

구속 스트레스로 유발된 기억 손상에 대한 麥門冬의 신경보호 효능

강영건[#], 이태희^{*}
경원대학교 한의과대학 방제학교실

Liriois Tuber improves stress-induced memorial impairments in rats

Young Gun Kang[#], Tae-Hee Lee^{*}

Dept. of Formulae Pharmacology, School of Oriental Medicine, Kyungwon University

ABSTRACT

Objectives : We investigated the effects of Liriois Tuber on the nervous protection.

Methods : We measured the reaction behavior with EPM(Elevated Plus Maze) and MWM(Morris Water Maze) after applying restraint stress to rats. Also, the degrees of AchE generation were measured with immunohistochemical method in the regions of hippocampus, and the degree of TH generation in the regions of VTA and LC, respectively.

Results : **1.** As the results of measuring how long EPM which reflects anxiety reaction stayed in the open arm, there was the trend which can suppress anxiety reaction in the MMD+stress group(Liriois Tuber+stress) but no statistical significance. The counting results how many EPM passed between opened and closed arm showed suppression trend against a physical activity in the saline+stress group but there was no statistical significance. **2.** According to the result of MWM, the saline+stress group showed the learning retardation which means increased time arriving at goal compared to the normal group at the second and third day of measurement. On the contrary, a learning retardation was significantly decreased in the MMD+stress group. Among the probe trial test a memory loss occurred in the saline+stress group, meanwhile memory ability was notably increased in the saline+stress group. **3.** The degree of TH generation was investigated at the VTA and LC respectively after test animals treated with drug. In the saline+stress group, TH-immunoreactive cells were significantly increased, and these stress-induced TH increases were suppressed in the saline+stress group at the VTA region. However, the saline+stress group did not show any significant difference. **4.** the degree of AchE generation was investigated at the CA3 of hippocampus. The saline+stress group showed that AchE-immunoreactive cells were significantly decreased. Those stress-induced reductions of AchE cells were meaningfully recovered in the saline+stress group. Although the cells showed recovery trend in the region of CA1 of hippocampus, statistical significance was not observed.

Conclusion : The results of our study indicate that Liriois Tuber can improve spatial memory ability of rats applied a restraint stress. This improvement of the spatial memory ability is considered to have an efficacy of nervous protection that Liriois Tuber suppresses the generation of AchE in the hippocampus region and enhances the generation of TH in the VTA.

Key words : Liriois Tuber, stress, Elevated Plus Maze(EPM), Morris Water Maze(MWM), TH, VTA, LC, AchE, Hippocampus

· #제1저자: 강영건, · *교신저자: 이태희, 경기도 성남시 수정구 북정동 산65, 경원대학교 한의과대학 방제학교실
· Tel: 031-750-5418 · e-mail : ophm5418@kyungwon.ac.kr
· 접수 : 2006년 4월 26일 · 수정 : 2006년 5월 20일 · 채택 : 2006년 6월 24일

서 론

21세기에 들어서면서 우리나라도 산업화 사회를 지나 정보화 사회로 나아감에 있어서 많은 사람들이 스트레스를 호소하고 이에 따른 사회의 제반비용이 많이 상승하고 있다. 이로 인해서 스트레스를 받는 인간이 나타내는 반응에 대한 연구는 지속적으로 진행되고 있다.

스트레스 관련 실험논문들에서 스트레스를 주는 방법으로는 구속스트레스⁽⁸⁾, 만성경미(Chronic mild stress, CMS)⁽⁸⁾⁽⁹⁾, 금식, 한열, 전기적 자극⁽⁹⁾ 등의 방법들이 사용되고 있다. 또한 스트레스의 정도 측정 방법으로는 최근 들어 행동, 인지, 기억 능력, 불안 반응 등을 측정하는 Morris water maze⁽¹¹⁾, Elevated plus maze⁽⁵⁾⁽⁶⁾, Radial arm maze⁽⁶⁾⁽⁷⁾, Open field activity⁽⁸⁾⁽⁹⁾, Forced swimming test⁽⁶⁾ 등이 사용되었고, 면역화학적 방법의 생화학적 지표로서 신경호르몬을 측정하는데는 주로 AchE, TH, NE같은 monoamine이나 corticosterone 등을 사용하고 있다.

이러한 스트레스에 대한 처방연구도 다양해서 安神藥⁽¹⁾⁽⁵¹⁾, 補血補氣藥⁽³⁾⁽³³⁾ 처럼 單味藥들이나 柴胡疏肝散⁽²¹⁾, 逍遙散⁽⁴⁾, 養神湯⁽³⁴⁾, 清火補心湯⁽⁶⁾, 聰明湯⁽¹³⁾ 같은 處方도 연구되어졌을 뿐만 아니라 김치⁽⁴⁰⁾ 등의 음식들도 여러 자극으로 유발된 스트레스에 효과가 있다고 보고되고 있다.

맥문동은 補益藥으로서 養陰潤肺, 益胃生津, 清心除煩하는 작용이 있어, 祛痰, 鎮咳, 滋養, 利尿, 止渴 등에 사용되어져 왔다.⁽⁴³⁾⁽⁵²⁾

이에 저자는 맥문동의 清心除煩하는 효능이 구속 스트레스와 관련이 있을 것으로 생각되어 구속 스트레스를 가한 白鼠에게 불안반응과 공간기억능력을 측정하고 면역조직화학법으로 VTA⁽⁶²⁾⁽⁶³⁾, LC⁽⁷⁸⁾⁽⁸⁰⁾에서 TH⁽⁷²⁾⁽⁸⁶⁾⁽⁸⁸⁾⁽⁹⁴⁾를 hippocampus CA1, CA3 부위⁽⁹⁰⁾⁽⁹¹⁾에서 AchE⁽⁵⁵⁾를 측정하여서 유의성 있는 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 약재는 백합과에 속한 다년생 본초인 麥門冬(*Liriope platyphylla* Wang et Tang)으로 塊根을 건조하여 사용하였다.

2) 동물

몸무게가 280-300g인 雄性 SD계 白鼠를 본 연구에 사용하였다. 사육상자의 바닥에는 위생처리된 깔짚을 깔아주고, 물 및 먹이 박탈시간을 제외한 나머지 기간에는 물과 먹이를 충분히 공급해주고 밤과 낮의 주기를 조명을 사용하여 조절하였다. 오전 9:00부터 12시간 동안을 밤주기로, 오후 9:00부터 12시간 동안 낮주기로 조정하며, 사육실의 온도는 21°C, 습도는 50±5%로 유지하였다.

2. 방법

1) 검액 조제

맥문동(100g)을 약제량의 6배의 증류수로 110°C 이하 온도로 3시간 정도 가열하였다. 가열한 추출물은 여과하여 찌꺼기 층은 제외하고 전분층과 증류수층을 65°C 이하 온도로 rotary vacuum evaporator를 이용하여 수분이 약 70%가 되도록 농축하고 이를 다시 동결건조기에 투입하여 5일정도 완전 건조시켰다. 건조시켜 얻은 약물의 수득율은 약 20%이며, 이를 시료로 사용하였다.

2) 실험군 및 검액 투여

실험 동물은 스트레스를 가하지 않는 정상군(Normal group), 생리식염수를 투여하고 스트레스를 가한 대조군(Saline+Stress group), 맥문동 투여 후 스트레스를 가한 실험군(MMD+Stress group)으로 나누었다. 실험군은 매일 한차례 일정한 시간인 오전 9시 30분경에 3주 동안 제조된 약물을 400mg/kg의 농도로 생리식염수에 녹여 구강투여한 후 검사를 실시하였고, 대조군은 생리식염수를 구강투여한 후 검사를 실시하였으며, 정상군은 스트레스를 가하지 않고 검사를 실시하였다.

