

원저

## 蜂藥鍼液이 Scopolamine으로誘發된 記憶 障礙에 미치는 影響

송정열 · 송호섭

경원대학교 한의과대학 침구학교실

### Abstract

#### The Effect of Bee Venom on Scopolamine Induced Memorial Impairment

Song Jeong-yeol and Song Ho-sueb

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent form of neurodegenerative disease associated with aging in the human population. This disease is characterized by the following 4 structural changes : Atrophy of the Cortex, Parasympathetic, and other neural cells, the existence of Neurofibrillary tangles (NFTs), and the accumulation of Senile plaques. NFTs and Senile plaques is known to be the index of this disease. Senile plaques disturbs the neutro transmission and depletes of Acetylcholine. So, Recovery of Acetylcholine is the primal objective for treating Alzheimer's disease. So, Inhibiting the activity of Acetylcholine Esterase (AChE), which causes the hydrolysis of acetylcholine into choline and acetate, can be seen as a key role for treating Alzheimer's disease. Increasing body of evidence has been demonstrated that Bee Venom Acupuncture (BV) could compete with complex protein involving in multiple step of NF- $\kappa$ B activation and exert the anti-inflammatory potential of combined inhibition of the prostanoid and nitric oxide synthesis systems by inhibition of IKK and NF- $\kappa$ B. The effect of BV through behavioral tests after memory impairment induced by Scopolamine. We examined the improving effect of BV on the Scopolamine (1 mg/Kg, i.p.)-induced memorial impairment using passive avoidance response and water maze tests in the mice. BV (0.84, 1.67  $\mu$ g/ml) reversed the Scopolamine-induced memorial impairment in dose dependent manner. This study therefore suggests that BV acupuncture method may be useful for prevention of development or progression of AD.

· 접수 : 2006년 5월 8일 · 수정 : 2006년 5월 20일 · 채택 : 2006년 5월 20일  
· 교신저자 : 송호섭, 서울 송파구 송파동 20-8 경원대학교 한의과대학 부속서울한방병원 침구과교실  
Tel. 02-425-3456 E-mail : hssong70@kyungwon.ac.kr

Key words : Alzheimer's Disease, Bee Venom, scopolamine, memorial impairment

## I. 緒 論

痴呆는 여러 가지 原因疾患에 의해惹起되는 知能低下를 특징으로 하는 症候群으로<sup>1)</sup> 記憶力, 思考力, 指南力, 理解力, 計算能力, 學習能力, 言語 및 判斷力 등을 포함하는 高度의 大脳機能 障礙를 나타낸다<sup>1-2)</sup>.

痴呆 중에 많은 比率을 차지하는 Alzheimer's disease(AD)는<sup>1,3)</sup> 腦의 全般的 萎縮과 特有的 組織學的 所見을 나타내며<sup>1,2,4)</sup>, 發病은 서서히, 經過는 漸進的인 것이 特徵이다<sup>2)</sup>. 進行性 痴呆의 一種인 AD는 大部分 65世 以上の 高齡人口에서 發病한다<sup>5-8)</sup>. AD는 腦 안에서 뉴론의 漸次的인 退化와 損失이 特徵인 年齡과 關係된 神經退化 疾病이다<sup>9)</sup>. 症狀으로는 主위에 대한 無關心, 自發性的 缺如, 記憶力 低下, 指南力 減退, 情緒不安, 騷亂 또는 憂鬱, 無言, 無反應, 大小便失禁 등을 보인다<sup>1,3,10,11)</sup>.

AD의 誘發 機轉에 대한 理論은 다양한데<sup>12-14)</sup>, 그 중 대표적인 것이 presenilin(PS) 遺傳子들의 突然變異와 amyloid presursor proteins(APP)의 過多形成으로 因해  $\beta$ - $\gamma$ -secrectase에 의해 잘라진 beta-amyloid peptide ( $A\beta$ )가 過量으로 만들어지게 되고, 이  $A\beta$ 의 沈積 (deposition)으로 생기는 老人癡 (senile plaques)의 神經毒性으로 말미암아 神經細胞의 破壞가 일어난다는 假說이다<sup>15-20)</sup>.

그런데, 이런 初老性 癡點은 파괴된 軸索突起와 樹狀突起들이 얽힌 덩어리가  $A\beta$ 를 둘러싼 모양을 하고 있으며 이 plaque는 다시 신경교세포(glial cell)과 얽히게 된다. 신경교세포는 炎症 媒介 物質 分泌作用과 蝕細胞 作用을 하기 때문에 이것은 AD의 炎症性 機轉을 說明하는데 重要하다<sup>21)</sup>.

한편, AD의 主症狀인 記憶力 減退는 choline성 神經系와 密接한 關係가 있다고 알려져 있는데, 특히 choline성 神經細胞의 退化에 의한 acetylcholine의 不足 때문으로 생각되며, 이러한 現象은 acetylcholine의 分解酵素인 acetylcholinesterase(AChE)의 增加로 더욱 深化된다<sup>22-26)</sup>.

最近 蜂藥鍼을 利用한 研究로는 膝關節炎<sup>27-28)</sup>,

Rheumatoid 關節炎<sup>29)</sup>, 足跟痛<sup>30)</sup>, 腰椎間板脫出症<sup>31)</sup>, 胸·腰椎壓迫骨折<sup>32)</sup>, 頭皮脂漏皮膚炎<sup>33)</sup> 등 주로 炎症과 損傷性 疾患에 대한 有效함이 報告되었으며, 最近에는 蜂藥鍼과 그 主要 成分인 melittin은  $NF-\kappa B$ 의 p50 과 IKK와 강하게 結合하여  $NF-\kappa B$ 의 炎症關聯 iNOS, cPLA2 및 LOX-2와 같은 DNA와의 結合 活性을 抑制시키고, NO,  $PGE_2$ 와 같은 炎症 生成物을 減少시킴으로써 抗炎 效果를 發揮한다는 蜂毒의 抗炎效果에 대한 분자 메카니즘이 報告되었다<sup>34)</sup>.

그런데, 抗炎症 效果가 卓越한 蜂藥鍼液과 炎症性 疾患인 AD에 대한 聯關性은 아직 報告된 事例가 없다. 따라서, 本 研究는 實驗用 생쥐의 靜脈內와 腦室內에 各各 蜂毒을 注入하여, 蜂毒이 記憶障礙에 미치는 影響을 調査하여 有意한 結果를 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 재료

#### 1) 봉독(Bee Venom: 이하 BV)

봉독은 유밀봉독(주)에서 구입하였다. 봉독의 구성물은 다음과 같았다: 45-50% melittin, 2.5-3% apamin, 2-3% MCD peptide, 12% PLA2, 1% lyso-PLA, 1-1.5% histidine, 4-5% 6pp lipids, 0.5% secarpin, 0.1% tertiapin, 0.1% procamine, 1.5-2% hyaluronidase, 2-3% amine, 4-5% carbohydrate, and 19-27% other, including protease inhibitor, glucosidase, invertase, acidphosphomonoesterase, dopamine, norepinephrine, and unknown amino acids, with >99.5% purity.

#### 2) Scopolamine

Scopolamine(Sigma, St. Lous, MO. USA)는 용해되어 각 나누어진 성분들은 사용하기 전까지 20℃에서 보관되었다.

