

# 加味天麻鉤藤飲의 抗스트레스 效果에 對한 실험적 연구

박정준 · 김동희<sup>1</sup> · 이용구 · 김윤식 · 설인찬\*

대전대학교 한의과대학 순환기내과교실, 1:대전대학교 한의과대학 병리학교실

## The Study of KCG Extract Under the Anti-Stress Effect of Rats

Jung Jun Park, Dong Hee Kim<sup>1</sup>, Yong Gu Lee, Yoon Sik Kim, In Chan Seol\*

Department of Oriental internal medicine, College of Oriental Medicine, Taejeon University

1 : Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Taejeon University

To determine the anti-stress effect of KCG(加味天麻鉤藤飲)extract on sprague-dawley rats. we conducted a research about the change of weight, activity, reactivity , c-fos protein, cytotoxicity against PC12 cell line and heat shock protein. 1) KCG extract significantly inhibited the decrease of body weight induced by stress, compared with the control group. 2) KCG extract had no significant effect in the activity and reactivity of rats between the control and the experimental groups. 3) KCG extract significantly restrained c-fos protein manifestation, compared with the control group. 4) KCG extract significantly restrained heat shock protein, compared with the control group. These results suggested that KCG might be usefully anti-stress effect.

Key words : Stress, weight, activity, reactivity, c-fos protein, heat shock protein, anti-stress.

### 서 론

뇌졸중은 한의학적으로 중풍의 범주에 속하며 우리나라의 단일질환 사망률 1위<sup>1)</sup>를 차지하고 있다. 中風은 《內經》<sup>2)</sup>에 仆擊, 偏枯, 偏風 등으로 처음 기재된 후 風<sup>2,3)</sup>, 火<sup>4)</sup>, 氣虛<sup>5)</sup>, 濕痰<sup>6)</sup>, 瘀血<sup>7)</sup>, 肝風內動<sup>8)</sup> 등이 주요 원인으로 인식되었다. 한의학에서는 특히 五志過極, 心火暴甚 등 과도한 精神的 緊張도 內風을 일으킨다하여 精神的인 stress도 中風의 原因임을 일찍이 인식하였다<sup>2,4,6,9)</sup>. stress는 생체에 가해지는 여러 傷害 刺戟에 대하여 체내에서 일어나는 非特異的인 생물 반응이며, 생체내에 stress를 일으키는 상해 및 자극을 stressor라고 정의 할 수 있다<sup>10,11)</sup>. 天麻鉤藤飲은 肝陽上亢, 肝風內動으로 인한 中風, 頭痛, 眩暈, 癱瘓, 痿厥 등에 사용 處方<sup>12,13)</sup>으로, 崔<sup>14)</sup>는 家兔의 血壓 反應에 미치는 영향을, 鄭<sup>15)</sup>은 抗痲疾性 效果에 대한 실험적 연구를 하였고, 王<sup>16)</sup>은 中風 患者를 대상으로 임상적 고찰을 하였으며, 洪<sup>13)</sup>은 실험적 연구를 통해 고지혈증, 혈전, 뇌허혈 및 뇌손상에 대한 보호 효과를 보고하였으나 天麻鉤藤飲의 抗stress에 대한 연구는 없었다. 이에 저자는 加味天麻鉤藤飲의 stress억제 효과를 실험적으로 입증하고자 stress를 주기 1주일 전까지 加味天麻鉤藤飲을 7일간

경구 투여한 실험군과 stress를 1주일간 준 대조군에 대해서 체중의 변화 및 행동반응 등을 측정하고 paraventricular hypothalamic nucleus 부위의 c-fos단백질 및 heat shock protein을 평가한 결과 有意한 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

#### 1. 동물 및 약재

체중 200~220g의 sprague-dawley(대한바이오링크, Co)계 응성 백서를 실험당일까지 고형사료(조단백질 22.1%이상, 조지방 8%이하, 조섬유 5% 이하, 조회분 8%이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상 삼양사, Co)와 물을 충분히 공급하고 실온 22±2를 유지시키면서 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 약재는 대전대학교 부속 한방병원에서 구입한 후 정선하여서 사용하였으며, 加味天麻鉤藤飲의 구성 내용과 용량은 Table 1과 같다.

