동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 17. No. 3, 2006

六味地黃湯이 局所 腦虛血로 유발된 記憶力 損傷 白鼠에 미치는 影響

김경화, 김경수*, 김경옥
동신대학교 한의과대학 한방신경정신과학교실, *동신대학교 보건복지대학 물리치료학과

The effects of Yukmijihwang-Tang(UJT) on Dementia induced by focal brain ischemic injury in rats.

Kyung-Hwa Kim, Kyung-su Kim*, Kyeong-ok Kim
Dept. of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Dongshin University
*Dept. of Physical Therapy, College of Health and welfare, Dongshin University

Abstract

Objective : Yukmijihwang-Tang(UJT) has been used for Dementia derived by deficiency of Kidney-Yin in the oriental medicine. This study was planned to examine the effects of UJT on the memory loss induced by focal brain ischemic injury in the rats.

Methods : Experimental groups were divided into 4 groups ;
Normal group, Control group, UJT1 group and UJT2 group. Control group were no treated after focal brain ischemic injury. UJT1 group were administered UJT 0.3 ㎖/㎏ to focal brain ischemic injuried rats for 21 days, UJT2 group were administered UJT 1.2 ㎖/㎏ to focal brain ischemic injuried rats for 21 days.
The present author observed the number of errors on the eight-arm radial maze task, the rate of correct choice on the eight-arm radial maze task, the values of density of Cresyl violet-stained sections in the hippocampal CA1 and the values of density of Acetlycholine Esterase (AchE)stained nuclei in the hippocampal CA1.

Results : The number of errors in the Eigth-arm radial maze task was significantly decreased in UJT1 group on 1, 2, 3, 5, 6days, And it was significantly decreased in UJT2 group on 1-6days compared with control group. The rate of correct choice in the eight-arm radial maze task was significantly increased in UJT1, UJT2 group compared with control group. The values of density of Cresyl violet-stained sections in the hippocampal CA1 were significantly increased in UJT1, UJT2 group compared with control group.

투고일:10/11, 수정일:11/11, 채택일:11/14
교신저자 : 김경화. 전남 영광군 영광읍 남천리 석가APT 102동 205호
Tel : 061-353-8201, E-mail : kojs1057@hanmail.net

The values of density of AchE in the hippocampal CA1 were increased in UJT1, UJT2 group compared with control group, but the values were not significant.

Conclusions : The present author thought that Yukmijihwang-Tang could be used for curing dementia induced by focal brain ischemic injury.

Key words : Dementia, Yukmijiwhang-Tang(UJT), Eight-arm radial maze task. Hippocampal CA1. Acetylcholin Esterase(AchE).

Ⅰ. 緖 論

치매란 정상적으로 성숙한 뇌가 후천적인 외상이나 질병 등의 원인에 의해 기질적으로 손상되거나 파괴되어 전반적으로 지능이 저하된 상태[1]를 말하며, 하나의 질병이 아니라 여러 원인에 의하여 일어날 수 있는 증후군으로 주로 의식의 혼탁 없이 기억력의 장애를 중심으로 다른 여러 인지 기능의 장애를 나타내는 것을 말한다[2].

치매를 야기하는 원인질환으로는 뇌의 위축성 변화, 뇌혈관장애, 뇌의 염증성장애, Korsakoff 증후군과 같은 대사성·내분비질환, 종양, 외상, 중독 등이 있으며[3] 이 중 뇌혈관성 치매와 뇌 위축성 변화에 의한 노년치매가 많은 비율을 차지하고 있다[4,5].

현재 치매의 발병기전 및 치료에 대해 다각적인 연구가 이루어지고 있으며, 그 중 콜린성 신경전달물질이 치매의 일차적 증상인 기억력 감퇴현상과 가장 밀접한 관계가 있다고 알려져 있다[6,7].

치매는 張[8]의 《景岳全書》에 "痴獃"로 처음 기술된 이래 錢[9], 陳[10] 등에 의하여 자세히 연구되었으며 최근에는 腎水不足, 瘀血阻滯, 痰迷心竅등의 관점에서 치료가 시도되고 있다.[11,12]

六味地黃湯은 腎陰을 補하는 대표처방으로 《小兒藥證直訣》[13]에 처음 기재되었으며 최근 노화로 인한 뇌 기능 저하에 유효한 효과가 있다고 보고[14-16]되었다.

국내에서도 치매에 관한 연구가 다양하게 진행되고 있는데 加味神仙不老丹[17], 痴呆飮[18], 三黃瀉心湯[19], 溫膽湯[20] 등의 처방과 藥鍼[21], 電鍼[22] 등을 이용한 방법 등 많은 연구가 이루어지고 있으나 아직은 미흡한 실정으로 六味地黃湯이 치매에 미치는 효능을 알아보고자 실험에 착수하였다.

본 연구에서는 국소 뇌허혈로 치매병태를 유발시킨 白鼠에게 六味地黃湯을 투여한 후 방사형 미로 학습에서 誤行路 선택수와 正行路 선택율을 측정하고, hippocampus에서 신경세포손상정도 및 Acetylcholinesterase(AchE) 발현정도를 측정하여 유의한 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

Ⅱ. 材料 및 方法

1. 실험동물

실험동물은 삼육동물센터로부터 구입한 260~300 g, 8주령의 수컷 SD계 白鼠로, 일주일 정도 실험실 환경(온도는 22±3 ℃, 습도는 50±10 %)에 적응시킨 후 사용하였다. 각 cage당 3~4 마리씩 넣어 두었으며, 물과 사료(고형사료, 삼양유지)를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2. 군의 분리

실험군의 분리는 白鼠를 정상군(Normal group), Ischemia 유발군(대조군, Control group), Ischemia 유발 후 각 六味地黃湯 1(0.3 ㎖/kg)구강투여군(UJT1 group), 六味地黃湯 2 (1.2 ㎖/kg) 구강투여군(UJT2 group)으로 나누었다.

