동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 19. No. 1, 2008

神枕이 치매유발백서의 학습을 통한 기억에 미치는 영향

김동현, 정희상, 김근우, 구병수
동국대학교 한의과대학 신경정신과교실

An Experimental Study on the Effect of Sinchim on Enhancing of memory in Rat with water maze

Dong-Hyeon Kim, Hee-Sang Jeung, Geun-Woo Kim, Byung-Soo Koo
Dept. of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Dongguk University

Abstract

Objectives : This study was performed to examine the effect of Sinchim on enhancing of memory in rat with water maze.

Methods : Experimental animals(white rat) were classfied into normal, control, and aroma sample group. Then, they were injected β-amyloid into control and aroma sample group rat's brain about 5μl to injure its brain. After rat smelt Sinchim about 12days, I did water maze test and anatomized its hippocampus. Sections were cut coronally at 30 μm.(X100)

Results :

1. In acquisition test of water maze learning, β-amyloid injured group took more time than normal group to reach the escape platform noticeably and through the session of trial, Sinchim aroma sample group shortened time than β-amyloid injured group after 6 days.
2. In the acetyltransferase(AchE) immunostained method, it was shown that Sinchim aroma sample recovered the synthesis of ChAT(Choloneacetyltransferase).

Conclusion : Smelling Sinchim would be useful for enhancing of memory.

Key Words : The Effect of Sinchim, Sinchim aroma, water maze

투고일 : 2/9 수정일 : 2/21 채택일 : 3/9
* 교신저자 : 김근우 주소 : 경기도 성남시 분당구 수내동 87-2번지 동국대학교 분당한방병원
Tel : 031-710-3748 Fax : 031-710-3740 E-mail : kgwoo86@hanmail.net

Ⅰ. 서 론

기억(memory)이란 정보의 저장과 회상이며, 그것을 수시로 사용할 수 있다는 특징이 있는데 이는 모든 학습에서 매우 중요한 일이며, 학습은 중추신경계를 수반하며 중추 신경계에 입력된 변화는 영구적 기록으로 저장된다. 또한 인지기능은 인간의 고유한 고차원적 뇌 기능으로 지능, 기억능력, 지남력, 주의집중력, 학습능력, 언어의 이해 및 구사능력, 문제해결 능력, 판단력, 사회생활능력 등을 말한다[1].

인간은 노화됨에 따라 기억력 장애, 판단력 상실 등 인지적 결함을 동반한 치매(dementia) 증상이 나타나는데 뇌가 위축되고 대뇌피질부위로의 콜린성 신경 입력통로인 nucleus basalis of Meynert (nbM)의 신경세포의 수가 급격히 감소되고, 해마 (hippocampus)와 대뇌피질 (cortex)에서 아세틸콜린의 합성량과 choline acetyltransferase (ChAT)의 활성도 감소와 nicotine과 muscarinic receptor의 감소를 동반한다[2),3)].

특히, 기억력 장애는 노인에서 가장 빈번히 호소되는 인지증상으로 감각 기억력(sensory memory), 작업기억력(working memory) 및 응고화(consolidation)기능의 저하, 간섭에 대한 감수성(susceptibility to interference)증가 등으로 나타난다. 그리고 복잡한 운동동작의 수행능력이 저하되고 동작성 지능이 감소되는 경향을 보이는 것은 복잡한 행동과제에 대한 시작, 계획 및 평가(initiation, planning and evaluation)기능이 저하되는 것으로 생각되고 있는 전두엽 및 변연계의 기능이 변화가 있음을 시사해준다[4].

치매의 원인에 대해서 여러 가지 설들이 제기되고 있으나 아직 확실하게 검증된 바가 없고 많은 원인질환을 가지는 복합증후군이며 뇌변성질환이다. 이중 가장 대표적인 질환은 Alzheimer's disease (AD)인데, 대체로 모든 치매의 약 50 ~ 60%를 차지한다. AD는 서양의학에서는 유전적 요인, 뇌에서 대뇌피질의 위축, 부교감신경과 다른 신경세포의 퇴화, 신경원 섬유 농축제(neurofibrillary tangles)의 존재, 노인반(senile plaques)의 축적, 심리적, 환경적 및 생화학적인 요인 등을 들고 있으며, 한의학적으로는 근본적으로 신지기능이 저하된 소인을 가진 사람이 정서불화에 의해 장부기능이 허해지거나 문란해지고 이에 의해 발생한 담이나 담화가 신지를 손상시켜서 발생한다고 할 수 있다. 실제로 우리나라에서는 AD의 유병율은 65~74세 사이에는 10%, 75~84세 사이에는 19%, 85세 이상에서는 47%로 나타나 있으며, 질환환자가 약 20만명 이상에 달하고 있고, 사망률은 심혈관 질환, 악성 종양, 그리고 뇌졸중에 이에 제 4위를 점하고 있으며, 2000년대 중반까지는 1500만 명의 환자가 발생되리라 예견하고 있으며 기억력과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려진 감퇴된 choline성 신경계를 보충해주고 개선해주어 저하된 인지 기능을 개선해 줄 수 있는 약물의 개발이 필요한 실정이다[5].

韓醫學에서 香을 이용한 치료법은 華佗 『華佗神醫秘傳』[6]으로부터 歷代醫書[7-15]에 香氣를 이용한 치료법들이 다수 소개되어 있는데, 香脂法[8-13], 香袋法[8),11),14)], 香甁法[8),10)], 香衣法[8),11)], 香枕法[10)] 등의 방법으로 蕁麻疹, 皮膚搔痒症, 頭痛, 眩暈, 神經無力, 惡夢, 脚臭, 鼻淵鼻塞, 口臭, 口瘡, 黑斑, 瘡疥 등에 사용되어 왔으며[16)], 현재 중국에서는 鼻療法으로 체계화되어 기술하고 있다. 이 중 『東醫寶鑑』에 기재되어 있는 神枕法은 24가지 善한 약물로 24節氣에 應하고, 8가지 有毒한 약물로 八風을 祛風하여 轉少, 白髮還黑, 墮齒復生, 日行三百

里하게하여 還少하게 되는 법이라 하여, 이것이 치매로 인한 기억력의 감퇴에 有效하지 않을까 생각하였으나 이에 대한 연구가 미흡하였다.

현재까지 개발된 약물들에는 아세틸콜린 합성전구물질 (acetylcholine precursor)인 Lecithin, 수용체 효능제 (receptor agonist)인 RS - 86, nicotine 등[17] 그리고 FDA의 승인을 받아 국내에서도 시판 사용 중인 아세틸콜린 분해억제제 (acetylcholin esterase inhibitor)인 Tacrine과 최근에 승인된 Aricept (E - 2020) 등[18-20]이 있으나 효과가 일시적이고 미약하며 간독성과 오심, 구토 등의 말초의 콜린성 증상을 나타내는 부작용의 문제점 때문에 아직 사용에 논란의 여지가 많은 상태이다.

