

원저

當歸藥鍼이 소음 Stress를 받은 새끼 쥐의 신경세포 생성에 미치는 영향

장소영* · 김이화** · 이은용*

*세명대학교 한의과대학 침구학교실

**세명대학교 한의과대학 경혈학교실

Abstract

Effect of Postnatal *Angelicae Gigantis Radix* Herb-acupuncture on Cell Proliferation in Offspring Rats with Prenatal Noise Stress during Pregnancy

Chang So-young*, Kim Ee-hwa** and Lee Eun-yong*

*Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Se-Myung University

**Department of Meridianology, College of Oriental Medicine, Se-Myung University

Objectives : This study was to investigate the effect of postnatal *Angelicae gigantis radix* administration on cell proliferation in offspring rats with prenatal noise stress during pregnancy.

Methods : 40 of Female rats were allowed to mate with 40 of male rats. Then, female rats were delivered of offspring rats. After birth 28 days, offspring rats were divided 8 groups. The normal group(Group A), the 10 mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group(Group B), the 50 mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group(Group C), the 100 mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group(Group D). The control (noise-treated) group(Group E), the noise -10 mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group(Group F), the noise-50 mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group(Group G), and the noise-100 mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group(Group H)(n = 5 in each group).

From the 15th day of pregnancy, all rats were subcutaneously injected with 50 mg/kg BrdU once a day 30 min before the starting of experimental treatment. Rats of the prenatal noise-treated group were applied with 95 decibel supersonic machine sound for 1h once a day until delivery. After birth 28 days,

· 접수 : 2006년 4월 14일 · 수정 : 2006년 5월 20일 · 채택 : 2006년 5월 20일
· 교신저자 : 이은용, 충북 제천시 신월동 산21-11 세명대학교 부속한방병원 침구과
Tel. 043-649-1816 E-mail : acupley@netian.com

offspring rats intraperitoneally injected with 50 mg/kg of BrdU and offspring rats were treated *Angelicae gigantis radix* Herb-acupuncture on *chungwan*(CV12) for 7 consecutive days. For the detection of BrdU-positive cells and Ki-67 positive cells in hippocampus, immunohistochemistry was performed.

Results : 1. The number of BrdU-positive cells in the dentate gyrus of noise-treated group was significantly decreased to normal group, and the Group F, G, H were significantly increased to control group.

2. The number of Ki-67 positive cells in the dentate gyrus of noise-treated group was significantly decreased to control group, and the Group G, H were significantly increased to control group.

Conclusion : We concluded that postnatal *Angelicae gigantis radix* administration has effect on cell proliferation in offspring rats with prenatal noise stress during pregnancy.

I. 서론

최근 기계문명의 발달로 소음의 출처가 대단히 광범위해지고 다양해짐에 따라 각종 소음 환경하에서 생활하게 되어 소음이 공중보건과 개인건강에 끼치는 영향이 심각해지고 있다¹⁾. Stress는 혈압과 혈당을 상승시키는 원인이 되며 위액분비를 촉진하고 동맥을 수축시키며²⁾ 소음 stress는 소화기, 순환기, 신경계에도 부정적인 영향을 미치는 것으로 확인되었다¹⁾.

노화, 뇌허혈, 각종 스트레스 등으로 인한 뇌신경세포의 손상은 감각운동기능의 손상과 지능 및 성격장애 등을 초래하며 한번 손상을 받으면 회복이 어렵다. 해마는 뇌에서 기억 및 학습을 담당하는 부위로 허혈이나 저산소증, 저혈당증, 간질 발작, 실험적 뇌손상 등 여러 가지 뇌손상에 매우 민감하게 반응하는 구조물이다³⁾. 스트레스와 노화는 neurogenesis를 감소시키는 것으로 보고되어, 해마에서 일어나는 neurogenesis는 동물이 경험하는 환경, 호르몬, 운동 등에 의해서 후천적으로 영향을 받는 것⁴⁾으로 확인되었다. 이는 적절한 자극이 주어지면 뇌손상 환자들에게 뇌 신경세포를 생성시키고 기능을 회복시킬 수 있다는 가능성을 암시한다.

當歸는 일체의 血症에 대한 主治⁵⁾를 가지고 있으며 鎮痛效果⁶⁾, 老化豫防⁷⁾, 血液疾患⁸⁾, 肝疾患⁹⁾, 貧血¹⁰⁾ 및 虛血性 腦疾患¹¹⁾에 미치는 영향에 대한 실험적 연구가 보고되어 있다.