3. 검액조제

실험에 사용된 약재는 동신대학교 부속 순천한방병원에서 구입한 후 정선해서 사용하였고, 六味地黃湯(Yukmijihwang-Tang, 이하 UJT)의 구성약물은『東醫寶鑑』[23]에 수록된 처방을 근거로 하였으며, 분량 및 생약명[24]은 다음과 같다.(Table Ⅰ.)

Table Ⅰ. Prescription of Yukmijihwang-Tang (UJT)

Herbal Name		Quantity(g)
熟地黃	Radix Rehmanniae Preparata	16.0
山 藥	Rhizoma Dioscoreae	8.0
山茱萸	Fructus Corni	8.0
白茯苓	Poria	6.0
牧丹皮	Cortex Moutan Radicis	6.0
澤 瀉	Rhizoma Alismatis	6.0
Totality		50.0

六味地黃湯 1첩 분량을 증류수 800 ㎖와 함께 5 시간 동안 증류수를 계속 보충해가며 끓인 다음, 90 mm∅ 여과지(Whatman, England)로 여과한 후, 고속원심분리기(Centricon T-42K, Italy)로 5,000 rpm에서 30 분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액은 rotary vacuum evaporator (Buchi, Netheland)로 수분을 증발시켜 80 ㎖로 감압 농축하였으며, 농축된 검액은 투여전까지 4 ℃ 냉장 보관하였다

4. 실험절차

Ischemia 유발 3시간 후부터 각 군은 1回/1日(오전 10시) 처치를 시작하여, 21일간 구강투여를 실시한 다음 6일동안 誤行路 선택수를 측정하고 7일째에 正行路 선택율을 측정하여 행동검사를 행한 다음 白鼠를 관류 고정하여 조직검사를 하였다.

처치는 UJT1군에서는 증류수 0.9 ㎖과 최종시료 0.3 ㎖를 희석한 용액 1.2 ㎖를, UJT2군에서는 증류수로 희석하지 않은 최종시료 1.2 ㎖를 투여하였다.

5. Occlusion에 의한 focal brain ischemic injury 유발

국소 뇌허혈은 Zea Longa[25] 등의 방법에 따라 중대뇌동맥을 폐색시켜 만들었다. 白鼠를 70 % N_2와 30 % O_2가 혼합된 5 % isoflurane을 이용하여 흡입마취 유도를 한 후 2 % isoflurane으로 계속 유지시켰다.

白鼠의 직장에 체온측정 probe를 삽입하고 가온등과 가온 메트리스를 이용하여 실험기간동안 체온을 38 ℃로 유지하였다. 중대뇌동맥을 폐색하기 위하여 경부 정중선을 따라 피부를 절개하고 흉골혀근과 흉골저작근 사이에 총경동맥을 노출한 후 내경동맥내로 치과 인상제(Durelon, Germany)가 발라진 intraluminal filament(직경 0.28 ㎜, rounded tip)를 삽입하여 그 끝이 중대뇌동맥까지 도달하도록 하였다.

총경동맥과 외경동맥은 결찰한 후 혈류차단 2 시간이 지난 후 인상제가 중대뇌동맥내에 위치하도록 intraluminal filament를 제거하고 우측 총경동맥을 결찰하여 측부 순환을 통하여 재관류를 시켰다.

6. Eight-arm radial maze task

목재로 제작된 8개의 통로가 중앙의 출발영역(central platform)을 중심으로 매 45 도 각도(방사형)로 뻗어 나온 형태의 장치[26]를 이용

하였다 (Fig. 1). 중앙 출발 영역은 직경 50 ㎝인 원에 내접하는 정팔각형 상자로 높이는 25 ㎝이다.

走路는 출발 상자의 각 면에 뚫린 10×25 ㎠ 크기의 통로와 연결되어 있으며, 길이는 70 ㎝이고 동물이 바깥으로 나가지 못하게 하였다. 走路의 끝에는 보상으로 제공하는 먹이나 물을 담을 수 있는 7×5×3 ㎤ 크기의 용기(음식 접시)를 설치하였다. 白鼠가 走路를 출입하는 행동을 비디오카메라로 녹화하여 白鼠가 각 走路를 방문한 횟수와 오류 여부를 계산하였다. 실험에 들어가기 전 36 시간 동안 사육 상자에서 먹이를 제공하지 않고 배고픔을 유발시킨 白鼠를 행동 관찰실로 옮겨와 30 분간 환경에 적응시켰다.

획득시행동안의 誤行路 선택수는 白鼠를 미로의 출발 상자에 넣고 1 분간 두어 상황에 적응시킨 후 1 분이 지나면 각 走路로 통하는 통로를 개방하여 白鼠가 자유롭게 미로 속을 돌아다니게 하였다. 白鼠가 走路를 방문하여 끝까지 달리면 보상 용기에서 먹이를 먹게 하였다. 그러나 동일한 走路를 반복해서 방문하면 두 번째 방문부터는 먹이를 제공하지 않고 반응은 오류로 기록하였다. 白鼠가 300 초 동안에 8개의 走路를 모두 방문하지 못하면 시행을 중지시키고, 그 시행은 실패로 간주하여 誤行路를 선택하는 기간을 기록하였다.

검사시행동안의 正行路 선택율은 白鼠가 5일 동안의 획득시행에서 학습 준거에 도달하는 경우 6일째에 기억을 관찰하는 검사를 시행하여, 4 분 동안에 8개의 走路중 2개의 走路를 택해 들어가면 출발 상자에 다시 넣어 30 초 동안 머무르게 한 후 나머지 6개의 走路중 바르게 선택된 수를 관찰하였다. 같은 走路를 다시 택하거나, 240 초 이상 경과되면 시행을 중지시켰다.