3) 구속 스트레스(Restraint stress)

본 연구는 스트레스 모델로 가장 많이 이용되는 구속스트레스(restraint stress)절차를 도입하여 매일 10시 00분부터 2시간 동안 3주에 걸쳐 스트레스를 가하였다. 구속스트레스는 비닐(Havard 52-9586)을 사용하는데 쥐의 크기에 따라 구속스트레스를 일정하게 가할 수 있다. 구속비닐은 삼각뿔 모양이며 실험용 쥐의 머리가 삼각뿔 방향으로 향하게 하여 투입시킨 후 꼬리만 밖으로 나오게 한 뒤 테이프로 고정시켰으며 삼각뿔 쪽 비닐은 호흡이 가능할 정도만 개봉하였다.



Fig. 1 Restraint stress of rat for 2 hours

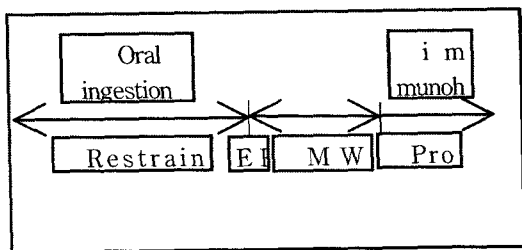


Fig. 2 Schedule of experiment

4) Elevated Plus Maze의 장치와 절차

3주간의 스트레스 기간 중 마지막 날 불안검사를 실시하였다. 실험장치는 검정색 아크릴로 제작된 십자가 모양의 틀을 만든 후 양팔에는 벽을 세우고 다른 양팔에는 열려있게 한다. 통로는 지상에서 60cm 떨어진 위치에 조정하여 사용하였다. 동물을 미로의 중앙에 가볍게 올려놓고 열린 통로로 머리를 밖으로 향하게 한 다음 미로를 자유롭게 탐색하도록 하였다. 스트레스를 받은 실험동물은 불안 반응이 증가하여 close arm에 머무는 시간이 증가하는 반응을 보이게 되며 5분간 관찰하여 open arm에 머문 시간을 관찰한다. 약제를 투여한 후 스트레스에 의한 불안반응의 효과를 검토한다. 또한 동물의 일반 활동량을 평가하기 위하여 실험동물이 close arm과 open arm을 통과한 회수를 측정하여 활동량의 지표로 삼는다.

5) Morris Water Maze의 장치와 절차

3주간의 스트레스를 실시한 후 EPM을 시행한 이후에 1주일동안 수중미로 검사를 실시하였다. 수중미로로 이용되는 수조는 직경이 180cm, 높이가 50cm인 원형 통으로 온도가 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 되는 물이 30cm 높이로 채워진다. 수중 미로의 주변은 비디오 카메라, 실험대, 그리고 실험대 위에 있는 수온 조절용 장치 등

공간단서들을 일정하게 유지한다. 도피대는 직경이 12cm인 원형 투명 아크릴에 받침대를 부착하고, 수면보다 1.5cm 낮게 위치시킨다. 수중미로는 4개의 동일한 사분원으로 나누어져서 북동(NE), 북서(NW), 남동(SE), 남서(SW)로 구분되고 이중 북동 사분원의 중심부에 도피대가 놓여지고, 나머지중 하나가 출발 위치로 사용된다. 실험동물들은 하루에 4시행씩 7일간 훈련을 받으며 파지검사를 위해 7일째 마지막 시행이 끝나면 자유수영 검사시행이 삽입되는데, 이때 동물들은 도피대가 제거된 채로 60초간 수영을 하게 된다. 모든 동물들의 행동은 비디오 카메라로 녹화되는데, 훈련 시행에서는 출발에서부터 도피대로 올라가는데 걸린 시간을 측정하고, 60초간의 검사시행에서는 훈련시에 도피대가 있었던 사분원에 머문 시간을 측정한다.

6) 면역조직화화법으로 TH, AchE 활성도 측정

신경세포의 활성도를 측정하기 위하여, 행동실험이 끝난 쥐를 sodium pentobarbital(80mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후, 0.9% saline 200ml에 이어 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 용액 100ml로 심장을 통해 관류 하였다. 고정액의 처음 300ml은 2분간, 나머지 700ml은 25분간에 걸쳐 관류 하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2시간 후고정시키고, 20% sucrose가 함유된 phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 4°C 에서 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌 조직을 VTA, LC, hippocampus 부위에서 $30\mu\text{m}$ 의 크기로 잘랐다. PBS로 몇 차례 씻고, TH, AchE expression에 가장 널리 사용되는 Mouse anti-TH, AchE (Zymed Laboratories, USA)에 담구었다. Primary antibody는 0.3% Triton-X100(PBST)에서 2% normal goat serum과 0.001% kehole limpitt hemocyanin(Sigma, USA)으로 200배로 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 primary antiserum에서 72시간 배양하였다. 그 후 뇌 조직을 phosphate buffered saline triton(PBST)로 씻은 다음, 2시간 동안 실온 2% normal goat serum을 함유하는 PBST에서 200배로 희석한 biotynylates goat anti-mouse serum(Santa Cruz Biotechnology, USA)에 반응시켰다. 다시 PBST로 씻은 다음 뇌 조직은 실온에서 1시간 동안 Santa Cruz ABC reagent(Santa Cruz Biotechnology, USA)에 담구어 반응시켰다. PBST로 몇 번 행군 다음 뇌 조직을 착색제인 diaminobenzidine을 사용하여 발색시켰다. 발색이 끝난 조직은 slide에 올려 2시간 동안 실온에서 건조시킨 후, xylene으로 투명화 시켜 polymount로 봉입하였다.

뇌 조직은 염색성들을 광학 현미경으로 관찰하고 사진을 촬영 하였다. 뇌의 각 부위의 위치는 Paxinos and Watson의 부도를 참고하였다. 현상된 사진에서 격자 (2× 2cm)를 이용하여 동일한 지역에서 일정한 영역에 반응되어 나타난 염색성의 정도를 counting하였다.

7) 통계처리

각 군의 통계처리는 Window용 SPSS를 이용한 일원변량분석에 의해 모든 군 사이의 평균치 차이에 대하여 p<0.05에서 유의성이 있는 것으로 인정하고, LSD 검증에 의해 사후개별 비교하였다.

결 과

1. 학습 및 기억검사 (Morris Water Maze 검사)

공간기억능력 측정치인 Morris water maze의 획득 시행 2, 3일에서 정상군은 각각 45.2± 10.3, 31.0± 8.3 sec이고 대조군은 각각 62.8± 6.1, 65.8± 20.1로 정상군에 비해 표적지를 찾아가는데 걸린 시간이 증가하여 학습지체가 관찰되었으며(P<0.05), 실험군에서는 각각 40.4± 6.34, 14.9± 5.19로 학습 지체가 통계적으로 유의하게 줄어들었다(p<0.05).

