

**밤 속껍질로부터 기능성 음료의 개발(Ⅲ)
- 뇌혈류역학, 평균혈압, 흉선세포 증식율에 미치는 효과 -**

정현우*[†] · 박철훈* · 전병관**

*동신대학교 한의과대학, **동신대학교 환경공학과

**The Development of Functional Beverage from
the Inner Skin of Chestnut *Castanea crenata*(Ⅲ)
- Effects on the Regional Cerebral Blood Flow, Mean Arterial
Blood Pressure, Proliferation of Thymocytes -**

Hyun-Woo Jeong*[†], Cheol-Hun Park*, and Byung-Gwan Jeon**

*Dept. of Pathology, College of Oriental Medicine, DongShin Univ., Naju 330-3524, Korea.

**Dept. of Environmental Engineering, DongShin Univ., Naju 330-3151, Korea.

Abstract

The purpose of this study was to investigate effects of inner skin of chestnut on the activation of a living body's function(regional cerebral blood flow and mean arterial blood pressure in Sprague-Dawley rats, proliferation of thymocytes in normal mice and L1210 cells transplanted mice).

We used inner skin of chestnut extract(Sample A : inner skin of chestnut-panbroiled after driedextract (100°C), Sample B : inner skin of chestnut-panbroiled-extract(100°C), Sample C : inner skin of chestnut-panbroiled after dried-extract(80°C), Sample D : inner skin of chestnut-panbroiled-extract(80°C)). Regional cerebral blood flow(rCBF) and Mean arterial blood pressure(MABP) were tested using Leser-Doppler Flowmetry(LDF), and the proliferation of thymocytes was tested using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay).

The experimental results as follows :

1. rCBF was significantly increased by Sample C in a dose-dependent manner.
2. MABP was not changed by Sample C in a 0.1mg/kg~10.0mg/kg treated group.
3. Proliferation of thymocytes was not changed by Sample C in normal mice.
4. Proliferation of thymocytes was significantly accelerated by Sample C in L1210 cells transplanted mice.

Key words : inner skin of chestnut, regional cerebral blood flow, mean arterial blood pressure, thymocytes, L1210 cells.

서 론

우리 나라는 근대에 이르기까지 대부분 농업에 중

사하는 농업국가였지만 '70년대 초반부터 시작된 공업화의 바람과 지적 수준의 향상으로 인하여 의식주의 질적 수준의 향상과 함께 각종의 스트레스와 기름

[†] Corresponding author : Hyun-Woo Jeong

진 음식의 과잉섭취로 건강에 대한 우려감이 팽배해지고 있다. 또한 세계적으로도 노인 인구가 증가하고 있어 보다 쾌적한 환경과 천연 먹거리에 대한 요구는 점점 증가하고 있는 실정이다.

차는 식물의 뿌리, 줄기, 잎 등을 적절하게 가공 처리하여 고유한 맛과 향기, 색 또는 기능을 갖고 있는 기호식품으로써 연간 차 시장에 대한 정확한 통계자료는 없지만 녹차의 경우는 약 640억원(생산 640톤), 가공차는 640억원, 차액기스는 60억원, 침차는 20억원 등의 매출액을 보이고 있고, 매출량도 점점 증가추세에 있다.

그러나 현재까지의 우리나라 차문화를 살펴볼 때 커피, 녹차, 홍차 등을 제외하면 천연음료의 수준이 세계적으로 매우 낮아 세계화를 위한 새로운 국산차 - 시대적인 세대에 부응하기 위해 두뇌활동이 저하되는 노인들의 건강증이나 어리지럼증, 두뇌활동이 활발해야 하는 수험생 및 지적 지식인들에게 필요로 하는 뇌 기능을 촉진시킬 수 있음은 물론 국내외적으로 가장 높은 사망률을 나타내고 있는 암환자에 있어 암세포에는 영향을 주지 않으면서도 치료 보조역할을 할 수 있는 천연음료 - 개발이 시대적으로 요구된다 하겠다.

한편, 밤은 한국 등지에서 생산되고 있는 것이 가장 우수하다고 알려져 있지만 단지 전분만을 식용으로 사용할 뿐 다른 부분들은 거의 모두 산업폐기물로 처리되고 있다.

