

뇌졸중 유발 고혈압 흰쥐 (SHR-SP)에서 BDR-29에 의한 혈압 강하 효과

황선미 · 김은주 · 김혜음 · 최덕호 · 신 선 · 이윤정 · 강대길 · 이호섭*

원광대학교 한의학전문대학원

Hypotensive effect of BDR-29 in SHR-SP

Sun Mi Hwang, Eun Ju Kim, Hye Yoom Kim, Deok Ho Choi, Sun Shin, Yun Jung Lee,

Dae Gill Kang and Ho Sub Lee*

Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

Abstract – The purpose of this study is to investigate hypotensive effect of BDR-29, new herbal preparation of *Cassiae Semen*, *Prunellae Spica*, *Uncariae Ramulus et Uncus*, and *Tribuli Semen*, in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHR-SP). SHR-SP were treated with BDR-29 at a dose of 100, 200 mg/kg/day orally for 13 weeks. In the BDR-29 treat group, mean blood pressure and systolic blood pressure were significantly reduced ($p < 0.05$). In phenylephrine-precontracted aorta and carotid artery, BDR-29 induced endothelium-dependent vascular relaxation. Hematological findings and biochemical examination revealed no evidence of specific toxicity related to BDR-29. In addition, BDR-29 was markedly attenuated intima-media thickness of thoracic aorta with progression of atherosclerosis. SHR-SP were treated with BDR-29 were significantly increased eNOS expression in aorta. These results indicated that BDR-29 improves blood pressure as well as initial atherosclerotic lesion.

Key words – BDR-29, SHR-SP, hypertension, eNOS, vascular relaxation

심혈관계 질환에는 고혈압, 고지혈증, 죽상경화, 뇌졸중 및 심근경색 등이 있으며, 최근 서구화된 식습관에 의한 영양 과잉 섭취, 자동화에 따른 운동부족과 과도한 스트레스 등으로 뇌혈관 질환 및 심장 질환과 같은 심혈관계 질환이 두드러지게 증가되는 등의 많은 부작용이 야기되고 있다. 특히 우리나라의 경우 이러한 심혈관계 질환의 대다수가 고혈압과 관련이 있으며, 직접적인 작용으로는 혈관 수축 효과를 나타내며 간접적으로는 죽상경화 등을 유발하여 질환으로 나타나게 된다.¹⁾ 혈압의 상승은 혈관의 이상을 초래하는데 크게 구조적인 변화 (혈관내경 및 혈관 구조), 기능적인 변화, 기계적인 변화로 나눌 수 있다. 혈액 동력학적 측면에서 혈압과 혈류의 변화, 주기적 혈관 자극 그리고 세포 내외의 신경 혈액학적 요인에 의해 혈관에 변화가 초래되면 대혈관에서는 내경의 증가와 비대, 중격의 비대화 등 hypertrophic remodeling이 일어나며 미세혈관에서는 평활근 세포 재배치, 혈관 재형성 등 eutrophic remodeling이 일어난다.²⁾ 혈관 내피는 혈관조직을 총체적으로 유지하는데 중

요한 조직으로 혈관내피세포의 기능이 상실되면 결과적으로 혈관손상이 일어나게 된다.³⁾ 혈관 내피 세포는 endothelium- driven relaxing factor (EDRF)인 혈관 이완 인자 nitric oxide (NO)를 생성하여 endothelin-1 (ET-1), angiotensin II (Ang-II)와 같은 혈관 수축 인자와 균형을 이루게 된다.⁴⁻⁵⁾ NO는 L-arginine으로부터 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 합성되는 물질로 심혈관계에서는 혈관을 이완시키고, 혈관 평활근 세포의 증식과 이동의 억제 작용을 한다고 알려져 있다.⁶⁾ Chou 등은 본태성 고혈압 랫드의 대동맥에서 endothelial NOS (eNOS)의 활성화와 단백질이 감소되는 반면, iNOS의 활성화와 단백질이 증가된다고 보고하여, 고혈압 발병에 산화질소와 NOS와의 관련성을 제시하였다.⁷⁾ 따라서 혈관 내피에서 eNOS는 혈관 이완 및 혈압의 변화에 중요한 영향을 미친다.

고혈압의 치료에는 이노제와 베타 차단제 등과 같은 기존에 널리 사용되어 온 항고혈압제 이외에 알파 차단제, 지속형 칼슘 차단제, 안지오텐신 전환효소 억제제 및 최근에 소개되고 있는 안지오텐신 수용체 차단제 등 많은 약제들이 임상에서 사용되고 있다.⁸⁾ 그러나 이들은 장기간 복용해야 하기 때문에 약의 종류에 따라서 체위성 저혈압, 저칼륨혈

*교신저자 (E-mail): host@wku.ac.kr
(Tel): +82-63-850-6841

증, 기침, 두통, 현기증, 부종, 식욕부진 등의 부작용을 동반할 수 있다.⁹⁾ 따라서 효능뿐만 아니라 안전성이 확보된 한약재를 이용한 심혈관계 질환에 효과적인 기능성 식품 및 의약품의 개발이 절실히 요구되고 있으며, 우리나라 뿐만 아니라 세계적으로 천연물 유래 치료제에 관한 연구에 관심이 모아지고 있다.¹⁰⁾

