

원저

蜂藥鍼液이 Scopolamine으로 記憶障碍 誘發 시 Acetylcholine Esterase 활성에 미치는 影響

송정열 · 송호섭

경원대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

The Effect of Bee Venom on Acetylcholine Esterase Activity during Scopolamine Induced Memorial Impairment

Song Jeong-yeol and Song Ho-sueb

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent form of neurodegenerative disease associated with aging in the human population. This disease is characterized by the following 4 structural changes : Atrophy of the Cortex, Parasympathetic, and other neural cells, the existence of Neurofibrillary tangles (NFTs), and the accumulation of Senile plaques. NFTs and Senile plaques is known to be the index of this disease. Senile plaques disturbs the neutro transmission and depletes of Acetylcholine. So, Recovery of Acetylcholine is the primal objective for treating Alzheimer's disease. So, Inhibiting the activity of Acetylcholine Esterase (AChE), which causes the hydrolysus of acetylcholine into choline and acetate, can be seen as a key role for treating Alzheimer's disease. Increasing body of evidence has been demonstrated that Bee Venom Acupuncture (BV) could compete with complex protein involving in multiple step of NF- κ B activation and exert the anti-inflammatory potential of combined inhibition of the prostanoid and nitric oxide synthesis systems by inhibition of IKK and NF- κ B. BV dose-dependently attenuated Scopolamine-induced Acetylcholine esterase activities in cerebral cortex and hippocampus of the mice brain. This study therefore suggests that BV acupuncture method may be useful for prevention of development or progression of AD.

- 접수 : 2006년 5월 8일 · 수정 : 2006년 5월 20일 · 채택 : 2006년 5월 20일
· 교신저자 : 송호섭, 서울 송파구 송파동 20-8 경원대학교 한의과대학 부속서울한방병원 침구과교실
Tel. 02-425-3456 E-mail : hssong70@kyungwon.ac.kr

ISSN

Key words : Alzheimer's Disease, Bee Venom, scopolamine, acetylcholine esterase, cortex, hippocampus, memorial impairment

I. 緒 論

痴呆는 여러 가지 原因疾患에 의해 惹起되는 知能低下를 特징으로 하는 症候群으로¹⁾ 記憶力, 思考力, 指南力, 理解力, 計算能力, 學習能力, 言語 및 判斷力 등을 포함하는 高度의 大脳機能 障礙를 나타낸다¹⁻²⁾.

痴呆 중에 많은 比率을 차지하는 Alzheimer's disease(AD)는^{1,3)} 腦의 全般的 萎縮과 特有的 組織學的 所見을 나타내며^{1-2,4)}, 發病은 서서히, 經過는 漸進的인 것이 特徵이다²⁾. 進行性 痴呆의 一種인 AD는 大部分 65世 以上の 高齡人口에서 發病한다⁵⁻⁸⁾. AD는 腦 안에서 뉴론의 漸次的인 退化와 損失이 特徵인 年齡과 關係된 神經退化 疾病이다⁹⁾. 症狀로는 주위에 대한 無關心, 自發性的 缺如, 記憶力 低下, 指南力 減退, 情緒不安, 騷亂 또는 憂鬱, 無言, 無反應, 大小便失禁 등을 보인다^{1,3,10-11)}.

AD의 誘發 機轉에 대한 理論은 다양한데¹²⁻¹⁴⁾, 그 중 대표적인 것이 presenilin (PS) 遺傳子들의 突然 變異와 amyloid presursor proteins (APP)의 過多形成으로 因해 β - γ -secretase에 의해 잘라진 beta-amyloid peptide ($A\beta$)가 過量으로 만들어지게 되고, 이 $A\beta$ 의 沈積 (deposition)으로 생기는 老人癥 (senile plaques)의 神經毒性으로 말미암아 神經細胞의 破壞가 일어난다는 假說이다¹⁵⁻²⁰⁾.

그런데, 이런 初老性 癥點은 파괴된 軸索突起와 樹狀突起들이 얽힌 덩어리가 $A\beta$ 를 둘러싼 모양을 하고 있으며 이 plaque는 다시 신경교세포(glial cell)과 얽히게 된다. 신경교세포는 炎症 媒介 物質 分泌作用과 蝕細胞作用을 하기 때문에 이것은 AD의 炎症性 機轉을 說明하는데 重要하다²¹⁾.

한편, AD의 主症狀인 記憶力 減退는 choline성 神經系와 密接한 關係가 있다고 알려져 있는데, 특히 choline성 神經細胞의 退化에 의한 acetylcholine의 不足 때문에 생각되며, 이러한 現象은 acetylcholine의 分解酵素인 acetylcholinesterase(AChE)의 增加로 더욱 深化된다²²⁻²⁶⁾.

最近 蜂藥鍼을 利用한 研究로는 膝關節炎²⁷⁻²⁸⁾, Rheumatoid 關節炎²⁹⁾, 足跟痛³⁰⁾, 腰椎間板脫出症³¹⁾, 胸·腰椎壓迫骨折³²⁾, 頭皮脂漏皮膚炎³³⁾ 등 주로 炎症과 損傷性 疾患에 대한 有效함이 報告되었으며, 最近에는 蜂藥鍼과 그 主要 成分인 melittin은 NF- κ B의 p50 과 IKK와 강하게 結合하여 NF- κ B의 炎症關聯 iNOS, cPLA2 및 LOX-2와 같은 DNA의 結合 活性을 抑制시키고, NO, PGE₂와 같은 炎症 生成物을 減少시킴으로써 抗炎 效果를 發揮한다는 蜂毒의 抗炎效果에 대한 분자 메카니즘이 報告되었다³⁴⁾.