#### 2. 시약 및 기기

試藥은 dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS, sigma Co., U.S.A.), normal saline(중외제약, Korea), sodium chloride (Sigma Co., U.S.A), formalin (Sigma Co., U.S.A), diaminobenzadine (Sigma. Co., U.S.A.), primary sheep anti-fos antibody (Santacruz Co., U.S.A.) vectastain elite abc reagent

\* 교신저자 : 설인찬, 대전광역시 중구 대흥동 22-5, 대전대학교 부속한방병원  
E-mail : seolinch@dju.ac.kr Tel : 042-229-6700  
· 접수: 2001/12/28 · 수정: 2002/02/23 · 채택: 2002/03/18

(Vector Co., U.S.A.)를 사용하였다. 機器로는 clean bench(Vision scientific Co., KMC-14001), centrifuge(Beckman Co., U.S.A.), inverted microscope(Nikon Co., Japan), bright microscope (UFX-DX., Nikon), ELISA-reader(Emax., U.S.A), rotary vaccum evaporator(Buchi 461., Swiss), deep freezer(Sanyo Co., Japan), freeze dryer(Eyela Co., Japan), autoclave(Hirayama., Japan), micropipet (Gilson., France), autostill wg25(Yamata., Japan), titer plate shaker(Labline inst., U.S.A), culture flask(Falcon 3024, U.S.A.), multiwell plate(96-well, Falcon., U.S.A.), conical tube(Falcon., U.S.A.), disposable pipet(5ml, 10ml, 25ml, Falcon., U.S.A.), 등을 사용하였다.

Table 1. The Composition of KCG

藥材	生藥名	用量(g)
天 麻	gastrodiae rhizoma	4
鉤 藤	uncariae ramulus ET uncus	4
梔 子	gardeniae fructus	4
黃 芩	scutellariae radix	4
牛 膝	achyranthis bidentatae radix	4
杜 沖	eucommiae cortex	4
益 母 草	leonuri herba	4
桑 寄 生	taxifii ramulus	4
夜 交 藤	polygoni multiflori ramulus	4
白 茯 苓	poria	4
蚯 蚓	lumbricus	8
三 七 根	notoginseng radix	8
Total amount		56.0

3. 검액 조제 및 투여

加味天麻鉤藤飲 10첩 분량 560g을 깨끗이 씻어 3,000ml round flask에 넣고 증류수 2000ml을 넣었다. 3시간 가열하여 유출하고 침전물을 3회 여과(3M filter paper)한 후, 이 여과액을 rotary vaccum evaporator에서 감압 농축하였다. 이 round flask를 -84℃ deep freezer에서 1시간 동안 방치하고 freeze dryer로 동결 건조하여 건조추출물 30.8g을 얻어 실험에 필요한 농도로 생리식염수에 희석하여 사용하였다. 검액의 동물투여는 실험군 2군으로 나누어서 농도별로 각각 검액 25mg/kg/day(이하 실험군 A), 50mg/kg/day(이하 실험군 B)로 나누어 생리식염수에 용해시켜 1일 1회 14일간 경구투여 하였다. 대조군은 검액 대신 생리식염수를 경구 투여하였으며 구속 시에는 구속 직전에 1회씩 경구 투여하였다.

4. 구속 스트레스 부여 방법<sup>17-19)</sup>

백서 7마리씩을 한 군으로 하여 정상군, 대조군 및 검액 투여군(이하 실험군 A, B)으로 나누고, 대조군은 비닐로 꼬깔형의 구속틀(백서의 몸둘레 크기)을 만들어 1일 2시간씩 7일 동안 구속하였으며, 구속된 2시간동안에는 절식하였다. 실험군은 구속스트레스를 부여하기 7일전부터 1일1회씩 검액을 경구 투여한 후 대조군과 동일하게 구속하였으며, 구속시는 구속 30분전에 1회씩 검액을 경구 투여하였다.

5. PC12 세포의 세포독성 측정

PC12 cell (ATCC CRL 1721)은 rat의 adrenal pheochromocytoma에서 유래된 세포이며 최근 Alzheimer's disease의 실험에 사용되는 세포로서 한국인삼연초연구소에서 분양 받았다. 배지로는 RPMI 1640배지에 10% fetal bovine serum, 5% horse serum과 antibiotic 10ml (100,000 units penicillin, 100mg streptomycine, 250µg amphotericin)을 첨가한 배양액으로 37℃, 5%CO<sub>2</sub> 상태의 배양기에서 배양하였다. 그 후 PC12 cell을 단일세포상태로 만들어 96well plate의 각 well에 100µl(2×10<sup>4</sup> cells)씩 넣고 48시간 배양하였다. 검액은 250µg/ml, 500µg/ml 및 1000µg/ml 농도로 96wells plate의 각 well plate에 100µl씩 넣었다. 24시간 후에 다시 각 well 에 MTT용액을 10µl 씩 가한 다음 4시간 후에 DMSO 100µl을 가하여 570nm에서 흡광도를 측정하여 세포독성을 분석하였다.

