

# 人蔘, 木瓜 추출액이 Alzheimer성 치매의 病態 모델에 미치는 영향

한신희<sup>#</sup>, 길기정<sup>1\*</sup>

중부대학교 한방건강관리학과 1: 중부대학교 한약자원학과

## Effects of a Mixture Ginseng Radix, Chaenomelis Fructus on the Mice Model of Alzheimer's Disease

Sin-Hee Han<sup>#</sup>, Gi-Jung Kil<sup>1\*</sup>

Dept. of Oriental Health Care, Joongbu University, Kumsan 312-702, Korea  
1: Dept. of Oriental Medicine Resources, Joongbu University, Kumsan 312-702, Korea

### ABSTRACT

**Objectives :** This research was investigated the effect of the Ginseng Radix plus Chaenomelis Fructus on Alzheimer's disease.

**Methods :** Specifically, the effects of the Ginseng Radix plus Chaenomelis Fructus extract on IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  of BV2 microglia cell line treated with lipopolysacchride.

**Results :** The Ginseng Radix plus Chaenomelis Fructus extract suppressed the over-expression of IL-1 $\beta$  protein, TNF- $\alpha$  protein, MDA, and CD68/CD11b, in the mice with Alzheimer's disease induced by  $\beta$  amyloid peptide.

**Conclusion :** These results suggest that the Ginseng Radix plus Chaenomelis Fructus extract may be effective for the prevention and treatment of Alzheimer's disease. Investigation into the clinical use of the Ginseng Radix plus Chaenomelis Fructus extract for Alzheimer's disease is suggested for future research.

**Key words :** Ginseng Radix, Chaenomelis Fructus, Alzheimer's disease

---

#제1저자 : 한신희, 중부대학교 한방건강관리학과

· Tel: 041-750-6874 · E-mail: herbman@joongbu.ac.kr

\*교신저자 : 길기정, 중부대학교 한약자원학과

· Tel: 041-750-6225 · E-mail: kildosa@joongbu.ac.kr

· 접수: 2007년 02월 24일 · 수정: 2007년 03월 06일 · 채택: 2007년 03월 20일

## 서론

치매는 병변의 위치에 따라 크게 두 가지로 구분되는데, 피질성 치매(cortical dementia)와 피질하 치매(subcortical dementia)로 나눌 수 있다.

대표적인 피질성 치매는 알츠하이머병(Alzheimer's disease ; AD), 혈관성치매(Vascular dementia ; VD)가 있으며, 피질하 치매는 파킨슨병(Parkinson's disease), 헌팅턴병(Huntington's disease) 등이 대표적인 예이다.<sup>1,2)</sup>

그중에서 AD는 50% 이상의 가장 많은 비율을 차지하고 있는 것으로서, 뇌의 全般的 萎縮과 특유의 조직학적 소견을 나타내며,<sup>3,4)</sup> 發病은 서서히, 경과는 漸進的인 것이 특징이다.<sup>3)</sup> 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.<sup>4,6)</sup>

AD는  $\beta$  amyloid peptide( $\beta$ 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,<sup>7,8)</sup> 이 중 AD의 기전에 대한 대표적인 가설은 PS 유전자들의 돌연변이와 amyloid precursor proteins(APP)의 과다생성으로 인해  $\beta$ A가 과량으로 만들어지게 되고, 이  $\beta$ A의 沈積으로 생기는 老人癡의 신경독성으로 인해 신경세포의 파괴가 일어난다는 것이며,<sup>9,10)</sup> AD의 1차 증상인 기억력 감퇴 현상은 choline성 신경계와 밀접한 관계가 있다는 증거가 다양하게 제시되고 있어,<sup>11)</sup> acetylcholine을 측정하여 AD환자의 임상적 정황을 관찰하는 방법들이 연구되고 있다.<sup>12,14)</sup>

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.<sup>15,16)</sup>

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<sup>17)</sup>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 언급되어있다.

