

加味神仙不老丹이 ibotenic acid 손상에 의해 유도된 치매 백서의 학습 및 기억장애에 미치는 영향

엄현섭*

동의대학교 한의과대학, 한방바이오연구센터

Effects of Gamisinsunbulo-dan on Learning and Memory Function in the Dementia Rat by Ibotenic acid Damage

Hyun Sup Eom*

Department of Oriental Medicine, Biomedical Research Center of Oriental Medicine, Donggeui University

This research was done to make the effective prescription and cope with various senile dementia. Sprague-Dawley rats were injured by ibotenic acid to make a damage on learning and memory functions of model rats. At first acquisition test and retention test were done in the Morris water maze. And to evaluate the effects of the sample drug(GSD) on choline acetyltransferase and acetylcholine esterase, immunoreactive measurement and enzymatic activity measuring were carried out. The ibotenic acid were injected to hippocampus CA1 and CA3 area. Conclusion : GSD improved the learning ability in the acquisition test and memory function in the retention test significantly. And GSD increased the level of ChAT which is synthesizing acetylcholine in CA1 area, and at the same time it increased the level of AChE which is resolving acetylcholine. These results show that GSD improved the cholinergic catabolism and anabolism, and the increment of metabolic activity of cholinergic system. In other words, it contributes to the recovery of damaged learning and memory function by Ibotenic acid. So it can be concluded that GSD will be helpful to cholinergic brain damage induced by primary or senile reduction of acetylcholine secretive activity.

Key words : Gamisinsunbulo-dan(加味神仙不老丹), dementia, learning, memory, choline acetyltransferase

서론

생활 수준의 향상과 의료 기술의 발달 등으로 평균연령이 상승하고 전체 인구에서 노인이 차지하는 비중이 현재 약 6.5%에 이르고 있으며 앞으로 2010년경에는 약 10%정도로 예상되고 있으며 노령 인구의 증가로 인하여 노인성 치매 환자의 증가를 초래하고 있다¹⁾. 따라서 이를 위한 범사회적이고 국가적인 해결을 필요로 하고 있으며, 치매의 근본적인 원인 규명 및 해결책을 위한 집중적이고도 지속적인 학술연구의 필요성이 절실히 요청되고 있다²⁾. 치매는 뇌의 질환으로 인해 생기는 하나의 증후군으로 대개 만성적이고 진행성으로 나타나며, 기억력, 사고력, 지남력, 이해력, 계산능력, 학습능력, 언어 및 판단력 등을 포함하는 뇌기능의 다발성 장애로 인해 점진적인 기억력장애 및 다른 지

적 능력의 상실로 통상적인 사회생활, 직업적 업무수행, 또는 대인관계 등을 적절히 유지할 수가 없는 상태가 되는 것이라 할 수 있다³⁾. 한의학에서 치매는 명대 <景岳全書>에서 최초로 기록이 나오며, 그 이전의 유사한 기록으로는 <素問·本神> 편에서 “善忘其前言”이라하여 치매에 관련된 최초의 언급이 되어 있다. 치매의 원인은 痰飲, 痰火, 瘀血, 七情傷, 心腎不交, 肝腎不足 등으로 볼 수 있고, 치법으로는 消痰開鬱, 活血行氣, 慈補肝腎, 健脾益氣 등이 제시되어 있다. 치매에 대한 한의학적 연구로 七福飲⁴⁾, 調胃升清湯⁵⁾, 溫膽湯⁶⁾, 定志丸⁷⁾, 蓼茸地黃湯⁸⁾, 蘇合香元⁹⁾, 香附子八物湯¹⁰⁾, 麝香蘇合元¹¹⁾, 加減補陽還五湯¹²⁾ 등의 약제를 이용한 유효성 실험이 보고되고 있다. 그러나 加味神仙不老丹을 이용한 연구 결과는 아직 보이지 않고 있다. 이 처방은 송나라 陳直이 <壽親養老>에서 처음 기재된 것으로 <濟陽綱目>에서는 駐謔烏髭髮 大能溫養 營衛 補益五臟 和調六腑 滋充百脈 潤澤三焦 活血助氣 添精實髓한다고 하였으며¹³⁾ 「東醫寶鑑」¹⁴⁾하로문에는 壽親養老한다고 하였고, <韓方臨床四十年>¹⁵⁾에서는 養老

* 교신저자 : 엄현섭, 부산광역시 진구 양정동 45-1, 동의대학교 한의과대학
E-mail : hseom@donggeui.ac.kr, Tel : 051-850-8644

· 접수 : 2002/08/10 · 수정 : 2002/09/17 · 채택 : 2002/11/25

의 方으로 늙지 않는 仙藥이며 오래 服用하면 老益壯한다고 하여 치매에 활용이 가능하다고 적고 있다. 따라서 이 처방에 필요한 약제를 가감하여 치매를 다스리는 처방에 접근하게 하여 치매 환자에게 발생할 수 있는 증상의 효능을 실험적으로 검증하고자 하였다. 따라서 치매 환자와 관계가 깊은 증상들의 일부인 기억과 인지학습능력의 회복능력에 미치는 영향을 중심으로 하여 살펴보고자 하여 ibotenic acid로 rat의 신경세포를 손상시킨 후, Morris water maze를 사용하여 공간 학습 및 기억능력을 측정하고, AChE와 ChAT의 변화양상을 관찰하여, 유의한 실험결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 動物 및 藥材

