

연교패독산(連翹敗毒散) 복용 후 항동맥경화 효과가 나타난 백서에서 염증 지표 관찰

윤다래, 홍성인, 노현인, 이서라, 이인희, 류재환

경희대학교 한의과대학 내과학교실, 경희대학교 한방병원 동서협진실

Observation of Inflammatory Marker Levels in Sprague-Dawley Rats with Youngyopaedoc-san-related Anti-atherogenic Effect

Da-rae Yoon, Sung-in Hong, Hyun-in Noh, Seo-ra Yi, In-hee Lee, Jae-hwan Lew

Dept. of Oriental Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunhee University
Dept. of East-west integrated medicine, Kyung-Hee Oriental Medical Hospital

Objectives: Sprague-Dawley rats were fed with high fat diet, and atherogenic changes were seen in the aorta. However, when Sprague-Dawley rats were fed with a high fat diet and administered Youngyopaedoc-san together, these atherogenic changes were rarely seen. This study was aimed to find the inflammatory marker level changes in Sprague-Dawley rats with Youngyopaedoc-san-related anti-atherogenic effect.

Methods: The extract from Youngyopaedoc-san was made by the pharmacy department of Kyung-hee Oriental Medical Hospital. The animals were divided into five groups: normal diet, high fat diet, high fat diet with Youngyopaedoc-san, high fat diet with Vytarin, and high fat diet with Youngyopaedoc-san and Vytarin. A light microscopic image of a cross section taken from the aorta of the Sprague-Dawley rat was analyzed. We compared inflammatory marker levels among the five groups.

Results: The complex of Youngyopaedoc-san and Vytarin has more anti-atherogenic effects in the aorta of Sprague-Dawley rats fed with high fat diet than Vytarin alone. Youngyopaedoc-san has inhibitory effect on the increase of IFN- γ and IL-2 levels. The difference on eosinophil levels of each group was statistically significant, but the eosinophil level of each group was within normal limits, so the difference on eosinophil levels was not clinically significant.

Conclusions: Youngyopaedoc-san-related anti-atherogenic effect could be a result of inhibitory mechanism on IFN- γ and IL-2.

Key Words : Youngyopaedoc-san, high fat diet, atherosclerosis, histology, inflammatory marker

서론

동맥경화는 다양한 요인에 의해 혈관의 구조에 장애가 일어나 동맥벽 안에 지질이나 세포외기질의 비정상적인 축적이 일어나는 경화성 변화를 말한다. 동

맥경화의 발생은 내막의 손상으로 시작이 되는데 고지혈증과 같은 화학적 장애는 내막 손상의 원인이 된다. 내막의 손상을 계기로 동맥벽 안으로 침투된 지질단백(low density lipoprotein, LDL)은 이물질로 간주되어 내피세포에서 cytokine이 형성되는 등 염증

• Received : 30 May 2013

• Revised : 17 July 2013

• Accepted : 17 July 2013

• Correspondence to : 류재환(Jae-hwan Lew)

서울시 동대문구 회기동 1번지 경희의료원 한방병원 3313호 동서협진실 의국

Tel : +82-2-958-1812, E-mail : intmed@khu.ac.kr

Table 1. Youngyopaedoc-san Prescription of Kyung-hee Oriental Medical Hospital

Constitute Herbs	Weight
Ostericii Radix	3.0g
Angelicae Pubescentis Radix	3.0g
Bupleuri Radix	3.0g
Peucedani Radix	3.0g
Platycodi Radix	3.0g
Cnidii Rhizoma	3.0g
Poria	3.0g
Lonicerae Flos	3.0g
Aurantii Fructus	3.0g
Forsythiae Fructus	3.0g
Saposhnikovia Radix	3.0g
Schizonepetae Spica	3.0g
Menthae Herba	3.0g
Glycyrrhizae Radix	3.0g
Total amount	42g

반응이 시작되고 결국에는 동맥경화성 플라크를 형성하여 동맥경화로 인한 합병증을 일으킨다¹⁾. 때문에 염증반응에 주목하여 관상동맥의 동맥경화로 나타나는 심혈관 질환의 병태 생리에 대해 이해하고 심혈관 질환의 예방 및 치료에 접근할 수 있다²⁾.

연교패독산은 고금의감에 처음 기록되었으며 동의보감에서 웅저 초기 치료에 응용 한다고 기록³⁾하고 있으며 감기⁴⁾, 알레르기⁵⁾, 박탈성 피부염⁶⁾, 단독⁷⁾, 봉와직염⁸⁾에 대한 항염증 효과 및 기관지 상피세포에서 Thymus and activation-regulated chemokine (TARC) 억제⁹⁾, carageenan으로 유도된 염증반응 억제¹⁰⁾ 등에 대한 기존의 보고가 있다.