본 연구에서 사용된 BDR-29는 기성 한의서에는 없는 자체 구성된 처방으로, 결명자 (決明子, *Cassiae Semen*), 하고초 (夏枯草, *Prunellae Spica*), 조구등 (釣鉤藤, *Uncariae Ramulus et Uncus*), 백질려 (白疾藜, *Tribuli Semen*) 등의 4가지 약재로 구성되어 있다. BDR-29는 뇌혈관 질환의 직접적인 원인이 되는 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 등의 예방과 치료를 위해 구성된 한방 처방이다. BDR-29에 포함된 각각의 한약재들은 현재 임상에서 많이 사용되는 약재들이며,¹¹⁻¹³⁾ 복합적인 독성에 관한 안전성은 랫드를 이용한 단회투여 시험¹⁴⁾ 및 13주 반복투여 시험¹⁵⁾, 그리고 신장독성연구¹⁶⁾로 확인되었다. 그러나 이들 한방 처방에 대한 약리학적 작용과 임상적 이용가치에 대해서는 알려진 바가 없다. 그러므로 본 연구는 새로운 한방 처방인 BDR-29를 이용하여 뇌졸중 유발 고혈압 흰쥐 (SHR-SP)에서 혈압 강하 효과 및 항 죽상경화 효능을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물 및 식이 - 본 실험에 사용한 실험동물은 7주령의 뇌졸중 유발 고혈압 흰쥐 (stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHR-SP)를 (중앙실험동물(주), 서울, Korea)에서 구입하여 사용하였으며, 온도 23±1, 습도 50±10%, 환기횟수 10-15 회/hr 및 조명 (06:00-18:00 light on)의 환경조건을 유지하였다. SHR-SP를 각 군에 8 마리씩 배정하여 물과 고형사료를 충분히 공급하면서 1주 이상 실험실 환경에 적응 시킨 후 실험에 사용하였다. BDR-29 100, 200 mg/kg/day를 13주 동안 각각 투여하였으며, 대조군으로 captopril 20 mg/kg/day를 투여하였다.

실험 약물 - BDR-29는 원광대학교 한의과대학 익산 한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였고, 다음과 같은 방법으로 제조되었다. 결명자, 하고초, 백질려, 각 50 g을 증류수 3 L에 넣고 냉각기가 설치된 삼각플라스크에 넣은 후 120분 간 가열한 후 조구등 50 g을 추가하여 20분간 더 가열하였다. 추출된 전탕액을 3,000 rpm으로 30분간 원심 분리하여 얻은 전탕액을 회전식 증발기로 농축한 후 동결 건조하여 25 g (수득율 12.5%)의 분말을 얻었다.

요 중 creatinine 농도와 혈액 생화학 측정 - 요와 혈장의 creatinine은 Phillips 등¹⁷⁾의 방법으로 분광광도계 (Spectronic 601, Miltonroy, USA)를 이용해 정량하였고, 분

리한 혈청은 생화학 기기 (AU400, Olympus, USA)를 이용하여 간기능 검사 Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), Glutamic pyruvic transaminase (GPT), Blood Urea Nitrogen (BUN), Glucose (Glu), Total-Bilirubin (T-Bil)을 측정하였다.

혈압의 측정 - 백서의 꼬리 동맥에서 혈압을 측정하였다. 백서를 37°C에서 20분간 방치한 후 백서 고정대에 고정하고, 꼬리에 pneumatic sensor를 부착하여 pneumatic pulse transducer에 연결하였다. 이를 sphygmomanometer preamplifier에 연결하고, polygraph (Grass Model 7E, Quincy, MA, USA) 상에 기록하여 심박동수, 수축기 혈압 및 이완기 혈압을 측정하였다.

혈관 장력의 측정 - 3 mm로 제작한 흉부 대동맥 절편을 95% O₂, 5% CO₂ 혼합가스로 포화시킨 37°C의 Krebs 용액 (118 NaCl, 4.7 KCl, 1.1 MgSO₄, KH₂PO₄, 1.5 CaCl₂, 25 NaHCO₃, 10 mM glucose, pH 7.4)이 들어있는 organ bath의 저부에 한쪽 끝을 고정시키고, 다른 쪽 끝은 force-displacement transducer (Grass FT 03, GRASS Instrument, M, USA)에 연결하여 고정시킨 후 isometric tension을 생리 기록계 (Grass Model 7E, Grass Instrument, MA, USA)를 이용하여 측정하였다.¹⁸⁾ 일정한 기저선이 유지되면 phenylephrine으로 최대한 수축시키고 혈관 이완반응을 보기 위해 5분 후 acetylcholine (ACh) 또는 sodium nitroprusside (SNP)을 첨가하였다. 이완율은 phenylephrine에 의한 수축에 대해 백분율로 계산하였다.

조직절편 제작과 Hematoxylin-eosin 염색 - 적출된 흉부 대동맥 조직을 10% 포르말린에 3일 고정시킨 후, 수세하여 조직 내에 남아있는 포르말린을 제거하였다. 알코올 농도를 50%에서 100%로 상승시키며 탈수하고 xylene으로 치환하였다. 파라핀 침투과정을 거친 후 블록을 제작하여, 회전형 박절기 (microtome; Thermo Electron Corporation, Pittsburg, PA, USA)를 사용하여 6-7 μm 두께로 자른 뒤 xylene 용액에 넣고 파라핀을 제거하고 세척하였다. 핵과 세포질을 H&E 염색을 하고 Xylene 용액에서 투명 과정을 거쳐 봉입제로 봉합 한 후 광학현미경으로 (Olympus BX41, Olympus DP70 camera, Japan)으로 사진을 촬영하였다.

eNOS 발현의 측정 - 적출된 흉부 대동맥 조직을 4% paraformaldehyde 용액에 담가 고정하고, 30% sucrose 용액에 조직을 침적시켰다. 조직을 동결한 후 cryotome SME (Thermo Electron Corporation, Pittsburg, PA, USA)를 이용하여 4°C의 두께로 평행하게 횡단절편을 만든 후 슬라이드글라스 위에 부착시켰다. 실온에서 하룻밤 충분히 건조 시킨 다음 blocking을 하여 항체의 비 특이적 결합을 방지하였다. anti-eNOS를 붙여 습윤 상자에서 하룻밤 반응 시킨 뒤 이차 항체를 반응시킨 후 Horseradish peroxidase-conjugated streptavidin에 30분 동안 반응시켰다. 발색시약을 처리하고

반응을 증지시킨 후 eNOS의 발현정도는 광학현미경으로 사진을 촬영하였다.

