

도토리 급여가 치매모델 마우스 뇌조직의 아세틸콜린 및 관련효소 활성화에 미치는 영향

- 연구노트 -

이성현^{1*} · 김대익¹ · 조소영¹ · 정현진¹ · 조수묵¹ · 박홍주¹ · Hyun S. Lillehoj²

¹농촌진흥청 농업과학기술원 농촌자원개발연구소

²Animal and Natural Resources Institute, ARS-USDA

Effects of Acorn (*Quercus acutissima* CARR.) Supplementation on the Level of Acetylcholine and Its Related Enzyme Activities in the Brain of Dementia Mouse Model

Sung-Hyeon Lee^{1*}, Dae-Ik Kim¹, So-Yong Cho¹, Hyun-Jin Jung¹,
Soo-Muk Cho¹, Hong-Ju Park¹ and Hyun S. Lillehoj²

¹National Rural Resources Development Institute, NIAST, RDA, Suwon 441-853, Korea

²Animal and Natural Resources Institute, ARS-USDA, Beltsville, MD 20705, USA

Abstract

This study was designed to investigate the anti-dementia effects of acorn (*Quercus acutissima* CARR.) in brain of the mouse. Dementia model was induced by administration of scopolamine (30 mg/kg BW). Male ICR mouse (30±2 g BW) were fed basal diet (control group), and experimental diets (AP-5 and AP-10 groups) added 5% and 10% of dried acorn powder to basal diet for 8 months. Acetylcholine content significantly increase in AP-5 and AP-10 groups (4.2% and 11.3%, respectively) compared with control group. Acetylcholinesterase activities were significantly inhibited (13.5% and 17.6%, respectively) in brain of AP-5 and AP-10 groups. Monoamine oxidase-B (MAO-B) activities were significantly inhibited (10.0% and 12.7%, respectively) in brain of AP-5 and AP-10 groups. These results suggest that acorn (*Q. acutissima* CARR.) may play an effective role in an attenuating various age-related changes such as dementia including learning and memory impairments in brain.

Key words: acorn, dementia, acetylcholine, acetylcholinesterase, monoamine oxidase-B

서 론

최근 평균수명의 증가로 인한 고령화 현상이 문제됨에 따라 노인 인구의 증가와 함께 노인성 질환 연구의 중요성이 강조되고 있다. 특히 노인성 질환 중 가장 큰 문제가 되는 것은 치매(dementia)이다. 치매는 크게 혈관성 치매(cerebrovascular dementia)와 노인성 치매(alzheimer type dementia)로서 구분되는데 그 중에서도 문제가 되는 것은 노인성 치매이다(1). 치매는 신경전달물질인 acetylcholine (ACh)의 감소(2,3)와 신경세포 사멸 등을 원인으로 보고 있으며(4), 이와 같은 치매 유발 메커니즘을 고려하여 scopolamine을 이용한 인지능력 저하 모델이 개발되었다. Scopolamine은 acetylcholine의 전달을 막음으로써 행동력이나 인지능력을 저하시키는 약물로 acetylcholine 함량 감소, acetylcholinesterase 활성화 및 dopamine 산화를 증가시키는

것으로 알려져 있으며, 식품 혹은 약물의 치매 개선 효과 실험에서는 이들 요인의 변화가 주로 조사된다(5-8).

도토리(*Q. acutissima* CARR.)는 우리나라 전역에서 생산되는 참나무속(*Genus querus*) 열매로 약명 상실(橡實), 속명으로는 상(橡), 청강수(靑剛樹), 자목(籽木), 상완(橡椀), 도토리나무, 참나무 등으로 불리며, 해발 800 m 이상에서 자생한다. 과실은 식용으로 목, 전분, 국수를 만드는데 이용하며, 약용으로 대장염(大腸炎), 구내염(口內炎), 종독(腫毒), 산기(産氣), 강장(強壯), 인후통(咽喉痛) 등을 다스리는데 쓰였다(9,10). 도토리에는 전분 65~69%, 조단백 5.8~7.8%, 조지방 1.1~5.0%, 조섬유 2.1~3.6%, 조회분 1.9~3.4%, 탄닌 4.6~9.3% 수분 6.5~13.7% 등을 함유하고 있는데, 탄닌은 polyphenol 화합물로 가수분해형 탄닌과 축합형 탄닌으로 구별되나 도토리의 떫은맛과 갈변 현상은 주로 가수분해형 탄닌에 의한 것이며, 가수분해형 탄닌 성분 즉

