

노화촉진마우스의 기억력 및 산화 스트레스에 미치는 영지 (*Ganoderma lucidum*) 추출물의 영향

유제권 · 최선주 · 강종구* · 한상섭†

한국화학연구소 안전성연구부 실험동물연구실 대전시 유성구 장동100, 유성우체국 사서함 107호

*충북대학교 수의과대학 실험동물의학 연구실

Effects of *Ganoderma lucidum* Extract on Memory and Oxidative Stress of Senescence-Accelerated Mouse

Je-Kwon Yoo, Sun-Ju Choi, Jong-Koo Kang* and Sang-Seop Han†

Laboratory of Experimental Animal Science, Korea Research Institute of Chemical Technology(KRICT),
P.O.BOX 107, Yusong, Taejeon 305-600, Korea

*Dept. of Laboratory Animal Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, 361-763, Korea

Abstract

Long-term effects of *Ganoderma lucidum* (GL) on memory and oxidative stress of senescence-accelerated mice (SAM) were investigated. Senescence-resistant (R1) and prone (P8) strains of SAM were fed GL diets, premixed with low (20 mg/kg/day, T1) or high (200 mg/kg/day, T2) levels of GL powder for 9 months starting from young (3 months of age) or for 5 months starting from old (7 months of age). After the final feeding at 12 months of age, all animals were subjected to passive avoidance test for the evaluation of memory function. In addition, the changes in hepatic thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) and glutathione were analyzed. SAMP8 fed GL diets from old age (7 months) exhibited the improvement of memory, although GL rather inhibited the memory function of both SAMR1 and SAMP8 mice fed diets from young (3 months of age). Hepatic TBARS contents were decreased in SAMP8 fed high GL diet for 9 months and in SAMR1 fed low GL diet for 5 months. Hepatic glutathione content was also remarkably increased in SAMR1 following both feeding periods, and less extent in SAMP8 fed diets for 5 months of age. Taken together, it is proposed that GL extracts may play an anti-aging role through antioxidant action, and thereby may improve the senescence-related memory dysfunction.

Key words – *Ganoderma lucidum*, Senescence (aging), Senescence-accelerated mice (SAMR1, SAMP8), Passive avoidance test, Oxidative stress

서 론

영지의 학명은 *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karsten으로 민주

름버섯목 (Aphyllophorales), 구멍장이버섯과 (Polyporaceae), 불로초속 (*Ganoderma*)에 속한다[14]. 영지는 강한 고미를 나타내는데, 이 고미성분인 triterpenoid류의 ganoderic acid

† Corresponding author

가 약효를 나타내는 것으로 알려졌다[13]. 이 성분은 배양 균사체에서는 생성되지 않지만, 자실체에서 갓의 위 부분에 집중되어 있는 것으로 알려졌다. 또한 영지에는 단백질, 당류, 각종 비타민류, 미네랄 및 ganodermic alkaloid[1,7]가 다량 함유되어 있어 항산화 및 원기회복 효능을 나타내는 것으로 알려져 있다. 영지의 대표적인 효능으로는 고지혈증 개선, 고혈압 치료, 간기능 개선, 당뇨병 치료, 지질과산화 억제, 간발암 억제 등을 들 수 있다. 이러한 효능은 영지를 불로초, 만년버섯, 지초 등으로 부르던 고대 동양의학자들의 믿음과 연관지어 볼 때 노화억제 기능과 관련된 것으로 여겨진다.

노화의 기전에 대한 가설로는 free radical theory[4], 생체내 거대분자간의 cross-linkage설[11], waste products의 축적설[16] 등을 포함하는 비유전자설과 somatic mutation theory, programmed aging theory[25] 등의 유전자설로 대별된다. Free radicals는 생체내 대사과정 중에 정상적으로 생성되는 인자로서, 에너지를 얻기 위한 세포의 호흡과정에서 생성되거나 살균 및 변성 단백질의 제거를 위한 대식세포의 활동 등에 이용되는 필수 불가결한 물질로 알려져 있다[3]. 산소를 이용하는 생물체는 정상 대사과정에서 지속적으로 superoxide anion ($O_2^{\cdot -}$), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($\cdot OH$) 등의 반응성이 큰 활성산소를 생성하는데[6], 이들은 세포나 조직을 손상시킴으로써 노화를 촉진한다. 뇌조직에서의 활성산소의 증가 및 축적은 기억에 관련되는 뇌세포를 손상시키고 결국 기억력 감퇴를 초래한다. 그러나 어느 정도의 활성산소는 항산화 물질 및 효소의 작용에 의해 제거된다[2]. 따라서 이들 활성산소의 생성을 변화시킴으로써 노화를 촉진 또는 지연시킬 수 있다. 생약에 다량으로 함유되어 있는 gallate esters, ellagic acid, hydrolysable tannins, flavonoids와 같은 polyphenol 화합물은 체내 산화반응을 억제하거나 산화반응 대사물질을 제거하는 기능을 한다[27].

