

대두 이소플라본 섭취가 흰쥐에서 미로수행능력과 뇌 중 Acetylcholinesterase 활성에 미치는 영향

오 현 경 · 김 선 희

국민대학교 자연과학대학 식품영양학과

Effect of Soy Isoflavone Intake on Water Maze Performance and Brain Acetylcholinesterase Activity in Rats

Oh, Hyun-Kyung · Kim, Sun-Hee[§]

Department of Foods and Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

ABSTRACT

This study was performed to determine the effect of soy isoflavones on brain development and function in rats. Forty Sprague-Dawley male rats were provided diets containing different levels of soy isoflavones for 6 weeks: 0 ppm (control), 50 ppm (low isoflavone intake; LI), 250 ppm (medium isoflavone intake; MI) and 500 ppm (high isoflavone intake; HI). Learning ability was evaluated by a Y-shaped water maze and the activity of acetylcholinesterase in brain was assayed after decapitation. Food intake and body weights as well as weights of brain, liver, spleen, heart and kidney showed no significant difference among the four groups, which means 500 ppm of isoflavones is safe. In the water maze test, the frequency of error counted when rats entered one end of the alley without platform was significantly lower in the HI group than in the control group, and the escape latency as swim time taken to escape on the hidden platform was significantly shorter in the HI group than in the LI and control groups. The activity of acetylcholinesterase of the brain was significantly higher in the HI and MI groups than in the control group. Therefore, the results indicate that isoflavones may improve the cognitive function without adverse effects. (*Korean J Nutrition* 39(3): 219~224, 2006)

KEY WORDS : isoflavone, water maze, acetylcholinesterase.

서 론

식품에 들어있는 생리활성물질과 그 기능성에 대한 관심이 증대되고 있으며, 특히 동서양에서 섭취량의 차이가 많은 식품 성분과 발생률이 현저히 다른 질병과의 관련성을 역학적으로 밝히고자 하는 연구들이 많이 이루어지고 있다. 우리나라를 비롯한 동양권에서 섭취량이 많은 콩에는 피틴산, 트립신저해제, 이소플라본, 사포닌, 식이섬유, 올리고당 등의 다양한 기능성 물질이 존재하는 것으로 알려져 있다.^{1,2)} 그 중에서 이소플라본은 관련연구가 활발하게 이루어지고 있는 실정이며, 심혈관계 질환뿐만 아니라 골다공증, 유방암, 전립선암과 같은 호르몬과 관련된 질병의 발생을 낮추

주는 성분으로서 알려져 있으나^{3,4)} 학습능력과 인지기능과의 관련성을 밝히는 연구보고는 거의 없다.

이소플라본은 식물계에 광범위하게 존재하는 diphenol 화합물로서 배당체 형태인 genistin, daidzin, glycitin과 비배당체 형태인 genistein, daidzein, glycitein 등의 형태로 존재한다.⁵⁾ 대두에 들어있는 이소플라본은 대부분 배당체 형태로 존재하며 이는 비배당체인 aglycone 형태의 이소플라본에 비해 체내 이용률이 낮다. 식품으로 배당체의 이소플라본을 섭취하면 섭취 후 장관의 효소인 glucosidase에 의해 비배당체로 전환되어 체내로 흡수되어 들어가고 더 대사되어 equol로 전환되는 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 하지만 대두를 발효시키면 대부분의 이소플라본이 비배당체 형태로 전환하고 생리 활성이 증가하므로 대두 발효식품에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.⁷⁾

뇌 조직에서 acetylcholine (ACh)의 농도는 식이 choline이나 phosphatidylcholine의 보충에 의해 증가되며⁸⁾ 이러한 ACh 농도의 증가는 choline성 신경세포를 활성화시키

접수일 : 2006년 2월 1일

채택일 : 2006년 3월 28일

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : shkim@kookmin.ac.kr

고 이로 인하여 생성된 acetylcholine esterase (AChE)의 활성 또한 증가된다.⁹⁾ 뇌 발달이 활발히 이루어지는 신생아기에 choline을 뇌로 이동시키는 능력이 최대에 달하기 때문에,¹⁰⁾ choline은 뇌 발달과 인지능력 향상에 효과적일 것으로 보고 되었다.¹¹⁾

