

# 八物湯이 腦血流力學 변화에 미치는 작용기전

박철훈 · 김계엽 · 정현우\*

동신대학교 한의과대학

## Mechanism of *Palmul-Tang* on the Change of Cerebral Hemodynamics in Rats

Cheol Hun Park, Gye Yeop Kim, Hyun Woo Jeong\*

College of Oriental Medicine, Dongshin University

This experimental study was designed to investigate the mechanism of *Palmul-Tang*(PMT) on the changes of cerebral hemodynamics in rats. The changes of cerebral hemodynamics in normal rats were as follows ; The PMT-induced increase in regional cerebral blood flow was significantly inhibited by pretreatment with indomethacin(1 mg/kg, i.p.), an inhibitor of cyclooxygenase, and was inhibited by methylene blue(10  $\mu$ g/kg, i.p.), an inhibitor of guanylate cyclase. The PMT-induced dilation in pial arterial diameter was significantly inhibited by pretreatment with indomethacin and methylene blue. The PMT-induced increase in mean arterial blood pressure was significantly inhibited by pretreatment with indomethacin but was increased by methylene blue. This results were suggested that the mechanism of PMT was mediated by cyclooxygenase. The changes of cytokine production in cerebral ischemic rats were as follows ; In cytokine production of serum by drawing from femoral arterial blood after middle cerebral arterial occlusion 1 hr, sample group was decreased IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  production compared with control group, IL-10 production of sample group was similar to that of control group, but sample group was significantly increased TGF- $\beta$  production compared with control group. In cytokine production of serum by drawing from femoral arterial blood after reperfusion 1 hr, sample group was significantly decreased IL-1 $\beta$  production compared with control group and decreased TNF- $\alpha$  production compared with control group. IL-10 production of sample group was similar to that of control group, but sample group was significantly increased TGF- $\beta$  production compared with control group. In cytokine production of serum by drawing from femoral arterial blood after reperfusion 4 hrs, sample group was significantly decreased IL-1 $\beta$  production compared with control group, but IL-10 production of sample group was similar to that of control group. sample group was increased TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  production compared with control group. These results suggested that PMT had inhibitive effect on the brain damage by inhibiting IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  production, but by accelerating TGF- $\beta$  production. The present author thought that PMT had an anti-ischemic effect through the improvement of cerebral hemodynamics and inhibitive effect on the brain damage.

Key words : *Palmul-Tang*, cerebral hemodynamics, cyclooxygenase, guanylate cyclase cytokines production

### 서 론

補氣의 四君子湯과 補血의 四物湯을 合方한 八物湯은 氣血을 雙補할 목적으로 구성되어 있기 때문에<sup>1)</sup> 虛勞 및 氣血兩虛 등

으로 발생하는 만성질환에 陰陽을 조화롭게 하기 위해 사용하여 왔다<sup>2,5)</sup>. 八物湯에 관한 연구를 살펴보면 알리지 반응 억제<sup>6)</sup> 및 사이토카인 생성능<sup>7)</sup>에 미치는 효과 등이 보고되어 있고, 최근에 이르러 박 등<sup>8)</sup>은 八物湯이 뇌연막동맥의 직경을 확장시킴으로써 뇌혈류량을 증가시켰으며, 이로 인해 뇌허혈로 나타난 뇌혈류의 불안정한 변동을 유의성있고 안정적으로 개선시켰다고 보고하였다.

현대 사회는 사회생활의 다양화와 식생활의 변화, 공해식품의 범람 및 정신적 스트레스, 오염물질의 과다섭취로 인한 뇌혈

\* 교신저자 : 정현우, 전남 나주시 대호동 252, 동신대학교 한의과대학

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

· 접수 : 2004/09/24 · 수정 : 2004/10/21 · 채택 : 2004/11/24

류 장애가 급증하고 있어 뇌혈류에 관련된 연구 결과들이 보고되고 있다<sup>9,12)</sup>.

이에 저자들은 시대적 요구에 부응하기 위해 기존의 효과가 발표된 八物湯의 작용기전을 밝히고자 혈관확장 억제제를 전처치한 후 본방을 투여하여 변화되는 뇌혈류역학을 관찰하고, 이와 동시에 뇌허혈 병태모형을 유발시킨 후 혈청에서 생산되는 항염증 사이토카인과 염증 매개 사이토카인을 측정하여 결과 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

동물은 체중 300 g내외의 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 확인 실험 동물 센터에서 구입하여 사용하였다. 동물은 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 교형사료(삼양주식회사, Korea)와 1차 증류수를 충분히 공급하면서 실험실 환경(실내온도 24±2 °C, 습도 55±5 %, 12 시간 dark/light)에 적응시킨 후 사용하였다.

#### 2) 약재

실험에 사용된 약재는 동신대학교 부속 광주한방병원에서 구입한 후 정선해서 사용하였고, 八物湯의 구성약물은 『方藥彙編』에 수록된 처방을 근거로 하였으며, 분량 및 생약명은 다음과 같다<sup>2,13)</sup>(Table 1).

Table 1. Prescription of Palmul-tang(PMT)

Herbal Name	Quantity(g)
人 蔘 <i>Ginseng Radix</i>	4.8
白 朮 <i>Atractylodis Macrocephalae Rhizoma</i>	4.8
白 茯苓 <i>Poria</i>	4.8
甘 草 <i>Glycyrrhizae Radix</i>	4.8
熟地黃 <i>Rehmanniae Radix Preparat</i>	4.8
白芍藥 <i>Paeoniae Radix Alba</i>	4.8
川 芎 <i>Cnidii Rhizoma</i>	4.8
當 歸 <i>Angelicae Gigantis Radix</i>	4.8
Totality	38.4

### 2. 방법

#### 1) 검액의 조제

八物湯(Palmul-tang, 이하 PMT라 함) 2 첵 분량인 76.8 g을 3,000 ml 환저 플라스크에 증류수 1,500 ml와 함께 120 분 가열하고 전탕액을 여과지로 여과하여 5,000 rpm으로 30 분 원심분리하여 상청액을 취하였다. 그 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)에 넣어 감압 농축한 후 freeze dryer로 동결 건조시켜 19.6 g(수득율 25.5 %)을 얻어 검액으로 사용하였다.