木瓜 중의 malic acid는 胃腸平活筋의 痙攣과 手足의 強直性 痙攣에 鎮靜作用이 있으며<sup>18)</sup> 흰쥐의 퇴행

성관절염에 소염작용이 있다는 보고가 있다.<sup>19)</sup> 또한, 간과 콩팥의 강음 강정을 보하며 과로하거나 신체가 노화되어 나타나는 頻尿에 효과가 있다. 허리와 무릎을 따뜻하게 하여 시리고 저린 증상에 도움을 주고 두통과 耳鳴을 낮게 한다고 알려져 있어 瘀血로 인한 實證의 AD에 응용할 수 있을 것으로 사료되었다.<sup>20)</sup>

본 연구에서는 人蔘의 補氣作用과 木瓜의 鎮靜作用을 응용한 人蔘木瓜複合方이  $\beta$ 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.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

본 실험을 위하여 사용된 암컷 C57BL/6생쥐와 BALB/c생쥐는 한국생명과학연구원에서 분양받아 1주 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험당일 까지 고형사료(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℃를 계속 유지하고 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

#### 2) 약재

본 실험에 사용한 人蔘木瓜複合方(Ginseng Radix plus Chaenomeles Fructus ; Gin-CHF)에 사용한 약재는 금산약재시장에서 금산인삼 4년근과 한국산 木瓜를 구입하여 중부대학교 한약자원학과 본초학교실에서 감정한 후 정선하여 사용하였고, 人蔘木瓜複合方的 내용과 용량은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Prescription of Ginseng Radix plus Chaenomeles Fructus(Gin-CHF)

Pharmacognosy	Scientific Name	Amount
Name		(g)
Ginseng Radix	<i>Panax ginseng</i> C.A. Mey.	15
Chaenomeles Fructus	<i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	15
Total amount		30

### 2. 방법

1) 檢液의 調製

人參 15g, 木瓜 15g를 합한 人參木瓜複合方 30g에 증류수 1,300ml을 가하여 열탕추출기에서 3시간 가열하여 얻은 추출액을 여과지(Whatman NO. 1)로 1회 여과한 후 감압 농축장치로 농축하였고, 이를 다시 동결 건조기를 이용하여 완전 건조한 한약추출물을 deep-freezer (-84℃)에 보관한 뒤, 실험에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

2) AD 病態 생쥐의 뇌세포 분석

8주 동안의 人參木瓜複合方 投與群(200mg, 400mg/kg) 투여가 종료된 생쥐의 두개골을 열고 뇌를 꺼낸 다음 2회 D-PBS로 세척하였다. brain을 작은 조각으로 절단한 후 conical tube(15ml)에 넣어 1,400rpm에서 5분간 원심분리하고, tube에 RPMI 10을 넣고 37℃ CO<sub>2</sub> 배양기에서 2시간 동안 배양한 후 0.5% trypsin-0.2% EDTA를 첨가한 후 30분간 계속 배양하였다. 배양 후 PBS로 약 2회 1,500rpm에서 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 284μl와 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 permeabilization 완충용액으로 3회 수세하고 세포를 FACS 완충용액으로 섞은 후 유세포 형광분석기로 microglial cell에 발현된 IL-1β와 TNF-α의 발현량을 CellQuest 프로그램으로 분석하였다.

3) 지질과산화도 측정(MDA측정)

MDA측정은 Suematsu 등의 방법<sup>21)</sup>에 따라 clean test tube에 뇌조직 현탁액 200ul를 넣고, 8.1% Sodium dodesyl sulfate(SDS) solution 225ul를 가하고 5초 동안 vortex mixer로 mixing한다. 20% acetic acid 1.5ml을 가하고 그리고 75ul 증류수를 넣고 5초 동안 vortex mixer로 mixing한다. 1.2%

Thiobarbituric acid solution을 각각의 1ml씩 tube에 더하고, clean dry marble(유리구슬)로 cover한 후, 30분간 water bath에서 끓인다. 그리고 실온에서 30분간 cooling한 후에 3,000rpm에서 20분간 원심 분리하여 상층액을 실험에 사용한다. ELISA leader(Molecular devise, U.S.A.) 532nm에서 흡광도를 측정한다.