뇌조직의 거의 모든 세포막에는 AChE가 존재한다고 알려져 있다.¹²⁾ AChE는 ACh를 가수분해 하는데, ACh는 acetyl CoA와 choline으로부터 choline-O-acetyltransferase에 의해 합성된다.¹³⁾ 세포막의 유동성은 세포막과 결합하는 효소의 활성에 영향을 미치고 세포막을 통한 이동과정을 조절하며 세포막의 이중 지방층에서 확산과 같은 수동적 이동에 중요한 역할을 한다. 노화과정에서 보면 지방산의 포화도가 증가하여 뇌 세포막의 유동성이 감소하게 되며 결국 세포막과 반응하는 효소의 활성도 감소하게 된다.¹⁴⁾ 포유동물에서 choline성 신경세포는 전뇌기저핵을 포함하는 전뇌기저부에 주로 존재하며, 기억력과 관련이 있는 주된 신경세포로서 인지기능을 담당하는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁾

그러므로 본 연구에서는 성장기 수컷 흰쥐를 대상으로 대두 이소플라본의 첨가수준이 다른 세 종류의 식이를 6주간 공급한 후 이소플라본이 인지기능에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. Y형 수미로를 이용하여 학습능력을 알아 보았으며, 인지기능에 관여하는 것으로 알려진 신경전달물질인 ACh와 관련하여 AChE 활성을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물의 사육

체중 150~160 g인 6주령 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 40마리를 중앙실험동물에서 구입하여 사육실의 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 $65 \pm 5\%$, 12시간의 낮 밤 주기로 조절된 환경에서 고형사료 (CJ 주식회사, Incheon)와 물 (1차 이온교환수)을 무제한 공급하면서 환경에 적응시켰다. 1주일 뒤에 평균 체중 206 ± 6 g인 실험동물을 체중에 따라 난괴법으로 10마리씩 4군으로 나누어서 실험식이와 물을 자유급식으로 제공하면서 6주간 사육하였다.

2. 실험식이

실험식은 American Institute of Nutrition (AIN-93G)¹⁶⁾ 식이를 기준으로 이소플라본을 실험군에 따라 각기 0 ppm (control), 50 ppm (low isoflavone intake; LI), 250 ppm (medium isoflavone intake; MI), 500 ppm (high isoflavone intake; HI)을 첨가하였다 (Table 1). 이소플라본의 첨가기준은 미국의 식품의약청 (Food and Drug Administration, FDA)이 권장하는 대두 단백질의 섭취 수준인 1일 25 g을 근거¹⁷⁾로 하여 이소플라본 함량은 50 mg으로 계산하였으며 또한 한국인의 일상적 섭취 수준인 30 mg¹⁸⁾을 고려하고 이를 미국인과 한국인의 표준 체중을 감안하여 체중 kg당 0.6 mg으로 환산하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients (g/kg diet)	Control	LI ¹⁾	MI	HI
Corn starch	529.486	529.336	528.736	528.986
Sucrose	100	100	100	100
Cellulose	50	50	50	50
Casein	200	200	200	200
L-cystine	3	3	3	3
Corn oil	70	70	70	70
Mineral mixture ²⁾ (AIN-93G)	35	35	35	35
Vitamin mixture ³⁾ (AIN-93VX)	10	10	10	10
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
Tert-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014
Isoflavone powder	0	0.15	0.75	1.5
Total	1000	1000	1000	1000

1) LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake

2) Mineral mixture provides calcium carbonate, 12.5 g; sodium chloride, 2.59 g; potassium citrate, 2.48 g; potassium phosphate, 6.86 g; potassium sulfate, 1.63 g; magnesium oxide, 0.85 g; manganous carbonate 0.02 g; ferric citrate, 0.21 g; zinc carbonate, 0.06 g; cupric carbonate, 0.01 g; potassium iodate, 0.00035 g; sodium selenite, 0.00036 g; chromium potassium sulfate, 0.01 g; ammonium paramolybdate, 0.0003 g; sodium meta-silicate, 0.05 g; lithium chloride, 0.0006 g; boric acid, 0.003 g; sodium fluoride, 0.002 g; nickel carbonate, 0.001 g; ammonium vanadate, 0.0002 g; sucrose finely powdered, 7.73 g