*Corresponding author. E-mail: sunghyeonl@yahoo.co.kr
Phone: 1-301-504-8771, Fax: 1-301-504-5103

gallic acid, digallic acid, gallotannin 등과 같은 항산화 성분을 다량 함유하고 있다(11). 도토리에 관한 연구로는 도토리 전분 및 도토리묵에 대한 이화학적 특성, 물리적 특성, 관능적 특성이 보고되어 있으며(12-15), 도토리 추출물이 체내 지질대사와 항산화효소에 미치는 영향(16), 비만에 대한 도토리 식이의 영향(17), 흰쥐의 도토리 성분 중 gallic acid, digallic acid, gallotannin 등의 항산화 성분에 관한 연구(18), 밤과 도토리 과육 및 내피가 흰쥐의 지방대사, 항산화능 및 항혈전능에 미치는 영향(11) 등이 알려져 있다. 이와 같이 도토리는 각종 노화 관련 요인을 억제하는 효과가 있는 것으로 보고되고 있으며, 민간에서는 기억력을 좋게 하는 것으로 알려져 있으나 도토리의 치매 예방 및 기억력 증진에 대한 연구는 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 마우스에 scopolamin(30 mg/kg BW)을 투여한 후 기억·학습장애를 유발하여 뇌조직의 아세틸콜린 및 그 관련 효소에 미치는 도토리의 영향을 분석하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 실험식이의 조성

실험동물은 웅성 ICR 마우스(30±2 g BW)로 바이오링크에서 구입한 후 2주 동안 예비 사육하여 10마리씩 3군으로 나누어 사용하였다. 실험식은 도토리(*Q. acutissima* CARR.)를 동결건조한 후 분쇄하여 만든 분말을 각각 0%, 5% 및 10% 수준으로 첨가하여 사용하였다(Table 1). 실험군은 control, AP-5 및 AP-10로 8개월 동안 실험식을 급여한 후 뇌조직의 아세틸콜린 및 그 관련 효소에 미치는 도토리 분말의 영향을 평가하였다. 동물사육실은 항온항습(22±2°C, 65±2% RH)하에서 12시간 동안(06:00~18:00) 명암이 자동 조절되도록 하였다.

기억·학습 장애의 유발

치매 동물모델은 마우스의 기억·학습 장애 유발을 위해

여 scopolamine(30 mg/kg BW, Sigma, USA)을 복강에 주사하여 사용하였다. 노인성 치매는 아세틸콜린계의 효소활성이 감소되는 것이 특징인데 scopolamine은 무스카린 수용체 저해제(muscarinic receptor antagonist)로 주의력 저하, 기억력 저하를 일으키는 인지능력 저해제로 알려져 있다(19).

단백질 함량의 측정

뇌조직의 총단백질 함량은 Lowry 등(20)의 방법으로 측정하였다. 뇌조직 균질물 20 µL를 분취한 다음, 1.0% sodium dodecyl sulfate(Sigma, USA) 용액 24 µL, 증류수를 196 µL를 넣어 12배 희석하였다. 희석된 용액 15 µL, 20 µL를 취해 증류수로써 80 µL, 85 µL를 넣고 다시 희석시킨다. 여기에 반응시약(0.5% copper sulfate solution : 1.0% sodium tartrate solution : 2.0% sodium carbonate solution = 1:1:98, v/v, Sigma, USA)을 1.0 mL씩 첨가하여 약 10초간 혼합하고 20분간 실온에서 방치하였다. 이후 발색시약으로써 1 N Folin시약(Sigma, USA)을 0.1 mL 첨가하여 혼합하고 실온에서 30분간 방치한 다음, 525 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 의하여 단백질의 함량(mg protein/g brain)을 정량하였다.

아세틸콜린 함량의 측정

Acetylcholine의 측정은 Galgani 등(21)의 방법에 의하여 alkaline hydroxylamine을 가진 *o*-acyl 유도물의 반응을 기초로 측정하였다. 시료를 50 µL를 취하여 1% hydroxylamine (Sigma, USA) 50 µL를 첨가, 혼합한 후 HCl을 이용하여 pH를 1.2±0.2로 조절하였다. FeCl₃(10% in 0.1 N HCl)을 500 µL 첨가 후 혼합하고 530 nm에서 흡광도를 측정하여 아세틸콜린의 활성(ng/mg protein)을 측정하였다.

