동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 20. No. 2, 2009

玄蔘 水抽出物이 아밀로이드 前驅蛋白質로 形質轉換된 초파리에 미치는 효과

김진우, 이순이*, 이종화† , 민상준, 김태헌, 유영수, 강형원‡
원광대학교 한의과대학 한방신경정신과 교실
원광대학교 한의과대학 한방부인과 교실*
원광대학교 의과대학 소아과학교실†
원광대학교 산본한한방병원 신경정신과 & 인암뇌신경센타‡

Study of Anti-Alzheimer Activities from Scrophularia buergeriana Water Extract by Alzheimer's Protein APP-transgenic Fly

Jin-Woo Kim, Soon-E Lee*, Lee Jong Hwa† , Sang-Jun Min, Tae-Heon Kim, Yeoung-Su Lyu, Hyung-Won Kang‡
Dept. of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Wonkwang University
Dept. of Gynecology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University*
Dept. of Pediatrics, College of medicine, Wonkwang university†
Department of Neuropsychiatry and Inam Neuroscience Research Center, WonKwang University, Sanbon Oriental Medical Center‡

Abstract

Objectives :

From Scrophularia buergeriana water extract(SBW), has been used in vivo test for its beneficial effects on neuronal survival and neuroprotective functions, particularly in connection with APP-related dementias and Alzheimer's disease(AD). Aβ oligomer derived from proteolytic processing of the β-amyloid precursor protein(APP), including the amyloid-β peptide(Aβ), play a critical role in the pathogenesis of Alzheimer's dementia.

Methods :

Using drosophila APP model on APP-induced neuronal cytotoxicity, we demonstrated that SBW prevents neurotoxicity of Aβ oligomer, which are the behavior, and possibly causative, feature of AD. We investigated the neuroprotective effects of SBW against the effects of oligomeric Aβ and fly behaveior and life span by UAS-GRIM/APP-GAL within transgenic flies.

투고일 : 5/2 수정일 : 6/3 채택일 : 6/9
교신저자 : 강형원, 전북 익산시 신룡동 344-2 원광대학교 한의과대학 신경정신과교실
Tel : 031-390-2762, E-mail : dskhw@wonkwang.ac.kr

Results and Conclusions :
SBW repaired damage leading to the behaveior of APP-induced fly and delayed life span. These results suggest that neuronal damage in AD might be due to two factors: a direct Aβ oligomer toxicity and multiple cellular and molecular neuroprotective mechanisms, including attenuation of apoptosis and direct inhibition of Aβ oligomer, underlie the neuroprotective effects of SBW.

Key Words :
Scrophularia buergeriana, Drosophila, Alzheimer's disease, APP

Ⅰ. 서 론

痴呆란 만성 또는 진행성 뇌질환에 의해서 발병되며 기억, 사고, 지남력, 이해, 계산, 학습, 언어, 판단 등 다수의 고위대뇌기능장애를 나타내는 임상증후군으로[1], 유병률이 65세 이상에서 약 5~10%, 80대에서는 20~30%를 차지해 특히 연령과 관계가 깊다[2,3].

알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD)은 병리학적으로 진단된 痴呆 환자의 약 50~60%를 차지하고 있을 정도로 가장 흔한 유형의 치매이며[4], 아직 정확한 원인은 불분명하지만 뇌내의 조직학적 변화로 미만성 신경세포 소실, 과인산화된 tau 단백으로 이루어진 신경섬유다발 또는 신경섬유농축제의 세포내 축적, 퇴행위축 신경돌기로 둘러싸인 베타 아밀로이드 단백(β-amyloid protein, Aβ)의 세포 외 축적으로 인한 노인반(senile plaque) 등이 나타나게 되고[5], 이러한 Aβ가 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 발생시켜 산화적 스트레스로 인해 신경세포사멸을 유발하여 나타나는 것으로 알려져 있다[6].

한의학에서 痴呆는 呆病, 健忘, 癲狂, 虛勞을 근거로 변증시치하고 있고[7], 病因은 年老體虛, 精志失調, 飮食失調, 中毒外傷, 他病 등 이며, 病位는 神志이고, 그 病機로는 肝腎不足, 氣血虧虛, 痰飮, 痰火, 瘀血, 七情傷, 心腎不交 등 인데, 특히 노년기 痴呆의 病因으로는 肝腎不足이 대표적이다[8].

서양의학에서 AD의 치료를 위해 사용되고 있는 치료제는 크게 인지기능장애 치료제와 행동심리학적 증상 치료제로 나눌 수 있는데, 전자는 환자의 기억력이나 계산능력 등의 인지 기능을 개선하기 위해 투여하는 약물이고, 후자로는 환자가 보이는 이상 행동, 망상, 우울, 불안, 초조 증상 등을 조절하기 위해 투여하는 대증요법의 항정신성 약물들이다[9]. 하지만 이러한 치료들은 AD의 근본적인 치료를 목적으로 하기보다는 질병의 경과와 증상을 완화 시켜주는 것을 목적으로 하고 있는 대증요법 이라는 것과 여러 가지 부작용이 나타나는 문제점을 가지고 있다.

