ORIGINAL ARTICLE

pISSN 1226-6396, eISSN 2234-4942
J of Oriental Neuropsychiatry 2019;30(4):341-355
https://doi.org/10.7231/jon.2019.30.4.341

JON Journal of Oriental Neuropsychiatry

황칠(黃漆) 약침이 정신 스트레스를 받은 백서의 수면 관련 호르몬, 인지에 미치는 영향

조윤송, 이유미*, 나창수*, 임정화†, 김보경†

동의대학교 한의과대학원 한방신경정신과, 동신대학교 한의과대학 경혈학교실*, 부산대학교 한의학전문대학원 한방신경정신과†

Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture on Sleep-related Hormones, Cognition in Psychosocial Stress-induced Rats

Yun-Song Cho, Yu-Mi Lee*, Chang-Su Na*, Jung-Hwa Lim†, Bo-Kyung Kim†

Department of Oriental Neuropsychiatry, Graduate School of Korean Medicine, Dong-Eui University, *Department of Acupoint & Meridian, College of Korean Medicine, Dongshin University, †Department of Oriental Neuropsychiatry, School of Korean Medicine, Pusan National University

Received: November 22, 2019
Revised: December 18, 2019
Accepted: December 19, 2019

Correspondence to
Bo-Kyung Kim
Department of Oriental Neuropsychiatry, Pusan National University Korean Medical Hospital, 20 Geumoh-ro, Mulgeum-eup, Yangsan, Korea.
Tel: +82-55-360-5965
Fax: +82-55-360-5890
E-mail: npjolie@hanmail.net

Acknowledgement
This manuscript is a revision of the first author's doctor's dissertation for Dong-Eui University in 2019.
This study was supported by the Traditional Korean Medicine R&D program funded by the Ministry of Health & Welfare through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI) (HB16C0074).

Objectives: The purpose of this study was to check the therapeutic effect of the Dendropanax morbifera Pharmacopuncture for insomnia and cognition caused by psychosocial stress.
Methods: We separated Wistar rats (older than age 10 weeks, 300 g) into normal, control, positive control (Zolpidem administered, PC), and Dendropanax morbifera Pharmacopuncture experimental groups (DPA). Psychosocial stress such as circadian rhythm change, clammy straw, predator stress, restraint stress, noise bursts, and flashing lights were applied to the control, PC, DPA groups. The Dendropanax morbifera Pharmacopuncture group was given 0.5×, 1× and 2× amount concentration of Dendropanax morbifera Pharmacopuncture, respectively. The levels of Melatonin, Serotonin, Corticosterone, GABA, BDNF and CREB were measured, and the Y-maze test, weight and blood test were performed.
Results: In all of the DPA groups, the Melatonin level showed no noticeable difference. In the DPA-2x group, Serotonin increased significantly. In all the experimental groups, Corticosterone decreased significantly and GABA showed increasing tendency. The DPA-1x and DPA-2x groups showed remarkable increase in BDNF and DPA-0.5x and the DPA-2x groups showed significant increase in CREB. The DPA-2x group showed remarkable increase in the Alternation behavior category of the Y-maze test. In all of the experimental groups the weight change showed increasing tendency, whereas no noticeable differences were found among all experimental groups regarding AST, ALT, BUN, Creatinine and CBC.
Conclusions: Dendropanax morbifera Pharmacopuncture increases levels of serotonin and GABA, decreases corticosterone, increases levels of BDNF and CREB, and increases the ratio of alternation behavior in the Y-maze test. Thus, I suggest that Dendropanax morbifera Pharmacopuncture has the effect of treating insomnia caused by psychosocial stress, activating the brain, and improving cognition.

Key Words: *Dendropanax morbifera* pharmacopuncture, Psychosocial stress, Insomnia, BDNF, CREB, Y-maze test.

Copyright © 2019 by The Korean Society of Oriental Neuropsychiatry. All rights reserved.
This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

I. 서론

스트레스란 한 체계를 과부하 된 상태로 점점 악화시킴에 따라 전체 체계를 붕괴시키는 내외의 위협을 말한다[1]. 스트레스가 과도하거나 지속되는 경우, 각종 정신질환으로 발전할 수 있고[2], 연관된 정신질환은 수면장애, 적응장애, 기분장애, 불안장애, 성기능장애, 식이장애, 신체형장애, 알코올 및 물질 사용 장애 등이 있다[3]. 그 중, 스트레스로 인한 수면장애에 대하여 조[4]는 스트레스와 수면에 대한 비합리적인 신념이 사고억제, 인지적 각성을 거쳐 불면증으로 가는 경로가 유의미하며, 스트레스와 불면증의 인지모델을 통합한 완전매개모형이 타당하다는 연구 결과를 발표했다. 또한 수면장애가 지속되면 정신적, 신체적 질환에 취약해지고, 쇠약한 모습, 음식섭취의 이상, 소화 장애, 체중감소, 체온저하, 피부 장애, 두통, 건망, 인지 저하 등을 야기할 수 있다[5].

황칠은 한국이 원산지이고, 우리나라 남부지방에 자생하는 상록활엽교목인 황칠나무의 수지이다[6]. 대한민국 식품의약품안전처 식품 및 식품첨가물 공전에 잎과 뿌리, 줄기 부위가 제한적으로 식용 가능한 것으로 등록되어 있으며[7], 잎 추출물은 항암 활성 효과[8]와 항산화[9], 항염증, 고혈압에 의한 신경세포 보호효과[10], 혈액 내 지질개선효과[11], 피부에서의 멜라닌 생성저해 효과[12]를 보인다는 보고가 있으며, 줄기와 뿌리의 추출물은 항산화 및 항노화 효과[13], 혈당강화 효과[14], 유방암 세포주의 세포증식 억제 효과[15]에 대한 보고가 있다. 송[16]은 황칠 열수추출물 구강 투여가 만성스트레스로 인한 수면과 스트레스 관련 호르몬에 유의한 효과가 있는 결과를 보고하였다.

본 연구에서는, 황칠의 구강 투여 연구 결과[8-16]와 황칠 약침이 안신(安神) 작용을 하여 불안, 불면의 신경정신과 질환에 사용한다는 임상 경험을 바탕으로 하여, 황칠 약침이 스트레스로 인한 수면장애에 미치는 영향과 기전을 확인하고자 하였다. 만성 스트레스 백서 모델에게 circadian rhythm change, clammy straw, predator stress, restraint stress, noise bursts, the flashing light 등을 시행하여 정신적 스트레스 모델을 설계하고, 수면관련호르몬(Melatonin, Serotonin, Corticosterone, GABA)과 뇌활성 인자(BDNF, CREB), 공간 인지기능의 행동 관찰(Y-maze test), 체중변화량 및 혈청・혈액학적 변화를 측정하여 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 동물

동신대학교 실험동물위원회 승인(2019-02-03)을 받은 Wistar Hannover계열의 수컷 백서(10주령 이상, 체중 300 g 이상)를 항온항습 관리되는 실험사육장(실내온도 24±1°C, 습도 60±5%) 환경에서 3일 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험기간 동안 물과 고형사료(샘타코, 한국)를 자유롭게 충분히 섭취하게 하였다.

2. 약침

동서비교한의학회 원외탕전실(남양주시, 한국)에서 제조한 황칠약침(*Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture) 원액을 0.5× (1/2 희석, 50 ㎕), 1× (원액 50 ㎕), 2× (원액 2배량, 100 ㎕)의 3가지 종류로 좌우 風池(GB20), 肩井(GB21)과 關元(CV4)혈에 투여하였다.

3. 실험군 분리

백서의 군 분리는 정상군(Nor), Psychosocial tress (PSS)를 유발 시킨 대조군(Con), PSS 유발 후 구강으로 수면제(Zolpidem) 투여한 양성대조군(PC), PSS 유발하고 0.5×, 1×, 2× 황칠약침을 자입한 실험군(DPA)으로 분류하였다. 각 군당 5마리의 백서를 배정하였다.

4. 정신적 스트레스 유발(Psychosocial Stress, PSS)

만성 스트레스의 전형적 모델을 변경하여 설계하였다. 정신적 스트레스 유발을 위해 정상군을 제외한 PSS 유발군은 3주 동안 주야주기역전 조명, 젖은 깔짚, 포식자 스트레스(고양이의 울음소리, 분변의 냄새), 구속 스트레스, 갑작스런 소음, 빛깜박이 등을 스트레스 유발표(Table 1)에 의하여 스

Table 1. Time Table for Rats under Psychosocial Stress

	Sun	Mon	Tue	Wed	Thu	Fri	Sat
01:00 ~09:00	CRC	CRC	NCR	NCR	NCR	NCR	NCR
10:00 ~17:00	Lights off at day	CS	RS	CS	NB	FL	Lights off at day
18:00				PS			
19:00 ~24:00	CRC	NCR	NCR	NCR	NCR	NCR	CRC

CRC: Circadian Rhythm Changes, NCR: Normal Circadian Rhythm, CS: clammy Straw, PS: Predator Stress (cat sound, stool smell), RS: Restraint Stress, NB: Noise bursts, FL: The Flashing light.

트레스에 노출시켰다.

5. 약물 투여

처음 1주간 스트레스 유발 후, 이어지는 2주 동안 스트레스를 스케줄에 따라 반복하였다. 2주 동안 주 3회, 총 6회를 0.5×와 1×는 50 ㎕, 2×는 100 ㎕의 황칠 약침을 호흡마취하여 안정된 상태의 백서에게 좌우 풍지혈(風池穴) (GB20)과 견정혈(肩井穴) (GB21), 관원(關元穴) (CV4)에 31 gauge의 insulin syringe (BD Hltra-Fine II short needle 0.3ml, USA)를 사용해 나누어 투여하였다.