따라서 저자는 본 연구에서 『東醫寶鑑』에 기재된 神枕法의 藥物을 이용하여 경구투여를 통한 약물효과와 香吸入을 통한 향기효과를 병행시험함으로써 보다 효과적인 치매 예방 및 치료 약물을 개발하기위해 치매 예방제 및 치료제로써 한방약물의 효능을 살펴보고자 한다.

Ⅱ. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료(동물)

실험동물은 효창사이언스로부터 구입한 외관상 건강한 Sprague-Dawley 웅성 흰색 Rat(210~230g)을 사용하였으며, 온도 23±2.0℃, 습도 55±1%, 12시간 조명주기 조건으로 통제된 사육실에서 식이와 식수는 자유롭게 섭취토록 하였으며 쥐 도착 후 7일 적응사육 시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 실험 재료(시약)

β-amyloid는 Sigma(St. Louis, MO, U.S.A) 사 제품을 사용하였다.

Purfusion시 Formalin 조성의 KH2PO4와 NaHPO4, 0.9% Saline 조성의 NaCl 또한 Sigma(St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였다.

Purfusion 후 Brain 저장 시 PBS 조성은 Na2HPO4 · 7H2O, NaCl, TRITON X-100 또한 Sigma(St. Louis, MO,USA)사 제품을 사용하였다.

Brain section 후 장기보존액 조성은 NaH2PO4, Na2HPO4, Sucrose, Polyvinyl pyrrolidone(PVP-40), Ethylene glycol는 Sigma(St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였다.

Acetyltransferase(AchE) 염색시 사용된 시약인 (Na3C6H5O7) · 2H2O, CuSO5 · 5H2O, K4Fe(CN)6 · 3H2O, NaH2PO4, NaOH, Acetythiocholine iodide는 Sigma(St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였다.

마취제는 (주)한림제약회사 제품 엔토발(pentobarbital)을 사용하였다.

3. 실험 재료(식물)

이 실험에 사용한 약재는 동국대학교 강남한방병원에서 구입하여 정선한 것을 사용하였고, 神枕의 구성약물은 『東醫寶鑑』[21]에 준하였으며, 神枕의 처방구성 약물 중 8종의 有毒한 약물은 약물의 투여에 적합하지 않아 사용하지 않았고, 나머지 24가지 약물 중 구하기 어려운 2종도 減하였다(1錢=4g).

Table.1 Contents of Shinchim

약명	생약명	용량
川芎	CNIDII RHIZOMA	40g
當歸	ANGELICAE GIGANTIS RADIX	40g
白芷	ANGELICAE DAHURICAE RADIX	40g
辛夷	MAGNOLIAE FLOS	40g
杜衡	ASARUM FORBESII MAXIM	40g
白朮	ATRACTYLODIS MACROCEPHALAE RHIZOMA	40g
藁本	LIGUSTICI RHIZOMA	40g
木蓮	MANGLIETIA FORDIANA(Hemsl) OLIV.	40g
川椒	ZANTHOXYLI FRUCTUS	40g
桂皮	CINNAMOMI CORTEX	40g
乾薑	ZINGIBERIS RHIZOMA	40g
防風	LEDEBOURIELLAE RADIX	40g
人蔘	GINSENG RADIX	40g
桔梗	PLATYCODI RADIX	40g
白茯苓	PORIA	40g
荊實	VITICIS FRUCTUS	40g
肉蓯蓉	CISTANCHES HERBA	40g
飛廉	CARDUUS CRISPUS L.	40g
柏實	BIOTAE SEMEN	40g
薏苡仁	COICIS SEMEN	40g
款冬花	FAEFARAE FLOS	40g
白薇	CYNANCHI ATRATI RADIX	40g
총량		880g

4. 실험 방법

1)한약제 정유성분의 추출방법

시중에서 구입한 복합 한약재 880g을 n-hexane 4ℓ에 넣고 실온에서 72시간 방치하여 추출하였다. 추출액을 여과한 다음 정유향기액의 손실을 최소화하기 위하여 저온에서 Rotary evaporator를 이용하여 n-Hexane을 증류하여 제거하고 황색의 맑은 정유향기액 16g을 얻었다.

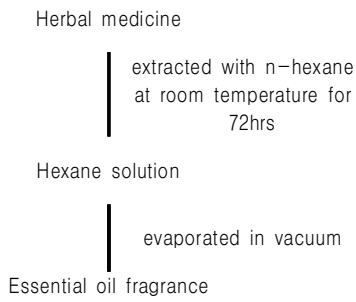


Fig.1. Preparation of the essential oil from Herbal medicine

2)뇌손상 유도

실험동물에 50mg / kg의 sodium pentobarbital을 복강 주사 (i.p.)하여 마취시킨 다음에 stereotaxic 수술대에 고정시키고, 약물을 삽입할 부위의 두피를 절개한 뒤 현미경을 이용하여 lamda와 bregma를 찾고, coordinate는 bregma로부터 nucleus basalis AP:-1.5, M L: -1.2, DL -6.5의 위치에 β-amyloid를 주입하였다. 미세주입은 syringe pump를 이용하여 1㎕/min의 유속으로 하였고, β-amyloid 5㎕ 주입 후 5분 간을 기다린 뒤 주사기를 제거하였다. 수술을 마친 실험군은 3일 동안 회복기간을 거쳤고, 이후 12일 동안 약물 투여와 함께 하루 6시간씩 향을 자발적으로 흡입하게 한 다음 6일 동안 하루에 3번씩 water-maze test를 하였다. 손상약물 대신 saline도 같은 방식으로 주입하였다.

3)약물효과에 대한 실험군 구성

실험군 분리는 모의시술군 (saline처리, n=10), nucleus basalis 세포를 손상시키는 손상군 (n=9), nucleus basalis 세포를 손상시키는 손상군 + 약물 투여군(n=6)으로 나누었고, 수술 후 3일간의 회복기간을 둔 후 12일 동안 약물처치 후 행동검사를 실시하였으며, 마지막 행동검사를 실시한 후 조직검사를 하였다.

4)향기효과에 대한 실험군 구성

실험군 분리는 모의시술군(saline처리, n=11), nucleus basilis 세포를 손상시키는 손상군 (n=11), nucleus basilis 세포를 손상시키는 손상군 + 향기 처리군(n=10)으로 나누었고, 수술 후 3일간의 회복기간을 둔 후 12일 동안 뚜껑이 달린 특수 제작 cage에서 하루 6시간씩(am 9:00~pm 3:00) 향 처리 후 행동검사를 실시하였으며, 마지막 행동검사를 실시한 후 조직검사를 하였다.

