

한약물의 치매치료에 관한 실험적 연구¹⁾

- 조위승정탕과 형방지황탕의 노화동물에 대한 치매치료 효과연구 -

고려대학교 심리학과* 경희대학교 한의과대학 신경정신과학 교실**

박순권 · 이흥재 · 김현택* · 황의원**

I. 서 론

1. 국내외 치매 연구 현황

치매는 사회적 또는 직업적 기능에 지장을 줄 정도의 이미 획득한 지적 능력의 붕괴를 말하는 것으로 기억력장애와 인지장애를 특징으로 하는 질환이다. 그리고, 유병율과 사망율에서의 심각성과 함께 일상생활에 심각한 지장을 초래하는 질환으로 본인 뿐만 아니라 가족이나 주위사람에게까지 영향을 미치는 질환이다. 하지만 치매는 치료의 어려움으로 인하여 치료보다는 관리적인 측면으로 다루어져 왔다.

치매는 60-65세의 경우 1000명당 1명, 65세 이상에서는 100명당 4명, 85세 이상에서는 약 절반 정도의 유병율을 가진 가장 대표적인 노인성 질환으로, 우리나라에서도 치매환자가 노인인구의 약 10%에 달한다. 일상생활 지장 정도를 여타의 만성 노인성 질환과 비교해보면, 많은 지장이 78.3%, 약간 지장이 17.4%, 합계 95.7%로, 뇌졸중(94.0%)이나 암(61.7%)에 비해 더 심한 지장을 준다. 특히 알츠하이머형인 경우 같은 연령의 2배에서 4배 정도의 사망율을 기록하며, 75세에서 85세 연령층에서 사망원인의 3-4위를 점하고 있는 심각한 질환이다. 또한 경제적 발전으로 인하여 노인층 인구가 증가함에 따라 질환의 발병율이 더 증가할 가능성이 있고, 노인성 질환이라는 관점에

서 경제적, 사회적 자원의 손실은 클것으로 예상된다. 우리나라의 경우 인구의 약 4.7%가 65세 이상이며, 2000년도에는 그 수가 약 6.4%에 이르리라고 추산되고 있어 현재 치료제의 개발이 시급한 실정이다.

현재까지의 서양의학에서의 치매에 대한 치료방법으로는, 우선 비약물적 처치로서 행동지시방법이 있고, 신경이완제, 진정제, 항불안제 등을 사용하여 행동 증상을 막는 방법과 기억력과 인지능력을 유지시키는 약물을 병행하는 요법 등이 있다. 이제까지 구미 각국에서는 이 분야에 막대한 지원이 가해졌고 많은 연구가 이루어져왔다. 그러나 치매 증상에 대한 근본적인 치료인 인지기능을 개선시킬 목적으로 무수한 약들이 개발되었으나, 실제 임상적 효과는 기대에 미치지 못하는 실정으로 치매환자에서 나타나는 이차적인 정신증상인 불안, 망상, 초조, 불면, 행동장애를 개선하는 약물치료가 주종을 이루고 있다.

한편 현재 중의학에서는 呆病과 健忘에 근거하여 치매를 치료하고 있는데, 치매에 관한 일관된 治療法을 시행하는 것은 아니지만 전반적으로 볼 때 노인성 치매(알츠하이머형 치매)와 혈관성 치매로 구분하여 치료하고 있다. 노인성 치매는 크게 虛證과 實證으로 구분하여 辨證施治하고 있는데 虛證에는 주로 肝腎陰虛, 心脾兩傷, 腎精虧虛, 脾腎陽虛 등으로 辨證하여 補益肝腎 滋陰養血, 健脾養心 益氣補血, 補益腎精 填精生髓, 溫補脾腎 등의 治法을 응용하고 있으며, 實證으로는 痰과 瘀血로 인한 痰迷心竅, 瘀血內阻 등으로 辨證하여 割痰開竅, 化濁醒神, 活血化癥 通竅 등의 治法을 응용하고 있다. 혈관성 치매는 中風痲痺라 하여 중풍의 치료에 준하는 방법을 쓰기도 하지만,

1) "이 논문은 (1998)년 한국학술진흥재단의 학술연구비에 의하여 지원되었음"

痰飲과 瘀血을 그 主要原因으로 보는데 瘀血은 氣虛血瘀, 陰虛氣滯 등으로 辨證하여 益氣化痰 健腦去風, 養陰生津 疏肝理氣 등의 治法을 응용하고 있으며, 痰飲은 肝陽痰熱, 痰爲濁邪 因風而上, 痰有虛致 固本生源 등으로 辨證하여 平肝熄風, 清熱化痰 瀉火安神, 化痰熄風 開鬱通竅, 化痰熄風 填髓通竅 등의 治法을 응용하고 있다. 또한 痰과 瘀血이 같이 原因이 되는 것으로 痰瘀相關 久病入絡, 痰瘀化熱, 痰瘀兼心脾氣虛, 痰瘀兼腎精虧虛 등으로 辨證하여 化痰熄風 活血通絡, 化痰活血 開竅醒神, 化痰活血 補益心脾, 化痰活血 補益腎精 등의 治法을 응용하고 있다. 그 외 모든 치매에 鍼灸療法과 健身功 등의 氣功療法, 이온도입법, 직류전기 치료법 등의 물리요법, 체력활동이나 운동을 통한 체육요법, 심리요법 등을 병행하여 치료하고 있다.

2. 치매 동물 모델 연구

이제까지 치매와 같은 기억 및 인지 장애에 관한 많은 연구들이 이루어져 왔는데, 그중에서도 인간 치매환자에 대한 임상적 관찰과 동물을 사용한 기초 연구들을 통해 밝혀진 바에 따르면 대뇌 아세틸콜린계의 기능적 결함이 치매와 관련된 다양한 특성들과 연관성이 높은 것으로 보고되고 있다. 따라서 본 연구에서도 이 계통의 신경화학적 기능에 초점을 맞추어 한약물의 작용 기제를 추론해 보려고 한다.

Russell(1996)은 진행성 변성 치매(progressive degenerative dementia)가 발생하는데 기초가 될 것으로 추측되는 콜린성 과정에 대한 세 가지 가설을 제안하였다. 첫째, 노화와 더불어 무스카린성 수용기(muscarinic receptor)의 조절저하가 생기고, 이것이 정상적인 인지기능 및 기억을 가능하게 해주는 콜린계의 작용을 억제시킬 것이고, 둘째, 장기적으로 콜린계의 작용이 줄어들면 신경계에 구조적인 변화가 일어나고, 그에 따라 지속적인 인지결함이 나타날 것이며, 셋째, 이러한 중추신경계의 변화로 인해 세포가 상실될 결과일 것이라고 하였다. Russell이 제안한 이들 가설은 노화와 더불어 뇌 콜린계의 기능이 저하되고, 이 기능저하가 지속됨으로써 뇌세포가 상실되어 뇌에 구조적인 결함이 생긴다는 것으로 요약될 수 있다.

Aston-Jones 등(1985)은 노화 동물을 대상으로 신경충동이 전도되는 속도를 측정하였다. 측정 결과 콜린성 뉴런으로 구성된 기저전뇌핵(nucleus basalis)에서 전두피질(frontal cortex)로 신경충동이 전달되는 속도가 늙은 쥐에서 50% 정도로 느리게 나타났는데, 이런 현상은 피질하 섬유투사에서 전도속도가 느리기 때문이라고 하였다. 이 결과는 노화와 함께 나타나는 다양한 인지적 결함이 콜린성 신경전도의 장애와 관련될 수 있음을 시사하는 것이다. 이밖에도 노화로 인해 인지적 기능이 저하된 환자를 대상으로 한 많은 연구들은 늙은 환자의 뇌 콜린계 기능이 현저히 저하되어 있음을 보고하였다. 또한 노화와 더불어 신경성장요인(NGF)도 감소되는데, 노화 동물에게 NGF 합성을 자극하는 propentofylline을 3주간 경구투여하면 낮아진 NGF 수준이 회복된다는 결과도 보고되어 있다. 이러한 연구 결과는 노화와 함께 나타나는 신경화학적 변화가 적절한 조치를 취하면 개선될 수 있음을 보여주는 희망적인 보고이다.

동물을 대상으로 인위적으로 기억 등 인지기능의 결함을 일으키도록 실험적 처치를 가하여 치매의 동물모델로 사용하기도 한다. 20세대 이상 기억능력이 저조한 동물들을 선발하여 선택적으로 교배시키면 기억에 결함이 있고 뇌의 아세틸콜린 농도가 저하되는 치매 생쥐가 태어난다. 이 동물들에게 egg phosphatidylcholine을 45일간 투여하면 기억이 증진되고 뇌의 콜린 및 아세틸콜린의 농도가 증가된다. 그러나 정상동물에게 이 물질을 투여하면 콜린의 농도는 증가하지만 기억기능이나 아세틸콜린의 농도에는 영향이 나타나지 않는다고 한다(Chung 등, 1995). 뇌로 혈액을 공급하는 총경동맥(common carotid artery)을 외과적 수술로 영구적으로 결찰하면 수술 6주후 피질의 혈류가 감소하고, 전두피질, 해마(hippocampus), 선조체(striatum)와 같은 신경구조물에서 무스카린성 ACh 수용기가 감소되며, 변별학습 과제에서 정확반응율이 감소되는데(Tanaka 등, 1996), 이 기법은 인간의 혈관성 치매를 연구하기 위한 좋은 모형이 될 수 있을 것이다. 한편 알츠하이머병 환자의 뇌에 beta-amyloid protein이 많이 함유되어 있다는 임상 보고에 근거하여, 동물을 대상으로 이 단백질을 동물의 뇌실에 주입한 연구도 있다(Nitta 등,

1996). 이 연구에서는 베타-아밀로이드 단백질을 동물의 뇌실에 주입하자, choline acetyltransferase(ChAT)의 활동이 감소하였고 뉴런에 탈분극(depolarization)이 일어난 후에 방출되는 ACh의 양도 줄어들었다.

