

三化湯이 중간대뇌동맥 결찰로 유발된 뇌허혈에 미치는 영향

김동은, 정승현, 박인식*, 신길조, 이원철

동국대학교 한의과대학 내과학교실, 동국대학교 한의과대학 해부학교실*

The Effects of *Samwha-tang* Extracts on Reversible Forebrain Ischemia Experimentally Induced from the Occlusion of Middle Cerebral Artery

Dong-Eun Kim, Sung-Hyun Jeong, In-Sick Park*, Gil-Cho Shin, Won-Chul Lee

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University
Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Dongguk University*

The purpose of this investigation is to evaluate the effects of *Samwha-tang*(三化湯) Extracts on reversible forebrain ischemia experimentally induced from the occlusion of middle cerebral artery. The volume of cerebral ischemia, the volume of cerebral edema, and the change of pyramidal neuron of the CA1 area in hippocampus through light microscopy were investigated.

we obtained the following results. The volume of the control group, which had ischemic damage was 21%, and the volume of the sample group, which had ischemic damage, was 16%. The ratio of the volume of the right/left hemisphere was 117.2 in the control group, and 108.8 in the sample group. Also, the light microscopy revealed that the pyramidal cells of CA1 area in hippocampus had many damages like changes into discontinuous and unsystematic forms. But, in the sample group, the cells were less damaged compared with the control group.

Key Word : *Samwha-tang*, brain ischemia

1.緒論

성인사망의 3대 원인 중 하나인 뇌졸중은 최근 우리나라의 경우 고혈압에 대한 철저한 치료 및 관리와 식생활을 비롯한 생활방식의 변화로 인하여 출혈성 뇌졸중이 점차 감소하고 허혈성 뇌졸중이 증가하는 발병양태를 보이고 있다.¹

뇌허혈 상태에서 신경세포가 생존할 수 있는 시간이 극히 제한되어 있다는 사실 때문에 뇌허혈 급성기에 재관류를 위한 혈전용해제와 신경세포의 손상을 최소화시킬 수 있는 적절한 신경보호제의 개발이 뇌졸중 치료의 주된 관건으로

서 최근 현대의학의 주된 과제로 대두되고 있으며, 이를 위한 연구가 진행되고 있다.² 한의학계에서도 뇌졸중 급성기에 한약을 투여하여 뇌경색의 부피, 뇌부종의 크기 및 신경세포의 조직학적, 면역학적 손상이 유의성 있게 감소되었다는 보고와 함께 한약투여의 임상적 효과를 검증하는 실험논문들이 발표되고 있다.³⁻⁸

허혈성 뇌졸중은 中風의 범주에 속하는데, 中風은 病情의 변화가 多變하고 暴急한 특징을 가지고 있다. 특히 인체의 濕痰, 瘀血 또는 氣血의 불균형 등 병리적 素因들로 인하여 心煩易怒, 胸悶, 煩躁不寧, 大便秘結, 小便短赤, 面紅, 目

赤, 口乾, 口渴, 冷飲, 舌紅, 苔黃厚 등 과 같은 火熱의 증후를 나타내기 쉽다. 따라서 임상에서도 中風 급성기의 경우에 清熱瀉火 및 通腑法을 이용한 치료법들이 많이 활용되고 있다.^{9,10}

金代 劉完素·《素問病機氣宜保命集》에 처음 기재된 三化湯은 三焦를 通利시킴으로써 傳化機能을 회복하게 하므로, 胃部實滿, 二便不通, 身熱汗出, 胸腹滿而硬 등 上中焦의 實熱이 盛行한 경우에 理氣通腑의 방법으로 實熱을 瀉하는 처방이다.^{12,13} 따라서 火熱의 증후를 보이는 中風 초기에서 二便不通을 겸할 때 우선 通腑시킴으로써 調氣시키고자 하는 것이므로, 通腑瀉下의 대표적 處方 중 하나인 小承氣湯에 祛風之劑인 羌活을 加하여 구성되었다.

접수: 2001년 6월 11일 채택: 2001년 6월 26일
교신저자: 김동은 (경기도 성남시 분당구 수내동 87-2 동국분당한방병원 외과, 전화: 031-710-3734, E-mail: jikneo@hanmail.net)

Table 1. The Amount and Composition of *Samwha-tang* Extracts

Species	Part Used	Latin Name (藥名)	Weight (g)
Magnoliaceae	Rhizoma	Magnoliae Cortex (厚朴)	10
Polygonaceae	Root	Rhei Radix Et Rhizoma (大黃)	10
Rutaceae	Fruit	Aurantii Immaturus Fructus (枳實)	10
Umbelliferae	Root	Notopterygii Rhizoma (羌活)	10
Total			40

中風 치료에 있어 한약을 투여하여 그 효과를 검증하는 기존의 실험연구 중 黃連解毒湯, 六一順氣湯 등 清熱瀉火法에 근거한 연구보고는 있으나, 구체적으로 通腑法에 주안점을 두어 발표된 연구보고나 三化湯의 임상적 의의를 검증하는 관련보고는 이제까지 발표된 바 없었다.

이에 저자는 三化湯이 허혈성 뇌졸중 모델에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 흰쥐를 대상으로 중간대뇌동맥 결찰로 유발된 뇌허혈 부위의 조직학적 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 實驗

1. 재료

1) 동물

본 실험연구는 Sprague-Dawley계 흰쥐(250-350g, 대한동물실험센터)를 대상으로 실시하였다. 아무런 처치를 하지 않은 흰쥐를 정상군(Normal group)으로 하고, 중간대뇌동맥 폐쇄후 재관류를 유발시킨 10마리의 흰쥐를 대조군(Control group)으로, 재관류를 유발시킨 다음 三化湯을 경구투여한 10마리의 흰쥐를 실험군(Sample group)으로 각각 사용하였다. 마취 도중 발생할 수 있는 저체온증을 예방하기 위하여 자동조절이 가능한 보온판을 사용하여 37℃로 체온을 유지시켰다.