5)Water maze test

Water-maze test는 β-amyloid infusion 후 16일째부터 하루에 3번씩 6일 동안 시행했다. 실험동물의 Escape Latency(sec)를 정량화하기 위하여, 본 연구에서는 Ethovision(Noldus, Netheland)을 이용하여 측정하였다. 측정 장치는 원통의 water tank(지름 180cm, 높이 50cm)와 video-tracking system을 사용하였고, tank 안에는 platform(지름 10cm, 높이 25cm)이 한 지점에 위치해 있으며, 물의 온도는 약22~23℃에 맞추었고, 물의 높이는 platform 위 2cm까지로 하였다.

하루에 세 번 Water-maze test시 수영시키는 각 방향은 다르게 하였다. 전체 수영시간은 3분(180초)으로 정하였고, 전체 180초 중 숨겨진 platform위에 찾아가는 시간을 기록하였으며, 만약 platform을 찾아가 그 위에서 10초 동안 머무르면 home cage에 넣었다.

Table.2 Protocol of Experiment

실험	infusion	회복기간 (Day 1-3)	약물투여 및 향흡입 (Day 4 -15)	Water-maze (Day 16-21)
약물효과 실험군				
정상군	saline		saline(p.o)	Escape Latency(sec)
대조군	β-amyloid		saline(p.o)	"
실험군	β-amyloid		한약제(p.o)	"
향기효과 실험군				
정상군	saline		향없이 특수cage뚜껑만씌움	Escape Latency(sec)
대조군	β-amyloid		향없이 특수cage뚜껑만씌움	"
실험군	β-amyloid		특수cage에서 6시간향기흡입	"

6)Acetyltransferase(AchE) 염색

모든 행동 실험이 끝난 직후 실험동물을 sodium pentobarbital(100mg/kg, i.p.)로 마취시킨 뒤 saline 100㎖에 이어 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 고정액(fixative) 900㎖를 심장을 통해 관류하였다. 처음에는 4% formalin 200㎖을 5분간 빠른 유속으로 관류하였고, 나머지 4% formalin 700㎖은 25분간 천천히 관류하였다. 그 다음 뇌를 꺼내어 4% formalin 고정액으로 2~3시간 동안 고정시키고 20% sucrose가 함유된 인산완충액(PBS)에 넣어 4℃에서 하루 동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 microtome(Lecia, CM1850, Germany)을 이용하여 뇌조직을 배측(dorsal)과 복측(ventral) 해마, 내측 중격 부위에서 30 ㎛의 두께로 자른 다음 PBS로 조직을 몇 차례 씻었다.

그리고 난 후, 0.1M Sodium citrate 2.5㎖, 0.03M의 CuSO4 5.0㎖, 0.005M의 K3Fe(CN)6 5.0㎖, Sodium phosphate buffer(pH6.0) 32.5㎖를 만든 후 여기에 3차 증류수 5㎖과 함께 섞고 마지막으로 Acetythiocholine iodide 25㎎을 넣었다.

완성된 AchE 염색 시약에 잘라놓은 뇌 조직을 24시간 동안 담궈두었다가 염색된 조직을 PBST와 PBS로 헹군 다음 슬라이드 글라스 위에 올려 광학현미경으로 신경세포의 수를 측정하였다.

7)통계처리

모든 측정값은 평균값 표준오차(mean ± SEM)로 표시하였고, 각 실험군간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS Program (version 11.01)의 one-way ANOVA로 검정하여 p값이 0.1이하인 경우에 유의한 것으로 인정하였다.

Ⅲ. 실 험 결 과

1. Water maze test 결과

1)복합 한약제 약물 투여 효과

수중미로 학습에서 6일 동안 180초 내 도피대(escape platform)에 도달하기까지의 시간을 측정하는 획득시행에서 제 1일째 control군(β-amyloid 손상)은 180 ± 0초, 모의시술군(normal)은 168.37 ± 7.8초, 복합 한약제 약물투여군은 161 ± 13.9초로 집단간의 차이가 없었으나, 학습이 진행됨에 따라 마지막 6일째에는 도피대에 도달하는데 소요되는 시간이 control군(β-amyloid 손상)은 124 ± 23.3초, 모의시술군(normal)은 16.41 ± 2.8초, 복합 한약제 약물투

여군은 29.1 ± 11.8초로 집단간 유의성 있는 차이를 보였다.

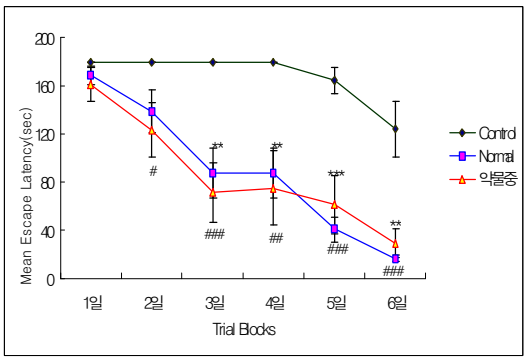


Fig.2. Comparison of acquisition performance on the water-maze test among the control(β-amyloid), normal and drug treated group. (Mean±S.E.M. do swimming time traveled per trial.) Data were analyzed by repeated ANOVA and followed by post hoc LSD test.
#, P<0.1 , as compared with corresponding data of control group, ##, ** P<0.01, as compared with corresponding data of control group.
###, *** P<0.001, as compared with corresponding data of control group.

2)복합 한약제 정유향 효과

수중미로 학습에서 6일 동안 180초 내 도피대(escape platform)에 도달하기까지의 시간을 측정하는 획득시행에서 제 1일째 control군(β-amyloid 손상)은 180 ± 0초, 모의시술군(normal)은 180 ± 0초, 복합 한약제 정유향 처리군은 174.7 ± 5.3초로 집단간의 차이가 없었으나, 학습이 진행됨에 따라 마지막 6일째에는 도피대에 도달하는데 소요되는 시간이 control군(β-amyloid 손상)군은 128.4 ± 14.75초, 모의시술군(normal)은 25.3 ± 5.76초, 복합 한약제 정유향 처리군은 48.6 ± 14.22초로 집단간 유의성 있는 차이를 보였다.

