



Original Article / 원저

柴胡加龍骨牡蠣湯이 흰쥐에서 SPS로 유도된 PTSD에 미치는 효과

김휘열, 이태희*

가천대학교 한의과대학 방제학교실

Effect of Sihogayonggolmoryeotang on SPS-induced PTSD in Rats

Hwi-Yeol Kim, Tae Hee Lee*

Department of Formulae Pharmacology, College of Korean Medicine,
Gachon University

ABSTRACT

Objective : To investigate the effect of sihogayonggolmoryeotang (SY) on Single Prolonged Stress(SPS)-induced Post Traumatic Stress Disorder(PTSD).

Method : To confirm the effects of SY on SPS-induced PTSD, Changes in body weight, sucrose intake open field test(OFT) and forced swimming test(FST)were observed. After behavioral tests, the plasma corticosterone(CORT) from the abdominal aorta, serotonin(5-HT) from prefrontal cortex, hippocampus, amygdala and striatum, norepinephrine(NE) and dopamine(DA) from hippocampus was measured by ELISA. mRNA expression of brain-derived neurotrophic factor(BDNF) and cAMP response element-binding protein(CREB) in hippocampus was measured by RT-PCR.

Result : Weight change and sucrose intakes of rats in 14th day after the administration of SY were significantly increased in the SPS + SY450 group compared to the SPS group ($p<0.05$). Numbers of crossing in the central zone in the OFT were significantly increased in the SPS + SY450 group ($p<0.05$) compared with the SPS group. The immobility time of FST was significantly decreased in SPS + SY450 group compared with SPS group ($p<0.05$). The change of plasma CORT concentration was significantly decreased in SPS + SY450 group compared with that in SPS group ($p<0.05$). The change of 5-HT concentration was significantly increased in the SPS + SY450 group at hippocampus and amygdala compared with the SPS group ($p<0.05$). The concentration of DA was significantly increased in the SPS + SY450 group compared with the SPS group ($p<0.05$). The expression of BDNF and CREB were significantly increased in SPS + SY450 group compared with the SPS group ($p<0.05$).

© 2019 The Korean Medicine Society For The Herbal Formula Study

This paper is available at <http://www.formulastudy.com> which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Conclusion : SY administration lowered the increase of CORT caused by PTSD and increases the 5-HT concentration and reversed the decreased expression of NE and DA and BDNF and CREB by PTSD. It is postulated that SY is effective in treating PTSD by restoring cognitive function, memory impairment, unstable emotional disturbances.

Key words : Sihogayonggolmoryeotang, SPS, PTSD, behavior, BDNF, CREB, Neurotransmitter

I. 서론

Post Traumatic Stress Disorder (PTSD, 외상 후 스트레스 장애)는 외상을 입거나 심한 감정적 스트레스를 경험했을 때 나타나는 장애로, 보통 강간이나 폭행, 전쟁, 사고, 테러 당시에 받은 충격에 의해 발병된다. 주된 원인은 스트레스와 스트레스를 받았을 때의 사회적 환경, 피해자의 성격경향, 생물학적 취약성 등에 따라 다르다고 알려져 있으나 현재는 스트레스 자체의 심한 정도보다는 환자의 주관적 반응, 의미부여를 더 중요한 원인으로 보고 있다.¹⁾ 또한 신경해부학적으로 PTSD의 환자에게서 공포 및 불안과 관련된 Amygdala와 Hippocampus의 변성조건이 보이며 Dopamine 등의 신경전달물질과 관련되어 있다고 언급된다.²⁾ 주된 임상적 양상은 사고에 대한 반복적 회상, 악몽 등의 외상경험의 재 경험(reexperience) 하고 외상을 상기시키는 것들을 지속적으로 회피하거나 상기에 대한 반응을 마비시키려하며, 지속적으로 과민상태에 있는 것이다. 이런 상태와 더불어 우울, 불안, 일상생활에서의 집중곤란 등이 보이며 대개는 뚜렷한 불안의 자율신경계 증상이 동반된다.¹⁾

한의학에서는 PTSD에 대해 정확히 일치하는 증후는 없으나³⁾, 놀람(驚)으로 인해 발생하는 증후인 驚悸, 怔忡으로 이해할 수 있으며²⁾ 변증에 따라 다양한 치료법이 존재한다. 『傷寒論』에 언급된 柴胡加龍骨牡蠣湯 (SY)의 경우 놀람을 나타내는 煩驚의 조문이 있어⁴⁾ 임상에서 정신불안, 動悸, 不眠 등 신경증에 활용되고 있다. 조문상 胸滿, 煩驚이 있어서 신경이 과민해지고 깜짝 놀라는 경향이 있으며 심하면 복부 대동맥이 박동이 느껴지는 환자에게 쓰이는 처방으로 정신신경을 안정시키고 자율신경을 조정할 목적으로

각종질환에 응용될 수 있다고 언급된다.⁵⁾

기존 국내의 SY의 증례보고의 경우 화병⁶⁾, 진전⁷⁾, 갱년기증후군⁸⁾, 다한증⁹⁾에 대한 것이 있었으나 PTSD에 대한 용례가 없어 이를 확인하고자 SY의 PTSD에 대한 효과를 실험하였다. 흰쥐 실험을 통한 PTSD모델로서 Single Prolonged Stress (SPS, 일회성의 지속적 스트레스)을 가한 후 SY를 투여하여 체중 및 자당섭취량의 변화를 확인하고, Open Field Test (OFT, 개방장에서의 행동검사), Forced Swimming Test (FST, 강제 수영 부하 실험)을 실험하였다.

실험 후 decapitation 시켜, 혈장 corticosterone (CORT)의 농도 변화를 측정하고 뇌의 Medial Prefrontal Cortex, Hippocampus, Amygdala, Striatum에서 5-HT (serotonin)의 농도 차이를 측정하였으며, Hippocampus에서 Norepinephrine (NE) 및 Dopamine (DA)을 측정하였다. Hippocampus에서 Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF, 뇌유래 신경성장인자), cAMP response element-binding protein (CREB, cAMP 반응요소 결합단백질)의 mRNA 발현을 Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR, 역전사 중합효소 연쇄반응)을 이용하여 측정하였다.

이를 통해 柴胡加龍骨牡蠣湯의 PTSD에 대한 효과를 확인한 바 이를 보고하는 바이다.

II. 연구방법

1. 실험 재료 및 방법

1) 실험 동물

실험 동물은 숫컷 흰쥐 成體로 Sprague-Dawley 계이고 Samtaco Animal Co. (Seoul, Korea)에서

*Corresponding author : Tae Hee Lee, Department of Formulae Pharmacology, College of Korean Medicine, Gachon University, 1342, Seongnam-daero, Sujeong-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do, 13120, Republic of Korea.
Tel: +82-31-750-5418, Fax: +82-31-750-5416, E-mail: ophm5418@gachon.ac.kr

• Received : March 12, 2019 / Revised : May 13, 2019 / Accepted : May 13, 2019

구입하였다. 모든 실험은 동물이 실험실에 도착한 7 일 이후, 환경에 적응시켜 실험에 사용하였다. 이 흰 쥐는 각 플라스틱 사육 상자에 5마리 내로 길렀다. 실험실 온도는 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도는 $55 \pm 15\%$ 가 유지 되도록 조절하였고, 매일 12시간 동안 인공 햇빛을 쬐어 주었다. 흰쥐에게는 무제한으로 살균된 물과 고형 사료를 실험기간 동안 공급하였다.

2) 약제

Table 1. Herbal Constitution of SY

Korean (Chinese) name	Pharmaceutical name	Dose (g)
시호(柴胡)	Bupleuri Radix	56
황금(黃芩)	Scutellariae Radix	21
인삼(人蔘)	Ginseng Radix Alba	21
반하(半夏)	Pinelliae Rhizoma	42
생강(生薑)	Zingiberis Rhizoma Recens	21
대조(大棗)	Jujubae Fructus	21
계지(桂枝)	Cinnamomi Ramulus	21
용골(龍骨)	Ostreae Concha	21
모려(牡蠣)	Fossilia Ossis Mastodi	21
대황(大黃)	Rhei Rhizoma	28
복령(茯苓)	Poria	21
Total Amounts		294

연구에 사용된 柴胡加龍骨牡蠣湯은 고방유취의 용량⁵⁾을 토대로 시호, 황금, 인삼, 반하, 생강, 대조, 용골, 모려, 계지, 대황으로 구성된 처방을 사용하였다. 각 약제는 보양제약에서 공급받아 총 7첩 분량의 294 g을 분쇄하여 약제를 200 g으로 정확히 평량한 후, 85% 메탄올을 사용하여 3회 추출하였으며, 추출물을 감압 농축한 후, 그 추출물을 동결 건조시켜 분말 건조하였다. 건조시켜 얻은 수율을 21.7 g으로써, 수율은 10.8%였다.