그런데, 抗炎症 效果가 卓越한 蜂藥鍼液과 炎症性 疾患인 AD에 대한 聯關性은 아직 報告된 事例가 없다. 따라서, 本 研究는 實驗用 생쥐의 靜脈內와 腦室內에 各各 蜂毒을 注入하여, acetylcholine esterase 活動을 抑制시키는지의 與否를 調査하여 有意한 結果를 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 재료

1) 蜂毒(Bee Venom: 이하 BV)

蜂毒은 유밀봉독(주)에서 구입하였다. 蜂毒의 구성물은 다음과 같았다 : 45-50% melittin, 2.5-3% apamin, 2-3%. MCD peptide, 12% PLA2, 1% lyso-PLA, 1-1.5% histidine, 4-5% 6pp lipids, 0.5% secarpin, 0.1% tertiapin, 0.1% procamine, 1.5-2% hyaluronidase, 2-3% amine, 4-5% carbohydrate, and 19-27% other, including protease inhibitor, glucosidase, invertase, acidphosphomonoesterase, dopamine, norepinephrine, and unknown amino acids, with>99.5% purity.

2) Scopolamine

Scopolamine(Sigma, St. Louis, MO, USA)는 용해되어 각 나누어진 성분들은 使用하기 전까지 20℃에

서 보관되었다.

3) 실험용 동물

수컷 생쥐인 IcrTacSam : ICR (Samtako, Gyeonggi-do, Korea)는 한국 식품의약품 산하 국립 독극물 연구소의 실험용 동물 관리 및 사용 규정에 의거해서 관리되었다. 모든 생쥐들은 자동으로 상온 21~25°C 이 유지되는 방안에 보관되었으며 상대습도는 45~65%에 유지되었으며, 밤낮 주기를 통제하였다.

2. 방법

1) 모델용 생쥐에 대한 기억 장애

Scopolamine(최종 농도 1mg/Kg)은 염수에 용해 및 희석시켰으며, 잠시동안 각 쥐들에게 마취 없이 복강내 (i.p.)에 주입되었다.

2) 실험 설계

Scopolamine (1 mg/Kg)은 복강내(i.p.)에 주입했으며, 주입후 1일, 3일 및 7일이 경과한 후에 행동 테스트를 했다. 봉약침 처치군은 두 군으로 나누어 0.84 및 1.67 μ g/kg의 봉약침액을 정맥내(i.v.)와 뇌실내(i.c.v.)로 나누어 주입하였다. 학습 및 기억 능력 검사 후 메카니즘 연구는 뇌의 독립된 구역인 대뇌 피질과 해마내에 대한 생화학 실험(Acetylcholine

Esterase Assay)으로 결론지었다.

Scheme 1에 실험 스케줄이 나와 있다.

3) 생화학 실험

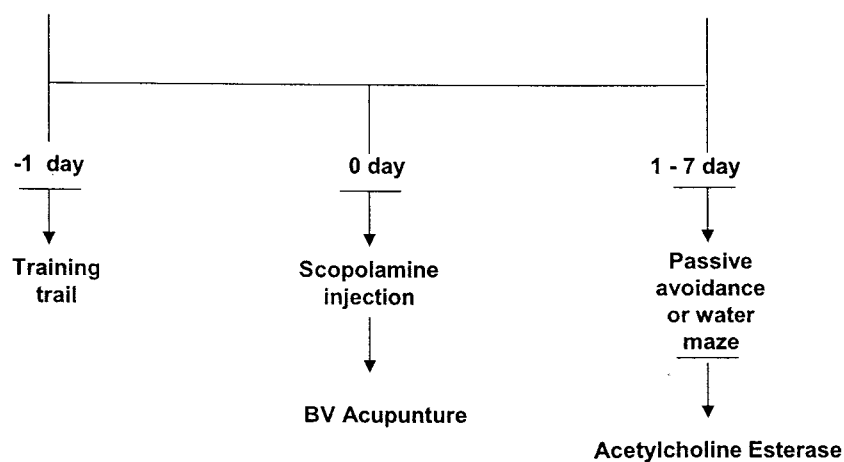
(1) 뇌 적출과 보관

7일날 행동 검사 후에, 동물에 클로로포름 마취제를 살포했으며, 뇌들은 즉시 적출되어 영하 20°C에 보관되었으며, 대뇌피질과 해마내 구역으로 분리되었다. 뇌의 모든 구역은 영하 80°C에 보관되었으며, acetylcholine esterase의 활성 정도를 측정하는데 사용되었다.

(2) Acetylcholine Esterase Assay

이 Assay는 Ellman method³⁵⁾에 바탕을 두고 변경시켰다. 잠시동안 샘플 5-10ml를 reaction buffer (50mM Tris-HCl pH8.0 containing 0.01% DTNB, 0.02% acetylthiocholine, 0.1mM iso- OMPA) 200ml 와 함께 혼합시켰다. 10분동안 37°C에서 배양시킨 후에 효소의 활동을 관찰했다. 광학 밀도는 405nm 에서 Acetylcholine의 용량(nmole)에 따라 측정되었으며, 이는 1ml 효소 액체당 1분씩 thiocholine으로 가수분해시켰다. 효소의 활동은 단백질 nM/min/mg 의 단위로 나타냈다.

$$b = \frac{AA}{\min \times \epsilon}$$



Scheme 1. Time course of the Treatment, Training and Tests

4) 통계 처리

모든 측정값은 평균값 ± 표준오차의 형식으로 표시하였다. 각 실험군의 통계학적 분석은 one-way ANOVA로 하였으며, 사후 검정은 Tukey's test를 통해 검증하였고, P값이 0.05미만인 경우를 유의성 있는 것으로 정하였다.