Table I MWM acquisition test : Latency to platform in MWM(Sec)

	1	2	3	4	5	6
Normal	117.7±20.2 ^{a)}	45.2±10.3	31.0±8.3	31.3±7.7	27.7±1.4	15.6±3.2
Saline+Stress	131.6±13.4	62.8±6.1 [*]	65.8±20.1 [*]	40.5±12.1	25.7±5.5	25.7±6.8
MMD+Stress	77.3±12.65	40.4±6.34 [#]	14.9±5.19 [#]	18.0±3.77	12.2±2.57	20.7±2.49

a) Mean± SEM
 Normal : No stress treated group
 Saline+Stress : Saline and stress treated group
 MMD+Stress : Liriopsis tuber and stress treated group(400mg/kg)
 * : Significant difference from the Normal group (*: p<0.05)
 # : Significant difference from the Saline+stress group (#: p<0.05)

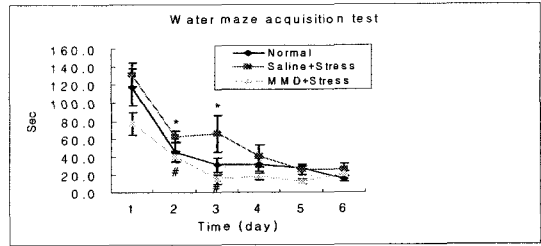


Fig. 3 Latency to platform in Morris Water Maze

Normal : No stress treated group
 Saline+stress : Saline and stress treated group
 MMD+stress : Liriopsis tuber and stress treated group(400mg/kg)
 * : Significant difference from the Normal group (*: p<0.05)
 # : Significant difference from the Saline+Stress group (#: p<0.05)

2. 파지검사

파지검사(Probe trial)에서는 정상군은 6.2± 0.8 sec 이었고, 대조군에서는 3.6± 0.3 sec로 기억장애가 나타났다(P<0.01), 실험군에서는 4.4± 0.4 sec로 기억력의 유의한 증가가 관찰되었다(p<0.05).

Table II MWM-retention test(Sec)

	Time spent in platform
Normal	6.2±0.8 ^{a)}
Saline+Stress	3.6±0.3 ^{**}
MMD+Stress	4.4±0.4 [#]

a) Mean± SEM
 Normal : No stress treated group
 Saline+Stress : Saline and stress treated group
 MMD+Stress : Liriopsis tuber and stress treated group(400mg/kg)

	1	2	3	4	5	6
Normal	117.7±20.2 ^{a)}	45.2±10.3	31.0±8.3	31.3±7.7	27.7±1.4	15.6±3.2
Saline+Stress	131.6±13.4	62.8±6.1 [*]	65.8±20.1 [*]	40.5±12.1	25.7±5.5	25.7±6.8
MMD+Stress	77.3±12.65	40.4±6.34 [#]	14.9±5.19 [#]	18.0±3.77	12.2±2.57	20.7±2.49

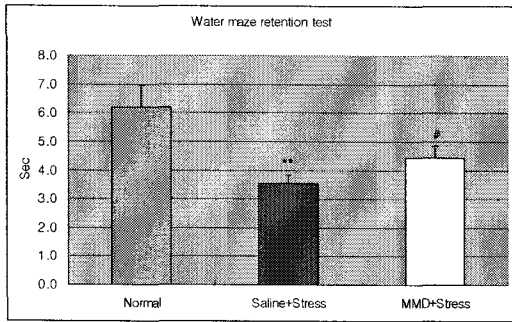


Fig. 4 Time spent in platform

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Liriois tuber and stress treated group(400mg/kg)

** : Significant difference from the Normal group(**: p<0.01)

: Significant difference from the Saline+Stress group(#: p<0.05)

3. 불안 및 활동량검사 결과

1) 불안반응 검사(Elevated Plus Maze 검사)

불안반응의 측정치인 EPM의 open arm에서 머문 시간을 측정한 결과, 정상군을 100% 하였을 때, 대조군이 81.7± 15.2%, 실험군은 96.1± 9.6%로서 실험군에서 불안반응에 대한 억제효과의 경향성은 있으나, 통계적 유의성은 없었다.

Table III Latency spent in open arm of the Elevated Plus Maze(%)

	Time spent in platform
Normal	100 ± 0 ^{a)}
Saline+Stress	81.7 ± 15.2
MMD+Stress	96.1 ± 9.

a) Mean± SEM

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Liriois tuber and stress treated group(400mg/kg)

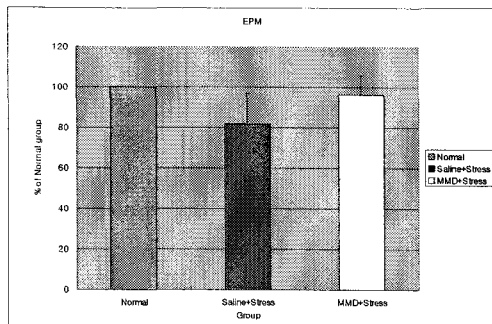


Fig. 5 Latency(sec) spent in open arm of the Elevated Plus Maze

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Liriois tuber and stress treated group(400mg/kg)

2) 활동량측정 검사(Elevated Plus Maze 검사)

EPM에서 open arm과 close arm을 통과한 회수를 측정한 결과, 정상군은 91.3± 11.2 회, 대조군은 84.0± 6.0회, 실험군은 89.0± 8.0회로, 실험군에서 활동량에 대한 억제 경향성은 있었으나, 통계적 유의성은 없었다.

Table IV Numbers of crossing the open and close arm in the Elevated Plus Maze(number)

	Crossing number of arms
Normal	91.3 ± 11.2 ^{a)}
Saline+Stress	84.0 ± 6.0
MMD+Stress	89.0 ± 8.0

a) Mean± SEM

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Liriois tuber and stress treated group(400mg/kg)

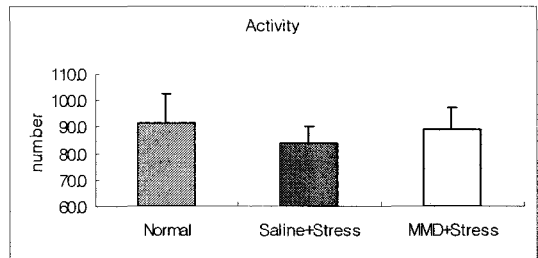


Fig. 6 Numbers of crossing the open and close arm in the Elevated Plus Maze

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Liriois tuber and stress treated group(400mg/kg)

4. 먼역조직화학적 TH 발현 측정

1) VTA에서 TH 발현 측정 결과

VTA에서 TH 발현 정도를 관찰한 결과, 정상군은 cell number가 8.1± 0.3, 대조군은 10.5± 0.4 실험군은 8.6± 0.5로 나타나, 대조군에서 TH-immunoreactive cell들이 현저하게 증가되었으며(P<0.05), 이러한 스트레스에 의한 TH 발현의 증가는 실험군에서 유의성 있게 억제되었다(p<0.05).

Table V Expression of TH in the VTA(cell number)

	Expression of TH in the VTA
Normal	8.1 ± 0.3 ^{ab}
Saline+Stress	10.5 ± 0.4 [*]
MMD+Stress	8.6 ± 0.5 [#]

a) Mean± SEM

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Lirioipis tuber and stress treated group(400mg/kg)

* : Significant difference from the Normal group (*: p<0.05)

: Significant difference from the Saline+Stress group (#: p<0.05)

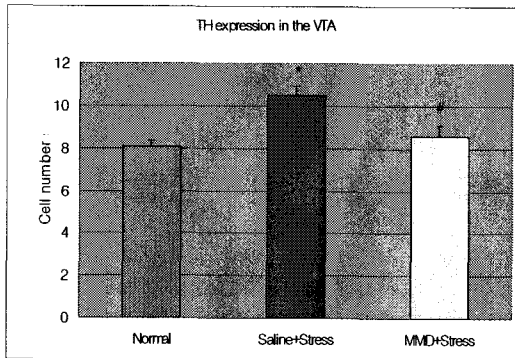


Fig. 7 Expression of TH in the VTA

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Lirioipis tuber and stress treated group(400mg/kg)

* : Significant difference from the Normal group (*: p<0.05)

: Significant difference from the Saline+Stress group (#: p<0.05)

2) LC에서 TH 발현 측정 결과

LC에서 TH 발현 정도를 관찰한 결과, 정상군에서 cell number가 7.6± 0.4, 대조군은 8.3± 0.4 실험군은 7.8± 0.5로서, 대조군은 정상군에 비해 유의성 있는 세포수의 증가를 보였지만(P<0.05), 실험군은 대조군에 비해 통계적 유의성은 발견되지 않았다.