2. 실험

1) 실험군

실험쥐는 무작위적으로 몸무게에 따라 6마리씩으로 6 group으로 나누었다. SPS를 처치하지 않고 약제 대신 생리식염수를 주사한 군 (0.9% NaCl, i.p., SAL group, n=6), SPS를 처치하고 매일 14일 동안 생리식염수를 주사한 군 (0.9% NaCl, i.p., SPS group, n=6), SPS를 처치하고 매일 14일 동안 150 mg/kg의 SY를 주사한 그룹 (i.p., SPS + SY150 group,

n=6), SPS를 처치하고 매일 14일 동안 300 mg/kg의 SY를 주사한 그룹 (i.p., SPS + SY300 group, n=6), SPS를 처치하고 매일 14일 동안 450 mg/kg의 SY를 주사한 그룹 (i.p., SPS + SY450 group, n=6)으로 나누었다. SY나 식염수는 14일간 복강 내로 주사하였다. SY의 약제는 0.9% 생리식염수에 녹여서 사용하였다.

2) SPS

다양한 조건에 의한 SPS로 유도된 최적의 PTSD 동물모델을 확립하기 위해서 스트레스의 강도 및 처치시간에 대한 기준을 설정하였다¹⁰⁾. 먼저 실험동물에게 구속스트레스(immobilization stress)을 2시간 동안 가하였다. 구속 스트레스의 과정은 2시간씩 오전 9시부터 11시까지 진행하였다. 실험동물을 투명한 플라스틱 튜브 (20 × 7 cm)에 강제로 넣고 튜브의 끝은 원뿔 모양으로 구멍을 내어 흰쥐의 호흡이 가능하게 하였다. 실험동물은 호흡할 충분한 공기가 있지만 튜브 안에서 움직일 수는 없다. 구속스트레스가 끝난 쥐는 15분 동안 강제수영을 실시하였다. 투명한 아크릴 원통형 수조(지름 20 cm × 높이 50 cm)에 24°C 온도의 물을 30 cm 높이로 가득 채웠다. 이 깊이는 수조의 바닥에 흰쥐의 꼬리나 뒷발이 닿지 않는 높이이다. 강제수영이 끝난 쥐는 마른 수건으로 깨끗이 닦은 후, 15분 동안 쉬게 한 다음, 가슴기로 ether를 공기 중으로 노출시켜, 실험동물이 의식을 잃지 않은 범위 안에서 ether에 노출시켰다. 이러한 구속스트레스, 강제수영, ether 노출이 끝난 쥐는 각자의 케이지에 넣은 뒤, 외상 후 스트레스 질환이 분명히 나타나도록 7일 동안 누구의 방해도 받지 않는 상태로 혼자 남겨 두었다. 이 모든 실험과 행동측정 과정은 다음과 같다(Fig. 1).

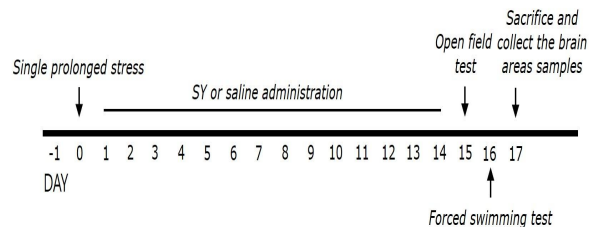


Fig. 1. Experimental protocol for SPS-induced depression-like symptoms and SY treatment in rats. Groups of six rats were used for each experimental condition.

3) 체중관찰

Digital mass meter를 이용하여 SPS 처리하기 시작한 날부터 14일 동안 매일 체중을 관찰하였다.

4) 자당 섭취량 측정

모든 쥐에 대해 매주 한 차례씩 1% 자당 용액 섭취량을 측정하였다. 10시간 물, 먹이를 박탈한 상태에서 1% 자당용액에 1시간 동안 노출시켰으며, 노출 전과 후의 용기 무게를 기록함으로써 자당 용액의 섭취량을 측정하였다. 각 집단의 자당 용액 섭취량은 모두 2주 동안 측정되었다. 본 연구에서 지표로 사용된 자당 선호도(%)는 (자당 섭취량 × 100)/(물 섭취량 + 자당 섭취량)으로 정의되었다¹¹⁾.

5)OFT

SPS 처리가 활동량에 미치는 영향을 알아보기와, 개방장(Open field)에서의 행동을 관찰하였다. OFT 실험은 기존의 논문을 참조하였다¹²⁾. 우선 SPS 처리에 들어가기 전 개방장에서의 행동을 관찰하고, 4주간의 약물 투여 후에 행동을 관찰하였다. 실험에 이용된 개방장은 60 × 60 × 30 cm 규격의 나무로 만든 상자이며, 바닥에는 15 cm 간격의 가로, 세로선으로 바둑판 모양의 구획이 나뉘어져 있다. 5분 동안의 개방장에서의 행동을 관찰하였고, 보행활동(locomotion)을 비롯한 대표적 행동들을 기록하였다. 보행활동은 바닥의 구획선을 기준으로 5분 동안 전체 개방장가로, 세로로 이동한 빈도를 기록한다. 개방장의 활동 중 쥐의 통과 구획이 어느 위치에 해당되는냐에 따라, 센터링(centering)의 점수를 채점하였다. 개방장이 외곽을 이루는 12개 구획에서의 이동은 주변(peripheral) 접근이 되고, 가운데 영역에 해당되는 4개 구획은 중간(central) 접근에 해당된다. 또는 5분 동안 개방장안에서 grooming 횟수 및 개방장안에서의 움직인 거리(Activity count)를 함께 측정하였다.

6)FST

FST는 동물 행동 실험으로 항우울제의 효과를 측정하기 위해 흰쥐에게 자주 사용되는 방법이다. FST 실험은 기존의 논문을 참조하였다¹³⁾. 흰쥐는 강제 수영 부하 실험에서 입수 후 처음 수 분간은 물에서 벗어나기 위해 심한 저항을 보이나, 시간이 흐를수록 점점 부동자세를 보이는 시간이 늘어나고, 우울 경향

이 있을수록 부동자세를 취하는 시간이 길어지게 된다. 투명한 아크릴 원통형 수조(지름 20 cm × 높이 50 cm)에 25°C 온도의 물을 30 cm 높이로 가득 채웠다. 이 깊이는 수조의 바닥에 흰쥐의 꼬리나 뒷발이 닿지 않게 한다. 실험 15일째에 모든 그룹의 쥐들을 물이 채워진 수조에 넣어서 15분간 훈련시켰다. 실험 15일째에 5분간 흰쥐를 강제 수영 부하 실험을 시행하였고, 실험 중의 도망가려는 행동(기어오르고 수영하는 동작)과 부동 행동을 측정하였다. 부동 행동 시간은 5분간의 실험을 통해서 수치화 하였다. 기어오르는 동작은 앞발로 아크릴 원통형 수조 위로 올라오려고 사지를 다 쓰는 상태이고, 수영하는 동작은 흰쥐가 수면 위를 돌면서 움직여 수조의 다른 1/4 부분으로 이동하는 것을 포함하였다. 부동 행동은 도망가려는 반응을 보이지 않은 시간의 정도를 계산하였다 (총 실험 시간 - 수영과 기어오르는데 소요된 시간). FST에서의 실험쥐의 행동은 수조 위쪽에 비디오 카메라를 이용하여 모두 기록하였다. FST를 시행한 이후의 실험쥐들은 수조에서 꺼내 타월로 물기를 말리고 사육 상자에 다시 넣었다. 수영을 한 수조의 물은 각 실험동물 마다 새로 교체하였다.

7)CORT, 5-HT, NE, DA 측정

실험동물 모두 행동 실험이 끝난 후 같은 날 decapitation 시켰다. 혈액 샘플은 혈장 CORT 수치를 측정하기 위해 채취하였다. 실험방법은 기존의 논문을 참조하였다.¹⁴⁾ 마취되지 않은 채로 흰쥐를 decapitation 시켰으며, 혈액은 복부 대동맥에서 채취 하였다. 수집된 혈액을 4000 g으로 10분 원심분리하고, 혈장은 -20°C에서 채취하여 보관하였다. 또한 동일한 흰쥐의 뇌를 적출했다. 적출한 뇌 샘플에서 5-HT를 분석하기 위해서 Medial Prefrontal Cortex, Hippocampus, Amygdala, Striatum을 분리하여, 4개의 뇌 부위에서 5-HT를 측정하였으며 Hippocampus에서 NE 및 DA를 측정하였다. 추출된 CORT는 rabbit polyclonal CORT antibody (Novus Biologicals, LLC., Littleton, CO, USA), 5-HT는 rabbit polyclonal 5-HT antibody (Abcam, Inc., Cambridge, MA), NE는 rabbit polyclonal NE antibody (Abcam, Inc., Cambridge, MA) 및 DA는 rabbit polyclonal DA antibody (Abcam, Inc., Cambridge, MA) 프로토콜을 이용하여 competitive



enzyme-linked immunoassay (ELISA)로 측정하였다. 표본은 판에 옮겨져서 한 시간 동안 실온에서 공기에 노출시켜 배양하였다. 표본을 buffers로 몇 번 씻어 내고 발색 시킨 후 450 nm에서 ELISA reader (MultiRead 400; Authos Co., Vienna, Austria)로 optical density를 측정하였다.