동맥경화는 내막손상이 원인이 되어 염증반응이 시작되며, 연교패독산은 항염증 효과가 보고되었기 때문에, 연교패독산으로 항동맥경화 효과를 살펴보고자 Sprague Dawley rat을 대상으로 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약제

실험에서 사용한 연교패독산은 동의보감에 수록된 처방을 기준으로 하였으며 1첩 당 각 구성 약제는 다음과 같으며(Table 1) 하루 복용량을 2첩으로 계산하

였다. 각 구성 약제는 경희대학교 경희의료원 한방병원에서 구입하였다.

2) 검액의 제조

연교패독산 1800g을 둥근 플라스크에 넣고 증류수 2000ml를 가하여 가열-추출을 2회하고 추출액을 여과지로 여과하였다. 이들을 rotary evaporator (vacuum evaporator, EYELA, Japan)로 감압 농축한 다음 deep freezer (ultra low temperature freezer, 일신바이오, 한국)로 -70.6℃에서 동결 건조하여 연교패독산 건조 분말을 400g(수득률 22.22%)을 얻었다. 제조된 연교패독산에 대해서는 high performance liquid chromatography (HPLC) 분석으로 확인하였다.

3) 양성대조약물

Merck Sharp & Dohme (MSD)에서 나온 Vytorin 10/40 (ezetimibe 10mg, simvastatin 40mg)을 복용법에 따라 계산하여 8.3mg/kg/day로 oral gavage로 투여하였다.

4) 실험동물

실험동물의 식이 및 사육, 실험에 이용된 동물은 중앙실험동물(주)에서 구입한 체중 200g 전후의 6주령 수컷 Sprague Dawley Rat으로 8마리씩 5군으로 나누어 2주간 적응 시킨 후 3주간 사육하였다. 실험동물은 사육실에서 사육하였으며 사육실 온도는

Table 2. Components of Normal Diet

Ingredient	Proportion (%)
Moisture	11.03
Protein	20.89
Fat	4.75
Fiber	5.77
Ash	6.04
Calcium	1.24
Phosphorus	0.55
etc.	49.73
Total amount	100

Table 3. Components of High Fat Diet

Ingredient	Proportion (%) by weight
Protein	23.5
Cardohydrate	27.3
Fat	34.3
etc.	14.9
Total amount	100

Ingredient	Proportion (%) kcal from
Protein	18.4
Cardohydrate	21.3
Fat	60.3
Total amount	100

Casein	26.50
L-Cystine	0.40
Maltodextrin	16.00
Sucrose	9.00
Lard	31.00
Soybean Oil	3.00
Cellulose	6.55
Mineral Mix AIN-93G-MX (94046)	4.80
Calcium Phosphate, dibasic	0.34
Vitamin Mix V10001, AIN-93-VX (94047)	2.10
Choline Bitartrate	0.30
Blue Food Color	0.01
Total amount	100

24±0.5℃, 습도 45±5%이며, 매일 광주기 및 암주기를 각각 12시간이 되도록 조절하였다. 실험동물은 각군의 8마리씩을 stainless steel cage에 분류하여 사육하였고 식이와 물은 자유 공급하였다.

5) 식이

처음 2주간의 적응기간에는 모든 실험군의 Sprague Dawley rats에 normal diet (일반 쥐사료, Research Diets)를 섭취시켰으며, 그 다음 3주간의 실험기간에는 normal diet와 high fat diet (Harlan, TD.06414 Adjusted Calories Diet (60/Fat))를 군별로 섭취시켰다.

High fat diet 실험 식이의 구성은 다음과 같다 (Table 2.3). 중량을 기준으로 본다면 Normal diet에서는 fat의 함량이 4.75%, high fat diet에서는 34.3%이다. 반면 열량을 기준으로 살펴본다면 high fat diet에서 fat이 차지하는 부분은 60.3%가 되어 중량을 기준으로 한 것보다 월등히 높다.

2. 방법

1) 실험군 배정

실험은 6주령 수컷 Sprague Dawley rat 8마리씩을 정상군(Normal group), 대조군(Control group), 연교패독산 투여군, 연교패독산과 Vytarin 병용 투여군, Vytarin 투여군으로 나누어 진행하였다. 정상군을 제외한 나머지 군은 3주간 60kcal% fat의 고지방식이를 투여하였다. 연교패독산 투여군은 매일 1회 동일한 시간에 연교패독산 분말 3g/Kg/day를 10cc/kg 증류수에 희석하여 경구 투여하였고, Vytarin 투여군은 Vytarin 8.3mg/kg/day를 10cc/kg 증류수에 희석하여 경구 투여하였고, 연교패독산과 Vytarin 병용 투여군에서는 연교패독산 분말 3g/Kg/day와 Vytarin 8.3mg/kg/day를 10cc/kg 증류수에 희석하여 경구 투여하였다. 약물을 투여하지 않는 정상군과 대조군에서는 증류수를 같은 양으로 10cc/kg 투여하였다.