Ⅲ. 成 績

1. 봉약침액이 Acetylcholine Esterase 활성에 미치는 효과

1) 봉약침액의 i.v. 주입

Scopolamine으로 유발된 기억장애가 봉약침액으로 개선되는 기전을 규명하기 위해 실험용 생쥐들의 대뇌피질과 해마부위에서 acetylcholine esterase의 활성을 조사하였다. 기억장애 유발 7일 후 각 조에서 수동 회피 실험과 Morris 수중 미로 실험의 마지막 평가를 시행한 후 실험용 생쥐를 희생시켰다. 희생된 실험용 생쥐의 뇌를 대뇌피질과 해마로 분리한 후 각각에서 acetylcholine esterase의 활성을 측정하고 결과 대뇌피질과 해마에서 대조군은 각각 9.2±1.7과

15.1±0.54nM/min/mg을 나타내었고, scopolamine으로 기억장애를 유발한 군은 14.45±2.12과 29.45±1.85nM/min/mg으로 대조군에 비하여 증가하였다. 0.84µg/kg 봉약침액 처리군은 13.25±0.75과 19.56±0.65nM/min/mg으로 기억장애 유발군에 비하여 활성의 감소를 나타내었고, 1.67µg/kg 봉약침 처리군은 대뇌피질에서 11.65±2.45nM/min/mg으로 기억장애 유발군에 비하여 활성의 감소를 나타내었고, 해마에서는 17.66±2.11nM/min/mg으로 기억장애 유발군에 비하여 활성의 유의한(p<0.05) 감소를 나타내었다 (Fig. 1, 2).

2) 봉약침액의 i.c.v. 주입

Acetylcholine esterase의 활성을 측정한 결과 대뇌피질과 해마에서 대조군은 각각 13.4±2.12과 13.87±4.23nM/min/mg을 나타내었고, scopolamine으로 기억장애를 유발한 군은 24.21±3.32과 27.32±2.95 nM/min/mg으로 대조군에 비하여 증가하였다. 0.84 µg/kg 봉약침액 처리군은 23.24±0.92과 22.56±1.56 nM/min/mg으로 기억장애 유발군에 비하여 활성의 감소를 나타내었고, 1.67µg/kg 봉약침 처리군은 18.34±2.87과 18.67±1.77nM/min/mg으로 기억장애 유발군에 비하여 활성의 유의한(p<0.05) 감소를 나타내었다(Fig. 3, 4).

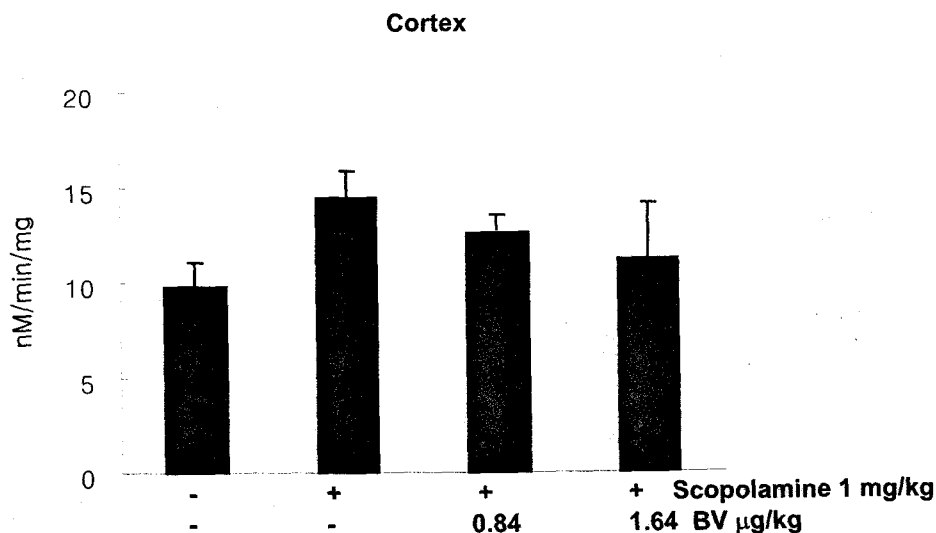


Fig. 1. The inhibitory effect of BV (i.v.) on Scopolamine-induced Acetylcholine Esterase Activity in Cortex. BV were administrated by i.v., and then the Mice were treated by Scopolamine (i.p.). The Acetylcholine Esterase Activity was measured in Each Regions of Brain at 7 day after Treatment of Scopolamine. The Effect of BV was tested in Three Independent Experiments (n=10)

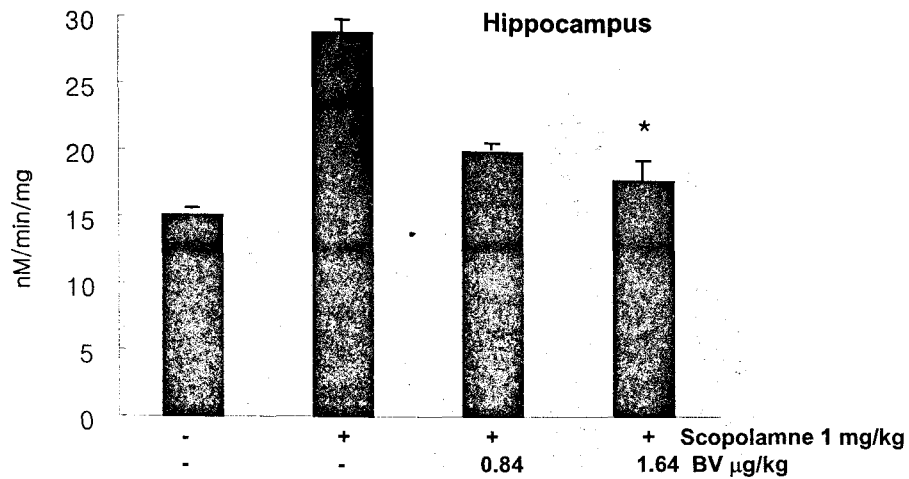


Fig. 2. The inhibitory effect of BV (i.v.) on Scopolamine-induced Acetylcholine Esterase Activity in Hippocampus. BV were administrated by i.v., and then the Mice were treated by Scopolamine (i.p.). The Acetylcholine Esterase Activity was measured in Each Regions of Brain at 7 day after Treatment of Scopolamine. The Effect of BV was tested in Three Independent Experiments (n=10). * Significantly different from Scopolamine treated group (p<0.05)