250~300g의 Sprague Dawley(SD)系 雄性白鼠를 대한바이오텍에서 供給받아 使用하였다. 動物은 實驗室 環境(溫度 22±1℃, 濕度 50±5%)에 2週日間 適應시킨 후 健康한 白鼠만을 實驗에 使用하였다. 식이는 固形飼料(三養社, Korea)와 精製水를 자유로이 攝取하게 하였다. 實驗에 使用된 藥材는 광명제약(주)에서 購入한 규격 한약품을 精選하여 使用하였으며 加味神仙不老丹은 「濟陽綱目」에 나오는 것을 기본으로 하여 가감하여 사용하였으며 처방내용과 용량은 다음과 같다.

Table 1. Prescription of Sinsunbullo-dan(SBD)

한약명	생약명	용량(g)
인삼	Ginseng Radix	4.0
당귀	Radix Angelicae Gigantis	4.0
숙지황	Rehmanniae Radix Preparat	4.0
토사자	Cuscutae Semen	4.0
두충	Cortex Eucommiae	3.0
우슬	Radix Achyranthis	2.0
파극	Radix Morindae	2.0
석창포	Rhizoma Acori graminei	2.0
구기자	Lycii Fructus	2.0
원지	Radix Polygalae	2.0
지골피	Cortex Lycii Radicis	2.0
백복신	Poria	2.0
Total Amount		33.0

2. 檢液의 調製

加味神仙不老丹 10첩 분량 330g을 3,000ml round flask에 넣고 蒸溜水 2,000ml를 添加하여 水煎하였다. 이 濾過液을 rotary vaccum evaporator를 이용하여 減壓 濃縮하고 이 濃縮液을 -70℃ deep freezer에서 4時間 동안 放置하였다가 24時間 동안 freeze dryer로 凍結乾燥하여 粉末을 얻었으며 이를 적당히 희석하여 實驗에 使用하였다.

3. 머리수술(surgery)

Male Sprague-Dawley rat을 sodium pentobarbital (50mg/kg, 복강주사)로 마취한 후, Koff microinjector가 부착된 stereotaxic frame 에 5μl Hamilton syringe를 올려 Ibotenic acid(Sigma, phosphate-buffered saline에 6μg/6μl로 희석)를

hippocampus의 CA1 부위(coordinate AP=-3.8mm, ML=2.0mm, DV=-3.2mm) 에 5분(0.2l/min)동안 1μl를 주입하여 hippocampus CA1 부위의 신경세포 손상(lesion)이 유발시켰다. 2 ~ 3일의 회복기간 후 신선티로단(100mg/kg, 100mg/ml)를 총 28일간 1일 1회 경구투여 했다. 29일째 Morris 수중미로(Water maze)에 의한 공간 학습 및 기억력 측정을 시작했다. Water maze 훈련을 시행하는 7일간에도 시행 30분 전 加味神仙不老丹을 경구투여 했다. Acetylcholinesterase(AchE)와 choline acetyltransferase(ChAT)의 activity 측정부위는 CA1-3인데 hippocampus CA3 부위의 coordinate는 AP=-5.3mm, ML=±5.0mm, DV=-6.0mm이다.

4. 공간 학습과 기억력 측정 및 평가

Morris 수중미로에 의한 공간 학습 및 기억력 측정을 하기 위해 수중미로로 이용되는 수조(pool)는 직경이 1.8m~2m인 원형수조(circular pool)이며, 온도가 27±2℃ 되는 물로 약 30cm 깊이로 채운 후 무독성 흰물감으로 물의 색을 흐리게 했다. 수조는 4개의 동일한 사분원으로 나누어 북동(NE), 북서(NW), 남동(SE), 남서(SW)로 구분하여 사분원의 중심부에 도피대(escape platform)가 수면보다 1~ 1.5cm 낮게 놓고서, 4개의 동일한 사분원의 각점이 각 시행의 출발점이 되도록 하였다. 수중미로 주변은 4개의 다른 모형을 이용하여 외부단서(extramaze cues)를 벽에 부착하고 주위 환경을 동일하게 유지했다. 실험 동물은 총 7일간 훈련을 하였으며 먼저 획득 시험(acquisition test)은 6일간 하루에 4행(four trial) 훈련되고 이때 180초 동안 출발에서부터 도피대(escape platform)에 올라가는데 걸린 시간(latency)과 거리(path length)를 측정했다. 획득 시험(acquisition test) 실시 후 기억 시험(Retention test)을 7 일째 자유 수영 검사로 시행하며 이때 실험 동물들은 도피대(escape platform)를 치우고 90초 동안 도피대의 2배 직경 안에서 머무는 시간(latency)과 거리(path length)를 측정하여 기억 시험으로 평가했다.