이에 저자들은 밤속껍질을 이용해 기능성 음용수로서 개발 가능성을 확인하고자 현미녹차, 결명차와 비교하여 생체기능 활성화를 살펴본 결과 유의한 결과를 확인할 수 있었다¹⁾. 그리하여 그 연구의 일환으로 밤속껍질을 취득하고 취득된 시료의 추출농도를 달리하여 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 효과, 면역세포 - 특히 흥선세포 - 의 증식을 확인하고자 정상동물과 암증을 유발시킨 동물에 투여한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재 료

1) 시 료

실험에 사용한 밤속껍질은 속껍질과 겉껍질이 분리된 상태로 수거하여 속껍질만을 원료로 하였다. 볶음차는 밤속껍질을 냉풍건조시킨 다음 볶음온도를 변화시켜 80°C와 100°C의 열수에서 추출한 후 시료로 사용하였고, 튀음차는 수분이 약간 들어있는 상태의 밤속

껍질을 잘 문질러 덩어리가 생기지 않게 한 후 200°C의 oil bath내에서 교반하면서 튀어낸 다음 80°C와 100°C의 열수에서 추출한 후 시료로 사용하였다. 뇌혈류역학 변동 관찰시에는 각 밤속껍질 50g을 3,000ml 환저 플라스크에 증류수 1,500ml와 함께 넣어 120분간 가열한 다음 전탕액(煎湯液)을 여과지로 여과한 뒤 5,000rpm으로 30분간 원심분리기(VS 6000CFN, vision, Korea)로 원심분리한 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)에 넣어 농축액(g/ml)을 만들어 사용하였고, 흥선세포 증식을 관찰시에는 동결 건조하여 다음과 같이 분말을 얻은 후 생리식염수에 용해하여 사용하였다.

분 류	밤속껍질 중량	동결 건조량
볶은 후 100°C 추출시	50g	18.8g
건조 후 볶은 다음 100°C 추출시	50g	14.6g
볶은 후 80°C 추출시	40g	5.8g
건조 후 볶은 다음 80°C 추출시	40g	5.0g

2) 동 물

(1) 뇌혈류역학 변동 관찰

대한실험동물(주)에서 구입한 체중 300g내외의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 온도 20±3(°C), 습도 55±5(%), light/dark 12(hr)의 사육조건에서 1주일 이상 적응시키면서 고형 pellet 사료(삼양주식회사, 한국)와 물을 자유로이 섭취케 한 후 사용하였다.

(2) 흥선세포 증식을 관찰

대한실험동물(주)에서 구입한 Balb/c계 22±1(g) 수컷을 2)-(1)과 같은 동일한 조건에서 사육한 후 사용하였다.

2. 방 법

1) 뇌혈류역학 변동 관찰

(1) 시료 투여 실험군

실험군의 분류는 밤속껍질 추출액을 투여하지 않은 상태에서 30분간 뇌혈류역학 변동을 관찰한 군을 대조군으로 삼았고, 밤속껍질 추출액을 농도별(0.001mg/kg~100.00mg/kg)로 30분간 투여한 군들을 실험군으로 하여 뇌혈류역학 변동을 관찰하였다.

(2) 국소뇌혈류량 측정²⁾

동물을 stereotactic frame에 고정시키고 정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 bregma의 4~6mm 측방, -2~1mm 전방에 직경 5~6mm의 craniotomy를 시행하였다. 이때 두개골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막의 출혈을 방지토록 하였다. Laser Doppler Flowmetry(LDF, Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe(직경 0.8mm)를 대뇌(두정엽) 피질 표면에 수직이 되도록 stereotactic micromanipulator를 사용하여 뇌연막동맥에 조심스럽게 근접시켰다. 일정시간 동안 안정시킨 후 실험 protocol에 따라 regional Cerebral Blood Flow(rCBF)을 측정하였다.

(3) 평균혈압 측정²⁾

동물을 urethane(750mg/kg, i.p.)으로 마취시키고 체온을 37~38°C로 유지할 수 있도록 heat pad위에 양와위로 고정시켰다. 심혈관계의 운동성(평균혈압, 심근수축력, 심박동수) 변동을 관찰하기 위하여 동물의 대퇴동맥에 삽입된 polyethylene tube에 연결된 pressure transducer(Grass, USA)를 통하여 MacLab(4s, AD Instrument)과 Macintosh computer로 구성된 data acquisition system에 기록한 후 관찰하였다.

2) 정상동물의 흉선세포 증식율 관찰

(1) 실험군의 분류와 시료투여

Balb/c 마우스 7마리를 1군으로 하여 대조군, 실험군 A, 실험군 B, 실험군 C, 실험군 D로 분류하여 1일 1회씩 7일동안 대조군의 경우는 증류수 0.2ml를, 실험군 A는 건조 후 볶은 밤속껍질을 100°C에서 추출한 시료 0.2ml를, 실험군 B는 볶은 밤속껍질을 100°C에서 추출한 시료 0.2ml를, 실험군 C는 건조후 볶은 밤속껍질을 80°C에서 추출한 시료 0.2ml를, 실험군 D는 볶은 밤속껍질을 80°C에서 추출한 시료 0.2ml를 각각 경구 투여하였다.