8) Total RNA 추출 및 RT-PCR

흰 쥐의 뇌를 추출하여 Trisol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하여 total RNA를 분리하였다. 실험방법은 기존의 논문을 참조하였다¹⁴⁾. Reverse transcription은 DEPC-DW로 최종부피를 50 µl로 맞춘 후 total RNA에 RT-premix (Bioneer, Seoul, Korea) 혼합용액을 사용하여 cDNA를 합성하였다. RT 반응은 65°C에서 10분 동안 RNA를 변성시키고, 42°C에서 1시간 동안 역전사하여 cDNA를 합성하고, 95°C에서 5분 동안 MuLV reverse transcriptase를 불활성화시키는 과정으로 진행되었다. PCR 반응은 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 1 mM dNTP, 1 unit Taq polymerase, 10 pmol의 5'과 3'의 BDNF primer 그리고 RT product를 첨가하고 PCR을 수행하였다. PCR 사이클은 94°C, 5분 동안 denaturation, annealing 온도는 57°C에서 30초, 72°C에서 30초 동안 extension과정을 거쳐 PCR product를 얻었다. GAPDH는 internal control로 수행하였다. 이렇게 얻어진 product는 1.2% agarose gel에서 전기영동하여 UV (Kodak, USA)에서 관찰하였다. 또한 동일한 방법으로 CREB를 측정하였다.

3. 통계 처리

모든 측정값은 맹검하여 시행되었다. 모든 측정값은 (평균값±표준오차)로 표시하였다. 각 실험군의 통계학적 분석은 windows용 SPSS를 이용하고 사후 Tukey's post-hoc test로 검정하였다. P값이 0.05

미만인 것을 통계적으로 유의한 것으로 인정하였다.

III. 결과

1. SPS에 노출된 흰쥐의 체중과 자당 섭취량에 대한 SY의 효과

SPS로 유도된 PTSD 동물모델에서 SY를 투여한 후 몸무게(body weight)와 자당 섭취량(sucrose preference)의 변화를 측정하였다.

SAL group의 몸무게는 실험 1일째 249.5 ± 4.1 g에서 14일째 309.0 ± 10.0 g으로 1일째에 비해 총 123.8 ± 3.1% 증가하였으나, 같은 기간 SPS group에서는 1일째 260.2 ± 4.9 g, 14일째 279.5 ± 5.4 g으로 1일째에 비해 107.6 ± 2.8% 증가하여 SAL group에 비하여 유의한 차이를 보였다(p<0.05). SPS + SY150 group은 1일째 241.3 ± 9.9 g, 14일째 268.0 ± 11.3 g으로 1일째에 비해 111.1 ± 1.4%의 변화가 있었으며, SPS + SY300 group은 1일째 230.6 ± 8.5 g, 14일째 259.8 ± 7.4 g으로 1일째에 비해 112.9 ± 1.8% 증가하여 SPS group에 비해 몸무게의 변화가 증가하는 경향을 보였다. SPS + SY450 group에서는 1일째 248.0 ± 6.0 g, 14일째 287.5 ± 11.4 g으로 1일째에 비해 몸무게가 119.5 ± 4.2% 증가하여 14일째 SPS group과 비교하였을 때 몸무게가 유의하게 증가하였다(p<0.05).

자당 섭취량을 측정한 결과 1일째 모든 실험군은 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 14일째 SAL group에서 82.1 ± 2.7%, SPS group에서 64.0 ± 2.0 %로 SAL group에 비해 유의한 차이가 보였다(p<0.05). 또한 14일째 모든 약물 투여군에서 SPS group에 비해 자당 섭취량이 증가하는 경향을 보였으며, SPS + SY450 group에서 79.7 ± 2.4%로 SPS group에 비해 유의하게 증가하였다(p<0.05).

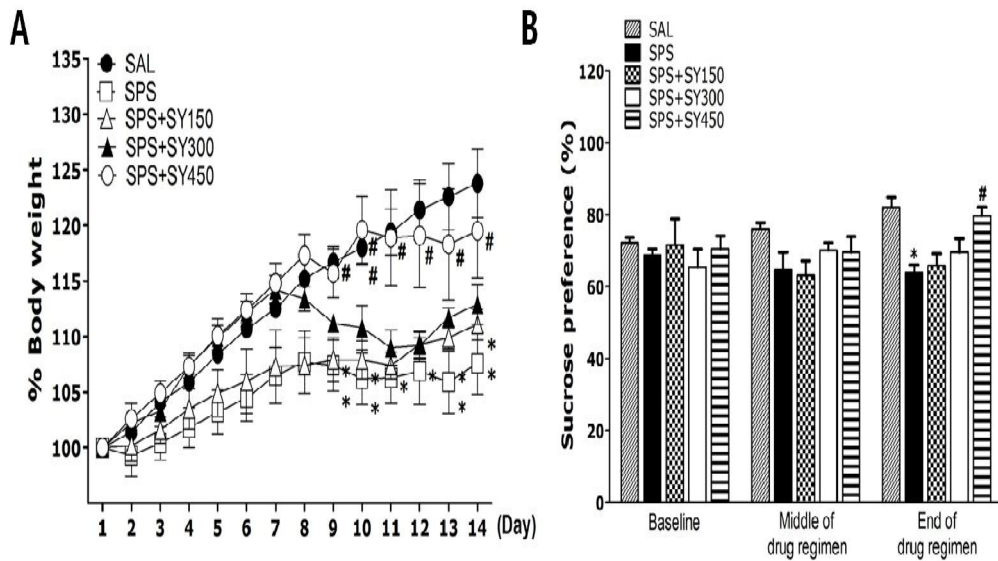


Fig. 2. Effects of SY on body weight (A) and sucrose intake (B) in rats exposed to SPS.

SAL group : Saline

SPS group : SPS + saline

SPS + SY150 group : SPS + SY (150 mg/kg)

SPS + SY300 group : SPS + SY (300 mg/kg)

SPS + SY450 group : SPS + SY (450 mg/kg)

* : Significant difference compared with the SAL group ($p < 0.05$)

: Significant difference compared with the SPS group ($p < 0.05$)

2. OFT에서의 SY의 효과

SPS로 유도된 PTSD 동물모델에서 SY를 투여한 후 개방장에서의 행동검사를 시행하여 행동변화를 측정하였다.

중심 공간(central zone)을 지나치는 센터링(centering) 횟수는 SAL group에서 11.00 ± 1.24 회인데 SPS group은 4.67 ± 0.84 회로 SAL group에 비해 유의한 감소가 확인되었다($p < 0.01$). 약물을 투여한 군에서 SPS group에 비해 센터링 횟수가 전반적으로 증가함을 확인하였으며 특히 SPS group에 비해 SPS + SY450 group에서 9.33 ± 0.88 회로 유의하게 횟수가 증가하였다($p < 0.05$). 개방장에서 주변 공간(peripheral zone)으로 이동한 횟수에서는 SAL group과 SPS group, SY를 투여한 group간 유의한

차이가 보이지 않았다.

중심 공간에 머무른 시간의 경우 SAL group은 $13.83 \pm 1.85\%$, SPS group에서는 $8.84 \pm 0.68\%$ 로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 주변 공간에서 머무른 시간의 경우 SAL group과 SPS group, SY를 투여한 group 모두 유의한 변화를 확인할 수 없었다.

Grooming 횟수를 관찰한 결과 SAL group의 경우 2.50 ± 0.22 회 인데 반해 SPS group은 10.17 ± 1.45 회로 유의하게 증가하였으며($p < 0.05$), SPS + SY450 group에서 횟수가 각각 6.00 ± 1.00 회로 SPS group에 비해 감소하였으나 유의성은 없었다.

총 움직임 거리(Moving distance)의 경우 전체적으로 큰 차이를 확인할 수 없었다.