2) 약재

실험에 사용된 三化湯은 동국대학교 한방병원에서 조제된 것으로, 處方 내용 및 1첩의 분량은 Table 1과 같다. 2첩을 증류수 1,000 ml에 넣어 2시간 동안 전탕한 다음 원심분리시킨 후 여과하고 남은 액을 rotary evaporator에서 100 ml로 농축하여 사용하였다.

2. 방법

1) 국소적 뇌허혈의 유발 및 약재투여
국소적 뇌허혈을 유발하기 위하여 Longga 등¹⁴이 언급한 방법을 변형시켜 왼쪽 중간대뇌동맥(middle cerebral artery : MCA)을 결찰하는 방법을 선택하였다. 즉, 목 정중선의 피부를 절개하여 왼쪽의 바깥목동맥(external carotid artery : ECA)과 두개강 바깥에 위치하는 속목동맥(internal carotid artery : ICA)의 분지인 날개구개동맥(ptyerygopalatine artery : PPA)을 분리시켰다. PPA의 시작부위를 미세혈관 클립으로 결찰시키고 ECA의 가지들은 전기인두를 이용하여 소작시킨 다음, 온목동맥(common carotid artery : CCA)의 기시부에서 1 cm 정도 떨어진 곳을 6-0 silk 봉합사로 묶고 절단하였다. 6-0 silk 봉합사로 ECA의 기시부를 느슨하게 묶고 미세혈관 클립을 사용하여 일시적으로 결찰시킨 다음 ECA의 기시부에 미세가위로 구멍을 내어 20 mm의 3-0 나일론실을 넣었다. ECA 기

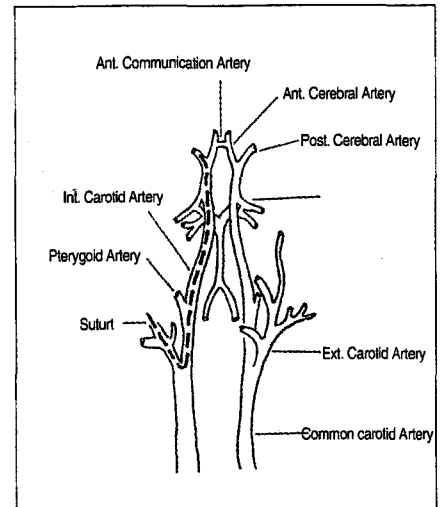


Fig. 1. Diagram of Cerebrovascular Anatomy in Rats Illustrates Extracranial and Intracranial Vascular Relations Exploited in Our Method of Reversible Occlusion of Middle Cerebral Artery.

시부와 단일가닥의 3-0 나일론실 사이의 출혈을 방지하기 위해 나일론실과 ECA를 6-0 silk 봉합사로 가볍게 묶고 미세혈관 클립을 제거한 후 나일론실을 부드럽게 ICA 속으로 밀어 넣었다. 나일론실이 약 17.5 mm 정도 들어갔을 때 손에 느껴지는 faint resistance를 통해 실의 끝부분이 두개강내 ICA의 분지부와 MCA의 시작부위에 도달했음을 확인하고, 1시간 동안 MCA의 혈관폐쇄 상태를 유지한 다음 절개막 위의 출혈을 방지하기 위하여 ECA의 기시부를 6-0 봉합사로 묶고 피부를 봉합하였다(Fig. 1).

이와 같은 방법으로 중간대뇌동맥을 결찰시킨 실험동물들을 대조군과 실험군으로 나누어 대조군은 보통의 조건하에서 72시간 동안 생존시켰다가 희생시켰으며, 실험군은 매일 2회 三化湯 추출액을 1.65 ml/kg씩 구강투여한 다음 72시간 후 희생시켜 실험에 사용하였다.

2) TTC 염색

실험동물을 단두(decapitation)하여 희생시킨 후 뇌를 적출하여 두께 2 mm의 절편으로 만든 다음, 뇌절편들을 1% 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (Tetrazolium Red : TTC) 용액에 일정 시간동안 넣어 염색하였다.

3) 뇌경색의 부피 및 뇌부종의 측정

TTC로 염색처리한 각각의 절편 절단면에 경색 소견이 나타난 부위를 표시하고, image analyzer(Optimas 5.0, USA)를 이용하여 각 절편의 경색부위 면적을 구한 다음, 절편의 두께(2 mm)를 곱하여 각 절편의 뇌경색 부피를 얻었다. 전체 뇌경색의 부피(cerebral infarction volume)는 각 절편의 뇌경색 부피를 합하여 구하였다. 전체 뇌부피는 각 절편 절단면의 면적과 두께를 곱한 총합으로 구하였다. 전체 뇌부피에 대한 전체 뇌경색 부피의 비율은 전체 뇌경색의 부피를 전체 뇌부피로 나누고 100을 곱하여 백분율로 표시하였다.