뇌의 콜린계에 직접적으로 영향을 미치는 처치를 한 다음 신경화학적 변화나 행동적 변화를 탐색한 연구들도 다양하게 보고되었다. 콜린분해 효소인 cholinesterase를 억제하는 physostigmine, eptastigmine, 또는 soman을 투여하면 ACh의 가용성이 증가되고, physostigmine의 경우에는 국소 뇌 빈혈(focal cerebral ischemia)을 일으킨 동물의 대뇌혈류를 증가시키고 eptastigmine은 외상성 뇌 상해(traumatic brain injury)로 저하된 혈류를 증가시킨다(Scremin & Jenden, 1996)고 밝혀졌다.

쥐의 뇌에 콜린성 신경독인 AF64A(ethylcholine aziridinium)라는 물질을 투여하고 시냅스 소낭에서 콜린성 지표를 측정하면 알츠하이머병 환자에서 나타나는 것과 유사한 특성이 관찰되었으며(Hortnagl, 1994), 쥐의 뇌실에 이 물질을 주입하면 catecholamine과 indoleamine에는 차이가 없으나 해마와 전두피질의 ACh가 감소되는 것과 함께 일시적으로는 감각운동 기능에 결함이 생기고 장기적으로는 수동적 회피학습(passive avoidance learning)과 방사형 미로과제의 수행이 현저하게 불량해지는 행동적인 변화도 수반된다고 한다(Walsh 등, 1984).

주로 변연계(limbic system)에서 구심성 입력을 받아 대부분의 대뇌피질 영역으로 투사하는 기저전뇌핵은 콜린성으로 치매와 관련이 있다. 비비원승이의 마이네르트 기저핵(nucleus basalis of Meynert: nbM)을 손상시키고 양전자사출단층촬영(PET)을 한 결과 대뇌 포도당 대사가 유의하게 저하되고, 전두피질 및 두정피질의 ChAT 활동성이 감소되며, 콜린성 신경분포가 사라졌다. 그러나 피질의 대사활동은 점진적으로 회복된다고 한다(Kiyosawa 등, 1989). 이러한 회복은 뇌의 주요 콜린계가 손상되는 경우 시냅스전 및 후 뉴런에서 적응적인 가소성(plasticity)이 일어남을 보여주는 것으로 뇌의 세포가 손상된 후라도 적절한 조치를 취하면 기능적인 회복이 가능함을 시사한다.

Dubois 등(1985)은 nbM이 손상된 동물에서 공간기억이 저하되고, 전전두피질, 감각운동피질 그리고 편도체에

서 ChAT의 활동이 낮아지는 것을 관찰하였다. 또한 기저전뇌가 손상되어 인지기능이 손상된 쥐에게 NGF 합성에 관여하는 propentofylline을 투여하면 수증미로 과제와 수동적 회피과제의 수행 결함이 향상되고, 피질에서는 변화가 없으나 해마의 ChAT의 활동은 증가됨이 관찰되었다(Fuji 등, 1993). 이 결과는 propentofylline 투여에 의한 행동적 기능 향상에는 해마의 콜린계가 작용할 것임을 암시한다.

인간 기억 상실증의 사례를 통해서 전진성 기억상실증(anterograde amnesia)에 있어서 해마체가 결정적인 역할을 하고 있다는 것이 분명하게 밝혀졌다. 다른 뇌 부위(유두체, 내측시상)도 또한 전진성 기억상실증에 기여할 수 있다. 신경변성 질병(특히 알츠하이머병의 경우)에서, 기억상실증은 종종 확연히 드러나는 증상이지만, 뇌 손상은 해마체에 국한되지 않는다. 알츠하이머병에서 대뇌피질과 몇몇 피질하핵도 관여하고 있다. 생리학적으로 뇌가 노화되면 어느정도 기억 손상이 있기는 하지만 알츠하이머병보다는 그리 심하지 않다. 세계인구가 점점더 노령화됨에 따라 이러한 질병의 빈도가 점점더 극적으로 증가추세에 있다는 것을 감안해 볼 때 이 질병은 매우 중요하다. 노화가 일어나면서, 신경적 손실과 신경전달물질계의 상의 변화가 일어나고 있다는 몇몇 증거가 있기는 하지만, 이들 관계간의 변화와 노화관련 기억 결함은 그리 선명하지가 않다. 알츠하이머병에서, 기억의 손실은 신경전달계상의 변화(특히 콜린성, 모노아민성, aminoacidergic system)와 더불어, 대뇌피질, 해마체의 신경적 손실에 기인하는 것 같다.

3. 연구 목적

이상에서 살펴본 바와 같이 치매에 대한 여러 접근 및 시도가 이루어지고 있으나 아직까지 구체적인 치료법이 밝혀지지 않은 상태이다. 실제로 서양의학에서 치매에 대한 실질적인 치료제가 개발되어 있지 않은 실정으로, 이는 특정 신체 영역이나 특정 신경화학물질, 특정 수용기에 작용하는 미시적 효능을 지닌 양약물로는 치매 치료가 어려움을 나타내고 있다. 본 연구에서는 한방병원에 내원한 환자를 대상으로 하여, 기존에 임상에서 사용되고 있

는 한약물을 치매 환자의 체질에 근거하여 처방하였다. 그 결과 치매 종류 및 발병기간에 따라 정도의 차이는 있었지만 한약물이 치매치료에 임상적으로 유효한 효과가 있는 것으로 판명되었다. 이렇듯 치매 치료에 대한 한약물의 유효성이 임상적으로 밝혀짐에 따라, 이들 한약물의 생리적 효능과 작용 원리를 규명하는 한의학적 치료에 대한 과학적인 검증이 요구된다. 이를 위해서 살아있는 유기체에게 한약물을 투여하고 그 영향을 치매 증상과 관련하여 파악하는 실험적 연구를 계획하였다.

한약물에 대한 실험 동물 연구를 위해서는 적절한 동물 모델과 행동실험 패러다임이 필요하다. 인간의 경우에 치매는 주로 노년층에서 많이 일어나고 있는 현상이라는 데 착안하여 노화동물 모델을 사용하는 것이 타당하다는 연구결과들이 많이 있다. 방사형 미로, T-미로, 수중미로와 같은 공간과제 실험이나, 새로운 환경에의 적응과 불안 정서반응 등을 측정하는 open field 검사나 양방회피 과제 실험을 통해서 노화동물이 젊은 동물에 비해서 수행이 떨어지고 오류율이 더 큰 것을 볼 때, 노화동물이 노인성 치매의 증상 모델로 사용될 수 있음을 말해주었다 (Nabeshima, hasegawa, nakayama, Konishita, Amano, & Hasegawa, 1993). 특히 과제 수행 수준이 떨어지는 것이 운동장애로 인해서 학습과 기억의 인지장애가 있는 것으로 생각될 가능성도 있기 때문에, 운동기능과 인지기능을 구분하는 실험 전략을 사용한 결과, 수중미로과제나 방사미로 과제에서 보이는 노화동물의 학습과 기억상의 결함은 노화로 인한 운동기능 장애와는 별개의 것으로 확인되었다 (Miyagawa, hasegawa, Fukuta, Amiao, Yamada, Nabeshima, 1998; Baird, Vanecek, Briscoe, Vallett, Carl, Gauvin, 1998). 모리스 수중미로 과제와 방사형 미로 과제는 동물의 공간학습과 기억에 대한 평가의 도구로써 치매의 전형적인 유형과 치료법을 찾는 방법을 제시해 줄 수 있을 것이다.

따라서 본 연구에서는 대표적인 노인성 질환인 치매를 치료하고 예방하는 한약물의 생리적인 효능을 실험 동물 연구를 통해 검증하려고 한다. 환언하면, 노화치매 동물모델을 사용하여 조위승청탕과 형방지황탕이 동물의 학습 및 기억 능력과 같은 인지기능에 어떤 영향을 미치는지

알아보기 위해서 방사형 미로와 Morris 수중미로 과제를 통해서 연구하고자 한다.

II. 실험 및 결과

< 실험 1 >

조위승청탕과 형방지황탕이 치매 모델 백서의 방사미로 학습과 기억에 미치는 효과

실험1에서는 한약물(조위승청탕과 형방지황탕)이 노화 흰쥐의 방사형 미로 학습에 미치는 영향을 알아보고자 한다. 방사형 미로 검사에서는 단기기억(short term memory) 또는 작업기억(working memory)을 측정하는 것으로 알려져 있다. 본 실험을 통해서 노화동물에서 야기되는 인지적 결함의 양상을 파악할 수 있고 한약물의 치료 효능을 검사할 수 있을 것이다.

