

난소절제 마우스에서 잔대 추출물의 인지능 개선 효과

장환희¹ · 김행란¹ · 이영민^{2*}

¹국립농업과학원 기능성식품과, ²서울여자대학교 식품영양학과

Effects of *Adenophora triphylla* var. *japonica* Extract on Cognitive Function in Ovariectomized Mice

Hwan Hee Jang¹, Haeng Ran Kim¹ and Young Min Lee^{2*}

¹Functional Food & Nutrition Division, Department of Agrofood Resources, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea

²Major of Food and Nutrition, Division of Applied Food System, Seoul Women's University, Seoul 01797, South Korea

ABSTRACT

Adenophora triphylla var. *japonica* extract has been reported to have estrogenic activity and beneficial effects in postmenopausal women requiring estrogen replacement therapy. This study investigated the effects of *A. triphylla* extract on cognitive function in ovariectomized mice. Water extracts from *A. triphylla* were administrated to ovariectomized mice fed a high fat diet for 6 weeks. The step through latency time in the passive avoidance test was shortened in ovariectomized mice as compared with sham-operated mice. However, administration of *A. triphylla* extracts had a tendency to prolong the latency time in ovariectomized mice. Moreover, *A. triphylla* supplementation caused a significant decrease in mean escape latency in the water maze test. These results indicate that *A. triphylla* could be used to improve estrogen deficiency-related learning and memory impairments in postmenopausal women.

Key words: *Adenophora triphylla* var. *japonica*, cognitive function, ovariectomized mice, passive avoidance, water maze

서 론

잔대(*Adenophora triphylla* var. *japonica*)는 사삼(沙蔘), 제니, 딱주라고도 불리우는 다년생 식물로서 쌍떡잎식물 초롱꽃목 초롱꽃과에 속한다(Park DS 2010). 잔대의 뿌리는 '사삼'이라 하여 식용뿐만 아니라, 약용으로 사용되어 왔으며, 최근 여러 연구에 의하여 다양한 생리활성이 보고되고 있다. 잔대 뿌리 추출물은 항산화 효과와 항돌연변이, 항종양 효과를 나타냈고, 고지방식을 공급한 마우스에서 체중과 체지방 감소 효과를 나타냈다(Choi HJ 등 2008; Ham YA 등 2009; Lee DR 등 2015). LPS로 유도된 대식세포에서는 잔대 뿌리 추출물이 nitric oxide와 염증성 사이토카인인 TNF- α , IL-6의 생성을 유의하게 억제시켰으며, 이것은 inducible nitric oxide synthase의 mRNA 발현의 감소를 수반하였다(Jang HH 등 2015). 또한, 잔대 물 추출물은 MCF-7 세포(인체 유방암 세포)에서 에스트로겐 활성을 나타내어 폐경기 여성에서 호르몬 대체 요법의 대안으로 가능성이 제시되었다(Lee YM 등 2013).

폐경은 50세를 전후로 하는 여성에서 에스트로겐의 감소로 인한 월경의 정지로, 안면 홍조 등의 혈관 운동 장애와 대사증후군, 심혈관질환 등의 유병률 증가를 주요 특징으로 갖는다(Carr MC 2003; Kannel WB & Levy D 2004). 최근 평균 수명의 증가에 따라 여성의 폐경 이후의 삶이 증가하게 되어, 이때 건강한 삶을 위한 예방이나 관리가 중요하다. 에스트로겐 대체 요법(Estrogen Replacement Therapy; ERT)은 폐경기 여성에서 에스트로겐 결핍과 관련된 증상이나 질병을 개선시키나, ERT의 생식기관의 암 발생과 같은 부작용 때문에 식품자원에서 유래한 대체 소재의 규명이 필요하다(Sumino H 등 2003; Siddiqui NI 등 2005).

에스트로겐 신호전달은 다양한 조직에 분포되어 있는 에스트로겐 수용체를 매개로 일어난다. 뇌는 에스트로겐 작용의 중요한 표적 기관으로(Shughrue PJ 등 2000) 에스트로겐은 뇌의 학습과 기억 기능에 영향을 준다. 폐경 후 여성에서 에스트로겐의 감소는 기억력 저하에 영향을 주었고(Frick KM 2002), 연령 증가에 따른 공간적 기억의 손상은 수컷 마우스보다 암컷 마우스에서 더 빨리 나타났으며(Frick KM 2000), 난소절제 동물모델에서 에스트로겐은 학습과 기억을 개선시켰다(Xu X & Zhang Z 2006). 마찬가지로, 폐경에 따른 에스

* Corresponding author : Young Min Lee, Tel: +82-2-970-5642, E-mail: ymlee@swu.ac.kr

트로젠의 손실이 여성의 기억력 저하에 영향을 준다면 에스트로젠 유사 활성을 나타내는 식품소재는 기억력을 개선시킬 것으로 기대할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 에스트로젠 활성이 있는 것으로 알려진 잔대 지하부의 열수 추출물이 폐경기 여성의 동물모델인 난소절제 마우스에서 호르몬 결핍에 의해 유도되는 인지능 손상에 미치는 영향을 평가하고자 하였다. 난소 절제한 마우스에 식이 중 0.5% 잔대 열수 추출물을 함유하고 있는 고지방식을 6주간 공급하였고, 수동회피시험과 수중미로시험을 통해 잔대 추출물이 학습 및 기억, 공간기억 능력에 미치는 영향을 분석하였다.