5. ChAT Immunohistochemistry

모든 행동 실험이 끝난 직후 실험동물을 sodium pentobarbital (100 mg/kg, i.p.)로 마취시키고 saline 100 ml에 이어 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 용액 (fixative) 900 ml 로 심장을 통해 관류하였다. 처음 고정액 200 ml은 5 분간 빠른 유속으로, 그리고 나머지700 ml 은 25 분간에 걸쳐 천천히 관류하였다. 그 다음 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2~3 시간동안 고정시키고 20% sucrose가 함유된 phosphate buffered saline (PBS)에 넣어 4℃ 에서 하루동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌 조직을 배측(dorsal)과 복측(ventral)의 해마부위에서 30um의 두께로 잘랐다. 2.5ml의 0.1M Na citrate용액과 5.0ml의 0.03M cupric sulfate (CuSO4)용액,5.0ml의 0.005M potassium fericyanide (K3Fe(CN)6)용액, 32.5ml의 0.2M acetate buffer(pH 5.7)용액, 25ml acetylthiocholine iodide 용액을 섞어 50ml의 반응액을 만들었다. 반응액이 담긴 6-wall plate에 뇌조직 절편을 넣어 24시간을 발현시킨 후 뇌조직을 꺼내어 gelatine-coated

slide에 고정하고 공기를 제거하면서 커버글라스를 덮은 후 현미경으로 관찰하였다. 200 x 200 μm 크기의 microscope 4각 격자를 사용하여 200배로 확대하여 AChE 밀도(density)를 세심하게 측정하였다.

6. Acetylcholine esterase의 Activity 측정

모든 시험 처치가 끝난 후 sodium pentobarbital(100mg/kg, 복강주사)로 실험 동물을 마취한 상태에서 0.9% 생리 식염수(100ml)와 4% formaline-인신완충액(500ml)을 심장을 경유하여 관류했다. 뇌를 적출하여 4% formaline-인신완충액(고정액)에 2~3시간 담구어 둔 후 20% sucrose를 함유한 인산 완충액에 담고 4°C에서 12시간 저장했다. 다음날 뇌를 급속히 냉동한 후 microtome을 이용하여 30 μm 의 절편을 제작한 다음 몇 개의 절편은 Cresyl Violet 염색을 거쳐 위치와 손상부위를 microscope로 확인했다. 먼저 20ml 0.2M PBST에 10 μl 의 Acetylcholine과 2% normal goat serum(NGS 400 μl) 8 drop과 0.15% sodium azid(Sigma, St.Louis, MO, 20mg)을 넣어 primary antibody용액을 만들었다. 뇌조직 절편을 24-well plate에 각각 담고 primary antibody용액을 500 μl 정도 넣어 4°C cold chamber에서 73시간 incubating하였다. 20ml 0.2M PBST에 1% goat blacking serum 4 drop과 biotinylated anti-rabbit made in goat(200:1)을 넣어 secondary antibody용액을 만들었다. primary antibody시킨 뇌조직을 PBST에 3회 씻어 낸 후 secondary antibody 용액을 500 μl 정도 넣어 상온에서 2시간 Incubating하였다. 20ml 0.2M PBST에 ABC kit의 A 8 drop과 B 8 drop을 넣어 ABC 용액을 만들고 secondary antibody 시킨 뇌조직을 PBS에 3회 씻고 ABC 용액에 넣어 상온에서 2시간 incubating하였다. 마지막으로 200 μl Nicl(nickel chloride 8%, 80mg/ml H₂O)와 67ml hydrogen peroxide(3%, 30% H₂O₂에190 μl)와 20ml0.1M Tris (1.55g Trimza/100ml H₂O, pH=7.2)를 10mg DAB(Diaminobenzidene)에 넣어 DAB 용액을 만든 다음 뇌조직을 PBS에 3회 씻고 DAB 용액에 2분간 담구었다가 꺼내 coverglass에 올려 microscope 아래에서 AChE 밀도(density)를 세심하게 측정했다.

7. 통계처리

행동실험 결과는 반복적인 ANOVA test를 실시하고, Excel program을 이용하여 Mean \pm SE를 구하였으며, 유의성 검정은 LSD test에 의하였고, 유의수준은 p<0.05로 하였다.

실험결과

1. GSD 약물투여군에 대한 Morris 수중미로의 획득검사결과

각 군의 수중 미로 학습에 의한 도파대에 도달하기까지의 시간변화는 Table1.의 acquisition test과 같다. 6일동안 180초내 도파대에 도달하기까지의 시간을 측정하는 획득시행에서 정상군(무시술군), 모의시술군, ibotenic acid손상군, ibotenic acid손상+GSD투여군의 집단간 차이가 있었으며 학습이 진행됨에 따라 도파대에 도달하는데 소요되는 시간이 집단간 차이를 보였다. 이에 측정일

에 따른 집단별 사후검정(LSD) 결과, 제1일째부터 모의시술군에 비해 ibotenic acid손상군의 학습능력이 현저히 저하되었다(p<0.05). 이에 비해, GSD 투여군에서는 학습수행에 유의한 증진효과가 관찰되었는데, ibotenic acid손상군에 비해 1일째부터(p<0.05)에 학습수행에 유의한 증진효과가 나타났으며 획득시행동안 도파대에 도달하는 시간이 감소하는 경향이 관찰되었다 (p<0.05).

