



Original Article / 원저

黃芪가 흰쥐에서 SPS로 유도된 PTSD에 미치는 효과

민예은¹, 이태희^{2*}

¹이비안 한의원

²가천대학교 한의과대학 방제학교실

Effect of Astragali Radix on SPS-induced PTSD in Rats

Ye-Eun Min¹, Tae-Hee Lee^{2*}

¹Ebian Oriental Medical Clinic

²Department of Formulae Pharmacology, College of Korean Medicine, Gachon University

ABSTRACT

Objective : This study is conducted to investigate the effect of Astragali Radix on Post Traumatic Stress Disorder(PTSD) induced by the Single Proposed Stress(SPS).

Methods : The experiment was conducted with five groups; SAL groups with only saline treatment, SPS group, SPS + ARX25 group, SPS + ARX50 group, and SPS + ARX100 group. After applying SPS, saline and ARX were administered for 14 days to identify the change of body weight, sucrose intake amount, and behavioral changes through Open Field Test(OFT) and Forced Swimming Test(FST). After the behavioral experiment, plasma corticosterone levels, serotonin, norepinephrine and dopamine concentrations were measured by enzyme-linked immunoassay in medical prefrontal cortex, hippocampus, and amygdala. Brain-derived neurotrophic factor(BDNF) in the hippocampus was measured using Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction.

Results : Weight change has significantly decreased in the SPS group compared to the SAL group($p<0.05$). On day 14, the sucrose intake of rats has significantly increased in the SPS + ARX100 group compared to the SPS group($p<0.05$). In OFT, the number of staying in the central space has significantly increased in the SPS + ARX100 group($p<0.01$). In FST, immobility has significantly decreased in SPS + ARX50 group and SPS + ARX100 group($p<0.05$). The concentration of serotonin,

dopamine and BDNF expression has increased significantly in SPS + ARX100 group compared to SPS group($p < 0.05$)

Conclusions : In the SPS-induced PTSD experiment, ARX increased sucrose intake and the numbers of crossing in the central zone space in OFT, decreased immobility time in FST, and increased concentration of serotonin, dopamine, and BDNF. It can be postulated that the ARX could be effective for the treatment of PTSD.

Key words : Astragali Radix, SPS, PTSD, behavior disorder, BDNF.

I. 서론

외상 후 스트레스 장애(Post Traumatic Stress Disorder, PTSD)는 전쟁, 교통사고 등 흔치 않은 심각한 사건으로 인한 감정적 스트레스를 경험하였을 때 나타나는 장애로¹⁾ 회상을 통한 재경험, 사건을 떠올리게 하는 활동이나 장소를 회피 혹은 둔감, 지속적으로 민감상태에 있는 것이다. 이와 더불어 불안, 우울, 집중곤란으로 일상생활에서 어려움을 겪게 되므로²⁾ 삶의 질을 떨어뜨리고, 개인 및 가족에게 고통과 부담을 주는 질환이다. PTSD의 평생유병률은 국내에서는 1.6%로 미국 6.8%, 캐나다 9.2%에 비해 낮은 수치를 보이지만³⁾, 건강보험심사평가원의 자료에 따르면 PTSD로 진단받은 환자수가 2016년 7,896명에 비해 2020년 11,133명으로 증가하는 추세이다⁴⁾. PTSD의 치료는 주로 심리치료와 약물치료로 이루어진다. 심리치료는 인지행동치료, 인지치료, 인지처리치료, 노출치료 등이 있으며, 약물로는 fluoxetine, paroxetine, sertraline 등의 사용이 권고되고 있다⁵⁾. 다만, 심리치료는 복합외상일 때는 한계가 있고, 트라우마에 대한 재노출이 증상악화를 유발할 가능성에 대한 불안감 때문에 참여도가 낮다는 한계가 있다⁶⁾. 약물치료의 경우 심리치료에 이어 이차적으로 권고되는 것으로, 우울장애나 다른 불안장애에 비해 약물치료의 효과가 적고⁷⁾, 사용 시 불면증, 체중증가 등의 부작용⁸⁾과 중단 시 금단 증상에 대한 우려가 있기에⁹⁾ PTSD를 효과적으로 개선시킬 수 있는 새로운 치료제 개발이 필요한 실정이다.

한의학에서 PTSD는 <<素問 去痛論>>¹⁰⁾에서 쯔으로 인한 장부기기의 승강실상(乘降失常)인 공즉기하(恐則

氣下)로 접근할 수 있다. PTSD 환자에게서 나타나는 가슴이 철렁 내려앉음, 두근거림, 기능성 위장장애¹¹⁾의 증상이 공즉기하(恐則氣下)에 해당된다고 볼 수 있다. 黃芪(Astragali Radix, ARX)는 콩과에 속한 다년생 본초인 *Astragalus membranaceus* Bunge의 周皮를 거의 벗긴 뿌리를 건조한 것으로 한의학에서는 補中益氣 효능이 있어 일체의 氣衰血虛證의 치료에 사용되어 왔다¹²⁾. 黃芪의 약리작용으로는 뇌신경보호효과¹³⁾, 항산화 효과¹⁴⁾, 항노화 효과¹⁵⁾ 등이 보고된 바 있다. 黃芪가 主藥으로 사용된 防己茯苓湯은 항우울 효과를 보이는 것으로 밝혀진 바 있으나¹⁶⁾ 黃芪의 PTSD 동물 모델의 효과에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 이에 본 연구에서는 일회성의 지속적 스트레스(Single Prolonged Stress, SPS)로 유도된 PTSD 동물모델에 黃芪 추출물을 투여하여 PTSD에 대한 효과를 파악하고자 하였다. 흰쥐의 체중 및 자당섭취량의 변화를 확인하고, 개방장 행동검사(Open Field Test, OFT), 강제수영부하실험(Forced Swimming Test, FST)을 진행하였다. 실험을 마친 후 흰쥐를 decapitation 시켜, 혈장 코르티코스테론(corticosterone, CORT)의 농도 변화, Medial Prefrontal Cortex, Hippocampus, Amygdala의 serotonin(5-HT)의 농도와 Hippocampus의 Norepinephrine(NE) 및 Dopamine(DA)의 농도를 Enzyme-linked immunoassay (ELISA)로 측정하였다. Hippocampus에서 뇌유래 신경성장인자(Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF) 발현을 역전사 중합효소 연쇄반응(Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)을 이용해 측정하였다. 이상의 실험으로 유의미한 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

*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 : February 28, 2022 / Revised : April 5, 2022 / Accepted : May 18, 2022



II. 연구방법

1. 실험 재료 및 방법

1) 실험동물

연구에 사용된 실험동물은 Samtaco Animal Co.(Seoul, Korea)에서 구입하였고 7주령의 무게 200~220 g의 수컷 Sprague-Dawley 쥐 36마리를 샘타코(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 동물이 실험실에 도착한 7일 이후, 환경에 적응시켜 모든 실험에 사용하였다. 는 각각 5마리 내로 나누어 플라스틱 사육 상자에 길렀다. 실험실 온도는 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도는 $55 \pm 15\%$ 가 유지 되도록 하였으며, 인공 햇빛을 매일 12시간 동안 쬐어 주었다. 실험기간 동안 흰쥐에게는 살균된 물과 고품질 사료를 무제한으로 공급하였다.

