

# 좌골신경 손상 모델에서 보양환오탕 처리에 의한 축삭 재생반응성 분석

장인에<sup>1</sup> · 김기중<sup>1</sup> · 남궁옥<sup>1</sup> \*

## Improved axonal regeneration by Boyanghwano-tang treatment in mice given sciatic nerve injury

Chang In-Ae<sup>1</sup> · Kim Ki-Joong<sup>1</sup> · Namgung Uk<sup>1</sup> \*

<sup>1</sup>Dept. of Neurophysiology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

While axons in the peripheral nerve can regenerate and lead to functional recovery to a certain extent after injury, its efficacy varies depending on the severity and duration of the injury. Here, we investigated the effects of Boyanghwano-tang (BYHOT) treatment on the regenerative responses in the sciatic nerves after prolonged transection and coaptation surgery. In mice given crush injury, axonal regeneration was completed when analyzed 1 week later and did not show any difference in regenerative responses in the distal portion of the nerve between saline- and BYHOT-treated groups. In animal models with transection and reconnection, axonal regeneration was markedly retarded compared to animals with crush injury. Regenerating axons were extended into the reconnected distal portion of the nerve more actively in animals treated with BYHOT than saline controls. Cdc2 protein was similarly induced in nerves with crush injury and with transection and reconnection, and its level was lower in BYHOT-treated animal than saline control when measured 2 weeks after nerve reconnection. These results suggest that BYHOT may be useful to promote axonal regeneration in the peripheral nerve after severe injury.

**Key Words :** Axonal regeneration, sciatic nerve, transection, crush injury, Schwann cell, mouse

### I. 서 론

말초신경은 손상 후 상당 수준 자생적 재생반응이 진행되나 손상 방법이나 지속성 그리고 손상강도에 따라 재생 반응성에 있어 차이를 나타낸다. 예를 들어 좌골신경을 절단할 경우 재생 속도는 압좌손상의 경우에 비하여 느리고 원래의 표적조직으로 정확한 innervation이 상당히 떨어지게 된다. 이러한 재생 반응성의 변화는 손상 하

단부의 슈반세포와 같은 비신경세포가 기능적 재생에 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>1)</sup>.

보양환오탕은 임상한의학에서 심혈관계나 신경계질환의 치료제로서 사용되나 그 효능성이 어떻게 나타나는가에 대해서는 비교적 최근의 실험연구를 통하여 신경세포를 비롯한 여러 세포주에 대한 손상으로부터의 보호효과에 대한 연구결과가 보고되고 있다<sup>2)</sup>. 특히 신경세포나 신경조직에 허혈성 손상이 가해질 경우 보양환오탕의 처리는 신경세포에 대한 보호가 항산화적 반응성이나 항사멸반응성 유도등의 기전을 통하여 그 보호효과를 나타냄이 보고된 바 있다<sup>3,4)</sup>. 신경손상에 대한 축삭재생에 있어 척수손상 후 축삭의 재생반응성의 증가가 보고되었으며, 말초신경에 대해서

\* 교신저자 : 남궁옥, 대전광역시 동구 대학로 62 대전대학교 한의학과 신경생리학연구실  
E-mail : unamgung@dju.kr · Tel : 042-280-2614  
투고일 : 2016년07월04일 수정일 : 2016년07월20일  
게재일 : 2016년08월01일

는 슈반세포에 대한 보호효과가 제시된 바 있다<sup>5,6)</sup>.

본 연구는 보양환오탕의 신경손상 모델에서의 재생반응성을 조사하기 위하여 좌골신경 압박손상 및 절단 후 재연결 기간 동안에 한약을 투여하여 나타나는 변화를 관찰하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물

7주 Sprague-Dawley(SD) 수컷 흰쥐 (대한바이오링크 회사에서 구입)를 실험 대상으로 하였다. 고형 사료와 물을 어떠한 제약 없이 섭취하도록 하였으며, 온도는 22-24℃, 습도는 50±10%가 유지되도록 하고, 조명은 밤낮주기 (12시간 주/야)가 조절되는 실험실 환경에서 사육하였다.

### 2. 약제

보양환오탕 (144 g)을 증류수 1,000 ml를 가하여 열탕 추출기에서 2시간 추출하여 얻은 액을 흡입 여과하여 이를 감압 증류장치 (Rotary evaporator, Buchi B-480, Switzerland)로 농축하고, 이를 다시 동결 건조기 (Freeze dryer, Eyela FDU-540, Japan)를 이용하여 완전 건조한 추출물을 냉동 (-84℃) 보관하면서 적당한 농도로 생리식염수로 희석하여 사용하였다. 수율은 보양환오탕 144 g 으로부터 12.5%의 수율을 나

타내었다.

### 3. 실험동물 모델 확립

#### (1) 압손손상 그룹

좌골신경의 손상은 Rat의 대퇴중앙부에서 신경 노출 후 핀셋으로 30초간 2회 압박손상을 주어 유도하였다.

