

태생기 및 신생기의 Phosphatidylcholine 보충이

기억력 향상에 미치는 영향

- 전뇌기저부의 Choline성 신경세포 활성화에 관한 연구 -

전영희 · 장유경* · 백태경

울지외과대학교 해부학 및 신경생물학교실, 한양대학교 생활과학대학 식품영양학과*

Evidence of Memory Improvement by Phosphatidylcholine

Supplement at Fetus and Neonate

- Studies of Basal Forebrain Cholinergic Neuronal Activities -

Chcon, Young Hee · Chang, Yu Kyung* · Baik, Tai Kyoung

Department of Anatomy and Neuroscience, Eulji Medical University, Taejon 301-211, Korea

Department of Food and Nutrition,* Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

ABSTRACT

To investigate the effect of dietary phosphatidylcholine(PPC) supplement on memory improvement, biochemical study on the brain, and morphometric studies on the cholinergic neurons in the rat basal forebrain were undertaken. The pregnancy rats were divided into the normal control, the choline deficient and the PPC supplemental groups according to quantity of the PPC in diet. According to choline deficiency and PPC supplement after birth, the neonate rats of the normal control group were subdivided into the control diet(N-N) and the PPC supplied(N-S) groups, the choline deficient group were subdivided into the continually deficient (D-D), the control diet(D-N) and the PPC supplied groups(D-S), and the PPC supplemental group were subdivided into the control diet(S-N) and the continually supplied(S-S) groups. The PPC supplemented diet was added 2% egg PPC in AIN 76 formula diet. PPC concentrations and cholinesterase(CE) activities were measured in the serum, the liver and the brain, respectively. Immunohistochemical stains for choline acetyltransferase(ChAT) was employed for the morphological and morphometric studies. The maze test was undertaken to evaluate memory improvement. PPC concentration and CE activities in the serum, liver and the brain were high in the PPC supplemental groups and low in the choline deficient groups. ChAT immunoreactivity neurons at the medial septal diagonal band complex and the basal forebrain nucleus of Meynert were reduced in the choline deficient groups. Average failure rate for the maze test was the lowest in the S-S group and the highest in the D-D group. Insufficient choline supply during the neuronal development would result in cholinergic neuronal damage, which could be prevented by adequate PPC supplement. It is consequently suggested that PPC supplement may be effective on memory improvement by maintaining the cholinergic neuronal activity in the basal forebrain of the rats. (*Korean J Nutrition* 32(8) : 864~869, 1999)

KEY WORDS : phosphatidylcholine, cholinergic neuron, basal forebrain, memory.

서 론

Choline은 세포의 정상적인 기능을 위한 필수적인 요소로서 비타민과 유사한 활성을 가지는 물질이며 대부분 식이 레시틴, 즉 phosphatidylcholine(PPC)의 형태로 섭취한다.¹⁾ Choline 및 그의 대사산물은 choline성 신경전달(cholinergic neurotransmission) 및 신경세포내 acetylcholine 생합성에 중요한 역할을 하므로 뇌 발생에 필수적인 물질
채택일 : 1999년 12월 9일

질이다. 신경전달 물질인 acetylcholine의 농도는 식이 choline 혹은 PPC 보충으로 뇌 조직에서 현저히 증가되며^{2,4)} 이러한 acetylcholine 농도의 증가는 choline성 신경세포를 활성화시킨다. 포유동물에서 choline성 신경세포는 변연계의 일부인 septal area와 전뇌기저핵을 포함하는 전뇌기저부에 주로 존재하며, 인지능력을 담당하는 것으로 알려진 대뇌 심피질과 해마피질로 신경섬유를 투사하는 신경해부학적 특성으로 인하여 기억력과 관련이 있는 주된 신경세포이다.⁵⁾ 즉, choline의 보충은 choline성 신경세포를 활성화시키므로 학습 및 기억력 향상에 효과적일 것으로 기대된다.^{6,7)}