6. 행동 측정

구속스트레스 후 행동측정은 plus-maze로 측정하였다. plus-maze는 불투명한 아크릴로 제작되었으며 십자형으로 중앙의 출발영역(central platform)을 중심으로 매 90도 각도(십자형)으로 뻗어 나온 형태이며, 중앙 출발영역은 정사각형으로 상자 높이는 30cm이다. 양쪽 십자형으로 나온 4개의 통로중에 2개는 개방되어 있으며 2개는 밀폐되어있다. 실험동물의 행동측정은 정상군, 실험군, 대조군 모두다 5분 동안 측정하되, 검액을 투여 후 뇌의 표본을 추출하기 직전에 측정하였고, 출발지점에서 개방형의 maze쪽으로 방문한 시간을 측정하여 %로 환산하였다.

7. 체중 측정

체중은 매일 측정하되, stress를 준 전 · 후로 측정하여 그 평균을 기록하였다.

8. Immunohistochemistry 및 조직검사

정상군과 실험군, 대조군 모두를 normal saline 100ml와 10% formalin용액 500ml(in PBS)를 심장을 통해 관류하였다. 처음 고정액 200ml는 5분간, 그리고 나머지 300ml는 25분간에 걸쳐 관류하였다. 그 다음 뇌를 적출하여 4% formalin (in PBS, pH 7.2-7.4)으로 3시간동안 고정시킨 후 20% sucrose가 함유된 PBS에 넣어 4에서 하루동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 microdissection of fresh rat brain tissue slices를 참고하여 30µm두께로 관상절편을 만들어 hippocampus부위를 분리하였다. PBS로 조직을 몇차례 씻은 다음에 fos expression연구에 가장 널리 사용되는 primary antisheep fos antibody(cambridge research biochemicals wilmington, DE, OA-11-8<sup>20)</sup>를 붙였다. primary antisheep fos antibody는 0.3% triton-X100(PBST)에서 2% rabbit serum과 0.001% kehole limpit hemocyanin(Sigma Co., U.S.A.)로 200배 희석하여 사용하였다. 뇌조직은 primary antiserum에 4℃에서 72시간 동안 교반하였다. 그 후 조직을 PBST로 씻은 다음, 2시간 동안 실온에서 2% normal rabbit serum을 함유하고 있는 PBST에서 200배로 희석한 biotinylated rabbit antisheep serum(vector laboratories, burlingame., CA)에

반응시켰다. PBST로 3번 헹구어 낸 다음, 뇌조직은 실온에서 2시간 동안 vectastain elite abc reagent(vector Co, U.S.A.)에 반응시켰다. PBS로 여러번 헹구어 낸 다음 조직을 착색제로 10mg diaminobensadine(Sigma Co, U.S.A.)를 사용하여 발색시켰다. 면역 조직 화학적으로 염색된 해마부위를 슬라이드에 얹어 permount로 조직을 고정하여 광학현미경으로 관찰하였다. 가로 세로 600 $\mu$ m의 격자로 지정하여 염색된 세포 수를 측정하였다.

9. Heat Shock Protein의 측정

실험방법은 Immunohistochemistry 측정과 동일하나 Hippocampus 부위를 관찰하였다.

결 과

1. PC12 세포의 세포독성

PC12세포에 대한 加味天麻鉤藤飲의 농도별 세포독성을 관찰한 결과 세포독성을 나타내지 않았다(Fig.1).

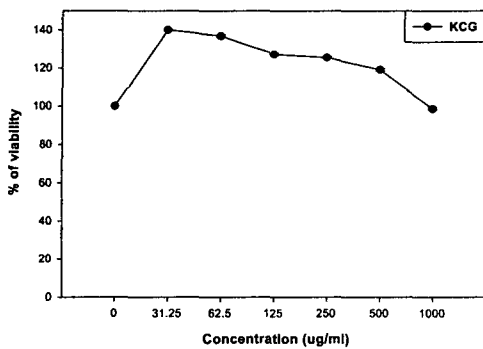


Fig 1. Cytotoxicity of KCG extract against PC12 cell line.

2. 체중의 변화

구속 stress에 의한 체중의 변화를 측정한 결과 정상군은 280 $\pm$ 5g, 대조군은 240 $\pm$ 5g으로 나타났고, 실험군 A는 260 $\pm$ 5g, 실험군 B는 250 $\pm$ 5g로 실험군 A에서만 유의성 있는 체중감소 억제 효과가 나타났다(Fig.2).

