

台封飲이 콜린성 신경세포손상 백서의 학습 및 기억에 미치는 영향

박종수 · 지규용 · 임현섭*

동의대학교 한의과대학, 한방바이오연구센터

Effects of Taebong-eum on Learning and Memory Function in the Cholinergic Cell Damaged Rat

Jong Soo Park, Gyoo Yong Chi, Hyun Sup Eom*

Department of Oriental Medicine, Biomedical Research Center of Oriental Medicine, Donggwi University

This research was done to make the effective prescription and cope with various senile dementia. So Sprague-Dawley rats were injected with ibotenate to make a damage on learning and memory functions. At first acquisition test and retention test were done in the Morris water maze. And to evaluate the effects of the sample drug(TBM) on choline acetyltransferase and acetylcholine esterase, immunoreactive measurement and enzymatic activity measuring were carried out. The ibotenic acid were injected to hippocampus CA1 and CA3 area. The results were as following. TBM improved the learning ability in the acquisition test and memory function in the retention test significantly. And TBM increased the level of ChAT which is synthesizing acetylcholine in CA3 area, and at the same time it increased the level of AChE which is resolving acetylcholine. These results show that TBM improved the cholinergic catabolism and anabolism, and the increment of metabolic activity of cholinergic system. In other words, it contributes to the recovery of damaged learning and memory function by ibotenic acid. So it can be concluded that TBM will be helpful to cholinergic brain damage induced by primary or senile reduction of acetylcholine secretive activity

Key words : Taebong-eum(台封飲, TBM) dementia, learning, memory, choline acetyltransferase, acetylcholine esterase

서 론

과학기술이 발달할 수록 노년층이 많이 증가하는 선진국에서와 같이 우리 나라에서도 치매는 이미 노인 인구의 10%에 달할 만큼¹⁾ 사회적으로 중요한 비중을 차지한다. 치매는 기억력, 사고력, 지남력, 이해력, 계산능력, 학습능력, 언어 및 판단력 등을 지적 기능의 전체적 장애를 포함하는 임상증후군이며 핵심적인 증상은 고위피질기능과 충동제어기능의 장애, 인격손상이 동반되는 단기 및 장기 기억의 손상이고 이러한 점진적 기억장애에 의해 失語症, 失認症, 失行症 등과 사회활동장애를 나타낸다²⁾. 따라서 이러한 고등진신기능의 퇴행은 인격의 해체와 인간성의 파괴라는 면에서 환자 본인의 절망감 뿐 만 아니라 주위에 있는 가족에게도 지대한 고통을 가져다준다. 치매를 일으키는 질병군으로는 Alzheimer's disease(AD)와 Pick's disease 및 frontal degeneration등의 원발성 치매, 혈관성 치매, 매독이나 만성 감염증에 의한 치매, 파킨슨병이

나 헌팅톤 무도병 혹은 기타 신경장애를 일으키는 원발질환에 부속된 속발성 치매, 외상성 치매, 비타민결핍성 치매, 중독성 뇌손상 질환 등을 들 수 있다³⁾. 이 중에서 알츠하이머 치매는 중추신경 계통에 발생한 원발성의 퇴행성 變性疾病으로 1990년 중국 상해에서의 조사결과 65세 이상 노인인구의 4.69%가 치매였는데 이 중 약 60%가 알츠하이머병이었고 약 27%가 혈관성 치매였으며⁴⁾ 구미국가에서도 AD가 약 50-90%를 점한다²⁾. 우리 나라에서는 오래 전부터 老耄이라는 말을 주로 사용하였는데 '노년기의 妄靈'이란 의미에서 가장 근사하다고 볼 수 있다. 한의학에서 痴呆와 가장 근사한 병명이 사용되기 시작한 것은 明代 이후인데 張景岳⁵⁾의 <景岳全書·雜證謨·癡狂癡呆>에서 "癡呆證은 平素에 痰이 없거나 或은 正氣의 鬱結, 소원의 불성취, 오랜 근심, 疑惑, 驚恐 등이 깊어지면서 점차 癡呆에 이르게 되는데 言辭가 顛倒하고 舉動이 不經하며 多汗, 善愁하는 증상이 나타나고 심하면 희귀한 양상으로도 발전 하지만 맥은 반드시 弦數하거나 或大或小하다" 고 하여 현재의 AD와 매우 흡사한 설명을 하고 있다. 그리고 呆와 呆는 같은 글자이므로 실제로는 痴呆와 같다. 清代에 들어서는 陳士鏗과 錢鏡湖 등이 呆病을 언급하여 현대적인 의미의 치매와 거의 같게 되었다.

* 교신저자 : 임현섭, 부산광역시 진구 양정동 45-1, 동의대학교 한의과대학
E-mail : hseom@donggwi.ac.kr, Tel : 051-850-8644

· 접수 : 2002/09/27 · 수정 : 2002/10/30 · 채택 : 2003/01/13

이처럼 500여년 전부터 동양에서는 치매라는 병명을 기록하고 치료해왔는데 이 중에서 黃連解毒湯은 心肝火旺으로 인한 性急 躁動 不安 등의 神志障礙를 치료할 수 있는 처방이며⁶⁾ 四物湯은 補血과 調血을 함께 하여 血의 耗損이나 營血虛滯, 月經不調 등에 활용하는 처방이다⁷⁾. 치매에 관한 실험적 연구는 주로 행동실험과 분자생물학적 연구의 두 부분으로 나뉘어지는데 전자는 Morris water maze와 radial arm maze를 이용한 기억과 학습능력에 대한 관찰이고 후자는 대부분 병리단백질이나 지질의 축적에 관여하는 유전자들의 발현양상에 대한 것이다. 치매를 치료하기 위한 기존의 연구보고로는 山楂⁸⁾, 七福飲⁹⁾, 調胃升清湯¹⁰⁾, 溫膽湯¹¹⁾, 定志丸¹²⁾, 蓼茸地黃湯¹³⁾, 蘇合香元¹⁴⁾, 香附子八物湯¹⁵⁾, 麝香蘇合元¹⁶⁾, 加減補陽還五湯¹⁷⁾, 加減固本丸¹⁸⁾ 등의 처방을 주로 백서의 기억세포손상 병태모델에 투여하여 유효성 실험을 실시하였다. 이러한 내용을 볼 때 주로 補腎, 安神, 補血, 開竅醒神 등의 처방을 응용하였음을 볼 수 있다. 그렇지만 조발성 혹은 노년성의 치매 중에서도 心肝火盛을 나타내는 환자에게 투여할 수 있는 처방에 대한 연구는 찾아볼 수 없었다. 따라서 火熱을 위주로 한 病機에 대한 치료처방의 실험적 근거를 평가하기 위하여 黃連解毒湯과 四物湯을 합하고 神志를 안정시키는 약재를 가미하여 台封飲을 처방하였다. 그리고 ibotenic acid를 백서의 해마영역에 주입하여 콜린성 신경전달을 차단한 다음 maze 내에서의 행동양상을 분석하여 대조군과 비교하였으며 이에 유의한 실험결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 동물 및 약재