2) 대동맥 조직의 처리 및 관찰

적출된 대동맥 조직의 표본 제작을 위해 10% formalin 용액에서 12~24시간 고정시킨 후 충분히 수세하였다. 탈수는 60~100% alcohol을 순차적으로 1시간씩 침투시킨 후 xylene을 투명제로 하여 파라핀 블록을 제작하였다. 제작된 블록은 microtome을 이용하여 3~4 μ m의 두께로 절편을 만들어 탈 파라핀 및 합수과정을 거친 다음 hematoxyline과 eosin 일반 염색을 실시하여 광학현미경과 컴퓨터 영상분석기로 대동맥을 기준으로 축적된 지방의 면적 비율을 관찰 및 사진 촬영(200배율, 400배율)하였다.

3) Inflammatory marker level 측정

(1) White blood cell (WBC), Segmentaion neutrophil (S-Neutrophil), Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil 측정

Flow Cytometry로 측정하였고 WBC는 Cell pack, Cell sheath, Stromatolyer-FB, Sulforlyser (SYSMEX, Japan)을 사용하였다. S-Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil은 CBC시약+Stromatolyser-4DL, Stromatolyer-IM, Stromatolyer-4DS (SYSMEX, Japan)을 사용하였다.

(2) C-reactive protein (CRP) 측정

Immunoturbidimetric assay로 측정하였고 CRP (Latex) HS (Roche, Germany)를 사용하였다.

(3) Cytokine 측정

배양 후 상층액을 수집하여 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법으로 IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-12p70, TNF- α , IL-6을 측정하였다. 수집한 시료와 commercial kit에 주어진 표준 cytokine을 cytokine-specific monoclonal antibody로 도포된 ELISA plate (Bio-Plex Pro Assays, Bio-Rad Laboratories, USA)에 넣고 plate를 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 배양한 뒤 세척하였다. 효소가 결합된 cytokine-specific polyclonal antibody를 다시 plate에 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 배양하고 세척하였다. 기질 용액을 넣고 상온에서 30분 동안 방치하여 반응하도록 한 뒤 2 N sulfuric acid로 반응을 정지시켰다. ELISA plate의 각 well의 흡광도는 450nm에서 ELISA reader (Bio-Plex Manager 6.0 Software, USA)로 측정하였다.

(4) 통계처리

결과는 평균 \pm 표준편차로 표시하였다. 각 구간 통계학적인 차이를 보기 위해 SPSS (version:20.0k; SPSS InC. Chicago, Illinois, USA)를 이용하여 정규성 검정을 한 결과 정규성을 만족하지 않았으므로 비모수 검정인 Kruskal Wallis test를 실시하여 유의성 여부를 검증하였고 Kruskal Wallis test에서 유의성이 인정된 경우 Mann-Whitney test를 실시하여 대조군과 비교하였으며, p값이 0.05미만인 경우 유의성을 인정하였다.