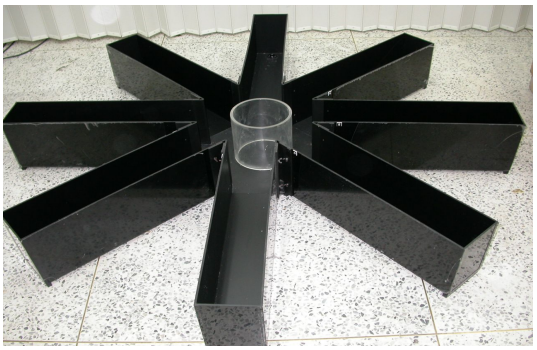


Fig. 1 Apparatus of eight-arm radial maze. Number of errors: The task was started on the 4th week after focal-ischemic treatment, and performed four trials per day for 6days. Rate of Correct choice: The task was started on the 7day after acquisition test.

7. Immunohistochemistry

1) Cresyl violet 염색

모든 행동 실험이 끝난 후 白鼠를 pentobarbital sodium (100 mg/kg, i.p.)로 마취시키고, 0.9 % saline 200 ㎖에 이어 phosphate buffer로 준비한 4 % formalin 용액(fixative) 800 ㎖를 심장을 통해 관류하였다.

처음 고정액 200 ㎖는 2 분간 빠른 유속으로, 그리고 나머지 800 ㎖는 25 분간에 걸쳐 천천히 관류하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2 시간 경과 후 고정시키고, 20 % sucrose가 함유된 phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 4 ℃에서 하루 동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌조직의 hippocampus 부위를 30 ㎛의 두께로 잘랐다. PBS로 조직을 세척하고 xylene(5 min), 100 % alcohol(2 min), 95 % alcohol(1 min), 70 % alcohol(1 min), D.W.(2 min)순으로 옮겨 담아 탈지, 탈수시킨 다음 Cresyl violet buffer(5 min)로 염색을 하였다.

염색이 끝난 조직은 광학현미경을 사용해 40배로 확대하여 신경세포의 밀도를 Scion image program(Scion Corp. MD, U.S.A.)을 이용하여 측정하였다.

2) Acetylcholinesterase(AchE) 염색

뇌 조직을 PBS에 3회 정도 세척한 후 0.1 M sodium hydrogen phosphate buffer($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, pH6.0) 325 ㎖에 acetyl-choline iodide 250 ㎎을 녹인 용액에 0.1 M sodium citrate 25 ㎖, 30 mM copper sulfate 50 ㎖, 5 mM potassium ferricyanide 50 ㎖, 증류수 50 ㎖을 넣어 혼합한 후 엷은 녹색을 나타낼 때 뇌 조직을 넣고 실온에서 1~2 시간 동안 배양하여 광학현미경으로 관찰하였다. 200×200 μm^2 크기의 miroscope 4각 격자(rectangle grid)를 사용하여 40 배로 확대하여 hippocampus에서 AchE 신경세포의 밀도를 Scion image program(Scion Corp. MD, U.S.A.)을 이용하여 측정하였다.

8. 통계처리

모든 측정값은 평균값 표준오차(mean±SE)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS를 이용하였다. 각 집단간 행동 측정치중 誤行路 선택수의 비교는 repeated ANOVA test를 시행하였고, 正行路 선택율, Immunohistochemistry의 측정값은 비모수적 방법으로 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 전체 실험의 통계적인 유의성은 신뢰구간 P<0.05에서 의미를 부여하였다.

Ⅲ. 實驗結果

1. 방사형 미로 학습에서 誤行路 선택수

誤行路 선택수는 제 1일째 정상군은 4.7±0.25 회, 대조군은 6.4±0.32 회, UJT1군은 3.7±0.16 회, UJT2군은 3.4±0.50 회를 나타내어 정상군에 비해 대조군이 유의하게 증가되었으며(P<0.05), 대조군에 비해 UJT1과 UJT2군에서 유의하게 감소하였다(P<0.01). 학습이 진행됨에 따라 정상군에 비해 대조군은 2일~6일째에 유의하게 감소하였고(P<0.01), UJT1군은 2일(P<0.01), 3일(P<0.05), 5일(P<0.05), 6일째(P<0.05)에 유의하게 감소하였으며, UJT2군은 2일(P<0.01), 3일(P<0.01), 4일(P<0.01), 5일(P<0.05), 6일째(P<0.01)에 유의하게 감소되었다(Fig. 2.)

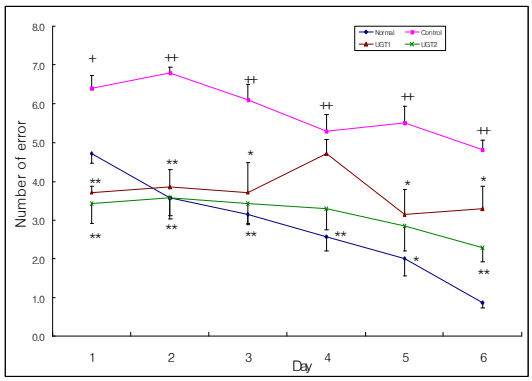


Fig. 2. Acquisition curves of the eight-arm radial maze task in focal brain injury. The task was started on the 4th week after focal brain injury, and performed four trials per day for 6days. Repeated Measures of one-way ANOVA(Tukey HSD test) of in the errors revealed among the groups[(F(4.31)=39.383, P<0.001)]. Results are shown as means ± S.E. +, P<0.05, ++, P<0.01 as compared with the corresponding data of normal group. *, P<0.05, **, P<0.01 as compared with the corresponding data of control group.