이에 저자는 當歸藥鍼이 태생 시 소음 stress로 뇌신경세포 생성이 저하된 새끼 쥐에 미치는 영향을

알아보고자 면역조직화학법을 이용하여 신경세포생성에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 실험방법

1. 실험동물 및 재료

1) 실험동물

실험에 사용한 동물은 체중 250 ± 10g되는 12주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐와 체중 180 ± 10g의 8주령인 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐이다. 실험 과정들은 National Institute of Health와 the Korean Academy of Medical Sciences의 실험동물의 관리지침에 따라 진행되었다. 각각의 실험 동물은 실온 20 ± 2℃를 유지하였으며, 밤낮 주기(12시간 light/12시간 dark)가 조절되는 곳에서 고품사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 사육되었다.

2) 약재

본 실험에 사용한 當歸는 세명대학교 부속 한방병원에서 구입한 것을 엄선하여 사용하였다.

3) 기기 및 시약

본 연구에 사용된 기기 및 시약은 다음과 같다 (Table 1, 2).

Table 1. Experimental equipment used for experiment

Experimental equipment	Selling Agent	
Rotary evaporator	Tokyo Rikakikai	Japan
Optical microscope	Olympus	
Microtome	Leica	Germany
Multiscan	Fullerton	USA
Power Sonic 420	Whasin Tech.	Korea

Table 2. Reagents used for experiment

Reagents	Selling Agent	
5-bromo-2-deoxyuridine	Sigma Chemical Co.	USA
Formamide		
2×SSC		
sodium borate(boric acid)		
BSA		
Sodium azide		
3,3-diaminobenzidine		
Tri Buffer solution	IBI	
biotinylated anti-rabbit secondary antibody	Vector Laboratories	
HRP avidin-biotin complex	Vectastain-Elite	
Zoetel	Vibrac	France
Ki-67 specific mouse monoclonal antibody(1:200)	Novocastra	UK
Sodium phosphate Monobasic	Yakuri Chemical	Japan
Triton X-100	Sunjung Chemical	
Sodium phosphate dibasic	Daejung Chemical	Korea
PFA	Merck	Germany

4) 약침액의 제조

200g의 當歸에 증류수를 가하여 80℃로 전탕한 후 Rotary 증류기를 통해 농축 후, 동결건조하였다. 추출된 분말 30g(收率 15%)을 생리식염수에 희석하여 사용하였다.

2. 실험방법

1) 실험군 설정

암컷 쥐와 수컷 쥐를 24시간 동안 교배시키고 수컷 쥐와 격리시킨 다음 교배 14일 후, 임신이 확인된 암컷 쥐들을 선별하여 새끼를 낳게 한다. 새끼 쥐들 중 수컷들을 선별하여 생후 28일까지 어미 쥐와 같이 생활하게 하고 28일이 되었을 때 각 Group마다 새끼 쥐들을 5마리씩 선별하여 실험에 사용하였다.

- (1) Group A: SD계 흰쥐 5마리를 1군으로 정상적으로 물과 사료를 공급받은 어미에게서 난 새끼 쥐.
- (2) Group B: Group A와 같은 조건으로 當歸藥鍼 10mg/kg을 투여한 군.
- (3) Group C: Group A와 같은 조건으로 當歸藥鍼 50mg/kg을 투여한 군.
- (4) Group D: Group A와 같은 조건으로 當歸藥鍼 100mg/kg을 투여한 군.
- (5) Group E : SD계 흰쥐 5마리를 1군으로 임신기간 중 일정기간 소음자극을 준 군에서 난 새끼 쥐.
- (6) Group F: Group E와 같은 조건으로 當歸藥鍼 10mg/kg을 투여한 군.
- (7) Group G: Group E와 같은 조건으로 當歸藥

鍼 50mg/kg을 투여한 군.

(8) Group H: Group E와 같은 조건으로 當歸藥 鍼 100 mg/kg을 투여한 군.

2) 소음자극

산전 소음 자극군(Group E, F, G, H)들은 임신 15일부터 출산 때까지, 1일 1회 1시간씩 95 dB의 초음파 소리에 노출시켰다.

3) 약침자극

當歸藥鍼은 인체의 中脘穴(CV₁₂)에 상응하는 부위에 Group B, C, D, F, G, H에 산후 28일부터 35일 사이에 1일 1회 각 군에 맞게 시술하였다.

4) BrdU 주사

각 군의 어미 쥐들은 BrdU를 임신 15일날부터 출산할 때까지 1일 1회 피하로 주입하였다(50mg/kg). 각각의 새끼 쥐들은 BrdU를 생후 28일부터 35일까지 7일간 1일 1회 복강 내에 주입하였다(50mg/kg).