2) 약재

본 연구에 사용된 국산 황기는 동우당제약(Dongwoodang Pharmacy Co., Ltd, Yeongcheon, Korea)에서 구입하였다. 200 g의 건조되지 않은 황기를 잘게 쪼개어 2 L의 85% 메탄올 수용액에 실온($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$)에서 초음파 처리를 하여 세 차례 추출하였다. 추출액을 Whatman 여과지(No. 1 filter paper)로 걸러서 회전형 감압농축기 Rotavapor® R-124(BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Switzerland)와 재순환 역화장치(EYELA Co., CCA-1110 45 Tokyo Rikakikai, Tokyo, Japan)을 이용하여 농축하였고, 이를 통하여 얻은 농축액을 동결건조기(EYELA CCA-1110 Tokyo Rikakikai CO., LTD., Tokyo, Japan)을 이용하여 건조분말을 얻었다. 건조시켜 얻은 추출물은 18.2 g으로 수율은 9.1%였다.

2. 실험

1) 실험군

실험쥐는 무작위로 몸무게에 따라 6마리씩 여섯 군으로 나누었다. SPS를 처치하지 않고 약재 대신 생리식염수를 주사한 군(0.9% NaCl, i.p., SAL group, n=6), SPS를 처치하고 14일 동안 생리식염수를 복강 투여한 군(0.9% NaCl, SPS group, n=6), SPS를 처치하고 14일 동안 25 mg/kg의 ARX을 주사한 군(SPS + ARX25 group, n=6), SPS를 처치하고 14일 동안 50 mg/kg의 ARX를 주사한 군(SPS + ARX50 group, n=6), SPS를 처치하고 14일 동안 100 mg/kg의 ARX를 주사한 군

(SPS + ARX100 group, n=6)으로 나누었다. ARX나 식염수는 14일간 복강 내로 주사하였다. ARX는 0.9% 생리식염수에 녹여서 복강 내 주사하였다.

2) 일회성의 지속적 스트레스(Single Prolonged Stress, SPS)

다양한 조건에서 SPS에 의해 유도된 최적의 PTSD 동물모델을 확립하기 위해 정해진 스트레스의 강도 및 처치 시간의 기준¹⁵⁾에 맞추어 진행되었다. SPS는 2시간 동안 쥐가 움직이지 못하도록 투명 플라스틱 튜브($20 \times 7 \text{ cm}$)로 구속스트레스를 가했다. 이후 지름 20 cm \times 직경 50 cm의 수조에 25°C 온도의 물을 높이 30 cm로 채우고 20분 동안 강제수영을 진행했다. 수영 후 마른 수건으로 물기를 닦은 실험쥐들은 15분 동안 휴식을 취한 다음 의식을 잃지 않을 정도로 2~3% isofluraane에 5분 미만으로 노출시켰다. 에테르에 노출되었다. 그 후 실험에 사용된 흰 쥐들은 각자의 사육 상자에 넣었다. SPS에 사용된 실험동물은 다중행동 테스트로 인한 기저효과를 방지하기 위해 각 실험에 독립적으로 준비되었다. 실험 조각이 있을 때까지 방해 받지 않는 상태를 7일간 유지하였다. 모든 실험과 행동 측정 과정은 다음과 같다(Fig. 1).

3) 체중관찰

SPS 처리하기 시작한 날부터 14일 동안 매일 Digital mass meter(Zhengzhou Pushton electronic, China)를 이용하여 체중을 관찰하였다.

4) 자당 섭취량 측정

실험에 사용된 모든 흰 쥐에 대해 2주 동안 매주 한 차례씩 1% 자당용액 섭취량을 측정하였다. 10시간 동안 물, 먹이를 박탈한 상태에서 1% 자당용액에 1시간 동안 노출시켰으며, 노출 전과 후의 용기 무게의 차이를 기록하여 자당 용액의 섭취량을 측정하였다¹⁶⁾.

$$\text{자당선호도 (\%)} = (\text{자당 섭취량} \times 100) / (\text{물 섭취량} + \text{자당 섭취량})$$

5) 개방장 실험(Open Field Test, OFT)

SPS 처리가 흰쥐의 활동에 미치는 영향을 알기 위해, 개방장(Open field)에서의 행동을 관찰하였다. OFT는 흰쥐에서 탐색행동과 일반활동의 보편적인 측정방법으로

로서 SPS 처리된 흰쥐의 활동에 미치는 영향을 알 수 있다. 먼저 SPS 처리한 뒤, 개방장에서 흰 쥐의 행동을 관찰하였고, 약물 투여 4주 후와 행동을 비교하였다. 실험에 사용된 개방장은 16개의 정사각형 격자(4 × 4 cm 정사각형, 15 cm/side) 바닥이 있는 나무상자(60 × 60 × 30 cm)이며 가운데 격자 4칸은 중심공간이며, 중심 공간을 제외한 12개의 공간은 주변공간으로 간주하였다. 준비된 개방장에서 5분 동안 보행활동(locomotion)을 비롯한 흰쥐의 대표행동을 관찰하였다. 보행활동(locomotion)이란 바닥의 격자모양의 구획선을 기준으로 5분 동안의 가로 및 세로 이동빈도를 기록한 것이다. 센터링(centering)점수는 흰 쥐의 통과 구역이 어느 위치에 해당하는지에 따라 매겨졌다. 주변공간의 움직임은 주변 (peripheral)접근, 중심공간의 움직임은 중심 (central)접근으로 정의하였다.