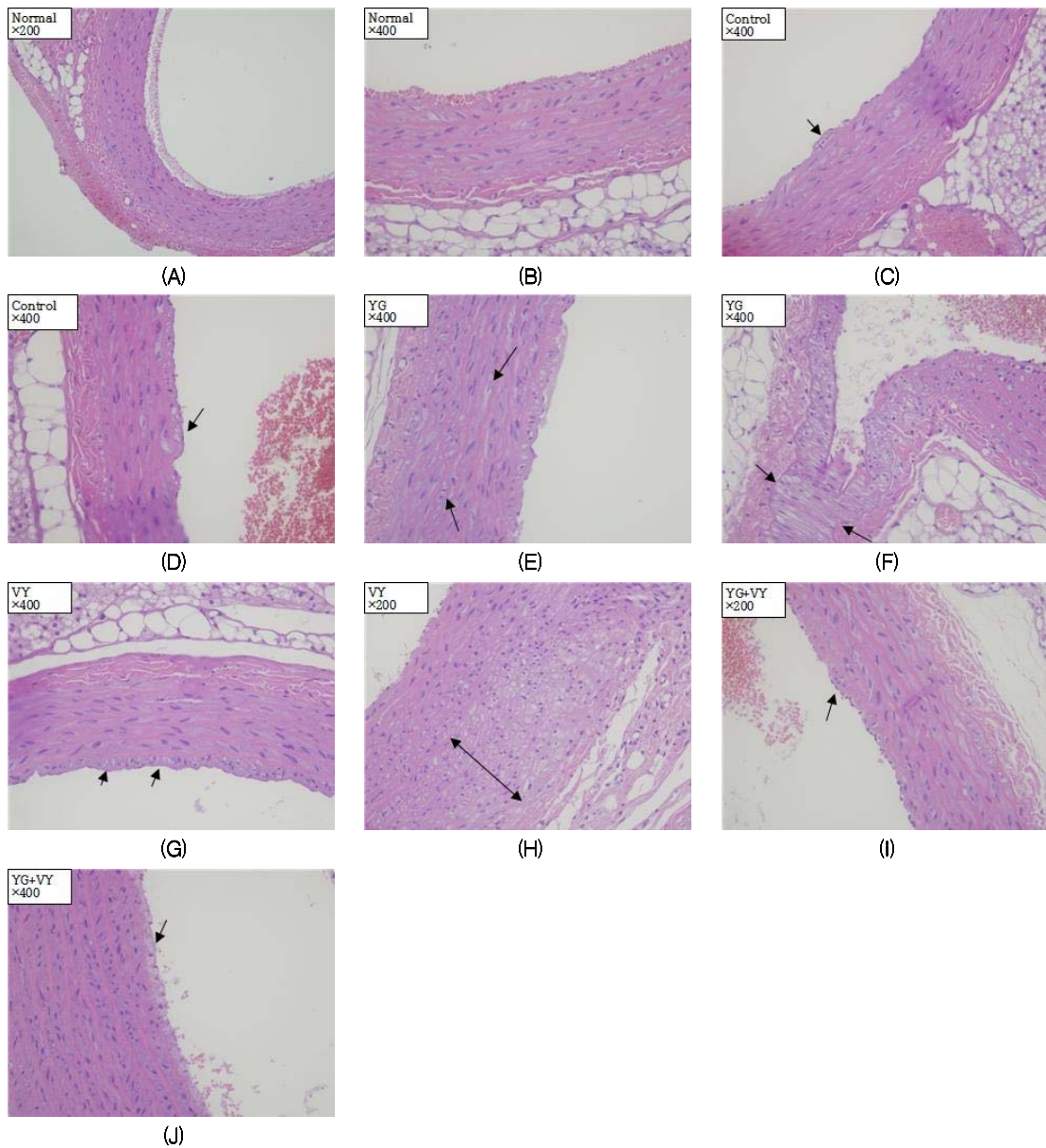


Fig. 1. The light microscopic images of a cross section taken through the wall of the aorta of Sprague Dawley rats.

As shown in (A) and (B), the innermost layer, the endothelial cells are supported by a thin bed of subendothelial connective tissue that rest on thick sheet of elastic fiber. In (C) and (D), The arrow shows subendothelial foam cell deposits. In (E), The arrow shows the tunica intima composed of endothelial cells and elastic lamina tightly. The foamy vacuolization and fat deposits in the tunica media mean degenerative changes of wall. In (F), The arrow shows degenerative changes in the tunica media at the bifurcation of aorta. In (G), The arrow shows the foamy vacuolization in the tunica intima apparently. In (H), The arrow shows the vacuolization and the fat infiltration in the tunica media. In (I), The arrow shows minor fat deposits in the subendothelial layer. In (J), The arrow slightly shows minor vacuolization in the endothelial layer. It is almost normal. Animals were divided into five groups: Normal, fed with normal diet; Control, fed with high fat diet; YG, fed with high fat diet with Youngyopaedoc-san; VY, fed with high fat diet with Vytorin; and YG+VY, fed with high fat diet with Youngyopaedoc-san and Vytorin.

결 과

1. 대동맥 조직의 관찰

정상군은 내피세포 배열이 일정하며 탄력 섬유에 잘 부착되어 있었다. 고지방식을 투여한 대조군에서는 내피세포 아래층에 거품 양상으로 세포가 변형된 소견이 나타난다. 고지방식과 함께 연교패독산을 투여한 군에서는 대체적으로 정상 소견이나 부분적으로 거품 양상으로 세포가 변형된 소견 및 지방 침착이 있었다. 고지방식과 Vytorin을 투여한 군에서는 거품 양상으로 세포가 변형된 소견이 잘 나타난다. 고지방식과 연교패독산 Vytorin을 함께 투여한 군에서는 전반적으로 미미한 지방 침착이 보이지만 정상소견이다 (Fig1).

광학현미경 관찰에서 정상군과 달리 고지방식이 투여군에서 지방 변성이 관찰되었으며 고지방식과 함께 연교패독산, Vytorin 각각을 단독 투여한 군에서도 부분적인 변화가 관찰된다. 반면에 고지방식과 함께 연교패독산과 Vytorin을 병용 투여한 군에서는 지방 침착이 미미하여 연교패독산 또는 Vytorin 단독투여군보다 연교패독산 및 Vytorin 복합 투여군에서 조직학적 소견이 양호하

게 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

2. Inflammatory marker level 측정

13가지 항목 중 WBC, S-Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, hs-CRP, IL-1 β , IL-4, IL-12p70, TNF- α , IL-6에 대해서는 정상군, 고지방식을 투여한 대조군, 고지방식과 함께 연교패독산, Vytorin을 단독 혹은 병용 투여한 다섯 군에 대하여 통계학적으로 유의성 있는 차이는 검증되지 않았다. Eosinophil, IFN- γ , IL-2에 대해서는 군에 따라 통계학적으로 의미가 있는 차이가 검증되었다.