5) 실험 설계

암컷 쥐와 수컷 쥐를 24시간 동안 교배시킨 후 수컷 쥐와 격리시킨 다음 14일 후 임신이 확인된 암컷 쥐들을 선별하였다. 임신 15일부터 출산할 때까지 모든 암컷 쥐들에게 BrdU 50mg/kg을 출산 전까지 하루에 한번씩 피하주사하였다. 소음 자극군들은 소음자극에 노출되기 30분 전에 주사하였다.

임신 15일부터 출산 때까지 소음 자극군의 어미

쥐들은 95dB의 초음파 소리에 하루에 한 시간씩 노출되었다.

각 어미 쥐들은 평균 7~15마리의 새끼 쥐를 출산하였으며 이중 수컷 쥐들을 선별하여 출생 후 28일 동안 어미 쥐와 같이 지내게 하였다. 28일 후 새끼 쥐들을 각 Group별로 5 마리씩 선별하여 BrdU 50mg/kg을 복강내 주사한 후, 當歸藥鍼을 각 군에 따라 하루 한번 7일 동안 시술하였다. 실험 후 7일이 지난 뒤에 새끼 쥐들의 뇌조직 절편을 얻어 면역조직화학염색법을 통해 신경세포 생성의 변화를 살펴보았다(Fig. 1).

6) 조직 처리

모든 실험 동물에게 Zoletil을 복강 내 주사하여 마취시킨 다음 개흉하고 심장을 통하여 50mM PBS(pH 7.4에 맞춰어 Sodium phosphate Monobasic: Sodium phosphate Dibasic = 2 : 8의 비율로 섞어서 사용하였다)를 주입하고, 100mM PBS에 녹인 4% PFA로 관류고정시켰다. 고정액에서 하룻밤 동안 보관한 후에 고정된 뇌 조직은 동결방지를 위해 30% sucrose 용액으로 옮겨진 후, microtome를 이용하여 40 μm 두께의 연속 관상 절편을 제작하였다.

7) BrdU 면역조직화학염색

먼저, 조직절편을 50mM PBS로 세척한 후 0.5% Triton X-100에 반응시킨다. Triton X-100을 세척한 후 65°C에서 50% formamide와 2 × SSC로 세척한 후 37°C에서 2 N HCl에 반응시킨다. 반응이 끝나면 바로 100 mM sodium borate, pH 8.5로

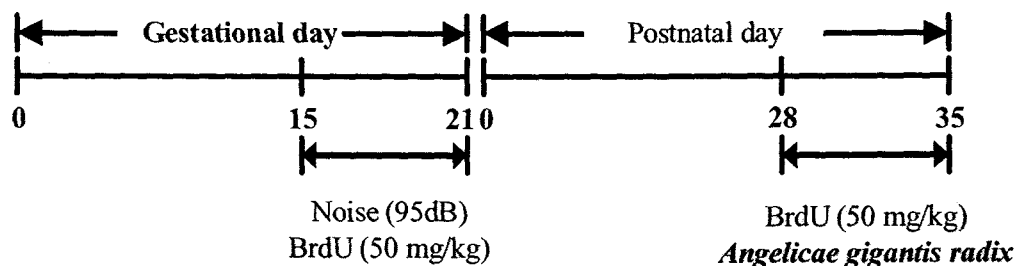


Fig. 1. Experimental schedule : From the 15th day of pregnancy until the delivery, all rats were subcutaneously injected with 50mg/kg BrdU once a day 30 min before the starting of experimental treatment until delivery. Starting on the 15th day of pregnancy, rats of the prenatal noise-treated group were applied with 95 decibel supersonic machine sound for 1h once a day until delivery. After birth 28 days, offspring rats intraperitoneally injected with 50mg/kg of BrdU and offspring rats were injected with *Angelicae gigantis radix* at the respective dose once a day for 7days.

세척한 후 50mM PBS로 재세척한다. 이 과정이 끝난 조직은 free-floating법을 사용하여 면역조직화학염색을 시행한다. 항체와 반응하기 전 50mM PBS에 0.5% BSA와 0.5% sodium azide를 함유한 일차 항체 용액에 1:600의 비율로 희석한 후 24시간 동안 반응시킨다. 50mM PBS로 세척한 후, biotinylated anti-mouse IgG를 50mM PBS에 0.3% Triton X-100을 함유한 이차 항체용액에 1:200의 비율로 희석한 후 1시간 동안 반응시킨다. 50mM PBS로 세척한 후, HRP avidine-biotin complex에서 1시간 동안 반응시킨다. 50mM PBS로 세척한 후, 50mM Tris 완충액에 과산화수소와 DBS를 함유하는 발색제로 발색반응을 실시한 다음 세척한다.

