

원 저

황금과 천마의 학습 및 기억에 미치는 영향

김지현, 황혜정, 김현영, 함대현, 이해정, 심인섭
경희대학교 동서의학대학원 한의과학과 침구경락학교실

Effect of *Scutellaria baicalensis* and *Gastrodia elata* on Learning and Memory Processes

Ji-Hyun Kim, Hye-Jung Hwang, Hyun-Young Kim, Dae-Hyun Hahm, Hye-Jung Lee, In-Sop Shim

Department of Oriental Medical Science, Graduate School of East-West Medical Science,
Kyung Hee University, Suwon, Korea

Learning and memory are essential requirements for every living organism in order to cope with environmental demands, and cholinergic systems are known to be involved in learning and memory. *Scutellaria baicalensis* (SB) and *Gastrodia elata* (GE) as a traditional Oriental medicine have been clinically used to treat or prevent memory deficits, including Alzheimer's disease.

In the present study, we investigated the effects of SB and GE on learning and memory in the Morris water maze task and the central cholinergic system of the rats with excitotoxic medial septum lesions. In the water maze test, the animals were trained to find a platform at a fixed position over 6 days and then received a 60-s probe trial in which the platform was removed from the pool on the 7th day. Ibotenic lesion of the medial septum (MS) impaired their performance in the maze test (latency of acquisition test on the 3rd day, 27.6 ± 4.4 sec vs. 61.7 ± 17.7 sec; retention test, $7.9 \pm 1.3\%$ vs. $5.7 \pm 1.0\%$: sham vs. ibotenic lesioned groups, respectively) and reduced choline acetyltransferase (ChAT) - immunoreactivity in the MS and the hippocampus, which is a marker for degeneration of the central cholinergic system (number of cells, 21.1 ± 1.1 vs. 13.2 ± 1.3 : sham vs. ibotenic lesioned group). Daily administrations of SB (100mg/kg, p.o.) and GE (100mg/kg, p.o.) for 21 consecutive days produced significant reversals of ibotenic acid-induced deficit in learning and memory. These treatments also reduced the loss of cholinergic immunoreactivity in the MS and the hippocampus induced by ibotenic acid.

These results demonstrated that SB and GE ameliorated learning and memory deficits through effects on the central nervous system, partly through effect on the acetylcholine system. Our studies suggest an evidence of SB and GE as treatment for Alzheimer's disease. (*J Korean Oriental Med 2002;23(2):125-138*)

Key Words: learning and memory, Alzheimer's disease, ibotenic lesion, ChAT, *Scutellaria baicalensis*, *Gastrodia elata*

서론

- 접수 : 2002년 1월 25일 · 채택 : 2002년 4월 17일
- 교신저자 : 심인섭, 경기도 용인시 기흥읍 서천리 1번지 449-701, 경희대학교 동서의학대학원 한의과학과 침구경락교실
(Tel. 031-201-2193, FAX: 031-204-4237, E-mail: ishim@khu.ac.kr)
- 본 연구는 Brain Korea 21 project 지원에 의해 이루어졌음.

기억(memory)이란 정보의 저장과 회상이며, 그것을 수시로 사용할 수 있다는 특징이 있는데 이는 모든 학습에서 매우 중요한 일이며, 학습은 중추신경계

의 변화를 수반하며 중추 신경계에 입력된 변화는 영구적 기록으로 저장된다. 또한 인지기능은 인간의 고유한 고차원적 뇌 기능으로 지능, 기억능력, 지남력, 주의집중력, 학습능력, 언어의 이해 및 구사 능력, 문제 해결능력, 판단력, 사회생활능력 등을 말한다¹⁾.

인간은 노화됨에 따라 기억력 장애, 판단력 상실 등 인지적 결함을 동반한 치매(dementia)증상이 나타나는데 뇌가 위축되고 대뇌피질부위로의 콜린성 신경 입력통로인 nucleus basalis of Meynert(nbM)의 신경세포의 수가 급격히 감소되고, 해마(hippocampus)와 대뇌피질(cortex)에서 아세틸콜린의 합성량과 choline acetyltransferase(ChAT)의 활성도 감소와 nicotinic과 muscarinic receptor의 감소를 동반한다^{2,3)}. 특히 기억력 장애는 노인에서 가장 빈번히 호소되는 인지증상으로 감각기억력(sensory memory), 작업기억력(working memory) 및 응고화(consolidation)의 기능저하, 간섭에 대한 감수성(susceptibility to interference)증가 등으로 나타난다. 그리고 복잡한 운동 동작의 수행능력이 저하되고 동작성 지능이 감소되는 경향을 보이는 것은 복잡한 행동과제에 대한 시작, 계획 및 평가(initiation, planning and evaluation) 기능이 저하되는 것으로 생각되고 있고 전두엽 및 변연계의 기능이 변화가 있음을 시사해준다⁴⁾.

치매의 원인에 대해서 여러 가지 설들이 제기되고 있으나 아직 확실하게 검증된 바가 없고, 많은 원인 질환을 가지는 퇴행성 질환이다. 이중 가장 많은 것은 Alzheimer's disease(AD)로서 대체로 모든 치매의 약 50~60%를 차지한다. AD는 서양의학에서는 유전적 요인, 뇌에서 대뇌피질의 위축, 부교감신경과 다른 여러 신경세포의 퇴화, 신경원 섬유 농축체(neurofibrillary tangles: NFTs)의 존재, 노인반(senile plaques)의 축적, 심리적, 환경적 및 생화학적인 요인 등을 들고 있으며, 한의학적으로는 근본적으로 인지 기능이 저하된 소인을 가진 사람이 정서불화에 의해 장부기능이 허해지거나 문란해지고 이에 의해 발생한 담이나 담화가 신지를 손상시켜서 발생한다고 할 수 있다. 실제로 우리 나라에서 AD의 유병률은 65~74세 사이에는 10%, 75~84세 사이에는 19%, 85세

이상에서는 47%로 나타나 있으며, 질환 환자가 약 20만명 이상에 달하고 있고, 사망률은 심혈관 질환, 악성종양, 그리고 뇌졸중에 이어 제 4위를 점하고 있으며, 2000년대 중반까지는 1500만 명의 환자가 발생되리라 예견하고 있는 현실을 감안할 때, 기억력과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려진 손상된 콜린성 신경계를 회복시켜 저하된 인지기능을 개선해 줄 수 있는 약물의 개발이 필요한 실정이다⁵⁾.

현재까지 개발된 약물들에는 아세틸콜린 합성전구물질(acetylcholine precursor)인 Lecithin, 수용체 효능제(receptor agonist)인 RS-86, nicotine 등⁶⁾ 그리고 FDA의 승인을 받아 국내에서도 시판사용중인 아세틸콜린 분해억제제(acetylcholinesterase inhibitor)인 Tacrine과 최근에 승인된 Aricept(E-2020) 등⁷⁻⁹⁾이 있으나 효과가 일시적이고 미약하며 간독성과 오심, 구토등의 말초의 콜린성 증상을 나타내는 부작용의 문제점 때문에 아직 사용에 논란의 여지가 많은 상태이다.