6) 강제수영부하실험(Forced Swimming Test, FST)

FST는 항우울제의 효과를 측정하기 위해 쥐에게 사용되는 동물 행동 실험으로 흰쥐가 바닥에 뒷발이나, 꼬리가 닿을 수 없는 정도의 충분한 양의 물이 담긴 수조에 흰쥐를 넣어서 관찰한다. 본 실험에서는 섭씨 25° C 온도에서 지름 20 cm × 직경 50 cm의 원통형 수조에 30 cm 높이의 물을 채워 진행되었다. 실험 15일째 되는 날, 모든 실험군의 흰쥐에게 수조에서 15분 동안 FST를 시행하였다. 실험 중 탈출 행동(등반과 수영 운동)과 부동 행동을 측정했다. 부동 행동 시간은 5분간의 실험으로 정량화되었다. 등반운동(climbing)은 발로 아크릴 원통형 탱크 위로 올라가는 상태를 말하며, 수영운동(swimming)은 쥐가 수면 위에서 주위를 움직이며 수조의 다른 4분의 1 구역으로 이동하는 것으로 정의되었다. FST가 끝난 후, 흰쥐들을 수조에서 꺼내 수건으로 말렸다가 다시 사육 상자 안으로 집어넣었다. 실험을 진행한 수조의 물은 각 실험동물마다 교체되었다. FST에서 흰쥐들의 행동은 수조 상단에 있는 비디오 카메라를 사용하여 기록되었다.

$$\text{부동 행동 (분)} = \text{총 실험 시간 (5분)} - (\text{수영 운동 시간} \\ - \text{등반 운동 시간})$$

7) 혈장 Corticosterone, Serotonin, Norpinephrine, Dopamine (혈장 CORT, 5-HT, NE, DA) 측정
실험에 참여한 모든 흰 쥐들은 행동 실험 후 마취 없

이 decapitation 하였고, 뇌를 제거하였다. 혈장 CORT 수치를 측정하기 위해 복부 대동맥에서 혈액샘플을 채취하였다. 채취한 혈액은 10분간 4000Xg에서 원심분리하고 혈장을 채취하여 -20° C에서 보관하였다. 5-HT를 분석하기 위해 추출한 뇌 샘플에서 Hippocampus, Medial Prefrontal Cortex, Amygdala을 분리했다. Hippocampus에서 NE와 DA를 측정하였다. 추출된 혈장 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)를 사용하여 DA rabbit polyclonal DA antibody (Abcam, Inc., Cambridge, MA) 프로토콜을 이용하여 ELISA로 측정하였다. 샘플을 접시에 옮겨 실온에서 1 시간 동안 공기에 노출되어 배양했다. 샘플은 완충용액으로 여러 번 세척하여 발색시켰으며, optical density를 100 nm에서 ELISA reader(MultiRead 400; Authos Co., Vienna, Austria)로 측정하였다.

8) 총 RNA 추출 및 역전사 중합효소 연쇄반응

총 RNA는 trisol(Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, USA) 시약을 이용하여 흰 쥐의 뇌조직으로부터 분리하였다. 최종 부피를 50 μl로 조정하기 위해 DEPC-DW를 이용하여 역전사를 실시하고, 총 RNA로 RT-premix (Bioneer, Seoul, Korea) 혼용액을 사용하여 cDNA를 합성하였다. RT 반응은 65° C에서 RNA로 10분간 변성시키고, cDNA를 합성하기 위해 42° C에서 1시간 동안 역전사과정을 거치고, 95° C에서 MuLV reverse transcriptase를 불활성화시키는 과정이 5분간 진행되었다. PCR은 10 mM Tris-Hcl, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 1 mM dNTP, 1 단위 Taq 중합효소, 10 pmol의 5'과 3'의 BDNF prime, RT 제품을 추가하여 수행되었다. PCR 사이클은 94° C, 5분 동안 변성, 57° C에서 30초 동안 결합, 72° C에서 30초 동안 신장시켜 PCR product를 구했다. GAPDH는 internal control에 의해 수행되었다. 이렇게 얻은 제품은 1.2%의 agarose gel에서 전기영동(Electrophoresis)하여 UV(Kodak, US)로 관찰하였다.

3. 통계 처리

모든 측정은 맹검하여 시행하였고, 그림에서(평균값 ± 표준오차)로 표시하였다. 각 실험군의 통계학적 분석은

windows용 SPSS(Version 13.0; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하고 사후 Tukey's post-hoc test로 검정하였다. P value 가 0.05 미만일 때 통계적으로 유의미한 것으로 간주하였다.

III. 결과

1. SPS에 노출된 흰쥐의 체중과 자당 섭취량에 대한 黃芪(Astragali Radix, ARX)의 효과

SPS로 유도된 PTSD 동물모델에서 ARX를 투여한 후 체중(body weight)과 자당 섭취량(sucrose preference)의 변화를 측정하였다.

SAL 군의 체중은 실험 1일째 100.0 ± 0.0 g에서 14일째 137.6 ± 2.3 g 으로 1일째에 비해 총 137.6 ± 2.3 % 증가하였고, 같은 기간 SPS 군의 체중은 1일째 100.0 ± 0.0 g, 14일째 116.7 ± 3.6 g으로 116.7 ± 3.6 % 증가하여 SAL 군에 비해 증가량이 유의하게 감소하였다(p<0.05). SPS + ARX25 군은 1일째 100.0 ± 0.0 g, 14일째 117.8 ± 7.1 g으로 1일째에 비해 117.8 ± 7.1 % 증가하였으며, SPS + ARX50 군은 1일째 100.0 ± 0.0 g, 14일째 131.0 ± 2.3 g 으로 1일째에 비해 131.0 ± 2.3 % 증가하였다. SPS + ARX100 군에서는 1일째 100.0 ± 0.0 g, 14일째 132.2 ± 3.0 g 으로 1일째에 비해 몸무게가 132.2 ± 3.0 % 증가하여 14일째 SPS 군과 비교하였을 때 ARX 투여량과 비례하여 체중이 증가하는 경향성을 보였으나 유의성은 보이지 않았다(Fig. 2).

자당 섭취량을 측정한 결과, 1일째 모든 실험군에서는 유의한 차이를 보이지 않았으나, 14일째 SAL 군에서 86.2 ± 0.9 %, SPS 군에서 62.6 ± 4.9 % 로 SAL 군에 비해 유의한 차이를 보였다(p<0.05). 또한 14일째 모든 ARX 투여군에서 SPS 군에 비해 자당 섭취량이 증가하는 경향을 보였으며, SPS + ARX100 군에서는 자당섭취량이 84.5 ± 3.7 % 로 SPS 군에 비해 유의하게 증가하였다(p<0.05, Fig. 2).

2. OFT에서의 黃芪의 효과

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

중심공간을 지나치는 센터링 횟수는 SAL 군에서 17.00 ± 0.93 회인데 SPS 군은 10.33 ± 1.38 회로

SAL 군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.01). SPS + ARX25 군을 제외하고 ARX를 투여한 군에서 SPS 군에 비해 센터링 횟수가 전반적으로 증가하였으며, 특히 SPS + ARX100 군에서는 16.00 ± 1.21 회로 SPS 군에 비해 유의하게 횟수가 증가하였다(p<0.01). 개방장에서 주변 공간(peripheral zone)으로 이동한 횟수에서는 SAL 군과 SPS 군, ARX를 투여한 군 간 유의한 차이가 보이지 않았다.

