

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

대전대학교 한의과대학 신경정신과학교실

文誠秀 · 李相龍

I. 緒論

痴呆(Dementia)는 漸進的인 記憶力 障礙가 失語症(aphasia), 失認症(agnosia), 失行症(apraxia) 등의 行動的인 障礙와 함께 나타나 社會 職業的 機能의 障礙를 가져오는 것을 말한다.^{1,2,3)} 이런 痴呆에는 알츠하이머병(Alzheimer's disease: AD), 血管性痴呆(vascular dementia), 中毒性 痴呆 등이 있으며 이 중에서 AD는 50% 이상을 차지하고 있고 女性이 男性에 比해서 2-3배 정도 더 發病하는 것으로 알려져 있다.^{4,5)}

韓醫學에서는 明代 張介賓⁶⁾의 景岳全書에 痴呆와 類似한 '痴狀'라는 病名이 言及된 以後^{7,8)} 清代의 石室秘錄⁹⁾, 辨證奇門全書¹⁰⁾ 등도 痴狀과 呆病의 病因病機와 症候에 關하여 說明하고 있으나, 現代의 意味의 AD와 附合하는 지 確認할 수 없지만 症狀面에서 類似하다. 痴呆의 主要 症狀中의 하나가 記憶力 障礙이므로 韓醫學에서는 痴呆를 呆病이나 健忘에 根據하여 辨證施治하고 있는데 AD는 虛症과 實證으로 나누며, 血管性痴呆는 痰, 瘀血로 나누어 治療하고 있다.^{11,12)}

補陽還五湯은 王¹³⁾의 醫林改錯에 收錄된 處方으로 臨床에서 주로 腦血栓 등의 虛血性 腦血管疾患^{14,15)}이나 中風後遺症^{14,15)} 등에 活用하고 있으며, 腦·心血管系의 研究가 實驗的으로 活發히 進行되고 있다.

最近의 痴呆研究를 살펴보면 老化和 連繫하여 老화를 誘發하는 抗酸化作用에 對한 研究^{16~23)}가 이루어지고 있으며 또한 AD의 또 다른 原因인 아밀로이드 전구단백질과 presenilin 遺傳子의 過多 發顯에 對한 研究^{24~30)}가 이

루어졌으나 補陽還五湯의 記憶과 行動에 關聯된 研究는 接하지 못하였다.

이에 著者は 補陽還五湯에 祛痰開竅 安神益智하는 遠志, 石菖蒲³¹⁾를 加하고 藥物의 用量을 調節한 加減補陽還五湯이 氣血虧虛 腦絡瘀阻型 痴呆의 治療에 活用될 수 있는지를 實驗的으로 立證하고자 PC-12 세포주에서 突然變移 遺傳子發顯을 western blot으로 觀察하였고, Morris water maze를 利用하여 反復學習을 7日間 實施한 후 陽性對照群(tacrine), 加減補陽還五湯投與群으로 分類하여 VIDEOTRACK(animal and human being behaviour analysis system)을 통한 行動을 測定하였고, 加減補陽還五湯을 投與한 흰쥐의 血清中 acetylcholinesterase의 活性을 測定하여 acetylcholinesterase 阻害劑로서의 效能을 觀察한 바 有意한 結果를 얻었으므로 報告하는 바이다.

II. 方法

1. 材料

1) 試藥 및 機器

Cholinesterase kit, scopolamine, Tris-HCl, NaCl, Nonidet P-40, EGTA, PMSF, DTT, leupetin 등은 Sigma社 製品을 使用하였고, anti-human APP N-terminal antibody (22C11, anti-APP, Boehringer Mannheim, Quebec, Canada), anti-human Presenilin-1 (31-46, Ab-1, Oncogen, USA), anti-human Presenilin-2 (303-316, Ab-2, Oncogen USA), anti-mouse Ig HRP-conjugated

secondary Ab (1:4000, Amersham, USA)과 ECL-Hybond film (Amersham, USA), 그 외 試藥들은 特級 및 一級을 使用하였다.

本 研究에 使用된 機器는 spectrophotometer(Shimadzu, Japan), 원심분리기(한일과학), Bio-freezer(Sanyo, Japan), 등의 것을 使用하였다.

2. 動物 및 藥材

1) 動物 및 飼育 條件

本 實驗을 위하여 使用된 ICR 생쥐와 흰쥐(Sprague-Dawley系)는 韓國化學研究所에서 分讓 받아 1週 以上 適應시킨 후 實驗에 使用하였으며 實驗當日까지 固型飼料(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)와 물을 充分히 供給하고 室溫 22±2°C를 繼續 維持하고 2週 日間 實驗室 環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

2) 藥材

本 實驗에 使用한 加減補陽還五湯의 處方構成은 醫林改錯¹³⁾을 基準으로 加減하였으며 使用한 藥劑는 大田大學 校 附屬韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였고, 處方 1貼의 內容과 用量은 다음과 같다.

Prescription of KaKamBoYangHwanOhTang(KBT)

韓藥名	生藥名	用量(g)
黃芪	<i>Astragali Radix</i>	80.0
當歸尾	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	4.0
赤芍藥	<i>Paeoniae Radix</i>	3.0
地龍	<i>Lumbricus</i>	2.0
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	2.0
桃仁	<i>Percicae Semen</i>	2.0
紅花	<i>Carthami Flos</i>	2.0
遠志	<i>Polygalae Radix</i>	4.0
石菖蒲	<i>Acori Graminei Rhizoma</i>	4.0
Total amount		103.0

3) 加減補陽還五湯 抽出物 分離

加減補陽還五湯은 3貼 分量에 各各 蒸溜水 2000ml를 加하여 熱湯 抽出器에서 3時間 抽出하여 얻은 液을 吸入 濾過하여 이를 減壓 蒸溜裝置 (Rotary evaporator, BUCHI B-480, Switzerland)로 濃縮하여, 이를 다시 凍結 乾燥器 (Freeze dryer, EYELA FDU-540, Japan)를 利用하여 完全 乾燥한 加減補陽還五湯을 冷凍 (-84°C) 保管하면서 適當한 濃度로 稀釋하여 使用하였다.

3. 方法

i. PC-12 세포주에서 Amyloid precursor protein (APP), PS-1 그리고 PS-2 發顯

1) 細胞 培養과 藥物處理

PC-12 세포주는 rat adrenal pheochromocytoma (ATCC, CRL1721)로 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)에 10% 말 血清과 5% 우태아 血清, penicillin (100 U/ml), streptomycin (100 µg/ml) 그리고 10 µg/ml의 gentamycin이 含有된 培養液에 95% air/5% CO₂ 인 37°C 培養器에서 培養하였다. 加減補陽還五湯 抽出物은 藥物處理 1時間 前에 Hank's balance salt solution (HBSS)에서 培養한 後에 우태아 혈청 결핍 DMEM배지에 100 µg/ml의 濃도로 첨가하여 배양하였다. 對照群으로 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)을 100 ng/ml 處理하였다.

2) Western blots

細胞性 蛋白質 抽出

PC-12細胞에 加減補陽還五湯 抽出物 (100µg/ml)을 15 分間 同時培養한 後 3回 PBS로 細胞를 水洗하였다. 細胞 lysate를 얻기 위하여 50 µl의 lysis 緩衝溶液 (Tris-HCl (200 mM; pH 8.0), 150 mM NaCl, 0.5% (v/v) Nonidet P-40, 0.1 mM EGTA, 1 mM PMSF, 0.1 mM DTT, 10 µg/ml leupetin)을 混合한 後 얼음에서 30분간 培養하고 5 分間 遠心分離하여 細胞 lysate를 얻어 Bradford 染色法으로 蛋白質定量하여 50µg으로 調整하였다.

APP, PS-1, 그리고 PS-2의 immunoblotting 分析

細胞 lysate (50 μ g)를 12% SDS-PAGE gel에 걸고 PDVF membrane에 轉移시켰다. 2% BSA로 2시간 blocking 한 후 anti-human APP N-terminal antibody, anti-human Presenilin-1, 그리고 anti-human Presenilin-1을 各各 處理하여 4 $^{\circ}$ C에서 overnight 시켰다. 그리고 anti-mouse Ig HRP-conjugated secondary Ab (1:4000, Amersham, Arlington Heights, IL)과 反應시킨 後 ECL-Hybond film으로 immunoblotting을 하여 分析하였다.

ii. Scopolamine으로 誘導된 學習과 記憶力 減退에 對한 加減補陽還五湯의 效果

1) ICR 생쥐의 反復 學習 및 加減補陽還五湯 投與

ICR 생쥐를 1週日間 Morris water maze에서 1일 1회 反復學習을 實施하였다. Morris water maze란 直徑이 90cm이고 높이가 약 30cm인 水槽로 水溫이 28 $^{\circ}$ C인 水를 2/3정도 채우고, 그 안에 생쥐가 올라갈 수 있는 直徑이 10 cm인 圓筒형 platform을 設置한 水槽이다. 1일 1회 학습 시 ICR 생쥐가 30초 이내에 pool에서 platform으로 올라가는 생쥐를 選別하였다. 選別된 ICR 생쥐를 10마리를 한 群으로 하여 對照群, 陽性對照群 (tacrine), 加減補陽還五湯 投與群으로 分類하였고 계속 7日間 藥物 投與와 platform에 오르는 反復訓練을 實施하였다.

2) Water maze 實驗

訓練과 藥物 投與가 終了된 ICR 생쥐에 scopolamine (1 mg/kg)을 處理한 後 30분에 water maze에 ICR 생쥐 한 마리씩 넣고 VIDEOTRACK (animal and human being behaviour analysis system, Viewpoint, France)으로 行動을 測定하였고 videotrack software로 分析하였다.

iii. Scopolamine으로 誘導된 acetylcholine 缺乏 昏쥐에서 acetylcholinesterase 抑制에 對한 加減補陽還五湯의 效果

1) 加減補陽還五湯 投與 및 scopolamine 注射

老化 (30週齡) 흰쥐 5마리를 1群으로 하여 正常群, 對照群, 加減補陽還五湯投與群(300mg/kg)으로 3個 群으로 나누고, 加減補陽還五湯 投與群은 10일 동안 投與하고, scopolamine (1mg/kg)을 5日間 1日1回 腹腔 注射 後 血球細胞 (WBC, RBC, PLT), 血清 (glucose, uric acid)은 自動生化學分析機(Express 550, Ciba-Corning co.)을 使用하여 測定하였고, cholinesterase 活性度는 cholinesterase kit (420-MC, SIGMA)로 測定하였다.