황금(*Scutellaria baicalensis*)은 꿀풀과 다년생 초본 식물로서 주피를 벗긴 뿌리를 사용한다. 「神農本草經」등에 따르면 황금은 주제열황달(主諸熱黃疸), 축수(逐水), 하혈폐(下血閉), 악창저식(惡瘡疽蝕), 화양(火瘍) 등의 효과가 있으며 치장열변갈(治壯熱煩渴), 습열사리(濕熱瀉痢), 열림(熱癩), 붕루(崩癩), 태동불안(胎動不安), 제습열(除濕熱)하는 작용이 있어 임상에서 광범위하게 사용되는 약초 중의 하나이다. 또한 혈당 상승작용, 혈압 강하작용, 해열작용, 항알레르기, 이완작용, 모세혈관 투과성 억제작용들이 보고되었으며, 항염증작용, 지질대사 개선작용, 해독, 항균작용, 이노작용, 항암작용 등이 보고되었다. 이들 약리 활성 발현은 baicalin, baicalein, wogonin과 그들의 배당체들을 포함한 flavonoid 성분과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다¹⁰⁻¹⁵⁾. 천마(*Gastrodia elata*)는 난초과 다년생 기생 초본 식물로 덩이줄기부위를 사용한다. 약효는 풍(風)을 가라앉히고 경계(驚悸)를 진정시키는 효능이 있으며, 돌발적인 두통, 사지 마비, 반신 불수, 소아의 경간 동풍(動風)을 주치(主治)한다. 천마에 대한 신경세포보호작용, 항경련작용, 항

산화작용, 항균작용, 항지질과산화작용, 기억력 손상의 회복 등이 보고되고 있는데 이는 gastrodin, p-hydroxybenzyl alcohol 등이 관여하는 것으로 제시되고 있다¹⁶⁻¹⁹⁾. 최근 연구에 따르면 황금과 천마는 특히 신경세포손상에 대한 보호 효과가 있음이 밝혀지고 있다^{15,16)}.

따라서 본 연구는 안전성이 높은 치매의 예방 및 치료 약물을 개발하고자, 아세틸콜린성 신경세포가 주로 위치한 내측 중격(medial septum)에 흥분성 신경독소인 ibotenic acid를 주입한 기억력 손상모델에서 Morris 수중 미로와 면역조직화학기법(immunohistochemistry)를 이용하여 황금과 천마의 기억 증진 및 콜린성 뉴런의 보호작용을 살펴보고자 하였다.

실험재료 및 방법

2-1. 실험동물

본 실험에 사용한 흰쥐는 Sprague-Dawley계로 생후 10주령(체중 280 ± 10 g)의 수컷(샘타코, 한국)을 구입하여 동물실험실 내 사육실에서 7일간의 적응기간을 갖도록 하였다. 사육실의 온도는 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$ 의 환경을 유지하면서 08:00부터 20:00까지 12시간 간격으로 명암을 조절하고, 고품사료(삼양사료, 경기도)와 물은 무제한 공급하였다.

2-2. 기억손상모델에 의한 실험군 및 대조군

실험군 분리는 모의시술군(Sham, n=4), 내측 중격의 신경세포를 손상시키는 ibotenic acid 손상군(n=6), ibotenic acid 손상+황금 투여군(n=5), ibotenic acid 손상+천마 투여군(n=4)으로 나누었다.

실험군은 쥐에 sodium pentobarbital(50mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후 입체정위 수술장치(stereotaxic apparatus)를 이용하여 내측 중격(AP:-0.2, L: 0.3, H:-6.2)에 ibotenic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 양쪽으로 $4\mu\text{g}$ 씩 주입하였다. 미세주입은 1ml gas-tight glass syringe(Hamilton, Reno, NV, USA)에 polyethylene 튜브로 연결하여 perfusion pump(Pump 22, Harvard Apparatus, South Natick, MA, USA)를 이

용하여 $0.2\mu\text{l}/\text{min}$ 유속으로 $1\mu\text{l}$ 주입 후에 5분간 방치한 다음 syringe를 제거하였다. 각각 손상군에 대한 약물처치는 그 다음날부터 시행하였다. 모의시술군은 손상약물 대신 145mM NaCl, 2.7mM KCl, 1.2mM CaCl₂, 1.0mM MgCl₂로 만든 인공 뇌척수액을 같은 방식으로 주입하였다.

2-3. 약재 제조 및 약물 투여 방법

본 실험에 사용한 약재는 황금과 천마로서 80% 메탄올 용액을 가하여 실온에서 추출하였다. 여과지로 여과한 후 얻어진 여액을 45°C 에서 감압농축하였다. 농축물을 동결건조하여 분말상태로 획득하였으며, 시술 한 동물에게 매일 한차례 일정한 시간인 오전 10시경에 kg당 100mg을 3주간 복강투여한 후 행동검사를 실시하였다.

2-4. Morris 수중 미로의 장치에 의한 학습 및 기억력 측정

수중 미로로 이용되는 수조는 직경이 180cm, 높이가 50cm인 원형통으로 온도가 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 되는 물이 30cm 높이로 채워지게 하였다. 수중 미로의 주변은 비디오 카메라, 실험대, 그리고 수조 주위 벽면에 걸려 있는 각종 도형 모양의 공간단서(cue)들을 일정하게 유지하였다.

도피대는 직경이 12cm인 원형 투명 아크릴에 받침대를 부착하고, 수면보다 1.5cm 낮게 위치시켰다. 수중 미로는 사분면으로 나누어져서 북동(NE), 북서(NW), 남동(SE), 남서(SW)로 구분되고 이중 북동 사분원의 중심부에 도피대가 놓여지고, 나머지 중 하나가 출발위치로 사용되었다. 쥐는 하루에 180초간 4행씩 6일간 훈련을 받으며(acquisition test), 7일째 마지막 시행이 끝나면 자유수영 검사가 시행되는데(retention test) 이때 동물들은 도피대가 제거된 채로 60초간 수영을 하게 하였다. 모든 동물들의 행동은 비디오 카메라로 녹화되는데, 훈련 시행에서는 출발에서부터 올라가는데 걸린 시간을 S-MART 프로그램(Pab Lab, Spain)을 이용하여 측정하였다.

2-5. Choline acetyltransferase(ChAT) Immunohistochemistry

모든 행동 실험이 끝난 직후 실험동물을 sodium pentobarbital(100mg/kg, i.p.)로 마취시키고 saline 100 ml에 이어 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 고정액(fixative) 900ml로 심장을 통해 관류하였다. 처음 고정액 200ml은 5분간 빠른 유속으로, 그리고 나머지 700ml은 25분간 천천히 관류하였다. 그 다음 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2~3시간동안 고정시키고 20% sucrose가 함유된 인산완충액(PBS)에 넣어 4℃에서 하루동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 microtome(Leica, CM1850, Germany)을 이용하여 뇌 조직을 배측(dorsal)과 복측(ventral) 해마, 내측 중격 부위에서 30 μ m의 두께로 자른 다음 PBS로 조직을 몇 차례 씻은 후 ChAT 유전자 발현 연구에 가장 널리 사용되고 있는 primary sheep polyclonal ChAT antibody(Cambridge Research Biochemicals, Wilmington, DE, USA)를 사용하였다. 1차 항체는 PBS에 0.3% Triton X-100 첨가한 PBST에서 2% 토끼 혈청과 0.1% sodium azid(Sigma, St. Louis, MO, USA)로 2000배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 1차 항혈청에 4℃에서 72시간동안 지속적으로 흔들며 주면서 배양하였다. 그 후 3번 이상 조직을 PBST로 씻은 다음 2시간동안 실온에서 2% 토끼 혈청을 함유하는 PBST에서 200배 희석한 biotinylated anti-sheep serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 반응시켰다. PBST로 3번 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 2시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent(Vector)에 담구었다. PBS로 몇 번 행군 다음 조직을 nickel chloride로 강화시키고 착색제로서 diaminobenzidine(DAB)을 사용하여 발현시켰다. 통제군 조직에는 1차 항체를 생략하거나 nonimmuno sheep serum으로 대체하였는데 이들 두 경우 다 특정 표지가 나타나지 않았다.