250~300g의 Sprague Dawley(SD)系 雄性白鼠를 대한실험동물센터에서 供給받아 使用하였다. 動物은 實驗室 環境(溫度 22±1℃, 濕度 50±5%)에 2週日間 適應시킨 후 健康한 白鼠만을 實驗에 使用하였다. Feeding은 固形飼料(三養社, Korea)와 精製水를 자유로이 攝取하게 하였다. 實驗에 使用된 藥材는 광명제약(주)에서 購入한 규격화약품을 精選하여 使用하였으며 태봉음(TBM)은 四物湯과 黃連解毒湯에 수종의 약재를 가미하여 구성하였다. 처방 내용은 다음과 같다.

韓藥名	生藥名	用量
熟地黃	Rehmaniae Radix	7.50
川芎	Cnidii Rhizoma	7.50
當歸	Angelicae gigantis Radix	7.50
芍藥	Paeoniae Radix	7.50
黃連	Coptidis Rhizoma	3.75
黃柏	Phellodendri Cortex	3.75
黃芩	Scutellariae Radix	3.75
梔子	Gardeniae Fructus	3.75
白茯苓	Poria	3.00
石菖蒲	Aconitum Rhizoma	3.00
砂仁	Amomi Semen	3.00
天麻	Gastrodiae Rhizoma	3.00
鈞鈎藤	Uncariae Ramulus et Uncus	3.00
遠志	Polygalae Radix	3.00
木香	Saussureae Radix	3.00
竹茹	Bambusae Caulis in Taeniam	3.00
枳實	Ponciri Fructus	3.00

2. 檢液의 조제

태봉음 5점 분량 360g을 3,000ml round flask에 넣고 蒸溜水 2,000ml를 添加하였다. 원료약재를 3時間 동안 加熱 抽出하고 濾過紙를 利用하여 沈澱物을 제거하였다. 이 濾過液을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 減壓 濃縮하고, 이 濃縮液을 -8 4℃ deep freezer에서 4時間 동안 放置하였다가 24時間 동안 freeze dryer로 凍結乾燥하여 粉末을 얻었으며 이를 적당히 희석하여 實驗에 使用하였다.

3. 머리수술(surgery)

Male Sprague-Dawley rat을 sodium pentobarbital로 복강주사하여 마취하고 Koff microinjecter가 부착된 stereotaxic frame에 5μl Hamilton syringe를 올려 ibotenic acid(Sigma, phosphate-buffered saline에 6μg/6μl로 희석)를 hippocampus의 CA1 부위에 5분(0.2ml/min)동안 1μl를 주입하여 hippocampus CA1 부위의 신경세포 손상이 유발된 동물을 이용하였다. 2~3일의 회복기간 후 TBM(100mg/kg, 100mg/ml)을 총 28일간 1일 1회 경구투여하고 29일째 모리스 수중미로(Morris water maze)에 의한 공간 학습 및 기억력 측정을 시작하였다. 수중미로 훈련을 시행하는 7 일간에도 시행 30분 전에 TBM을 경구투여하였다.

Acetylcholinesterase(AChE)와 choline acetyltransferase(ChAT)의 activity 측정부위는 CA1-3이다. (Hippocampus CA1 coordinate: AP=-3.8mm, ML=±2.0mm, DV=-3.2mm. CA3 coordinate: AP=-5.3mm, ML=±5.0mm, DV=-6.0mm이다¹⁹⁾).

4. 공간 학습과 기억능력 측정 및 평가

수중미로로 이용되는 수조(pool)는 직경이 1.8m-2m인 원형수조이며 온도가 27±2℃ 되는 물로 약 30cm 깊이로 채운 후 무독성 흰물감(non-toxic white paint)이나 우유(milk)로 물의 색을 흐리게 한다. 수조는 4개의 동일한 사분원으로 나누어 북동(NE), 북서(NW), 남동(SE), 남서(SW)로 구분하고 사분원의 중심부에 도피대(escape platform)를 수면보다 1 ~ 1.5cm 낮게 놓았다. 4개의 동일한 사분원의 각 점을 각 시행의 출발점으로 삼는데 수중미로 주변은 4개의 다른 모형을 이용하여 외부단서(extramaze cues)를 벽에 부착하고 주위 환경을 동일하게 유지하였다. 먼저 획득 시험(Acquisition test)은 6일간 하루에 4행(four trial) 훈련하고 이때 180초 동안 출발에서부터 도피대에 올라가는데 걸린 시간(latency)과 거리(path length)를 측정하였다. 획득 시험 실시 후, 기억 시험(Retention test)은 7 일째 자유 수영 검사로 시행하며 이 때 실험 동물들은 도피대를 치우고 90초 동안 도피대의 2배 직경 안에서 머무는 시간과 거리를 측정하여 기억 시험으로 평가하였다.