3) Vitamin mixture provides thiamin HCl, 0.006 g; riboflavin, 0.006 g; pyridoxine HCl, 0.007 g; niacin, 0.03 g; calcium pantothenate, 0.016 g; folic acid, 0.002 g; biotin, 0.0002 g; vitamin B₁₂, 0.00001 g; dry vitamin A palmitate, 4.000 U; dry vitamin E acetate, 50 U; vitamin D₃ trituration, 1.000 U; menadione sodium bisulfite complex, 0.00005 g; sucrose finely powdered, 9.81 g

식이 섭취량은 2일에 한번씩 측정하였으며 체중은 실험 기간 동안 1주일에 한번씩 일정한 시간에 측정하였다. 체중은 식이 섭취에서 오는 갑작스러운 체중의 변화를 막기 위해 밥그릇을 빼고 2시간 후에 측정하였다. 식이효율 (Food efficiency ratio; FER)은 일정기간의 체중증가량을 동일 기간 섭취한 식이량으로 나누어 산출하였다.

3. 미로 검사

학습 능력을 평가하기 위해 Y형 수미로 (Y-shaped water maze)¹⁹⁾를 이용하여 실험 4주째부터 2주간 수미로 검사를 실시하였다. 본 실험에서 사용한 Y형 수미로는 가로 20 cm, 세로 70 cm, 높이 45 cm의 3개의 날개가 Y자 모양으로 되어 있으며, 실험에 들어가기에 앞서 두 날개에 35 cm 높이의 발판을 놓고 물의 온도를 27℃로 하여 발판이 잠길 정도로 채워 준비해 두었으며 물은 매일 갈아주었다. 첫째 주에는 Y형 미로의 양 날개에 발판을 두고 Y형 미로의 제일 아래지점에 흰쥐를 넣어 시작점으로 하였으며 물에서 벗어나기 위해서는 수영을 하여 발판을 찾아 올라가게 하였다. 실험동물이 미로의 시작점에서 수영을 하여 왼쪽 또는 오른쪽 발판에 올라서면 올라선 발판의 방향을 선호하는 방향으로 확인하였으며 5일간의 실험에서 많이 올라가는 왼쪽 또는 오른쪽 발판을 그 동물의 선호방향으로 간주하였다. 둘째 주에는 첫 주에 확인한 선호방향에 있는 발판을 없애고 반대편에만 발판을 두고 첫째 주에 학습한 선호방향의 발판을 습관적으로 찾아가면 발판이 없어서 다른 방향의 발판을 찾아가게끔 유도하였고 바꾼 방향의 발판을 기억해야 다음 날 쉽게 발판에 올라서면서 물을 피할 수 있도록 의도하였다. 이 때 발판이 없는 날개 쪽을 들어가면 error로 간주하였고 출발 후 발판에 올라서기까지의 시간을 기록하였는데 이 소요시간을 escape latency로 간주하였다.

4. 시료 수집

실험동물은 6주간 사육 후 희생 전 12시간 동안 절식 시킨 다음 단두기로 희생시켜 뇌는 즉시 꺼내어 드라이아이스에 급속 냉동하여 보관하였다. 간, 신장, 심장 및 비장은 떼어서 무게를 측정하였다.

5. Acetylcholinesterase activity 측정

Acetylcholinesterase 활성은 Ellman의 방법²⁰⁾을 변형하여 측정하였다. 좌뇌를 측정시료로 삼아 phosphate buffer (pH 8.0, 0.1M) 18 ml이 들어 있는 시험관에 넣어 homogenizer로 균질화 시켰다. 이 균질용액 0.2 ml를 취하여 2.8 ml phosphate buffer (pH 8.0, 0.1M)가 들어 있는 cuvette에 넣고 DTNB reagent (0.01M 5 : 5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid in 0.1M phosphate buffer) 100 μ l를 첨가하여 spectrophotometer (Milton Roy Co. USA)를 이용하여 412 nm에서 absorbance를 측정한 후 20 μ l의 0.075M acetylthiocholine iodide substrate를 넣고 1분간 absorbance의 변화를 측정하여 계산하였다.