모든 처리를 거친 뇌 조직을 gelatine-coated slide에 고정하고 공기를 제거하면서 커버글라스를 덮은 후 현미경으로 관찰하였다. 200 \times 200 μ m 크기의 microscope 4각 격자(rectangle grid)를 사용하여 200

배로 확대하여 내측 중격과 해마에서 ChAT-immunoreactive 신경세포의 수를 측정하였다.

2-6. Acetylcholinesterase(AchE) 염색법

뇌 조직을 PBS에 3회 정도 세척한 후 0.1M sodium hydrogen phosphate buffer($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, pH 6.0) 325ml에 acetylcholine iodide 250mg을 녹인 용액에 0.1M sodium citrate 25ml, 30mM copper sulfate 50ml, 5mM potassium ferricyanide 50ml, 증류수 50ml을 넣어 혼합한 후 수초간 기다리면 옅은 녹색을 나타내는데 이때 뇌 조직을 넣고 실온에서 1~2시간동안 배양하였다. 모든 처리를 거친 뇌 조직을 slide에 고정하고 공기를 제거하면서 커버글라스를 덮은 후 현미경으로 관찰하였다. 200 \times 200 μ m 크기의 microscope 4각 격자(rectangle grid)를 사용하여 100배로 확대하여 해마에서 AchE 신경세포의 밀도를 Scion image program(Scion Corp. MD, USA)을 이용하여 측정하였다.

2-7. 통계처리방법

모든 측정값은 평균값 표준오차(mean \pm SEM)로 표시하였고, 각 실험군간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS를 이용하였다. 각 집단간 행동 측정치의 비교는 반복측정 일원분산분석을 시행하였고, 면역조직화학분석법의 측정값은 일원분산분석을 시행하였으며, 사후검증은 LSD를 적용하였다. 전체 실험의 통계적인 유의성은 신뢰구간 $P < 0.05$ 에서 의미를 부여하였다.

결 과

3-1. Morris 수중 미로의 장치에 의한 학습 및 기억력 측정

3-1-1. Ibotenic acid 손상모델에서 수중 미로 학습의 획득시행동안 약물처리군의 효과

각 군 동물의 학습 정도의 측정은 Fig. 1과 같다. 수중 미로 학습에서 6일 동안 180초내 도피대에 도달하기까지의 시간을 측정하는 획득시행에서 제 1일째

모의시술군은 94.2±19.3초, ibotenic acid 손상군은 105.0±14.0초, ibotenic acid 손상+황금 투여군은 130.6±11.9초, ibotenic acid 손상+천마 투여군은 111.8±11.1초로 유의성 없이 비슷하게 나타내었으나, 학습이 진행됨에 따라 마지막 6일째에는 도피대에 도달하는데 소요되는 시간이 모의시술군은 15.3±6.7초, ibotenic acid 손상군은 37.8±8.4초로 감소하였다 [F(3,17)=3.385, P<0.05]. 이에 측정일에 따른 집단별 사후검정(LSD) 결과, 5일째부터 ibotenic acid 손상+황금 투여군이 ibotenic acid 손상군에 대해 통계적으로 유의미하게 감소되었으며(P<0.05), 6일째는 황금과 천마 투여군 모두에서 학습수행에 유의한 증진효과가 관찰되었다 (P<0.05).

3-1-2. Ibotenic acid 손상모델에서 수중 미로 학습의 검사(파지)시행동안 약물처치군의 효과

각 군 동물의 기억력 측정은 Fig. 2와 같다. 수중 미로 학습에서 마지막 날인 제 7일째 도피대를 제거하고 도피대 영역에 머무르는 정도를 측정하는 파지시행에서 모의시술군은 7.9±1.3%, ibotenic acid 손상군

은 5.7±1.0%, 황금 투여군은 7.1±1.4%, 천마 투여군 7.0±1.1%로서 약물 투여군이 ibotenic acid 손상군에 비해 도피대에 머무르는 정도의 유의한 차이는 나타나지 않았으나 [F(3,18)=1.354, P>0.1], 황금, 천마 투여군에서 공간기억력에 대한 증진의 경향성이 나타났다 (손상군과 비교해서 각각 P>0.180, P>0.358).

3-2. Choline acetyltransferase(ChAT) 면역조직화학법

3-2-1. 내측 중격에서 choline acetyltransferase(ChAT) 발현

내측 중격에서 학습의 지표로 이용되는 ChAT를 이용하여 아세틸콜린성 신경세포를 염색한 결과는 Fig. 3과 4와 같다. 모의시술군은 67.9±3.0, ibotenic acid 손상군은 65.6±3.2, ibotenic acid + 황금 투여군은 78.2±3.8, ibotenic acid + 천마 투여군은 76.4±5.7로서 그룹간 유의한 차이를 나타냈으며 [F(3,66)=2.858, P<0.05], 사후검정(LSD) 결과 황금 투여군에서 ibotenic acid 손상군에 비하여 유의하게 ChAT 발현이 증가하였다 (P<0.05).

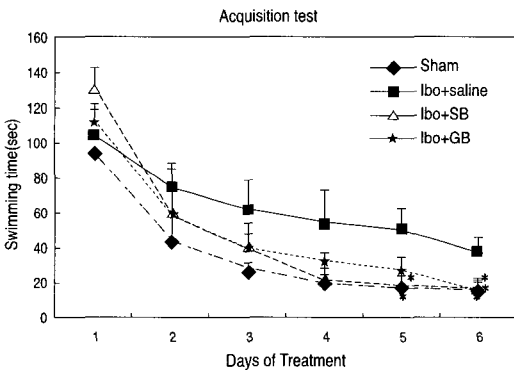


Fig. 1. Comparison of acquisition performance on the Morris water maze task among the four groups of the rats. Mean swimming time traveled per trial. Mean values of the four trials per day for 6 days for each of the four groups are shown. Repeated measures of ANOVA of swimming time among the groups followed by LSD test. *P<0.05 as compared with the corresponding data of ibotenic acid lesion group. SB, *Scutellaria baicalensis*; GE, *Gastrodia elata*

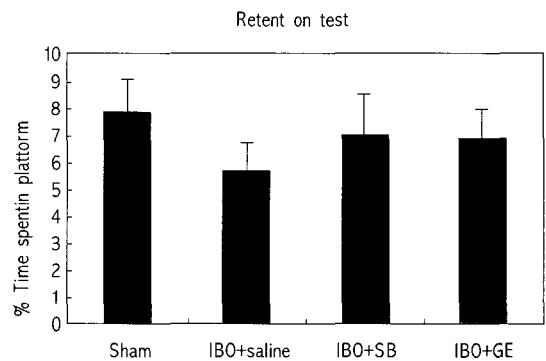


Fig. 2. Comparison of retention performance on the Morris water maze task among the four groups of the rats. Mean percentage time of platform spent swimming per trial. Mean values of the four trials for each group are shown. Separate measures of one-way ANOVA of swimming time among the groups followed by LSD test. Showed no significant differences among the groups. SB, *Scutellaria baicalensis*; GE, *Gastrodia elata*