아세틸콜린에스테라아제 효소의 활성 측정

뇌조직에서 acetylcholinesterase 활성의 측정은 Galgani 등(21)과 Hallak과 Giacobini(22)의 방법을 조합하여 측정하였다. 각 microplate well에 0.1 M Tris buffer, pH 8.0(Trizma HCl+Trizma base)을 300 µL, 0.01 M dithionitrobenzoic acid(DTNB; Sigma, USA) 20 µL, enzyme suspension(뇌조직 균질물) 10 µL을 연속적으로 첨가하고 흡광도 측정 직전에 기질인 0.1 M acetylthiocholine chloride(Sigma, USA) 10 µL를 첨가하였다. 96 well microplate reader(ELISA reader)를 이용하여 405 nm에서 흡광도 변화를 5분 동안 관찰하여 아세틸콜린에스테라아제의 활성(unit/min/mg protein)을 측정하였다.

모노아민옥시다아제-B 효소의 활성 측정

Monoamine oxidase-B의 활성 측정은 Kalaria 등(23)의 방법에 따라 H₂O₂의 생성능을 기초로 측정하였다. 각 시험관에 100 mM Na-Pi buffer(pH 7.4)용액 460 µL, 30 mM sodium azide용액 70 µL, 뇌조직 균질물 100 µL를 넣은 후 기질시약인 10 mM benzylamine(Sigma, USA) 70 µL를 넣

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredient	Groups ¹⁾		
	Control	AP-5	AP-10
Corn starch	629.5	579.5	529.5
Casein	200.0	200.0	200.0
Soy bean oil	70.0	70.0	70.0
α -Cellulose ²⁾	50.0	50.0	50.0
Mineral mix ³⁾	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix ⁴⁾	10.0	10.0	10.0
L-Cystine	3.0	3.0	3.0
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5
Acorn powder	-	50.0	100.0

¹⁾Control, AP-5 and AP-10 diet contained 0%, 5% and 10% of acorn powder, respectively.

²⁾ α -Cellulose (Sigma, USA).

^{3,4)}AIN-93M mineral mix, AIN-93VX vitamin mixture (ICN, USA).

으면서 37°C 항온수조에서 30분간 가운시켰다. 그 후 시험관을 꺼내면서 1.8 mM 2,2'-azino-bis(3-ethyl benzthiazoline-6-sulfonic acid; Sigma, USA) 500 μ L을 넣고, 5초 후 저온상태로 보관되어 있는 5 units horseradish peroxidase (Sigma, USA) 50 μ L을 넣고 잘 혼합하였다. 10초가 지난 후 0.75 M HCl(containing 5% SDS(sodium dodecyl sulfate); Sigma, USA) 250 μ L을 각 시험관에 넣으면서 잘 혼합하고, 기질시약인 10 mM benzylamine을 넣지 않은 blank를 대조로 하여 414 nm에서 흡광도를 측정함으로써 모노아민 옥시다아제의 활성(nmol/mg protein/30 min)을 측정하였다.

통계처리

실험결과는 SPSS 10.0 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차(mean \pm SD)로 제시하였고, 각 처리별 유의성은 ANOVA test 후 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

아세틸콜린의 함량 변화

Acetylcholine(ACh)은 뇌조직중에 존재하는 가장 중요한 신경전달물질로 acetyl Co A와 choline acetyltransferase (ChAT) 효소의 작용을 받아 합성되며 이것은 다시 AChE 효소의 작용을 받아 acetate와 choline으로 분해된다. Acetylcholine 생성에 미치는 도토리 분말 투여효과를 비교하여 Fig. 1에 제시하였는데, AP-5 및 AP-10 급여군에서 ACh의 합성은 53.89 ± 4.51 및 57.57 ± 3.74 ng/mg protein으로서 대조군(51.71 ± 2.58 ng/mg protein: 100%) 대비 104.2% 및 111.3%로서 ACh 합성이 증가하는 경향을 보였다. 이는 노인성 치매에서 ACh 함량이 감소한다는 보고(2,3) 및 실크 피브로인 분말을 흰쥐에게 급여(2.5 g/kg BW)한 경우 ACh 합성이 3% 증가(24)하였던 것을 고려하여 볼 때 도토리 급

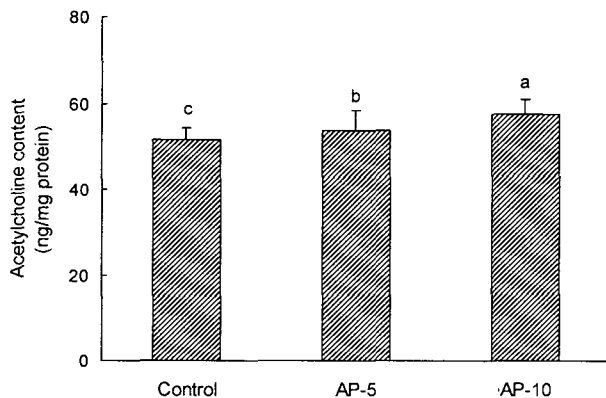


Fig. 1. Effect of acorn powder on acetylcholine content in brain of mouse model of dementia induced scopolamin fed experimental diets for 8 months.

