

香附子八物湯이 흰쥐의 방사형 迷路學習과 記憶에 미치는 影響

경희대학교 한의과대학 신경정신과학교실 *고려대학교 심리학과

유재면 · 김종우 · 황의완 · 김현택* · 이홍재*

I. 緒 論

痴呆는 腦의 질환으로 인해 생기는 하나의 증후군으로 대개 慢性的이고 進行性으로 나타내며, 기억력, 사고력, 지남력, 이해력, 계산능력, 학습능력, 언어 및 판단력 등을 포함하는 고도의 피질기능의 다발성 장애로 일컬어지며,痴呆의 주요증상으로 學習과 記憶의 障病가 나타난다¹⁴⁾.

學習은 연습이나 經驗에 의하여 물리적으로 뇌에 지속적인 變化가 생긴 것을 말하며, 그 變化를 記憶이라고 한다¹⁾. 記憶은 또한 學習된 내용을 貯藏하고 다시 꺼내어 使用하는 能力을 말하는데, 學習과 記憶을 담당하는 腦構造는 해마, 편도체, 내측중격, 그리고 신피질 등이다⁵⁾.

學習과 記憶의 障病는 腦組織의 變化와 각종 神經傳達物質의 減少 등 腦의 退行性 變化로 인하여 發生하는 것으로 認識되고 있고, 치매는 老人人口의 증가와 함께 늘어나고, 있으며 人間의 社會的인 能力을 저하시키기 때문에 그 症狀를 초기에 진단하는 것은 매우 중요하다⁴⁶⁾.

방사형 미로(radial arm maze)는 空間에 대한 學習과 記憶能力을 研究하기 위한 實驗장치로서 주로 作業記憶(working memory)을 바탕으로 하는 學習能力을 알아보기 위한 것이다^{19,20)}. 作業記憶은 記憶의 한 유형인 短期記憶(short term memory)에 속한다. 이 미로를 이용한 실험 들에는 學習을 記憶하는 時間範圍^{13,24)}와 記憶 저장작용을 매개하는 작용에 관한 연구가 있으며, 약물을 통한 기억력 증진에 관한 연구가 있었다^{21,24)}.

韓醫學에서 學習과 記憶에 관한 研究를 살펴보면, 健忘에 관한 文獻的인 研究³⁾가 있었고, 學習과 記憶 향상에

대한 實驗 研究로는 李¹⁰⁾의 記憶과 腎의 關係에 대한 研究와 禹^{7,8,9,11)} 등의 藥物이 學習과 記憶에 미치는 影響에 관한 研究가 있었다.

이에 著者는 少陰人의 諸神經症과 健忘에 대해 臨床的으로 使用되고^{2,12)} 있는 香附子八物湯의 學習과 記憶에 미치는 影響을 觀察하고자 방사형 미로(radial arm maze)를 使用하여 흰쥐의 學習과 記憶 檢査를 실시하여 記憶 增進 效果에 관한 有意한 效果를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 藥材 및 動物

1) 被驗動物

實驗에 使用한 動物은 大韓實驗動物센터에서 분양 받은 SPF(specific pathogen free) 흰쥐였다. 몸무게가 200-230g되는 8주령을 분양 받아, 일주일간 動物 飼育室에서 적응하도록 하였다. 韓藥物을 經口投與하기 전에 통제동물군 16마리와 藥物投與 動物群 18마리로 배정하였다. 실제 방사미로(radial arm maze) 실험에 들어갈 때는 통제 동물군 14마리, 약물 투여군 17마리씩으로 實驗하였다. 實驗이 進行되는 동안 먹이와 물을 마음껏 먹을 수 있도록 하였다. 飼育室의 온도는 21±2°C, 습도는 40~50%로 유지시키고 공기정화기와 환풍기를 使用하여 공기를 깨끗하게 하였다. 밤-낮 주기는 타이머를 使用해서 12:12가 되게 하고 實驗은 밤 주기에 하였다.