노화의 연구에는 senescence-accelerated mice (SAM)가 유용하게 이용되고 있다. SAM은 Takeda 등[21]에 의해 개발된 노화 모델동물로서 AKR계 마우스에서 유래되었다. 대조계통인 resistant strain (SAMR)에 비해 prone strain (SAMP)은 활동성 저하, 탈모, 피모광택 감퇴, 피모 조잡, 안주위 병변, 백내장, 척추만곡 증가, 면역반응 저하, 수명단축과 같은 특징을 나타낸다[12,20,22]. SAMP계중 SAMP8은

노화가 진행됨에 따라 학습능력과 기억력이 현저하게 감소하는 특징을 가지고 있으며, SAMR1은 SAMP계보다 노화에 저항성은 있으나 원래의 AKR계 마우스보다는 노화의 진행이 빠른 것으로 알려져 있다[15,24]. SAMP8은 연령이 증가함에 따라 amyloids 침착을 보이는 약한 전신성 노화를 나타내고, 노년기에는 뇌장애를 일으켜 학습능력과 기억력이 현저히 떨어지므로 인간의 치매 모델로 개발되었다. 따라서 노화와 치매 및 학습과 기억에 대한 연구에 널리 사용되고 있다.

본 연구에서는 노화촉진 모델동물인 SAMP8과 이에 대한 대조계통인 SAMR1에 영지추출물을 노화가 일어나기 전 또는 노화가 진행된 후부터 장기간 투여함으로써 이들 마우스의 기억력과 산화반응에 미치는 효과를 조사하였다. 기억력 검사를 위해서는 수동회피시험 (passive avoidance test)을 수행하였으며, 지질 과산화반응에 대한 영향을 조사하기 위해 간장의 thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS)와 glutathione 함량을 측정하였다.

재료 및 방법

실험동물

한국화학연구소 실험동물 육종실에서 번식, 사육한 수컷의 SPF SAMR1 및 SAMP8을 3개월령 및 7개월령에 실험에 사용하였다.

사육 및 실험기간 동안의 환경은 온도 $23 \pm 2^\circ C$, 상대습도 $55 \pm 5\%$, 소음 60 phone 이하, 취기 20 ppm 이하, 조도 150~300 Lux, 조명시간 12시간 명암 cycle 및 환기 12~18 회/시간으로 의약품 안전성 관리기준에 적합한 환경 조건으로 유지되었다. 동물은 polycarbonate cage (420W × 180 D × 175H)에 cage당 3마리씩 사육하였으며, 깔짚은 칠레산 육송을 깔아 만든 실험동물용 깔짚을 사용하였고, 주 2회 cage를 교환하였다. 동물실 내의 모든 기자재 및 깔짚은 고압증기멸균 ($121^\circ C \times 20$ 분) 후 사용하였다. 사료는 마우스용 고형사료 (천하제일사료)를 방사선 조사 (60 Co, 2.0 Mrad, 그린피아)로 멸균하여 급여하였다. 음수는 상수도를 filtering 후 자외선 유수살균기로 살균하여 자유급수하였다.

시험물질의 투여

영지의 메탄올 추출물 (일양약품)을 물에 녹여 초음파로

처리한 후 carboxymethyl-cellulose (0.5 ~ 1%)를 첨가하여 번식용 가루사료 (단백질 23%, 천하제일사료)와 혼합하고 pellet을 만들어 건조시킨 후 냉장보관 (4°C)하였다. 저용량군 (T1)에는 국내 시판 영비천 (120 ml)을 기준으로 20 mg/kg/day를 급여하였고, 고용량군 (T2)에는 영지의 효능을 검색하기 위해 저용량군의 10배인 200 mg/kg/day를 급여하였다.