4) CD68/CD11b 發顯 세포수 분석

AD 유발 생쥐에서 虛血이 일어난 뇌조직을 잘게 chopping한 후 cell strainer (BD, Falcon)에 넣고 3ml sylinge rubber로 뇌조직을 잘 문질러 뇌세포 부유액을 회수한다. 회수된 부유액을 Hypaque-1077 (Sigma) 5ml과 뇌세포 부유액 5ml을 gradient를 만든 다음 2,000rpm에서 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 4℃에서 면역 형광염색을 실시하였고, 각각에 PE-anti-CD68, 그리고 FITC-anti-CD11b를 넣고 30분간 얼음에서 반응시켰다. 반응 후 3회 이상 인산완충 생리식염수로 수세한 후 flow cytometer의 Cell Quest 프로그램을 이용하여 CD68/CD11b 세포수를 분석하였다.

5) 혈청단백질 함량의 측정

혈청중 glucose, AST, Total cholestesterol, HD-cholesterol치는 자동생화학분석기(Biochemical analyzer, Express 550)를 사용하여 측정하였다.

6) AChE 활성도 측정

AChE 활성도는 cholinesterase kit로 측정하였다. 혈청 중 AChE 활성도를 측정하기 위하여 test tube와 blank tube를 표시하고, test tube에 sodium chloride solution(cat. no. 150-3) 0.2ml와 serum 0.2ml를 넣고 혼합하였다. blank tube와 test tube에 3.0ml water, nitrophenol solution(cat. No. 420-2) 2ml, acetylcholine chloride solution 0.2ml을 첨가한다. acetylcholine chloride solution을 첨가한 후 시간을 정확히 기록하여 25℃ 수조에서 정확히 30분간 배양시킨 후 ELISA reader 420nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과는 ΔA = A BLANK - A TEST 공식에 의하여 활성도를 측정하였다.

7) 통계처리

다양한 실험으로부터 얻은 결과는 mean±standard error로 기록하였고, 유의성 검증은 Student's t-test 분석 방법을 이용하여 결정하였다.

## 성 적

### 1. AD 病態 생쥐의 microglial cell 분석

Microglial 세포내에서의 IL-1β과 TNF-α 발현을 관찰한 결과, Fig. 1에서 보는 것처럼 IL-1β의 세포내 단백질은 βA를 뇌에 주입한 對照群이 87.6±7.9(%)이었고, Tacrine을 투여한 陽性對照群이 47.1±6.8(%)로 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었고 (p<0.01), 人蔘木瓜複合方 投與群은 400mg/kg에서 66.4±8.4(%)로 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다 (p<0.01). 200mg/kg에서 86.4±5.8(%)로 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 유의성은 없었다. TNF-α의 세포내 단백질은 βA를 뇌에 주입한 對照群이 93.7±9.4(%)이었고, Tacrine을 투여한 陽性對照群이 59.4±10.3(%)로 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었고 (p<0.05), 人蔘木瓜複合方 投與群은 400mg/kg과 200mg/kg에서 각각 76.9±9.1(%)와 87.9±9.3(%)로 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 유의성은 없었다.

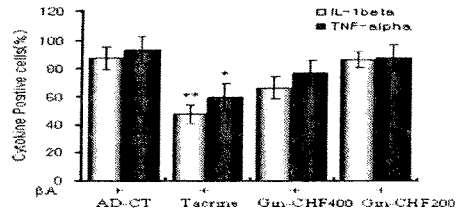


Fig. 1. Intracellular staining of IL-1β activity on the brain CD14<sup>+</sup> cells in βA-alzheimer disease mouse model with or without by the administration of Gin-CHF extract. C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CHF (400, and 200 mg/kg *p.o.*) and tacrine (10 mg/kg, *p.o.*) in 8 weeks, continued once a day in 8 weeks. IL-1β 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 βA-induced alzheimer's disease model. Data represent means± S.E (N=3). Statistically significant value compared with βA-induced alzheimer's mice group (Control, CT) data by T test (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

### 2. 지질과산화도 측정(MDA 측정)

알츠하이머 유발 생쥐의 병변 뇌 조직에서의 MDA의 양을 관찰한 결과, Fig. 2에서 보는 것처럼 βA를 뇌에 주입한 對照群이 76.9±8.4 (pg/mg brain tissue)이었고, Tacrine을 투여한 陽性對照群이 55.6±6.1 (pg/mg brain tissue)으로 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다 (p<0.05), 人蔘木瓜複合方 投與群은 400mg/kg과 200mg/kg에서 각각 64.3±5.8와 78.9±4.9 (pg/mg brain tissue)로 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 유의성은 없었다.