(i) Sciatic nerve 손상 후 saline 5주 경구투여군 (ii) Sciatic nerve 손상 후 보양환오탕 (400 mg/kg) 5주 경구투여군 (iii) Sciatic nerve 손상 후 saline 6주 경구투여군 (iv) Sciatic nerve 손상 후 보양환오탕 (400 mg/kg) 6주 경구투여군 실험군으로 나누어 진행하였다.

#### (2) 절생 그룹

좌골신경 절생은 압좌손상과 동일부위에서 신경절단 후 분리신경 말단을 근육부위에 봉합 시술하였다. 지정된 날짜 경과 후 절단된 분리신경의 말단부위를 얇은 2개의 근막조직사이에 조심스럽게 연결 위치한 후 재접합을 하였다.

(i) Sciatic nerve transection 후 saline 5주 경구투여군 (ii) Sciatic nerve transection 후 보양환오탕 5주 경구투여 (iii) Sciatic nerve transection 후 saline 6주 경구투여군 (ii) Sciatic nerve transection 후 보양환오탕 6주 경구투여 실험군으로 나누어 진행하였다. 각 그

Table 1. 보양환오탕 구성

약재명	학명	양(g)
황기 (黃芪)	<i>Radix Astragalis seu Hedysari</i>	120
당귀 (當歸)	<i>Angelicae Sinensis</i>	6
적작약 (赤芍藥)	<i>Radix Paeoniae Rubra</i>	4.5
구인 (拘引)	<i>Pheretima</i>	3
천궁 (川芎)	<i>Rhizoma Ligustici Chuanxiong</i>	3
홍화 (紅花)	<i>Flos Carthami</i>	3
도인 (桃仁)	<i>Semen Persicae</i>	3
Total amount		142.5

류의 실험동물은 transection 4주 후, 다시 접합하여 1주간~2주간 회복기간을 두었다

실험에 사용한 동물은 표준관리지침에 의거하여 관리하며, 사용 개체 수는 가급적 최소화하여 불필요한 동물희생을 막는 방식으로 진행하였다.

#### 4. 면역형광염색

쥐의 sciatic nerve는 cryostat를 이용하여 20  $\mu$ m의 두께로 잘라 슬라이드에 부착시켰다. 이중 면역형광 염색법(double immunofluorescence staining)을 수행하기 위해, 4% paraformaldehyde, 4% sucrose가 혼합된 인산 완충용액 (phosphate buffered saline; PBS)에 45분 동안 슬라이드를 넣어 조직을 고정하였다. 비특이적 결합을 막기 위해 blocking buffer에 담근 후 4°C에서 16시간 동안 반응시켰다. 일차 항체는 2.5% BSA, 2.5% horse serum을 함유하고 있는 blocking buffer에 1:500에 비율로 혼합하여 처리한 후 실온에서 4시간 동안 반응시킨다. 일차항체 반응이 끝난 후 PBST (PBS plus 0.1% triton X-100)로 조직을 씻어내고, 2.5% BSA, 2.5% horse serum을 함유하고 있는 blocking buffer에 Fluorescein-goat anti-mouse (green)와 Rhodamine-goat anti-rabbit antibody (Molecular probes)를 1:100으로 혼합하여 암실에서 1시간 30분 동안 일차항체 처리를 수행하였다. 이차항체 처리 후 3회에 걸쳐 PBST로 세척을 수행하였다. Hoechst 핵 염색을 수행하는 경우 2회 세척 후 0.25% Hoechst 33258 염료를 함유한 PBST 용액으로 처리 후 다시 PBST 용액으로 세척하였다. 두 번째 antibody는 빛에 민감하기 때문에 반응 시간동안 반드시 암실에서 수행하였다. 모든 조직 sample은 형광현미경 (Zeiss fluorescent microscope)을 통해 관찰되어지고, 디지털 카메라로 찍은 모든 images는 Adobe Photoshop(version 5.5)을 이용하여 green과 red의 밝기와 강도를 같은 비율로 증폭시켜 관찰하였다. 그리고 Photoshop program의 Layer

blending mode options를 이용하여 이미지를 증폭시켜 관찰함으로써 각 단백질의 발현 위치를 관찰하였다. 본 실험에 사용한 일차항체는 NF200 (1:400, sigma)와 S100 $\beta$  (1:1000, Dako) 이었다.

