

천마가미방이 Scopolamine으로 유발된 흰쥐의 해마 손상에 미치는 영향

박은혜^{1#}, 이승인², 정종길², 김경옥³, 김정상^{1*}

1 : 동신대학교 한의과대학 해부학교실, 2 : 동신대학교 한의과대학 본초방제학교실,
3 : 동신대학교 한의과대학 한방신경정신과학교실

Protective Effect of the *Gastrodiae Rhizoma*-gamibang on the Scopolamine-induced Hippocampal Damage in Sprague-Dawley Rats

Eun-Hye Park^{1#}, Soong-In Lee², Jong-Kil Jeong²,
Kyeong-Ok Kim³, Jeong-Sang Kim^{1*}

1 : Dept. of Anatomy, 2 : Dept. of Herbology and Herbal Formula Sciences,
3 : Dept. of Neuropsychiatry College of Korean Medicine, Dongshin University, Jeonnam 520-714, Korea

ABSTRACT

Objectives : This study investigated the neuroprotective effect of *Gastodia Rhizoma*-gamibang (GG) water extracts against scopolamine-induced neurotoxicity in the hippocampus of male Sprague-Dawley rats.

Methods : The animals were divided into five different groups with six animals per each group. The normal group (Nor) was administered with saline, while the control group (Con) was administered with saline after scopolamine treatment. The experimental group (Exp) was administered orally GG extracts at doses of 200 mg/kg (GG1 group), 400 mg/kg (GG2 group), 1000 mg/kg (GG5 group) for 30 day after scopolamine treatment.

Results : From a light microscopy study, the nuclei of neurons and glial cells in the hippocampus were more shrunken or condensed in the 30 day control group compared with normal group. In the experimental groups, proportional to the dose, recovered from neurotoxicity induced by scopolamine. The control group, the density of hippocampal neurons were reduced 17-20% compared to normal group. The densities of neurons from the CA1, and CA3 area of the hippocampus in the GG1, GG2 and GG5 groups significantly increased compared with the Con. In the experimental group, neuronal cells are recovered from scopolamine-induced damage. A number of glial cells are observed increase from GG2 and GG5 groups. The PAS-positive materials in the tissues hippocampus), was lower in the Exp than the Con.

Conclusions : The present study demonstrates that *Gastodia Rhizoma*-gamibang extract reduces neuronal damage in the hippocampus of scopolamin-induced impairment mice.

Key words : *Gastrodiae Rhizoma*-gamibang, hippocampus, scopolamine, PAS stain,

서론

기억은 경험이나 지식을 회상하거나 재구성을 나타낼 수 있는 것을 의미하며¹⁾, 해마와 밀접한 관계를 가지고 있어 학습을 통하여 해마에 기억으로 저장된다²⁾. 해마 손상으로 인한

기억력 감퇴는 노년이 되면서 많이 나타나게 되는데 증상으로 는 인지장애, 행동장애를 동반하며 그와 비슷한 증상으로 는 알츠하이머병이 있다³⁾. 특히 노년기에 우울증을 동반한 감정 표현과 함께 기억력 감소를 나타내는 환자들에서 베타 아밀로 이드 단백질에 의해 형성된 노인반(senile plaque)이 보이며,

*Corresponding author : Jeong-Sang Kim, Dept. of Anatomy, College of Korean Medicine, Dongshin University, Jeonnam 520-714

· Tel : +82-61-330-3512 · E-mail : jskim@dso.ac.kr

#First author : Eun-Hye Park, Dept. of Anatomy, College of Korean Medicine, Dongshin University, Jeonnam 520-714

· Tel : +82-61-330-3512 · E-mail : dmswk0123@hanmail.net

· Received : 10 April 2015 · Revised : 21 May 2015 · Accepted : 25 May 2015

해마의 신경세포 밀도 및 활성이 줄어들게 된다⁴⁾.

천마(天麻, *Gastrodia elata* Blume)는 난초과(Orchidaceae)에 속한 다년생 기생초본으로 근경을 건조한 것으로^{5,6)}, 주성분으로 gastrodin, methyl ether, vanillyl alcohol, benzyl alcohol, β -sitosterol, daucosterol 등이 알려져 있다^{7,8)}. 천마의 효능에 관한 실험연구로는 신경세포 보호 효능⁹⁾, 항허혈성 치매 개선 효능¹⁰⁾, 뇌부종 감소 효능¹¹⁾, 뇌손상 억제 효능¹²⁾, 항스트레스 효능¹³⁾ 등이 보고되었다. 석창포(石菖蒲, *Acorus gramineus* Sol.)는 천남성과(Araceae)에 속한 다년생 초목인 석창포의 근경을 건조한 것으로^{5,6,14)}, 뇌신경 보호작용, 소화작용, 진정작용, 진통 항균 및 이노작용 등이 보고되었다^{7,8)}. 원지(遠志, *Polygala tenuifolia* Willd)는 원지과에 속한 다년생 초본인 원지 혹은 낙엽원지의 뿌리를 건조한 것이며^{5,6)}, 뇌신경 보호, 기억력 개선 작용, 항정신성 보호효과가 알려져 있다^{7,8,15)}.