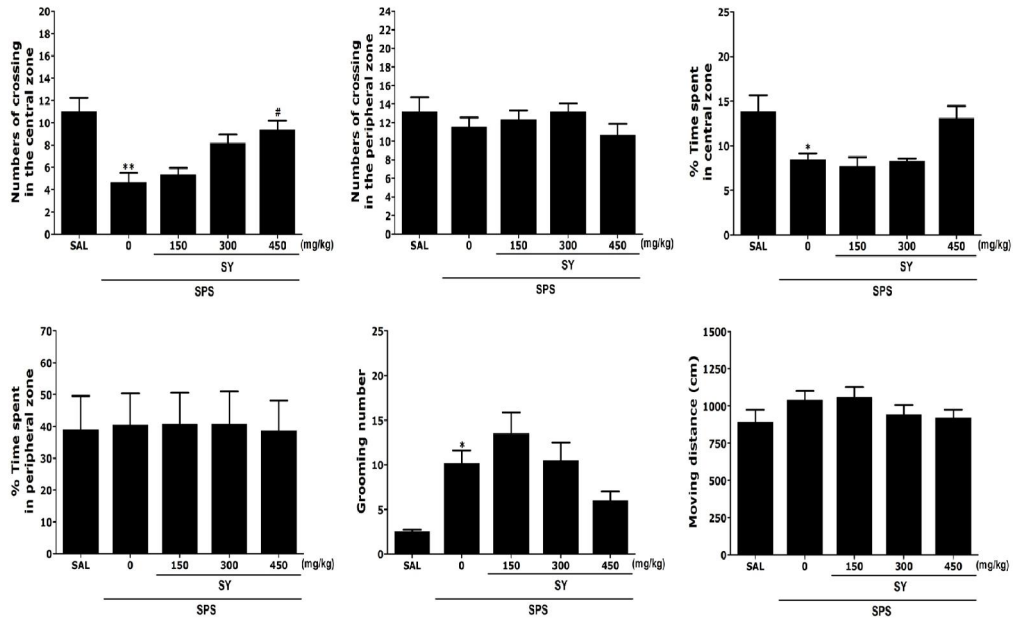


Fig. 3. Effects of SY on locomotion and exploratory behavior in the open field test of rats exposed to SPS. Change in the numbers of crossing in the central zone and peripheral zone, in the time spent in central zone and peripheral zone, number of grooming number and moving distance in the open field test.

SAL group : Saline + OFT,

SPS group : SPS + Saline + OFT

SPS + SY150 group : SPS + SY (150 mg/kg) + OFT

SPS + SY300 group : SPS + SY (300 mg/kg) + OFT

SPS + SY450 group : SPS + SY (450 mg/kg) + OFT

*, ** : Significant difference compared with the SAL group ($p < 0.05$, $p < 0.01$)

: Significant difference compared with the SPS group ($p < 0.05$)

3. FST에서의 SY의 효과

SPS로 유도된 PTSD 동물모델에서 SY를 투여한 후 강제 수영 부하 실험을 시행하여 행동변화를 측정하였다.

부동행동 시간(Immobility time)은 SAL group에서 22.8 ± 2.7 sec, SPS group은 52.3 ± 5.6 sec으로 SAL group에 비해 유의하게 증가하였다 ($p < 0.01$). SPS + SY150 group과 SPS + SY300 group은 각각 44.7 ± 5.2 sec와 37.5 ± 7.7 sec로 SPS group에 비해 부동행동 시간이 약간 감소하였으며, SPS + SY450 group에서 31.7 ± 1.6 sec로 부

동행동시간이 SPS group 비하여 유의하게 감소하였다($p < 0.05$).

등반자세시간(climbing time)은 SAL group에서 62.3 ± 5.1 sec, SPS group에서는 34.3 ± 6.7 sec로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 또한 SPS + SY300 group에서 47.3 ± 6.6 sec, SPS + SY450 group에서 54.3 ± 5.8 sec로 SPS group에 비해 등반자세 시간이 증가하였으나 유의성은 없었다.

수영 시간(swimming time)은 SAL group과 SPS group, SY를 투여한 group 간의 큰 차이를 보이지 않았다.

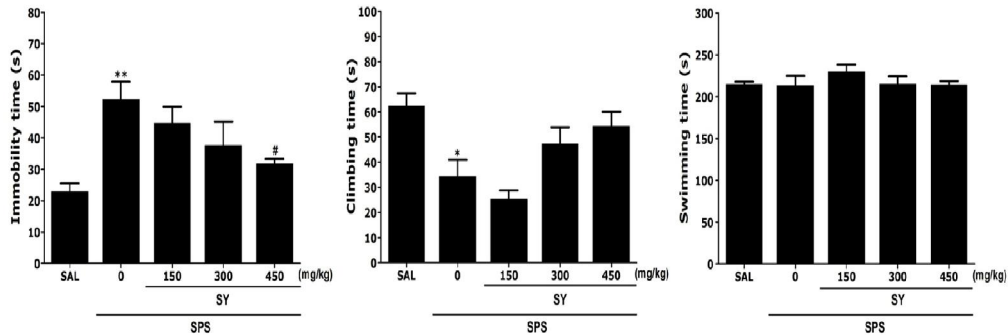


Fig. 4. Effects of SY on the Forced Swimming test in SPS-induced PTSD-like behavior. Immobilization stress was applied to the experimental animals for 2 hours. Immobility time (A), climbing behavior (B), and swimming time (C) in the forced swimming test of rats exposed to SPS.

SAL group : Saline + OFT, FST

SPS group : SPS + Saline + OFT, FST

SPS + SY150 group : SPS + SY (150 mg/kg) + OFT, FST

SPS + SY300 group : SPS + SY (300 mg/kg) + OFT, FST

SPS + SY450 group : SPS + SY (450 mg/kg) + OFT, FST

*, ** : Significant difference compared with the SAL group ($p < 0.05$, $p < 0.01$)

: Significant difference compared with the SPS group ($p < 0.05$)

4. 혈장 CORT의 농도변화에 대한 SY의 효과

행동실험이 끝난 후 혈장 CORT 농도를 측정하였다. SAL group의 혈장 CORT의 농도는 110.00 ± 20 ng/ml 인데 비하여 SPS group은 296.00 ± 17.01 ng/ml 로 SAL group에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). SPS + SY150 group에서 $193.33 \pm$

34.34 ng/ml, SPS + SY300 group에서 180.67 ± 56.12 ng/ml, SPS + SY450 group에서는 136.00 ± 28.45 ng/ml 로 SPS group에 비해 SY의 용량에 따라 CORT의 농도가 감소하는 경향을 보였으며, 특히 SPS + SY450 group에서 유의하게 감소하였다($p < 0.05$).

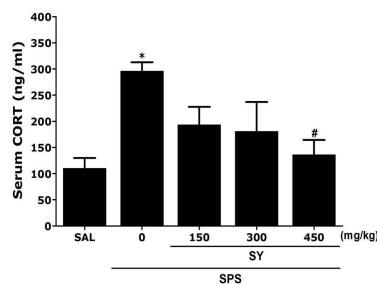


Fig. 5. Effects of SY on plasma corticosterone (CORT) levels in rats exposed to SPS; assessed with an enzyme-like immunosorbent assay (ELISA). Parameters were determined at the end of the experiments. Data are expressed as the mean \pm SEM of 4 animals in each groups.

SAL group : Saline + OFT, FST

SPS group : SPS + saline + OFT, FST

SPS + SY150 group : SPS + SY (150 mg/kg) + OFT, FST

SPS + SY300 group : SPS + SY (300 mg/kg) + OFT, FST

SPS + SY450 group : SPS + SY (450 mg/kg) + OFT, FST

* : Significant difference compared with the SAL group ($p < 0.05$)

: Significant difference compared with the SPS group ($p < 0.05$)

5. Medial Prefrontal Cortex, Striatum, Hippocampus, Amygdala에서 5-HT의 농도에 대한 SY의 효과

SPS로 유도된 PTSD 동물모델에서 SY를 투여한 후 뇌의 Medial Prefrontal Cortex, Striatum, Hippocampus, Amygdala에서 5-HT의 농도를 측정하였다.

Medial Prefrontal Cortex에서 5-HT의 농도는 SAL group에서 244.67 ± 48.75 ng/mg인데 반해 SPS group의 경우 104.00 ± 24.85 ng/mg으로 SAL group에 비해 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 또한 SPS + SY300 group에서 150.00 ± 12.17 ng/mg, SPS + SY450 group에서 193.33 ± 27.19 ng/mg로 SPS group에 비해 5-HT의 농도가 증가함을 확인하였으나 유의성은 없었다.

Striatum에서의 5-HT 농도는 SAL group에서 225.33 ± 39.75 ng/mg, SPS group에서 79.33 ± 14.44 ng/mg으로 SAL group에 비해 감소했고, SPS + SY150 group에서 114.00 ± 16.00 ng/mg, SPS + SY300 group에서 169.33 ± 11.57 ng/mg, SPS

+ SY450 group에서는 175.33 ± 36.70 ng/mg로 SY의 용량에 따라 5-HT의 농도가 SPS group에 비해 증가했으나 유의성은 확인되지 않았다.