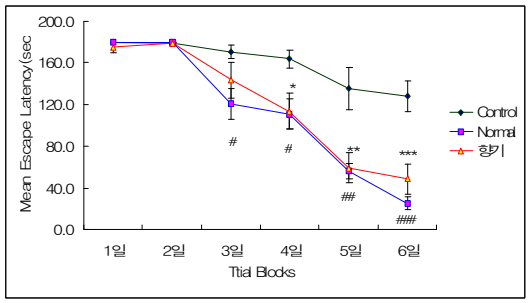


Fig.3. Comparison of acquisition performance on the water-maze test among the normal, control(β-amyloid) and herbal medicine essential oil group. (Mean±S.E.M. do swimming time traveled per trial.) Data were analyzed by repeated ANOVA and followed by post hoc LSD test. #, P<0.1 , as compared with corresponding data of control group, ##, ** P<0.01,as compared with corresponding data of control group. ###,*** P<0.001, as compared with corresponding data of control group.

2.Acetyltransferase(AchE) 염색결과

1)복합 한약제 약물 투여 효과

해마의 CA1 부위에서 pyramidal cell의 손상 정도를 보면 control군(β-amyloid 손상)은 70.78 ± 2.1%, 모의시술군(normal)은 100 ± 0%, 복합 한약제 약물투여군은 87.97± 2.6%로 집단간 유의성 있는 차이를 보였으며, 약물 처리군은 대조군에 비해 효과가 있는 것으로 관찰되었다.

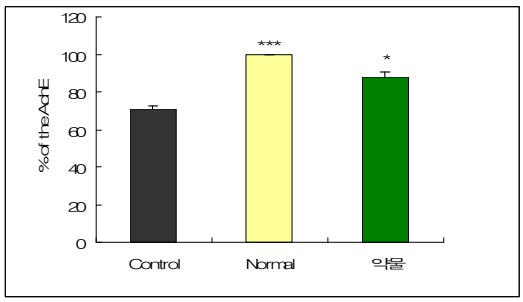


Fig.4. The maen(±SEM) values of quantities of acetyltransferase(AchE) immunostained nuclei in the hippocampus of the experimental groups after water-maze learning test 6 days post-operatively. the AchE results were analysed by performing separate one way ANOVA of neurons among the groups followed by post hoc comparisons using the least significant difference(LSD). * P<0.1, *** P<0.001 as compared with the corresponding data of Aβ group.

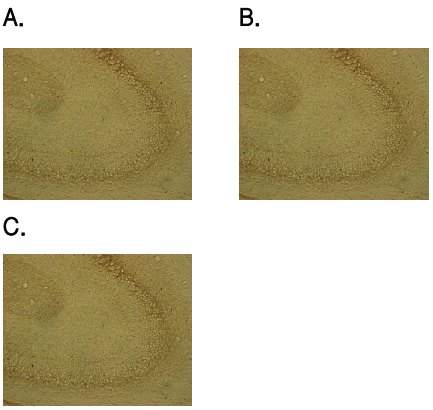


Fig.5. Photographs showing the distribution of AchE immunoreactive cells in the hippocampus of normal(A), control(B), and drug treated group (C) animals after water-maze learning test 6 days post-operatively. Sections were cut coronally at 30㎛.

2)복합 한약제 정유향 효과

해마의 CA1 부위에서 pyramidal cell의 손상 %를 보면 control군(β-amyloid 손상)은 81.42 ± 2.2%, 모의시술군(normal)은 100 ± 0%, 복합 한약제 정유향 처리군은 93.22± 3.04%로 집단간 유의성 있는 차이를 보였으며, 복합 한약제 정유향 처리군은 대조군에 비해 효과가 있는 것으로 관찰되었다.

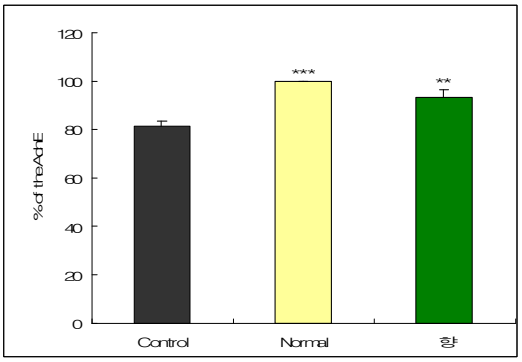


Fig.6. The maen(±SEM) values of quantities of acetyltransferase(AchE) immunostained nuclei in the hippocampus of the experimental groups after water-maze learning test 6 days post-operatively. the AchE results were analysed by performing separate one way ANOVA of neurons among the groups followed by post hoc comparisons using the least significant difference(LSD). ** P<0.01 *** P<0.001 as compared with the corresponding data of Aβ group.

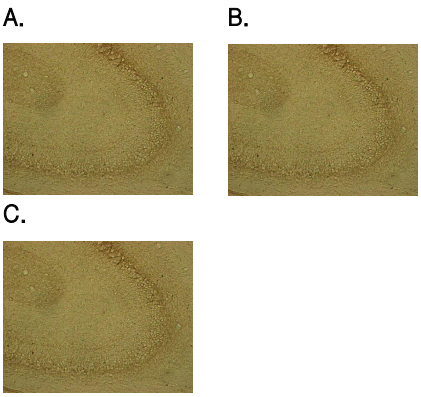


Fig.7. Photographs showing the distribution of AchE immunoreactive cells in the hippocampus of normal(A), control(B), and herbal medicine essential oil(C) animals after water-maze learning test 7 days post-operatively. Sections were cut coronally at 30㎛.

Ⅳ. 고 찰

Alzheimer's disease(AD)는 1907년 Alois Alzheimer에 의해 최초로 언급되었는데[22], 통계적으로 차이는 보이나 보편적으로 동양보다는 서양에서, 남성보다는 여성에게서 발병률이 높으며, 65세 이상에서 빈발하여 85세 이후에는 25%이상에서 절반에 가까운 인구가 이 질환에 이환되는 것으로 역학적 조사에 의해 보고되고 있다[23),24].

AD의 대표적인 증상 중의 하는 기억력 장애인데[25], 기억이란 개체가 정신 활동에 필요한 정보를 받아들여 뇌 속에 저장하였다가 필요한 때에 의식 세계로 꺼내어 사용하는 능력을 말하는 것이다[26].

AD의 병인론에 대해서는 아직 확실히 밝혀진 바는 없으나, 이전의 많은 동물실험 및 임상연구의 결과를 토대로 최근에는 slow virus의 침범, 아세틸콜린양의 결핍, 면역계의 이상, 알루미늄 및 기타 금속물질을 포함한 독성물질의 영향과 유전적, 환경적 영향 등의 가설들이 주로 받아들여지고 있으며, 이러한 다양한 요인으로 인해서 병리학적, 신경 화학적으로 특징적인 양상을 나타낸다[27].