특히 태아 혹은 신생아의 경우에는 조직의 분화 및 성장을 위해 다량의 choline을 필요로 한다. 모체의 혈중 choline은 태반을 통해 태아로 이동되어 모체 혈액에서 보다 태아의 혈중 choline 농도가 높고, 특히 신생기에는 혈액의 choline을 뇌로 이동시키는 능력이 최대에 달한다.⁸⁾ 혈류를 통해 뇌로 전달된 choline은 Na⁺-dependent, high affinity carrier에 의해 신경세포내로 운반되며 신경말단부에서 choline acetyltransferase(ChAT)의 작용하에 acetyl CoA의 초산기(acetyl group)가 choline으로 전달되고 신경전달 물질인 acetylcholine이 생성된다.⁹⁾ 이는 태아 및 신생기에 적절한 choline 보충이 신경조직의 발생과 성숙에 매우 중요함을 나타내는 증거라 할 수 있다. 태생기는 기억과 관련이 있는 전뇌기저부내 choline성 신경세포의 신경조직이 발생하는 시기(period of neurogenesis)이며,¹⁰⁾¹¹⁾ 신생기는 신경연접발생이 일어나는 시기(period of synaptogenesis)이므로¹²⁾ 신경조직 발생과정 중에 acetylcholine의 전구체인 choline을 적량 보충하면 태아에서 choline성 신경세포의 발생 및 성장에 영향을 미쳐 기억력 향상과 연관이 있을 것으로 추측된다.

본 연구에서는 뇌 조직의 발생 및 성숙이 일어나는 시기인 태생기 및 신생기의 흰쥐에게 식이 PPC를 보충한 후 전뇌기저부에 있는 choline성 신경세포의 활성 변동을 조사하기 위하여, ChAT에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하였고, 이와 관련된 생화학적 연구 및 기억력 검사를 병행하여 식이 PPC의 보충이 학습 및 기억력 향상에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

본 실험에서는 자성 및 음성 흰쥐를 교배 시킨 후 질도말(vaginal smear)을 실시하여 임신 여부를 확인하였다. 실험군은 태생기와 신생기의 PPC 보충 정도에 따라 7군으로 세분하였다. 태생기에는 PPC 보충 정도에 따라 정상식이 섭취군, choline 결핍군 및 PPC 보충군으로 구분하였고, 출생 후 신생기는 PPC 보충 정도에 따라 태생기의 정상식이 섭취군을 대조군(N-N) 및 보충군(N-S)으로, 태생기의 choline 결핍군을 지속적 결핍군(D-D), 정상식이 공급군(D-N) 및 보충군(D-S)으로, 태생기의 PPC 보충군을 정상식이 공급군(S-N) 및 지속적 보충군(S-S)으로 세분하였다. PPC의 보충을 위한 식이는 정상식이에 2%의 달걀 레시틴(Sigma)을 첨가하였다. 실험식은 어미 흰쥐의 임신을 확인한 날로부터 10주동안 즉, 임신기간 21일(3주)과 수유기 3주동안은 어미 흰쥐에게, 이후 4주간은 신생 흰쥐에게 공급하였다. 실험식의 조성은 Table 1에 명시하였다.

2. 시료 수집 및 분석

실험동물은 마지막 식이 섭취 후 희생시키기 전 24시간 동안 절식시키고 50mg/kg의 pentobarbital을 복강내 투여하여 마취시킨 후 심천자(heart puncture)로 혈액을 채취하였고 간 및 뇌 조직을 적출하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분간 방치한 후 3,000rpm에서 20분 동안 원심분리하여 혈청단을 취하였다. 간 조직은 10ml의 0.1M 인산염

Table 1. Composition of formula diet

	N-N	N-S	D-D	D-N	D-S	S-N	S-S
Casein	200	200	200	200	200	200	200
Corn starch	500	500	500	500	500	500	500
Sucrose	150	150	150	150	150	150	150
α-cellulose	50	50	50	50	50	50	50
Oil	50	50	50	50	50	50	50
Vitamin mixture	10	10	10	10	10	10	10
Mineral mixture	35	35	35	35	35	35	35
DL-methionine	3	3	3	3	3	3	3
임신(21일간)							
Choline chloride	2	2	0	0	0	2	2
PtdC ¹⁾	0	0	0	0	0	33	33
수유(3주간)							
신생기(4주간)							
Choline chloride	2	2	0	2	2	2	2
PtdC	0	33	0	0	33	0	33

1) Egg PtdC(L-a-Lecithin; 1, 2-Diacyl-sn-glycero-3-phosphocholine): 순도 60%, sigma Co.

