

人蔘山查複合方이 Alzheimer성 치매의 病態 모델에 미치는 영향

한신희* · 길기정¹

중부대학교 한방건강관리학과, ¹중부대학교 한약자원학과

Effects of Ginseng Radix Plus Crataegi Fructus on the Mice Model of Alzheimer's Disease

Sin-Hee Han* and Gi-Jung Kil¹

Department of Oriental Health Care, Joongbu University, Kumsan 312-702, Korea

¹Department of Oriental Medicine Resources, Joongbu University, Kumsan 312-702, Korea

Abstract – This research was investigated the effect of the Ginseng Radix plus Crataegi Fructus (Gin-CF) on Alzheimer's disease. Specifically, the effects of the Gin-CF extract on IL-1 β , TNF- α of BV2 microglia cell line treated with LPS. The Gin-CF extract suppressed the over-expression of IL-1 β protein, TNF- α protein, MDA, and CD68/CD11b, in the mice with Alzheimer's disease induced by β A. These results suggest that the Gin-CF extract may be effective for the prevention and treatment of Alzheimer's disease. Investigation into the clinical use of the Gin-CF extract for Alzheimer's disease is suggested for future research.

Key words – Ginseng Radix, Crataegi Fructus, Alzheimer's disease

치매는 알츠하이머병(Alzheimer's disease ; AD), 혈관성 치매(vascular dementia ; VD), 중독성치매로 구분되며, 그 중에서 AD는 50% 이상의 가장 많은 비율을 차지하고 있는 것으로서,^{1,2)} 뇌의 全般的 萎縮과 특유의 조직학적 소견을 나타내며,^{3,4)} 發病은 서서히, 경과는 漸進的인 것이 특징이다.³⁾ 증상으로는 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.^{4,6)}

AD는 β amyloid peptide(β A), estrogen, apolipoprotein E, presenilin(PS), oxidants(free radicals), 염증, 사고에 의한 손상, 신경전달물질 및 神經營養因子 등의 많은 유발인자가 관여하는 것으로 알려져 있는데,^{7,8)} 이 중 AD의 기전에 대한 대표적인 가설은 PS 유전자들의 돌연변이와 amyloid precursor proteins(APP)의 과다생성으로 인해 β A가 과량으로 만들어지게 되고, 이 β A의 沈積으로 생기는 老人의 신경독성으로 인해 신경세포의 파괴가 일어난다는 것이며,^{9,10)} AD의 1차 증상인 기억력 감퇴현상은 choline성 신경계와 밀접한 관계가 있다는 증거가 다양하게 제시되고 있어,¹¹⁾ acetylcholine을 측정하여 AD환자의 임상적 정황을 관찰하는 방법들이 연구되고 있다.¹²⁻¹⁴⁾

또한, 물리적인 뇌손상, 감염 및 기타 염증반응에 의해 활성화된 microglial cell과 astrocyte들이 염증반응 cytokine을 과다하게 생성하여 뇌의 cytokine 항상성이 파괴됨으로써, 중추신경계의 염증반응을 일으키고 이것이 세포독성을 일으킨다는 가설이 제기되고 있다.^{15,16)}

人蔘은 五加科(두릅나무과; Araliaceae)에 속한 다년생 초본인 人蔘 *Panax ginseng* C. A. Meyer 의 뿌리를 수염뿌리를 제거하고 건조한 것으로, 人蔘은 神農本草經¹⁷⁾에 脾肺經으로 들어가 大補元氣, 生津止渴하는 작용이 있으며, 主補五臟, 安精神, 止驚悸, 除邪氣, 明目, 開心益智 등의 효능이 언급되어 있다.

산사(Crataegi Fructus)는 장미과에 속한 낙엽교목인 산사나무(*Crataegus pinnatifida* Beg.)의 과실로 健脾行氣, 消食磨積, 散瘀化痰의 약리작용이 있어 食積, 肉積, 胃脘痛, 腹痛, 活血 등의 소화기 질환의 치료에 널리 활용되고 있고,^{18,19)} 고혈압의 치료에도 활용하고 있는 약물이다.²⁰⁾

본 연구에서는 人蔘의 補氣작용과 山查의 活血작용을 응용한 人蔘山查複合方이 β A로 유도된 AD 病態 생쥐의 뇌세포를 분석하여 염증반응 cytokine, 지질 과산화도(MDA)와 CD68/CD11b의 發顯을 관찰한 바, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

*교신저자(E-mail) : herbman@joongbu.ac.kr
(FAX) : 041-754-6395

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험을 위하여 사용된 암컷 C57BL/6 생쥐와 BALB/c 생쥐는 한국생명과학연구원에서 분양받아 1 주 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험당일까지 고형 사료(조단백질 22.1%이상, 조지방 8.0%이하, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 0.4%이상, 삼양사, 한국)와 물을 충분히 공급하고 실온 22±2°C를 계속 유지하고 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

人蔘山査複合方(Ginseng Radix plus Crataegi Fructus ; Gin-CF)에 사용한 약제는 금산약재시장에서 금산인삼 4년근과 한국산 山査를 구입하여 정선하여 사용하였다.