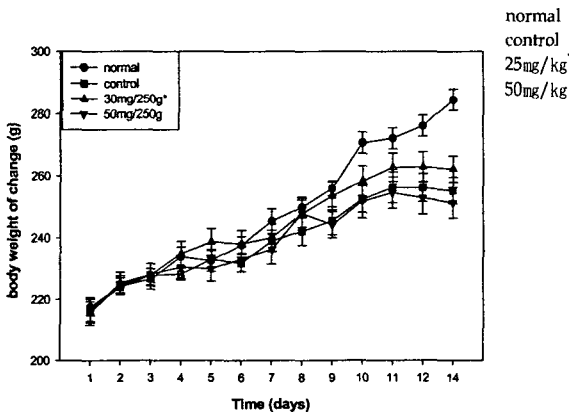


Fig.2. Effect of Kamicheonmagudoonguem(KCG) on the body weight of rats in immobilization stress. \*: Statistical significance compared with control data. (\*: p<0.05). Normal group ; none stress. Control group ; Immobilize stress alone, Immobilize stress with KCG treatment(25mg/kg:Treat A , 50mg/kg:Treat B)

3. 행동의 측정

Stress를 준 대조군은 plus-maze 상에서 측정한 결과 정상군에 비해서 운동성이 다소간 둔화되었고, 반응도도 낮게 나타났으며, 加味天麻鉤藤飲투여군도 유의성이 없었다(Fig.3).

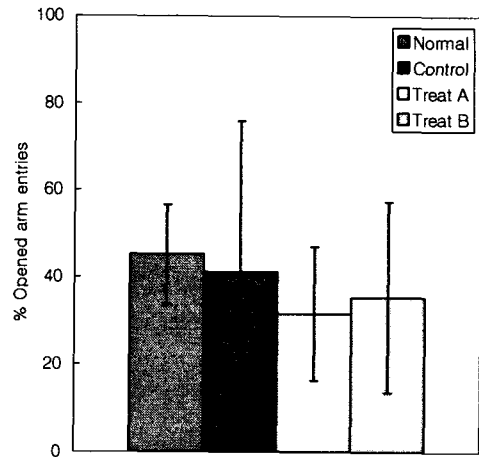


Fig. 3. Mean activity and reactivity in the open arm exploration in the elevated plus-maze. Normal group ; none stress. Control group ; Immobilize stress alone, Immobilize stress with KCG treatment(25mg/kg ; Treat A , 50mg/kg ; Treat B)

4. c-fos protein의 측정

정상군(A)에서는 C-Fos 단백질의 발현이 30 $\pm$ 10으로 나타났고, stress를 가한 대조군(B)에서는 220 $\pm$ 10으로 나타났다. 실험군 A(C)는 130 $\pm$ 1, 실험군 B(D)에서는 80 $\pm$ 10으로 c-fos 단백질의 생성이 유의성 있게 억제되었다(Fig. 4, 5).

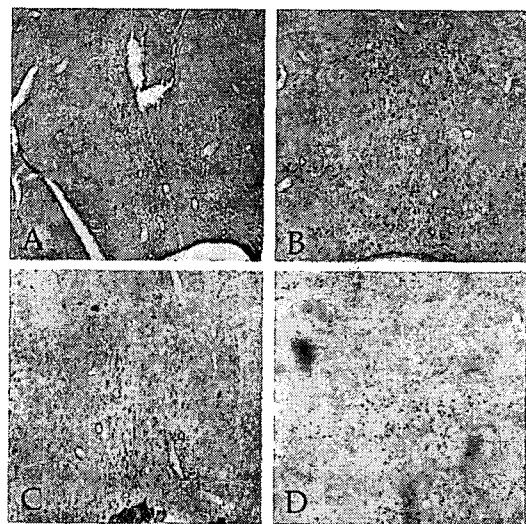


Fig. 4. c-fos immunoreactivities of paraventricular hypothalamic nucleus. A :Normal group. B :immobilization stressed alone(stress control group), immobilization stress with KCG treatment (C : 25mg/kg ; Treat A, D :50mg/kg ; Treat B)

5. Heat Shock Protein의 측정

Stress를 가한 대조군(B)은 340개의 HSP가 나타나서, 정상군(A)의 25개에 비해서 월등히 많은 빈도를 보인 반면에, 실험군 A

는 280개로 대조군에 비해서 감소한 양상을 보였고, 특히 실험군 B는 150의 HSP가 나타나서 유의성이 나타났다(Fig. 6, 7).