5. ChAT Immunohistochemistry

모든 행동 실험이 끝난 직후 실험동물을 sodium pentobarbital(100 mg/kg, i.p.)로 마취시키고 saline 100ml 및 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 용액 900ml를 심장에 관류하였다. 처음 고정액 200ml는 5 분간 빠른 유속으로, 그리고 나머지 700ml는 25 분간에 걸쳐 천천히 관류하였다. 그 다음 뇌를

꺼내 같은 고정액으로 2~3 시간동안 고정시키고 20% sucrose가 함유된 phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 4℃에서 하루동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌조직을 背側과 腹側의 海馬, medial septum 및 diagonal band 부위에서 30 μ m의 두께로 잘랐다. PBS로 조직을 몇 차례 씻고 다음에 ChAT 유전자 발현 연구에 가장 널리 사용되고 있는 primary sheep polyclonal ChAT antibody(Cambridge Research Biochemicals, Wilmington, DE)를 사용하였다. 1차 항체는 PBS에 0.3% Triton X-100 첨가한 PBST에서 2% 토끼 혈청과 0.1% sodium azide(Sigma, St. Louis, MO)로 2000배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 1차 항혈청에 4℃에서 72 시간동안 지속적으로 흔들며 주면서 배양하였다. 그 후 3번 이상 조직을 PBST로 씻은 다음 2시간 동안 실온에서 2% 토끼 혈청을 함유하는 PBST에서 200배 희석한 biotinylated anti-sheep serum (Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 반응시켰다. PBST로 3번 씻은 다음, 뇌조직은 실온에서 2시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent(Vector)에 담구었다. PBS로 몇 번 헹군 다음 조직을 nickel chloride로 강화시키고 착색제로서 diaminobenzidine을 사용하여 발현시켰다. 모든 처리를 거친 뇌조직을 gelatin coated slide에 고정하고 공기를 제거하면서 커버글라스를 덮은 후 현미경으로 관찰하였다. 200 x 200 μ m 크기의 microscope 4각 격자로 200배 확대하여 medial septum내 ChAT-immunoreactive 신경세포의 수를 측정하였다.

6. AChE의 Activity 측정

Sodium pentobarbital(100mg/kg, 복강주사)로 실험 동물을 마취한 상태에서 0.9% 생리 식염수(100ml)와 4% formalin 인산 완충액(500ml)을 심장에 관류시킨 다음, 뇌를 적출하여 4% formalin-인산완충액(고정액)에 2~3시간 담가둔 후, 20% sucrose를 함유한 인산완충액(PBST)에 담고 4℃에서 12시간 저장하였다. 다음 날 뇌를 급속냉동한 후 microtome을 이용하여 30 μ m의 절편을 제작한 다음 몇 개의 절편은 cresyl violet 염색을 거쳐 위치와 손상부위를 microscope로 확인하였다. 먼저 20ml 0.2M PBST에 10 μ l의 acetylcholine(Ach)과 2% normal goat serum(NGS 400 μ l) 8 drop과 0.15% sodium azide(Sigma, StLouis, MO, 20mg)를 넣어 일차 항체(primary antibody)용액을 만들었다. 뇌조직 절편을 24-well plate에 각각 담고 일차 항체용액을 500 μ l 정도 넣어 4℃ cold chamber에서 73시간 숙성하였다. 20ml 0.2M PBST에 1% goat blocking serum 4drop과 biotinylated anti-rabbit made in goat(200:1)을 넣어 이차 항체(secondary antibody)용액을 만든다. 일차 항체와 결합시킨 뇌조직을 PBST에 3회 씻어낸 후 이차 항체용액을 500 μ l 정도 넣어 상온에서 2시간 숙성하였다. 20ml 0.2M PBST에 ABC kit의 A 8 drop과 B 8 drop을 넣어 ABC 용액을 만들고 secondary antibody 시킨 뇌조직을 PBS에 3회 씻고 ABC 용액에 넣어 상온에서 2시간 숙성하였다. 마지막으로 200 μ l Nicl(nickel chloride 8%, 80mg/ml H₂O)와 67ml hydrogen peroxide(3%, 30% H₂O₂에 190 μ l)와 20ml 0.1M Tris(1.55g Trimza/100ml H₂O, pH=7.2)를 10mg DAB (diaminobenzidine)에 넣어 DAB 용액을 만든 다음 뇌조직을

PBS에 3회 씻고 DAB 용액에 2분간 담구었다가 꺼내 coverglass에 올려 현미경하에서 AChE 밀도(density)를 세심하게 측정하였다.

결 과

1. TBM 투여군에 대한 Morris 수중미로의 획득점사결과

TBM의 수중미로화습에서 도피대에 도달하기까지의 시간변화는 Table 1.의 acquisition test 결과와 같다. 6일 동안 180초 내에 도피대에 도달하기까지의 시간을 측정하는 획득시행에서 정상군(무시술군), 모의시술군, ibotenic acid 손상군, ibotenic acid 손상+TBM 약물투여군의 집단간 차이가 있었으며 학습이 진행됨에 따라 도피대에 도달하는데 소요되는 시간이 집단간 차이를 보였다. 이에 측정일에 따른 집단별 사후검정(LSD) 결과, 제1일째부터 모의시술군에 비해 ibotenic acid 손상군의 학습능력이 현저히 저하되었다(p<0.05). 이에 비해 TBM 투여군에서는 학습수행에 유의한 증진효과가 관찰되었는데, ibotenic acid 손상군에 비해 1일째부터(p<0.05) 학습수행에 유의한 증진효과가 나타났고 1일, 2일, 3일, 4일, 6일에 각각 ibotenic acid 손상군에 비해 학습수행에 유의한 증진효과가 관찰되었으며 획득시행동안 도피대에 도달하는 시간이 유의하게 감소하였다(p<0.05).

Table 1. Effect of herbal medicine(C) on the acquisition test and the retention test of water maze task.