재료 및 방법

1. 잔대 열수 추출물 제조

잔대의 지하부는 강원 홍천군에서 2010년도에 생산된 것이었고, 경동시장에서 구입하였다. 잔대의 열수 추출은 잔대 건조 시료에 10배(중량 대비)의 증류수를 가하고, 80℃ 수욕상에서 환류냉각하면서 3시간씩 2회 반복추출하였다. 그 후에 ADVANTEC 페이퍼(No.6) (ADVANTEC Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 2회의 감압 여과를 거친 후 감압농축기(EYELA N-1000, Riakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 농축하였으며, 동결건조(PVTFD 10R, Ilsin Lab, Yangju, Korea)하여 시료로 사용하였다.

2. 실험동물 및 식이

난소절제 마우스(9주령)는 (주)중앙실험동물(서울, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 사육환경은 상대습도 50±10%, 온도 23±3℃, 조명시간 12시간(08:00~20:00), 조도 150~300 Lux, 환기회수 10~15회/시간으로 유지되었다. 실험동물은 실험동물용 고형사료와 음수를 자유 섭취하며, 1주간 적응할 수 있도록 하였고, 그 후에 난피법에 의해 3개의 군으로 분류하였다. 즉, 실험군은 난소절제하지 않고 고지방식이(식이 중 지방 함량이 18%, 지방으로부터의 열량이 36%)를 급여한 sham 대조군(S, n=10), 난소를 절제하고 고지방식을 급여한 난소절제 대조군(OVX, n=10), 난소를 절제하고 식이 중 0.5% 잔대 열수 추출물을 함유하고 있는 고지방식이(Lee SE 등 2013)를 급여한 잔대 처리군(OVX+0.5A, n=10)군으로 구성되었다. 실험식이와 음수는 6주간 자유로이 섭취하도록 하였으며, 실험식이의 조성은 Table 1에 제시하였다. 식이섭취량은 2일 간격으로 측정하였고, 체중은 식이섭취 시작일을 0 day로 하여 실험 종료일까지 1주일 간격으로 측정하였다. 본 연구의 동물 실험은 한림대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에 수행되었다(Hallym 2011-34).

Table 1. The composition of experimental diets

Ingredient	Sham and OVX (g/kg)	OVX + 0.5A (g/kg)
Corn starch	470.692	465.692
Casein	140	140
Sucrose	100	100
Beef tallow	180	180
Cholesterol	10	10
Fiber	50	50
Mineral mixture ¹⁾	35	35
Vitamin mixture ²⁾	10	10
L-Cystein	1.8	1.8
Choline bitartrate	2.5	2.5
TBHQ ³⁾	0.008	0.008
ATWE ⁴⁾		5
Total	1,000.00	1,000.00

¹⁾ Mineral mixture: AIN-93M mineral mixture(ICN, CA, USA).

²⁾ Vitamin mixture: AIN-93VX vitamin mixture(ICN, CA, USA).

³⁾ TBHQ: Tert-butylhydroquinone.

⁴⁾ ATWE: *Adenophora triphylla* var. *japonica* water ext.

Abbreviations: S, sham-operated + high fat diet; OVX, ovariectomized + high fat diet; OVX+0.5A, ovariectomized + high fat diet with 0.5% *Adenophora triphylla* var. *japonica* water ext.

3. 수동회피시험

6주간 잔대 열수 추출물을 섭취시키고, 수동회피시험을 실시하여 잔대 열수 추출물이 학습 및 기억력에 미치는 영향을 측정하였다. 수동회피시험은 Ogren이 제시한 방법(Ogren SO 1985)에 따라 다음과 같이 실시하였다. 수동회피상자(GEMINITM Avoidance System, San Diego Instrument, Inc., San Diego, CA)는 칸막이로 밝은 방과 어두운 방의 두 구획으로 나누어져 있었고, 바닥에는 전기 충격을 줄 수 있게 되어 있었다. 실험동물을 조명을 켜서 밝게 한 구획에 넣어주면 주변을 살피다가 어두운 구획으로 들어가게 되는데, 동물이 어두운 구획으로 넘어가는 즉시 전기충격(0.30 mA, 2초)을 주었다. 전기충격을 주고 나서 24시간 후에, 실험동물을 밝은 방에 다시 놓았을 때 어두운 방의 전기충격을 기억하여 어두운 방으로 가고 싶은 본성을 억제하는지를 밝은 방에서 체류하는 시간(step through latency)으로 측정하였다(Ogren SO & Stiedl O 2010).