중심공간에 머무른 시간의 경우 SAL 군의 17.42 ± 2.04 %에 비해 SPS 군에서는 6.77 ± 1.2 8%로 유의하게 감소하였다(p<0.05). 주변 공간에서 머무른 시간의 경우 SAL 군과 SPS 군, ARX를 투여한 군 모두 유의한 변화를 확인할 수 없었다(Fig. 3).

3. FST에서 黃芪의 효과

SPS로 유도된 PTSD 동물모델에서 ARX25를 투여한 후 강제수영부하실험을 시행하여 행동변화를 측정하였다.

부동행동시간(Immobility time)은 SAL 군의 29.2 ± 3.2 초에 비해 SPS 군에서 75.8 ± 14.9 초로 유의하게 증가하였다(p<0.01). SPS + ARX25 군은 54.2 ± 8.8 초로 SPS 군에 비해 부동행동 시간이 감소하였으며, SPS + ARX50 군과 SPS + ARX100 군에서 각각 40.7 ± 1.8 초, 31.5 ± 6.63 초로 SPS 군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05). 등반운동시간(climbing time)은 SAL 군에서 57.2 ± 11.9 초에 비해 SPS 군에서는 31.2 ± 11.2 초로 감소하였으며, SPS + ARX25 군에서 37.5 ± 13.4 초, SPS + ARX50 군에서 51.8 ± 13.1 초로 SPS 군에 비해 증가하였으나 유의성은 보이지 않았다. 수영운동시간(swimming time)은 SAL 군과 SPS 군, ARX를 투여한 군 간에 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 4).

4. 혈장 CORT의 농도변화에 대한 黃芪의 효과

SAL 군의 혈장 CORT의 농도는 101.33 ± 23.45 ng/ml 인데 비해 SPS 군은 207.33 ± 36.56 ng/ml 로 유의하게 증가하였다(p<0.05). SPS + ARX25 군에서 198.00 ± 23.44 ng/ml, SPS + ARX50 군에서 142.67 ± 6.36 ng/ml, SPS + ARX100 군에서는 150.00 ± 9.87 ng/ml 로 SPS 군에 비해 ARX의 용량에 따라 혈장 CORT의 농도가 감소하는 경향을 보였으나, 유의성은 없었다(Fig. 5).

5. Medial Prefrontal Cortex, Hippocampus, Amygdala에서 5-HT의 농도에 대한 黃芪의 효과

SPS로 유도된 PTSD 동물모델에 ARX를 투여한 후 뇌의 Medial Prefrontal Cortex, Hippocampus, Amygdala에서 5-HT의 농도를 측정하였다.

Medial Prefrontal Cortex에서 5-HT의 농도는 SAL 군에서 206.67 ± 39.57 ng/mg인데 반해 SPS 군의 경우 108.67 ± 23.10 ng/mg으로 SAL 군에 비해 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). 또한 SPS + ARX25 군에서는 113.33 ± 19.13 ng/mg, SPS + ARX50 군에서는 156.00 ± 17.78 ng/mg로 증가하였으나 통계적으로 유의하지 않았고, SPS + ARX100 군에서는 180.67 ± 32.67 ng/mg으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). Amygdala에서의 5-HT 농도는 SAL 군에서 219.33 ± 12.77 ng/mg, SPS 군에서 70.00 ± 24.85 ng/mg으로 SAL 군에 비해 유의하게 감소하였고($p < 0.05$), SPS + ARX25 군에서 82.00 ± 16.17 ng/mg, SPS + ARX50 군에서 96.67 ± 31.67 ng/mg으로 SPS 군에 비해 증가하였으나 통계적인 유의성은 없었다. SPS + ARX100 군에서는 191.33 ± 4.81 ng/mg로 SPS 군에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). Hippocampus에서 5-HT 농도는 SAL 군에서 266.00 ± 9.87 ng/mg, SPS 군에서는 99.33 ± 22.04 ng/mg으로 SAL 군에 비해 감소하였으나 통계적인 유의성은 없었다. SPS 군에 비해 SPS + ARX25 군에서 149.33 ± 23.10 ng/mg, SPS + ARX50 군에서 151.33 ± 26.03 ng/mg로 증가하였고, SPS + ARX100 군에서는 232.00 ± 26.86 ng/mg으로 증가하였으나 유의하지 않았다(Fig. 6).

6. Hippocampus에서 NE 및 DA의 농도에 대한 黃芪의 효과

SPS로 유도된 PTSD 동물모델의 뇌에서 ARX 투여에 따른 NE와 DA의 발현량을 측정하였다. NE의 경우 SAL 군에서 221.33 ± 14.44 ng/mg, SPS 군에서 98.67 ± 25.10 ng/mg로 SAL 군에 비해 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$). SPS + ARX25 군에서 89.33 ± 29.54 ng/mg, SPS + ARX50 군에서 162.67 ± 13.68 ng/mg, SPS + ARX100 군에서는 172.67 ± 15.07 ng/mg로 ARX의 투여량에 비례하여 증가하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의성은 없었다(Fig. 7).

DA의 경우 SAL 군에서 89.67 ± 15.17 ng/g, SPS 군에서 31.00 ± 5.13 ng/g로 SAL 군에 비해 유의하게

감소하였다($p < 0.01$). SPS + ARX25 군에서 43.33 ± 6.17 ng/g, SPS + ARX50 군에서 55.67 ± 5.81 ng/g로 SPS 군에 비해 증가하였으나 통계적으로 유의하지 않았다. SPS + ARX100 군에서 DA는 81.33 ± 3.18 ng/g으로 SPS 군에 비해 유의미하게 증가하였다 ($p < 0.05$, Fig. 7).

7. Hippocampus에서 BDNF 발현량에 대한 黃芪의 효과

SPS로 유발한 PTSD 동물모델에 ARX 투여 후 hippocampus의 BDNF의 발현량을 측정한 결과, SAL 군에서 32.07 ± 2.31 %에 비해 SPS 군에서는 14.09 ± 3.43 %로 유의하게 감소하였으며($p < 0.05$), SPS + ARX25 군에서 22.45 ± 2.76 %, SPS + ARX50 군에서는 23.78 ± 5.11 %로 ARX의 용량에 따라 증가하였으나 통계적으로 유의하지 않았다. SPS + ARX100 군에서 BDNF 발현량은 30.08 ± 0.48 %로 SPS군에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$, Fig. 8).