2) 血液 成分의 變化.

藥物投與 10日 後 昏쥐에서 直接 心臟採血法으로 10 ml의 血液을 포집하였다. 그 中 2 ml는 CBC bottle에 넣어 血小板數, 白血球數, 赤血球數의 含量을 計算하였고, 計算은 Fonio法에 準하여 Minos-ST로 測定하였다.

3) 血清分析

血清中 glucose, uric acid는 自動生化學分析機 (Express 550, Ciba-Corning co.)을 使用하여 測定하였다.

4) 血清에서 cholinesterase activity 測定

血清中 cholinesterase activity 測定하기 위하여 test tube와 blank tube를 label하고, test tube에 sodium chloride solution(cat. no. 150-3) 0.2ml 와 serum 0.2ml 를 넣고 混合하였다. blank와 test tube에 3.0ml water, nitrophenol solution(cat. no. 420-2) 2ml, acetylcholine chloride solution 0.2ml를 添加한다. acetylcholine chloride solution을 添加한 後 時間을 正確히 記錄하여 25 $^{\circ}$ C water bath에서 正確히 30分間 incubation시킨 後 ELISA LEADER(molecular devices, USA)에서 420nm 에서 absorbance를 測定한다. 그 結果는 $\Delta A = ABLANK - ATEST$ 公式에 의하여 검장선에서 活性度를 測定한다.

iv. 統計 分析

생쥐들의 行動觀察 및 動物實驗에서 얻은 結果는 mean \pm standard error로 記錄하였다. 有意性 檢證은 Student's t-test 分析 方法을 利用하여 決定하였다.

III. 成績

1. PC-12 세포주에서 APP 發顯에 對한 western blot 分析

PC-12세포주를 24시간 培養 後 15分間 PMA와 加減補陽還五湯으로 刺戟한 後 western blot으로 分析한 結果 PMA를 處理하지 않은 media 群에서 APPs (97.4 kDa)가 發顯 된 것을 볼 수 있고, PMA로 刺戟한 對照群 (control)은 media群에 比하여 顯著한 APPs 增加를 볼 수 있었다(Fig.1).

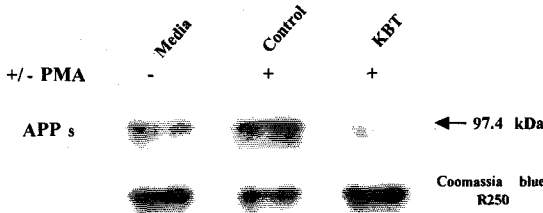


Fig. 1. KakamBoyanghwanohTang(KBT) inhibits expression of APPs secretion by Western blot analysis in PC-12 cells.

Representive Western blot of APPs secretion released in 15min by PC-12 cells alone(lane 1) or in the presence of PMA(100ng/ml) without(lane 2) or with(lane 3), KBT(100 μ g/ml). The increase in immunoreactivity of the APPs-specific antibody in the presence of PMA was inhibited by KBT.

2. PC-12세포주에서 PS-1과 PS-2發顯에 對한 western blot 分析

PC-12세포주에서 PS-1과 PS-2 發顯에 대한 western blot으로 分析한 結果 PMA로 刺戟한 對照群에서 PS-1과 PS-2의 顯著한 增加를 볼 수 있었고, PMA와 加減補陽還五湯을 同時 處理한 加減補陽還五湯 投與群은 對照群과 media群에 比하여 顯著한 PS-1과 PS-2의 發顯 減少를 보았다(Fig.2).

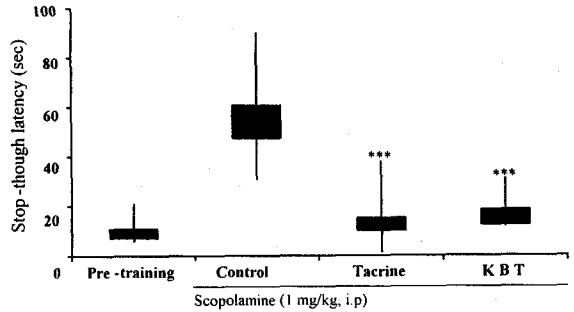


Fig. 2. KBT inhibits expression of Presenilin-1(Ab-1) and Presenilin-2(Ab-2) secretion by Western blot analysis in PC-12 cells.

Representive Western blot of PS-1(Ab-1; 30 kDa) and PS-2(Ab-2; 98 kDa) band secretion released in 15min by PC-12 cells alone(lane 1) or in the presence of PMA(100ng/ml) without(lane 2) or with(lane 3) KBT(100 μ g/ml). The increase in immunoreactivity of the PS-1-specific antibody in the presence of PMA was inhibited by KBT.

3. Scopolamine으로 誘導된 學習과 記憶力 減退에 對한 加減補陽還五湯의 效果

Scopolamine (1 mg/kg)으로 學習과 記憶力이 減退된 健忘症 생쥐모델에 加減補陽還五湯을 經口 投與하여 Morris water maze에서 videotracking으로 觀察하였다. 實驗前 1週日 동안 每日 Morris water maze pool에서 platform으로 올라가는 反復練習을 繼續 實施하였고 scopolamine 投與 30分과 180分 後에 videotracking으로 分析한 結果가 Table 1이다.

Table. 1. Effects of KBT on the scopolamine-induced impairment of learning and memory in the stop-through type Morris water maze test.

Result	Captions	Pre-Training	Scopolamine-treated(1 mg/kg)		
			Control	Tacrine	KBT
Stop-through latency (sec)	After 30 min	11.2 \pm 3.4	60.5 \pm 8.5	15.2 \pm 4.0***	18.5 \pm 4.2***
	After 180 min	10.1 \pm 4.2	24.6 \pm 4.2	12.2 \pm 5.0*	15.2 \pm 4.7
	Smdist(cm)	182 \pm 25.2	651 \pm 89.1	243 \pm 42.4***	292 \pm 38.8**
	Lardist(cm)	71 \pm 22.7	221 \pm 58.7	117 \pm 42.1	201 \pm 52.1

ICR mice were orally administered of KBT or Tacrine. HCl and the acquisition training trial continued once a day for 7 days. The Stop-VIDEOTRACKING was initiated at 30 min after the injection of scopolamine(1 mg/kg) and the retention was carried out after day 7 after the acquisition trial (pretraining). Data represent means \pm S.E(N=10). control, scopolamine(1 mg/kg i.p); scopolamine+Tacrine(10 mg/kg p.o); scopolamine + KBT(300 mg/kg p.o). Stop-though latency, each time the animal enters an area, the entries counter for this area is incremented by one, lardist; this is the total distance(in cm) covered by the animal in large movement, and smldist; this is total distance covered by the animal in small movement. Statistically significant value compared with scopolamine only group(A) data by T test(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

Fig. 3에서 같이 訓練 學習된 생쥐가 pool에서 platform으로 올라가는 時間은 11.2 \pm 3.4秒 이고 scopolamine을 處理 30分 後인 對照群은 60.5 \pm 8.5秒로 顯著한 記憶力 減退를 나타내었고, 對照藥物인 tacrine 處理群은 15.2 \pm 4.0秒 (p<0.001)로 顯著한 記憶力 回復을 觀察하였고, 加減補陽還五湯을 投與한 생쥐는 18.5 \pm 4.2秒 (p<0.001)로 scopolamine에 對한 記憶力 減退 抑制效果를 나타내었다 (Table 1, Fig. 3).

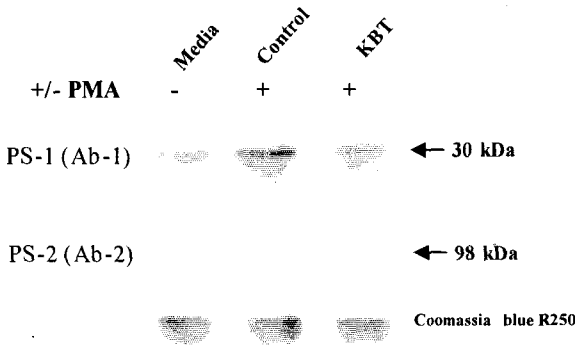


Fig. 3. Effects of KBT on the scopolamine-induced impairment of learning and memory in the stop-through type Morris water maze test.

ICR mice were orally administered of KBT or Tacrine.HCl and the acquisition training trial continued once a day for 7 days. The Stop-VIDEOTRACKING was initiated at 30 min after the injection of scopolamine(1 mg/kg) and the retention trial was carried out after day 7 after the acquisition training trial. Data represent means \pm S.E(N=10). Control (not treated); A, scopolamine only(1 mg/kg i.p); B, scopolamine + Tacrine(10 mg/kg p.o); C, scopolamine + KBT(300 mg/kg p.o). Statistically significant value compared with scopolamine only

group(A) data by T test(*p<0.05,**p<0.01,***p<0.001).

Scopolamine을 注射 30分 後의 結果 (Fig. 3)에서 같이, Fig. 4에서는 180分 後에 2次 測定하여 自然的인 記憶力 回復과 藥物에 의한 回復 效果를 比較하였다. 아래 그림에서 같이 scopolamine을 注射 30分 後 訓練 學習된 생쥐가 pool에서 platform으로 올라가는 時間은 對照群이 60.5 \pm 8.5秒 이었고 180分 後 24.6 \pm 4.2秒로 30分 後 測定 時間보다도 약 59.3%의 記憶力 回復效果를 보였다. 그리고 tacrine와 加減補陽還五湯을 投與한 group의 scopolamine 注射 180分 後에서는 12.2 \pm 5.0秒 (p<0.05)와 15.2 \pm 4.7秒로 30分 後 보다도 記憶力 回復이 增進되었다 (Table 1, Fig. 4).

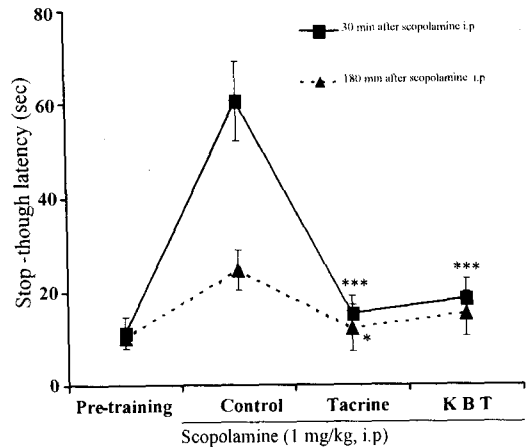


Fig. 4. Effects of a single administration KBT on the spatial working memory deficits induced by scopolamine in the stop-through type Morris water maze test.