시험군

실험을 위한 군 분리, 투여개시 월령, 투여기간, 투여용량 및 투여 후의 시험에 사용된 동물수는 Table 1과 같다. 3개월령과 7개월령의 SAMR1 및 SAMP8에 저용량 (20 mg/kg/day) 또는 고용량 (200 mg/kg/day)의 영지추출물 혼합 사료를 3개월령에는 9개월 동안, 7개월령에는 5개월 동안 급여하였다. 12개월령에 모든 동물에 대하여 기억력 시험을 수행하였으며, 부검하여 간장의 생화학적 산화반응 지표를 측정하였다.

기억력 시험

기억력을 평가하기 위하여 수동회피시험은 step-through

test를 실시하였다[15]. 간단히 요약하면, 오전 9시부터 오후 5시 사이에 어두운 방에서 행하였으며, 마우스를 한 마리씩 밝은 전실 (명실)에 넣고 10초간 적응을 시킨 후 길로틴 형의 문을 올려서 자유로이 기구속을 다니도록 하였다. 마우스의 사지가 어두운 후실 (암실)로 들어가면 길로틴 형의 문을 재빨리 닫고 명실에서 암실로 들어가는데 걸린 시간을 측정하고 0.5 mA의 교류를 1.5초 동안 흘려 전기자극을 주었다. 마우스가 암실로 들어가서 전기자극을 받을 때 까지를 획득시험 (acquisition trial)이라 하였고, 24시간 후 다시 명실에 넣었을 때 전기자극을 받은 것을 기억하는지를 관찰하여 명실에 남아 있는 시간이 얼마나 되는지를 최장 600초 동안 측정하였는데 이것을 기억시험 (retention test)이라 하였다.

시료의 제조

마우스 간장을 적출하여 30 mM HEPES buffer (pH 7.4, 150 mM KCl)로 씻은 후 급속 냉동시켜 사용할 때까지 -70°C에 보관하였다. 적출된 간조직을 10배 부피 (w/v)의 buffer를 넣고 균질화 한 후 700 × g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 이를 다시 10,000 × g에서 12분간 원심분리하여 상등액과 침전물을 분리시킨 후 다시 상등액을 105,000 × g에서 1시간동안 초고속원심분리하여 상등액을 생화학적 분석에 사용하였다. 모든 시료 처리과정은 냉장상태로 유지되었다.

지질과산화물의 정량

지질과산화 반응을 평가하기 위해 TBARS를 정량분석하였다[23]. 20% acetic acid (0.5 ml), 8.1% sodium dodecyl sulfate (75 µl), distilled water (25 µl), 시료 (67 µl)로 구성된 반응용액에 1.2% TBA (333 µl)를 가하고 교반한 다음 시료가 들어있는 튜브를 유리구슬로 막고 100°C의 끓는 물이 든 용기에서 30분간 발색시켰다. 600 × g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취한 후 spectrophotometer (여-650, Beckman Ins., California, USA)를 사용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

글루타치온의 정량

Non-protein sulfhydryl인 환원형 글루타치온 (Glutathione : GSH)을 측정하였다[18]. 단백질 제거를 위하여 시

Table 1. Classification of experimental groups

Group	Strain	Initial age (Mos)	Duration of feeding (Mos)	Daily dose (mg/kg)	No. of animals
RC*	SAMR1	3	9	-	6
RT1	SAMR1	3	9	20	6
RT2	SAMR1	3	9	200	6
RC	SAMR1	7	5	-	6
RT1	SAMR1	7	5	20	5
RT2	SAMR1	7	5	200	6
PC	SAMP8	3	9	-	6
PT1	SAMP8	3	9	20	6
PT2	SAMP8	3	9	200	6
PC	SAMP8	7	5	-	6
PT1	SAMP8	7	5	20	4
PT2	SAMP8	7	5	200	5

*RC, SAMR1 control; RT1, SAMR1 treatment 1 (low dose); RT2, SAMR1 treatment 2 (high dose)
PC, SAMP8 control; PT1, SAMP8 treatment 1 (low dose); PT2, SAMP8 treatment 2 (high dose)

료 (250 μ l)를 50% trichloroacetic acid (200 μ l) 및 distilled water (1.5 ml)를 혼합한 후 상온에서 15분간 반응시킨 다음 3,000 \times g에서 15분간 원심분리하여 상등액 (1 ml)을 취하였다. 여기에 0.4 M tris buffer (0.02 M EDTA, pH 8.9) (2 ml)와 0.01 M 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (50 μ l)를 가하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.

단백질 정량

시료중의 단백질 함량은 Bio-Rad Protein assay kit (BIO-RAD Laboratories)를 이용하여 Bradford[5]의 방법으로 분석하였으며, 표준시료로는 BSA (bovine serum albumin, Sigma, USA)를 사용하였다.