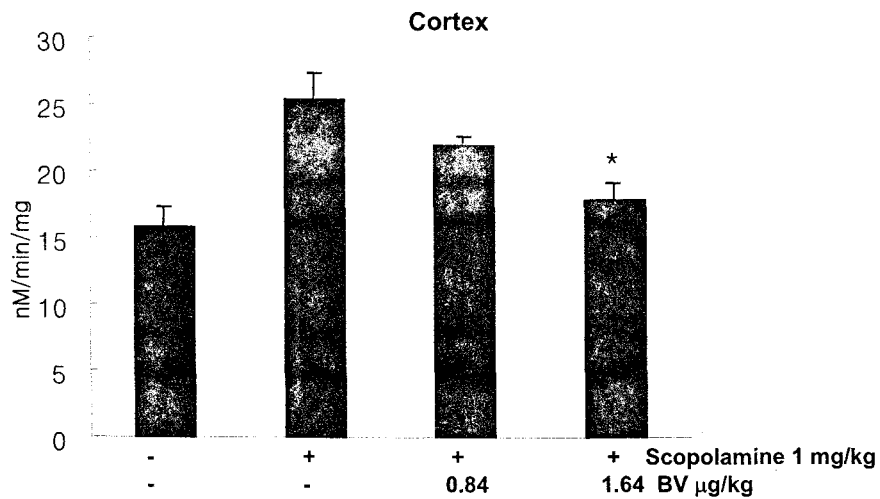


Fig. 3. The inhibitory effect of BV (i.c.v.) on Scopolamine-induced Acetylcholine Esterase Activity in Cortex. BV were administrated by i.c.v., and then the Mice were treated by Scopolamine (i.p.). The Acetylcholine Esterase Activity was measured in Each Regions of Brain at 1 day after Treatment of Scopolamine. The Effect of BV was tested in Three Independent Experiments (n=10). * Significantly different from Scopolamine treated group (p<0.05)

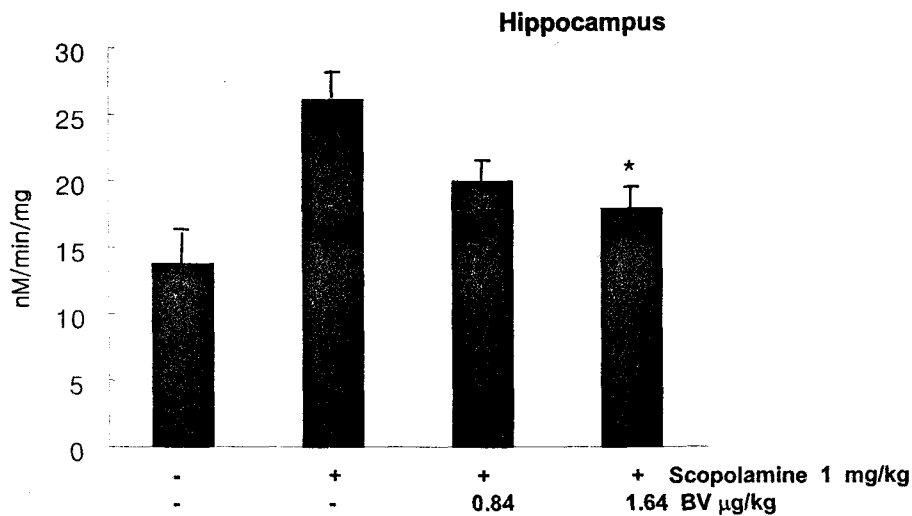


Fig. 4. The inhibitory effect of BV (i.c.v.) on Scopolamine-induced Acetylcholine Esterase Activity in Hippocampus. BV were administrated by i.c.v., and then the Mice were treated by Scopolamine (i.p.). The Acetylcholine Esterase Activity was measured in Each Regions of Brain at 1 day after Treatment of Scopolamine. The Effect of BV was tested in Three Independent Experiments (n=10). * Significantly different from Scopolamine treated group (p<0.05)

IV. 考 察

最近, 現代 醫學의 눈부신 發展은 人間의 壽命을 延長시키는 데는 커다란 貢獻을 하였으나 이에 따른 高齡人口의 增加로 老人性 腦神經系 疾患 患者의 數도 增加되어 醫學的인 側面 뿐 아니라 社會的인 側面에서도 深刻한 問題가 되고 있다³⁶⁾. 그 중에서도 老化로 인한 疾患 中에 특히 痴呆는 深刻한 社會問題로 擡頭되고 있다⁴¹⁾.

痴呆는 여러 가지 原因疾患에 의해 惹起되는 知能低下를 特징으로 하는 症候群으로¹⁾ 記憶力, 思考力, 指南力, 理解力, 計算能力, 學習能力, 言語 및 判斷力 등을 포함하는 高度의 大腦機能 障礙를 나타낸며^{1,2)}, 높은 有病率과 死亡率의 問題 뿐 아니라 日常生活의 營爲에서도 深刻한 障礙를 招來한다³⁷⁾.

痴呆 中에 많은 比率을 차지하는 Alzheimer's disease(AD)는^{1,3)} 腦의 全般的 萎縮과 特有的 組織學的 所見을 나타내며^{1,2,4)}, 神經 傳達 物質을 통한 神經細胞間의 情報交換過程이 破壞됨에 따라 神經細胞의 機能이 停止되고 神經細胞間의 連結이 끊어짐으로써 結果的으로 神經細胞가 죽게 된다. 中樞神經은 물론 前腦(Forebrain), 小腦 扁桃(Amygdala), 海馬

(Hippocampus), 大腦皮質(Cortex) 같은 皮質과 邊緣係(Limbic system)의 神經을 破壞하는데 이런 부분 들은 腦에서 學習, 記憶, 思考, 行動, 感情調節 等과 關聯된 部位이다³⁸⁾.