IV. 고찰

보건복지가족부가 발표한 정신질환실태조사(2016)에 따르면 외상 후 스트레스장애의 평생유병률은 1.5 %, 일년유병률은 0.5 %로 공황장애의 평생유병률 0.5 %, 일년유병률 0.2 % 보다 높은 수치를 보이고 있어, PTSD로 고통받는 사람들이 적지 않다는 것을 알 수 있다¹⁾. 외상(trauma)이란 전쟁, 사고, 자연재앙, 폭력 등 생명을 위협하는 충격적인 경험을 의미하는 것으로 PTSD는 심각한 외상을 보거나 직접 겪은 후에 나타나는 불안 및 우울을 동반한 강렬한 정서장애를 말한다¹⁷⁾.

PTSD에 대한 서양의학적 치료로는 주로 약물치료와 정신치료가 사용된다⁵⁾. 약물치료로는 선택적 세로토닌 재흡수 차단제(SSRI, Selective Serotonin Reuptake Inhibitor) 계통의 우울증 치료제가 사용되거나 메스꺼움, 불면증, 성욕감퇴, 체중증가 등의 부작용이 보고되었다⁸⁾. 정신치료로는 인지행동치료, 지속노출치료 등이 있지만 불안, 공포, 우울장애 등이 공존할 때와 복합외상일 때는 치료 한계가 있다. 이러한 문제점을 보완하기 위해 최근에는 요가, 명상, 최면 등을 활용한 통합적 접근이 시도되고 있다⁷⁾.

한의학에서 PTSD는 주요증상 고려 시 怔으로 인한 七情傷, 驚悸怔忡, 氣鬱, 脫營으로 접근할 수 있다¹⁸⁾. 이



등의 연구¹⁷⁾에서는 대표적인 한방정신요법인 이정변기요법(移精變氣療法)과 마음챙김명상을 병행하여 치험례를 보고하였고, 김 등은⁷⁾ 한방정신요법 기반 심리치료 프로그램을 개발하여 그 유효성을 검증하였으나 약물치료에 대해서는 연구가 부족한 실정이다.

한의학에서 PTSD를 정확하게 명시하는 증후는 없으나 PTSD 환자에게서 나타나는 주요 증상인 가슴이 철렁 내려앉음, 두근거림, 기능성 위장장애⁹⁾의 증상이 쯔으로 인한 장부기기의 승강실상(乘降失常)인 공즉기하(恐則氣下)¹⁰⁾에 해당된다고 볼 수 있다. 쯔은 이미 알고 있는 것에 대한 두려움으로 외상 후 회상을 통한 재경험으로 느끼게 되는 감정 장애로 해석할 수 있다. 黃芪는 성미가 甘溫하여 효능이 脾肺에 있어 補脾益氣하는 가운데 陽氣를 承擧시키고, 補氣升陽하여 元氣가 下陷한 것을 끌어올리고 精氣를 고무시키며, 陽氣를 溫運케하는 효능이 있다¹²⁾. 이에 본 연구에서는 黃芪의 氣를 끌어올리는 효능이 PTSD 환자에게서 나타나는 공즉기하(恐則氣下) 증상에 효과적일 것으로 기대하고 실험을 진행하였다.

SPS로 유도된 PTSD 동물모델에 黃芪 추출물을 투여한 결과, SPS군에 비해 ARX를 투여한 군에서 체중 및 자당섭취량이 증가하였고, SPS+ARX 100군에서는 유의하게 자당섭취량이 증가하였다(Fig. 2). 자당 섭취량의 변화는 식욕 및 체중의 변화와 직접적인 연관이 있으며, PTSD의 주요증상인 우울, 불안과 같은 정신적 스트레스 상황에 대한 확인 지표이다¹³⁾. 자당선호도의 감소는 우울증에서 나타나는 쾌감에 대한 반응 상실 행동으로, 식욕 및 자당섭취량의 감소, 체중의 감소를 유발한다^{19,20)}. 이를 통해 ARX의 투여가 SPS로 유도된 우울, 불안과 정서증상 개선에 효과가 있을 것으로 생각할 수 있다.

OFT는 흰 쥐의 보행활동량을 측정하고, 이를 통해 공포, 불안의 정서반응과 흰쥐의 행동 간에 상관관계를 도출하는 실험방법이다²¹⁾. PTSD는 외상상황을 떠올렸을 때, 얼어버리는 듯한 행동을 보인다. 이는 SPS 노출에서 외상 관련 자극에 대해 과민반응, 공포반응으로 흰 쥐의 보행 행동량이 감소, 중심 공간에 머무르는 횟수와 시간을 감소시키는 것과 유사하다²²⁾. 본 연구에서는 PTSD로 유도된 흰 쥐에 ARX를 투여하여 OFT에서 흰 쥐가 중심 공간에 머무르는 횟수와 시간을 유의하게 증가시켰다(Fig. 3). 이러한 결과를 통해 ARX가 SPS에 의한 과민반응과 공포, 불안과 같은 정서적 스트레스를

적극적으로 감소시키고 활동량을 증가시키는 데 효과적일 것으로 사료된다. FST는 약물의 항우울 작용을 예측할 수 있는 예측 타당도가 큰 실험모델로, 실험동물이 물에 담긴 실린더형 수조에서 수영을 하다 포기하고 부동자세를 취하는 것을 스트레스로 유발된 학습된 우울, 무력감, 절망으로 인한 행동으로 판단한다²²⁾. 따라서 부동 행동 시간의 감소는 PTSD에서 언급되는 우울 및 절망에 대한 극복반응이라 판단할 수 있다. 연구 결과, SPS + ARX50군과 SPS + ARX100군에서 FST 결과 부동행동 시간이 유의하게 감소하였다(Fig. 4). 이를 통해 ARX의 투여가 우울감, 무력감, 절망감 극복에 효과가 있음을 알 수 있었다.