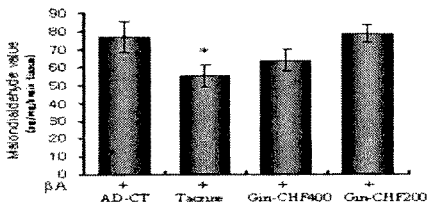


Fig. 2. Effects of Gin-CHF extract on the malondialdehyde value in the brain tissue in  $\beta$  A-alzheimer disease mouse model.

C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CHF (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  $\beta$ A-induced alzheimer's disease model. Data represent means  $\pm$  S.E (N=3). Statistically significant value compared with  $\beta$ A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (\* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01, \*\*\* $p$ <0.001).

### 3. CD68/CD11b 發顯 세포수 분석

알츠하이머 유발 생쥐의 병변 뇌조직에서 astrocyte 세포와 microglial 세포의 활성표면 분자인 CD68/CD11b가 發顯되는 세포수를 관찰한 결과, Fig. 3에서 보듯이  $\beta$ A를 뇌에 주입한 對照群의 CD68/CD11b<sup>+</sup>는 38.9(%)이었고, 陽性對照群인 tacrine 投與群은 6.6(%)으로 대조군에 비하여 현저하게 감소하였다. 人蔘木瓜複合方 400 mg/kg 投與群은 18.9(%)이었고, 200 mg/kg 投與群은 26.5(%)로 對照群에 비하여 현저히 발현되는 활성세포가 감소한 것으로 나타났다. 그러나 CD68/CD11b<sup>+</sup>에 비하여 CD68/CD11b<sup>-</sup>인 대식세포 비율은 人蔘木瓜複合方 投與群이 對照群에 비하여 증가되는 결과를 나타냈다.

### 4. 혈청단백질 함량 측정

C57BL/6 생쥐의 뇌에 stereotaxic으로  $\beta$ A (10  $\mu$  M)를 주입한 생쥐의 피부를 봉합한 뒤 2일 후, 陽性對照群인 tacrine 投與群(10mg/kg), 人蔘木瓜複合方 投與群(400mg/kg, 200 mg/kg)으로 구분하여 1일 1회 8주 동안 경구투여한 후 심장천좌법으로 혈액을 채취하여 혈청을 분리하였다.

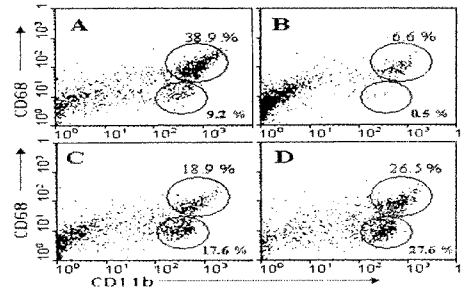


Fig. 3. Effects of Gin-CHF extract on the percentage of CD68 and CD11b-gated cells in  $\beta$ A-alzheimer disease mouse model.

C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CHF (400 and 200 mg/kg) and tacrine (10 mg/kg, *p.o*) in 8 weeks. After 8 weeks, mouse brain cells ( $5 \times 10^5$  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  $\beta$ A-induced alzheimer's disease model. At the end of the experiment, the mice brain CD14<sup>+</sup> cells were removed and  $\beta$ A-induced alzheimer's disease model control CD68<sup>+</sup> and CD11b<sup>+</sup> (A), tacrine (10 mg/kg, *p.o*) B) treated, and Gin-CHF orally administered 400 mg/kg (C) and 200 mg/kg (D), CD68/CD11b cell population (%) were measured by analyzed by flow cytometer.

Fig. 4에서 보는 것처럼 혈청중 AST 수치는 정상군이  $100.8 \pm 2.0$  (IU/L)이었고,  $\beta$ 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, 人蔘木瓜複合方 400 mg/kg 投與群은  $79.3 \pm 15.2$  (IU/L)이었고, 200 mg/kg 投與群은  $70.1 \pm 3.5$  (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,  $\beta$ 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 혈중 T-Chol은  $97.4 \pm 5.3$  (mg/dl)로 나타나 대조군에 의해 유의성 있게 감소하였으며, 人蔘木瓜複合方 400 mg/kg 投與群은  $125.8 \pm 3.0$  (mg/dl)이었는데 비해 200

mg/kg 投與群은 119.9±2.6 (mg/dl)로 측정되어 오히려 낮았으나 각각 대조군에 비해 유의성은 없었다.