(2) 마우스 흉선세포의 분리

마우스의 흉선세포 분리는 Wysocki³⁾ 및 Mizel 등⁴⁾의 방법을 이용하였다. Balb/c 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후 적출한 흉선을 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(DPBS)-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음 10ml 주사기로 조심스럽게 세포부유액을 취하여 1,500rpm에서 5분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 흉선세포

를 분리하였으며, 분리한 흉선세포의 생존율 및 총세포수를 hemocytometer를 이용하여 측정하였다.

(3) 흉선세포의 증식율 변화

분리한 다음 흉선세포 부유액을 Roswell Park Memorial Institute 1640(RPMI 1640) 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10^6 cells/ml 농도로 접종하여 흉선 세포에 Concanavalin-A(Con-A) 5 μ g/ml를 첨가한 후 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음, 배양 종료 4시간 전에 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT)시약을 가하였다. 배양 종료시 0.01N HCl에 용해시킨 10% sodium demecyl sulfate(SDS) 100 μ l를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 계산한다.

3) 암종 마우스의 흉선세포 증식율 관찰

(1) 세포주 및 흉선세포 배양

한국세포주은행에서 구입한 급성백혈병세포주인 L1210 세포주를 RPMI 1640배지를 사용하여 계대배양하였으며, 배지에는 10% fetal bovine serum (FBS) 과 penicillin-streptomycin(100units/ml, 100 μ g/ μ l)을 첨가하였다.

(2) 암세포의 이식

L1210 세포를 (1)과 같이 계대를 하면서 계대배양 2일째 되는 세포를 2×10^6 cells/mouse로 조제하여 복강에 1.0 ml를 주사함으로써 암세포를 이식하였다.

(3) 실험군의 분류 및 시료투여

암종이 유발된 balb/c 마우스 7마리를 1군으로 하여 대조군, 실험군 A, 실험군 B, 실험군 C, 실험군 D로 분류하였다. 대조군은 증류수 0.2ml를, 실험군 A는 건조 후 볶은 밤속껍질을 100°C에서 추출한 시료 0.2ml를, 실험군 B는 볶은 밤속껍질을 100°C에서 추출한 시료 0.2ml를, 실험군 C는 건조후 볶은 밤속껍질을 80°C에서 추출한 시료 0.2ml를, 실험군 D는 볶은 밤속껍질을 80°C에서 추출한 시료 0.2ml를 각각 1일 1회 7일동안 경구투여 하였다.

(4) 암종 마우스의 흉선세포 증식율 변화

2)-(2)와 (3)과 같은 방법으로 실시하여 측정하였다.

3. 통계처리⁵⁾

통계처리는 Student's paired and/or unpaired t-test에 의하였으며, p-value값이 0.05이하인 경우에만 유의성을 인정하였다.

실험결과

1. 볶은 다음 100°C에서 추출한 밤속껍질 추출액이 뇌혈류역학에 미치는 효과

뇌연막동맥의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 밤속껍질 추출액 효과를 관찰하기 위하여 밤속껍질을 볶은 다음 100°C로 추출한 후 농도별(0.001mg/kg ~ 100.0mg/kg)로 정맥내 투여한 결과 다음과 같았다 (Fig. 1).

대조군의 국소뇌혈류량을 100.00±0.06(%)로 환산하였을 때 시료 0.001mg/kg과 0.01mg/kg을 투여한 실험군은 92.48±0.12(%), 94.55±0.11(%)로 대조군보다 감소되었다. 그러나 투여농도가 증가되면서 0.1mg/kg 투여군은 103.66±0.15(%), 1.0mg/kg 투여군은 120.84±0.16(%), 10.0mg/kg 투여군은 142.67±0.23(%)로 증가되었고, 100.0mg/kg을 투여한 실험군은 127.13±0.20(%)로 감소경향을 나타내었으나 대조군보다는 증가되었다. 그러나 실험군 모두 유의성은 인정되지 않았다.

대조군의 평균혈압을 100.00±0.04(%)로 환산하였을 때 시료 0.001mg/kg과 0.01mg/kg을 투여한 실험군은 94.30±0.04(%), 96.05±0.06(%)로 대조군보다

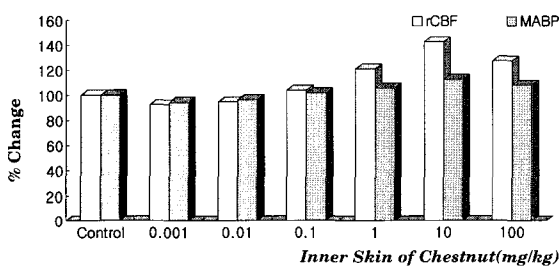


Fig. 1. Effects of inner skin of Chestnut-pan-broiled-extract (100°C) on the regional cerebral blood flow(rCBF) and mean arterial blood pressure(MABP) in rats. Control: Group non treated sample for 30min, 0.001: Group treated sample 0.001mg/kg for 30min, 0.01:Group treated sample 0.01mg/kg for 30min, 0.1: Group treated sample 0.1mg/kg for 30min, 1: Group treated sample 1.0mg/kg for 30min, 10: Group treated sample 10.0mg/kg for 30min, 100: Group treated sample 100.0mg/kg for 30min.