2) 藥材

본 實驗에 사용된 藥材는 慶熙韓方處方集에 있는 香附子八物湯(HH83, 한국, 서울, 慶熙醫醫院 韓方病院 藥劑部)을 사용하였다. 1첩의 처방 내용은 다음과 같다.

Table 1. Contents of Hyangbujapalmultang

Ingredient		dose
香附子	Root of <i>Cyperus rotundus</i>	8g
當歸	Root of <i>Angelica gigas</i> Nakai	8g
白芍藥	Root of <i>Paeonia japonica</i> Miyabe et Takeba var. <i>pilosa</i> Nakai	8g
白朮	Root of <i>Atractylodes macrocephala</i> Koizumi	4g
白何首烏	Root of <i>Polygonum multiflorum</i> Thunberg	4g
川芎	Root of <i>Cnidium officinale</i> Makino	4g
陳皮	Peel of <i>Citrus nobilis</i> Makino	4g
炙甘草	Root of <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer et. De Candolle	4g
大棗	Fruit of <i>Zizyphus jujuba</i> Miller var. <i>internis</i>	4g
生薑	Root of <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	4g
Total amounts		52.0g

2. 方法

1) 檢液의 投與

흰쥐 14마리의 부형제 투여군(control 群) 및 17마리의 香附子八物湯 엑기스 投與群 (sample 群)으로 나누었다. Sample 群은 香附子八物湯 엑기스(2g EX/mouse Kg)를 증류수로 희석하여 1일 1회 2ml씩 매주 6회로 8주간 경구 투여하였다. Control 群은 sample 群과 동일한 용량의 부형제를 投與하였다.

2) 實驗裝置²²⁾

本 實驗에 쓰인 방사형 미로(radial arm maze)의 재질은 투명한 아크릴이고, 중앙의 출발상자와 이곳에서 방사형으로 갈라지는 8개의 동일한 가지(走路)로 구성되어 있다. 출발상자는 팔각형이며 내경은 34cm, 높이는 30cm이고 한 변의 길이는 14cm이다. 출발상자에서 방사형으로

뻗어있는 각 주로의 길이는 70cm이고 넓이는 9cm, 높이는 9cm이며 출발상자와 주로 사이에는 개폐할 수 있는 문이 있다. 주로의 중착지점에는 보상을 제공하는 음식접시(5×5×2.5cm)가 있다.

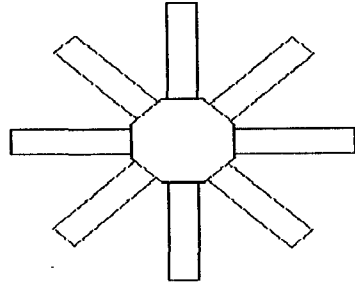


Fig. 1. A plane figure of radial arm maze.

3) 實驗節次

① 學習檢査²²⁾

일주일간 動物 飼育室에서 적응한 쥐를 방사미로(radial arm maze)의 새로운 環境에 적응할 수 있도록 하기 위해서 본 實驗 들어가기 하루전날에 방사미로(radial arm maze)의 각 8개의 주로를 5분 동안 탐색할 수 있도록 하였다. 이때는 물 박탈을 하지 않았고, 음식접시에 물도 넣지 않았다. 본 시행에 들어가는는 실험시행 24시간 전부터 물을 박탈하여 갈증을 유발시켰다. 실험 1시간 전에 飼育室에서 行動觀察室로 옮겨 급박한 이동에 따르는 흰쥐의 제반 변화를 방지하였다. 먼저 각 음식접시에 0.1ml의 물을 넣고 주로의 문이 닫힌 상태에서 흰쥐를 출발상자에 위치시켜 약 1분간 상황에 적응시킨 후 문을 열어 흰쥐가 자유롭게 돌아다닐 수 있게 하였다. 흰쥐가 8개의 주로를 1번씩 방문하여 주로에서 물을 모두 섭취하면 한 시행을 종료하였다. 물은 1회에 한정하여 공급하고 동일한 주로를 2회 이상 방문하면 오류를 범하는 것으로 간주하여 그 횟수를 기록하였다. 이 과제에서는 각 주로를 1회씩 총 8회 물을 섭취하는 것이 가장 효율적인 수행이 되며 매일 1시행 學習후 흰쥐를 개별 사육상자에 되돌리고 30분간 물을 제공한 후 다시 물을 박탈하였다. 12일간