#### 2) 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변화에 미치는 기전 관찰

PMT가 rCBF, PAD 및 MABP 변화에 미친 작용기전을 알아보기 위하여 prostaglandin의 생성효소인 cyclooxygenase 억제제 indomethacin(1 mg/kg, i.p., Sigma I7378) 그리고 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)의 생성효소인 guanylate cyclase 억제제 methylene blue(10 µg/kg, i.p., Sigma M9140)를

전처치한 후 아래와 같은 방법으로 측정하였다<sup>14)</sup>.

#### (1) 국소 뇌혈류량 변화 측정

흰쥐를 stereotaxic frame(DKI, U.S.A.)에 고정시키고 정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 bregma의 4~6 mm 측방, -2~1 mm 전방에 직경 5~6 mm의 두개창 수술을 시행하였다. 이때 두개골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막의 출혈을 방지하도록 하였다. Laser doppler flowmeter (Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe(직경 0.8 mm)를 대뇌(두정엽) 피질 표면에 수직이 되도록 stereotaxic micromanipulator를 사용하여 뇌연막 동맥에 조심스럽게 근접시켰다. 일정시간 동안 안정시킨 후 실험 protocol에 따라 PMT를 농도별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 국소 뇌혈류량(regional cerebral blood flow, rCBF)을 각각 30 분 동안 측정하였다<sup>15)</sup>.

#### (2) 폐쇄 두개창 설치

흰쥐의 체위를 복외위로 변경시키고 두부를 stereotaxic frame에 고정시킨 다음 정중선을 따라 두피를 절개한 후 두개골의 관상 봉합 미측 두정골에 saline-cooled drill(Dremel, USA)을 사용하여 craniotomy(5×5 mm)를 시행하였다. 뇌경막과 지주막을 절개하여 제거함으로써 뇌연막 표면을 노출시키고, craniotomy 주위를 dental acrylic으로 둘러싼 후 dental acrylic mount속에 세 개의 polyethylene tube(두 개는 관류용, 나머지 한 개는 두개내압 측정용)를 심어 놓았다. 그 후 dental acrylic위에 직경 12 mm의 cover glass를 놓고 cyanoacrylate를 사용하여 즉시 밀봉시킨 후 95 % O<sub>2</sub>와 5 % CO<sub>2</sub>로 포화시킨 인공 뇌척수액을 관류시켰다. 이때 두개창의 용적은 약 0.8 ml, 그리고 두개내압은 5~8 mmHg로 유지토록 하였다<sup>16)</sup>.

인공 뇌척수액의 조성은 다음과 같다. Na<sup>+</sup> 156.5 mEq/l, K<sup>+</sup> 2.95 mEq/l, Ca<sup>2+</sup> 2.5 mEq/l, Mg<sup>2+</sup> 1.33 mEq/l, Cl<sup>-</sup> 138.7 mEq/l, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 24.6 mEq/l, dextrose 66.5 mg/dl 및 urea 40.2 mg/dl(pH 7.35~7.40).

#### (3) 뇌연막 동맥 직경 변화 측정

흰쥐의 두정골에 폐쇄두개창을 설치하고 실험 protocol에 따라 PMT를 농도별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 뇌연막 동맥(안정시의 직경 약 17.31±1.35 µm)의 직경(pial arterial diameter, PAD)을 각각 30 분 동안 측정하였다<sup>17)</sup>. 실험기간 동안 변화되는 PAD는 폐쇄 두개창을 통한 video-microscopy 방법과 width analyzer(Model C3161, Hamamatsu Photonics, Japan)를 사용하여 TV monitor에 나타나는 혈관 영상을 video cassette recorder(S-VHS, Mitsubishi)에 녹화 보존해 두었다가 필요시마다 재생 확인하였다.

#### (4) 평균혈압 변화 측정

흰쥐를 urethane(750 mg/kg, i.p.)으로 마취시킨 후 체온이 37~38 °C로 유지될 수 있도록 heat pad 위에 복외위로 고정시켰다. PMT 투여 농도(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)에 따른 평균혈압(mean arterial blood pressure, MABP) 변화는 동물의 대퇴동맥에 삽입된 polyethylene tube에 연결된 pressure transducer(Grass, U.S.A.)를 통하여 MacLab과

macintosh computer로 구성된 data acquisition system으로 각각 30 분 동안 측정하였다<sup>15)</sup>.

### 3) 뇌허혈 병태모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인의 양 측정

#### (1) 뇌허혈 병태모델 유발

뇌허혈 병태 모델 유발은 널리 사용하는 중대뇌동맥(middle cerebral artery, MCA) 폐쇄법을 이용하였다. 병태 모델은 Longa 등의 방법<sup>16)</sup>에 따라 정상 흰쥐의 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고 내·외경동맥의 분지점으로부터 내경 동맥내로 외경동맥을 통하여 3-0 단선조 나일론 봉합사를 삽입함으로써 MCA 기저부를 폐쇄하였다. 2 시간 후 내경 동맥내에 삽입되어 있는 단선조 나일론 봉합사를 MCA 기저부로부터 제거해 줌으로써 혈액을 재관류시켰다.

#### (2) 채혈 및 혈청분리

뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 다음 폐색 1 시간 후, 재관류 1 시간 후 그리고 재관류 4 시간이 경과한 다음 병태 모델의 대뇌동맥에서 1.0 ml를 채혈하였다. 채혈시에는 반드시 뇌혈류역학 변동이 변화되지 않도록 하기 위하여 조심스럽게 5.0 ml 주사기를 통해 채혈하였고, 만약 채혈시 뇌혈류역학 변동에 이상이 발생되면 사이토카인 생성능 측정 혈청으로 사용하지 않았다. 채혈 후 30 분 동안 실온에 방치한 후 3,000 rpm으로 30 분 동안 원심 분리시킨 후 혈청만을 취해 냉동 보관하면서 필요시마다 해동시켜 사용하였다.