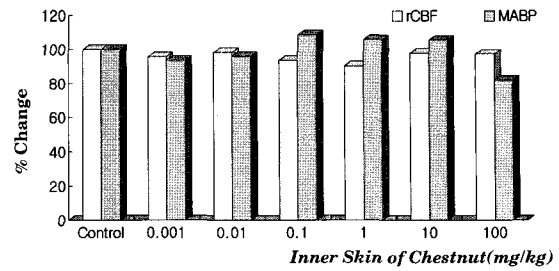


Fig. 2. Effects of inner skin of chestnut-pan-broiled after dried-extract(100°C) on the rCBF and MABP in rats. The legends are the same as Fig. 1.

감소되었다. 그러나 투여농도가 증가되면서 국소뇌혈류량과 마찬가지로 0.1mg/kg 투여군은 101.32±0.05(%), 1.0mg/kg 투여군은 105.37±0.04(%), 10.0mg/kg 투여군은 112.46±0.01(%)로 증가되었고, 100.0mg/kg을 투여한 실험군은 107.71±0.03(%)로 감소경향을 나타내었으나 대조군보다는 증가되었다. 그러나 실험군 모두 유의성은 인정되지 않았다.

2. 건조시킨 후 볶은 다음 100°C에서 추출한 밤속껍질 추출액이 뇌혈류역학에 미치는 효과

뇌연막동맥의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 밤속껍질 추출액 효과를 관찰하기 위하여 밤속껍질을 건조시킨 후 볶은 다음 100°C로 추출하여 농도별(0.001mg/kg ~ 100.0mg/kg)로 정맥내 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 2).

대조군의 국소뇌혈류량을 100.00±0.04(%)로 환산하였을 때 시료 투여군(0.001mg/kg ~ 100.0mg/kg)은 각각 95.38±0.09(%), 98.42±0.07(%), 93.34±0.07(%), 94.13±0.07(%), 97.80±0.07(%), 97.24±0.10(%)로 대조군보다 감소되었다. 그러나 실험군 모두 유의성은 인정되지 않았다.

대조군의 평균혈압을 100.00±0.10(%)로 환산하였을 때 시료 0.001mg/kg과 0.01mg/kg을 투여한 실험군은 93.41±0.09(%), 95.90±0.05(%)로 대조군보다 감소되었다. 그러나 투여농도가 증가되면서 0.1mg/kg 투여군은 108.43±0.06(%), 1.0mg/kg 투여군은 105.71±0.06(%), 10.0mg/kg 투여군은 105.42±0.04(%), 100.0mg/kg 투여군은 111.24±0.03(%)로 대조군보다 증가되었지만 유의성은 인정되지 않았다.

3. 볶은 다음 80°C에서 추출한 밤속껍질 추출액이 뇌혈류역학에 미치는 효과

뇌연막동맥의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는

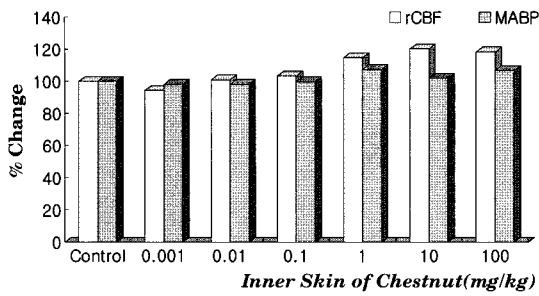


Fig. 3. Effects of inner skin of chestnut-pan-broiled extract(80°C) on the rCBF and MABP in rats. The legends are the same as Fig. 1.

밤속껍질 추출액 효과를 관찰하기 위하여 밤속껍질을 볶은 다음 80°C로 추출한 후 농도별(0.001mg/kg ~ 100.0mg/kg)로 정맥내 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 3).