#### 5. Western blot 분석

압손손상 그룹과 절생 그룹에서 분리한 Sciatic nerve는 triton lysis buffer (20 mM Tris, pH 7.4, 137 mM NaCl, 25 mM  $\beta$ -glycerophosphate, pH 7.14, 2 mM sodium pyrophosphate, 2 mM EDTA, 1 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 1% Triron X-100, 10% glycerol, 5  $\mu$ g/ml leupeptin, 5  $\mu$ g/ml aprotinin, 2  $\mu$ M benzamidine, 0.5 mM DTT, 1 mM PMSF)에 담가 초음파 분해하였다. 그 다음 각 sample에 대한 단백질을 정량하였으며, 그 중 10  $\mu$ g 단백질을 western blot 분석에 사용하였다. 정량한 단백질은 10% SDS-polyacrylamide gel (1.5 M Trisma base, 10% sodium dodecyl sulfate, 30% acrylamide, 10% ammonium sulfate, TEMED) 상에서 전기영동 시킨 후 PVDF membrane (Pall Corporation, USA)에 전기이동 시켰다. Antibody와의 비특이적 결합을 막기 위해 3% bovine serum albumin (BSA, Sigma, USA), 0.1% Tween 20을 함유하고 있는 TBS buffer에서 membrane을 1시간 동안 상온 반응시키고 4°C에서 16시간 동안 blocking buffer 상에서 반응을 진행하였다. 반응을 끝낸 membrane을 washing한 후 1차 항체를 blocking buffer (1  $\times$  TBS buffer, 3% BSA, 0.1% Tween 20)에 정해진 비율로 희석하여 상온에서 30분 동안 반응시켰다. 그 다음 membrane을 씻어내고 goat anti-rabbit IgG (Santa Cruz Biotechnology, USA) 또는 anti-mouse IgG (Santa Cruz Biotechnology, USA)가 결합되어 있는 horseradish peroxidase를 1:2000의 비율로 희석하여 상온에서 30분 동안 처리 하고 다시 한 번 씻어냈다. 마지막으로 membrane에 부착된 단백질을 western blotting

detection system을 이용하여 측정하였으며 Kodak Scientific Imaging Film (Eastman Kodak Co., USA)에 감광 하였다. 본 실험에 사용한 1차 항체는 phospho-p44/42 Erk1/2 kinase antibody (1:4,000, Cell signaling), monoclonal anti-cdc2 (1:2,000, Santa Cruz), GAP43(1:2,000, Santa Cruz), Mouse-actin (1:10,000, MP bio) 등 이었다.

**6. 조직 sample의 현미경 분석**

면역형광조직은 Nikon 현광현미경을 이용하여 분석한 후 현미경에 부착된 디지털 카메라로 이미지를 포착하여 ACT-1 software를 이용하여 분석하였다. 중첩이미지는 Photoshop 프로그램 상의 image blend 모드를 이용하여 분석하였다.

**III. 연구 결과**

**1. 좌골신경 압좌손상에서의 보양환오탕의 효과**

좌골신경에 압좌손상을 가한 후 5주간 보양환 오탕을 투여 후 식염수를 처리한 대조군과 축삭 재생 반응성을 비교분석하였다. 손상 근위부와 손상 부위 그리고 원위부를 포함하는 좌골신경의 종단 section에 대한 면역형광염색 결과가 Fig. 1 에 나타나 있다. 두 실험군에 대한 NF-200 단 백질에 대한 면역형광염색에 의한 축삭의 재생장을 비교한 결과 손상 원위부 1 cm 거리까지 재생이 충분이 이루어 졌으며, 뚜렷한 차이점은 관찰되지 않았다. 마찬가지로 신경조직상에 존재하는 슈반세포의 지표단백질인 S100β에 대한 염색 결과와 핵염색 (Hoechst 33259 염색)은 두 실험군간에 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다.

좌골신경에 압좌 손상을 가하고 6주간 보양환 오탕을 투여한 결과 손상 원위부 2 cm 거리까지 축삭재생이 상당 수준 진행됨을 확인하였다. 식 염수 대조군에 비하여 보양환오탕 처리군이 보다 뚜렷한 신경섬유의 연결성을 관찰할 수 있었다. S100β 염색은 두 집단간 뚜렷한 차이를 보이지