2. 방사형 미로 학습에서 正行路 선택율

正行路 선택율은 정상군은 85.7±4.35 %, 대조군은 33.3±9.76 %, UJT1군은 41.7±10.35 %, UJT2군은 77.8±3.25 %를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 정상군에 비하여 대조군이 유의한 감소를 보였으며(P<0.01), 대조군에 비하여 UJT1군과 UJT2군이 유의한 증가를 보였다(P<0.01)(Fig. 3.)

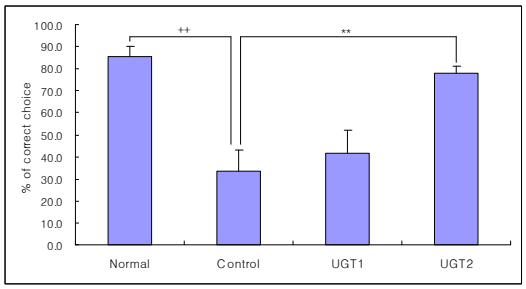


Fig. 3. Retention histogram of the eight-arm radial maze task in focal brain injury. The task was started on the 6day after acquisition test, and performed four trials. Measures of Mann-Whitney U test in the count revealed a groups and followed by nonparametric test. Results are shown as means ± S.E. ++, P<0.01 as compared with the corresponding data of normal group. **, P<0.01 as compared with the corresponding data of control group.

3. Cresyl violet을 이용한 신경세포 손상 방어효과

각 군에서 hippocampal CA1 부위를 Cresyl violet에 염색하여 신경세포의 손상방어 효과를 관찰한 결과 정상군은 88.0±7.59, 대조군은 36.8±3.24, UJT1군은 54.0±5.25, UJT2군은 66.2±5.15를 나타내었다. 각 군별의 변화 비교에서 정상군에 비하여 대조군이 유의한 감소를 보였으며(P<0.01), 대조군에 비하여 UJT1군(P<0.05)과 UJT2군(P<0.01)이 유의한 증가를 보였다(Fig. 4. 5.)

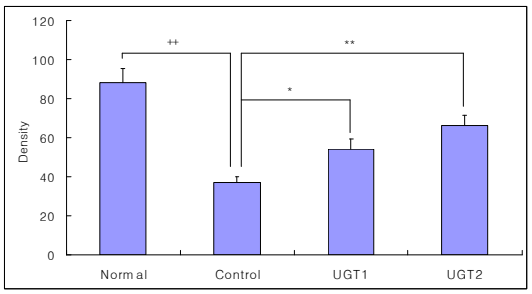


Fig. 4. The values of density of Cresyl violet-stained sections in the hippocampal CA1 are shown. Measures of Mann-Whitney U test in the count revealed a groups and followed by nonparametric test. Results are shown as means ± S.E. ++, P<0.01 as compared with the corresponding data of normal group. *, P<0.05, **, P<0.01 as compared with the corresponding data of control group.

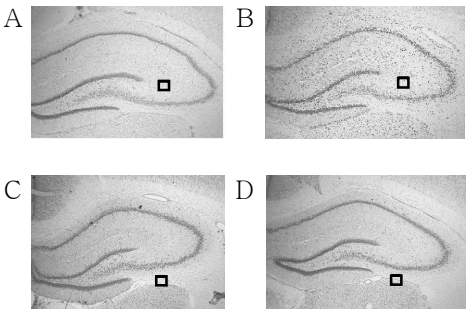


Fig. 5. Representive microphotographs of coronal sections in the hippocampal CA1. As compared with density of B group, that of the density of A, C, D group was increased. A:Normal, B:Control, C:UJT1, D:UJT2. Cresyl violet-stain. ×40. Scale box is 100.0㎛2

4. AchE 발현에 미치는 영향

각 군에서 hippocampal CA1 부위의 AchE 발현 정도를 관찰한 결과 정상군은 27.2±2.15, 대조군은 17.5±0.76, UJT1군은 19.5±1.67, UJT2군은 18.0±2.24를 나타내었다. 각 군별의 변화 비교에서 정상군에 비하여 대조군이 유의한 감소를 보였으며(P<0.01), 대조군에 비하여 UJT1군과 UJT2군이 증가경향을 보였지만 유의하지는 않았다(Fig. 6. 7.).

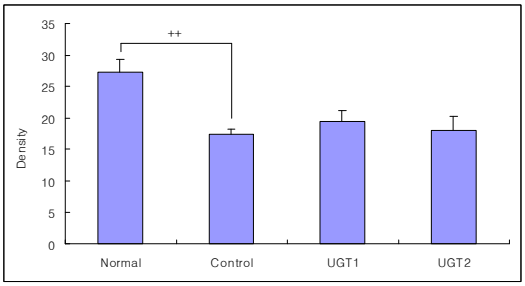


Fig. 6. The values of density of acetylcholine esterase(AchE) stained nuclei in the hippocampal CA1 are shown. Measures of Mann-Whitney U test in the count revealed a groups and followed by nonparametric test. Results are shown as means ± S.E. ++, P<0.01 as compared with the corresponding data of normal group.

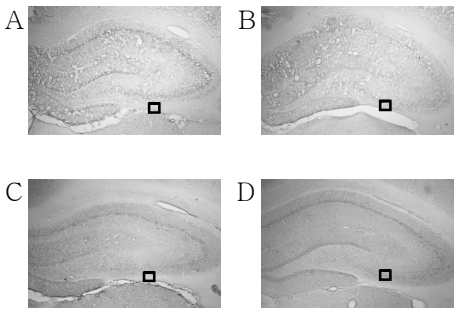


Fig. 7. Representive microphotographs showing density of AchE in coronal sections at the hippocampal CA1. A:Normal, B:Control, C:UJT1, D:UJT2. ×40. Scale box is 100㎛2

Ⅳ. 考 察

치매란 의식, 혹은 지각능력에는 거의 변화가 없이 지적, 인지적 기능이 저하되어 있는 상태로 주로 뇌의 만성 진행성 퇴행질환에 의하여 기억, 사고, 지남력, 이해, 계산, 학습, 언어, 판단 등의 지적 능력이 상실되고, 행동장애, 성격변화 등으로 특징 지워지는 임상증후군을 말한다[27,28].