3-2-2. 해마에서 약물처치군의 choline acetyltransferase(ChAT) 발현

각 군의 해마에서 ChAT 발현정도는 Fig. 5~7 과

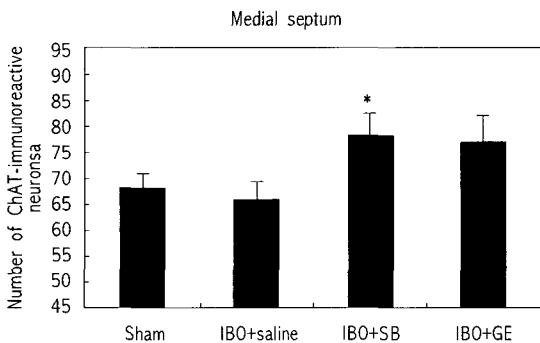


Fig. 3. The mean(±SEM) values of quantities of choline acetyltransferase(ChAT) immunostained nuclei in the medial septum of the experimental groups after water maze learning task 7 days post-operatively. The ChAT results were analysed by performing separate one way ANOVA of neurons among the groups followed by post hoc comparisons using the least significant difference(LSD). *P<0.05 as compared with the corresponding data of ibotenic acid lesion group. SB, *Scutellaria baicalensis*; GE, *Gastrodia elata*

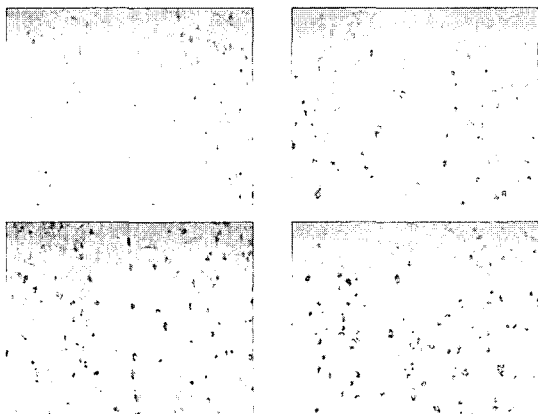


Fig. 4. Photographs showing the distribution of ChAT immunoreactive cells in the medial septum of control (A), ibotenic acid lesioned (B), ibotenic acid + SB (C) and ibotenic acid + GE (D) animals after water maze learning task 7 days post-operatively. Sections were cut coronally at 30µm. SB, *Scutellaria baicalensis*; GE, *Gastrodia elata*

같다. 해마의 CA1 부위에서 ChAT 발현은 모의시술군은 21.1±1.1, ibotenic acid 손상군은 13.2±1.3, ibotenic acid + 황금 투여군은 14.7±1.0, ibotenic acid + 천마 투여군은 15.4±0.8 로서 그룹간 유의한 차이를 나타냈다 [F(3,42)=3.634, P<0.05]. 그룹간 사후검정(LSD) 결과 약물투여군은 유의한 차이가 나타나지 않았으나, ibotenic acid 손상군과 모의시술군의 ChAT 발현의 차이는 유의하게 나타났다 (P<0.05).

해마의 CA3 부위에서 ChAT 발현은 모의시술군은 19.2±1.7, ibotenic acid 손상군은 12.6±1.3, ibotenic acid + 황금 투여군은 17.3±0.5, ibotenic acid + 천마 투여군은 18.3±1.4 로서 그룹간 유의한 차이를 나타냈다 [F(3,42)=4.612, P<0.01]. 그룹간 사후검정(LSD) 결과 모의시술군에서 ibotenic acid 손상군에 비해 유의한 차이가 나타났으며(P<0.01), 약물 투여군 중에서는 천마 투여군에서 ibotenic acid 손상군에 비해 유의하게 ChAT 발현이 증가하였다(P<0.05).

3-3. Acetylcholinesterase(AchE) 염색결과

3-3-1. 해마에서 약물처치군의 acetylcholinesterase(AchE) 발현

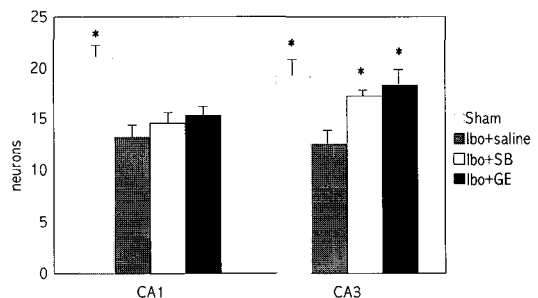


Fig. 5. The mean(±SEM) values of quantities of choline acetyltransferase(ChAT) immunostained nuclei in the different hippocampal areas of the experimental groups after water maze learning task 7 days post-operatively. The ChAT results were analysed by performing separate one way ANOVA of neurons among groups followed by post hoc comparisons using the least significant difference(LSD). *P<0.05 as compared with the corresponding data of ibotenic acid lesion group respectively. SB, *Scutellaria baicalensis*; GE, *Gastrodia elata*

각 군의 해마에서 AchE 발현정도는 모의시술군에 대한 백분율로 나타내었으며 Fig. 8 과 9 와 같다. 해마의 CA1 부위에서 AchE 발현은 모의시술군에 비하

여 ibotenic acid 손상군은 $92.9 \pm 7.8\%$, ibotenic acid + 황금 투여군은 $98.3 \pm 12.7\%$, ibotenic acid + 천마 투여군은 $94.9 \pm 6.3\%$ 로서 그룹간 차이는 나타나지 않

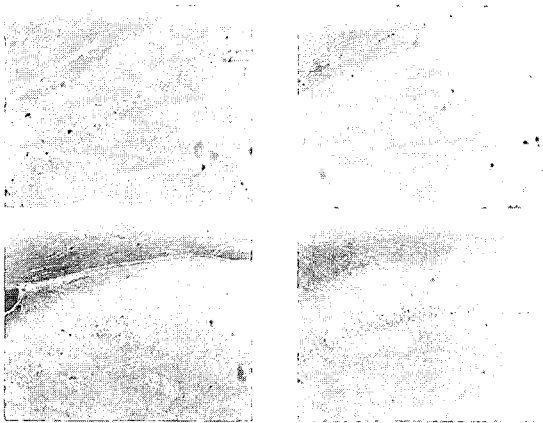


Fig. 6. Photographs showing the distribution of ChAT immunoreactive cells in the hippocampal CA1 region of control (A), ibotenic acid lesioned (B), ibotenic acid + SB (C) and ibotenic acid + GE (D) animals after water maze learning task 7 days post-operatively. Sections were cut coronally at $30\mu\text{m}$. SB, *Scutellaria baicalensis*; GE, *Gastrodia elata*

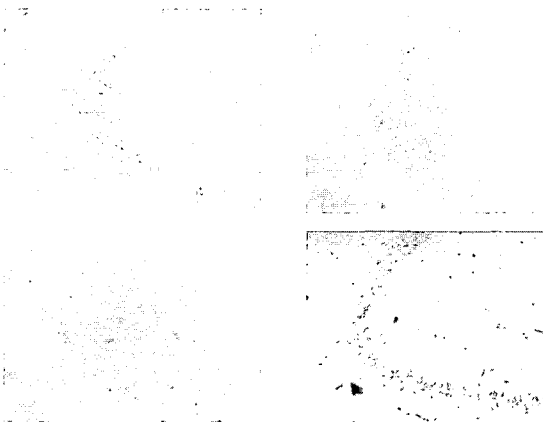


Fig. 7. Photographs showing the distribution of ChAT immunoreactive cells in the hippocampal CA3 region of control (A), ibotenic acid lesioned (B), ibotenic acid + SB (C) and ibotenic acid + GE (D) animals after water maze learning task 7 days post-operatively. Sections were cut coronally at $30\mu\text{m}$. SB, *Scutellaria baicalensis*; GE, *Gastrodia elata*