최근 AD에 대한 한의학계의 연구로 遠志[10]와 石菖蒲[11], 釣鉤藤[12], 紅蔘[13] 등의 單味와 壯元丸加減方[14,15], 聰明湯[16-20], 天旺補心丹[21,22] 등의 處方이 AD에 일정한 효과가 있는 것으로 보고되고 있으나, 문헌상 痴呆의 치료에 비교적 多用되고 있으면서, 滋陰淸熱, 活血祛瘀의 작용이 있으며, 특히 최근 AD에 대하여 매우 유효한

효과를 나타내는 壯元丸加減方[14,15]에서 주요약재 중의 하나인 玄蔘에 대한 실험과 연구가 다른 藥物에 비하여 부족하다.

玄蔘*(Scrophulariae Radix)*은 玄蔘科(Scrophulariaceae)에 속한 多年生 草本인 北玄蔘(Scrophularia buergeriana MIQ.)과 玄蔘(S.ningpoensis HEMSL.)의 뿌리를 乾燥한 것으로 性味는 寒 無毒하고 味는 甘苦鹹하다[23].

玄蔘에 대한 기존의 연구 중 기억력에 관한 연구로 Phenylpropanoids[24]와 E-p-methoxycinnamic acid25) 등 玄蔘 성분의 뇌신경세포에 대한 보호작용에 관련된 연구가 보고되었으나, 짧은 생존주기와 Target gene의 유용성을 가진 형질전환 초파리에서의 연구는 없었다.

이에 저자는 APP 형질전환한 초파리의 생존률, 비행상승능력, 비행상승시간을 정상군과 玄蔘 水抽出物(이하 SBW)를 투여한 그룹과 비교하여 유의한 결과를 얻었기에 報告하는 바이다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 시약 및 기기

실험에 사용된 시약은 RPMI 배지, fetal bovian serum(FBS), penicillin /streptomycin, trypsin(Gibco BRL), Ethanol(Merck) 및 ECL kit는 Amershrm phamacia에서 구입하였고, 시약은 모두 특급 및 일반시약을 사용하였다.

본 실험에 사용된 기기는 CO_2 incubator(VS-9108 MS, vision scientific Co.), light microscope(Olympus), confocal immunofluorescence microscope (Olympus), Scanning Electron Microscope(FESEM/EDS, JEOL JSM-6300 F/ LINKeXL) 등을 사용하였다.

2) 玄蔘 水抽出物의 조제

본 실험에 사용한 玄蔘 水抽出物(이하 SBW)은 원광대 한의과대학에서 사용 중인 玄蔘 1 Kg을 엄선하여 세말한 다음 적당량의 3차 증류수 5,000 mL를 첨가하여 65℃에서 8시간 열탕을 가한 다음 식힌 후 SBW 600 g중에서 동결건조 하여 150 g을 회수하여 사용 전 -80℃에 보관하여 3차 증류수로 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

2. 연구방법

1) 초파리 형질전환

초파리 사육을 위해 과당 600 g, yeast extract 120 g, 옥수수전분 420 g, bokinin 20 ml, propionic acid 30 ml, agar 60 g을 물 6 L에 녹여서 멸균하여 사용하였다. 본 실험에 사용한 형질전환 초파리모델은 야생형인 Drosophila melanogaster W1118에 UAS-GAL4 시스템을 통해서 뇌신경세포에 잘 발현되도록 형질전환된 elav-GAL4와 세포사멸에 관여하는 UAS-GRIM 초파리를 순차적으로 교배시킨 후, 이를 다시 APP-GAL4 초파리와 교차교배를 시킨 다음 치매 형질전환모델인 APP-GAL4/ UAS-GRIM을 작제하여 유전적으로 잘 발현되는지 그 유무를 RT-PCR을 수행하여 유전자 염기서열을 확인한 후 정확한 치매모델용 초파리를 선정하여 본 SBW를 대상으로 치매 치료제 유효성을 검정하였다.

2) 초파리 생존율 측정

본 실험에 사용한 초파리는 세포사멸이 민감하게 반응하도록 형질전환된 APP-GAL4/ UAS-GRIM 초파리를 대상으로 수컷 25마리를 2.5 cm x9.5 cm의 플라스틱 바이알에 정사각형

1.5 cm의 여과지에 5% 과당을 첨가하고 SBW를 50 ㎍/ml 농도로 이틀마다 교환하여 처리하고 단기적 생존율을 위해 25일 동안 유지하면서 APP-GAL4/UAS-GRIM 초파리를 사육하여 생존율을 관찰하였다.

3) 초파리의 행동학적 분석

초파리의 climbing ability는 야생형인 Drosophila melanogaster W1118와 세포사멸이 민감하게 반응하도록 형질전환된 APP-GAL4/UAS-GRIM 초파리 성체 3-day-old females를 대상으로 9.5-cm vials에서 수행하였다. 실온에서 1시간동안 환경에 적응 시킨 다음 초파리가 완전히 바닥에 앉아 있는 시점을 기준으로 실시하였고, climbing time은 시작부위에서 7 cm 말단부위까지 5번 이상 도달하는 것으로 5회 반복 실험을 수행하였다. Flight assay는 3일된 암놈과 30일된 암놈을 대상으로 Pesah방법을 적용하여 수행하였다(n>10).