8) Ki-67 면역조직화학염색

우선 대천문에서 3.30 mm~4.16mm 거리의 각각의 뇌 영역에서 평균 8장의 절편을 취하였다. 조직 절편들은 4°C에서 Ki-67 specific mouse monoclonal antibody용액에서 48시간 동안 반응시켰다. 그 다음 조직 절편들은 1시간 동안 biotinylated anti-rabbit

secondary antibody에서 반응시켰다. Immunoreactivity는 대략 3분 동안 0.05% 3,3-diamino -benzidine 와 0.01 % H₂O₂ in 50 mM Tris-buffer (pH 7.6)을 포함한 용액에서 배양된 조직절편들에 의해서 시각화되었다.

9) 조직관찰 및 영상분석

해마 치상회의 조직절편의 BrdU 양성세포와 Ki-67 양성세포들은 광학 현미경을 이용하여 관찰하였고, 해마의 과립세포층의 면적은 영상 분석기를 이용하여 400배 배율로 분석, 계산하였다. BrdU 양성 세포와 Ki-67 양성 세포들은 치상회의 과립 세포층의 횡단면에서 mm² 단위로 표시하였다.

10) 통계 처리

실험결과는 SPSS Windows program(Ver. 10)을 이용하였으며, 모든 측정값은 평균값±표준오차(Mean±S.E.M)로 나타내었고, 유의성은 p<0.05로 하였다. 각 실험군간의 통계학적 분석은 ANOVA와 Duncan 사후검정을 실시하였다.

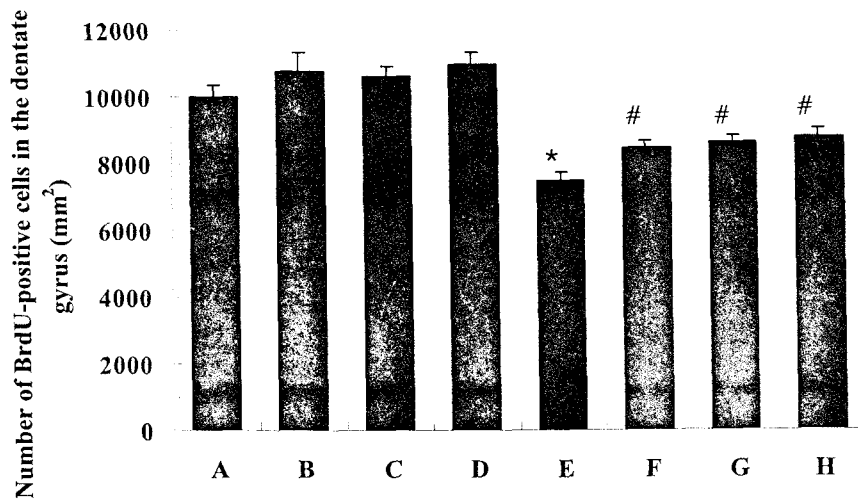


Fig. 2. Mean number of BrdU positive cells in the dentate gyrus in each group

- A: the normal group.
- B: the 10mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- C: the 50mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- D: the 100mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- E: the control group(the noise-treated group).
- F: the noise - 10mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- G: the noise - 50mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- H: the noise - 100mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.

* represents P < 0.05 compared to the normal group.

represents P < 0.05 compared to the control group.

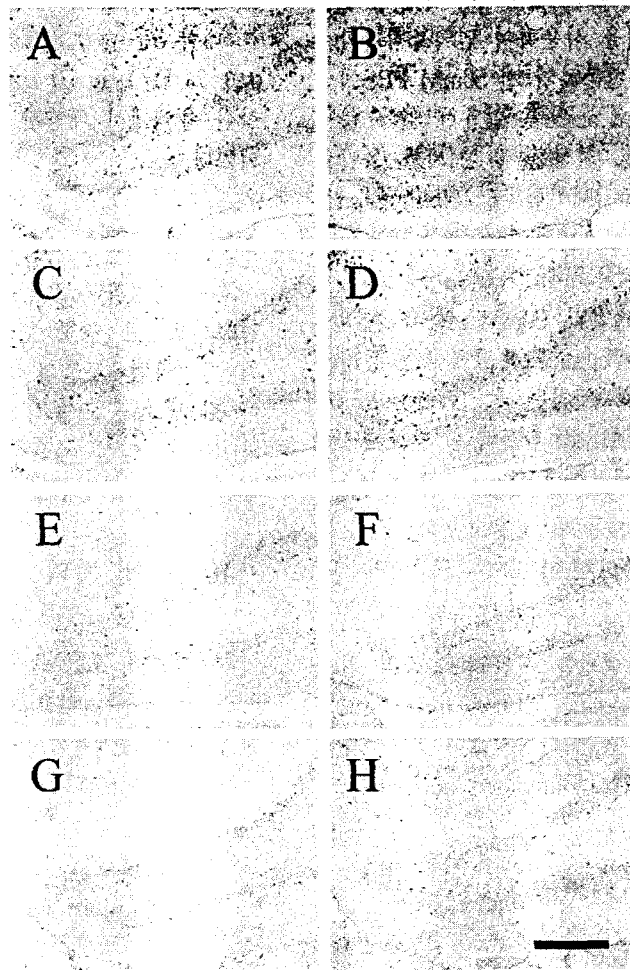


Fig. 3. Photomicrograph of BrdU positive cells in the dentate gyrus of hippocampus
Sections were stained for BrdU (black) and neuronal nuclei (Brown). Scale bar represents 100 μ m