천마와 다른 한약재를 배합한 효능에 관한 연구는 다양하게 이루어져 왔으며, 천마, 황금, 석창포 물추출액 혼합물의 대 뇌신경세포에서의 활성증가와 학습능력 증진 효능¹⁶⁾, 천마, 석창포, 원지 배합물이 뇌손상과 인지기능 향상 효과¹⁷⁾, 뇌손상으로부터의 보호 효과¹⁸⁾, 그리고 알츠하이머병의 지연효과¹⁹⁾ 및 항치매 효과²⁰⁾에 대한 연구가 보고되었다.

Scopolamine은 muscarinic cholinergic receptor의 길항제(antagonist)로 기억력 감퇴(건망증) 및 인지능력 저하와 같은 알츠하이머성 치매와 유사한 특징을 나타내기 때문에 인지장애 손상 동물 모델 제작에 널리 사용되고 있다²¹⁻²³⁾.

따라서 본 연구에서는 인지기능 개선에 도움이 되는 것으로 알려진 원지, 석창포 외에 혈액 생성과 순환에 효능이 있는 당귀, 천궁, 계지, 육계를 가미하여 천마가미방을 구성하였으며, 흰쥐에 scopolamine을 투여하여 해마가 손상된 동물 모델에서의 해마 신경세포 손상에 대한 효능을 평가하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 7주령 수컷 Sprague Dawley(SD)계 흰쥐(rat)를 싹타고(경기도, 오산)로부터 구입하였고, 동물사육실에서 일정한 조건(온도 : $21 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 : 50~60%, 12시간 주기 명/암)하에서 일반 고형사료(싹타고, 흰쥐 용)와 물을 충분히 공급하면서 1주 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 본 동물실험은 동신대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: 2012-00-01)을 받아 수행하였다.

2. 약제

본 실험에 사용한 천마가미방의 구성약재 중 천마(*Gastrodia Rhizoma*)는 무주천마사업단으로부터 공급받아 사용하였고, 석창포, 당귀, 천궁, 감초, 계지, 육계, 원지는 읍니허브(주)에서 구입한 후 정선하여 사용하였다(Table 1).

Table 1. Prescription of *Gastrodia Rhizoma*-gambang(RG).

Herbal Name	Scientific Name	Medicinal Part	Weight (g)
天麻	<i>Gastrodia elata</i> Blume	Rhizoma	50
石菖蒲	<i>Acorus gramineus</i> Solander	Rhizoma	50
當歸	<i>Angelica gigas</i> Nakai	Radix	100
川芎	<i>Cnidium officinale</i> Makino	Rhizoma	50
甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.	Radix	50
桂枝	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	Ramulus	50
肉桂	<i>Cinnamomum cassia</i> Presl	Cortex	25
遠志	<i>Polygala tenuifolia</i> Willd.	Radix	25
Total amount			400

3. 약물 제조

천마가미방 400 g를 물 5,000 mL에 넣고 추출기(FD1225A2HST, Il Gwing, Seoul, Korea)에서 10시간 동안 가열하였다. 얻은 추출액은 감압농축(RV 10 Control, IKA, Staufen, Germany)한 후 순환수조(COOL ACE CA-1500, Eyela, Tokyo, Japan)에서 1차 동결한 다음, 이를 동결건조기(FD8508, Ilshin, Dongducheon, Korea)로 동결건조하여 사용하였다. 총 150g의 분말을 얻었으며, 수율은 약 37.5%이었다.

4. 해마손상 동물모델 제작

정상군을 제외한 모든 실험동물은 Scopolamine(Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) 1mg/kg을 0.9% 생리식염수 1 mL에 용해하여 7일간으로 1일 1회 복강 주사함으로써 기억 손상 동물모델을 제작하였다.