통계 처리 - 실험 결과의 유의성 검증은 각 실험 군 간의 평균치와 표준편차로 표시하였고, 통계 처리는 Student's *t*-test를 이용하여 각 실험 군 간의 유의성을 검증하였다.

결 과

SHR-SP에서 BDR-29에 의한 혈압 강하 효과 및 신장 과 간 기능 독성검사 - 뇌졸중 유발 고혈압 동물모델인 SHR-SP에서 BDR-29의 효과를 알아보기 위하여 13주간 100, 200 mg/kg/day씩 농도별로 투여하여 매주 1회 혈압 및 심박동수를 측정하여 혈압강하 효과를 분석하였다. BDR-29는 13주간의 실험기간 동안 각 군 간의 심박동수에 유의한 변화를 보이지 않았다. 하지만 SHR-SP의 수축기 혈압, 이완기 혈압, 평균 혈압은 8주 동안 꾸준히 증가하였고 나머지 5주 동안은 상승된 혈압을 유지하였다. 이러한 SHR-SP에서 13주에 측정된 수축기 혈압은 대조군에서 243.8±2.2 mmHg으로, 양성대조군인 안지오텐신 전환효소 억제제인 captopril 20 mg/kg/day 투여에 의하여 188.5±2.0 mmHg으로 유의하게 억제되었다. 또한 SHR-SP에서의 혈압 증가는 BDR-29

의 투여에 의하여 억제되었고, 이러한 BDR-29에 의한 혈압 강하 효과는 200 mg/kg/day의 BDR-29 투여 시 더욱 상승하였다 (BDR-29 100 mg/kg/day, 227.0±3.6 mmHg; 200 mg/kg/day, 196.0±2.8 mmHg). 결과적으로 BDR-29는 SHR-SP에서 농도 의존적으로 수축기 혈압, 이완기 혈압, 평균 혈압을 낮추는 효과가 있음을 알 수 있었다 (Fig. 1).

SHR-SP에서 13주의 장기간 동안 BDR-29에 의한 신장 및 간 기능에 대한 독성효과를 알아보기 위해 혈액 생화학검사를 수행하였다. 혈장 내 BUN 수치와 혈중 creatinine은 SHR-SP에 비하여 captopril과 BDR-29에서 감소하였다. GOT, GPT 측정 결과 BDR-29는 간 기능에 대한 독성을 보이지 않았고, T-Bil 측정 결과 captopril과 BDR-29는 SHR-SP와 비교하여 현저한 감소를 보여 안전성을 확인하였다 (Table. 1). 또한 실험 기간 내의 body weight를 측정된 결과, 각 그룹 간의 특별한 변화는 보이지 않았다 (data not shown).

BDR-29에 의한 혈관 평활근 이완 효과 - BDR-29가 SHR-SP의 혈관 내피 세포 및 평활근 세포 손상을 억제하는 효과를 보이는지 측정하기 위하여 각 군의 대동맥과 경동맥을 적출하여 혈관 장력을 측정하였다. 그 결과, SHR-SP의 경동맥에서 1×10^{-6} M의 ACh에 의한 혈관 이완 정도