4. 수중미로시험

잔대 열수 추출물이 공간기억에 미치는 영향을 조사하기

위해 6주간 잔대 열수 추출물을 섭취시킨 후 4일 동안 시험하였다. 수중미로시험은 Morris가 제시한 방법(Morris R 1984)에 따라 다음과 같이 실시하였다. 실험장비는 원형의 수조(stainless steel, 지름 150 cm, 높이 45 cm), 도피대(지름 10 cm, 높이 30 cm) 및 도피대의 위치를 기억할 수 있는 4개의 표지물로 구성되었다. 수조는 온도 22±2℃의 물로 채워져 있었고, 도피대는 수면 0.5 cm 밑에 위치하도록 하여 실험기간 동안 일정하게 전체 수조를 4등분한 부채꼴 중앙에 놓았다. 실험동물이 도피대를 찾아가 10초 이상 머무는 경우, 도피대를 찾아갈 때까지 소요되는 시간을 탈출잠복기(escape latency)로 하였으며, 이를 하루 2번 실시하여 평균 탈출잠복기(mean escape latency)를 구하였다. 실험은 1일 2회씩 4일간 실시하였고, 실험동물이 도피대를 120초 이내에 찾지 못하면 탈출잠복기를 120초로 하였고, 도피대에 10초간 두었다가 실험을 끝냈다.

5. Acetylcholinesterase(AChE) mRNA 발현 측정

6주간 실험식이 공급 후에, 실험동물을 희생하여 뇌 조직을 적출한 후 해마(hippocampus)를 분리하여 액체질소로 즉시 동결하였고 분석에 사용하였다. 각 군당 4마리씩 실험동물 뇌 조직의 해마로부터 RNA는 RNeasy Microarray Tissue Mini Kit(Qiagen, Valencia, CA)을 이용하여 추출하였고, RNA integrity(RIN>9.0)는 Bioanalyzer 2100(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)을 사용하여 측정하였다. RNA 0.5 µg을 RT² first strand synthesis kit(Qiagen)를 사용하여 이중나선의 cDNA로 합성하였다. 그 후에 CFX96™ Real-Time PCR Detection System(BIO-RAD)에서 SYBR green PCR reagents(Bio-Rad)로 AChE(PPM35356A, Qiagen)의 real time quantitative PCR 반응(Pre-denaturation 95℃ 10 min; 95℃ 15 s, 60℃ 1 min; 40 cycles)을 수행하였다. GAPDH(PPM02946E, Qiagen)를 endogenous control로 사용하였고, PCR 반응의 특이성은 melting curve 분석으로 확인하였다.

6. 산화스트레스 측정

해마는 PBS에 넣어 FastPrep®-24(MP Biomedicals, Inc., Santa Ana, CA)로 균질화시켜 단백질 함량을 정량(Bio-Rad, Hercules, CA)한 후에 malondialdehyde(MDA)는 TBARS assay (R&D systems, Inc., Minneapolis, MN)로 glutathione(GSH)은 Colorimetric assay(BioVision, Inc., Milpitas, CA)로, 그 함량을 측정하였다.

7. 통계처리

모든 분석 수치는 SPSS 21.0을 이용하여 mean±S.E.으로 나타내었다. 군간의 비교는 one-way ANOVA(Analysis of vari-

ance)로 분석한 후, 유의한 차이가 있을 때 군간의 차이는 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결 과

1. 체중증가와 식이효율

실험기간 동안 측정된 실험동물의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 Table 2에 나타내었다. 실험동물의 일일 체중증가량은 S 군에 비해 OVX 군과 OVX+0.5A군에서 증가하는 경향을 보였으나, 난소절제와 잔대 열수 추출물이 유의한 영향을 미치지 않았다. 실험동물의 일일 식이섭취량과 식이효율 또한 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다.

2. 잔대 열수 추출물이 명시적 기억력에 미치는 영향

잔대 열수 추출물이 기억력에 미치는 영향을 조사하기 위해 난소절제로 기억력 감퇴를 유발한 동물모델을 이용하여 수동회피시험을 실시하였다. 수동회피시험은 기억력 평가에 많이 사용되는 시험으로 명시적 기억력을 반영한다(Ogren SO 1985). S 군에서는 밝은 방에서의 체류 시간이 122±14초 나타났다. 반면, OVX 군의 경우, 밝은 방에서의 체류 시간이 76±13초로 통계적으로 유의하지는 않았으나, S 군에 비해 감소하는 경향을 보였다(Fig. 1). 그러나 6주간 난소절제 마우스에 잔대 열수 추출물을 첨가한 OVX+0.5A 군은 밝은 방에서의 체류 시간이 97±26초로 OVX 군에 비해 27% 증가하였다.

3. 잔대 열수 추출물이 공간 기억력에 미치는 영향

잔대 열수 추출물이 공간 기억력에 미치는 영향을 조사하

Table 2. Effect of ATWE on weight gain, food intake, and FER

Group	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER ³⁾
S	0.38±0.05 ^{1)NS2)}	7.88±0.38 ^{NS}	0.05±0.01 ^{NS}
OVX	0.44±0.07	6.77±0.60	0.07±0.01
OVX+0.5A	0.53±0.04	7.11±0.39	0.08±0.01

¹⁾ Data are expressed as Mean±S.E. of 10 mice per group.

²⁾ Values with different alphabet within the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test. NS: $p\geq 0.05$.