#### (3) Interleukin(IL)-1 $\beta$ 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 IL-1 $\beta$  양 측정은 rIL-1 $\beta$  ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rIL-1 $\beta$  standard diluent buffer(SDB) 100  $\mu$ l를 농도별로 넣은 후, 나머지 well에는 혈청 50  $\mu$ l와 SDB 50  $\mu$ l를 넣은 다음 실온에서 3 시간 동안 방치한 뒤 washing buffer(WB)로 4 회 세척하였다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rIL-1 $\beta$  100  $\mu$ l를 넣은 후 실온에서 1 시간 동안 방치한 다음 WB로 4 회 세척하였다. 이후 각 well에 streptavidin-Peroxidase(HRP) 100  $\mu$ l를 넣은 다음 실온에서 30 분 동안 방치한 뒤 WB로 4 회 세척한 후 stabilized chromogen(SC) 100  $\mu$ l를 넣은 다음 빛을 차단시킨 실온에서 30 분 동안 방치하였다. 이후 stop solution(SB) 100  $\mu$ l를 넣은 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다<sup>19-20)</sup>.

#### (4) Tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$ 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 TNF- $\alpha$  양 측정은 rTNF- $\alpha$  ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 rTNF- $\alpha$  SDB 50  $\mu$ l를 농도별로 넣은 다음, 나머지 well에 혈청과 control(high, low)을 각각 50  $\mu$ l씩 분주한 후 SDB 50  $\mu$ l를 넣었다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rTNF- $\alpha$  50  $\mu$ l를 넣고 실온에서 90 분 동안 incubation한 다음 WB로 4 회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 다음 다시 실온에서 45 분 동안 incubation한 후 WB로 4 회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다<sup>21-22)</sup>.

#### (5) IL-10 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 IL-10 양 측정은 rIL-10 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 100  $\mu$ l씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control(high, low)을 각각 50  $\mu$ l씩 분주한 다음 SDB 50  $\mu$ l를 넣었다. 이후 각 well에 biotin-labeled anti-rIL-10 50  $\mu$ l를 넣고 실온에서 2 시간 동안 incubation한 다음 WB로 4 회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 다음 다시 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 WB로 4 회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다<sup>23-24)</sup>.

#### (6) Transforming growth factor(TGF)- $\beta$ 생성능 측정

뇌허혈 병태 모델의 혈청내에서 생성되는 TGF- $\beta$  양 측정은 TGF- $\beta$ 1 ELISA kit를 이용하였다. 96 well plate에 SDB 200  $\mu$ l씩 분주한 후 나머지 well에 혈청과 control을 각각 200  $\mu$ l씩 넣은 다음 각 well에 biotin-labeled anti-TGF- $\beta$ 1 50  $\mu$ l를 분주한 후 실온에서 3 시간 동안 incubation한 다음 WB로 4 회 세척하였다. 이후 희석하여 준비해놓은 HRP를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 다음 다시 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 WB로 4 회 세척하였다. 그 다음 SC를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 후 빛이 차단된 실온에서 30 분 동안 incubation한 후 SS를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주한 다음 microplate reader를 이용하여 450 nm 파장에서 측정하였다<sup>25-26)</sup>.

### 3. 통계처리

PMT의 효과에 대한 통계처리는 student's t-test에 의하였고, p-value는 0.05 이하인 경우에만 유의성을 인정하였다<sup>27)</sup>.

## 실험성적

#### 1. PMT 투여로 변화된 정상 흰쥐의 국소뇌혈류량의 작용기전 관찰

PMT 투여로 변화된 rCBF의 작용기전을 알아보기 위하여 PMT 투여로 유의성있게 증가된 rCBF를 대조군으로, cyclooxygenase의 억제제인 indomethacin을 전처치한 다음 PMT 투여로 변화된 rCBF를 indomethacin 처리군으로, guanylate cyclase의 억제제인 methylene blue를 전처치한 다음 PMT 투여로 변화된 rCBF를 methylene blue 처리군으로 하였다 (Fig. 1). Indomethacin을 전처치하고 PMT를 투여하지 않았을 때의 rCBF를 100.00 $\pm$ 0.10 %라 하였을 때, indomethacin 전처치한 후 PMT를 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여하였을 때의 rCBF는 각각 91.19 $\pm$ 0.09 %, 105.17 $\pm$ 0.08 %, 110.12 $\pm$ 0.09 %, 140.03 $\pm$ 0.13 %로 용량 의존적으로 증가되었으나 indomethacin 처리군의 rCBF 변화는 대조군의 rCBF 변화보다 투여 용량에 의존해 유의성(P<0.05)있게 감소되었다. Methylene blue를 전처치하고 PMT를 투여하지 않았을 때의 rCBF를 100.00 $\pm$ 0.09 %라 하였을 때, methylene blue를 전처치한 후 PMT를 용량별로 투여하였을 때의 rCBF는 각각

90.24±0.07 %, 97.53±0.07 %, 114.83±0.07 %, 118.38±0.07 %로 용량 의존적으로 증가되었으나 methylene blue 처리의 rCBF 변화는 대조군의 rCBF 변화보다 투여 용량에 의존해 감소되었다.

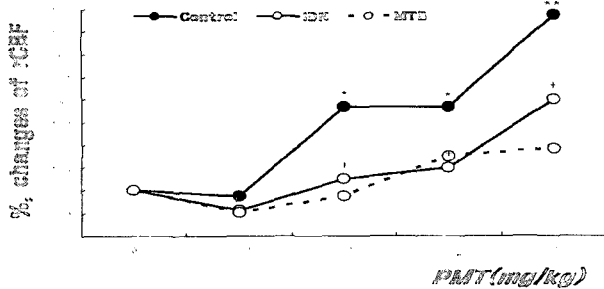


Fig. 1. Effects of pretreatment with IDN and MTB on the PMT-induced changed rCBF in normal rats. PMT : Palmul-tang extract, rCBF : regional cerebral blood flow. IDN : indomethacin(1 mg/kg, i.p.), MTB : methylene blue(10 μg/kg, i.p.), Control : PMT treated group 0 : After IDN or MTB treated but PMT non-treated, group-measured during 30 min, 0.01, 0.1, 1, 10 : After IDN or MTB treated and PMT(0.01, 0.1, 1.0, 10.0 mg/kg, i.p.) treated, group-measured during 30 min. Other legends are the same as Fig. 1. \* : Statistically significance compared with 0 group\* : P<0.05. \*\* : P<0.01). + : Statistically significance compared with control group(+ : P<0.05).