6. 통계 처리

실험 결과의 자료는 SPSS 12.0 (statistical package for social science)을 이용하여 통계처리를 하였다. 결과는 실험군별 평균과 표준오차로 나타내었고 실험군간의 비교는 one-way ANOVA로 분석한 후 Duncan's multiple range test로 p < 0.05 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 식이 섭취량 및 체중 증가량

실험동물의 실험군별 6주간 식이 섭취량, 체중증가량 및 식이효율은 Table 2에 제시하였다. 식이 섭취량, 체중증가량 및 식이효율은 식이 내 이소플라본 함량에 따른 실험군간의 유의성은 나타나지 않았다. 시험 6주간의 식이섭취량은 대조군이 평균 947 g, LI군이 956 g, MI군이 965 g, HI군이 957 g로 실험군간 유의적인 차이가 없었으며 체중증가량의 경우에도 네 실험군이 모두 232 g로 동일하였다. 따라서 식이효율의 경우에도 0.24로 네 실험군에서 차이가 없었다.

400 ppm 이상의 이소플라본 첨가식을 제공하였을 때 암컷의 경우 식이 섭취량을 감소시키고 체중 증가량을 감소시킨다는 연구²¹⁾가 있었으며, Lund와 Lephart²²⁾는 Long-Evans종의 암 수컷 쥐에게 상업적으로 파는 콩에서 추출한 phytoestrogen 600 ug/g 식이를 먹였더니 식이와 물

Table 2. Total food intake, body weight gain and food efficiency ratio (FER) in rats

Group	Food intake (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g)	FER
Control	947 \pm 22 ²⁾	437 \pm 9	232 \pm 9	0.24 \pm 0.01
LI ¹⁾	956 \pm 17	437 \pm 5	232 \pm 5	0.24 \pm 0.01
MI	965 \pm 12	438 \pm 7	232 \pm 6	0.24 \pm 0.01
HI	957 \pm 39	439 \pm 6	232 \pm 6	0.24 \pm 0.01

1) LI: Low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake

2) Values are means \pm SEM (n = 10).

의 섭취량이 증가하였음에도 불구하고 체중은 감소하였고 보고하였다. 한편 Delcols 등²³⁾의 연구에서는 식이에 genistein을 0, 5, 25, 100, 250, 625, 1250 ppm 첨가하였더니 1,250 ppm의 첨가 시에만 식이섭취량과 체중증가량이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 또한 수컷 토끼에게 이소플라본과 고 콜레스테롤을 급여한 Yamakoshi 등²⁴⁾의 연구에서는 이소플라본 섭취가 식이섭취 및 체중 증가에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 이와 같이 이소플라본의 섭취는 첨가량과 동물의 종류 및 성별에 따라 식이섭취량에 영향을 미칠 수 있으며, 섭취량의 정도에 따라 체중에 미치는 영향도 다양함을 알 수 있었다. 본 연구에서는 500 ppm의 이소플라본을 첨가한 식이를 섭취한 HI군에서도 식이 섭취량과 체중 증가량 및 식이효율에 영향을 미치지 않았으므로 일상적 섭취량의 10배의 섭취는 성장기 수컷 흰쥐에서는 식이섭취량과 체중에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

2. 뇌 및 장기의 무게

6주간 사육 후 실험동물의 뇌, 간, 비장, 심장 및 신장의 무게를 측정된 값은 Table 3에서와 같다. 뇌, 간, 비장, 심장 및 신장의 무게에서는 이소플라본의 섭취 수준에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

그러므로 본 실험에서의 이소플라본 첨가수준은 식이섭취량이나 체중에 영향을 미치지 않았을 뿐만 아니라 장기 무게에도 영향을 미치지 않는 수준이므로 이소플라본이 뇌 발달이나 뇌 기능에 미치는 영향을 살펴보기에 적절하고 결과의 해석에도 무리하지 않는 범위라고 사료된다.