Hippocampus에서 5-HT 농도는 SAL group에서 242.00 ± 23.69 ng/mg, SPS group에서는 88.67 ± 24.26 ng/mg으로 SAL group에 비해 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). SPS group에 비해 SPS + SY150 group에서 98.00 ± 17.44 ng/mg, SPS + SY300 group에서 134.00 ± 15.14 ng/mg로 증가하였고, SPS + SY450 group에서는 206.46 ± 29.46 ng/mg으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

Amygdala에서의 5-HT 농도는 SAL group에서 257.33 ± 12.35 ng/mg, SPS group에서 139.33 ± 30.90 ng/mg으로 SAL group에 비해 유의하게 감소하였고($p < 0.01$), SPS + SY450 group에서 229.33 ± 16.83 ng/mg로 SPS group에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

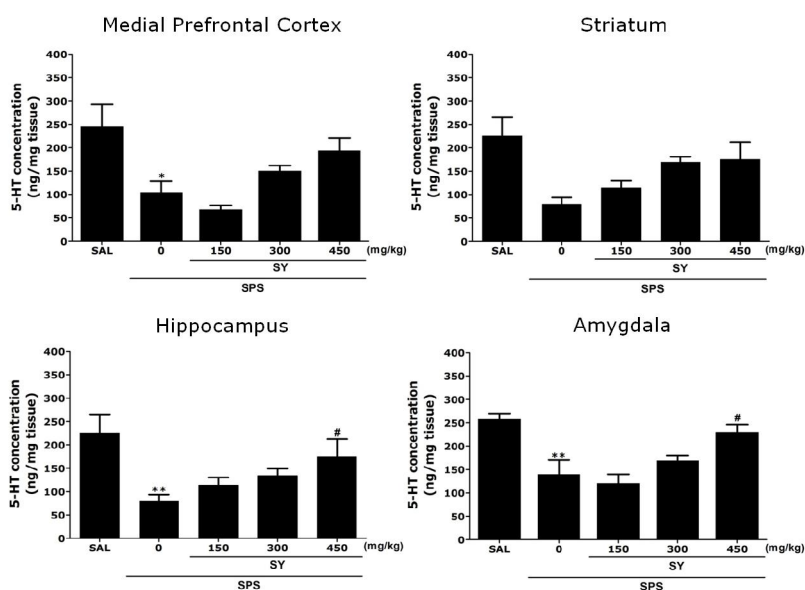


Fig. 6. Effects of SY on the 5-HT concentration in the medial prefrontal cortex, striatum, hippocampus, amygdala of rats exposed to SPS.

SAL group : Saline + OFT, FST

SPS group : SPS + Saline + OFT, FST

SPS + SY150 group : SPS + SY (150 mg/kg) + OFT, FST

SPS + SY300 group : SPS + SY (300 mg/kg) + OFT, FST

SPS + SY450 group : SPS + SY (450 mg/kg) + OFT, FST

*, ** : Significant difference compared with the SAL group ($p < 0.05$, $p < 0.01$)

: Significant difference compared with the SPS group ($p < 0.05$)

6. Hippocampus에서 NE 및 DA의 농도에 대한 SY의 효과

SPS로 유도된 PTSD 동물모델의 뇌에서 SY 투여에 따른 NE와 DA의 발현량을 측정하였다.

NE의 경우는 SAL group에서 324.00 ± 43.41 ng/mg, SPS group에서는 79.33 ± 31.29 ng/mg로 SAL group에 비해 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). SPS + SY150 group에서 112.00 ± 38.44 ng/mg, SPS + SY300 group에서 196.67 ± 43.33 ng/mg, SPS + SY450 group에서는 228.00 ± 69.00 ng/mg로 SY의 용량이 늘어남에 따라 NE가 증가하

였으나 유의성이 없었다.

DA의 경우 SAL group에서 67.67 ± 17.89 ng/g, SPS group에서는 16.67 ± 3.28 ng/g로 SAL group에 비해 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). SPS + SY150 group에서 43.33 ± 9.33 ng/g, SPS + SY300 group에서 37.67 ± 7.33 ng/g, SPS + SY450 group에서 64.33 ± 9.67 ng/g으로 모든 약물 투여 group에서 SPS group에 비해 DA가 증가하였으며 특히 SPS + SY450 group에서 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

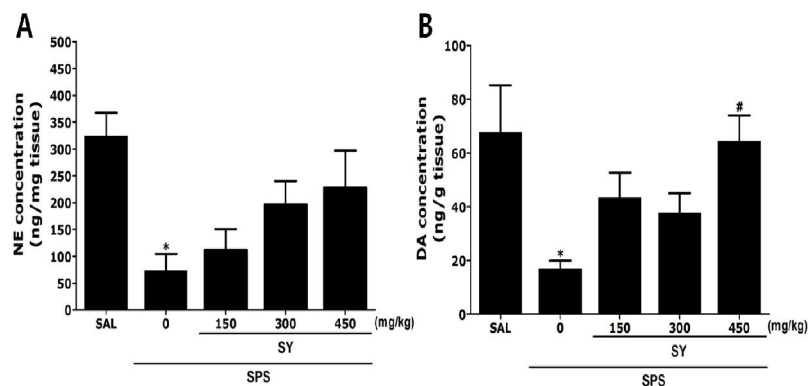


Fig. 7. Effects of SY on NE and DA concentration in the Hippocampus of rats exposed to SPS.

SAL group : Saline + OFT, FST

SPS group : SPS + Saline + OFT, FST

SPS + SY150 group : SPS + SY (150 mg/kg) + OFT, FST

SPS + SY300 group : SPS + SY (300 mg/kg) + OFT, FST

SPS + SY450 group : SPS + SY (450 mg/kg) + OFT, FST

* : Significant difference compared with the SAL group ($p < 0.05$)

: Significant difference compared with the SPS group ($p < 0.05$)

7. Hippocampus에서 BDNF 및 CREB의 발현량에 대한 SY의 효과

SPS를 통해 유도한 PTSD 실험모델을 통한 약물 투여 실험 후 hippocampus의 BDNF와 CREB의 발현량을 측정하였다.

BDNF의 발현량을 측정한 결과, SAL group에서 $34.57 \pm 1.12\%$, SPS group에서는 $21.72 \pm 1.58\%$ 로 SAL group에 비해 유의하게 감소하였으며($p < 0.01$), SPS + SY300 group에서 $26.11 \pm 0.58\%$, SPS +

SY450 group에서는 $29.86 \pm 2.41\%$ 로 SY의 용량에 따라 BDNF가 증가하며, 특히 SPS + SY450 group에서 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

CREB의 발현량의 경우 SAL group에서 $33.45 \pm 2.37\%$, SPS group에서는 $20.93 \pm 2.21\%$ 로 SAL group에 비해 유의하게 감소하였으며($P < 0.01$), SPS + SY450 group에서 $29.36 \pm 2.06\%$ 로 SPS group에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

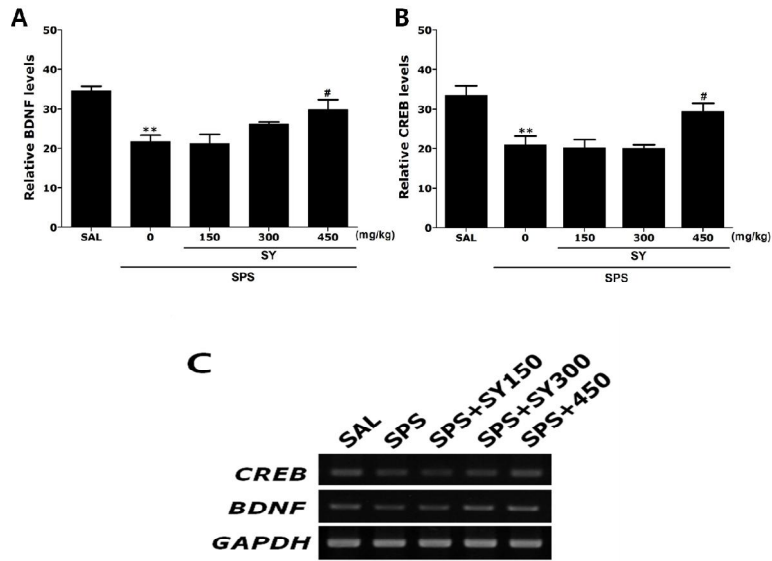


Fig. 8. Effects of SY on the expression levels of BDNF and CREB mRNA in rats exposed to SPS. PCR bands on an arose gel and their relative intensities.