2. PMT 투여로 변화된 정상 흰쥐의 뇌연막동맥 직경의 작용기전 관찰

PMT 투여로 변화된 PAD의 작용기전을 알아보기 위하여 PMT 투여로 유의성있게 확장된 PAD를 대조군으로, indomethacin을 전처치한 다음 PMT 투여로 변화된 PAD를 indomethacin 처리군으로, methylene blue를 전처치한 다음 PMT 투여로 변화된 PAD를 methylene blue 처리군으로 하였다 (Fig. 2). Indomethacin을 전처치하고 PMT를 투여하지 않았을 때의 PAD를 100.00±0.14 %라 하였을 때, indomethacin 전처치한 후 PMT를 용량별로 투여하였을 때의 PAD는 각각 103.04±0.15 %, 105.25±0.16 %, 109.20±0.15 %, 113.54±0.14 %로 용량 의존적으로 확장되었으나 indomethacin 처리군의 PAD 변화는 대조군의 PAD 변화보다 투여 용량에 의존해 유의성 (P<0.05)있게 수축되었다. Methylene blue를 전처치하고 PMT를 투여하지 않았을 때의 PAD를 100.00±0.08 %라 하였을 때, methylene blue를 전처치한 후 PMT를 용량별로 투여하였을 때의 PAD는 각각 98.82±0.05 %, 98.13±0.06 %, 98.40±0.07 %, 97.96±0.07 %로 감소되어 나타났고, 대조군의 PAD 변화에 비해서도 유의성(P<0.05)있게 수축되었다.

3. PMT 투여로 변화된 정상 흰쥐의 평균혈압의 작용기전 관찰

PMT 투여로 변화된 MABP의 작용기전을 알아보기 위하여 PMT 투여로 유의성있게 증가된 MABP를 대조군으로, indomethacin을 전처치한 다음 PMT 투여로 변화된 MABP를 indomethacin 처리군으로, methylene blue를 전처치한 다음 PMT 투여로 변화된 MABP를 methylene blue 처리군으로 하였다 (Fig. 3). Indomethacin을 전처치하고 PMT를 투여하지 않았을 때의 MABP를 100.00±0.02 %라 하였을 때, indomethacin 전처치한 후 PMT를 용량별로 투여하였을 때의 MABP는 각각

94.33±0.04 %, 95.25±0.03 %, 99.86±0.04 %, 103.32±0.03 %로 용량 의존적으로 증가되었으나 indomethacin 처리군의 MABP 변화는 대조군의 MABP 변화보다 투여 용량에 의존해 유의성(P<0.05)있게 감소되었다. Methylene blue를 전처치하고 PMT를 투여하지 않았을 때의 MABP를 100.00±0.06 %라 하였을 때, methylene blue를 전처치한 후 PMT를 용량별로 투여하였을 때의 MABP는 각각 98.34±0.05 %, 101.83±0.03 %, 107.77±0.03 %, 115.39±0.04 %로 용량 의존적으로 증가되었고, methylene blue 처리군의 MABP 변화는 대조군의 MABP 변화보다 투여 용량에 의존해 증가되었다.

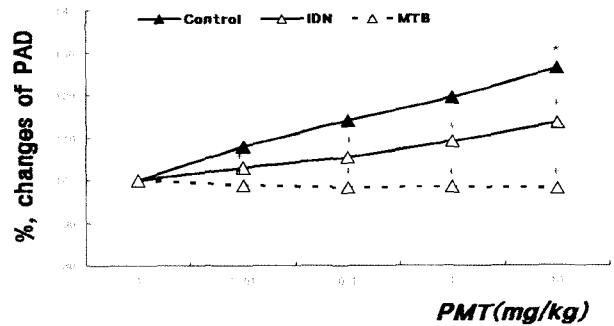


Fig. 2. Effects of pretreatment with IDN and MTB on the PMT-induced changed PAD in normal rats. PAD : pial arterial diameter. Other legends are the same as Fig. 1. \* : Statistically significance compared with 0 group\* : P<0.05). + : Statistically significance compared with control group(+ : P<0.05).

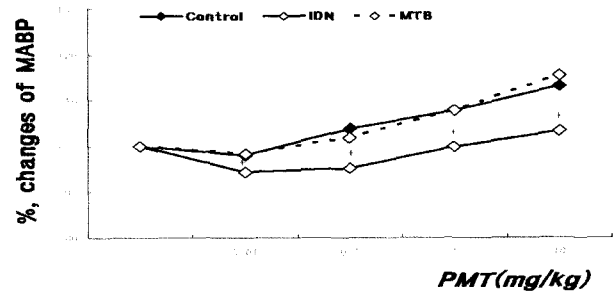


Fig. 3. Effects of pretreatment with IDN and MTB on the PMT-induced changed MABP in normal rats. MABP : mean arterial blood pressure. Other legends are the same as Fig. 1. + : Statistically significance compared with control group(+ : P<0.05).

4. PMT가 뇌허혈 병태 모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양에 미치는 효과

1) MCA 폐색 1 시간 후 생산되는 사이토카인 양에 미치는 효과  
 뇌허혈 병태 모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 뇌허혈을 유발시킨 후 PMT를 투여하고, 유발 1 시간이 경과된 다음 뇌허혈 병태 모델의 혈액을 취하여 사이토카인 생성능을 측정하였다(Fig. 4). 대조군의 IL-1β 생성능을 100.00±0.03 %라 하였을 때 실험군의 IL-1β 생성능은 94.55±0.03 %로, 대조군의 TNF-α 생성능을 100.00±0.04 %라 하였을 때 실험군의 TNF-α 생성능은 95.74±0.17 %로 각각 대조군에 비해 감소되었다. 대조군의 IL-10 생성능을 100.00±0.11 %라 하였을 때 실험군의 IL-10 생성능은 101.18±0.09 %로 대조

군과 유사하게 나타났고, 대조군의 TGF-β 생성능을 100.00±0.05 %라 하였을 때 실험군의 TGF-β 생성능은 121.02±0.03 %로 대조군에 비해 유의성(P<0.01)있게 증가되었다.