1. 實驗材料 및 方法

1). 動物 및 材料

① 動物

본 실험에 사용된 피험동물은 Sprague-Dawley 혈통의 수컷 흰쥐였다. 이 동물은 국제 실험 동물 위원회(International Council for Laboratory Animal Science)의 품질관리 규정에 적합하게 실험동물을 유지하는 대한실험동물센터에서 분양받은 것으로 SPF(specific pathogen free) 동물이었다. 분양시 동물의 주령은 8주였고, 본 실험실의 사육장에 입사시키면서 실내 조명을 타이머에 연결하여 낮과 밤의 주기를 각각 12시간으로 조정하였다. 밤 주기는 오전 10부터 오후 10시까지로, 낮 주기는 오후 10시부터 익일 오전 10시까지로 하였다. 흰쥐가 야행성 동물이므로 모든 실험은 동물들의 활동 주기에 해당하는 밤 주기에 실시하였다. 사육실의 실온은 21±2°C로 유지하였고, 시간당 20분씩 환풍기를 작동시켜 환기를 하였다. 항균 필터가 내장된 공기 청정기를 사용하여 사육실의 공기를 깨끗하게 유지하였으며, 사육 상자의 깔짚은 3일에 한 번씩 갈아주고 먹이와 물은 동물들이 항상 먹을 수 있도록

충분히 제공하였다.

동물의 연령이 생후 11개월이 되었을 때부터 약물을 투여하기 시작하였다. 약물투여 기간이 8주였기 때문에 학습 및 기억 실험은 동물의 연령이 13개월이 되었을 때 시작하였다. 행동 실험 시기를 이 무렵으로 한 것은 쥐의 연령이 생후 12개월이 되면서 여러 감각운동(sensori-motor) 기능이 저하된다는 연구(Murphy 등, 1995) 결과를 참고로 하여 결정하였다. 이 시기부터 동물의 감각운동 능력이 저하된다는 연구는 이 때가 노화의 초기 단계에 해당된다는 것을 시사한다.

② 藥材

본 실험에서 사용된 藥材는 시중에서 구입하여 정선한 것을 사용하였다. 처방의 내용은 <慶熙醫療院 韓方藥材解說集>에 수록되어 있는 1첩 분량을 기준으로 하였고, 調胃升清湯과 荊防地黃湯 각각에 대한 내용 및 분량은 Table I, Table II와 같다. (단, 1錢은 4.0g으로 환산함).

Table I. Contents of Jowiseungchungtang

약명	생약명	용량
薏苡仁	Coicis Semen	8.00g
乾栗	Castanae Fructus	8.00g
蘿菥子	Raphani Semen	6.00g
龍眼肉	Longanae Arillus	6.00g
桔梗	Platycodi Radix	4.00g
麥門冬	Liriope Tuber	4.00g
石菖蒲	Acori Rhizoma	4.00g
栝子仁	Biotae Semen	4.00g
酸棗仁炒	Zizyphy Semen	4.00g
神麴炒	Massa medicata Fermentata	4.00g
麻黃	Ephedrae Herba	3.00g
遠志	Polygalae Radix	3.00g
五味子	Maximowicziae Fructus	3.00g
貢砂仁	Amomi Semen	3.00g
Total amount		64.00g

Table II. Contents of Hyongbangjiwhangtang

약명	생약명	용량
熟地黃	Rehmanriiae Radix	12.00g
山茱萸	Corni Fructus	8.00g
白茯苓	Hoelen	8.00g
澤瀉	Alismatis Rhizoma	8.00g
車前子	Plantaginis Rhizoma	4.00g
羌活	Angelicae Koreanae Radix	4.00g
獨活	Araliae Herba	4.00g
荊芥	Nepetae Herba	4.00g
防風	Sileris Radix	4.00g
Total amount		60.00g

2) 方法

① 檢液의 調製 및 投與

Table 1의 처방에 따라 조제한 형방지황탕 10첩 분량인 640g을 등근 flask에 넣고 증류수 3000ml를 가하여 환류냉각장치에서 3시간 가열, 전탕하여 전탕액을 rotary evaporator로 감압 농축한 후, 완전 건조시켜 엑기스 48g을 얻었다. 실험에서는 이 건조된 엑기스를 물에 용해하여 검액으로 사용하였다. Table 2의 처방에 따라 조제한 조위승청탕도 형방지황탕과 동일한 방식으로 엑기스를 얻어서 검액으로 사용하였다.

동물의 연령이 생후 11개월이 되었을 때부터 검액을 투여하기 시작하여 2개월간 처치하였다. 먼저 동물을 무선적으로 3개군으로 나누었다. 그 중 한 집단은 부형제만을 투여받는 control군, 다른 한 집단은 조위승청탕을 투여받는 Jowi군, 그리고 나머지 한 집단은 형방지황탕을 투여받는 Hyung군으로 하였다. 이렇게 구성된 3집단의 동물에게 경구투여용 주사바늘(intubation needle)을 이용하여 직접 위(stomach)로 약물을 투여하였다. 투여 용량은 성인 1일 복용량 1울의 5배가 되게 하여 매일 1회 투여하였다. 경구 투여하는 것 그 자체가 동물에게 스트레스를 줄 수 있기 때문에 약물은 1주일에 5회 투여하고 2일은 쉬며, 전체 투여 횟수가 40회가 되도록 8주간 투여하였다. 경구투여할 때 약물이 폐로 들어가면 동물이 생명을 잃거나 실험에 사용할 수 없을 정도로 건강 상태가 악화되기

때문에 충분한 경험을 가진 숙련된 실험자가 약물을 투여하였다.

② 實驗裝置

본 실험에서는 放射型 迷路(radial arm maze)를 사용하였다. 이 장치의 재질은 투명한 아크릴이고, 중앙의 출발 영역(central platform)과 이곳에서 45도 각도(방사형)로 뻗어 나온 8개의 주로(arm)로 구성되어 있다.

중앙 출발 영역은 직경 38cm인 원에 내접하는 정팔각형 상자로 높이는 30cm이다. 주로는 출발 상자의 각 면에 뚫린 9×9cm 크기의 통로와 연결되어 있으며, 길이는 70cm이고 뚜껑이 있어서 동물이 바깥으로 나가지 못한다. 주로의 끝에는 보상으로 제공하는 먹이나 물을 담을 수 있는 5×5×2cm 크기의 용기(음식 접시)가 설치되어 있다. 각 주로의 출발 지점으로 부터 15cm 되는 지점과 주로의 끝에서 8cm되는 지점에 각각 광전탐지기(photoelectric sensor)를 부착하여 동물의 주로 출입 행동을 탐지하도록 만들었다(Fig. 1). 그리고 추후의 행동 분석을 위해서 천장에 CC camera를 설치하여 전 실험 과정을 비디오로 촬영하였다.

주로에 장치된 광전탐지기에 동물의 움직임이 감지되면 이 신호가 컴퓨터 인터페이스를 거쳐 디지털 값으로 변환되어 컴퓨터의 I/O port로 입력된다. 컴퓨터에서는 이 신호를 기초로 하여 피험동물이 각 주로를 방문한 횟수와 오류 여부가 계산되고 그 값이 저장된다. 이를 위한 컴퓨터 프로그램은 turbo pascal 언어로 작성하였다.

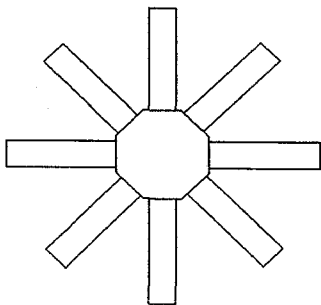


Fig. 1. A plane figure of radial arm maze.

③ 實驗節次

이 과제는 공간기억과제이고, 주로 작업기억(working memory)을 바탕으로 하는 학습능력을 알아보기 위한 것이다. 작업기억이란 정보가 처리되고 있는 동안에 그것을 유지하는 기억을 말하는 것으로서, 보통 기억을 유지하는 시간이 짧기 때문에 이러한 기억을 단기기억(short term memory)이라고도 한다.

먼저 실험에 들어가기 전 36시간 동안 사육 상자에서 물을 박탈하고 갈증을 유발시킨 동물을 행동 관찰실로 옮겨와 30분간 환경에 적응시켰다. 각 주로의 끝에 있는 보상 용기에 0.1cc의 물을 넣고 주로로 통하는 통로를 닫는다. 동물을 미로의 출발 상자에 넣고 1분간 두어 상황에 적응시켰다. 1분이 지나면 각 주로로 통하는 통로를 개방하여 동물이 자유롭게 미로 속을 돌아다니게 하였다. 동물이 주로를 방문하여 끝까지 달리면 보상 용기에서 한 방울의 물을 먹을 수 있다. 그러나 동일한 주로를 반복해서 방문하면 두 번째 방문부터는 물이 제공되지 않고, 반응은 오류로 기록된다. 따라서 이 상황에서 동물이 취할 수 있는 가장 효율적인 행동 전략은 각 주로를 한 번씩만 방문하여 오류 없이 8번 물을 마시는 것이다. 동물이 5분 동안에 8개의 주로를 모두 방문하지 못하면 시행을 중지시키고, 그 시행은 실패로 기록하였다.