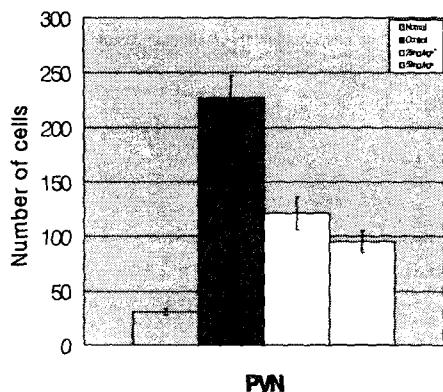


Fig. 5. Expression of c-fos protein induced ; significant difference from control value ( $p < 0.01$ ). Normal group : none stress, Control group : Immobilize stress alone, Immobilize stress with KCG treatment(25mg/kg : Treat A, 50mg/kg : Treat B)

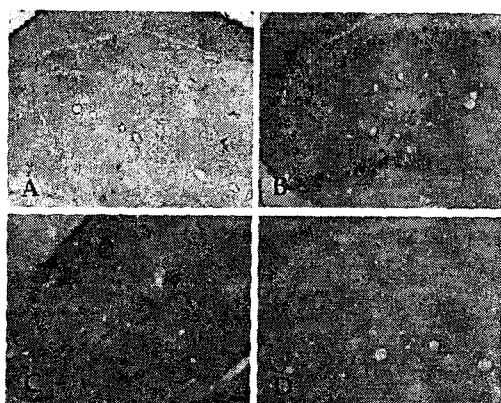


Fig. 6. HSP72 immunoreactivities of hippocampal neurons. Normal group(A), Immobilization stressed alone(Stress Control group:B), Immobilization stress with KCGY treatment (30mg/250g sample group :C, 50mg/250g sample group:D)

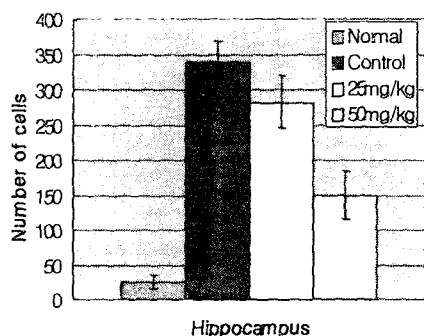


Fig. 7. Expression of HSP72. Normal group : none stress, Control group : Immobilize stress alone, Immobilize stress with KCG treatment(25mg/kg : Treat A, 50mg/kg : Treat B); significant difference from control value ( $p < 0.01$ ).