이 中에서 腦의 學習, 記憶, 思考, 行動, 感情調節 等과 關聯된 中樞神經, 특히 cortex와 hippocampus 의 神經破壞가 記憶力障礙와 思考能力 低下로 이어 지게 된다. 즉 hippocampus는 腦의 깊은 부분에 存在하며 記憶을 調節하는 部位로서 이곳이 破壞되면 短期記憶力(short-term memory)가 減少하고 親熟한 일을 수행하는 能力이 떨어진다. Cortex는 思考 能力을 調節하는 部位로서 이곳의 破壞에 의해 言語能力과 思考能力이 減少하게 된다³⁹⁻⁴⁰⁾.

따라서 AD는 非可逆的인 行動과 人性的 變化, 思考能力의 低下로 나타나게 되며 이러한 病의 정확한 原因과 治療法이 밝혀지지 않았다.

AD는 腦에서 大腦皮質의 萎縮, 副交感神經과 다른 神經細胞의 退化, 神經 原纖維 濃縮體 (Neurofibrillary tangles, NFTs)의 存在, 初老性 癥點(Neuritic plaques)의 蓄積과 같은 4가지 構造的 變化가 나타나며 NFTs와 Neuritic plaques는 이 病의 指標로 認識되고 있다³⁸⁾.

初老性 癥點(Neuritic plaques)은 아밀로이드 癥

(amyloid plaque) 또는 老人癥(senile plaque)라고도 하며 腦와 腦血管系의 細胞와 部位에 存在한다. 初老性 癥點은 파괴된 軸索突起와 樹狀突起들이 얽힌 덩어리가 $A\beta$ 을 둘러싼 모양을 하고 있으며 이 plaque는 다시 신경교세포(glial cell)와 얽히게 된다. 신경교세포는 炎症 媒介 物質 分泌作用과 蝕細胞 作用을 하기 때문에 이것은 AD의 炎症性 機轉을 說明하는데 重要하다³⁸⁾. 이렇게 NFTs와 初老性 癥點은 神經 傳達를 妨害하게 되고 副交感 神經과 腦의 다른 神經 傳達 經路를 破壞한다. 이에 따라 Acetylcholine, Serotonin, Noradrenaline, Dopamine, Glutamate, Substance P 등의 많은 神經 傳達 物質이 크게 減少하게 되고 이 중 Acetylcholine의 枯渴은 가장 重要한 現狀이며 이것을 回復시키는 것이 주 治療目標의 하나가 된다. 그러므로 아직까지는 Acetylcholine Esterase(AChE)의 阻害劑를 찾아 Acetylcholine의 分解를 抑制시킴으로써 痴呆를 改善시키려는 方法이 가장 많이 이루어지고 있다 (Scheme 2).

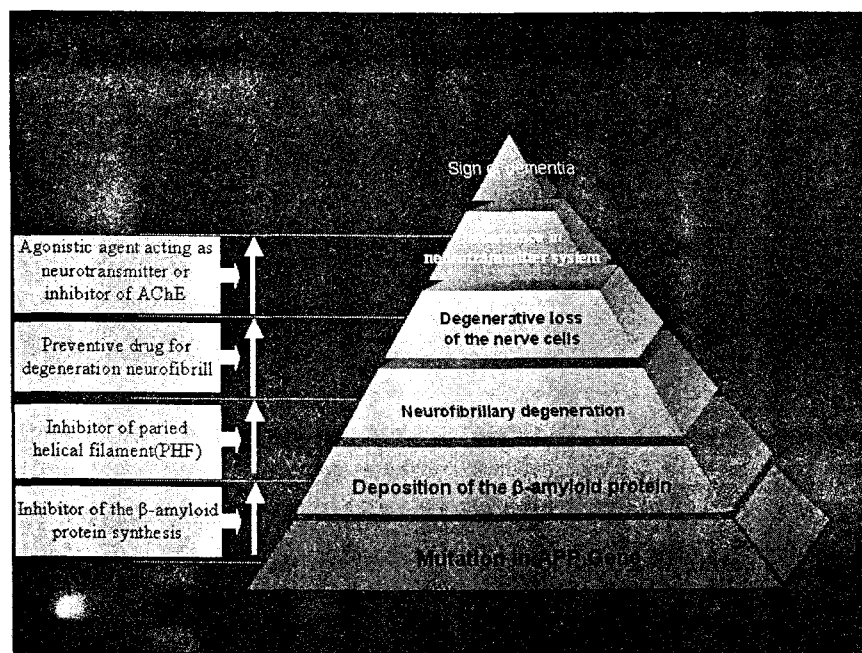
AD 患者의 腦에서 Acetylcholine을 合成하는 酵素인 choline acetyltransferase가 正常人에 비하여 40-70%나 減少되었으며, 또한 acetylcholine을 choline과 acetate로 加水分解시키는 酵素인 AChE의 活性이 AD 患者에게서 增加되었다는 報告가 있다.

Acetylcholine Esterase는 콜린성 神經의 절후 시냅스 神經 細胞에 存在하는 酵素로 수용체와 결합하고 난 Acetylcholine을 效果的으로 加水分解시켜 수용체의 正常的인 機能을 維持시키고, Acetylcholine의 合成에 필수 成分인 choline을 供給함으로써 콜린성 神經系의 圓滑한 作用에 없어서는 안 될 重要한 酵素이다(Fig. 11).

韓醫學으로 痴呆는 痴呆, 呆病, 健忘 등의 範疇에 속하는데, 痴呆의 原因은 痰飲, 痰火, 瘀血, 七情傷, 心腎不交, 肝腎不足 등이며 특히 現代 中醫學에서는 痰飲과 瘀血을 痴呆의 重要한 原因으로 다루고 있으며 이에 대한 研究가 進行되고 있다.