### 3) 실험용 동물

수컷 생쥐인 IcrTacSam : ICR(Samtako, Gyeonggi-do, Korea)는 한국 식품의약품 안전처 국립 독극물 연구소의 실험용 동물 관리 및 사용 규정에 의거해서 관리되었다. 모든 생쥐들은 자동으로 상온 21~25°C이 유지되는 방안에 보관되었으며 상대습도는 45~65%에 유지되었으며, 밤낮 주기를 통제하였다.

## 2. 방법

### 1) 모델용 생쥐에 대한 기억 장애

Scopolamine(최종 농도 1mg/Kg)은 염수에 용해 및 희석시켰으며, 잠시동안 각 쥐들에게 마취 없이 복강내 (i.p.)에 주입되었다.

### 2) 실험 설계

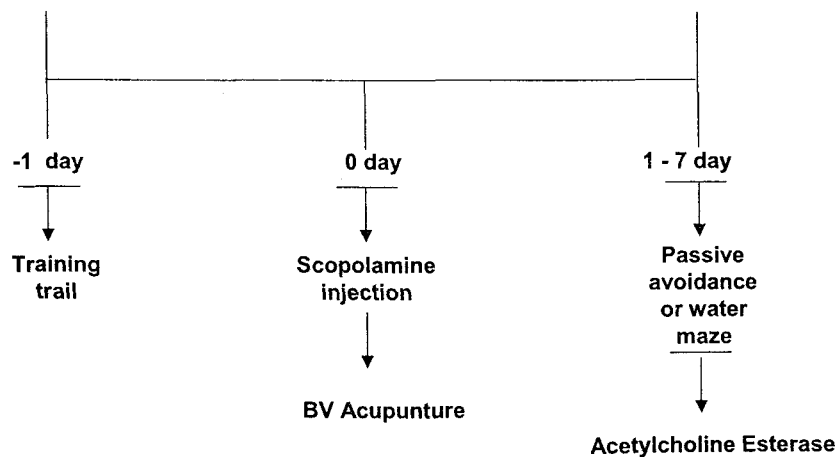
Scopolamine(1mg/Kg)은 복강내(i.p.)에 주입했으며, 주입 후 1일, 3일 및 7일이 경과한 후에 행동 테스트를 했다. 봉약침 처치군은 두 군으로 나누어 0.84 및 1.67 $\mu$ g/kg의 봉약침액을 정맥내(i.v.)와 뇌실내(i.c.v.)로 나누어 주입하였다. 학습 및 기억 능력은 두가지의 검사를 통해 이루어졌다(Passive Avoidance Perform-ance and Water Maze Tests).

Scheme 1에 실험 스케줄이 나와 있다.

### 3) 행동 실험

#### (1) 수동 회피 실험(Passive Avoidance Performance Test)

수동 회피 실험은 기억력 검사를 하는데 있어서 간단하면서도 빠른 방법으로 널리 알려져 있다. 수동 회피 반응은 'step through' 장비를 이용해서 판단했는데, 이 장비는 빛이 있고 없는 구획(each 4 x 13 x 10cm)으로 이루어져 있었으며 각 구획은 바닥판 바닥으로 되어 있으며, 작은 철문을 통해 서로 연결되어 있다. 훈련 시험에서 ICR 생쥐들은 불빛이 없는 구획을 등진채로 불빛 있는 구획에 놓여졌다. 생쥐들이 완전히 불빛이 없는 구획으로 움직였을때, 감전(0.4 mA, 2초동안)을 받게 되었다. 그 후에 생쥐들은 원래 보관 용기로 옮겨졌다. 24시간 후에 각 생쥐들에게 scopolamine(1mg/Kg i.p.)을 주입했다. scopolamine(1mg/Kg i.p.) 주입 후 1일 경과했을때 생쥐들은 빛이 있는 구획에 다시 놓여졌으며 어두운 구획에 들어갈려는 잠재기를 측정하였다. 생쥐들이 어두운 구획으로 들어갔을때 걸린 시간을 측정했으며 이를 이동 잠재기라고 불렀다(Transfer Latency: 이하 TL). 기억력 검사는 600초 이내로 지정하고 실행되었다.



Scheme 1. Time course of the Treatment, Training and Tests

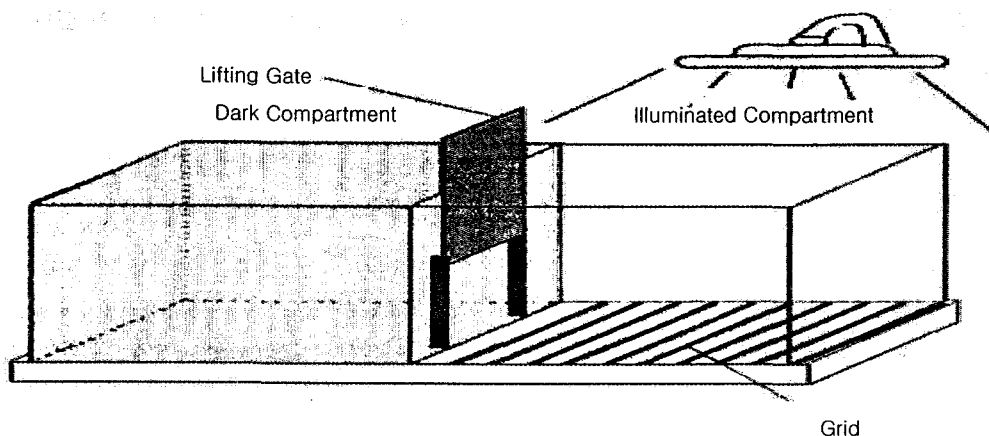


Fig. 1. Passive avoidance performance test (Step through). Passive avoidance memory formation test for mice that had entered the Dark compartment prior to Electric shock training on not entering the Dark compartment

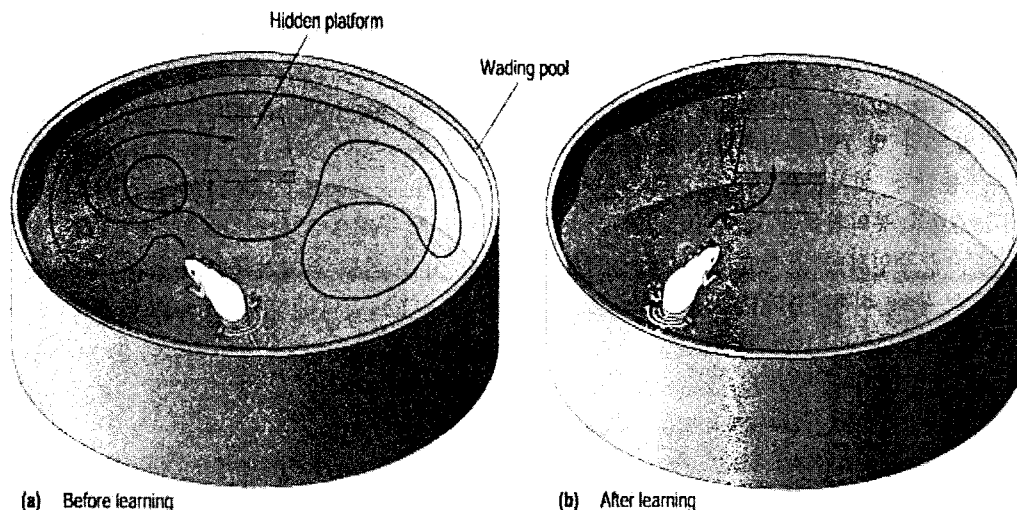


Fig. 2. Morris water maze (by Richard Morris). The Measurement of Escape Latency, Escape Distance, and Velocity to platform after Training