SPS와 같은 스트레스 자극으로 우울증이 유발되면 HPA (hypothalamic-pituitary-adrenal)축의 과잉활성으로 혈장 CORT의 농도가 증가한다²³⁾. HPA축의 과잉활성은 PTSD의 주요증상인 우울증과 연관된 생물학적인 이상의 한 지표로, 지속적인 스트레스 자극은 해마를 축소시키고, CORT의 농도를 지속적으로 증가시켜 BDNF 발현양을 감소시킨다²³⁾. 혈장 CORT의 높은 농도는 기억 능력을 감소시켜 인지기능에 영향을 미치며, SPS 모델에서 불안과 같은 행동을 유발한다. ARX를 투여한 군에서 ARX의 용량에 따라 혈중 CORT 농도가 감소하는 경향을 볼 때, ARX가 혈중 CORT 농도를 감소시켜, 불안 증상 호전에 도움이 될 수 있음을 알 수 있었다. 5-HT는 감정, 식욕, 수면, 고통 인식 등 복합적인 행동 양상들을 통제하는 주요 신경전달 물질로²⁴⁾ 5-HT농도의 감소는 주요 우울증과 정신질환에 중요한 지표이다. Medial prefrontal cortex, Hippocampus, Amygdala에서 5-HT의 농도는 SPS군에 비해 ARX를 투여한 군에서 ARX의 용량에 따라 증가하는 경향을 보였으며, 특히 SPS + ARX100군에서 Medial prefrontal cortex와 Amygdala의 5-HT 농도가 유의하게 증가하였다(Fig. 6). 이러한 결과를 통해 ARX가 용량 의존적으로 5-HT농도를 증가시킴으로써 대표적인 항우울제인 선택적 재흡수 차단제의 효과와 유사한 역할을 할 수 있을 것으로 여겨진다. Medial Prefrontal Cortex, Amygdala, 및 Hippocampus에서 불안을 담당하는 영역에서의 DA 조절 기능 부전은 불안과 같은 행동에 기여한다²⁵⁾. PTSD는 외상기억의 재경험으로 인한 불안 증상이 특징으로 PTSD로 인한 DA의 기능장애는 불안의 재경험으로 나타난다²⁵⁾. 본 실험에서 SPS로 유도된 PTSD 흰 쥐에게 ARX100을 투여한 결과 SPS군에 비

해 DA가 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 이러한 결과를 바탕으로 ARX가 SPS로 유도된 NE, DA의 감소를 증가시켜 정서변화 및 우울, 불안 등 PTSD 증상의 재경험으로 인한 정서장애에 효과가 있을 것으로 여겨진다.

BDNF는 뇌에서 해마의 위축 및 기억 장애를 매개한다. SPS 처리 시 나타나는 BDNF의 발현량 감소는 해마의 채적 감소로 이어져 해마 기능 장애, 기억 장애를 유발한다²⁷⁾. 본 연구에서는 ARX100을 투여한 군에서 SPS 군에 비해 BDNF의 발현량이 유의미하게 증가하였으며($p < 0.05$), 이러한 결과는 ARX가 해마의 손상 및 기억 기능 저하를 막아 기억 및 인지기능 회복에 도움이 될 수 있다는 점을 반영한다.

결론적으로 PTSD 동물모델에서 ARX 투여 시 체중 및 자당섭취량이 증가하였고, 행동 실험(FST, OFT)에서 부동행동은 감소, 행동량은 증가하여 무력감, 행동력 저하 등의 증상 개선에 효과적일 것으로 보인다. 또한, ARX 투여 시 5-HT, NE, DA의 양을 증가시켜 불안, 우울과 같은 심리상태를 안정화시키고, 감소된 BDNF의 발현을 증가시켜 손상된 인지기능을 회복하고 기억력을 증진하여 PTSD에 대해 유효한 치료효과를 나타낼 것으로 사료된다.

V. 결론

본 연구에서는 補中益氣의 효능이 있는 黃芪가 PTSD의 행동변화 및 조직학, 혈액학적 소견에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 黃芪 추출물은 SPS로 유도된 PTSD 흰쥐에서 체중 감소를 개선시키는 경향을 보였고 자당섭취량을 유의하게 증가시켰다.
2. 黃芪 추출물 투여군은 개방장 실험에서 중심공간에 머무는 횟수가 유의하게 증가하였으며, 강제수영부하실험에서 부동행동시간이 유의하게 감소하였다.
3. 黃芪 추출물은 증가된 혈장 CORT의 농도를 감소시키는 경향을 보였다.
4. 黃芪 추출물 투여군에서 Medial prefrontal cortex, Amygdala에서 5-HT의 농도를 유의하게 증가하였고, Hippocampus에서 NE의 농도를 증가하는 경향

을 보였으며, DA의 농도를 유의하게 증가하였다.

5. 黃芪 추출물 투여군에서 BDNF의 발현량은 SPS 군에 비해 유의하게 증가하였다.

이상의 결과로부터 黃芪가 SPS로 유도된 PTSD 동물 모델 실험에서 자당섭취량 및 OFT에서 중심공간 머무름 횟수를 증가시켰으며, FST에서의 부동행동을 감소시켰고, 감소된 5-HT, DA의 농도 및 BDNF의 발현을 증가시켰다. 이는 黃芪가 인지기능 및 기억저하를 회복시켜 PTSD 치료에 효과를 보일 수 있음을 시사한다. 향후 黃芪 추출물의 PTSD의 효과 및 유효농도에 대한 자세한 기전을 밝히기 위해서 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

References

1. Park A, Park SJ, Son A, Hur HS. A Comparative Study between the Korean-medical and the Western-medical Psychotherapy on PTSD. *Journal of Oriental Neuropsychiatry*, 2018 ; 29(1) : 1-8.
2. Kim BR, Lee DH, Lee DY, Lee DH. The Mediating Effect of Family Functioning between Trauma Experience and PTSD Symptoms and Post-traumatic Growth among High School Students: According to DSM criteria. *Korean Journal of Counseling*. 2018 ; 19(6) : 225-49.
3. Choi YK. Evidence-Based Treatment of Posttraumatic Stress Disorder. *Korean Journal of Clinical Psychology*. 2017 ; 36(4) : 526-49.
4. Health Insurance Review & Assessment Service. Healthcare Bigdata Hub. [serial online] [cited 2022 Feb 4]. Available from : URL : <http://opendata.hira.or.kr/op/opc/olap4thDsInfo.do>
5. Guideline Development Panel for the Treatment of PTSD in Adults, American Psychological Association. Summary of the clinical practice guideline for the treatment of posttraumatic stress disorder (PTSD) in adults. *The American Psychologist*. 2019 ; 74(5) : 596-607.
6. Shin JE, Park BJ. The Effects of Mindfulness Based Expressive Arts Therapy on Reducing PTSD Symptoms