완충용액과 함께 균질화시켰고, 뇌 조직은 Robertis¹³⁾의 방법으로 crude synaptosome을 분리하였다.

뇌의 조직학적 관찰을 위하여 일부 실험군은 좌심실을 통해 상행대동맥에 삽관술을 시행한 후 50ml의 0.1M 인산염 완충용액(pH 7.4) 및 동일 완충용액으로 제작한 200ml의 4% paraformaldehyde - 0.5% glutaldehyde를 사용하여 관류고정하고 뇌를 적출하였다. 동일한 고정액에서 1일간 후고정하고 30% sucrose가 첨가된 인산염 완충용액에서 뇌 조직이 완전히 가라앉을때까지 방치한 후 냉동손상방지 용액 내에서 -20℃로 보관하였고, 냉동절편기(cryostat)를 이용하여 -29℃에서 두께 25μm의 연속 관상절편(frontal section)을 제작하였다.

3. 생화학적 분석

혈청, 간 및 뇌조직에서 PPC 분리는 Bligh 및 Dyer¹⁴⁾의 방법을 변형하여 지방 추출 후 TLC scanner(CAMAG, Muttenz, Switzerland)로 정량분석 하였다.

Cholinesterase(CE) 활성 측정은 Ellman등¹⁵⁾의 방법을 사용하여 흡광도의 변화를 측정하였고, 단백질 함량은 Lowry 등¹⁶⁾ 법에 의하여 정량하였다.

4. 면역조직 화학 염색(Immunohistochemistry)의 영상 분석

뇌 조직에서 ChAT의 면역조직 화학적 염색은 Robinson등¹⁷⁾의 방법을 변형하여 시행하였다. 일차항체로 rabbit anti choline acetyltransferase(Chemicon International INC.)를 사용하였고 PBS-B용액으로 1 : 1000의 비율로 희석하였으며, PBS-B용액에 1 : 200으로 희석한 biotinylated goat anti rabbit Ig G(Vector CO.)를 이차항체로 하여 2시간 실온에서 반응시킨 후 avidin biotin peroxidase complex(Vectastain ABC kit, Vector CO.)로 발색시켰다.

면역조직 화학 염색이 끝난 조직은 영상분석기(Quantimet 970, Cambridge Instruments Co.)를 사용하여 septal area 및 전뇌저핵에서 ChAT 면역 활성을 나타내는 choline성 신경세포 및 cholinceptive 신경세포의 수와 크기를 측정하였다.

5. 미로 검사(Maze test)

실험동물의 학습 및 기억력의 정도를 측정하기 위하여 Fig. 1과 같은 미로(120 × 120 × 20cm, 길이, 너비, 높이)를 특수 제작하였다. 출발점에서 도착점까지의 길만을 열어둔 채 20분씩 반복 학습시킨 후, 모든 길을 개방하여 출발점에서 도착점까지 도달하기까지 다른 길로 들어가는 실패

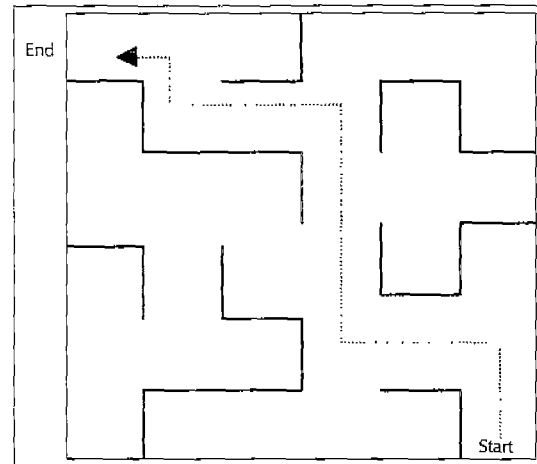


Fig. 1. Diagram of the maze.