(2) 수중 미로 실험(Morris Water Maze Test)

수중 미로 실험 또한 기억력 검사에 관하여 널리 사용되는 방법이며 SMART - CS(Panlab, Barcelona, Spain) 프로그램과 장비를 이용해서 시행되었다. 원형의 플라스틱 풀(높이: 35cm, 직경: 100cm)에 22~25℃로 유지된 유백색 물을 채웠다. 탈출 platform(높이: 14.5cm, 직경: 4.5cm)이 물의 표면 밑 0.5~1cm 밑에 설치되었다. 훈련 시험에서 생쥐들은 물속에 넣은 후에 platform 위에 10초 동안 놔둔 후, 두 번의 훈련을 거친 뒤 원래 보관 용기로 옮겨졌다. 120초 안에 platform을 찾지 못한 생쥐들은 훈련이 끝나기 10초 전에 platform 위로 옮겨졌다. 24시간

후에 각 생쥐들에게 scopolamine(1mg/Kg i.p.)를 주입했다. scopolamine(1mg/Kg i.p.) 주입후 하루가 경과했을때 생쥐들을 풀에 넣어서 생쥐들이 탈출 platform을 찾도록 헤엄치게 놓아두었다. 탈출 잠복기, 탈출 거리, 수영 속도, 수영 형식 등을 풀 위에 있는 SMART-LD program(Panlab, Barcelona, Spain)으로 연결된 카메라로 모니터하였다.

4) 통계 처리

모든 측정값은 평균값±표준오차의 형식으로 표시하였다. 각 실험군의 통계학적 분석은 one-way AVOVA로 하였으며, 사후 검정은 Tukey's test를

통해 검증하였고, P값이 0.05미만인 경우를 유의성 있는 것으로 정하였다.

### III. 成 績

#### 1. 봉약침액이 수동 회피 실험에서 Scopolamine으로 유발된 기억장애에 미치는 효과

##### 1) 기억장애 유발 1일 후(i.v.)

수동 회피 실험을 이용하여 기억장애의 개선 여부를 조사하였다. 실험용 생쥐들은 기억장애를 유발하기 전 1일에 3회 Training을 시킨 후 다음 날 scopolamine 1mg/Kg을 복강내(i.p.)에 주입하여 기억장애를 유발시켰다. 봉약침액 처리군은 정맥내(i.v.)에 0.84 및 1.67 $\mu$ g/kg의 봉약침액을 주입하였다.

각 군의 TL(Transfer Latency) 평가는 기억장애 유발 1일, 3일 및 7일 후에 시행하였다.

1일후의 평가에서 대조군의 TL은 291 $\pm$ 113.95s를 나타내었다. scopolamine으로 기억장애가 유발된 지 1일 경과 후 기억장애 유발군에서 TL은 119 $\pm$ 30.79s로 대조군에 비하여 감소되었고, 0.84 및 1.67 $\mu$ g/kg 봉약침액 처리군에서 TL은 각각 328 $\pm$ 96.21, 335 $\pm$ 115.66s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 ( $p < 0.05$ ) 증가를 나타내었다(Fig. 3).

##### 2) 기억장애 유발 3일 후(i.v.)

3일 후의 평가에서 대조군의 TL은 429 $\pm$ 98.69 s를 나타내었다. scopolamine으로 기억장애가 유발된 지 3일 경과 후 기억장애 유발군에서 TL은 220 $\pm$ 102.03s로 대조군에 비하여 감소되었고, 0.84 $\mu$ g/kg 봉약침액 처리군에서 TL은 360 $\pm$ 96.21s로 기억장애 유발군에 비하여 증가하였고, 1.67 $\mu$ g/kg 봉약침액 처리군에서는 335 $\pm$ 115.66s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 ( $p < 0.05$ ) 증가를 나타내었다(Fig. 3).

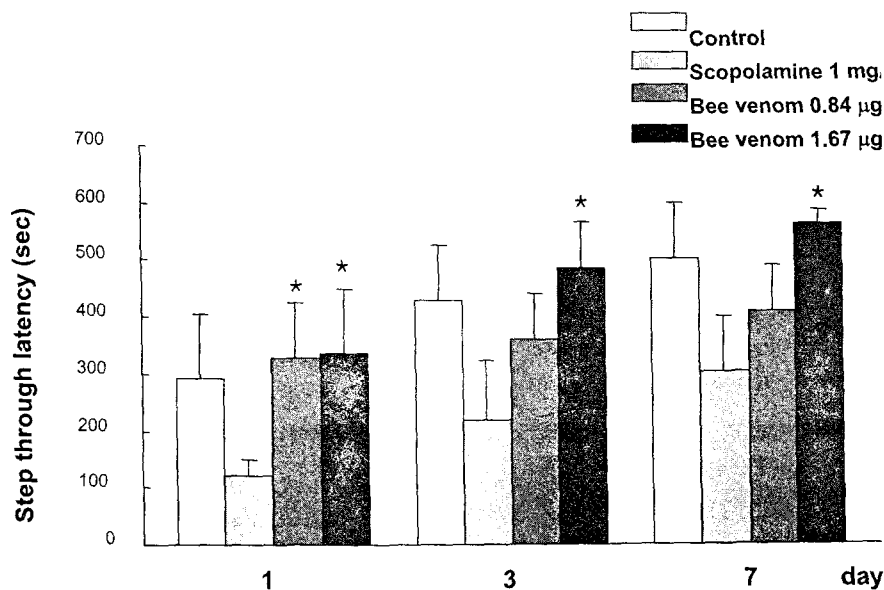


Fig. 3. The inhibitory effect of BV (i.v.) on Scopolamine-induced Memorial Impairment in the Step-through Type Passive Avoidance Performance Test. The Mice were performed on the Step-through Transfer Latency to the Dark Compartment at 1, 3, 7 day after Training Trial as mentioned in Materials and Methods. Scopolamine (1 mg/Kg i.p.) was treated 24 hr before Test as a Non treated group. Each Values are means $\pm$ S.E. from Three separated Experiments (n=30). \* Significantly different from Scopolamine treated group ( $p < 0.05$ )