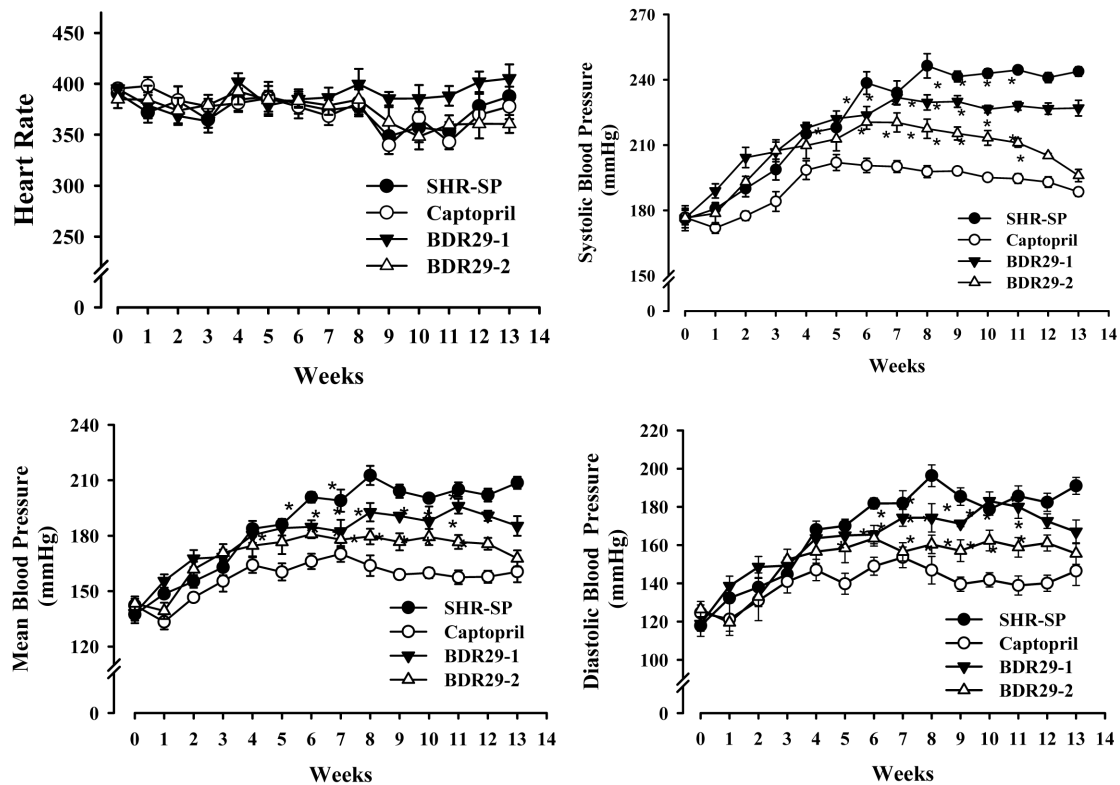


Fig. 1. Effect of the BDR-29 on systolic blood pressure in different experimental groups in SHR-SP. Control group : SHR-SP, captopril treated group : captopril (20 mg/kg/day), BDR-29 treated group : BDR-29-1 (100 mg/kg/day) and BDR-29-2 (200 mg/kg/day). SHR-SP were supplemented with BDR-29 during 13 weeks **p*<0.05 compared with SHR-SP. (n=6, each experiments).

는 47.4±3.1%로 나타났지만, captopril을 투여한 군에서는 71.7±1.2%, BDR-29를 100 mg/kg/day 투여한 군에서는 67.0±3.9%, 200 mg/kg/day 투여 군에서는 68.7±3.4%로 각

Table I. Effect of BDR-29 on the BUN, Creatinine, GOT, GPT, T-Bilirubin and Glucose in SHR-SP

Group	SHR-SP	Captopril (20 mg/kg)	BDR-29 (100 mg/kg)	BDR-29 (200 mg/kg)
BUN (mg/dl)	21.5±1	14.14±0.67 *	18.6±0.68 *	18.67±0.84 *
Creatinine (mg/dl)	0.82±0.11	0.59±0.06 *	0.56±0.06 *	0.55±0.06 *
GOT (IU/L)	169.5±19.25	155±12.58	152.8±18.27	171.5±10.8
GPT (IU/L)	50.33±8.41	48.14±2.35	44.8±3.14	55.5±4.3
T-Bil (mg/dl)	0.45±0.03	0.31±0.03 *	0.32±0.02 *	0.25±0.02 *
Glucose (mg/dl)	122.67±3.89	124.29±5.86	126.2±2.84	128.5±0.76

BUN: blood urea nitrogen, GOT: glutamic oxalic transaminase, GIP: glutamic/glutamate pyruvic transaminase, T-Bil: total bilirubin.

Values are presented as mean±standard deviation (SD). *p<0.05 compared with SHR-SP. (n=6, each experiments).

각 회복되었다. 경동맥에서 ACh에 의한 혈관 이완의 정도는 낮았지만 BDR-29 투여 군에서 농도 의존적인 회복을 보였다. SNP에 의한 혈관 이완은 1×10^{-7} M에서 captopril과 BDR-29 200 mg/kg/day 투여 시 유의적인 혈관 이완을 보였으나, BDR-29 100 mg/kg/day 투여 군에서는 유의성을 보이지 않았다 (Fig. 2). 대동맥에서는 1×10^{-6} M의 ACh에 의하여 SHR-SP와 비교하여 혈관 이완의 정도는 낮았지만 유의적인 혈관이완 효과를 나타냈으며, SNP에 의한 혈관 이완 효과는 BDR-29에 의해서 회복되었지만 농도 의존적인 결과를 보이지는 않았다 (Fig. 3).

BDR-29에 의한 대동맥의 형태학적 분석 - SHR-SP에서 13주간의 BDR-29 투여 후 흉부대동맥을 cross section해서 hematoxylin과 eosin 염색을 하여 혈관 내강 면적을 관찰한 결과 SHR-SP와 비교하여 captopril 투여군에서는 혈관 내막의 이상 발달이 현저하게 감소하였고, BDR-29의 투여 군에서는 200 mg/kg에서 유의성 있게 감소되었다 (Fig. 4).

BDR-29에 의한 eNOS의 발현 변화 - 대표적인 내피세포 의존성 혈관 이완 인자인 NO는 내피 세포의 L-arginine 으로부터 NOS에 의해 합성 및 분비되어 혈관 평활근으로 확산되어 혈관을 이완시키게 된다. 그러므로, BDR-29에 의

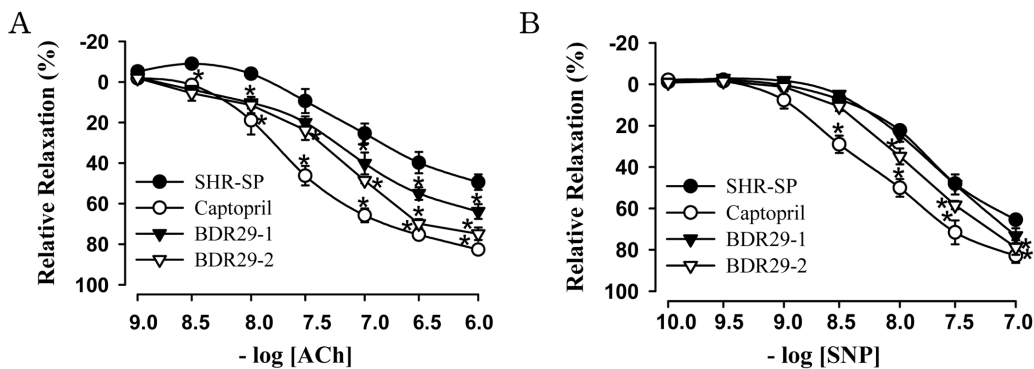


Fig. 2. Effect of Ach (A) and SNP (B) on vascular relaxant effect of endothelial intact carotid aortic rings isolated from SHR-SP. Each value shows mean ± S.E. of four experiments. *p<0.05 compared with SHR-SP.