AD 치료에 많은 약물들이 평가되었고, 그 중의 일부는 아직도 사용되고 있다. 그럼에도 불구하고 이 질환의 인지결손을 치료할 수 있는 효능이 확립된 약물은 거의 없는 실정이다.

최근 신경전달물질계에 대한 연구가 진행되고 있어서 치료에 대한 합리적 접근 방법이 모색되고 있고 콜린성 기능을 항진시키려는 시도들과 함께 어떤 신경전달물질 경로가 관여하는지에 대한 과정을 규명하고자 하는 연구가 이루어지고 있다. 이에 대해 여러 가지 실험적 모델을 접근하고 있는데 예를 들어, nitric oxide (NO)는 retrograde messenger로서 Hippocampus (해마)에서 longo-term ptentiation (LTP)형성에 중요한 역할을 담당하는데, 이 nitric oxide의 생성에 관여하는 nitric oxide synthase 조효소의 작용을 방해하는 L - NAME (nitric oxide synthase inhibitor)투여로 기억을 손상시키는 모델을 사용하였고[28),29] non-selective M1 antagonist로서 중추신경계내의 muscarinic central cholino receptors의 작용을 차단하는 방법으로 scopolamine을 투여하는 모델을 사용하여 학습과 기억에 관련된 신경전달물질의 작용을 약리학적으로 차단하는 방법을 이용하였다[30),31]. 또한 nucleus basalis of Meynert(nbM)등을 전기적으로 손상시키는 방법 등을 통해 학습과 기억을 손상시켜 학습과 기억증진에 관한 국소 신경기능의 이론적 연구 및 약물의 치료 효과를 보고자 하였다[32].

AD에서는 대뇌의 측두엽, 전두엽, 두정엽의 일차연상역(primary association area)이 특히 영향을 받으며, 해마의 편도핵도 심하게 영향을 받는다. 특히 해마의 CA1부위에서 pyramidal cell들이 선택적으로 손상된다. 그리

고 cholinergic system, noradrenergic system, somatostatin, dopamine, serotonin, GABA 등이 감소하는 것으로 알려져 있는데, 그 중 presynapic neuronal marker의 생생에 관여하는 효소, 특히 ChAT의 활성도가 측두엽의 신피질, 해마와 편도에서 약 50~90% 정도 감소한다[33]. 또한 AD의 1차 증상인 기억력 감퇴 증상은 콜린성 신경계와 밀접한 관계가 있다는 증거가 다양하게 제시되고 있는데 AD에서 나타나는 기억력 상실과 다른 인지 결함이 신호를 전달해주는 화학물질인 아세틸콜린을 만들어 내는 신경세포의 퇴화때문이라고 설명할 수 있다[34),35].

현재 시도되는 치료법중 하나인 향기요법은 후각계를 이용하여 대뇌에 직접 향을 도달시킴으로써 그 효과를 얻어내는 방법이다. 후각계의 해부학적 구조를 보면 후각망울에서 후각신경은 2차 뉴우런이 되어 승모세포 및 속모세포의 수상돌기와 시냅스를 이룬다. 승모세포 축삭돌기는 후각로를 형성하고 다른 후각로와 연접하여 후각 신호를 여러 곳에 전달한다. 후각로에서 직접 후각 신호를 받는 부위는 반대측 뇌의 후각망울, 전이상영역, 이상엽, 해마들이며 시상하부 자율신경핵은 편도핵을 통해 간접으로 정보를 받는다. 후각망울로부터 중추로 흥분이 전달되는 동안, 후각신호는 중추의 원심성 조정을 받아 수정된다. 후각신호가 변연계에 전달됨으로써 후각의 정서감정적 요소가 가미되어, 냄새의 질에 따라 즐거움 또는 역겨움 등 감정이 변화한다[36-40].

한의학에서는 氣味論에 기초하여 약물이나 약물의 연기, 증기 등을 鼻腔內로 흡입하여 질병을 예방하고 치료하는 방법으로 사용하였는데, 이러한 기록은 『黃帝內經』[41], 『傷寒雜病論』[42], 『華佗神醫秘傳』[6], 『千金要方』[8], 『外臺秘要』[12], 『壽世保元』[10], 『本草綱目』[11], 『東醫寶鑑』[15] 등 많은 문헌에 나타나 있다. 香氣療法의 원리에 대해 『素問·氣厥論』[40]에는 "膽移熱於腦 則辛頗鼻淵", "蓋腦爲精髓之海 髓者骨之充也 腦者陰也 故腦滲則爲涕"라 하여 腦와 鼻가 매우 밀접한 관계가 있음을 밝히고 있으며, 『素問·五臟別論』[40]에 "五氣入鼻 藏於心肺"라 하였는데, 『難經·四十難』[43]에서 "心主鼻 故令鼻知香臭"라고 해석하여 鼻가 香氣를 맡는 것이 心의 작용에 의하여 일어난다고 하였다. 『本草綱目』[11]에서는 "脾胃喜芳香可以養鼻是也", "脾喜芳香 肝宜辛散 脾氣舒則三焦通利而精氣和 肝鬱散則 營衛流行於病邪解"라 하여 香氣가 脾胃에 영향을 주어 全身 臟腑 모두에 영향을 미친다고 하였다.

『東醫寶鑑』內景篇 神枕法에는 다음과 같은 내용이 기재되어 있다. "昔 泰山下 有老翁失其名字. 漢武帝 東巡 見老翁鋤於道傍. 背上有白光 高數尺 帝怪而問之 有道術否. 老翁對曰 臣昔年八十五時 衰老垂死 頭白齒豁 有道士者敎臣服棗飮水 絶穀幷作神枕法. 中有三十二物 其中二十四物 善以當二十四 氣其八物 毒以應八風 臣行之 轉少白髮還黑 墮齒復生 日行三百里 臣今年一百八十矣 不能棄世入山 顧戀子孫 復還食穀 已二十餘年 猶得神枕之力 往不復老. 武帝視其顔 狀常如五十許人 驗問隣人 皆云信然 帝乃從受 其方作枕而不能隨其絶穀飮水也.", "作枕方 用五月五日 七月七日 取山林柏以爲枕長一尺二寸 高四寸 空中容一斗二升. 以柏心赤者爲盖 厚二分 盖致之令密 又當使可開閉 又鑽盖上爲三行 行四十孔 凡一百二十孔 令容粟米大", "用藥 川芎 當歸 白芷 辛夷 杜沖 白朮 藁本 木蓮 川椒 桂皮 乾薑 防風 人參 桔梗 白茯苓 荊實 肉蓯蓉 飛廉 柏實 薏苡 款冬花 白薇 秦椒 蘼蕪 凡二十四物以應二十四氣 加毒者八物 以應八風 烏頭 附子 藜蘆 皂莢 芮草 礬石 半夏 細辛. 凡三十二物 各一兩 皆剉 以毒藥上安之 滿枕中 用布囊以衣枕 枕之百日 面有光澤