학습 준거는 2일간 연속적으로 1개 이하의 오류를 범하는 것이고, 이 준거에 이르면 학습이 완료된 것으로 보아 학습을 종료시켰다. 이 학습 준거에 도달할 때까지 소요된 학습 일수를 학습 성적으로 삼았다. 10일간의 학습 시행에서 동물이 학습준거에 도달하지 못하면 0점, 10일 만에 준거에 도달하면 1점을 부과하는 방식으로 하여 가장 빨리 학습하는 경우, 즉 2일만에 준거에 이르면 9점의 점수를 부여하였다.

집단간 비교가 충분한 정도로 충분한 수의 동물이 학습준거에 도달하는 경우 24시간 후에 기억검사를 실시한다. 기억검사 역시 학습을 시킬 때와 동일한 절차를 사용한다. 다만 기억검사에서는 동물이 4번째 주로로 들어가면 주로의 입구를 막고, 30초간 동물이 4번째 방문한 주로에서 머물게 하는 지연기간을 둔다. 30초가 경과하면 차단되어 있던 주로를 개방하여 동물이 나머지 4개의 주

로를 찾아갈 때까지 범한 오류수를 측정하여 기억성적으로 삼는다. 이처럼 30초 정도의 짧은 시간간격 동안에 조금전에 방문했던 주로를 기억하여 나머지 방문하지 않았던 주로를 선택해야 하는데, 이 때 사용되는 기억이 바로 작업기억(working memory) 또는 단기기억이다.

④ 統計處理

학습성적은 집단별로 사전에 설정된 학습준거를 통과할 때까지 소요된 학습 일수를 변량분석하여 얻었다. 이와 함께 학습준거를 통과한 동물의 비율을 계산하고, 이 비율의 집단간 차이를 분석하기 위해서 chi-square test를 실시하였다. 학습준거를 통과한 동물을 대상으로 기억검사를 실시하는 것이 원래의 계획이었으나 통제군의 경우 학습준거를 통과한 동물이 1마리 밖에 없어서 약물처리군과 기억 수행을 비교할 수 없었기 때문에 이를 실시하지 않았다. 모든 통계분석에서 결과의 유의성을 판단하기 위한 유의도 수준은 최저 $p < 0.05$ 로 하였다.

3) 結果 및 論議

약물이 실험적으로 초기 노화 동물의 방사형 미로 학습에 미치는 영향을 알아보기 위하여 8개의 미로를 방문하게 하는 학습을 시행하였다. 10일간의 학습동안에 각 동물이 2일간 연속적으로 2개 이하의 오류를 나타내는 학습준거에 도달한 시기를 측정하여 학습성적으로 삼았다. 학습성적을 관찰한 결과, 분포의 정상성(normality)을 가정할 수 없었기 때문에 Kirk(1982)의 견해에 따라 원점수에 제곱근을 취하는 변환(transformation)을 하였고, 이 변환된 점수로 통계분석을 하였다(Table 3, Figure 2).

학습성적을 변량분석한 결과 집단간의 차이가 통계적으로 유의미하였다. 따라서 이 차이를 더 자세히 분석하기 위해서 Duncan Test를 한 결과 Jowi군과 Hyung군의 학습성적이 control군의 성적 보다 높은 것으로 분석되었다. 그리고 Jowi군과 Hyung군의 학습성적은 차이가 없었다. 이 결과는 조위승청탕과 형방지황탕이 초기 노화 동물의 학습능력을 향상시켰음을 보여준다.

Table 3. Learning score measured in the task using Radial Arm Maze

Group	Number of animals	raw score	transformed score
Jowi	13	2.08±2.40	1.07±0.99
Hyung	13	1.54±1.66	0.90±0.89
control	9	0.22±0.67	0.16±0.47

result of ANOVA : $F(2, 36)=3.30, p<0.05$.

Duncan Test : $Jowi=Hyung>control, p<0.05$.

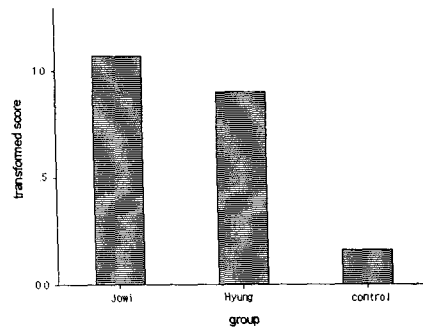


Figure 2. Learning score measured in the task using Radial Arm Maze

학습준거를 통과한 동물의 비율에서도 집단간에 차이가 난다 (Table 4). control군의 경우에는 11.1%에 해당하는 1/9마리만이 학습준거를 통과한 반면에, Jowi군에서는 61.5%에 해당하는 8/13마리가 학습준거를 통과하였고, Hyung군에서도 53.8%에 달하는 7/13마리가 학습준거를 통과하였다. 이러한 비율의 차이를 chi-square test로 비교하여 보면 집단간의 비율 차이가 통계적으로 유의미한 것으로 분석되었다(Table 4, Figure 3). 이 분석 결과는 방사형 미로학습의 경우 두 약물 처치에 의해 초기 노화 동물의 기억 성적이 향상되었음을 보여준다. 이 과제가 작업기억을 기초로 동물이 문제를 해결하는 것이므로 본 연구에 사용된 두 약물이 작업기억이 관련되는 과제의 학습 및 기억을 촉진시켰다고 할 수 있다.

Table 4. Number of criteria-passing animals in the Radial Arm Maze

Group	Number of Animals	Number of Passing animals	Passing Rate(%)
Jowi	13	8	61.5%
Hyung	13	7	53.8%
control	9	1	11.1%

$\chi^2=6.001, df=2, p<0.05.$

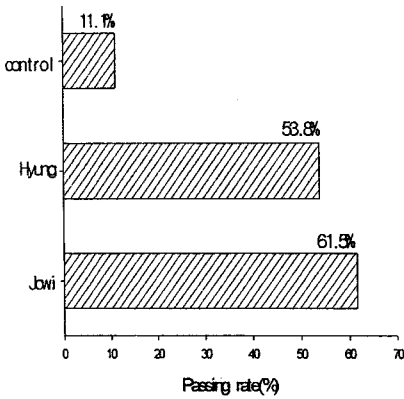


Fig 22. Criteria-passing rate in the Radial Arm Maze

< 실험 2 >

조위승청탕과 형방지황탕이 치매 모델 백서의 수중미로 학습과 기억에 미치는 효과

실험2에서 사용한 학습 및 기억 검사는 Morris 수중미로 과제이다. 이 과제는 동물의 공간학습과 그에 대한 기억을 검사하기 위해서 사용하는 과제로서, 주로 유기체가 주변에 있는 여러 단서들을 사용하고 기억하는 능력, 즉 공간준거기억을 측정하는 것이라고 알려져 있다. 또한 학습시행을 실시한 지 24시간 이후에 다시 학습이 이루어지

기 때문에 동물이 전날까지 학습했던 내용을 잘 기억하고 이 기억에 따라 학습의 효율성이 결정되기 때문에 이 과제는 장기기억을 측정하는 것이라고 할 수 있다. 그러므로, 본 동물실험을 통하여 인간이 외부에서 일어나는 사실들에 대한 정보를 습득하고 기억하는 능력이 한약물로 증진될 수 있는지 확인할 수 있을 것이다. 또한 장기적으로 저장되어 있는 기억이 노화로 인해 손실되었을 때 한약물이 어떠한 정적인 영향을 미칠지 그 함의점을 찾을 수 있으리라 본다.

1. 實驗材料 및 方法

1) 動物 및 材料

實驗動物 및 材料, 藥材, 檢液의 調製 및 投與는 실험1과 동일하다.

2) 實驗裝置

본 실험에서는 수중미로(Morris water maze)를 사용하였다. 수중미로 장치는 원형 수조와 도피대로 구성된다. 수조의 재질은 스테인레스 스틸이고 직경 155cm, 높이 60cm이다. 도피대의 높이는 42cm이고 직경이 10cm인 백색 아크릴로 만들어져 있으며, 동물이 이 도피대를 찾아서 올라가면 물 밖으로 나갈 수 있다. 수조에는 43.5cm 높이로 물을 채우고 1kg의 탈지분유(skimmed milk)를 풀어서 유백색이 되게 하여 도피대가 보이지 않게 만들었다 (Fig. 4). 실험을 시작하기 전에 수조 속에 가열 히터를 장치하여 물의 온도를 22±2°C가 되게 하였고, 실험 도중에도 수온을 측정하여 온도를 일정하게 유지시켰다. 수조 위 천정에는 광각 camera를 설치하고 전 실험 과정을 비디오 촬영하여 행동 분석에 사용하였다.