3. 미로 검사

이소플라본의 섭취가 학습능력에 어떠한 영향을 미치는지를 Y형 수미로를 이용하여 측정된 결과는 Table 4에서와 같다. 실험 첫 주에 하루에 한번씩 5일간 실험동물을 수미로에 넣어 헤엄치게 하여 Y형의 양 날개 중 많이 가는 쪽을 선호하는 방향으로 확인한 후, 둘째 주에는 선호하는 방향과 반대 방향에 발판을 두어 발판이 없는 날개로 들어가면 error로 간주하였는데, LI군의 평균 error의 수는 2.4, MI군의 경우에는 3.1, HI군의 경우에는 1.9로 대

조군의 2.6에 비하면 LI군과 HI군에서 error의 수가 적은 경향을 나타내었다. 통계적으로 유의한 차이는 HI군과 MI군에서만 나타나서 HI군에서 MI군에 비해 error의 수가 유의적으로 적었다. 미로의 시작지점에서 수영을 하여 발판에 올라서기까지에 소요된 시간으로 나타낸 escape latency는 대조군에서 12.9초, LI군에서 10.8초, MI군에서 10.0초, HI군에서 7.6초로 이소플라본의 섭취량이 많아질수록 감소하는 경향을 보였다. 특히 HI군에서 escape latency는 대조군과 LI군과 비교하여 유의적으로 적은 것으로 나타났다. 즉, 이소플라본의 섭취가 학습 수행능력에 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

Lee 등²⁵⁾은 10개월 된 수컷 쥐에게 이소플라본을 kg 식이당 0.3 g과 1.2 g 함유된 식이를 4개월간 제공하고 수미로검사를 하였더니 0.3 g 이소플라본 식이군이 미로를 찾아가기까지의 수영시간이 대조군에 비해 유의적으로 짧았으므로 적정량의 이소플라본 섭취는 나이가 들면서 나타나는 인지기능의 감퇴현상을 감소시키는 것으로 해석하였다.

하루에 0.5 mg과 100 mg의 대두 이소플라본을 성인 남녀에게 10주간 제공한 후 인지기능을 조사한 연구²⁶⁾에서 보면 남녀 모두에서 장·단기간의 기억이 증진됨을 볼 수 있었으나 주의력 검사에서는 아무런 영향이 나타나지 않았다. 이 연구에서는 생화학적인 기전을 밝히지는 못하였으나 10주간의 비교적 짧은 기간의 영양 중재가 인지기능 증진에 효과적임을 임상적으로 증명하였으며 이러한 효과가 여자에게만 국한된 것이 아님을 입증하였다고 본다.

그러므로 본 연구에서 HI군이 미로검사에서 error의 수가 유의적으로 적고 물을 피해 발판에 올라서기까지의 수

Table 4. Learning ability tested by Y-shaped water maze in rats

Group	Error (n)	Escape latency (sec)
Control	2.6 ± 0.4 ^{2)abc3)}	12.9 ± 1.6 ^b
LI ¹⁾	2.4 ± 0.3 ^{ab}	10.8 ± 0.8 ^b
MI	3.1 ± 0.4 ^b	10.0 ± 0.8 ^{ab}
HI	1.9 ± 0.2 ^a	7.6 ± 0.6 ^a

1) LI: Low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake

2) Values are means ± SEM (n = 10).

3) Values with different superscripts are significantly different as assessed by Duncan's multiple range test (p < 0.05).

Table 3. Organ weights in rats

Group	Brain	Liver	Spleen	Heart	Kidney
Control	1.95 ± 0.03 ²⁾	15.3 ± 0.5	0.70 ± 0.04	1.26 ± 0.03	2.91 ± 0.06
LI ¹⁾	1.93 ± 0.04	15.2 ± 0.4	0.74 ± 0.02	1.30 ± 0.03	2.80 ± 0.08
MI	1.98 ± 0.02	14.9 ± 0.5	0.67 ± 0.04	1.29 ± 0.03	2.79 ± 0.06
HI	1.98 ± 0.02	14.2 ± 0.5	0.67 ± 0.03	1.29 ± 0.03	2.79 ± 0.06

1) LI: Low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake

2) Values are means ± SEM (n = 10).