Table 2. Weight gain and brain weight

	Weight gain(gm/day)	Brain weight
N-N	5.27 ± 0.75 ^a	1.84 ± 0.035 ^{2a}
N-S	5.32 ± 0.34 ^a	1.78 ± 0.040 ^{2c}
D-D	2.88 ± 0.58 ^b	1.52 ± 0.049 ^b
D-N	2.54 ± 0.36 ^b	1.66 ± 0.038 ^{2bc}
D-S	2.91 ± 0.31 ^b	1.58 ± 0.042 ^{2c}
S-N	5.17 ± 0.89 ^a	1.70 ± 0.014 ^{2bc}
S-S	4.88 ± 0.59 ^a	1.74 ± 0.065 ^{2c}

1) Mean ± S.E

2) Values with different alphabet within one variable were significantly different at $\alpha = 0.05$ by Turkey's multiple range test

횟수를 일주일에 1회씩 동일한 시간대에 측정하였다.

6. 통계처리

실험결과는 SPSS(statistical package for social science)를 이용하여 통계처리를 하였으며 각 결과들은 실험군 마다 평균치와 표준오차를 산출한 후 각 군간의 차이를 비교하기 위하여 one way ANOVA에 의해 유의성 $\alpha = 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 체중 증가량 및 뇌의 무게

각 실험군의 체중 증가량 및 뇌의 무게는 Table 2에 기술하였다.

임신 기간과 3주 동안의 수유기간 중에는 임신한 어미 쥐에게 식이를 공급하였고 이후에는 어미와 분리한 신생 흰쥐에게 체중을 고려하여 초기 2주간은 10gm을, 그 이후 2주간은 15gm을 매일 공급하였다. 실험동물의 체중은 수유가 끝난 직후부터 매주마다 측정된 결과, 태생기에 choline 결

팍식이를 공급받은 모든 군(D-D군, D-N군 및 D-S군)에서 현저히 낮은 수치를 나타내었고 체중 증가량 또한 기타 실험군에 비하여 유의적으로 낮았다.

뇌의 무게는 태생기의 choline 결핍군(D-D군, D-N군 및 D-S군)에서 현저히 낮았으며 이러한 결과는 실험군의 체중 증가량을 고려할 때 의미있는 결과라고 생각되며 신경발생(neurogenesis)이 태생기에 가장 왕성하다는 Durkin¹⁰⁾과 Fibiger¹¹⁾의 의견을 참고할 때 임신중 choline 결핍은 뇌 조직의 발생 및 성장에 장애를 초래하는 것으로 생각된다.

2. 생화학적 분석

1) 각 조직의 phosphatidylcholine 농도와 cholinesterase의 활성

혈청, 간 조직 및 뇌 조직내 PPC의 농도는 Table 3과 같다.

혈청 및 간조직의 PPC 농도는 D-D군에서 현저히 낮아서 다른 실험군들과 유의적인 차이를 나타내었다. 이는 임신 후 수유중에 choline 결핍식이 공급시 체내 choline 상태 변화의 실질적인 지표가 되는 PPC의 농도와 phosphocholine, betaine이 낮았다는 보고¹⁸⁾에 부합되는 결과이다.

뇌 조직내 PPC 농도는 D-D군에서 가장 낮은 반면 S-S군에서 가장 높았다. 이는 임신 12월부터 25mmol/L의 엽화폴린을 보충한 경우 태아의 뇌에 phosphorylcholine 및 betain의 농도가 현저히 증가되었다는 결과¹⁹⁾와 일치한다. 발생중인 태아의 혈중 choline 농도는 성인보다 현저히 높고 신생아들은 혈액의 choline을 뇌로 전달하는 능력이 뛰어나며, phosphatidylethanolamine N methyltransferase의 활성이 매우 높다는 사실은 태생기 혹은 신생기에는 choline의 수요가 매우 높고 choline의 보충이 신경조직의 발생 및 성숙에 매우 중요하다는 것을 의미한다.²⁰⁻²²⁾ Merck등²³⁾에 의하면 choline 보충이 뇌 발생에 영향을 미치는 중요한 시기는 태생 12~17일과 출생 후 16~30일로서 전자는 전뇌 기저부의 choline성 신경세포의 신경발생이 일어나는 시기이고, 후자는 신경섬유의 투사 및 신경연접형성이 일어나는 시기이다. 본 실험의 결과에서는 태생기의 뇌 조직내 choline 대사가 식이 PPC의 보충 여부에 크게 영향을 받는 것으로 나타났으며, 신생기의 PPC 보충은 뇌의 PPC 농도를 다소 증가시키나 유의적인 차이는 없었으므로 신생기보다 태생기의 choline 보충이 뇌 발생 및 성장에 주요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