이 과제에서는 동물이 실험장치 주변의 단서들을 사용하여 도피대를 찾아가기 때문에 실험 도중에 주변의 환경 단서가 바뀌면 동물이 학습을 하기 어려워진다. 따라서 수중미로 주변의 비디오 카메라, 실험대, 그리고 실험대 위의 수온 조절 장치 등의 공간 단서들을 일정하게 유지시켰으며, 실험 기간동안 실험자의 위치 또한 동일하게 하였다.

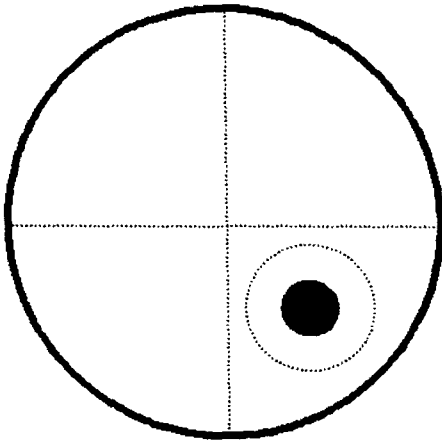


Fig. 4. The Morris water maze. The dotted artificial "十" line indicates the division of the maze for convenience of data analysis. The dark inner circle represents the escape platform and the outer dotted one indicates the area used for measuring retention.

3) 學習 및 記憶 實驗

물이 채워진 수조의 중심을 지나면서 직교하는 가상적인 선을 그어 수조의 평면을 4등분하였다. 이렇게 나누어진 4개의 사분면 가운데 어느 한 곳에 도피대를 설치하였다. 도피대는 사분면의 중앙 지점에서 수면보다 1.5cm 아래에 있으며, 물은 불투명하게 만들었기 때문에 쥐가 수영을 할 때 직접 도피대를 보고 찾아갈 수는 없다. 대신에 동물들은 수조 주변에 있는 여러 가지 외부 환경 단서를 이용하여 도피대를 찾아가야 한다. 따라서 실험이 진행되는 동안 수조 주변에 있는 모든 대상들, 즉 가구, 모니터, 벽의 부착물 등을 동일한 위치에 있도록 하였고, 실험자도 항상 동일한 위치에서 실험을 실시하였다. 학습에 들어가기 30분전에 동물을 행동 관찰실로 옮겨 환경에 적응시켜 급박한 이동에 따르는 쥐의 제반 변화를 방지하였다.

실험은 2단계로 이루어진다. 하나는 미로에서 도피대를 찾아가는 학습단계(4일간)이고, 다른 하나는 5일째 실시하는 기억 검사이다. 각 실험은 실험자가 동물을 수조에 넣

는 것으로 시작된다. 이 때 실험자는 쥐가 수조벽을 바라 보도록 하여 놓는다. 동물을 수조에 넣을 때 출발 지점은 각 사분면의 중앙 벽이고, 출발시키는 사분면은 정해진 순서 없이 무선적으로 선택하고, 학습기간동안 도피대의 위치는 변경시키지 않았다. 각 동물은 각 사분면에서 한번씩 출발하여 도피대를 찾아갈 때까지 자유롭게 수조에서 수영을 한다. 따라서 각 동물은 매일 4시행의 학습을 하게 된다. 동물을 출발 지점에 놓는 순간부터 도피대를 찾아 올라갈 때까지 소요되는 시간을 측정하여 학습성적(지표)으로 삼는데, 이를 반응 잠재기라 한다. 만일 60초가 경과하여도 도피대를 찾지 못하면 실험자가 동물을 도피대로 부드럽게 유도하여 도피대의 위치를 알 수 있게 하였다. 동물이 도피대에 올라가면 반응에 대한 보상으로 15초간 그 곳에서 쉬게 한 후, 다음 시행을 실시한다. 하루의 학습 성적은 각 사분면에서 출발하는 4회의 시행에서 나타난 반응 잠재기를 합한 것으로 하였다.

동물을 수중미로에서 4일간 학습시킨 후 5일째에는 도피대를 제거한 후에 도피대가 있었던 사분면과 마주보는 사분면에서 동물을 한 번만 출발시켰다. 동물이 수영을 시작하여 60초간 돌아다니는 동안에 원래 도피대가 위치했던 영역을 설정하고 그 영역에 머문 시간을 측정하여 기억 성적으로 삼았다. 이 영역의 크기는 동물의 몸통 길이를 고려하여 도피대의 중앙에서 반경 20cm로 하였다. 이 과정은 학습 시행을 실시한 24시간 후에 이루어지기 때문에 동물이 미로 상황에서 전달까지 학습했던 내용을 잘 기억하고 있어야 한다. 동물을 사용하는 기억 검사에서 24시간의 파지 기간은 상당히 긴 것이고, 이러한 기억을 장기기억(long term memory)이라고 한다.

4) 統計處理

실험 결과를 통계적으로 분석하기 위해서 SAS 프로그램을 이용하였다. 수중미로에서 측정한 학습 성적에 대해서는 약물 투여를 집단간 변인(Jowi, Hyung, control)으로 하고 4일간의 학습 회기를 집단내 변인으로 하는 이원혼합설계(two way mixed design)를 적용한 변량분석(ANOVA)으로 각 효과를 분석하였다. 기억검사 결과를 분석하기 위한 분석에는 일원변량분석을 사용하였다.

3. 結果 및 論議

1) 學習成績

학습기는 4일간 실시한 총 4회기이고, 각 회기는 매일 실시한 4회의 시행으로 구성된다. Table 6에서 볼 수 있는 것처럼, Morris water maze의 학습결과 Jowi군은 제 1회기에서 183.77±38.52초, 제 2회기에서 120.62±45.55초, 제 3회기에서 81.15±51.22초, 제 4회기에서 66.38±40.85초의 학습 성적을 나타냈으며, Hyung군은 1회기에서 201.23±34.786초, 제 2회기에서 140.85±63.07초, 제 3회기에서 103.46±51.11초, 제 4회기에서 96.00±62.02초의 성적을 나타내었고, control은 1회기에서 178.54±61.48초, 제 2회기에서 147.15±55.85초, 제 3회기에서 101.08±57.66초, 제 4회기에서 73.31±42.11초의 성적을 나타내었다.

Table 6. Latency of Each Session in Morris Water Maze(unit : seconds)

session\group	Jowi(n=13)	Hyung(n=13)	control(n=13)
S1	183.77±38.52	201.23±34.78	178.54±61.48
S2	120.62±45.55	140.85±63.07	147.15±55.85
S3	81.15±51.22	103.46±51.11	101.08±57.66
S4	66.38±40.85	96.00±62.02	73.31±42.11

result of ANOVA

group effect : F(2, 36)=1.27, not significant.

session effect : F(3, 108)=51.95, p<0.0001.

interaction effect : F(6, 108)=0.54, not significant.

위의 ANOVA 결과에서 알 수 있듯이 집단 효과는 유의미하지 않았다. 이는 각 집단의 학습 성적이 서로 다르지 않음을 의미한다. 그러나 회기 효과는 통계적으로 유의미하였다. 집단과 회기간의 상호작용 효과는 없었다. 이 분석 결과는 3 집단의 동물 모두에서 시행을 거듭함에 따라 학습 성적이 향상되었으나, 약물의 효과는 나타나지 않았음을 의미한다. 즉, 장기기억을 바탕으로 동물이 도피대를 찾아가는 학습을 해야 하는 Morris water maze의 경우에는 조위승청탕과 형방지황탕이 13개월된 초기 노화 동물의 학습 능력을 증진시키지는 못하는 것으로 나타났다.

2) 記憶檢査

약물이 4일간의 학습시행을 거쳐 기억에 미치는 영향을 알아보고자 5일째 되는 날에 기억검사를 실시하였다. 이 검사는 Morris water maze에서 동물이 60초간 자유수영을 하는 동안 도피대의 중심에서 반경 20cm에 속하는 목표영역에서 보낸 시간을 측정하는 것이다. 일반적으로 Morris water maze의 기억검사는 목표 사분면에서 동물이 수영한 시간만을 측정한다. 그러나 이 측정치에는 기억과는 무관하게 동물이 그 사분면을 지나가는 시간도 포함될 수 있으므로 더 정확한 기억 측정치를 구하기 위하여 동물이 목표 영역에서 머문 시간을 측정하여 기억의 지표로 삼았다. 그 결과 Jowi군은 10.31±4.61초 동안 목표 영역에 머물렀고, Hyung군은 9.85±5.81초 동안, 그리고 control군은 14.31±5.47초 동안 목표 영역을 수영하였다(Table 7).

Table 7. Mean Swimming Durations in the Target Area around Escape Platform by Each Group in Morris Water Maze

Group	Number of Animal	Mean ± Std. Dev.
Jowi	13	10.31 ± 4.61
Hyungl	13	9.85 ± 5.81
control	13	14.31 ± 5.47

result of ANOVA : F(2, 36)=2.76, not significant.

집단별 기억성적의 차이를 통계적으로 알아보기 위하여 일원변량분석(one way ANOVA)을 실시하였다. 분석 결과 기억 성적의 집단 차이는 통계적으로 유의미하지 않았다. 이 결과는 Morris 수중미로 과제에서는 조위승청탕과 형방지황탕이 동물의 장기기억상에 유의한 영향을 미치지 않았음을 의미한다.