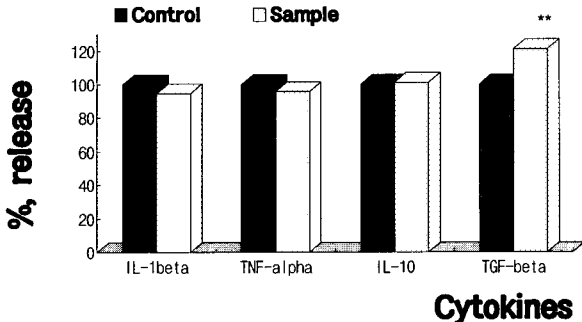


Fig. 4. Effects of PMT on the cytokines production in serum of cerebral ischemic rats after MCAO 1 hr. This figure is cytokines production of serum by drawing from femoral arterial blood after MCAO 1 hr. PMT : Palmu-tang extract, MCAO : middle cerebral artery occlusion, Control : After caused MCAO(5 min), PMT non-treated group, Sample : After caused MCAO, PMT(10 mg/kg, i.p.) treated group. \* : Statistically significance compared with control group(\*\* : P<0.01).

2) 재관류 1 시간 후 생산되는 사이토카인 양에 미치는 효과  
 뇌허혈 병태 모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 유발된 뇌허혈 병태 모델에게 재관류시킨 다음 1 시간이 경과된 후 뇌허혈 병태 모델의 혈액을 취하여 사이토카인 생성능을 측정하였다(Fig. 5). 대조군의 IL-1β 생성능을 100.00±0.02 %라 하였을 때 실험군의 IL-1β 생성능은 91.38±0.03 %로 대조군보다 유의성(P<0.05)있게 감소되었고, 대조군의 TNF-α 생성능을 100.00±0.02 %라 하였을 때 실험군의 TNF-α 생성능도 97.27±0.05 %로 대조군에 비해 감소되었다. 대조군의 IL-10 생성능을 100.00±0.06 %라 하였을 때 실험군의 IL-10 생성능은 101.53±0.07 %로 대조군과 유사하게 나타났고, 대조군의 TGF-β 생성능을 100.00±0.06 %라 하였을 때 실험군의 TGF-β 생성능은 118.60±0.04 %로 대조군에 비해 유의성(P<0.05) 있게 증가되었다.

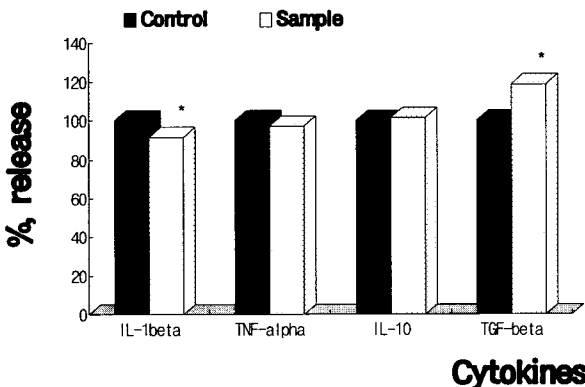


Fig. 5. Effects of PMT on the cytokines production in serum of cerebral ischemic rats after reperfusion 1 hr. This figure is cytokines production of serum by drawing from femoral arterial blood after reperfusion 1 hr. Other legends are the same as Fig. 4. \* : Statistically significance compared with control group(\* : P<0.05).

3) 재관류 4 시간 후 생산되는 사이토카인 양에 미치는 효과  
 뇌허혈 병태 모델의 혈청에서 생산되는 사이토카인 양을 알아보기 위하여 MCA 폐색법으로 유발된 뇌허혈 병태 모델에게 재관류시킨 다음 4 시간이 경과된 후 뇌허혈 병태 모델의 혈액을 취하여 사이토카인 생성능을 측정하였다(Fig. 6). 대조군의 IL-1β 생성능을 100.00±0.01 %라 하였을 때 실험군의 IL-1β 생성능은 78.89±0.02 %로 대조군보다 유의성(P<0.001)있게 감소되었고, 대조군의 TNF-α 생성능을 100.00±0.05 %라 하였을 때 실험군의 TNF-α 생성능은 108.01±0.10 %로 대조군보다 증가되었다. 대조군의 IL-10 생성능을 100.00±0.12 %라 하였을 때 실험군의 IL-10 생성능은 101.60±0.13 %로 대조군과 유사하게 나타났고, 대조군의 TGF-β 생성능을 100.00±0.06 %라 하였을 때 실험군의 TGF-β 생성능은 104.77±0.01 %로 대조군보다 증가되었다.

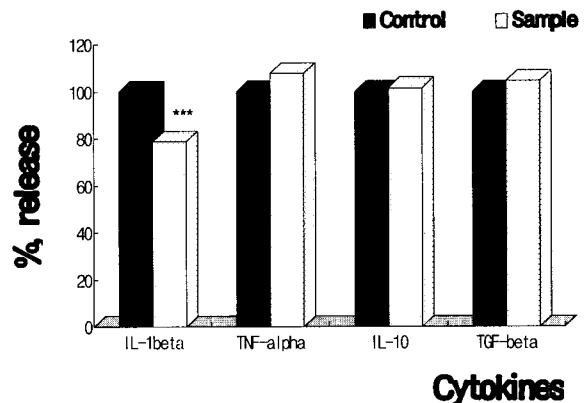


Fig. 6. Effects of PMT on the cytokines production in serum of cerebral ischemic rats after reperfusion 4 hrs. This figure is cytokines production of serum by drawing from femoral arterial blood after reperfusion 4 hrs. Other legends are the same as Fig. 4. \* : Statistically significance compared with control group(\*\*\*) : P<0.001).

## 고 찰

뇌혈류량은 뇌관류압에 비례하고 뇌혈관 저항에 반비례하는 데, 뇌관류압은 생리적 상태하에서 뇌정맥압이 매우 낮아 평균 동맥압에 비례하며, 뇌혈관저항은 뇌혈관직경의 4승에 반비례하기 때문에 정상적인 뇌혈류 유지를 위해 혈압이 하강될 경우 뇌혈관은 확장되어야 하고, 혈압이 상승하게 될 경우 반대로 뇌혈관은 수축되어야 한다<sup>28)</sup>. 혈압은 심장의 박동과 수축력, 말초혈관, 자율신경의 활성 및 renin-angiotensin계를 포함한 각종 호르몬과 생체내 내인성 활성물질 등에 의해 조절된다<sup>29,31)</sup>. 혈관확장에 관여하는 인자로는 혈류 변화와 혈관내피세포에서 유리되는 prostaglandin 및 nitric oxide(NO) 등이 있다<sup>14,32)</sup>. NO 중 constitutive NO는 주위의 혈소판에 작용하여 혈소판내 세포전령 분자물질인 cGMP 양을 증가시키는 동시에 그의 생성효소로써 혈관을 이완시키는 guanylate cyclase도 활성화시킨다<sup>33-35)</sup>. 또한 prostaglandin은 renin-angiotensin계에 작용하는 약물로 혈관을 이완시키는 작용과 함께 혈압을 강하시키는 작용을 한다<sup>14)</sup>. 이러한 혈관확장에 관여하는 인자들을 억제할 수 있는 약물로는 여러 가지가 있지만 그 중에서도 methylene blue<sup>36)</sup>는 cGMP의

생성효소인 guanylate cyclase를 억제하는 약물이고, indomethacin<sup>37)</sup>은 prostaglandin의 생성효소인 cyclooxygenase를 억제하는 약물이다.