5. 실험군 설정 및 약물 투여

군 분류는 기억력 감퇴를 유발시키지 않은 정상군(Nor), scopolamine을 투여하여 해마부위 손상을 유발시킨 다음 음용수만 투여한 대조군(Con), scopolamine을 대조군과 동일한 방법으로 투여한 다음, 성인의 1일 복용량에 해당하는 천마가미방 추출액을 200 mg/kg 투여군(GG1 군), 1일 복용량의 2배인 400 mg/kg 투여군(GG2 군), 5배인 1,000 mg/kg 투여군(GG5 군)으로 구분하였다. 모든 실험동물은 각 군마다 6마리씩 사용하였다.

6. 뇌 조직 관찰

모든 실험이 끝난 직후 실험동물을 urethane(75 mg/kg)로 마취시키고 phosphate buffered saline(PBS) 100 mL에 이어 4% paraformaldehyde 용액을 심장을 통하여 동일한 속도로 천천히 관류고정 하였다. 각 조직을 4% paraformaldehyde에 24시간 고정시킨 다음, 30, 50, 70, 80, 90, 95, 100 I, 100 II와 같이 알코올 농도를 상승시켜 조직 속의 수분을 제거한 후 xylene으로 투명화 과정을 거친 후 paraffin으로 포매하였고, 포매된 조직을 microtome을 사용하여 5 μm 두께로 절편하였다. 절편된 조직을 slide glass 위에 부착시키고 xylene으로 paraffin을 제거한 다음 100%, 90%, 80% ethanol과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담구어 함수 과정을 거치게 하였다. Cresyl violet 염색을 한 다음 탈수

후 Canada balsam으로 봉입하고 카메라 부착 광학현미경 (Nikon Eclipse 80i, Tokyo, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다. 또한 염색이 끝난 조직은 광학현미경을 사용하여 저배율($\times 100$)로 촬영하고 신경세포의 밀도측정은 200배에서 5구역씩 가로, 세로 30으로 하여 Scion image program (Scion Corp., MD, USA)을 이용하여 합산하였다.

7. Periodic acid-Schiff(PAS) 염색

뇌 조직 절편을 PBS로 수세한 후 0.5% periodic acid와 함께 10분간 상온에서 배양하였다. Schiff's reagent로 5분씩 2회 처리한 후 sulfurous rinse 용액으로 각각 2분씩 3회에 걸쳐 씻어내고 이어서 흐르는 물에 10분간 수세하였다. Harri's hematoxylin으로 1분간 염색한 후 1% acid alcohol에 2~3회 담그는 방법으로 탈수시키고 다시 흐르는 물에 수세 과정을 거친 후 ammonia액에 5~10회 담가 염색하였다. Alcohol을 이용한 탈수 과정을 거친 후 Canada balsam으로 봉입하였다.

8. 통계처리

실험 결과에 대한 통계처리는 mean \pm SE로 나타냈으며, 대조군과 실험군 사이의 평균 차이를 검정할 때에는 Student's *t*-test로 검정하여 *p* 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 천마가미방의 해마부위 신경세포 손상에 대한 효과

실험동물에 7일간 scopolamine을 투여하여 기억손상이 유발된 흰쥐에 일간 천마가미방을 200, 400, 1000 mg/kg 농도로 투여한 후 해마부위 신경세포 손상 정도를 cresyl violet으로 염색하여 관찰하였다.

그 결과 정상군(Fig. 1A)에서는 신경세포가 비교적 고르게 분포하는 것을 관찰되었으며, cresyl violet에 신경세포보다 염색성이 높은 신경아교세포(glial cell)가 해마 전반에 걸쳐 일정하게 분포하는 것이 관찰되었다. 또한 음용수를 공급한 대조군(Fig. 1B)에서는 정상군에서와 같이 해마부위 신경세포가 매우 넓게 관찰되었으나, 대부분 손상된 것을 확인하였고, 신경아교세포 또한 거의 관찰되지 않았다. 한편 천마가미방 200 mg/kg을 투여한 GG1군(Fig. 1C)에서는 대조군에 비하여 신경세포의 응축과 손상이 약하게 감소된 것으로 관찰되었으나, 신경세포의 염색성은 매우 낮았으며, 신경세포가 넓게 관찰되었고, 신경아교세포는 거의 관찰되지 않았다. 천마가미방 400 mg/kg을 투여한 GG2군(Fig. 1D)에서는 GG1군에 비하여 다소 높은 신경세포 밀도를 나타내었으나 정상군에 비하여 신경세포 수는 감소한 것으로 나타났고, 신경아교세포도 거의 관찰되지 않았다. 천마가미방 1000 mg/kg을 투여한 GG5군(Fig. 1E)에서는 정상군에서와 유사하게 신경세포의 분포가 일정하고 조직학적 형태가 뚜렷하였으며, 신경아교세포 또한 다수 관찰되었다.