양성 대조군은 Zolpidem을 10 mg/60 kg을 기준으로 계산하여, 음용수에 녹인 후 약침과 같은 회수와 주기로 구강 투여하였다.

6. ELISA 측정

1) Melatonin

실험이 끝난 후 적출한 뇌 조직(100 mg)에 1× 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 분리한다. 분리한 상층액 sample은 측정하기 전까지 냉동보관 하였다.

Melatonin 측정은 Rat Melatonin Elisa Kit (Biomatik, USA)를 사용하여 측정하였다. Melatonin이 coating된 microplate에 Rat Melatonin Standard, 조직 sample 50 ㎕를 넣고, HRP-conjugate를 50 ㎕를 첨가하고 Antibody 50 ㎕를 넣고 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 60분간 incubation 시켰다. Wash buffer 400 ㎕로 3회 washing 후 Substrate A 50 ㎕를 넣고, Substrate B 50 ㎕를 첨가한 다음 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 15분간 빛이 차단된 상태에서 incubation 하였다. Stop solution 50 ㎕를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 Microplate Reader (EZ Read 400, Biochrom, US)로 450 nm에서 Optical density (OD)를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 Melatonin량을 정량하였다.

2) Serotonin

Serotonin은 Serotonin Elisa Kit (Abcam, UK)를 사용하여 측정하였다. Serotonin이 coating된 microplate에 Serotonin standard 100 ㎕, serum 100 ㎕를 넣고 Alkaline phosphate conjugate 50 ㎕를 첨가하고, Serotonin antibody 50 ㎕를 넣은 후 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에서 2시간 동안 500 rpm으로 shaking 시켰다. Wash buffer 400 ㎕로 3회 washing 후 pNpp substrate solution 200 ㎕를 첨가하고 platecover를 덮고 실온에서 1시간 동안 incubation 하였다. Stop solution 50 ㎕를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 Microplate Reader (EZ Read 400, Biochrom, US)로 450 nm에서 OD를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 Serotonin량을 정량하였다.

3) Corticosterone

Corticosterone은 Corticosterone Elisa Kit (Biomatik, USA)를 사용하여 측정하였다. Corticosterone Standard, 혈청 sample 50 ㎕를 넣고, Biotin-labeled Antibody Working Solution을 50 ㎕를 첨가하고 platecover로 tapping한 후에 mixing하고 37°C에 45분간 incubation 시켰다. Wash buffer 350 ㎕로 3회 washing 후 HRP-Streptavidin Conjugate (SABC) 100 ㎕를 넣고 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 30분간 incubation 하였다. Wash buffer 350 ㎕로 5회 washing 후, TMB Substrate을 90 ㎕를 첨가한 다음 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 15~20분간 빛이 차단된 상태에서 incubation 하였다. Stop solution 50 ㎕를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 Microplate Reader (EZ Read 400, Biochrom, US)로 450 nm에서 OD를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 Corticosterone량을 정량하였다.

4) Gamma-Aminobutyric Acid (GABA)

실험이 끝난 후 적출한 뇌 조직(50 mg)에 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 상층액

을 분리한다. 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 ㎕를 넣은 후 1× Detection Reagent A 50 ㎕를 바로 넣고 platecover로 tapping (cloudy 상태 확인)한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 60분간 incubation 하였다. Wash buffer 400 ㎕로 3회 washing후 1× Detection Reagent B 100 ㎕를 넣고 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 30분간 incubation 시켰다. Wash buffer 400 ㎕로 5회 washing후 Substrate Solution 90 ㎕를 넣고 platecover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 10분간 빛이 차단된 상태에서 incubation 시켰다. Stop solution 50 ㎕를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 Microplate Reader (EZ Read 400, Biochrom, US)로 450 nm에서 OD를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 GABA량을 정량하였다.

7. 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(200mg)에 800 ㎕ Trizol Reagent (Lifetechnologies, USA)를 넣고 precellys 24 (Bertin technologies, France)에서 균질화하고, 균질액에 200 ㎕의 chloroform (Sigma, USA)을 가하여 15초 동안 흔들어 잘 혼합한 후, 실온상태에서 5분 방치하고 난 다음 세포 유잔물을 제거하기 위하여 4°C, 14,000 rpm에서 5분 동안 원심분리(Centrifuge 5415 R : Eppendorf, Germany)하였다. 원심분리로 얻어진 상층액에 500 ㎕의 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 남은 ethanol을 모두 제거한 다음, 실온에서 5분간 방치시켜 건조시킨 후 DEPC-treated water에 녹여 spectrophotometer (Biophotometer : Eppendorf, Germany)에서 OD260 값을 읽어 RNA의 순도 및 농도를 정량하였다.

2) RT-PCR

분리된 total RNA 5 ㎍과 2.5 ㎕ Oligo (dT), DEPC-treated water를 RT premix (Bioneer, Korea)에 넣어 Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany)를 이용하여 50 ㎕ cDNA를 합성하여 PCR 증폭을 위한 template로 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 5분 동안 pre-denaturation시키고, 94°C에서 40초 동안 melting하고, 56°C에서 40초 동안 annealing하며, 72°C에서 90초 동안 extension하는 과정을 30회 반복 수행한 후 마지막 cycle에서 72°C에서 10분 동안 extension 단계를 거쳐 BDNF 유전자증폭을 primer (sense primer: 5'-CAGGGGCATAGACAAAAG-3', antisense primer: 5'-CTTCCCCTTTTAATGGTC-3'), CREB 유전자증폭을 primer (sense primer: 5'-GAGGCAGCTTGAACAACAAC-3', antisense primer: 5'-TACCCAGGGAGCAATAC-3')를 이용하여 Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany)에서 시행하였다. 이때 housekeeping 유전자인 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (sense primer: 5'-ATCCCATCACCATCTTCCAG-3', antisense primer: 5'-CCTGCTTTCACCACCTCCTT-3')를 internal control로 사용하였다.

이렇게 증폭된 BDNF, CREB의 DNA를 Greenview nucleic acid gel stain (IO Rodeo, 1:10,000)를 포함한 1.5% agarose gel상에서 0.5× TBE buffer (80 mM Tris-HCL, 80 mM boric acid, 2 mM EDTA, pH 8.3)로 100 V에서 30분간 전기 영동시켜 관찰한 후 Image Station (Samsung, Korea)을 이용하여 촬영하였으며, Alphaease FC

StandAlone Software (Alpha Innotech, USA)를 이용하여 측정하였다.

8. Y-maze test

Y-maze test는 실험 마지막 날에 단회 측정하였다. 3개의 검은색 아크릴로 된 arm (길이 64 cm×높이 12 cm×너비 22 cm)이 Y자 모양으로 구성되어 있으며, 각각의 arm을 A, B, C로 정하여 중심에 측정 쥐를 놔둔 후 6분 동안 자유롭게 움직이게 한 다음 쥐가 들어간 arm의 이동경로를 측정하였다. 꼬리까지 완전히 들어간 경우에 한하며, 들어갔던 arm에 다시 들어간 경우에도 기록하였다. 3개의 다른 arm에 차례로 들어간 경우(ABC, BCA, CAB; Alternation triplet) 1점을 부여하고, 변경행동력(alternation behavior)은 총 통과 횟수(Maximum alternation triplet)와 점수를 이용하여 계산하였다(Fig. 1).

9. 체중변화량

체중변화는 전자저울((주)카스, 중국)을 이용하여, 3주 동안 주 2회 측정하였다.

10. 혈액 및 혈청학적 검사

채혈에 의하여 얻어진 혈액 중 약 100 ㎕를 EDTA-bottle에 넣은 후 곧바로 Multispecies Hematology Analyser (950, Hemavet, USA)에 주입하여 RBC, HGB, HCT, PLT를 측정하였다. 나머지 혈액은 VS 6000 CFI (Vision, Korea)에서 3,000 rpm으로 20분간 원심 분리하였으며, 혈청 분석으로는 AST, ALT, BUN, Creatinine을 Dri-chem 4000 i (Fujifilm corp. Japan)으로 측정하였다.

11. 통계분석

모든 측정값은 Excel program (Microsoft, USA)을 이용하여 평균치와 표준 오차값(mean±standard error)을 표시하였다. 실험군들의 통계 분석은 SPSS 21 ver. for windows를 사용하였고, 비모수적인 방법으로 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 유의성 검정은 각 실험군과 대조군을 비교하여 $p<0.05$ 수준에서 해석하였다.

III. 결과

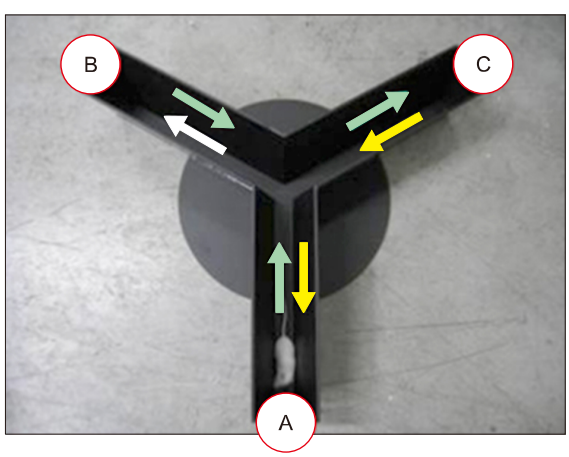
1. 수면 관련 호르몬 변화에 미치는 영향

1) Melatonin

Melatonin 함량 변화를 관찰한 결과, 대조군과 실험군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2).

2) Serotonin

Serotonin 함량 변화를 관찰한 결과, 대조군이 정상군에



· Alternation behavior (%)=(alternation triplet/maximum alternation triplet)×100
· Maximum alternation triplet=total number of arm entry−2

Fig. 1. Y-maze test module.