최근, 뇌혈류 및 뇌질환에 대한 연구 동향을 살펴보면 祛風導痰湯과 清心化痰湯 등의 祛痰之劑<sup>9,38)</sup>, 四君子湯과 六君子湯의 補氣之劑<sup>39)</sup>들이 뇌혈관을 확장시킴으로써 뇌혈류를 증가시켰다고 보고되어 있고, 牛黃清心元과 星香正氣散의 芳香之劑<sup>10-11)</sup>, 滋陰健脾湯加味方的 滋陰之劑<sup>12)</sup>, 天麻半夏湯의 化痰之劑<sup>40)</sup>들이 중대뇌동맥 폐색법으로 유발된 뇌허혈 병태 모델에 있어 허혈로 인한 뇌손상을 억제시켰다고 보고되어 있다. 八物湯에 대한 연구로는 알리지 반응에 있어 즉시형 및 지연형 알리지 반응에 효과를 나타내었다는 보고<sup>9)</sup>와 복강 마크로파지의 탐식능<sup>41)</sup> 및 각종의 사이토카인 생성능에 유효한 효과를 나타내었다는 보고<sup>7)</sup>가 있다. 또한 박 등<sup>8)</sup>은 八物湯이 정상 흰쥐에서 뇌연막동맥의 직경을 확장시킴으로써 국소뇌혈류량을 유의성있게 증가시켰고, 중대뇌동맥 폐색법으로 유발된 일과성 뇌허혈 병태모델의 국소뇌혈류량의 변동을 유의성있고 안정적으로 개선시켰기 때문에 八物湯은 허혈로 인한 뇌손상을 억제시킬 수 있을 것이라고 보고하였다. 이에 저자들은 八物湯을 정상 흰쥐에 투여하여 뇌혈류역학(rCBF, MABP, PAD)에 미치는 효과와 작용기전을 살펴보고, 뇌허혈 병태 모델의 혈액내에서 항염증 사이토카인의 생성과 염증 사이토카인의 생성을 살펴보았다. PMT 투여로 변화된 뇌혈류역학의 작용기전을 밝히기 위하여 cyclooxygenase의 억제제인 indomethacin을 전처치한 후 PMT를 투여한 결과 rCBF는 PMT 투여로 유의성있게 증가된 rCBF 변화보다 유의성있게 감소되었고, PAD도 PMT 투여로 유의성있게 확장된 PAD 변화보다 유의성있게 수축되었으며, MABP는 저농도 투여시 정상시보다 감소되었으나 PMT 투여 농도에 의존해 증가되었지만 PMT 투여로 증가된 MABP보다는 유의성있게 감소되었다. 이와 같은 결과는 Bakalova<sup>42)</sup> 등<sup>43)</sup>이 indomethacin 처치로 rCBF가 감소되는 것은 cyclooxygenase와 관련이 있다는 보고와 일맥 상통하는 결과로 PMT 투여로 나타난 뇌혈류역학 변화의 기전은 cyclooxygenase와 관련이 있는 것으로 생각된다.

PMT 투여로 변화된 뇌혈류역학의 다른 작용기전을 알아보기 위하여 guanylate cyclase의 억제제인 methylene blue를 전처치한 후 PMT를 투여한 결과 rCBF는 PMT 투여로 유의성있게 증가된 rCBF 변동보다 감소되었고, PAD는 오히려 정상시보다도 유의성있게 감소되는 경향을 나타내었으며, MABP는 PMT 투여로 증가된 MABP보다 오히려 증가되는 경향을 나타내었다. 이는 Shin 등<sup>44-46)</sup>이 methylene blue 전처치로 rCBF가 감소되는 것은 cGMP의 생성효소인 guanylate cyclase와 관련이 있다고 보고한 것에 미루어 볼 때 PAD 및 MABP의 변화 등을 모두 고려하여 보면 PMT의 작용기전은 guanylate cyclase와 밀접한 관련이 없는 것으로 생각된다. 최근 보고에 의하면 허혈성 뇌손상은 허혈 당시보다는 허혈이 일어난 조직으로 산소가 재공급될 때 주로 일어난다 하였고<sup>47)</sup>, 뇌허혈이 일어나면 혈액중의 다형 백혈구가 혈관 내벽에 부착되어 뇌조직내로 침윤을 하게되고, 조직내에 축적된 호중구로부터 여러 물질들이 유리되면서 염증반응에 의한 허혈