검액의 제조 - 人蔘 15 g, 山査 15 g를 합한 人蔘山査複合方 30 g에 증류수 1,300 ml을 가하여 열탕추출기에서 3시간 가열하여 얻은 250 ml 추출액을 여과지(WHATMAN NO. 1)로 1회 여과한 후 감압 농축장치로 농축하였고, 이를 다시 동결 건조기를 이용하여 완전 건조한 한약추출물을 deep-freezer(-84°C)에 보관한 뒤, 실험에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

AD 病態 생쥐의 microglial cell 분석 - 8주 동안의 人蔘山査複合方 投與群(73 mg/kg) 投與가 종료된 생쥐의 두개골을 열고 뇌를 꺼낸 다음 2회 D-PBS로 세척하였다. brain을 작은 조각으로 절단한 후 conical tube(15 ml)에 넣어 1,400 rpm에서 5분간 원심분리하고, tube에 RPMI10을 넣고 37°C CO₂ 배양기에서 2시간 동안 배양한 후 0.5% trypsin-0.2% EDTA를 첨가한 후 30분간 계속 배양하였다. 배양 후 PBS로 약 2회 1,500 rpm에서 원심분리하여 세척한 후 anti-CD14 단일항체를 넣고 얼음에서 1시간 배양하였다.

3회 인산완충생리식염수로 세척한 후 Collection Pan anti-mouse IgG-bead로 microglial cell를 분리한 후 세포 release buffer로 anti-CD14⁺ 세포만 포집하였다.

포집한 microglial cell을 ice-cold FACS 완충용액(0.05% BSA, 0.02% sodium azide in PBS)으로 3회 수세하고, FACS 완충용액 284 µl와 동량의 인산완충용액(2% paraformaldehyde)을 넣고 혼합한 후 얼음에서 15분간 고정하였다.

고정 후 세포는 ice-cold FACS 완충용액으로 수세하고, permeabilization 완충용액(0.1% saponin, 0.05% sodium azide)으로 얼음에서 15분간 방치한 후 FITC-anti-IL-1β와 FITC-anti-TNF-α를 30분간 얼음에서 배양하였다. 배양 후 permeabilization완충용액으로 3회 수세하고 세포를 FACS 완충용액으로 섞은 후 유세포 형광분석기로 microglial 세포 내 發顯된 IL-1β와 TNF-α의 발현량을 CellQuest 프로그램으로 분석하였다.

지질 과산화도 측정(MDA측정) - MDA측정은 Suematsu 등의 방법²¹⁾에 따라 clean test tube에 뇌조직 현탁액 200 µl를 넣고, 8.1% Sodium dodesyl sulfate(SDS) solution 225

µl를 가하고 5초 동안 vortex mixer로 혼합한다. 20% acetic acid 1.5 ml를 가하고 그리고 75 µl 증류수를 넣고 5초 동안 vortex mixer로 혼합한다. 1.2% Thiobarbituric acid solution을 각각의 1 ml씩 tube에 더하고, clean dry marble(유리구슬)로 cover한 후, 30분간 water bath에서 끓인다. 그리고 실온에서 30분간 cooling한 후에 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 상층액을 실험에 사용한다. ELISA leader(Molecular devise, U.S.A.) 532 nm에서 흡광도를 측정한다.

CD68/CD11b 發顯 세포수 분석 - AD 유발 생쥐에서 虛血이 일어난 뇌조직을 잘게 chopping한 후 cell strainer(BD, Falcon)에 넣고 3 ml syringe rubber로 뇌조직을 잘 문질러 뇌세포 부유액을 회수한다. 회수된 부유액을 Hypaque-1077 (Sigma) 5 ml과 뇌세포 부유액 5 ml을 gradient를 만든 다음 2000 rpm에서 20분간 원심분리를 한 후 buffy coat 부분을 분리하여 2회 D-PBS로 세척하였다. 얻어진 뇌세포 부유액을 1% FBS의 FACS 완충용액에 넣어 분리하였다. 분리된 뇌세포에 ACK 용액을 처리하여 적혈구를 제거하고 4에서 면역 형광염색을 실시하였고, 각각에 PE-anti-CD68, 그리고 FITC-anti-CD11b를 넣고 30분간 얼음에서 반응시켰다. 반응 후 3회 이상 인산완충생리식염수로 수세한 후 flow cytometer의 Cell Quest 프로그램을 이용하여 CD68/CD11b 세포수를 분석하였다.