3. 통계학적 분석

실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며 처리에 대한 결과의 유의성 검정은 Student's t-test로 분석하였고, p<0.05인 경우, 유의성이 있는 것으로 하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 玄蔘 水抽出物 농도에 의해 초파리 생존에 미치는 영향

APP-GRIM으로 형질전환된 초파리의 경우 세포사멸에 의해 신경계가 퇴행되고 개체의 생존에 치명적인 손상을 입게 된다. 야생주 초파리 정상군과, APP 형질전환 초파리 대조군, 그리고 SBW를 0, 10, 25, 50, 100 ㎍/ml 로 처리하여 생존율을 25일간 관찰한 결과, 개시 전에는 각각 25마리였으나 25일 경과 후에도 정상군은 25±0마리로 나타났고, 이에 비해 대조군인 APP/GRIM은 3±1마리로 나타났고, APP/GRIM와 SBW를 동시에 처리한 군에서는 10, 25, 50, 100 ㎍/ml 농도에서 25일 경과 후 약 8±1, 12±1, 18±1, 21±1마리였는데, 특히 SBW 50 ㎍/ml 농도 이상에서 p<0.005 범위 내에서 유의성 있게 APP 형질전환 초파리에 대한 억제효과로 인해 개체 생존율을 증가시켰다(Fig. 1).

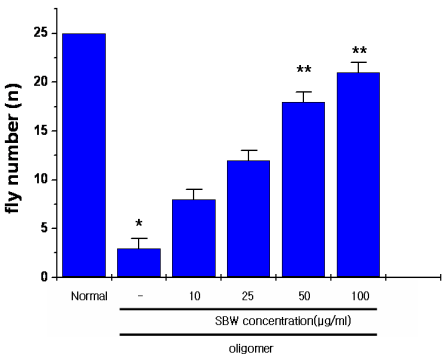


Fig. 1. Median life span of SBW-treated flies.
Survival ratio of W/T and UAS-APP/GRIM-GAL4 transgenic adult flies after prolonged treatment with the 0, 10, 25, 50, 100 ㎍/ml SBW, UAS-APP/GRIM-GAL4 and of nontreated flies of GMR-GAL4. The data represent mean values ± SD of three different experiments performed in triplicate. The results represent the means ± SD of four separate experiments. * p < 0.05 compared with normal(ANOVA and t-test analysis). ** p < 0.005 compared with control(ANOVA and t-test analysis).

2. 玄蔘 水抽出物 처리시간에 의해 초파리 생존에 미치는 영향

야생주 초파리 정상군과, APP 형질전환 초파리 대조군, 그리고 SBW를 50㎍/ml 로 처리하여 생존율을 25일간 관찰한 결과, 개시 전에는 각각 25마리였으나 25일 경과 후에도 정상군은 25±0마리로 나타났고, 이에 비해 대조군인 APP/GRIM은 0마리였고, APP/GRIM와 SBW

를 동시에 처리한 군에서는 25일 경과 후 약 17±1마리로 나타났다(Fig. 2).

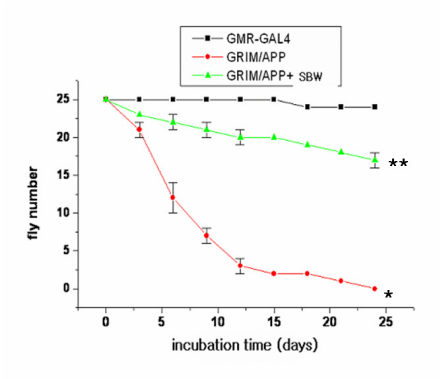


Fig. 2. Life span of short-time period on SBW-treated flies.

Survival ratio of W/T and UAS-APP/GRIM-GAL4 transgenic adult flies after prolonged treatment with the 50 ㎍/ml SBW, UAS-APP/GRIM-GAL4 and of nontreated flies of GMR-GAL4 for 25 days under 5% sucrose. The data represent mean values ± SD of three different experiments performed in triplicate. * p < 0.05 compared with normal(ANOVA and t-test analysis). ** p < 0.005 compared with control(ANOVA and t-test analysis).

3. 초파리의 상승능력에 미치는 영향

일정 높이에서 정상 초파리군은 체공시간이 길고 APP 형질전환 초파리군은 짧은데 APP 형질전환 초파리군 에서 SBW의 효과에 대한 체공시간을 조사하기 위해 초파리의 상승능력을 3-day-old females를 대상으로 9.5-cm vials에서 수행하였다. 실온에서 1시간 동안 환경에 적응시킨 다음 초파리가 완전히 바닥에 앉아 있는 시점을 기준으로 실시하였고, climbing time은 시작부위에서 7 cm 말단부위까지 5번 이상 도달하는 것을 기준으로 하고 5번의 반복실험을 수행하였다.