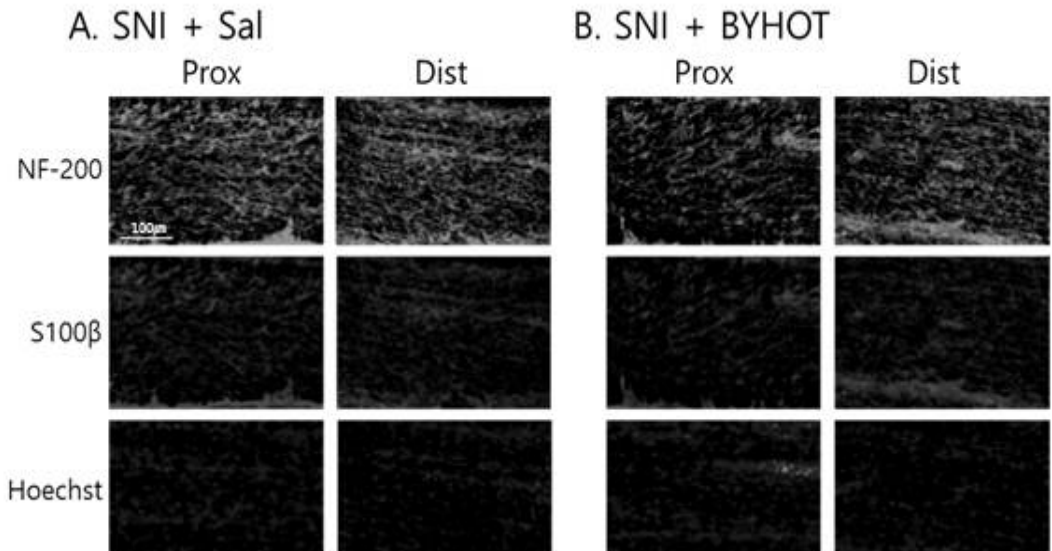


Fig. 1. 좌골신경절편에 대한 면역형광 염색결과. 좌골신경손상 (sciatic nerve injury; SNI)을 가한 후 다음날부터 5주간 보양환오탕 (BYHOT)을 구강주입 하였으며, 신경조직에 대한 NF-200 및 S100β에 대해 면역형광염색 실시하였다. 신경조직의 핵은 Hoechst 33258을 이용하여 염색 후 파란 색으로 확인하였다.

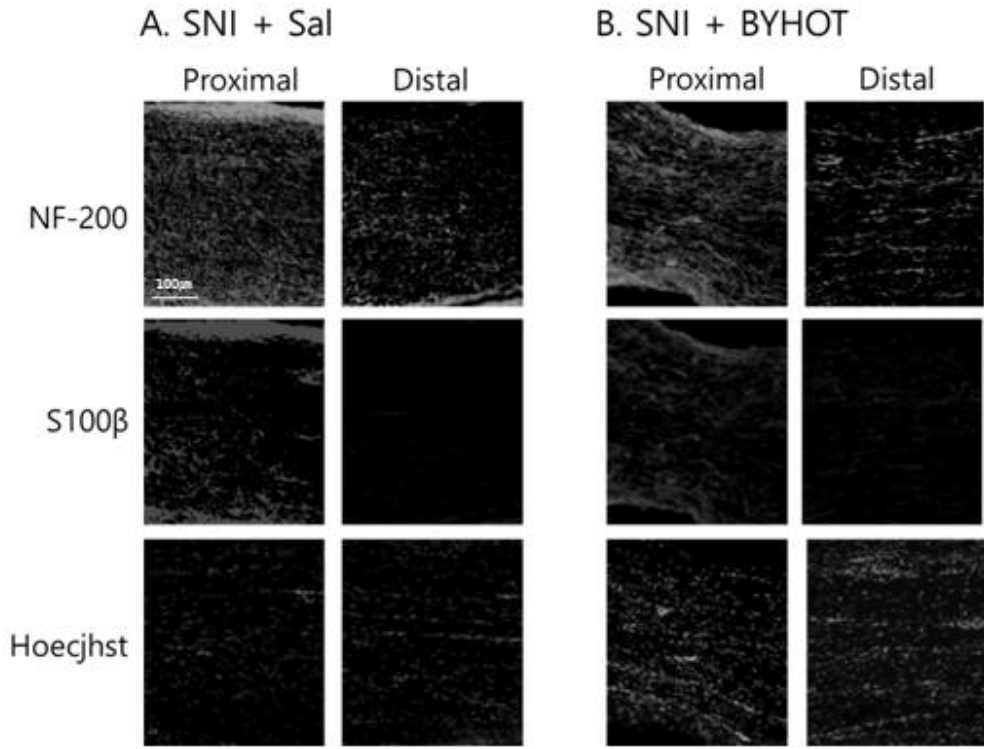


Fig. 2. 좌골신경절편에 대한 면역형광 염색결과. 좌골신경손상 (sciatic nerve injury; SNI)을 가한 후 다음날부터 6주간 보양환오탕 (BYHOT)을 구강주입 하였으며, 신경조직에 대한 NF-200 및 S100β에 대해 면역형광염색을 실시하였다. 신경조직의 핵은 Hoechst 33258을 이용하여 염색 후 파란색으로 확인하였다.