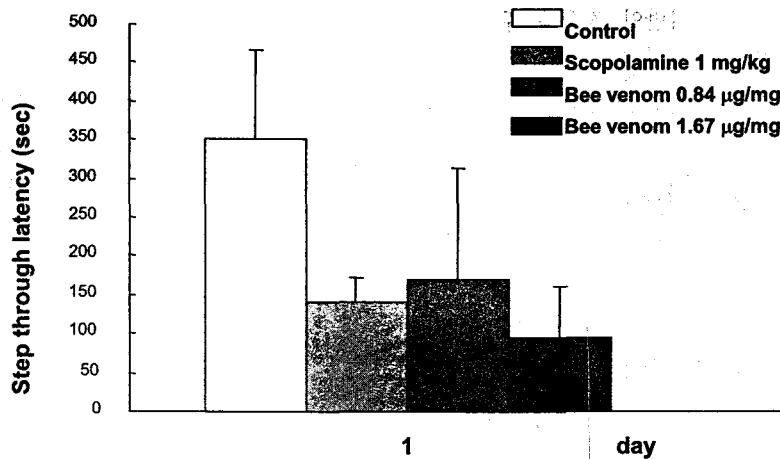


Fig. 4. The inhibitory effect of BV (i.c.v.) on Scopolamine-induced Memorial Impairment in the Step-through Type Passive Avoidance Performance Test. The Mice were performed on the Step-through Transfer Latency to the Dark Compartment at 1 day after Training Trial as mentioned in Materials and Methods. Scopolamine (1 mg/Kg i.p.) was treated 24 hr before Test as a Non treated group. Each Values are means±S.E. from Three separated Experiments (n=30)

### 3) 기억장애 유발 7일 후(i.v.)

7일 후의 평가에서 대조군의 TL은 500±100.20s를 나타내었다. scopolamine으로 기억장애가 유발된 지 7일 경과 후 기억장애 유발군에서 TL은 304±95.46s로 대조군에 비하여 감소되었고, 0.84µg/kg 봉약침액 처리군에서 TL은 407±82.67s로 기억장애 유발군에 비하여 증가하였고, 1.67µg/kg 봉약침액 처리군에서는 561±24.03s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 (p<0.05) 증가를 나타내었다(Fig. 3).

### 4) 기억장애 유발 1일 후(i.c.v.)

수동 회피 실험을 이용하여 기억장애의 개선 여부를 조사하였다. 실험용 생쥐들은 기억장애를 유발하기 전 1일에 3회 Training을 시킨 후 다음 날 scopolamine 1mg/Kg을 복강내(i.p.)에 주입하여 기억장애를 유발시켰다. 봉약침액 처리군은 뇌실내(i.c.v.)에 0.84 및 1.67µg/kg의 봉약침액을 주입하였다. 각 군의 TL(transfer latency) 평가는 기억장애 유발 1일 후에 시행하였다.

1일 후의 평가에서 대조군의 TL은 351±113.95s를 나타내었다. scopolamine으로 기억장애가 유발된 지 1일 경과 후 기억장애 유발군에서 TL은 141±30.79s로 감소되었고, 0.84 및 1.67µg/kg 봉약침액 처리군에서 TL은 각각 169±144.03, 96±65.54s를 나타내었다(Fig. 4).

## 2. 봉약침액이 Morris 수중 미로 실험에서 Scopolamine으로 유발된 기억장애에 미치는 효과

### 1) 기억장애 유발 1일 후(i.v.)

Morris 수중 미로 실험을 이용해서 봉약침액이 기억장애를 개선하는지 여부를 조사하였다. 실험용 생쥐들은 기억장애를 유발하기 전 1일에 3회 Training을 시킨 후 다음 날 scopolamine 1mg/Kg을 복강내(i.p.)에 주입하여 기억장애를 유발시켰다. 봉약침액 처리군은 정맥내(i.v.)에 0.84 및 1.67µg/kg의 봉약침액을 주입하였다. 각 군의 기억장애 개선 평가는 기억장애 유발 1일, 3일 및 7일 후에 시행하였다.

기억장애 유발 1일 후 대조군의 탈출거리(ED), 탈출시간(EL) 및 속도(V)는 각각 474.6±97.7cm, 26.5±4.9s 및 17.5±1.2cm/s를 나타내었고, 기억장애 유발군의 탈출거리, 탈출시간, 속도는 1800.4±295.5cm, 106.5±26.9s 및 18.4±2.1cm/s로 대조군에 비하여 증가되었다. 0.84 및 1.67µg/kg 봉약침액 처리군의 탈출거리, 탈출시간은 540.7±205.9cm, 34.4±12.9s와 398.2±236.1cm, 29.9±13.7s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 (p<0.05) 감소를 나타내었다. 0.84 및 1.67µg/kg 봉약침액 처리군의 탈출속도는 15.6±0.0cm/s와 12.4±1.7cm/s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 변동이 나타나지 않았다(Fig. 5).

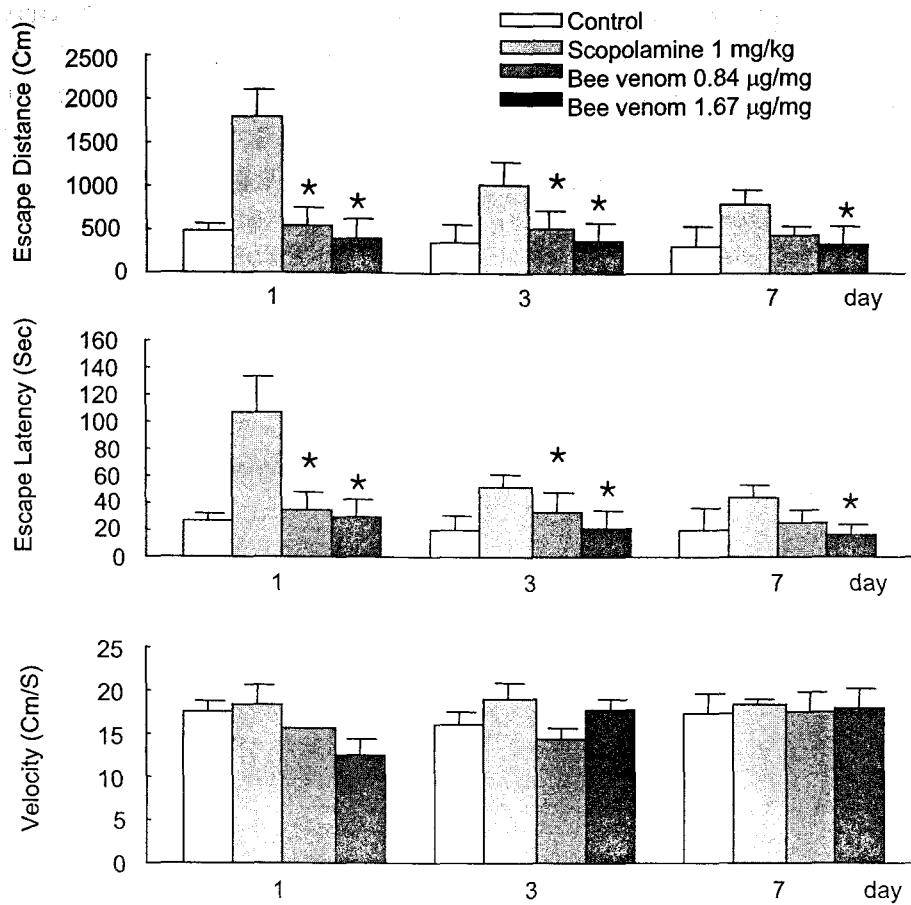


Fig. 5. The inhibitory effect of BV (i.v.) on Scopolamine-induced Memorial Impairment in the Water Maze Test. The Mice were given the Swimming Test Task Training Trial. Escape Distances (Cm, A), Escape Latency (Sec, B) and Velocity (Cm/S, C) of Test in Locating the Invisible Platform was performed at 1, 3, 7 day after Training. Scopolamine (1 mg/Kg, i.p.) was treated 24 hr before Test as a Non treated group. Each Values are means±S.E. from Three separated Experiments (n=30). \* Significantly different from Scopolamine treated group (p<0.05)

### 2) 기억장애 유발 3일 후 (i.v.)

대조군의 탈출거리 (ED), 탈출시간 (EL) 및 속도 (V)는 각각 346±209.0cm, 19.8±10.6s 및 16.1±1.3 cm/s를 나타내었고, 기억장애 유발군의 탈출거리, 탈출 시간, 속도는 1030.1±252.0cm / 51.5±9.8s 및 18.9±1.9 cm/s로 대조군에 비하여 증가되었다. 0.84 및 1.67 µg/kg 봉약침액 처리군의 탈출거리, 탈출시간은 512.5±216.1cm, 33.9±13.4s와 366.9±207.0cm, 21.4±12.6s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 (p<0.05) 감소를 나타내었다. 0.84 및 1.67µg/kg 봉약침액 처리군의 탈출속도는 14.3±1.1cm/s 와 17.6±1.3cm/s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 변동이 나타나지 않았다 (Fig. 5).