그 결과 비행정도가 최초 3일에서 정상군을 100% 로 환산하였을 때, 대조군의 경우 약 10±1%인데 반해, SBW 처리군은 88±1% 로 유의성 있게 증가하였고(p<0.005), 30일이 경과한 후에는 정상군을 98%로 환산하였을 때, 대조군의 경우 약 8±0.5%인데 반해, SBW 처리군은 79±1%로 유의성 있게 증가하였다(p<0.005)(Fig. 3).

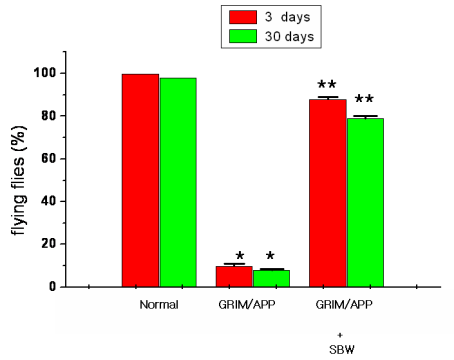


Fig. 3. Comparison of climbing ability.

The percentage of flight ability is decreased by APP induction, but the percentage of flight ability in 50 ㎍/ml SBW treatment increased as same flies. Error bars indicate mean ± SD Details of all the indicated genotypes in this and other figures are described in Methods and Materials. * p < 0.05 compared with normal(ANOVA and t-test analysis). ** p < 0.005 compared with control(ANOVA and t-test analysis).

4. 초파리의 비행횟수에 미치는 영향

초파리의 Flight assay를 3-day-old females를 대상으로 Pesah방법을 적용하여 수행하였다(n > [25]). 비행횟수는 5번 이상 도달하는 것을 기준으로 5번의 반복실험을 수행하였다.

그 결과 비행시간 10분 동안 정상군은 평균적으로 비행횟수가 6회 정도이며, 대조군의 경우 약 18±0.5회 인데 반해, SBW 처리군은 10.5±0.5회로 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다(p<0.005). 30일이 경과한 후에는 야생형인 정상군 에서 7회 인데 반해 대조군의 경우 약 17±0.5회로 비행횟수가 늘어남을 알 수 있고, SBW 처리군은 11±0.5회로 대조군에 비해 큰 변화를 보였다(p<0.005)(Fig. 4).

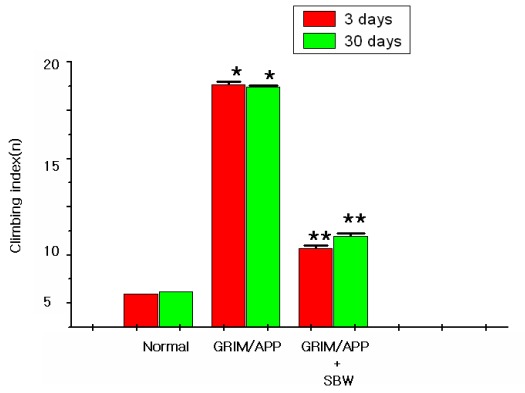


Fig. 4. Comparison of climbing rate.
Climbing time increase by APP induction.
Error bars indicate mean ± SD Details of all the indicated genotypes in this and other figures are described in Methods and Materials. * p < 0.05 compared with normal(ANOVA and t-test analysis). ** p < 0.005 compared with control(ANOVA and t-test analysis).

Ⅳ. 고 찰

痴呆는 뇌의 질환 또는 손상과 관련하여 의식장애가 없이 기억장애를 포함하 는 다양한 인지기능의 장애가 지속적으로 나타나는 경우를 말한다[2]. 좀 더 넓은 의미로는 지적 황폐화뿐만 아니라 행동 이상 및 인격 변화를 초래하며, 정서적 기능상실과 진행성인 지적 황폐화가 사회적 혹은 직업적 기능의 장애를 초래하게 되는 상태이다[7].

생활수준과 의학의 발달로 평균수명이 증가하여 노인 인구가 차지하는 비율이 점차 증가하고 있고, 국내에서도 통계청 자료에 의하면 65세 이상의 노인 인구가 2010년에는 전인구의 9.9%인 500만명, 2020년에는 전인구의 13%인 680만명 수준으로 계속 증가될 전망이며[26], 이에 따라 痴呆환자도 증가하는 추세에 있다.

痴呆의 원인으로는 많은 원인 질환들이 있지만 가장 흔한 형태는 다른 질환과 병발된 경우를 포함하면 AD가 병리학적으로 진단된 경우가 치매 환자의 약 50~60%를 차지하고 있다고 알려져 있다[4]. AD는 1907년 독일의 정신과 의사이며 병리학자인 Alzheimer에 의하여 최초로 보고되었으며[27], 비교적 젊은 나이에 시작하여 점진적으로 기억력이 소실되는 조기치매가 주된 임상증상이고, 사후부검에서 대뇌피질의 대부분의 영역에서 신경돌기반(neuritic plaque, NP)과 신경섬유다발(neurofibrillary tangle, NFT)이 다수 관찰되는 것이 병리학적 특징이다[5].