SAL group : Saline + OFT, FST

SPS group : SPS + Saline + OFT, FST

SPS + SY150 group : SPS + SY (150 mg/kg) + OFT, FST

SPS + SY300 group : SPS + SY (300 mg/kg) + OFT, FST

SPS + SY450 group : SPS + SY (450 mg/kg) + OFT, FST

** : Significant difference compared with the SAL group ($p < 0.01$)

: Significant difference compared with the SPS group ($p < 0.05$)

IV. 고찰

PTSD란 정서적으로 고통이 되는 사건에 노출된 이후 나타나는 증상이 심한 복합적 질환으로 전에 외상에 노출된 병력, 외상에 노출된 개인이 받아들이는 위험도의 크기, 본인 또는 가족들의 정신병력과 밀접하게 관련되며, 증상으로는 불안, 과도한 각성장애, 재 경험, 회피, 침울, 수면장애, 지각과민성과 분노반응이 나타난다.¹⁵⁾ PTSD 환자에 대한 양방적 치료는 주로 약물치료 위주로 진행하며, 진단 및 치료는 우울증 치료 방법에 준하는 것이 일반적이어서 삼환계 항우울제인 imipramine과 amitriptyline와 선택적 세로토닌 재흡수억제제가 빈용 되고 있다.¹⁶⁾

한의학적으로 PTSD의 경우 驚悸, 怔忡의 병증과 七情 중 恐의 상태로 판단된다. 칠정 중 驚은 갑작스럽게 놀란 것으로 외상이 가해질 때의 감정에 해당하

며, 恐은 이미 지각하고 있는 것에 대한 두려움으로 외상 후 사고의 기억을 떠올리며 가지게 되는 감정과 연관될 수 있을 것이다.¹⁷⁾ 또한 驚悸, 怔忡의 개념에서 驚은 외인성 驚恐으로 인하여 心卒動而不寧한 상태를, 悸는 여러 가지 원인에 의해 心躁動而怕驚하는 증상을 말하며 怔忡은 驚悸久而成한 것으로 心動而不寧한 증상을 뜻한다.¹⁶⁾ “驚悸不已, 變生諸證, 惑短氣悸乏, 體倦自汗, 四肢浮腫, 飲食無味, 心虛煩悶, 坐臥不安, 皆心虛膽怯之候也.”¹⁶⁾라 하여 DSM-V에서 언급한 인지 및 기분의 부정적 변화와 각성의 변화와 연관시켜 생각할 수 있어, 이를 통해 PTSD와 驚悸, 怔忡을 연관시켜 판단할 수 있을 것이다. 驚悸, 怔忡은 한의학의 장부변증으로 볼 때 心病으로 볼 수 있으며 구체적으로는 心陰虛 및 心氣虛로 판단된다.⁸⁾

柴胡加龍骨牡蠣湯의 경우 張仲景의 『傷寒論』에서

“傷寒八九一下之 胸滿煩驚 小便不利 譫語 一身盡重 不可轉側者 柴胡加龍骨牡蠣湯主之”라고 언급되었는데, 이를 현대적으로 해석하면 가슴이 답답하면서 안절부절하지 못하며 놀람, 심계, 불면, 정중, 안면홍조 등 心病의 상황에서 쓰일 수 있는 처방이다.⁸⁾ 이러한 증상이 PTSD로 인해 발현되는 기분 및 각성의 변화와 연관될 수 있을 것으로 판단된다. 또한 柴胡加龍骨牡蠣湯은 뇌졸중 후 우울증에 효과가 있다고 보고되고 있고¹⁸⁾, 최근 우울증에 관련된 한의임상진료지침¹⁹⁾에 치료처방으로 선정되어 임상적으로 유효성이 있는 처방으로 알려졌다. 현재 PTSD의 치료는 우울증에 준한 SSRI 및 삼환계 약물로 진행되고 있으므로, 우울증 개선효과가 있는 柴胡加龍骨牡蠣湯 또한 PTSD의 개선 효과가 있을 것으로 판단되었다.

이에 본 연구에서는 Serova¹⁰⁾등이 사용한 SPS로 유도된 PTSD 동물모델을 통해 柴胡加龍骨牡蠣湯이 PTSD에 유효할 수 있는지에 대해 실험을 진행하였다. 이를 위해 흰쥐에 SPS처리를 시작한 이후 14일간 체중의 변화를 측정하였으며, 매주 자당섭취량을 측정하여 우울증상의 무감각증(anhedonia)에 대해 판단하였으며, FST, OFT를 통해 생존에 대한 욕구 및 우울정도를 분석하였다. 행동실험을 마친 후, 흰쥐를 decapitation 시켜 혈중 CORT를 측정하였고 적출된 뇌 샘플에서 NE 및 DA은 Hippocampus에서 측정하였으며, 5-HT는 Medial Prefrontal Cortex, Hippocampus, Amygdala, Striatum의 4 부위에서 측정을 하였다. 또한 흰 쥐의 뇌를 추출하여 BDNF와 CREB를 측정해 PTSD로 인해 발생하는 인지기능회복과의 연관성을 분석하였다.

자당 섭취량의 변화는 식욕의 변화를 단적으로 나타내는 항목으로 가장 기본적인 의욕인 식욕의 변화를 통해 대상의 정신적 상태를 간접적으로 확인할 수 있는 하나의 지표로 활용된다. 자당 선호도의 차이는 체중의 변화에 영향을 끼칠 수 있으며, 체중과 자당 선호도의 변화를 통해 우울증의 정도를 간접적으로 측정할 수 있다.²⁰⁾ 새로운 자극에 유도된 스트레스의 경우 식욕부진을 유발하며 이는 CRH R1 수용체의 활성화와 Ghrelin 수치의 감소한 결과이다.¹⁰⁾ 특히 SPS와 같은 구속스트레스의 경우 CORT의 급상승을 유도하며, 체중감소에 기여하는 것으로 알려져 있다.²⁰⁾ 쥐의 자당 섭취량 감소는 보상에 대한 반응 감소, 무력증을 반영 할 수 있으며, 특히 SPS 절차가

PTSD에서 드러나는 불안과 같은 증상을 유발하여 식욕억제 및 자당섭취량의 감소를 야기할 수 있다.²¹⁾ 본 연구에서는 SPS group에 비해 SY를 투여한 group에서는 체중증가 및 자당섭취량 증가가 발생하였고 SPS + SY450 group에서 SPS group에 비해 자당섭취량 및 체중증가가 유의하게 증가한 점을 볼 때($p < 0.05$), SY의 투여가 불안, 무력증 등 SPS로 유도된 PTSD의 증상 및 우울정도의 개선에 효과가 있다고 판단할 수 있다.

OFT의 경우 실험동물의 활동성을 측정하여 약물의 항 우울 및 항 불안작용이 동물의 운동성에 어떤 영향을 미치는지 판단하는 실험방법이다.²²⁾ SPS에 노출된 이후 얼어버리는 듯한(freezing) 행동은 원래의 외상 상황, 가벼운 스트레스 요인 또는 외상의 기억과 관련이 있는 자극에 대한 과장 반응 등의 PTSD의 특징과 일치한다. 따라서 SPS 노출은 외상 관련 자극에 대한 조건부 공포 반응의 획득으로 이어지며,²¹⁾ 이를 통해 OFT의 활동성 및 반응에 영향을 미칠 것으로 판단된다. 본 연구의 OFT에서 SPS group에 비해 SY를 투여한 group에서 중심공간을 지나는 횟수와 시간 모두 SY의 용량에 따라 증가하였으며, 중심공간을 지나치는 횟수의 경우 SPS group에 비해 SPS + SY450 group에서 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 이 결과를 통해 SY의 복용이 SPS로 인해 발생한 PTSD의 부적절한 반응인 자극에 대한 과장반응 및 공포에 따른 활동성저하를 개선시키고 적극성을 향상시키며 활동적으로 변화시켜 PTSD의 증상개선을 유도할 수 있다고 판단할 수 있다.

FST는 1978년 Porsolt에 의해 고안된 방법²³⁾으로 부동자세 및 시간의 감소를 통해 PTSD에서 언급되는 침울 및 절망에 대한 극복여부를 판단할 수 있다.²²⁾ FST는 행동에 의한 실망감 모형으로서 약물의 항우울 작용을 예측할 수 있는 타당한 방법으로 알려져 있으므로²²⁾, SY의 투여에 따른 행동변화를 관찰하면 PTSD에서의 SY의 유효성을 확인할 수 있을 것으로 판단된다. 본 연구에서의 FST에서 부동행동 시간(Immobility)은 SY를 투여한 group에서는 SPS group에 비해 SY의 용량에 따라 부동행동 시간이 감소하였으며 SPS + SY450 group의 경우 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 부동행동시간의 변화를 통해 물에 빠진 동물이 물에서 벗어나기 위한 시도를 포기했음을 의미하는 행동(Behavioral despair)이 SY를 투여했을

때 줄어든다는 사실을 볼 때, SY의 투여는 항 우울 효과 및 PTSD에서 드러나는 침울 및 절망감 극복에 효과가 있다고 판단할 수 있다.