一年體中諸疾 一一皆愈 而身盡香 四年白髮變黑 齒落復生 耳目聰明 神方驗秘 不傳非其人也. 武帝以問 東方朔答云...夫病之來 皆從陽脉起 令枕藥枕 風邪不侵人宜矣. ...<雲笈七籤>". 위 내용을 바탕으로 생각해보면 이미 東醫寶鑑에서 香氣를 이용한 治療法이 있었으며, 神枕에 기재되어 있는 藥物 중 24節氣에 應하는 善藥物을 통해 還少할 수 있는 근간이 마련된다고 할 수 있겠다. 또한 마지막 구절인"...夫病之來 皆從陽脉起 令枕藥枕 風邪不侵人宜矣. ..."에서 八風을 관계되는 藥物이 陽脈으로 侵襲하는 病邪를 不侵入하게 한다면 痴呆를 비롯한 기억력 장애에 祛風으로 인한 治療로 응용할 수 있을 뿐만이 아니라 이들 질환의 豫防에도 또한 효과가 있지 않을까 사료되면 이에 대한 연구도 필요하다고 사료된다.

神枕에 들어가는 약물은 모두 32가지인데, 이번 실험에는 有毒한 약물 8種과 구하기 어려운 약물 2종을 제외하여 모두 22가지 藥劑를 사용하였다.

乾薑은 溫裏藥으로 性은 熱하고 味는辛하며 溫中逐寒, 溫陽通脈한 效能이 있어 心腹冷痛, 吐瀉, 肢冷脈微, 寒飮喘咳, 風寒濕痺, 陽虛吐衄, 下血을 치료한다. 桂皮는 溫裏藥으로 性이 熱하고 味가 辛甘하여 補元陽, 暖脾胃, 除積冷, 通血脈한 효능이 있어 命門火衰, 肢冷脈微, 亡陽虛脫, 腹痛泄瀉, 寒疝奔豚, 腰膝冷痛, 經閉癥瘕, 陰疽, 流注, 虛陽浮越, 上熱下寒을 치료한다. 藁本은 解表藥 중 發散風寒藥으로 性이 溫하고 味가 辛하여 祛風散寒, 除濕止痛하므로 感冒風寒, 癲頂疼痛, 風濕肢節痺痛, 寒濕腹痛, 泄瀉를 치료한다. 款冬花는 化痰止咳平喘藥 중 止咳平喘藥에 속하며 溫, 辛微甘하여 潤肺下氣, 止咳化痰하는 효능이 있어 新久咳嗽, 喘咳痰多, 勞嗽咳血을 치료한다. 桔梗은 化痰止咳平喘藥 중 淸化熱痰藥에 속하며 平, 苦辛하여 宣肺利咽, 祛痰排膿한다. 咳嗽痰多, 胸悶不暢, 咽痛音啞, 肺癰吐膿을 치료한다. 當歸는 補益藥 중 補血藥에 속하며 溫, 甘辛하므로 補血和血, 調經止痛, 潤燥滑腸하게하여 月經不調, 經閉腹痛, 癥瘕結聚, 崩漏, 血虛頭痛, 眩暈, 痿痺를 치료한다. 杜蘅은 名醫別綠에 따르면 맛은 매우며 성은 따뜻하고 독이 없다고 하였고 散風逐寒, 消痰行水하고 혈액순환을 촉진하며 平喘, 定痛한다. 風寒感冒, 痰飮喘咳, 수종, 류머티즘, 타박상, 두통, 충치, 痞氣腹痛을 치료한다. 木蓮은 便을 통하게 하고 止咳하는 효능이 있다. 防風은 解表藥 중 發散風寒藥에 속하여 性이 溫하고 味가 辛甘하여 解表祛風, 勝濕, 止痛하므로 外感風寒, 頭痛, 目眩, 項强, 風寒濕痺, 骨節痠痛, 四肢攣急을 치료한다. 白薇는 淸熱藥 중 淸虛熱藥으로 性이 寒하고 味가 苦鹹하여 淸熱凉血, 利尿通淋, 解毒療瘡한 효능이 있는데 溫邪上熱發熱, 陰虛發熱, 骨蒸勞熱, 産後血虛發熱, 熱淋, 血淋癰疽腫毒을 치료한다. 白茯苓은 利水滲濕藥 중 利水退腫藥으로 性이 平하고 味가 甘淡하여 利水滲濕, 健脾寧心한 효능이 있는데 水腫尿少, 痰飮, 脾虛食少, 便溏泄瀉, 心神不安, 驚悸失眠한 증상을 치료한다. 柏實은 安神藥으로 平, 甘하여 養心安神, 潤腸通便하므로 虛煩失眠, 心悸怔忡, 陰虛盜汗, 腸燥便秘를 치료한다. 白芷는 解表藥 중 發散風寒藥으로 溫, 辛하여 散風除濕, 通竅止痛, 消腫排膿하는데 感冒頭痛, 眉棱骨痛, 齒痛, 鼻塞, 鼻淵, 寒濕腹痛, 腸風痔漏, 赤白帶下를 치료한다. 白朮은 補益藥 중 補氣藥에 속하며 性은 溫하고 味는 甘苦하여 補脾, 益胃, 燥濕, 和中하는 효능으로 脾胃氣弱, 不思飮食, 倦怠少氣, 虛脹, 泄瀉, 痰飮, 水腫, 黃疸, 濕痺, 小便不利를 치료한다. 飛廉은 맛이 쓰고 성질이 平하다. 風邪를 몰아내고 熱을 내리며 濕을 없애고 血分에서 熱邪를 除去하며 瘀血을 푼다. 風熱感冒, 頭痛眩暈, 風熱痹痛, 皮膚刺癢, 尿道感染, 乳糜尿, 血尿, 帶下, 打撲에 의한 瘀血과 浮腫, 疔瘡腫毒, 燙傷, 火傷을 치료