Table 2. Effect of GSD on the acquisition test and the retention test of water maze task

Group	acquisition test					retention test	
	1day	2day	3day	4day	5day	6day	7day
normal	78.1 \pm 11.87 ^a	76.9 \pm 8.93	31.60 \pm 5.62	40.6 \pm 4.29	21.8 \pm 2.18	16.8 \pm 3.89	11.9 \pm 2.02
sham	108.9 \pm 12.76	94.3 \pm 11.94	29.5 \pm 7.89	19.4 \pm 4.68	22.8 \pm 4.48	20.2 \pm 3.54	10.9 \pm 1.07
lesion	150.1 \pm 13.21	120.8 \pm 13.35	101.5 \pm 16.39	52.3 \pm 5.55	37.6 \pm 7.97	35.4 \pm 6.68	6.0 \pm 0.61
GSD	117.9 \pm 7.87	95.9 \pm 15.42	61.3 \pm 17.43	45.0 \pm 6.29	13.1 \pm 9.05	10.6 \pm 11.11	13.4 \pm 1.76

Comparison of acquisition performance on the Morris water maze task among the four groups of the rats. Mean swimming time traveled per trial. Mean values of the four trials per day for 6 days for each of the four groups are shown. Comparison of retention performance on the Morris water maze task among the four groups of the rats. Means time spent in annulus(twice the size of platform). Repeated measures of ANOVA of swimming time between the sham and ibotenic acid lesion group. a : Mean \pm Standard Error

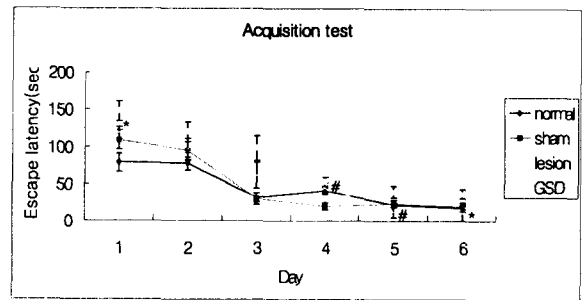


Fig. 1. Acquisition of the water escape task in a circular pool by normal rats, sham-operated rats, rats after bilateral injections of 6 μg ibotenic acid into the hippocampus(CA1) and GSD treated rats. Session means and standard errors of the means(S.E.M) of the latency to escape onto a submerged platform. Data were analyzed by repeated ANOVA and followed by LSD test. #, p<0.05 vs sham group *, p<0.05 vs lesion group

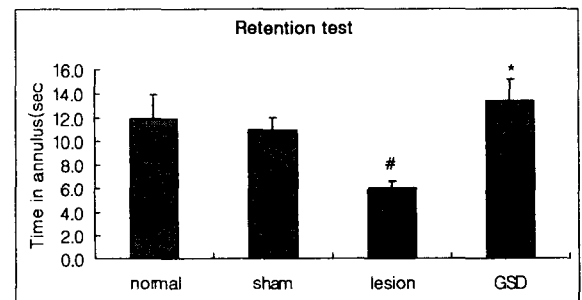


Fig. 2. Effect of normal, sham surgery, bilateral hippocampal lesions, herbal medicine on the performance of rats in the spatial morris water escape task during the probe trial. The lesions were induce ibotenic acid. Means and standard errors of the means (S.E.M) of the time spent in annulus(twice the size of platform). Data were analyzed by repeated ANOVA and followed by LSD test. #, p<0.05 vs sham group *, p<0.05 vs lesion group

2. GSD 약물 투여군에 대한 Morris 수중미로의 파지검사결과
각 군의 수중 미로 학습에서 파지시행에 의한 도파대에 머

무르는 시간은 Table 2.의 retention test과 같다. 마지막 날인 제 7일째에 도피대를 제거하고 도피대 영역에 머무르는 정도를 측정하는 파지시행에서 정상군(무시술군), 모의시술군, ibotenic acid 손상군, ibotenic acid손상+GSD투여군간 도피대에 머무르는 정도의 유의한 차이가 나타났으며 ibotenic acid손상+GSD투여군에서 ibotenic acid손상군에 비해 학습수행에 증진효과를 보였다 ($p<0.05$).

3. Hippocampus에서 ChAT 발현

해마의 CA1부위와 CA3부위에서 학습의 지표로 이용되는 ChAT를 이용하여 acetylcholine성 신경세포를 염색한 결과는 Table 3.와 같다. 모의시술군, ibotenic acid 손상군, ibotenic acid 손상+GSD투여군의 집단간의 차이가 나타났으며, 사후검정(LSD) 결과 모의시술군에 비해 ibotenic acid손상군에서 ChAT-성 신경세포가 유의하게 감소했고($p<0.05$), CA1부위에서 GSD 투여군이 ibotenic acid손상군에 비하여 ChAT 발현이 유의하게 증가하였고, CA3부위에서 ibotenic acid손상+GSD 투여군이 ibotenic acid손상군에 비하여 ChAT 발현이 증가하는 경향이 관찰되었다($p<0.05$).