學習을 시행하였으며 學習중 연속적인 3일간 발생한 오류가 1개 이하일 때 學習이 완성된 것으로 보고 學習準據로 정하였다. 學習準據에 도달한 흰쥐는 더 이상의 학습을 시키지 않고 學習을 종료하였다.

㉔ 記憶檢査²²⁾

學習準據에 도달한 흰쥐를 대상으로 24시간 후에 記憶檢査를 실시하였다. 흰쥐가 4번째 주로에 들어가기까지의 과정은 學習實驗에서와 동일하였다. 흰쥐가 4번째 주로를 선택하여 들어가는 동시에 그 주로의 문을 차단하여 30초간 지연시켰다. 30초 후에 다시 문을 열어 흰쥐로 하여금 나머지 4개의 주로를 찾아가서 보상으로 물을 섭취하면 흰쥐를 출발상자에서 꺼내어 飼育室로 되돌렸다. 나머지 4개의 주로를 방문하여 물을 섭취할 때까지 흰쥐가 범하는 오류수와 마지막 주로에 다다를 때까지의 시간(潛在期)을 기록하여 記憶의 지표로 삼았다.

4) 統計處理

각 측정치는 SPSS프로그램을 이용하여 Mean±Standard Deviation을 구하였다. 학습성적은 통제집단과 실험집단간의 학습준거에 다다른 일자를 구하고, 기억검사 성적은 두 집단의 평균 오류수, 잠재기를 비교하였다. 통계적 유의 수준은 p<0.05로 설정하였다.

Ⅲ. 實驗成績 및 考察

1. 學習檢査

香附子八物湯이 흰쥐의 방사형 미로(radial arm maze) 學習에 미치는 영향을 알아보기와 8개의 주로를 방문하도록 하는 學習을 시행하였다. 그 結果 흰쥐가 學習準據를 모두 통과한 일 수는 control 群에서 6.43±0.67日이고, Sample 群은 5.82±0.37日이었다. Sample 群이 control 群에 비해 學習準據를 통과한 시간이 빨라지는 경향성을 보였으나, 이 차이는 통계적 유의성은 없었다.

Table 2. Effect of Hyangbujapalmultang on the Learning Criteria of Rats in the Radial Arm Maze

Group	No. of Animal	Mean ± Dev.	t	p
Control	14	6.43±0.67 ^{a)}		
Sample	17	5.82±0.37	0.83	NS

a) : Means day

Control : Group of excipient administration.

Sample : Group of Hyangbujapalmultang administration.

2. 記憶檢査

香附子八物湯이 흰쥐의 방사형 미로 記憶에 미치는 영향을 알아보기와 學習準據를 통과한 쥐를 대상으로 24時間 후에 記憶檢査한 結果 control 群의 오류수는 1.86±0.78回이었고 sample 群의 오류수는 0.29±0.59回이었다. Sample 群의 오류수가 control 群의 오류수에 비해 有意性(p<0.05)있게 적게 나타났으므로 香附子八物湯이 記憶增進에 대해 效果가 있음을 알 수 있었다.

Table 3. Effect of Hyangbujapalmultang on the memory Test of Rat in the Radial-Arm Maze

Group	No. of Animal	Mean ± Dev.	t	p
Control	14	1.86±0.78a)		
Sample	17	0.29±0.59	2.17	0.000*

a) : Means frequency of errors

Control : Group of excipient administration.