혈청단백질 함량의 측정 - 혈청 중 glucose, AST, total cholesterol, HD-cholesterol치는 자동생화학분석기(Biochemical analyzer, Express 550)를 사용하여 측정하였다.

AChE 활성도 측정 - AChE 활성도는 cholinesterase kit로 측정하였다. 혈청 중 AChE 활성도를 측정하기 위하여 test tube와 blank tube를 표시하고, test tube에 sodium chloride solution 0.2 ml와 serum 0.2 ml를 넣고 혼합하였다. Blank tube와 test tube에 3.0 water, nitrophenol solution 2 ml, acetylcholine chloride solution 0.2 ml을 첨가한다. acetylcholine chloride solution을 첨가한 후 시간을 정확히 기록하여 25°C 수조에서 정확히 30분간 배양시킨 후 ELISA reader 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과는 ΔA=A BLANK-A TEST 공식에 의하여 활성도를 측정하였다.

통계처리 - 생쥐들의 행동관찰 및 동물실험에서 얻은 결과는 mean±standard error로 기록하였다. 유의성 검증은 Student's t-test 분석 방법을 이용하여 결정하였다.

결 과

AD 病態 생쥐의 microglial cell 분석 - Microglial 세포 내에서 IL-1β와 TNF-α 發顯을 관찰한 결과, Fig. 1에서 보는 것처럼 IL-1β 세포내 단백질은 βA를 뇌에 주입한 對照群이 87.6±7.9(%)이었고, Tacrine을 投與한 陽性對照群이 47.1±6.8(%)로 對照群에 비하여 유의성 있게 감소하였으며

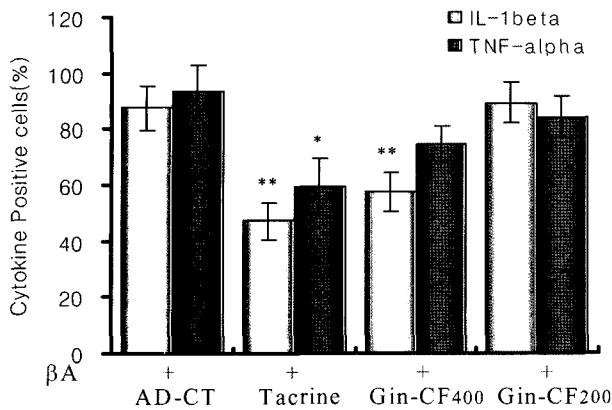


Fig. 1. Intracellular staining of IL-1 β activity on the brain CD14⁺ cells in β A-alzheimer disease mouse model with or without by the administration of Gin-CF extract. C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CF (400, and 200 mg/kg *p.o*) and tacrine (10 mg/kg, *p.o*) in 8 weeks. continued once a day in 8 weeks. IL-1 β and TNF- α activity measured by FACScalibur, number of CD14 positive cells in the mouse brain of control and the groups were submitted during the stereotaxic procedures to β A-induced alzheimer's disease model. Data represent means \pm S.E. (N=3). Statistically significant value compared with β A-induced alzheimer's mice group (Control, CT) data by T test (**p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001).

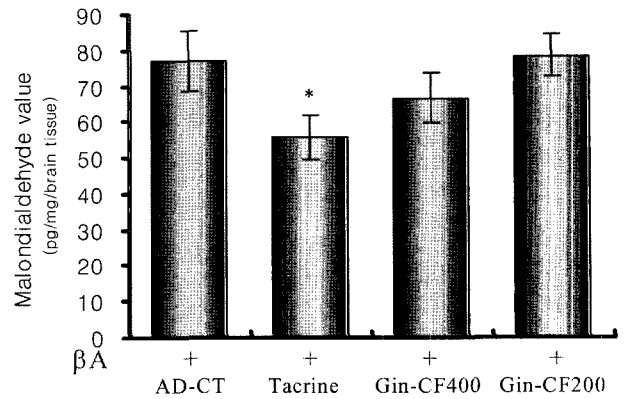


Fig. 2. Effects of Gin-CF extract on the malondialdehyde value in the brain tissue in β A-alzheimer disease mouse model. C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CF (400 and 200 mg/kg, *p.o*) and tacrine (10 mg/kg, *p.o*) in 8 weeks. Malondialdehyde (MDA) value were MDA-TBA activity measured by spectrophotometry. Tissue (mg) in the mouse brain of control and the groups were submitted during the stereotaxic procedures to β A-induced alzheimer's disease model. Data represent means \pm S.E. (N=3). Statistically significant value compared with β A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (**p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001).