한다. 辛夷는 解表藥 중 發散風寒藥으로 性이 溫하고 味가 辛하여 散風寒, 通鼻竅한 효능이 있는데 능히 風寒頭痛, 鼻淵, 鼻塞不通, 鼻流濁涕, 齒痛을 치료한다. 肉蓯蓉은 補益藥 중 補陽藥에 속하는데 溫, 甘微鹹하여 補腎益精, 潤燥滑腸하므로 男子陽痿, 女子不孕, 帶下, 崩漏, 腰膝冷痛, 血枯便閉를 치료한다. 薏苡仁은 利水滲濕藥 중 利水退腫藥에 속하는데 그 性이 凉하고 甘淡한 味가 있어 健脾滲濕, 除痺止痛, 淸熱排膿하여 水腫脚氣, 小便不利, 濕痺拘攣, 脾虛泄瀉, 肺癰, 腸癰을를 치료한다. 人蔘은 補益藥 중 補氣藥에 속하며 微溫, 甘微苦하고 大補元氣, 固脫生津, 安神하므로 勞傷虛損, 食少, 倦怠, 反胃吐食, 大便滑泄, 虛咳喘促, 自汗暴脫, 驚悸, 健妄, 陽痿, 頻尿, 消渴, 婦女崩漏를 치료한다. 川芎은 活血祛瘀藥에 속하며 溫하고 辛하므로 活血行氣, 去風止痛한다. 月經不調, 經閉通經, 癥瘕腹痛, 胸脇刺痛, 頭痛, 風濕痺痛을 치료한다. 川椒는 溫裏藥에 속하며 溫하고 辛하기 때문에 溫中散寒, 除濕止痛, 殺蟲, 解魚醒毒한 효능이 있어 積食停飮, 心腹冷痛, 嘔吐, 呃逆, 咳嗽氣逆, 風寒濕痺, 泄瀉, 痢疾, 疝痛, 齒痛, 蛔蟲病 등을 치료한다[44),45)].

서양에서의 향기요법은 주로 면역계를 활성화시키거나 신경계에 작용하여 신체를 건강하게 하고 마음과 정서를 안정시키는 작용을 한다고 보고 있다. 후각에 대해 서양의학적으로 알려진 부분은 후각자체보다는 후각의 자율신경계 조절과 정서적 행동에 미치는 영향이다. 또한 최근의 이론에 의하면 후각반응은 시간적, 공간적 요소도 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다.

수중미로 실험은 동물의 공간학습과 기억을 검사하기 위해 사용되며, 공간정보 외의 단서들을 통제하기 쉬운 장점이 있다. 이는 주로 장기기억 능력을 측정하는 과제로서 동물의 주변에 있는 단서들을 사용하여 기억하는 능력 즉 공간기억(spatial memory)을 측정하는 것이다[46)]. 이는 인간의 경우 외부에서 일어나는 사실들에 대한 정보를 습득하여 기억하고, 그 사실들의 시·공간적 위치를 근거로 행동하는 능력에 해당한다. 이 실험에서 동물들은 물로 채워진 수조(직경 180cm, 높이 50cm 원형)내에 숨겨진 도피대(escape platform)를 찾는 것을 학습한다. 동물들은 어떤 근접단서(proximal clue)도 이용할 수 없고, 냄새를 추적단서로 사용하는 것도 불가능하다. 따라서 검사환경에서 이용할 수 있는 단서들의 배열 내에서 자신의 위치를 학습하여, 숨겨진 도피대를 찾아야한다. 수중미로 내의 도피대가 시행에 무관하게 일정한 위치에 설정되었으므로 이 과제의 해결에는 공간 기억이 필요하다[47)].

본 실험에서는 아세틸콜린성 신경세포가 주로 위치하는 nucleus basalis를 직접적으로 손상시켜 해마로 투사되는 신경세포를 손상시켜 유도된 기억손상 모델에서의 복합 한약제의 효과를 보고자 하였다.

학습 능력은 수중미로 학습의 획득시행 6일째 복합 한약제 약물투여군이 β-amyloid 손상군에 비해 도피대에 도달하는 시간이 통계적으로 유의미하게 감소되었고, 학습수행에 유의한 증진효과가 관찰되었다.

복합 한약제 정유향 처리군 또한 β-amyloid 손상군에 비해 도피대에 도달하는 시간이 통계적으로 유의미하게 감소되었고, 학습수행에 유의한 증진효과가 관찰되었다. 이러한 결과는 복합 한약제가 기억의 회상과정보다는 학습의 습득과정에 더 효과가 있음을 의미한다.

AchE 염색결과 해마의 CA1 부위에서도 복합한약제 약물투여군이나 정유향 처리군의 세포의 손상이 β-amyloid 손상군에 비해 감소한 한 것으로 보아 기억력 회복에 효과가 있음을 시사하며 이는 수중미로 학습에서의 학습 및 공간기억에 대한 증진 효과를 반영한다.

이 외에도 치매에 대한 예방약 및 치료제의 개발을 위하여 본 연구에서 채택한 치매 모델 외에도 scopolamine투여 또는 해마의 전해질 손상 등 다양한 치매 모델에서 수동회피학습, 방사선미로학습 등 여러 가지 학습 패러다임을 이용하여 향후 지속적인 연구가 필요하며 이를 근거로 하여 치매에 대한 예방약 및 치료제의 개발을 위한 임상적 검증이 더 필요하다고 하겠다.

Ⅴ. 결 론

본 연구는 β-amyloid를 nucleus basalis에 주입하여 유발시킨 기억력 손상 모델에서 복합 한약제를 지속적으로 투여하거나 향을 자발적으로 흡입하게 한 후, 행동학적 방법으로 수중미로를 이용한 학습과 기억에 대한 효과를 알아보고 면역조직화학분석법으로 해마 CA1 부위의 아세틸콜린성 신경세포 활성도를 살펴본 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. β-amyloid 손상군이 6일째 β-amyloid 손상군에 비해 복합 한약제 약물투여군이 반복된 학습을 통해 대피대에 도달하는 시간이 짧아졌다.

2. β-amyloid 손상군이 6일째 β-amyloid 손상군에 비해 복합 한약제 정유향 처리군이 반복된 학습을 통해 대피대에 도달하는 시간이 짧아졌다.

3. AchE 염색법에서 β - amyloid 손상군에 비해 복합 한약재 약물투여군, 복합 한약제 정유향 처리군에서 ChAT (Choline acetyltransferase) 발현을 회복시키는 소견을 보였다.

참 고 문 헌

1. 박종환, 김희철. 노화에 관련된 인지기능 감퇴. 계명의대논문집.
1997;16(3): 382-389.
2. Roth ME. Advances in Alzheimer's disease. The Journal of Family Practice.
1993;37(6):593-607.
3. Walsh TJ, Herzog CD, Gandhi C, Stackman RW, Wiley RG. Injection of IgG 192-saporin into the medial septum produces cholinergic hyperfunction and dose-dependent working memory dificits. Brain Res.
1996;726(1-2):69-79.
4. Andrea EM. Lynn C, Larry E. Alzheimer 's Disease. In Pharmacotherapy. a pathophysiologic approach. New York : Elservier Science Publishing Co. Inc.
1996:1325-1344.
5. 서유현. 치매의 치료 현황과 전망. life science and biotechnology vol(14) 특별논단.
6. 華 佗. 華佗神醫秘傳. 서울:杏林書院.
1958:335-336.
7. 張仲景. 景岳全書. 서울:醫道韓國社.
1976:26.
8. 孫思邈. 備急千金要方. 서울:大星文化社.
1992:139-141.
9. 趙 佶. 聖濟總錄. 北京:人民衛生出版社.
1978:1754-1760, 1765-1771.