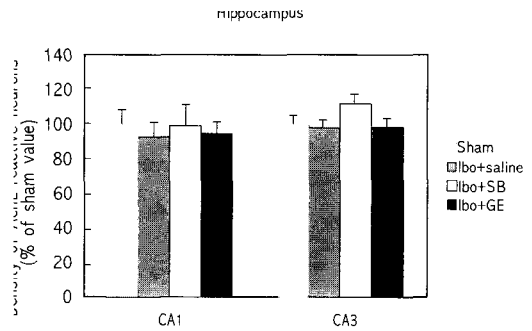


Fig. 8. The percentage (\pm SEM) of sham values of density of acetylcholine esterase (AChE) stained nuclei in the different hippocampal formation areas of the experimental groups after water maze learning task 7 days post-operatively. The AchE results were analysed by performing separate one way ANOVA of neurons among the groups followed by post hoc comparisons using the least significant difference (LSD). There are no significant differences among the groups. SB, *Scutellaria baicalensis*; GE, *Gastrodia elata*

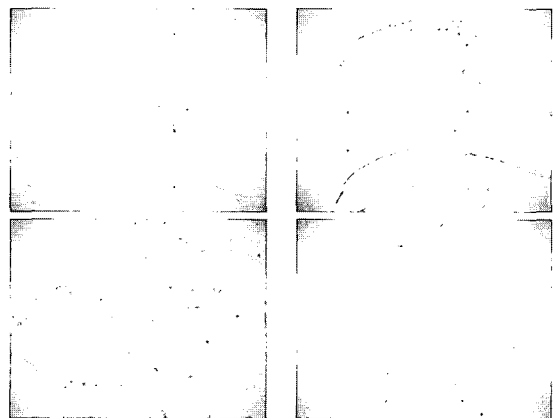


Fig. 9. Photographs showing the distribution of AchE reactive cells in the hippocampus of control (A), ibotenic acid lesioned (B), ibotenic acid + SB (C) and ibotenic acid + GE (D) animals after water maze learning task 7 days post-operatively. Sections were cut coronally at $30\mu\text{m}$. SB, *Scutellaria baicalensis*; GE, *Gastrodia elata*

았다[F(3,77)=0.012, P>0.9].

해마의 CA3 부위에서 AchE 발현은 모의시술군에 비하여 ibotenic acid 손상군은 97.8±4.0%, ibotenic acid + 황금 투여군은 111.5±5.8%, ibotenic acid + 천마 투여군은 98.6±5.1% 로서 그룹간 차이는 나타나지 않았다 [F(3,73)=0.000, P=1].

고 찰

Alzheimer's disease(AD)는 1907년 Alois Alzheimer에 의해 최초로 언급되었는데²⁰, 보편적으로 동양보다는 서양에서, 남성보다는 여성에게서 발생하는 빈도가 높으며, 65세 이상에서 빈발하여 85세 이후에는 25%이상에서 절반에 가까운 인구가 이 질환에 이환되는 것으로 역학적 조사에 의하여 보고되고 있다^{21,22}.

AD의 대표적인 증상 중의 하나는 기억력 장애인데²³, 기억이란 개체가 정신 활동에 필요한 정보를 받아들이 뇌 속에 저장하였다가 필요한 때에 의식 세계로 꺼내어 사용하는 능력을 말하는 것이다²⁴. 기억과 관련된 뇌의 해부학적 구조물은 해마(hippocampus), 뇌궁(fornix), 유두체(mammillary body), 전상상핵(anterior thalamic nuclei) 등 변연계와 상행 망상체(ascending reticular formation) 등으로, 단기 기억은 편도체와 해마가 관여하고, 장기 기억은 측두간을 통과하는 하위 측두피질 및 미상핵과 시상칩을 연결하는 신경섬유가 관계하고 있다고 알려져 있으나 기억은 뇌의 어느 한 부위의 독립적인 활동이 아니며, 뇌 안의 많은 신경 회로들이 서로 교신하여 새로운 학습의 자극에 따라 여러 변화를 일으키는 현상이다²⁵.

AD의 병인론에 대해서는 아직 확실히 밝혀진 바는 없으나, 이전의 많은 동물실험 및 임상연구의 결과를 토대로 최근에는 slow virus의 침범, 아세틸콜린 양의 결핍, 면역계의 이상, 알루미늄 및 기타 금속물질을 포함한 독성물질의 영향과 유전적, 환경적 영향 등의 가설들이 주로 받아들여지고 있으며, 이러한 다양한 요인으로 인해서 병리학적, 신경화학적으로 특

징적인 양상을 나타낸다²⁶.

AD 치료에 많은 약물들이 평가되었고 그 중의 일부는 아직도 사용되고 있다. 그럼에도 불구하고 이 질환의 인지결손을 치료할 수 있는 효능이 확립된 약물은 거의 없는 실정이다. 최근 신경전달물질계에 대한 연구가 진행되고 있어서 치료에 대한 합리적 접근방법이 모색되고 있고 콜린성 기능을 향진시키려는 시도들과 함께 어떤 신경전달물질 경로가 관여하는지에 대한 과정을 규명하고자 하는 연구가 이루어지고 있다. 이에 여러 가지 실험적 모델을 통해 접근하고 있는데 예를 들어, nitric oxide(NO)는 retrograde messenger로서 해마에서 longo-term potentiation(LTP) 형성에 중요한 역할을 담당하는데 L-NAME (NOS inhibitor)투여로 기억을 손상시키는 모델을 사용하였고^{27,28}, non-selective M1 antagonist로서 중추신경계의 muscarinic central cholinergic receptors의 작용을 차단하는 방법으로 scopolamine을 투여하는 모델을 사용하여 학습과 기억에 관련된 신경전달물질의 작용을 약리학적으로 차단하는 방법을 이용하였다^{29,30}. 또한 nucleus basalis of Meynert(nbM) 등을 전기적으로 손상시키는 방법 등을 통해 학습과 기억을 손상시켜 학습과 기억증진에 관한 국소 신경기능의 이론적 연구 및 약물의 치료 효과를 보고자 하였다³¹. 하지만, 이러한 방법들이 학습과 기억에 관련된 특정 신경기능을 국한적으로 손상시키는 방법으로서 부족한 면이 있는 것이 현실이다.

학습과 기억을 담당하고 있는 신경회로를 손상하기 위한 방법으로 kainic acid, ibotenic acid 등의 신경독소 손상(neurotoxin lesion)³²⁻³⁵, cholinergic neurone에 대해 immunotoxin으로 선택적으로 작용하는 192 IgG-saporin등을 이용한 손상, 화학물질 손상(chemical lesion)³⁶⁻³⁸, 전해질 손상(electrolytic lesion), 스트레스 유도인인 손상(stress-induced lesion) 등의³⁹ 다양한 손상 방법을 통해 중추신경계의 학습과 기억에 관련된 신경 생리학적, 신경 병리학적 기전에 대한 연구가 이루어지고 있다. 이렇듯 성공적인 모델 제도는 상당한 어려움이 있으나, 학습과 기억에 관련

된 뇌의 다양한 부위에서의 기능을 선택적으로 차단하는 방법을 통한 학습과 기억에 관련되는 신경회로의 기능을 이해하고 기억손상에 관련된 신경학적 기전을 규명하며, 궁극적으로 안정성이 높은 치료약 및 예방약 개발을 위해 본 연구에서는 일관성 있고 안정적 기억손상 모델로서 기존에 보고된 연구^{40~42)}를 바탕으로 뇌의 콜린성 뉴런이 주로 위치하고 있는 내측 중격을 *ibotenic acid*를 사용하여 손상시켰다.