(*p*<0.01), 人蔘山查複合方 投與群은 400 mg/kg에서 57.5 \pm 6.9 (%)로 對照群에 비하여 유의성 있게 감소하였다 (*p*<0.01). 200 mg/kg에서는 89.3 \pm 7.4(%)로 對照群에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다.

TNF- α 의 세포내 단백질은 β A를 뇌에 주입한 對照群이 93.7 \pm 9.4(%)이었고, Tacrine을 投與한 陽性對照群이 59.4 \pm 10.3(%)로 對照群에 비하여 유의성 있게 감소하였고 (*p*<0.05), 人蔘山查複合方 投與群은 400 mg/kg과 200 mg/kg에서 각각 74.6 \pm 6.4(%)와 84.3 \pm 7.2(%)로 對照群에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다.

지질 과산화도 측정(MDA측정) - 알츠하이머 유발 생쥐의 病變 뇌조직에서의 MDA의 양을 관찰한 결과, Fig. 2에서 보는 것처럼 β A를 뇌에 주입한 對照群이 76.9 \pm 8.4 (pg/mg brain tissue)이었고, Tacrine을 投與한 陽性對照群이 55.6 \pm 6.1 (pg/mg brain tissue)으로 對照群에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다 (*p*<0.05), 人蔘山查複合方 投與群은 400 mg/kg과 200 mg/kg에서 각각 66.5 \pm 7.1와 78.4 \pm 5.9 (pg/mg brain tissue)로 對照群에 비하여 감소를 나타내었지만 유의성은 없었다.

CD68/CD11b 發顯 세포수 분석 - 알츠하이머 유발 생쥐의 病變 뇌조직에서 astrocyte세포와 microglial세포의 활성표면 분자인 CD68⁺/CD11b⁺가 發顯되는 세포수를 관찰한 결과, Fig. 3에서 보듯이 β A를 뇌에 주입한 對照群의 CD68⁺

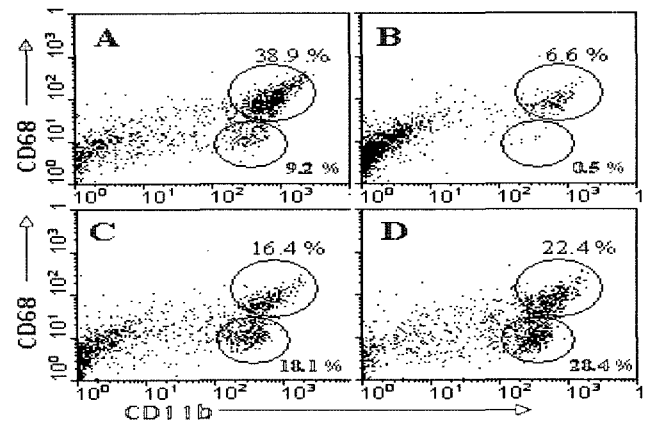


Fig. 3. Effects of Gin-CF extract on the percentage of CD68 and CD11b-gated cells in β A-alzheimer disease mouse model. C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CF (400 and 200 mg/kg) and tacrine (10 mg/kg, *p.o*) in 8 weeks. After 8 weeks, mouse brain cells (5 \times 10⁵ cell/ml) were isolated, and the brain cells were washed twice and analyzed by flow cytometer, number of CD14 positive cells in the mouse brain of control and the groups were submitted during the stereotaxic procedures to β A-induced alzheimer's disease model. At the end of the experiment, the mice brain CD14⁺ cells were removed and β A-induced alzheimer's disease model control CD68⁺ and CD11b⁺ (A), tacrine (10 mg/kg, *p.o*) B) treated, and Gin-CF orally administered 400 mg/kg (C) and 200 mg/kg (D), CD68/CD11b cell population (%) were measured by analyzed by flow cytometer.

CD11b⁺은 38.9%)이었고, 陽性對照群인 tacrine 投與群은 6.6%)으로 對照群에 비하여 현저하게 감소하였다.

人蔘山查複合方 400 mg/kg 投與群은 16.4%)이었고, 200 mg/kg 投與群은 22.4%)로 對照群에 비하여 發顯되는 활성 세포가 현저히 감소하는 것으로 나타났다.

그러나 CD68⁺/CD11b⁺에 비하여 CD68⁻/CD11b⁺인 대식 세포 비율은 人蔘山查複合方 投與群이 對照群에 비하여 증가되는 결과를 나타냈다.