Table 3. ChAT activity and AchE activity of hippocampus

Experimental group	ChAT		AchE	
	CA1	CA3	CA1	CA3
sham	22.72±0.98 ^a	23.16±0.41	126.11±2.94	122.5±3.59
lesion	19.94±0.94	18.77±1.21	114.94±1.99	116.22±2.41
GSD	22.42±0.80	20.17±1.67	122.5±1.51	122.33±2.24

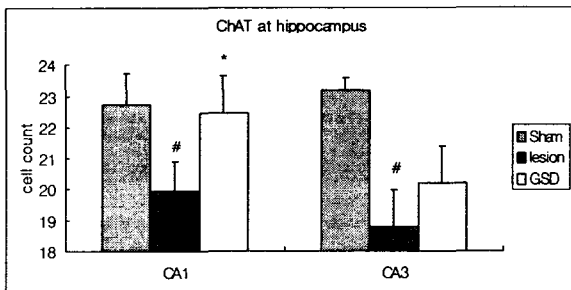


Fig. 3. The mean(±SEM) values of quantities of choline acetyltransferase (ChAT) immunostained nuclei in the hippocampus (CA3) of the experimental groups after water maze learning task 7 days post-operatively. The ChAT results were analysed by performing separate one way ANOVA of neurons among the groups followed by post hoc comparisons using the least significant difference(LSD). #, $p<0.05$ as compared with the corresponding data of sham group. *, $p<0.05$ as compared with the corresponding data of ibotenic acid lesion group.

4. Hippocampus에서 AchE 발현

해마의 CA1부위와 CA3에서 AchE 발현의 결과는 Table 3.와 같다. 모의시술군, ibotenic acid손상군, ibotenic acid손상+GSD투여군의 그룹간 사후검정(LSD) 결과 ibotenic acid손상군은 모의시술군에 비해 AchE 발현의 차이는 유의하게 나타났고(각 $p<0.05$), ibotenic acid손상+GSD투여군이 ibotenic acid손상군에 대한 유의성이 나타났으며, CA1과 CA3부위에서 AchE 발현은 GSD투여군이 ibotenic acid손상군에 비하여 AchE발현이 유의하게 증가하였다.

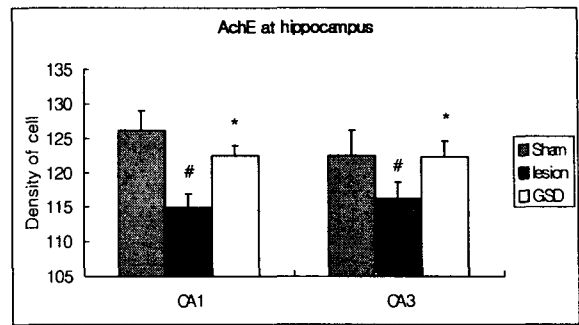


Fig. 4. The percentage(±SEM) of sham values of density of acetylcholine esterase (AchE) stained nuclei in the different hippocampal formation areas of the experimental groups after water maze learning task 7 days post-operatively. The AchE results were analysed by performing separate one way ANOVA of neurons among the groups followed by post hoc comparisons using the least significant difference(LSD). #, $p<0.05$ as compared with the corresponding data of sham group. *, $p<0.05$ as compared with the corresponding data of ibotenic acid lesion group.

고찰

사람이 나이가 들어 노년기에 들어가서 고도의 지능 장애를 일으키는 경우를 한국에서는 노망이라 부르며 이를 의학적으로 치매라 한다. 세계 각국은 65세 이상의 노년인구가 급증하고 있으며 따라서 치매환자도 급증하고 있는 추세다. 이 노인성 치매는 65세 이상인 노인이 전체 환자의 10%를 차지하며 80세이상에서는 발병의 30%를 차지하고 있다고 한다⁶⁾. 노인이 되면 자연 현상으로 정신력 능력과 지적 기능이 저하되는 노화(aging)와 뇌의 기능 장애로 나타나는 정신적 능력이 저하하여 발생하는 치매를 구별하기 어려운 점이 많다. 이 중에 치매는 다른 사람의 도움 없이 일상생활을 하지 못하는 경우다. 치매(痴呆: dementia)는 라틴어의 demens에서 나온 말로 mens(정신)을 de(제거)한다에 tia(병)가 결합된 용어로 정신이 제거된 질병이란 뜻을 가진다. 치매에는 보통 두 가지로 구분하는데 하나는 알츠하이머성 치매이고 다른 하나는 뇌혈관성 치매이다. 알츠하이머성 치매는 알츠하이머병이라 부르며 1906년 독일의 정신과의사인 알로이스 알츠하이머의 이름을 본따서 붙인 이름이다. 그리고 치매 상태를 일으키는 질병에 따라 원발성 치매와 증후성 치매로 구별하기도 한다. 원발성 치매는 알츠하이머병으로 이 밖에 픽크병, 크로이츠펠트-야콥병, 헌팅톤병, 파킨슨병, 진행성 핵상마비, 척수소뇌 변성증 등이 있다. 이중에 픽크병과 야콥병은 치매의 중요한 증상이고 다른 질병은 운동장애와 같은 다른 증상 중심이며 치매는 부수적이거나 질병 후기에 나타난다. 증후성 치매는 뇌혈관성 치매 대사장애, 영양장애, 중금속 중독, 약제중독, 수두증, 뇌종양, 두부외상, 감염증 등에서 여러 가지 원인에 수반되어 오는 치매를 말한다. 이 중에 우리나라는 알츠하이머성 치매보다는 뇌혈관성 치매가 더 많은 발생을 나타내고 있다. 한의학에서 痴呆의 명칭에 관한 기록은 경약전서에 처음인 것으로 보인다. <內經·靈樞·癲狂>에서는 癲疾이라 하여 비교적 자세히 다루었으며, 혹은 癲病(<素問·長刺節論>)이라고도 하였다. 또한 증후성으로는 善忘이나 心實, 虛勞증의 心衰와 肺氣衰<靈樞·千年>등의 범주에서도 다루어졌다. 痴呆라는 병명이 정식으로 쓰이게 된 시기