AD의 원인에 대해서는 많은 가설이 있는데 유전적 결함, 바이러스 질환, 에너지 대사 결함, APP의 이상변화, 신경친화적인 요소의 결손, 글루탐산염 독성, 미토콘드리아의 결함, 극미량 원소의 독성, 자유기가 유도한 신경원의 노화 등이 제시되고 있다[28]. AD의 분자 병리 기전을 설명하기 위해 몇 가지 주요 가설이 제시되고 있는데, 콜린성 가설과 아밀로이드 가설이 중심을 이루고 있다[5].

아밀로이드 가설은 AD 환자의 뇌에서 관찰되는 신경세포의 퇴행성 변화가 Aβ의 생성, 응집, 침착, 신경세포 독성 등을 유발하는 APP의 대사 이상에 의해 매개된 일련의 반응에 의한 것이라는 이론으로, APP를 분해하는 세 가지 주요 효소 중 β-secretase에 의해 Aβ의 N-단 부분이 절단되고, 동시에 γ-secretase가 C-단 분절을 절단하면 아미노산 잔기가 40 또는 42인 Aβ 40과 Aβ42가 생성된다. 이러한 Aβ monomer가 화학적인 자극이나 중금속 등의 영향으로 인하여 Aβ oligomer로 중합되어, 신경돌기의 증식을 촉진하며 ROS를 생성하고, 세포독성을 유도하고 microglial cell을 활성화시켜 TNF-α와 IL-1β를 포함한 신경독성물질의 분비를 유도하며 이것이 AD 환자의 뇌에 신경독성을 증강 시키게 된다고 하는 것이다[5,29].

현재 서양의학에서 AD의 치료를 위해 사용되고 있는 치료제는 크게 인지기능장애 치료제

와 행동심리학적 증상 치료제로 나눌 수 있으나, 실제 환자들에게 이들 약물의 효과는 제한적으로, 환자의 절반 정도가 초기 약물치료에 실패하고 있으며, 설사 치료가 성공적이라 하더라도 증상의 완만한 완화만을 보여줄 뿐이다. 따라서 현재의 약물치료법의 한계를 넘을 수 있는 획기적인 치료법이 필요한 상황이다.

이러한 한계를 극복하기 위한 서양의학의 AD에 대한 연구동향을 보면 β-secretase 조절제[30,31], ɣ-secretase 조절제[32-34], 안지오텐신 수용체 차단제(angiotensin receptor blockers, ARBs)[35], tau 단백질 조절제에 대한 연구[36] 등이 이루어지고 있다.

한의학의 歷代 文獻에서의 痴呆는 明代 張景岳의 『景岳全書』[37]에서 '痴獃'라고 하여 痴呆를 癲狂과 분리하여 독립된 하나의 병명으로 인식하기 시작하였으며, 그 이후 『石室秘錄』[38], 『辨證奇聞』[39] 등에서 이를 '呆病'이라고 칭하고 그 症狀 및 治療法에 관하여 상세히 기록 하였고, 그 이전에는 『黃帝內經』[40]등에서 기록된 '癲疾', '健忘' 등이 痴呆와 유사한 증상이라고 할 수 있다. 明代 이전까지 精神疾患은 癲狂으로 분류하여 왔는데 痴呆는 癲에 가깝다고 할 수 있으며, 痴呆가 정신병 부분에서 분리되어 따로 분류되어진 것은 淸代 이후 『石室秘錄』에서 최초로 痴呆의 症狀을 자세히 설명하였고 病因, 病理까지도 체계화하였다[41]. 또한 『醫林改錯』[42]에서는 腦髓虛空을 原因으로 봐서 현대의학의 腦老化 및 腦萎縮과 가장 유사하게 설명하고 있다[43].

최근 AD에 대한 한의학계의 연구로 여러 가지 單味와 處方에 대한 연구가 있었으나[10-22], 痴呆와 健忘에 多用되고 있는 處方 中 歸脾湯, 天旺補心丹, 通鬱湯, 神交湯, 壯元丸, 扶老丸 등에 포함되어 있고[44], 滋陰淸熱, 活血祛瘀의 작용을 하여 뇌신경세포 보호작용과 기억력증진의 효과를 나타내는 玄蔘에 대한 연구가 다른 藥物에 비하여 부족한 편이다.

玄蔘*(Scrophulariae Radix)*은 玄蔘科(Scrophulariaceae)에 속한 多年生 草本인 北玄蔘(Scrophularia buergeriana MIQ.)과 玄蔘(S.ningpoensis HEMSL.)의 뿌리를 乾燥한 것으로 性味는 寒 無毒하고 味는 甘苦鹹하다. 效能은 滋陰淸熱, 解毒滑腸하고 熱病傷陰, 舌絳煩渴, 溫毒發斑, 津傷便秘, 骨蒸勞嗽, 目赤, 咽痛, 癭癧, 白喉, 癰腫瘡毒을 治療하는 작용을 한다[23].

玄蔘에 대한 명칭은 『神農本草經』[45] 中品에 "元蔘 一名 重台"라고 기재된 이래, 陶弘景의 『名醫別錄』[46]에서 "玄蔘"이라고 처음으로 기재된 후부터 玄蔘이라고 통칭되고 있다.