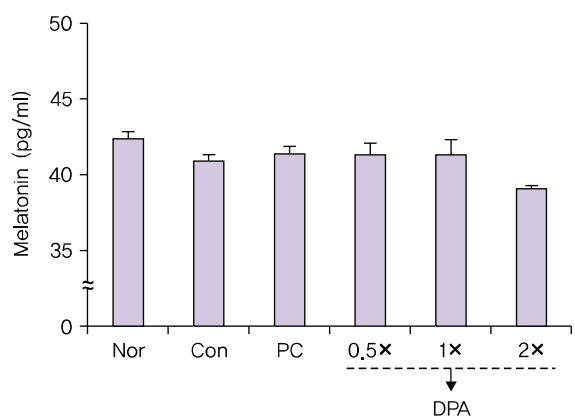


Fig. 2. Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture of GB20 · GB21 · CV4 on melatonin in rats under psychosocial stress.
Values are expressed Mean±SE.
Nor: no treatment, Con: PSS, no treatment, PC: PSS, Zolpidem treatment, DPA: PSS, *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture at GB20 · GB21 · CV4 (0.5×, 1×, 2×).

비하여 유의한 감소를 나타내었고($p<0.01$), DPA-2x군이 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다($p<0.05$) (Fig. 3).

3) Corticosterone

Corticosterone 함량 변화를 관찰한 결과, 대조군이 정상군에 비하여 유의한 증가를 나타내었고($p<0.05$), 실험군이 대조군에 비하여 모두 유의한 감소를 나타내었다($p<0.05$) (Fig. 4).

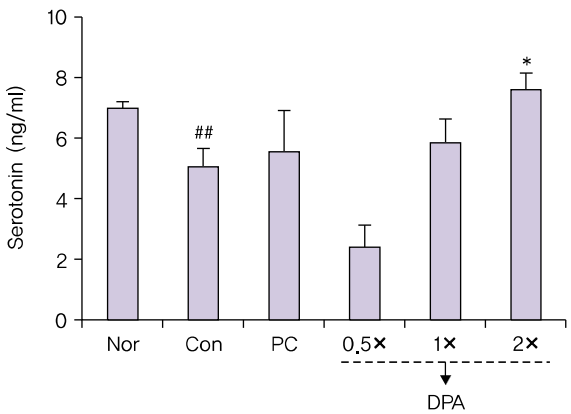


Fig. 3. Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture of GB20・GB21・CV4 on serotonin in rats under psychosocial stress.
Values are expressed Mean±SE.
##$p<0.01$ compared with normal; *$p<0.05$ compared with control.
Nor: no treatment, Con: PSS, no treatment, PC: PSS, Zolpidem treatment, DPA: PSS, *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture at GB20・GB21・CV4 (0.5×, 1×, 2×).

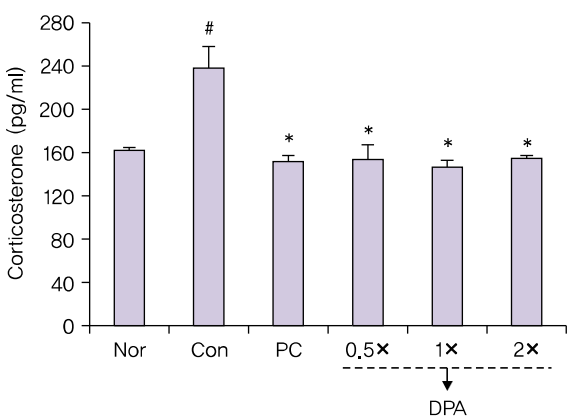


Fig. 4. Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture of GB20・GB21・CV4 on corticosterone in rats under psychosocial stress.
Values are expressed Mean±SE.
#$p<0.05$ compared with normal; *$p<0.05$ compared with control.
Nor: no treatment, Con: PSS, no treatment, PC: PSS, Zolpidem treatment, DPA: PSS, *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture at GB20・GB21・CV4 (0.5×, 1×, 2×).

4) GABA

GABA 함량 변화를 관찰한 결과, 대조군이 정상군에 비하여 감소하였고, 실험군이 대조군에 비하여 증가 경향을 나타내었다(Fig. 5).

2. 뇌활성 인자에 미치는 영향

1) Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)

BDNF 함량 변화를 관찰한 결과, 대조군이 정상군에 비해 유의한 감소를 나타내었고($p<0.05$), DPA-1x군과 DPA-2x군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었다($p<0.05$) (Fig. 6).

2) cAMP response element-binding protein (CREB)

CREB 함량 변화를 관찰한 결과, 대조군이 정상군에 비해 유의한 감소를 나타내었고($p<0.05$), DPA-0.5x군과 DPA-2x군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다($p<0.01$) (Fig. 7).

3. Y-maze test 행동변화에 미치는 영향

Y-maze test를 통한 행동변화를 관찰한 결과, alternation behavior가 대조군에서 정상군에 비해 유의하게 감

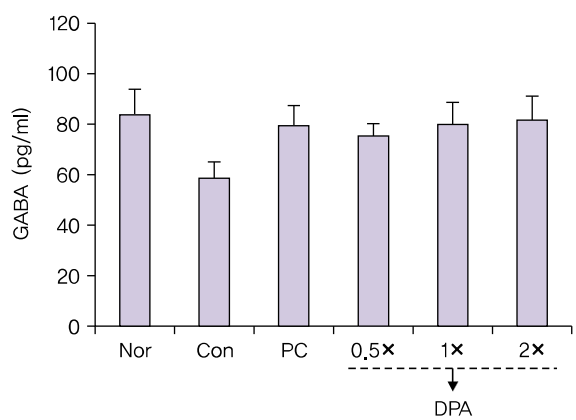


Fig. 5. Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture of GB20・GB21・CV4 on GABA in rats under psychosocial stress.
Values are expressed Mean±SE.
Nor: no treatment, Con: PSS, no treatment, PC: PSS, Zolpidem treatment, DPA: PSS, *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture at GB20・GB21・CV4 (0.5×, 1×, 2×).

소하였고($p<0.01$), DPA-2x군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다($p<0.05$) (Fig. 8).

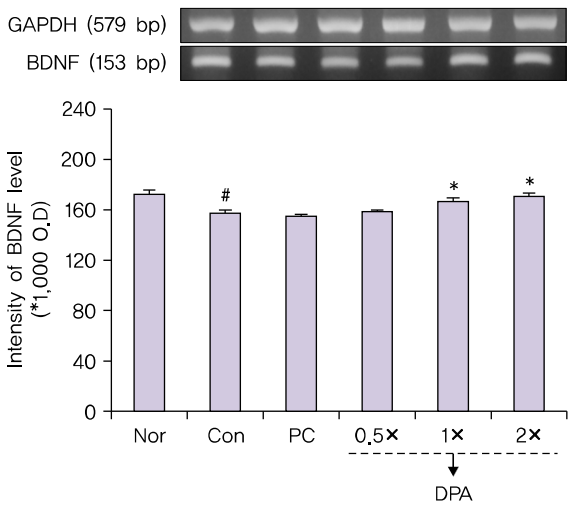


Fig. 6. Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture of GB20・GB21・CV4 on intensity of CREB level in rats under psychosocial stress.
Values are expressed Mean±SE.
#$p<0.05$ compared with normal; *$p<0.05$ compared with control.
Nor: no treatment, Con: PSS, no treatment, PC: PSS, Zolpidem treatment, DPA: PSS, *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture at GB20・GB21・CV4 (0.5×, 1×, 2×).

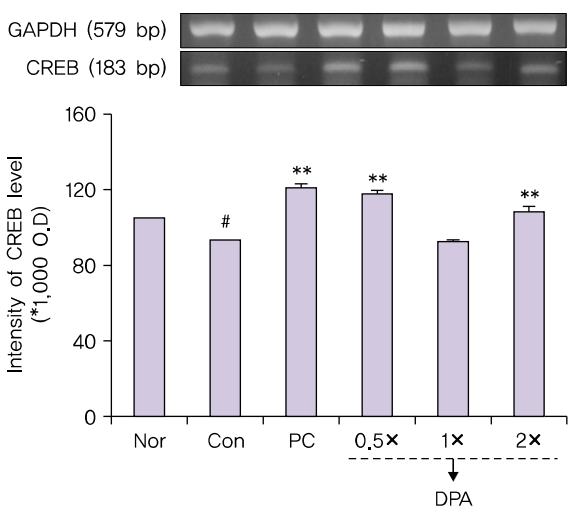


Fig. 7. Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacupuncture of GB20・GB21・CV4 on intensity of CREB level in rats under psychosocial stress.
Values are expressed Mean±SE.
#$p<0.05$ compared with normal; **$p<0.01$ compared with control.
Nor: no treatment, Con: PSS, no treatment, PC: PSS, Zolpidem treatment, DPA: PSS, *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture at GB20・GB21・CV4 (0.5×, 1×, 2×).

4. 체중 변화에 미치는 영향

체중의 변화량을 관찰한 결과, 1주차에 대조군과 0.5×, 1× 실험군에서 정상군에 비해 체중 감소가 나타났으며, 2주차에 DPA-1x군($p<0.05$)과 DPA-2x군($p<0.01$)에서 대조군에 비해 유의한 증가를 나타냈으며, 3주차에는 DPA-2x군만 유의한 증가를 나타내었다($p<0.01$) (Fig. 9).