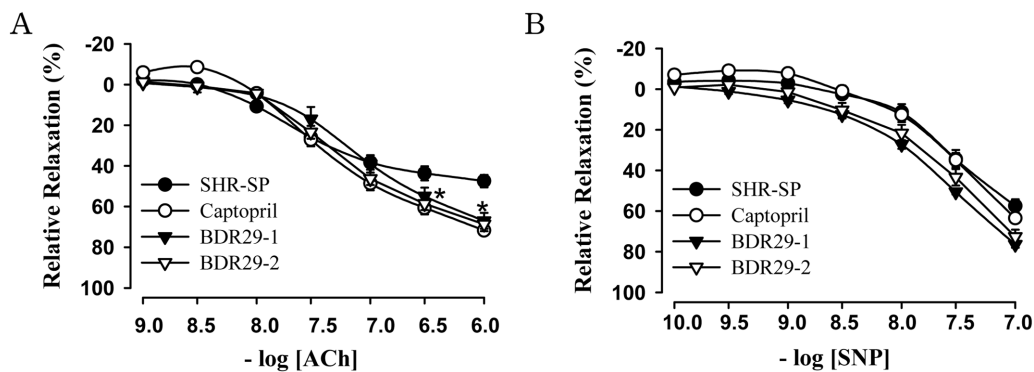


Fig. 3. Effect of Ach (A) and SNP (B) on vascular relaxant effect of endothelial intact aortic rings isolated from SHR-SP. Each value shows mean ± S.E. of four experiments. *p<0.05 compared with SHR-SP.

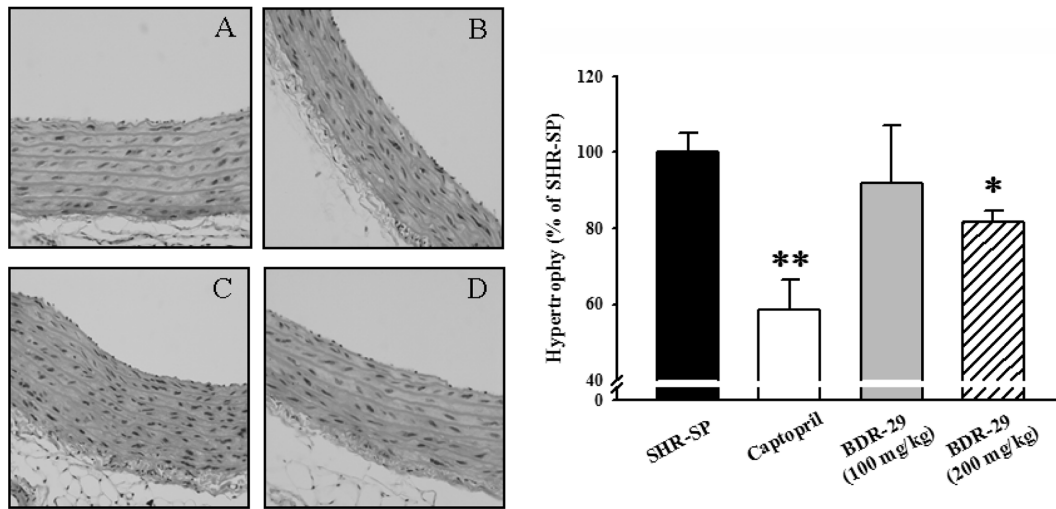


Fig. 4. Representative microscopic photographs of the aorta stained with hematoxylin and eosin. Aorta obtained from SHR-SP group (A), captopril-treated SHR-SP group (B), 100 mg/kg/day BDR-29-treated SHR-SP group (C), and 200 mg/kg/day BDR-29-treated SHR-SP group (D). Original magnification, 400X. Right panel indicates the graph of intima-media thickness. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with SHR-SP.

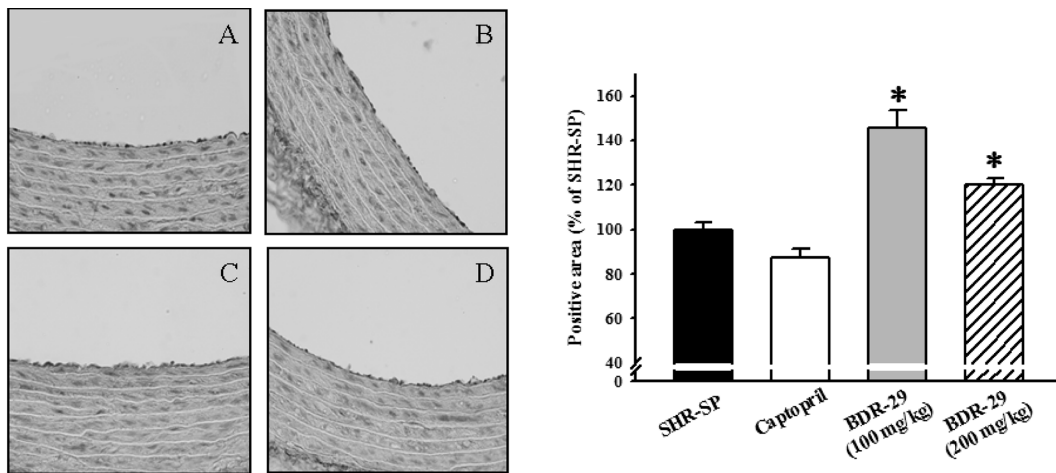


Fig. 5. Effect of BDR-29 on eNOS in the aorta of SHR-SP. Immunohistochemical staining of eNOS in aorta from (A) SHR-SP, (B) captopril, (C) BDR-29 (100 mg/kg/day), (D) BDR-29 (200 mg/kg/day). Original magnification, 400X. Right panel indicates the percentage of activated endothelial cells for eNOS in thoracic aorta. * $p < 0.05$ compared with SHR-SP.