(g wet tissue)

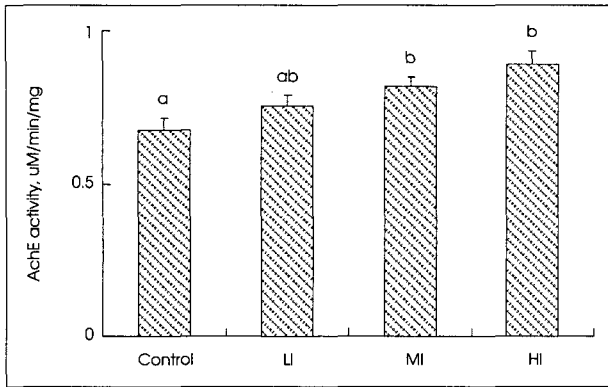


Fig. 1. Acetylcholinesterase activity of the brain. Bars represent means \pm SEM (n = 10). Values with different superscripts are significantly different as assessed by Duncan's multiple range test (p < 0.05). LI: Low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake.

영시간이 짧았던 점은 다른 연구결과와 부합되며 이소플라본의 섭취가 인지기능에 도움이 됨을 의미한다.

4. 뇌의 Acetylcholinesterase 활성

실험군별 뇌의 acetylcholinesterase (AChE)의 활성은 Fig. 1에 제시하였는데 MI와 HI군에서 대조군에 비해 AChE 활성이 유의적으로 증가한 것으로 나타났다.

알츠하이머병을 가진 노인성 치매환자에서 보면 cholinergic neuron의 결함이 있어서 ACh를 합성하는 효소인 choline acetyl-transferase (ChAT) 감소, ACh 수준의 감소, AChE 활성 감소 등의 현상이 나타난다.^{27,28)} 특히 알츠하이머병 환자의 뇌에서 AChE 활성이 매우 감소하였다.²⁹⁾ 뇌의 ChAT 활성을 알아본 실험에서는 수컷 흰쥐에게 100 ppm과 400 ppm의 이소플라본을 16주 동안 공급하였는데, 대뇌피질의 ChAT 활성이 100 ppm을 섭취한 실험군에서 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며 전뇌에서는 ChAT 활성이 이소플라본을 섭취한 두 그룹에서 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다고 보고하였다.³⁰⁾ 이와 같이 이소플라본의 섭취는 cholinergic neuron에 관여함을 알 수 있다. 그리고 Davies³¹⁾에 의하면 알츠하이머 환자의 편도핵, 해마, 대뇌피질에서 AChE 활성이 감소되었다고 하며 뇌의 부위에 따라 AChE 활성은 차이가 있음을 시사하였다.

알츠하이머병 환자의 뇌를 현미경상에서 보면 섬유상의 엉킴이 나타나는 것이 특징적이며 이러한 섬유상의 플라크성 엉킴에는 β -amyloid가 다량 함유되어 있어서 β -amyloid와 관련한 연구들이 많이 이루어지고 있다. 알츠하이머성 플라크에 AChE 활성이 증가하고 AChE는 정상적인 뇌나 또는 다른 조직세포에 있는 AChE와 구조적으로 차이가 있다고 하는 연구가 있는데 Mimori 등³²⁾은 알츠하이머병 환자의 뇌에 있는 AChE는 glycosylation이 많이 이루어

어지고 hydrophobic 특성이 강한 변칙적인 AChE가 많다고 보고하였다. 이러한 소수성의 변성 AChE는 β -amyloid의 응집을 증가시키는 것으로 보이므로³³⁾ Bartolini 등³⁴⁾은 AChE 저해제를 human recombinant AChE에 처리하였더니 β -amyloid의 응집을 방해하는 것으로 보고하였다. 이와 같이 노인성 치매환자의 뇌에서 AChE는 choline성 신경세포에 관여함을 알 수 있다.

본 실험에서 나타난 MI군과 HI군의 AChE 활성의 증가는 위의 미로검사 결과와 함께 유추해보면 이소플라본이 성장기의 흰쥐의 정상적인 뇌에서 학습과 인지기능에 관여하는 cholinergic neuron에 영향을 미쳐서 효소의 활성을 증가시키고 인지능력을 향상시키는 것으로 생각된다.