- 절편의 뇌경색 부피 = 절편 절단면의 TTC 염색부위 면적 × 절편의 두께
- 전체 뇌경색 부피 = 각 절편의 뇌경색 부피의 합
- 전체 뇌의 부피 = 각 절편의 부피(절편절단면의 면적 × 절편의 두께)의 합
- 전체 뇌부피에 대한 전체 뇌경색 부피의 비율 = 전체 뇌경색 부피/전체 뇌부피 × 100

뇌부종(cerebral edema)의 측정은 위의 방법으로 정상쪽과 뇌경색쪽 대뇌반구의 부피를 각각 측정한 다음, 정상쪽에 대한 뇌경색쪽의 부피 비율을 구하여 뇌부종의 지표로 삼았다.

4) 광학현미경용 표본제작

신선한 뇌조직 표본을 얻기 위해 심장을 통한 관류고정(cardiac perfusion)을 실시하였다. 즉, 외과적 수술 72시간 후 생존한 모든 동물의 복강에 40 mg/kg의 sodium pentobarbital을 주사하여 마취시킨 다음 앞가슴벽을 열고 좌심실에서 대동맥쪽으로 카테타를 삽입하여 생리식염수 약 30 ml를 주입하면서 우심방 심방귀 부분을 열어 혈관내의 혈액을 제거하였다. paraffin 포매용으로는 10% neutral buffered formalin(pH 7.4) 500 ml를 사용하여 관류고정시켰으며, 두개골에서 뇌를 적출하여 toluidine 염색을 시행하였다.

5) 광학현미경을 이용한 조직화학적 염색

염색을 위해서 500 ml의 10% neutral buffered formalin으로 관류고정한 후 통상적인 조직처리과정을 거쳐서 paraffin 포매를 실시하고, 조직절편기(microtome, American optical Co.)를 이용하여 5µm 두께로 절편을 만들었다. 제작된 연속조직절편에서 매 300µm마다 한 장씩 조직절편을 취하여 gelatin을 입힌 slide glass 위에 놓고 실온에서 4-6 시간동안 건조시킨 다음 crystal violet 염색을 시행하였다.

5 µm 두께의 조직절편을 xylene에 넣어 paraffin을 제거하고 100%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50% 및 30%의 EtOH 용액에 각각 20분씩 넣어 가수(hydratation)시킨 다음 최종적으로 증류수로 가수시켰다. 그 후 실온에서 crystal violet 용액에 2분간 염색하고 증류수로 세척한 다음, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 및 100% alcohol에서 탈색 및 탈수하고 xylene에 2회 처리한 다음 봉입하여 관찰하였다.

6) 결과분석

본 실험에서 얻어진 결과의 통계처리와 유의성에 대한 검정은 Sigma Plot program 4.0(Sigma, USA)에 의하여 처리하였다.

III. 結果

중간대뇌동맥을 결찰하는 방법으로 뇌허혈을 유발시킨 다음 재관류시키는 데에는 마리당 30분 정도의 시간이 소요되었다. 약 20%의 동물이 수술도중 및 회복기간에 사망하였고 그외 나머지는 수술 후 2-3시간 내 마취에서 깨어났다. 수술 후 실험동물에게서 관찰된 행동변화를 Bederson 등¹⁵⁾의 분류에 따라 5 종류의 신경학적 단계로 나누어, 0에서 3 단계의 행동변화를 보인 약 50%의 동물은 실험대상에서 제외하고 4단계에 해당되는 행동변화를 보인 약 30%의 동물만을 본 실험에 사용하였다.

1. TTC 염색소견

1시간 동안 중간대뇌동맥을 결찰하여 뇌허혈을 유발시킨 다음 혈액을 재관류시킨 대조군을 72시간 후 TTC로 염색한 결과, 꼬리피각(caudoputamen)의 전체 혹은 대부분과 이곳을 중심으로 한 대뇌의 신피질(neocortex) 및 편도체(amygdala)는 염색이 되지 않았으며, 대뇌피질 중 흑색질(substantia nigra)의 관상부위에서도 같은 소견이 관찰되었다(Fig. 2A).

실험군의 경우 꼬리피각의 상태는 거의 대조군과 유사했으나, 대뇌의 신피질이나 편도체 부위는 대조군에 비하여 염색이 되지 않은 부위가 줄어든 것으로 관찰되었다. 또한 꼬리피각의 많은 부위와 대뇌의 신피질 및 편도체 등에서 TTC에 약하게 염색되는 중간경계 영역

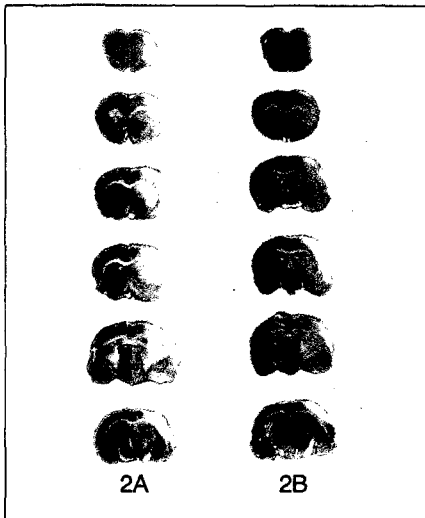


Fig. 2. Coronal Section of Brain Slice from Occlusion of the Left Middle Cerebral Artery Rats. In Control Group(2A), a Great Part of the Left Cerebral Cortex Was Infarcted. The Damaged Brain Structure Were Unable to React with TTC and Revealed as Unstained White Area. The Area of the Traumatized Hemisphere Was Larger than That of the Contralateral Hemisphere and the Midline of Both Brain Slices Protruded to the Right, as a Result of Tissue Swelling. But in the Sample Group(2B), Unstained White Area Was Reduced.
 2A: Control Group. 72hrs Reperfusion following 60min MCA Occlusion.
 2B: Sample Group. 72hrs Reperfusion following 60min MCA Occlusion with *Samwha-tang* Extracts Treatment.