ICR mice were orally administered of KBT or Tacrine. HCl and the acquisition training trial continued once a day for 7 days. The Stop-VIDEOTRACKING was initiated at 180 min and 30 min after the injection of scopolamine(1 mg/kg) and the retention trial was carried out after day 7 after the acquisition training trial. Data represent means \pm S.E(N=10). Pre-training; trial per 7 day, Control; scopolamine only(1 mg/kg i.p); scopolamine+Tacrine(10 mg/kg p.o); scopolamine+KBT(300 mg/kg p.o). Statistically significant value compared with scopolamine only group(A) data by T test(*p<0.05,**p<0.01, ***p<0.001).

訓練 學習된 생쥐가 pool에서 platform으로 올라갈 때까지 pool에서 움직이는 運動量을 threshold로 指定하여 적은 運動量 (small movement; smlldist)과 많은 運動量 (large movement; lardist)을 分析한 結果이다. Scopolamine을 處理 30分 後 訓練 學習된 생쥐의 smlldist는 180 ± 25.2 cm이었고, 對照群은 651 ± 89.1 cm로 顯著한 運動量 增加를 나타내었고, 對照藥物인 tacrine 處理群은 243 ± 42.4 cm로 顯著한 運動量 減少를 나타내었다 ($p < 0.001$). 加減補陽還五湯을 投與한 생쥐는 292 ± 38.8 cm로 scopolamine에 對한 記憶力 減退 抑制效果와 마찬가지로 運動量 減少를 나타내었다($p < 0.01$). lardist는 訓練 學習 생쥐가 71 ± 22.7 cm이었고, 對照群은 221 ± 58.7 cm로 顯著한 運動量 增加를 나타내었지만, tacrine 處理群은 117 ± 42.1 cm과 加減補陽還五湯을 投與한 생쥐는 201 ± 52.1 cm로 對照群에 比하여 若干의 減少를 보였으나 有意性은 없었다(Fig. 5).

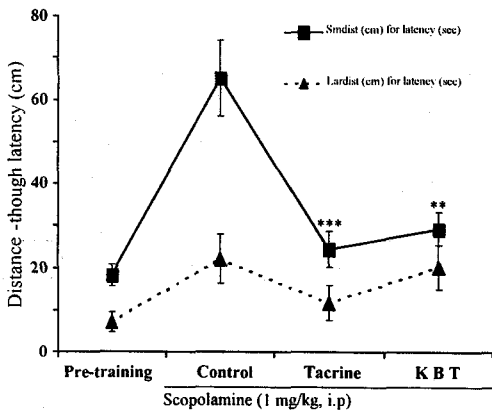


Fig. 5. Effects of a single administration KBT on the spatial working memory deficits induced by scopolamine in the distance movement-through type Morris water maze test.

ICR mice were orally administered of KBT or Tacrine.HCl and the acquisition training trial continued once a day for 7 days. The Stop-VIDEOTRACKING was initiated at 180 min and 30 min after the injection of scopolamine(1 mg/kg) and the retention trial was carried out after day 7 after the acquisition training trial. Lardist, this is the total distance(in cm) covered by the animal in large movement, and smlldist;

this is total distane covered by the animal in small movement Data represent means \pm S.E(N=10). Pre-training ; trial per 7 day, Control ; scopolamine only(1 mg/kg i.p); scopolamine+Tacrine(10 mg/kg p.o); scopolamine +KBT(300 mg/kg p.o). Statistically significant value compared with scopolamine only group(A) data by T test(* $p < 0.05$,** $p < 0.01$,*** $p < 0.001$).

4. Scopolamine으로 誘導된 acetylcholine 缺乏 흰쥐에서 acetylcholinesterase 抑制에 對한 加減補陽還五湯의 效果

Sprague-Dawley 흰쥐 (약 30 週齡)에 tacrine과 加減補陽還五湯(300 mg/kg)을 10일 동안 投與하고, scopolamine (1 mg/kg)을 2日間隔으로 5回 腹腔 注射 後 血球細胞 (WBC, RBC, PLT)와 血清 (glucose, uric acid, cholinesterase 活性度)을 分析하였다. Table 2는 藥物 投與 10日 後 血球細胞를 分析한 結果로 白血球 數와 血小板 數에서 加減補陽還五湯이 對照群에 比하여 有意性 있는 減少를 보였다.

전체적인 血白血球, 赤血球, 血小板 數와 scopolamine 에 의한 acetylcholinesterase 와의 相關關係가 없는 것으로 思料된다(Table 2, Fig. 6-8).

Table 2. Effects of KBT on the blood cells in rat serum acetylcholine decrease by scopolamine-induced.

Group	Scopolamine-treated(1 mg/kg)			
	Normal	Control	Tacrine	KBT
WBC ($\times 10^6$)	11.8 ± 0.6	11.0 ± 0.5	11.6 ± 0.5	$9.2 \pm 0.3^*$
RBC ($\times 10^3$)	8.2 ± 0.1	8.8 ± 0.4	8.2 ± 0.2	8.4 ± 0.1
PLT ($\times 10^3$)	771 ± 13.0	984 ± 47.8	955 ± 75.9	$797 \pm 39.7^*$

SD rats were orally administered of KBT or Tacrine.HCl and the injection of scopolamine(1 mg/kg) continued once a day for 7 days. Data represent means \pm S.E(N=5). Normal; not treated, control; scopolamine(1 mg/kg i.p); scopolamine+ Tacrine(10 mg/kg p.o); scopolamine+KBT(300 mg/kg p.o). and analyzed for hematology chane as described in Material and Methods. Statistically significant value compared with scopolamine only group data by T test(* $p < 0.05$,** $p < 0.01$,*** $p < 0.001$).

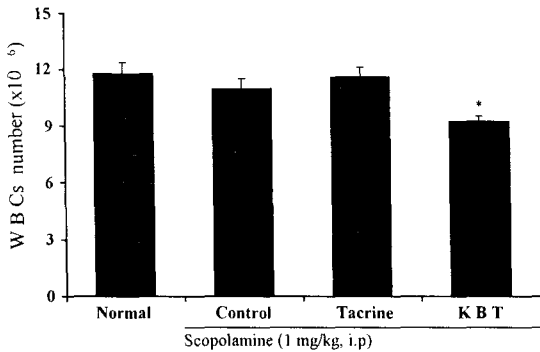


Fig. 6. Effects of KBT on the white blood cells (WBC) in rat serum acetylcholine decrease by scopolamine-induced.

SD rats were orally administered of KBT or Tacrine. HCl and the injection of scopolamine(1 mg/kg) continued once a day for 7 days. Data represent means \pm S.E(N=5). Normal; not treated, control; scopolamine(1 mg/kg i.p); scopolamine+ Tacrine(10 mg/kg p.o); scopolamine+KBT (300 mg/kg p.o). and analyzed for hematology change as described in Material and Methods. Statistically significant value compared with scopolamine only group data by T test(* p <0.05,** p <0.01,*** p <0.001).

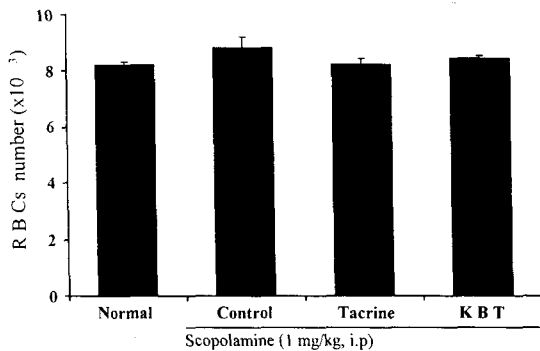


Fig. 7. Effects of KBT on the red blood cells(RBC) in rat serum acetylcholine decrease by scopolamine-induced.

SD rats were orally administered of KBT or Tacrine. HCl and the injection of scopolamine(1 mg/kg) continued once a day for 7 days. Data represent means \pm S.E(N=5). Normal; not treated, control; scopolamine(1 mg/kg p.o); scopolamine+ Tacrine(10 mg/kg p.o); scopolamine+KBT(300 mg/kg p.o). and analyzed for hematology change as described in Material and Methods. Statistically significant value compared with scopolamine only group data by T test(* p <0.05,** p <0.01,*** p <0.001).

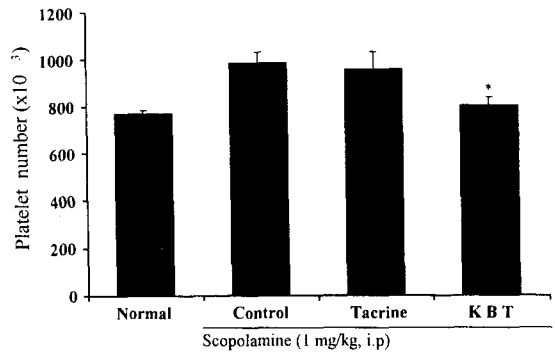


Fig. 8. Effects of KBT on the Platelets(PLT) in rat serum acetylcholine decrease by scopolamine-induced.

SD rats were orally administered of KBT or Tacrine. HCl and the injection of scopolamine(1 mg/kg) continued once a day for 7 days. Data represent means \pm S.E(N=5). Normal; not treated, control; scopolamine(1 mg/kg i.p); scopolamine+ Tacrine(10 mg/kg p.o); scopolamine+KBT(300 mg/kg p.o). and analyzed for hematology change as described in Material and Methods. Statistically significant value compared with scopolamine only group data by T test (* p <0.05,** p <0.01,*** p <0.001).

30 週齡된 흰쥐에 10日間 tacrine와 加減補陽還五湯을 經口 投與 하였고, scopolamine은 1 mg/kg으로 經口 投與 1, 3, 5, 7, 9일째에 5일간 腹腔 注射였다. 10日 後 血液을 心臟穿刺法으로 血液을 採血하여 血清을 分離하였다. 血清中 glucose, uric acid 그리고 acetylcholinesterase가 量을 測定한 결과는 아래와 같다(Table 3).

Table 3. Effects of KBT on the serum level in rat serum acetylcholine decrease by scopolamine-induced.