성분으로는 주로 scrophularin과 iridoid성분을 함유한다. 그 중 harpagoside가 70~80%를 차지하고, 8-(o-methyl-p-coumaroyl)-harpagide가 20~30%를 차지한다. 이외에도 미량의 정유성분과 steroids, 휘발성 알칼로이드, l-saparagine, 당류, 및 지방산(oleic acid, linoleic acid, stearic acid 등)을 함유하고 있으며, 혈압강하 작용, 혈관이완 작용, 항균 작용, 혈당상승 작용 등이 있는 것으로 알려져 있다[47,48].

玄蔘의 AD에 관련된 뇌신경세포에 대한 효능을 알아 볼 수 있는 연구로는 玄蔘의 Phenylpropanoids의 기억력 개선에 대한 연구[24]와 玄蔘의 E-p-methoxycinnamic acid의 항치매 작용에 대한 연구[25]가 있으며, 신약개발연구사업으로 진행된 玄蔘의 뇌신경세포 보호효과에 대한 연구[49], 玄蔘의 뇌허혈로 유발된 해마 치상회의 세포사멸에 대한 억제효과에 대한 연구[50] 등이 있으며, 玄蔘과 관련된 제품의 항노화작용[51], 기억능력 증진작용[52], 신경세포 보호 활성작용[53] 등에 대하여 특허가 등록되어 있는 등 연구가 이루어지고 있으나, 玄蔘의 APP 형질전환 초파리를 활용한 치매치료제 개발에 대한 연구는 현재까지 이루어진 바가 없었다. 따라서 실험결과를 비교적 정확하게 얻을 수 있는

장점이 있으며, 인간유전자와 85% 유사한 초파리의 APP를 분자생물학적으로 조작하여 실험한 본 연구는 매우 의미가 있다고 생각된다.

실험방법으로는 유전적으로 APP로 형질전환된 초파리 모델을 이용하여 SBW를 처리한 후 초파리의 생존율을 확인하였으며, 상승능력과 비행횟수를 측정한 결과를 student's t-test를 사용하여 유의수준 $p<0.05$와 $p<0.005$에서 유의한 것으로 하였다. 그리고 APP로 형질전환된 초파리에서 정상군, APP 형질전환군 그리고 APP 형질전환군에 SBW의 50 ㎍/ml 농도로 처리한 군으로 구별하여 GMR-APP 형질전환 초파리에서 APP-GRIM 형질전환군과 SBW 처리군의 비행능력과 비행횟수에 미치는 영향을 관찰하였다.

APP/GRIM으로 형질전환된 초파리의 생존에 미치는 영향에 있어서는 대조군인 APP/GRIM의 3±1마리에 비하여, SBW 동시 처리군은 50 ㎍/ml 농도이상에서 유의성 있게 APP 형질전환 초파리에 대한 억제효과로 인해 개체 생존율을 증가시켰다(Fig. 1).

이러한 결과를 토대로 APP/GRIM으로 형질전환된 초파리의 경우 세포사멸에 의해 신경계가 퇴행되고 개체의 생존에 치명적인 손상을 입게 되므로 생존에 미치는 영향에 대해서도 분석할 필요가 있다.

생존율을 25일간 관찰한 결과, 대조군인 APP/GRIM의 0마리에 비하여, SBW 동시 처리군 에서는 약 17±1마리가 생존하여, SBW가 APP 형질전환 초파리에 대한 생존을 유도하는 효과로 인해 개체 생존율을 증가시킨 것으로 나타났다(Fig. 2).

초파리의 상승능력에 미치는 영향에 있어서는, 초기 3일과 30일 경과 후에도 대조군에 비해 SBW 처리군이 유의한 증가를 보여, SBW는 APP 형질전환 초파리군의 신경사멸과 미토콘드리아의 손상으로 인한 운동장애를 효과적으로 억제함을 알 수 있었다(Fig. 3).

초파리의 비행횟수에 미치는 영향에 있어서는, 초기 3일과 30일 경과 후에도 대조군에 비해 SBW 처리군이 유의하게 감소하여, SBW가 APP의 발현에 의한 신경손상을 억제함을 알 수 있었다(Fig. 4).

이상의 SBW의 APP 형질전환된 초파리에 관한 효과를 기존의 김[13]의 紅蔘의 연구와 김[15] 등의 壯元丸加減方에 대한 연구와 비교하였을 때, SBW는 초파리의 생존율을 증가시키고 상승능력을 증가시키며, 비행횟수를 감소시키는 등의 긍정적인 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과와 같이 형질전환된 초파리를 이용하여 만든 신경손상 모델에서 SBW를 이용하여 형질전환된 초파리의 생존율, 상승능력, 비행횟수를 살펴본 결과 SBW가 신경 세포 사멸을 억제하는 효능이 있음을 관찰할 수 있었다. 앞으로 임상에서의 응용뿐만 아니라 향후 다른 약재 및 처방과의 비교실험을 통한 치매에 효과적인 약물의 개발이 뒤따라야 할 것으로 사료된다.

Ⅴ. 결 론

APP로 형질전환된 초파리에서 玄蔘 水抽出物을 이용하여 신경세포의 세포사 유도에 대한 억제와 신경세포 보호효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 玄蔘 水抽出物은 APP 형질전환 초파리의 생존율을 유의성 있게 증가시켰다.