자료의 통계학적 분석

수동회피시험, TBARS 및 glutathione 함량의 통계분석은 ANOVA test를 이용했으며, $P < 0.001$ 의 수준까지 유의성을 검정하였다.

결 과

기억력에 미치는 영향

노화가 시작되기 전인 3개월령부터 9개월 동안 영지사료를 급여한 SAMR1 및 SAMP8의 획득시험에서는 정상사료를 급여한 각각의 대조군에 비해 약간의 기억력 감소현상을 나타내었으나 큰 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 1). 그러나 기억력 유지시험에서는 SAMR1 및 SAMP8 모두 영지 투여로 인해 전반적인 기억력 감소현상을 나타냈는데, 특히 SAMR1에서 고용량 (200 mg/kg/day)의 영지 급여군 (RT2)에서는 RC군에 비해 유의적인 기억력 감소를 나타내었다 ($P < 0.001$).

반면, 노화가 진행된 후의 효과를 조사하기 위해 7개월령부터 5개월 동안 영지사료를 급여한 결과, SAMR1과 SAMP8의 획득시험에서는 변화가 관찰되지 않았으나, SAMP8의 기억력 유지시험에서는 PC군에 비해 저용량군 ($P < 0.01$) 및 고용량군 ($P < 0.001$) 모두에서 현저한 기억력 증진효과가 관찰되었다 (Fig. 2).

지질과산화에 미치는 영향

생체내 조직의 산화적 손상의 중요한 지표로 사용되고

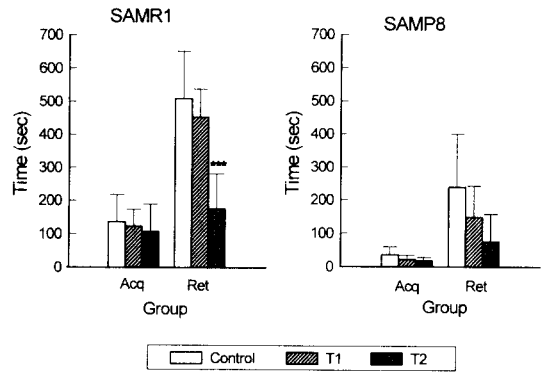


Fig. 1. Passive avoidance response of SAMR1 and SAMP8 fed GL diets (T1, 20 mg/kg/day; T2, 200 mg/kg/day) for 9 months starting from 3 months of age (n=4-6).

Retention tests were performed 24 hr after acquisition trials. Acq : acquisition trials; Ret : retention test. *** Significantly different from SAMR1 control ($P < 0.001$).

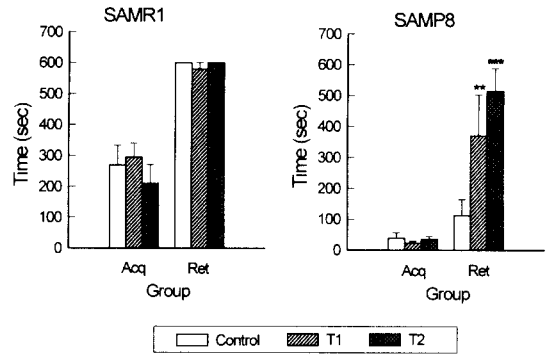


Fig. 2. Passive avoidance response of SAMR1 and SAMP8 fed GL diets (T1, 20 mg/kg/day; T2, 200 mg/kg/day) for 5 months starting from 7 months of age (n=4-6).

Retention tests were performed 24 hr after acquisition trials. Acq : acquisition trials; Ret : retention test. ** Significantly different from SAMP8 control ($P < 0.01$); *** $P < 0.001$).

있는 지질과산화반응 대사산물인 TBARS, 즉 말론디알데히드를 측정한 결과, 노화 전 3개월령부터 9개월 동안 고용량 (200 mg/kg/day)의 영지사료를 급여한 SAMP8 (PT2군)에서 PC군에 비해 유의성있는 간장의 TBARS 감소가 나타났 다 ($P < 0.05$)(Fig. 3). 반면, SAMR1에서는 유의할만한 변화