는 明代 이후인데 張景岳¹⁷⁾의 <景岳全書·雜證謨·癲狂痴狀>에서 "痴狀證, 凡平素無痰, 而或以鬱結, 或以不遂, 或以思慮, 或以疑惑, 或以驚恐, 而漸致痴狀, 言辭顛倒, 舉動不經, 或多汗, 或善愁, 其證則千奇萬怪, 無所不至, 脈必或弦或數, 或大或小, 變易不常"이라 하여 치매의 주요 증상과 辨證, 治法에 대하여 매우 근사하게 설명하고 癲癩과도 구분하였다. 다만 여기서 𪔑는 呆와 同字이므로 痴呆와 같은 病名으로 볼 수 있다. 그리고 清初의 陳士鏗¹⁸⁾은 <石室秘錄·呆病>에서 "呆病, 如癲而默默不言, 如飢而悠悠如失也. 意欲癲而不能, 心欲狂而不敢, 有時數日不省, 有時坐數日不眠, 有時將己身衣服密密縫完, 有時將他人物件深深藏掩, 與人言而神遊, 背人言則低聲而泣訴, 與之食則厭薄而不吞, 不與食則吞炭而若快, 此等證, 雖有崇憲之, 實亦胸腹之中, 無非痰氣, 故治呆無奇法, 治痰即治呆也. 而痰氣最盛, 呆氣最甚"이라 하여 癲癩과 구분하고 증상도 매우 상세하게 기술하였다. 痴呆의 원인에 대해서는 張景岳이 주로 鬱結과 思慮, 驚恐 등의 情志傷의 요인을 언급한 반면 陳士鏗은 痰氣라고 주장하여 相異한데 王清任¹⁹⁾은 <醫林改錯>에서 "所以小兒無記性者, 腦髓未滿, 老年無記性者, 腦髓漸空"이라 하여 小兒 및 老年의 고등정신기능이 손상되는 원인은 腦髓의 문제임을 揭示하였다. 이 외에 善忘과 虛勞 등의 範疇를 종합하여 痴呆의 원인에 대한 學說을 정리하면 髓海不足, 肝腎不足, 脾腎兩虛, 痰濁阻竅, 氣滯血瘀, 心腎不交, 心肝火旺, 心氣不足²⁰⁾ 등으로 세분할 수 있다²¹⁾²²⁾. 이러한 이론에 근거하여 한의학적인 연구로 七福飲²³⁾, 調胃升清湯²⁴⁾, 溫膽湯²⁵⁾, 定志丸²⁶⁾, 參茸地黃湯²⁷⁾, 蘇合香元²⁸⁾, 香附子八物湯²⁹⁾, 麝香蘇合元³⁰⁾, 加減補陽還五湯³¹⁾ 등의 처방을 이용하여 치매에 대한 실험을 통하여 유의함을 발표한 적이 있다. 그러나 아직 신전불로단을 이용하여 아래와 같은 연구가 발표된 적이 없으며 加味神仙不老丹을 이용하여 임상에서 효능이 있었다는 얘기가 있어 이를 실증하고자 하였다.

神仙不老丸은 송나라 陳直이 <壽親養老>라는 책에서 처음 기재한 것을 元나라의 鄒鉉澤이 증보하여 1307년에 발간한 것에서 처음 나타나고 있다. 그것을 1626년에 명나라 武之望이 撰한 <濟陽綱目>³²⁾의 虛損論:治左腎真陰不足方에 다시 등재하여 유효한 약제로 적고 있으며 安養榮衛, 補益五臟, 調和六腑, 滋充百脈, 潤澤三焦, 活水助氣, 添精實髓한다고 하였고 이름을 신전불로단으로 표시하였으며, <韓方臨床四十年>³³⁾에는 神仙不老丹은 養老의 方으로 늙지 않는 仙藥이며 오래 服用하면 老益壯한다고 하면서 치매의 치료에 활용하라고 적고 있다. 그리고 <東醫寶鑑>³⁴⁾에는 神仙不老丸으로 표시를 하면서 虛勞를 치료하는 대표적인 처방으로 기술하고 있다. 따라서 神仙不老丸이나 神仙不老丹은 그 약의 마지막 가공에 따라 이름을 달리 한 것으로 저자는 이를 중심으로 가감을 하여 加味神仙不老丹으로 이름하였다. 加味神仙不老丹 처방은 <壽親養老>의 神仙不老丸에 生地黃과 柏子仁을 去하고 대신에 白茯神과 遠志를 가한 것으로, 生地黃은 陽虛者에게 피하고, 柏子仁은 痰이 많은 사람에게 주의를 하는 관계로 이를 去하고 대신 祛痰利竅 安神益智하는 遠志와 寧心安神 利水하는 白茯神을 加함으로 보다 津液代謝를 촉진함으로써 도움을 주고자 하였다. 다시 처방을 구성하는 약물의 효능을 살펴보면 인삼은 大補元氣 補脾益氣 生津 寧神益智하는 효능이,