성 뇌조직 손상은 더욱 진행하게 되며<sup>48-49)</sup>, 허혈성 뇌손상시 세포 성장, 세포활성, 염증 등과 같은 중요한 생물학적 작용을 조절하기 위하여 각종의 사이토카인들도 작용하게 된다<sup>50-51)</sup>. 염증에 관여하는 사이토카인에는 IL-1β와 TNF-α 등이 있는데, 이 중 IL-1β는 대식세포, 림프구 및 내피세포 등의 세포에서 유리되는 것으로 내독소, 물리적 손상이나 염증반응에 의해 유발되고, 뇌로 이동될 경우 열을 발생시킨다<sup>51-52)</sup>. TNF-α는 종양의 출혈성 괴사 및 염증반응에 관여하며, 염증의 급성기에는 IL-1β와 TNF-α가 서로 작용하여 생성능이 촉진된다<sup>51-52)</sup>. 염증촉발 사이토카인을 억제하는 기전으로는 항염증 사이토카인인 IL-10과 TGF-β 등이 있는데, 이 중 IL-10은 IL-1β와 TNF-α를 생성하는 대식세포의 생성을 억제하고, TGF-β는 혈소판 및 내피세포 등에서 생산되는 것으로 대식세포에서 생성되는 NO의 양 등을 불활성화시킨다<sup>51-52)</sup>. Daddi 등은 IL-10과 TGF-β가 뇌허혈시 재관류로 인해 나타나는 뇌손상을 감소시킨다 하였다<sup>53)</sup>. 뇌허혈시 염증반응이 나타나고, 염증반응으로 인해 더욱 더 심한 뇌손상이 나타나기 때문에 허혈성 뇌손상에 억제효과를 나타낸 PMT가 염증촉발 사이토카인의 생성능과 항염증 사이토카인의 생성능에 미치는 효과를 관찰한 결과, MCA 폐색 1 시간 후 실험군의 IL-10의 생성능은 대조군과 유사한 결과를 나타내었으나 IL-1β 및 TNF-α의 생성능은 대조군에 비하여 감소되었고, TGF-β의 생성능은 대조군에 비하여 유의성있게 증가되었다. 이와 같은 결과는 PMT가 뇌허혈 초기에서부터 염증촉발 사이토카인이나 항염증 사이토카인 생성에 관여하고 있음을 보여준다. 재관류 1 시간 후 실험군의 IL-1β의 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 감소되었고, TNF-α의 생성능은 대조군에 비하여 감소되었으며, TGF-β의 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 증가되었으나 IL-10의 생성능은 변화가 없었다. 재관류 4시간 후 실험군의 IL-1β의 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 뚜렷한 감소를 나타내었고, TNF-α의 생성능은 대조군에 비하여 오히려 증가되었으며, TGF-β의 생성능은 대조군에 비해 증가되었지만 IL-10의 생성능은 대조군과 비교하여 볼 때 변화되는 결과를 나타내지 않았다.

이상의 결과, PMT는 염증촉발 사이토카인의 생성을 억제하므로 뇌허혈시 IL-1β와 TNF-α가 상승된다는 보고<sup>54-55)</sup>에 근거하여 볼 때 허혈시 나타나는 염증반응을 억제하였고, 뇌허혈 후 prostaglandin E2와 관련되어 TGF-β가 허혈-재관류시 뇌미세혈관을 감소시킨다는 Armstead 등의 보고<sup>56)</sup>에서 같이 PMT는 prostaglandin의 생성 효소인 cyclooxygenase에 작용하여 TGF-β의 생성능을 촉진시킴으로써 뇌혈류 변동 개선 효과와 함께 LDH 활성도를 감소시켜 뇌손상을 억제시키는 것으로 생각된다. 그러나 재관류 4 시간 후에 나타난 TNF-α의 생성능과 TGF-β의 생성능 증가에 대해서는 앞으로 더 연구를 진행하여 규명해야 할 것으로 생각된다.

## 결론

허혈성 뇌손상에 유의한 억제효과를 나타낸 八物湯의 작용기전을 알아보기 위하여 rCBF, MABP 및 PAD에 미치는 작용기

전과 뇌허혈 병태 모델의 혈청내 사이토카인 생성에 미치는 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

정상 흰쥐에 indomethacin를 전처치한 후 八物湯을 투여한 결과, rCBF와 MABP는 대조군에 비해 유의성있게 감소되었고, PAD도 유의성있게 수축되었다. 정상 흰쥐에 methylene blue를 전처치한 후 八物湯을 투여한 결과, rCBF는 대조군에 비해 감소되었고, PAD는 유의성있게 수축되었으나 MABP는 대조군에 비해 증가되었다. 뇌허혈 병태 모델 유발 1 시간 후, 실험군의 IL-1β 및 TNF-α 생성능은 대조군에 비해 감소되었으나 실험군의 IL-10 생성능은 대조군과 유사하게 나타났고, 실험군의 TGF-β 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 증가되었다. 뇌허혈 병태 모델에 있어 재관류 1 시간 후, 실험군의 IL-1β 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 감소되었고, 실험군의 TNF-α 생성능도 대조군에 비해 감소되었으나 실험군의 IL-10 생성능은 대조군과 유사하게 나타났고, 실험군의 TGF-β 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 증가되었다. 뇌허혈 병태 모델에 있어 재관류 4 시간 후, 실험군의 IL-1β 생성능은 대조군에 비해 유의성있게 감소되었고, 실험군의 IL-10 생성능은 대조군과 유사하게 나타났으며, 실험군의 TNF-α 및 TGF-β 생성능은 대조군에 비해 증가되었다.

이상의 결과, 八物湯은 cyclooxygenase와 관련되어 뇌혈류 역학의 변동을 개선시킴으로써 허혈로 인한 뇌손상을 억제하는 것으로 생각된다.

### 참고문헌

1. 虞 搏 : 醫學正傳, p. 156, 人民衛生出版社, 北京, 1981.
2. 許 浚 : 東醫寶鑑, p. 447, 南山堂, 서울, 1983.
3. 康舜洙, 盧昇鉉, 李尙仁 : 方劑學, p. 37, 癸丑文化社, 서울, 1985.
4. 汪 昂 : 醫方集解, p. 262, 大星文化社, 서울, 1984.
5. 李載熙 : 圖說韓方診療要方, p. 711, 醫學研究社, 서울, 1993.
6. 허만규, 홍현우, 김철우, 박동일 : 八物湯이 알레르기 반응에 미치는 효과, 東醫生理病理學會誌 17(4) : 1075~1081, 2003.
7. 유동렬 : 八物湯이 생쥐 임신중기에 胸腺細胞 및 腹腔 Macrophage로부터 cytokines 생성에 미치는 영향, 東醫生理病理學會誌 15(3) : 412~418, 2001.
8. 박철훈, 배인태, 정현우 : 八物湯이 腦血流力學 變化에 미치는 효과, 東醫生理病理學會誌 18(4) : 1014~1020, 2004.
9. 宋政錫, 鄭鉉雨 : 祛風導痰湯이 白鼠의 腦血流變化에 미치는 機轉研究, 東醫生理病理學會誌 16(1) : 99~103, 2002.
10. 조규선, 정승현, 신길조, 이원철 : 牛黃清心元이 중대뇌동맥 결찰로 유발된 뇌허혈에 미치는 영향, 대한한의학회지 22(1) : 78~89, 2001.
11. 김선영, 이원철 : 흰쥐의 중대뇌동맥 결찰로 유발된 腦虛血에서 梔香正氣散과 藿香正氣散이 神經細胞에 미치는 효과, 大韓韓醫學會誌 22(4) : 142~150, 2001.
12. 임광모, 정현우 : 滋陰健脾湯加枳殼·天麻가 腦細胞 및 腦血流力學 變動에 미치는 영향, 동의생리병리학회지 17(1) : 64~70, 2003.
13. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編 : 本草學, pp. 302~304, 409~410, 531~533, 536~537, 540~541, 578~583, 永林社, 서울, 1999.
14. 김경환 : 이우주의 약리학 강의(제4판), pp. 82, 120~124, 146, 355, 397, 404, 432~442, 의학문화사, 서울, 1998.
15. 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.
16. Morii, S., Ngai, A.C., Winn, H.R. : Reactivity of rat pial arterioles and venules to adenosine and carbon dioxide ; with detailed description of the closed cranial window technique in rats, J. Cereb Blood Flow Metab. 6(1) : 34~41, 1986.
17. Joseph, E., Lebasseeur, M.S., Wei, E.P., Raper, A.J., Kontos, H.A. and Patterson, J.L. : Detailed description of a cranial window technique for acute and chronic experimentals, Stroke 6 : 308~317, 1975.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. 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) : 154