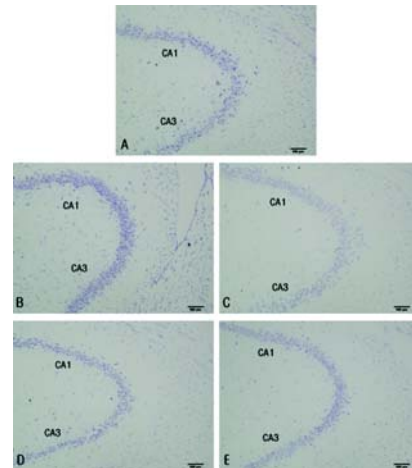


Fig. 1. Effect of *Gastrodiae Rhizoma*-gamibang on the neuronal damage in the hippocampus of scopolamine-induced impairment mice. *Gastrodiae Rhizoma*-gamibang (GG) was administrated for 30 days after memory impairment. The densities of neurons in the CA1, and CA3 area of hippocampus were determined by cresyl violet stain ($\times 100$). A, normal group administered with saline; B, control group administered with saline after scopolamine treatment; C, GG1 group administered with RG extract (200 mg/kg/day); D, GG2 group administered with RG extract (400 mg/kg/day); and E, GG5 group administered with RG extract (1000 mg/kg/day).

2. 천마가미방의 해마부위 신경세포 밀도에 대한 효과

실험동물에 7일간 scopolamine을 투여하여 기억손상이 유발된 흰쥐에 30일간 천마가미방을 200, 400, 1000 mg/kg 농도로 투여한 후 해마부위 신경세포의 CA1과 CA3 영역으로 구분하여 측정하였다.

그 결과, CA1 영역에서의 신경세포 밀도는 정상군에 비하여 신경손상이 유발된 대조군에서 약 20% 감소하였으며, 천마가미방을 각각 200, 400, 1000 mg/kg 용량으로 투여한 GG1, GG2, GG5 군은 모두 정상군에 비하여는 다소 감소하였으나, 대조군에 비하여 유의적으로($p < 0.05$) 증가하였다 (Table 2). 또한 CA3 영역의 신경세포 밀도는 정상군에 비하여 대조군에서 약 17% 감소하였고, GG1, GG2, GG5 군에서 정상군에 비하여 다소 감소하였으나, 대조군에 비하여 유의적으로($p < 0.05$) 증가한 것으로 나타났다.

Table 2. The densities of neurons from CA1 and CA3 areas of hippocampus

Groups	Area	
	CA1	CA3
Nor	135.2 \pm 2.11	128.8 \pm 2.39
Con	108.4 \pm 1.65 [#]	107.3 \pm 1.02 [#]
GG1	115.8 \pm 2.20 ^{#*}	115.0 \pm 1.45 ^{#*}
GG2	122.6 \pm 3.28 ^{#*}	117.9 \pm 2.29 ^{#*}
GG5	124.4 \pm 4.43 ^{#*}	121.2 \pm 2.76 ^{#*}

Effect of *Gastrodiae Rhizoma*-gamibang on the neuronal damage in the hippocampus of scopolamine-induced impairment mice, *Gastrodiae Rhizoma*-gamibang (GG) was administrated for 30 days after memory impairment. The densities of neurons from the CA1, CA3 area of the hippocampus in the GG1, GG2 and GG5 groups increased compared with the Con. Nor, administered saline; Con, control group administered saline after scopolamine treatment; GG1 group administered RG extract (200 mg/kg/day), GG2 group administered RG extract (400 mg/kg/day), and GG5 group administered RG extract (1,000 mg/kg/day) during 30 day after scopolamine treatment. Significant differences were compared with normal at [#] $p < 0.05$ or control at ^{*} $p < 0.05$. All value are mean \pm S.E. (n=6).

3. 천마가미탕의 해마부위 신경세포의 형태적 변화에 대한 효과

실험동물에 7일간 scopolamine을 투여하여 기억손상이 유발된 흰쥐에 30일간 천마가미탕을 200, 400, 1000 mg/kg 농도로 투여한 후 해마부위 CA3 지역 내 신경세포의 형태적 변화를 PAS 염색하여 관찰하였다.