Group	Scopolamine-treated(1 mg/kg)			
	Normal	Control	Tacrine	KBT
Glucose (mg/dL)	110.5 \pm 7.9	100.5 \pm 8.6	138.7 \pm 6.2**	152.1 \pm 4.7**
Uric acid (mg/dL)	1.67 \pm 0.22	2.29 \pm 0.13	1.31 \pm 0.09**	1.88 \pm 0.12**
AChE (U/ml)	16.4 \pm 1.3	35.3 \pm 1.5	21.2 \pm 0.7***	26.9 \pm 1.3**

SD rats were orally administered of KBT or Tacrine. HCl and the injection of scopolamine(1 mg/kg) continued once a day for 7 days. Data represent means \pm S.E(N=5). Normal; not

treated, control; scopolamine(1 mg/kg i.p); scopolamine+Tacrine (10 mg/kg p.o); scopolamine+KBT(300 mg/kg p.o). and analyzed for serum level as described in Material and Methods. Statistically significant value compared with scopolamine only group data by T test(*p<0.05,**p<0.01, ***p<0.001).

AD 환자에서 glucose의 증가는 기억력을 증진시키는蛋白質로 알려져 있어, 아래같이 scopolamine을注射한 흰쥐에서는 100.5±8.6 mg/dl로 정상 흰쥐의 110.5±7.9 보다도若干減少하였다. 對照群에 比하여 tacrine를 投與한 흰쥐는 138.7±6.2로 약 38%의 有意性 있는 增加를 보였고 (p<0.01), 그리고 加減補陽還五湯을 投與한 흰쥐는 152.1±4.7로 약 51.3%의 有意性 있는 增加를 보였다 (p<0.001),(Fig. 9).

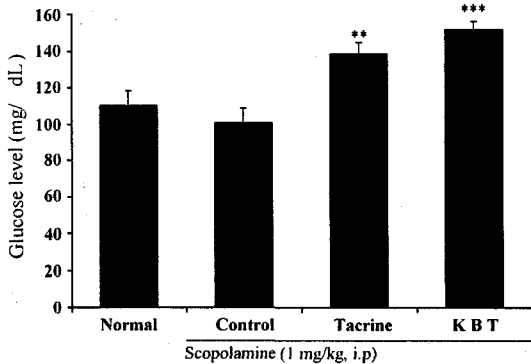


Fig. 9. Effects of KBT on the serum glucose level in rat serum acetylcholine decrease by scopolamine-induced.

SD rats were orally administered of KBT or Tacrine. HCl and the injection of scopolamine(1 mg/kg) continued once a day for 7 days. Data represent means±S.E(N=5). Normal; not treated, control; scopolamine(1 mg/kg i.p); scopolamine+ Tacrine(10 mg/kg p.o); scopolamine+KBT(300 mg/kg p.o). and analyzed for serum level as described in Material and Methods. Statistically significant value compared with scopolamine only group data by T test (*p<0.05,**p<0.01, ***p<0.001).

scopolamine을注射한 흰쥐에서 uric acid의 數值가 增加되었다는 報告가 있어, 血清을 測定한 結果 對照群은 2.29±0.13 mg/dl로 정상 흰쥐의 1.67±0.22 보다도 顯著한 增加를 보였다. 對照群에 比하여 tacrine를 投與한 흰

쥐는 1.31±0.09로 약 42.8%의 有意性 있는 減少를 보였고 (p<0.001), 加減補陽還五湯을 投與한 흰쥐는 1.88±0.12로 약 17.9%의 有意性 있는 減少를 보였다(p<0.05),(Fig. 10).

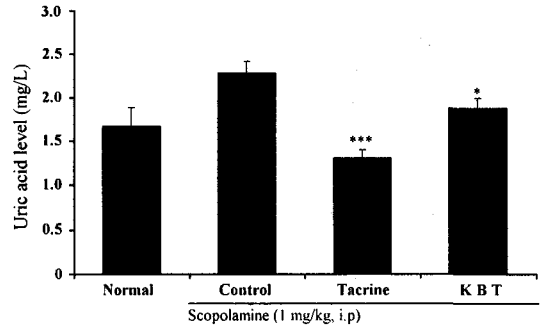


Fig. 10. Effects of KBT on the serum Uric acid level in rat serum acetylcholine decrease by scopolamine-induced.

SD rats were orally administered of KBT or Tacrine. HCl and the injection of scopolamine(1 mg/kg) continued once a day for 7 days. Data represent means±S.E(N=5). Normal; not treated, control; scopolamine(1 mg/kg i.p); scopolamine+ Tacrine(10 mg/kg p.o); scopolamine+KBT(300 mg/kg p.o). and analyzed for serum level as described in Material and Methods. Statistically significant value compared with scopolamine only group data by T test(*p<0.05,**p<0.01, ***p<0.001).

scopolamine을注射한 흰쥐에注射하면 acetylcholinesterase가 增加하여 acetylcholine의 量이 急激히 減少하여 記憶과 認識의 障礙를 誘發하는 健忘症 動物모델을 만들었다. 10日後 血清에서 acetylcholinesterase U/ml을 測定한 結果 對照群은 35.3±1.5 U/ml로 정상 흰쥐의 16.4±1.3 보다도 顯著한 增加를 보였다.

tacrine를 投與한 흰쥐는 21.2±0.7로 對照群에 比하여 約 39.9%의 有意性 있는 減少를 보였고 (p<0.001), 加減補陽還五湯을 投與한 흰쥐의 acetylcholinesterase는 26.9±1.3으로 약 23.8%의 有意性 있는 減少를 보였다 (p<0.001),(Fig. 11).

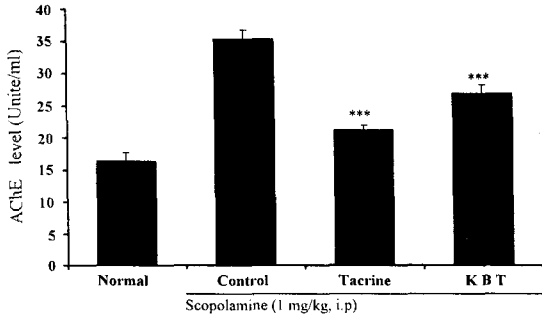


Fig. 11. Effects of KBT on the serum acetylcholinesterase (AChE) level in rat serum acetylcholine decrease by scopolamine-induced.

SD rats were orally administered of KBT or Tacrine. HCI and the injection of scopolamine(1 mg/kg) continued once a day for 7 days. Data represent means \pm S.E.(N=5). Normal; not treated, control; scopolamine(1 mg/kg i.p); scopolamine+ Tacrine(10 mg/kg p.o); scopolamine+KBT(300 mg/kg p.o). and analyzed for serum level as described in Material and Methods. Statistically significant value compared with scopolamine only group data by T test (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

IV. 考 察

1990년 우리 나라의 65세 이상 老人 人口는 약 5.0%이며, 2000年代에는 약 6.8%, 2020년에는 거의 12% 수준에 이를 것으로 推算^{32,33}된다. 이러한 老人 人口의 增加는 뇌의 器質的 變化로 인한 痴呆의 發病率과 有病率을 必然的으로 增加시키리라 생각된다³⁴.

프랑스의 醫學者인 Pinel에 의하여 처음으로 記述된 “痴呆”는 單一 疾患이기보다는 인지기능(cognitive function)의 低下를 나타내는 여러 질환들에 대한 보다 포괄적인 개념이라 할 수 있다^{35,36}. 痴呆(dementia)는 漸進的인 記憶力 障礙가 失語症(aphasia), 失認症(인식불능; agnosia), 失行症(apraxia) 등의 行動的인 障礙와 함께 나타나 社會 職業的 機能의 障礙를 가져오는 것을 말한다^{1,2,3}. 痴呆는 記憶力, 사고력, 지남력, 이해력, 계산능력, 學習능력, 언어 및 판단력 등 知的機能의 全體的 障礙를 포함하는 腦疾患에 의한 臨床 症候群이며, 痴呆의 核心的 表現은 추상적 사고, 판단, 고위피질기능, 충동 제어 장애,

인격의 손상이 동반되는 短期·長期記憶의 損傷이다. 이러한 痴呆에는 알츠하이머병(Alzheimer’s disease; AD), 血管性痴呆(vascular dementia), 中毒性 痴呆 등이 있으며 이 중에서 AD는 50% 이상을 차지하고 있고^{4,5}, 血管性痴呆는 20-30% 程度이고 藥物이나 알코올중독에 의한 中毒性 痴呆는 10-20% 程度이며 女性이 男性에 比해서 2-3倍 정도 더 發病하는 것으로 알려져 있다³⁷.

東洋醫學에서는 人間の 壽命을 대략 100歲에서 120歲로 보고 있으며³⁸ 黃帝內經《靈樞·天年篇》³⁹을 보면, “五十歲 肝氣始衰 肝葉始薄 膽汁始減 目始不明 六十歲 心氣始衰故憂悲 血氣懈惰 故好臥 七十歲 脾氣虛 皮膚枯 八十歲 肺氣衰 魂離 故言善誤 九十歲 腎氣焦 四臟經脈空虛 百歲 五臟皆虛 神氣皆去 形骸獨居而終矣”라고 老化的 過程을 敘述하고 있는데, 六十歲 心氣始衰하여 憂悲 하고 八十歲에 魂離 하여 言善誤라 하여 老化에 따른 精神的인 變化를 說明하고 있으며, 이를 老化和 함께 나타나는 生理的 症狀으로 認識하고 있었던 것으로 볼 수 있겠다.

痴呆는 《景岳全書·癲狂痴呆》⁶에 “痴呆症, 凡平素無痰而或以鬱結..... 或以驚恐而漸致痴呆”라 記述 되었고 《辨證奇門》¹⁰과 《石室秘錄》⁹에는 痴呆의 類似概念으로 神志淡漠, 寡言少語, 遲鈍, 健忘, 終日不語, 閉戶獨處, 口中喃喃自語, 言辭顛倒, 舉動不經, 忽笑忽哭¹⁵ 등의 症狀을 나타내는 “呆病”을 言及하였으며, 內經³⁰과 歷代醫書⁴⁰⁻⁴⁴에서 健忘 등의 類似한 症狀이 言及되고 있다⁴⁵. 따라서 痴呆를 呆病과 健忘을 根據로 하여 辨證施治하고 있는데 AD는 虛症과 實證으로 나누며, 血管性痴呆는 痰, 瘀血로 나누어 治療하고 있다^{11,12}.