Table VI Expression of TH in the LC(cell number)

	Expression of TH in the LC
Normal	7.6 ± 0.4 ^{ab}
Saline+Stress	8.3 ± 0.4 [*]
MMD+Stress	7.8 ± 0.3

a) Mean± SEM

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Lirioipis tuber and stress treated group(400mg/kg)

* : Significant difference from the Normal group (*: p<0.05)

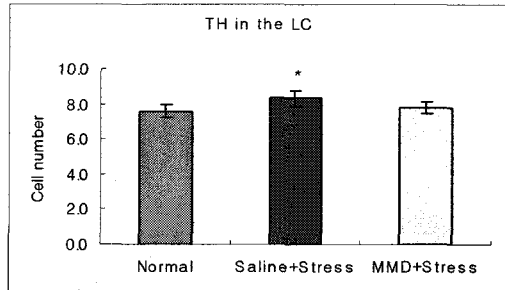


Fig. 8 Expression of TH in the LC

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Lirioipis tuber and stress treated group(400mg/kg)

* : Significant difference from the Normal group (*: p<0.05)

5. 편역조직화학적 AchE 발현 측정

1) Hippocampus CA1에서 AchE 발현 측정 결과
Hippocampus CA1에서 AchE 발현 정도를 관찰한 결과, 정상군에서 cell density가 15.2± 0.8, 대조군은 11.4± 0.9 실험군은 12.2± 0.6으로서(Table VII), 대조군은 정상군에 비해 유의성 있는 세포농도의 감소를 보였으나(P<0.05), 실험군은 대조군에 비해 회복의 경향은 보였으나 통계적 유의성은 발견되지 않았다.

Table VII Expression of AchE in the hippocampal CA1(cell density)

	Expression of AchE in the hippocampal CA1
Normal	15.2 ± 0.8 ^{ab}
Saline+Stress	11.4 ± 0.9 [*]
MMD+Stress	12.2 ± 0.6

a) Mean± SEM

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Lirioipis tuber and stress treated group(400mg/kg)

* : Significant difference from the Normal group (*: p<0.05)

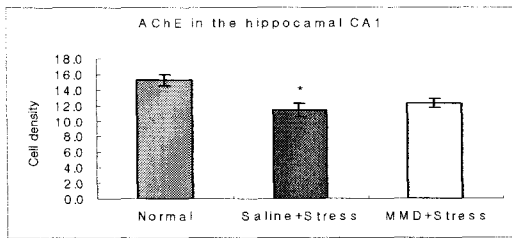


Fig. 9 Expression of AchE in the hippocampal CA1

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Lirioipis tuber and stress treated group(400mg/kg)

* : Significant difference from the Normal group (*: p<0.05)

2) Hippocampus CA3에서 AchE 발현 측정 결과

Hippocampus CA3에서 AchE 발현 정도를 관찰한 결과 정상군에서 cell density는 20.7± 0.4, 대조군은 14.7± 0.6 실험군은 17.2± 0.3으로서(Table VIII.), 대조군은 정상군에 비해 유의성 있는 억제를 보였고 (p<0.01), 이러한 스트레스에 의한 AchE 발현의 억제는 실험군에서 유의성있게 회복되었다(p<0.05).

Table VIII Expression of AchE in the hippocampal CA3(cell density)

	Expression of AchE in the hippocampal CA3	
	CA3	
Normal	20.7 ± 0.4 ^{a)}	
Saline+Stress	14.7 ± 0.6 ^{**}	
MMD+Stress	17.2 ± 0.3 [#]	

a) Mean± SEM

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Lirioipis tuber and stress treated group(400mg/kg)

** : Significant difference from the Normal group (**: p<0.01)

: Significant difference from the Saline+Stress group (#: p<0.05)

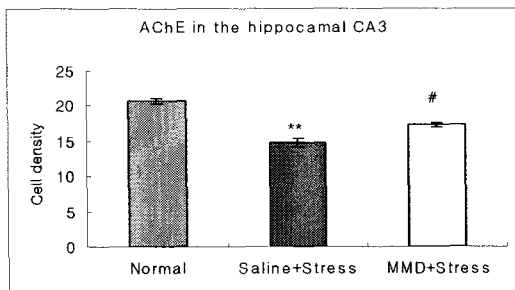


Fig. 10 Expression of AchE in the hippocampal CA3

Normal : No stress treated group

Saline+Stress : Saline and stress treated group

MMD+Stress : Lirioipis tuber and stress treated group(400mg/kg)

** : Significant difference from the Normal group (**: p<0.01)

: Significant difference from the Saline+Stress group (#: p<0.05)

고찰

우리는 일상생활 속에서 많은 스트레스를 받고 산다. 여기서 스트레스란 외부의 모든 자극을 포함하고 있으며 스트레스를 일으키는 원인을 스트레스(stressor) 또는 유발인자(trigger)라 하는데 이것의 종류는 다양하다¹⁰⁾²⁰⁾²⁷⁾. 유기체의 반응이라는 관점에서 스트레스는 체외에서 가해진 각종의 유해작용에 응해서 체내에 생긴 상해와 방위반응의 총화이다. 상호작용이라는 관점에서는 스트레스는 환경과 개체간의 적합성의 결핍이다²⁶⁾.

한의학에서 가장 많이 통용되고 있는 병인론은 병의 원인을 內因, 外因, 不內外因의 三種類로 나누는 삼인론으로서 風寒暑濕燥火의 六氣로서 입은 손상을 六淫으로 하여 外因이라 하고, 七情의 過極을 內因이라 하고, 飢飽, 勞倦, 跌仆, 壓溺, 虫獸傷 등을 不內外因이라 하였다. 素問 舉痛論⁵⁶⁾에 “百病生於氣也 怒則氣上 喜則氣緩 悲則氣消 恐則氣下 寒則氣收 炅則氣泄 驚則氣亂 勞則氣耗 思則氣結 九氣不同”이라하여 九氣의 편승이 기에 영향을 미쳐서 질병을 일으킬 수 있음을 말하였고, 素問 陰陽應象大論⁵⁶⁾에 “東方生風...在志爲怒 怒傷肝 悲勝怒 風傷筋 燥勝風.”이라고 하였는데, 이는 七情의 편승과 外氣의 변화에 대한 인체의 변화를 설명한 것이다. 스트레스를 환경과 개체간의 적합성의 결핍으로 볼 때 자연계에서 天時氣候의 변화인 六氣를 생체자극의 외적요인으로 간주할 수 있고, 외적 자극에 대하여 나타나는 생체의 정지변화인 七情을 생체자극의 내적 요인이 될 수 있는 것⁶⁾³¹⁾으로 보아, 이러한 七情의 편승과 외기변화의 과도함이 정상적인 생리변화에 영향을 끼쳐 질병이 발생하게 된다. 이러한 감정이나 외기의 변화가 맥관 및 자율신경의 긴장과 이완을 유발하는 것을 기의 변화로 관찰하여 하나의 스트레스 현상이라고 볼 수 있으며³¹⁾, 또한 외부 환경적 요인에 해당하는 외인, 인체내부의 감정변화에 의한 내인 그리고 飢飽, 勞倦, 跌仆, 壓溺, 虫獸傷 등의 不內外因을 모두 스트레스인자(stressor)로 보기도 한다²⁰⁾⁵⁸⁾.