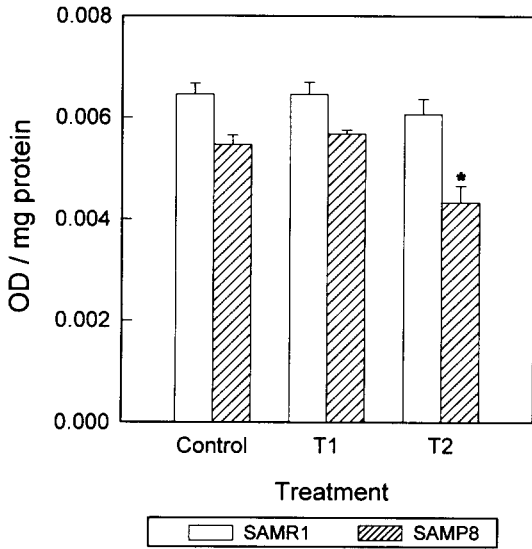


Fig. 3. Hepatic TBARS content of SAMR1 and SAMP8 fed GL diets (T1, 20 mg/kg/day; T2, 200 mg/kg/day) for 9 months starting from 3 months of age (n = 4-6).

*Significantly different from SAMP8 control ($P < 0.05$).

가 관찰되지 않았다.

그러나 노화가 진행된 7개월령부터 5개월 동안 영지사료를 급여한 경우에는 SAMR1에서 간장 TBARS가 억제되었는 바 (Fig. 4), 저용량군 (20 mg/kg/day)에서 유의성있는 감소를 나타내었다 ($P < 0.05$). 반면, SAMP8에서는 변화가 관찰되지 않았다

글루타치온(GSH) 함량에 미치는 영향

생체내에서 산화반응 물질과 결합하여 배출시키는 중요한 항산화물질인 환원형 GSH의 함량을 측정하였다. 노화가 진행되기 전인 3개월령부터 9개월 동안 영지사료를 급여한 경우 SAMR1에서 현저한 간장 GSH의 증가가 관찰되었는데, 특히 저용량군 (20 mg/kg/day, RT1)에서 RC대조군에 비해 유의성있는 증가를 나타내었다 ($P < 0.01$) (Fig. 5). 반면, SAMP8에서는 변화가 관찰되지 않았다.

한편, 노화가 진행된 7개월령부터 5개월 동안 영지사료를 급여한 경우에는 SAMR1 및 SAMP8의 모든 군에서 GSH 함량이 용량 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었다 (Fig. 6). 그러나 개체간의 편차가 커서 유의성이 인정되지

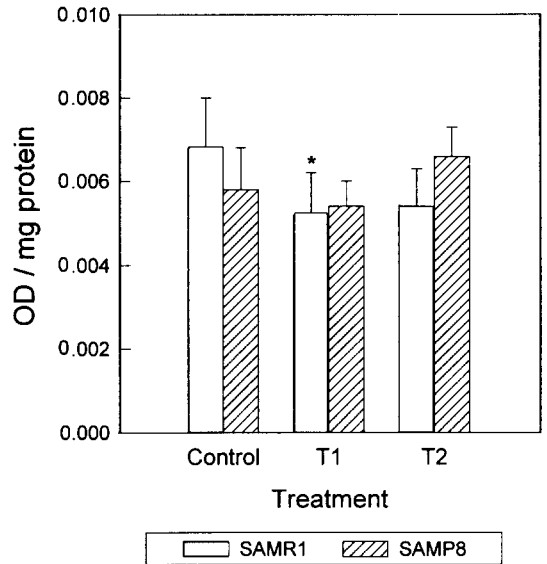


Fig. 4. Hepatic TBARS content of SAMR1 and SAMP8 fed GL diets (T1, 20 mg/kg/day; T2, 200 mg/kg/day) for 5 months starting from 7 months of age (n=4-6).

*Significantly different from SAMR1 control ($P < 0.05$).

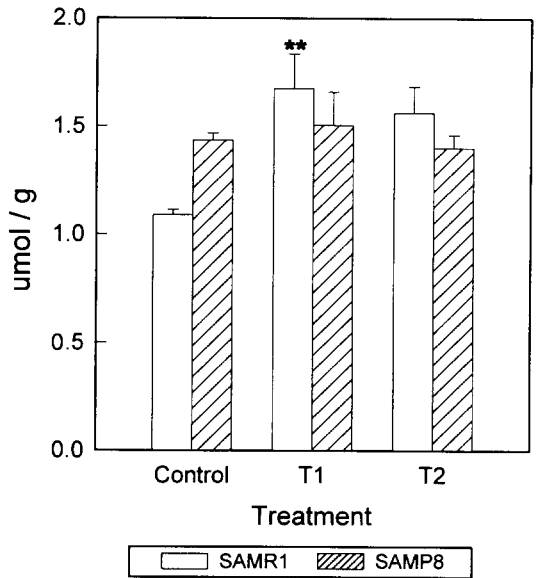


Fig. 5. Hepatic glutathione (GSH) content of SAMR1 and SAMP8 fed GL diets (T1, 20 mg/kg/day; T2, 200 mg/kg/day) for 9 months starting from 3 months of age (n=4-6).