이 발견되었다(Fig. 2B).

또한 대조군과 실험군 모두에서 손상이 유발된 동측 대뇌반구의 부피가 커져 반대쪽 대뇌반구쪽으로 밀려 양측 대뇌반구의 균형이 깨어져 있음이 관찰되었다(Fig. 2).

2. 뇌경색의 부피

1시간동안 왼쪽 중간대뇌동맥을 결찰시켜 뇌허혈을 유발시킨 후 재관류시킨 흰쥐를 72시간 후에 희생시켜 뇌실질의

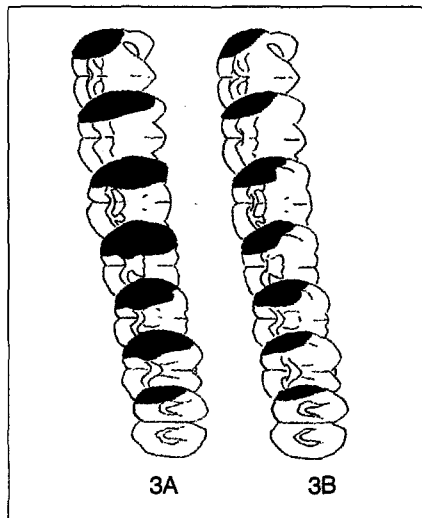


Fig. 3. The Schematic Diagram of Rat Cerebral Infarct Area in the Reperfusion following 60min MCA Occlusion. Animals Were Sacrificed 72 hrs after Ischemia.
 2A: Control Group. MCA Occlusion Elicited Rats.
 2B: Sample Group. MCA Occlusion Elicited Rats with *Samwha-tang* Extracts Treatment.

경색 정도를 측정된 결과, 대조군에서는 뇌경색 부피가 대뇌반구의평균 21 %를 점유하였으나, 실험군에서는 뇌경색 부피가 16 %로 줄어들어 유의성있는 감소결과를 나타내었다 ($P<0.05$)(Table 2, Fig. 4).

3. 뇌부종의 측정

1시간 동안 왼쪽 중간대뇌동맥을 결찰시켜 뇌허혈을 유발시킨 후 재관류시킨 흰쥐를 72시간 후 희생시켜 뇌허혈에 의한 뇌부종 정도를 양측 대뇌반구를 비교하여 관찰하였다. 그 결과 대조군에서는 정상군보다 약 17.2 % 정도 부피가 커졌으며, 그로 인하여 왼쪽 대뇌반구가 오른쪽 대뇌반구쪽으로 치우쳐져 나타났다. 그러나 실험군에서는 정상군보다 약 8.8 % 정도만 커져 유의성 있는 감소결과를 나타내었다($P<0.05$)

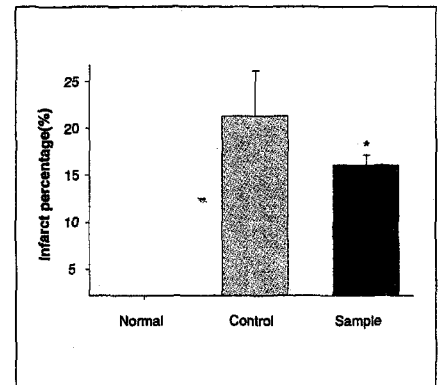


Fig. 4. Cerebral Infarction/Total Hemisphere Volumes(mm^3) of Rats following the MCA Occlusion
 Normal : Normal Rats
 Control : MCA Occlusion Elicited Rats
 Sample : MCA Occlusion Elicited Rats with *Samwha-tang* Extracts Treatment
 * $P<0.05$ Compared with Control Group

(Table 3, Fig. 5).

4. 광학현미경 소견

정상군 해마형성체(hippocampal formation)의 고유해마 부위에서는 위쪽인 CA1 지역에서 아래쪽인 CA3 지역으로 이어지는 피라미드 세포층(pyramidal cell layer)을 관찰할 수 있었고, 치아이랑(dentate gyrus) 부위에서는 많은 가지돌기를 가진 다극성 신경세포들로 구성된 과립세포층을 확인할 수 있었다(Fig. 6). 정상군 해마형성체의 CA1 지역에서는 약 4-5 층의 등근 세포체와 많은 돌기를 가진 피라미드 세포층이 규칙적으로 배열되어 있는 것을 관찰할 수 있었으며(Fig. 7), CA3 지역의 외측으로 갈수록 세포층이 증가되는 것을 볼 수 있었다. 치아이랑의 과립세포층에서는 cresyl violet에 진하게 염색되는 약 8-10 층의 세포들을 관찰할 수 있었다.

허혈유발 부위와 동측의 대조군 해마

Table 2. Cerebral Infarction/Total Hemisphere Volumes(mm³) of Rats following the MCA Occlusion

	Infarct Volume	Total Volume	Infarct Percentage(%)
Normal	0	821	0
Control	182±41.2 ^{a)}	853±9.5	21.3±4.9
Sample	135±7.5	838±4.4	16.1±0.9*

a) Mean ± Standard Error
 Normal : Normal Rats(n=1)
 Control : MCA Occlusion Elicited Rats(n=3)
 Sample : MCA Occlusion Elicited Rats with *Samwha-tang* Extracts Treatment (n=3)
 * P<0.05 Compared with Control Group