### 3) 기억장애 유발 7일 후 (i.v.)

대조군의 탈출거리(ED), 탈출시간(EL) 및 속도 (V)는 각각 316±22.9cm, 20.5±15.7s 및 17.1±2.2cm/s를 나타내었고, 기억장애 유발군의 탈출거리, 탈출시간, 속도는 794.9±166.4cm, 43.4±9.5s 및 18.4±0.5cm/s로 대조군에 비하여 증가되었다. 0.84µg/kg 봉약침액 처리군의 탈출거리, 탈출시간은 428.7±107.3cm, 25.8±8.2s로 감소하였고, 1.67µg/kg 봉약침액 처리군의 탈출거리, 탈출시간은 338.5±202.1cm/16.5±70.8s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 (p<0.05) 감소를 나타내었다. 0.84 및 1.67µg/kg 봉약침액 처리군의 탈출속도는 17.4±2.2cm/s와 17.9±2.3cm/s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 변동이 나타나지 않았다 (Fig. 5).

#### 4) 기억장애 유발 1일 후(i.c.v.)

실험용 생쥐들은 기억장애를 유발하기 전 1일에 3회 Training을 시킨 후 다음 날 scopolamine 1mg/Kg을 복강내(i.p.)에 주입하여 기억장애를 유발시켰다. 봉약침액 처리군은 대뇌심실내(i.c.v.)에 0.84 및 1.67 $\mu$ g/kg의 봉약침액을 주입하였다. 각 군의 기억장애 개선 평가는 기억장애 유발 1일후에 시행하였다.

기억장애 유발 1일 후 대조군의 탈출거리(ED), 탈출시간(EL) 및 속도(V)는 각각 474.64 $\pm$ 97.72cm,

26.56 $\pm$ 4.9s 및 17.58 $\pm$ 1.23cm/s를 나타내었고, 기억장애 유발군의 탈출거리, 탈출시간, 속도는 1800.46 $\pm$ 295.54cm, 106.55 $\pm$ 26.99s 및 18.39 $\pm$ 2.14cm/s로 대조군에 비하여 증가되었다. 0.84 및 1.67 $\mu$ g/kg 봉약침액 처리군의 탈출거리, 탈출시간은 697.35 $\pm$ 168.38cm, 40.05 $\pm$ 9.24s와 547.24 $\pm$ 218.76cm, 36.75 $\pm$ 9.64s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 ( $p < 0.05$ ) 감소를 나타내었다. 0.84 및 1.67 $\mu$ g/kg 봉약침액 처리군의 탈출속도는 17.19 $\pm$ 0.65cm/s와 13.59 $\pm$ 1.88cm/s로 기억장애 유발군에 비하여 유의한 변동이 나타나지 않았다 (Fig. 6).

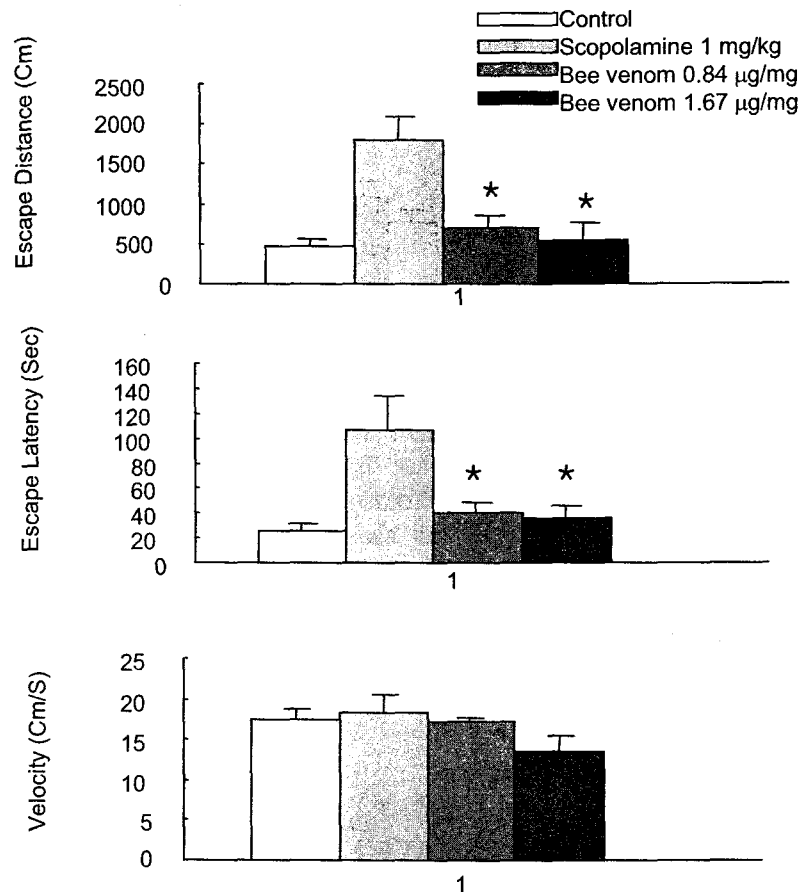


Fig. 6. The inhibitory effect of BV (i.c.v.) on Scopolamine-induced Memorial Impairment in the Water Maze Test. The Mice were given the Swimming Test Task Training Trial. Escape Distances (Cm, A), Escape Latency (Sec, B) and Velocity (Cm/S, C) of Test in Locating the Invisible Platform was performed at 1 day after Training. Scopolamine (1 mg/Kg, i.p.) was treated 24 hr before Test as a Non treated group. Each Values are means $\pm$ S.E. from Three separated Experiments (n=30). \* Significantly different from Scopolamine treated group ( $p < 0.05$ )



## IV. 考 察

最近, 現代 醫學의 눈부신 發展은 人間의 壽命을 延長시키는 데는 커다란 貢獻을 하였으나 이에 따른 高齡人口의 增加로 老人性 腦神經系 疾患 患者의 數도 增加되어 醫學的인 側面 뿐 아니라 社會的인 側面에서도 深刻한 問題가 되고 있다<sup>36)</sup>. 그 중에서도 老化로 인한 疾患 중에 특히 痴呆는 深刻한 社會問題로 擡頭되고 있다<sup>4)</sup>.