치매의 원인질환으로는 뇌의 위축성 변화, 뇌혈관장애, 뇌의 염증성장애, 대사성·내분비질환, 종양, 외상, 중독 등이 있으며 이 중 뇌위축성 변화에 의한 노년성 치매(Alzheimer disease, AD)와 뇌혈관성 치매가 많은 비율을 차지하고 있다[29]. 치매는 많은 원인에 의해서 발생되고 그 중 amyloid-β protein의 침착으로 생기는 신경반의 신경독성으로 신경세포가 파괴되는 것과, 과인산화 타우 단백질의 침적에 의한 신경섬유다발의 작용으로 신경퇴행이 생기는 것이 대표적으로 거론되고 있으며[30], 산화제, 신경전달물질, 신경영양인자 등도 관여하는 것으로 알려져 있다[31]. 특히 치매의 1차 증상인 기억력 감퇴는 콜린성 신경계와 밀접한 관계가 있다는 증거가 다양하게 제시되고 있다. Acetylcholin, Dopamine, Serotonin, γ-amino butylic acid(GABA)의 경우 노화에 따라 감소하는 것으로 알려져 있는데 치매환자에게서 나타나는 기억력 상실과 인식 결함은 신호를 전달해 주는 화학 물질인 acetylcholine과 더욱 밀접한 관계가 있다고 보고되고 있다[32].

치매환자의 치료는 원인에 따라 다르며 우리나라에서 흔한 다발 경색성 치매를 예방하기 위해서는 성인병인 고혈압, 당뇨병, 동맥경화 등의 철저한 치료, 관리가 중요하다. Alzheimer형 치매의 경우는 현재 특효약이 없으며 여러 가지 약물이 시도되고 있으나 그 효과는 제한적이다[33]. 서양의학에서 노인성치매나 뇌혈관성치매로 인해서 발생하는 기억력 및 인지기능의 장애를 회복시킬 수 있는 만족할 만한 치료법은 아직까지 없는 실정으로 약물치료로는 뇌내 산소·포도당 섭취증가, 신경전달물질 부활, 뇌에너지 생산계 보호등의 작용이 있어 뇌세포 대사이상 개선과 뇌손상 수복과정을 촉진하는 뇌세포대사 개선제가 사용되고 있으며 증상에 따라 항우울제, 진정제 등이 이용되나 임상효과에서는 불확실한 점이 많다[34].

한의학에서는 明代 張[8]의 《景岳全書·癲狂痴獃》에 "痴獃 言辭顚倒 擧動不經 或多汗 或善愁 其症則千奇萬怪 無所不至 脈必或弦或數或大或小 變易不常."이라 하여 최초로 痴獃란 명칭을 사용하였으며 이후 《石室秘錄》[10],《辨證奇門》[9]등에서 이를 呆病이라 稱하고 그 증상 및 치료법에 관하여 비교적 자세하게 기록하였는데 그 이전에는 癲狂, 健忘, 鬱症, 虛勞等 痴呆와 유사한 서로 다른 병증에 포함하여 치매를 파악한 것으로 생각된다[35].

老人性 痴呆의 病因病機에 대해서 李[36]는 病變은 비록 腦이나 뇌기능의 정상운행은 髓의 充養에 의지하므로 髓의 生成이 되는 先後天精과 水穀의 精微, 氣血의 充養을 중요시하였고, 인간의 精神思惟 活動은 心腎脾는 물론 肝과 관련이 있다고 판단하였다. 許[37]는 腎虛, 脾虛, 肝陽, 痰濕과 有關하며 그 결과 腦의 기능에 악영향을 끼쳐 각종 症狀이 나타나게 된다고 하

여 腎, 肝, 脾, 痰의 중요성을 강조하였다. 또한 林[38]은 肝腎虧虛, 髓海不足, 脾腎兩虛, 心肝火盛, 痰濁阻竅, 氣滯血瘀에 起因하다 하였고 張[39]은 痰은 上部를 침범하여 腦에 정체되면 반드시 元神을 迷夢하게 되어서 痴呆 등의 病症을 일으키게 되는 것이라고 하였다. 종합하면 臟腑的으로는 肝腎不足이 痴呆의 병변에 중요하게 작용하고, 痰의 생성이 腦에 정체됨으로써 인해 각종 증상이 나타나는 것으로 생각하였다.

한의학적으로 치매의 치료법은 張[8]은 "然此證有可愈者 有不可愈者 亦在乎胃氣元氣之强弱"이라 하여 益氣를, 陳[10]은 "治痰卽治呆也"라 하여 祛痰을 강조하고 있으며, 錢[9]은 "治法開鬱逐痰 健胃通氣"라 하여 消痰開鬱 健胃를 제시하고 있다. 특히 王[40]은 "小兒無記性者, 腦髓未滿, 高年無記性者, 腦髓漸空"이라 하여 腦髓가 不健하면 靈感과 記憶力이 減退하여 痴呆에 이른다 하였으며 "腎主骨, 生髓"하여 위로는 腦에 통하므로 腦病의 발생은 腎과 밀접한 관계가 있다고 보고하여 노인성 질환인 치매에 補腎健腦위주의 治法이 주목받고 있다[11,12].