한 혈압 강하 효과와 NO 발생에 의한 혈관 이완과의 관련성을 알아보기 위하여 면역 염색 화학법을 사용하여 흉부 대동맥의 eNOS 발현을 관찰하였다. SHR-SP에서 eNOS의 발현은 거의 볼 수 없었고, captopril 투여군에서도 eNOS의 증가효과는 보여지지 않았다. 그러나, BDR-29 100 mg/kg/day 및 200 mg/kg/day 투여군에서 유의성 있는 eNOS의 증가를 확인하였다 (Fig. 5).

고 찰

고혈압은 우리나라의 7대 만성 질환의 하나로 단일 질병

으로는 발병률이 낮지만 뇌혈관질환, 심장질환, 당뇨병 등의 발생과 연관되고 있다.¹⁹⁾ 고혈압의 한 원인으로 동맥 경화나 혈관 염증을 들 수 있는데, 이는 혈관 내피 세포의 손상과 관련이 있다고 할 수 있으므로 혈관 기능 장애는 고혈압의 병인기전으로 알려져 있다. BDR-29는 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 등의 예방과 치료를 위해 구성된 한방 복합으로 설치류를 이용한 단회 및 장기 반복 투여 독성실험에서 안전성을 확인하여 직접적인 혈압강하 효과를 검증하기 위하여 동물 모델을 이용하여 실험을 진행하였다. SHR로부터 개발된 SHR-SP는 사람의 본태성 고혈압 모델로써 혈관과 심장의 이상 발달과 같은 심혈관계 질환의 특징을

발달시켜 고혈압과 뇌졸중 발작 연구를 위해 넓게 사용되고 있다.^{20,21)} 그러므로 본 연구는 SHR-SP에서 13주의 장기간 투여한 BDR-29가 혈압 및 혈관 기능 장애에 어떠한 효과를 보이는지 실험하였다.

고혈압 판단의 중요한 기준이 되는 혈압 측정에서 SHR-SP의 수축기와 이완기 혈압은 시간이 지남에 따라 점점 증가하였고, 상승된 혈압은 높은 수준으로 계속 유지 되었다. 그러나 BDR-29를 투여한 군에서 SHR-SP와 비교하여 혈압은 농도 의존적인 유의성 있는 감소를 보여주었으며, 그 결과 BDR-29가 혈압 강하 효과가 있음을 알 수 있었다. ACE 억제제인 captopril 투여군에서는 투여후 5주부터 유의성 있는 혈압 강하효과를 보였으나 BDR-29 투여군에서는 captopril 투여군보다 혈압강하 효과가 비교적 늦게 나타났으며 약하게 나타났다. 그러나 200 mg/kg/day BDR-29 투여군은 13주에 접어들면서 captopril 투여군과 같은 혈압을 나타냈다. 이러한 결과는 BDR-29에 의한 혈압 강하효과가 서서히 진행되며 효과는 양방의학에서 처방되어지는 ACE 억제제와 같은 수준이라는 것을 보여주고 있다. 이에 BDR-29 투여군의 혈압 상승 억제 원인을 밝히기 위하여 다음의 실험들을 진행하였다.

혈압은 심장의 박출량과 박동수 및 말초혈관의 저항이 관여하고, 혈관 저항은 혈관 평활근에 분포하는 자율신경계의 작용과 혈관 활성 물질에 대한 혈관 평활근의 반응성 및 혈관 내피 세포에서 유리되는 수축 인자와 이완 인자의 작용에 의하여 조절된다.^{22,23)} 그러므로 SHR-SP에서 BDR-29에 의한 혈압강하 기전을 알아보기 위하여 수축 혈관에 미치는 영향과 혈관 이완 효과의 기전을 연구하였다. SHR-SP의 경동맥과 대동맥을 적출한 후 조직절편을 제작하여 phenylephrine으로 수축시키고 내피세포 의존성 혈관이완인자인 ACh를 투여하였다. SHR-SP군에서는 내피 세포의 느린 반응으로 인한 낮은 이완율을 보여주었으며, 이는 높은 혈압에 의해 지속적인 내피 세포의 손상이 있었음을 알 수 있었다. BDR-29 투여군에서는 경동맥과 흉부대동맥 모두에서 BDR-29에 의한 혈관 이완율이 농도 의존적으로 증가되는 것을 확인하였다. 또한 ACh 반응 시간 또한 빨라진 것으로 보아 BDR-29에 의한 혈관 내피 세포의 보호 효과를 알 수 있으며, 이러한 혈관 내피 세포 보호 효과는 농도 의존적으로 나타났다. 한편 NO doner인 SNP의 농도별 투여 시 경동맥에서 BDR-29가 수축 혈관에 미치는 영향을 측정 한 결과, BDR-29 200 mg/kg에서 유의성 있는 이완을 나타냈으며 대동맥에서도 유의성은 없었으나 이완을 나타내는 경향을 보여주었다. 그러므로 고혈압 동물모델에서 BDR-29의 장기투여에 의하여 손상된 혈관 내피 세포가 회복되었으며 이는 농도 의존적으로 혈관이완 효과를 나타내었다. 혈관은 자극에 반응하여 혈류와 혈관의 긴장 상태를 조절하는 능력이 있다. 혈류가 증가하면 혈관의 내피세포에서

NO가 분비되어 혈관확장 반응을 일으키는데 이를 혈류가 증가됨으로서 유발되는 내피 세포 의존성 혈관 반응이라고 하며,²⁴⁾ 위의 실험 결과 BDR-29는 혈관 내피세포를 보호함으로써 내피 세포 의존성 혈관 반응을 개선시켜 혈관 이완을 유도하며 결과적으로 혈압 강하효과를 나타낸다고 사료된다.