Group	acquisition test		
	1day	2day	3day
normal	78.1±11.87a	76.9±8.93	31.60±5.62
sham	108.9±12.76	94.3±11.94	29.5± 7.89
lesion	150.1±13.21	120.8±13.35	101.5±16.39
TBM	122.8±18.1	44.6±12.3	27.8±12.0

Group	acquisition test			retention test
	4day	5day	6day	7day
normal	40.6±4.29	21.8±2.18	16.8±3.89	11.9±2.02
sham	19.4±4.68	22.8±4.48	20.2±3.54	10.9±1.07
lesion	52.3±5.55	37.6±7.97	35.4±6.68	6.0±0.61
TBM	18.9±5.6	16.1±5.0	9.5±2.5	12.8±2.16

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. Comparison of retention performance on the Morris water maze task among the four groups of the rats. Means time spent in annulus(twice the size of platform). Repeated measures of ANOVA of swimming time between the sham and ibotenic acid lesion group. a : Mean ± Standard Error

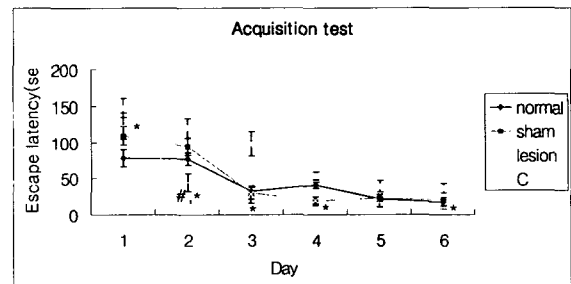


Fig. 1. Acquisition of the water escape task in a circular pool by normal rats, sham-operated rats, rats after bilateral injections of 6 μ g/ μ l ibotenic acid into the hippocampus(CA1) and herbal medicine (C)-treated rats. Session means and standard errors of the means(S.E.M) of the latency to escape onto a submerged platform. Data were analyzed by repeated ANOVA and followed by LSD test. #, P<0.05 vs sham group *, P<0.05 vs lesion group

2. TBM 투여군에 대한 Morris 수중미로의 파지검사결과

각 군의 수중미로학습에서 파지시행에 의한 도피대에 머무르는 시간은 Table 1.의 retention test 결과와 같다. 마지막 날인 제 7일째에 도피대를 제거하고 도피대 영역에 머무르는 정도를 측정하는 파지시행에서 정상군(무시술군), 모의시술군, ibotenic acid손상군, ibotenic acid손상+TBM 투여군간 도피대에 머무르는 정도에 유의한 차이가 나타났으며, ibotenic acid손상+TBM 투여군에서 ibotenic acid손상군에 비해 학습수행에 증진효과를 보였다 (P<0.05).

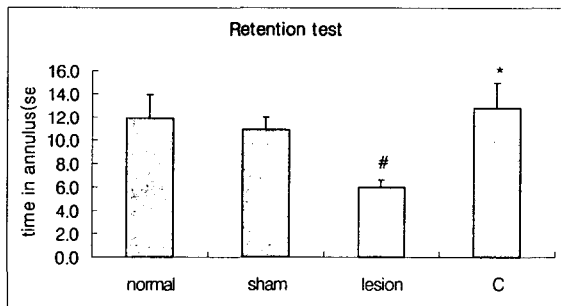


Fig. 2. Effect of normal, sham surgery, bilateral hippocampal lesions, herbal medicine(C) on the performance of rats in the spatial morris water escape task during the probe trial. The lesions were induce ibotenic acid. Means and standard errors of the means (SEM) of the time speant in annulus(twice the size of platform). Data were analyzed by repeated ANOVA and followed by LSD test. #, P<0.05 vs sham group *, P<0.05 vs lesion group

3. Hippocampus에서 choline acetyltransferase(ChAT) 발현

해마의 CA1부위와 CA3부위에서 학습의 지표로 이용되는 ChAT를 이용하여 acetylcholine성 신경세포를 염색한 결과는 Table 2.와 같다. 모의시술군, ibotenic acid 손상군, ibotenic acid 손상+TBM약물투여군의 집단간 사후검정(LSD) 결과 모의시술군에 비해 ibotenic acid손상군에서 ChAT성 신경세포가 유의하게 감소했고 (p<0.05), CA1부위에서 ibotenic acid손상군과 TBM 투여군간의 ChAT 발현이 증가하는 경향이 관찰 되었고, CA3부위에서 TBM 투여군이 모의시술군과 ibotenic acid손상군에 비하여 ChAT 발현이 유의하게 증가하였다 (p<0.05).

Table2. ChAT Activity and AChE Activity in the Hippocampus

Experimental group	ChAT		AChE	
	CA1	CA3	CA1	CA3
sham	22.72±0.98 [#]	23.16±0.41	126.11±2.94	122.5±3.59
lesion	19.94±0.94	18.77±1.21	114.94±1.99	116.22±2.41
TBM	22.11±1.16	21.94±0.66	121.55±3.26	120.27±2.81

4. Hippocampus에서 AChE 발현

해마의 CA1 부위와 CA3 부위에서 AChE 발현의 결과는 Table2.와 같다. 모의시술군, ibotenic acid손상군, ibotenic acid손상+TBM 투여군의 그룹간 사후검정(LSD) 결과 ibotenic acid손상군은 모의시술군에 비해 AChE 발현의 차이는 유의하게 나타났고(각 p<0.05), CA3에서 ibotenic acid손상+TBM 투여군이 모의시술군과 ibotenic acid손상군에 대해 AChE발현이 유의하게 증가하였다(p<0.05).

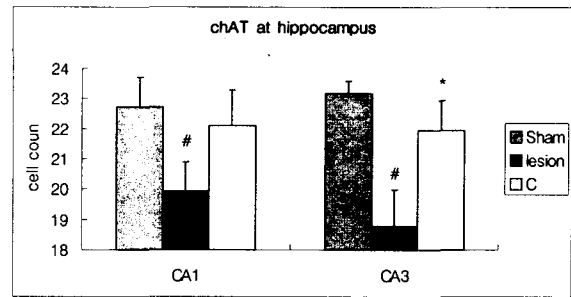


Fig. 3. The mean(±SEM) values of quantities of choline acetyltransferase(ChAT) immunostained nuclei in the hippocampus (CA3) of the experimental groups after water maze learning task 7 days post-operatively. The ChAT results were analysed by performing separate one way ANOVA of neurons among the groups followed by post hoc comparisons using the least significant difference(LSD). #, p<0.05 as compared with the corresponding data of sham group. *, p<0.05 as compared with the corresponding data of ibotenic acid lesion group.