- in Industrial Accident Victims. Korean journal of counseling and psychology. 2014 ; 26(3) : 683-713.
7. Kim JH, Sue JH, Lee GE, Kim NK, Choi SY, Lyu YS, Kang HW. Development of Korean Medical Psychotherapy and Preliminary Clinical Trial for Post Traumatic Stress Disorder. Journal of Oriental Neuropsychiatry. 2015 ; 26(1) : 49-61
 8. Baek IH, Kim BJ, Park KH. The Effect of Circuit Class Training on the Synthesis of Central Serotonin in People with Post-stroke Depression. Journal of the Korean Society of Physical Medicine. 2012 ; 7(4) : 451-8.
 9. National Institute for Clinical Excellence. Posttraumatic Stress Disorder (PTSD):The Management of Adults and Children in Primary and Secondary Care. London:NICE Guidelines. 2005.
 10. The class of Korean medical classics. Classified Canon of Internal Medicine. Seoul : Jumin.(the title was translated from “類編黃帝內經”). 2009 ; 400-1.
 11. Kolacz, Jacek, Katja K. Kovacic, and Stephen W. Porges. Traumatic stress and the autonomic brain-gut connection in development: Polyvagal theory as an integrative framework for psychosocial and gastrointestinal pathology. Developmental psychobiology. 2019 ; 61(5) : 796-809.
 12. The textbook compilation committee of Korean herbology. Herbology. Seoul : Younglimsa. 2009 : 577-8.
 13. Park YG, Son HY. Neuroprotective effect of modified Boyanghwano-Tang and the major medicinal plants, Astragali Radix and Salviae Miltiorrhizae Radix on ischemic stroke in rats. Kor. J. Herbology. 2010 ; 25(2) : 71-9.
 14. Jung TK, Kim MJ, Lim KR, Yoon KS. Moisturizing and anti-oxidation effect of Astragalus membranaceus root extract. J. Soc. Cosmet. Scientists Korea. 2006 ; 32(3) : 193-200.
 15. Kim MJ, Lim KR, Jung TK, Yoon KS. Anti-aging effect of Astragalus membranaceus root extract. J Soc Cosmet Sci Korea. 2007 ; 33(1) : 33-40.
 16. Park SJ, Lee TH. Effect of Banggibongnyeongtang on LPS-induced Depression in rats. Herbal Formula Science. 2019 ; 27(2) : 137-49.
 17. Lee SY, Lyu SJ, Choi SY, Lyu YS, Kang HW. A study on the clinical effects of group therapy for panic disorder patients based on mindfulness & Li-Gyeong-Byun-Qi therapy. Journal of Oriental Neuropsychiatry. 2014 ; 25(4) : 319-32.
 18. Joo S, Kwon J, Kwon CY, Lee B, Kim SH. A Review on Clinical Research Trends in the Treatment of Post Traumatic Stress Disorder (PTSD) in Korean Medicine. Journal of Oriental Neuropsychiatry. 2019 ; 30(3) : 251-63.
 19. D'Aquila P, Newton J, Willner P. Diurnal variation in the effect of chronic mild stress on sucrose intake and preference. Physiology & behavior. 1997 ; 62(2) : 421-6.
 20. 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) : 1135-46.
 21. Kim JW, Whang ww, Kwak SY, Kim MJ, Park EH, Lee JA. The effects of Qubitang on an animal model of depression induced by chronic mild stress. Journal of oriental Neuropsychiatry. 2001 ; 12(1) : 123-35.
 22. Lyu YS, Park JM, Ko IS, Kang HW, Lyu YS. The Anxiolytic, Anti-Depressive Effects Using Bambusae Caulis in Taeniam Extract in Rat Chronic Immobilization Stress Model. Journal of Oriental Neuropsychiatry. 2013 ; 24(3) : 293-308.
 23. Kang MG, Kim YH, Im AR, Nam BG, Chae SW, Lee MY. Antidepressant-like Effects of Schisandra chinensis Baillon Water Extract on Animal Model Induced by Chronic Mild Stress. Korean Journal of Medical Crop Science. 2014 ; 22(3) : 196-202.
 24. Lim SW, Sohn SE, Kim DK, Kim E. Serotonin Transporter Gene Polymorphism and Major Depression. Journal Korean Neuropsychiatric Association. 2000 ; 39(1) : 199-207.
 25. 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) : 1135-46.
26. 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. *Journal of psychiatric research*. 2011 ; 45(4) : 460-8.

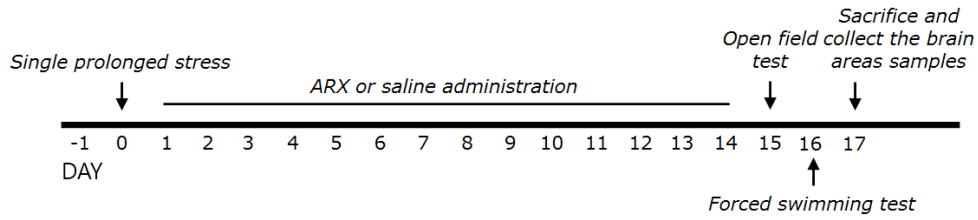


Fig. 1. Experimental Protocol for Single-Prolonged Stress (SPS)-induced PTSD Symptoms and ARX Treatment in Rats. Groups of six rats were used for each experimental condition.

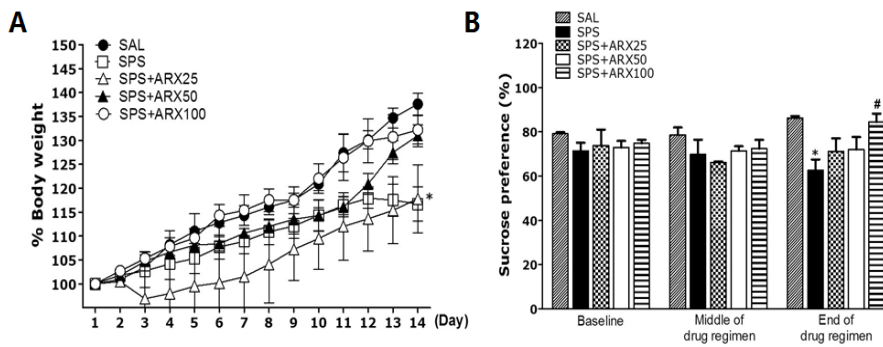


Fig. 2. Effect of ARX on the change of body weight (A) and sucrose intake (B) in rats exposed to SPS. Significance: * $p < 0.05$ vs. SAL group, # $p < 0.05$ vs. SPS group