3. 綜合論議

노년층의 인구가 갈수록 많아지고 이와 더불어 치매환자들도 증가하는 추세로 있어서 효과적인 치료법과 예방에 대한 관심이 고조되고 있다. 이처럼 치매질병에 대한

인식이 증대되면서, 치매의 원인을 규명하여 안전하고 효과적인 약물을 개발하기 위한 수많은 연구노력이 진행되어 왔다. 사후검사나 신경시술 검사등을 통해서 확인되는 바는 치매환자의 뇌에서 나타나는 신경전달물질의 생화학적 변화와 조직병리학적 변화로 인해서 학습과 기억의 쇠퇴가 일어난다고 알려져 있다. 현재까지 치매에 대한 “치료”로서 명확하게 확인된 것은 없지만, 치매를 치료하기 위한 여러 전략들이 강구되고 있다. 본 실험은 이와같은 전략의 일환으로, 지금까지는 임상적으로 사용되어 왔던 한약물을 과학적인 실험 방법을 통하여 그 효능을 검증하고자 한 것이다.

1) 한약물의 노화동물 치매에 미치는 영향

본 실험에 사용된 調胃升清湯은 四象方으로, 1894년경 四象醫學을 제창한 李의 東醫壽世保元에 처음 수록된 處方으로, 太陰人의 胃脘受寒表寒病證에서 食後痞滿 腿脚無力에 사용하였으며, 그 以後 임상적으로 太陰人 肺虛寒證 및 癱瘓 中風虛證 手足不遂 口眼喎斜 痰盛咳嗽 短氣 不思飲食 內傷倒飽 中消 自汗 盜汗 小便不禁 食脹 氣脹 虛勞健忘 등 諸神經症에 포괄적으로 응용되고 있으며 처방약물의 효능을 고찰하면 청심안신, 양음온폐, 조위화비하는 약물로 구성되어 있다. 또한 경희의료원 한방병원 치매클리닉에서 태음인의 치매치료 및 AD치료에 본 방제를 투여하여 좋은 임상적 효과가 관찰되었다(황의완 등, 1996).

최근 調胃升清湯의 實驗研究에서 우주영 등(1997)은 방사형 미로 학습에 있어 흰쥐의 학습과 기억에 대한 효과를 보고한 바 있으며, 이웅석 등(1998)은 Alzheimer's disease 모델 백서의 학습과 기억에 미치는 효과를 보고하였다.

荊防地黃湯은 東醫壽世保元에 수록된 處方으로, 少陽人의 脾受寒表寒病에서 亡陰證 身寒泄瀉에 使用하였으며, 그 以後 臨床的으로 少陽人의 脾臟結寒으로 인한 喘息, 肺病, 血證, 偏頭痛, 腎性浮腫, 短氣, 健忘, 癲癇, 癲狂 등에 包括的으로 應用되는 方劑로, 補腎溫肝 養陰潤肺 益脾寧心하는 藥物로 構成되어 있음을 알 수 있다. 또한 경희의료원 한방병원 치매클리닉에서 소양인의 치매치료 및 AD치료에 본 방제를 투여하여 좋은 임상적 효과가 관찰

되었다(황의완 등, 1996).

荊防地黃湯에 對한 實驗的 研究로는 이재혁 등(1997)은 흰쥐의 Morris 水中迷路學習과 記憶에 대한 효과를 報告한 바 있고, 조운숙 등(1998)은 Alzheimer's disease 모델 백서의 학습과 기억에 미치는 효과를 보고하였다.

2) 노화동물에 대한 방사미로의 결과

본 연구에서는 치매로 인해 생길 수 있는 작업기억과 단기기억에 대한 한약물의 효용성을 확인하기 위해서 방사미로 과제를 수행하였다. 다음에 기술되는 여러 방사미로 연구 들은 본 실험에서 얻은 결과를 지지해 주고 있다.

McArthur, Carfagna, Banfi, Cavanus, Cervini, Fariello, 그리고 Post (1997)등은 노화동물과 젊은 동물에게 nicergoline을 만성적으로 경구투여하였을 때 방사미로 수행에 미치는 효과를 연구하였다. 젊은 쥐는 방사미로 학습을 빠르게 학습하였고, 연속되는 회기에 걸쳐서 그 수행에 많은 진보가 있었지만, 노화동물은 활동이 저하되고 방사미로를 탐지하지 않거나 연속되는 회기에 걸쳐서 수행을 잘 하지 못하였다. 또한 아세틸콜린(ACh)의 수준이 노화가 진행됨에 따라 선조피질 영역에서 저하되었음이 확인되었다. 이러한 결과는 nicergoline이 노화관련 장애의 학습모델에 대한 효과적인 인지적 상승요인이라는 사실과, 이러한 결과는 콜린성 체계상의 변화와 관련있을 수 있다는 것을 시사해 준다.

Ikegami(1994)도 방사미로 학습에서 노화 생쥐가 전 회기에 걸쳐 작업기억과 준거기억 상에 현저한 결함이 있음을 발견하였다. More, Kato, Jujishima(1995)도 노화로 인한 뇌 기능의 저하를 확인하기 위해서 방사미로 과제 학습을 조사하고, 대뇌의 글루코스 활성화 수준이 젊은 동물과 노화동물간에 어떠한 차이가 있는지 연구하였다. 노화동물은 대뇌피질, 해마등을 포함하는 주요 뇌 구조에서 글루코스 활성화 수준이 줄어들었는데, 오류율 증가를 보이는 학습장애와 이 활성화 수준간에 유의한 상관이 있음이 확인되었다. 이로 보건데, 뇌기능은 노화로 인해서 뇌기능에 손상이 생기며, 신경활성이 줄어들게 되고, 그리하여 학습장애를 포함한 행동적 결함을 유발한다고 할 수

있다.

노화가 진행되면서 겪게 되는 학습과 기억상의 장애를 주위 환경에 대한 반응전략이 달라진다는 견해로 설명하려는 입장도 있다. 이러한 반응 전략은 방사미로 수행상에 영향을 주는 요인이 될 수 있다는 것이다. 실험결과 노화동물의 반응 전략은 콜린성 기능이 실험적으로 손상된 젊은 동물의 미로 수행과 유사한 것으로 드러났다. 이러한 결과는 연령차이로 인한 반응전략의 차이는 노화동물의 콜린성 체계의 손상으로 인한 것일 가능성을 강하게 시사해 준다(Kobayashi, kametani, Ugawa, & Osanai, 1988). Nakahara, Iga, Saito, Mizobe, Kawanishi(1989)는 방사형 미로과제와 T-미로 과제를 통해서 선택적 M1 무스카린성 수용기 효능제인 FKS-508(AF102B)가 콜린성 기능저하를 가지고 있는 쥐의 작업기억 손상을 경감시키는 효과가 나타나는 것을 보고하였다. 그리하여 FKS-508 약물이 노화로 인한 치매의 환자에게 임상적으로 적용될 가능성이 있다고 하였다.

지금까지 노화동물을 대상으로 수행된 많은 방사미로 과제 연구들을 종합해 보면, 젊은 동물에 비해서 노화동물의 전체의 반응성과 초기 정반응에서 수행이 낮은 것으로 확인되었고, 이러한 학습과 기억상의 결함은 콜린성 기능의 저하로 인해서 유발될 가능성이 있다는 것을 언급하고 있다. 이러한 맥락에서 볼 때, 한약물 조위승청탕과 형방지황탕이 노화로 인해 작업기억이 손상된 쥐의 수행을 증진시키는 것으로 보아, 이 두 한약물이 작업기억 혹은 단기기억이 손상된 치매환자에게 임상적으로 적용될 수 있는 지지증거로 사용될 수 있다고 사료된다.

3) 노화동물에 대한 수증미로 실험의 결과

방사미로 과제와 더불어, 동물의 장기기억을 측정하는 것으로 알려져 있는 수증미로 과제를 통해 한약물 조위승청탕과 형방지황탕의 장기기억에 미치는 효과를 규명하고자 하였다. 수증미로 과제는 대표적인 공간학습과제로 최근 자주 사용되는 학습 패러다임이지만, 연구들 간에 상이한 결과가 보고되고 있다.

노화동물 연구를 통해서 노화관련 기억상실 기전을 밝혀려는 시도가 어느정도 이루어져 왔다. 노화동물에서 몇

몇 신경전달물질 위계가 변화되었다는 증거가 있다. 도파민성, 콜린성 체계가 널리 연구되었지만 다른 시스템도 관여하고 있을 수 있다. 학습과 기억 결함은 영장류 뿐만 아니라, 노화설치류에게서 일관성있게 관찰되고 있다. 예를들어, 몇몇 노화동물쥐는 “수증미로”과제와 같은 공간학습과제에서 수행상의 결함이 발견되었다. 이러한 결함은 적어도 부분적으로는 해마체의 기능상의 변화에 기인한다는 증거가 있다. 다른 말로 하면, 노화동물은 공간기억 결함을 가지고 있다면, 그것은 해마체의 뉴런 회로상의 변화 때문에 생긴 것일수도 있다. 신경화학적 분석을 통해서 노화동물은 젊은 동물에 비해서 해마, 선조영역, 전두피질, 후두피질 등의 영역에서 아세틸콜린 수준이 현저하게 저하된다는 것이 밝혀지고 있다(Ikegami, 1994). 상관 분석을 통해서 확인해 보았을 때 공간과제 학습과 해마, 전두피질, 후두피질에서의 아세틸콜린 수준간에 유의한 상관성이 있음이 밝혀졌다.