2. 玄蔘 水抽出物은 APP로 형질전환된 초파리의 운동장애를 억제하여 상승능력을 증가시켰다.

3. 玄蔘 水抽出物은 APP로 형질전환된 초파리의 신경손상으로 인한 비행횟수를 유의성 있게 감소시켰다.

참 고 문 헌

1. 김지혁, 황의완. 동의정신의학. 서울:현대의학서적사. 1992:256-71, 327-30.
2. 이정균, 김용식 편. 정신의학. 서울:일조각. 2005:175-82.
3. 민성길. 최신정신의학. 서울:일조각. 2001:186-7.
4. Jellinger KA. Clinicopathological analysis of dementia disorders in the elderly. J. Alzheimers Dis. 2006:9(3):61-70.
5. 대한치매학회. 치매 임상적 접근. 서울:아카데미아. 2007:233-346.
6. Selkoe DJ. Amyloid β-protein and the genetics of Alzheimer's disease. J. Biol. Chem. 1996;271(31):18295-8.
7. 대한한방신경정신과학회 편. 한방신경정신의학. 경기:집문당. 2005:233-8, 274-84, 311-20, 358-72.
8. 최성열, 김대현, 김상태, 김태헌, 강형원, 류영수. 치매에 대한 최신 실험적 연구 동향(2000년 이후 한의학 학술지를 중심으로). 동의신경정신과학회지. 2008;19(1):125-46.
9. 박종한, 오병훈, 연병길, 한설희, 한일우, 서국희, 김상윤, 배재남, 정지향, 이재홍. 알쯔하이머병의 치료지침 개발. 대한의사협회지. 2003;46(12):1070-96.
10. 이성률, 강형원, 김상태, 류영수. 遠志와 石菖蒲 혼합추출액의 pCT105로 유도된 신경세포암 세포주에 대한 항치매 효과. 동의병리학회지. 2003;17(4):1037-49.
11. 최혁, 김상호, 이대용, 안대종, 강형원, 류영수. pCT105로 유도된 치매모델에서 石菖蒲 수추출액이 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 2002;13(2):173-94.
12. 장현호, 류승준, 한원주, 김경열, 류희영, 김태헌, 류영수, 강형원. 백서의 기억능력에 대한 釣鉤藤 디클로로메탄분획의효과. 동의신경정신과학회지. 2005;16(1):119-28.
13. 김영준. 紅蔘 수추출물이 치매단백질 APP 형질전환 초파리와 흰쥐해마세포주인 H19-7에 미치는 영향. 원광대학교 대학원 박사학위논문. 2007.
14. 강형원, 김상태, 이종화, 김태헌, 손형진, 한평림, 류영수. 壯元丸加減方 수추출물이 아밀로이드 전구단백질로 유도된 생쥐의 신경아세포주에서의 항치매 효과. 동의신경정신과학회지. 2007;18(2):13-24.
15. 김상태, 강형원, 한평림, 조형권, 김태헌, 류영수, 손형진. 壯元丸加減方인 LMK02가 아미로이드 전구단백질로 형질전환된 초파리에 미치는 효과. 동의신경정신과학회지. 2008;219(2):151-63.
16. 오영진, 김보경. 聰明湯과 香附子聰明湯의 추출물, 나노분말 제형을 이용한 치매에 관한 연구. 동의신경정신과학회지. 2006;17(1):79-105.
17. 임정화, 이상룡. 八味聰明湯 열추출물, 초미세분말제형이 Alzheimer's Disease 병태 모델에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 2008;19(2):95-110.
18. 하수영, 정인철, 이상룡. 聰明湯과 山査聰明湯이 Alzheimer's Disease 병태 모델에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 2006;17(1):59-78.
19. 박지운, 정인철, 이상룡. 聰明湯과 木槿聰明湯이 CT105와 βA로 유도된 Alzheimer's Diseasse 병태모델에 미치는 영향. 동의신경