六味地黃湯은 《小兒藥證直訣》[13]에 기록되어 있는 처방으로 "治 腎怯失音 顖開不合 神不足目中白睛多 面色晄白"이라 하였고 六味地黃湯의 개별 약제의 효능을 살펴보면 熟地黃은 滋腎鎭靜하는 효능이 있어 君藥으로 하고, 山茱萸는 肝腎을 養하여 澁精하고 山藥은 脾陰을 補益하여 固定하는 효능이 있으므로 君藥으로 하며 茯苓을 配伍하여 淡滲脾濕하여 山藥의 益脾하는 작용을 돕고, 澤瀉는 腎火를 淸泄하면서 아울러 熟地黃의 滋膩한 성질을 방지하고 牧丹皮는 肝火를 淸泄하고 아울러 山茱萸의 溫性을 制하게 된다[14]. 이와 같이 배합되어 補腎陰虛의 대표방제로 임상에서 두루 활용되고 있는 처방이다.

치매의 원인 중 腎水不足에 대해 六味地黃湯을 이용하였다는 보고는 全[42]의 문헌적 고찰이 있었고, 尋[43]과 崔[14]는 六味地黃湯加味方을 이용하여 흰쥐의 기억력 향상과 관련된 유전자 발현에 미치는 영향을 보고하였으며, 朴[15]은 六味地黃湯加減方이 학습과 기억능력증진에 유의한 효과가 있다고 하였다. 또한 金[16]은 뇌신경세포 손상 및 뇌허혈 병태 모델을 사용하여 치매에 대한 加味六味地黃湯의 효과를 연구하였다.

본 연구에서 사용된 허혈모델은 뇌조직에 대한 손상을 주는 개두술을 사용하지 않고, intraluminal filament 삽입술로 편측 중대뇌동맥을 차단한 후 일정시간 후에 주위 혈관을 통해 재관류시켜 중뇌에 대한 국소허혈을 일으키는 방법을 사용하였다[44,45]. 이는 손상범위가 넓지 않고 중뇌에만 국한하여 후뇌의 혈류에는 영향을 미치지 않으며, 호흡과 체순환에는 영향을 주지 않는다는 점에서 허혈로 인한 기억손상 연구에 적합하다[46].

중대뇌동맥의 차단으로 인한 신경세포의 손상은 허혈 후 주어진 자극에 대한 예민성 증가로 신경세포의 과활동, 칼슘을 매개로 하는 글루탐산 흥분독성, 미토콘드리아 손상과 단백질 합성의 장애, 유리산소기에 의한 손상, 에너지 대사와 뇌의 혈액순환 이상 등이 관여하여[47], 뇌의 신피질, hippocampus 내 CA1영역 등에서 선택적으로 일어나며, 특히 hippocampus의 CA1 pyramidal neuron들은 허혈상태가 5-7일이 경과되면 선택적으로 apoptosis와 비슷한 세포 손상이 일어나 인지 및 학습장애를 일으키게 된다[44,45,48].

Hippocampus는 medial septal mucleus에 위치한 세포체로부터 투사되는 콜린성 신경전달경로로써 학습수행 및 기억력에 관여하는데, hippocampus의 손상은 방사형 미로와 같은 공간 기억과제를 학습하는 능력에 장애를 보이게 된다[49,50],

공간기억과제를 평가하는 여러 가지 방법 중 하나인 방사형 미로는 Olton[26]에 의해 고안되었고, 공간에 대한 학습수행 능력과 정보가 처리되고 있는 동안 그것을 유지하는 단기 기억력을 연구하기 위한 실험장치로서, 미로 안에서 학습을 기억하는 시간범위, 기억의 저장작용을 매개하는 뇌 조직 및 약물이 미로 학습

과 기억에 미치는 영향 등을 관찰하기 위해 주로 사용되어 왔다[51,52].

Cholinergic system은 신경전달물질인 Acetylcholine, Ach의 합성효소인 ChAT, Ach을 분해하는 분해효소인 AchE 및 Ach전달물질의 수용체가 포함되는데, 그 중 AchE는 Cholinergic synapse에 존재하여 신경전달 물질인 Ach을 choline과 acetic acid로 가수분해시키는 효소이다[53]. 이 효소는 post-synaptic membrane의 수용체에 결합하는 Ach을 가수분해시켜 수용체의 정상적인 기능을 유지시키며 Ach의 생합성에 필요한 choline을 공급함으로써 신경계가 원활하게 작용하는데 매우 중요한 역할을 하게 된다.

Hippocampus와 신피질로 투사하는 기저전뇌콜린계 신경단위의 상실 즉, medial septum, diagonal band, nucleus basalis of Meynert에 있는 choline계 신경단위의 상실로 인해 투사부위인 대뇌피질 및 hippocampus 부위에서 pre-synaptic choline계 지표가 극도로 감소하게 되며[54], basal forebrain cholinergic system 내의 ChAT활성도 감소는 acetylcholine감소를 초래하고 이와 같은 hippocampus에서의 cholinergic recepters의 밀도변화는 헌팅톤무도병, Alzheimer병과 같은 질환처럼 기억력 및 여러 학습능력 저하와 집중력의 이상을 유발하게 된다[55,56].

이에 저자는 국소 뇌허혈을 일으켜 기억력 손상을 일으킨 白鼠에게 六味地黃湯을 투여하여 뇌신경세포손상에 대한 보호효과와 백서의 방사형 미로학습 행태를 관찰하여 그 효능에 대해 알아보고자 본 연구에 착수하였다.