파극은 補腎壯陽 強筋骨하는 효능이, 두충은 補肝腎 壯筋骨 安胎하는 효능이, 토사자는 補肝腎 益精髓하는 효능이, 당귀는 和血 補血 調經止痛 潤腸通便하는 효능이, 숙지황은 補血 滋陰하는 효능이, 구기자는 滋補肝腎 益精明目하는 효능이, 석창포는 開竅安神 化痰濕 和中辟濁하는 효능이, 원지는 祛痰利竅 安神益智하는 효능이, 백복신은 寧心安神 利水하는 효능이, 지골피는 清熱 涼血 清肺熱 退骨蒸勞熱하는 효능이, 우슬은 活血化痰 通利關節하는 효능이 있는 것으로 알려져 있다³⁵⁾. 즉 補陽을 위주로 하는 인삼, 파극, 두충, 토사자, 補血을 위주로 하는 당귀, 숙지황, 구기자, 安神을 위주로 하는 석창포, 원지, 백복신, 清熱을 위주로 하는 지골피와 活血祛瘀를 주로 하는 우슬 등으로 구성되어 처방의 활용에서 기혈을 보하면서 안신을 하고 더불어 청열이나 활혈화어를 하는 약물들로 인하여 치매를 유발할 노화를 예방하면서 치매를 치료할 수 있는 형태로 보았고 따라서 이를 실험적으로 입증함으로써 치매 치료에 보다 유익한 활용에 도움이 될 것으로 생각한다. 이에 加味神仙不老丹이 학습 및 기억에 미치는 영향을 알아보기로 하였으며 따라서 이것을 이용하여 치매를 다스리는데 도움이 될 것으로 생각되어 이를 실험적으로 입증하여 보고자 하여 일반적으로 사용되고 있는 Tacrine이나 Aricept가 cholinergic activity에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으므로 실험방법은 ChAT와 AChE 변화에 주안점을 두었다. 병증모델은 glutamatergic neurotransmission을 파괴하는 한편 basal forebrain에서 cholinergic neuron의 고갈(depletion)을 일으키기도 하는³⁶⁾ ibotenic acid를 뇌의 해마영역(CA1-3)에 주입하여 신경세포를 손상시켰다. 加味神仙不老丹의 효과를 확인하기 위한 첫 번째 획득시험에서 ibotenate에 의해 손상된 대조군은 정상군 및 sham수술군보다 학습능력이 현저히 감소되어 병증모델이 정상적으로 유발되었음을 알 수 있다. 또한 加味神仙不老丹을 투여한 군에서 1일째부터 줄곧 유의하게 학습능력을 향상시킨다는 것을 알 수 있다. 또한 7일째 실시한 기억시험(retention)에서도 통계적으로 유의한 효과를 보임으로써 기억능력의 개선이 일시적인 것이 아니라 장시간 유지될 수 있음을 입증하였다. 한편 이러한 학습 및 기억능력의 개선이 ibotenate에 의해 손상된 cholinergic neuron의 화학적 활성화에 기여한 정도를 평가하기 위해 ChAT를 측정하였는데 여기에서도 加味神仙不老丹군은 CA3영역에서 유의하게 증가하였다. 그렇지만 CA1 구역에서는 증가의 경향성만 나타났고 유의성은 인정되지 않았는데 어쨌든 이로써 Ach의 합성을 증가시켰을 것으로 추정된다. 그리고 AChE에 대한 실험에서는 加味神仙不老丹 투여군은 분해효소가 증가하기는 했지만, 통계적으로 유의성은 없었다. 이렇게 볼 때 본 실험에 사용된 加味神仙不老丹은 ibotenic acid으로 손상된 cholinergic damage에 대하여 유의성있게 개선시켰으므로 hippocampus에서 cortex에 이르는 콜린성 뉴런의 고갈을 억제하고 Ach의 대사활성을 높임으로써 학습능력과 기억능력을 향상시킨 것으로 볼 수 있다. 이러한 결과를 바탕으로 加味神仙不老丹은 효과적인 기억손상 및 치매성 증후개선제로 활용될 수 있을 것이다. 다만 보다 구체적인 적용 범위와 기전을 확정하기 위해서는 glutamate, serotonin, GABA

등에 대한 광범위한 영향 및 neurohormone, hormonal interaction 등과 genetic control 등에 대한 폭넓은 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