## 고 찰

中風은 卒然昏到, 人事不省, 口眼喎斜, 言語不利 및 半身不隨 등을 特徵으로 하는 急症의 一種으로 서양의학적으로 뇌혈관

의 색전, 혈전 또는 과열 등으로 인해 意識障礙, 運動 및 感覺障礙 등을 主症狀으로 하는 뇌신경증후군에 속한다<sup>9, 20, 21</sup>. 中風은 《內經》<sup>2</sup>에서 ‘仆擊’, ‘偏枯’, ‘偏風’ 등으로 처음 기재되었고, 張이 《金匱要略》<sup>3</sup>에서 최초로 中風이라 언급한 이래 唐宋 이전까지는 外風學說이 주류를 이루었으나, 金元時代에 이르러 劉<sup>6</sup>가 主火說을 제창하면서 內風學說이 등장하기 시작하여 風<sup>23</sup>, 火<sup>4</sup>, 氣虛<sup>5</sup>, 濕痰<sup>6</sup>, 瘀血<sup>7</sup>, 肝風內動<sup>8</sup> 등이 主要因으로 인식되었다. 그 중 火와 肝風內動은 현대적인 stress 개념과 연관성이 깊어, 病理學的으로는 五志가 過極하여 心火가 暴甚하면 內風이 動하여 卒中을 일으킨다고 보았다. 또한 暴怒로 인하여 肝陽이 暴亢하고 氣火가 다 浮하여 迫血上涌하면 中風이 발생하며, 憂思悲恐에 이르는 과도한 精神的 緊張도 모두 中風의 원인<sup>9</sup>이 된다고 하였다. 《素問·生氣通天論》<sup>2</sup>에서는 “大怒則形氣絕, 而血菀于上, 使人薄厥”이라 하여 지나친 정신적 긴장이 中風의 원인이 된다고 하였으며, 劉<sup>4</sup>는 “中風癱瘓者, ..., 心火暴盛, 腎水虛衰, 不能制之, ..., 卒倒無所知也.”라 하여 역시 정신적 stress가 中風을 유발 시킴을 밝혀 stress로 인한 中風 발생을 설명하였다. 朱<sup>9</sup>는 “五志之火, 因七情以起, 鬱以成痰”이라 하여 氣鬱의 상황에서 火와 痰의 상관관계에 따른 病因을 말하여 五志의 변화로 인한 精神的 抑鬱이 질병이 되는 양상을 설명하였다. stress는 H. Selye가 처음으로 보고하였는데, 그는 실험실의 동물들을 여러 stressor들에 노출시킨 결과, 이로 인하여 나타나는 다양한 신체 반응을 stress증후군으로 개념화하였다. 이런 stressor들에 대하여, 유기체는 소모반응인 비 특이적인 반응이 일정한 단계 즉 경각반응단계, 저항단계, 고갈단계를 거쳐서 나타난다고 했고, stress에는 내분비계 특히 시상하부-뇌하수체-부신을 軸으로 여러 가지 호르몬이 분비되어 전신에 작용하여 반응이 일어나서 stress작용의 유해한 영향을 최소한으로 저지시키려고 하는데, 이 반응은 원래 신체가 외계의 변화에 적응하기 위한 중추이므로 전신범적응증후군(general adaptation syndrome)이라고 하였다<sup>22-26</sup>. 서양의학에서 말하는 stress인지는 한의학의 內人, 外因, 不內外因과 부합되는 일면을 가지고 있으며<sup>27</sup>, 특별히 病因작용을 하는 경우는 그것들이 過度하거나 생체자체의 저항력이 약해졌거나, 혹은 이들의 복합적인 원인으로 인한 경우에 나타날 수 있다. 이 가운데 七情은 구체적인 정신활동의 표현으로 정상적인 상황 아래에서는 그 변화에 節度가 있어서 무해하나, 만약 이러한 것이 지나치면 정신에 과도한 자극을 주어 정상적인 생리변화에 영향을 미쳐 질병이 발생하는데 이것이 현대의학에서 말하는 감정 stress라고 할 수 있다<sup>10, 25</sup>. stress에 대한 동양의학적 연구는 주로 方劑약물을 이용한 抗stress의 연구로서, 血中, 혹은 尿中의 catecholamine 함량 변화와 위궤양에 미치는 영향에 대한 것들이 보고되어 있다<sup>28</sup>. 天麻鉤藤飲은 《雜病證治新義》<sup>12</sup>에서 “治肝陽上亢 肝風內動所致的 頭痛, 眩暈, 震顫, 失眠, 甚或半身不遂, 舌紅, 脈弦數”이라 수록된 이후 임상에서 眩暈, 不眠症, 高血壓, 中風, 癱症, 驚厥등에 應用되고 있다<sup>13</sup>. 加味天麻鉤藤飲은 本處方에 鎮驚, 通絡作用이 있는 蚯蚓<sup>29, 30</sup>과 散瘀消腫作用이 있는 三七根<sup>29, 30</sup>을 加味한 處方이다. 加味天麻鉤藤飲의 구성 약물을 살펴보면 平肝熄風, 定驚止癇하는 天麻, 鉤藤, 石決明과 清熱