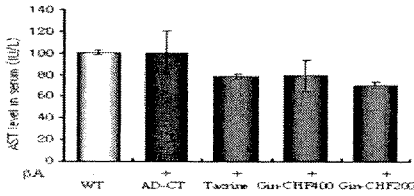


Fig. 4. Effects of Gin-CHF extract on the serum aspartate aminotrans (AST) level in  $\beta$ A-alzheimer disease mouse model.

C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CHF (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± S.E (N=3). Statistically significant value compared with  $\beta$ A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

Fig. 6에서 보는 것처럼 혈청중 glucose 수치는 정상군이 136.7±7.8 (mg/dl)이었고,  $\beta$ A를 뇌에 주입한 對照群은 127.7±3.5 (mg/dl)으로 측정되었다. 陽性對照群인 tacrine 投與群의 혈중 glucose는 131.8±2.8 (mg/dl)로 나타났고, 人蔘木瓜複合方 400 mg/kg 投與群은 136.2±17.1 (mg/dl)이었고, 200 mg/kg 投與群은 137.6±12.6 (mg/dl)로 측정되었다. Glucose 수치는 모든 실험군이 대조군의 수치와 큰 차이가 없었다.

Fig. 7에서 보는 것처럼 혈청중 HDL-cholesterol (HDL-Chol) 수치는 정상군이 81.0±5.7 (mg/dl)이었고,  $\beta$ A를 뇌에 주입한 對照群은 91.0±2.3 (mg/dl)으로 측정되었다. 陽性對照群인 tacrine 投與群의 혈청중 HDL-Chol는 78.6±4.6 (mg/dl)로 나타나 유의성 있게 감소하였으나, 人蔘木瓜複合方 400 mg/kg 投與群은 100.6±2.7 (mg/dl), 200 mg/kg 投與群은 94.6±1.8 (mg/dl)로 측정되어 HDL-Chol 수치가 對照群과 큰 차이가 없었다.

Fig. 8에서 보는 것처럼 혈청중 AChE 활성도 수치는 정상군이 29.9±3.1 (U/ml)이었고,  $\beta$ A를 뇌에 주입한 對照群은 53.0±2.7 (U/ml)으로 측정되었다. 陽性對照群인 tacrine 投與群의 혈청중 AChE 활성도는 35.9±2.9 (U/ml)으로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였고 (p<0.001), 人蔘木瓜複合方 400 mg/kg 投

與群은 44.6±1.9 (U/ml)으로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다 (p<0.01). 그리고 200 mg/kg 投與群은 55.0±4.0 (U/ml)으로 대조군과 유사하였다.

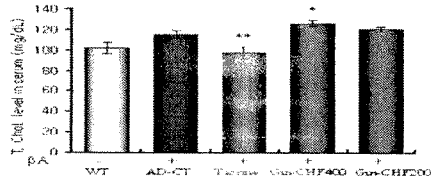


Fig. 5. Effects of Gin-CHF extract on the serum total cholesterol level in  $\beta$ A-alzheimer disease mouse model.

C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CHF (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± S.E (N=3). Statistically significant value compared with  $\beta$ A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

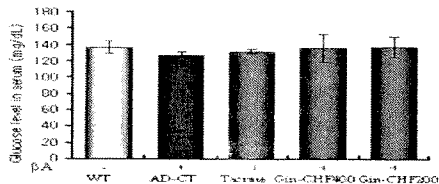


Fig. 6. Effects of Gin-CHF extract on the serum glucose level in  $\beta$ A-alzheimer disease mouse model.

C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CHF (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± S.E (N=3). Statistically significant value compared with  $\beta$ A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

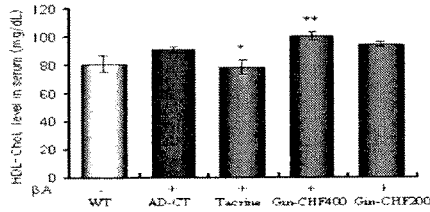


Fig. 7. Effects of Gin-CHF extract on the serum HDL-cholesterol(HDL-Chol) level in  $\beta$ A-alzheimer disease mouse model.