쥐의 SPS 처리는 PTSD나 만성 스트레스와 유사한 경험습득과 단기 기억에 장애를 일으킨다. 이 모델에서, 높은 CORT 농도의 유지는 기억 능력을 감소시킴으로써 인지에 영향을 미치며, 이는 인간의 외상성 스트레스의 진행 또는 악화와 관련 될 수 있다. 즉, SPS 모델에서 높은 CORT 수준은 불안과 같은 행동을 유발하고, 외상성 스트레스의 진행과 상관 관계가 있는 HPA 축의 비정상적 조절을 일으킴으로써 불안을 유발할 수 있다.²⁴⁾ 본 연구에서 SY를 투여한 group에서는 SY의 용량에 따라 혈중 CORT 농도가 감소하였으며, 특히 SPS + SY450 group에서 혈중 CORT 농도가 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 본 연구에서 SPS 절차 적용 후 SY 치료는 혈중 CORT 농도를 유의하게 감소시켰고, 이를 통해 SPS에 의해 유도된 PTSD에 따른 기억능력 감소 및 인지기능의 변화를 개선시킬 수 있다고 판단된다.

임상적으로 serotonergic 시스템과 adrenergic 시스템의 변화는 정서 장애, 특히 두려움과 우울증과 관련되어 있다는 보고가 있다. 또한 스트레스를 받은 Rat의 뇌에서는 5-HT가 감소하고 세로토닌의 분해가 촉진되어 대사산물인 5-HIAA의 양이 증가한다는 보고도 위와 같은 설명을 뒷받침한다.²⁵⁾ 본 연구에서 5-HT의 농도는 SPS group에 비해 SY를 투여한 group의 경우 Medial prefrontal cortex, Striatum, Hippocampus, Amygdala에서 5-HT의 농도가 SY의 용량에 따라 증가하였으며, 고용량인 SPS + SY450 group의 경우 Hippocampus와 Amygdala에서 5-HT의 농도가 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). Fluoxetine (FLX)은 두뇌에서 세로토닌성 경로를 통해 5-HT 수준을 변화시킴으로써 두려움의 소실과 시냅스 가소성을 증가시킨다는 점이 알려져 PTSD 환자에게 많이 사용되지만, FLX과 같은 선택적 세로토닌 재흡수억제제는 체중 감소, 성기능 장애 및 강한 진정작용 등 정신병적 장애를 포함하는 부작용 또한 알려져 사용이 제한되고 있다.²¹⁾ 본 연구에서 고용량의 SY의 투여가 5-HT의 농도를 증가시키는 결과를 볼 때, SY의 투여가 현재 PTSD의 치료제로 사용되고 있는 FLX의 효과만큼 유효할 수 있다는 가능성을 확인 할 수 있었다.

급성 스트레스는 청반의 말단 영역에서 NE를 방출하여 NE의 결핍을 유발하고, 후에 TH와 같은 NE 생합성 효소의 발현 증가에 의해 후속적으로 보상된다.¹⁰⁾ 청반에서부터 기원하는 상행성 NE 축삭돌기는 Amygdala, Hippocampus, Medial Prefrontal Cortex를 포함하는 스트레스 반응과 관련된 많은 영역에 넓게 분포되어 있는데, 이 영역들은 스트레스를 다루는데 필요한 각성, 집중, 다른 많은 인지 심리적 변화에 중요하다고 여겨지는 영역이다.²⁶⁾ 따라서 스트레스에 의한 NE의 변화는 정서적인 변화에 중요한 역할을 하는데, 본 실험에서 SY를 투여한 group의 경우 SY의 용량에 따라 NE의 농도가 SPS group에 비해 증가한 것을 볼 때 SY가 NE의 회복에 도움이 될 수 있음을 알 수 있다.

DA의 기능 장애는 불안과 같은 행동에 관여하는 것으로 알려져 있다.²⁷⁾ Medial Prefrontal Cortex, Hippocampus, Striatum 및 Amygdala의 불안을 담당하는 영역 내의 DA 시스템의 기능부전으로 인해 불안과 같은 PTSD 증상이 재경험 된다.²⁸⁾ 또한 해당 영역의 DA 불균형은 PTSD 환자의 다른 뇌 영역에서의 기능 장애와도 관련이 있을 수 있다고 보고되었다. 이에 따라 PTSD로 인한 DA의 기능장애는 불안과 같은 행동에 기여할 수 있다.²⁷⁾ 본 실험에서 SY를 투여한 group에서는 SPS group에 비해 전반적으로 DA의 증가를 가져왔으며 특히 SPS + SY450 group의 경우 유의하게 DA가 증가되었다($P < 0.05$). 위의 NE, DA 실험을 토대로 볼 때, SY의 투여는 SPS로 유도된 NE, DA의 감소를 증가시켜 정서변화 및 불안 등 PTSD 증상의 재경험의 치료에 도움이 될 수 있을 것으로 판단된다.

CREB은 해마에서의 기억 형성에 기여하고 CREB에 의해 상향 조절되는 BDNF는 기억 기능에 주요하게 관여하는 적응성 신경세포 활성화(adaptive neuronal activations)에 중요한 역할을 한다.²⁹⁾ 최근의 연구에 의하면 해마의 체적이 PTSD 환자에게서 감소한다는 것을 발견했다.³⁰⁾ 해마에 존재하는 BDNF와 CREB이 중추 신경계(CNS)의 병리학적 반응에 중요한 역할을 하며 이들이 PTSD와 관련이 있다고 언급된다.³¹⁾ SPS로 처리했을 때, 뇌의 기억 기능을 손상시키고 CREB과 BDNF의 발현 감소와 같은 뇌의 신경퇴화징후를 유도하는 것으로 보고되므로²⁴⁾, 약물의 투여를 통한 CREB과 BDNF의 발현량의 변화를 관찰하면 기억능력 및 신

경세포의 회복을 판단할 수 있을 것이다. 본 연구에서 SY를 처치한 group에서 SPS group에 비해 증가됨을 확인할 수 있었으며 특히 SPS + SY450 group에서는 CREB과 BDNF 모두 유의하게 발현량이 증가하였다($p < 0.05$). 이 결과를 토대로 SY의 치료는 PTSD로 야기된 기억기능손상 및 신경퇴화를 막아 기억 및 인지기능회복에 도움이 될 수 있다고 판단된다.

PTSD 환자에게서 드러나는 무력감과 행동저하가 SY 투여를 투여했을 때, 체중 및 자당섭취량의 증가와 행동실험(FST, OFT)의 변화를 이끌어 내어 개선될 수 있을 것으로 판단되며, 감소된 5-HT의 양을 증가시키는 것을 볼 때, 불안, 우울과 같은 심리상태를 안정시킬 수 있으며, 증가된 CORT을 낮추고 감소된 BDNF 및 CREB의 발현을 증가시킴을 통해 인지 기능손상 및 기억능력 감소를 회복하여 PTSD의 치료에 효과가 있을 것으로 판단된다.

V. 결론

SPS를 처리하여 PTSD의 상태로 유도한 흰쥐에 柴胡加龍骨牡蠣湯을 투여하여 OFT, FST를 시행하여 PTSD에 대한 행동변화를 확인 한 후, 혈액 및 뇌에서 CORT, 5-HT, NE, DA를 ELISA로 측정하고 RT-PCR 과정을 통해 BDNF와 CREB의 발현량을 측정한 결과 SPS 모델로 유도된 PTSD모델에서 柴胡加龍骨牡蠣湯의 효과에 대해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 柴胡加龍骨牡蠣湯의 투여 후, 14일째 흰쥐의 체중 변화 및 자당섭취량은 SPS group에 비해 SPS + SY450 group에서 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).
2. 柴胡加龍骨牡蠣湯의 OFT의 효과는 중심공간에 머무는 횟수의 경우 SPS group에 비해 SPS + SY450 group에서 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 柴胡加龍骨牡蠣湯의 FST의 효과는 SPS group에 비해 부동행동시간이 SPS + SY450 group에서 유의하게 감소했다($p < 0.05$).
3. 柴胡加龍骨牡蠣湯의 혈장 CORT의 변화는 SPS group에 비해 SPS + SY450 group에서 유의하게 감소하였다($p < 0.05$).
4. 柴胡加龍骨牡蠣湯의 5-HT의 농도 변화는 Hippocampus, Amygdala에서 SPS group에 비해 SPS + SY450 group이 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

5. 柴胡加龍骨牡蠣湯이 Hippocampus에서 DA의 농도변화는 SPS group에 비해 SPS + SY450 group에서 유의하게 증가되었다($p < 0.05$).
6. 柴胡加龍骨牡蠣湯이 Hippocampus에서 BDNF 및 CREB의 발현효과는 SPS group에 비해 SPS + SY450 group에서 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 따라서 柴胡加龍骨牡蠣湯은 PTSD로 야기된 혈중 CORT을 낮추고, 감소된 5-HT 농도를 증가시키며 NE, DA의 증가와 BDNF, CREB의 발현량을 증가시켜 인지기능 및 기억저하를 회복시키고, 불안정한 정서상태를 회복시켜 PTSD 치료에 유효할 것으로 사료된다.