瀉火하는 梔子, 黃芩, 養心安神시키는 夜交藤, 白茯神 등이 主劑로 되어 있어 精神的·肉體的 緊張을 緩和시킬 수 있는 方劑라고 사료된다. 天麻鉤藤飲에 대한 연구로 崔<sup>14)</sup>는 家兔의 血壓反應에 미치는 영향을, 鄭<sup>15)</sup>은 痼疾性 效果에 대한 實驗的 연구를 하였고, 王<sup>16)</sup>은 中風 患者를 대상으로 臨床的 考察을 하였으며, 洪<sup>13)</sup>은 實驗的 연구를 통해 고지혈증, 혈전, 뇌허혈 및 뇌손상에 대한 보호효과가 있는 것으로 보고하였으나 天麻鉤藤飲의 抗stress에 대한 연구는 없었다. 이에 저자는 加味天麻鉤藤飲을 투여한 후, 체중변화, 행동반응, c-fos 단백질, 세포독성, HSP의 변화를 지표로 한 抗stress의 효과를 연구 검토하였다. stress에서의 신경원세포 손상에 관여하는 분자생물학적 기전은 뇌세포 단백질 합성의 저하와 아주 특정한 유전자의 선별적인 발현이 유도되는 것으로 알려져 있는데, 흥분성 신경전도 물질인 glutamate가 과도하게 분비되면 신경원 세포의 이온통로가 열리게 되고, 동시에 glutamate수용체, 특히 NMDA receptor(N-Methyl-D-Aspartate, NMDA)가 칼슘의 세포내 유입을 증가시킴으로서 칼슘의존형 protein kinase등이 활성화되어, c-fos, c-jun등을 비롯한 초기반응 유전자(immediate early gene, IEG)가 발현되고, 결국은 c-fos, c-jun등의 초기유전자 단백질을 유도하여 후기 세포사망을 초래하는데, c-fos는 이러한 초기유전자 단백질에서 가장 흔히 나타난다. 이러한 일련의 stress에 대한 반응과정 중에 세포의 보호작용과 재형성을 위하여 HSP72, ubiputin등의 stress 단백질이 생성된다. HSP72는 HSP의 종류를 분자량과 서열상동성(sequence homology)에 따라 분류한 것으로서, HSP72는 stress 표지자로 신경원 세포를 보호하기 위하여 발현된다<sup>31, 32)</sup>. 따라서 이들의 관찰은 stress를 측정하는 중요척도가 된다. stress에 의한 체중의 변화를 관찰한 결과, 본 실험에서는 실험군 A에서 유의성 있는 체중감소 억제 효과가 나타났다. 실험군 B는 용량이 더 많음에도 유의성 있는 체중감소 억제효과를 보이지 않아서 일정한 용량에서만 유의성을 나타낼 수 있다. stress에 의한 행동 반응을 측정한 결과 stress를 준 대조군은 정상군에 비해서 운동성이 다소간 둔화되었고, 반응도도 낮게 나타났으며, 실험군도 유의성 없이 낮게 나타났(Fig. 3). 스트레스를 받은 대조군의 행동 및 반응 저하는 기대된 양상이나 실험군에서 나타난 행동의 둔화 및 반응의 저하는 加味天麻鉤藤飲이 고혈압이나 경련 증상에 사용되는 처방으로 볼 때 오히려 의미있는 것으로 생각된다. c-fos protein 측정의 결과, 실험군A는 130±10, 실험군B는 80±10으로 나타나 대조군에 비해 유의성 있는 억제효과를 나타냈으며, 이는 加味天麻鉤藤飲이 스트레스로 인해 발생하여 세포사망을 일으키는 c-fos, c-jun등의 초기유전자 단백질을 효과적으로 억제하여 세포손상을 방지하는 것으로 생각된다. Heat Shock Protein 측정의 결과 stress를 가한 대조군은 340개의 HSP가 나타나서 정상군의 25개에 비해서 월등히 많은 빈도를 보인 반면에, 실험군 A는 280개로 대조군에 비해서 감소한 양상을 보였고, 특히 실험군 B는 150의 HSP가 나타나서 유의성이 나타났다(Fig. 6, 7). 이는 stress를 받은 대조군이 세포 보호 및 재생을 위해 HSP를 다량 생성한 것에 비해 실험군 B의 경우는 절반도 안되는 HSP를 생성하여 똑같은 스트레스를 받았을 경우 加味天

麻鉤藤飲을 투여 받은 白鼠가 스트레스에 대해 받는 세포손상의 정도가 훨씬 작다는 것을 의미하는 것으로 생각된다.

이상을 종합해보면 加味天麻鉤藤飲은 stress로 인한 체중감소를 방지하고 세포 손상을 초래하는 c-fos등의 발현을 억제하며, stress로 인한 세포손상을 막아 HSP등의 실험에서 유의성 있는 억제효과를 나타내었고, 약물독성을 일으키지 않았으며, 체중감소 억제의 효능도 있으므로, 加味天麻鉤藤飲은 stress를 받았을 경우 야기되는 中風, 고혈압 이외에도 정신적인 자극을 억제하는데 유의성이 있을 것으로 여겨지고, 또한 이 실험을 통하여 stress에 대하여 한의학적으로 安神, 平肝, 滋養肝腎의 治法에 의한 접근이 유의할 수 있다는 결과를 알 수 있으므로 이와 관련하여서 加味天麻鉤藤飲을 사용할 수 있으리라 사료된다.

## 결론

加味天麻鉤藤飲의 stress에 대한 억제효과를 실험적으로 입증하고자, 加味天麻鉤藤飲을 7일간 경구 투여한 실험군과 구속 stress를 1주일간 준 대조군에 대해 체중, 행동변화 및 세포독성을 측정하고, paraventricular hypothalamic nucleus와 hippocampus 부위를 절편하여 면역염색을 하여 c-fos 및 heat shock protein을 평가하여 얻은 결론은, 加味天麻鉤藤飲 실험군 A에서 대조군에 비해 유의성 있는 체중감소 억제효과가 나타났고, 행동반응에서 대조군에 비해 유의성이 없었다. 또 c-fos 단백질의 발현을 대조군에 비해 유의성 있게 억제하였으며, heat shock protein을 대조군에 비해 유의성 있게 억제하였다.