Sample : Group of Hyangbujapalmultang administration.

* : p<0.05

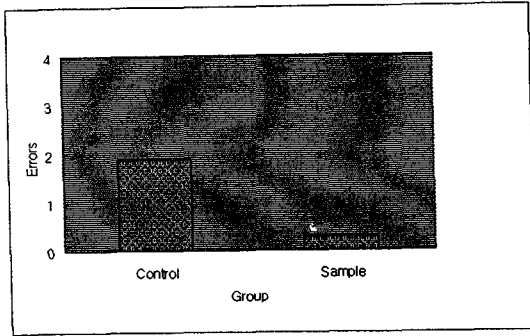


Fig. 2. Frequency of errors in the radial arm maze task.

방사형 미로(radial Arm Maze)는 Olton DS^{19,20)}에 의해 고안되었고 動物은 이 미로를 학습하는 과정에서 어느 미로들에 아직 飮食이 남아 있는가와 같은 후각 단서를 사용한 것이 아니라 미로들 사이의 공간관계를 규정하는 심적 표상인 일종의 정신적인 지도인 인지도를 획득하게 된다. 그러므로, 이 實驗장치는 作業記憶(working memory)의 성질에 대한 특별한 정보를 제공해 주는데, 作業記憶이란 短期記憶의 한 유형으로 짧고 한정된 시간 내에서만 情報貯藏이 요구되며 즉시 사라지는 기억체계이다.

방사형 미로(radial arm maze)를 사용하여 학습과 기억에 관한 實驗들이 시도되어 왔는데, 학습을 기억하는 시간범위에 대해 Bolhuis JJ¹³⁾은 학습 후 2시간까지 시간의 지수에 비례하여 기억能力이 減退되었다고 보고하였고, Youngue BG와 Roy EJ²⁵⁾는 학습후 3시간까지는 비교적 기억이 유지되었으나 8시간이후에는 현저히 감소하였다고 보고하였다. 그리고, Williams CL, McGaugh JL²⁴⁾은 기억貯藏作用을 매개하는 腦 組織으로 고속핵(nucleus of the solitary tract)를 보고하였고, Schacter GB²¹⁾은 glutamatergic hippocampal-accumbens pathway가 수행정보를 운동계에 전달한다고 보고하였다.

또한 藥物을 통한 기억력 증가에 관한 연구가 있는데, Miyagawa M¹⁸⁾은 toluene이 생쥐의 作業記憶에 아무런 영향을 주지 않았다고 보고하였으나, McGurk SR¹⁷⁾은 도파민계 약물이 cholinergic medial pathway가 손상되어 야기되는 기억貯藏障碍를 개선하였다고 보고하였으며, Magnani M¹⁶⁾은 oxiracetam이 항콜린성 약물인 scopol-

amine에 의해 야기되는 학습 및 기억障碍를 선택적으로 회복시켰다고 보고하였다.

韓藥物의 방사형 미로(radial arm maze)를 통한 학습과 기억에 관한 研究를 살펴보면, 禹⁷⁾의 研究에서는 調胃升清湯의 투여가 흰쥐의 방사형 미로(radial arm maze) 학습과 기억增進에 효과가 있음을 보고하였고, 李 등^{8,11)}의 研究에서는 흰쥐에게 Alzheimer disease와 유사한 腦 損傷을 일으킨 뒤 調胃升清湯과 荊防地黃湯을 투여하여 방사형 미로(radial Arm Maze)의 학습과 기억에 효과가 있음을 보고하였다.

이러한 研究들은 방사형 미로(radial arm maze)와 腦 손상으로 야기되는 학습과 기억力 低下를 향상시키는 藥物을 검증하므로써, 痴呆와 같은 疾患의 치료제 개발에 도움을 주리라 사료된다.