Eosinophil은 고지방식을 투여한 대조군에 비해 Vytorin을 투여한 고지방식이군에서 통계학적으로 유의미하게 상승하였다. 연교패독산과 Vytorin을 병용 투여한 고지방식이군에서는 통계학적으로 유의미하게 감소하였으며 측정값은 모든 실험 군에서 정상범위에 속하였다.

IFN- γ 에 대해서는 고지방식과 함께 연교패독산을 투여한 군에서 IFN- γ 가 대조군에 비해 통계학적으로 유의성 있게 낮게 측정되었다. 고지방식과 함께 Vytorin을 단독투여한 군에서는 오히려 IFN- γ 가 높게 측정되었으나 통계학적인 유의성은

Table 4. Inflammatory Marker Level of Each Group

	Normal	Control	YG	VY	YG+VY
WBC (10 ³ / μ l)	8.73 \pm 2.16	8.07 \pm 2.55	7.11 \pm 3.05	7.02 \pm 2.41	7.35 \pm 2.92
S-Neutrophil (%)	12.89 \pm 4.99	13.65 \pm 2.79	15.25 \pm 4.56	15.14 \pm 2.11	13.43 \pm 3.71
Lymphocyte (%)	83.70 \pm 5.88	82.49 \pm 2.77	80.59 \pm 4.92	79.39 \pm 3.18	83.40 \pm 4.08
Monocyte (%)	1.45 \pm 0.67	1.50 \pm 0.46	1.49 \pm 0.50	1.45 \pm 0.52	1.54 \pm 0.40
Eosinophil (%)	1.75 \pm 0.90	2.14 \pm 0.50	2.50 \pm 1.67	3.83 \pm 2.51* (P=0.008)	1.45 \pm 0.42* (P=0.035)
hs-CRP (mg/L)	1.40 \pm 0.20	1.43 \pm 0.74	1.43 \pm 0.07	1.41 \pm 0.83	1.49 \pm 1.25
IFN- γ (pg/ μ l)	74.15 \pm 45.76	137.96 \pm 67.52	46.34 \pm 15.37*	151.03 \pm 117.38	61.56 \pm 35.15*
IL-1 β (pg/ μ l)	300.56 \pm 118.97	339.00 \pm 102.63	485.28 \pm 248.43	341.33 \pm 110.23	294.84 \pm 71.95
IL-2 (pg/ μ l)	315.58 \pm 98.38	749.08 \pm 417.33	305.60 \pm 134.92*	655.06 \pm 268.36	495.38 \pm 237.24
IL-4 (pg/ μ l)	40.44 \pm 32.87	55.69 \pm 38.73	26.00 \pm 15.49	38.24 \pm 16.34	13.42 \pm 7.08
IL-12p70 (pg/ μ l)	1.68 \pm 0.11	2.24 \pm 0.48	2.00 \pm 0.00	2.13 \pm 0.51	4.08 \pm 3.27
TNF- α (pg/ μ l)	464.82 \pm 154.05	940.92 \pm 427.56	1533.76 \pm 991.65	1240.23 \pm 587.81	1553.17 \pm 989.89
IL-6 (pg/ μ l)	385.04 \pm 147.93	498.14 \pm 252.64	958.64 \pm 903.15	452.69 \pm 67.08	460.67 \pm 208.90

The results are expressed as mean \pm S.D (n=8). The significant differences with the control group were statistically calculated by Mann-Whitney test. YG: The group administered Youngyopaedoc-san, VY: The group administered Vytorin, YG+VY: The group administered Youngyopaedoc-san and Vytorin.

없었다. 반면에 고지방식이와 함께 연교패독산과 Vytorin을 병용투여한 군에서는 IFN- γ 가 대조군에 비해 통계학적으로 유의성 있게 감소하였다.

IL-2에 대해서는 고지방식이와 함께 연교패독산을 투여한 군에서 대조군에 비해 IL-2가 통계학적으로 유의성 있게 감소하였다. 고지방식이와 함께 Vytorin을 단독 투여한 군에서도 IL-2의 감소되는 경향이 있었으나 통계학적인 유의성은 없었다. 연교패독산과 Vytorin을 병용투여한 군에서는 Vytorin 단독투여군보다 IL-2가 더 많이 감소하는 경향성을 확인할 수 있었으나 통계학적인 유의성은 없었다(Table4).

고 찰

동맥경화는 동맥벽 안에 지질 등의 축적이 일어나는 경화성 변화를 말하는데 내막의 손상으로서 시작된다. 손상된 내막을 통해 침투된 지질단백(low density lipoprotein, LDL)으로 인해 cytokine이 형성되는 등 염증반응이 일어나게 되므로¹⁾ 관상동맥의 동맥경화에 의한 심혈관 질환의 예방 및 치료에 접근하기 위해서는 그 기전이 되는 염증반응을 주의 깊게 살펴볼 필요가 있다²⁾.

