

黃漆이 만성 스트레스 유발 백서의 스트레스 및 수면 호르몬에 미치는 영향

송영길, 김경옥

동신대학교 한의과대학 한방신경정신과학교실

Effect of Resina Dendropanacis Morbiferus on Stress and Sleep Hormone in Chronic Mild Stress-Induced Rats

Young-gil Song, Kyeong-ok Kim

Department of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Dongshin University

Received: February 27, 2017

Revised: September 14, 2017

Accepted: September 18, 2017

Objectives: To evaluate effects of Resina Dendropanacis Morbiferus (RDM) on stress and sleep hormones when administered to Chronic Mild Stressed (CMS) rats.

Methods: Twenty-five healthy rats were randomly divided into 5 groups; Normal, CMS (Control), Resina Dendropanacis Morbiferus 50 mg/kg (RDM 50), 100 mg/kg (RDM 100), and 200 mg/kg (RDM 200). All rats except the normal group were exposed to unpredicted stress conditions such as water deprivation, empty bottles, forced thread mill, etc. according to timetable of CMS for 3 weeks. After a week starting experiments, rats in RDM 50, RDM 100, and RDM 200 groups were fed orally once a day for 2 weeks. Afterward, blood samples were taken from rats to analyze complete blood count, AST, ALT, and glucose. Noradrenalin, GABA and Melatonin were measured by ELISA kit. BDNF, CREB and TrkB were measured by RT-PCT.

Results: 1. In Noradrenalin content, RDM 100 and RDM 200 groups revealed significant decrease compared to the control group. 2. In GABA content, RDM 50 and RDM 100 groups revealed significant decrease compared to the control group. 3. In Melatonin content, RDM 100 and 200 groups revealed significant decrease compared to the control group. 4. In Activity of BDNF, RDM 100 and 200 groups revealed significant increase compared to the control group. 5. In Activity of CREB and TrkB, RDM 100 group revealed significant increase compared to the control group. 6. In Erythrocyte and Thrombocyte changes, red blood cells and hematocrit significantly increased in RDM 50 and RDM 200 groups than the control group. 7. Hemoglobin and platelet significantly increased in all experimental groups and the control group. 8. In Weight gain content, all RDM groups revealed insignificant increase compared to the control group. 9. In Glucose content, RDM 50, RDM 100, and RDM 200 groups revealed significant decrease compared to the control group.

Conclusions: Results suggest that RDM have effects on stress and sleep hormones when administered to Chronic Mild Stressed (CMS) rats.

Key Words: Resina Dendropanacis Morbiferus (RDM), Chronic Mild Stress (CMS) Animal model, Insomnia, Noradrenalin, GABA, Melatonin.

Correspondence to

Kyeong-ok Kim
Department of Korean
Neuropsychiatry, Dongshin University
Hospital at Suncheon, 331 Isu-ro,
Suncheon, Korea.

Tel: +82-61-729-7199

Fax: +82-61-725-1717

E-mail: avecinok@hanmail.net

I. 서론

스트레스란 개인으로 하여금 적응을 강요하고 신체적 또는 심리적 압박을 일으키는 위협인자와 생체에 이 인자가 작용하여 발생하는 장애, 그리고 이를 극복하기 위한 방어적 반응이 발생하는 현상을 말한다.^{1,2)} 스트레스로 인한 적응반응은 신체적으로는 뇌하수체-부신 축 활성화 관련 내분비계와 자율신경 등의 생리적 변화를, 정신적으로는 심리적 항상성의 변화를 나타내며²⁾, 만성적인 경우 자율신경계와 내분비 계통에 지속적으로 영향을 끼치고 신체조절 능력을 약화시킨다. 지속적인 스트레스가 반복적으로 계속될 때 뇌의 신경발달이 저하되고, 불면증을 유발하기도 한다^{3,4)}.

한의학에서는 스트레스를 칠정(七情)이나 외기(外氣)의 변화가 일종의 자극인자로 작용하는 것에 대한 반응으로서 인체에 나타나는 현상으로 인식⁵⁾하였는데, 이는 기후, 정동(情動), 음식, 기거 등의 《영추(靈樞)·구문편(口問編)》⁶⁾과 내인, 외인, 불내외인(不内外因)의 《삼인방(三因方)》⁷⁾을 통해 알 수 있다. 이 중 기후와 음식, 기거, 내인, 외인 등에서 지속적으로 받게 되는 영향은 만성적 스트레스를 유발하는 것에 관한 표현으로 볼 수 있다.

한의학적으로 볼 때 이들은 인체 내부에서 기(氣)의 변조(變調)를 일으키고 질병을 만드는 기초가 되고, 신체에 병적 요인을 제공하여 제반 증상과 질환을 일으키는 것이라 할 수 있는데^{8,9)}, 모두 기허(氣虛), 기울(氣鬱), 기역(氣逆) 등과 같은 칠정의 변화로 인한 증후와 관계가 있는 것으로 인식하고 있다^{10,11)}.

한의학에서는 이러한 인식을 바탕으로 한약제 투여에 따른 항스트레스 효과와 스트레스 유발 증상의 개선에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이중 만성 스트레스에 대한 실험적 연구로는 귀비탕과 사물탕가향부자의 항우울 효과^{12,13)}, 가감산조인탕의 항스트레스 효과¹⁴⁾, 허엽 추출물의 항우울 효과¹⁵⁾ 등이 있다. 그러나 이들은 실험 약물을 먼저 투여후 스트레스를 가하는 형식으로 스트레스를 먼저 주고 난 후 약물의 효과를 관찰한 것은 없다.

황칠(黃漆, Resina Dendropanacis morbifrus)은 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 황칠나무(*Dendropanax morbifera* Lev.)의 수피에 상처를 주었을 때 나오는 액을 말하는 것으로 항산화^{16,17)}, 항노화¹⁶⁾, 혈액내 지질개선효과¹⁸⁾, 뇌신경세포 보호효과¹⁹⁾ 등이 실험적으로 보고되고 있으나 만성

적 스트레스 후 스트레스와 수면 호르몬에 미치는 영향에 대한 보고는 없는 실정이다.

이에 저자는 임상 현장에서 얻은 경험을 바탕으로 Chronic Mild Stress (CMS)를 가한 백서에 황칠이 스트레스 및 수면 호르몬에 미치는 영향을 확인하기 위하여 백서 혈액 및 혈청학적 검사와 뇌 조직내의 BDNF (Brain derived neurotrophic factor), CREB (cAMP response element-binding protein), TrkB (Tropomyosin receptor kinase B)와 noradrenaline, GABA (Gamma-Aminobutyric Acid), Melatonin의 함량을 측정하여 다음과 같은 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 실험 동물

체중이 약 160~170 g의 Wistar Hannover계의 25마리의 雌性 백서를 항온항습 환경의 사육장(실내온도 24±1°C, 습도 60±5%)내에서 충분히 고품 사료(동아원, 한국)와 물을 공급하였고, 3일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험환경 조건이 아닌 실험기간 동안은 자유롭게 물과 고품 사료를 섭취할 수 있도록 하였다.

2) 실험 약물

동서비교한의학회에서 황칠 잎과 가지를 저탄하고 정제수를 2배 가한 후 80°C로 30분간 가열 후 40°C로 냉각하고 주정을 50% 가하고, 계면활성제를 황칠의 0.01% 가하고 60°C에서 48시간 추출한 것을 여과 농축하며 주정을 제거한 농축액을 분무건조한 황칠 파우더(제품번호: DDP01606)를 구입하여(Fig. 1) 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg 세 가지 농도로 5 ml/kg의 증류수에 녹여 사용하였다.

2. 실험 방법

1) CMS (Chronic Mild Stress) 유발²⁰⁾

본 연구를 위하여 Table 1과 같은 만성 스트레스 모델(CMS)을 사용하였다. 실험기간은 정상군을 제외한 CMS 유발군은 21일간 먹이박탈(FD), 빈 물병 제시(EB), 강제 운동

(FT), 소음(NB), 주야 주기 역전(LON, LOF), 강제 수영(FS), 빛 깜빡(FL), 케이지 기울이기(Tilt) 또는 흔들기(Shaking), 고밀도 사육(TH), 물 박탈(WD), 젖은 깔짚(SC) 등 매일 스트레스 유발표에 의하여 노출시켰으며, 이 기간 동안 먹은 사료량과 물량을 확인하였으며, 몸무게를 주 3회 확인하였으며, 조건 제시를 제외하면 일반적인 사육환경을 유지하였다.

2) 실험군 분리

실험군들의 분리는 각 군당 5마리씩 나누어 처치하지 않

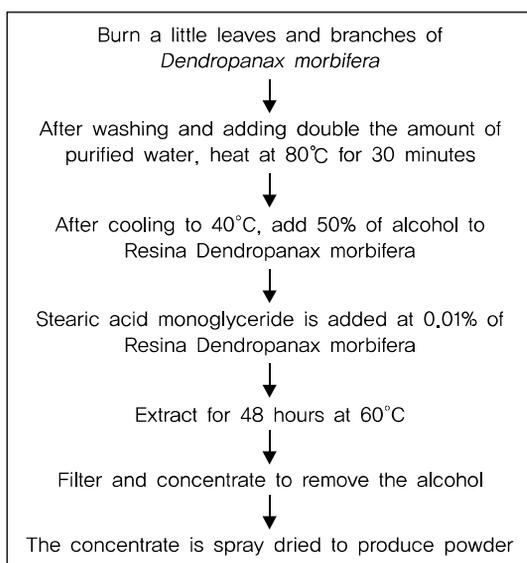


Fig. 1. Preparation of Resina Dendropanax morbifera powder.