그 결과 정상군에서는 CA3 지역 내 신경세포의 핵 모양이 뚜렷하고, 핵소체가 발달되어 있었으며, 축삭들도 뚜렷하게 관찰되었다. 또한 신경세포와 함께 주변 신경아교세포들의 분포가 다수 관찰되었다(Fig. 2A). 그러나 대조군에서는 대부분의 신경세포들이 손상되어 핵질이 매우 응축되어 있었으며, 일부 신경세포에서는 축삭들이 관찰되었지만 대부분 관찰되지 않았고, β -아밀로이드단백질인 PAS-양성 물질들이 해마부위 전반에 걸쳐 관찰되었다(Fig. 2B). 반면 GG1군에서는 해마부위 신경세포의 형태가 뚜렷하게 관찰되었으나, 정상군에 비하여는 염색성이 다소 낮았고, 신경세포체의 형태는 뚜렷하였으나, 축삭들은 거의 관찰되지 않았으며, 신경아교세포들도 소수 관찰되었다(Fig. 2C). GG2군은 GG1군에 비하여 핵의 형태와 핵소체가 보다 뚜렷하게 관찰되었으며, 축삭들이 관찰되었다(Fig. 2D). GG5군(Fig. 2E)에서는 정상군에서와 같이 응축된 신경세포의 수가 현저히 감소하였을 뿐만 아니라, 신경세포와 아교세포에서 모두 핵이 뚜렷한 관찰과 낮은 PAS-양성반응을 보여주었다.

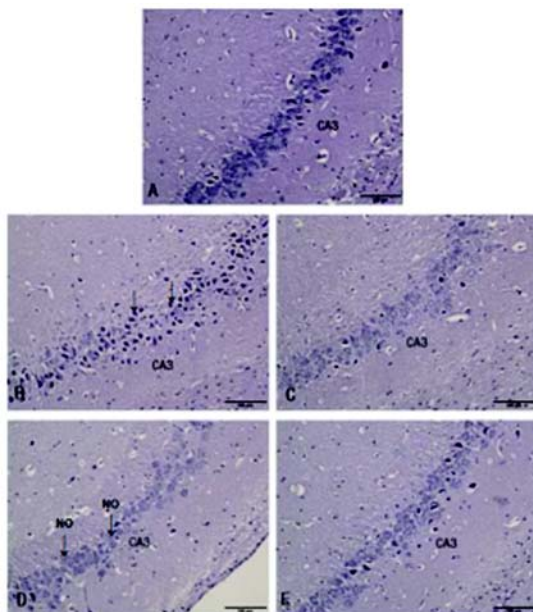


Fig. 2. Effect of *Gastrodiae Rhizoma-gamibang* on the neuronal damage in the hippocampus of scopolamine-induced impairment mice. *Gastrodiae Rhizoma-gamibang* (GG) was administered for 30 days after memory impairment. The Light micrographs from CA3 area of hippocampus at 30 day. A, normal group administered saline; B, control group administered saline after scopolamine treatment; C, GG1 group administered RG extract (200 mg/kg/day); D, GG2 group administered RG extract (400 mg/kg/day); E, GG5 group administered RG extract (1,000 mg/kg/day) during 30 day after scopolamine treatment. Arrows indicate shrunken or condensed the nuclei of neurons. NO, nucleolus. PAS stain, $\times 200$.

고찰

해마는 대뇌의 관자엽 안쪽에 위치하는 학습에 필수적인 역할과 장기간 기억력의 저장에 필수적인 역할을 하는 곳으로 뇌가 발생하고 분화하는 시기뿐만 아니라 성장이후에도 신경세포가 분열하는 특징을 가지고 있어서 반복적인 학습은 해마 신경세포의 수의 증가를 가져올 수 있는 것으로 알려져 있다²⁴. 해마를 구성하는 신경세포의 증가는 학습과 기억력의 저장을 향상시킬 수 있고 반대로 해마 신경세포의 퇴화 또는 손상은 기억력과 인지기능에 저하를 가져오게 된다²⁵. 특히, 알츠하이머성 치매의 초기단계에서 둘레계(limbic system)와 해마와의 연결단절이 일어남으로써 일화기억(episodic memory)에 심각한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다^{25,26}.

Scopolamine을 투여한 흰쥐는 해마부위 신경세포에서 세포사멸이 일어난다고 하였고²¹, Scopolamine으로 유발된 노화 마우스에서도 산화적 스트레스에 의한 신경세포의 세포사멸 유발되는 것으로 보고되었다²². Scopolamine을 투여하여 해마부위 신경세포를 손상시킨 동물모델에서 베타 아밀로이드 단백질(beta-amyloid protein)과 타우 단백질(tau protein)의 침착과 신경세포 수의 감소가 나타나서 사람의 기억력 감퇴에서 관찰되는 병리조직학적 소견을 재현할 수 있는 것으로 알려져 있다²³.