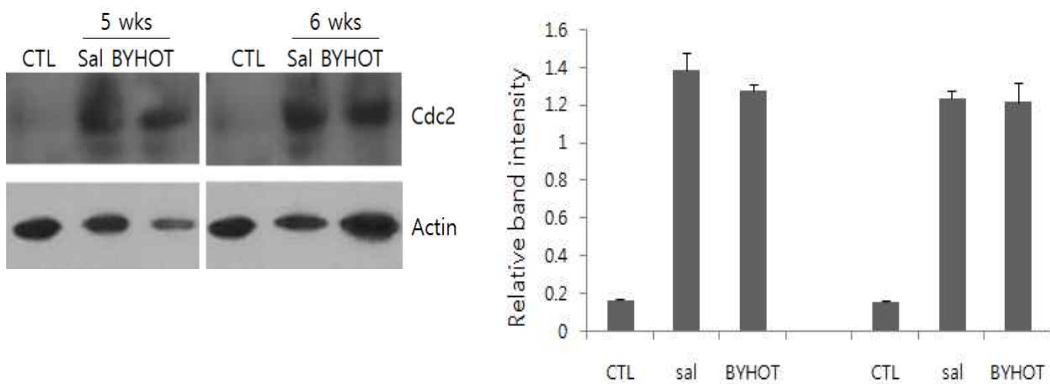


Fig. 3. 손상 및 신경손상을 가한 좌골신경에서 Cdc2 단백질 생성분석에 대한 Western blot 결과. 하단의 Actin 단백질에 대한 western blotting 결과는 sample의 loading control의 목적으로 시행하였다.

않았으며, Hoechst 핵염색은 보양환오탕 처리군에서 대조군보다 많은 숫자의 핵염색 수치를 나타내었다 (Fig. 2).

신경 손상 후 5-6주 후 축삭재생과정에서 슈반세포에서 유도 생성되는 것으로 알려진 Cdc2 kinase 단백질의 생성수준을 western blotting 방법을 통하여 조사하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 아무런 처리를 하지 않은 신경조직에서는 생성되지 않았으나 손상 조직에서는 뚜렷한 생성을 나타내었다. 이 결과로 보아 손상 5주 및 6주의 장기간 경과 후에는 약제의 효능성은 자생적 축삭재생의 진행에 의하여 작용 특이성을 구분하는 것이 분명하지 않은 것으로 생각된다.

## 2. 좌골신경 절단 4주 후 1-2주간 재연결에 의한 축삭재성장 반응성 분석

좌골신경을 절단 후 다음날부터 5주-6주 동안

보양환오탕을 구강투여하거나 식염수를 투여하였다. 좌골신경 절단 4주 후, 신경을 재접합하여 1주 및 2주 동안 재성장을 유도하였다. 그 다음 좌골신경 조직에 대한 조직학적 및 생화학적 분석을 실시하였다.

Fig. 4에 나타난 바와 같이 전 실험기간동안 식염수를 구강투여 하였으며, 4주간 신경분리를 진행한 경우 재접합시 손상부위에서 원위부의 신경성장은 거의 이루어지지 않았으나, 다만 약간의 축삭성장이 진행되고 있음을 나타내고 있다. 슈반세포의 표지단백질인 S100 $\beta$ 는 NF-100에 의한 축삭신호의 분포와 유사한 양상을 나타내었으며 비신경세포의 핵 수치는 손상 원위부에서 다소 증가하는 것으로 확인되었다 (Fig. 4).

4주 신경손상 분리기간과 재접합 1주 동안 보양환오탕을 구강투여 한 경우 Fig. 4의 대조군에 비하여 신경절단 하단부로 재생신경이 연장되고

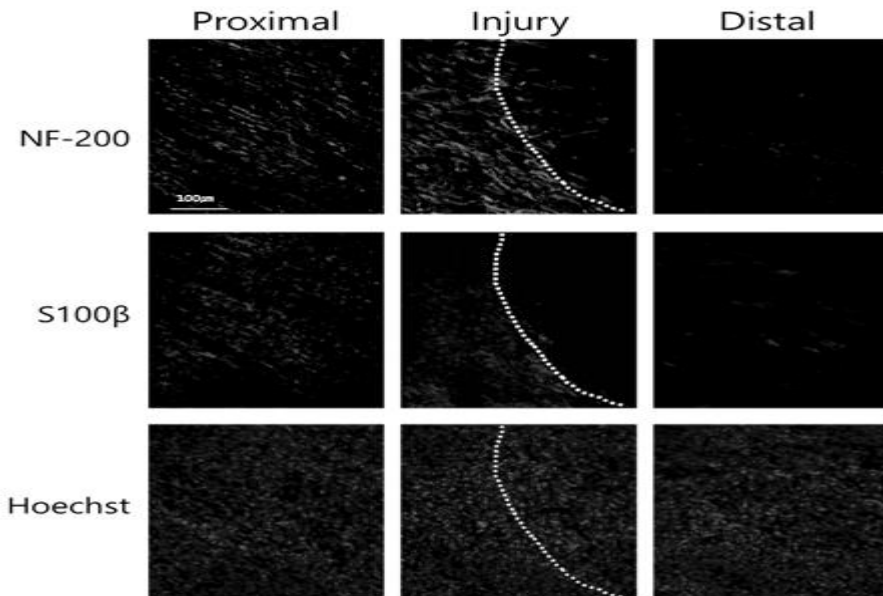


Fig. 4. 좌골신경의 절단 4주 후 1주간 재연결에 의한 축삭재성장 반응성의 면역형광염색에 의한 관찰결과. NF-200에 의한 축삭과 S100 $\beta$ 에 의한 슈반세포를 확인하였으며, 손상 근위부 및 원위부의 슈반세포를 포함한 비신경세포는 Hoechst 33258 핵염색에 의하여 확인하였다. 흰색점선은 신경절단의 경계면을 나타냈다.