Means with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

여는 노인성 치매의 예방에 도움이 될 것으로 생각된다.

아세틸콜린에스테라아제 효소활성의 변화

Acetylcholine의 합성과 분해에 관련된 효소로는 choline acetyltransferase(ChAT)와 acetylcholinesterase(AChE)가 있다. 따라서 체내의 신경전달이 원활하게 이루어지려면 ACh 수준에 영향을 미치는 ChAT와 AChE 효소활성이 매우 중요하다(25). 치매의 50% 이상을 차지하고 있는 노인성 치매 환자의 경우 ChAT가 감소하는 경향을 나타내고 있으며 치매 환자의 치료에 있어 AChE 효소를 억제해 체내의 ACh의 농도를 증가시키는 방법이 이용되고 있다. 따라서 acetylcholinesterase 효소활성에 미치는 도토리 분말 투여 효과를 비교하여 보면 Fig. 2와 같다.

AP-5 및 AP-10의 도토리 분말 투여군의 AChE 효소활성은 145.8 ± 11.8 및 138.8 ± 15.3 unit/mg protein/min으로서 대조군(168.57 ± 5.21 unit/mg protein/min: 100%) 대비 86.5% 및 82.4%로서 도토리 분말 투여에 의한 AChE 효소활성이 유의적으로 감소하였다. 이것은 치매환자 치료에 있어 AChE 효소 활성을 저해시켜 ACh 농도를 증가시키는 보고(26,27)와 일치하는 결과로, AChE 효소의 활성이 감소한다는 사실은 그 만큼 신경전달이 원활하게 이루어짐을 의미한다. 또한 기억력 증진 및 항치매 효과를 목적으로 사용되고 있는 빈랑나무(*Araceae gramineus*) 뿌리나 Rhamnaceae (*Zizyphus jujuba*) 열매 추출물이 *in vitro* 실험에서 약 7% 정도의 AChE 저해 활성을 보인 것(28)과 비교할 때 도토리가 기억·학습 장애를 포함한 치매에 효과가 있을 것으로 기대된다.

모노아민옥시다아제(MAO)-B 효소활성의 변화

MAO는 도파민(dopamine: DA)이나 세로토닌(serotonin, 5-hydroxytryptamine: 5-HT), 노르아드레날린(noradrenaline: NA) 등 카테콜아민계 신경전달물질을 파괴하는 효소로 알려져 있는데, MAO 효소 중 MAO-B 효소활성에 미치

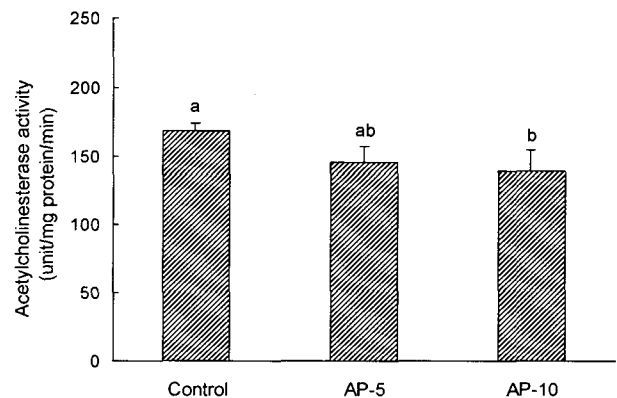


Fig. 2. Effect of acorn powder on acetylcholinesterase activity in brain of mouse model of dementia induced scopolamin fed experimental diets for 8 months.