각 실험군의 혈청 및 뇌 조직내 CE 활성은 Table 4에 기술하였다. 혈중 CE 활성은 D-D군에서 가장 낮았고 S-S군에서 가장 높았으나 통계학적인 유의성은 없었다. 뇌 조직

Table 3. Phosphatidylcholine concentration in serum, liver and brain of rats

	Serum PPC (mg/ml)	Liver PPC (mg/g)	Brain PPC (mg/g)
N-N	53.51 ± 6.89 ^{1)2)ab}	8.59 ± 1.04 ^a	19.73 ± 1.17 ^a
N-S	57.68 ± 8.43 ^b	9.51 ± 0.77 ^a	21.35 ± 1.50 ^{ab}
D-D	32.56 ± 1.95 ^a	7.36 ± 1.07 ^a	18.11 ± 2.65 ^a
D-N	41.59 ± 7.85 ^{ab}	7.97 ± 0.67 ^a	19.14 ± 0.82 ^a
D-S	53.32 ± 8.02 ^{ab}	7.87 ± 0.98 ^a	19.73 ± 0.68 ^a
S-N	54.39 ± 2.34 ^{ab}	20.52 ± 2.47 ^b	24.16 ± 1.38 ^{ab}
S-S	56.94 ± 5.83 ^{ab}	21.16 ± 1.88 ^b	26.64 ± 1.35 ^b

1) Mean ± S.E
2) Values with different alphabet within one variable were significantly different at α = 0.05 by Turkey's multiple range test

Table 4. Cholinesterase activity in serum and brain of rats

	Serum CE (mM/min/mg protein)	Brain CE (mM/min/mg protein)
N-N	3.17 ± 0.33 ¹⁾	12.72 ± 1.93
N-S	3.29 ± 0.31	15.68 ± 2.30
D-D	3.04 ± 0.28	9.32 ± 0.59
D-N	3.18 ± 0.34	11.47 ± 0.59
D-S	3.23 ± 0.37	12.15 ± 1.27
S-N	3.31 ± 0.38	15.61 ± 1.61
S-S	3.91 ± 0.80	15.92 ± 1.96

1) Mean ± S.E
2) Values with different alphabet within one variable were significantly different at α = 0.05 by Turkey's multiple range test

내 CE 활성은 임신중 PPC 결핍에 의해 현저히 감소되었으며, D-D군에서 가장 낮았고 PPC 보충군(N-S군, S-N군 및 S-S군)에서 높았다. 이상의 결과로 미루어 보면 적량의 PPC 보충은 뇌 조직내 choline을 증가시키고, 이로 인하여 생성된 acetylcholine을 acetyl Co A와 choline으로 가수분해시키기 위하여 CE의 활성이 증가되는 것으로 추정된다.

3. 형태학적 검사

1) Choline acetyltransferase 면역염색의 정량적 영상분석

ChAT 면역염색의 정량적 영상분석은 Table 5에 기술하였다.

MSDB complex에서 ChAT 면역반응 양성 신경세포의 수가 D-D군 및 D-N군에서는 적었으나, S-S군에서는 현저히 많아서 유의적인 차이를 나타내었으며 태생기와 신생기의 식이 PPC 보충이 MSDB complex내 choline성 신경세포의 수에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 그러나 신경세포의 평균 크기는 각 실험군간에 차이가 없었으므로 PPC 보충과는 신경세포의 크기와는 관련이 없는 것으로 생각된다.