References

1. Min Seonggil. Choesinjeongsinuihak. 5th ed. Seoul:Iljogak. 2010;346-347.
2. Jeongukanuigwadaehak Singyeongjeongsingwa Gyogwaseopyeonchanwiwonhoe. Hanusingyeongjeongsingwahak. 2nd ed. Seoul:Jimmundang. 2012;227-234.
3. Jeong-Hyun Hwang, Jae-Sang Ko, Jae-Ik Bae, Byung-Soo Koo, Geun-Woo Kim. A Clinical Report of Three Patients with acute Stress Disorder, Post-Traumatic Stress Disorder Treated by Oriental Medical Treatments. J. of Oriental Neuropsychiatry. 2011;22(3):75-85.
4. Moon Junjeon, Ahn Gyuseok, Kim Seonghun, Eom Hyeonseop, Ji Gyuyong, Kim Jeongbeom, Park Jonghyeon. Sanghallonjeonghae. Seoul: KyungHee Univ. Chulpanguk. 2000;240-242.
5. Noh Uijun, Kang Haneun. Gobangyuchwi. 1st ed. Seoul:Gobang. 2009;404-405.
6. Woo-Chang Choi, Dae-Myung Park, Wee-Chang Kang, Sang-Ryong Lee, In-Chul Jung. Interim Report about The Effect of *Sihogayonggolmoryeo-tang* on the Anxiety of Hwa-byung. J. of Oriental Neuropsychiatry. 2012;23(4):133-152.
7. Seung-ho Seo, Hyeon-ju Yim, In-chul Jung, Sang-ryong Lee. The clinical study on 1 case of Patient with Tremor by Bok-Jin. Daejeon:



- Daejeon Univ. Hanuihak Yeonguso Nonmunjip. 2007;16(1):69-79.
8. Yong-Hyun Lee. 5 Cases Report of Climacteric Symptoms with Shihogayonggolmoryo-tang. THE J. OF ORIENTAL OBSTETRICS & GYNECOLOGY. 2013;26(1):121-134.
 9. Bo-yun Lee, Hyun-joong Lee, Jeong-wah Kim, Hyun-young Choi, Yeon-jin Kim, Seung-yeon Cho, Seong-uk Park, Chang-nam Ko, Jung-mi Park. The Efficacy of *Shihogayonggolmoryo-tang* in Combating Excessive Sweating in Heart Disease Syndrome, Called 心病 in Korean Medicine. J. Int. Korean Med. 2016;37(4):601-608.
 10. Serova LI, Tillinger A, Alaluf LG, Laukova M, Keegan K, Sabban EL. Single intranasal neuropeptide Y infusion attenuates development of PTSD-like symptoms to traumatic stress in rats. Neuroscience. 2013;236:298-312.
 11. Mao QQ, Ip SP, Ko KM, Tsai SH, Che CT. Peony glycosides produce antidepressant-like action in mice exposed to chronic unpredictable mild stress: effects on hypothalamic-pituitary-adrenal function and brain-derived neurotrophic factor. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2009;33(7):1211-1216.
 12. Hsiao YT, Yi PL, Li CL, Chang FC. Effect of cannabidiol on sleep disruption induced by the repeated combination tests consisting of open field and elevated plus-maze in rats. Neuropharmacology. 2012;62(1):373-384.
 13. Lee B, Shim I, Lee HJ, Yang Y, Hahm DH. Effects of acupuncture on chronic corticosterone-induced depression-like behavior and expression of neuropeptide Y in the rats. Neurosci Lett. 2009;453(3):151-156.
 14. Lee B, Sur B, Cho SG, Yeom M, Shim I, Lee H *et al.* Wogonin Attenuates Hippocampal Neuronal Loss and Cognitive Dysfunction in Trimethyltin-Intoxicated Rats. Biomol Ther. 2016;24(3):328-337.
 15. Lee Ji-eun, Cheon Hea-sun, Ryu Chung-ryul, Cho Myoung-rae and Ryu Mi-seon. Comparative Study of General Oriental medical Treatment and *Damjeonggyeok* Acupuncture on Pain and Post-Traumatic Stress Disorder due to Traffic Accident. The J. of Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 2009; 26(6):151-159.
 16. Dong-Il Kim, Cha-Nam Kwon, Tae-Kyun Lee. A study about chronic pelvic pain as a post traumatic stress disorder which produced by rape. THE J. OF ORIENTAL OBSTETRICS & GYNECOLOGY. 2003;16(2):200-214.
 17. Sunhong Kim, Yunseub Sim. A Case With Traffic Accident Related Post-traumatic Stress Disorder. J. of Oriental neuropsychiatry. 2003;14(1):175-181.
 18. Kwon CY, Lee B, Chung SY, Kim JW, Shin A, Choi YY *et al.* Herbal medicine Sihogayonggolmoryeotang or Chai-Hu-Jia-Long-Gu-Mu-Li-Tang for the treatment of post-stroke depression: A protocol for a systematic review and meta-analysis. Medicine. 2018;97(38):e12384.
 19. KOREA INSTITUTE OF ORIENTAL MEDICINE. Uuljeung Hanuiimsangjillyojichim. Seoul:Elsevier Korea. 2016;82-4.
 20. Kang MG, Kim YH, Im AR, Nam BS, Chae SW, Lee MY. Antidepressant-like Effects of Schisandra chinensis Baillon Water Extract on Animal Model Induced by Chronic Mild Stress. Korean J Med Crop Sci. 2014;22(3):196-202.
 21. Lee B, Lee H. Systemic Administration of Curcumin Affect Anxiety-Related Behaviors in a Rat Model of Posttraumatic Stress Disorder via Activation of Serotonergic Systems. Evid Based Complement Alternat Med. 2018; 2018:9041309.
 22. Eun-Kyung Lee, Dae-Kyoo Chung. Studies on the Behavioral Pharmacology of the Antidepressant Effect of *Polygala japonica* Houtt. J. of Oriental Neuropsychiatry. 2011; 22(2):129-146.

23. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol.* 1978;47(4):379–391.
24. Lee B, Shim I, Lee H, Hahm DH. Melatonin ameliorates cognitive memory by regulation of cAMP–response element–binding protein expression and the anti–inflammatory response in a rat model of post–traumatic stress disorder. *BMC Neurosci.* 2018;19(1):38.
25. Yun–Sun Lyu, Jong–Min Park, In–Sung Ko, Hyoung–Won Kang, Yeoung–Su Lyu. The Anxiolytic, Anti–Depressive Effects Using *Bambusae Caulis in Taeniam* Extract in Rat Chronic Immobilization Stress Model. *J. of Oriental Neuropsychiatry.* 2013;24(3):293–308.
26. Valentino RJ, Van Bockstaele E. Convergent regulation of locus coeruleus activity as an adaptive response to stress. *Eur J Pharmacol.* 2008;583(2–3):194–203.
27. Lee B, Shim I, Lee H, Hahm DH. Berberine alleviates symptoms of anxiety by enhancing dopamine expression in rats with post–traumatic stress disorder. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2018;22(2):183–192.
28. Lin CC, Tung CS, Liu YP. Escitalopram reversed the traumatic stress–induced depressed and anxiety–like symptoms but not the deficits of fear memory. *Psychopharmacology.* 2016;233(7):1135–1146.
29. Vaynman S, Ying Z, Gomez–Pinilla F. Interplay between brain–derived neurotrophic factor and signal transduction modulators in the regulation of the effects of exercise on synaptic–plasticity. *Neuroscience.* 2003;122(3):647–657.
30. Li X, Han F, Liu D, Shi Y. Changes of Bax, Bcl–2 and apoptosis in hippocampus in the rat model of post–traumatic stress disorder. *Neurol Res.* 2010;32(6):579–586.
31. Takei S, Morinobu S, Yamamoto S, Fuchikami M, Matsumoto T, Yamawaki S. Enhanced hippocampal BDNF/TrkB signaling in response to fear conditioning in an animal model of posttraumatic stress disorder. *J Psychiatr Res.* 2011;45(4):460–468.