은 정상군(Normal), CMS를 유발시킨 후 처치하지 않은 대조군(Control), CMS를 유발시킨 후 황칠 구강투여군(Resina Dendropanacis morbifera 50 mg/kg, RDM 50), CMS를 유발시킨 후 황칠 구강투여군(Resina Dendropanacis morbifera 100 mg/kg, RDM 100), CMS를 유발시킨 후 황칠 구강투여군(Resina Dendropanacis morbifera 200 mg/kg, RDM 200)으로 분류하였다.

3) 약물 투여

약물의 구강투여는 zonda를 사용하여 CMS 유발 후 7 일째부터 시작하였으며, 1일에 각 1회씩 총 14회에 걸쳐 시행되었다. 1회 투여량 5 ml/kg을 주입하였다.

4) 체중 및 사료효율

체중은 실험기간 동안 매주 3회, 총 9회 전자 저울(주카스, 중국)을 이용해 백서의 무게를 측정하였다. 섭취량은 1 마리당 1일 섭취 평균량을 구하였다. 사료효율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{사료 효율 (\%)} = \frac{\text{기간중 체중증가량(g)}}{\text{기간중 사료섭취량(g)}} \times 100$$

5) 혈액 및 혈청학적 검사

심장에서 채혈한 혈액 중 약 100 μ l를 EDTA-bottle에

Table 1. Time Table for Induced by Chronic Mild Stress in Rats

Time	Fri	Sat	Sun	Mon	Tue	Wed	Thu
01:00	FD, EB (9 h)	LON (9 h)	FL (9 h)	Tilt (9)	TH, WD (9 h)	FL (9 h)	Tilt (9 h)
↓							
09:00							
10:00							
11:00	FT (2 h)	FS (2 h)	LOF (2 h)	Shaking (2 h)	FT (2 h)	SC (2 h)	Shaking (2 h)
12:00							
13:00							
14:00							
15:00	NB (4 h)	WD (4 h)	LOF (4 h)	FD (4 h)	NB (4 h)	FS (4 h)	LOF (4 h)
↓							
18:00							
19:00	LON (6 h)	FL (6 h)	Tilt (6 h)	TH, WD (6 h)	FL (6 h)	Tilt (6 h)	FD, EB (6 h)
↓							
24:00							

FD: Water deprivation, EB: Empty bottles, FT: Forced treadmill, NB: Noise bursts, LON: Lights on at night, FS: Force swimming, FL: The Flashing light, LOF: Lights off at day, Tilt, Shaking, TH: Tight husbandry, WD: Water deprivation, SC: Straw litter clammy.

넣고, Multispecies Hematology Analyser (950, Hemavet, U.S.A)에 곧바로 주입하여 Leukocytes와 WBC, Erythrocytes와 RBC, HGB, HCT, PLT를 측정하였다. 나머지 혈액은 VS 6000CFI (Vision, Korea)을 이용하여 3,000 rpm으로 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 혈청 분석은 AST (u/l)와 ALT (u/l)를 Dri-chem 4000i (FujiFilm corp. Japan)을 이용하여 측정하였다.

6) 혈당 측정

혈당 측정은 CMS 유발 전, 유발 후 1주, 유발 후 2주, 유발 후 3주로 총 4회 꼬리채혈을 하여 얻어진 혈액은 ACCU-CHEK Active Strip (Roche, Germany)에 혈액방울을 묻혀 ACCU-CHEK Active (Roche, Germany)에 꽂아 혈당 측정을 하였다.

7) Immunohistochemistry; Brain derived neurotrophic factor (BDNF)

모든 실험이 끝난 직후 백서를 80% O₂ 가스에 5% isoflurane (Hana Pharm, Korea)을 혼합하여 흡입마취 유도를 한 후, 0.9% saline 200 ml에 이어서 phosphate buffer로 준비한 5% formalin 용액(fixative) 200 ml를 심장을 통해 관류하였다. 고정이 끝난 백서의 뇌를 꺼내 10% formalin 용액으로 고정시키고, 30% sucrose가 함유된 phosphate buffered saline (PBS)에 넣어 하루 동안 4°C에서 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동시킨 후 Cryotome (Shandon, Japan)을 이용하여 뇌 조직을 30 μm의 두께로 잘랐다.

뇌 조직은 적출 초기에 0.1 M PBS로 3회 정도 세척하였고, 2% 토끼 혈청을 사용하여 30분 blocking한 후, 각각 BDNF antibody (1:400, Novusbio, U.S.A.)를 사용하였다. 1차 항체는 0.1 M PBS에 0.1% sodium azide (Sigma, U.S.A.) buffer로 400배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 1차 항혈청에 4°C에서 72시간동안 배양하였다. 그 후 3번 이상 조직을 0.1M PBS로 세척한 다음 biotinylated universal Secondary Antibody (Quick Kit: Vector Laboratories, U.S.A.)를 예 37°C에서 30분 동안 반응시켰다. 0.1 M PBS로 3번 세척한 다음, 뇌 조직은 37°C에서 30분 동안 Streptavidin peroxidase preformed complex (Quick Kit: Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 담구

었다. 0.1 M PBS로 3번 세척한 다음 조직을 착색제로서 diaminobenzidine (DAB: Vector Laboratories, USA)을 사용하여 발현시키고, 0.1 M PBS로 발색을 정지시켰다.

염색이 끝난 조직은 광학현미경(Nikon, Japan)으로 40배로 확대하여 관찰하였고, 신경세포의 밀도를 Scion image program (Scion Corp. MD, U.S.A.)을 이용하여 측정하였다.

8) Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

(1) Total RNA 분리

적출된 뇌를 coronal section하여 신속히 액체 질소에 급속 냉동시키고 분석할 때까지 -70°C에서 보관하였다.

Total RNA의 분리는 뇌 조직(300 mg)에 800 ul Trizol Reagent (Lifetechnologies, U.S.A.)를 넣고 precellys 24 (Bertin technologies, France)에서 균질화하고, 균질액에 200 μl의 chloroform (Sigma, U.S.A.)을 가하여 15초 동안 흔들어서 잘 혼합한 후, 실온상태에서 5분 방치하고 난 다음 세로 유잔물을 제거하기 위하여 4°C, 14,000 rpm에서 5분 동안 원심분리(Centrifuge 5415 R: Eppendorf, Germany)하였다. 원심분리로 얻어진 상층액에 500 μl의 isopropanol (sigma, USA)을 첨가하여 실온상태에서 5분 동안 방치한 후 RNA pellet을 얻기 위하여 4°C, 14,000 rpm에서 8분간 원심분리하고, 원심분리로 생긴 pellet에 냉장 보관된 70% ethanol과 함께 DEPC를 넣고 4°C, 7,500 rpm에서 5분간 원심분리 후 pellet만 남기고 모두 제거하고, 남은 ethanol은 실온에서 5분간 방치시켜 건조시킨 다음 DEPC-treated water에 녹여 spectrophotometer (Bio-photometer: Eppendorf, Germany)에서 OD260 값을 읽어 RNA의 순도 및 농도를 정량하였다.

(2) Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

분리된 total RNA 5 μg과 2.5 μl Oligo (dT), DEPC-treated water를 RT premix (Bioneer, Korea)에 넣어 Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany)를 이용하여 50 μl cDNA를 합성하여 PCR 증폭을 위한 template로 사용하였다. 이때 housekeeping 유전자인 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (sense primer: 5'-ACTCCATCACCATCTTCCAG-3', antisense primer: 5'-

CCTGCTTTTACCACCTCCTTG-3')를 internal control로 사용하였다. Reverse transcription temperature cycle은 42°C에서 1시간 동안 cDNA synthesis, 94°C에서 5분 동안 denature 그리고 4°C에서 5분 동안 cooling시키는 단계를 거쳤다. Polymerase chain reaction은 cDNA, 10 pg sense primer, 10 pg antisense primer, DEPC-treated water를 PCR premix (Bioneer, Korea)에 넣은 후 Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany)를 이용하여 증폭시킨다. PCR temperature cycle은 cDNA의 증폭을 위하여 95°C에서 30초 동안 pre-denaturation, 94°C에서 40초 동안 melting, 55°C에서 40초 동안 annealing, 72°C에서 90초 동안 extension하는 과정을 34회 반복 수행하고 마지막 cycle에서 72°C에서 600초 동안 extension 단계를 거친다. CREB 유전자증폭은 primer (sense primer: 5'-TACCCAGGGAG GAGCAATAC-3', antisense primer: 5'-GAGGCAGCTTG AACAAAC-3'), TrkB 유전자증폭은 primer (sense primer: 5'-GATCTTCACCTACGGCAAGC-3', antisense primer: 5'-TCGCCAAGTTCTGAAGGAGT-3')로 시행하였다.

이렇게 증폭된 CREB, TrkB의 DNA를 Greenview nucleic acid gel stain (IO Rodeo, 1:10,000)를 포함한 1.5% agarose gel상에서 0.5x TBE buffer (80 mM Tris-HCL, 80 mM boric acid, 2 mM EDTA, pH 8.3)로 100 V에서 전기 영동시켜 관찰한 후 Image Station (Samsung, Korea)을 이용하여 촬영하였으며, Alphaease FC StandAlone Software (Alpha Innotech, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다.

9) Noradrenaline (NA) 측정

Norepinephrine 측정은 Rat Noradrenaline Elisa Kit (Cusabio, China)를 사용하여 측정하였다. Rat Noradrenaline이 coating된 microplate에 Rat Noradrenaline standard, serum 50 μ l를 넣고, Antibody (1X) 50 μ l를 첨가해 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 40분간 incubation 시켰다. Wash buffer 400 μ l로 3회 washing 후 HRP-conjugate (1X) 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 37°C에 30분간 incubation 하였다. Wash buffer 400 μ l로 5회 washing후 TMB Substrate 90 μ l를 첨가하고 platecover를 덮고 dark 상태로 37°C에 20분간 incubation 하였다. Stop solution 50 μ l를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate spectropho-

tometer (Benchmark plus, Biorad, USA)로 450 nm에서 OD (Optical density)를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 Noradrenaline를 assay하였다.

10) Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) 측정

실험이 끝난 후 적출한 뇌 조직(50 mg)을 분리한 후 lysis buffer 1 ml을 넣고 precellys 24 (Bertin technologies, France)에서 균질화하고 4°C, 10,400 rpm에서 5분 동안 원심분리(Centrifuge 5415 R: Eppendorf, Germany)하여 상층액을 분리하였다. 분리한 상층액 sample은 측정하기 전까지 냉동보관하였다.

GABA 측정은 Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For gABA (Biomatik, USA)을 사용하여 측정하였다. gABA가 coating된 microplate에 gABA Standard, 조직 sample 50 μ l를 넣은 후 1X Detection Reagent A 50 μ l를 바로 넣고 platecover로 tapping (cloudy 상태 확인)한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 60분간 incubation 하였다. Wash buffer 400 μ l로 3회 washing후 1X Detection Reagent B 100 μ l를 넣고 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 3°C에 30분간 incubation 시켰다. Wash buffer 400 μ l로 5회 washing후 Substrate Solution 90 μ l를 넣고 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 3°C에 10분간 incubation (dark 상태) 시켰다. Stop solution 50 μ l를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate spectrophotometer (Benchmark plus, Biorad, USA)로 450 nm에서 OD (Optical density)를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 GABA를 assay하였다.

11) Melatonin 측정

실험이 끝난 후 적출한 뇌에서 해마(hippocampus)와 솔방울샘(pineal gland)을 포함한 조직(100 mg)을 선별하고 이 조직에 1X PBS 1 ml을 넣고 precellys 24 (Bertin technologies, France)에서 균질화하고 4°C, 7,300 rpm에서 5분 동안 원심분리(Centrifuge 5415 R: Eppendorf, Germany)하여 상층액을 분리하였다. 분리한 상층액 sample은 측정하기 전까지 냉동보관하였다.

Melatonin 측정은 Rat Melatonin Elisa Kit (Biomatik, USA)를 사용하여 측정하였다. Melatonin이 coating된 microplate에 Rat Melatonin Standard, 조직 sample 50 μ l

를 넣고, HRP-conjugate를 50 μ l를 첨가하고 Antibody 50 μ l를 넣고 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 60분간 incubation 시켰다. Wash buffer 400 μ l로 3회 washing후 Substrate A 50 ul를 넣고, Substrate B 50 ul를 첨가한 다음 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 15분간 incubation (dark 상태) 하였다. Stop solution 50 μ l를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate spectrophotometer (Benchmark plus, Biorad, USA)로 450 nm에서 OD (Optical density)를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 Melatonin을 assay하였다.

3. 통계처리

모든 측정값은 Excel statistic program (Microsoft, USA)을 이용하여 평균과 표준오차(mean \pm standard error)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 SPSS 21.0 ver. for windows를 사용하여 비모수적 방법으로 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 각 실험군은 대조군에 비교하여 유의수준 0.05 수준($p < 0.05$)과 0.01 수준($p < 0.01$)으로 검정하였다.

III. 결과

1. 체중변화에 미치는 영향

CMS 유발 백서의 체중 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군과 실험군은 정상군에 비해 유발 후부터 14일째까지 유의한 감소를 나타내었고, 대조군에 비하여 각 실험군 모두 실험기간 동안 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 2, Fig. 2).

2. 혈당 및 혈청 Transaminase 함량에 미치는 영향

1) Glucose

황칠 추출물 용량별 투여가 CMS 유발 흰쥐의 혈당 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 76.8 \pm 1.5 mg/dl, 대조군은 95.0 \pm 3.2 mg/dl를 나타내어 정상군에 비하여 대조군이 유의한 증가를 나타내었고, RDM 50군은 71.6 \pm 3.8 mg/dl, RDM 100군은 70.8 \pm 4.7 mg/dl, RDM 200군은 67.8 \pm 3.4 mg/dl를 나타내어 대조군에 비하여 RDM 50군, RDM 100군과 RDM 200군 모두 유의한 감소를 나타내었다 (Fig. 3).

2) ASTCMS

유발 흰쥐의 AST 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정

Table 2. Change of RDM Administration on the Weight Change in CMS Rats

Group		Before	Administration			
			0	4	9	14
Normal	Mean	0	39.7	59.0	76.5	94.0
	SE	0	1.56	2.05	2.72	3.48
Control	Mean	0	12.5	31.2	61.0	60.7
	SE	0	1.18	0.83	1.21	1.58
RDM 50	Mean	0	15.4	36.8	60.0	66.0
	SE	0	1.67	3.05	3.89	3.47
RDM 100	Mean	0	15.0	34.6	57.0	60.0
	SE	0	1.06	1.67	2.47	3.87
RDM 200	Mean	0	15.2	32.7	60.0	56.0
	SE	0	1.45	1.74	2.92	4.48

Normal, normal group; Control, CMS and no treatment; RDM 50, CMS and administration of Resina Dendropanacis morbifera 50 mg; RDM 100, CMS and administration of Resina Dendropanacis morbifera 100 mg; RDM 200, CMS and administration of Resina Dendropanacis morbifera 200 mg. # $p < 0.05$, compared with normal.

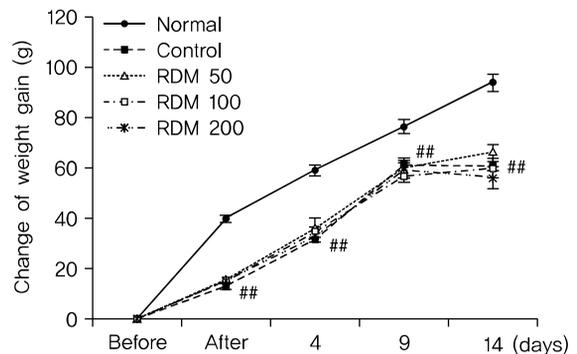


Fig. 2. Effect of Resina Dendropanacis morbifera(RDM) administration on the Weight change in CMS rats. Values are expressed Mean \pm SE. Normal, normal group; Control, CMS and no treatment; RDM 50, CMS and administration of Resina Dendropanacis morbifera 50 mg; RDM 100, CMS and administration of Resina Dendropanacis morbifera 100 mg; RDM 200, CMS and administration of Resina Dendropanacis morbifera 200 mg. ## $p < 0.01$, compared with normal.

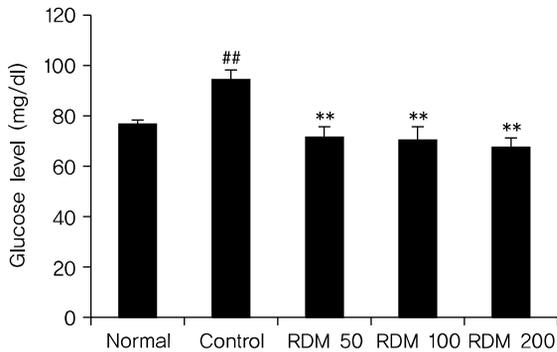


Fig. 3. Effect of RDM administration on the glucose level in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 2. ^{##}p<0.01, compared with normal; ^{**}P<0.01, compared with control.

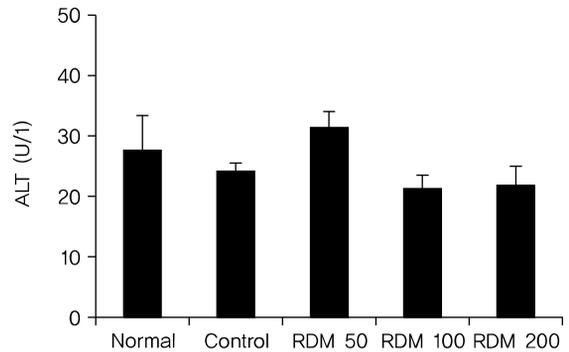


Fig. 5. Effect of RDM administration on the ALT level in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 2.

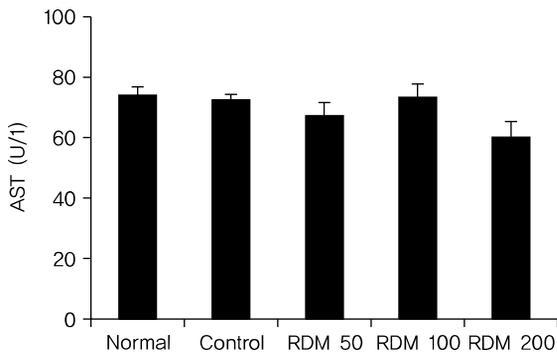


Fig. 4. Effect of RDM administration on the AST level in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 2.

상군은 74.6±2.3 U/L, 대조군은 72.7±1.7 U/L를 나타내어 정상군과 대조군은 비슷한 수준을 나타내었고, RDM 50군은 67.6±4.2 U/L, RMD 100군은 73.6± 4.2 U/L, RDM 200군은 60.6±4.7 U/L를 나타내어 대조군에 비하여 각 실험군은 유의한 차이가 없었다(Fig. 4).

3) ALT

CMS 유발 흰쥐의 ALT 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 27.8±5.7 U/L, 대조군은 24.3±1.0 U/L를 나타내어 정상군과 대조군은 비슷한 수준을 나타내었고, RDM 50군은 31.6±2.6 U/L, RDM 100군은 21.4±2.1 U/L, RDM 200군은 21.8±3.3 U/L를 나타내어 대조군에 비하여 각 실험군은 유의한 차이가 없었다(Fig. 5).