전뇌기저핵에서의 ChAT 면역반응 양성 신경세포의 수

Table 5. Quantitative scanning of choline acetyltransferase immunoreactivity in rat basal forebrain

	MSDB complex ¹⁾		BNM ²⁾	
	Number	Cell size(μm^2)	Number	Cell size(μm^2)
N-N	115.0 \pm 10.78 ^{3)4ab}	1.09 \pm 0.13	92.50 \pm 2.50 ^b	1.69 \pm 0.085
N-S	142.3 \pm 33.12 ^{ab}	1.30 \pm 0.21	87.13 \pm 4.13 ^b	1.67 \pm 0.130
D-D	69.5 \pm 13.50 ^a	1.12 \pm 0.07	38.25 \pm 3.97 ^a	1.49 \pm 0.055
D-N	74.0 \pm 2.52 ^a	1.04 \pm 0.16	77.50 \pm 11.00 ^b	1.56 \pm 0.056
D-S	99.9 \pm 19.31 ^{ab}	1.20 \pm 0.07	92.50 \pm 2.50 ^b	1.57 \pm 0.180
S-N	175.8 \pm 19.68 ^{ab}	1.04 \pm 0.12	105.75 \pm 12.98 ^b	1.75 \pm 0.074
S-S	191.8 \pm 29.04 ^b	1.18 \pm 0.17	106.60 \pm 6.31 ^b	1.76 \pm 0.095

1) Medial septal nuscle & diagonal band complex

2) Basal nucleus of Meynert

3) Mean \pm S.E4) Values with different alphabet within one variable were significantly different at $\alpha = 0.05$ by Turkey's multiple range test**Table 6.** Failure times in maze test

	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	Total average
N-N	1.3 \pm 0.26 ¹⁾	1.5 \pm 0.22	1.3 \pm 0.26	0.8 \pm 0.36	1.25 \pm 0.14 ^{2)ab}
N-S	1.3 \pm 0.42	1.0 \pm 0.30	0.4 \pm 0.16	0.7 \pm 0.26	0.85 \pm 0.15 ^b
D-D	1.8 \pm 0.44	1.5 \pm 0.27	1.2 \pm 0.25	1.1 \pm 0.23	1.40 \pm 0.16 ^a
D-N	1.6 \pm 0.27	1.2 \pm 0.39	1.3 \pm 0.26	1.0 \pm 0.26	1.27 \pm 0.15 ^{ab}
D-S	1.3 \pm 0.45	0.9 \pm 0.38	0.7 \pm 0.26	0.8 \pm 0.25	0.93 \pm 0.17 ^{ab}
S-N	1.2 \pm 0.33	0.9 \pm 0.35	1.3 \pm 0.48	0.5 \pm 0.29	1.00 \pm 0.19 ^{ab}
S-S	0.5 \pm 0.50	1.5 \pm 0.29	0.5 \pm 0.29	0.8 \pm 0.48	0.81 \pm 0.21 ^b

1) Mean \pm S.E2) Values with different alphabet within one variable were significantly different at $\alpha = 0.05$ by Turkey's multiple range test

는 D-D군에서 매우 적어서 다른 실험군과 유의적인 차이를 나타내었고 S-N군 및 S-S군에서 그 수가 현저히 증가되었으며 특히 태생기에 식이 PPC 보충 여부에 따라 신경세포의 수가 영향을 받는 것으로 나타났으나 각 실험군에서 신경세포의 평균 크기는 차이가 없었다.

Loy등²⁴⁾은 acetylcholine을 주된 신경전달물질로 사용하여 해마로 신경섬유를 투사하는 medial septal nucleus, diagonal band의 vertical limb(MSDB complex)과 전뇌기저핵의 손상시 기억력 장애가 유발되므로 태생기에 choline을 보충하면 뇌 조직내에 구조적 변화가 유발될 것이라는 가정하에 수태일로부터 매일 300mg/kg의 choline chloride를 어미쥐에 공급하였고, 신생 흰쥐에게 150mg/kg의 choline chloride를 출생 후 30일간 피하로 주입한 후 면역조직화학법으로 신경성장인자수용체(nerve growth factor receptor)에 대한 면역반응 양성 신경세포의 활성을 관찰한 결과 choline 처리군에서는 원형의 choline성 신경세포는 수적으로 증가하였으며 크기도 10% 가량 증가되었다고 보고하였다. 또한 출생 3주에는 신경세포물기가 remodeling되면서 세포체가 위축되고, septal terminal이 분산(diffuse)된 상태에서 점차 층판구조화(lamination)되는 퇴행성 변화가 관찰되었으며 이러한 모든 변화는 septo-hippocampal system 발생중 일어나는 축부축삭(ax-