동물들을 대상으로 한 여러 스트레스 논문들은 체중감소⁸⁴⁾⁸⁵⁾, 물 섭취량의 증가⁶⁶⁾⁸⁷⁾, 탐색활동의 감소⁹⁶⁾

가 스트레스 행동지표로 보고되었다. 특별히 학습과 기억의 장애를 유발하게 되는데, 학습과 기억은 고차원적인 뇌의 기능으로 학습이란 연습이나 경험에 의한 행동의 변화로 정의되며, 기억은 학습에 의해 얻어진 지식과 경험을 보관 기록해 두었다가 필요한 때에 의식세계로 꺼내어 사용하는 능력이다⁷³⁾. 스트레스로 인하여 이러한 기억체계에 이상을 일으키게 된다. 이러한 반응에 한약제제를 이용하여 기억체계의 이상을 방어하거나 오히려 증진시키는 연구와 실험들이 선행되어져 왔다.¹³⁾³⁰⁾⁵⁴⁾⁷⁴⁾ 또한 스트레스에 관한 실험논문들 중에서 동물들에게 스트레스를 가하는 모델로는 여러 가지가 있다. 만성경미(CMS)⁶⁵⁾, 금식, 한열, 전기적 자극⁶⁹⁾, 꼬리 매달기⁹²⁾, 강제 보행⁷⁹⁾, 구속⁶⁸⁾ 등의 스트레스 방법들이 사용되고 있다. 또한 스트레스의 정도측정 방법으로는 최근 들어 행동, 인지, 기억 능력, 불안 행동 등을 측정하는 Morris Water Maze⁶¹⁾, Radial arm maze⁵⁹⁾⁸¹⁾, Elevated plus maze⁶⁵⁾⁷⁵⁾, Open field activity⁸⁹⁾⁹³⁾, Forced swimming test⁶⁴⁾ 등이 사용되었고, 면역화학적 방법의 생화학적 지표로서 신경호르몬을 측정 하는 데는 주로 AchE, TH, NE같은 monoamine이나 corticosterone 등을 사용하고 있다.

한약에서 麥門冬(Liriope Tuber)은 백합과(Liliaceae)에 속한 다년생 초본인 *Liriope platyphylla* 또는 *Ophiopogon japonicus*의塊根을 건조한 것으로 대표적으로 清心 潤肺, 養胃生津의 효능이 있으며, 心, 肺, 胃經으로 들어간다.³⁷⁾⁴³⁾⁴⁷⁾ 『神農本草經』²⁹⁾에서는 “味甘平 無毒 主心腹結氣 傷中 傷飽 胃絡血絕 羸瘦 短氣 久服輕身 不老 不飢”라 하였으며 養陰潤肺, 清心除煩, 益胃生津²⁾, 化痰行水³⁰⁾, 清毅調中³⁵⁾ 등의 효능이 있어 肺萎, 肺癰, 消渴, 熱傷傷津, 咳嗽, 便秘, 嘔吐 등의 치료에 주로 응용이 되었다²⁾³⁰⁾.

맥문동에 대한 실험적 연구로 최⁴⁸⁾는 맥문동의 ‘生津止渴’하는 효능에 착안 맥문동을 음료로 사용하여 운동실험을 실시한 결과 물 섭취군에 비해 맥문동 음료를 섭취한 군에서 triglyceride의 감소와 HDL-cholesterol의 증가를 보고하여 운동이후 스포츠 음료로서의 맥문동의 가능성을 보였고, 정⁴⁴⁾은 맥문동의 스트레스에 대한 효과로 금식 스트레스로 유발된 혈중 corticosterone 농도 변화에 미치는 영향을 보고 하였으며, 허⁵³⁾는 맥문동으로부터 분리한 스테로이드 사포닌인 Spicatoside A의 신경성장인자 합성 촉진과 타이로신카이나제 수용체에 대한 활성화를 보고하였다.

생체가 스트레스를 받게되면 교감신경계가 흥분하

게 되고 주로 NE(Norepinephrine), E(epinephrine)의 분비가 증가하게 된다. 이로 인해 혈압상승이 발생하고 심장박동이 증가하게 되며 혈당수치가 상승하게 되며 호흡은 빨라진다.

이에 저자는 맥문동의 清心除煩하는 효능이 구속 스트레스와 관련이 있을 것으로 생각되어 맥문동이 스트레스로 유발된 기억손상에 미치는 영향을 조사하기 위해 白鼠에게 구속 스트레스를 가한 후 MWM, EPM을 통하여 스트레스 반응을 측정하고 또한 맥문동 투여시 어떤 반응이 일어나는 지를 관찰하였다. 또한 면역조직화학법으로 VTA, LC에서 TH발현을 측정하고, hippocampus CA1, CA3 부위에서 AchE의 발현을 측정하여 구속 스트레스로 유발된 기억 손상에 대한 맥문동의 효과에 대하여 알아보았다.

스트레스를 받은 白鼠들에게서는 신체적인 여러 반응들이 나타나는데 불안 행동도 스트레스 반응 중 하나이다. EPM은 불안과 연관된 행동을 확인하는 방법으로서 널리 사용되고 있으며 이미 잘 확립된 모델이다⁶⁵⁾⁷⁵⁾. 3주간의 스트레스를 가한 기간 중 마지막 날에 EPM을 실시하였는데, 실험군에서 불안반응의 측정치인 EPM의 open arm에서 머문 시간 그리고 open arm과 close arm을 통과한 회수를 측정한 결과 실험군에서 대조군에 비해 불안반응에 대한 억제효과와 경향성은 있었으나, 통계적 유의성은 없었다.

또한 스트레스를 받은 白鼠들은 기억손상을 일으키게 되는데 기억손상을 측정하는 방법으로 MWM을 사용하였다. MWM는 동물의 공간학습과 기억을 검사하기 위해 사용되며, 공간 정보 외의 단서들을 통제하기 쉬운 장점이 있다. 이는 주로 장기기억 능력을 측정하는 도구로서 동물의 주변에 있는 단서들을 사용하여 공간기억을 측정하는 실험이다.⁴⁵⁾ MWM를 통한 기존의 연구에서 동물은 연령증가에 따라 학습과 기억 능력이 저하되고⁶⁷⁾, hippocampus의 신경이 손상된 쥐는 수중미로 실험에서 학습수행과 기억력이 떨어진다고 보고된 바 있다.⁷⁰⁾ 본 실험에서도 공간기억능력 측정치인 MWM의 획득시행 2, 3일에서 대조군에서는 정상군에 비해 표적지를 찾아가는데 걸린 시간이 증가하여 학습지체가 관찰되었으며, 실험군에서는 학습 지체가 통계적으로 유의하게 줄어들었다. 파지검사(Probe trial)에서도 대조군에서는 기억장애가 나타났고, 실험군에서는 기억증진 효과가 현저하게 관찰되었다.

또 이 연구에서는 뇌의 VTA와 LC부위에서 TH 발현을, 그리고 hippocampus CA1, CA3 부위에서 AchE 발현 정도를 면역조직화학법으로 조사하였다.

LC는 뇌교 부위 제 4뇌실 바닥에 위치하며 주로 catecholamine을 신경전달물질로 하는 세포들로 구성되어 있는 신경핵이다. LC는 중추신경계의 여러 부위와 신경로를 가지고 있으며⁷⁸⁾⁸⁰⁾ 이중 하행성 신경로는 척수에 이르고 있다.