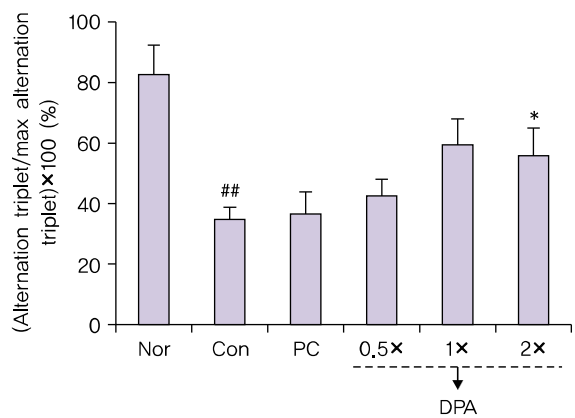


Fig. 8. Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture of GB20・GB21・CV4 on Y-maze test in rats under psychosocial stress.
Values are expressed Mean±SE.
##$p<0.01$ compared with normal; *$p<0.05$ compared with control.
Nor: no treatment, Con: PSS, no treatment, PC: PSS, Zolpidem treatment, DPA: PSS, *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture at GB20・GB21・CV4 (0.5×, 1×, 2×).

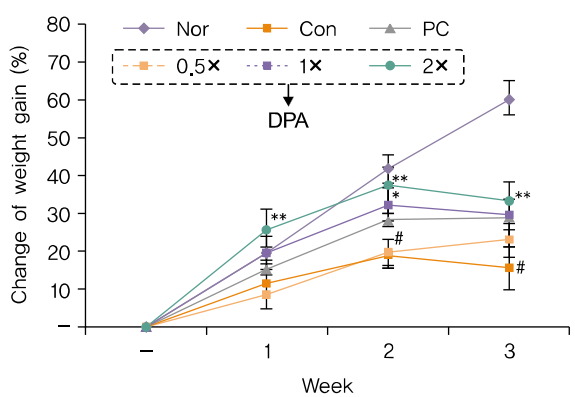


Fig. 9. Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture of GB20・GB21・CV4 on change of weight gaining in rats under psychosocial stress. Values are expressed Mean±SE.
#$p<0.05$ compared with normal; *$p<0.05$, **$p<0.01$ compared with control.
Nor: no treatment, Con: PSS, no treatment, PC: PSS, Zolpidem treatment, DPA: PSS, *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture at GB20・GB21・CV4 (0.5×, 1×, 2×).

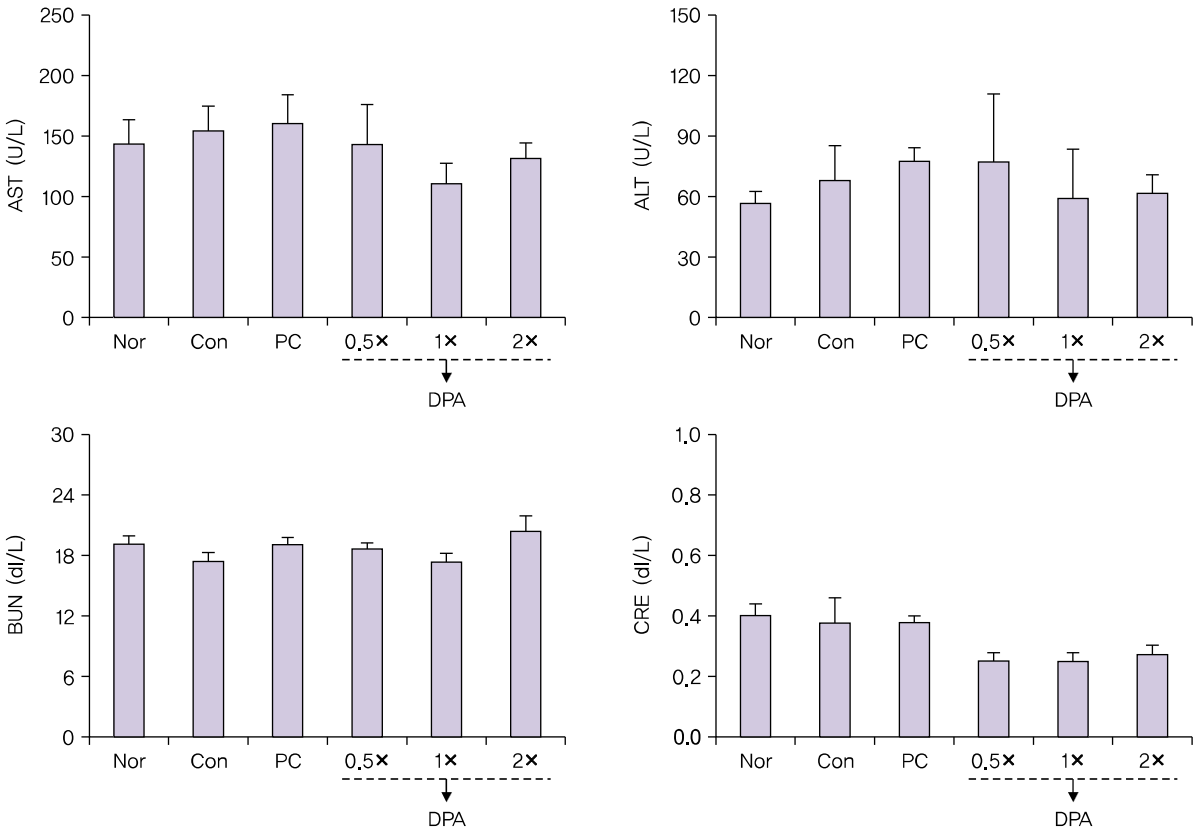


Fig. 10. Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture of GB20・GB21・CV4 on AST, ALT, BUN and Creatinine level in rats under psychosocial stress.
Values are expressed Mean±SE.
Nor: no treatment, Con: PSS, no treatment, PC: PSS, Zolpidem treatment, DPA: PSS, *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture at GB20・GB21・CV4 (0.5×, 1×, 2×).

5. 혈청 및 혈액학적 변화에 미치는 영향

1) AST, ALT, BUN, Creatinine

AST, ALT, BUN, Creatinine 변화를 관찰한 결과, 실험군과 대조군 간에 차이를 나타내지 않았다(Fig. 10).

2) Complete Blood Cell Count

Erythrocytes, Thrombocytes 변화를 관찰한 결과, 실험군과 대조군 간에 차이를 나타내지 않았다(Fig. 11).

IV. 고찰

스트레스라는 용어는 20세기에 Hans Selye가 정신적 육체적 균형과 안전을 위협하는 자극에 대해 안정 상태를 유지하기 위해 변화에 저항하는 반응으로 정의하였다[17]. 스트레스를 받으면 초기에 불안, 우울 증상이 나타나고, 과도하게 오래 지속되면 육체적으로 시상하부-뇌하수체-부신축(hypothalamo-pituitaryadrenal axis, 이하 HPA축) 활성화와 관련된 내분비, 자율신경 등의 생리적 변화를, 정신적으로 심리적인 항상성의 변화를 나타낸다[18]. 특히 만성 스트레스는 내분비계와 자율신경계에 작용하면서 신체 조절기능을 저하시켜 과민성 대장증후군, 두통 등이 발병하고 심해지면 당뇨, 고혈압, 암, 심장병 등을 발생시키기도 한다[19]. 정신과적으로 수면장애, 적응장애, 불안장애, 기분장애, 식이장애, 성기능장애, 신체형장애, 알코올 및 물질 사용 장애 등이 발병할 수 있다[3].

한의학적인 관점에서, 스트레스의 일반적 개념은 '氣'의 개념에 포괄될 수 있으며[20], 각종 스트레스에 대한 인체의 반응은 오장의 기능에 영향을 주고, 음양의 부조화로 질병이 발생한다고 하였다. 이를 〈〈素問・擧痛論〉〉에서는 '怒則氣上, 喜則氣緩, 悲則氣消, 恐則氣下, 思則氣結, 驚則氣亂, 憂則