³⁾ FER : Food efficiency ratio=Weight gain (g/day) / Food intake (g/day).

Abbreviations: S, sham-operated + high fat diet; OVX, ovariectomized + high fat diet; OVX+0.5A, ovariectomized + high fat diet with 0.5% *Adenophora triphylla* var. *japonica* water ext.

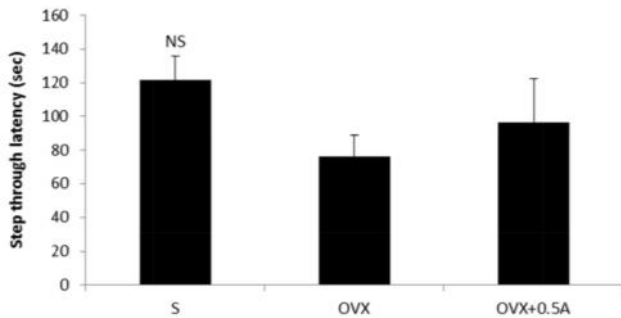


Fig. 1. Effect of ovariectomy and *Adenophora triphylla* var. *japonica* treatment on step through latency in passive avoidance performance.

Data are expressed as Mean±S.E. of 10 mice per group. Results were analyzed by one-way ANOVA. When a significant difference was indicated, a Duncan's multiple-range test was performed to determine significant differences among groups at $p < 0.05$. Abbreviations: S, sham-operated + high fat diet; OVX, ovariectomized + high fat diet; OVX+0.5A, ovariectomized + high fat diet with 0.5% *Adenophora triphylla* var. *japonica* water ext.; NS, not significantly different.

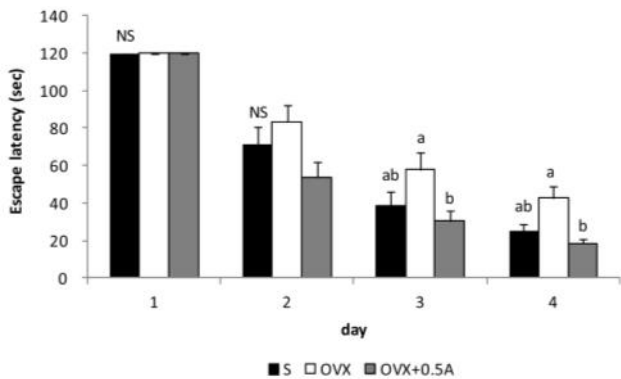


Fig. 2. Effect of ovariectomy and *Adenophora triphylla* var. *japonica* treatment on escape latency in water maze performance.

The mean escape latency for reaching the platform was measured for 4 days. Data are expressed as Mean±S.E. of 10 mice per group. Results were analyzed by one-way ANOVA. When a significant difference was indicated, a Duncan's multiple-range test was performed to determine significant differences among groups at $p < 0.05$. Abbreviations: S, sham-operated + high fat diet; OVX, ovariectomized + high fat diet; OVX+0.5A, ovariectomized + high fat diet with 0.5% *Adenophora triphylla* var. *japonica* water ext.; NS, not significantly different.

기 위해 수중미로시험을 실시하였다(Fig. 2). S 군에서는 훈련이 반복됨에 따라 평균탈출잠복기가 유의적으로 감소하여 2일, 3일, 4일째의 탈출잠복기는 각각 79±64초, 45±33초, 및 27±24초로 나타났고, 난소절제를 하여 기억력 감퇴를 유발한 OVX 군의 경우 도피대를 찾아가기는 했으나, S 군에 비해 평

균탈출잠복기가 길었다. 잔대 열수 추출물을 섭취한 군의 평균탈출잠복기는 난소절제군에 비해 평균탈출잠복기가 3일째 및 4일째 되는 날 유의적으로 감소하였다.

4. 잔대 열수 추출물이 뇌 조직 AChE 발현에 미치는 영향

잔대 열수 추출물이 해마의 주요 신경전달물질인 아세틸콜린 수준에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 해마 조직 내 AChE의 mRNA 발현 수준을 평가하였다(Fig. 3). 그 결과, AChE의 mRNA 발현은 S 군에 비해 OVX 군에서 증가하는 경향을 보였으며, OVX+0.5A 군에서 OVX 군에 비해 39% 감소하는 것으로 나타났다.

5. 잔대 열수 추출물이 뇌 조직 산화스트레스에 미치는 영향

잔대 열수 추출물이 뇌 조직 산화스트레스에 미치는 영향을 조사하기 위해 해마 조직 내 MDA와 GSH 함량을 측정하였다(Fig. 4). MDA의 경우, 군 간에 통계적으로 유의한 차이는 없었으나, S 군에 비해서 OVX 군에서 MDA 함량이 증가하는 경향을 보였고, OVX+0.5A 군에서는 OVX 군에 비해 59% 감소하였다. GSH 함량은 S 군에 비해 난소절제에 의해 약 22% 감소하였으나, 잔대 열수 추출물이 GSH 함량을 유의하게 증가시키지는 못하였다.