**Significantly different from SAMR1 control ($P < 0.01$).

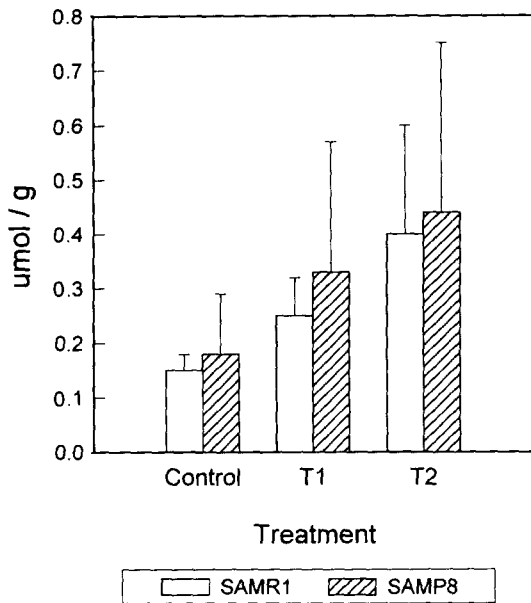


Fig. 6. Hepatic glutathione (GSH) content of SAMR1 and SAMP8 fed GL diets (T1, 20 mg/kg/day; T2, 200 mg/kg/day) for 5 months starting from 7 months of age (n=4-6).

는 않았다.

고찰

SAM은 R계의 평균수명이 13.3 ± 0.22개월이고, P계가 9.7 ± 0.12개월로 7개월 이후부터 학습 및 기억장애가 나타나는 것으로 알려져 있다. 기억은 일반적으로 working memory와 reference memory로 구분되는데, 기억의 형성, 유지 및 재생에 있어서의 기전은 아직까지 명확히 밝혀져 있지 않다. 학습 및 기억력 측정하는 방법은 그 목적에 따라 매우 다양하지만 수동회피시험법이 기억의 획득 및 유지시험에 널리 이용되고 있다[8]. SAMR1과 SAMP8에 대한 수동회피시험 결과 SAMP8에서 12개월령에 급격한 기억의 획득 및 유지능력의 저하가 관찰되었는데 (Fig. 1 및 2), 이러한 현상은 Yagi 등[24]이 발표한 결과와 일치하였다. 그러나 SAMR1에 영지사료를 노화가 진행되기 전부터 장기간 투여했을 때는 기대했던 것과는 달리 오히려 회피시간이 단축되는 기억력 저하현상을 나타내었다. SAMP8에서 역

시 유의성은 관찰되지 않았으나 영지사료의 장기간 급여에 의한 기억력 억제효과가 관찰되었다. 이는 영지추출물이 유년기의 신경발달에 영향을 미쳤기 때문으로 여겨지는데, 어린 동물에 대한 더 세심한 연구가 요구된다. 반면, 노화가 진행된 후에 영지사료를 급여했을 때에는 SAMP8에서 기억력 유지능력이 향상되었다 (Fig. 2). 이러한 결과는 영지추출물이 노화에 따른 뇌세포의 소멸을 방지하거나 기억과 관련된 acetylcholine, glutamate[19] 등 신경전달물질의 분비를 촉진시켜 주기 때문으로 여겨진다. 따라서 영지 급여에 따른 신경세포의 형태학적 변화와 amyloids 단백질의 침착 등 병리조직학적 진단이 요구되며, 영지추출물에 의한 acetylcholine 분해효소인 acetylcholinesterase[17] 억제 여부 및 신경전달물질 분비 촉진 여부에 대한 입체적인 연구가 뒷받침되어야 할 것이다.