C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CHF (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  $\beta$ A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (\**p*<0.05, \*\**p*<0.01, \*\*\**p*<0.001).

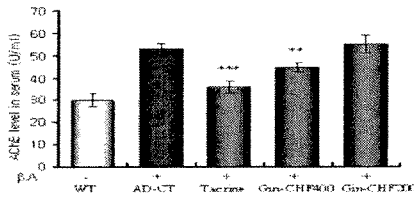


Fig. 8. Effects of Gin-CHF extract on the serum AChE activity level in  $\beta$ A-alzheimer disease mouse model.

C57BL/6 mice were orally administered of Gin-CHF (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  $\beta$ A-induced alzheimer's mice group (Control) data by T test (\**p*<0.05, \*\**p*<0.01, \*\*\**p*<0.001).

### 고찰

본 연구에서 알츠하이머 생쥐의 病變 뇌에서 지질 과산화와 人蔘木瓜複合方 投與로 지질 과산화물질을 억제할 수 있는지를 규명하고자 하였다.

그 결과 人蔘木瓜複合方 추출물 投與로 알츠하이머 생쥐의 病變 뇌부위에 MDA의 양이 對照群에 비하여 현저히 감소하였다.

$\beta$ A가 沈積된 老人癡 주변에서는 활성화된 astrocyte와 microglial cell이 많이 관찰되는데, 외부 자극인자들에 의하여 활성화된 microglial cell이 IL-1 $\beta$  및 TNF- $\alpha$  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 있어<sup>22)</sup>  $\beta$ A와 염증반응 사이토카인의 상관성이 주목되고 있다.<sup>23)</sup>

$\beta$ A로 유도된 AD 病態 생쥐의 病變 뇌조직에서의 염증반응 cytokine, CD68/CD11b 發顯을 관찰하였는데, 먼저 病變 뇌조직에서의 염증반응 cytokine의 일종인 IL-1 $\beta$  생성량을 관찰한 결과, 正常群에 대해  $\beta$ A를 뇌에 주입한 對照群에서는 증가되었으나 人蔘木瓜複合方 投與群에서는 그 發顯이 현저히 감소했고, TNF- $\alpha$  단백질 역시 正常群에 비해  $\beta$ A를 뇌에 주입한 對照群은 증가하였으나 人蔘木瓜複合方 投與群은 發顯이 현저히 감소했음을 볼 수 있었다.

이는 人蔘木瓜複合方이 AD의 원인 중 하나로 알려진 세포내에서의 염증반응과 관련된 cytokine의 활성화를 세포성 단백질 수준과 유전자 수준 모두 효과적으로 억제한 것으로, 人蔘木瓜複合方의 投與를 통해 과잉 생산된 염증반응 cytokine으로 초래되는 신경세포 死滅을 예방할 수 있을 것으로 思料된다.

### 결론

人蔘木瓜複合方이  $\beta$ A로 유도된 AD 病態 모델에 미치는 영향을 관찰한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 人蔘木瓜複合方은 AD 病變 뇌조직에서의 세포내 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ 의 發顯 측정에서 양성세포수를 억제하였다.

2. 人蔘木瓜複合方은 AD 病變 뇌조직에서의 MDA 측정과 CD68/GFAP의 세포수를 억제하였다.

이상의 결과로 미루어 보아 人蔘木瓜複合方은 AD의 예방과 치료에 사용될 수 있을 것으로 판단되며 정확한 기전에 대한 연구와 AD 치료에 있어서 人蔘木瓜複合方의 임상적 활용에 대한 연구가 향후 지속적으로 이루어져야 할 것으로 思料된다.

## 참고문헌

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. 郭隆璨 (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·老人病學, 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  $\beta$ 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., Saïdo, 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  $\beta$ 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., Ksiezak-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. 김창민 외, (1986) 中藥大辭典, 2000, 정담출판사, 서울.
19. 李廣勳, (1992) 中國藥理毒理與臨床. 43, 天津科學翻譯出版公司, 天津.
20. 김창민 외, (1986) 中藥大辭典, 1293-1298, 정담출판사, 서울.
21. Suematsu, T., Kamada, T., Abe, H., Kikuchi, S. and Yagi, K. (1977) Serum lipoperoxide levels in patients suppering 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 hydrocholride (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.