대조군의 국소뇌혈류량을 100.00±0.05(%)로 환산하였을 때 시료 0.001mg/kg을 투여한 실험군은 94.54±0.05(%)로 대조군보다 감소되었지만 0.01mg/kg을 투여한 실험군은 100.97±0.04(%)로 대조군과 유사하였고, 투여농도가 증가되면서 0.1mg/kg 투여군은 103.17±0.16(%), 1.0mg/kg 투여군은 114.76±0.19(%), 10.0mg/kg 투여군은 120.21±0.15(%), 100.0mg/kg 투여군은 118.39±0.17(%)로 대조군보다는 증가되었지만 유의성은 인정되지 않았다.

대조군의 평균혈압을 100.00±0.08(%)로 환산하였을 때 시료 0.001mg/kg, 0.01mg/kg과 0.1mg/kg을 투여한 실험군은 각각 98.03±0.05(%), 98.03±0.03(%), 99.73±0.06(%)로 대조군과 유사한 결과를 나타내었으나 투여농도가 증가될수록 1.0mg/kg 투여군은 107.33±0.07(%), 10.0mg/kg 투여군은 102.40±0.06(%), 100.0mg/kg 투여군은 106.83±0.06(%)로 대조군보다 증가되는 경향을 나타내었다. 그러나 모든 실험군에서 유의성은 인정되지 않았다.

4. 건조시킨 후 볶은 다음 80°C에서 추출한 밤속껍질 추출액이 뇌혈류역학에 미치는 효과

뇌연막동맥의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 밤속껍질 추출액 효과를 관찰하기 위하여 밤속껍질을 건조시킨 후 볶은 다음 80°C로 추출하여 농도별(0.001mg/kg ~ 100.0mg/kg)로 정맥내 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 4).

대조군의 국소뇌혈류량을 100.00±0.08(%)로 환산하였을 때 시료 0.001mg/kg을 투여한 실험군은 124.10±0.12(%)로 대조군보다 증가되었지만 유의성은

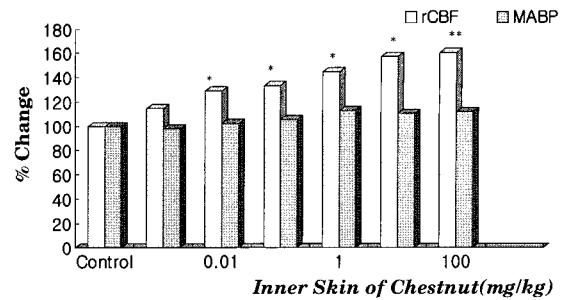


Fig. 4. Effects of inner skin of chestnut-pan-broiled after dried-extract(80°C) on the rCBF and MABP in rats. The legends are the same as Fig. 1. *: Statistically significance compared with control group(*: P<0.05, **: P<0.01).

인정되지 않았지만 0.01mg/kg을 투여한 실험군은 145.22±0.13(%), 0.1mg/kg 투여군은 146.06±0.12(%), 1.0mg/kg 투여군은 155.38±0.11(%), 10.0mg/kg 투여군은 166.21±0.13(%)로 대조군보다 유의성(P<0.05) 있는 증가현상을 나타내었으며, 100.0mg/kg을 투여한 실험군도 172.70±0.11(%)로 대조군보다는 유의성(P<0.01) 있는 증가현상을 나타내었다.

대조군의 평균혈압을 100.00±0.05(%)로 환산하였을 때 시료 0.001mg/kg, 0.01mg/kg과 0.1mg/kg을 투여한 실험군은 각각 97.20±0.05(%), 97.77±0.04(%), 98.55±0.05(%)로 대조군보다 감소하는 경향을 나타내었으나 1.0mg/kg과 10.0mg/kg을 투여한 실험군은 각각 100.88±0.05(%), 101.67±0.04(%)로 대조군과 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 100.0mg/kg을 투여한 실험군은 105.35±0.03(%)로 대조군보다 증가되는 경향을 나타내었다. 그러나 모든 실험군에서 유의성은 인정되지 않았다.

5. 밤속껍질 추출액이 흥선세포 증식율에 미치는 효과

밤속껍질이 면역세포중 흥선세포의 증식율에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 각각의 밤속껍질 추출액을 정상동물과 L1210 세포가 이식된 암종동물에 7일 동안 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 5).

정상동물에 있어 대조군의 흥선세포의 증식율을 100.0±1.2(%)라 하였을 때 실험군 A의 흥선세포 증식율은 94.8±2.1(%), 실험군 B의 흥선세포 증식율은 79.9±0.5(%), 실험군 D의 흥선세포 증식율은 93.1±1.4(%)로 대조군보다 감소되는 경향을 나타내었으나 실험군 C의 흥선세포 증식율은 99.9±1.2(%)로 대조군과 유사한 결과를 나타내었다.