AD는 많은 原因에 의해서 誘發되지만 베타-아밀로이드 蛋白質(β -amyloid precursor protein; APP)의 沈積(deposition)으로 생기는 SPs의 神經毒性(neurotoxic)으로 神經細胞死(neuronal cell death)를 일으키는 것과 과인산화 타우 蛋白質(hyperphosphorylation tau protein)의 沈積에 의한 NFTs의 作用으로 神經退行(neurodegeneration)을 일으키는 것이 대표적이다^{46,47,48}. 이 외에도 에스트로젠(estrogen), 아포리포단백질 E(apolipoprotein E; apoE), 프리시닐린(presenilin), 酸化劑(oxidants: hydrogen peroxide, superoxide, hydroxyl radicals), 炎症, 사고에 의

한 損傷, 神經傳達物質(neurotransmitter), 神經營養因子(neurotrophic factors) 등 많은 誘發因子가 關與하는 것으로 알려져 있다^{49,50,51}.

베타-아밀로이드 蛋白質(A β)은 21번 chromosome의 single gene에 encord된 amyloid precursor protein (APP) family로부터 由來된다. APP는 多樣한 molecular weight form이 있는데 A β sequence를 포함한 가장 풍부한 APP는 含有하고 있는 amino acid의 數에 따라 APP695, APP751, APP770라고 불린다. APP770은 大部分의 組織에서 dominant(우성) isoform이고 Kunitz protease inhibitor (KPI)와 대단히 비슷한 56-amino-acid domain을 包含하고 있다. APP695는 protease inhibitor domain을 包含하지 않으며 brain에 가장 많이 存在하는 dominant isoform이다. 이러한 組織마다 다른 分布의 原因은 아직 밝혀지지 않았다. 또한 AD 患者들과 같은 年齡의 痴呆가 없는 사람들간의 다른 isoform의 APP의 分布도 아직 明確하게 밝혀지지 않았다³².

AD는 神經반과 血管 아밀로이드의 主性分인 아밀로이드 베타 蛋白質이 疾病發生에 重要한 役割을 할 것으로 生覺되고 있다. 아밀로이드 베타 蛋白質의 전구 蛋白質인 APP의 非正常的인 工程過程으로 形成되며, 이때 β -secretase나 1-secretase에 잘려진다. 또한 presenilin은 465개의 A.A를 가진 蛋白質로서 APP와 類似한 大腦分布를 가지며 家族形 AD를 일으키는 것으로 알려져 있다^{34,26}. AD에 있어서 presenilin의 役割은 現在 糾明 중에 있으나 APP의 形成을 促進하고 apoptosis 過程에 關與할 것으로 알려지고 있다. 즉 presenilin 突然變異로 인해 非正常的으로 分解된 presenilin 代謝物이 APP의 形成을 促進하여 AD를 일으키는 것으로 生覺하고 있다⁵³. presenilin 突然變異는 presenilin-1의 境遇는 最少 33種類, presenilin-2의 境遇는 3種類 以上이 報告되어져 있으며 early-onset alzheimer's disease의 경우 대부분이 presenilin 突然變異에서 起因한다고 生覺하고 있다^{2,27}.

AD의 1차 症狀인 記憶力 減退現狀은 콜린성 神經系와 密接한 關係가 있다는 證據가 多樣하게 提示되고 있다^{54,55,56}. 비록 原因的인 治療方法은 아니더라도 위에 前述한 바와 같이 記憶力과 密接한 關聯이 있는 것으로 알려져

減退된 콜린성 神經系를 補充해주고 改善해 줄 수 있는 開發된 藥物들에는 아세틸콜린 합성전구체(acetylcholine precursor)로 lecithin, 수용체 활성제(receptor agonist)로 RS-86, nicotine 등이 있으며^{57,58,59(60)}, 아세틸콜린 분해억제제(acetylcholinesterase inhibitor)로 FDA의 承認을 받아 國內에서도 市販 使用중인 tacrine 最近에 承認된 E2020(aricept)등이 있으며 이런 藥物들은 아세틸콜린이라고 하는 神經傳達物質의 분해를 막아주어 減退된 認知機能을 改善시켜주는 效果를 가지고 있다^{61,62(63,64,65)}. 이들은 비록 效果가 一時的이고 微弱하며 深刻한 毒性 때문에 아직 使用에 論難의 餘地가 많은 狀態이긴 하지만 現在까지 다른 機轉을 갖는 어떤 腦機能 改善제들보다 알츠하이머 병의 治療劑로서 效果가 가장 優秀한 것으로 알려져 있다⁶⁶⁻⁶⁸.

美國과 日本 등 外國의 大形製藥會社들은 現在 많은 治療劑들을 開發하고 있으며, 臨床試驗段階에 있는 物質들이 여러 가지가 있다⁶⁹. 그러나 아직까지 이 疾患을 根本적으로 治療할 수 있는 藥物들의 開發을 위해서는 時間과 努力이 더 必要할 것으로 思料된다.

우리 나라에서도 痴呆의 病因 및 機轉 研究와 治療劑 開發을 위하여 많은 사람들이 研究하고 있으나 不幸하게도 아직까지 뚜렷한 效能을 나타내는 새로운 治療劑를 開發한 事例는 微微한 實情이다.

現在까지 海外의 研究者들이 밝혀온 痴呆와 關聯되어 나타나는 病理學的 所見으로는 神經纖維 덩어리(neurofibrillary tangle)와 神經반(neuritic plaque)이 있다²⁸. 神經섬유 덩어리와 神經반은 아밀로이드 베타 펩티드의 沈着에 의하여 생겨난다²⁸. 아밀로이드 베타 펩티드는 큰 分子量의 아밀로이드 전구단백질(Amyloid Precursor Protein: APP)의 一部分이 잘라져서 생겨나는데 소수성 아미노산 殘期가 大部分인 39-43개의 아미노산으로 構成되어 있어 스스로 凝集하는 性質을 가지고 있다. APP는 21번 染色體에 位置하고 있으며 이 21번 染色體가 3개인 다운증후군 患者도 早期痴呆 現狀을 나타내며 30대와 40대에 알츠하이머병 患者의 腦에서 發見되는 똑같은 神經纖維 덩어리와 神經반이 생긴다. 이러한 病變은 遺傳子 數가 增加한 效果에 의한 APP의 過度生成 때문에 일어난다

고 推測되고 있다²⁹⁻³⁰⁾. 한편 알츠하이머병 患者의 基底前腦(basal forebrain)와 해마에서 APP의 遺傳子 發顯이 增加되어 있다고 報告하고 있고, 老化된 纖維兒細胞에서 APP 遺傳子 發顯이 增加되어 있다는 報告와 아밀로이드 베타 펩티드를 직접 腦에 注射하면 注射部位의 神經細胞가 죽는다는 報告로 볼 때 APP가 老化過程, 특히 痴呆形成 過程에 直接的인 關聯을 가지고 있을 것으로 推論되고 있다⁷⁰⁾. 最近에 家族性 알츠하이머병을 일으키는 遺傳子 중의 하나인 presenilin 1(PS1)과 presenilin 2(PS2)는 각각 14번과 1번 染色體에 存在하며, 이 遺傳子의 多様な 突然變異가 早發性, 家族性 알츠하이머병의 70% 以上の 原因이 되는 것으로 報告되었다⁷¹⁾. 이들은 서로 아미노산의 67%가 同一하며 7개 前後의 transmembrane domain 을 가지고 있는 45-50 KD의 蛋白質로 生覺되고 있다. 이들 遺傳子는 C. elegans의 SPE-4 遺傳子와 構造的으로 類似하며, spermatogenesis 過程에서 cytoplasmic partitioning 및 intra-cellular trafficking에 重要な 役割을 하는 것으로 알려져 있다. 最近 역시 C. elegans의 分化 過程에서 細胞內 信號傳達에 關與하는 notch形의 收容體인 lin-12의 機能 突然變異率을 緩和시켜 줄 수 있는 物質로 發見된 sel-12도 PS와 homology가 있는 것이 報告되었다⁷²⁻⁷³⁾. 이 sel-12는 lin-12에 의한 信號傳達의 coreceptor 또는 lin-12를 細胞表面으로 運搬하거나 recycling하는 役割을 擔當하는 것으로 生覺된다. 이러한 事實은 spe-4와 sel-12와 homology가 있는 PS-1과 PS-2도 역시 細胞內 蛋白質 運搬이나 細胞內 信號傳達에 關與할 可能性이 높음을 示唆한다⁷⁴⁻⁷⁵⁾. 以上과 같은 事實에서 볼 때 이 遺傳子들의 突然變異를 가지고 있는 家族性 AD 患者에서도 APP가 PS-1이나 PS-2에 의해 β -secretase가 많이 포함되어 있는 細胞內 分割으로 더 많이 移動하여 結局 APP의 處理에 影響을 끼쳐 아밀로이드 베타 펩티드가 過量 만들어짐으로써 神經毒性을 나타내고 그에 따라 認知機能 缺損이 同伴되는 것으로 生覺되고 있다⁷⁶⁻⁷⁷⁾. 最近에는 APP와 presenilin 蛋白質이 서로 結合한다는 事實이 立證됨으로서 이 事實을 더욱 더 뒷받침해주고 있다⁷⁸⁾.

補陽還五湯은 王¹³⁾의 醫林改錯에 收錄된 處方으로 臨

床에서 주로 腦血栓 등의 虛血性 腦血管疾患^{14,15)}이나 中風後遺症^{14,15)} 등에 活用하고 있으며, 腦·心血管系의 研究가 實驗的으로 活發히 進行되고 있다.

最近의 痴呆研究를 살펴보면 老化和 連繫하여 老化를 誘發하는 抗酸化作用에 對한 研究¹⁶⁻²³⁾가 이루어지고 있으며 또한 AD의 또 다른 原因인 아밀로이드 전구단백질과 presenilin 遺傳子의 過多 發顯에 對한 研究^{2,24,26,27,28-30)}가 이루어졌으나 補陽還五湯의 記憶과 行動에 關聯된 研究는 接하지 못하였다.