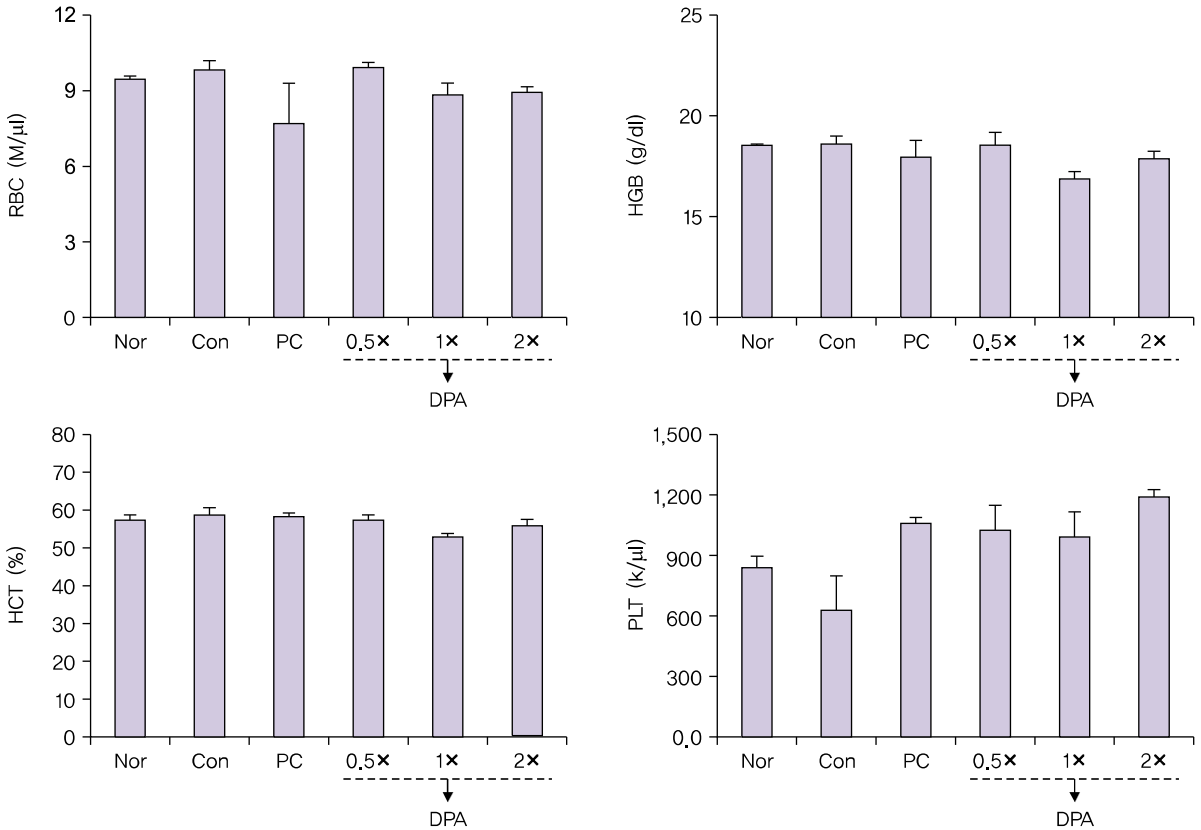


Fig. 11. Effect of *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture of GB20・GB21・CV4 on RBC, HGB, HCT and PLT level in rats under psychosocial stress. Values are expressed Mean±SE.
Nor: no treatment, Con: PSS, no treatment, PC: PSS, Zolpidem treatment, DPA: PSS, *Dendropanax morbifera* Pharmacopuncture at GB20・GB21・CV4 (0.5×, 1×, 2×).

氣沈'이라 하였고[22], 〈〈素門・陰陽應象大論〉〉에서는 '喜傷心, 怒傷肝, 思傷脾, 憂傷肺, 恐傷腎'이라 하여 七情의 과함은 정상적인 생리변화에 영향을 주어 질병이 발생한다고 하였다. 또, 宋代의 陳은 〈〈三因方〉〉에서 六淫邪氣의 침습을 外因으로, 情志에 상한 것을 內因으로, 그리고 飮食勞倦, 跌撲 및 蟲獸에 상한 것 등을 不內外因으로 크게 세 가지로 분류하고 질병발생의 인자로 제시하였다[21]. 즉 스트레스는 六氣의 부조화나 情緖의 편급 등으로 생각되며, 상존하는 內・外氣가 正氣의 허실을 틈타 인체에 병리적 반응을 일으킬 때 六淫邪, 혹은 七情傷 등으로 표현될 수 있다[23].

서양의학과 한의학에서 모두 스트레스란 내외적인 요인으로 인하여 인체가 반응하는 과정이며, 만성화되었을 때 여러 질병을 일으킬 수 있음을 말하고 있는데, 불안과 불면, 치매 등 신경정신과적 질환도 관련성이 있을 것으로 생각된다.

불면증은 DSM-5 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-5)에서 주 3회 이상, 입면지연, 수면유지 곤란, 조조각성 및 재입면 지연 등의 증상을 3개월 이상 호소하며, 이로 인해 일상생활이 불편한 경우로 진단기준을 제시하고 있다. 스트레스가 어떠한 방식으로 수면에 영향을 미치는지는 명확하지 않으나, 수면구조와 HPA축 활동 사이의 밀접한 시간적 관계가 있을 것으로 보인다. 즉, 수면의 초기에 HPA축 활동이 저하되고 지속적으로 억제되어 있다가 후기에 HPA 분비 활동이 증가하여, 깨어난 직후에는 하루 중 최대치에 근접한다[18]. 조[4]는 스트레스와 불면증의 인지모델을 통합한 완전매개모형 연구 발표를 하였는데, 이는 스트레스와 수면에 대한 비합리적인 신념이 사고억제, 인지적 각성을 거쳐 불면증으로 가는 경로가 유의미함을 말한다. 그래서 저자는 스트레스와 불면이 밀접한 관계를 가지고 있으며, 스트레스로 인한 신경정신과적 질환에 수면과 관련한 호르몬 인자들을 살펴보는 것이 의미가 있을 것이라 생각하였다.

불량한 수면이나 불면증은 인지에도 영향을 미치는데, 수면 부족이나 수면 박탈, 각성 상태의 유지는 뇌척수액의 Aβ42 level에 영향을 미쳐서 알쯔하이머병의 가능성을 높이고[24], 불면증이 정상 인지를 가진 건강인에게서 알쯔하이머병의 위험인자인 Aβ42/Aβ40, t-tau의 level에 영향을 주어 병리 가능성을 높인다[25]는 연구 결과에 착안하여 스트레스로 인하여 생긴 불면증과 함께 인지 기능의 변화도 살펴보았다.

치료법으로 선택한 약침요법은 한의학 기본 이론을 토대로 경락, 혈위의 치료 작용을 격발시키고, 현대의학 중 약물의 약리작용과 주사방법을 결합하여 형성된 일종의 신침요법으로 水鍼 또는 혈위주사요법이라 불리며[26], 불면증에 한의사들이 자주 선택하는 치료법의 하나이다[27]. 황칠약침은 황칠나무의 잎과 줄기를 에탄올 추출 제조한 것으로, 저자는 경구 투여를 통한 황칠의 스트레스 및 수면의 개선 효과[16]에 착안하고, 安神 작용을 보이는 황칠약침의 임상경험을 바탕으로 황칠 약침이 스트레스성 불면증 혹은 유관 신경정신과 질환에 어떤 효과가 있는지를 확인해 보고자 하였다.

약침에 사용되는 황칠나무는 두릅나무과에 속하는 난대성 상록교목으로 우리나라의 남부지방의 해안가와 섬에서 흔히 볼 수 있다[6]. 나무껍질에 상처가 나면 노란색의 액이 나오는데, 이를 '황칠'이라 하여 우리나라 고유 전통 수지도료로 사용하였다[6]. 최근 들어 황칠나무의 잎을 사용한 연구가 다수 보고되었는데, 잎의 추출물에서 지질대사 개선[11], 항비만[28], 면역 기능 개선[29], 파킨슨 질환 개선 효과[30], 항산화, 항암, 항염증 효과 등등이 있다. 민간에서는 잎, 줄기, 뿌리를 적당히 섞은 황칠나무 추출액을 음용하는 경우가 많은데, 이는 간기능 개선, 항산화, 항노화의 작용을 기대하고 사용되는 건강식품으로서 *in vitro*와 *in vivo* 실험에서 항산화 및 항염증 효과를 보이고 있다[31]. 송[16]은 황칠이 만성 스트레스 유발 백서의 스트레스 및 수면 호르몬에 미치는 영향을 연구 발표하여, 황칠이 만성 스트레스로 인해 유발된 제증상을 개선시키는 효과가 있다고 보고한 바 있다.

황칠 약침의 시술 경혈은 風池, 肩井, 關元을 선택하였는데, 足少陽膽經의 風池(GB20)는 祛風開竅, 解表淸熱하고[32], 肩井(GB21)은 通經活絡, 豁痰開竅하는 혈성을 가지고 頭部와 신경정신과 질환에 다용하며[33], 任脈의 關元(CV4)은 溫腎壯陽하여 강장과 신경쇠약 회복에 쓰는 중요혈이다[34]. 불면을 호소하는 졸중풍 환자 48명에게 자하거 약침을 시술한 연구[35], 불면을 호소하는 입원환자 34명에게 양측 風池, 完骨에 각각 자하거 약침을 시술하여 시술 전보다 시술 후 수면의 질과 수면시간이 향상된 연구[36], 불면을 호소하는 산후우울증 환자에게 한약, 침, 뜸치료와 더불어 氣海, 肩井, 腎俞, 癌門혈에 자하거 약침을 시술하여 우울, 불안증상 및 신체증상의 개선과 함께 수면시간이 증가하였다는 연구[37]가 있다. 한방통합프로그램을 적용하여 수면장애의 효과를 평가한 후향적 차트리뷰 연구[38]를 살펴보면, 한약치료, 침, 뜸치료, 수면일지 활용 및 수면교육, 기공명상 훈련과 더불어 양측 肩井혈에 황련해독탕 약침을 시행하였고, 대한약침학회 학술위원회가 편찬한 약침학 교과서[39]에서는 불면에 風池, 完骨, 肩井, 膻中 등의 혈위를 사용할 수 있으며 한 혈위당 0.2 ml까지 시술함을 제시하고 있다. 위의 선행연구 및 약침학 교과서를 검토하고, 침구과 전문의와 한방신경정신과 전문의의 자문을 받아 황칠 약침 시행 혈위를 風池, 肩井, 關元 세 개의 혈자리로 정했다. 또, 임상상 황칠약침의 1일 정량과 선행연구의 한 부위 시술량을 기본으로 하여, 백서의 중량으로 환산한 후, 탐색적으로 용량을 결정하였다.

실험에 사용할 동물 불면증 모델에는 잠을 잘 수 없는 자극을 주어 수면박탈 상태의 백서를 이용한 연구가 있는데[40,41], 불면증은 적절히 잠을 잘 수 있는 환경에서도 잠을 자지 못하는 것이므로, 저자의 목적과 임상적으로 어울리지 않아서 만성스트레스 모델에 주목하게 되었다[42,43]. 만성스트레스 모델 백서는 Wilner에 의해 고안된 것으로, 초기 동물실험에서는 강한 자극을 주는 방법을 선호하였으나 최근에는 인간의 일상을 더욱 잘 모사할 정도의 경미한 강도의 반복적인 스트레스를 이용하는 방법을 선호하고 있다[44,45]. 실험은 주야 주기 역전, 물 박탈 후 빈 물병 제시, 소음, 강제 수영, 고밀도 사육, 케이지 기울이기, 젖은 깔짚 등의 여러 가지 예측할 수 없는 경미한 자극들을 계속 제공하여 습관화가 나타나지 않도록 한다[44,45].