혈청단백질 함량 측정 - C57BL/6 생쥐의 뇌에 stereotaxic 으로 β A (10 μ M)를 주입한 생쥐의 피부를 봉합한 뒤 2일 후, 陽性對照群인 tacrine 投與群(10 mg/kg), 人蔘山查複合方 投與群(400 mg/kg, 200 mg/kg)으로 구분하여 1일 1회 8주 동안 경구투여한 후 심장천좌법으로 혈액을 채혈하여 혈청을 분리하였다.

Fig. 4에서 보는 것처럼 혈청중 AST 수치는 정상군이 100.8 \pm 2.0 (IU/L)이었고, β A를 뇌에 주입한 對照群은 100.5 \pm 20.0 (IU/L)으로 측정되었다. 陽性對照群인 tacrine 投與群의 혈청중 AST는 78.5 \pm 2.7 (IU/L)로 나타나 대조군에 비해 감소하였으나 유의성은 없었고, 人蔘山查複合方 400 mg/kg 投與群의 혈청중 AST는 56.4 \pm 5.1 (IU/L)로 나타나 유의성 있게 감소하였다. 또한, 200 mg/kg 投與群은 109.6 \pm 8.1 (IU/L)로 측정되어 약물에 의한 간독성은 나타나지 않았다.

Fig. 5에서 보는 것처럼 혈청중 total cholesterol(T-Chol) 수치는 정상군이 102.2 \pm 5.6 (mg/dl)이었고, β A를 뇌에 주입한 對照群은 115.4 \pm 3.6 (mg/dl)으로 측정되었다. 陽性對照群인 tacrine 投與群의 혈청 T-Chol는 97.4 \pm 5.3 (mg/dl)로

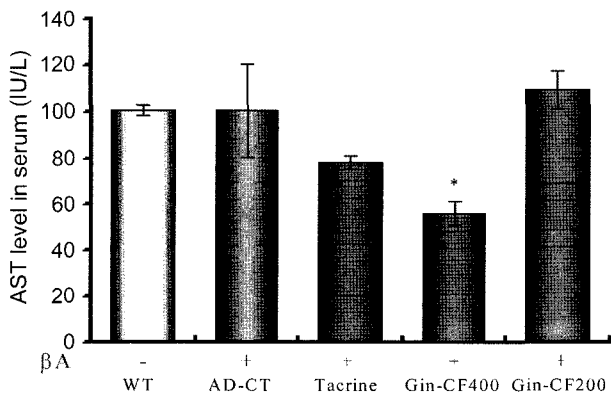


Fig. 4. Effects of Gin-CF extract on the serum aspartate aminotrans (AST) level in β A-alzheimer disease mouse model. C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CF (400, and 200 mg/kg *p.o*) and tacrine (10 mg/kg, *p.o*) in 8 weeks. Sera AST value measured by Biochemical analyzer, INTEGRA 400 and analyzed for serum level as described in Material and Methods. Data represent means \pm S.E. (N=3). Statistically significant value compared with β A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (**p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001).

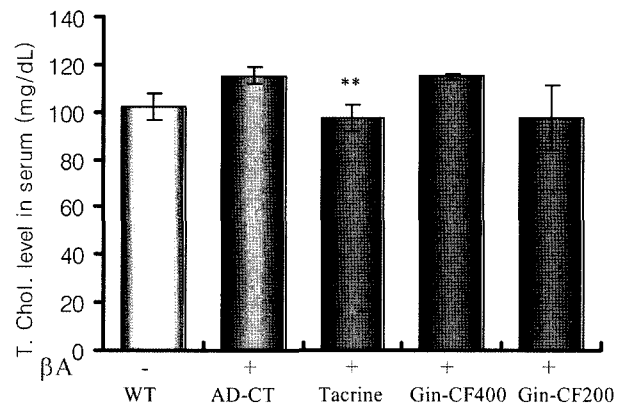


Fig. 5. Effects of Gin-CF extract on the serum total cholesterol level in β A-alzheimer disease mouse model. C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CF (400 and 200 mg/kg, *p.o*) and tacrine (10 mg/kg, *p.o*) in 8 weeks. Sera T-chole. value measured by Biochemical analyzer, INTEGRA 400 and analyzed for serum level as described in material and methods. Data represent means \pm S.E. (N=3). Statistically significant value compared with β A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (**p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001).

나타나 대조군에 의해 유의성 있게 감소하였으며, 人蔘山查複合方 400 mg/kg 投與群은 114.7 \pm 1.1 (mg/dl)이었는데 비해, 200 mg/kg 投與群은 97.3 \pm 13.5 (mg/dl)로 측정되어 오히려 낮았으나 각각 대조군에 비해 유의성은 없었다.