Spencer, O'Steen와 McEwen(1995)는 노화가 진행되면서 시각기능이 저하된다는 점에 착안하여, 노화관련 시각장애와 학습기억 수행간의 차이를 알아보기 위해서 수증미로 실험을 하였다. 그 결과, 수증미로 과제를 수행한 후에 동물의 눈을 제거한 후에 망막의 조직, 형태학적으로 관찰해 보았을 때, 수증미로 과제 수행이 좋지 않았던 노화동물의 망막 외부층의 두께 감소와 강한 상관성이 밝혀졌다. 이것은 학습과 기억 수행이 저하되는 한가지 가능성으로 시각기능이 저하되어 도파대를 잘 찾지 못하는 결과가 나온 것이 아닌가 하는 가능성을 제기하게 한다. Sirvio, Riekkinen, Vajanto, Koivisto, Riekkinen(1991)은 alpha-2 효능제인 guanfacine이 수증미로(공간항해과제)에서 젊은 쥐와 노화쥐에게 미치는 영향을 연구하였다. 그결과 guanfacine의 주입량에 따라 상이한 결과가 나왔다. 적은 양을 주입하였을때는 노화동물의 공간준거기억을 증진시키지 못하였다. Linder는 수증미로 과제가 다른 행동검사에 비해서 타당성을 가지고 있고, 특정 약물의 효능을 확인하는 임상 검사과제로서 가치가 있다고 하지만, 수증미로 과제의 측정치 자체가 인지기능과 동의어로 간주될 수는 없다는 것을 분명히 하고 있다.

이상에서 수증미로 과제를 이용한 다양한 연구를 통해

서, 학습과 기억의 신경해부학적 기전과, 약물과 관련 회로등에 대한 연구자들의 입장을 고찰해 보았다. 각 연구자들마다 상이한 결과를 보고하고 있고, 의견도 분분한 상태에 있다. 본 수중미로 과제에서 유의한 결과가 나오지 않은 것에 대해서도 몇가지 가능성을 생각해 볼 수 있다. 먼저, 본 실험에서 사용한 동물이 초기 노화동물이라는 점이다. 실험과제가 진행되어야 하는 여건상, 12개월 전후의 동물을 사용하였으므로, 중기 노화동물과 후기 노화동물에 대한 실험을 못하였다. 실험자마다 차이가 있지만, 대개 생후 26개월 전후의 쥐를 사용하는 것으로 알려져 있다. 장기기억을 요하는 인지과제를 수행하는 데 있어서는 본 한약물이 초기 노화동물에게 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다. 앞으로는 노화동물의 연령대에 따른 학습과 기억상의 변화를 규명하는 노력이 있어야 할 것으로 보인다. 수중미로 과제를 통한 장기기억상에 효과가 나타나지 않은 또 한가지의 가능성으로는 약물의 농도를 들 수 있다. Sirvio 등(1991)이 연구결과에서 약물의 농도에 따라 연령대에 따라 차이가 있을 수 있다는 가능성을 언급하였듯이, 본 한약물의 농도차로 인해서 효과가 유의하지 않은 것으로 나타났을 수 있다. 특히 즉시적이고 국소적인 효과를 나타내는 실험약물에 비해서, 한약물은 장기간의 투여와 유기체 전체의 통합적 기능을 통해서 효능이 드러난다고 하는 사실을 감안해야 할 것이다.

4) 장래 연구 방향성

이상으로 방사미로과제와 수중미로 과제를 통한 노화동물의 학습과 기억에 한약물 조위승청탕과 형방지황탕이 미치는 효과를 알아보았다. 이 두 약물은 노화로 인한 작업기억 혹은 단기 기억의 기능이 저하되었을 때 효능이 있을 것으로 사료된다. 비록 장기기억에는 유의한 결과가 미치지 않는 것으로 확인되었으나, 본 연구에서 밝혀진 결과는 약물이 노화관련 기억 결함이나 치매 현상을 다루는 데 유용한 효과를 가질 수 있음을 시사해 준다. 앞으로, 한약재의 활성물질을 규명하는 연구와 그 활성물질에 대한 특성과 생리적 작용기전에 관한 연구, 활성물질에 대한 약리학적 연구가 후속되어야 한다. 궁극적으로는 노화관련 손상으로 인해서 개인적, 가족적, 사회적으로 어려

움에 직면하고 있는 사람들의 증상을 밝히고 경감시켜 줄 수 있는 한약재의 치료적 측면에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다.

실험연구를 통해 얻은 결과를 바탕으로 한약물의 상업적 측면도 강구해야 할 것이다. 점점 더 노인층이 늘어나고 이와 더불어 노령화로 인한 치매로 고통받고 있는 사람들도 증가추세에 있다. 유기체의 원활한 기능은 특정 부위만을 치료하거나 단기간의 처치로 효과를 보는 것은, 예상치 않은 다른 부위에 부작용을 유발하거나 시간이 지나면서 재발할 가능성이 있기 때문에 유기체의 원활한 기능은 신체 전체의 기능을 통합적으로 보고 장기간에 걸친 점진적이고 총체적인 시야를 갖는 것이 필요하다. 이러한 측면에서 본다면 자연 발생적으로 일어나고 있는 노화현상에 대한 치료에 있어서 전체적이고 통합적인 기능을 중시하는 한약물이 차지하는 비중은 자못 크다 할 수 있다. 본 실험은 한약물의 치매치료에 대한 연구의 시발점을 이루고 있다. 앞으로 특정기능 손상 각각에 부합하는 특정신약을 개발함으로써 치매 치료에 대한 한의학의 세계시장 진출이 가능해질 것이다.

Ⅲ. 結 論

본 연구는 노화로 인해 유발된 치매동물을 대상으로 한약물 조위승청탕과 형방지황탕이 치매에 미치는 효과를 알아보기 위한 것이다. 학습과 기억상의 결함을 보이는 치매현상을 방사미로 과제와 수중미로 과제를 통해 연구하였다.

1. 방사미로 과제를 이용한 학습에서 검액을 투여한 한약물 집단이 통제집단에 비해 학습이 더 향상되는 것으로 나타났고, 학습준거에 이른 동물 수도 검액을 투여받은 동물이 더 유의하게 많았다.

2. Morris 수중미로 과제를 통한 학습과 기억의 결과는 검액을 투여받은 한약물 집단과 투여받지 못한 통제집단간에 차이가 없었다. 기존의 연구결과에도 상이한 결과가 보고되고 있는데, 장기간의 노화동물을 대상으로 하는 연구가 후속되어야 할 것으로 보인다.

이상의 실험결과로 보아, 조위승청탕과 형방지황탕이

노화로 인해 작업기억이 손상된 쥐의 수행을 증진시키는 것으로 보아, 이 두 한약물이 작업기억 혹은 단기기억이 손상된 치매환자에게 임상적으로 적용될 수 있는 지지증거로 사용될 수 있다고 사료된다.