고찰

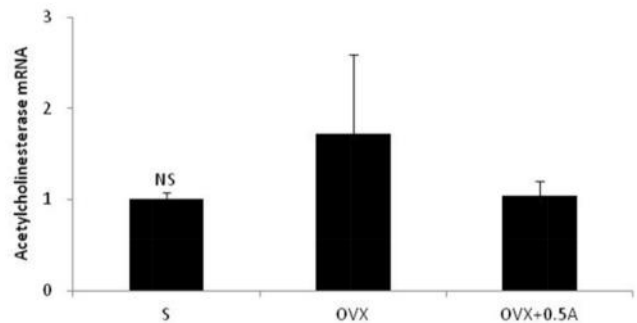


Fig. 3. Effect of ovariectomy and *Adenophora triphylla* var. *japonica* treatment on mRNA level of acetylcholinesterase in hippocampus.

Data are expressed as Mean±S.E. of 4 mice per group. Results were analyzed by one-way ANOVA. When a significant difference was indicated, a Duncan's multiple-range test was performed to determine significant differences among groups at $p < 0.05$. Abbreviations: S, sham-operated + high fat diet; OVX, ovariectomized + high fat diet; OVX+0.5A, ovariectomized + high fat diet with 0.5% *Adenophora triphylla* var. *japonica* water ext.; NS, not significantly different.

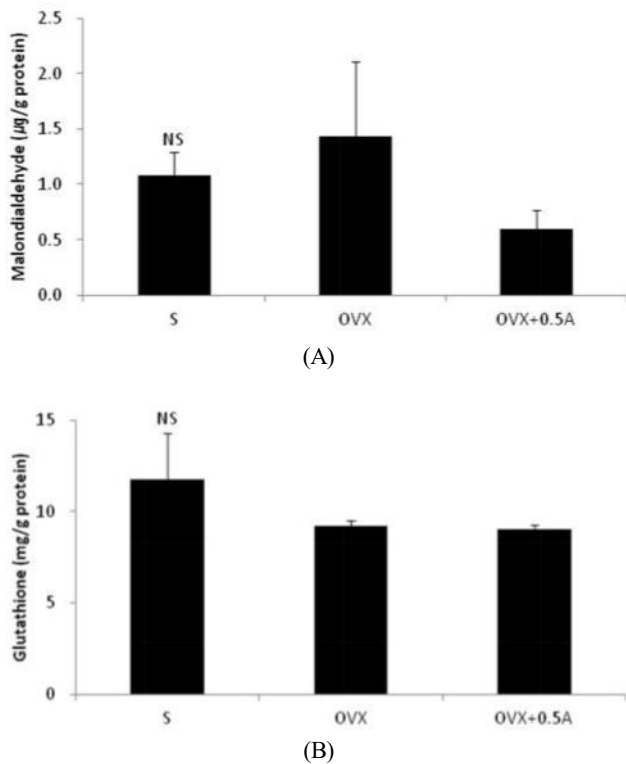


Fig. 4. Effect of ovariectomy and *Adenophora triphylla* var. *japonica* treatment on malondialdehyde and glutathione levels in hippocampus.

Data are expressed as Mean±S.E. of 6 mice per group. Results were analyzed by one-way ANOVA. When a significant difference was indicated, a Duncan's multiple-range test was performed to determine significant differences among groups at $p < 0.05$. Abbreviations: S, sham-operated + high fat diet; OVX, ovariectomized + high fat diet; OVX+0.5A, ovariectomized + high fat diet with 0.5% *Adenophora triphylla* var. *japonica* water ext.; NS, not significantly different.

폐경기 여성에서 연령 증가에 따른 학습 능력의 감퇴는 잘 알려져 있다(Zelinski EM 등 1993, Sherwin BB & Henry JF 2008). 또한, 많은 연구에서 난소절제 랫드나 마우스에서 학습 기능에 대한 에스트로겐의 이로운 효과를 보고하였으며(Daniel JM 등 1997; Frick KM 등 2002; Luine VN 등 1998), 에스트로겐은 학습과 기억과 관련된 대뇌 피질(cerebral cortex), 해마 등에 영향을 미쳤다(Frick 등 2002). 그러나 호르몬 대체 요법의 생식기관의 암 발생과 같은 부작용으로 그 사용을 기피하는 실정이며, 새로운 대체 물질의 탐색 및 개발이 절실한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 연령 증가에 따른 에스트로겐의 손실이 여성에서 기억력 저하에 영향을 준다면 부작용이 없으면서 에스트로겐 활성을 나타내는 식용자원 유래의 천연 소재는 에스트로겐 결핍으로 저하되는 기억력을 개선시킬 것이라는 가설을 검토하고자 하였다.