onal collateral)의 회수(withdrawal) 및 재형성(remodeling)에 기인한 것이며, 태아 및 신생기에 choline을 보충하면 발생 중 자연적으로 진행되는 세포체의 위축 및 피사를 방지하여 더 많은 수의 choline성 신경세포를 보존할 수 있다고 하였다.

본 실험에서는 MSDB complex 및 전뇌기저핵에서 PPC 결핍군의 choline성 신경세포의 수와 크기가 현저히 적은 반면, PPC 보충군에서는 다수의 대형 신경세포들이 관찰되었으며 태생기 및 신생기에 적량의 PPC를 보충함으로써 발생 및 성숙과정에 일어나는 신경세포의 자연적인 위축과 소실을 억제하여 다수의 choline성 신경세포가 보존되었을 것으로 추정된다. 그러므로 이러한 choline성 신경세포와 해마 피질내 신경세포와의 연결 강화로 인하여 PPC 보충군 흰쥐의 기억력이 향상되는 것으로 생각된다.

4. 미로 검사

각 실험군에서 미로검사 실패율을 Table 6에 기술하였다. 평균적으로 D-D군에서 실패율이 가장 높았고 S-S군에서 가장 낮았으며, 특히 이유 이후 첫째 주에는 D-D군에서 실패율이 가장 높았다. 실험중 choline 결핍군의 흰쥐들은 행동이 둔하고 느렸으며 잘 움직이지 않으려는 경향을 보인 반면, PPC 보충군들은 매우 빠르고 날렵한 행동을 보였다.

이는 임신기간 중 choline을 보충받은 어미 쥐에서 태어난 신생 흰쥐는 미로검사에서 공간기억 능력(spatial memory capacity)이 향상되었다는 결과²³⁾와 일치되는 것으로 태생기 혹은 신생기에 적량의 PPC를 보충해주면 뇌의 choline성 신경세포를 활성화시켜 기억 능력에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

결 론

본 실험에서 PPC 보충이 학습 및 기억력에 미치는 영향을 조사하기 위하여 혈청, 간 및 뇌 조직에서 PPC 농도와 CE 활성을 측정하고 choline성 신경세포가 분포하고 투사되는 MSDB complex 및 전뇌기저핵에서 choline성 신경세포의 면역반응 양성세포의 수와 크기의 변화를 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 혈청 및 간 조직의 PPC 농도는 choline 결핍군에서는 낮은 반면 보충군에서는 높은 결과를 나타내었다. 뇌 조직의 PPC 농도는 choline 결핍군에서 낮았고, 보충군에서 높았으며 특히 태생기의 보충 여부에 따라 유의적인 차이를 나타내었다.

2) 혈청 및 뇌 조직의 CE 활성은 choline 결핍군에서 현저히 낮았고 보충군에서 높았다.

3) ChAT 면역반응 양성신경세포의 수는 D-D군 및 D-N군의 MSDB complex 및 전뇌기저핵에서 감소되었으나 N-S군 및 S-S군에서는 다수의 신경세포가 관찰되었다.

4) 미로실험에서 각 군의 평균 실패율은 D-D군이 가장 높았고 N-S군 및 S-S군이 가장 낮았다.

본 연구 결과를 종합하면 PPC는 태생기 및 신생기에 일어나는 뇌 조직 발생에 필수적인 물질로서 결핍시에는 뇌 조직의 발생 및 성장에 장애가 초래된다. 반면 이 기간동안 적량의 PPC를 보충하면 전뇌기저핵 및 해마에서 발생과정 중에 일어나는 신경세포의 위축과 수의 감소를 억제되고 다수의 choline성 신경세포가 보존되어 전뇌기저부와 해마의 신경연접이 강화되므로 기억력 향상에도 영향을 미치는 것으로 사료된다.