본 實驗에서 사용된 香附子八物湯은 실제 경희의료원 한방병원 치매 클리닉에서 소음인의 치매치료에 임상적 효과가 관찰된 처방으로¹²⁾, 이를 실험적으로 그 효능을 규명하기 위하여, 흰쥐의 학습과 기억에 미치는 영향을 觀察하고자 방사형 미로(radial arm maze)를 사용하여 흰쥐를 학습시키고, 학습에 대한 기억檢査를 실시하였다. 학습檢査에서는 sample 群이 더 빠른 학습成績을 보였지만, 통계적 有意성은 보이지 않았다. 기억檢査에서는 sample 群의 오류수가 有意성있게 적게 나왔다.

이상의 實驗 結果로 보아 香附子八物湯이 학습과 기억을 增進시키는 효과를 발휘하는 것으로 사료된다.

IV. 結 論

1. 학습시행에서 흰쥐가 학습준거를 모두 통과한 시간은 대조군이 6.43 ± 0.67 日, 香附子八物湯 投與群이 5.82 ± 0.37 日로서 香附子八物湯 投與群이 대조군에 비해 학습 효과가 향상된 경향을 보였으나 통계적 有意성은 없었다.

2. 학습準據를 통과한 흰쥐를 대상으로 실시한 기억檢査에서 두 집단이 보여준 오류수는 대조군이 1.86 ± 0.78 회, 香附子八物湯 投與群이 0.29 ± 0.59 회로서 香附子八物湯 投與群이 대조군에 비해 有意성 있는 오류수의 감소를 보였다.

參 考 文 獻

1. 김문수 : 學習과 記憶의 生理學的 基礎(I) : 신경심리학적 개관, 인지과학, 7(3): 7-36, 1996.
2. 김보균, 현경철, 김종우, 황의완 : Dementia of Alzheimer Type에 관한 韓醫學의 臨床研究, 동의신경정신과학회지, 동의신경정신과학회지, 9(1):24-43, 1998.
3. 김세길, 문병순, 김연두 : 健忘의 原因, 治法, 治方에 대한 文獻의 考察, 대한한의학회지, 9(4), 482 -489, 1992.
4. 김진수 : Alzheimer' disease의 神經 化學의 變化에 대한 考察, 대한신경과학회지, 3(1): 10-15, 1985.
5. 문양호 : 學習과 記憶의 生理學的 基礎(I) : 神經心理學的의 개관, 인지과학, 7(3), 37-60, 1996.
6. 박중환, 김희철 : 老化에 관련된 認知機能 減退, 계명 의대논문집, 16(3), :382-389, 1997.
7. 우주영, 김종우, 황의완, 김현택, 박순권 : 調胃升清湯이 흰쥐의 방사형 미로 學習과 記憶에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(1):69-79, 1997.
8. 李雄錫 : 調胃升清湯이 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 學習과 記憶에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院, 1998.
9. 이재혁, 김종우, 황의완, 김현택, 박순권 : 荊防地黃湯이 흰쥐의 Morris 水中미로 學習과 記憶에 미치는 影響, 한의대논문집, 20(2):195-205, 1997.
10. 李宰熙 : 記憶과 腎과의 關聯性에 대한 實驗의 研究, 동의생리학회지, 6(1): 59-76, 1991.
11. 조윤숙, 황의완, 김현택, 박순권 : 荊防地黃湯이 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 學習과 記憶에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 9(1):1-24, 1998.
12. 황의완, 김종우, 이조희, 엄효진, 이승기 : 치매에 관한 한의학적 임상연구, 경희의학, 12(2):7-20, 1996.
13. Bolhuis JJ, Bijlsma S, Ansmink P : Exponential decay of spatial memory of rats in a radial maze, Behavioral and Neural Biology, 46:115-122, 1986.
14. Hamdy RC, Turnbull JM, Clark W, Lancaster MM : Alzheimer's disease : A handbook for caregivers 2nd ed. Mosby, 102-116, 1994.
15. Horita A, Carino MA, Zabawska J, Lai H : TRH analog MK-771 reverses neurochemical and learning deficits in medial septal-lesioned rats, Peptides, 10(1):121-124, 1989.
16. Magnani M, Pozzi M, Biagetti R, Banfi S, Dorigotti L : Oxiracetam antagonizes the disruptive effects of scopolamine on memory in the radial maze, Psychopharmacology, 106:175-178, 1992.
17. McGurk SR, Levin ED, Butcher LL : Dopaminergic drug reverse the impairment of radial-arm maze performance caused by lesions involving the cholinergic medial pathway, Neuroscience, 37(6):593-607, 1993.
18. Miyagawa M, Honma T, Sato M, Subchronic exposure to toluene and reference memory in rats, Neurotoxicol Teratol, 17(6):67-664, 1995.
19. Olton DS, Collison C : Intermaze cues and "odor trials" fail to direct choice behavior on an elevated maze, Animal Learning and behavior, 7:221-223, 1979.
20. Olton DS : Maze, maps and memory, American psychologist, 34:583-596, 1979.
21. Schacter G.B, Yang CR, Innis NK, Mongenson GJ : The role of the hippocampal-nucleus accumbens pathway in radial-arm maze performance, Brain Research, 494(2): 339-349, 1989.
22. Strujkstra AM, Bolhuis JJ : Memory persistence of rats in a radial maze varies with training procedure, Behavioral and Neural Biology, 47:158-166, 1987.
23. Walsh TJ, Herzog CD, Gandhi C, Stackman RW, Wiley RG : Injection of IgG 192-saporin into the medial septum produces cholinergic hypofunction and dose-dependent working memory deficits, Brain Research, 726(1-2):69-79, 1996.
24. Williams CL, McCaugh JL : Enhancement of memory processing in an inhibitory avoidance and