난소를 수술적 처치로 제거하여 여성 호르몬인 에스트로겐을 결핍시킨 난소절제 모델은 폐경 또는 폐경 관련 질환을 연구하는데 널리 사용된다(Davidge ST 2001). 특히, 난소절제는 기억의 손상을 유도하는 동물모델로 잘 알려져 있어 난소절제에 의해서 해마 의존성 학습 및 기억이 손상되었고(Su J 등 2010; Cai ZL 등 2013), 수중미로시험이나 수동회피시험에서 난소절제 동물은 낮은 수행능력을 나타냈다(Patki G 등 2013; Cai ZL 등 2013). 고지방식이 또한 인지력을 저하시키며, 이러한 두 인자의 복합적 효과, 즉 고지방식을 공급한 에스트로겐 결핍 상태에서 인지력 손상의 증대가 보고되어 있다(Pratchayasakul W 등 2015). 본 연구에서도 고지방식으로 촉진된 난소절제는 기억력을 감소시킴으로 수동회피시험에서 밝은 방에서의 체류 시간이 OVX 군에서 S 군에 비해 감소하였으며 수중미로시험에서 평균탈출잠복기가 S 군에 비해 OVX 군에서 길었다.

잔대의 뿌리는 식용 및 약용으로 사용되어온 것으로 여러 연구에서 항산화 효과, 항종양 효과, 체지방 감소 효과, 항염증 효과 등 다양한 생리활성을 확인하였다. 이 외에도 최근에는 잔대 지하부의 열수 추출물이 에스트로겐 활성이 있음이 보고되어, 폐경기 호르몬 대체 요법의 대안으로 가능성이 제시된바 있다. 본 연구 결과에서도 잔대 지하부 열수 추출물은 기억력을 개선시킴으로 수동회피시험에서 밝은 방에서의 체류 시간이 OVX+0.5A 군에서 OVX 군에 비해 증가하였으며, 수중미로시험에서는 평균탈출잠복기가 OVX 군에 비해 OVX+0.5A 군에서 감소하였다. 식물성 에스트로겐으로 알려져 있는 *Pueraria lobata* 이소플라본의 주요 성분인 puerarin이 난소절제 마우스에서 에스트로겐 결핍에 의해 유도되는 해마의 시냅스 구조 변화를 회복시킨 연구 결과(Xu X & Zhang Z 2007)가 본 연구에서 잔대의 인지능 개선 효과를 뒷받침해 준다.

아세틸콜린(acetylcholine)은 일반적으로 기억과 인지와 관련된 해마의 주요 신경전달물질로 알려져 있으며, acetylcholinesterase(AChE) 활성을 감소시킴으로 뇌의 synaptic cleft 내 아세틸콜린 신경전달을 증가시킬 수 있다(Tsukada H 등 1997). 게다가, 많은 연구에서 난소절제 동물에서는 해마의 AChE 활성이 유의적으로 증가함이 보고되었다(Monteiro SC 등 2005b). Jiang ZJ 등(2015)도 오미자 열매의 주요 활성성분인 시잔드린(schizandrin)을 난소절제 흰쥐에서 30 mg/kg의 수준으로 경구투여하였을 때 난소절제에 의해 증가된 해마의 AChE가 감소하였음을 증명하였다. 아세틸콜린을 합성하는 효소인 choline acetyltransferase(ChAT) 또한 난소절제 랫드의 뇌에서 그 활성이 20~50% 감소하였으나, 에스트로겐은 이러한 ChAT의 활성 감소에 대해 보호 효과를 나타냈다(Rabiani O 등 1997).

산화 스트레스도 인지 기능 과정에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 항산화 효소 활성의 증감은 기억력의 변화를 조절할 수 있을 것으로 보고되어 있다. Chiu CS 등(2011)의 연구에서 D-galactose에 의한 노화 마우스에서 디오스게닌(diosgenin)을 200 mg/kg의 수준으로 10주간 처리하였을 때, 수중 미로시험에서 디오스게닌 투여군은 대조군보다 학습과 기억이 개선되었다. 이러한 인지능의 증가는 뇌 조직에서 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase와 같은 항산화 효소의 활성을 증가시켰으며, MDA의 수준을 감소시킨 것으로 나타났다. Jiang ZJ 등(2015)의 연구는 난소절제 랫드에서 시잔드린(schizandrin)을 공급하였을 때 해마의 MDA가 감소하고 SOD의 활성이 증가함을 보고하였다. 난소절제한 흰 쥐에서 spatial reference learning/memory가 손상되었고, 비타민 E(alpha-tocopherol)와 비타민 C(ascorbic acid)를 30일간 처리하였을 때, 난소절제의 효과는 회복되었다(Monteiro SC 등 2005a).

또한, 퇴행성 뇌질환인 알츠하이머병은 신경원 섬유 엉덩어리(neurofibrillary tangles)를 특징으로 하는데, 이것은 타우 단백질(Tau protein)의 과인산화에 의한 것이며, 타우 단백질의 발현은 에스트로겐에 의해 조절되는 것으로 알려져 있다. Picazo O 등(2016)의 연구에서 난소절제는 해마에서 타우 단백질의 인산화를 증가시켰고, Pinto-Almazan R 등(2012)이 난소절제 랫드에게 에스트로겐을 60일간 경구투여하였을 때 해마 타우 단백질의 인산화는 유의하게 감소하였다. 본 연구에서 통계적으로 유의하지는 않았으나, 난소절제에 의한 인지능의 저하에는 아세틸콜린 신경전달, 산화 스트레스 등이 관여하는 경향을 보였으며, 잔대 추출물은 에스트로겐과 같이 유사한 효과를 나타냈을 것으로 사료된다. 관련된 분자생물학적 기전 구명과 유효성분의 분리를 위해 추가 연구가 필요하다.