이상의 결과로 보아 加味天麻鉤藤飲은 心火나 五志過極등 과도한 精神的 緊張으로 인한 中風, 頭痛, 眩暈 등에 활용될 수 있으나 그 작용 기전에 대해서는 앞으로 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. 統計廳 : 死亡原因統計年譜, 大田, 統計廳, pp.16-17, 1999.
2. 馬元臺·張隱庵: 黃帝內經, 臺北, p44~47, 276, 230, 401, 臺聯國風出版社 民國70年.
3. 張仲景: 金匱要略, 서울, 成輔社, pp.30-34, 1985.
4. 劉河間: 河間醫集, 北京, 人民衛生出版社, P370, 1995.
5. 李 杲: 東垣十種醫書, 臺北, 五洲出版社, pp.67,68, 1981.
6. 朱震亨: 丹溪心法附餘, 서울, 大星文化社, p.378, 1982.
7. 王清任: 醫林改錯, 서울, 一中社, pp.61-65, 1992.
8. 葉天士: 臨証指南醫案, 香港, 商務印書館, pp.1-31, 1976.
9. 전국한의학대학심계내과학교실 : 심계내과학, 서원당, pp420-435, 1999.
10. 金知赫, 黃義完 : Stress에 關한 韓醫學的 理解, 심신학회지, 1(1):120, 1993. 徐舜圭 : 成人病, 老人醫學, 서울, 고려의학, p6, 1992.
11. 민병일 譯(호식게이코 著) : 스트레스와 면역, 서울, 電波科學社, p.23, 1994.

12. 黃文東 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, p.413, 426, 521, 583, 610, 1984.
13. 洪 碩 : 加味天麻鉤藤飲의 血栓症 腦虛血症 및 腦損傷에 對한 實驗的 研究, 대전대학교 대학원, 1999.
14. 崔 賢: 天麻鉤藤飲이 家兔 혈압반응에 미치는 영향, 원광대학교 대학원, 1981.
15. 鄭大永 : 天麻鉤藤飲의 抗癱疾性혈 效果에 對한 實驗的 研究, 원광대학교 대학원, 1997.
16. 왕덕중 : 中風에 있어서 加味天麻鉤藤飲의 臨床的 效能에 對한 考察, 해화의학2(1):62-74, 1991.
17. Iukhananov R. I., Pozhanets V. V. and Maiskii A. I. : Effects of ethanol on the concentration of neuropeptides, ATCH and corticosterone during immobilization stress, Bull Exp. Biol. Med., 108:455~457, 1989
18. Kaneda, N., Asano M. and Nagatsu T. : Simple method for the simultaneous determination of acetylcholine, choline, noradrenaline, dopamine and serotonin in brain tissue by high performance liquid chromatography with electrochemical detection, J. of Chromatography with electro chemical detection, J. of Chromatography, 360:211-218, 1986.
19. Nakamura M., Kamata K., Inoue H. and Inaba M. : Effects of opioid peptides administered in conscious rats on the changes of blood adrenal levels caused by immobilization stress, Jap. J. Pharmacol., 50:354-356, 1989.
20. 大韓神經外科學會 : 神經外科學, 서울, 中央文化社, p.275, 1998.
21. 方藥中 외 : 實用中醫內科學, 上海, 上海中醫醫學院出版社, pp.414-424, 1986.
22. 金根宇, 具炳壽 : 抗stress 실험에 관한 비교연구, 동의신경정신과학회지, 8(1):111-125, 1997.
23. Selye. H : Stress of Life, Toronto, Longmans, Green & Co., pp.1-50, 1958.
24. 이원철, 구병수 : 越鞠丸 및 越鞠丸加味方의 抗stress 效果에 관한 실험적 연구, 대한한의학회지, 17(1):160-168, 1996.
25. 黃義完 : 心身症, 서울, 杏林出版社, pp. 33-37, 43-49, 1985.
26. 閔聖吉 : 最新精神醫學, 서울, 一潮閣, p. 85, 304, 318, 1991
27. 陳 言 : 陳無擇三因方 卷2, p.6, 臺北, 臺聯國風出版社, 1978.
28. 이승기, 김종우, 황의완 : 香附子八物湯이 拘束스트레스 환경의 抗스트레스와 免疫反應에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(1):81~92, 1997.
29. 姜秉秀 外 : 本草學, 서울, 永林社, pp.167-168, 178-197, 287-288, 302-304, 400-401, 422-423, 427-428, 499-519, 556-557, 1998.
30. 呂圭源·三一濤 : 中藥新產品開發學, 北京, 人民衛生出版社, pp.909-912, 1997.
31. 이상관·성강경 : 天麻傳蝎湯의 抗癱疾效果에 對한 實驗的 研究, 동의생리병리학회지, 15(3) : P419, 2001.
32. Nowak. T. S : Jr. Synthesis of heat shock/stress proteins during cellular injury, Ann NY Acad Sci, 679 : 142~156, 1993.