본 실험 결과 오행로 선택 수를 측정하는 획득시행에서 대조군에 비해 UJT1군은 1일, 2일, 3일, 5일, 6일째에 유의하게 감소하였으며, UJT2군은 1일에서 6일까지 유의하게 감소하였다. 정행로 선택율을 측정하는 검사시행에서는 대조군에 비해 UJT1군과 UJT2군이 유의하게 증가하였다. 이와 같은 결과로 뇌허혈로 인한 기억력 손상에 六味地黃湯을 투여함으로써 학습장애 및 기억력 회복 효과에 유효한 효과가 있음을 알 수 있었다. 또 신경세포의 손상 정도를 나타내는 cresyl violet 염색에서는 대조군에 비해 UJT1군과 UJT2군이 유의성 있게 밀도가 증가하여 신경세포 손상에 대한 방어 효과가 있음을 알 수 있었다.

또한 방사형 미로에서 나타난 효과를 조직학적으로 평가하기 위해 Cresyl violet 염색과 AchE 발현정도를 관찰한 결과 신경세포의 손상 정도를 나타내는 Cresyl violet 염색에서는 대조군에 비해 UJT1군과 UJT2군이 유의성 있게 밀도가 증가하여 신경세포 손상에 대한 방어 효과가 있음을 알 수 있었다.

Hippocampal CA1부위의 AchE발현정도를 관찰한 결과에서도, 대조군에 비해 UJT1군과 UJT2군이 유의하진 않았으나 증가소견을 보여 六味地黃湯이 hippocampus의 cholinergic system의 기능회복에 기여할 가능성을 보여주었다.

이상의 실험결과를 종합해보면 방사형 미로를 이용한 행동학적 변화에 있어서는 공간학습능력 및 단기기억에서 유효한 회복이 관찰되었고, 신경화학적 변화에 있어서는 Hippocampal CA1에서 choline성 뉴런의 보호작용 및 신경재생인자에 효과가 있음을 관찰할 수 있었다. 앞으로 뇌신경 세포 및 뇌신경전달물질의 역할과 효과에 대한 더욱 자세한 연구가 이루어 져야 할 것으로 생각되며 六味地黃湯의 구체적인 작용기전에 대해서도 연구가 필요할 것으로 사려된다.

Ⅴ. 結 論

六味地黃湯(UJT)의 투여가 국소 뇌허혈로 인해 유발된 치매 병태 백서의 방사형 미로학습과 Hippocampal CA1 부위의 신경세포손상

및 AchE의 발현정도에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 방사형 미로 학습에서 誤行路 선택수는 대조군에 비해 UJT1군은 1일, 2일, 3일, 5일, 6일째에, UJT2군은 1일에서 6일까지 모두에서 유의성 있게 감소하였다.

2. 방사형 미로 학습에서 正行路 선택율은 대조군에 비해 UJT1군과 UJT2군이 유의성 있게 증가하였다.

3. Cresyl violet 염색을 통한 신경세포 손상 방어 효과는 대조군에 비해 UJT1군과 UJT2군이 유의성 있게 증가하였다.

4. AchE 발현정도는 대조군에 비해 UJT1군과 UJT2군이 유의성은 없었으나 증가경향을 보였다.

參 考 文 獻

1. 이상복. 지능장애의 진단과 치료. 월간 진단과 치료. 1986 ; 6(11) : 1329-1330.
2. 연병길. 痴呆의 정의와 임상 증상. 서울. 월간 의약정보. 1997 : 10.
3. 이근후 외. 최신임상정신의학. 서울. 하나의학사. 1988 : 138, 216-228.
4. 정인철 외. 痴呆에 대한 문헌적 고찰. 동의신경정신과학회지. 1996 ; 7(1) : 77-94.
5. 黃義完외. 東醫神經精神醫學. 서울. 현대의학서적사. 1992 : 256-271, 327-330.
6. Tayebati SK, Di Tullio MA, Amenta F. Effect of treatment with the cholinesterase inhibitor rivastigmine on vesicular acetylcholine transporter and choline acetyltransferase in rat brain. Clin Exp Hypertens. 2004 ; 26(4) : 363-73.
7. Giacobini E. Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives, Pharmacol Res. 2004 ; 50(4) : 433-40.
8. 張介賓. 景岳全書. 上海科學技術出版社. 1991 : 576.
9. 錢鏡湖. 辨證奇門全書, 甘地出版社. 1990 : 233-235.
10. 陣士鐸. 石室秘錄. 中國 中醫學出版社. 1991 : 295-297.
11. 김현아. 노인성치매에 대한 문헌적 고찰. 서울. 대한한방내과학회지. 1992 ; 13(2) : 58.
12. 黃義完 외. 痴呆에 대한 韓醫學的 臨床硏究. 東醫神經精神科學會誌. 1996 ; 7(1) : 77-94.
13. 錢乙. 小兒藥證直訣, 江蘇, 江蘇科學技術出版社. 1983 : 47-48.
14. 최보업 외. 六味地黃湯加味方이 흰쥐의 기억능력과 중추신경계 유전자 발현에 미치는 영향. 대한동의생리병리학회지. 2002 ; 16(5) : 1025-1034.
15. 박은혜 외. 六味地黃湯加減方 1,2가 학습과 기억능력에 미치는 영향에 관한 임상연구. 대한 동의생리병리학회지. 2002 ; 16(5) : 976-988.
16. 김진형 외. 加味六味地黃湯이 뇌신경세포 손상 및 뇌허혈 병태 모델에 미치는 영향. 대한동의 생리병리학회지. 2003 ; 17(2) : 467-475.
17. 엄현섭. 加味神仙不老丹이 ibotenic acid 손상에 의해 유도된 痴呆 白鼠의 학습 및 기억장애에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2002 ; 16(6) : 1151-1156
18. 지규용. 痴呆飮이 해마손상 白鼠의 기억기능회복에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2002 ; 16(6) : 1236-1242.
19. 신승호 외. 저산소증으로 유발된 다발성 경색치매의증 환자의 三黃瀉心湯을 이용한 症例. 한방재활의학과학회지. 2001 ; 11(2) : 219-229.
20. 정인철. 溫膽湯이 뇌조직의 산화작용에 미