Literature cited

1) Kathleen M, Escott Stump S, Vitamins. In: Krause's food, nutrition and diet therapy. 9th ed. WB, Saunders company, pp.115-118, 1996
 2) Hirsch MJ, Wurtman RJ. Lecithin consumption increases acetylcholine concentrations in rat brain and adrenal gland. *Science* 202: 223-224, 1978b

3) Jope RS. Effects of phosphatidylcholine administration to rats on choline in blood and choline and acetylcholine in brain. *J Pharmacol Exp Ther* 220: 322-328, 1982
 4) Jope RS, Jenden DJ. Choline and phospholipid metabolism and the synthesis of acetylcholine in rat brain. *J Neurosci Res* 4: 69-82, 1979
 5) Mesulam MM. Human brain cholinergic pathways. *Progress in Brain Research* 84: 231-241, 1990
 6) Bartus RY, Dean RL, Beer B, Lippa AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 217: 408-416, 1982
 7) Leathwood PD, Heck E, Mauron J. Phosphatidylcholine and avoidance performance in 17 month-old SEC/1ReJ mice. *Life Sci* 30: 1065-1071, 1982
 8) Zeisel SH, Blusztajn JK. Choline and human nutrition. *Ann Rev Nutr* 14: 269-296, 1994
 9) Tucek S. The synthesis of acetylcholine: twenty years of progress. *Progress in Brain Research* 84: 467-477, 1990
 10) Durkin T. Central cholinergic pathways and learning and memory processes: Presynaptic aspects. *Comp Biochem Physiol A. Comp Physiol* 93: 273-280, 1989
 11) Fibiger HC. Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: A review of recent evidence. *Trends Nutr Sci* 14: 220-223, 1991
 12) Auburger G, Heumann R, Hellweg R, Korsching S, Thoenen H. Developmental changes of nerve growth factor and its mRNA in the rat hippocampus: comparison with choline acetyltransferase. *Dev Biol* 120: 322-328, 1987
 13) Robertis D. Cholinergic and noncholinergic nerve ending in rat brain(I). *J Neurochem* 9: 23-35, 1962
 14) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917, 1959
 15) Ellman GL, Courtney D, Andres V. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 88-95, 1961
 16) Lowry OH. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biochem* 193: 265-275, 1951
 17) Robinson G, Ellis IO, MacLennan KA. Immunocytochemistry. In: Bancroft JD ed. Theory and Practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, New York, pp.413-436, 1990
 18) Zeisel SH, Mar MH, Zhou Z, Costa KAD. Pregnancy and lactation are associated with diminished concentrations of choline and its metabolites in rat liver. *J Nutr* 125: 3049-3054, 1995
 19) Garner SC, Mar MH, Zeisel SH. Choline distribution and metabolism in pregnant rats and fetuses are influenced by the choline content of the maternal diet. *J Nutr* 125: 2851-2858, 1995
 20) Zeisel SH, Epstein ME, Wurtman RJ. Elevated choline concentration in neonatal plasma. *Life Sci* 26: 1826-1831, 1980a
 21) Blusztajn JK, Zeisel SH, Wurtman RJ. Developmental changes in the activity of phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase in rat brain. *Biochem J* 232: 505-511, 1985
 22) Braun LD, Cornford EM, Oldendorf WH. Newborn rabbit blood brain barrier is selectively permeable and differs substantially from the adult. *J Neurochem* 34: 147-152, 1980
 23) Meck WH, Smith RA, Williams CL. Organizational changes in cholinergic activity and enhanced visuospatial memory as a function of choline administered prenatally or postnatally or both. *Behav Neurosci* 103: 1234-1241, 1989
 24) Loy R, Heyer D, Williams CL, Meck WH. Choline induced spatial memory facilitation correlates with altered distribution and morphology of septal neurons. *Adv Exp Med Biol* 295: 373-382, 1991
 25) Meck WH, Smith RA, Williams CL. Pre and postnatal choline supplementation produces long term facilitation of spatial memory. *Dev Psychobiol* 21: 339-353, 1988