蜂藥鍼療法은 藥鍼療法 중의 하나로 양봉 꿀벌 (*Apis mellifera ligustica*)의 毒囊에 있는 毒을 抽出 加功하여 疾病治療에 聯關된 部位나 穴位에 注入하는, 鍼治療와 蜂毒이 人體에 미치는 生化學的 藥理作用을 동시에 이용하는 新鍼療法이다. 이는 2천여 年前부터 臨床에서 各種 疾患에 應用되어 온 것으로, 人體의 陰陽氣血을 調節하여 病理狀態를 改善시켜 疾病을 治療하고 防禦하는 藥鍼療法의 하나이다.

蜂毒의 性味는 苦, 辛, 平, 有毒하고 祛風除濕, 止疼痛, 解痙平喘, 消腫降壓하는 效能이 있어 鎮痛, 消炎, 解熱, 鎮痙, 抗癌, 免疫增強, 循環促進, 抗菌作用을 가진다.



Scheme 2. Pathogenesis of Alzheimer's Disease and the Drugs targeted to Specific Steps.

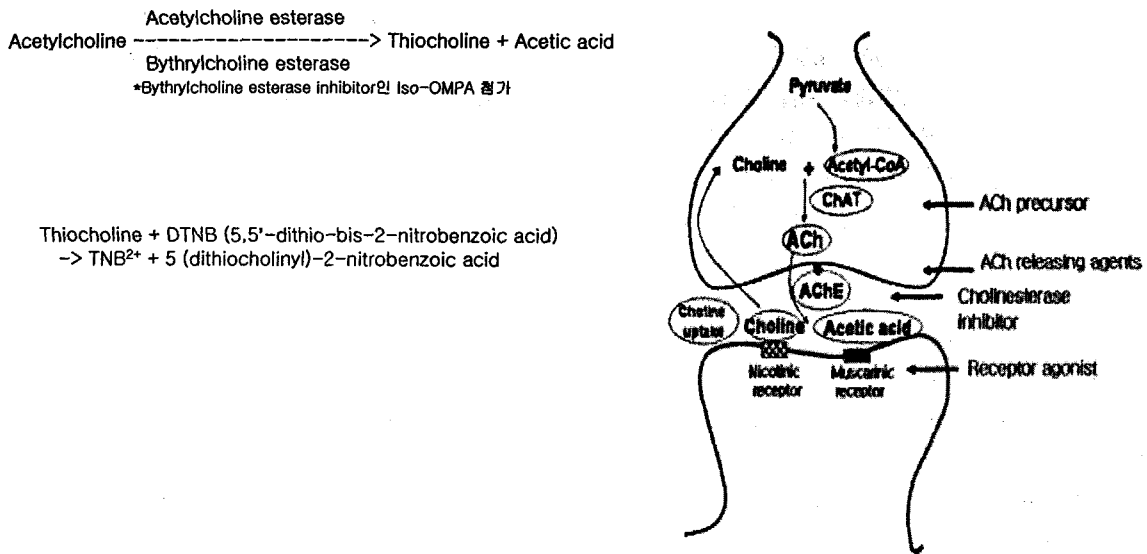


Fig. 5. Acetylcholine Esterase Assay (by Ellman). Acetylcholine Esterase is Acetylcholine decomposition enzyme in the synaptic cleft. Because the brain of a AD patient has been injured at a cholinergic nervous system, it was needed Acetylcholine concentration maintenance

蜂毒에 대한 논문은 1858년 프랑스의 Desjardin이 최초로 류머티스성 질환에 응용한 결과를 발표한 것을 시작으로 하여, 1968년 Habermann E.는蜂毒의 생화학적 성분에 대해 보고하였으며 이후로蜂毒의 성분때 따른 작용과 기전,蜂毒의 과민성과 독성,免疫療法,關節炎,單純疱疹,多發性硬化症,腫瘍 등의疾病治療에 대한 연구가 보고되었다.

蜂藥液의 성분은 enzymes, polypeptides, non peptide components 등으로 구성되어 있다. 이 중 enzymes의 주요 성분은 phospholipase A₂(PLA₂)와 hyaluronidase 등이 있고, polypeptides는乾燥蜂毒의 약 50%를 구성하고 있으며 melittin, apamin, MCD peptide 등이 있다. Apamin과 MCD peptide는免疫機能을 증가시키고鎮痛,消炎效果를 나타내며,白血球의食作用을抑制하고,血漿의纖維化를阻害하는效能이 있으며, Non peptide components는 histamine, dopamine, noradrenaline 등으로 구성되어 있다.

그 중蜂藥液의主成分인 melittin은 분자량이 2,840이고 26개의 아미노산으로 구성된 polypeptide로溶血作用과酵素作用이 있다.關節에 대한 melittin의作用을 보면 PLA₂에 의해 phospholipid에서 만들어지는炎症媒介體의 전구물질인 arachidonic acid의生成을 막는作用과 중성구에서由來되며 炎

症의 전구물질인 arachidonic acid와 相互作用하여炎症을持續시키는 O₂ 生産을遮斷함으로써炎症을抑制시키는作用이 있다.

본 연구에서는蜂藥液의抗炎效果를 바탕으로,炎症性疾患인 알츠하이머에 대한蜂毒의效果를 연구하고자 하였다. 以前의報告에서 scopolamine의 i.p. 주입은 AD와 비슷한行動의結果를 가져 온다고 하였다⁴⁰⁾. 따라서, scopolamine으로誘發된記憶障碍를스크리닝하는데適用될 수가 있다. 우리들의 선행 행동실험 연구에서 scopolamine으로誘發된記憶障碍가蜂毒에 의해 개선되었다.