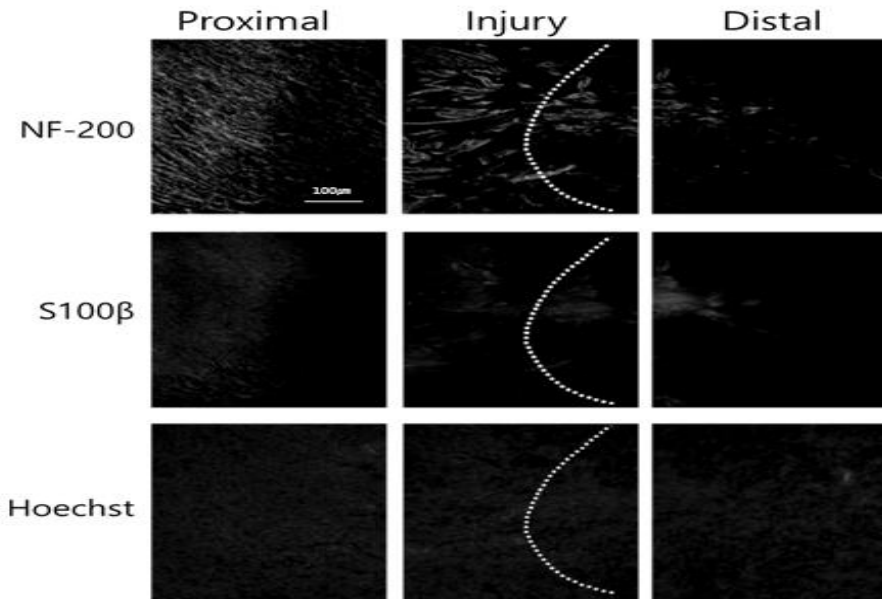


Fig. 5. 신경의 절단 4주간 보양환오탕을 주입하고 1주간 재연결에 의한 축삭재성장 반응성의 면역형광염색에 의한 관찰결과. 흰색점선은 신경절단의 경계면을 나타냈다.

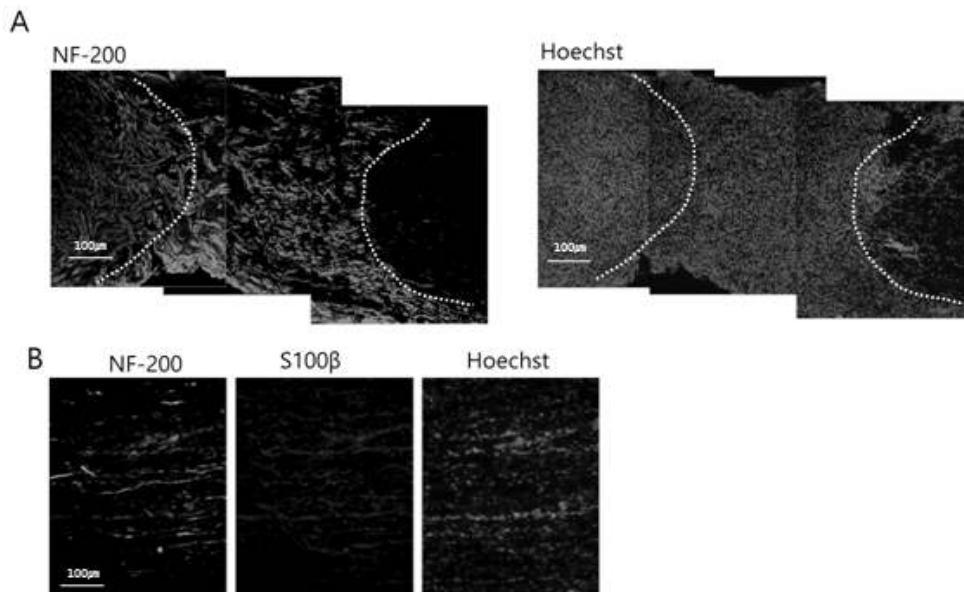


Fig. 6. 신경절단 후 4주간 보양환오탕 주입 후 2주간 축삭의 재성장 양상에 대한 면역형광염색 분석결과. (A)는 신경절단 손상부위, (B)는 신경손상 근접 원위부에서의 축삭의 성장양상을 보여주고 있다.

있음을 나타내고 있다. S100β에 의한 슈반세포와 Hoechst 핵염색 결과는 이들 비신경세포도

재생의 영역으로 유사한 양상으로 뻗어가고 있음을 보이고 있다 (Fig. 5).