Means with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

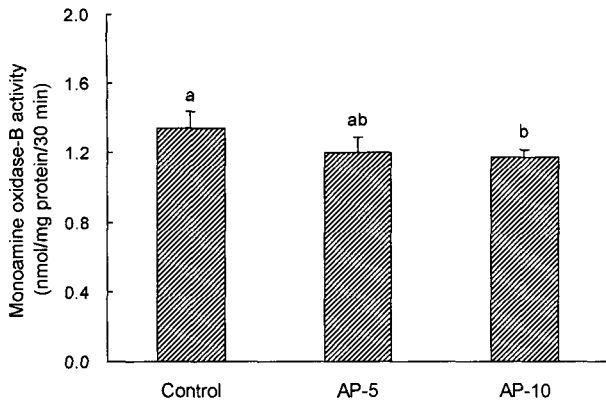


Fig. 3. Effect of acorn powder on monoamine oxidase-B activity in brain of mouse model of dementia induced scopolamin fed experimental diets for 8 months.

Means with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

는 도토리 분말 투여효과를 비교하여 Fig. 3에 제시하였다. AP-5 및 AP-10의 도토리 분말 투여군의 MAO-B 효소 활성은 각각 1.20 ± 0.09 및 1.17 ± 0.05 nmol/mg protein/min으로서 대조군(1.34 ± 0.10 nmol/mg protein/min: 100%) 대비 각각 90.0% 및 87.3%로서 도토리 분말 투여에 의해 MAO-B 효소활성 억제효과가 인정되었다. 노인성 치매를 예방·치료하는 방법으로 MAO-B 효소를 저해하며 이러한 저해제로 selegiline, lazabemide 등이 보고되어 있고(29), 뇌기능을 활성화시키는 것으로 알려진 누에 동충하초 및 실크 피브로인 분말을 흰쥐에게 각각 0.2 g/kg BW와 2.5 g/kg BW 수준에서 급여한 경우 MAO-B 효소활성이 10.5%와 9.5% 감소되었다(24,28). 따라서 도토리가 카테콜아민계 신경전달물질을 파괴하는 MAO-B 효소활성을 10% 이상 억제시키는 효과를 보였던 것을 고려할 때, 도토리는 뇌기능 활성화 및 노인성 치매를 예방하는데 도움이 될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

고령화 현상에 의한 노인 인구의 증가에 따라 노인성 질환 연구의 중요성이 대두되고 있으며, 특히 노인성 질환 증가장 문제되는 치매(dementia)에서 노인성 치매(Alzheimer's disease)는 복합적인 원인에 의해서 나타나므로 다양한 관점에서의 연구가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 마우스에 scopolamin(30 mg/kg BW)을 투여하여 기억·학습장애를 유발하고, 뇌조직의 아세틸콜린 및 그 관련 효소에 미치는 도토리 분말의 영향을 분석하였다. 뇌의 가장 중요한 신경전달물질로서 아세틸콜린 생성에 미치는 도토리 분말 투여효과를 비교하였을 때, AP-5 및 AP-10 투여군에서 4.2% 및 11.3%의 ACh 합성이 증가하는 경향이 나타났으며, ACh의 분해효소인 acetylcholinesterase(AChE)의 활성은 AP-5 및

AP-10의 도토리 분말 투여군에서 13.5% 및 17.6%로서 AChE 효소활성이 유의적으로 감소하였다. 그리고 카테콜아민계 신경전달물질의 파괴에 관계하는 MAO-B 효소의 활성은 AP-5 및 AP-10의 도토리 분말 투여군에서 10.0% 및 12.7%로서 도토리 분말 투여에 의해 MAO-B 효소활성이 현저하게 억제되었다. 따라서 도토리는 AChE 효소의 활성을 저해하여 ACh의 농도를 높일 뿐만 아니라 MAO-B 효소의 활성을 효과적으로 억제하여 카테콜아민계 신경전달물질을 잘 보존함으로써 치매 예방에 도움이 될 것으로 기대된다.