Table 3. Cerebral Edema of Rats following the MCA Occlusion

Treatment	Right Hemisphere Volume	Left Hemisphere Volume	Rt/Lt Ratio(%)
Normal	411±6.0	411±6.0	100
Control	362±19.7 ^{a)}	427±5.0	117.2
Sample	385±8.0	419±2.3	108.8*

a) Mean ± Standard Error
 Normal : Normal Rats(n=1)
 Control : MCA Occlusion Elicited Rats(n=3)
 Sample : MCA Occlusion Elicited Rats with *Samwha-tang* Extracts Treatment (n=3)
 * P<0.05 Compared with Control Group

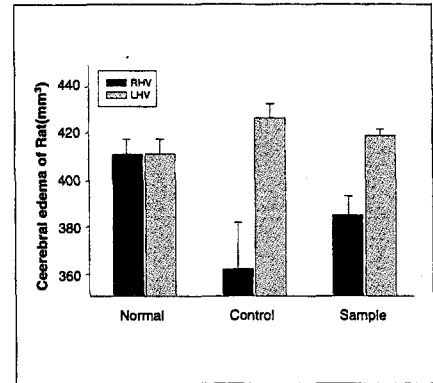


Fig. 5. Cerebral Edema of Rats following the MCA Occlusion

Normal : Normal Rats
 Control : MCA Occlusion Elicited Rats
 Sample : MCA Occlusion Elicited Rats with *Samwha-tang* Extracts Treatment
 RHV : Right Hemisphere Volume
 LHV : Left Hemisphere Volume
 * P<0.05 Compared with Control Group

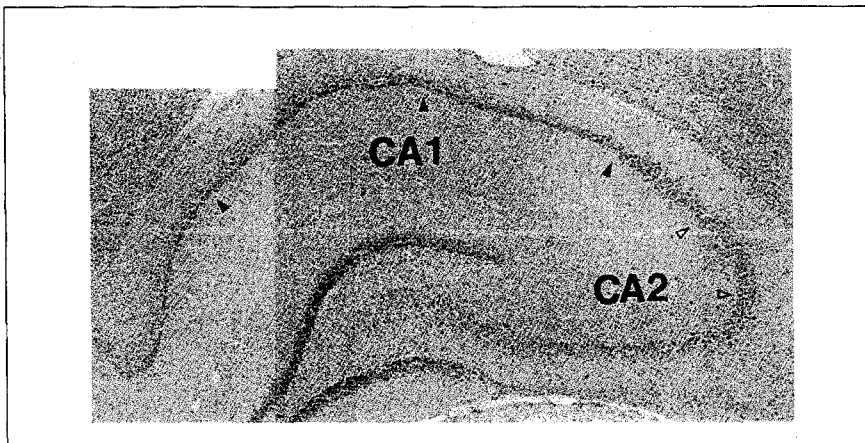


Fig. 6. Cresyl Violet Staining in Hippocampus in Normal Group. Arrow Head Indicate the CA1 Area of Hippocampus and Empty Arrow Head Indicate the CA2 Area of Hippocampus x 40

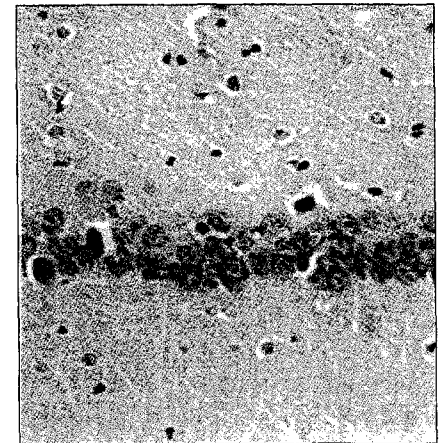


Fig. 7. Cresyl Violet Staining in CA1 Area of Hippocampus in Normal Group. Note that 3-4 Layers of Pyramidal Cell Were Arranged Regular and Well Stained with Cresyl Violet.x 200

형성체를 관찰한 결과, CA1 지역의 피라미드 세포층에서는 거의 모든 신경세포가 사멸·흡수되어 전형적인 피라미드형 신경세포는 거의 관찰할 수 없었다. 남아있는 소수의 신경세포도 전체적으로 어둡게 염색되고 핵과 세포질이 위축되어 나타나는 상해 소견을 보였으며 적은 세포질과 짙은 핵을 가진 림프구들

이 관찰되어 전형적인 피사소견을 나타내었다(Fig. 8).

허혈유발 부위와 동측의 실험군 해마 형성체를 관찰한 결과, CA1 지역에서 대조군에 비하여 상대적으로 많은 피라미드형 신경세포를 관찰할 수 있었으나, 대조군과 마찬가지로 적은 세포질과 짙은 핵을 가진 림프구들이 피라미드 세포

층에 모여 있었고, 응축된 피라미드 세포들과 불규칙한 세포막 등의 상해소견을 나타내었다. 또한 위축된 핵이나 팽창된 세포질을 가진 세포들이 피라미드층을 비롯하여 전층에서 많이 발견되었으며(Fig. 9), CA3 지역에서는 CA1 지

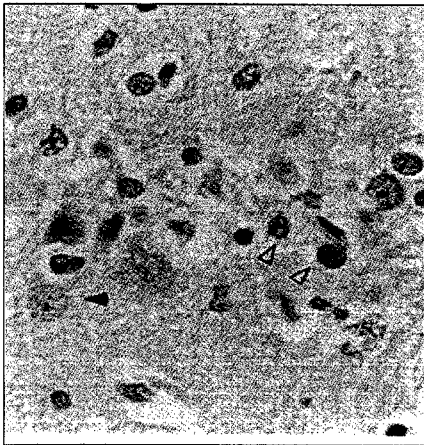


Fig. 8. Cresyl Violet Staining in CA1 Area of Hippocampus in 72 hrs after Ischemia in Control Group. There Are a Few Pyramidal Cells. Dark and Damaged Pyramidal cells Are Seen and Many Lymphoid Cells Appeared. x 400