3. Leukocyte 변화에 미치는 영향

CMS 유발 흰쥐의 Leukocyte 변화에 미치는 영향을 관찰

한 결과, White blood cell, Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte의 경우 각 실험군은 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았으며, Eosinophil의 경우 대조군에 비하여 RDM 100군은 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 6).

4. Erythrocyte 및 thrombocyte 변화에 미치는 영향

CMS 유발 흰쥐의 Erythrocyte 및 Thrombocyte 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, Red blood cell과 Hemoglobin의 경우 대조군에 비하여 RDM 50군과 RDM 200군이 유의한 증가를 나타내었고, Hematocrit와 Platelet의 경우 대조군에 비하여 RDM 50군, RDM 100군과 RDM 200군 모두 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 7)

5. PCR 기법; BDNF, CREB, TrkB에 미치는 영향

1) BDNF 활성화에 미치는 영향

CMS 유발 흰쥐의 BDNF 활성화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 13.2±3.3 OD value, 대조군은 3.6±2.1 OD value를 나타내어 정상군에 비하여 대조군이 유의한 감소를 나타내었고, RDM 50군은 8.7±4.0 OD value, RDM 100군은 11.1±2.3 OD value, RDM 200군은 12.5±0.7 OD value를 나타내어 대조군에 비하여 RDM 100군과 RDM 200군이 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 8).

2) CREB 활성화에 미치는 영향

CMS 유발 흰쥐의 CREB 활성화에 미치는 영향을 관찰한

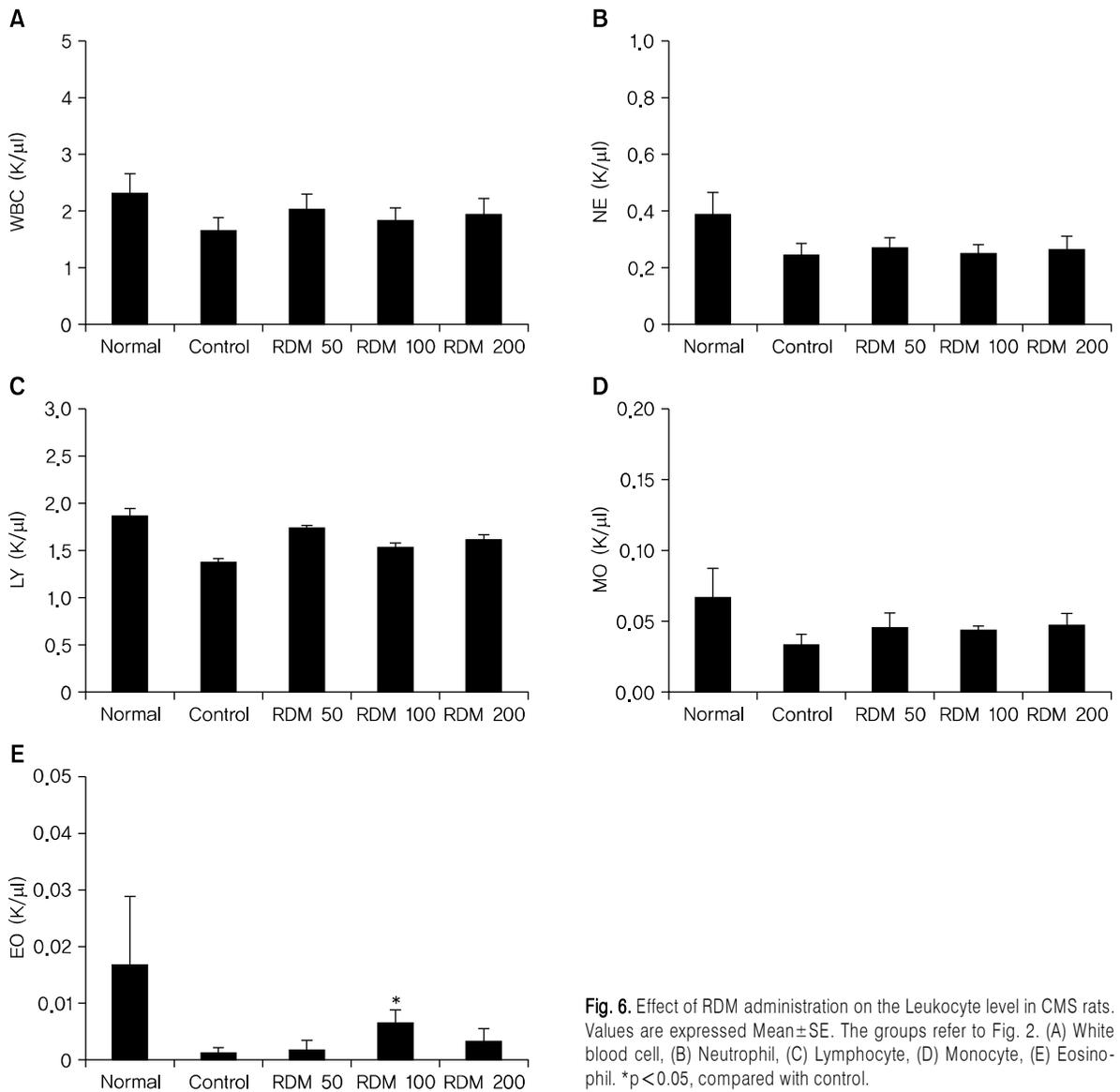


Fig. 6. Effect of RDM administration on the Leukocyte level in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 2. (A) White blood cell, (B) Neutrophil, (C) Lymphocyte, (D) Monocyte, (E) Eosinophil. *p<0.05, compared with control.

결과, 정상군은 122.4±7.5 OD value, 대조군은 104.0±3.7 OD value를 나타내어 정상군에 비하여 대조군이 감소 경향을 나타내었고, RDM 50군은 117.4±4.5 OD value, RDM 100군은 121.1±3.6 OD value, RDM 200군은 116.5±6.8 OD value를 나타내어 대조군에 비하여 RDM 100군이 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 9).

3) TrkB 활성화에 미치는 영향

CMS 유발 흰쥐의 TrkB 활성화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 110.9±1.9 OD value, 대조군은 102.8±5.0

OD value를 나타내어 정상군에 비하여 대조군이 감소의 경향을 나타내었고, RDM 50군은 111.9±1.5 OD value, RDM 100군은 117.0±1.7 OD value, RDM 200군은 112.4±3.7 OD value를 나타내어 대조군에 비하여 RDM 100군이 유의한 증가를 나타내었다(Fig. 10).

6. Noradrenalin 함량에 미치는 영향

CMS 유발 흰쥐의 Noradrenalin 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 23.2±4.5 10⁻¹*pg/ml, 대조군은 67.6±18.1 10⁻¹*pg/ml을 나타내어 정상군에 비하여 대조

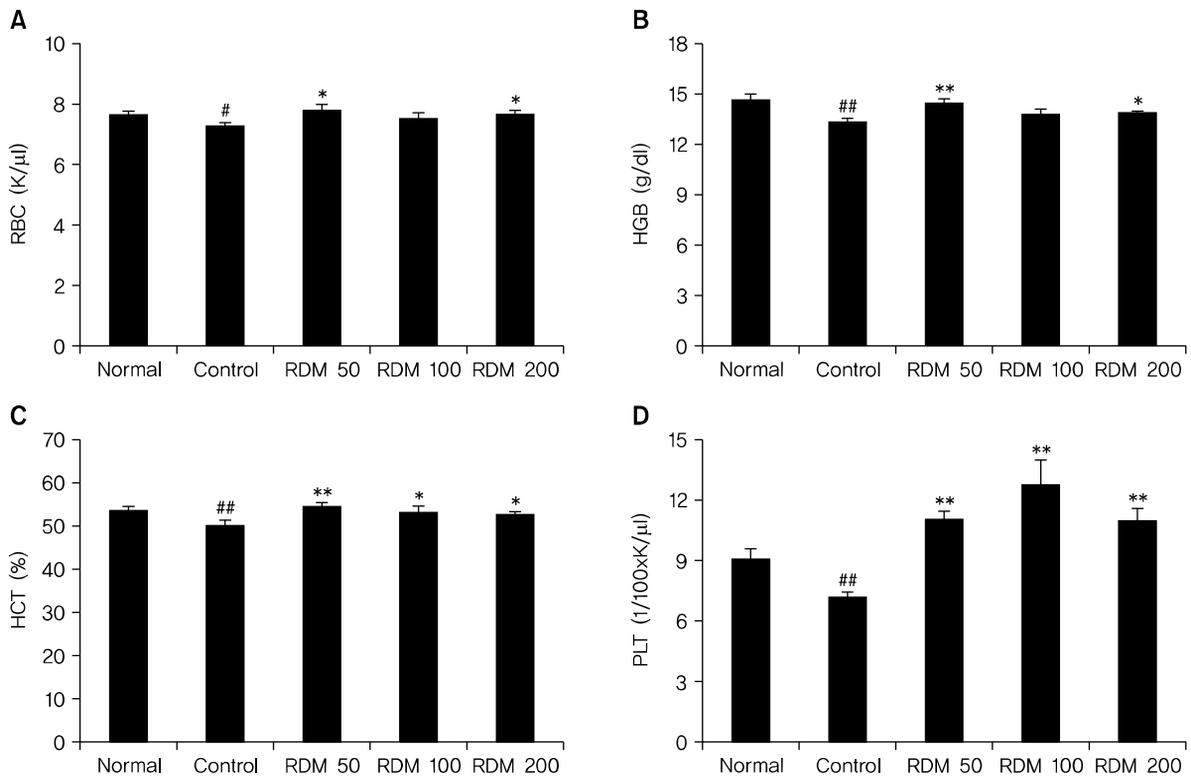


Fig. 7. Effect of RDM administration on the Erythrocyte and Thrombocyte level in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 2. (A) Red blood cell, (B) Hemoglobin, (C) Hematocrit, (D) Platelet. ^{##}p<0.01, [#]p<0.05, compared with normal; ^{**}p<0.01, ^{*}p<0.05, compared with control.