Fig. 6에서 보는 것처럼 혈청중 glucose 수치는 정상군이 136.7 \pm 7.8 (mg/dl)이었고, β A를 뇌에 주입한 對照群은 127.7

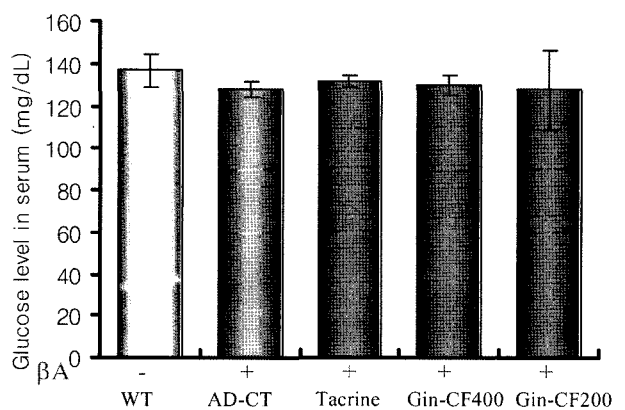


Fig. 6. Effects of Gin-CF extract on the serum glucose level in β A-alzheimer disease mouse model. C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CF (400 and 200 mg/kg, *p.o*) and tacrine (10 mg/kg, *p.o*) in 8 weeks. Sera glucose value measured by Biochemical analyzer, INTEGRA 400 and analyzed for serum level as described in material and methods. Data represent means \pm S.E. (N=3). Statistically significant value compared with β A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (**p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001).

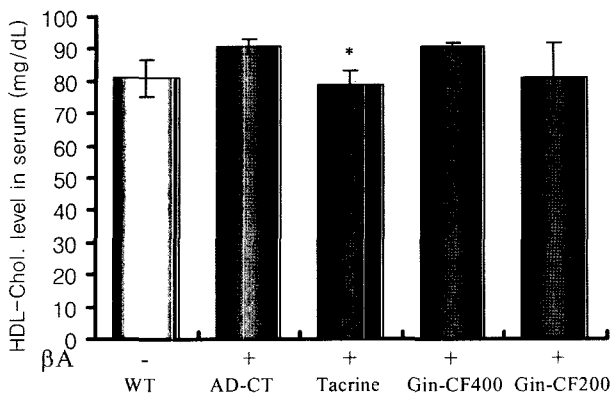


Fig. 7. Effects of Gin-CF extract on the serum HDL-cholesterol (HDL-Chol) level in β A-alzheimer disease mouse model. C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CF (400 and 200 mg/kg, *p.o*) and tacrine (10 mg/kg, *p.o*) in 8 weeks. Sera HDL-Chol value measured by Biochemical analyzer, INTEGRA 400 and analyzed for serum level as described in Material and Methods. Data represent means \pm S.E. (N=3). Statistically significant value compared with β A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001).

\pm 3.5 (mg/d)으로 측정되었다. 양성대조군인 tacrine 투여군의 혈중 glucose는 131.8 ± 2.8 (mg/d)로 나타났고, 인삼산초 복합방 400 mg/kg 투여군은 129.8 ± 1.1 (mg/d), 200 mg/kg 투여군은 127.7 ± 18.8 (mg/d)로 측정되었다.

Glucose 수치는 모든 실험군이 대조군과 차이가 없었다.

Fig. 7에서 보는 것처럼 혈청중 HDL-cholesterol(HDL-Chol) 수치는 정상군이 81.0 ± 5.7 (mg/d)이었고, β A를 뇌에 주입한 대조군은 91.0 ± 2.3 (mg/d)으로 측정되었다. 양성대조군인 tacrine 투여군의 혈청중 HDL-Chol는 78.6 ± 4.6 (mg/d)로 나타나 유의성 있게 감소하였으나, 인삼산초 복합방 400 mg/kg 투여군은 90.6 ± 1.6 (mg/d), 200 mg/kg 투여군은 80.8 ± 11.1 (mg/d)로 측정되어 HDL-Chol 수치가 대조군과 차이가 없었다.

Fig. 8에서 보는 것처럼 혈청중 AChE 활성도 수치는 정상군이 29.9 ± 3.1 (U/ml)이었고, β A를 뇌에 주입한 대조군은 53.0 ± 2.7 (U/ml)으로 측정되었다. 양성대조군인 tacrine 투여군의 혈청중 AChE 활성도는 35.9 ± 2.9 (U/ml)으로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였고 (p <0.001), 인삼산초 복합방 400 mg/kg 투여군은 41.4 ± 2.5 (U/ml)으로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다 (p <0.01). 그리고 200 mg/kg 투여군은 49.5 ± 1.2 (U/ml)으로 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다.