AD에서는 대뇌의 측두엽, 전두엽, 두정엽의 일차 연합영역(primary association area)이 특히 영향을 받으며, 해마와 편도핵도 심하게 영향을 받는다. 특히 해마의 CA1 부위에서 *pyramidal cell*들이 선택적으로 손상된다. 그리고 *cholinergic system*, *noradrenergic system*, *somatostatin*, *dopamine*, *serotonin*, *GABA* 등이 감소하는 것으로 알려져 있는데, 그 중 *presynaptic neuronal marker*의 생성에 관여하는 효소, 특히 *ChAT*의 활성도가 측두엽의 시피질, 해마와 편도에서 약 50~90% 정도 감소한다⁴³⁾. 또한 AD의 1차 증상인 기억력 감퇴 증상은 콜린성 신경계와 밀접한 관계가 있다는 증거가 다양하게 제시되고 있는데, AD에서 나타나는 기억력 상실과 다른 인지 결함이 신호를 전달해 주는 화학물질인 아세틸콜린을 만들어 내는 신경세포의 퇴화 때문이라고 설명할 수 있다⁴⁴⁾. 실험적인 예로 쥐에게 내측 중격과 nbM 부위에 *ibotenic acid*를 주입하였을 때 각각 해마와 대뇌 피질의 *ChAT*의 활성이 감소하였다고 보고된 바 있다⁴⁶⁾.

Morris 수중 미로 실험은 동물의 공간학습과 기억을 검사하기 위해 사용되며, 공간정보 외의 단서들을 통제하기 쉬운 장점이 있다. 이는 주로 장기기억 능력을 측정하는 과제로서 동물의 주변에 있는 단서들을 사용하여 기억하는 능력 즉 공간기억(*spatial memory*)을 측정하는 것이다⁴⁷⁾. 이는 인간의 경우 외부에서 일어나는 사실들에 대한 정보를 습득하여 기억하고, 그 사실들의 시·공간적 위치를 근거로 행동하는 능력에 해당한다. 이 실험에서 동물들은 물로 채워진 수조(직경 180cm, 높이 50cm 원형) 내에 숨겨진 도피대(*escape platform*)를 찾는 것을 학습한다. 동물들은 어떤 근접단서(*proximal cue*)도 이용할 수 없

고, 냄새를 추적단서로 사용하는 것도 불가능하다. 따라서 검사환경에서 이용할 수 있는 단서들의 배열 내에서 자신의 위치를 학습하여, 숨겨진 도피대를 찾아야 한다. 수중미로 내의 도피대가 시행에 무관하게 일정한 위치에 설정되었으므로 이 과제의 해결에는 공간기억이 필요하다⁴⁸⁾.

Morris 수중 미로를 통한 기존의 기억평가 실험으로 Deupree 등⁴⁹⁾은 흰쥐의 연령증가에 따라 학습과 기억 능력이 저하된다고 보고하였으며, Clark 등⁵⁰⁾은 androgen양합성 물질인 *anabolic-androgenic steroid(AAS)*가 해마체의 변형에 미치는 영향을 평가함에 있어서 공간기억력의 변화를 측정, 보고 하였다. Hickey 등⁵¹⁾은 Morris 수중 미로가 신경손상에 대한 유용한 실험 방법이라고 논하였다.

본 실험에서는 아세틸콜린성 신경세포가 주로 위치하는 내측 중격을 직접적으로 손상시켜 해마로 투사되는 신경세포를 손상시켜 유도된 기억손상 모델에서의 황금과 천마의 효과를 보고자 하였다. 학습 능력은 수중 미로 학습의 획득시행 5일째부터 황금 투여군이 *ibotenic acid* 손상군에 비하여 도피대에 도달하는 시간이 통계적으로 유의미하게 감소되었고, 6일째는 황금과 천마 투여군 모두에서 학습수행에 유의한 증진효과가 관찰되었으며, 파지 시행으로 살펴본 공간기억력은 유의한 차이는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 황금과 천마가 기억의 회상 과정보다는 학습의 습득 과정에 더 효과가 있음을 의미한다. 또한 황금 투여군은 내측 중격 및 해마 CA3부위에서의 *ChAT* 발현이 손상군에 비하여 증가한 것으로 보아 기억력 회복에 효과가 있음을 시사하며 이는 수중미로 학습에서의 학습 및 공간기억에 대한 증진 효과를 반영한다. 천마 투여군은 내측 중격에서는 *ChAT* 발현이 유의성 있게 증가하지 않았으나, 해마 CA3부위에서 통계적으로 유의한 증가를 보였는데 이는 천마가 직접적으로 손상된 내측 중격에서 *ChAT* 회복에는 미비하나, 투사 부위인 해마에서 *ChAT* 발현을 증가시키는 것으로 보아 기억손상회복에 효과가 있음을 알 수 있었다. *AChE* 발현에 있어서 황금소와 천마 모두 통계적으로 유의한 증가를

나타내지 않았으나, 내측 중격에서의 ChAT 발현이 증가된 황금 투여군이 해마에서의 AchE 발현이 증가하는 동일한 경향을 보이는 것으로 보아 황금 투여가 아세틸콜린을 증가시킴을 알 수 있었다. AchE의 경우 아세틸콜린을 분해하는 작용을 하는 것으로 AchE 효소의 발현이 기질의 양에 좌우하므로, 본 실험에서는 AchE가 발현이 많은 것이 아세틸콜린이 많이 존재할 것으로 추정하였다.

황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi)은「神農本草經」에 따르면 '맛이 쓰고 성질은 평하다' 라고 하였으며, 「本草綱目」에서 手少陰, 手陽明, 手太陰, 足太陰, 手少陽經에 귀경한다고 하였다. 「藥性論」에 따르면 능치 열독(能治熱毒), 골증(骨蒸), 한열왕래(寒熱往來), 장위불이(腸胃不利), 파용기(破壅氣), 치오임(治五淋), 영인선창(令人宣暢), 거관절번민(去關節煩悶), 해열갈(解熱渴), 치열복중교통(治熱腹中疝痛), 심복견창(心腹堅脹) 하고, 과도한 陽氣를 제거하고 心을 涼하게 하며 열을 제거하고 寒格을 통하게 한다. 황금의 약리성분인 baicalin, baicalein은 기니 피그의 적출 기관의 알레르기성 수축 및 생체 동물의 알레르기성 천식에 대하여 완화작용을 하고, 또 ephedrine과는 협력 작용을 나타낸다. 항알레르기 작용은 baicalein이 baicalin보다 강하며, 이 항알레르기 작용은 비만세포의 효소활성계(SH-효소)를 저해함으로써 알레르기 전달물질의 분비를 억제하고 알레르기를 일으키지 않을 뿐만 아니라 평활근 자체에 대해서도 직접적인 이완 작용을 갖는다. 시험관 내에서는 적리간균, 디프테리아균, 녹농간균, 포도상 구균, 연쇄상 구균, 폐렴쌍구균, 수막염균 등에 대하여 억제작용을 하는 항미생물 작용이 있다. 그 외에도 강압, 이뇨 작용, 이담, 진경 작용 및 진정작용 등이 있다^{10-15,52}.