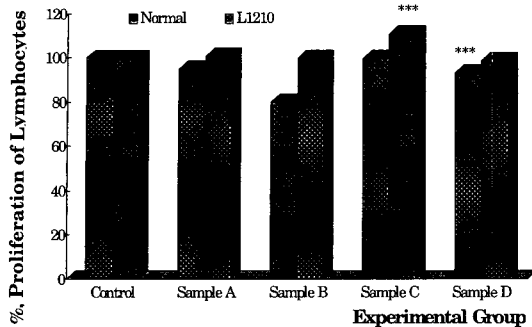


Fig. 5. Effects of inner skin of chestnut on the proliferation of thymocytes in normal mice and cancer mice. Normal: Group non-transplanted L1210 cells in mice, L1210: Group transplanted L1210 cells(2×10^6 cells/mouse) in mice, Control: DDW 0.2ml were administered p.o. 7 days, Sample A: Inner skin of chestnut-panbroiled after dried-extract(100°C) 0.2ml were administered p.o. 7 days, Sample B: Inner skin of chestnut-panbroiled-extract(100°C) 0.2ml were administered p.o. 7 days, Sample C: Inner skin of chestnut-panbroiled after dried-extract(80°C) 0.2ml were administered p.o. 7 days, Sample D: Inner skin of Chestnut-panbroiled-extract(80°C) 0.2ml were administered p.o. 7 days. *: Statistically significance compared with control group(***: $P < 0.001$).

한편, L1210 세포가 이식된 암종동물에 있어 대조군의 흉선세포 증식율을 $100.0 \pm 0.3(\%)$ 라 하였을 때 실험군 A, 실험군 B, 실험군 C의 흉선세포 증식율은 각각 $100.9 \pm 1.4(\%)$, $99.6 \pm 0.4(\%)$, $98.7 \pm 1.8(\%)$ 로 대조군과 유사한 결과를 나타내었으나 실험군 C의 흉선세포 증식율은 $110.9 \pm 1.2(\%)$ 로 대조군에 비해 유의성($P < 0.001$) 있는 증가현상을 나타내었다.

고 찰

두뇌의 정신활동은 나이가 들어감에 따라 생리적인 뇌위축으로 지적 기능이 저하되고, 심할 경우 기억력 및 지능이 저하되기도 한다. 이러한 이유로 현대사회에서는 뇌세포의 기능 및 뇌혈류량의 저하에 따른 사회적인 문제들이 대두되고 있다⁶⁾.

뇌는 지속적으로 glucose($150\text{gm}/24\text{hr}$)와 산소($72\text{l}/24\text{hr}$)를 분당 약 1l 씩 박출하는 심장으로부터 공급되는 혈액에 의존하는데, 만약 산소가 차단되면 정

상적인 뇌기능은 8~10초 정도만 유지될 뿐 6~8분이 지나면 신경계의 손상이 초래된다. 또한 일반적으로 뇌혈류(cerebral blood flow, CBF)는 분당 $700 \sim 840\text{ml}$ 가 흐르게 되며, 이는 뇌관류압(평균동맥압-평균뇌정맥압)/뇌혈관저항으로 나타낼 수 있다⁷⁾. 그렇기 때문에 혈압이 상승될 경우에는 뇌혈관의 저항(뇌혈관의 직경감소, 혈액점도의 저하)이 감소되고, 혈압이 하강하게 될 경우에는 뇌혈관의 저항이 증가하게 되어 정상적인 뇌혈류를 유지한다.

그러나 만약 정상적인 뇌혈류가 공급되지 못하게 되면 허혈성 뇌질환이 발생하게 되는데, 이는 어떤 원인으로든 충분한 양의 혈액이 뇌로 흐르지 못한다든지 아니면 혈액내 산소농도가 떨어져 일시적으로는 정신을 잃은 후 운동마비·지각마비 등을 보이다가 약 30분 정도가 지나면 정상적으로 회복되는 뇌혈관 질환이다. 그러나 뇌허혈 상태가 심할 경우에는 대뇌 신경세포의 손상에 의해 혼수상태의 식물인간이 되기도 하고, 한편으로는 사회적 문제가 되고 있는 노인성 치매의 원인이 되기도 한다⁸⁻¹¹⁾.

면역은 인체내에 이물질의 침입이나 변이세포가 발생하였을 때 이물은 물론 새로이 발생된 변이세포를 비자기로 인식하여 처리하는 능력을 발휘함으로써 개체의 항상성을 유지하려는 현상을 말하는 것이다. 면역은 선천적 면역과 T세포와 B세포가 관여하는 후천적 면역으로 나누어지고, 면역반응에 따라 생체에 감염을 일으킨 세균이나 세균독소, virus 등과 직접 결합하여 용균 또는 독소, virus의 중화, 식균현상을 나타냄으로써 생체를 감염으로부터 방어하는 체액성 면역(humoral immunity)과 화학전달물질들을 분비하여 중앙세포나 virus 감염세포에 대해 직접적인 손상을 주는 세포매개성 면역(cell-mediated immunity)이 있다. 그 중 세포매개성 면역는 주로 T세포가 담당하는 것으로 알러지반응, 접촉피부염, 동종이식거부 등을 나타낸다^{9,12)}.