10. 龔廷賢. 壽世保元. 서울:醫聖堂. 1993:307, 661, 702.
11. 李時珍. 本草綱目. 서울:醫聖堂. 1945:895, 900, 902, 910, 1941-1942, 1945, 1965-1968.
12. 王 燾. 外臺秘要. 서울:大星文化社. 1991:337-338, 351.
13. 朱 肱. 肘後備急方. 서울:麗江出版社. 1994:367.
14. 吳克潛. 古今醫方集解. 上海:上海大衆書局. 1980:1144.
15. 許 浚. 東醫寶鑑. 서울:南山堂. 1990:175-177, 363.
16. 吳賢珠. 香氣療法에 관한 文獻的 考察, 惠和醫學. 1996;5(1):261-281.
17. Kaplan PW. Allen RP, Buchholz DW , Walters JK . Adouble - blind, placebo -controlled study of the treatment of periodic limb movements n sleep using carbidopa/levodopa and propoxyphene, Sleep. 1993;16(8):717-723.
18. Lukaszewaka L . Scopolamine imlais object exploration but not habituation in rats. Acta Neurobiol Exp (Warsz). 1993;53(1): 243-250.
19. Dawson GR,Iversen SD. The effects of novel cholinesterase inhibitor and selextive muscarinic eceptor agonists in tests of reference and working memory. Behav Brain Res. 1993;57(2): 143-153.
20. Denns RP. Branes TC. Attenuation of scopolamine - induced spatial memory deficits in the rat by chlinomimetic and non - cholinomimetic drugs using a novel tak in the 12 - arm radial maze. Phychpharmacology (Berl).1993;111(4): 435-441.
21. 대역동의보감. 서울:법인문화사. 1999:138.
22. Alzheimer, A. ber eine eienarte Erkrankung der Hirninde. Zentralbl Nervenheik. 1907; 30: 177-9.
23. 우종인 외. 한국의 한 농촌지역에 거주하는 노인에서의 치매의 유병율. 신경정신의학. 1997;36(1):92-101.
24. Chui H, Zhang Q. Evaluation of dementia; A systematic study of the usefulness of the American Academy of Neurology's Practice Parameters. Neurology. 1997;49:925-935.
25. 박종환. 노인의 기능 상태 평가. 신경정신의학. 1995;34(3):636-641.
26. 장현갑 외 7인. 심리학. 서울:교육과학사. 1985:241-281.
27. Katzman R. Alzheimer's disease. N Eng J med.1986;314:954-973.
28. Ohno M, Yamamoto T, Watanabe S. Deficits in orking memory following inhibition hippocmpal nitric oxide synthesis in the rat. Brain Res. 1993:31;632(1-2):36-40.
29. Wiley JL, Willmore CB. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on timing and short-term memory in rats. Behave Pharmacol. 2000;11(5):421-9.
30. Carli M, Balducci C, Samanin R. Lowdoses of 8-OH-DPAT prevent the impairment of spatial learning caused by intrahippocampal scopolamine through 5-HT(1A) receptors in the dorsal raphe. Br Pharmcol. 2000;131(2):375-81.
31. Hiramatsu M, Inoue K. Improvement by low doses of nociceptin on scopolamine -induced impairment of learning and/or

memory. Eur J Pharmacol. 2000:28;395(2): 149-56.
32. 정재환, 김덕곤, 정승기, 이진용, 김장현, 조규석. 鹿茸 및 補兒湯加 鹿茸이 어린 흰쥐의 학습과 기억에 미치는 영향. 경희대 논문집. 2000;23(1):7.
33. Bullock BL. Pathophysiology adaptation and alterations in function 4th edition. Philadelpia : Lippincott. 1996:1095-1097.
34. De vente J, Markerink-van Ittersum M, Van Abeelen J, Emson PC, Axen H,Steinbusch HW. NO-mediated cGMP synthesis in cholinergic neurons in the rat forerain : effect of lesioning dopaminegic or serotonergic pathway on nNOS and cGMP synthesis. Eur J Neurosci. 2000;12(2):507-519.
35. Park CH, Kim SH, Choi W, Lee YJ, Kim JS, Kang SS et al. Novel anticholinesterase and antiamnesic activities of ehydrodiamine, a constitute of Evodia rutaecarpa. Planta Med. 1996;62(5):405-409.
36. 金祐鎌. 신경·근·감각, 서울:생명의 이치. 1993:278-279, 283-284.
37. 대한비과학회. 임상비과학. 서울:一潮閣. 1997:51-56.
38. 성호경 외. 생리학. 서울:의학문화사. 1996:620-625.
39. 이종삼 외. 生理學. 서울:圖書出版 大學書林. 1998:337.
40. Malcolm B. Carpenter. 신경해부학. 서울:高文社. 1993:347-354.
41. 楊維傑. 黃帝內經素問解釋. 서울:成輔社. 1980:52, 88, 102, 207, 293, 325, 361, 381, 443, 474, 551, 593, 702.
42. 張仲景. 新編仲景全書. 서울:大星文化社. 1993:3.
43. 秦越人著, 凌耀星主編. 難經校註. 北京:人民衛生出版社. 1991:72.
44. 전국한의과대학 본초학교실 공편저. 본초학. 서울:도서출판 영림사. 2000:129, 131, 132, 133, 236, 302, 306, 334, 336, 339, 409, 460, 482, 494, 531, 536, 550, 578.
45. 김창민 신민교 안덕균 이경순 저. 中藥大辭典. 서울:도서출판 정담. 1997: 1457-1459, 1770-1771, 2434-2436.
46. Yamasaki M, Matsuoka N, Kuratani K, Ohkubo Y, Yamaguchi I, FR121196, a potential antiemantia drug, amelirates the impaired memory of rat in the Morris water maze. J Pharmacol Exp Ther. 1995;272(1):256-263
47. 정봉교 외 2인. 흰쥐의 내측중격핵 손상이 Morris 수중미로과제의 학습에 미치는 효과. 한국심리학회지. 1993;5:29-44