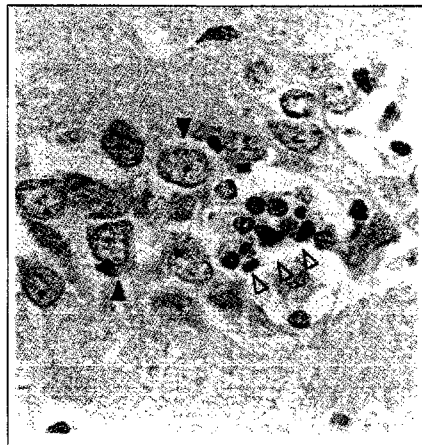


Fig. 9. Cresyl Violet Staining in Hippocampus in 72 hrs after Ischemia with Samwha-tang Treatment in Sample Group. There Are Many Pyramidal Cells in CA1 Area Compared with Control Group. x 400

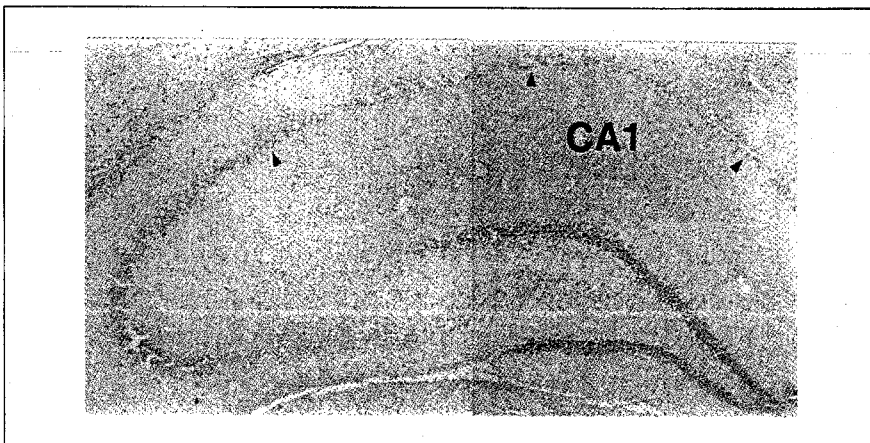


Fig. 10. Cresyl Violet Staining in CA3 Area of Hippocampus in 72 hrs after Ischemia. Note That Many Pyramidal Cells are Damaged and Disappeared, But Less Than CA1 Area. x 40

역과 비교하여 상해의 정도가 약간 적게 나타났으나, 전체적으로 피라미드 세포층의 손상으로 인한 띠구조의 약화 소견을 확인할 수 있었다(Fig.10).

IV. 考 察

뇌세포에 혈액공급이 차단되는 뇌허혈은 일정기간 이상 지속되면 뇌세포의 비

가역적인 손상으로 인해 뇌경색을 발생시키거나 이에 이르지 않더라도 다양한 경로를 통해 뇌세포 손상을 일으킨다.²

뇌허혈로 인한 뇌세포 손상의 병태생리가 차츰 밝혀지기 시작하면서 치료면에서도 이에 근거한 연구들이 진행되고 있는데, 급성기에 활용될 수 있는 혈전용해제와 신경보호제의 개발이 가장 대표적이다. 즉 허혈상태에서 신경세포가

생존할 수 있는 시간은 극히 제한되어 있으므로, 뇌허혈 급성기에 재관류를 위한 혈전용해와 therapeutic window를 늘리면서 신경세포의 손상을 최소화시킬 수 있는 적절한 신경보호제의 개발이 현대의학의 주요한 당면 과제로 부각되고 있는 것이다.² 인위적으로 유발된 허혈성 뇌졸중 급성기 모델의 실험동물에게 蘇合香元³⁵이나 星香正氣散³⁶ 등과 같은 中風 급성기의 상용약물이나, 六一順氣湯³⁷, 黃連解毒湯 등과 같이 中風 초기의 火熱증후에서 활용되고 있는 약물들을 투여하여 그 유용성을 검증하고자 하는 한의학계의 연구보고도 이러한 연구경향과 맥을 같이 하고 있다.

中風의 임상적 치료는 근대에 이르러 肝腎陰虛로 인하여 火旺한 경우나 心火 및 痰熱로 인한 경우 또는 中臟腑의 陽閉證의 경우에 滋陰清熱, 清熱化痰, 清肝熄風開竅, 清熱通腑 등의 치료법을 활용하고 있다.⁹ 清熱法의 상용방제로서, 實證의 경우 涼膈散, 防風通聖散, 至寶丹, 搜風順氣散, 牛黃清心丸, 川芎石膏湯, 三化湯 등이, 虛證에는 六味地黃湯, 地黃湯, 八味地黃湯, 四物湯 등이 사용되고 있다.

본 실험에서 사용된 三化湯은 中風의 中臟腑證에 邪氣作實하여 二便不通의 증후를 보이는 경우에 사용한다. 즉, 中風 초기에 胃部實滿, 身熱汗出, 胸腹滿而硬 등 上中焦의 實熱證으로 二便不通의 症候를 兼할 경우, 通腑의 下法을 이용하여 大小便不通을 解消하고 아울러 實熱을 清泄케 하고자 하는 處方이다.