나타날 것인지와 이러한 축삭의 재연결 반응시

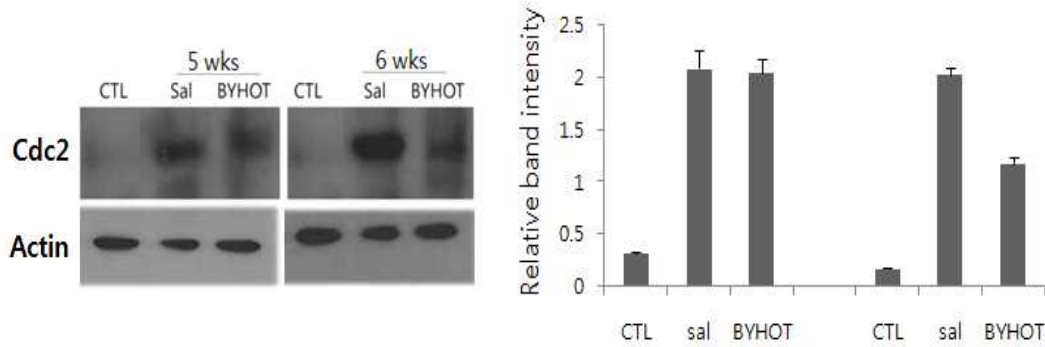


Fig. 7. Western 분석에 의한 Cdc2 단백질 생성수준의 변화분석. Actin 단백질에 대한 western 분석은 sample의 loading control로서 이용하였다.

4주 신경손상 분리기간과 재접합 2주 동안 보양환오탕을 구강투여 한 결과 재생축삭은 상당 수준 손상 원위부로 확장되고 있음을 나타내었다 (Fig. 6A). 영역내에 Hoechst 33258에 의한 비신경세포의 핵염색을 실시한 결과 세포들이 높은 밀도로 유입되었음을 나타내고 있다. 손상 인접 원위부에서 축삭의 재성장은 뚜렷이 관찰되었으며 슈반세포 역시 유사한 분포로 신경조직이 존재하는 것이 확인되었다 (Fig. 6B).

축삭재생 반응성에 대한 생체인자의 생성수준의 변화를 조사하기 위하여 손상 후 슈반세포에서 생성이 증가하는 것으로 알려진 Cdc2 kinase 단백질의 생성변화를 western blotting에 의하여 분석하였다. Fig. 7에 나타난 바와 같이 손상을 가하지 않은 신경조직에서는 Cdc2 단백질은 전혀 생성되지 않았으나 손상을 가한 조직에서는 뚜렷한 생성을 나타내었다. 손상 6주후 생리용액 투입 대조군에서 증가된 생성을 나타내었으며, 약제처리군은 낮은 수준의 생성을 나타내었다.

#### IV. 연구 고찰

좌골신경 손상 후 또는 말초신경의 절단 후 4주간 신경의 연결이 차단될 경우 이것이 후속적 재연결 반응성에서 축삭의 연결성 반응이 어떻게

한약 보양환오탕의 재생에 대한 효능성에 대하여 조사하였다.

첫 번째로 좌골신경에 압좌손상을 가한 후 4주의 기간에 걸쳐 보양환오탕 추출물을 경구투입 한 결과를 조사하였다. 일반적으로 말초신경은 손상 후 상당 수준 축삭의 자생적 재생이 진행되기 때문에 손상 부위 및 손상 후 원위부에서는 식염수를 주입한 대조군과의 재생수준의 변화를 확인할 수 없었다. 그러나 손상 6주 후 보다 원위부에서 재생 반응성을 조사한 결과 식염수 대조군에 비하여 축삭의 재생이 보다 뚜렷하게 진행됨됨을 확인할 수 있었다.

말초신경의 손상 후 축삭의 재생이 진행되는 데 있어 신경조직에 존재하는 슈반세포는 활성화하고 이는 축삭의 재생 반응의 진행에 직접적으로 관여하는 것으로 알려져 있다. 즉 슈반세포는 초기 미분화 및 증식의 과정을 통하여 세포의 특징이 변화하고 이어 재분화의 과정을 통하여 축삭의 재생에 관여하게 된다. 이러한 과정에서 Cdc2 단백질의 생성수준이 강하게 그러나 일시적으로 유도되며 이는 축삭의 재생과정에 관여함이 알려져 있다<sup>7)</sup>. 본 연구에서는 말초신경 손상 부위에서 시간경과에 따른 Cdc2 단백질의 생성수준의 변화를 western blotting 실험을 통하여 조사하였다. 손상을 가하지 않은 대조군에서 단백질 생성은 전혀 검출되지 않은 반면, 식염수나 보양환오탕을 처리



한 신경손상군에서 단백질 생성이 뚜렷하게 증가하는 것을 확인하였다. 그러나 식염수 처리군과 비교하여 보양환오탕 처리군은 단백질 생성수준에서 차이를 나타내지 않았다. 이상의 결과로 보아 손상 5주 및 6주의 장기간 경과 후에는 약제의 효능성은 자생적 축삭재생의 진행에 의하여 작용 특이성을 구분하는 것이 분명하지 않은 것으로 판단된다.