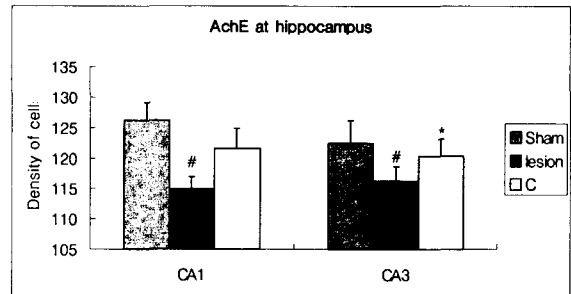


Fig. 4. The percentage(±SEM) of sham values of density of acetylcholine esterase(AChE) stained nuclei in the different hippocampal formation areas of the experimental groups after water maze learning task 7 days post-operatively. The AChE results were analysed by performing separate one way ANOVA of neurons among the groups followed by post hoc comparisons using the least significant difference(LSD). #, p<0.05 as compared with the corresponding data of sham group. *, p<0.05 as compared with the corresponding data of ibotenic acid lesion group.

고찰

치매는 신경계의 퇴행성 질환(neurodegeneration) 중 개인적으로 뿐만 아니라 사회경제적으로도 가장 타격이 큰 질환에 속한다. 병리학적으로 치매가 발생하는 이유는 대뇌피질의 신경세포가 진행성으로 소실되기 때문인데 여기에는 Alzheimer disease, Pick D, Vascular D, Creutzfeldt-Jacob D, Neurosyphilis, Lewy body D. 등이 포함된다. 그렇지만 이 중에서도 치매의 가장 일반적인 원인이 되는 것은 Alzheimer 병이다. 만일 신경세포 소실이 subcortical area인 basal ganglia이나 deep white matter에서 일어난다면 tremor와 dyskinesia가 주요 증상이 되지만 동시에 정서와 감각계통의 증상도 수반하기 때문에 치매양상이 나타나기도 하고 때로는 심각한 치매증상으로 발전하기도 하는데 여기에 속하는 대표적인 질환이 Parkinson병과 Huntington병이다²⁰. 그렇지만 이 외에도 치매를 일으키는 질병은 매우 다양하며 <내과학>에는 약 50여종의 질환들을 열거하고 있다. 歐美에서 痴呆를 일으키는 원인질환중 Alzheimer병이 전체 비율의 약 50-90%를 차지하며 혈관성 치매와 飲酒에 의한 것이 약 5-10%, 기타 약 10% 정도이다. 반면에 일본을 포함한 아시아나 스칸디

나비아 지방에서는 입원환자 통계로 볼 때 혈관성 치매가 더 많은 것으로 되어 있다²¹⁾. 그러나 미국에서의 일본계 혈통을 가진 치매환자에 대한 역학조사 결과에서는 Alzheimer병이 약 2.45배 많은 것으로 조사되었다²²⁾. 또한 혈관성 치매는 뇌의 다발성 경색(multifocal infarct)에 의한 것인데 특징적으로 주기적인 악화와 호전이 반복된다는 점에서 지속적인 악화를 나타내는 알츠하이머병과 다르며 고혈압이나 색전(embolism)등의 심맥관계 질환이 선행한다는 점도 역시 다르다. 그러므로 순전히 痴呆라 하면 일반적으로 Alzheimer 병을 지칭하게 된다. Alzheimer 병의 신경병리학적 본질은 limbic system과 association neocortex, 그리고 basal forebrain 영역에 비가역적이고 진행성으로 신경자극 수용이 이루어지지 않는 것(deafferentiation)이며²³⁾ 해부병리학적으로는 amyloid β peptide가 축적되어 형성된 신경반(neuritic plaque)과 과인산화된 타우단백질(hyperphosphorylated τ)의 축적에 의한 신경섬유농축(neurofibrillary tangle)이라 할 수 있다²⁴⁾. 그러므로 알츠하이머 치매의 분자생물학적인 연구는 주로 이들 단백질을 코딩하는 presenilin gene이나 apoE gene, tau gene²⁵⁾, 염증, 酸化, aluminium 등을 중심으로 연구되고 있지만 임상적으로는 증후를 보다 직접 제어하는 방법이 필요하다. 치매의 증상을 관찰해 보면 기억력 장애가 가장 현저하며 보통 초기에 나타나는데 주로 오래된 사건보다는 최근의 사건에 대한 손상이 위주이다. 더 진행되면 주의 집중, 언어기능, 시공간 지각기능, 시청각 등의 감각기능, 수리계산, 실행증(apraxia), 문제해결능력 등에 장애가 발생하며 우울증, 성격변화, 감정둔마 등의 정신적 이상도 수반된다. 이러한 기억력 減退와 정신 및 행동의 장애는 choline성 神經系(cholinergic system)인 ChAT, AChE, muscarinic and nicotinic acetylcholine receptors 등과 密接한 關係가 있다고 알려져 있는데, 특히 choline성 神經細胞의 退化에 의해 뇌내 신경전달물질인 acetylcholine의 분비가 不足해지기 때문인 것으로 생각된다²⁶⁾. 또한 Yamada등²⁷⁾은 acetylcholine 受容體群의 하나인 M5 muscarinic receptor가 부족해지면 뇌혈관 및 세동맥의 확장을 일으키지 못하여 결과적으로 알츠하이머병과 국소성 뇌빈혈을 일으키게 된다고 설명하였다. 또한 최근에는 functional neuroimaging 기술에 의해 알츠하이머병에서 나타나는 신경정신계통 증상들의 腦局所定位 연구가 진행되어 증후들의 의의가 더욱 세밀해졌다. 예를 들면 anterior cingulate는 apathy 증상과, orbitofrontal 및 anterior cingulate의 tangle는 agitation과, orbitofrontal 및 mid-temporal 영역의 muscarinic M2 receptor의 증가는 psychosis 및 hallucination과 관련된다. 또 dopamine과 serotonin receptor의 유전적 다형성(polymorphism)은 aggression과 hallucination 및 psychosis와 관련되고, 치매를 동반한 Parkinson's disease와 Lewy body dementia는 보통 cholinergic deficiency에 의한 병리기전을 나타낸다²⁸⁾. 한편 acetylcholine은 加水分解하는 酵素인 AChE에 의해 choline과 acetic acid로 분리되면서 불활성화된다. 반대로 합성될 때에는 acetyl CoA가 choline에 acetate를 공급하는 급원이 되는데 ATP를 필요로 하며 이 과정을 촉매하는 효소가 ChAT이고 이 효소는 K^+ 과 Mg^{++} 에 의해 활성화된다²⁹⁾. 따라서 어떤 원인에