通腑의 下法을 이용한 清熱瀉火의 치료법은 실제 임상에서 많이 활용되고 있으나,^{9,10} 구체적으로 通腑에 주안점을 둔 치료약물에 근거하여 발표된 실험적 연구보고나 三化湯의 임상적 의의에 대한 연구는 아직 없었다. 이에 저자는 三化

湯이 뇌허혈에 미치는 효능을 살펴보기 위하여 인위적으로 허혈을 유발시킨 흰 쥐에게 三化湯을 투여한 후 경색의 범위와 뇌부종의 정도를 비교관찰하고, 광학현미경으로 해마의 신경세포에 나타난 변화를 관찰하였다.

본 연구에서는 뇌허혈을 유발시키기 위하여 Longa 등¹⁴의 방법을 변형하여 중간대뇌 동맥을 1시간 동안 결찰한 다음 재관류시키고, 수술 후 실험동물에게서 관찰된 행동변화를 Bederson 등¹⁵의 분류에 따라 5 종류의 신경학적 단계로 나누었다. 즉, 0단계는 현저한 결손이 없는 경우, 1단계는 수술 동측의 눈에만 이상이 있는 경우, 2단계는 앞다리가 굽혀지는 등 약간의 결손을 보인 경우, 3단계는 회전하지는 않지만 앞다리가 굽혀지고 바깥쪽에서 미는 힘에 대한 저항력이 약한 경우, 4단계는 3단계의 행동과 유사하나 마비된 방향으로 회전하는 등 현저한 결손이 보이는 경우로 구분하였다. 수술 후 0에서 3단계의 신경학적 행동변화를 보인 약 50%의 동물은 실험대상에서 제외하고, 4단계에 해당되는 행동변화를 보인 약 30%의 동물만을 본 실험에 사용하였다.

재관류 72시간 후 흰쥐의 뇌를 적출하여 뇌절편을 제작하였으며 대조군과 三化湯을 투여한 실험군의 경색부피 및 뇌부종의 크기를 TTC 염색소견을 통하여 비교관찰하였다. 실험에서 사용된 TTC는 정상세포의 미토콘드리아에 있는 dehydrogenase와 반응하여 붉게 염색되는 특징을 가지고 있어, 뇌경색이 발생되어 dehydrogenase가 소실되면 염색이 되지 않고 백색으로 관찰된다. 따라서 염색여부를 통하여 세포의 비가역적 손상 유무를 판단할 수 있는 지표로서 널리 사용되는 약품이다. 그 결과, 대조군에서는 TTC 염색이 되지 않고

백색으로 관찰되어 허혈에 인한 세포손상이 의심되는 부위가 전체 대뇌부피의 평균 21%를 점유하고 있었으나, 뇌허혈 후 三化湯을 음용투여한 실험군에서는 전체 대뇌부피의 16%로 나타나 유의성 있는 감소효과를 나타내었다.

뇌허혈로 인한 뇌부종 역시 대조군에서는 정상크기보다 약 17.2% 정도 증가하여 반대측 대뇌반구쪽으로 밀려 있었으나, 허혈후 三化湯을 음용투여한 실험군에서는 정상크기보다 약 8.8%만 커져 유의성 있는 감소효과를 나타내었다.

뇌허혈로 인한 세포의 손상을 구체적으로 확인하기 위해 광학현미경을 이용하여 해마형성체 신경세포의 조직학적 변화를 관찰하였다. 해마는 기억기능을 담당하는 구조물^{16,17}인 동시에, 허혈¹⁸⁻²¹이나 저산소증,²² 저혈당증,²³ 전간발작,²⁴ 실험적 뇌손상^{22,25} 등 여러 가지 뇌손상에 매우 민감하게 반응하는 구조물로서 신경세포의 변화를 관찰하기에 용이한 부위이기도 하다.^{17,26} 해마형성체는 고유해마 부위와 치아이랑 부위로 나눌 수 있으며, 고유해마 부위는 다시 위쪽인 CA1 지역과 아래쪽인 CA3 지역으로 나눌 수 있다. 즉 해마형성체는 CA1 지역에서 CA3 지역으로 이어지는 돌기가 많은 피라미드 세포층과 치아이랑 부위의 과립세포층으로 구성되어 있다.

Kirno 등,¹⁷ Yamamoto 등²⁶의 연구 결과에 의하면 병리학적으로 5-10분 정도의 일과성 허혈인 경우 1일째는 광학현미경적인 이상소견을 관찰할 수 없으나, 2-4일 사이에 해마형성체 CA1 영역의 피라미드 세포가 파괴되는 것이 관찰된다. 본 실험에서 뇌허혈 후 재관류시킨지 72시간 후 광학현미경을 이용하여 해마형성체의 신경세포를 관찰한 결과, CA1 지역의 피라미드 세포는 거의 모든 세포가 손상되어 전형적인 피라미드

형의 신경세포는 관찰할 수 없었고, 몇몇 남아있는 신경세포도 전체적으로 어둡게 염색되고 핵과 세포질이 위축되어 나타나는 상해소견을 보였다. 또한 적은 세포질과 짙은 핵을 가지는 림프구들이 관찰되는 전형적인 괴사소견을 보였다. 실험군에서도 역시 피라미드 세포의 상해 및 괴사 소견을 관찰할 수 있었으나, 대조군에 비하여 그 정도가 감소, 약화된 것으로 관찰되었다.

이상의 결과를 종합하면 三化湯은 흰 쥐의 가역성 뇌허혈로 유발된 경색과 뇌부종의 부피를 감소시켰고, 해마 CA1 지역의 피라미드 신경세포 손상을 감소시키는 보호효과를 나타내어 실제 뇌경색 치료에서도 같은 효과를 기대할 수 있을 것으로 생각된다. 이외에도 三化湯 투여를 통하여 뇌허혈로 인한 신경세포 손상이 어떠한 기전에 의하여 감소하게 되었는가는 아직 알려져 있지 않으므로 향후 이에 대한 보다 정밀한 관찰연구가 필요하리라고 생각된다.