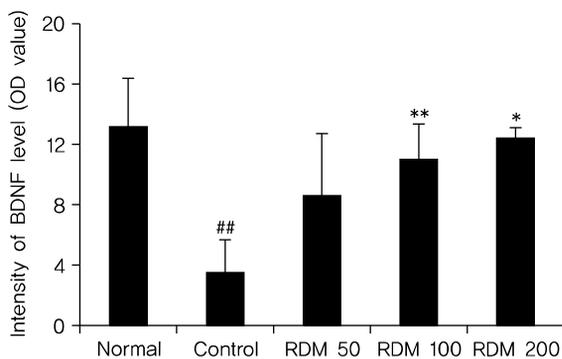


Fig. 8. Effect of RDM administration on the BDNF activity in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 2. ^{##}p<0.01, compared with normal; ^{**}p<0.01, ^{*}p<0.05, compared with control.

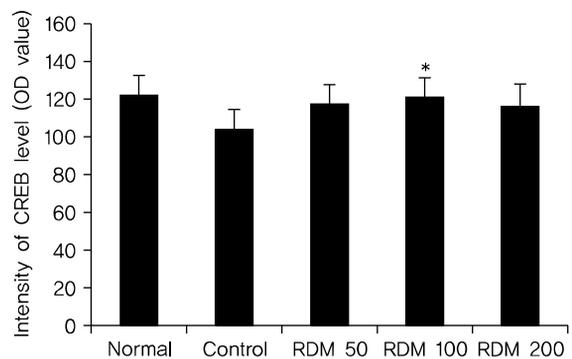


Fig. 9. Effect of RDM administration on the CREB activity in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 2. ^{*}p<0.05, compared with control.

군이 유의한 증가를 나타내었고, RDM 50군은 $24.9 \pm 2.7 \times 10^{-1} \text{ pg/ml}$, RDM 100군은 $22.3 \pm 5.1 \times 10^{-1} \text{ pg/ml}$, RDM 200군은 $19.4 \pm 5.3 \times 10^{-1} \text{ pg/ml}$ 을 나타내어 대조군에 비하여 RDM 100군과 200군이 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 11).

7. GABA 함량에 미치는 영향

CMS 유발 흰쥐의 GABA 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 $37.1 \pm 4.9 \text{ pg/ml}$, 대조군은 $69.7 \pm 7.3 \text{ pg/ml}$ 를 나타내어 정상군에 비하여 대조군은 유의한 증가를 보였

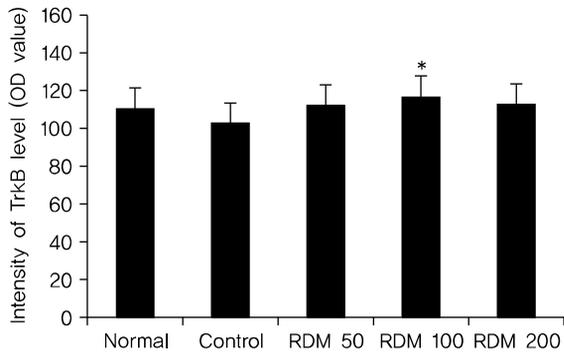


Fig. 10. Effect of RDM administration on the TrkB activity in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 2. *p<0.05, compared with control.

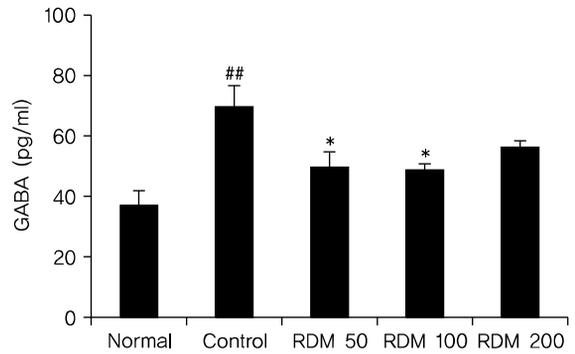


Fig. 12. Effect of RDM administration on the GABA level in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 2. *p<0.05, compared with control.

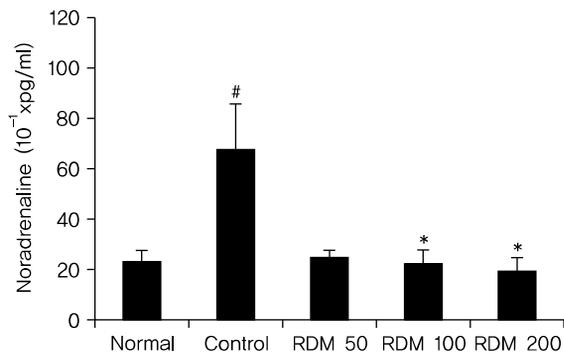


Fig. 11. Effect of RDM administration on the Noradrenalin level in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 11. #p<0.05, compared with normal; *p<0.05, compared with control.

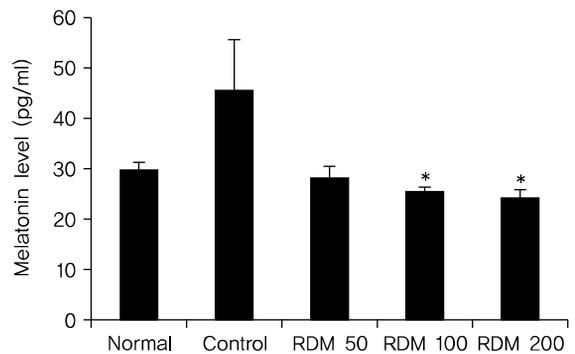


Fig. 13. Effect of RDM administration on the Melatonin level in CMS rats. Values are expressed Mean±SE. The groups refer to Fig. 2. *p<0.05, compared with control.

고, RDM 50군은 50.0±4.8 pg/ml, RDM 100군은 49.4±1.8 pg/ml, RDM 200군은 56.6±1.7 pg/ml를 나타내어 대조군에 비하여 RDM 50군과 100군이 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 12).

8. Melatonin 함량에 미치는 영향

CMS 유발 흰쥐의 Melatonin 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 29.8±1.3 pg/ml, 대조군은 45.5±10.2 pg/ml를 나타내어 정상군에 비하여 대조군은 증가의 경향을 보였고, RDM 50군은 8.5±1.0 pg/ml, RDM 100군은 10.0±0.1 pg/ml, RDM 200군은 10.1±0.5 pg/ml를 나타내어 대조군에 비하여 RDM 100군과 200군이 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 13).

IV. 고찰

일상생활 속에서 우리는 물리적, 화학적, 그리고 정신적 스트레스에 노출되어 있으며 이런 스트레스는 동맥경화와 같은 만성질환이나 신경증, 불안, 우울증 그리고 자살 등의 여러 가지 정신과적 질병을 유발한다²¹⁾. 또, 현대인의 신체 질환의 80%는 스트레스성 신체질환이라는 보고가 있으며, 과도한 스트레스로 인한 탈진, 인지적 문제, 우울증, 불면, 불안 등의 정신적 증상과 여러 신체적 질병이 연관되어 발생한 것이다²²⁾. 만성적인 스트레스는 교감신경의 과도한 긴장으로 인해 말초혈관의 순환장애로 이어지고, 시상하부의 일정한 기능유지가 어려워져 많은 병적인 증상이 나오는데, 비만, 우울증, 수면장애, 암 등의 스트레스 관련 질병으로 발전하게 된다²³⁾.

이런 스트레스는 외부나 자아에 대한 위협 반응, 환경적

요구에 대한 유기체의 반응 능력간의 불균형, 그리고 자원의 위협이나 손실 등을 일으킬 수 있는 위협인자로 설명될 수 있는데, 외부나 자아에 대한 위협이 유기체의 반응 능력의 수준을 넘어서거나 혹은 각 개인들에게 일정하게 유지되고 있는 자원에 위협을 가하게 될 때 질병을 야기시키게 된다. 또 최근에는 심리적이면서 상황적 맥락에 의해 영향을 받기도 하기 때문에 사회적인 속성을 띠는 인간의 갈등상태를 표현해 주는 개념으로 스트레스가 인식되기도 한다²⁴.

모든 생물은 자율신경계와 내분비계를 중심으로 신체의 항상성을 유지하고 조절하려 하는데 이러한 상황에 부적합한 자극을 스트레스 인자라 하며, 이 인자들을 어떤 요구에 대한 생체의 不特定 반응이라고 Selye는 정의하였다²⁵. 즉 Selye는 불특정(不特定)이라는 것을 상이한 스트레스를 야기하는 자극들에 의해서 일어날 수 있는 동일한 형태의 반응들을 의미하는 용어로 사용하였다²⁶.

스트레스 상태가 누적되거나 스트레스에 대한 반응이 강하거나 너무 빈번해지면 개인은 이런 스트레스에 대한 적절한 출구를 찾아내기 힘들어지며, 신체적 증후, 심리적 증후 및 행동적 증후와 같은 역기능적 스트레스 반응이 나타나게 된다. 이 가운데 나타나는 심리적 증후는 신경이 예민해져 걱정, 불안과 초조 및 긴장 등이 발생하는 것으로 신경쇠약과 우울, 의욕상실 등의 징후와 정서 상태의 불안정과 비탄 및 증오감을 갖게 되는 것 등²⁷을 말한다. 만성적으로 스트레스에 장기간 노출된 경우 과민성 반응 대신 정신적 신체적 에너지 상실로 인한 의욕저하와 같은 탈진상태가 나타난다는 연구 보고도 있다²⁸.