마우스의 배양 대뇌신경세포에 H_2O_2 로 산화적 손상을 유발한 다음 천마추출물을 투여하면 LDH 활성 감소에 의해 지질 과산화 반응을 저해함으로써 산소자유기로부터의 세포손상을 방어하는 효과가 있다고 보고되었으며³⁰, 원지와 석창포 혼합 추출액의 투여가 pCT105 과발현 신경세포에서 세포사멸 유도 억제효과를 통해 뇌의 신경퇴행성 변화를 지연 시킨다고 보고되었다³¹. 본 연구에서는 7일간 scopolamine을 투여하여 신경손상 마우스모델을 제작한 후 30일간 천마가미탕을 투여한 후 해마부위 신경손상에 대한 보호효과를 관찰하였으며, 천마가미탕 투여에 의해 신경세포의 응축과 손상 및 신경교세포 손상이 농도 의존적으로 감소되는 것을 확인하였다 또한 해마부위 신경세포의 밀도를 CA1과 CA3 영역으로 구분하여 측정된 결과, scopolamin에 의해 감소된 CA1과 CA3 영역의 신경세포 밀도는 천마가미탕 투여에 의해 증가하였다. 이와 같은 결과는 scopolamine으로 기억손상을 유발한 흰쥐의 해마부위에서의 신경세포 밀도가 40~50% 감소하였다는 보고와 일치한다³². 또한 은행잎추출물²¹이나 천마 추출물²⁷ 투여가 흰쥐의 해마부위 신경세포의 밀도를 증가시킨다는 보고와 같이 본 연구에서 천마가미탕을 투여한 흰쥐에서 해마 신경세포 밀도의 증가가 관찰되었다.

뇌에서의 포도당 대사의 감소는 신경조직에 베타 아밀로이드 단백질 축적을 유도함으로써 노화반(senile plaque)이 나타나며^{29,32}, 알츠하이머병에서 노화반의 형성은 PAS 염색을 통해 확인할 수 있는 것으로 알려져 있다^{33,34}. 본 연구에서도 PAS 염색을 통해 해마부위에서의 노화반 형성을 관찰한 결과, 정상군에 비해 scopolamin으로 기억손상이 유발된 흰쥐의 해마 조직에서 높은 PAS-양성반응을 보였으나 노화반은 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과는 본 동물모델이 노화반 형성 초기단계로 보이며, scopolamine에 의한 해마 신경세포 손상기간으로 충분하지 않았기 때문으로 사료된다.

한편 신경아교세포의 수가 scopolamine 투여에 의해 매우

증가하였으며 이는 손상된 신경세포에서 관찰되는 현상으로써³⁴⁾ 고용량의 천마가미방 투여(1000 mg/kg)에 의해 감소되었다. 이와 같은 결과는 천마가미방 투여에 의해 손상된 신경세포의 수가 줄어들었기 때문으로 사료된다. 천마가미방을 투여한 군에서는 대조군에 비하여 모든 용량에서 신경세포의 손상 정도가 미약하였으며, 특히 고용량 투여군에서 응축된 신경세포의 수적 감소 뿐만 아니라, 핵의 뚜렷한 관찰과 낮은 PAS-양성반응을 보여주었다. 이와 같은 결과는 천마추출물을 경구 투여한 흰쥐의 해마부위에서 응축된 신경세포의 수가 감소하였으며, PAS-양성반응도 낮았다³⁵⁾는 이전 연구결과와 일치한다.

결론적으로 천마가미방은 scopolamine에 의한 해마부위 신경손상으로부터 신경세포를 보호하는 것으로 나타났으며 이러한 효과는 투여 용량에 비례하여 증가하였다. 이는 사람에게서 해마 신경세포 활성을 통한 기억력 개선을 위해 복용할 경우 고용량으로 복용하는 것이 보다 효과적일 것으로 생각되었다. 또한 천마가미방은 scopolamine으로 유발된 흰쥐의 신경독성을 개선하는 효과가 있었으며, 독성으로부터 신경세포를 보호 또는 회복하는 기전이나 성분에 대해서는 추가 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결론

천마가미방의 해마 신경보호효능을 규명하기 위해 scopolamine 투여로 해마부위 신경세포 손상을 유발한 흰쥐에 천마가미방(200, 400, 1000 mg/kg)을 투여하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 병리조직학적 검사 결과 scopolamine-투여 대조군에서는 해마 신경세포가 매우 손상되었으나, 천마가미방을 투여한 군에서는 투여 용량에 의존적으로 손상정도가 감소하는 것으로 나타났다.
2. 해마부위 CA1과 CA3 영역에서의 신경세포 밀도 변화를 측정된 결과, 대조군에 비하여 천마가미방을 투여한 군에서 투여 용량에 의존적으로 증가하는 것으로 나타났다.
3. 해마부위 CA3 영역에서의 PAS-양성 반응을 확인한 결과, 천마가미방을 투여한 군에서 낮은 PAS-양성 반응이 나타났으며 뚜렷한 신경세포 핵과 아교세포 수의 감소가 관찰되었다.