加味補陽還五湯 構成藥物들의 效能을 살펴보면, 黃芪⁷⁹⁻⁸⁵⁾는 肺·脾經으로 들어가 補氣升陽, 固表止汗, 利水消腫, 打毒排膿, 生血生肌, 溫分肉하여 一切의 氣虛, 血虛症을 治療하며, 當歸尾(79~85)는 心·肝·腎經에 들어가 破血 祛瘀作用을 하고, 赤芍藥(79~85)은 肝經으로 들어가 活血祛瘀, 通順血脈, 散惡血, 逐積血, 清血養血하여 瘀滯經閉, 積聚, 癥瘕, 血痺癰腫 등을 治療하며, 地龍(79~85)은 脾·胃·肝·腎經으로 들어가, 通絡止痛, 熄風止癱, 清血平肝하여 半身不遂, 驚風, 抽搐, 風濕痺痛 등을 治療한다고 하였다. 川芎(79~85)은 肝·膽·心胞經으로 들어가 活血祛瘀, 祛風止痛, 行氣開鬱, 調經化瘀, 諸頭痛, 寒痺痙攣, 麻木 등을 治療하며, 桃仁(79~85)은 心·肝·大腸經으로 들어가 破血祛瘀, 潤燥滑腸하여 損傷積血, 血滯經閉, 癥瘕, 瘀血腫痛 등을 治療하고, 紅花(79~85)는 心·肝經으로 들어가 破瘀活血, 消腫止痛하여 跌打損傷, 瘀滯作痛, 積聚 등을 治療하는 效能이 있다고 하였다.

이에 著者는 補陽還五湯에 祛痰開竅 安神益智하는 遠志, 石菖蒲³¹⁾를 加하고 黃芪를 君藥으로 한 加減補陽還五湯이 氣血虧虛 腦絡瘀阻型의 痴呆治療에 活用될 수 있을 것으로 생각되어 본 實驗을 實施하였다.

本 實驗에서 PC-12 세포주에서 PS-1, PS-2와 APPs 發顯의 過剩發顯을 觀察하였고, 加減補陽還五湯을 處理하여 發顯을 抑制하는 效果를 western blot으로 確認하였다. 그러나 PS의 抑制에 의한 APP 發顯이 cascade 反應으로 줄어드는지는 PKC와 MAPK 機轉을 確認해야 할 것으로 生覺된다. 그리고 Morris water maze를 利用하여 反復學習을 7日間 實施한 후 陽性對照群(tacrine), 加減補陽還五湯 投與群으로 分類하여 VIDEOTRACK(animal and human

being behaviour analysis system)을 통한 行動을 測定하였고, 加減補陽還五湯을 投與한 흰쥐의 血清中 acetylcholinesterase의 量을 測定하여 항콜린 沮害劑로서의 效能을 觀察한 바 몇가지 有意한 結果를 얻었다.

PMA (phorbol esters)의 刺戟으로 PKC (protein kinase C)가 PC-12 세포주에서 APPs (clone:22C11)를 分泌를 顯著하게 增加하는 것으로 알려져 있다. 또한 PC-12 세포주는 PS-1 遺傳子가 突然變異로 過剩發顯 (overexpression)되어 cascade로 APPs도 發顯이 된다.

PC-2세포주를 24시간 培養 後 15分間 PMA와 加減補陽還五湯으로 刺戟한 후 western blot으로 分析한 결과 PMA를 處理하지 않은 media 群에서 APPs (97.4 kDa)가 發顯 된 것을 볼 수 있고, PMA로 刺戟한 對照群 (control)은 media群에 比하여 顯著한 APPs 增加를 볼 수 있었다. 그리고 PMA와 加減補陽還五湯을 同時 處理한 加減補陽還五湯 投與群은 對照群과 media群에 比하여 顯著한 APPs 發顯 減少를 보여 加減補陽還五湯에 의한 APPs 遺傳子의 抑制效果가 推測된다(Fig. 1).

早期 AD 證候를 보이는 患者의 대부분 原因으로 PS-1과 PS-2의 突然變異를 들고 있고, PS-1은 腦의 記憶과 關聯되어 있는 重要한 神經蛋白質로 PS-1 (30 kDa, chromosome-14)과 PS-2 (98 kDa, chromosome-1)에 位置하는 것으로 알려져 있다. PC-12 세포주는 PS-1 遺傳子가 突然變異로 過剩發顯 (overexpression)되어 AD 研究에 좋은 세포주로 알려져 있다. 또한 PC-12 세포주에서 PS-1의 發顯을 western blot으로 分析한 結果 PMA로 刺戟한 對照群에서 PS-1과 PS-2의 顯著한 增加를 볼 수 있었고, PMA와 加減補陽還五湯을 同時 處理한 加減補陽還五湯 投與群은 對照群과 media群에 比하여 顯著한 PS-1과 PS-2의 發顯 減少를 보여 加減補陽還五湯에 의한 PS-1 遺傳子의 抑制效果가 있는 것으로 推測된다(Fig. 2).

Scopolamine (1 mg/kg)으로 學習과 記憶力이 減退된 健忘症 생쥐모델에 加減補陽還五湯을 經口 投與하여 Morris water maze에서 videotracking으로 觀察하였다. 實驗前 1週日 동안 每日 Morris water maze pool에서 platform으로 올라가는 反復練習을 繼續 實施하였고

scopolamine 投與 30分과 180分 後에 videotracking으로 分析하였다.

訓練 學習된 생쥐가 pool에서 platform으로 올라가는 時間은 11.2 ± 3.4 秒 인데 scopolamine을 處理 30分 後인 對照群은 60.5 ± 8.5 秒 로 顯著한 記憶力 減退를 나타내었고, 항콜린성 對照藥物인 tacrine 處理群은 15.2 ± 4.0 秒 ($p < 0.001$)로 顯著한 記憶力 回復를 觀察하였고, 加減補陽還五湯을 投與한 생쥐는 18.5 ± 4.2 秒 ($p < 0.001$)로 scopolamine에 對한 記憶力 減退 抑制效果를 나타내었다 (Table 1, Fig. 3).

Scopolamine을 注射 30分 後의 結果와 같이, 180分 後에 2次 測定하여 自然的인 記憶力回復과 藥物에 의한 回復 效果를 比較하였다. scopolamine을 注射 30分 後 訓練 學習된 생쥐가 pool에서 platform으로 올라가는 時間은 對照群이 60.5 ± 8.5 秒 이었고 180分 後 24.6 ± 4.2 秒 로 30分 後 測定 時間보다도 약 59.3%의 記憶力 回復效果를 보였다. 그리고 tacrine와 加減補陽還五湯을 投與한 group의 scopolamine 注射 180分 後에서는 12.2 ± 5.0 秒 ($p < 0.05$)와 15.2 ± 4.7 秒 로 30分 後 보다도 記憶力 回復이 增進되었다 (Table 1, Fig. 4).

訓練 學習된 생쥐가 pool에서 platform으로 올라갈 때까지 pool에서 움직이는 運動量을 threshold로 指定하여 적은 運動量 (small movement; smldist)과 많은 運動量 (large movement; lardist)을 分析한 結果를 보면 scopolamine을 處理 30分 後 訓練 學習된 생쥐의 smldist는 180 ± 25.2 cm이었고, 對照群은 651 ± 89.1 cm로 顯著한 運動量 增加를 나타내었고, tacrine 處理群은 243 ± 42.4 cm로 顯著한 運動量 減少를 나타내었다($p < 0.001$). 加減補陽還五湯을 投與한 생쥐는 292 ± 38.8 cm로 scopolamine에 對한 記憶力 減退 抑制效果와 마찬가지로 運動量 減少를 나타내었다($p < 0.01$). lardist는 訓練 學習 생쥐가 71 ± 22.7 cm이었고, 對照群은 221 ± 58.7 cm로 顯著한 運動量 增加를 나타내었지만, tacrine 處理群은 117 ± 42.1 (cm)과 加減補陽還五湯을 投與한 생쥐는 201 ± 52.1 cm로 對照群에 比하여 若干의 減少를 보였으나 有意성은 없었다(Fig. 5).

Sprague-Dawley 흰쥐 (약 30 週齡)에 tacrine과 加

減補陽還五湯(300 mg/kg)을 10일 동안 投與하고, scopolamine (1 mg/kg)을 2日間隔으로 5回 腹腔 注射 後 血球細胞 (WBC, RBC, PLT)와 血清 (glucose, uric acid, cholinesterase 活性度)을 分析하였다. 藥物 投與 10日 後 血球細胞를 分析한 結果는 白血球 數와 血小板 數에서 加減補陽還五湯이 對照群에 比하여 有意性 있게 약간 減少를 보였으나 전체적인 白血球, 赤血球, 血小板 數와 scopolamine에 의한 acetylcholinesterase 와의 相關關係가 없는 것으로 思料된다(Table 2, Fig. 6~8).

AD 患者에서 glucose의 增加는 記憶力을 增進시키는 蛋白質으로 알려져 있어, scopolamine을 注射한 흰쥐에서는 100.5 ± 8.6 mg/dl로 正常 흰쥐의 110.5 ± 7.9 보다도 若干 減少하였다. 對照群에 比하여 tacrine를 投與한 흰쥐는 138.7 ± 6.2 로 약 38%의 有意性 있는 增加를 보였고 ($p < 0.01$), 加減補陽還五湯을 投與한 흰쥐는 152.1 ± 4.7 로 약 51.3%의 有意性 있는 增加를 보였다($p < 0.001$), (Table 3, Fig. 9).

scopolamine을 注射한 흰쥐에서 uric acid의 數值가 增加되었다는 報告가 있어, 血清을 測定한 結果 對照群은 2.29 ± 0.13 mg/dl로 正常 흰쥐의 1.67 ± 0.22 보다도 顯著한 增加를 보였다. 對照群에 比하여 tacrine를 投與한 흰쥐는 1.31 ± 0.09 로 약 42.8%의 有意性 있는 減少를 보였고 ($p < 0.001$), 加減補陽還五湯을 投與한 흰쥐는 1.88 ± 0.12 로 약 17.9%의 有意性 있는 減少를 보였다($p < 0.05$), (Table 3, Fig. 10).

scopolamine을 注射한 흰쥐에 注射하면 acetylcholinesterase 가 增加하여 acetylcholine의 量이 急激히 減少하여 記憶과 認識의 障礙를 誘發하는 健忘症 動物모델을 만들었다. 10日 後 血清에서 acetylcholinesterase (U/ml)을 測定한 結果 對照群은 35.3 ± 1.5 (U/ml)로 正常 흰쥐의 16.4 ± 1.3 보다도 顯著한 增加를 보였다. 現 AD 治療藥인 항콜린 製劑인 tacrine를 投與한 흰쥐는 21.2 ± 0.7 로 對照群에 比하여 약 39.9%의 有意性 있는 減少를 보였고($p < 0.001$), 加減補陽還五湯을 投與한 흰쥐의 acetylcholinesterase는 26.9 ± 1.3 로 약 23.8%의 有意性 있는 減少를 보였다 ($p < 0.001$), (Table 3, Fig. 11).