또한 스트레스는 여러 신체 기관에 영향을 미치지만 특히 자율신경계, 내분비계, 면역계 등의 여러 계통에 기능 장애를 일으킨다. 생체가 스트레스를 인지할 경우 교감신경계와 시상하부-뇌하수체-부신축을 활성화하여 여러 반응을 유발하게 된다¹. 즉 스트레스로 인해 뇌의 시상과 시상하부가 영향을 받아 내분비계와 자율신경계가 활성화되어 부신피질을 자극하면 corticosteroid 중 하나인 corticosterone의 분비를 촉진하거나 뇌의 noradrenaline의 분비를 감소시켜 정서적 둔감성과 의욕저하를 유발할 수 있다. 이렇듯 스트레스 상황 하에서 유발된 우울증 환자의 경우 정상인에 비해 혈청내에서 BDNF가 매우 낮은 농도로 관찰되고 있으며, CREB 및 TrkB의 농도감소를 유발할 수도 있다²⁹.

한의학에서는 스트레스에 대하여 《영추·구문편》⁶에

서 “부백병지시생야, 개생어풍우한랭, 음양희노, 음식기거, 대경졸공칙 기혈분리(夫百病之始生也, 皆生於風雨寒冷, 陰陽喜怒, 飲食起居, 大驚卒恐則 氣血分離)”라 하여 기후나 정동, 음식과 기거 등을 스트레스 인자로 제시하였고, 송대의 진은 《삼인방》⁷에서 육음사기의 침습을 외인으로, 정지(情志)에 상한 것을 내인으로, 그리고 음식노권, 질부금도 및 충수에 상한 것 등을 불내외인으로 크게 세 가지로 분류하고 질병발생의 인자로 제시하였다. 칠정과 외부 환경에 관련된 모든 것을 스트레스와 동일한 것으로 인지하고 있었음을 알 수 있다.

만성 스트레스와 관련된 부분을 《내경》을 비롯한 역대 문헌에서 찾아보면 칠정상과 과로나 식습관 등이 관련되어 있음을 알 수 있다. 칠정상은 오장의 허실과 정손(精損), 혈허와 기허, 그리고 기의 순행장애, 담연(痰涎)의 조성 등의 병적인 요인을 만들며, 육체적인 과로나 부적절한 식습관 등도 결과적으로 정신작용에까지 영향을 미친다고 보았음을 의미한다. 또한 감정의 변화에 따른 생체의 반응을 氣의 변화로 볼 수 있는데, 《소문·기통론》⁶에 ‘노하면 기상(氣上)하고, 희하면 기완(氣緩)하며, 비하면 기소(氣消)하고, 공하면 기하(氣下)하고, 경하면 기란(氣亂)하며, 사하면 기결(氣結)한다’고 하여, 칠정의 편승이 기기승강에 영향을 미쳐서 곧 질병을 일으킬 수 있음을 말하였다. 이것을 역대 문헌에서는 칠기(또는 구기), 기울, 중기, 기통, 기역 등으로 서술하였고^{10,11,30}, 한의학에서는 이들에 의한 신체반응을 氣의 변화로 인한 것이라고 인식하고 있다.

이는 한의학에서 스트레스를 감정이나 외기의 변화가 자극인자로 작용하는 것으로 인식하였음을 알 수 있고, 이러한 자극인자들로 인해 신체의 정기와 사기의 상호관계에 영향이 나타나게 되고 그 결과 병적 요인이 발생할 때 여러 증후나 질환이 발생한다고 보았다³¹.

이처럼 외부로부터의 반복적인 자극으로 인해 생긴 생명조절계의 이상이나, 氣의 변화로 인한 항상성의 변동은 결과적으로 스트레스로 인한 질병이 발생한 것을 의미하므로 결국 서양의학과 한의학 모두 스트레스에 대해 유사한 생각을 갖고 있다고 볼 수 있다.

스트레스를 氣의 변화로 인식하고 이의 조절을 통한 방법으로 항스트레스 효과를 찾고자 하는 한의학적인 관점에서의 연구가 활발히 진행되고 있다. 신체적 스트레스에 대해 복합 방제인 보혈안신탕^{32,33}, 자음견비탕³⁴을 투여하여 노

나 혈중의 catecholamine 함량을 측정할 것이나 분심기음³⁵⁾, 십전대보탕³⁶⁾을 투여하여 혈청내의 cortisol 함량을 지표로 측정한 것들에서 항스트레스 효과가 있다는 보고가 있고, 단일 약재인 산조인³⁷⁾을 투여하여 혈청 중 corticosterone 함량의 감소는 있으나 뇌 조직 내 noradrenaline 등의 함량 변화는 유의성이 없다는 보고가 있다. 만성적 스트레스에 대한 연구 보고는 하엽추출물¹⁵⁾과 귀비탕¹²⁾을 이용한 항우울 효과와 가감산조인탕의 항스트레스 효과¹⁴⁾, 백복령 약침을 이용한 스트레스 감소 효과³⁸⁾ 정도로 매우 미비한 상태이다.

천연식물 중 하나로 한국에서 자생하는 황칠나무(*Dendropanax Morbifera* Lev.)는 난대 상록교목으로 겨울에도 낙엽이지지 않는다. 과거 제주도, 완도, 해남, 거문도, 거제도 등 남해안 및 도서지역을 포함하는 난온대의 넓은 지역에 분포하였으나 남획과 관리소홀로 인해 현재는 도서지역 일부에서 1종만 생육하고 있다¹⁸⁾. 우리나라에서는 식품의약품안전처 식품공전에서 잎과 뿌리, 줄기 부위를 제한적으로 식용 가능한 것으로 등록되어 있으며³⁹⁾, caechin, chlorogenic acid, ferulic acid 등의 폴리페놀성 생리활성 물질을 함유하고 있으며, 잎 추출물과 나무 추출물로 구분하여 효능을 보고하고 있다⁴⁰⁾. 잎 추출물은 항산화^{16,17)}, 항암 활성 효과⁴¹⁾와 lipopolysaccharide (LPS)에 의해 유발되는 nitric oxide synthase와 cyclooxygenase-2의 발현을 억제하여 항염증 활성도, 고콜레스테롤 식이의 지질개선효과⁴²⁾, 고혈당증에 의한 신경세포 보호효과⁴³⁾, 피부에서의 Melatonin 생성저해 효과⁴⁴⁾를 보인다는 보고가 있으며, 나무 추출물은 항산화^{16,17)} 및 항노화 효과¹⁶⁾, 지방암 세포주의 세포증식 억제효과⁴³⁾, hippocampus의 streptozotocin-induced type 1형 당뇨병 쥐에서 혈당강화 효과⁴⁴⁾에 대한 보고가 있다. 그러나 만성 스트레스로 인한 제 증상에 대한 항스트레스 효과와 수면에 미치는 영향에 대한 연구는 찾아볼 수 없었다.

서양의학과 한의학 모두 외적인 자극과 정신적인 여러 변화들이 만성적으로 지속될 때 육체의 질병을 야기시킬 수 있다고 보고, 만성적 스트레스를 기을을 겸한 음허화왕(陰虛火旺)의 상태로 변증하고 선행 연구에 나타난 황칠의 항암, 항산화, 간세포 재생, 당뇨치료 효과와 방향 성분의 진정작용과 강장작용⁴⁵⁾를 자음해울안신(滋陰解鬱安神)으로 판단하여 항스트레스와 수면에 미치는 영향에 대해 살펴보았다.

체중변화는 정상군에 비해 대조군과 실험군은 모두 감소

하였는데 이는 스트레스로 인한 식욕저하의 결과로 판단된다. 권 등¹⁴⁾의 만성적 스트레스로 인한 체중 저하를 가감산조인탕이 백서에 미친 효과와는 달리 황칠은 만성적 스트레스로 인한 사료 섭취량의 저하에 대해 섭취량을 증가시키는 효과를 보이지 않았음을 의미한다(Fig. 2). 이는 만성적 스트레스는 체중감소를 유발할 수 있으며, 황칠은 체중증가의 효과를 보이지 않음을 의미한다고 볼 수 있다.

혈액학적 검사를 통한 혈당과 Transaminase의 함량 변화에서 Glucose 함량은 정상군에 비해 대조군이 유의하게 증가하였고, RDM 50군, 100군 및 200군 모두 대조군에 비하여 모두 유의한 감소를 나타내었다(Fig. 3). 스트레스 자극 상황에서는 Corticosterone의 영향으로 인해 혈당이 증가되는데 황칠이 혈당 강하에 유의한 효과가 있는 것으로 생각되며 만성적인 스트레스로 인한 성인병의 발병을 예방하는 효과가 있을 것으로 기대 된다.

혈중 AST와 ALT는 주로 간에 존재하는 효소로 간염, 간 기능 장애 등에 유의한 지표로 활용되는데, 만성적이고 지속적인 스트레스를 받는 경우에는 lipid peroxidation으로 인한 간세포 손상이 발생하여 간과 관련된 질병을 일으킨다. AST의 함량은 정상군과 대조군이 비슷한 수준을 보였고, RDM 200군에서 대조군에 비해 감소를 보였으나 통계적 유의성은 없었다. ALT의 함량은 정상군과 대조군이 비슷한 차이를 보였으며 RDM 50군에서는 상승, 100군과 200군에서는 감소를 보였으나 통계적 유의성은 없었다. 이번 실험의 만성적 스트레스는 AST와 ALT에 큰 영향을 미치지 않는다고 볼 수 있다(Fig. 4, 5).