결론

본 연구에서는 9주령의 암컷 마우스를 sham 수술 또는 난소절제 수술하여 고지방식이를 6주간 공급하였고, 난소절제 수술 마우스는 두 군으로 나누어 잔대 지하부 열수 추출물을 식이에 0.5% 수준으로 첨가하여 6주간 공급하였다. 그 결과, 난소절제는 기억력을 감소시킴으로 수동회피시험에서 밝은 방에서의 체류 시간이 OVX 군에서 S 군에 비해 감소하였으며, 수중미로시험에서 평균탈출잠복기가 S 군에 비해 OVX 군에서 길었다. 반면에 잔대 지하부 열수 추출물은 난소절제 마우스에서 기억력을 개선시킴으로 수동회피시험에서 밝은 방에서의 체류 시간을 증가시키는 경향을 보였고, 수중미로 시험에서는 평균탈출잠복기를 감소시켰다. 또한, 인지능의 저하에 대한 난소절제와 잔대 추출물의 영향에는 아세틸콜

린 신경전달, 산화 스트레스가 관여하는 경향을 나타냈다. 따라서 잔대 추출물은 폐경기 여성에서 에스트로겐의 결핍으로 유도되는 인지능의 저하를 개선시키는데 효과가 있을 것으로 사료되며, 관련된 분자생물학적 기전 구명과 유효성분의 분리를 위해 추가 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술연구 개발사업(과제번호 PJ01178701)과 2015학년도 서울여자대학교 교내학술연구비 지원에 의해 이루어진 것이며, 그 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- Cai ZL, Wang CY, Gu XY, Wang NJ, Wang JJ, Liu WX, Xiao P, Li CH (2013) Tenuigenin ameliorates learning and memory impairments induced by ovariectomy. *Physiol Behav* 118(13): 112-117.
- Carr MC (2003) The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 88(6): 2404-2411.
- Chiu CS, Chiu YJ, Wu LY, Lu TC, Huang TH, Hsieh MT, Lu CY, Peng WH (2011) Diosgenin ameliorates cognition deficit and attenuates oxidative damage in senescent mice induced by D-galactose. *Am J Chin Med* 39(3): 551-563.
- Choi HJ, Kim SH, Oh HT, Chung MJ, Cui CB, Ham SS (2008) Effects of *Adenophora triphylla* ethylacetate extract on mRNA levels of antioxidant enzymes in human HepG2 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37(10): 1238-1243.
- Frick KM, Burlingame LA, Arters JA, Berger-Sweeney J (2000) Reference memory, anxiety and estrous cyclicity in C57BL/6NIA mice are affected by age and sex. *Neuroscience* 95(1): 293-307.
- Frick KM, Fernandez SM, Bulinski SC (2002) Estrogen replacement improves spatial reference memory and increases hippocampal synaptophysin in aged female mice. *Neuroscience* 115: 547-558.
- Daniel JM, Fader AJ, Spencer AL, Dohanich GP (1997) Estrogen enhances performance of female rats during acquisition of a radial arm maze. *Horm Behav* 32(3): 217-225.
- Davidge ST, Zhang Y, Stewart KG (2001) A comparison of ovariectomy models for estrogen studies. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280(3): R904-907.
- Ham YA, Choi HJ, Kim SH, Chung MJ, Ham SS (2009) An-