결론 및 요약

본 연구에서는 SD중 수컷 흰쥐에게 이소플라본을 각각 50, 250, 500 ppm의 세 수준으로 첨가한 식이를 6주간 공급하고 Y-형 수미로 검사를 실시하였고 뇌 중 acetylcholine esterase 농도를 분석하여 이소플라본이 인지능에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

식이 섭취량과 체중증가량은 실험기간에 실험군 간에 차이가 없었으며 식이효율도 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 또한 뇌, 비장, 심장 및 신장 등의 장기 무게에도 실험군 간에 차이가 없었다. 이러한 결과는 본 실험에서 사용한 50 ppm의 이소플라본의 수준은 미국 식품의약국에서 권장하는 수준이며 한국인의 일상적인 섭취 수준이므로 권장수준의 10배의 이소플라본을 섭취하여도 식이 섭취량과 체중증가량 및 장기 무게에 영향을 미치지 않는다는 것을 의미한다.

이소플라본의 섭취가 학습능력에 미치는 영향을 알아보기 위해 Y형 수미로를 이용하여 실험한 결과에서 보면 HI군이 대조군에 비해 미로의 수행과정에 error의 수가 유의적으로 적었다. 또한 발판에 올라서기까지 소요된 수영시간도 HI군이 대조군과 비교하여 유의적으로 짧았다. 따라서 이소플라본의 섭취는 학습 능력 향상 및 기억력에 효과가 있음을 알 수 있었다.

이소플라본을 250 ppm, 500 ppm을 공급한 MI와 HI군에서 대조군에 비해 AChE 활성이 유의적으로 증가하였는데, 이러한 결과는 알츠하이머병을 가진 노인성 치매환자의 경우 choline성 신경세포의 기능이 원활하지 않아 AChE 활성이 감소하는 것으로 미루어 볼 때 이소플라본의 섭취가 신경세포를 자극하는 것으로 해석할 수 있을 것이다. Choline성 신경세포의 자극과 함께 미로의 수행능력도 증

가하는 것으로 생각된다.

이소플라본이 뇌 발달 및 기능에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 초기 단계이지만 이소플라본의 섭취는 뇌에서 인지기능에 영향을 미침을 알 수 있었다. 그러므로 이소플라본의 섭취가 다양한 연령에서 남녀 모두에게 뇌의 기능에 어떻게 영향을 미치는지 그 기전이 규명되어야 할 것이다.