혈중 Leukocyte는 white cell, neutrophil, Eosinophil, lymphocyte, monocyte를 살펴보았는데 정상군과 대조군에 비해 각 실험군에서 유의한 차이를 보이지 않았고, Eosinophil의 경우 대조군에 비해 RDM 100군에서 유의한 증가를 보였다(Fig. 6). Eosinophil은 기생충 감염이나 Allergy 발생 시 증가하는데 RDM 100군에만 한정적으로 나타나는 것은 그 원인 탐구에 대해 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다. 또한 혈중 Erythrocyte 및 thrombocyte 변화를 살펴본 결과 Red blood cell과 Hemoglobin은 RDM 50군과 200군 모두 유의한 경기를 보였으며, Hematocrit과 Platelet는 RDM 50군, 100군 및 200군 모두에서 유의한 증가를 보였다(Fig. 7). 이는 이전의 연구보고에 나타난 항염증이나 항산화 효과를 반영한다고 볼 수 있다.

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)는 일반적으로 잘 알려진 신경성장인자들 중 하나이며, 생존에 필수적 역할을 담당하는 성장인자이며, 중요한 신경가소성 인자로 보고되고 있다⁴⁶⁻⁴⁹. 즉 BDNF는 뇌의 여러 영역에서 신경세포의 발달과 성장, 그리고 신경가소성에 관여하는 중요한 물질이면서 신경손상에 대한 저항을 높여 신경세포의 생존을 향상시키는 작용을 하는 신경영양인자이다. 실험에서 BDNF는 정상군에 비해 대조군이 유의하게 감소를 나타냈었고, RDM 100군과 RDM 200군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다(Fig. 8).

cAMP response element-binding protein (CREB)은 우울증과 관련된 전사인자 중 하나로 BDNF 유전자 발현에 주요한 역할을 하며 상위신호전달분자인 Extracellular signal regulated kinase에 의해 조절된다. 실험에서 CREB는 정상군에 비해 대조군이 감소의 경향을 나타냈었고, 실험군이 대조군에 비해 증가의 경향을 보였고, RDM 100군에서는 유의한 증가를 보였다(Fig. 9).

Tropomyosin receptor kinase B (TrkB)는 BDNF의 수용체로 알려져 있다⁵⁰⁻⁵³. 시냅스 전후에서 TrkB 수용체와의 작용을 통해 BDNF에 의한 신경세포생성이 조절된다. 따라서 BDNF나 TrkB의 감소는 각각 신경세포생성, 분화 그리고 생존의 감소를 초래한다. 실험에서 TrkB는 정상군에 비해 대조군이 감소의 경향을 나타냈었고, 실험군이 대조군에 비해 증가의 경향을 보였고, RDM 100군에서는 유의한 증가를 보였다(Fig. 10).

이상의 BDNF, CREB, TrkB의 결과에서 황칠은 만성 스트레스 자극으로 인해 발생하는 신경손상에 대한 저항을 높이고 신경세포의 생존을 높이는 항스트레스 효과를 나타내며, RDM 100군에서 가장 높게 나타나고, RDM 50군은 효과가 미약하다고 생각되어 복용량이 중요한 요점이라고 생각할 수 있다.

Noradrenalin은 부신(副腎)으로부터 혈액으로 방출되는 호르몬으로, 교감 신경 말단 등으로부터도 분비되기도 하는데 시냅스 전달 사이에 방출되는 신경 전달 물질이며, 노르에피네프린(norepinephrine)이라고도 한다. 스트레스와 관련된 호르몬 중 하나이며, 주의와 충동성과 관련있는 인간의 뇌 부분에 영향을 미친다. 실험에서 Noradrenalin의 함량은 정상군에 비해 대조군에서 유의한 증가를 나타내었고, RDM 100군과 200군에서 대조군에 비해 유의한 감소를 나

타내었다(Fig. 11). 이는 황칠이 CMS로 높아진 nora-drenalin을 유의하게 감소시키는 것을 의미하는 것으로 항스트레스 효과를 보인다고 할 수 있다(Fig. 11).

Gamma-aminobutyric acid (GABA)는 포유류의 중추신경계에서 신경흥분을 조정하는 역할을 맡고 있는 억제성 신경전달물질로, 항스트레스와 수면과 관련있다고 생각된다.

실험에서 GABA 함량은 정상군보다 대조군이 유의한 증가를 보였고, RDM 50군과 100군에서 대조군보다 유의한 감소를 보였다(Fig. 12). 이는 황칠이 항스트레스 효과를 보인다고 할 수 있다(Fig. 12).

Melatonin은 뇌의 송과체(Pineal gland)에서 생성되고, 분비되는 호르몬으로 생식활동의 일주성, 연주성 등 생체리듬에 관여하여 일주기 리듬을 측정하는 대표적인 표지로 알려져 있다. 밤낮의 길이나 계절에 따른 일조시간의 변화와 같은 광주기를 감지하며, 특히 수면과 관련되어 있다. 주로 수면 중에 대사되면서 수면전후 농도의 변화가 나타나 그 양을 추정하여 수면 여부와 수면의 질을 평가할 수 있다. 실험에서 Melatonin은 정상군에 비해 대조군이 증가의 경향을 보였고, RDM 100군과 200군이 대조군보다 유의한 감소를 보였다. 이 결과는 황칠이 수면효과를 보이지 않는 것으로 생각된다(Fig. 13).

그러나 Melatonin은 다양한 기능을 가지고 있는데, 성호르몬의 생성을 유도하고, 면역세포의 수를 현저히 증가시켜 방어기능을 하며 생체의 항산화제로 작용하여 자유라디칼(Free radical)로부터 세포를 보호하기도 하는 작용이 있다. 또한 GABA의 증가가 Melatonin, Serotonin과 같은 수면호르몬에 영향을 준 것을 확인한 보고⁵⁴처럼 Melatonin과 GABA가 수면효과에서 비슷한 양상을 보인다는 점을 볼 때 황칠의 수면효과에 대한 결론은 유보되어야 할 것으로 보인다. 특히 CMS 유발 과정에서 낮동안에 주 3회 10시간의 수면시간을 포함하고 있다는 점과 뇌를 오전에 적출한 점을 감안해 볼 때 황칠의 수면효과에 대한 결론은 성급하다고 생각된다. 향후 수면효과를 검증할 수 있는 동물실험모델의 개발과 수면인자에 대한 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결론

CMS 유발 후 황칠(*Resina Dendropanacis moribifrus*,

RDM)의 용량별 투여가 스트레스 및 수면 호르몬에 미치는 영향을 Noradrenalin, Melatonin, GABA, BDNF, CREB, TrkB 및 혈액학적 변화로 관찰하고, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Noradrenalin 함량에서 대조군에 비하여 RDM 100군과 200군이 유의한 감소를 나타내었다.

2. GABA 함량에서 대조군에 비하여 RDM 50군과 RDM 100군이 유의한 감소를 나타내었다.

3. Melatonin 함량에서 대조군에 비하여 RDM 100군과 RDM 200군이 유의한 감소를 나타내었다.

4. BDNF 활성에서 대조군에 비하여 RDM 100군과 200군이 유의한 증가를 나타내었다

5. CREB 및 TrkB 활성에 대조군에 비하여 RDM 100군이 유의한 증가를 나타내었다.

6. 혈액학적 검사 결과 AST와 ALT는 대조군과 실험군의 차이가 없었으며, Erythrocyte 및 Thrombocyte 변화에서 Red blood cell과 Hemoglobin의 경우 대조군에 비하여 RDM 50군과 200군이 유의한 증가를 나타내었고, Hematocrit와 Platelet의 경우 대조군에 비해 모든 실험군에서 유의한 증가를 나타내었다.

7. 체중 변화는 CMS에 의해 대조군과 실험군에서 정상군보다 체중 감소를 보였으며, RDM 투여 후 체중 증가는 나타나지 않았다.

8. 혈당의 변화는 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 감소를 나타내었다.

이상에서 볼 때 황칠은 만성적 스트레스로 인해 유발된 증상을 개선시키는 효과가 있으나, 수면 호르몬에 미치는 효과는 미비한 것으로 판단되며, 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다.