의해 ChAT가 줄어들거나 AChE가 증가되면 치매관련 증후들은 더욱 深化³⁰⁾³¹⁾³²⁾되며 K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , ATP 등을 포함한 여러 부수적인 요인들이 관여하게 된다. 현재 cholinergic system의 AChE 억제기전을 응용한 치료제로는 Tacrine과 Aricept가 있는데 특히 Aricept(Donepezil)는 800여명의 중규모 임상시험에서 다른 뇌기능 개선제보다 효과가 우수한 것으로 보고되었지만³³⁾ 독성으로 인해 아직도 논란의 여지가 있으며 따라서 아직도 안전하게 효과적으로 사용할 수 있는 치매치료제는 여전히 숙제로 남아있다³⁴⁾. 한의학에서 痴呆의 명칭에 관한 기록은 장경약이 처음인 것으로 보인다. <靈樞·癲狂>에서는 癲癩이라 하여 비교적 자세히 다루었으며, 혹은 癲病(<素問·長刺節論>)이라고도 하였다. 또한 증후상으로는 善忘이나 心實, 虛勞중의 心衰와 肺氣衰<靈樞·千年>등의 범주에서도 다루어졌다. 痴呆라는 병명이 정식으로 쓰이게 된 시기는 明代 이후인데 張景岳³⁵⁾의 <景岳全書·雜證謨·癲狂痴獸>에서 "痴獸證, 凡平素無痰, 而或以鬱結, 或以不遂, 或以思慮, 或以疑惑, 或以驚恐, 而漸致痴獸, 言辭顛倒, 舉動不經, 或多汗, 或善愁, 其證則千奇萬怪, 無所不至, 脈必或弦或數, 或大或小, 變易不常"이라 하여 치매의 주요 증상과 辨證, 治法에 대하여 매우 근사하게 설명하고 癲癩과도 구분하였다. 다만 여기서 獸는 呆와 同字이므로 痴呆와 같은 病名으로 볼 수 있다. 그리고 清初의 陳士鏗³⁶⁾은 <石室秘錄·呆病>에서 "呆病, 如癲而默, 默不言, 如飢而悠悠如失也. 意欲癲而不能, 心欲狂而不敢, 有時數日不省, 有時坐數日不眠, 有時將己身衣服密密縫完, 有時將他人物件深深藏掩, 與人言而神遊, 背人言則低聲而泣訴, 與之食則厭薄而不吞, 不與食則吞炭而若快, 此等證, 雖有崇憑之, 實亦胸腹之中, 無非痰氣, 故治呆無奇法, 治痰即治呆也. 而痰氣最盛, 呆氣最甚"이라 하여 癲病과 구분하고 증상도 매우 상세하게 기술하였다. 痴呆의 원인에 대해서는 張景岳이 주로 鬱結과 思慮, 驚恐 등의 情志傷의 요인을 언급한 반면 陳士鏗은 痰氣라고 주장하여 相異한데 王清任³⁷⁾은 <醫林改錯>에서 "所以小兒無記性者, 腦髓未滿, 高年無記性者, 腦髓漸空"이라 하여 小兒 및 老年의 고등정신기능이 손상되는 원인은 腦髓의 문제임을 揭示하였다. 이 외에 善忘과 虛勞 등의 範疇를 종합하여 痴呆의 원인에 대한 學說을 정리하면 髓海不足, 肝腎不足, 脾腎兩虛, 痰濁阻竅, 氣滯血瘀, 心腎不交, 心肝火旺, 心氣不足³⁸⁾ 등으로 세분할 수 있다³⁹⁾⁴⁰⁾. TBM은 이 상에서 특히 火熱과 氣滯血瘀에 중점을 두고 처방을 구성하였다. 그 이유는 임상경험상 中風과 동반한 치매환자가 전형적인 치매인 AD보다 많기 때문에 신경계 및 순환계에 작용하는 약물이 일차적으로 필요하다는 생각 때문이다. 처방중의 四物湯은 <太平惠民和劑局方·卷九婦人諸疾>에 나온 것으로 當歸, 川芎, 白芍, 熟地黃으로 구성되어 있는데 이는 肝血이 虛하여 上部 頭腦를 영양하지 못하고 衝任脈이 空虛해진 경우에 쓰기 위한 처방이다. 그러므로 頭暈 耳鳴 驚惕 등과 寤寐不安 減少 등이 생기고 血行이 不暢해져서 臍腹部가 作痛하는 경우에 사용된다. 속지황은 甘溫하여 滋陰養血하는 효능이 있고, 當歸는 甘辛溫하여 補血養肝 和血調經하는 효능이 있으며, 白芍藥은 酸微寒하여 和營養肝하고, 川芎은 辛溫하여 活血行滯하므로 전체적으로 補血調血行滯하는 작용이 있어서 순환기계 질환에 적합하다⁴¹⁾. 한편 黃連解毒湯은