radial maze task by post-training infusion of bombesin into the nucleus tractus solitarius, *Brain Research*, 654 (2): 251-256, 1994.

25. Youngue BG, Roy E : Adrenalectomy fails to alter radial maze performance of rats at retention intervals of 24 hours or less, *Physiology and Behavior*, 35:651-654, 1985.

=ABSTRACT=

The Experimental Study on the Effects of Hangbujapalmultang on Enhancing Learning and Memory in Rats with Radial Arm Maze

Jea Myun Ryu, O.M.D.

Jong Woo Kim, O.M.D.

Wei Wan Whang, O.M.D.

Hyun taek, Kim*

Hong Jae, Lee*

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

*Dept. of Psychology, Korea University, Seoul, Korea

Purpose : This study has an experiment on finding how Hyangbujapalmultang advanced the learning and memory of rat to find the method to improve the failure of memory which is the symptom of dementia.

Method : In the experiment, rats were divided the control group (14 rat) which medicates the excipient into the sample group (17 rat) which medicates Hyangbujapalmultang. And the learning ability test and the memory test was practiced to using the task of radial arm maze.

The learning ability test had the presupposition that, when a rat which frequents 8 tracks makes an error not exceeding one time for 3 days without a break, it passes the test.

First experiment compared total days when the control group passed the test with total days when the sample group passed it.

The memory test was practiced after 24 hours when the learning ability test was over. When a rat frequents

4 tracks, the gates is cut off during 30 seconds. Here the number of error which was produced during a rat find remaining 4 tracks was regarded as the index of memory.

This experiment compared the number of error at the control group with that of the sample group.

Result : In the learning ability test, the sample group needed 5.82 ± 0.37 days to pass the test and the control group needed 6.43 ± 0.67 days. In the memory test, the

sample group errored 0.29 ± 0.37 times and the control group errored 1.86 ± 0.78 times.

Conclusion : In the learning ability test, the sample group passed the test earlier than the control group, but any statistical correlationship couldn't be found in it. In the memory test, the sample group had the pregnant reduction of the number of error in comparison with the control group.