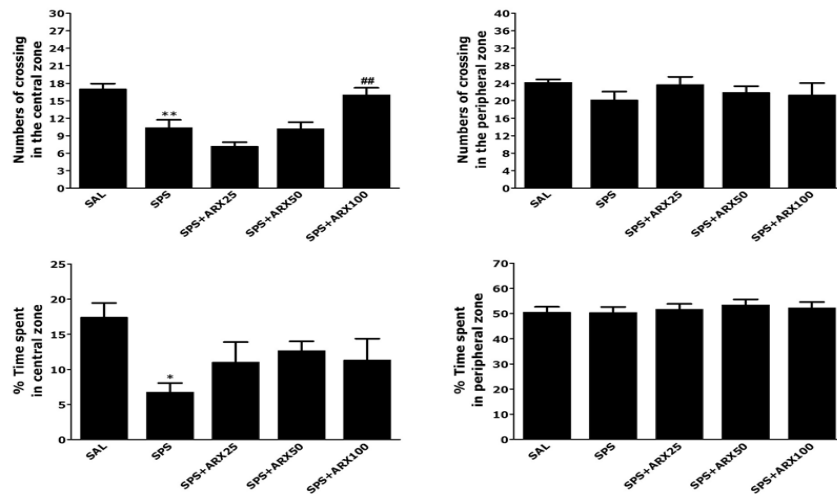


Fig. 3. Effect of ARX on locomotion and exploratory behavior in the open field test of rats exposed to SPS. Changes of the crossing numbers at the central and peripheral zone, the time spent in central zone and peripheral zone in the open field test. Significance: * $p < 0.05$ vs. SAL group, ** $p < 0.01$ vs. SAL group, ## $p < 0.05$ vs. SPS group

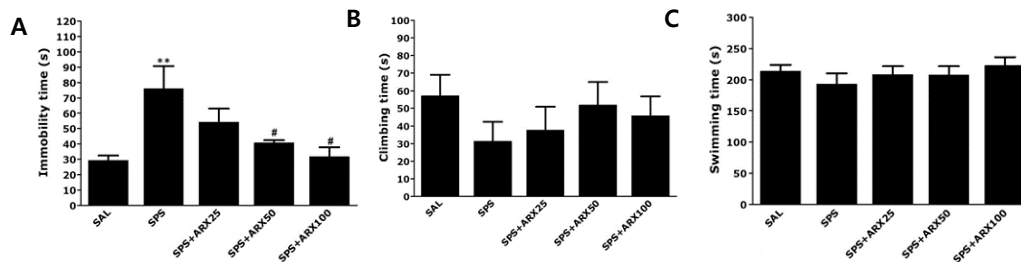


Fig. 4. Effect of ARX on the Forced Swimming test in SPS-induced PTSD behavior. Immobilization stress was applied to the experimental animals for 2 hours. Immobility time (A), climbing behavior (B), and swimming time (C) in the forced swimming test of rats exposed to SPS. Significance: * $p < 0.05$ vs. SAL group, ** $p < 0.01$ vs. SAL group, # $p < 0.05$ vs. SPS group.

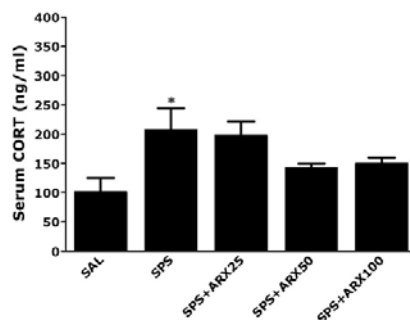


Fig. 5. Effect of ARX on CORT levels in SPS-induced PTSD rats model; measured with an ELISA. Parameters and determined at the end of the experiments. Data are expressed as the mean \pm SE of 6 animals in each group. Significance: * $p < 0.05$ vs. SAL group.

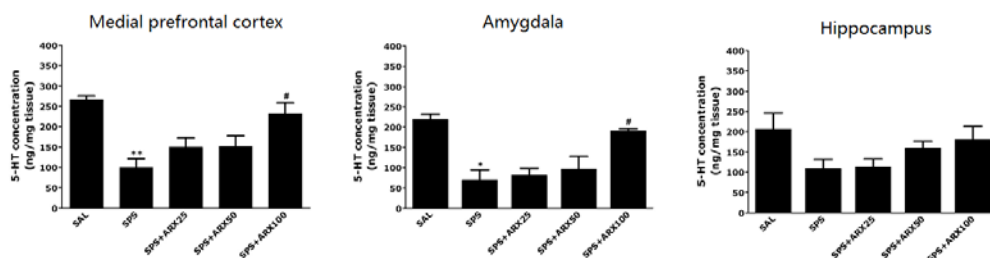


Fig. 6. Effect of ARX on the 5-HT concentration in the medial prefrontal cortex, hippocampus, amygdala of SPS-induced PTSD rats model. Significance: * $p < 0.05$ vs. SAL group, ** $p < 0.01$ vs. SAL group, # $p < 0.05$ vs. SPS group

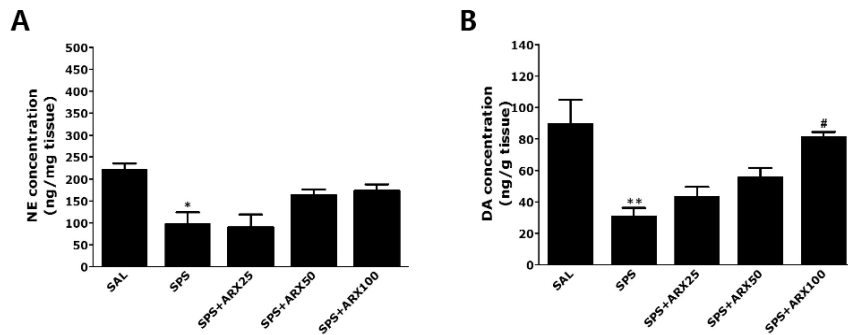


Fig. 7. Effect of ARX on NE(A) and DA(B) concentration at the Hippocampus in SPS-induced PTSD rats model.
 Significance: *p<0.05 vs. SAL group, **p<0.01 vs. SAL group, #p<0.05 vs. SPS group

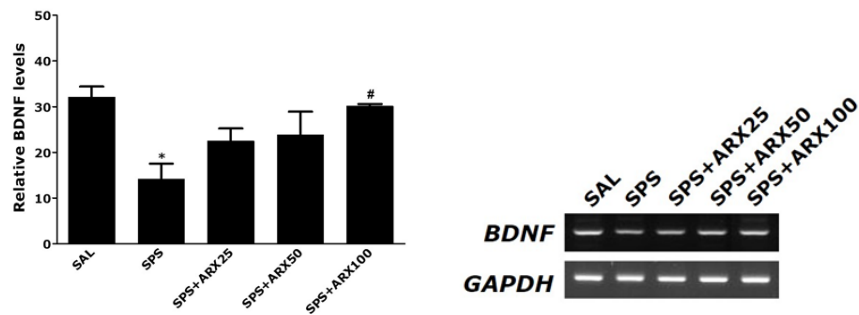


Fig. 8. Effect of ARX on the expression levels of BDNF in SPS-induced PTSD rats model, PCR bands on an agarosed gel and their relative intensities. Significance: *p<0.05 vs. SAL group, #p<0.05 vs. SPS group