연교패독산은 기존의 문헌에서 항염증 효과가 보고된 대표적인 처방이다. 연교패독산은 명나라 때 서적인 고금의감에 처음 기록되었는데 이후 동의보감에서는 治癰疽初發, 憎寒壯熱, 甚者頭痛拘急, 狀似傷寒이라고 하여 응저 초기에 오한 발열이 심하고 심하면 머리가 아프고 손발이 당겨상한과 비슷한 것을 치료³⁾한다고 기록하고 있다. 연교패독산의 처방구성을 살펴보면 羌活, 獨活, 柴胡, 前胡, 桔梗, 川芎, 赤茯苓, 金銀花, 枳殼, 連翹, 防風, 荊芥, 薄荷, 甘草로 구성되어 있는데 이 중에서 羌活, 防風, 荊芥, 薄荷, 柴胡는 解表藥에 속하며 獨活은 祛風濕藥, 前胡, 桔梗은 化痰止咳平喘藥이고 川芎은 活血祛瘀藥이며 赤茯苓은 利水滲濕藥, 金銀花, 連翹는 清熱藥, 枳殼은 理氣藥, 甘草는 補氣藥에 속하며¹¹⁾ 이중에 甘草, 羌活, 金銀花, 獨活, 防風, 柴胡, 連翹, 荊芥는 항염증 약물로 분류할 수 있다¹²⁾.

연교패독산에 대한 양성대조약물로서 지방흡수

억제제 및 HMG-CoA reductase inhibitors 복합제인 MSD의 Vytorin 10/40 (ezetimibe 10mg, simvastatin 40mg)을 선정하였다. HMG-CoA reductase는 cholesterol 대사를 조절하는 주요 효소로서, HMG-CoA reductase 활성억제는 고콜레스테롤혈증과 동맥경화를 예방 치료하는데 유용한 것¹³⁾으로 알려져 있다.

한약 양약 병용투여에 대해서는 혈부축어탕과 Aspirin¹⁴⁾, 소풍활혈탕과 Clopidogrel¹⁵⁾ 등 기존의 연구에서 한약, 양약 단독 투여군 및 한약 양약 병용투여 군의 효과를 비교한 자료 등에 근거하여 본 연구에서는 Sprague Dawley rat을 대상으로 3주간 고지방식이와 함께 연교패독산을 투여함과 동시에 연교패독산과 항동맥경화제인 Vytorin 병용 투여 및 Vytorin 단독 투여하여 고지방식이 섭취로 인한 대동맥의 동맥경화성 변화가 조직학적으로 확인되었으나 연교패독산 동시 복용으로 항동맥경화 효과가 나타난 Sprague Dawley rat을 대상으로 염증 지표의 변화를 관찰하고자 하였다.

고지방식이를 투여한 대조군에서는 내피세포 아래층에 거품 양상으로 세포가 변형된 소견이 나타났으며 고지방식이와 함께 연교패독산 또는 Vytorin은 단독으로 투여한 군에서는 거품 양상으로 세포가 변형된 소견이 나타난 것에 비해 연교패독산 Vytorin을 함께 투여한 군에서는 지방 침착의 정도가 미약하여 전반적으로 정상소견임을 확인할 수 있었다(Fig1).

염증 지표를 측정한 결과 WBC, S-Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, hs-CRP에 대하여 각 군간에 통계학적인 유의성 있는 차이는 검증되지 않았다.

특이한 것은 고지방식이와 함께 Vytorin을 투여한 실험군에서 Eosinophil이 상승하였으나 고지방식이와 함께 연교패독산과 Vytorin을 병용 투여한 실험군에서는 오히려 감소한 것이다. Vytorin 단독 투여군과 연교패독산 Vytorin 복합 투여군에서의 Eosinophil의 차이는 대조군과 비교했을 때 통계학적으로 유의성이 입증되었다. 통계학적으로 유의성 있는 차이가 관찰되기는 하나 정상군을 포함한 모든 실험군에서 Eosinophil 혈중 농도가 정상 범위로 측정되고 있기 때문에 임상적으

로 시사하는 바는 크지 않다고 생각된다.

IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-12p70, TNF- α , IL-6의 측정값을 분석한 결과 고지방식이를 투여한 대조군에서 IFN- γ , IL-2, TNF- α 가 통계학적으로 유의성 있게 상승하여 고지방식이로 인해 IFN- γ , IL-2, TNF- α 이 상승한 것으로 해석된다. 고지방식이와 함께 연교패독산을 단독 투여한 경우 및 연교패독산을 Vytorin과 함께 병용 투여한 모든 경우에 대해 IFN- γ 의 통계학적으로 유의성 있는 감소가 확인되어 연교패독산이 IFN- γ 감소시키는 기전에 작용하는 것으로 추측된다. 고지방식이와 함께 연교패독산을 단독투여한 군에서 고지방식이만을 투여한 대조군보다 IL-2이 통계학적으로 유의성있게 감소하여 연교패독산이 단독적으로 IL-2의 상승 억제에 영향을 주는 것으로 사료된다. 염증 지표와 관련하여 WBC, S-Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, hs-CRP 및 Eosinophil의 혈청학적 검사 소견에서 뚜렷한 통계학적, 임상적 의미를 찾기 어려우나 IFN- γ , IL-2 등 일부의 cytokine에 대해서 위와 같은 차이가 나타나는 것에 대해서는 동맥경화성 변화에 관여하는 염증 반응이 전신적으로 나타나는 염증 반응이 아니기 때문에 혈청학적 소견에서 뚜렷한 염증 소견이 나타나지 않은 것으로 생각된다. T 세포에 의해 분비되는 cytokine은 type I 과 type II로 나누는 데 type I은 염증반응을 증가시키는 cytokine을 분비하여 T세포와 단핵구를 활성화시키고 증식시키는 반응이다. IFN- γ , IL-2은 위와 같은 type I에 속하는 cytokine¹⁶⁾이라 IFN- γ , IL-2 증식이 억제되었다는 것은 항염증 작용으로 해석할 수 있다.

이상의 결과를 볼 때, 연교패독산 단독 투여 및 Vytorin과의 병용 투여군에서 조직학적으로 확인된 대동맥의 항동맥경화 효과는 IFN- γ , IL-2의 상승을 막아주는 연교패독산의 항염증 작용과 관련성이 있을 것으로 생각된다. Clendenen의 연구¹⁷⁾에서도 본 연구와 마찬가지로 연령, BMI, 흡연과 같은 만성질환의 위험인자들과 염증 관련 지표와 상관성이 있는 것으로 추정되고 있다.

본 연구의 제한점은 다음과 같다. 고지방식을 통해 동물 모델을 만든 다른 연구를 살펴보면

사용한 Sprague Dawley rat이 3주령~6주령, 체중 50~180 g을 대상으로 4주~8주 간의 고지방식이를 투여하였다¹⁸⁻²²⁾. 이에 비해 본 연구에서는 6주령, 200 g 전후의 Sprague Dawley rat을 대상으로 2주 간의 적응 기간을 가진 후 3주간의 고지방식이를 투여하였기 때문에 고지방식이의 상대적으로 영향을 적게 미쳤다고 생각한다. 본 연구에서는 대동맥 조직의 동맥경화성 변화를 광학현미경 관찰을 통해 정성적으로 파악하였는데 향후의 추가적인 실험 연구에서 동맥경화성 변화의 정도를 보다 세밀하고 구체적으로 정량적으로 파악한다면 각 군 간에 보이는 조직학적 소견의 차이에 대하여 통계학적으로 엄격히 검증할 수 있을 뿐만 아니라 염증 지표와의 상관성에 대해서도 보다 구체적인 해석이 가능할 것으로 기대된다.

결론

3주간 고지방식 섭취로 인해 동맥경화가 유발되었으나 연교패독산 복용으로 항동맥경화 효과가 나타난 Sprague Dawley rat을 대상으로 염증 지표의 변화를 관찰하여 얻은 결론은 다음과 같다.

1. 연교패독산 또는 Vytorin을 단독으로 투여하는 것보다 연교패독산과 Vytorin을 함께 투여하는 것이 고지방식이로 인해 유발되는 거품세포 형성 및 지방 침착 등 대동맥 조직의 동맥경화성 변화를 억제하는데 효과적이다.
2. 고지방식이와 함께 연교패독산을 단독 투여한 경우 및 연교패독산을 Vytorin과 함께 병용 투여한 경우 IFN- γ 가 통계학적으로 유의성 있게 낮았고, 고지방식이만을 투여한 대조군보다 고지방식이와 함께 연교패독산을 단독 투여한 군에서 IL-2이 통계학적으로 유의성 있게 감소하였다.
3. Eosinophil에서 통계학적으로 유의성 있는 차이가 검증되었으나 모든 군이 정상 참고치에 속해 임상적 의미는 없다.

이상의 결과를 통해 연교패독산 복용으로 나타난 대동맥의 항동맥경화 효과는 IFN- γ , IL-2의 상승을 막아주는 연교패독산의 항염증 작용과 관련성이 있는 것으로 보인다.