이상의 實驗結果를 總括하면 PC-12 세포주에서 PS-1,

PS-2와 APPs 發顯의 過剩發顯을 觀察하였고, 加減補陽還五湯을 處理하여 發顯을 抑制하는 效果를 western blot으로 確認하였다. scopolamine으로 誘發된 健忘症 생쥐모델로 하여 Morris water maze 實驗으로 分析하여 經口投與한 加減補陽還五湯 投與群이 顯著한 記憶 回復을 보여주었다. 이는 加減補陽還五湯이 항콜린성 藥物로 作用할 수 있음을 말해주는 것으로, scopolamine을 投與한 흰쥐에서 혈청단백질을 分析한 結果 對照群 (scopolamine만 투여)에 比하여 加減補陽還五湯 投與群에서 glucose의 顯著한 增加와 uric acid의 減少, 그리고 acetylcholinesterase 의 顯著한 減少를 觀察하여 上記의 實驗結果를 證明할 수 있었다. 이러한 實驗結果는 加減補陽還五湯이 抗 콜린작용과 PS 및 APPs 過剩發顯 抑制能力을 보이는 것으로 보아 AD 治療의 豫防과 治療에 活用될 수 있을 것으로 思料된다.

V. 結論

加減補陽還五湯의 效果를 實驗적으로 立證하고자 PC-12 세포주에서 突然變移 遺傳子發顯을 western blot으로 觀察하고, Morris water maze를 利用하여 反復學習을 7日間 實施한 후 VIDEOTRACK (animal and human being behaviour analysis system)을 통한 行動을 測定하고, 加減補陽還五湯을 投與한 흰쥐의 血清中 acetylcholinesterase의 量을 測定한 結果 다음과 같은 知見을 얻었다.

1. 加減補陽還五湯은 PC-12 세포주에서 PS-1과 APPs 發顯의 過剩發顯을 억제 시켰다.
2. 加減補陽還五湯은 scopolamine으로 誘發된 健忘症 생쥐모델에서 顯著한 記憶 回復을 보여주었다.
3. 加減補陽還五湯은 scopolamine을 投與한 흰쥐의 血清을 分析한 結果 유의성 있는 glucose의 顯著한 增加와 uric acid의 減少, 그리고 acetylcholinesterase의 顯著한 減少를 보여 주었다.

이상의 結果는 加減補陽還五湯이 APPs 過剩發顯 抑制

能과 항콜린작용을 보여痴呆의豫防과治療에 활용될 수 있을 것으로 思料된다.

參考文獻

1. Anderson JP, Esch FS, Keim PS, Sambamurti K, Lieberburg I, Robakis NK : Exact cleavage site of Alzheimer amyloid precursor in neuronal PC-12 cells. *Neurosci Lett* 128:126-128. 1991.
2. Fukuyama R, Chandrasekaran K, Rapoport SI : Nerve growth factor induced neuronal differentiation is accompanied by differentiated induction and localization of the amyloid precursor protein(APP) in PC12 cells and variant PC12S cells. *Mol Brain Res* 17:17-22. 1993.
3. Haass C, Schlossmacher MG, Hung AY, Vigo-Pelfrey C, Mellon A, Ostaszewski BL, Lieberburg I, Koo EH, Schenk D, Teplow DB, Selkoe DJ : Amyloid β -peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature* 359:322-325. 1992.
4. Bierer L. M., Haroutunian V., Gabriel S., Knott P. J., Carlin L. S., Purohit D. P., Perl D., Dchmeidler J., Kanof P., and Davis K.L.: Neurochemical correlates of dementia severity in Alzheimer's disease: relative importance of the cholinergic deficits. *J. Neurochem.* 64:749-760. 1995.
5. Mattson MP, Barger SW, Furukawa K, Bruce AJ, Wyss-Coray T, Mark RJ, Mucke L : Cellular signaling roles of TGF β , TNF α and β APP in brain injury responses and Alzheimer's disease. *Brain Res Rev* 23:47-61. 1997.
6. 張介賓: 張氏景岳全書, 서울, 翰成社, pp.610-611, 1978.
7. 楊思澎 外: 中醫臨床大全, 北京, 北京科學技術出版社, pp.224-230, 814-816, 1991.
8. 宋美令 外, 老人痴呆의 治療에 關한 韓醫學의 研究, 大田大學校 韓醫學研究所 論文集, 第6卷 第1號, p.37, 1997.
9. 陳士澤: 國譯石室秘錄, 서울, 書苑堂, p.102, 1984.
10. 錢鏡湖: 辨證奇門全書, 台北, 甘地出版社, pp.222-225, 233-235, 1990.
11. 傅仁鬱 外, 老年期痴呆證治座談, 中醫雜誌, 32卷 1號, pp.39-41.
12. 許曉蓉, 淺淡老年痴呆證의 證治, 浙江中醫學院學報, 19卷 3號, p.2, 1995.
13. 王清任 : 醫林改錯, 서울, 一中社, pp.85-86, 1992.
14. 張伯臾 外 : 中醫內科學, 北京, 人民衛生出版社, pp.8-9, 207-215, 451-468, 1988.
15. 黃大東 外 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.332-345, 378-381, 414-423, 439-450, 1986.
16. 백봉숙 外 : 녹차로부터 분리된 Epicatechin 3-O-Gallate의 항산화작용 기전에 관한 연구, 釜山大學校藥學研究誌, 29(2):49-56, 1995.
17. 이효은 外 : 浮萍草의 化學成分 및 抗酸化效果에 關한 研究, 釜山大學校藥學研究誌, 29(2):29-39, 1995.
18. 蘇敬順 外 : 鹿蓼地黃湯이 抗老化에 미치는 影響, 서울, 慶熙韓醫大論文集, 18(2):127-148, 1995.
19. 禹大潤 外 : 人工膜과 Rat의 肝細胞를 利用한 血府逐瘀湯의 抗酸化 作用에 關한 研究, 大韓韓醫學會誌, 17(1):465-477, 1996.
20. 鄭智天 : 左歸飲과 右歸飲에 依한 活性 酸素類의 消去 作用과 抗酸化 酵素系의 活性 增加 效果에 對한 研究, 大韓韓醫學會誌, 17(1):21-36, 1996.
21. 尹哲浩 外 : 左歸飲과 右歸飲이 老化 Rat의 肝 過酸化 脂質 生成 및 活性酸素 生成系 酵素 活性에 미치는 影響, 大韓韓方內科學會誌, 16(1):62-79, 1995.
22. 尹哲浩 外 : 左歸飲과 右歸飲이 老化 Rat의 腦 過酸化 脂質 生成 및 活性酸素 生成系 酵素 活性에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 16(2):348-364, 1995.
23. 徐敏華 : 聰明湯이 老化白鼠 腦組織의 生化學的 變化和 神經細胞의 損傷에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 1996.
24. Chakraborti, T. K., J. D. Farrar, and C. N. Pope. : Comparative neurochemical and neurobehavioral effects of repeated chlorpyrifos exposures in young

- and adults rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 46: 219-224, 1993.
25. Fukuyama R, Chandrasekaran K, Rapoport SI: Nerve growth factor induced neuronal differentiation is accompanied by differentiated induction and localization of the amyloid precursor protein(APP) in PC12 cells and variant PC12S cells. *Mol Brain Res* 17:17-22, 1993.
26. Gomez-Isla T., Price J. L., McKeel D. W. Jr. Morris J.C., Growdon J.H., and Hyman B.T.: Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 16, 4491-4500, 1996.
27. Hung AY, haass C, Nitsch RM, Qiu WQ, Citron M, Wurtman RJ, Growdon JH, Selkoe D : Activation of protein kinase C inhibits cellular production of the amyloid β -protein. *J Biol Chem* 268:22959-22962, 1993.
28. Altstiel LD and Sperber K., *Prog. Neuro. Psychopharmacol. Biol. Psychiat.* 15, 481-495, 1991.
29. Alzheimer's Disease Collaboratory Group, The structure of the presenilin 1(S182) gene and identification of six novel mutations in early onset AD families. *Nature Genetics* 11, 219-222.35, 1995.
30. Borchelt, D. R., Thinakaran, G., Eckman, C. B., Lee, M. K., Davenport, F., Ratovitsky, T., Prada, C., Kim, Grace., Seekins, S., Yagar, D., Slunt, H. H., Wang, R., Seeger, M., Levey, A. I., Gandy, S. E., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Price, D. L., Younkin, S. G. and Sisodia, S. S., : Familial Alzheimers Disease-Linked Presenilin 1 Variants Elevate A 1-42/1-40 Ratio in Vitro and In Vivo. *Neuron* 17, 1005-1013, 1996.
31. 辛民教 : 本草維新, 서울, 慶苑文化社, p.133, 135, 1979.
32. 보건복지부 : 보건사회통계연보, 제 36호, 서울, 보건복지부, pp.236-239, 302-309, 1991.
33. 보건신문사 : 보건연감, 보건신문사, p106, 404, 1990.
34. 박영춘 : 신경과 영역에서의 치매, 대한신경과학회지, 3(1) : pp17-22, 1985.
35. 김명호 : 치매(Dementia)의 정의와 분류, 대한신경과학회지, 3(1) : 1-4, 1985.
36. 박종한 : 치매의 원인과 치료, 대한정신약물학회지, 3(1) : 33-40, 1992.
37. Caporaso GL, Gandy SE, Buxbaum JD, Ramabhadran TV, Greengard P: Protein phosphorylation regulates secretion of Alzheimer β /A4 amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:3055-3059, 1992.
38. 劉占文 : 中醫養生學, 北京, 上海中醫學出版社, pp.60-66, 1984.
39. 洪元植 編: 精校黃帝內經靈樞, 서울, 東洋醫學研究院出版部, pp.68-70, 79-96, 134-137, p.174, 175, pp.241-243, 1985.
40. 孫思邈 : 備急千金要方, 서울, 杏林出版社, p.534, 545, 550, pp.129-135, 1982.
41. 趙佶: 聖濟總錄 43卷, 北京, 人民衛生出版社, pp.822-825, 1987.
42. 朱震亨: 金匱鉤玄, 서울, 鼎談出版社, p.727, 1992.
43. 王肯堂: 證治準繩, 서울, 鼎談出版社, pp.306-307, 1992.
44. 龔廷賢: 壽世保元, 江蘇城, 江蘇科學技術出版社, p.43, 1980.
45. 金賢兒: 老人性痴呆에 對한 文獻的 考察, 서울, 大韓韓方內科學會 第13號, pp.58-62, 66-67, 1992.
46. Baddeley A. D., Bressi S., Sala S, D., Logie R., and Soinnler H. : The decline of working memory in Alzheimer's disease. *Brain* 114, 2521-2542, 1991.
47. Borchelt DR, Thinakaran G, Eckman CB, Lee MK, Davenport F, Ratovitsky T, Prada C-M, Kim G, Seekins S, Yager D, Slunt HH, Wang R, Younkin SG, Sisodia SS : Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate $A\beta$ 1-42/1-40 ratio in vitro and in vivo. *Neuron* 17:1005-1013, 1996.
48. Buxbaum JD, Greengard P: Regulation of APP processing by intra-and intercellular signals, *Ann*