두 번째로 말초신경의 절단 후 4주간 신경의 연결이 차단될 경우 이것이 후속적 재연결 반응성에서 축삭의 연결성 반응이 어떻게 나타날 것인지에 대하여 조사하였다. 이러한 축삭의 재연결 반응시 한약 보양환오탕의 재생에 대한 효능성에 대하여 조사하였다.

본 실험에서 좌골신경의 절단 후 4주간 원위부 신경을 분리시킴으로서 슈반세포를 비롯한 잠재적 재생보고인자들의 역할을 제한하는 방법에 적용하였으며, 이러한 조건하에 보양환오탕의 처리가 원위부로의 축삭의 성장 반응성에 어떠한 효과를 나타내는지 관찰하였다. 식염수를 처리한 손상의 대조군의 경우 약한 수준의 축삭 재생의 반응성이 관찰되었다. 이후 보양환오탕의 처리는 축삭재생장에 양성적 요인으로 작용함을 관찰할 수 있었다.

보양환오탕이 어떠한 기전적 근거하에 축삭의 재생장을 촉진할 수 있는가에 대해서는 후속연구가 필요하겠으나 손상 원위부의 슈반세포의 활성화를 잠재적 인자로 고려할 수 있을 것이다. 슈반세포는 손상부위에서 활성화하고 축삭과의 상호작용을 통하여 축삭의 재생장을 촉진할 수 있다. 본 연구에서는 슈반세포 재생인자로 규명된 Cdc2 kinase의 생성수준의 변화를 분석하였다. Cdc2 kinase는 말초신경 손상 후 손상부위의 슈반세포에서 일시적으로 높은 수준의 생성을 나타내며 슈반세포의 이주활동의 촉진을 통하여 축삭 재생 반응성에 기여함이 보고된 바 있다<sup>8)</sup>. 본 연구에서 손상좌골신경 조직에서 Cdc2의 생성수준은 식염수 처리한 손상대조군에 비하여 뚜렷한 양적 변화를 나타내지 않았다. 이는 손상 후 일정 기간 경과 후에는 슈반세포에서의 재생관련 역할

이 보양환오탕의 처리에 의하여 조절을 받고 있지 않음을 시사한다. 허혈에 따른 신경세포 및 여러 종류의 비신경세포에 대한 보호효과를 나타내는 것으로 알려진 보양환오탕에 대한 후속 연구를 통하여 축삭 재생장을 촉진할 수 있는 관련 생체인자를 규명함으로써 한약에 대한 기전적 근거를 확보할 수 있을 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Chen ZL, Yu WM, Strickland S. Peripheral regeneration. *Annu Rev Neurosci*. 2007;30:209-33.
2. 한창호, 박용기. “가미보양환오탕이 뇌허혈모델에서 신경세포보호를 통해 뇌경색억제에 미치는 효과”, 대한침구의학회지 2010 8월 27(4):29-38
3. Jinglong T, Weijuan G, Jun L, Tao Q, Hongbo Z, Shasha L. The molecular and electrophysiological mechanism of buyanghuanwu decoction in learning and memory ability of vascular dementia rats. *Brain Res Bull*. 2013 Oct;99:13-8.
4. Li XM, Bai XC, Qin LN, Huang H, Xiao ZJ, Gao TM. Neuroprotective effects of Buyang Huanwu Decoction on neuronal injury in hippocampus after transient forebrain ischemia in rats. *Neurosci Lett*. 2003 Jul 31;346(1-2):29-32.
5. Yang S, Gao Q, Xing S, Feng X, Peng L, Dong H, Bao L, Zhang J, Hu Y, Li G, Song T, Li Z, Sun J. Neuroprotective effects of Buyang Huanwu decoction against hydrogen peroxide induced oxidative injury in Schwann cells. *J Ethnopharmacol*. 2011 Oct 11;137(3):1095-101.
6. Chen A, Wang H, Zhang J, Wu X, Liao J, Li H, Cai W, Luo X, Ju G. BYHWD rescues axotomized neurons and

- promotes functional recovery after spinal cord injury in rats. *J Ethnopharmacol.* 2008 May 22;117(3):451-6.
7. Chang IA, Oh MJ, Kim MH, Park SK, Kim BG, Namgung U. Vimentin phosphorylation by Cdc2 in Schwann cell controls axon growth via  $\beta$ 1-integrin activation. *FASEB J.* 2012 Jun;26(6):2401-13.
  8. Han IS, Seo TB, Kim KH, Yoon JH, Yoon SJ, Namgung U. Cdc2-mediated Schwann cell migration during peripheral nerve regeneration. *J Cell Sci.* 2007 Jan 15;120(Pt 2):246-55.