본 연구에서는 황칠의 임상적 安神 작용에 착안하여 여러 가지 만성 스트레스 중 환경적 요소를 적극적으로 가하여 정신적인 스트레스 자극을 유발하였다. 정신적인 스트레스로 Circadian Rhythm Changes (일주기 변화, 낮밤의 역전), clammy Straw (젖은 깔짚), Predator Stress (cat sound, smell, 포식자의 울음소리와 분변의 냄새)[46], Restraint Stress (구속), Noise bursts (소음), The Flashing light (빛깜박임)을 정하고, 일주일 주기로 3주간 스트레스를 주었고, 처음 일주는 스트레스만, 이어지는 2주일은 스트레스와 졸

피뎀 혹은 황칠약침을 정해진 주기로 추가 중재하였다. 정신적 스트레스로 인한 불안과 불면을 氣鬱을 겸한 陰虛火旺의 상태로 변증하고, 스트레스에 지속적으로 노출시키면서 황칠약침의 효과를 살펴보았다.

황칠 약침은 동서비교한의학회에서 제조한 황칠약침을 3그룹으로 나누어 사용했다. 0.5×는 1/2배로 희석한 50 ㎕의 약침을 했고, 1×는 원액 50 ㎕ 그대로, 2×는 원액의 양을 2배인 100 ㎕로 자입했다. 양성 대조군은 수면 유도제인 Zolpidem (10 mg/60 kg을 백서 체중 300 g 비례기준)을 음용수에 녹인 후 구강 투여했다. 실험동물은 10주령의 Wistar Hannover계의 수컷 백서(체중 300 g 이상)를 각 군당 5마리씩 배정하였다.

3일 이상의 적응 기간을 거친 각 그룹의 백서에 정해진 타임테이블(Table 1)의 순서에 따라 일주일간 다양한 종류의 정신적 스트레스를 가하고, 이후 2주 간은 스트레스와 약침 중재를 하였으며, 실험 마지막 날 Y-maze 테스트를 단회 시행하고, 수면 관련 호르몬(Melatonin, Serotonin, Corticosterone, GABA), 뇌활성 인자(BDNF, CREB), 체중 변화량 및 혈청·혈액학적 변화를 측정하였다.

Melatonin은 낮에는 광자극에 의해 생성 효소의 활성이 억제되어 분비가 감소하고, 밤에는 생성효소 활성이 증가되어 수면을 유도한다[47]. 본 실험에서 Melatonin은 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 차이를 나타내지 않았다. Serotonin은 해피호르몬으로 불리기도 하는데, 기분을 좋게 하고 안정시키는 효과를 가진다[48]. Serotonin은 정상군에 비하여 대조군에서 현저히 감소하였고, 대조군에 비하여 황칠약침군(DPA-2x)군에서 유의한 증가를 나타내었다($p<0.05$). Corticosterone은 스트레스 지표 중 하나로 스트레스가 증가하면 Corticosterone이 증가하고 스트레스가 감소하면 Corticosterone이 감소한다[49]. Corticosterone 측정 결과 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 증가하였고($p<0.05$) 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 감소를 나타내었다($p<0.05$). GABA는 중추신경계의 억제성 신경전달물질로 작용하는 물질이며, GABA의 양이 증가되면 정서적으로 안정효과와 스트레스 해소, 기억력 증진 효과가 나타나며, 천연 수면유도물질로도 작용하는 것으로 알려져 있다[50]. GABA는 정상군에 비하여 대조군에서 감소하였고, 대조군에 비해 양성대조군, 실험군 모두 증가의 경향을 나타내었다.

황칠 약침이 수면관련 호르몬에 미친 영향을 살펴본 결과, 대조군에 비하여 황칠 실험군에서 Serotonin, GABA의 양이 증가하고, Corticosterone 양이 감소되어 불면증의 효과관련 기전에 이 호르몬들이 관여하고 있을 것으로 생각되었다. 다만 Melatonin의 생성 증가에는 관련성이 부족한 것으로 생각되었으며, Melatonin이 Serotonin으로부터 생성되는 것을 미루어 보면[51] 추가연구가 필요할 것으로 보인다. 한편 황칠을 이용한 GABA 관련 선행연구[16]의 결과는 본 연구와 반대로 감소의 양상을 나타내어 GABA의 특성에 대해 주목하였다. GABA는 이온의 전하와 양에 따라 역할이 자극성과 억제성으로 달라지는데 특정량의 양이온이 세포 안으로 흘러 들어가면 GABA는 자극성 신경전달물질이 되지만, 반대의 경우엔 억제성 신경전달물질이 되기도 한다. 신생아부터 성인까지 두뇌가 성장할수록 GABA의 역할은 자극에서 억제로 바뀌어 가게 된다[52,53]. 본연구와 상이한 GABA 측정결과가 나온 선행연구[16]에서는 160 g 정도의 6~7주령의 백서를, 본 실험에서는 10주령 300 g 이상의 백서를 사용한 점, 가해진 스트레스의 종류가 다른 점 등을 고려하고, 양성대조군의 변화를 미루어 추론하여 보면, 선행연구에서 GABA는 자극성, 본 연구에서는 억제성 신경전달물질로 작용되었음을 추측하였다.

BDNF는 뇌유래 신경성장인자로 기억과 학습을 담당하는 뇌의 해마 신경 생성을 촉진하는 인자이고 뉴런이 생존, 성장하는데 필수적 요소이다[54,55]. CREB은 장기 기억 과정에 관여하는 단백질로서, 대부분의 세포에서 발현되며 배아발달, 성장 조절, 항상성 유지에서 작용한다[55,56]. 본 실험에서 BDNF는 정상군에 비하여 대조군이 유의한 감소($p<0.05$)를 보였고, 대조군에 비해 황칠 실험군(DPA-1x, 2x)에서 유의한 증가($p<0.05$)를 나타내었다. CREB은 정상군에 비하여 대조군이 유의하게 감소($p<0.05$), 대조군에 비해 DPA-0.5x군과 DPA-2x군에서 유의한 증가($p<0.01$)를 나타내었으며, DPA-1x군에서 증가를 보이지 않았다. BDNF와 CREB의 수치가 대조군에 비해 증가한 것으로 보아 황칠약침이 뇌기능을 활성화시키는 효과를 가진다고 생각된다. 다만, DPA-1x군에서 CREB의 농도의존적 수치 증가가 없었던 것은 추가 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

Y-maze test는 3개의 검은색 아크릴로 된 arm (길이 64 cm×높이 12 cm×너비 22 cm)이 Y자 모양으로 구성되어 있다(Fig. 4). 각각의 arm을 A, B, C로 정하여 중심에 측정쥐를 놔둔 후 6분 동안 자유롭게 움직이게 한 다음 쥐가 들

어간 arm의 이동경로를 측정한다. Y-maze test는 정상적인 동물의 경우 미로에 놓였을 때 길이 막히면 새로운 방향으로 계속 다른 통로를 찾아가는데, 인지기능이 저하되거나 스트레스로 인한 정상적인 사고 활동이 불가피한 경우 새로운 방향으로 나아가지 못하고 왔던 길을 되돌아가는 특성을 이용한 행동 관찰 테스트로, 방향 전환 점수가 높을수록 공간인지나 기억력이 높다고 할 수 있다[57,58]. Y-maze 검사에서 정상군에 비해 대조군은 유의한 감소($p<0.01$)를 나타내었고, 대조군에 비하여 실험군은 DPA-2x군에서 유의한 증가($p<0.05$)를 나타내었다. 따라서 황칠 약침이 스트레스 상황에서 공간 인지기능 저하를 억제하는 효과를 가진 것으로 생각된다. 이 실험에서 졸피뎀을 투여한 양성대조군이 대조군과 유사한 정도의 수치하락을 나타낸 점은 관심이 가는 부분이다. 다른 지표의 측정에서는 양성대조군이 대조군과 차이가 나거나, 특정 농도의 실험군과 유사한 패턴을 보인데 반하여, Y-maze test에서는 양성대조군의 수치가 모든 실험군 각각에 비하여 낮고, 대조군과 유사한 결과를 보였다.

졸피뎀은 불면증의 단기 치료에 사용되는 약물로서 비교적 안전하다고 알려져 있다. 그러나 박[59]은 정신착란, 악몽, 환각 등 졸피뎀의 부작용을 보고하였으며, 강[60]은 졸피뎀 복용 후 지속적인 몽롱함과 그로 인한 노인들의 골절상 다발을 보고하여 졸피뎀이 수면관련 호르몬과 관련한 불면 치료에 효과를 가지기는 하나, 인지 기능이 저하되는 부작용이 있음을 추측하였다. 따라서 불면 치료에서 졸피뎀과 황칠 약침 모두 효과를 가지나, 인지기능의 개선 혹은 부작용의 억제에서 황칠 약침이 졸피뎀에 비하여 양호한 작용을 가질 것으로 추측되지만, 추가 연구에 의해 증명이 필요할 것으로 생각된다.

체중변화는 정상군에서 주령(週齡)에 따라 꾸준히 체중이 증가하고, 정상군에 비해 대조군에서 체중증가량이 감소하여 스트레스가 체중을 감소시킨다는 의미로 볼 수 있었다. 실험군은 대조군에 비하여 체중증가량이 모두 높게 나타났지만, 주령에 따른 일관된 결과는 확인되지 않았다. 이로 보아, 황칠 약침은 스트레스로 인한 체중 증가 지연에 회복 효과가 있을 것으로 생각되지만, 향후의 연구 결과를 살펴야 할 것으로 보인다.