Literature cited

- 1) Anderson RL, Wolf WJ. Compositional change in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *J Nutr* 125: 581S-588S, 1995
- 2) Coward S, Barnes NC, Setchell KDR, Barnes S. Genistein, daidzein and their glucoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem* 31: 394-306, 1993
- 3) Gilani GS, John JB, Anderson J. Phytoestrogens and health. AOCs Press, pp.260-330, 2002
- 4) Anderson JJ, Anthony M, Cline J, Washburn SA, Garner SC. Health potential of soy isoflavones for menopausal women. *Public Health Nutr* 2: 489-504, 1999
- 5) Kurzer MS, Xu X. Dietary phytoestrogens. *Annu Rev Nutr* 17: 358-381, 1997
- 6) Heinone S, Wahala K, Adlercreutz H. Identification of isoflavone metabolites dihydrodaidzein, dihydrogenistein, 6'-OH-O-dma and cis-4-OH-equol in human urine by gas chromatography mass spectroscopy using authentic reference compounds. *Anal Biochem* 274: 211-219, 1999
- 7) Wang HJ, Murphy PA. Isoflavone content of commercial soybean foods. *J Agric Food Chem* 42: 1666-1673, 1994
- 8) Jope RS. Effects of phosphatidylcholine administration to rats on choline in blood and choline and acetylcholine in brain. *J Pharmacol Exp Ther* 220: 332-328, 1982
- 9) Cheon YH, Chang YK, Baik TK. Evidence of memory improvement by phosphatidylcholine supplement at fetus and neonate. *Kor J Nutr* 32: 864-869, 1999
- 10) Lephart ED, Ladle DR, Jacobson NA, Rhees RW. Inhibition of brain 5 α -reductase in pregnant rats. Effects on enzymatic and behavioral activity. *Brain Res* 739: 356-360, 1996
- 11) Leathwood PD, Heck E, Mauron J. Phosphatidyl choline and avoidance performance in 17 month-old SEC/1ReJ mice. *Life Sci* 30: 1065-1071, 1982
- 12) Floof JF, Cherkin A. Scopolamine effects on memory retention in mice: A model of dementia? *Behav Neural Biol* 45: 169-184, 1986
- 13) Filagamo G, Marchisio PC. Acetylcholine system and neural development. *Neurosci Res* 4: 29-64, 1971
- 14) Davies P. Neurotransmitter-related enzymes in senile dementia of the Alzheimer type. *Brain Res* 171: 319-327, 1979
- 15) Mesulam MM. Human brain cholinergic pathways. *Prog Brain Res* 84: 231-241, 1990
- 16) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951, 1993
- 17) U.S. Food and Drug Administration. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fidsoypr.html> Posted: 04-21, 2000
- 18) Kwon TW, Song YS, Kim JS, Moon GS, Kim JI, Hong JH. Current research on the bioactive functions of soyfoods in Korea. *Kor Soybean Digest* 15: 147-160, 1998
- 19) Chung KS, Park HS. Effect of DHA-rich fish oil on brain development and learning ability in rats. *Kor J Nutr* 29: 167-177, 1996
- 20) Ellman GL, Courtney D, Andres V. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 88-95, 1961
- 21) Nam HK, Kim SH. Effect of soy isoflavone intake on urinary and fecal excretion of daidzein and genistein in ovariectomized rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 34: 27-35, 2005
- 22) Lund TD, Lephart ED. Dietary soy phytoestrogens produce anxiolytic effects in the elevated plus-maze. *Brain Res* 913: 180-184, 2001
- 23) Delcols KB, Bucci TJ, Lomax LG, LA�endresse JR, Warbritton A, Weis CC, Newbold RR. Effects of dietary genistein exposure development on male and female SD (Sprague-Dawley) rats. *Reprod Toxicol* 15: 647-663, 2001
- 24) Yamakoshi J, Piskula MK, Izumi T, Tobe K, Saito M, Kataoka S, Obata A, Kikuchi M. Isoflavone aglycone-rich extract without soy protein attenuates atherosclerosis development in cholesterol-fed rabbits. *J Nutr* 130: 1887-1893, 2000
- 25) Lee YB, Lee HJ, Won MH, Hwang IK, Kang TC, Lee JY, Nam SY, Kim KS, Kim E, Cheon SH, Sohn HS. Soy isoflavones improve spatial delayed matching-to-place performance and reduce cholinergic neuron loss in elderly male rats. *J Nutr* 134: 1827-1831, 2004
- 26) File SE, Jarrett N, Fluck E, Duffy R, Casey K, Wiseman H. Eating soya improves human memory. *Psychopharm* 157: 430-436, 2001
- 27) Israel M, Lesbats B, Morel N, Manaranche R, Salle GLGI. Is the acetylcholine releasing protein mediatoaphore present in rat brain? *REBS Letter* 233: 412-426, 1998
- 28) Wang Y, Kikuchi T, Sakai J, Wu L, Sato K, Okumura F. Aged-related modifications of effects of ketamine and propofol on rat hippocampal acetylcholine release studied by in vivo brain microdialysis. *Acta Anaesthesiol Scand* 44: 112-117, 1999
- 29) Takashi A, Ishimaru H, Ikarashi Y, Kishi E, Maruyama Y. Comprehensive analysis of neurotransmitters and their metabolites including acetylcholine and choline in rat brain nuclei. *Brain Res Protocols* 1: 70-74, 1997
- 30) Lee YB, Lee HJ, Sohn HS. Soy isoflavones and cognitive function. *J Nutr Biochem* 16: 641-649, 2005
- 31) Davies P. Neurotransmitter-related enzymes in senile dementia of the Alzheimer type. *Brain Res* 171: 319-327, 1979
- 32) Mimori Y, Nakamura S, Yukawa M. Abnormalities of acetylcholinesterase in Alzheimer's disease with special reference to effect of acetylcholinesterase inhibitor. *Behav Brain Res* 83:25-30, 1997
- 33) Selkoe DJ. Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer's disease. *Nature* 399: A23-31, 1999
- 34) Bartolini M, Bertucci C, Cavrini V, Andrisano V. β -Amyloid aggregation induced by human acetylcholinesterase: Inhibition studies. *Biochem Pharmacol* 65: 407-416, 2003