- A: the normal group.
- B: the 10mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- C: the 50mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- D: the 100mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- E: the control group(the noise-treated group).
- F: the noise - 10mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- G: the noise - 50mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- H: the noise - 100mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.

Ⅲ. 실험 결과

1. 해마 치상회의 BrdU 양성 세포수

실험 결과 해마 치상회의 BrdU 양성 세포수는 Group A가 9,978.78 \pm 403.03, Group B는 10,782.56 \pm

534.40, Group C는 10,621.46 \pm 319.82, Group D는 10,971.96 \pm 348.12이었다.

Group E는 7,481.56 \pm 243.50으로 Group A에 비해 유의한 감소를 보였으나 Group F는 8,450.93 \pm 220.63, Group G는 8,627.54 \pm 176.15, Group H는 8,791.45 \pm 224.22로 투여량에 비례하여 증가되었으며 Group E와 유의한 차이가 있었다(Fig. 2, 3).

2. 해마 치상회의 Ki-67 양성 세포수

실험 결과 해마 치상회의 Ki-67 양성 세포수는 Group A가 264.40±14.98, Group B는 229.62±21.06, Group C는 234.11±26.01, Group D는 266.27±19.78이었다.

Group E는 157.44±17.58으로 Group A에 비해 유의한 감소를 보였으나 Group F는 175.02±18.35, Group G는 211.67±21.35, Group H는 266.64±21.17으로 투여량에 따라 증가되었으며 Group G, Group H가 Group E와 유의한 차이를 보였다(Fig. 4, 5).

IV. 고 찰

Stress는 항상성의 파괴 및 갑작스런 변화에 대한 반응으로 표현되며 소음은 환경 스트레스의 하나이다¹²⁾. 소음이란 공기의 비주기적 진동에 의해 생기는 파괴적인 소리 또는 시끄러운 소리로 그 강도는 데시벨(dB)로 표시되며 사무실 배경 소음 수준은 53 dB이고 油井의 굴착장치 소음 수준은 약 95 dB 가량된다. 소음은 불협화음으로 뿐만 아니라 때로는

자극으로까지 작용하여 예기치 않은 공포감을 일으키기도 한다¹³⁾. 급진적인 문명의 발달로 소음의 출처가 광범위해지고 다양해짐에 따라 각종 소음 환경 하에서 생활하게 되어 소음이 공중 보건과 산업 재해에 끼치는 영향이 점점 심각해져 가고 있다. 소음 stress는 갑작스럽게 일어나서 예상할 수도 없고 형태도 다양하며 계속 반복되어, 쉽게 질병에 이환되는 등 생리기능을 붕괴시킬 가능성을 지니고 있다¹⁴⁾.

해마는 포유동물의 뇌에서 학습과 기억의 저장과 연관이 있는 부위로 여러 가지 뇌 손상에 매우 민감하게 반응한다³⁾. Stress는 뇌신경세포의 생성과 사멸에도 영향을 미치며, 성체의 해마는 stress 호르몬의 주요 표적이 된다. 스트레스가 많은 환경에 노출되면 새로운 신경세포들의 생존에 변화를 주어, 세포증식을 억제하기 때문에 dentate gyrus에서 새로운 신경세포의 수가 감소된다. 또한 발달 과정 중에 받는 stress는 hypothalamic pituitary adrenal axis (HPA)의 변화를 초래함으로써 granule cell 전구체의 증식을 지속적으로 억제하여 새로운 신경세포들의 생산을 영원히 변경할 수도 있어 그 영향이 성인기까지 지속된다는 것이 흰쥐의 연구에 의해 밝혀졌다¹⁵⁾.