문 헌

1. Choi JH, Kim DW, Choi JS, Han YS, Baek YH. 1997. Effect of reed root extract (RRE) on learning and memory impairment animal model SAMP8 strain. III. Feeding effect of RRE on neurotransmitters and their metabolites in SAMP8 brain. *Kor J Gerontol* 7: 29-36.
2. Oh MH, Houghton PJ, Whang WK, Cho JH. 2004. Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. *Phytomedicine* 11: 544-548.
3. Schulz V. 2003. Ginkgo extract or cholinesterase inhibitors in patients with dementia: what clinical trials and guidelines fail to consider. *Phytomedicine* 10: 74-79.
4. William RM. 1997. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med* 23: 134-147.
5. Ahn HS, Kang SA, Lee LH. 1999. Effects of vitamin E and vitamin C supplementation on the decrease in cognitive induced by scopolamine. *Korean J Nutr* 32: 239-247.
6. Kang SY, Kim SH, Jung KK, Kim TG, Han HM, Huh IH. 1999. The effect of docosahexaenoic acid on the memory loss induced by ibotenic acid or scopolamine in rats. *J Toxicol Public Health* 15: 133-140.
7. Chapman CA, Yeomans JS, Blaha CD, Blackburn JR. 1997. Increased striatal dopamine efflux follows scopolamine administered systemically or to the tegmental pedunculopontine nucleus. *Neuroscience* 76: 177-186.
8. Hwang KH. 2003. Monoamine oxidase inhibitory activities of Korean medicinal plants classified to cold drugs by the theory of KIMI. *Food Sci Biotechnol* 12: 238-241.
9. Jang YS, Park MS, Kim SD, Park HK, Park SR, Lee JH. 1976. *An illustrated book of hardy plants*. Honam Agricultural Research Institute, Han Byel Press, Seoul. p 57.
10. Kim TJ. 1996. *Korean Resources Plants I*. Seoul National University Press, Seoul. p 107.
11. Yook GJ, Lee HJ, Kim MK. 2002. Effect of chestnut and acorn on lipid metabolism, antioxidative capacity and anti-thrombotic capacity in rats. *Korean J Nutr* 35: 171-182.
12. Kim YA. 1992. The morphological properties of acorn starch granules and starch gels. *Korean J Soc Food Sci* 8: 9-14.
13. Kwon JH, Kim SJ, Lee JE, Lee SJ, Kim SK, Kim JS, Byun MW. 2002. Physicochemical and organoleptic properties of starch isolated from gamma-irradiated acorn. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1007-1012.
14. Kim YA, Rhee HS. 1985. Texture profile analysis of acorn flour gels. *Korean J Food Sci Technol* 17: 345-349.
15. Lee HS, Rhee HS. 1990. Physicochemical properties of acorn and chestnut starches. *Korean J Soc Food Sci* 6: 1-7.
16. Sung IS, Park EM, Lee MK, Han EK, Jang JY, Cho SY. 1997. Effect of acorn extract on the antioxidative enzyme system. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 494-500.

17. Kang MH, Lee JH, Lee JS, Kim JH, Chung HK. 2004. Effects of acorn supplementation on lipid profiles and anti-oxidant enzyme activities in high fat diet-induced obese rats. *Korean J Nutr* 37: 169-175.
18. Lee MH, Jeong JH, Oh MJ. 1992. Antioxidative activity of gallic acid in acorn extract. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 693-700.
19. Broks P, Preston GC, Traub M, Poppleton P, Ward C, Stahl SM. 1998. Modelling dementia: Effects of scopolamine on memory and attention. *Neuropsychologia* 26: 685-700.
20. Lowry OH, Roseborough NJ, Farr LA, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
21. Galgani F, Bocqu  n  G, Cadiou Y. 1992. Evidence of variation of cholinesterase activity in fishes along a pollution gradient in the north sea. *Mar Ecol Prog Ser* 19: 1-6.
22. Hallak M, Giacobini E. 1987. A comparison of the effects of two inhibitors on brain cholinesterase. *Neuropharmacol* 26: 521-530.
23. Kalaria RN, Mitchell MJ, Harik SI. 1987. Correlation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity with blood-brain barrier monoamine oxidase activity. *Proc Natl Acad Sci* 84: 3521-3525.
24. Choi JH. 1999. Anti-aging effects of silkworm *Tongchun-ghacho* (*Paecilomyces japonica*) in brain. The 1st International Symposium on Cordyceps. p 45-63.
25. Talsa VN. 2001. Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev* 122: 1961-1969.
26. MacLennan KM, Darlington CL, Smith PF. 2002. The CNS effect of *Ginkgo biloba* extracts and ginkgolide B. *Neurobiology* 67: 243-244.
27. Giacobini E. 2004. Cholinesterase inhibitor: New role and therapeutic alternatives. *Pharmacological* 50: 433-440.
28. Choi JH, Kim DI, Park SH, Kim DW, Lee KG, Yeo JH, Kim JM, Lee YW. 2000. Effects of silk fibroin powder on lipofuscin, acetylcholine and its related enzyme activities in brain of SD rats. *Korean J Seric Sci* 42: 120-125.
29. Riederer P, Danielczyk W, Grunblatt E. 2004. Monoamine oxidase-B inhibition in Alzheimer's disease. *Neurotoxicology* 25: 271-277.

(2004년 11월 22일 접수; 2005년 4월 12일 채택)