V. 結 論

三化湯이 중간대뇌동맥 결찰로 유발된 뇌허혈에 미치는 효과를 알아보기 위하여, 국소허혈로 야기된 흰쥐의 뇌경색의 부피, 뇌부종의 크기 및 광학현미경에 의한 신경세포의 변화와 三化湯의 공급에 의한 신경세포의 보호작용에 대하여 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. TTC 염색결과를 보면 뇌경색의 부피는 대조군에서 약 21% 정도를 차지하였고, 실험군에서는 약 16%로 감소되었다.
2. 뇌부종의 부피는 대조군에서 정상 대뇌반구에 비하여 약 17.2% 정도 증가

하였고, 실험군에서는 약 8.8% 정도만 커져 대조군에 비하여 부종의 정도가 감소되었다.

3. 광학현미경으로 관찰한 결과, 대조군에서는 허혈을 유발시킨 부위와 동측 해마형성체의 CA1 지역에 위치하는 신경세포가 가장 많은 상해를 입었고, 실험군에서는 상해 정도가 많이 감소된 것으로 관찰되었다.

VI. 參考文獻

1. 강성돈, 정진원, 문병순, 김종문. 뇌졸중의 역학적 동향에 대한 연구. 대한신경외과학회지 1999;28:509-513.
2. 이용석, 윤병우, 노재규. Gerbil의 일과성 전뇌허혈 모델에서 Lamotrigine에 의한 해마의 지연성 신경세포손상 감소효과. 대한신경과학회지 1998;16(2):113-117.
3. 김순신. 蘇合香元이 白鼠의 뇌손상에 미치는 영향. 대전대학교 대학원 1993.
4. 정승현, 신길조, 이원철. 六一順氣湯 抽出物이 생쥐의 全腦虛血에 미치는 영향. 동국한의학회연구논문집 1997;7(2):149-154.
5. 최은정, 신길조, 이원철. 蘇合香元이 실험적 뇌경색 흰쥐의 국소뇌혈류량 및 경색면적에 미치는 영향. 한의학회지 1997;18(1):462-465.
6. 조규선, 이원철, 윤상협. 흰쥐의 중대뇌동맥 폐쇄후 大造丸 투여가 대뇌반구 및 시상위축에 미치는 영향. 한방성인병학회지 1998;4(1):163-175.
7. 김선영, 윤상협, 이원철. 흰쥐의 중대뇌동맥 폐쇄후 黃連解毒湯 투여가 대뇌반구 및 시상위축에 미치는 영향. 동국논총 1998;37:229-246.
8. 유종삼. 星香正氣散이 흰쥐의 뇌손상에 미치는 영향. 대전대학교 대학원. 1992.
9. 강화정, 문병순. 中風의 治療에 있어 清熱法에 대한 문헌적 고찰. 한국한의학회연구논문집 1996;2:26-39.
10. 박중양, 하일. 中風治法에 있어서 清熱瀉火法에 대한 문헌적 고찰. 대한한방내과학회지 1991;12(1):155-164.
11. 劉河間. 劉河間三六書. 서울:成輔社;1976, 37,43,281-2.
12. 江克明, 包明蕙. 簡明方劑辭典. 上海:上海科學技術出版社;1989,56.
13. 汪訥庵. 醫方集解. 台北:文光圖書有限公司;1975,82.
14. Zea Longa EL, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke 1989;20:84-91.
15. Bederson JB, Pitts LH, Germano SM, Nishimura MC, Davis RL, et al. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chrolide as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. Stroke 1986;17:1304-1308.
16. Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG. Human amnesia and the medial temporal region : Enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. J Neurosci 1986;6:2950-2967.
17. Kirno T, Sano K. Fine structure nature of delayed neuronal death following ischemia in the gerbil hippocampus. Acta Neuropathol 1984;62:209-218.
18. Lowentstein DH, Thomas MJ, Smith DH, et al. Selective vulnerability of denate hilar neurons following traumatic brain injury : A potential mechanism link between head trauma and disorders of the hippocampus. J Neurosci 1992;12:4846-4853.
19. Pulsinelli WA, Brierly JB, Plum F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. Ann Neurol 1982;11:491-498.
20. Siesjo BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. J Neurosurg 1992;77:169-184.
21. Schmidt-kKastner R, Freund TF. Selectivity vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. Neurosci 1991;40:599-636.
22. Ng T, Graham DI, Adams JH, et al. Changes in the hippocampus and the cerebellum resulting from hypoxic insults : Frequency and distribution. Acta Neuropathol 1989;78:4438-4443.
23. Auer RN, Wieloch T, Olsson Y, et al. The distribution of hypoglycemic brain damage. Acta Neuropathol 11984;64:177-191.
24. Brown WJ, Babb TL. Neuropathological changes in the temporal lobe associated with complex partial seizures, in : Epilepsy. A.Hopkins(ed). Chapman & Hall:London 1986; 300-416.
25. Cortez SC, McIntosh TK, Nobel LJ. Experimental fluid percussion brain injury : Vascular disruption and neuronal and glial alterations. Brain Res 1989;482:271-282.
26. Yamamoto K, Hayakawa T, Mogami H, Akai F, Yanagihara T. Ultrastructural investigation of the CA1 region of the hippocampus after transient cerebral ischemia in gerbil. Acta Neuropathol 1990;80:487-492.