Mesencephalic dopamine system은 2개의 기능적인 단위로 나뉘는데 하나는 운동기능에 영향을 끼치는 substantia nigra에서 시작하는 nigrostriatal 경로이고, 또 다른 하나는 감정에 영향을 미치는 VTA에서 시작하는 mesocorticolimbic 경로이다⁶³⁾⁸²⁾. 이처럼 VTA는 도파민계 대사에 관여하는 많은 신경세포들을 가지고 있는 부위이다.

TH는 카테콜라민의 첫 번째 과정에서 보호소 tetrahydrobiopterin의 존재하에 L-tyrosine을 L-dopa로 전환하는데 사용되는 효소¹⁸⁾⁵⁹⁾⁶⁹⁾로 도파민계 대사를 평가하고자 할 때 관찰하는 지표 중 하나이다.¹⁵⁾⁸⁵⁾ 동물이 스트레스 조건에 노출되면 그에 대한 적응반응의 일환으로 도파민 체계가 활성화되어 도파민의 이용율과 전환율이 증가됨에 따라 도파민의 수준은 감소되고 상대적으로 도파민 대사에 관여하는 TH의 수준은 증가하는 현상이 나타난다⁷⁷⁾.

TH와 관계되는 연구들에서 현⁵⁴⁾은 4주간의 CMS 처치가 VTA에서 TH 발현을 증가시키고, 遠志石菖蒲散의 투여가 VTA에서 TH 발현을 감소시킨다고 했고, 김¹⁷⁾은 古庵心腎丸去朱砂方的 투여가 스트레스 白鼠의 VTA에서 TH수준의 증가를 억제시킨다고 보고하였고, 조⁴⁶⁾는 CMS로 자극한 白鼠에서 VTA에서 TH 발현을 증가시켰으나, 淸火補心湯의 투여가 VTA에서 TH의 발현을 억제하지는 못하였다고 보고 하였다.

본 실험에서는 현⁵⁴⁾, 김¹⁷⁾, 조⁴⁶⁾의 실험 결과와 동일하게 VTA에서 TH의 발현을 측정된 결과 대조군에서 TH-immunoreactive cell들이 현저하게 증가되었으며, 이러한 스트레스에 의한 TH 발현의 증가는 실험군에서 유의성 있게 억제되었다. 그러나 LC에서는 TH 발현을 측정된 결과, 실험군에서 유의미한 차이가 발견되지 않았다.

Hippocampus는 medial septal nucleus에 위치한 세포체로부터 투사되는 콜린성 신경전달경로⁷¹⁾로서 학습수행 및 기억력에 관여하는데, hippocampus의 손상은 방사형 미로와 같은 공간 기억과제를 학습하는 능력에 장애를 초래하게 된다⁷⁶⁾⁹⁰⁾⁹¹⁾. 최근의 실험에 의하면 hippocampus의 CA1과 CA3에서 작용하는 공간지각 능력에 차이가 있는데, CA1은 공간탐사에 대한 능력과 그리고 CA3는 공간기억과 관련이 있다고 보고되었다⁹⁴⁾.

Cholinergic system은 신경전달물질인 Acetylcholine(Ach), Ach의 합성효소인 ChAT, Ach을 분해하는 분해효소인 AchE 및 Ach 전달물질의 수용체가 포함되는데, 그 중 AchE는 Cholinergic synapse에 존재하여 신경전달 물질인 Ach을 choline과 acetate로 가수분해시키는 효소이다⁵⁵⁾. 이 효소는 post-synaptic membrane의 수용체에 결합하는 Ach을 가수분해시켜 수용체의 정상적인 기능을 유지시키며 Ach의 생합성에 필요한 choline을 공급함으로써 신경계가 원활하게 작용하는데 매우 중요한 역할을 하게 된다.

본 실험에서는 hippocampus의 CA3에서 AchE의 발현을 측정된 결과 대조군에서 AchE-immunoreactive cell들이 현저하게 감소되었으며, 이러한 스트레스에 의한 AchE 발현의 억제는 실험군에서 유의성 있게 회복되었다. 그러나 hippocampus의 CA1영역에서는 회복의 경향은 보였으나 통계적 유의성은 발견되지 않았다. AchE에 대한 기존의 실험들에서 강¹⁾, 공⁵⁾, 김⁸⁾⁹⁾¹¹⁾¹⁴⁾, 박²⁵⁾, 이³⁹⁾, 장⁴²⁾, 황⁵⁷⁾ 등은 스트레스를 가하거나 수술이나 약물주입을 통해 신경세포를 파괴하였을 때 AchE 농도가 상승하였고, 실험약물을 투여하거나 침으로 자극하였을 때 AchE 농도가 억제된다고 보고하고 있다. 그러나 고⁴⁾, 김⁷⁾¹²⁾¹⁶⁾, 노¹⁹⁾, 민²²⁾, 박²³⁾, 윤³²⁾, 이³⁶⁾ 등의 실험보고에서는 스트레스를 가한 대조군에서 AchE의 발현이 저하되고 실험군에서는 AchE 발현이 회복되었다고 하여 본 실험에서의 결과와 일치하였다.

이상과 같은 실험 결과로 볼 때 맥문동은 구속 스트레스로 유발된 白鼠의 공간기억능력 저하를 향상시켰으며, 이러한 공간기억능력의 향상은 맥문동이 콜린성 신경전달체계에 영향을 주어서 hippocampus의 CA1에서 AchE의 발현을 증가시키고, 도파민계 대사에 관여하여 VTH에서의 TH의 발현을 억제하는 것과 관련이 있다고 사료된다.

결론

저자는 맥문동의 신경보호 효능을 관찰하기 위하여 白鼠에게 구속 스트레스를 가한 후에 EPM과 MWM를 이용하여 행동 반응을 측정하고 면역조직화학법으로 VTA, LC에서 TH를 hippocampus 부위에서 AchE을 관찰한바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 불안반응의 측정치인 EPM의 open arm에서 머문 시간을 측정된 결과, 실험군에서 불안반응에 대한 억제효과의 경향성은 있었으나, 통계적 유의성은

없었고, open arm과 close arm을 통과한 회수를 측정된 결과도 실험군에서 활동량에 대한 억제 경향성은 있었으나, 통계적 유의성은 없었다.

2. 공간기억능력 측정치인 MWM의 획득시행 2, 3일에서 대조군이 정상군에 비해 표적지를 찾아가는데 걸린 시간이 증가하여 학습지체가 관찰되었으며, 실험군에서 학습 지체가 통계적으로 유의하게 줄어들었으며, 파지검사(Probe trial)에서는 대조군에서는 기억장애가 나타났고, 실험군에서는 기억력의 유의한 증가가 관찰되었다.
3. 실험동물을 약물처치 후에 VTA에서 TH의 발현을 측정된 결과 대조군에서 TH-immunoreactive cell들이 유의성 있게 증가되었으며, 이러한 스트레스에 의한 TH 발현의 증가는 실험군에서 유의성 있게 억제되었다. 그러나 LC에서는 TH 발현을 측정된 결과, 대조군에 비하여 실험군에서 유의미한 차이가 발견되지 않았다.
4. 실험동물을 약물처치 후에 hippocampus의 CA3에서 AchE의 발현을 측정된 결과 대조군에서 AchE-immunoreactive cell들이 현저하게 감소되었으며, 이러한 스트레스에 의한 AchE 발현의 억제는 실험군에서 유의성있게 회복되었다. 그러나 hippocampus의 CA1영역에서는 회복의 경향은 보였으나 통계적 유의성은 발견되지 않았다.