痴呆는 여러 가지 原因疾患에 의해 惹起되는 知能低下를 특징으로 하는 症候群으로<sup>1)</sup> 記憶力, 思考力, 指南力, 理解力, 計算能力, 學習能力, 言語 및 判斷力 등을 포함하는 高度의 大腦機能 障礙를 나타내며<sup>1,2)</sup>, 높은 有病率과 死亡率의 問題 뿐 아니라 日常生活의 營爲에서도 深刻한 障礙를 招來한다<sup>37)</sup>.

痴呆 중에 많은 比率을 차지하는 Alzheimer's disease(AD)는<sup>1,3)</sup> 腦의 全般的 萎縮과 特有의 組織學的 所見을 나타내며<sup>1,2,4)</sup>, 神經 傳達 物質을 통한 神經細胞間의 情報交換過程이 破壞됨에 따라 神經細胞의 機能이 停止되고 神經細胞間의 連結이 끊어짐으로써 結果적으로 神經細胞가 죽게 된다. 中樞神經은 물론 前腦(Forebrain), 小腦 扁桃(Amygdala), 海馬(Hippocampus), 大腦皮質(Cortex) 같은 皮質과 邊緣係(Limbic system)의 神經을 破壞하는데 이런 부분들은 腦에서 學習, 記憶, 思考, 行動, 感情調節 等과 關聯된 部位이다<sup>38)</sup>.

이 중에서 腦의 學習, 記憶, 思考, 行動, 感情調節 等과 關聯된 中樞神經, 특히 cortex와 hippocampus의 神經破壞가 記憶力障礙와 思考能力 低下로 이어지게 된다. 즉 hippocampus는 腦의 깊은 부분에 存在하며 記憶을 調節하는 部位로서 이곳이 破壞되면 短期記憶力(short-term memory)이 減少하고 親熟한 일을 수행하는 能力이 떨어진다. Cortex는 思考 能力을 調節하는 部位로서 이곳의 破壞에 의해 言語能力과 思考能力이 減少하게 된다<sup>39,40)</sup>.

따라서 AD는 非可逆的인 行動과 人性的 變化, 思考能力의 低下로 나타나게 되며 이러한 病의 精確한 原因과 治療法이 밝혀지지 않았다.

AD는 腦에서 大腦皮質의 萎縮, 副交感神經과 다른 神經細胞의 退化, 神經 原纖維 濃縮體(Neurofibrillary tangles, NFTs)의 存在, 初老性 癥點(Neuritic plaques)의 蓄積과 같은 4가지 構造的 變化가 나타나며

NFTs와 Neuritic plaques는 이 病의 指標로 認識되고 있다<sup>38)</sup>.

初老性 癥點(Neuritic plaques)은 아밀로이드 癥(amyloid plaque) 또는 老人癥(senile plaque)라고도 하며 腦와 腦血管系의 細胞의 部位에 存在한다. 初老性 癥點은 파괴된 軸索突起와 樹狀突起들이 얽힌 덩어리가 A<sub>β</sub>을 둘러싼 모양을 하고 있으며 이 plaque는 다시 神經교세포(glial cell)와 얽히게 된다. 神經교세포는 炎症 媒介 物質 分泌作用과 蝕細胞作用을 하기 때문에 이것은 AD의 炎症性 機轉을 說明하는데 重要하다<sup>38)</sup>. 이렇게 NFTs와 初老性 癥點은 神經 傳達를 妨害하게 되고 副交感神經과 腦의 다른 神經傳達經路를 破壞한다. 이에 따라 Acetylcholine, Serotonin, Noradrenaline, Dopamine, Glutamate, Substance P 등의 많은 神經 傳達 物質이 크게 減少하게 되고 이 중 Acetylcholine의 枯渴은 가장 重要한 現狀이며 이것을 回復시키는 것이 주 治療目標의 하나가 된다. 그러므로 아직까지는 Acetylcholine Esterase(AChE)의 阻害劑를 찾아 Acetylcholine의 分解를 抑制시킴으로써 痴呆를 改善시키려는 方法이 가장 많이 이루어지고 있다.

AD 患者의 腦에서 Acetylcholine을 合成하는 酵素인 choline acetyltransferase가 正常人에 비하여 40-70%나 減少되었으며, 또한 acetylcholine을 choline과 acetate로 加水分解시키는 酵素인 AChE의 活性이 AD 患者에게서 增加되었다는 報告가 있다. Acetylcholine Esterase는 콜린성 神經의 절후 시냅스 神經 細胞에 存在하는 酵素로 수용체와 결합하고 난 Acetylcholine을 效果적으로 加水分解시켜 수용체의 正常的인 機能을 維持시키고, Acetylcholine의 生合成에 필수 成分인 choline을 供給함으로써 콜린성 神經系의 圓滑한 作用에 없어서는 안 될 重要한 酵素이다.

韓醫學的으로 痴呆는 痴呆, 呆病, 健忘 등의 範疇에 속하는데, 痴呆의 原因은 痰飲, 痰火, 瘀血, 七情傷, 心腎不交, 肝腎不足 등이며 특히 現代 中醫學에서는 痰飲과 瘀血을 痴呆의 重要한 原因으로 다루고 있으며 이에 대한 研究가 進行되고 있다.

蜂藥鍼療法은 藥鍼療法 중의 하나로 양봉 꿀벌(Apis mellifera ligustica)의 毒囊에 있는 毒을 抽出 加功하여 疾病治療에 關聯된 部位나 穴位에 注入하는, 鍼治療와 蜂毒이 人體에 미치는 生化學的 藥理作用을 동시에 이용하는 新鍼療法이다. 이는 2천여 年 前부터 臨床에서 各種 疾患에 應用되어 온 것으

로, 人體의 陰陽氣血을 調節하여 病理狀態를 改善시켜 疾病을 治療하고 防禦하는 藥鍼療法の 하나이다.

蜂毒의 性味는 苦, 辛, 平, 有毒하고 祛風除濕, 止疼痛, 解痙平喘, 消腫降壓하는 效能이 있어 鎮痛, 消炎, 解熱, 鎮痙, 抗癌, 免疫增強, 循環促進, 抗菌作用을 가진다.

蜂毒에 대한 論文은 1858년 프랑스의 Desjardin이 최초로 류머티스성 疾患에 應用한 結果를 發表한 것을 始作으로 하여, 1968년 Habermann E.는 蜂毒의 生化學的 成分에 대해 報告하였으며 以後로 蜂毒의 成分에 따른 作用과 機轉, 蜂毒의 過敏性과 毒性, 免疫療法, 關節炎, 單純疱疹, 多發性 硬化症, 腫瘍 等の 疾病 治療에 대한 研究가 報告되었다.

蜂藥鍼液의 成分은 enzymes, polypeptides, non peptide components 등으로 構成되어 있다. 이 중 enzymes의 주요 성분은 phospholipase A<sub>2</sub>(PLA<sub>2</sub>)와 hyaluronidase 등이 있고, polypeptides는 乾燥 蜂毒의 약 50%를 構成하고 있으며 melittin, apamin, MCD peptide 등이 있다. Apamin과 MCD peptide는 免疫機能을 增加시키고 鎮痛, 消炎 效果를 나타내며, 白血球의 食作用을 抑制하고, 血漿의 纖維化를 沮害하는 效能이 있으며, Non peptide components는 histamine, dopamine, noradrenaline 등으로 構成되어 있다.