- NY Acad Sci 777:327-331, 1996.
49. Da Cruz E, Silva OAB, Iverfeldt K, Oltersdorf T, Sinha S, Greenbard P: Regulated cleavage of Alzheimer β -amyloid precursor protein in the absence of the cytoplasmic tail, *Neuroscience* 57:873-877, 1993.
50. Lemere CA, Lopera F, Kosik K'S, Lendon CL, Ossa J, Saido TC, Yamaguchi H, Ruiz A, Martinez A, Martinez A, Madrigal L, Hincapie L, Hincapie L, Arango JC, Anthony DC, Koo EH, Goate AM, Selkoe DJ, Arango JC : the E280A presenilin 1 Alzheimer mutation produces increased $A\beta_{42}$ deposition and severe cerebellar pathology. *Nat Med* 2:1146-1150, 1996.
51. Whitehouse P. J., Price D. L., Struble R. G., Clark R. W., Coyle J. T., and DeLong M.R.: Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science* 215, 1237-1239, 1982.
52. Wolf BA, Wertkin AM, Jolly YC, Yasuda RP, Wolfe BB, Konrad RJ, Manning D, Ravi S, Williamson JR, Lee VM-Y : Muscarinic regulation of Alzheimer's disease amyloid precursor protein secretion and amyloid β -protein production in human neuronal NT2N cells. *J Biol Chem* 270:4916-4922, 1995.
53. Echoers MRW, Riorcon JF: Membrane proteins with soluble counterparts: role of proteolysis in the release of transmembrane proteins. *Biochemistry* 30:10065-10074, 1991.
54. Pandiella A, Massague J : Multiple signals activate cleavage of membrane transforming growth factor- α precursor, *J Biol Chem* 266:5796-5773, 1991.
55. Park C. H., Kim S. H., Choi W., Lee Y.J., Kang S. S., Kim J. S., and Suh Y.H.: Novel anticholinesterase and anti-amnesic activities of dehydroevodiamine HCL, A constituent of *Evodia rutaecarpa*, *Planta Medica* 62, 405-409, 1996.
56. Refolo LM, Salton SR, Anderson JP, Mehta P, Robakis NK : Nerve and epidermal growth factors induce the release of the Alzheimer amyloid precursor from PC12 cell cultures, *Biochem Biophys Res Commun* 164:664-670, 1989.
57. Levisohn L. F. and Osacson O : Excitotoxic lesions of the ratenohinal cortex. Effects of selective neuronal damage on acquisition and retention of a non-spatial reference memory task. *Brain Res*, 565, 230-244. 1991.
58. Lines, C. R., J. H. Ambrose, A. Heald, and M. Traub. : A double-blind, placebo-controlled study of the effects of eptasigmine on scopolamine-induced cognitive deficits in healthy male subjects. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* 8: 271-278, 1993.
59. Lukaszewska, I. Scopolamine impairs object exploration but not habituation in rats. : *Acta Neurobiol. Exp.* 53: 243-250, 1993.
60. Ons, S., K. Kitamura, M. Maekawa, K. Hirata, M. Ano, W. Ukai, T. Yamafuji, and H. Narita. : 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. Pharmacol.* 62: 81-86, 1993.
61. Brambilla, A., A. Ghiorzi, N. Pitsicas, and F. Borsini. : DAU 6215, a novel 5-HT sub(3)-receptor antagonist, selectively antagonizes scopolamine-induced deficit in a passive-avoidance task, but not scopolamine-induced hypermotility in rats. *Pharm. Pharmacol.* 45: 841-843, 1993.
62. Dawson, G. R., S. D. Inversen. : The effects of novel cholinesterase inhibitors and selective muscarinic receptor agonists in tests of reference and working memory. *Behav. Brain Res.* 57: 143-153, 1993.
63. Dennes, R. P., J. C. Barnes. : Attenuation of scopolamine-induced spatial memory deficits in the rat by cholinomimetic and non-cholinomimetic drugs using a novel task in the 12-arm radial maze.

- Psychopharmacology. 111: 435-441, 1993.
64. Echoers MRW, Riorcon JF : Membrane proteins with soluble counterparts: role of proteolysis in the release of transmembrane proteins. *Biochemistry* 30:10065-10074, 1991.
65. Meltzer, H. Y., B. L. Chai, P. A. Thompson, and B. K. Yamamoto. : Effect of scopolamine on the efflux of dopamine and its metabolites after clozapine, haloperidol or thioridazine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 268: 1452-1461, 1994.
66. Saponjic, R. M., K. Mueller, D. Krug, and P. M. Kunko. : The effects of haloperidol, scopolamine, and MK-801 on amphetamine-induced increases in ascorbic and uric acid as determined by voltammetry in vivo. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 48: 161-168, 1994.
67. Sok. D. E., S. H. Cha, T. S. Ko, and Y. Cho.: Effects of Nonionic Surfactants on Solubilization and Stability of Mouse Brain Acetylcholinesterase. *Korean Biochem. J.* 27: 308-312, 1994.
68. Stratton SR, Worley PF, Litz JS, Parsons SJ, Huganir RL, Baraban JM : Electroconvulsive treatment induces a rapid and transient increase in tyrosine phosphorylation of a 40-kilodalton protein associated with micro tubule-associated protein 2 kinase activity. *J Neurochem* 56:147-152, 1991.
69. Velazquez-Moctezuma, J., A. Aguilar-Garcia, and O. Diaz-Ruiz. : Behavioral effects of neonatal treatment with clomipramine, scopolamine, and idazoxan in male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 46: 215-217, 1993.
70. Breakfield XO and Geller AI, Gene transfer into the nervous system. *Mol Neurobiol.* 1, 339-371, 1989.
71. Kowall NW, Beal MF, Busciglio J, Duffy LK and Yankner BA., An in vivo model for the neurodegenerative effects of beta amyloid and protection by substance P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 7247-7251, 1991.
72. Breakfield XO and DeLuca NA, Herpes simplex virus for gene delivery to neurons. *New Biol.* 3, 203-218, 1991.
73. Kandel E. R., Schwartz J. H. and Jessell T. M., *Principles of Neural Science* 3rd edition, 1991.
74. Selkoe DJ., *N. Engl. J. Med.* 320, 1484-1487, 1989.
75. Selkoe DJ., *Scientific American*, November, 68-72, 1991.
76. Yankner BA, Dawes LR, Fischer S, Villa-Komaroff L, Oster-Granite ML and Neve RL., Neurotoxicity of a fragment of the amyloid precursor associated with Alzheimer's disease 1989.
77. Yoo-Hun Suh, "An etiological role of amyloidogenic carboxyl-terminal fragments of the b-amyloid precursor protein in Alzheimer's disease", *J. Neurochem.* in press.
78. Weinstein HC, Scheltens P, Hijdra A., et al., Neuroimaging in the diagnosis of Alzheimer's disease II. Positron and single photon emission tomography. *clinical Neuro. Neurosurg.* 95, 81-91, 1993.
79. 李尙仁 외 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p.211, pp.229-303, 317-330, 353-356, 399-402, 488-489, 1982.
80. 陳存仁 : 圖說 漢方醫藥大事典, 東京, 講談社, pp.120-123, p.130, pp.132-134, p.136, 148, 150, pp.170-173, p.204, pp.206-207, p.236, 238, 239, 298, 300, 301, 348, 350, 351, 1982.
81. 李尙仁 : 本草學, 서울, 修書院, p.54, 55, 101, 102, 407, 408, pp.428-430, p.434, 435, 439, 459, 460, 466, 467, 1982.
82. 姜秉秀 외 : 本草學, 서울, 永林社, p.195, 196, 274, 409, 410, 419, 420, 423, 424, 425, 427, 428, 509, 534, 535, 578, 579, 1991.
83. 李時珍 : 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, (上) pp. 696-698, 758-760, 833-837, 849-852, 1027-1030. (下)

pp.1741-1744, 2353-2357, 1982.

84. 張隱庵 氏 : 本草三家合註, 서울, 成輔出版社, p.17, 18, 34, 35, 62, 63, pp.100-103, p.137, 138, 1981.
85. 新文豐出版公司 : 新編中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, p.474, p.1479, 1480, pp.261-264, 302-306, 957-959, 1308-1310, 1468-1472, 1830-1833, 2102-2105, 2200-2203, 1971.

=Abstract=

Effects of KakamBoyanghwanohTang (KBT) on inhibition of impairment of learning and memory, and acetylcholinesterase in amnesia mice

Sung-Soo Moon · Sang-Ryong Lee

Dept. of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Tae Jon University, Taejon, Korea.

Alzheimer's disease (AD) is progressive neurodegenerative

disease, which is pathologically characterized by neuritic plaques and neurofibrillary tangles associated with the acetylcholinesterase, apolipoprotein E and butylcholinesterase, and by mutations in the presenilin genes PS1 and PS2, and amyloid precursor proteins (APPs) overexpression.

The present research is to examine the inhibition effect of KBT on PS1, PS2 and APPs overexpression by detected to Western blotting. To verify the Effects of KBT on cognitive deficits further, we tested it on the scopolamine (1 mg/kg)-induced amnesia model of the mice using the Morris water maze tests, and there was ameliorative effects of memory impairment as a protection to scopolamine. KBT only partially blocked the increase in blood serum level of acetylcholinesterase and Uric acid induced by scopolamine, whereas blood glucose level was shown to attenuate the amnesia induced by scopolamine and increased extracellular serum level compared with only scopolamine injection.

In conclusion, studies of KBT that has been know as anti-choline and inhibition abilities of APPs overexpression, this could also be used further as a important research data for a preventive and promising symptomatic treatment for Alzheimer's disease.