- 3~1548, 1998.
25. 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.
  26. 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.
  27. Snedecor, G.H. and Cochran, W.G. : *Statistical Methods*, 6th ed. Amos, Iowastate Univ., 1967.
  28. 대한신경외과학회 : *신경외과학*, pp. 150~156, 275~279, 284~285, p. 299, 중앙문화사, 서울, 1997.
  29. 서울대학교 의과대학 내과학교실편 : *내과학*, pp. 146~158, 군자출판사, 서울, 1996.
  - 30.李文鎬, 金鍾暉, 許仁穆 : *內科學(上)*, pp. 77~81, 學林社, 서울, 1986.
  31. 金祐謙 : *인체의 생리*, pp. 30~47, 107~118, 서울대학교 출판부, 서울, 1985.
  32. 성호경 : *생리학(제6판)*, p. 110, 의학문화사, 서울, 1996.
  33. Garthwaite, J., Charles, S.L. and Chess-Williams, R. : Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the Brain, *Nature* 336 : 385~388, 1988.
  34. Palmer, P.M.J., Ferrige, A.G. and Moncada, S. : Nitric oxiderelease accounts for the biology activity of endothelium derived relaxing factor, *Nature* 327 : 524~526, 1990.
  35. Shibuki, K. and Okada, D. : Endogenous nitric oxide release required for long term synaptic depression in the cerebellum, *Nature* 349 : 326~328, 1991.
  36. Iwamoto, J., Yoshinaga, M., Yang, S.P., Krasney, E. and Krasney, J. : Methylene blue inhibits hypoxic cerebral vasodilation in awake sheep, *J. Appl Physiol.* 73(6) : 2226~2232, 1992.
  37. Wang, Q., Pelligrino, D.A., Paulson, O.B. and Lassen, N.A. : Comparison of the effects of NG-nitro-L-arginine and indomethacin on the hypercapnic cerebral blood flow increase in rats, *Brain Res.* 641(2) : 257~264, 1994.
  38. 金天中, 趙秀仁, 鄭鉉雨 : 清化痰湯이 局所腦血流量에 미치는 實驗的 研究, *東醫生理病理學會誌* 16(2) : 316~321, 2002.
  39. 鄭鉉雨, 金義成 : 四君子湯, 二陳湯, 六君子湯이 腦血流學 變動에 미치는 實驗的 研究, *東醫生理病理學會誌* 18(1) : 75~83, 2004.
  40. 梁起豪, 鄭鉉雨 : 天麻半夏湯이 腦血流學에 미치는 影響, *東醫生理病理學會誌* 18(1) : 194~199, 2004.
  41. 은재순, 전훈, 김대근 : 팔물탕이 복강 마크로파지의 탐식능에 미치는 영향, *생약학회지* 30(4) : 363~367, 1999.
  42. Bakalova, R., Matsuura, T., Kanno, I. : The cyclooxygenase inhibitors indomethacin and Rofecoxib reduced regional cerebral blood flow evoked by somatosensory stimulation in rats, *Exp. Biol. Med.* 227(7) : 465~473, 2002.
  43. Okamoto, H., Ito, O., Roman, R.J., Hudetz, A.G. : Role of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 endotoxin-induced cerebral hyperemia, *Stroke* 29(6) : 1209~1218, 1998.
  44. Shin, H.K., Shin, Y.W., Hong, K.W. : Role of adenosine A(2B) receptors in vasodilation of rat pial artery and cerebral blood flow autoregulation, *Am J. Physiol Heart Circ Physiol.* 278(2) : 339~344, 2000.
  45. Yamamoto, S., Nishizawa, S., Yokoyama, T., Ryu, H., Uemura, K. : Subarachnoid hemorrhage impairs cerebral blood flow response to nitric oxide but not to cyclic GMP in large cerebral arteries, *Brain Res.* 757(1) : 1~9, 1997.
  46. Iadecola, C., Zhang, F., Xu, X. : SIN-1 reverses attenuation of hypercapnic cerebrovasodilation by nitric oxide synthase inhibitors, *Am J. Physiol.* 267(1Pt 2) : 228~235, 1994.
  47. McCord, J.M. : Mechanisms of disease : oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury, *New Eng J. Med.* 312 : 159~163, 1985.
  48. 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.
  49. 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.
  50. 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.
  51. 하대유 외 25인 : *면역학*, pp. 100~105, 고문사, 서울, 1994.
  52. 대한병리학회 : *병리학*, pp.87~99,1263~1264, 고문사, 서울, 1994.
  53. 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.
  54. 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.



55. 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-1 $\beta$  synergistically depress human myocardial function, *Crit Care Med.* 27(7) : 1309~1318, 1999.
56. Armstead, W.M., Mirro, R., Zuckerman, S.L., Shibata, M., Leffler, C.W. : Transforming growth factor-beta attenuates ischemia-induced alterations in cerebrovascular responses, *Am J. Physiol.* 264 : 381~385, 1993.