치는 영향. 동의신경정신과학회지. 1997 ; 8(2) : 51-62.
21. 한상균. 血海 當歸藥鍼이 Intraluminal Filament 삽입술에 의해 유발된 白鼠의 허혈성 뇌손상에 미치는 영향. 2004 : 1-39.
22. 박우순 외. 申脈, 照海의 電針자극 치매환자 뇌파에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001 ; 18(2) : 67-78.
23. 許浚. 東醫寶鑑. 서울. 법인출판사. 2002 : 1713-1714.
24. 신민교. 임상본초학. 영림사. 1997 : 185, 248, 274, 385, 649, 657.
25. Zea Longa EL, Weinstein PR, Carlson S, Summins R : Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats, Stroke. 1989 ; 20 : 84~91.
26. Olton DS.Mazes. maps and memory. American Psychologist. 1979 ; 34 : 583-596.
27. Katzman R, Saitoh T. Advances in Alzheimer's disease. FASEB J. 1991 ; 5 : 278-86.
28. 徐舜圭. 成人病 老人病學. 서울. 고려의학. 1992 : 225-228, 230-232.
29. 김진수. Alzheimer씨 치매-개론 및 최신 경향. 대한정신약물학회지. 1991 ; 2(1) : 30-42.
30. Borchelt Dr etc. Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate Aβ1-42/1-40 ratio in vitro and in vivo. Neuron 1996 ; 17 : 1005-1013.
31. Lemere CA etc. The E280A presenilin 1 Alzheimer mutation produces increased Aβ 42 deposition and severe derebellar pathology. Nat Med. 1996 ; 2 : 1146-1150.
32. Park C etc. Novel anticholinesterase and antiamnesic activities of dehydroevodiamine HCL, A constituent of Evodia rutaecarpa, Planta Medica. 1996 ; 62 : 405-409.
33. 황의완 외.東醫精神醫學. 서울. 현대의학서적사. 1989 : 229-236.
34. 陳貴廷, 揚思澈. 實用中西醫結合診斷治療學. 서울. 의성당. 1993 : 824-826.
35. 이동원, 신길조, 이원철. 치매에 관한 동서의학적 비교 고찰. 대한한방내과학회지. 1995 ; 16(1) : 1-16.
36. 이효령. 老人性痴呆從肝論治. 俠西中醫. 1995 ; 16(9) : 431-432.
37. 허순용. 淺痰老年痴呆症的症治. 澈江中醫學院學報. 1995 ; 19(3) : 2.
38. 임수산 외. 對進行性隱匿型痴呆症的中醫學研究. 상해중의약잡지. 1994 ; 4 : 14.
39. 장각인. 呆從痰治. 상해중의약잡지. 1995 ; 3 : 20-21.
40. 王淸任. 醫林改錯. 대북. 對聯國風出版社. 1976 : 22-25, 46-49.
41. 윤용갑. 동의방제와 처방해설. 서울. 의성당. 1988 : 331-335.
42. 전상윤 외. 痴呆에 응용된 六味地黃湯加減方에 대한 문헌적 고찰. 대한한방내과학회지. 1999 ; 19(1) : 271-290.
43. 심대식 외. 六味地黃湯加味方에 의한 흰쥐 기억력 향상과 관련된 Hippocampus부위의 특이 유전자 발현에 대한 연구. 동의생리병리학회지. 2003 ; 17(6) : 684-692.
44. Gill R. Foster A. Woodruff G. MK-801 is neuroprotective in gerbils when administered during the post-ischemic period. Neuroscience. 1988 ; 25 : 847-855.
45. Buchan AM. Puosinelli WA. Haypothermia but not the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, MK-801. atteniates neuronal damage in gerbils subhected to transient global ischemia. J Neurosci. 1990 ; 11 : 1049-1050.
46. Tamura A. Graham 야.McCulloch J.

Teasdale GM.Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occulsion. J Cerab Blood Flow Metab. 1981 ; 1(1) : 53-6038.

47. Fuhusawa A,Matsiumoto M.Matsuyama T,et al. The effect of the calcium antagonist nimodipine on the gerbil model of experimental cerebral ischemia, Stroke. 1986 ; 17 : 748-752.
48. Petito CK,Feldmann E,Pulsinelli WA.et al. Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratoy arrest. Neurology. 1987 ; 37 : 1281-1286.
49. Symons JP,Davis RE,Marriott JG. Water-maze learning and effectsof cholonergic drugs in mouse strains with high and low hippocampal pyramidal cell counts. Life Science. 1988 ; 42 : 375-383.
50. Sutherland RJ. Rodriguez AJ. The role of the fomix./fimbria and some related subcortical structures in place learning and memory. Behavioral Brain Research. 1989 ; 32 : 265-277.
51. Beatty WW. Shavalia DA. Spatial momory in rats. Time course of working memory and effect of anesthetics. Behavioarl and Neural Biology. 1980 ; 28 : 454-462.
52. Bolhuis JJ.Bijlsma S. Ansmink P. Exponential decay of spatioal memory of rats in a raidal maze. Behavioral and Neural Biology. 1986 ; 46 : 115-122.
53. 홍사석. 이우주의 약리학강의. 서울. 의학문화사. 1993 : 75-102.
54. Coly JT. Price DL. Delong MR. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. Science. 1983 ; 219 : 423-438.
55. Torre JC. Fortin T, Park GA. Butler KS, Kozlowski P, Pappas BA, de Socarraz H. Saunders JK. Richard MT. Chronic cerebrovascular insufficiency induces dementia-like defiicits in aged rats. Brain Res. 1992 ; 582(2) : 186-195.
56. 고창순 편저. 핵의학. 서울. 고려의학. 1995 : 211, 212, 751.