참 고 문 헌

1. 박종한, 고효진: 경북 영일군 어느 면지역 노인들에서의 치매의 원인적 분류 및 주요 치매의 상대적 유병률, *신경정신의학*, 30(5):885-891, 1991
2. 박종한: 치매의 원인과 치료, *대한정신약물학회지*, 3(1):33-42, 1992
3. 이가옥: 노인생활실태 분석 및 정책과제, 한국보건사회연구원, pp.114-132, 1994
4. 우종인, 유형근, 홍진표, 이정희: 한국 노인인구의 치매의 역학적 특성에 관한 연구, 서울대학교병원 대형공동 과제 연구 보고서, pp.1-9, 1994
5. 우주영, 김종우, 황의완, 김현택, 박순권: 調胃升清湯이 흰쥐의 방사형 미로학습과 기억에 미치는 영향, *동의신경정신과학회지*, 8(1):69-79, 1997
6. 이웅석, 황의완, 김현택, 박순권: 調胃升清湯이 Alzheimer's disease 모델 백서의 학습과 기억에 미치는 영향, *경희한의대논문집*, 21(1):479-501, 1998
7. 이재혁, 김종우, 황의완, 김현택, 박순권: 荊防地黃湯이 흰쥐의 Morris 수중 미로학습과 기억에 미치는 영향, *경희한의대논문집*, 20(2):194-205, 1997
8. 이제마 저, 홍순용, 이을호판: *사상의학원론*, p.230, 300, 344, 서울, 행림출판, 1989
9. 조윤숙, 황의완, 김현택, 박순권: 荊防地黃湯이 Alzheimer's disease 모델 백서의 학습과 기억에 미치는 영향, *동의신경정신과학회지*, 9(1):1-24, 1998
10. 황의완, 김종우, 이조희, 엄효진, 이승기: 치매에 대한 한의학적 임상연구, *동의신경정신과학회지*, 7(1):1-13, 1996
11. 許俊: *原本東醫寶鑑*, p.81, 98, 서울, 南山堂, 1981
12. Aston-Jones G, Rogers J, Shaver RD, Dinan TG, Moss DE: Age-impaired impulse flow from nucleus basalis to cortex, *Nature*, 318:462-464, 1985
13. Baird, T.J., Vanecek, S.A., Briscoe, R., Vallett, M., Carl, K.L., Gauvin, D.V.(1998). Moderate, long-term, alcohol consumption potentiates normal, age-related spatial memory deficits in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 3. 628-36.
14. Chung SY, Moriyama T, Uezu E, Uezu K, Hirata R, Yohena N, Masuda Y, Kokubu T, Yamamoto S: Administration of phosphatidylcholine increases brain acetylcholine concentration and improves memory in mice with dementia, *J Nutr*, 125:1484-1489, 1995
15. Dubois B, Mayo W, Agid Y, Le Moal M, Simon H: Profound disturbances of spontaneous and learned behaviors following lesions of the nucleus basalis magnocellularis in the rat, *Brain Res*, 338:249-258, 1985
16. Fuji K, Hiramatsu M, Kameyama T, Nabeshima T: Effects of repeated administration of propentofylline on memory impairment produced by basal forebrain lesion in rats, *Eur J Pharmacol*, 236:411-417, 1993
17. Gage, F.H., Chen, K.S., Buzsaki, G., & Armstrong, I.(1988). Experimental approaches to age-related cognitive impairments. *Neurobiol Aging* 6 645-55.
18. Hamdy RC, Turnbull JM, Clark W, Lancaster MM: Alzheimer's disease: A handbook for caregivers 2nd ed. Mosby, pp.102-116, 1994
19. Hortnagl H: AF64A-induced brain damage and its relation to dementia, *J Neural Transm Suppl*, 44:245-257, 1994
20. Ikegami, S.(1994). Behavioral impairment in radial-arm maze learning and acetylcholine content of the hippocampus and cerebral cortex in aged mice. *Behav Brain Res* 1. 103-11
21. Jarvik LF, Winograd CH: Treatments for the Alzheimer patient, pp.3-38, New York, Springer Publishing Company, 1988
22. Jorm AF, Korten AE, Henderson AS: The prevalence

- nance of dementia: A quantitative integration of the literature, *Acta Psychiat Scand*, 76:465-479, 1987
23. Katzman R, Saitoh T: Advances in Alzheimer's disease. *FASEB J*, 5:278-86, 1991
 24. Kiyosawa M, Baron JC, Hamel E, Pappata S, Duvrger D, Riche D, Riche D, Mazoyer B, Naquet R, MacKenzie ET: Time course of effects of unilateral lesions of the nucleus basalis of Meynert on glucose utilization by the cerebral cortex. Positron tomography in baboons, *Brain*, 112:435-455, 1989
 25. Kirk, R. E.(1982). Procedures for the behavioral sciences(pp. 77-84). California, Brooks/Cole Publishing Company.
 26. Kobayashi, S., Kametani, P., Ugawa, Y., & Osanai, M.(1988). Age difference of response strategy in radial maze performance of Fischer-344 rats. *Physiol Behav* 3. 277-80.
 27. Lindner, M.D.(1997). Reliability, distribution, and validity of age-related cognitive deficits in the Morris water maze. *Neurobiol Learn Mem* 3. 203-20.
 28. McArthur, R.A., Cargagna, N., Banfi, L., Cavanus, S., Cervini, M.A., Fariello, R., & Post, C.(1997). Effects of nicergoline on age-related decrements in radial maze performance and acetylcholine levels. *Brain Res Bull* 3 305-11.
 29. Miyagawa, P., Hsegawa, N., Fukuta, T., Amano, M., Yamada, K., & Nabeshima, T. (1998). Dissociation of impairment between spatial memory, and motor function and emotional behavior in aged rats. *Behav Brain Res* 2. 73-81.
 30. Murphy, M. P., Rick, J. Th., Milgram, N. W., and Ivy, G. O.(1995). A simple and rapid test of sensorimotor function in the aged rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 64, 181-186.
 31. Nabeshima, Hasegawa, M., Nakayama, S., Kinshita, E., Amano, M., & Hasegawa T. (1993). Impairment of learning and memory and the accessory symptom in aged rats as senile dementia model (1)-- Emotional behavior. *Yakubutsu Seishin Kodo* 2. 65-72.
 32. Mori, S., Kato, M., & Fujishima, M.(1995). Impaired maze learning and cerebral glucose utilization in aged hypertensive rats. *Hypertension* 1. 545-53.
 33. Nabeshima T, Nitta A, Hasegawa T: Impairment of learning and memory and the accessory symptom in aged rat as senile dementia model (3): Oral administration of propentofylline produces recovery of reduced NGF content in the brain of aged rats, *Yakubutsu Seishin Kodo*, 13:89-95, 1993
 34. Nakahara, N., Iga, Y., Saito, Y., Mizobe, F., & Kawanishi, g.(1989). Beneficial effects of FKS-508 (AF102B), a selective M1 agonist, on the impaired working memory in AF64A-treated rats. *Jpn J Pharmacol.* 4. 539-47.
 35. Nakamura, S., & Ohno, T.S.(1995). Spatial learning impairment in aged rats: comparing between aged basal forebrain lesioned and normal aged rats. *Behav Brain Res* 1 69-76
 36. Nitta A, Nabeshima T: Experimental techniques for developing new drugs acting on dementia(10)--Alzheimer's disease animal model induced by beta-amyloid protein, *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Aasshi*, 16:85-90, 1996
 37. Rowe, W.B., Sprekmeester, & Meane, W.B.(1998). Reactivity to novelty in cognitively-impaired and cognitively-unimpaired aged rats and young rats. *Neuroscience* 3 669-80
 38. Russell RW: Continuing the search for cholinergic factors in cognitive dysfunction, *Life Sci*, 58:1965-1970, 1996
 39. Scremin OU, Jenden DJ: Cholinergic control of cerebral blood flow in stroke, trauma and aging, *Life Sci*, 58:2011-2018, 1996
 40. Sirvio, J., Riekinen, P., Vajanto, Koivisto, E., &

- Riekkinen, P. (1991). The effects of guanfacine, alpha-2 agonist, on the performance of young and aged rats in spatial navigation task. *Behav Neural Biol* 1. 101-7.
41. Spencer, R.L., O'Steen, W.B., & McEwen, B.S. (1995). Water maze performance of aged Sprague-Dawley rats in relation to retinal morphologic measures. *Behav Brain Res* 2. 139-50.
42. Tanaka K, Ogawa N, Asanuma M, Kondo Y, Nomura M: Relationship between cholinergic dysfunction and discrimination learning disabilities in Wistar rats following chronic cerebral hypoperfusion, *Brain Res*, 729:55-65, 1996
43. Walsh TJ, Tilson HA, DeHaven DL, Mailman RB, Fisher A, Hanin I: AF64A, a cholinergic neurotoxin, selectively depletes acetylcholine in hippocampus and cortex, and produces long-term passive avoidance and radial-arm maze deficits in the rat, *Brain Res*, 321:91-102, 1984
44. Weiler PG: The public health impact of Alzheimer's disease, *Am J Public Health*, 77:1157-8, 1987
45. Weiner MF: The dementias, diagnosis and management, pp.77-166, 227-248, Washington, American Psychiatric Press, 1991

=ABSTRACT=

An experimental study of oriental medicine on cure for dementia : the effect of Jowiseungcheongtang and Hyungbangjihwangtang on cure for aged rats

Soon Kwen Park

Hong Jae Lee

Hyun Taek Kim

Wei Wan Whang, O.M.D*

Dept. of Psychology, Korea University, Seoul, Korea

*Dept. of Oriental Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

Some oriental medicine turned out to have a significant clinical effect on the cure for dementia. Therefore, thorough scientific tests for physiological effect of oriental medicine are needed. This study is aimed at doing experimental studies on the effects of two medicines, Jowiseungcheongtang and hyungbangjihwangtang, on the cure for dementia.

For the demonstration of the effect of the two medicines on aged rats, we performed a radial arm maze and a Morris water maze task, known for their proper learning paradigm for behavior.

Previous studies on aging and dementia show that aged rats displayed significant impairments in the learning of the radial arm maze task compared with younger rats. As in experiment 1, we found that the learning deficits aged rats exhibit in radial arm maze task were improved with the application of each medicine. The results suggest that these two medicine can be effective to patients whose working or short-term memory is impaired.

In experiment 2 we studied the effect of the two medicines on the deficit of the aged rats with the Morris water maze task known for measuring long-term memory. We did not find significant results between the performance of the aged rats and the younger ones. Considered the different results previous studies have reported, more thorough studies are needed to investigate the effect of the medicines on long-term memory.

In conclusion, the results we found in experiment 1 and 2 suggest that Jowisengcheongtang and hyung-

bangjihwangtang can have useful effects for the cure of age-related memory (especially for short-term memory) deficits. Recent interests in dementia urges researchers concerned to explore the effect of oriental medicine on the disease. As there have been relatively few behavioral or scientific studies on dementia using oriental medicine to date, further studies are expected to continue to elucidate "what the wisdom of the oriental medicine tells about dementia".