고혈압은 동맥의 혈관 수축과 혈관 내피 세포의 수포 형성, 혈관 평활근의 세분 등의 괴사로 인한 구조적 변형과 비정상적인 이온의 이동이 일어나 혈관의 비대가 일어난다.²⁵⁾ 이는 관상동맥의 동맥 경화증과 내피 기능의 장애와 밀접한 관계가 있다.²⁶⁾ 본 실험에서도 SHR-SP에서 혈관의 이상 발달이 일어났으며, BDR-29의 투여로 혈관 내막 (intima) 및 중막 (media)의 이상 발달은 감소되었다. 이것은 SHR-SP에서 흉부 대동맥을 cross section해서 H&E 염색을 하여 확인한 결과로 이는 BDR-29 투여에 의하여 혈관 내막-중막의 두께 변화를 감소시켜 혈압 강하에 기여하는 것으로 보이며 동시에 초기 죽상경화증을 억제하는 것으로 보인다.

Cooke 등은²⁷⁾ L-argine의 공급은 NO 활성 증가와 함께 높은 콜레스테롤 수치와 intimal의 두께를 줄이는 효과를 나타낸다고 보고하였다. 이것은 NO가 혈관 확장뿐 만 아니라 혈전 기능을 억제시키고 내피 세포에 백혈구 부착을 방지시켜 혈관기능 장애를 개선시킬 수 있다는 것을 의미한다. 본 연구에서는 혈관 이완 개선 효과를 나타낸 BDR-29 투여군에서 NO의 생성에 관여하는 eNOS의 발현이 증가하는 지를 알아보고자 면역 염색 화학법을 사용하여 흉부대동맥에서 eNOS의 발현을 관찰하였다. 그 결과 SHR-SP와 비교하여 BDR-29 투여 군에서 증가된 eNOS 발현을 볼 수 있었다. 직접적인 NO 활성 증가를 측정하지는 않았으나, 혈관에서 NO 합성효소인 eNOS 발현의 증가로 봤을 때 SHR-SP에서 13주간의 BDR-29의 투여는 혈관 내막의 두께 변화를 조절하고 NO 활성을 증가시켜 혈압 강하 효과가 있다는 것을 규명할 수 있었다.

본 연구 결과를 요약하면, 뇌졸중성 고혈압 모델인 SHR-SP에서 BDR-29 투여군은 혈압 강하 효과를 유의성 있게 나타냈으며, 장기간 투여에 의한 간독성 등은 나타나지 않아 그 안정성이 확인되었다. 또한 혈관 내피 세포 의존성 혈관 이완 효과를 보였으며, 혈관 내막의 이상 발달 정도가 감소하여 죽상경화 및 혈관 기능 개선에도 효력을 보이는 것으로 나타났다. 혈관 내 eNOS 발현의 증가는 혈관 이완뿐만 아니라 고혈압과 더불어 초기 죽상경화증의 발달을 억제시킬 수 있을 것으로 기대된다.

결 론

본 실험에서는 BDR-29의 항 고혈압 효과를 알아보기 위하여 SHR-SP를 이용하여 혈압에 미치는 영향을 관찰하여

다음과 같은 결과를 얻었다. SHR-SP에서 고혈압의 최종 결과인 심박수에서 SHR-SP와 유의한 변화를 보이지 않았지만, 혈압 측정에서 SHR-SP에 비하여 유의성 있는 감소가 확인되었다. BDR-29 투여에 의한 농도 의존적인 현저한 항 고혈압 효과가 관찰되었으며, 이는 약리작용을 나타내는데 필요한 최소 농도일 것으로 사료된다. BDR-29는 간 기능 수치에서 SHR-SP와 차이가 없어 안정성이 확인되었다. 또한 captopril과 비슷한 수준의 혈관 이완을 보여 내피 세포의 손상을 회복시킴을 확인하였으며, 이는 BDR-29가 내피 세포를 보호하는 효과가 있음을 보여주는 결과이다. 조직학적 실험에서 BDR-29에서 혈관 내막 및 중막의 이상 발달이 감소하였고, eNOS의 발현이 증가하였다.

이상의 결과로 BDR-29의 항 고혈압 작용이 객관적으로 규명되었고, 이러한 항 고혈압 효과는 혈관 이완을 통한 혈관 기능 개선에 의하여 고혈압을 완화시킴으로써 나타난다고 사료되며 BDR-29의 혈압강하 효과 뿐만 아니라 초기 죽상경화 억제 효과를 제시해주고 있다.

사 사

본 연구는 보건복지부의 뇌질환환방연구소의 연구비(03-PJ9-PG6-SO02-0001)에 의하여 수행되었음.