이러한行動實驗에서 보이는蜂毒의記憶障碍에 대한效果는 특히,腦의學習,記憶,思考,行動,感情調節 등과關聯된 cortex와 hippocampus 部位의 acetylcholine의濃度維持와關聯이 있는 것으로 보여진다. 따라서, Acetylcholine을 choline과 acetate로加水分解시키는酵素인 AChE의活性의測定을 통해蜂藥液이記憶障碍改善에 미치는影響을 살펴본實驗에서는 scopolamine으로誘發된海馬의 Acetylcholine Esterase 活性도는蜂毒(1.67μg/kg i.v.)과蜂毒(1.67 μg/kg i.c.v.)를 주입한 군에서 scopolamine 주입군에比하여有意性 있는減少를 보였으며, scopolamin으로誘發된大腦皮質의 acetylcholine esterase 活性도는蜂毒(1.67μg/kg i.c.v.)을 주입한 군에서 scopolamine

주입군에 비하여 有意性 있는 減少를 보였다.

이상의 결과로 보아 蜂藥鍼液이 scopolamine으로 인해 생긴 認知 機能 障礙에 대하여 回復 效果는 大 腦皮質과 海馬內의 acetylcholine esterase를 有意性 있게 抑制하기 때문임을 추론할 수 있다. 이는 蜂藥 鍼療法이 알츠하이머 병의 豫防 및 治療에 있어서 有用한 方法이 될수 있다는 事實을 나타내고 있다. 向後에 보다 많은 研究가 持續的으로 이루어져야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

Scopolamine으로 유발된 認知 機能 障礙와 acetylcholine esterase의 活性에 대한 蜂毒의 抑制 效果에 대한 實驗에서 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 대뇌피질에서 scopolamine로 증가된 acetylcholine esterase의 활성도는 1.67 μ g/Kg i.c.v. 봉약침액 처리군이 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다.
2. 해마에서 scopolamine로 증가된 acetylcholine esterase의 활성도는 1.67 μ g/Kg i.v.와 1.67 μ g/Kg i.c.v. 봉약침액 처리군에서 각각 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다.

以上の 結果로 보아 蜂藥鍼液이 scopolamine으로 誘發한 認知 機能 障礙에 대한 回復 效果는 大 腦皮質과 海馬內의 acetylcholine esterase를 有意性 있게 抑制하기 때문임을 推論할 수 있다. 이들 結果는 蜂藥 鍼療法이 알츠하이머병의 豫防 및 治療에 있어서 有用한 方法이 될수 있다는 事實을 나타내고 있다. 向後에 보다 많은 研究가 持續的으로 나오길 기대해 본다.

VI. 參考文獻

1. 金知赫, 黃義完. 東醫精神醫學, 서울, 現代醫學 書籍社. 1992 ; 256-271, 327-330.
2. 郭隆燦. 圖解腦神經外科學, 서울, 第一醫學社.

- 1992 ; 27-31.
3. 李定均. 精神醫學, 서울, 一潮閣. 1995 ; 87-88, 465-467, 514-518, 600.
4. 이근후 외. 최신임상정신의학, 서울, 하나의학 사. 1988 ; 138, 216-228.
5. Hardy, J.A. and Higgins, G.A. : Alzheimer's disease : the amyloid cascade hypothesis. Science 10, 184-185 (1992).
6. Checler, F. : Processing of the beta-amyloid precursor protein and its regulation in Alzheimer's disease. J. Neurochem. 65, 1431-1444 (1995).
7. Harada, J. : Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. Trends Neurosci. 4, 154-159 (1997).
8. Hwang, D.Y., Chae, K.R., Kang, T.S, Hwang, J.H., Lim, C.H., Kang, H.K., Goo, J.S., Lee, M.R., Lim, H.J., Min, S.H., Cho, J.Y., Hong, J.T., Song, C.W., Paik, S.G., Cho, J.S. and Kim, Y.K. : Alterations in behavior, amyloid beta-42, caspase-3, and Cox-2 in mutant PS2 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. FASEB J. 16, 805-813 (2002).
9. Hof, P.R., Morrison, J.H., 2004. The aging brain : morphomolecular senescence of cortical circuits. Trends Neurosci. 27, 607-613.
10. 徐舜圭. 成人病·老人病學, 서울, 고려의학. 1992 ; 225-228, 230-232.
11. 이광우, 정희원. 임상신경학, 서울, 고려의학. 1997 ; 199-210.
12. Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR, Alzheimer's disease and senile dementia, loss of neurons in the basal forebrain, Science. 1982 ; 215(4537) : 1237-1239.
13. Lemere CA, Lopera F, Kosik KS, Lendon CL, Ossa J, Saido TC, Yamaguchi H, Ruiz A, Maritnez A, Madrigal L, Hincapie L, Arango JC, Anthony DC, Koo EH, Goate AM, Selkoe DJ. The E280A presenilin 1 Alzheimer mutation produces increased A 42 deposition and severe cerebellar pathology, Nat Med, 1996 ; 2(10) : 1146-1150.
14. McGeer EG, McGeer PL. The importance of