Flood 등[10]에 의하면 SAMP8과 SAMR1에 알츠하이머 질환이나 치매치료에 유용한 신경전달물질을 투여했을 때 SAMP8에서는 기억력을 향상시킨 반면 SAMR1에서는 효과가 나타나지 않는 것으로 나타났다. 또 SAMP8에서는 연령이 증가하면서 신경독성을 나타내는 β -amyloid peptide가 축적되어 뇌세포가 apoptosis를 통해 사망하게 되는데, catechin류는 β -amyloid peptide의 신경독성을 억제하여 기억력 형성에 필수적인 hippocampal pyramidal cells를 보호하는 것으로 알려졌다[26]. 그러나 분화과정의 뇌세포에서는 catechin처럼 hydroxyl group이 많은 화합물은 항산화 효과를 발휘하지 못하는 것으로 판단된다. 따라서 SAMR1에 있어서 노화 전 영지추출물의 고용량 섭취로 인한 기억력 증진효과는 기대할 수 없을 것으로 생각되며, SAMP8에서도 노화 전의 영지섭취로 인한 효과는 낮은 것으로 생각된다.

간조직에서의 지질과산화물이나 항산화 glutathione의 함량은 SAMR1 또는 SAMP8에서 영지 급여기간이나 용량에 비례하지 않고 비특이적으로 개선된 형태를 나타냄으로써 급여기간 및 용량의 설정이 매우 중요한 것으로 여겨지며, 영지의 기억력 증진과 항산화 효과의 상관성을 유추하기에는 많은 어려움이 있을 것으로 사료된다. 한편, 본 연구에서 제시되지는 않았지만 항산화 효소인 superoxide dismutase 및 catalase의 활성도 역시 영지사료 급여에 의해 비특이적 변화를 나타내었다. 더욱이 노화에 따른 활성산소의 증가는 이들 이외에도 glutathione peroxidase, gluta-

thione reductase, xanthine oxidase, melatonin, dehydroepiandrosterone 등의 수많은 조직내 항산화계 (항산화 성분 및 효소)의 반응 (저하 또는 유도)을 동반하므로 영지의 조직내 항산화 효과의 정확한 해석은 이들에 대한 추가적인 분석에 근거해야 할 것이다[9].

본 연구에서 노화가 진행된 후에 영지사료를 급여한 SAMP8에서 용량에 비례하여 현저한 기억력 증진효과가 관찰되었으며, 전반적으로 영지사료 급여에 의해 지질과산화물이 감소하고 glutathione의 함량이 증가하는 경향을 나타냄으로써 노년기에서의 영지 섭취는 노화 지연 및 기억력 개선에 상당한 효과가 있을 것으로 기대된다.

요 약

Ganoderic acid, alkaloids, 단백다당체, 각종 비타민류 및 미네랄 등을 다량 함유한 영지(*Ganoderma lucidum*) 추출물의 기억력 증진 및 항산화 효과를 노화촉진마우스 (senescence-accelerated mice, SAM)를 사용하여 평가하였다. 저용량 (20 mg/kg/day) 또는 고용량 (200 mg/kg/day)의 영지추출물을 함유한 사료를 SAMR1 및 SAMP8에 노화가 진행되기 전 (3개월령) 또는 진행된 후 (7개월령)부터 12개월령에 도달할 때까지 급여한 후 수동회피시험을 통하여 기억력을 검사하고 간조직내 지질과산화물과 glutathione의 변화를 조사하였다. 영지사료를 노화 전부터 급여한 군에서는 기억력 증진효과가 관찰되지 않았으나, 노화가 진행된 7개월령부터 5개월간 영지를 급여한 SAMP8에서는 현저한 기억력 개선효과가 인정되었다. 또한 전반적으로 영지사료 급여에 의해 지질과산화물인 thiobarbituric acid-reactive substance가 감소하고 glutathione의 함량이 증가하는 경향을 나타내어 노년기의 영지 섭취는 노화를 억제하고 기억력을 개선시켜 줄 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Asahi chem Ind. Co., Ltd. 1987. Fermentation product as food for patients with liver failure. *J. P.* **87**, 234026.
2. Autor, A. 1982. Pathology of oxygen. Academic Press, New York.
3. Babior, B. M. and Woodman, R. C. 1990. Chronic granulomatous disease. *Semin. Herarol.*, **27**, 247-259.