이상과 같은 실험 결과로 볼 때 맥문동은 구속 스트레스로 유발된 白鼠의 공간기억능력 저하를 향상시켰으며, 이러한 공간기억능력의 향상은 맥문동이 hippocampus부위에서 AchE의 발현을 억제하고, VTH에서의 TH의 발현을 증가시켜서 신경보호 효능이 있는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. 강미경, 현호색 약침액의 acetylcholinesterase 억제효과와 항산화에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, 2004.
2. 江蘇新醫學院. 中藥大辭典. 上海:上海科學技術出版社. 1977:1024-7
3. 姜永健, 寒熱拘束 스트레스에 대한 四君子湯, 四物湯, 六味地黃湯의 效能. 경원대학교 대학원, 2002.
4. 고기완, 전뇌허혈모델을 이용한 산삼약침액의 신경보호 및 인지기능 증진효과, 포천중문의과대학교 대학원, 2003.
5. 공대중, 도인 추출액의 아세틸콜린 분해 효소 억제작용에 대한 연구, 동국대학교 대학원, 2003.
6. 金完熙, 韓醫學原論, 서울:成輔社, 1982:288-9
7. 김경화, 육미지황탕이 국소 뇌허혈로 유발된 기억력 손상 백서에 미치는 영향. 동신대학교 대학원, 2005.
8. 김동욱, 반풍화가 건망증 생쥐모델의 학습과 기억 감퇴 및 항콜린성 작용에 미치는 영향, 대구한의과대학 대학원, 2005.
9. 김보영, 소합향원(소양인)이 치매 생쥐모델의 학습과 기억감퇴 및 항콜린성 작용에 미치는 영향, 대구한의과대학 대학원, 2004.
10. 金相孝, 東醫神經精神科學, 서울:杏林出版, 1995:277-82.
11. 김선옥, 초석잠 추출물이 뇌조직의 아세틸콜린 및 관련효소의 활성 억제 효과, 경성대학교 대학원, 2004.
12. 김수연, 반하백출천마탕이 국소 뇌허혈로 인한 치매 병태 백서에 미치는 영향, 동신대학교 대학원, 2005.
13. 김영옥, 총명탕이 건망증유도백서의 학습과 기억에 미치는 영향. 대전대학교 대학원, 1999.
14. 김영표, 황백이 Alzheimer's Disease 병태 모델에 미치는 영향, 대전대학교 대학원, 2003.
15. 김용주, 김지윤, 김동선, 조희중, 배용철, 박매자, 흰쥐 척수 및 등뿌리신경절에서 Tyrosine Hydroxylase 함유구조물의 분포, 대한해부학회지, 1997;30(2):147-53,
16. 김윤상, 소요산과 감맥대조탕이 난소적출 흰쥐에 미치는 항우울효과, 경원대학교 대학원, 2004.
17. 김종관, 우울증 모델 흰쥐의 수증미로학습과 VTA의 TH 수준에 대한 고암신기환거주사방의 효능, 경희대학교 대학원, 2002.
18. 김학성, 이승호, 이경순, 노재섭, 오기완, 이명구, 충북대학교 약학대학, 8:39, 1993.
19. 노상용, 건뇌음이 해마손상백서의 기억 및 학습 기능의 회복에 미치는 영향 동의대학교 대학원, 2003.
20. 文濬典 安圭錫 崔昇勳, 東醫病理學, 서울, 高文社, 1990:56 63,
21. 文流模, 柴胡疎肝散의 항 스트레스에 관한 실험적 연구, 경희대학교 대학원, 1990.

22. 민상연, 보충약기탕가미방이 흰쥐의 성장과 학습 및 기억에 미치는 영향, 동국대학교 대학원, 2002.
23. 박보경, 사육탕가미방이 흰쥐의 학습 및 기억에 미치는 영향. 동국대학교 대학원, 2003.
24. 박종수, 태봉음이 콜린성 신경세포손상 백서의 학습 및 기억에 미치는 영향 동의대학교 대학원, 2003.
25. 박현경, 구속 스트레스에 의한 행동 및 호르몬의 변화에 미치는 족삼리 전침의 효과, 경희대학교 동서의학 대학원, 2004.
26. 楊秉煥, 스트레스와 정신신경내분비학, 서울, 한양대학교 정신건강연구소, 3, pp81-89, 1985.
27. 楊秉煥 外, 스트레스 연구, 서울:하나 의학사, 1999:22-36, .
28. 楊維傑, 黃帝內經譯解(素問), 서울:成輔社, 1980:167.
29. 吳普, 神農本草經. 北京:人民衛生出版社. 1958:17, .
30. 吳儀洛, 本草從新. 上海:上海科學技術出版社. 1958:66, .
31. 尹吉榮, 病理學新講(上), 서울:東洋醫科大學, 1975:97-102.
32. 윤대환, 족삼리의 죽력 약침이 Intraluminal Filament 삽입술에 의하여 유발된 백서의 허혈성 국소 뇌손상에 미치는 영향, 동신대학교 대학원, 2003.
33. 윤종태, 숙지황이 생쥐의 기아 stress에 미치는 영향, 경원대학교 대학원, 2003.
34. 윤지연, 양신탕의 항스트레스 효과에 대한 실험적 연구, 대전대학교 대학원, 2004.
35. 李 挺, 醫學入門. 서울:南山堂 (上),1985:758-9.
36. 이광로, 전침자극이 해마의 콜린성 신경세포 활성화에 미치는 영향, 원광대학교 대학원, 2004.
37. 李尙仁, 本草學. 서울:修書院, 1975:120-1, .
38. 이원혁, 인삼과 대추가 스트레스로 유발된 세포자사에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, 2004.
39. 이지인, 빈랑이 치매 생쥐모델의 학습과 기억감퇴 및 항콜린성 작용에 미치는 영향, 경산대학교 대학원, 2005.
40. 이혜란, 김치의 섭취가 흰쥐의 항스트레스 및 정서반응에 미치는 영향, 이화여자대학교 대학원, 2005.
41. 임동숙, 산조인 추출물의 항스트레스 효과. 동신대학교 대학원, 2003.
42. 장춘희, 자화어등초 및 오배자의 Acetylcholinesterase 활성 억제 성분, 우석대학교 대학원, 2004.
43. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編 著, 本草學, 서울:永林社. 1991:588-9.
44. .정민호, 藥門冬이 기아 stress로 유발된 생쥐의 혈중 corticosterone 농도 변화에 미치는 영향, 대한 본초학회지 2003;18(4):279-87.
45. 정봉교, 윤병수, 박순권, 흰쥐의 내측 중격핵 손상이 Morris 수중미로 과제에 학습에 미치는 효과. 한국심리학회지. 1993;5:29-44,.
46. 조충훈,청화보심탕이 우울증 모형동물의 절망행동, 불안 및 뇌의 TH 와 c-Fos 발현에 미치는 효과, 경희대학교 대학원. 2003.
47. 최원일, 맥문동이 흰 쥐 운동수행능력에 미치는 효과. 대구가톨릭대학교 대학원, 2002.
48. 최혁, 소요산의 항스트레스 활성화기전에 관한 연구, 원광대학교 대학원, 2005.
49. 편세현, 총명탕 및 총명탕 가 녹용이 스트레스로 인한 학습 및 기억장애에 미치는 영향. 경산대학교 대학원, 2002.
50. 하은귀 : 용안육의 구속 스트레스 생쥐뇌의 Norepinephrine 함량에 미치는 영향. 경원대학교 대학원, 2002.
51. 한 대석 외, 생약학, 5판. 서울:동명사, 1993:148.
52. 허진영, 맥문동으로부터 분리한 스테로이드 사포닌인 Spicatoside A의 신경성장인자 합성 촉진과 타이로신카이나아제 수용체에 대한 활성화 연구, 경희대학교 대학원, 2004.
53. 현경철, 원지석창포산의 CMS를 받은 흰쥐의 우울, 학습, 그리고 뇌의 TH 및 c-Fos 발현에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, 2002.
54. 홍사석, 이우주의 약리학강의. 서울:의학문화사, 1993:75-102.
55. 洪元植編, 精校黃帝內經, 서울:新光文化社, 1981:146.
56. 황선미, 공진단이 CT105와 β -amyloid로 유도된 Alzheimer's disease 병태모델에 미치는 영향, 경산대학교 대학원, 2004.
57. 黃義完, 心身症, 서울:杏林出版, 1985:23-9.
58. Beitner-Johnson D, Guitart X, Nestler EJ, Neurofilament proteins and the mesolimbic dopamine system: common regulation by chronic morphine and chronic cocaine in the rat ventral tegmental area, J Neurosci, 1992;12(6):2165-76.
59. Bolhuis JJ, Bijlsma S, Ansmink P, Exponential

