. 서울, 永林社, pp 136-137, 289-292, 294-296, 336-337, 347-356, 409-410, 540-541, 1999.
 22. 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.
 23. 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.
 24. Trembaly, L.F., Valenza, S.P. and Ribelro, 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.
 25. 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.
 26. 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.
 27. 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.
 28. 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.
 29. 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.
 30. 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.
 31. 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.
 32. Choi, D.W. Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system. *J. Neuron* 1: 623-634, 1988.
 33. Glanz, M., Klawansky, S., Stason, W., Berkey, C. and Chalmers, T.C. Functional electrostimulation in poststroke rehabilitation ; a meta-analysis of the randomized controlled trials, *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 77(6):549-553, 1996.
 34. Dirnagl, U., Ladecola, C. and Moskowitz, M.A. Pathobiology of ischemic stroke ; An integrated view. *Trends Neurosci.* 22(9):391-397, 1999.

35. Traystman, R.J. Animal models of focal and global cerebral ischemia. *ILAR J.* 44(2):85-95, 2003.
36. Zweifler, R.M. Management of acute stroke. *South Med. J.* 96(4):380-385, 2003.
37. Adams, H., Adams, R., Del Zoppo, G., Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke ; 2005 guidelines update a scientific statement from the Stroke Council of the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 36(4):916-923, 2005.
38. 서울대학교 의과대학 방사선과학교실. *신경방사선과학*. 서울, 일조각, p 153, 2004.
39. Narayanan, U., Chi, O.Z., Liu, X. and Weiss, H.R. Effect of AMPA on cerebral cortical oxygen balance of ischemic rat brain. *Neurochem Res.* 25(3):405-411, 2000.
40. Pieper, A.A., Verma, A., Zhang, J. Snyder, S.H. Poly(ADP-ribose) polymerase, nitric oxide and cell death. *Trends Pharmacol. Sci.* 20(4):171-181, 1999.
41. 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.
42. Leker, R.R. and Shohami, E. Cerebral ischemia and trauma-different etiologies yet similar mechanisms ; neuroprotective opportunities. *Brain Res. Rev.* 39(1):55-73, 2002.
43. Morrison, III B., Eberwine, J.H., Meaney, D.F. McIntosh, T.K. 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.
44. 윤상협, 류재환. Intraluminal Suture Technique에 의한 실험적 뇌허혈-재관류가 혈압, 국소뇌혈류량, 뇌경색 및 뇌부중에 미치는 영향. *경희의학* 10(2):114-124, 1994.
45. McCord, J.M. Mechanisms of disease ; oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New Eng J. Med.* 312: 159-163, 1985.
46. 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.
47. 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.
48. 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.
49. 하대유 외 25인. *면역학*, 서울, 고문사, pp 100-105, 1994.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. Lei, Y., Zhen, J., Ming, X.L., Jian, H.K. Induction of higher expression of IL-beta and TNF-alpha, lower expression of IL-10 and cyclic guanosine monophosphate by pulmonary arterial hypertension following cardiopulmonary bypass. *Asian J. Surg.* 25(3):203-208, 2002.
54. Lagente, V., Naline, E., Guenon, I., Corbel, M., Boichot, E., Burgaud, J.L., Del Soldato, P., Advenier, C. A nitric oxide-releasing salbutamol, elicits potent relaxant and anti-inflammatory activities. *J. Pharmacol Exp Ther.* 310(1):367-375, 2004.
55. Schubert, P., Morino, T., Miyazaki, H., Ogata, T., Nakamura, Y., Marchini, C., Ferroni, S. Cascading glia reactions ; a common pathomechanism and its differentiated control by cyclic nucleotide signaling. *Ann. N. Y. Acad Sci.* 903: 24-33, 2000.
56. Di Santo, E., Sironi, M., Pozzi, P. Interleukin-10 inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor and interleukin-1 beta production in the brain without affecting the activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Neuroimmunomodulation* 2(3):149-154, 1995
57. Krupinski, J., Issa, R., Bujny, T., Slevin, M., Kumar, P., Kumar, S., Kaluza, J. A putative role for platelet-derived growth factor in angiogenesis and neuroprotection after ischemic stroke in humans. *Stroke* 28(3):564-573, 1997.
58. Zhu, Y., Yang, G.Y., Ahlemeyer, B., Pang, L., Che, X.M., Culmsee, C., Klumpp, S., Kriegstein, J. Transforming growth factor-beta1 increases bad phosphorylation and protects neurons against damage. *J Neurosci.* 22(10):3898-3909, 2002.
59. 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.
60. Weisfeldt, M.L. Reperfusion and Reperfusion injury. Clin Res. 35: 13-20, 1987.
61. 황호근. Lipopolysaccharide 세포독성에 대한 SNP 효과에 관한 연구. 원광대학교 대학원, 2000.