4. Balin, A. K. 1982. Testing the free radical theory of aging. In : Adelman, R. C. and Roth, G. S. : Testing the Theories of Aging. CRC Press, Boca Raton, Fla., pp.37-56.
5. Bradford, M. 1976. Protein assay. *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254.
6. Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Phys. Rev.*, **59**, 527-605.
7. Chen, Q. 1986. In pharmacology and Applications of Chinese. *Materia Medica*, **1**, 642-653.
8. Choi, J. H., Kim, D. W., Kim, J. I. and Yoon, H. S. 1996. Effect of Docosahexaenoic Acid (DHA) on Learning and Memory Impairment Animal Model SAMP8 III. Feeding Effect of DHA on Neurotransmitters and Their Metabolites in SAMP8 Brain. *Kor. J. Gerontol.* **6**(3), 25-30.
9. Chung, H. Y. and Kim, Y. K. 1992. Age-associated Alteration in the Hepatic Superoxide Generation and Antioxidant Activities in the Senescence-accelerated Mice. *J. Pharm. Soc. Korea*, **36**(5), 460-468.
10. Flood, J. F., Morley, J. E. and Reginna, M. L. 1993. Age-related changes in the pharmacological improvement of retention in senescence accelerated mouse(SAM). *Neurobiology of Aging* **14**, 159-166.
11. Holliday, R. 1980. Cross linking theory. *Science*, **213**, 505.
12. Hosokawa, M., Takeshita, S., Higuchi, K., Shimizu, K., Irino, M., Toda, K., Honma, A., Matsumura, A., Yasuhira, K. and Takeda, T. 1984. Cataract and other ophthalmic lesions in senescence accelerated mouse (SAM). Morphology and incidence of senescence accelerated ophthalmic changes in mice. *Exp. Eye Res.*, **38**, 105-108.
13. Kohda, H., Tokumoto, W., Sakamoto, K. 1985. The Biologically Active Constituents of *Ganoderma lucidum*. Histamine Release Inhibitory Triterpenes, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 1367.
14. Kubota, T., Asaka, Y., Miura, I. and Mori, H. 1982. Structures of ganoderic acid A and B, Two new lanostane type bitter triterpenes from *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. *Helv. Chem. Acta.*, **65**, 611.
15. Miyamoto, M., Kiyota, Y., Yamazaki, N., Nagaoka, A., Matsuo, T., Nagawa, Y. and Takeda, T. 1986. Age-related changes in learning and memory in the senescence-accelerated mouse(SAM). *Physiology and Behavior*, **38**, 399-406.
16. Olsonm, C. B. 1987. Accumulation of waste product theory. *Mech. Ageing Dev.*, **41**, 17.

17. Sastry, B. V., Janson, V. E., Jaiswal, N. and Tayeb, O. S. 1981. Deficiencies in the cholinergic nervous system of the rat cerebrum as a function of age. *Age*, **4**, 142-147.
18. Sedlak, J. and Lindsay, R. H. 1968. Estimation of total protein-bound and non protein-bound sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.*, **25**, 192-196.
19. Strong, R., Hsu, L., Bartus, R. T. and Enna, S. J. 1980. Age-related alterations in the rodent brain cholinergic system and behavior. *Neurobiol Aging*, **1**, 59-64.
20. Takeda, T., Hosokawa, H. and Higuchi, K. 1991. Senescence accelerated mouse(SAM) A novel murine model of accelerated senescence. *J. Am. Geriatr. Soc.*, **39**, 911-919.
21. Takeda, T., Hosokawa, M., Takeshita, S., Irino, M., Higuchi, K., Matsushita, T., Tomita, Y., Yasuhira, K., Hamamoto, H., Shimizu, K., Ishii, M. and Yamamuro, T. 1981. A new murine model of accelerated senescence. *Mech. Ageing Dev.*, **17**, 183-194.
22. Takeshita, S., Hosokawa, M., Irino, M., Higuchi, K., Shimizu, K., Yasuhira, K. and Takeda, T. 1982. Spontaneous age associated amyloidosis in senescence accelerated mouse(SAM). *Mech. Ageing Dev.*, **20**, 13-23.
23. Uchiyama, M. and Mihara, M. 1978. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.*, **86**, 271-278.
24. Yagi, H., Katoh, S., Akiguchi, I. and Takeda, T. 1988. Age-related deterioration of ability of acquisition in memory and learning in Senescence Accelerated Mouse; SAM-P/8 as an animal model of disturbances in recent memory. *Brain Res.*, **474**, 86.
25. 白倉卓夫. 1977. 「老化制御」造血・免疫系. 朝創書店, pp.145-162.
26. 新家一男・瀬戸治男. 1997. 綠茶 catechin의 Alzheimer's 病에의 效果. 東京大學分子細胞生物學研究所. 月刊「茶」5月号.
27. 戶田靜男, 木村通郎, 大西基代, 中嶋恭三. 1988. 天然 抗酸化劑의 研究 ; 五味子の 抗酸化成分의 檢索. 生藥學雜誌, **42**, 156.