- inflammatory mechanisms in Alzheimer disease, *Exp Gerontol*, 1998 ; 33(5) : 371-378.
15. Zhu, X., Raina, A.K., Lee, H.G., Casadesus, G., Smith, M.A. and Perry, G., : Oxidative stress signalling in Alzheimer's disease. *Brain Res*. 1000, 32-39 (2004).
 16. Harris, M.E., Hensley, K., Butterfield, D.A., Leedle, R.A. and Carney, J.M. : Direct evidence of oxidative injury produced by the Alzheimer's beta-amyloid peptide (1-40) in cultured hippocampal neurons. *Exp. Neurol*. 131, 193-202 (1995).
 17. Wang, J.Y., Shum, A.Y., Ho, Y.J. and Wang, J.Y. : Oxidative neurotoxicity in rat cerebral cortex neurons : synergistic effects of H₂O₂ and NO on apoptosis involving activation of p38 mitogen-activated protein kinase and caspase-3. *J. Neurosci. Res*. 72, 508-519 (2003).
 18. Hock, C., Konietzko, U., Streffer, J.R., Tracy, J., Signorell, A., Muller-Tillmanns, B., Lemke, U., Henke, K., Moritz, E., Garcia, E., Wollmer, M.A., Umbricht, D., de Quervain, D.J., Hofmann, M., Maddalena, A., Papassotiropoulos, A. and Nitsch, R.M. : Antibodies against beta-amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron* 22, 547-554 (2003).
 19. De Pietri Tonelli, D., Mihailovich, M., Di Cesare, A., Codazzi, F., Grohovaz, F. and Zacchetti D. : Translational regulation of BACE-1 expression in neuronal and non-neuronal cells. *Nucleic Acids Res*. 32, 1808-1817 (2004).
 20. Zhao, J., Paganini, L., Mucke, L., Gordon, M., Refolo, L., Carman, M., Sinha, S., Oltersdorf, T., Lieberburg, I. and McConlogue, L. : Beta-secretase processing of the beta-amyloid precursor protein in transgenic mice is efficient in neurons but inefficient in astrocytes. *J. Biol. Chem*. 271, 31407-31411 (1996).
 21. Andrea E.M, Lynn Crismon, Larry E. Alzheimer's Disease In *Pharmacotherapy : a pathophysiologic approach*. Dipro Jt et al. ED. New York, Elsevier Science Publishing Co.,Inc. 1996 ; 1325-1344.
 22. Kuhl DE, Koeppe RA, Minoshima S, Snyder SE, Ficarò EP, Foster NL, Frey KA, Kilbourn MR. In vivo mapping of cerebral acetylcholinesterase activity in aging and Alzheimer's disease, *Neurology*. 1999 ; 52(4) : 691-699.
 23. Costagli C, Galli A. Inhibition of cholinesterase-associated aryl acylamidase activity by anticholinesterase agents, focus on drugs potentially effective in Alzheimer's disease, *Biochem Pharmacol*. 1998 ; 55(10) : 1733-1737
 24. Almeida OP. Treatment of Alzheimer's disease, critical evaluation of the use of anticholinesterase, *Arq Neuropsiquiatr*. 1998 ; 56(3B) : 688-696.
 25. Kasa P, Papp H, Torok I. Donepezil dose-dependently inhibits acetylcholinesterase activity in various areas and in the presynaptic cholinergic and the postsynaptic cholinergic enzyme-positive structures in the human and rat brain, *Neuroscience*. 2000 ; 101(1) : 89-100.
 26. Sramek JJ, Frackiewicz EJ, Cutler NR. Review of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine, *Expert Opin Investig Drugs*. 2000 ; 9(10) : 2392-2402.
 27. 왕오호, 안규범, 임진강 외 1인. 퇴행성 膝關節炎의 蜂毒藥鍼 治療效果에 대한 臨床的 考察. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18(3) : 35-47.
 28. 김지훈, 이재동. 膝關節炎에 대한 蜂毒藥鍼의 臨床的 考察. 大韓鍼灸學會誌. 1999 ; 16(3) : 25-36.
 29. 황유진, 이진목, 황우준 외 5인. 蜂藥鍼을 이 용한 류마티드 關節炎의 臨床的 研究. 大韓 鍼灸學會誌. 2001 ; 18(5) : 33-42.
 30. 배은정, 이현, 이병렬 외 7인. 蜂毒藥鍼 竝行 治療한 腰椎間板脫出症 患者의 臨床 考察. 대한 침구학회지. 2002 ; 19(1) : 54-64.
 31. 김기현, 이성노, 송호섭 외 6인. 蜂藥鍼 治療

- 를 並行한 胸·腰椎壓迫骨折 患者의 臨床的 考察. 대한침구학회지. 2002 ; 19(6) : 35-48.
32. 김기현, 안광현, 송호섭 외 5인. 足跟痛에 蜂藥鍼療法이 미치는 影響. 대한침구학회지. 2002 ; 19(5) : 149-160.
33. 황민섭, 윤종화, 김갑성 외 1인. 蜂藥鍼療法으로 치료한 두피 지루피부염에 대한 임상적 고찰. 대한침구학회지. 2002 ; 19(6) : 24-34.
34. Hye Ji Park, Seong Ho Lee, Dong Ju Son, Ki Wan Oh, Ki Hyun Kim, Ho Sueb Song, Goon Joung Kim, Goo Taeg Oh, Do Young Yoon, and Jin Tae Hong, 2004. Antiarthritic Effect of Bee Venom Inhibition of Inflammation Mediator Generation by Suppression of NF-kB Through Interaction With the p50 Subunit. ARTHRITIS & RHEUMATISM. Vol. 50, No. 11, pp 3504, 3515.
35. Ellman GL, Courtneyk D, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol. 1961 ; 7 : 88-95.
36. Lang W, Henke H. Cholinergic receptor binding and autoradiography in brains of non-neurological and senile dementia of Alzheimer-type patients, Brain Res. 1983 ; 267, 271-280.
37. 이가옥. 노인생활실태 분석 및 정책과제, 한국보건사회연구원. 1994 ; 114-132.
38. Andrea E.M, Lynn Crismon, Lary E. Alzheimer's Disease In Pharmacotherapy : a pathophysiology approach. Dipiro Jt et al. ED. New York, Elsevier Science Publishing Co.,Inc. 1996 ; 1325-1344.
39. Pappolla, M.A., Chyan, Y.J., Omar, R.A., Hsiao, K., Perry, G., Smith, M.A. and Bozner, P. : Evidence of oxidative stress and in vivo neurotoxicity of beta-amyloid in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease : a chronic oxidative paradigm for testing antioxidant therapies in vivo. Am. J. Pathol. 1998 ; 152 : 871-877.
40. Jain, N.K., Patil, C.S., Kulkarni, S.K. and Singh, A. Modulatory role of cyclooxygenase inhibitors in aging and scopolamine or lipopolysaccharide -induced cognitive dysfunction in mice. Behav. Brain Res. 2002 ; 133 : 369-376.