- timutagenic and antitumor effects of *Adenophora triphylla* extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr 38(1): 25-31.
- Jang HH, Kim MJ, Cho SY, Kim JB, Lee SH, Lee YM (2015) Anti-inflammatory and anti-allergic effects of *Adenophora triphylla* var. *japonica* extract. J East Asian Soc Dietary Life 25(5): 813-821.
- Jiang ZJ, Wang CY, Xie X, Yang JF, Huang JN, Cao ZP, Xiao P, Li CH (2015) Schizandrin ameliorates ovariectomy-induced memory impairment, potentiates neurotransmission and exhibits antioxidant properties. Br J Pharmacol 172(10): 2479-2492.
- Kannel WB, Levy D (2004) Menopause, hormones, and cardiovascular vulnerability in women. Arch Intern Med 164(5): 479-481.
- Lee DR, Lee YS, Choi BK, Lee HJ, Park SB, Kim TM, Oh HJ, Yang SH, Suh JW (2015) Roots extracts of *Adenophora triphylla* var. *japonica* improve obesity in 3T3-L1 adipocytes and high-fat diet-induced obese mice. Asian Pac J Trop Med 8(11): 898-906.
- Lee SE, Lee EH, Lee TJ, Kim SW, Kim BH (2013) Anti-obesity effect and action mechanisms of *Adenophora triphylla* root ethanol extract in C57BL/6 obese mice fed a high-fat diet. Biosci Biotechnol Biochem 77(3): 544-550.
- Lee YM, Bae JH, Nam SY, Jang HH, Park MY, Kim JB, Park DS, Kim HR (2013) Estrogen-like activity of var. water extract in MCF-7 cells. Food Sci Biotechnol 22(6): 1735-1740.
- Luine VN, Richards ST, Wu VY, Beck KD (1998) Estradiol enhances learning and memory in a spatial memory task and effects levels of monoaminergic neurotransmitters. Horm Behav 34(2): 149-162.
- Monteiro SC, Matté C, Bavaresco CS, Netto CA, Wyse AT (2005a) Vitamins E and C pretreatment prevents ovariectomy-induced memory deficits in water maze. Neurobiol Learn Mem 84(3): 192-199.
- Monteiro SC, Matté C, Delwing D, Wyse AT (2005b) Ovariectomy increases Na⁺, K⁺-ATPase, acetylcholinesterase and catalase in rat hippocampus. Mol Cell Endocrinol 236(1-2): 9-16.
- Morris R (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J Neurosci Methods 11(1): 47-60.
- Ogren SO (1985) Evidence for a role of brain serotonergic neurotransmission in avoidance learning. Acta Physiol Scand 125(Suppl 544): 1-71.
- Ogren SO, Stiedl O (2010) Passive avoidance. Vol II. pp 960-967. In: Encyclopedia of Psychopharmacology. Stolerman IP, Price LH (eds). Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Park DS (2010) The Edible Wild Vegetable Containing Biological Active Substances. Euliglobal, Korea. pp 231-234.
- Patki G, Allam FH, Atrooz F, Dao AT, Solanki N, Chugh G, Asghar M, Jafri F, Bohat R, Alkadhi KA, Salim S (2013) Grape powder intake prevents ovariectomy-induced anxiety-like behavior, memory impairment and high blood pressure in female Wistar rats. PLoS ONE 8(9): e74522.
- Picazo O, Espinosa-Raya J, Briones-Aranda A, Cerbón M (2016) Ovariectomy increases the age-induced hyperphosphorylation of Tau at hippocampal CA1. Cogn Process 17(4): 443-449.
- Pinto-Almazán R, Calzada-Mendoza CC, Campos-Lara MG, Guerra-Araiza C (2012) Effect of chronic administration of estradiol, progesterone, and tibolone on the expression and phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 β and the microtubule-associated protein tau in the hippocampus and cerebellum of female rat. J Neurosci Res 90(4): 878-886.
- Prachayasakul W, Sa-Nguanmoo P, Sivasinprasasn S, Pintana H, Tawinvisan R, Sripetchwandee J, Kumfu S, Chattipakorn N, Chattipakorn SC (2015) Obesity accelerates cognitive decline by aggravating mitochondrial dysfunction, insulin resistance and synaptic dysfunction under estrogen-deprived conditions. Horm Behav 72: 68-77.
- Rabbani O, Panickar KS, Rajakumar G, King MA, Bodor N, Meyer EM, Simpkins JW (1997) 17 beta-estradiol attenuates fimbrial lesion-induced decline of ChAT-immunoreactive neurons in the rat medial septum. Exp Neurol 146(1): 179-186.
- Sherwin BB, Henry JF (2008) Brain aging modulates the neuroprotective effects of estrogen on selective aspects of cognition in women: A critical review. Front Neuroendocrin 29(1): 88-113.
- Shughrue PJ, Scrimo PJ, Merchenthaler I (2000) Estrogen binding and estrogen receptor characterization (ER α and ER β) in the cholinergic neurons of the rat basal forebrain. Neuroscience 96(1): 41-49.
- Siddiqui NI, Rahman S, Mia AR, Shamsuzzaman AK (2005) Evaluation of hormone replacement therapy. Mymensingh Med J 14(2): 212-218.
- Su J, Sripanidkulchai K, Wyss JM, Sripanidkulchai B (2010) Curcuma comosa improves learning and memory function

- on ovariectomized rats in a long-term Morris water maze test. *J Ethnopharmacol* 130(1): 70-75.
- Sumino H, Ichikawa S, Yoshida A, Murakami M, Kanda T, Mizunuma H, Sakamaki T, Kurabayashi M (2003) Effects of hormone replacement therapy on weight, abdominal fat distribution, and lipid levels in Japanese postmenopausal women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 27(9): 1044-1051.
- Tsukada H, Kakiuchi T, Ando I, Ouchi Y (1997) Functional activation of cerebral blood flow abolished by scopolamine is reversed by cognitive enhancers associated with cholinesterase inhibition: A positron emission tomography study in unanesthetized monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 281(3): 1408-1414.
- Xu X, Zhang Z (2006) Effects of estradiol benzoate on learning-memory behavior and synaptic structure in ovariectomized mice. *Life Sci* 79(16): 1553-1560.
- Xu X, Zhang Z (2007) Effects of puerarin on synaptic structural modification in hippocampus of ovariectomized mice. *Planta Med* 73(10): 1047-1053.
- Zelinski EM, Gilewski MJ, Schaie KW (1993) Individual differences in cross-sectional and 3-year longitudinal memory performance across the adult life span. *Psychol Aging* 8(2): 176-186.

Date Received	May 15, 2017
Date Revised	Jul. 19, 2017
Date Accepted	Aug. 17, 2017