혈청, 혈액에서 AST, ALT, BUN, Creatinine, RBC, HGB, HCT, PLT의 수치가 변화가 없었으므로 황칠 약침의 혈액 안정성을 확인할 수 있다.

이상의 결과에서, 황칠 약침은 만성 스트레스로 인한 불면증과 공간 인지기능 저하, 체중 저하 등의 증상에서 수면관련 호르몬인 Serotonin, Corticosterone, GABA의 기전에 관여하고, 뇌활성인자 BDNF와 CREB에 영향을 주고, 체중 증가에 기여하여 치료 효과를 가질 것으로 사료된다. 그리고 Serotonin과 BDNF의 수치로 보아 황칠 약침의 농도와 자입 용량은 효과와 관련한 중요한 인자임을 추측하였다.

황칠 약침의 농도에 따른 CREB의 수치와 체중 변화량에서 일관성을 가지지 못한 점, 백서를 대상으로 한 수면관련 연구에 많이 사용되는 수면 뇌파 검사나 설문을 행하지 못하여 각성 횟수, 수면 시간 등의 지표를 확인하지 못한 점에서 본 연구의 한계점을 살필 수 있다. 향후 수면 뇌파 연구가 추가되고, 수면과 인지기능의 관련, 약침과 침의 효과 비교와 황칠약침과 다른 약침의 효과 비교, 약물과 약침의 비교 등 더욱 세밀한 연구가 필요하다고 생각된다.

V. 결론

황칠 약침이 스트레스로 인한 불면과 인지에 미치는 영향을 규명하기 위하여, circadian rhythm change, clammy straw, predator stress, restraint stress, noise bursts, the flashing light 등 정신적 스트레스를 가한 백서의 수면관련 호르몬, 뇌활성인자, 공간 인지기능(Y-maze Test)을 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 수면 관련 호르몬 측정 결과, Melatonin은 유의한 변화가 나타나지 않았고, Serotonin은 정상군에 비해 대조군에서 유의하게 감소하고, 대조군에 비하여 DPA-2x군에서 유의한 증가를 나타내었다. Corticosterone은 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 감소를 나타냈고, Gamma-Amino-butyric Acid (GABA)는 정상군에 비해 대조군은 감소의 경향을, 대조군에 비해 실험군은 모두 증가의 경향을 나타내었다.

2. 뇌활성인자 Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)는 대조군에 비해 DPA-1x군과 DPA-2x군에서 유의한 증가를 나타냈고, cAMP response element-binding protein (CREB)는 대조군에 비해 DPA-0.5x군과 DPA-2x군에서 유의한 증가를 나타내었다.

3. 공간 인지기능 (Y-maze test)에서 행동 변화를 관찰한 결과, Alternation behavior 비율이 정상군에 비해 대조군

은 유의한 감소를, 대조군에 비하여 실험군은 DPA-2x군에서 유의한 증가를 나타내었다.

4. 체중 변화량 측정에서 정상군에 비해 대조군, 실험군 모두가 체중증가량이 감소하였으며, 대조군에 비하여 2주차에 DPA-1x군, DPA-2x군이 유의한 증가를, 3주차에 DPA-2x군에서 유의하게 증가하였다.

5. 혈청 및 혈액학적 변화에 미치는 영향에서 AST, ALT, BUN, Creatinine은 정상군, 대조군, 실험군들 모두에서 차이가 없었고, RBC, HGB, HCT, PLT 또한 유의한 차이가 나타나지 않았다.

이상의 결과로 보아 황칠 약침은 수면 관련 호르몬과 뇌활성인자에 영향을 미쳐 정신적 스트레스로 인해 유발된 불면과 인지 기능 저하를 개선시키는 효과가 있으며, 뇌기능을 활성화시키는 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Oriental Neuropsychology. The Neuropsychiatry of Oriental Medicine. Paju : Jipmoondang. 2005:123.
2. Leen Kim. Stress, Sleep Physiology, and Related Insomnia Disorders. Korean Med Assoc. 2010;53(8):707-716.
3. Korean Centers for Disease Control(KCDC) and Prevention National Health Information Portal. “cdc.go.kr”, last modified December 6, 2016, accessed May 19, 2019, http://health.cdc.go.kr/health/HealthInfoArea/HealthInfo/View.do?idx=3540
4. Young Eun Cho, Jung Hye Kwon. Verification of the Integrated Model of Insomnia Including Cognitive Process and Stress. Korean J Clinical Psychology. 2012;31(1): 135-150.
5. Su-Yeon Seo. Cognitive－Behavioral Therapy for Insomnia. (Seoul : Sigma Press. 2017) p.4-5.
6. Beung-Seok Jeong, Jong-Soo Jo, Byoung-Sik Pyo, Baik Hwang. Studies on the Distribution of Dendropanax morbifera and Component Analysis of the Golden Lacquer. The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering. 1995;10(4):393-400.
7. Ministry of food and drug safety, Korean food & food additives standards codex “foodsafetykorea.go.kr”, last modified January 31, 2019, accessed May 19, 2019, http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=815
8. Seo Ho Lee, Hyun Soo Lee, Young Sik Park, Baik Hwang, Jae Hun Kim, Hyeon Yong Lee. Screening of Immune Activation Activities in the Leaves of Dendropanax morbifera Lev. Korean J Medicinal Crop Science. 2002;10(2): 109-115.
9. Su Ah Park, Jun Park, Chan Il Park, Young Jong Jie, Yun Chan Hwang, Yong Hyun Kim, et al. Cellular Antioxidant Activity and Whitening Effects of Dendropanax morbifera Leaf Extracts. Korean J Microbiol Biotechnol. 2013;41(4): 407–415.
10. Dae Keun Kim, Min Ho Lee, Jung Hoon Kim, Je Jung Yoon. Functionality of supercritical extract and fermenting extract of Dendropanax morbifera LEV.). Korean Industrial Chemistry. 2018;199.
11. Ji Sun Youn, Min Seo Kim, Hye Jin Na, Hae Rim Jung, Chang Khil Song, et al. Screening test for Dendropanax morbifera Leveille extracts: in vitro comparison to ox-LDL-induced lipid accumulation, ethanol-induced fatty liver and HMG-CoA reductase inhibition. J Applied Biological Chemistry. 2018; 61(1): 1-8.
12. Su Ah Park, Hye mi Lee, Ji hoon Ha, So Ha Jeon, and Soo Nam Park. Inhibitory Effects of Dendropanax morbifera Leaf Extracts on Melanogenesis through Down-Regulation of Tyrosinase and TRP-2. Appl Chem Eng. 2014; 25(5): 468-473.
13. Dong-Chul Shin, Gwui-Cheol Kim, Si-Young Song, Hee-Jin Kim, Jae-Chan Yang, Bo-Ae Kim. Antioxidant and Antiaging Activities of Complex Supercritical Fluid Extracts from Dendropanax morbifera, Corni fructus and Lycii Fructus. Kor J Herbology. 2013;28(6):95-100.
14. Na Young An, Ji-Eun Kim, DaeYoun Hwang, Ho Kyung Ryu. Anti-diabetic effects of aqueous and ethanol extract of Dendropanax morbifera Leveille in streptozotocin-induced diabetes model. J nutrition and health. 2014;47(6): 394-402.
15. Kyu-Jung Im, Sae-Byul Jang, Dong-Youl Yoo. Anti-cancer Effects of Dendropanax morbifera Extract in MCF-7 and MDA-MB-231 Cells. J Korean Obstet Gynecol. 2015;28(2): 26-39.
16. Young-gil Song, Kyeong-ok Kim. Effect of Resina Dendropanacis Morbiferus on Stress and Sleep Hormone in Chronic Mild Stress-Induced Rats. J of oriental Neuropsychiatry 2017;28(3): 287-302.
17. Mee Ryoung Kim. Articles : Different Perspectives of Stress Theory and Its Application for Studying Role Changes in Older Adults. J the Korea Gerontological Society. 2002; 22(2):41-60.
18. SC Chung, BC Min, SG Kim, BW Min, JY Oh, SJ Kim, et al. Effects of Odors on the Autonomic Responses caused by Mental Stress. Korean Society for Emotion and Sensibility, Fall Conference. 1999;413-416.
19. Min-Soo Seo, Kyung-Ku Kang, Choong-Yong Kim, Jung-min Woo. Stress Response in Chronic Unpredictable Stress Animal Model. J of The Korean Society of Biological Terapies in Psychiatry. 2016;22(2):101-107.
20. Nak-Ki Sung, Moon-Sang Park. A Literature Review on the Cause and Mechanism of the Acupuncture Treatment on Sleep Disorders(Insomnia, Narcolepsy). J Haehwa Medicine. 1998;6(2): 483-501.