- decay of spatial memory of rats in a radial maze. *Behavioral and Neural Biology*, 1986;46:115-22.
60. Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S, The use of the Morris Water Maze in the study of memory and learning, *Int. J. Neurosci.* 1989;48(2):29-69.
 61. Crossman AR, Neary D, *Neuroanatomy*, New York:Churchill Livingstone, pp. 1996:65-9, 121-2.
 62. Daniel SM, Amer Karmal, Marten PS, Geert MJ, Modulation of cellular activity and synaptic transmission in the ventral tegmental area, *European Journal of Pharmacology*, 2003;480:97-115.
 63. David DJ, Bourin M, Hascoet M, Colombel MC, Baker GB, Jolliet P, Comparison of antidepressant activity in 4- and 40-week-old male mice in the forced swimming test: involvement of 5-HT1A and 5-HT1B receptors in old mice. *Psychopharmacology (Berl)*, 2001;153(4):443-9.
 64. Dawson, GR, Tricklebank MD, Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents. *Trends Pharmacol Sci.* 1995;16(2):33-36.
 65. Deaux E, Kakolewske JW, Emotionally induced increases in effective osmotic pressure and subsequent thirst, *Science*, 1970:169.
 66. 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.
 67. Haan ML, Bannnon MJ, Stress-induced c-fos expression in the rat locus coeruleus is dependent on neurokinin 1 receptor activation, *Neuroscience*, 1999;94(4):1183-8.
 68. Herman JP, Guillonau D, Dantzer R, Scatton B, Semerdhian-Rouquier L, Le Moal M, Differential effects of inescapable footshocks and of stimuli previously paired with inescapable footshocks on dopamine turnover in cortical and limbic areas of the rats, *Life Sci.*, 1982;30(25):2207-14.
 69. Hickey RW, Akino M, Strausbaugh S, De Courtm, Myers GM : Use of the Morris water maze and acoustic strattle chamber to evaluate neurologic injury after asphyximal arrest in rats. *Pediatry Res.* 1996;39(1):77-84.
 70. Johnston M, Mckinney M, Coyle J, Evidence for a cholinergic projection to neocortex form neurons in basal forebrain, *Proceedings of the National Academy of Science*, 1979;76:5392-6.
 71. Komori T, Nomura J, Inoue K, Kitayama I, Tyrosine hydrozylase activity in discrete brain regions of depression model rats, *Jpn. J. Psychiatry Neurol.*, 1990;44(4):747-54.
 72. Kufemann IL, *Principles of Neural Science*. 2nd ed. New York: Elsevier, 1986:806-15.
 73. Lee, Seoung-Hee, Effects of chongmyungtang on learning and memory performances in mice, Dongguk Univ graduate school, 2001.
 74. Lister RG, The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, 1987;92:180-185.
 75. Mattew Hartly, Neill Taylor, John Taylor, Subfield variations in hippocampal processing-components of a spatial navigation system. *Neural Networks*, 2005;18 : 611-9.
 76. Miller WR, Psychological deficit in depression, *Psychology Bulletin*, 1975;82:238-60.
 77. Mokha, SS, JA Mcmillan and A. Iggo, Descending control of spinal nociceptive transmission. Actions produced on spinal multireceptive neurones from the nuclei locus coeruleus (LC) and raphe magnus(NRM), *Exp. Brain Res.* 1985;58:213-26.
 78. Nakase S, Kitayama I, Soya H, Hamanaka K, Nomura J : Increased expression of magnocellular arginine vasopressin mRNA in paraventricular nuclues of strees-induced depression-model rats, *Life Sci.*, 1998;63(1):23-31.
 79. Nakazato, T, Locus coeruleus neurons projecting to the forebrain and the spinal cord in the cat. *Neuroscience*. 1987;23:529-38.
 80. Olton DS, Mazes, maps and memory. *American Psychologist*, 1979;34:583-96.
 81. Ortiz J, Fitzgerald LW, Lane S, Terwilliger R, Nestler EJ, Biochemical adaptations in the mesolimbic dopamine system in response to

- repeated stress, *Neuropsychopharmacology*, 1996;14(6):443-452.
82. Papp M, Moryl E, Willner P, Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression, *Eur. J. Pharmacology*, 1996;296:129-36.
 83. Pare WP, Feeding environment and activity-stress ulcer, *Bulletin of the Psychonomic Society*, 1974;4:546-58.
 84. Pare WP, Psychological studies of stress ulcer in the rats, *Brain Research Bulletin* 5, 1980:suppl(1):73-9.
 85. Sands SA, Strong R, Corbitt J, Morilak DA, Effects of acute restraint stress on tyrosine hydroxylase mRNA expression in locus coeruleus of Wistar and Wistar-Kyoto rats, *Molecular Brain Research*, 2000;75:1-7.
 86. Seligman MEP, Meyer B : Chronic fear and ulcers in rats as a function of the unpredictability of safety, *Journal of comparative and physiological psychology*, 1970;73:202-7.
 87. Serova L, Sabban EL, Zangen A, Overstreet DH, Yadid G, Altered gene expression for catecholamine biosynthetic enzymes and stress response in rat genetic model of depression, *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 1998;63(1):133-8.
 88. Simon P, Soubrie P, Behavioral studies to differentiate anxiolytic and sedative activity of the tranquilizing drugs, In *Modern Problems of Pharmacopsyciatry*, 1979;14:99-143.
 89. Sutherland RJ, Rodriguez AJ, The role of the fornix. fimbria and some related subcortical structures in place learning and memory. *Behavioral Brain Research*. 1989;32:265-77.
 90. Symons JP, Davis RE, Marriott JG, Water-maze learning and effects of cholinergic drugs in mouse strains with high and low hippocampal pyramidal cell counts. *Life Science*. 1988;42:375-38.
 91. Thierry B, Steru L, Simon P, Porsolt RD, The tail suspension test:ethical considerations, *Psychopharmacology(Berl)*,1986;90(2):284-5.
 92. Walsh R, Cummins R, The Open-Field Test:A Critical Review, *Psychological Bulletin*, 1976;83(3):482-504.
 93. Wang P, Kitayama I, Nomura J, Tyrosine hydroxylase gene expression in the locus coeruleus of depression-model rats and rats exposed to short-and long-term forced walking stress, *Life Sci*, 1998;62(23):2083-92.
 94. Willer P, The validity of animal models of depression, *Psychopharmacology*, 1984;83:1-16.
 95. Zacharko RM, Anisman H, Stressor-induced anhedonia and the mesocorticolimbic system, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 1991;15:391-405.