고찰

본 연구에서 알츠하이머 생쥐의 병변 뇌에서 지질 과산화

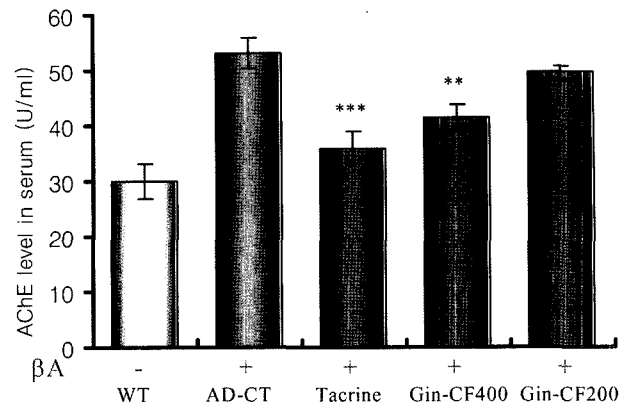


Fig. 8. Effects of Gin-CF extract on the serum AChE activity level in β A-alzheimer disease mouse model. C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CF (400 and 200 mg/kg *p.o*) and tacrine (10 mg/kg, *p.o*) in 8 weeks. Sera AChE activity measured by cholinesterase kit and analyzed for serum level as described in material and methods. Data represent means \pm S.E. (N=3). Statistically significant value compared with β A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (* p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001).

와 인삼산초 복합방 투여로 지질 과산화물질을 억제할 수 있는지를 규명하고자 하였다.

그 결과 인삼산초 복합방 추출물 투여로 알츠하이머 생쥐의 병변 뇌부위에 MDA의 양이 대조군에 비하여 현저히 감소하였다.

β A가 침적된 노인 주변에서는 활성화된 astrocyte와 microglial cell이 많이 관찰되는데, 외부자극인자들에 의하여 활성화된 microglial cell이 IL-1 β 및 TNF- α 등의 염증반응 사이토카인을 생산하며, 이들 염증반응 사이토카인은 정상세포를 활성화시켜 이산화질소(nitric oxide, NO)를 생산하고 있는 ROS의 일종인 peroxynitrite(ONOO)으로 유도되어 신경세포 死를 야기시킨다고 알려져 있어²²⁾ β A와 염증반응 사이토카인의 상관성이 주목되고 있다.²³⁾

β A로 유도된 AD 병態 생쥐의 병변 뇌조직에서의 염증반응 cytokine, CD68/CD11b 발현을 관찰하였는데, 먼저 병변 뇌조직에서의 염증반응 cytokine의 일종인 IL-1 β 생성량을 관찰한 결과, 정상군에 대해 β A를 뇌에 주입한 대조군에서는 증가되었으나 인삼산초 복합방 투여군에서는 그 발현이 현저히 감소했고, TNF- α 단백질 역시 정상군에 비해 β A를 뇌에 주입한 대조군은 증가하였으나 인삼산초 복합방 투여군은 발현이 현저히 감소했음을 볼 수 있었다.

이는 인삼산초 복합방이 AD의 원인 중 하나로 알려진 세포내에서의 염증반응과 관련된 cytokine의 활성화를 세포성 단백질 수준과 유전자 수준 모두 효과적으로 억제한 것으로, 인삼산초 복합방의 투여를 통해 과잉 생산된 염증반응 cytokine으로 초래되는 신경세포 死滅을 예방할 수 있을 것

으로 생각된다.

결 론

人蔘山査複合方이 β A로 유도된 AD 病態 모델에 미치는 영향을 관찰한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 人蔘山査複合方은 AD 病變 뇌조직에서의 세포내 IL-1 β , TNF- α 의 發顯 측정에서 양성세포수를 억제하였다.
2. 人蔘山査複合方은 AD 病變 뇌조직에서의 MDA 측정과 CD68/GFAP의 세포수를 억제하였다.