천마(*Gastrodia elata* Blume)는「神農本草經」에 따르면 '맛이 매우며 성질은 溫하다' 고 하였으며, 「本草綱目」에서 肝經의 氣分에 귀경한다고 하였다. 「藥性論」에 따르면 치냉기완비(治冷氣頑痺), 탄완불수(癱緩不遂), 어다황홀(語多恍惚), 다경실지(多驚失志)의 효능 있으며, 陽氣를 돕고 五勞七傷을 보양하고 혈액순환을 촉진시키고 竅를 열리게 한다. 주로 한방

임상에서는 고혈압, 두통, 마비, 신경성 질환, 당뇨병 등의 심각한 성인병 뿐만 아니라 스트레스, 파로 등의 증상에 대하여 효능이 있는 것으로 알려져 있는데, 천마의 덩이줄기에 있는 gastrodin, p-hydroxybenzyl alcohol, β -sitosterol, daucosterol 등의 약리성분으로 기인된다^{16-19,53}. 토끼에게 천마의 당제 1g/kg 또는 vanillin 40g/kg을 정맥 주사한 결과 전기쇼크로 인한 경련의 역치를 높여주고 간질 같은 발작을 효과적으로 억제시켰으며 뇌파에 있어서 전간성 방전의 발전이 억제되었다. 모르모트 실험성 전간에 대하여 천마 50% 에탄올 침출물을 0.25~1g/kg을 매일 주사하며 3~6일 치료하였는데 간질병 발작이 없어졌고 약의 사용을 중지한 지 10일이 지나서 약효가 없어졌다. vanillin 0.1~0.2g/kg을 매일 주사하여 5~6일 치료하였는데 즉시 효과가 있었고 약을 중지한 5~7일에 약효가 없어졌다. 천마의 실험성 전간에 대한 효과는 phenytoine sodium 보다 완만하지만 약을 끊은 후의 유효 지속 시간이 길다. 또한 토끼에 천마의 당제 5g/kg을 복강내 주사한 결과, 땅에 엎드리고 호흡이 완만해졌다. 마우스를 전기 자극법으로 실험한 결과 천마는 뚜렷한 진통 작용은 없었으나 열판법에 의한 실험에서는 상당한 진통작용이 인정되었다⁵⁴.

이들 약물에 대한 연구는 지금까지 다양하게 진행되고 있지만, 치매 치료를 위한 기억력 손상 회복에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 실험에서는 내측 중격에 ibotenic acid 주입한 기억력 손상 모델에서 황금과 천마의 알코올 추출물의 효능을 살펴본 결과 3주 동안 지속적인 투여 후 수동미로검사를 이용한 행동학적 변화에 있어 공간 학습 능력 및 기억 측정 결과 손상을 다소 회복시켰으며, 신경화학적 변화에 있어서 학습 및 기억에 관련된 아세틸콜린성 신경세포의 손상을 억제하였는데 이는 해마에서 ChAT의 활성을 증가시키는 것으로 사료된다. 황금과 천마의 치매에 대한 예방약 및 치료제의 개발을 위하여 본 연구에서 채택한 치매모델 외에도 scopolamine 투여 또는 해마의 전해질 손상 등 다양한 치매 모델에서 수동회피학습, 방사선미로학습 등

여러 가지 학습 파라다임을 이용하여 향후 지속적인 연구가 필요하다.

결론

본 연구는 *ibotenic acid*를 내측 중격에 주입하는 대표적인 기억력 손상 모델에서 황금과 천마를 지속적으로 투여한 후 행동학적 방법으로 수중 미로를 이용하여 학습과 기억에 대한 효과와 면역조직화학 분석법으로 내측 중격과 해마 부위에서 아세틸콜린성 신경세포의 활성을 살펴본 결과 다음과 같다.

1. 수중 미로 학습의 획득시행에서 *ibotenic acid* 손상군이 모의시술군에 비해 도달대에 도달하는데 소요되는 시간이 유의하게 증가하였으며 5일째부터 황금 투여군에서 학습수행에 유의한 증진효과를 보였으며, 6일째는 황금 투여군과 천마 투여군 모두 유의한 증진효과를 보였다.

2. 수중 미로 학습의 검사시행에서 그룹간 통계적 유의미한 차이는 없었다.

3. 조직분석법에서 *ibotenic acid* 손상군은 모의시술군에 비해 내측 중격과 해마에서 ChAT 면역반응세포와 AchE 발현을 감소시켰으며, 특히 CA1 부위는 CA3 부위보다 모의시술군에 비하여 콜린성 세포의 감소와 퇴화가 많이 일어났다. 면역조직화학분석 결과 내측 중격에서는 황금 투여군이, 해마 CA3부위에서는 황금과 천마 투여군 모두 손상된 ChAT 발현을 회복시키는 소견을 보였다.

4. AchE 염색법에서 그룹간 유의미한 차이는 나타나지 않았다.

참고문헌

1. 박종환, 김희철. 노화에 관련된 인지기능 감퇴. 계명 의대논문집 1997; 16(3): 382-389.
2. Roth ME. Advances in Alzheimer's disease. The Journal of Family Practice. 1993; 37(6): 593-607.
3. 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 Res. 1996; 726(1-2): 69-79.

4. Andrea EM, Lynn C, Larry E. Alzheimer's Disease. In Pharmacotherapy: a pathophysiologic approach. New York: Elsevier Science Publishing Co. Inc. 1996: 1325-1344.
5. 서유현. 알츠하이머병(Alzheimer disease : 노인성 치매)의 분자생물학. 생화학 뉴스. 1992; 12(4): 238-241.
6. Kaplan PW, Allen RP, Buchholz DW, Walters JK. A double-blind, placebo-controlled study of the treatment of periodic limb movements in sleep using carbidopa/levodopa and propoxyphene. Sleep. 1993; 16(8): 717-723.
7. Lukaszewaka L. Scopolamine impairs object exploration but not habituation in rats. Acta Neurobiol Exp(Warsz). 1993; 53(1): 243-250.
8. Dawson GR, Iversen SD. The effects of novel cholinesterase inhibitor and selective muscarinic receptor agonists in tests of reference and working memory. Behav Brain Res. 1993; 57(2): 143-153.
9. Dennes RP, Barnes JC. Attenuation of scopolamine-induced spatial memory deficits in the rat by cholinomimetic and non-cholinomimetic drugs using a novel task in the 12-arm radial maze. Psychopharmacology(Berl). 1993; 111(4): 435-441.
10. Wu JA, Attele AS, Zhang L, Yuan CS. Anti-HIV activity of medicinal herbs: usage and potential development Am J Chin Med. 2001; 29(1): 69-81.
11. Li BQ, Fu T, Gong WH, Dunlop N, Kung H, Yan Y, Kang J, Wang JM. The flavonoid baicalin exhibits anti-inflammatory activity by binding to chemokines. Immunopharmacology. 2000; 49(3): 295-306.
12. Chang WH, Chen CH, Lu FJ. Different effects of baicalein, baicalin and wogonin on mitochondrial function, glutathione content and cell cycle progression