<外臺秘要>에서 인용된 것으로 黃連 黃芩 黃柏 梔子の 네가지로 구성되어 있는데 一切의 火熱과 煩躁狂亂症 및 外科瘡瘍疔毒에 쓰이는 처방이다. 황련은 中焦의 胃火를 瀉하고 황금은 上焦의 肺火를 瀉하며 黃柏은 下焦의 腎火를 瀉하고 梔子는 三焦의 火를 瀉하여 膀胱으로 내려보낸다. 그러므로 火가 熾盛해서 생기는 譫語나 不眠 狂症 등의 神志異常을 치료하는 효능이 있다⁴²⁾. 또한 白茯苓은 甘淡微澁하고 性平하여 開心益智하고 安魂養神하므로 신경이상흥분, 정신불안, 심계항진, 불면 등을 다스리는功效이 있고, 石菖蒲는 辛辛溫하여 위로 神明을 通하고 心氣를 透하여 腦神經의 疲鈍으로 인한 시청각장애, 神志不滿, 健忘, 耳聾 등에 사용하며, 遠志는 苦辛溫하여 豁痰利竅하고 安神益智하여 健忘 怔忡 癲癩 등에 사용할 수 있으니 이는 痴呆로 인한 뇌신경계 기능장애를 제거하는데 효과적이다. 天麻는 辛平하여 通血脈 疏痰氣하므로 頭痛 頭眩眼黑과 言語不遂 등에 사용하며 鈎鈎藤은 甘微苦寒하여 除心熱 平肝氣하고 解熱鎮靜鎮痙劑가 되므로 頭痛眩暈 痙攣抽搐 등의 신경계 질환에 사용하고 竹茹는 甘寒하여 清熱化痰 除煩止嘔하므로 中風舌強과 煩熱嘔吐 등에 사용한다. 木香과 枳實 砂仁 등은 疏導行滯하고 消食化痞하여 用藥을 이롭게 한다⁴³⁾. 따라서 TBM은 뇌신경계와 순환계에 골고루 작용하여 정신활동을 안정시키고 혈액순환을 원활히 하여 신경세포의 산소 및 에너지 고갈을 방지하며 기능을 활성화할 것으로 예측된다. 첫번째 획득시험에서 TBM은 첫 날부터 유의하게 학습능력을 향상시켰으며 7일째 실시한 기억시험에서도 통계적으로 유의한 효과를 보임으로써 기억능력의 개선이 일시적인 것이 아니라 장시간 유지될 수 있음을 입증하였다. 한편 ibotenate에 의해 손상된 대조군은 정상군 및 sham수술군보다 학습능력이 현저히 감소되어 병증모델이 정상적으로 유발되었음을 보여주었다. 이러한 학습 및 기억능력의 개선과 cholinergic neuron의 활성화와의 관련성을 평가하기 위해 ChAT를 측정하였는데 여기에서도 TBM은 CA3영역에서 유의하게 증가하였으며 AChE에 대해서도 통계적으로 유의하게 분해효소를 증가시켰다. 그렇지만 CA1 구역에서는 증가의 경향성만 나타났고 유의성은 인정되지 않았으나 전체적으로 보아 Ach의 합성을 증가시키는데 기여한 것으로 보인다. 이러한 결과는 TBM이 hippocampus에서 cortex에 이르는 pathway에서 cholinergic neuron의 고갈을 억제하고 Ach의 대사활성을 높임으로써 학습 및 기억능력을 증가시킨 것으로 볼 수 있다. 따라서 TBM은 기억력 감퇴나 노년기의 치매성 증후에 대한 개선제로써 활용될 수 있을 것이다. 즉 心熱을 제거하여 대사정체된 독성물질의 배출과 行血作用을 활성화하고 肝內 및 맥관내의 瘀血을 제거하며 비기의 運化作用을 振作하여 전신의 기혈순환 및 뇌부위의 대사활동을 촉진하기 위해 처방된 TBM은 예상된 약리효과를 발휘하였다고 볼 수 있다. 그렇지만 본 처방이 많은 약재로 구성된 複方이고 표준용량과 구체적인 적용범위 및 역가의 안정성을 기하기 위해서는 주요능을 발현하는 약재와 유효분획에 대한 추가연구가 있어야 하고 여타 신경전달물질인 glutamate나 GABA 등에 대한 영향정도도 아울러 연구되어야 할 것으로 생각된다.

결론

태봉음이 학습 및 기억능력 개선과 acetylcholine의 분해 및 합성에 대해 미치는 약리작용을 평가하기 위한 본 연구에서 다음과 같은 결론을 얻었다. 태봉음은 손상백서의 획득시험에서 유의성 있게 학습능력을 향상시켰고, 손상백서의 파지시험에서 유의성 있게 기억능력을 향상시켰다. 또, ChAT와 AChE를 유의성 있게 증가시킴으로써 아세틸콜린의 생합성과 분해를 증가시켰다. 따라서 태봉음은 acetylcholine의 대사과정을 촉진시켰으며 이러한 dual activity가 백서의 신경계에 균형적으로 작용하여 학습 및 기억능력을 향상시켰으므로 향후 노화나 콜린성 신경전달물질의 대사활성 감소로 인한 치매질환에 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