Ibotenic acid에 의해 유도된 치매백서에 대해 加味神仙不老丹의 학습 및 기억장애에 미치는 영향을 알아보기 위한 연구에서 다음과 같은 결론을 얻었다. 加味神仙不老丹은 ibotenic acid에 의해 유도된 치매백서의 획득시험에서 학습수행의 유의한 증진효과가 관찰되었고, 파지시험에서 기억능력의 유의한 향상이 관찰되었다. 또한 Ach를 합성하는 ChAT를 CA1에서 유의성있게 증가시킴으로써 cholinergic system의 활성을 향상시켰으나, CA3에서는 유의성은 없었다. Ach를 분해하는 AChE를 CA1, CA3에서 유의성 있게 증가시켰다. 따라서 加味神仙不老丹은 cholinergic damage에 의한 학습 및 기억능력을 향상시키는데 기여하였으므로 향후 노화나 원발성, 증후성으로 형성된 대사활성 감소로 인한 콜린작용성 뇌질환에 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 동의대학교 학술연구비 일반연구과제 지원사업에 의해 이루어진 것임. 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 김승업, 치매 알츠하이머병, 서울, 삼과꿈, P.175, 1997.
2. 대한신경정신과학회, 치매-일찍 알고 밝게 살자, 서울, 조선일보사, P.5, 2002.
3. 郭隆燦 : 圖解腦神經外科學, 서울, 第一醫學社, pp.27~31, 1992.
4. 손정석, 류영수, 七福飲이 老化 白鼠 腦組織의 生化學的 變化에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(2):25~38, 1997.
5. 우주영 외, 調胃升清湯이 흰쥐의 방사형미로 학습과 기억에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(1): 69~80, 1997.
6. 鄭仁哲, 李相龍, 溫膽湯이 腦組織이 酸化作用에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(2):51~62, 1997.
7. 崔龍垓, 成彊慶, 文炳淳. 定志丸이 腦組織의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 實驗的 研究, 大韓韓醫學會誌, 19(1):392~409 1998.
8. 金保岡, 李相龍. 蓼苳地黃湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 9(1):59~72, 1998.
9. 흥대성, 김종우, 황의완. 麝香蘇合元이 情緒反應性과 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 學習에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 10(1)17~38, 1999.
10. 유재면 외, 香附子八物湯이 흰쥐의 방사형 迷路學習과 記憶에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 9(2):1~24, 1998.

11. 이조희 외, 麝香蘇合元이 흰쥐의 방사형 미로 학습과 기억에 미치는 영향, 동의신경정신과학회지, 9(2):37~44, 1998.
12. 文誠秀·李相龍 : 加減補陽還五湯이 생쥐의 學習과 記憶의 減退 및 Acetylcholinesterase의 抑制에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지 11(1):19~36, 2000.
13. 武之望, 武之望醫學全書, 北京, 中國醫藥出版社, p.900, 1999.
14. 허준, 동의보감, 서울, 남산당, p.451, 1991.
15. 朴炳昆, 漢方臨床四十年, 서울, 대광출판사, p.307, 1979.
16. 김승업 알츠하이머병 서울, 삼과꿈, p.133, 1997.
17. 張介賓, 景岳全書(上), 上海科學技術出版社, 上海, p. 576, 1959.
18. 陳士鐸, 石室秘錄(下), 서울, 서원당, pp. 316-7, 1984.
19. 王清任, 醫林改錯, 臺灣國風出版社, 臺北, 民國64年, p. 22.
20. 龔廷賢, 萬病回春, 香港宇宙出版公司, 香港, p. 225, 1988.
21. 黃培新, 劉茂才主編, 神經科專病中醫臨床診治, 人民衛生出版社, 北京, pp. 91-99, 2000.
22. 實用中醫內科學編委會, 實用中醫內科學, 上海科學技術出版社, 上海, pp. 386-7, 1986.
23. 손정석, 류영수, 七福飲이 老化 白鼠 腦組織의 生化學的 變化에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(2):25~38, 1997.
24. 우주영 외, 調胃升清湯이 흰쥐의 방사형미로 학습과 기억에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(1): 69~80, 1997.
25. 鄭仁哲, 李相龍, 溫膽湯이 腦組織이 酸化作用에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(2):51~62, 1997.
26. 崔龍垓, 成彊慶, 文炳淳. 定志丸이 腦組織의 生化學的 變化와 神經細胞의 損傷에 미치는 實驗的 研究, 大韓韓醫學會誌, 19(1):392~409 1998.
27. 金保岡, 李相龍. 蓼苳地黃湯이 腦組織의 酸化作用에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 9(1):59~72, 1998.
28. 흥대성, 김종우, 황의완. 麝香蘇合元이 情緒反應性과 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 學習에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 10(1)17~38, 1999.
29. 유재면 외, 香附子八物湯이 흰쥐의 방사형 迷路學習과 記憶에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 9(2):1~24, 1998.
30. 이조희 외, 麝香蘇合元이 흰쥐의 방사형 미로 학습과 기억에 미치는 영향, 동의신경정신과학회지, 9(2):37~44, 1998.
31. 文誠秀·李相龍 : 加減補陽還五湯이 생쥐의 學習과 記憶의 減退 및 Acetylcholinesterase의 抑制에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지 11(1):19~36, 2000.
32. 武之望, 武之望醫學全書, 中國醫藥出版社, 北京, p.900, 1999.
33. 朴炳昆, 漢方臨床四十年, 서울, 대광문화사, p.307, 2000.
34. 許俊, 東醫寶鑑, 서울, 남산당, p.451, 2000.
35. 辛民教, 臨床本草學, 서울, 영림사, p.166, 198, 219, 221, 244, 302, 370, 372, 374, 468, 1991.
36. Perry T, Haughey NJ, Mattson MP, Egan JM, Greig NH. Protection and reversal of excitotoxic neuronal damage by glucagon-like Peptide-1 and exendin-4. J Pharmacol Exp Ther. Sep;302(3):881-8. [PubMed-in process], 2002.