또한 암은 지금까지 알려져 있는 사망률중 가장 높은 비율을 차지하고 있기 때문에¹³⁾ 뇌질환과 같이 국내외적으로 많은 관심을 기울이고 있는 질환이다. 이를 치료하고자 수술요법·방사선요법·화학요법 및 면역요법과 유전자요법 등이 이용되고 있으나 수술요법과 방사선요법은 국소적인 치료법이기에 때문에 그 한계성이 있고, 화학요법도 화학약제의 독성 및 부작용을 해결하지 못한 실정이며, 전신요법인 면역요법도 치료방법이 정립되지 않은 상태이다¹⁴⁻¹⁶⁾. 그리하여 한방에서는 화학제제가 아닌 한약재를 이용해 면역세포의 기능을 증진시켜 암세포를 살상코자 하는

연구가 활발히 진행중에 있다^{17~19)}.

이에 산업폐기물로 처리되고 있는 밤속껍질을 각기 다른 방법으로 추출해 기능성 음용수로써의 개발 가능성을 확인하고자 세포배양성 면역세포인 흉선세포 즉, T세포를 중심으로 정상동물의 흉선세포 증식율과 암종이 유발된 병태동물의 흉선세포 증식율을 관찰하였고, 정상적인 뇌혈류의 증가상태를 관찰하고자 국소뇌혈류량 및 평균혈압을 살펴본 결과 다음과 같았다.

국소뇌혈류량의 경우 건조시킨 후 볶은 밤속껍질을 100°C에서 추출했을 경우에만 대조군에 비하여 감소되었을 뿐 그 외의 실험군에서는 증가되었다. 그 중에서도 건조시킨 후 볶은 밤속껍질을 80°C에서 추출한 추출액은 소량 투여시부터 유의성있는 증가현상을 나타내었고, 또한 평균혈압의 경우는 전반적으로 모든 밤속껍질 추출액에서 소량 투여시는 대조군보다 감소하는 경향을 보이다가 0.1mg/kg~10.0mg/kg에서는 대조군과 유사한 결과를 나타내었고, 대량 투여시에는 증가하는 경향을 나타내었다.

이와 같은 결과는 현재 시판되고 있는 녹차와 결명차차의 경우 성인이 평균 1pack(1.2g~1.5g)을 80°C의 물에 추출하여 마신다고 할 때, 건조시킨 다음 볶아 80°C에서 추출한 밤속껍질 추출액의 투여농도와 추출온도가 기존의 상품과 비슷한 결과로 이는 산업폐기물로 처리되고 있는 밤속껍질을 재활용하여 기능성 음용수로써 개발할 가치가 있다라는 것을 보여준다.

한편, 밤속껍질 추출액이 뇌혈류역학에는 유의한 결과를 나타내었다하더라도 면역세포의 증식에는 어떠한 영향을 나타내는지 알아보기로 정상동물과 암종이 유발된 병태동물의 흉선세포를 이용해 세포 증식율을 관찰한 결과 정상동물의 흉선세포 증식율은 건조 후 볶은 다음 80°C에서 추출한 추출액만이 대조군과 비슷한 결과를 나타내었을 뿐 다른 추출액을 투여한 실험군들은 모두 증식율이 감소되었고, 암종동물에서도 마찬가지로 건조시킨 후 볶은 다음 80°C에서 추출한 추출액만이 대조군의 흉선세포 증식율에 비해 유의성있는 증가현상을 나타내었다.

이는 뇌혈류역학에 유의한 결과를 보인 밤속껍질 추출액을 이용하여 음용수로 개발한다면 정상 면역세포에는 별다른 영향을 주지 않지만 뇌기능을 활성화시켜 기억력 감퇴 및 뇌허혈의 예방, 집중력 강화 등을 나타낼 수 있을 것으로 판단되며, 또한 암환자에게 있어서도 암종세포를 증식시키기 보다는 암종세포를 살상하는 T세포를 증식시켜 암치료의 보조 음용수로써도 그 효용가치가 있다할 것이다.