이상의 결과로 미루어 보아 人蔘山査複合方은 AD의 예방과 치료에 사용될 수 있을 것으로 판단되며 정확한 기전에 대한 연구와 AD 치료에 있어서 人蔘山査複合方의 임상적 활용에 대한 연구가 향후 지속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

인용문헌

1. Altstiel, L. D. and Sperber, K. (1991) Cytokines in Alzheimer's disease, *Prog. Neuro. Psychopharmacol. Biol. Psychiat.* **15**(4): 481-495.
2. Alzheimer's Disease Collaboratory Group (1995) The structure of the presenilin 1(S182) gene and identification of six novel mutations in early onset AD families, *Nat. Gene.* **11**: 35, 219-222.
3. 郭隆瓌 (1992) 圖解腦神經外科學, 27-31, 第一醫學社, 서울.
4. 金知赫, 黃義完 (1992) 東醫精神醫學, 256-271, 327-330, 現代醫學書籍社, 서울.
5. 徐舜圭 (1992) 成人病東礪羅叢書, 225-228, 230-232, 고려의학, 서울.
6. 이광우, 정희원 (1997) 임상신경학, 199-210, 고려의학, 서울.
7. Borchelt, D. R., Thinakaran, G., Eckman, C. B., Lee, M. K., Davenport, F., Ratovitsky, T., Prada, C. M., Kim, G., Seekins, S., Yager, D., Slunt, H. H., Wang, R., Younkin, S. G. and Sisodia, S. S. (1996) Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate β A1-42/1-40 ratio *in vitro* and *in vivo*, *Neuron*, **17**: 1005-1013.
8. Breakfield, X. O. and DeLuca, N. A. (1991) Herpes simplex virus for gene delivery to neurons, *New Biol.* **3**: 203-218.
9. Kandel, E. R., Schwartz, J. H. and Jessell, T. M. (1991) Principles of Neural Science 3rd edition, McGraw-Hill Medical, New York.
10. Kowall, N. W., Beal, M. F., Busciglio, J., Duffy, L. K. and Yankner, B. A. (1991) An *in vivo* model for the neurodegenerative effects of beta amyloid and protection by substance P. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **88**(16): 7247-7251.
11. Selkoe, D. J. (1991) Scientific American, November, 68-72. Scientific American Inc. New York.
12. Lemere, C. A., Lopera, F., Kosik, K. S., Lendon, C. L., Ossa, J., Saido, T. C., Yamaguchi, H., Ruiz, A., Martinez, A., Madrigal, L., Hincapie, L., Arango, J. C., Anthony, D. C., Koo, E. H., Goate, A. M., Selkoe, D. J. and Arango, J. C. (1996) The E280A presenilin 1 Alzheimer mutation produces increased β A 42 deposition and severe cerebellar pathology, *Nat. Med.* **2**(10): 1146-1150.
13. McGeer, E. G. and McGeer, P. L. (1998) The importance of inflammatory mechanisms in Alzheimer disease. *Exp. Gerontol.* **33**(5): 371-378.
14. Weinstein, H. C., Scheltens, P., Hijdra, A. and van Royen, E. A. (1993) Neuroimaging in the diagnosis of Alzheimer's disease II. Positron and single photon emission tomography. *Clinical Neuro. Neurosurg.* **95**(2): 81-91.
15. Dickson, D. W., Ksiazek-Reding, H., Liu, W. K., Davies, P., Crowe, A. and Yen, S. H. (1992) Immunocytochemistry of neurofibrillary tangles with antibodies to subregions of tau protein ; identification of hidden and cleaved tau epitopes and a new phosphorylation site, *Acta Neuropathol.* **84**(6): 596-605.
16. Tabaton, M., Cammarata, S., Mandybur, T., Richey, P., Kawai, M., Perry, G. and Gambetti, P. (1992) Senile plaques in cerebral amyloid angiopathy show accumulation of amyloid precursor protein without cytoskeletal abnormalities. *Brain Res.* **593**(2) : 299-303.
17. 孫星衍 輯 (1979) 神農本草經, 40-41, 문광도서유한공사,臺北.
18. 강서중의학원 (1984) 中藥大辭典, 170-172, 대성출판사, 대구.
19. 李時珍 (1987) 本草綱目, 1013-1014, 고문사, 서울.
20. 辛民教 (1997) 臨床本草學, 585-586, 영림사, 서울.
21. Suematsu, T., Kamada, T., Abe, H., Kikuchi, S. and Yagi, K. (1977) Serum lipoperoxide levels in patients suffering from liver disease. *Clin. Chim. Acta* **79**: 267-770.
22. Ons, S. K., Kitamura, M., Maekawa, K., Hirata, M., Ano, W., Ukai, T. and Yamafuji, Narita H. (1993) Protective effects of R(-)-1-(benzo[b]thiophen-5-yl)2-[2-(N,N-diethylamino)ethoxy]-ethanol hydrochloride (T-588), a novel cerebral activator, against experimental cerebral anoxia, *Jap. Pharm.* **62**: 81-86.
23. Chong, Y. H. (1997) Effect of a carboxy-terminal fragment of Alzheimer's amyloid precursor protein on expression of proinflammatory cytokines in rat glial cells, *Life Sciences*, **61**(23) : 2323-2333.

(2006년 11월 13일 접수)