참고문헌

1. 우종민, 유형근, 홍진표, 이정희: 한국노인인구의 치매의 역학적 특성에 관한 연구, 서울대학교병원 대형공동연구과제 연구보고서, pp. 1-9, 1994.
2. 하수영, 加減固本丸이 痴呆病態모델에 미치는 영향, 대전대학교대학원 석사학위논문, p. 34, 2001.
3. Jean Wilson, Eugene Braunwald, Kurt Isselbacher, Robert Petersdorf, Joseph Martin, Anthony Fauci, Richard Root. Harrison's Principle of Internal Medicine, 12th ed. MacGraw Hill Com., p. 190.
4. 劉茂才, 黃培新主編: 神經科專病中醫臨床診治, 人民衛生出版社, p. 83, 2000.
5. 張介賓, 景岳全書(上), 上海科學技術出版社, 上海, p.576, 1959.
6. 劉茂才, 黃培新主編: 神經科專病中醫臨床診治, 人民衛生出版社, p. 92, 2000.
7. 南京中醫學院主編, 中醫方劑學, 上海科學技術出版社, p.162, 1982.
8. 채종걸, 정인철, 이상용: 山楂가 CT105로 유도된 Alzheimer's Disease모델에 미치는 영향, 동의신경정신과학회지 13(1): 79-116, 2002.
9. 손정석, 류영수, 七福飲이 老化 白鼠 腦組織의 生化學的 變化에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(2):25~38, 1997.
10. 우주영 외, 調胃升清湯이 흰쥐의 방사형미로 학습과 기억에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(1):69~80, 1997.
11. 鄭仁哲, 李相龍, 溫膽湯이 腦組織이 酸化作用에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(2):51~62, 1997.
12. 崔龍坡, 成彊慶, 文炳淳. 定志丸이 腦組織의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 實驗的 研究, 大韓韓醫學會誌, 19(1):392~409 1998.
13. 金保岡, 李相龍. 蓼茸地黃湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 9(1):59~72, 1998.
14. 홍대성, 김종우, 황의완. 麝香蘇合元이 情緒反應性과 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 學習에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 10(1):17~38, 1999.

15. 유재면 외, 香附子八物湯이 흰쥐의 방사형 迷路學習과 記憶에 미치는影響, 동의신경정신과학회지, 9(2):1~24, 1998.
16. 이조희 외, 麝香蘇合元이 흰쥐의 방사형 미로 학습과 기억에 미치는 영향, 동의신경정신과학회지, 9(2):37~44, 1998.
17. 文誠秀·李相龍 : 加減補陽還五湯이 생쥐의 學習과 記憶의 減退 및 Acetylcholinesterase의 抑制에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지 11(1):19~36, 2000.
18. 하수영, 정인철, 이상용: 加減固本丸이 치매병태모델에 미치는 영향, 동의신경정신과학회지, 13(1): 53-78, 2002.
19. Paxinos G, Watson C. The Rat Brain, In stereotaxic coordinates, 4th Ed., San Diego, Academic Press, 1998.
20. Ramzi Cotran, Vinay Kumar, Tucker Collins. Robbins Pathologic Basis of Disease, 6th ed., WB Saunders, pp. 1329-33, 1999.
21. Wilson et. al, Harrison's Principle of Internal Medicine, 12th ed. MacGraw Hill Com., p. 190.
22. A.B. Graves, E.B. Larson, S.D. Edland et al., Prevalence of dementia and its subtypes in the Japanese American population of King County, Washington State. The Kame Project. Am J Epidemiol 144, pp. 760-771, 1996.
23. Perry EK, Perry RH, Blessed G, Tomlinson BE. Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia: CAT and GAD activities in necropsy tissue. J Neurol Sci 34:247-265, 1977.
24. Eliezer Masliah, Abbyann Sisk, Margaret Mallory, Lennart Mucke, Dale Schenk, and Dora Games. Comparison of Neurodegenerative Pathology in Transgenic Mice Overexpressing V717F-Amyloid Precursor Protein and Alzheimer's Disease, J. Neurosci. 16: 5795-5811, 1996.
25. Trojanowski JQ, Lee VM. The role of tau in Alzheimer's disease, Med Clin North Am. 86(3):615-27, 2002.
26. Kasa P, Rakonczay Z, Gulya K. The cholinergic system in Alzheimer's disease. Prog Neurobiol 52(6):511-35, 1997.
27. Yamada M, Lamping KG, Duttaroy A, Zhang W, Cui Y, Bymaster FP, McKinzie DL, Felder CC, Deng CX, Faraci FM, Wess J. Cholinergic dilation of cerebral blood vessels is abolished in M(5) muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. Proc Natl Acad Sci USA. 98(24):14096-101, 2001.
28. Assal F, Cummings JL. Neuropsychiatric symptoms in the dementias. Curr Opin Neurol 15(4):445-50. 2002.
29. 생물화학연구회, 생물화학, 동명사, p.425, 1983.
30. Kuhl DE, Koeppe RA, Minoshima S, Snyder SE, Ficaró EP, Foster NL, Frey KA, Kilbourn MR. In vivo mapping of cerebral acetylcholinesterase activity in aging and Alzheimer's disease. Neurology, 52(4):691~699, 1999.
31. Sramek JJ·Frackiewicz EJ·Cutler NR : Review of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine. Expert Opin Investig Drugs, 9(10):2393~2402, 2000.
32. 정인철, 이상룡. 導痰益氣活血湯이 알츠하이머질환 病態 모델의 生化學的 變化 및 行動에 미치는 影響, 동의생리병리학회지 15(2): 260, 2001.
33. Roe CM, Anderson MJ, Spivack B. Use of anticholinergic medications by older adults with dementia. J Am Geriatr Soc. 50(5):836-42, 2002.
34. 고태준, 이상룡. 補益清腦湯이 痴呆病態모델에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지 12(1):162, 2001.
35. 張介賓, 景岳全書(上), 上海科學技術出版社, 上海, p.576, 1959.
36. 陳士鏗, 石室秘錄(下), 서울, 서원당, pp. 316-7, 1984.
37. 王清任, 醫林改錯, 臺聯國風出版社, 臺北, p. 22, 民國64年.
38. 龔廷賢, 萬病回春, 香港宇宙出版公司, 香港, p. 225, 1988.
39. 黃培新, 劉茂才主編, 神經科專病中醫臨床診治, 人民衛生出版社, 北京, pp. 91-99, 2000.
40. 實用中醫內科學編委會, 實用中醫內科學, 上海科學技術出版社, 上海, pp. 386-7, 1986.
41. 김선희, 이태희 외: 方劑學, 영림사, 서울, p. 287, 1999.
42. 南京中醫學院主編, 中醫方劑學, 上海科學技術出版社, 上海, pp. 92-93, 1982.
43. 이상인, 本草學, 수서원, 서울, pp. 95-6, 355, 402, 425, 1981.