21. Ahn Sang-Woo. Understanding The Conception of Stress Regard in The Oriental Medicine. Korea Journal of Oriental Medicine. 1997;3(1):501-534.
22. Bo-Kyung Kim, Sang-Ryong Lee. Bibliographical study on the Jiu Qi (九氣) shown at Ju Tong Lun (舉痛論) in Shao Wen (素問) Huang Ti Nei Ching (黃帝內經). J Oriental Neuropsychiatry. 2000;11(1):145-167.
23. Sang Hee Chun, Chong Mi Chang. A Bibliographic Study about Comparison of Eastern-Western Medicine on Sleep Disturbances and Trend Analysis of Korean Nursing Research. J East-West Nursing Research. 2009;15(1):43-53.
24. Sharon Ooms, Sebastiaan Overeem, Kees Besse, Marcel Olde Rikkert, Marcel Verbeek, JurgenA. H. R. Claassen. Effect of 1Night of Total Sleep Deprivationon Cerebrospinal Fluid β - Amyloid42 in Healthy Middle-Aged Men : A Randomized Clinical Trial. JAMA neurology. 2014;71(8):971-977.
25. Kate E. Sprecher, Rebecca L. Koscik, Cynthia M. Carlsson, Henrik Zetterberg, Kaj Blennow, Ozioma C. Okonkwo, Mark A. Sager, Sanjay Asthana, Sterling C. Johnson, Ruth M. Benca, Barbara B. Bendlin, Poor sleep is associated with CSF biomarkers of amyloid pathology in cognitively normal adults. American Academy of Neurology. 2017; 89:445–453.
26. Korean Institute of Pharmacopuncture. Pharmacopuncture Medicine and clinical applications (I). Seoul: Korean Institute of Pharmacopuncture. 1997:1-5.
27. Jung-Hwa Lim, Jin-Hyung Jeong, Sang-Ho Kim, Kyeong-Ok Kim, Seung-Yeon Lee, Sang-Hyup Lee et al. The Pilot Survey of the Perception on the Practice Pattern, Diagnosis, and Treatment on Korean Medicine Insomnia: Focusing on the Difference between Korean Medical Neuropsychiatry Specialists and Korean Medical General Practitioners. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Volume 2018, Article ID 9152705, 11 pages. https://doi.org/10.1155/2018/9152705
28. JH Song, HB Kang, JH Kim, S Kwak, GJ Sung, SH Park, et al. Antiobesity and cholesterol- loweringeffects of Dendropanax morbifera water extracts in mouse 3T3-L1 cells. J Med Food, 2018;21:793-800.
29. BT Birhanu, JY Kim, MA Hossain, JW Choi, SP Lee, SC Park. An in vivo immunomodulatory and anti-inflammatory study of fermented Dendropanax morbifera Léveille leaf extract. BMC Complement Altern Med. 2018;18:222.
30. SY Park, G Karthivashan, HM Ko, DY Cho, J Kim, DJ Cho, et al. Aqueous extract of Dendropanax morbiferus leaves effectively alleviated neuroinflammation and behavioral impediments in MPTP-induced Parkinson' mouse model. Oxid Med Cell Longev. 2018:3175-214.
31. Casas-Grajales S, Muriel P. (2015) Antioxidants in liver health. World J Gastrointest Pharmacol Ther. 6:59-72.
32. Geon-ho Na, Dae-hwan Youn, Chang-su Na, Woo-suk Chae. Anti-apoptotic and Neuroprotective Effects of Gastrodiae Elata Pharmacupuncture at GB20 on Focal Brain Ischemic Injury Induced by Intraluminal Filament Insertion in Rats. J Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 2008;25(1):1-14.
33. Lee Hei-yong, You Jeong-seok, Yook Tae-han, Hong Kwon-eui. The Effects of Distilled Astragali Radix Herbal Acupuncture, Wild Ginseng Herbal Acupuncture and Rehmannia Glutinosa Herbal Acupuncture on Vital Sign. J Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 2007; 24(5):207-17.
34. Gyuong-Won Yu, Soon Min, Jae Kyoung Park, Jung Hyo Kim, Gyung Goo Kang. The Effects of Moxibustion on Cornell Medical Index in the Elderly. J East-West Nursing Research. 2007;13(2): 79-91.
35. Hyoun-min Yoon, Chae-woo Lee, Hong-ki Kim. The Effects of the Hominis Placenta Herbal acupuncture on Sleep patter disturbance. J Korean Institute of Pharmacopuncture. 2005;8(1): 5-11.
36. Yoon Hyoung-seon, Moon Jang-hyuk, Jeong Kyoung-suk, Lee Jung-hoon, Baek Jong-yeob, Ahn Ho-jin. A study on the effects of the Hominis placenta-induced injection on insomnia patient. The J Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 2004;21(3):99 -105.
37. Lee SY, Lee CW, Kim JW, Cho JH. A case report of the postpartum depression with Hominis Placenta Herbal acupuncture therapy. The Journal of Korean obstetrics & gynecology. 2006;9(2):282-294.
38. Jae-Eun Lee, Seung-Hun Cho. A Study on Applying a Korean Medical Integrative Program for Sleep Disorder. J Oriental Neuropsychiatry 2013;24(1):103-108.
39. Academic Committee of Korean Pharmacopuncturology, Medical Institute of Pharmacopuncture. Pharmacopuncturology. (Seoul : Elsevier Korea. 20081). p.3, 200-201, 347-348.
40. Hee-Jung Kim, Dong-Hyun Kim. Effect of Different Exercise Intensity on Blood Melatonin Density in Sleep Disordered Rats. J Korean Soc Phys Med. 2014;9(1):45-53.
41. Ju-Ryun Na, Sunoh Kim, Ara Jo, Donghyuck Bae, Kyo-Nyeo Oh, Yong Jae Kim, et al. Anti-Stress Effect of Punica granatum L. Extract against Sleep Deprivation-Induced Impairment. The korean Society of Food Science and Nutrition. 2016;45(11):533-1,543.
42. Min Gu Kang, Young Hwa Kim, A Rang Im, Byung Soo Nam, Sung Wook Chae, Mi Young Lee. Antidepressant-like effects of Nelumbo nucifera leaves extract in chronic mild stress model. The Korea J Herbology. 2014;29(2): 7-13.
43. Ji Hye Jeong, Chang Min Choi, Yun Jung Seo, Han Baek Cho, Song Baek Kim. Original Articles : The Anti-depressive Effect of Samul-tanggahyangbuja on Chronic Mild Stress in Ovariectomized Rats. J Korean Obstet Gynecol. 2013;26(4):30-47.
44. Willner P. The valdity of animal model of de-pression. Psychopharmacology. 1984;83(1):1-16.
45. Willner P. Valdity, reliability and utility of the chronic mild

stress model of depression, a 10 year review and evaluation. Psychopharmacology. 1997;134(4): 319-29.
46. Kirsty J. MacLeod et al, Fear and lethality in snowshoe hares : the deadly effects of non-consumptive predation risk. Oikos. 2018;127(3):375-380.
47. Cheol-Bum Park, Sung-Keun Wang. The Effects of Melatonin on Sleep. J Korean Socity of Biological Therapies in Psychiatry. 1999;5(2):145-53.
48. Young-Min Park, Seung-Gul Kang, Heon-Jeong Lee, Leen Kim. Insomnia in Relation to Suicide and Serotonin in Patients with Major Depressive Disorder. Sleep Medicine and Psychophysiology. 2014;21(1):29-32.
49. Chang-won Choi, Young-su Lee, Young-ho Moon, Kyeong-ok Kim. The Effects Liquid Stick Packs of Dongshingihyeol-yangsubang on Stress and Sleep-Related Substance of Rats Induced by Chronic Mild Stress. J Oriental neuropsychiatry. 2017;28(3):231-48.
50. Seung-Seop Kim, Sung-Ho Oh, Myoung-Hoon Jeong, Seok-Cheol Cho, Moo-Chang Kook, Seok-Ho Lee et al. Sleep-Inductive Effect of GABA on the Fermentation of Mono Sodium Glutamate(MSG). Korean J Food Sci Technol. 2010;42(2):142-6.
51. Nam-Ik Kim. Changes of Stress Hormone and Autonomic Nervous System in Deep Sea Water Thalassotherapy after Sleep Deprivation. The Korean Journal of Growth and Development. 2018;26(3):287-295.
52. Watanabe M, Maemura K, Kanbara K, Tamayama T, Hayasaki H. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. Int Rev Cytol. 2002; 213:1–47.
53. Li K, Xu E. The role and the mechanism of gamma-aminobutyric acid during central nervous system development. Neurosci Bull. 2008;24(3):195–200.
54. Karen Schmitt, Edith, Anne Eckert. BDNF-in-sleep-insomnia-and -sleep-deprivation. Annals of Medicine. 2016; 48:42-51.
55. Eun-Jeong Koh, Young-Jin Seo, Jia Choi, Hyeon Yong Lee, Do-Hyung Kang, Kui-Jin Kim et al. Spirulina maxima Extract Prevents Neurotoxicity via Promoting Activation of BDNF/CREB Signaling Pathways in Neuronal Cells and Mice. Molecules. 2017;22(8):1363.
56. Hyo Young Jung, Su Bin Cho, Woo suk Kim, Dae Young Yoo, Moo-HoWon, Goang-Min Choi et al. Phosphatidylethanolamine- binding protein 1 protects CA1 neurons against ischemic damage via ERK-CREB signaling in mongolian gerbils. Neurochemistry International. 2018; 118:265-74.
57. Da-Young Gong, Yun-Sik Choi. Development of New Analytical Method Evaluating Working Memory on Y Maze. J Life Science. 2016;26(2):234-40.
58. Ravichandran Vijaya Abinaya, Mina Kim, Youn-Soo Cha. Neuroprotective Effect of Stachys siedlbodii MIQ Extract in Amnesia Induced Animal Model using Y Maze Test. The korean Society of Food Science and Nutrition International Symposium and Annual Meeting. 2017:363.
59. Kyung Hee Park, Jae-Hyun Lee. Zolpidem, Is it a Safe Drug for Insomnia Management?. Korean J Medicine. 2013;84(6):802-803.
60. Kang Dong-Yoon, Park So-Young, Rhee Chul-Woo, Kim Ye-Jee, Choi Nam-Kyong, Lee Joong-Yub, et al. Zolpidem Use and Risk of Fracture in Elderly Insomnia Patients. Journal of preventive medicine and public health. The Korean Society for Preventive Medicine. 2012;45(4):219-226.