정신과학회지. 2006;17(1):37-57.
20. 국윤재, 최혁, 김태헌, 강형원, 유영수. 베타 아밀로이드 유도성 Neuro 2A 세포독성에 대한 총명탕의 효과. 동의생리병리학회지. 2004;18(5):1418-25.
21. 최강욱, 정인철. 天旺補心丹 열추출물, 초미세분말제형이 Alzheimer's Disease 병태 모델에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 2008;19(2):77-93.
22. 이준영, 정인철, 이상룡. 天旺補心丹이 치매 병태 모델에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 2002;13(2):149-71.
23. 전국한의과대학 본초학교수 공편저. 본초학. 서울:영림사. 1998:192-3.
24. 김소라. 기억력 개선 활성을 가지는 현삼의 Phenylpropanoids 및 그 작용기전. 서울대학교 대학원 박사학위논문. 2001.
25. So Ra Kim, So Young Kang, Ki yong Lee, Seung Hyun Kim, George J. Markelonis, Tae H. Oh, Young Choong Kim. Anti-amnestic activity of E-p- methoxycinnamic acid from Scrophularia buergeriana. Cognitive brain research. 2003;17(2):454-61.
26. 곽동일. 노인성 치매. 노인정신의학. 1997;1(1):3-15.
27. Alzheimer A : Uber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. Allgemeine Zeitschtliche fur Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizine. 1907;64:146-8.
28. Ozcankaya R, Delibas N. Malondialdehyde, superoxide dismutase, melatonin, iron, copper, and zinc blood concentrations in patients with Alzheimer disease. cross-sectional study. Croat Med J. 2002;43(1):28-32.
29. Yates SL, Burgess LH, Kocsis-Angle J, Antal JM, Dority MD, Embury PB, Piotrkowski AM, Brunden KR. Amyloid β and amylin fibrils induce increases in proinflammatory cytokine and chemokine production by THP-1 cells and murine microglia. Neurochem. 2000;74(3):1017-25.
30. Huaibin Cai, Yanshu Wang, Diane McCarthy, Hongjin Wen, Dived R. Borchelt, Donald L. Price, Phinip C. Wong. BACE1 is the major β-secretase for generation of Aβ peptides by neurons. Nature Neuroscience. 2001;4:233-4.
31. Lawrence Rajendran, Anja Schneider, Georg Schlechtingen, Sebastian Weidlich, Jonas Ries, Tobias Braxmeier, Petra Schwille, Jorg B. Schulz, Gornelia Schroeder, Mikael Simons, Gary Jennings, Hans-Joachim Knolker, Kai Simons. Efficient Inhibition of the Alzheimer's Disease β-secretase by Membrane Targeting. Science. 2008;320(5875):520-3.
32. Siemers ER, Skinner M, Dean RA, Gonzales C, Satterwhite J, Farlow M, Ness D, May PC. Safety, tolerability, and changes in amyloid beta concentrations after administration of a gamma-secretase inhibitor in volunteers. Clin Neuropharmacol. 2005;28(3):126-32.
33. Siemers ER, Quinn JF, Kaye J, Farlow MR, Dorsteinsson A, Tariot P, Zoulnouni P, Galvin JE, Holtzman DM, Knopman DS, Satterwhite J, Gonzales C, Dean RA, May PC.

Effect of a gamma-secretase inhibitor in a randomized study of patients with Alzheimer disease. Neurology. 2006;66(4):602-4.
34. Kukar TL, Ladd TB, Bamm MA, Fraering PC, Narlawar R, Maharvi GM, Healy B, Chapman R, Welzel AT, Golde TE. Substrate-targeting gamma-secretase modulators. Nature. 2008;453(7197):925-9.
35. B. Wolozin, A. Lee, A. Lee, R. Whitmer, L. Kazis. Use of angiotensin receptor blocker is associated with a lower incidence and progression of Alzheimer's disease. Alzheimer's and Dementia. 2008;4(4):T118.
36. Ayodeji A. Asuni, Allal Boutajangout, David Quartermain, Einar M. Sigurdsson. Immunotherapy Targeting Pathological Tau Conformers in a Tangle Mouse Model Reduces Brain Pathology with Associated Functional Improvements. J. Neurosci. 2007;27(34):9115-29.
37. 張介賓. 景岳全書. 上海:上海科學技術出版社. 1991:576.
38. 陳士鐸. 石室秘錄. 中國:中醫藥出版社. 1991:295-7.
39. 錢鏡湖. 辨證奇聞. 中國:甘地出版社. 1990:233-5.
40. 洪元植편. 精校黃帝內經. 서울:東洋醫學硏究所. 1985:57-64, 252-61.
41. 이동원, 신길조, 이원철. 치매에 관한 동서의학적 비교 고찰. 대한한방내과학회지. 1995;16(1):1-16.
42. 王淸任. 醫林改錯. 台聯國風出版社. 1975:22-5.
43. 김현아, 정지천, 이원철. 노인성치매에 대한 문헌적 고찰. 대한한방내과학회지. 1992;13(2):57-69.
44. 김성욱, 주승균, 구병수. 건망의 병인 및 치료에 관한 문헌고찰. 동의신경정신과학회지. 2001;12(2):69-84.
45. 神農本草經 中品. 서울:醫道韓國社. 1976:10.
46. 陶弘景. 名醫別錄. 北京:人民衛生出版社. 1986:127.
47. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외. 완역중약대사전. 서울:정담. 1999:4786-91.
48. 김호철. 한약약리학. 서울:집문당. 2001:145-7.
49. 김영중. 현삼의 뇌신경세포 보호활성 성분 및 그 작용기전 연구. 서울대학교 약학대학. 2003.
50. Jun-Hwan Lee. Neuroprotective effects of Scrophulariae radix on cerebral ischemia in gerbils. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 2007.
51. 이재용, 황원상, 신현경, 원무호, 오양석, 서준교. 항노화 활성이 우수한 현삼 추출물을 포함하는 식품 조성물. 대한민국특허청. 2006:10-0597612.
52. 배현수, 최보업, 노삼웅, 이은아, 홍무창, 신민규. 기억능력 증진용 혼합 생약재 추출물. 대한민국특허청. 2005:10-0491429.
53. 김영중, 김소라. 신경세포 보호활성을 가지는 신나메이트 유도체. 대한민국특허청. 2000:10-0291524.