REFERENCES

1. The textbook Compilation Committee of Neuropsychiatry of oriental medical schools in nation. The Neuropsychiatry of Oriental Medicine 3rd edition. Seoul:Jipmoondang. 2016:91-2.
2. Burchfield S. The stress response, a new perspective. Psychosom Med, 1979; Dec 41:661-72.
3. Czeh B., Michaelis T., Watanabe T., Frahm J., de Biurrun G., van Kampen M., Bartolomucci A., Fuchs E., Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98(22):12796-801.
4. Gould E., McEwen BS, Tanapat P, Galea LA, Fuchs E., Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. J Neurosci. 1997;17(7):2492-8.
5. Ahn SW. Understanding the conception of stress regard in the oriental medicine. Korean Journal Oriental Medicine. 1997;3(1):119-51.
6. Hong WS. Jeonggyo(精校) Hwangjenaehyeongyoungchu(黃帝內經靈樞). Seoul. Oriental Medicine Institution Press. 1985:158-9, 286.
7. Jineon(陳言). Jinmutaeksaminbang(陳無擇三因方) Second volume. Taipei. Daeryeongukpung(臺聯國風) Publisher. 1978:6
8. Moon JJ, Ahn KS, Choi SH. Oriental Pathology. Seoul. Komunsa. 1990:23-4,78-9
9. Kim JW, Hwang WW. Stress in Oriental Medicine. Korean Journal of Stress Research. 1993;1(1):120-1.
10. Hwang WW. Psychosomatic disease. Seoul. Hanglim Publisher. 1985:18-24, 36-44.
11. Hwang WW, Kim JH. Oriental Psychiatry. Seoul. Hyundai Medical Publisher. 1987:99-109.
12. Lee JA, Kim JW, Hwang WW, Kwak SY, Kim MJ, Park EH. The effects of Quibitang on an Animal Model of Depression induced by Chronic Mild Stress, Journal of Oriental neuropsychiatry. 2001;12(1):123-35.
13. Jeong JH, Choi CM, S대 YJ, Cho HB, Kim SB. The Anti-depressive Effect of Samul-tanggahyangbuja on Chronic Mild Stress in Overiectomized Rats, Journal of Korean Obstet Gynecol. 2013;26(4):30-7.
14. Kwon HJ, Kim KS, Kang SK, Park PS, Lim JM, Cho YS, Choi YH, Park SY. Antistress effect of Gagamsanzointang on rat chronic stress model, The Korea Journal of Herbology. 2012;27(6):29-35.
15. Kang MG, Kim YH, Im AR, Nam BS, Chae SW, Lee MY. Antidepressant-like effects of *Nelumbo bucifera* leaves extract in chronic mild stress model, The Korea Journal of Herbology. 2014;29(2):7-13.
16. Shin DC, Kim GC, Song SY, Kim HJ, Yang JC, Kim BA. Antioxidant and Antiaging Activities fo Complex Supercritical Fluid Extracts from *Dendropanax morbifera*, *Corni fructus* and *Lycii Fructus*, The Korea Journal of Herbology. 2013(6):95-100.
17. Park SA, Park J. Park CI, Jie YJ, Hwang YC, Kim YH, JeonSH, Lee HM, HA JH, Kim KJ, Park SM. Cellular Antioxidant Activity and Whitening Effects of *Dendropanax morbifera* Leaf Extracts, Korean Journal of Microbiology and Biotechnology. 2013;41(4):407-15.
18. Tan XT, Ryu HK. Effect of *Dendropanax morbifera* Leaf Extracts on Lipid Profiles in Mice Fed a High-Fat and High-Cholesterol Diet, Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 2015;44(5):641-8.

19. Kim JM, Park SK, Guo TJ, Kang JY, Ha JS, Lee DS, Kwon OJ, Lee U, Heo HJ. Neuronal Cell Protective Effects of *Dendropanax morbifera* Extract against High Glucose-Induced Oxidative Stress, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2016;45(7):938-47.
20. Willner P, Moreau JL, Nielsen CK, Papp M., Sluzewska A. Decreased hedonic responsiveness following chronic mild stress is not secondary to loss of body weight, *Physiology & Behavior*. 1996;60(1):129-34.
21. Chavez-Korell, S., and L. Torres. Perceived stress and depressive symptoms among latino adults the moderating role of ethnic identity cluster patterns. *The Counseling Psychologist*. 2014;42(2):239-54.
22. Glise, K., E. Hadzibajramovic, I. H. Jonsdottir and J. G. Ahlberg. Self-reported exhaustion : A possible indicator of reduced work ability and increased risk of sickness absence among human service workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 2010;83(5): 511-20.
23. Stone EA. Stress and catecholamines, In A. J. Friedhoff (ed.), *Catecholamines and Behavior*. Plenum Press, New York. 1975;2:31-72.
24. Park YE, Lee DH. A Study on Socio-Psychological Stresses affected with Health Status. 1999;16(1):61-82.
25. Selye H. Forty years of stress research. Principal remaining problems and misconceptions. *Can Med Assoc J*. 1976;53-6, 115.
26. Hong DS. *Psychology*. Seoul. Bakyounsa. 1992:603-4, 606, 608.
27. Lee GH. *Modern Clinical Psychiatry*. Seoul. Hanamc. 1985:498-9, 500.
28. Apples A., Höppener P. A questionnaire to assess premonitory symptoms of myocardial infarction. *International Journal of Cardiology*. 1987;17:15-24.
29. Gu PS, Lee JH, Choi YH, Jung JW. Antidepressant effect of water extract *Taraxacum platycarpum* through BDNF, ERK and CREB pathway, *The Korea Journal of Herbology*. 2015;30(3):13-7.
30. Kim SH. *Oriental Neuropsychiatry*. Seoul. Hanglim Publisher. 1978:152-4, 258-64, 277-84
31. Sa YG. *Chinese Internal Medicine*. Sichuan. Sichuan scientific-technique Publisher. 1985:141-2
32. Kim YS. Experimental study on the Anti-stress effect of Bohyulanshin-tang on the noise stress. Graduate School of Kyunghee University. Doctoral Dissertation. 1986.
33. Lee DJ, Kin JH, Hwang WW. Experimental study on the Anti-stress effect of Bohyulanshin-tang, Kami Bohyulanshin-tang, *Journal of Oriental neuropsychiatry*. 1993;4(1): 77-97.
34. Kang HK. Effect of Jaeumgunbitang on the gastric ulcer and plasma catecholamines contents of rats in immobilization stress. Graduate School of Kyunghee University. Doctoral Dissertation. 1992.
35. Ji SY, Jeong DG. An Experimental study on the change of stress-related hormone contents by prescription of bunsimgieum. *Journal of Oriental Neuropsychiatry*. 1992; 3(2):49-63.
36. Hwang CY. Effects of Sibjeondaebotang Adding Cervi Pantotrichum Cornu on the Immune Responses in Mice. Graduate School of Wonkwang University. Doctoral Dissertation. 1989.
37. Lim DS, Kim EJ, Lee DW, Cho SI. The Antistress Effects of Semen Ziziphi Spinosac Extract, *Journal of Oriental neuropsychiatry*. 2003;14(1):107-16.
38. Kim SW, Kim JH, Cho MR, Shin JC. The Effect of Poria Cocos Pharmacopuncture at SP6(Sameumgyo) and ST36(Joksamni) on Chronic Stress Model(CSM) Rats, *The Acupuncture*. 2015;32(2):187-95.
39. Ministry of Food and Drug Safety. 2017. Food and Food Additives Material Information. http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=815 (accessed March 2017).
40. Hyun TK, Kim MO, Lee HK, Kim YJ, Kim EK, Kim JS. Evaluation of anti-oxidant and anti-cancer properties of *Dendropanax morbifera* Léveillé, *Food Chem*. 2013;141: 1947-55.
41. Im KJ, Jang SB, Yoo DY. Anti-cancer Effects of *Dendropanax morbifera* Extract in MCF-7 and MDA-MB-231 Cells, *Journal of Korean Obstet Gynecol*. 2015;28(2):26-39.
42. Park SA, Lee HM, Ha JH, Jeon SH, Park SM. Inhibitory Effects of *Dendropanax morbifera* Leaf Extracts on Melanogenesis through Down-Regulation of Tyrosinase and TRP-2, *Appl. Chem. Eng.*. 2014;25(5):468-73.
43. Moon HI. Antidiabetic Effects of dendropanoxide from leaves of *Dendropanax Leveille* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Hum Exp Toxicol*. 2011;38: 342-7.
44. Jung HY, Yoo DY, Nam SM, Kim JW, Choi JH, Hwang IK. Effects of *D. morbifera* stem extract in the hippocampus of streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. 2015 winter symposium of Korean Association For Laboratory Animal Science, 2015;2:68.
45. Im DY, Lee KI. Nitric Oxide Production Inhibitory Effect and Antibacterial Activity of the Extract and Fractions from *Paeoniae Radix*, *Kor. J. Pharmacogn*. 2012;43(2): 173-8.
46. Lewin, G. R., Mendell, L. M. Maintenance of modality-specific connections in spinal cord after neonatal nerve growth factor deprivation. *Eur. J. Neurosci*. 1996;8(8):1677-84.
47. Klintsova, A. Greenough, W. T. Synaptic plasticity in cortical systems. *Curr. Opin. Neurobiol*. 1999;9(2):203-8.
48. McAllister, A. K., Katz, I.C., Lo, D. C. Neurotrophins and synaptic plasticity. *annu. Rev. Neurosci*. 1999;22(1):295-318.
49. Bibel, M., Barde, Y. Neurotrophins: Key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes and Development*. 200;14(23):2919-37.
50. Silhol, M., Bonnichon, V., Rage, F., Tapia-Arancubia, L.. Age-related changes in brain-derived neurotrophic factor

- and tyrosine kinase receptor isoforms in the hippocampus and hypothalamus in male rats. *Neuroscience*. 2005;132(1):613-24.
51. Rex, C. S., Lauterborn J. C., Lin, C. Y., Kramar, E. A., Rogers, G. A. et al. Restoration of long-term potentiation in middle-aged hippocampus after induction of brain-derived neurotrophic factor. *J. Neurophysiol.* 2006;96(1): 677-85.
 52. Tapia-Arancibia, L., Aliaga, E., Silhol, M., Arancibia, S..New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. *Brain Res. Rev.* 2008;59(1): 201-20.
 53. Vanguilder, H. D., Farley, J. A., Yan, H., Van Krik, C. A., Mitschelen, M. et al. Hippocampal dysregulation of synaptic plasticity-associated proteins with age-related cognitive decline. *Neurobiol. Dis.* 2011;43(1):201-12.
 54. Kim SS, Oh SH, Jeong MH, Cho SC, Kook MC, Lee SH, Pyun YR, Lee HY. Sleep-Inductive Effect of GABA on the Fermentation of Mono Sodium Glutamate (MSG), *Korean J. Food Sci. Technol.* 2010;42(2):142-6.