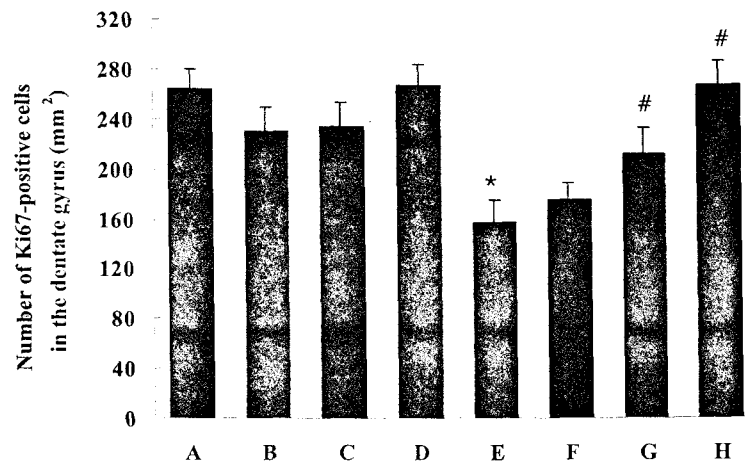


Fig. 4. Mean number of Ki-67 positive cells in the dentate gyrus in each group

- A: the normal group.
- B: the 10mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- C: the 50mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- D: the 100mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- E: the control group(the noise-treated group).
- F: the noise - 10mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- G: the noise - 50mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- H: the noise - 100mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.

* represents P < 0.05 compared to the normal group.

represents P < 0.05 compared to the control group.

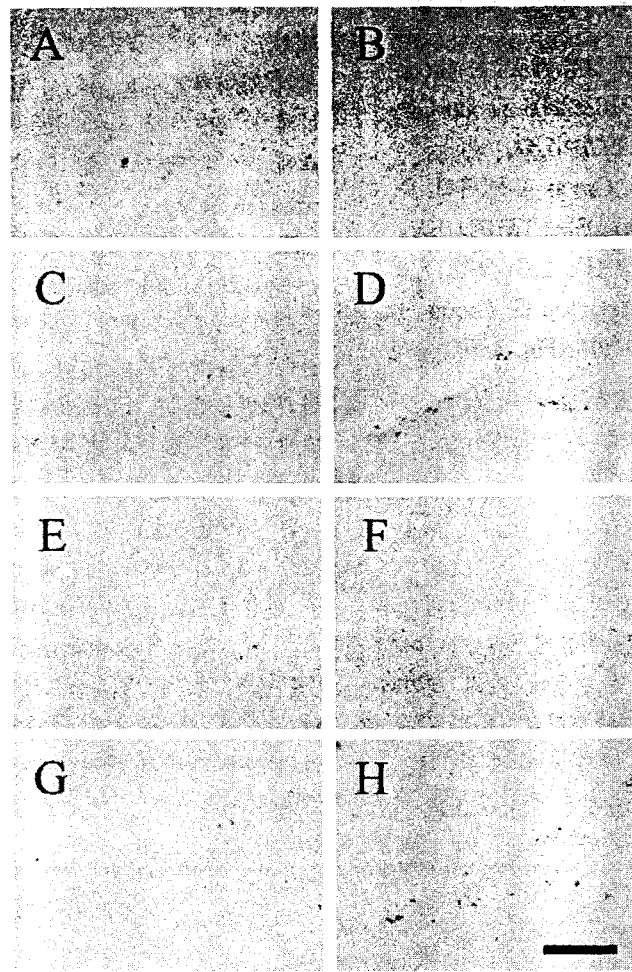


Fig. 5. Photomicrograph of Ki-67 positive cells in the dentate gyrus of hippocampus. Sections were stained for Ki-67 (black) and neuronal nuclei (Brown). Scale bar represents 100 μ m.

- A : the normal group.
- B : the 10mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- C : the 50mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- D : the 100mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- E : the control group(the noise-treated group).
- F : the noise - 10mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- G : the noise - 50mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.
- H : the noise - 100mg/kg *Angelicae gigantis radix*-treated group.

또한 stress는 해마의 구조적 변화를 야기할 수 있다. 발생 기간과 성체 기간 중 성체 해마에서는 stress에 의해 두 가지 형태의 구조적 감소성이 나타나는데, 첫째 반복적이며 만성적인 stress는 CA3 영역에 위치하는 신경세포의 dendrites의 atrophy를 유발하고, 둘째 급성 및 만성 stress는 dentate gyrus granule cells의 neurogenesis를 억제한다¹⁶⁾.

뇌 신경세포 증식을 확인할 수 있는 세포증식 지

표로 mitosis count, thymidine labeling, BrdU 및 면역조직화학적 분석 등이 있다¹⁷⁻²⁰⁾. BrdU는 thymidine analogue로서 thymidine과 같은 방법으로 이용되며 1982년 Gratzner²⁰⁾에 의하여 BrdU에 대한 monoclonal antibody가 개발되었다²¹⁻²²⁾. BrdU 항체 부착법은 DNA 합성기에 있는 세포에 BrdU를 표지시키고 이 물질에 대한 항체와 반응시켜 염색함으로써 짧은 시간 안에 세포분열 능력을 평가하는 방법으로²³⁾ 조작

이 간편하고 안전하며 짧은 시간내에 이루어진다는 장점이 있다²⁰⁾.