결 론

밤속껍질을 각기 다른 방법 {100°C에서 건조 후 볶은 시료(Sample A), 100°C에서 건조하지 않고 볶은 시료(Sample B), 80°C에서 건조 후 볶은 시료(Sample C), 80°C에서 건조하지 않고 볶은 시료(Sample D)}으로 추출해 음용수로써의 개발 가능성을 확인하고자 실험동물을 이용, 뇌기능 활성화에 관계되는 국소뇌혈류량 및 평균혈압을 관찰하고, 면역세포의 세포 독작용을 관찰하기 위하여 정상동물과 암종이 유발된 병태모델의 흉선세포 증식율을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 건조 후 볶은 다음 80°C에서 추출한 밤속껍질 추출액(0.1mg/kg~100.0mg/kg)은 농도의존적으로 국소뇌혈류량을 유의성있게 증가시켰다.
2. 건조 후 볶은 다음 80°C에서 추출한 밤속껍질 추출액(0.1mg/kg~10.0mg/kg)은 평균혈압을 변화시키지 않았다.
3. 건조 후 볶은 다음 80°C에서 추출한 밤속껍질 추출액은 정상동물의 흉선세포 증식율에 변화를 주지 않았다.
4. 건조 후 볶은 다음 80°C에서 추출한 밤속껍질 추출액은 암종동물의 흉선세포 증식율을 유의성있게 증가시켰다.

감사의 글

본 연구는 2001년도 농림부 첨단기술개발 사업에 의해 수행된 연구결과입니다.

참고문헌

1. 전병관, 정현우, 이종률, 지준명 : 밤속껍질에서 기능성 음료의 개발(Ⅱ) - 밤차, 현미녹차 및 결명차차가 생체 기능활성화에 미치는 효과 -, *한국식품영양학회지*, 13(5), 411~418 (2000).
2. Chen, S. T., Hsu, C. Y., Hogan, E. L., Maricque, H. and Balentine, J. D. : A model of focal ischemic stroke in the rat : reproducible extension cortical infarction, *Stroke*, 17, 738~743 (1986).
3. Wysocki, L. J. and Sato, V. L. : "Planning" for lymphocytes : A method for cell selection, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.*, 75(6), 2844~2848 (1978).
4. Mizel, S. B. and Rosenstreich, D. L. : Regulation of lymphocyte-activating factor(LAF) production and secretion in P388D1 cells : identification of high

- molecular weight precursors of LAF. *J. Immunol. Methods*, 122(6), 2173~2179 (1979).
5. Snedecor, G. H. and Cochran, W. G. : *Statistical Methods*, 6th ed. Amos, Iowa State Univ. (1967).
 6. 나영설, 윤상협, 민병일 : 최근 뇌졸중에 대한 역학적 고찰. *서울. 경희의학*, 7, 280~286 (1991).
 7. 대한신경외과학회 : *신경외과학*, 서울, 중앙문화사, 150~156, 275~276 (1998).
 8. 김기석 : 뇌, 서울, 성원사, 49~50 (1989).
 9. 김상호, 문형배, 서재홍, 정동규, 정상우 : *일반병리학*, 서울, 고문사, 51~54, 348~349 (1995).
 10. 대한병리학회:병리학, 서울, 고문사, 1263~1264 (1994).
 11. 이중달 : 그림으로 설명한 병리학, 서울, 고려의학, 740~743 (1990).
 12. 하대유 : *免疫學*, 서울, 高文社, 1~32 (1994).
 13. 대한의학협회 분과학회협의회 편저 : *암의 진단과 치료*, 서울, 麗文閣 (1992).
 14. Kim, S. H. : Clinical comparison with drug sensitivities by the human tumor clonogenic assay. *J. Kor. Cancer Assoc.* 21, 11 (1989).
 15. Park, C. G., Lim, D. K., Kook, Y. H., Cha, C. R. and Paik, C. G. : *In vitro* chemosensitivity of doxorubicin on human cancer cell lines. *J. Kor. Cancer Assoc.*, 22, 61 (1990).
 16. Willson, J. K. V., Bittner, G. N., Oberley, T. D., Meisner, L. F., & Weese, J. L. : Cell culture human colon adenomas and carcinomas. *J. Cancer Res.*, 47(10), 2704~2713 (1987).
 17. 柳東和 : 사물탕이 L1210세포 및 항암제를 투여한 마우스의 면역세포에 미치는 영향. *우석대학교 대학원(碩士)* (1998).
 18. 鄭鉉雨 : 內托光活湯이 腫瘍 및 免疫調節機能에 미치는 實驗的 研究. *圓光大學校 大學院(博士)* (1996).
 19. 金秀鎭 : 補中益氣湯 및 少陰人 補中益氣湯이 S-180에 대한 抗腫瘍效果와 Cyclophosphamide에 의한 副作用에 미치는 影響. *東醫病理學會誌*, 8(1), 119~136 (1993).

(2001년 8월 16일 접수)