인용문헌

- 박창규 (2006) 고혈압환자에서 뇌졸중 발병위험요인과 치료행태에 관한 연구, 대한고혈압학회지 **12**: 16-24.
- Park, J. B. and Schiffrin, E. L. (2000) Effects of anti-hypertensive therapy on hypertensive vascular disease. *Curr Hypertens Rep*, **2**: 280-288.
- Hsueh, W. A., Quinones, M. J. and Creager, M. A. (1997) Endothelium in insulin resistance and diabetes. *Diabetes Rev*, **5**: 343-352.
- Busse, R. and Fleming, I. (1993) The endothelial organ. *Curr Op Cardiol*, **8**: 719-727.
- Vane, J. R., Anggard, E. E. and Botting, R. M. (1990) Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med*, **323**: 27-36.
- Gibbons, G. H. and Dzau, V. J. (1996) Molecular therapy for vascular diseases. *Science*, **272**: 689-693.
- Chou, T. C., Yen, M. H., Li, C. Y. and Ding, Y. A. (1998) Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension*, **31**: 643-648.
- Pitt, B., Reichek, N., Willenbrock, R., Zannad, F., Phillips, R. A., Roniker, B., Kleiman, J., Krause, S., Burns, D. and Williams, G.H. (2003) Effects of eplerenone, enalapril, and eplerenone/enalapril in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy: the 4E-left ventricular hypertrophy study. *Circulation*, **108**: 1831-1838.
- Akiyama, S. (2005) Blood clinical data and drug side effects that require attention during physical thereph Rigakuryoho kagaku, **20**: 69-73.
- Yoshikawa, H., (2006) 高血圧治療薬 基礎, 開発中인 高血圧治療薬. *Folia Pharmacol Jpn*, **127**: 381-386.
- 최현숙, 차선숙, 나명순, 신길만, 이명렬 (2001) 결명자 에탄올추출물이 알코올 투여 흰쥐의 항산화물질 및 지질대사에 미치는 영향, 한국식품영양학회지 **30**: 1177-1183.
- 유현숙, 최학주, 김선빈, 김동희 (2008) 하고초산(夏枯草散)이 고지혈(高脂血) 유발(誘發) SHR 백서(白鼠)에 미치는 영향(影響), 한의학연구소논문집 **17**: 101-116.
- 홍석 (1997) 백질려가 백서(白鼠)의 혈압(血壓)에 미치는 영향(影響), 대한한방내과학회지 **18**: 151-159.
- 김보운, 장보운, 이안숙, 강대길, 이호섭, 김병두, 김성연 (2007) 랫트에서 한약재 복합물 BDR-29의 단회 경구투여 독성에 관한 연구, 생약학회지 **38**: 71-75.
- 장보운, 강대길, 이호섭, 김성연 (2008) BDR-29의 랫트에 대한 13주 반복투여 독성에 관한 연구, 생약학회지 **39**: 60-67.
- 김은주, 강대길, 이안숙, 최덕호, 조국현, 김성연, 이호섭 (2008) 혈관질환 억제 효능이 있는 BDR-29의 백서 신장 독성연구, 대한한의학 방제학회지 **16**: 163-169.
- Phillips, R. A., Edited by Peter, J. P. Vanslyke, D. D., Williams and Wilkins (1994) In Quantitative Clinical Chemistry Methods. Vol. 2.
- 이준경, 조국현, 강대길, 권태오, 권지용, 김진숙, 손은진, 이호섭 (2006) 선학초 부탄올 추출물의 혈관 이완 효과의 기전에 대한 연구, 생약학회지 **37**: 67-73
- 송병용, 홍 석, 김동희, 전상운 (2007) 가미천마구등음이 고혈압 병태모델에 미치는 영향, 동의생리병리학회지 **21**: 504-510.
- Yang, Q., Goto, H., Shimada, Y., Kita, T., Shibahara, N. and Terasawa K. (2002) Effects of Choto-san on hemorheological factors and vascular function in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Phytomedicine*, **9**: 93-98.
- Tahira, Y., Fukuda, N., Endo, M., Suzuki, R., Ikeda, Y., Takagi, H., Matsumoto, K. and Kanmatsuse, K. (2002) Transforming growth factor-beta expression in cardiovascular organs in stroke-prone spontaneously hypertensive rats with the development of hypertension. *Hypertens Res*, **25**: 911-918.
- Ju, H., Behm, D. J., Nerurkar, S., Eybye, M. E., Haimbach, R. E., Olzinski, A. R., Douglas, S. A. and Willette, R. N. (2003) p38 MAPK inhibitors ameliorate target organ damage in hypertension: Part 1. p38 MAPK-dependent endothelial dysfunction and hypertension. *J Pharmacol Exp Ther*, **307**: 932-938.
- Mashina, Slu, Smirin, B. V., Malyshev, Iiu, Liamina, N. P., Senchikhin, V. N., Pokidyshev, D. A. and Manukhina, E. B. (2001) Correction of NO-dependent cardiovascular disorders by adaptation to hypoxia. *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova*, **87**: 110-117.

24. Zo, J. H. and Kim, C. H. (1998) Endothelium-Dependent Vasodilation Responses in the Patients with Congestive Heart Failure. *Korean Circulation J* **28**: 1755-1759.
25. Bhan, R. D., Giacomelli, F. and Wiener, J. (1982). Adreno-receptor blockade in angiotensin-induced hypertension: Effect on rat coronary arteries and myocardium. *Am J Pathol*, **108**: 60-71.
26. Mancini, G. B. J. (2000). Carotid intima-media thickness as a measure of vascular target organ damage. *Curr Hypertens Reports*, **2**: 71-99.
27. Cooke, J. P. and Dzau, V. (1997). Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med*, **48**: 489-509.

(2009년 10월 16일 접수)