이상의 실험 결과로 보아, 천마가미방은 해마부위 신경세포 손상으로부터 보호 또는 회복 효과가 있는 것으로 나타났다.

References

1. Rohkamm, Reinhard, Color atlas of neurology. Seoul : Korea medicine book, 2009 : 134-7.
2. McDonald RJ, White NM, A triple dissociation of memory systems: hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. Behav Neurosci. 1993 ; 107(1) : 3-22.
3. Kenneth W. Lindsay. Neurology and neurosurgery illustrated 5th, Seoul : Beommun Education, 2013 : 164-73.
4. Jang KW, Kim JH, Ahn IS, Kim DK, Behavioral and psychological symptoms according to severity in patients with Alzheimer's disease. J Kor Geriatric Psychiatry. 2009 ; 13 : 77-82.
5. Jeongug haneuihaggoa daehag herbal medicine classroom, herbal medicine. Seoul : Yeongrimsa, 2000 : 504-5.
6. Sin MG. Clinical Traditional Herbageology. Seoul : Yeongrimsa, 2008 : 604, 628.
7. Seo BL, Jung KY. Know easy herbal medicine. Daegu : Daegu Haany University. 2007 : 369, 384, 431.
8. Herbal Pharmacology Textbook Compilation Committee. Herbal Pharmacology 3th, Seoul : Shinilbook, 2010 : 56-9, 69-72, 89-93, 116-20, 126-9, 345-50, 486-8.
9. Jung YS, Kang JH, Prak SH, Kwon YM, Kim GW, Koo BS. Protective effect of Gastrodia Elata on neuronal cell damage in Alzheimer's disease. J Orient Neuropsychiatry. 2010 ; 21(2) : 125-40.
10. Han JE. Anti-ischemic activity of Gastrodia elata Blume. Inje University. 2003.
11. Lee JY, Ku JS, Lee DE, Shin JW, Kim SJ, Sohn NW. Effects of Gastrodiae Rhizoma on brain edema and aquaporin expressions following intracerebral hemorrhage in the rat. Kor J Herbol. 2010 ; 25(4) : 85-93.
12. Lee JH. The inhibitory effects of the extracts, p-hydroxybenzyl alcohol and p-hydroxybenzaldehyde of Gastrodia elata blume on brain damage in rat ischemic model. Inje University. 2005.
13. Qian YR. Molecular analysis of anti-stress effects by Gastrodia elata on catecholamine biosynthesis pathway. Chosun University. 2004.
14. Kang SJ. The neuroprotective effects of Rhizoma Acori Gramine extract against cerebral ischemia in rats. Kyurgsan University. 2001.
15. Lee JH, Lee BH, Kim CY, Roh SS. Korean medical study of relation with chemical components and pharmacological effects. J Appl Orient Med. 2010 ; 10(1) : 25-33.
16. Bae HB. Effects of water-extract mixture of Scutellariae baicalensis GEORGI, Gastrodia elata BLUME, and Acorus gramineus SOLAND on cultured rat cortical neurons and enhancement of learning and memory power. Dogguk University. 2004.
17. Kang MS. The Protective effects Wonjiseokchangposan has on brain damage and cognitive dysfunction in transient focal cerebral ischemia. Dogguk University. 2002.
18. Kim SH, Chung DK. Nootropic and Anti-amnesic effect of PPA on scopolamine-induced cognitive