참고문헌

1. Jeong NS. New steps to internal medicine Cardiovascular disease. Seoul:Jeong Dam. 2008: 172-4.
2. Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary artery Disease. *N Engl J Med.* 2005; 352(16):1685-95.
3. Heo J, Yun SH, Kim HJ. *Dae Yeok Dong Uibogam.* Gyeong Nam:Donguibogamchulpansa. 2005:1549.
4. Bae HH, Kang WC, Park YC. Effectiveness of a Yeonkyopaedok-san Extract in the Treatment of The Common Cold : Results of a Community-based, Double Blind, Randomized Placebo Controlled Trial. *KJOMPP.* 2008;22(1):234-245.
5. Khwag NG, Kang H, Myung EG, Park SM, Shim BS, Kim SH, et al. Effect of Yeongyupaedog-san on Cytokine Levels of Mouse Th1/Th2 Cells and Anti-allergic Activity in Ovalbumin-sensitized Allergic Inflammation Model. *KJOMPP.* 2006; 20(4):844-52.
6. Jun SK, Kim JH, Kim MH, Shin SH, Yoon HJ, Ko WS, et al. The study of a case about dermatitis exfoliativa by drug eruption. *The Korean Oriental Ophthalmology&Otolaryngology&Dermatology Society.* 2006;19(1):145-52.
7. Yoon SW, Yoon JW, Yoon HJ, Ko WS. Four Cases Report of Erysipelas. *KJOMPP.* 2003;17(4): 1120-4.
8. Lee JH, Cho SE, Woo YM, Kim YH. A Case Report on Cellulitis Treated with Therapeutic Intervention of Oriental Medicine. *J Korean Oriental Med.* 2001;22 (3):483-8.
9. Lee KY, Kim HT, Kim EW, Nam CG, Ryu JH. Effect of Youn-Gyo-Pae-Doc-San on the Release of Thymus and Activation-Regulated Chemokine (TARC) in Human Bronchial Epithelial Cell. *The Korean Oriental Ophthalmology&Otolaryngology &Dermatology Society.* 2003;16(3):82-95.
10. Kim SB, Kim KJ. Effect of the addition tempera- ment drugs of Yeongyopaedock-san on acne in the state of inflammation. *The Korean Oriental Ophthalmology&Otolaryngology&Dermatology Society.* 2002;16(1):50-62.
11. Jeongukhanuigwadaehak Gongdonggyojaebyeon chanwiwonhoe. *Bonchohak.* Seoul:Yeongnimsa, 2004:8-15.
12. Hanbangyangnihak Gyojaebyeonchanwiwonhoe. *Hanbangyangnihak.* Seoul:Sinilbukseu, 2005:113 -247.
13. Bocan TM, Mueller SB, Brown EQ, Lee P, Bocan MJ, Rea T, et al. HMG-CoA reductase and ACAT inhibitors act synergistically to lower plasma cholesterol and limit atherosclerotic lesion development in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis.* 1998;139(1):21-30.
14. Lee BJ, Yun SY, Park HW, Park JH, Jo IY, Lee JS, et al. Effects of Concurrent Administration of Hyeolbuchukeo-tang and Aspirin on Atherosclerosis in the ApoE(-/-) Mouse. *J Korean Oriental Med.* 2011;32(1):164-75.
15. Lee BJ, Oh SC, Kim YC, Lee JS, Kang DH, Lee WK, et al. Effects of Concurrent Administration of Sopunghwalhyeol-tang and Clopidogrel on Atherosclerosis in the ApoE(-/-) Mouse. *J Korean Oriental Med.* 2010;31(5):124-35.
16. Daehanjindangeomsauihakhoe Pyeon. *Jindangeo msuihak(Imasangbyeongnihak).* Seoul:Goryeoui hak, 2001:416.
17. Clendenen TV, Koenig KL, Arslan AA, Lukanova A, Berrino F, Gu Y, Hallmans G, et al. Factors associated with inflammation markers,

- a cross-sectional analysis. *Cytokine*. 2011;56(3): 769-78.
18. An YS, Ahn TW, Kang HJ, Lee YH, Yim YK. The Effect of Herbal-acupuncture with Moutan Cortex Radicis Extract. *Journal of Meridian & Acupoint*. 2009;26(1):85-109.
 19. Kim JG, Park SD, Park WH. Influence of Panax notogingen on the Atherosclerosis Induced by High-cholesterol Feed in Rats. *KJOMPP*. 2006; 20(5):1187-95.
 20. Kang JD, Na CS, Youn DH, Cho MR. Effects of acupuncture and low level laser acupuncture therapy (LLLAT) at Yogyol (LU7), Yogu (LR5) in hyperlipemia rats induced by high rat diet. *The Korean Journal of Meridian & Acupoint*. 2007; 24(1):113-29.
 21. Shin SA, Park SD, Choi DY, Park WH. Effect of *Aralia contidentialis* water-extracts on the level of Cholesterol Accumulation in Rat, which were Treated with High-cholesterol Diet. *KJOMPP*. 2007;21(1):104-10.
 22. Na ST, Lee YY, Kim YH, Yang YY, Jung HJ, Kim JE, et al. Effect of *Magnolia obovata* water-extracts on the atherosclerosis in rat, which were treated with high-cholesterol diet. *KJOMPP*. 2009;23(5):1055-62.