- in human hepatoma cell lines *Planta Med.* 2002; 68(2): 128-32.
13. Schinella GR, Tournier HA, Prieto JM, Mordujovich D, Rios JL. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts *Life Sci.* 2002; 18;70(9):1023-33.
 14. Du X, Li B, Pan Y, Mali. A histochemical study on baicalin. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* Chinese. 1998; 23(3): 137-8.
 15. Kim YO, Leem K, Park J, Lee P, Ahn D, Lee BC et al. Cytoprotective effect of *Scutellaria baicalensis* in CA1 hippocampal neurons of rats after global cerebral ischemia. *J Ethnopharmacol.* 2001; 77(2-3): 183-8.
 16. Kim HJ, Moon KD, Oh SY, Kim SP, Lee SR. Ether fraction of methanol extracts of *Gastrodia elata*, a traditional medicinal herb, protects against kainic acid-induced neuronal damage in the mouse hippocampus. *Neurosci. Lett.* 2001; 13;314(1-2): 65-8.
 17. Hsieh CL, Chiang SY, Cheng KS, Lin YH, Tang NY, Lee CJ et al. Anticonvulsive and free radical scavenging activities of *Gastrodia elata* Bl. in kainic acid-treated rats. *Am J Chin Med.* 2001; 29(2): 331-41.
 18. Luo H, Wang L, Chen H, Xue Z. Effects of tian-ma injection on myocardial ischemia and lipid peroxidation in rabbit. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao.* Chinese. 1992; 123(1): 53-6.
 19. Hsieh MT, Wu CR, Chen CF. *Gastrodin* and p-hydroxybenzyl alcohol facilitate memory consolidation and retrieval, but not acquisition, on the passive avoidance task in rats. *J Ethnopharmacol.* 1997; 56(1): 45-54.
 20. Alzheimer, A. ber eine eigenarte Erkrankung der Hirnrinde. *Zentralbl Nervenheik.* 1907; 30: 177-9.
 21. 우종인 외. 한국의 한 농촌 지역에 거주하는 노인에서의 치매의 유병율. *신경정신의학.* 1997 ; 36(1): 92-101.
 22. Chui H, Zhang Q. Evaluation of dementia; A systematic study of the usefulness of the American Academy of Neurology's Practice Parameters. *Neurology.* 1997; 49: 925-935.
 23. 박종환. 노인의 기능 상태 평가. *신경정신의학.* 1995; 34(3): 636-641.
 24. 장현갑 외 7인. *심리학.* 서울: 교육과학사. 1985: 241-281.
 25. 박만상. *정신생물학.* 서울: 지식산업사. 1994: 222-235.
 26. Katzman R. Alzheimer's disease. *N Eng J med.* 1986; 314: 964-973.
 27. Ohno M, Yamamoto T, Watanabe S. Deficits in working memory following inhibition of hippocampal nitric oxide synthesis in the rat. *Brain Res.* 1993;31;632(1-2): 36-40.
 28. Wiley JL, Willmore CB. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on timing and short-term memory in rats. *Behav Pharmacol.* 2000; 11(5): 421-9.
 29. Carli M, Balducci C, Samanin R. Low doses of 8-OH-DPAT prevent the impairment of spatial learning caused by intrahippocampal scopolamine through 5-HT(1A) receptors in the dorsal raphe. *Br J Pharmacol.* 2000; 131(2): 375-81.
 30. Hiramatsu M, Inoue K. Improvement by low doses of nociceptin on scopolamine-induced impairment of learning and/or memory. *Eur J Pharmacol.* 2000; 28;395(2): 149-56.
 31. 정재환, 김덕곤, 정승기, 이진용, 김장현, 조규석. 녹용 및 보아탕 가 녹용이 어린 흰쥐의 학습과 기억에 미치는 영향. *경희대논문집.* 2000; 23(1): 07.
 32. Nag S, Tang F. Cholinergic lesions of the rat brain by ibotenic acid and 192 IgG-saporin; effects on somatostatin, substance P and neuropeptide Y levels in the cerebral cortex and the hippocampus. *Neurosci Lett.* 1998; 14;252(2): 83-6.
 33. Hung et al. Ibotenic acid-induced lesions of the medial septum increase hippocampal membrane associated protein kinase C activity and reduce acetylcholine synthesis : Prevention by a phosphatidylcholine/vitamin B12 diet. *J. Nurt. Biochem.* 2000; 11: 159-

- 164.
34. Sarkisian MR, Tandon P, Liu Z, Yang Y, Hori A, Holmes GL et al. Multiple kainic acid seizures in the immature and adult brain; ictal manifestations and long-term effects on learning and memory. *Epilepsia*. 1997; 38(11): 1157-66.
 35. Stubley-Weatherly L, Harding JW, Wright JW. Effects of discrete kainic acid-induced hippocampal lesions on spatial and contextual learning and memory in rats. *Brain Res*. 1996; 15;716(1-2): 29-38.
 36. Janis LS, Glasier MM, Fulop Z, Stein DG. Intraseptal injections of 192 IgG saporin produce deficits for strategy selection in spatial-memory tasks. *Behav Brain Res*. 1998; 90(1): 23-34.
 37. Shen J, Barnes CA, Wenk GL, McNaughton BL. Differential effects of selective immunotoxic lesions of medial septal cholinergic cells on spatial working and reference memory. *Behav Neurosci*. 1996; 110(5):1181-6.
 38. Wrenn CC, Wiley RG. The behavioral functions of the cholinergic basal forebrain; lessons from 192 IgG-saporin. *Int J Dev Neurosci*. 1998; 16(7-8): 595-602.
 39. Mizoguchi K, Yuzurihara M, Ishige A, Sasaki H, Chui DH, Tabira T. Chronic stress induces impairment of spatial working memory because of prefrontal dopaminergic dysfunction. *J Neurosci*. 2000; 15;20(4): 1568-74.
 40. Baskys, A. Metabotropic receptor and slow excitatory actions of glutamate agonists in the hippocampus. *Trends Neurosci*. 1992; 15: 92-96.
 41. Dunnett SB, Everitt BJ, Bobbin TW. The basal forebrain-cortical cholinergic system ; Interpreting the functional consequences of excitotoxic lesions. *Trends Neurosci*. 1991; 14: 494-501.
 42. Eikenboom M, Blokland A, Van Der Staay FJ. Modelling cognitive dysfunctions with bilateral injections of ibotenic acid into the rat entorhinal cortex. *Neuroscience*. 2000; 101(1): 27-39.
 43. Bullock BL. Pathophysiology adaptation and alterations in function 4th edition. Philadelphia: Lippincott. 1996: 1095-1097.
 44. De Vente J, Markerink-van Ittersum M, Van Abeelen J, Emson PC, Axen H, Steinbusch HW. NO-mediated cGMP synthesis in cholinergic neurons in the rat forebrain : effect of lesioning dopaminergic or serotonergic pathway on nNOS and cGMP synthesis. *Eur J Neurosci*. 2000; 12(2): 507-519.
 45. Park CH, Kim SH, Choi W, Lee YJ, Kim JS, Kang SS et al. Novel anticholinesterase and anti-amnesic activities of dehydrodiamine, a constituent of *Evodia rutaecarpa*. *Planta Med*. 1996; 62(5): 405-409.
 46. Yamasaki R, Yamashita M, Taguchi K, Okada M, Ikeda H. The role of two major cholinergic systems in memory acquisition and retention in the eight-arm radial maze. *Int. J. Geriatr. Psychiatry*. 1992; 7: 173-181.
 47. Yamazaki M, Matsuoka N, Kuratani K, Ohkubo Y, Yamaguchi I. FR121196, a potential anti-dementia drug, ameliorates the impaired memory of rat in the Morris water maze. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995; 272(1): 256-263.
 48. 정봉교 외 2인. 흰쥐의 내측중격핵 손상이 Morris 수 중미로과제의 학습에 미치는 효과. *한국심리학회지*. 1993; 5: 29-44.
 49. Deupree DL, Turner DA, Watters CL. Spatial performance correlated with in vitro potentiation in young and aged Fisher 344 rats. *Brain Res*. 1991; 554(1-2): 1-9.
 50. Clark AS, Mitre MC, Brinck-Johnsen T. Anabolic androgenic steroid and adrenal steroid effects on hippocampal plasticity. *Brain Res*. 1995; 679(1): 64-71.
 51. Hickey RW, Akino M, Strausbaugh S, De Courtm-Myers GM. Use of the Morris water maze and acoustic startle chamber to evaluate neurologic injury after asphyxial arrest in rats. *pediatr Res*. 1996;

(326) 대한한의학회지 제23권 제2호(2002년 6월)

- 39(1): 77-84.
52. 이경순 외. 완역 중약대사전. 서울: 도서출판 정담. 1999: 5001-5010.
53. Baek NI, Choi SY, Park JK, Cho SW, Ahn EM, Jeon SG et al. Isolation and identification of succinic semialdehyde dehydrogenase inhibitory compound from the rhizome of *Gastrodia elata* Blume. Arch Pharm Res. 1999; 22(2): 219-24.
54. 이경순 외. 완역 중약대사전. 서울: 도서출판 정담. 1999: 4105-4110.