- impairment in mice, *J Orient Neuropsychiatry*, 2011 ; 22(4) : 185–99.
19. Han WJ, Kim HS, Kim ST, Kim TH, Kang HW, Lyu YS. Comparative effects of Radix Polygalae and Rhizoma Acori Graminei on CT105–induced neuroblastoma cell lines, *J Orient Neuropsychiatry*, 2003 ; 14(2) : 95–105.
 20. Lee SR, Kang HW, Kim ST, Lyu YS. The Effects of anti–Alzheimer in pCT105–induced neuroblastoma cell lines by Radix Polygalae and Rhizoma Acori Graminei mixture extract, *Kor J Orient Physiol Pathol*, 2013 ; 17(4) : 1037–49.
 21. Jahanshahi M, Nickmahzar EG, Babakordi F. Effect of Gingko biloba extract on scopolamine–induced apoptosis in the hippocampus of rats, *Anat Sci Int*, 2013 ; 88 : 217–22.
 22. Hou XQ, Wu DW, Zhang CX, Yan R, Yang C, Rong CP, Zhang L, Chang X, Su RY, Zhang SJ, He WQ, Qu Z, Li S, Su ZR, Chen WB, Wang Q., Fang SH. Bushen–Yizhi formula ameliorates cognition deficits and attenuates oxidative stress–related neuronal apoptosis in scopolamine–induced senescence in mice, *Int J Mol Med*, 2014 ; 34(2) : 429–39.
 23. Bejar C, Wang RH, Weinstock M. Effect of rivastigmine on scopolamine–induced memory impairment in rats, *Eur J Pharmacol*, 1999 ; 383(3) : 231–40.
 24. Amet LE, Lauri SE, Hienola A, Croll SD, Lu Y, Levorse JM, Prabhakaran B, Taira T, Rauvala H, Vogt TF. Enhanced hippocampal long–term potentiation in mice lacking heparin–binding growth–associated molecule, *Mol Cell Neurosci*, 2001 ; 17(6) : 1014–24.
 25. Callen DJ, Black SE, Gao F, Caldwell CB, Szalai JP. Beyond the hippocampus: MRI volumetry confirms widespread limbic atrophy in AD, *Neurology*, 2001 ; 57(9) : 1669–74.
 26. Huang H, Fan X, Weiner M, Martin–Cook K, Xiao G, Davis J, Devous M, Rosenberg R, Diaz–Arrastia R. Distinctive disruption patterns of white matter tracts in Alzheimer's disease with full diffusion tensor characterization, *Neurobiol Aging*, 2012 ; 33(9) : 2029–45.
 27. Marques Pereira P, Cosquer B, Schimchowitsch S, Cassel JC. Hebb–Williams performance and scopolamine challenge in rats with partial immunotoxic hippocampal cholinergic deafferentation, *Brain Res Bull*, 2005 ; 64(5) : 381–94.
 28. Kim JH, Choo HN, Park EH, Jeong JK, Kim KO, Kim JS. Effects of *Gastrodia elata* extracts on scopolamine–induced memory impairment in rats, *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 2013 ; 42(4) : 595–9.
 29. Pike CJ, Cummings BJ, Monzavi R, Cotman CW. β –Amyloid–induced changes in cultured astrocytes parallel reactive astrogliosis associated with senile plaques in Alzheimer's disease, *Neuroscience*, 1994 ; 63(2) : 517–31.
 30. Choi YS, Lee EM, Son YW, Lee KC, Shin YI, Song MS, Choi YJ, Choi KC, Kang HW, Lim CY, Rhu TY, Park SH, Park ST. Cytotoxicity of hydrogen peroxide and effects of *Rhizoma Gastrodiae* against hydrogen peroxide in mouse cerebral neurons, *Korean J Orient Physiol Pathol*, 2002 ; 16(5) : 928–31.
 31. Lee SR, Kang HW, Kim ST, Lyu YS. The effects of anti–Alzheimer in pCT105–induced neuroblastoma cell lines by Radix Polygalae and Rhizoma Acori Graminei mixture extract, *Korean J Orient Physiol Pathol*, 2003 ; 17(4) : 1037–49.
 32. Cummings BJ, Pike CJ, Shankle R, Cotman CW. β –amyloid deposition and other measures of neuropathology predict cognitive status in Alzheimer's disease, *Neurobiol Aging*, 1996 ; 17(6) : 921–33.
 33. Kuo H, Ingram DK, Walker LC, Tian M, Hengemihle JM, Jucker M. Similarities in the age–related hippocampal deposition of periodic acid–schiff–positive granules in the senescence–accelerated mouse (SAMP8) and C57BL/6 mouse strains, *Neuroscience*, 1996 ; 74(3) : 733–40.
 34. Ye X, Meeker HC, Kozlowski P, Carp RI. The occurrence of vacuolation, and periodic acid–Schiff (PAS)–positive granules and plaques in the brains of C57BL/6J, AKR, senescence–prone (SAMP8) and senescence–resistant (SAMR1) mice infected with various scrapie strains, *Brain Res*, 2004 ; 995(2) : 158–66.
 35. Park YC, Lee SD, Lee IS. Pharmacological effects and toxicity of Licorice, *J Toxicol Pub Health*, 2002 ; 18(3) : 301–9.