그 중 蜂藥鍼液의 主成分인 melittin은 분자량이 2,840이고 26개의 아미노산으로 構成된 polypeptide로 溶血作用과 酵素作用이 있다. 關節에 대한 melittin의 作用을 보면 PLA<sub>2</sub>에 의해 phospholipid에서 만들어지는 炎症 媒介體의 前구물질인 arachidonic acid의 生成을 막는 作用과 중성구에서 由來되며 炎症의 前구물질인 arachidonic acid와 相互作用하여 炎症을 持續시키는 O<sub>2</sub> 生産을 遮斷함으로써 炎症을 抑制시키는 作用이 있다.

본 研究에서는 蜂藥鍼의 抗炎效果를 바탕으로, 炎症性 疾患인 알츠하이머에 대한 蜂毒의 效果를 研究하고자 하였다. 以前의 報告에서 scopolamine의 i.p. 주입은 AD와 비슷한 行動의 結果를 가져 온다고 하였다<sup>40)</sup>. 따라서, scopolamine으로 誘發된 記憶障礙를 스크리닝 하는데 適用될 수가 있다. scopolamine으로 誘發된 記憶障礙에 대한 蜂藥鍼의 效果는 수동 회피 실험(Passive Avoidance Performance)과 Morris 수중 미로 실험(Water Maze Test)을 통하여 觀察하였다.

먼저, 수동 회피 실험에서는 scopolamine으로 記

憶障礙 誘發 1일 경과 후, 蜂毒(0.84, 1.67 $\mu$ g/kg i.v.)를 주입한 군에서는 記憶障礙 誘發群에 比하여 有意한 TL 수치 증가를 보였으며, 3일 경과 후 蜂毒(1.67 $\mu$ g/kg i.v.)를 주입한 군에서는 記憶障礙 誘發群에 比하여 有意한 TL 수치 증가를 보였고, 7일 경과 후 蜂毒(1.67 $\mu$ g/kg i.v.)를 주입한 군에서는 認知機能 障礙 誘發群에 比하여 有意한 TL 수치 증가를 보였다.

수중 미로 실험에서는 scopolamine으로 記憶障礙 誘發 1일 경과 후 蜂毒(0.84, 1.67 $\mu$ g/kg i.v.)를 주입한 군에서는 탈출거리와 탈출시간이 記憶障礙 誘發群에 比하여 有意한 減少를 보였으며, 3일 경과 후 蜂毒(0.84, 1.67 $\mu$ g/kg i.v.)를 주입한 군에서는 탈출거리와 탈출시간이 記憶障礙 誘發群에 比하여 有意한 減少를 보였고, 7일 경과 후 蜂毒(1.67 $\mu$ g/kg i.v.)를 주입한 군에서는 탈출거리와 탈출시간이 記憶障礙 誘發群에 比하여 有意한 減少를 보였다. 그리고, 0.84, 1.67 $\mu$ g/kg i.c.v.로 蜂毒을 주입한 群에서도 記憶障礙 誘發 1일 경과 후 탈출거리와 탈출시간이 記憶障礙 誘發群에 比하여 有意한 減少를 보였다.

이상의 結果로 보아 蜂藥鍼液이 scopolamine으로 인해 생긴 認知機能 障礙에 대하여 回復 效果가 있음을 알 수 있다. 이는 蜂藥鍼療法이 알츠하이머 병의 豫防 및 治療에 있어서 有用한 方法이 될 수 있다는 事實을 나타내고 있다. 向後에 기전연구를 포함한 보다 많은 研究가 持續的으로 이루어져야 할 것으로 思料된다.

## V. 結 論

Scopolamine으로 유발된 認知機能 障礙와 acetylcholine esterase의 活性에 대한 蜂毒의 抑制效果에 대한 實驗에서 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 수동 회피 실험에서 기억장애 유발 1일 경과 후 0.84, 1.67 $\mu$ g/kg i.v. 봉약침액 처리군이, 3일, 7일 경과 후 1.67 $\mu$ g/Kg 봉약침액 처리군이 각각 대조군에 比하여 transfer latency의 有意한 증가를 나타내었다.
2. 수중 미로 실험에서 기억장애 유발 1일, 3일 경과 후 0.84, 1.67 $\mu$ g/Kg i.v. 봉약침액 처리군

이, 7일 경과 후 1.67 $\mu$ g/Kg i.v. 봉약침액 처리군이 각각 대조군에 비하여 탈출거리와 탈출시간의 유의한 감소를 나타내었으며, 기억장애 유발 1일 경과 후 0.84, 1.67 $\mu$ g/kg i.c.v. 봉약침액 처리군이 각각 대조군에 비하여 탈출거리와 탈출시간의 유의한 감소를 나타내었다.

以上の 結果로 보아 蜂藥鍼液이 scopolamine으로誘發한 認知 機能 障礙에 대하여 回復 效果가 있음을 알 수 있다. 이들 結果는 蜂藥鍼液이 알츠하이머병의 豫防 및 治療에 있어서 有用한 方法이 될 수 있다는 事實을 나타내고 있다. 向後에 보다 많은 研究가 持續的으로 나오길 기대해 본다.

## VI. 參考文獻

1. 金知赫, 黃義完. 東醫精神醫學, 서울, 現代醫學書籍社. 1992 ; 256-271, 327-330.
2. 郭隆燦. 圖解腦神經外科學, 서울, 第一醫學社. 1992 ; 27-31.
3. 李定均. 精神醫學, 서울, 一潮閣. 1995 ; 87-88, 465-467, 514-518, 600.
4. 이근후 외. 최신임상정신의학, 서울, 하나의학사. 1988 ; 138, 216-228.
5. Hardy, J.A. and Higgins, G.A. : Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. Science 10, 184-185 (1992).
6. Checler, F. : Processing of the beta-amyloid precursor protein and its regulation in Alzheimer's disease. J. Neurochem. 65, 1431-1444 (1995).
7. Harada, J. : Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. Trends Neurosci. 4, 154-159 (1997).
8. Hwang, D.Y., Chae, K.R., Kang, T.S., Hwang, J.H., Lim, C.H., Kang, H.K., Goo, J.S., Lee, M.R., Lim, H.J., Min, S.H., Cho, J.Y., Hong, J.T., Song, C.W., Paik, S.G., Cho, J.S. and Kim, Y.K. : Alterations in behavior, amyloid beta-42, caspase-3, and Cox-2 in mutant PS2 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. FASEB J. 16, 805-813 (2002).
9. Hof, P.R., Morrison, J.H., 2004. The aging brain : morphomolecular senescence of cortical circuits. Trends Neurosci. 27, 607-613.
10. 徐舜圭. 成人病·老人病學, 서울, 고려의학. 1992 ; 225-228, 230-232.
11. 이광우, 정희원. 임상신경학, 서울, 고려의학. 1997 ; 199-210.
12. Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR, Alzheimer's disease and senile dementia, loss of neurons in the basal forebrain, Science. 1982; 215(4537) : 1237-1239.
13. Lemere CA, Lopera F, Kosik KS, Lendon CL, Ossa J, Saito TC, Yamaguchi H, Ruiz A, Martinez A, Madrigal L, Hincapie L, Arango JC, Anthony DC, Koo EH, Goate AM, Selkoe DJ. The E280A presenilin 1 Alzheimer mutation produces increased A<sub>42</sub> deposition and severe cerebellar pathology, Nat Med, 1996 ; 2(10) : 1146-1150.
14. McGeer EG, McGeer PL. The importance of inflammatory mechanisms in Alzheimer disease, Exp Gerontol, 1998 ; 33(5) : 371-378.
15. Zhu, X., Raina, A.K., Lee, H.G., Casadesus, G., Smith, M.A. and Perry, G., : Oxidative stress signalling in Alzheimer's disease. Brain Res. 1000, 32-39 (2004).
16. Harris, M.E., Hensley, K., Butterfield, D.A., Leedle, R.A. and Carney, J.M. : Direct evidence of oxidative injury produced by the Alzheimer's beta-amyloid peptide (1-40) in cultured hippocampal neurons. Exp. Neurol. 131, 193-202 (1995).
17. Wang, J.Y., Shum, A.Y., Ho, Y.J. and Wang, J.Y. : Oxidative neurotoxicity in rat cerebral cortex neurons: synergistic effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NO on apoptosis involving activation of p38 mitogen-activated protein kinase and caspase-3. J. Neurosci. Res. 72, 508-519 (2003).
18. Hock, C., Konietzko, U., Streffer, J.R., Tracy, J., Signorell, A., Muller-Tillmanns, B., Lemke, U., Henke, K., Moritz, E.,