Ki-67은 Gerdes 등²⁴⁾에 의하여 human L426 Hodgkin's disease cell line으로부터 개발된 monoclonal antibody로서 세포 분열 시 핵에 발현되는 단백질에 대한 항체이다²⁵⁾. 이 항체로 구별할 수 있는 세포는 mid G1 phase에서 시작하여 S, G2 및 M phase 등 모든 proliferation phase에서 발견할 수 있고 세포분열에 관여하지 않는 G0와 G1 phase의 초기 세포는 음성으로 나타난다. Ki-67으로 연구한 세포증식율은 thymidine이나 BrdU로 연구한 결과와 높은 상관관계를 보이는 것으로 확인되었다. Ki-67은 증식 세포 핵항원(PCNA)과 같이 증식기에 있는 세포에서 높게 발현되므로 같은 조직에서도 부위에 따라 증식능력이 높은 세포에서는 Ki-67이 발현된다²¹⁻²²⁾.

當歸(*Angelicae gigantis radix*)는 繖形科에 속하는 다년생 초본의 뿌리로 性은 溫無毒, 味는 甘辛微苦하며 歸經은 心, 肝, 脾經의 三經이고 養血潤燥, 活血舒筋하는 효능을 가진다⁵⁾. 當歸藥鍼의 실험적인 연구는 박⁶⁾이 鎮痛에 대해서, 안⁷⁾은 抗酸化效能, 황⁸⁾은 면역기능저하를, 김⁹⁾은 急性 中毒性肝炎에 대한 肝臟保護작용, 이¹⁰⁾는 失血性貧血에 대한 회복 효과, 한¹¹⁾은 虛血性 腦疾患 개선효과를 보고하였다.

當歸의 이러한 효능에 착안하여 산전 소음 stress를 받은 새끼 쥐들의 신경세포 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 산전 소음 stress를 주어 태생기의 새끼 쥐들의 대뇌 해마의 세포증식을 억제한 다음, 생후 當歸藥鍼을 주사하여 대뇌 해마의 신경세포 생성의 변화 정도를 BrdU와 Ki-67을 이용하여 측정하여 다음과 같은 유의한 결과를 얻었다.

해마 치상회에서 BrdU 양성 세포수는 대조군(Group E)이 정상군(Group A)에 비해 유의성있는 감소를 보였다. Group F, G, H들은 대조군에 비해 투여한 當歸藥鍼에 비례하여 유의한 증가를 보였다.

이는 산전 소음 stress가 산전 새끼 쥐의 해마 신경 세포 생성을 억제하며 當歸藥鍼자극이 산전소음 stress를 받은 새끼 쥐의 생후 해마 신경세포 생성을 촉진하는 것을 알 수 있다.

해마 치상회에서 Ki-67 양성 세포수는 대조군이 정상군에 비해 유의한 감소를 보였다. 10mg/kg 當歸藥鍼처리군은 대조군보다 Ki-67 양성 세포수가 증가 하였으나 유의성 있는 차이를 나타내지 않았고, 50mg/kg 當歸藥鍼처리군과 100mg/kg 當歸藥鍼처리군

이 대조군에 비해 유의한 증가를 보여 當歸藥鍼자극이 산전 소음 stress를 받은 새끼 쥐의 생후 대뇌 해마의 신경세포 생성을 촉진시키는 것으로 추정된다.

이상의 결과들로 보아 산전 소음 stress를 받은 새끼 쥐들의 신경세포의 증식은 감소되는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 생후에 當歸藥鍼자극으로 뇌 신경세포 생성이 증가하는 것이 확인되었는데 이는 當歸藥鍼자극이 산전 소음 stress로 인한 뇌 신경세포의 손상을 감소시키고 회복을 증가시키며 이와 연관된 기억과 학습능력의 저하를 방어할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 소음 stress뿐만이 아닌 다른 유해한 자극으로 인한 뇌 손상에도 효과가 있으리라 기대되며 이러한 연구 결과를 바탕으로 뇌의 기능을 회복시키고 손상을 감소시키는 한방적인 치료법들에 대해 지속적으로 다각적인 연구와 논의가 필요하다고 사려된다.

V. 결 론

當歸가 산전 소음 stress를 받은 새끼 쥐의 신경세포 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 면역조직화학기법을 통한 해마의 치상회 부위의 BrdU 양성 세포수, Ki-67 양성 세포수를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 해마 치상회 부위에서 BrdU 양성 세포수는 Group E에 비해 Group F, G, H에서 유의성 있게 증가하였다.
2. 해마 치상회 부위에서 Ki-67 양성 세포수는 Group E에 비해 Group G, H에서 유의성 있게 증가하였다.