- (Garcia, E., Wollmer, M.A., Umbricht, D., de Quervain, D.J., Hofmann, M., Maddalena, A., Papassotiropoulos, A. and Nitsch, R.M. : Antibodies against beta-amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron* 22, 547-554 (2003).
19. De Pietri Tonelli, D., Mihailovich, M., Di Cesare, A., Codazzi, F., Grohovaz, F. and Zacchetti D. : Translational regulation of BACE-1 expression in neuronal and non-neuronal cells. *Nucleic Acids Res.* 32, 1808-1817 (2004).
  20. Zhao, J., Paganini, L., Mucke, L., Gordon, M., Refolo, L., Carman, M., Sinha, S., Oltersdorf, T., Lieberburg, I. and McConlogue, L. : Beta-secretase processing of the beta-amyloid precursor protein in transgenic mice is efficient in neurons but inefficient in astrocytes. *J. Biol. Chem.* 271, 31407-31411 (1996).
  21. Andrea EM, Lynn Crismon, Larry E. Alzheimer's Disease In Pharmacotherapy : a pathophysiologic approach. Dipro Jt et al. ED. New York, Elsevier Science Publishing Co.,Inc. 1996; 1325-1344.
  22. Kuhl DE, Koeppe RA, Minoshima S, Snyder SE, Ficarò EP, Foster NL, Frey KA, Kilbourn MR. In vivo mapping of cerebral acetylcholinesterase activity in aging and Alzheimer's disease, *Neurology.* 1999; 52(4): 691-699.
  23. Costagli C, Galli A. Inhibition of cholinesterase-associated aryl acylamidase activity by anticholinesterase agents, focus on drugs potentially effective in Alzheimer's disease, *Biochem Pharmacol.* 1998; 55(10): 1733-1737
  24. Almeida OP. Treatment of Alzheimer's disease, critical evaluation of the use of anticholinesterase, *Arq Neuropsiquiatr.* 1998 ; 56(3B) : 688-696.
  25. Kasa P, Papp H, Torok I. Donepezil dose-dependently inhibits acetylcholinesterase activity in various areas and in the presynaptic cholinergic and the postsynaptic cholinergic enzyme-positive structures in the human and rat brain, *Neuroscience.* 2000 ; 101(1) : 89-100.
  26. Sramek JJ, Frackiewicz EJ, Cutler NR. Review of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine, *Expert Opin Investig Drugs.* 2000 ; 9(10) : 2392-2402.
  27. 왕오호, 안규범, 임진강 외 1인. 퇴행성 膝關節炎의 蜂毒藥鍼 治療效果에 대한 臨床的 考察. *大韓鍼灸學會誌.* 2001 ; 18(3) : 35-47.
  28. 김지훈, 이재동. 膝關節炎에 대한 蜂毒藥鍼의 臨床的 考察. *大韓鍼灸學會誌.* 1999 ; 16(3) : 25-36.
  29. 황유진, 이견목, 황우준 외 5인. 蜂藥鍼을 이용한 류마티드 關節炎의 臨床的 研究. *大韓鍼灸學會誌.* 2001 ; 18(5) : 33-42.
  30. 배은정, 이현, 이병렬 외 7인. 蜂毒藥鍼 竝行 治療한 腰椎間板脫出症 患者의 臨床 考察. *대한침구학회지.* 2002 ; 19(1) : 54-64.
  31. 김기현, 이성노, 송호섭 외 6인. 蜂藥鍼 治療를 竝行한 胸·腰椎壓迫骨折 患者의 臨床的 考察. *대한침구학회지.* 2002 ; 19(6) : 35-48.
  32. 김기현, 안광현, 송호섭 외 5인. 足跟痛에 蜂藥鍼療法이 미치는 影響. *대한침구학회지.* 2002 ; 19(5) : 149-160.
  33. 황민섭, 윤종화, 김갑성 외 1인. 蜂藥鍼療法으로 치료한 두피 지루피부염에 대한 임상적 고찰. *대한침구학회지.* 2002 ; 19(6) : 24-34.
  34. Hye Ji Park, Seong Ho Lee, Dong Ju Son, Ki Wan Oh, Ki Hyun Kim, Ho Sueb Song, Goon Joung Kim, Goo Taeg Oh, Do Young Yoon, and Jin Tae Hong, 2004. Antiarthritic Effect of Bee Venom Inhibition of Inflammation Mediator Generation by Suppression of NF- $\kappa$ B Through Interaction With the p50 Subunit. *ARTHRITIS & RHEUMATISM.* Vol. 50, No. 11, pp 3504. 3515.
  35. Ellman GL, Courtneyk D, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.* 1961 ; 7 : 88-95.
  36. Lang W, Henke H. Cholinergic receptor binding and autoradiography in brains of non-neurological and senile dementia of Alzheimer-type patients, *Brain Res.* 1983 ; 267, 271-280.

37. 이가옥. 노인생활실태 분석 및 정책과제, 한국 보건사회연구원. 1994 ; 114-132.
38. Andrea EM, Lynn Crismon, Larry E. Alzheimer's Disease In Pharmacotherapy : a pathophysiologic approach. Dipiro Jt et al. ED. New York, Elsevier Science Publishing Co.,Inc. 1996; 1325-1344.
39. Pappolla, MA, Chyan, Y.J., Omar, R.A, Hsiao, K., Perry, G., Smith, M.A. and Bozner, P. : Evidence of oxidative stress and in vivo neurotoxicity of beta-amyloid in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: a chronic oxidative paradigm for testing antioxidant therapies in vivo. Am. J. Pathol. 1998 ; 152 : 871-877.
40. Jain, N.K., Patil, C.S., Kulkarni, S.K. and Singh, A. Modulatory role of cyclooxygenase inhibitors in aging and scopolamine or lipopolysaccharide -induced cognitive dysfunction in mice. Behav. Brain Res. 2002 ; 133 : 369-376.