이상의 결과를 바탕으로 실험 동물의 산전 소음 stress는 해마에서 뇌신경세포의 증식을 억제함을 알 수 있었다. 그러나 생후 當歸藥鍼자극군에서는 이러한 감소가 다시 증가함을 확인할 수 있다. 이로써 산전 소음 stress로 인한 학습능력과 기억능력의 저하를 예방하는데 當歸가 유효한 영향을 미칠 것으로 사료된다.

V. 참고문헌

1. 오수성, 이광섭, 손석준. 일반건강측정표를 이용한 일부 지역 주민의 스트레스 수준에 관한 연구. 예방의학회지. 1995 ; 28 : 123-40.
2. Selye H. The stress of life. New York : McGraw-Hill. 1978 : 6-20.
3. 현성용. 해마의 기능에 관한 이론적 고찰. 사회문화연구. 1991 ; 10 : 91-107.
4. Glould E, Tanapat P, McEwan BS, Flugge G, Fuchs E. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. Proc Natl Acad Sci USA. 1998 ; 95 : 3168-71.
5. 전국한의학대학 본초학교실 공편저. 本草學. 서울 : 영림사. 1991 : 578-80.
6. 박쾌환. 당귀수침이 진통효과에 미치는 영향에 관한 연구. 경희한의대논문집. 1984 ; 7 : 261-71.
7. 안준철, 문진영, 임종국. 당귀약침액의 항산화 효능에 관한 연구. 대한침구학회지. 1996 ; 13(2) : 254-62.
8. 황현서, 안병철, 박동석. 농도별 당귀약침이 방사선 피폭에 의한 면역기능저하에 미치는 영향 I. 대한침구학회지. 1994 ; 11(4) : 113-29.
9. 김경식, 송영준. 당귀 및 황기약침이 간손상된 백서의 혈액에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1996 ; 13(1) : 1-10.
10. 이종석. 단삼 및 당귀수침이 급성실혈성빈혈을 유발시킨 흰쥐의 회복효과에 미치는 영향. 경희대논문집. 1991 ; 14 : 381-95.
11. 한상균, 이병렬. 당귀약침의 혈해 자입이 Intraluminal Filament 삽입술에 의해 유발된 백서의 허혈성 뇌손상에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2004 ; 21(2) : 1-20.
12. 김형석. stress 상태파악을 위한 체액측정 방법. 경희대학교 논문집자연과학편. 1990 ; 19 : 309-16.
13. 양철주. 공사장의 소음에 의한 양돈농장의 피해 조사. 순천대학교 논문집. 1997 ; 16(1) : 7-20.
14. Hertzberg RP, Dervan PB. Cleavage of DNA with methidiumpropyl-EDTA-iron(II) : reaction condition and product analysis. Biochem 1984 ; 23 : 3934-45.
15. Lemaire V, Koehl M, Le Moal M, Abrous DN. Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. Proc Natl Acad Sci USA. 2000 ; 97 : 11032-7.
16. McEwan BS. Stress and hippocampal plasticity. Annu Rev Neurosci. 1999 ; 22 : 105-22.
17. Quinn CM, Wright NA. The clinical assessment of proliferation and growth in human tumors. J Pathol. 1990 ; 160 : 93-102.
18. Woosley JT. Measuring cell proliferation. Arch Pathol Lab Med. 1991 ; 115 : 555-7.
19. Donjuisen K, Schmidt U, Hirche H. Changes in mitotic rate and cell cycle fractions caused by delayed fixation. Human Pathol. 1990 ; 21 : 709-14.
20. Gratzner HG. Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxy uridine : A new reagent for detection of DNA replication. Science. 1982 ; 218 : 474-5.
21. Kamel OW, Franklin WA, Ringus JC. Thymidine labeling index and Ki-67 growth fraction in lesions of the breast. Am J Pathol. 1989 ; 134 : 107-13.
22. Sasaki K, Matsumura K, Tsuji T. Relationship between labeling indices of Ki-67 and BrdUrd in human malignant tumors. Cancer. 1988 ; 62 : 989-93.
23. Hainau B, Dombrowsky P. Histology and cell proliferation in human bladder tumors. An autoradiographic study. Cancer. 1974 ; 33 : 115-26.
24. Gerdes J, Schwab U, Lemke H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with human nuclear antigen associated with cell proliferation. Int J Cancer. 1983 ; 31 : 13-20.
25. Van Dierendonck JH, Keijer R, van de Velde CJH. Nuclear distribution of the Ki-67 antigen during the cell cycle : Comparison with growth fraction in human breast cancer cells. Cancer Res. 1989 ; 49 : 2999-3006.