

杜冲이 수컷 노화쥐의 우울증에 미치는 효과

김호현 · 안상현¹ · 박선영*

세명대학교 한의과대학 생리학교실, 1: 해부학교실

Effects of Eucomiae Cortex on the Depression of Male Aged Mice

Ho Hyun Kim, Sang Hyun Ahn¹, Sun Young Park*

Department of Physiology, 1: Department of Anatomy, College of Korean Medicine, Semyung University

In order to investigate the effects of Eucomiae Cortex extracts on the depression caused by aging, histochemistry and immunohistochemistry were performed on the hippocampus of aged rats and the following results were obtained. Experimental animals were divided into three groups as follows: 8 week old ICR male mice, Aging-elicited group (AE group) and Eucomiae Cortex treatment group (EC group) 50 week old male ICR mice were used. The control group and AE group did not take any treatment and did not restrict diets and negatives. In the EC group, 0.51g/kg of Eucomiae Cortex extract was dissolved in distilled water once a day for 6 months. The Eucomiae Cortex extract reduced pyramidal neuronal damage in C3 hippocampus and dentate gyrus, increased DJ-1, SHH positive responses in aged mouse hippocampus, and 8-OHdG positivity was reduced, β -endorphin positivity was reduced in aged mouse substantia nigra. Therefore, based on the above results, Eucomiae Cortex extract reduces damage of pyramidal neurons in the hippocampus caused by aging, inhibits neuronal cell death, induces proliferation and differentiation of stem cells in the hippocampus, reduces DNA damage-induced oxidative stress, so improves the reduction of hippocampus volume. It is also thought to improve depression due to aging through β -endorphin which enhances mood through the inhibition of pain.

keywords : Eucomiae Cortex(EC), Depression, DJ-1, SHH, 8-OHdG, β -endorphin

서론

우울증이란 우울한 기분에 빠져 의욕을 상실한 채 무능감, 고립감, 허무감, 죄책감, 자살충동 등에 사로잡히는 정신장애의 일종으로 보는데, 일반적으로 일상생활의 경험을 통해 개인의 감정이 가라앉아 있는 비관적이고 불만족스런 상태를 의미한다. DSM-IV에서 제시하고 있는 우울증의 주요 증상들은 총 9가지로, 우울한 기분의 지속, 일상 활동에 대한 흥미나 즐거움의 저하, 현저한 체중감소나 체중증가, 불면이나 과다수면, 정신운동성 초조나 지체, 피로감이나 활력상실, 무가치감이나 과도하고 부적절한 죄책감, 사교력이나 집중력의 감소, 유유부단함 및 죽음 및 자살에 대한 반복적인 생각 등인데, 이러한 증상들이 하루의 대부분, 거의 매일 지속적으로 나타나며 이 중 5개 이상의 증상이 2주 이상 지속될 경우 심각한 우울증이라고 판단한다^{1,2)}.

우울증의 발병은 여러 가지 상황적 여건에 따라 달라질 수 있는데, 성별, 연령, 소득, 신체적 요인 등에 따라 다를 수 있으며, 특히 성별에 있어서는 남자보다 여자에서 두 배 가량 흔하다고 한

다. 또한 연령에 있어서는 모든 연령층에서 우울증이 발생하지만 30대를 전후하여 우울증의 발병비율이 높아지는 경향이 있으며, 그 이후 낮아졌다가 50대 중반을 전후하여 노년기로 가면서 급속도로 다시 증가하는 양상을 보인다^{3,4)}.

연령이 증가하면 기본적인 인체의 구성과 성분은 점차 그 형태와 기능이 상실되고, 청년기에 비해 신체능력이 약 25% 감소한다. 이를 바탕으로 시력 및 청력 저하, 운동능력과 근력 저하, 뼈의 퇴행성 변화, 피부의 건조, 혈관벽의 탄력성 감소 등이 나타나는데, 이 때 정서적인 불안정으로 정신적인 변화도 동반된다^{5,6)}. 노화로 인해 나타나는 정신적인 변화 중 우울증이 대표적이며, 이는 노인에게서 볼 수 있는 가장 흔한 기능적 정신 질환으로⁷⁾, 2017년 기준으로 65세 이상의 노인 중 21.1%가 우울증을 경험하고 있는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 따라서 현재 고령화 사회에서 노인인구의 증가에 따라 노인 우울증의 발생율은 더욱 증가할 것으로 예상되며, 이에 대한 사회적 관심 및 대책이 필요하다.

노인 우울증의 원인으로 노화에 의한 생리적 변화, 사회적 지지의 결여, 생활양식의 변화 등이 있는데, 신체적, 사회적 스트레스

* Corresponding author

Sun-Young Park, Department of Physiology, College of Korean Medicine, Semyung University 65, Semyung-ro, Jecheon-si, Chungcheongbuk-do, Korea

E-mail : blbee@semyung.ac.kr Tel : +82-43-649-1345

Received : 2018/12/31 Revised : 2019/02/07 Accepted : 2019/02/20

© The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 <http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2019.02.33.1.10>

Available online at <https://kmpath.jams.or.kr>

의 근원이 신체적 취약상태를 유발함으로써 우울증이 발생하며⁸⁾, 노인 우울증의 기전으로 학습과 기억, 감정 및 공격성 등을 담당하는 뇌의 부위인 해마의 용적 감소를 그 원인으로 보고 있다⁹⁾. 하지만 노인에서 나타나는 우울은 잠재적으로 진행되기 때문에 흔히 가벼운 증상으로 인해 우울증인 것을 모르고 지나치거나, 우울증답지 않은 증세를 나타내는 일도 많아 치유되지 않은 채 방치되는 경우가 많으며, 심지어 우울의 증상들을 노화로 간주하는 경향이 있다. 이 외에도 우울증은 자살의 위험을 동반하고, 우울감 해소를 위한 알코올 중독 및 약물 중독을 일으킬 수 있다¹⁰⁾. 이렇게 우울증은 노인의 가장 흔한 정신문제인데도 불구하고, 이에 대한 적절한 진단이나 치료가 아직까지 확정되지 않았으며, 이에 대한 연구도 부족한 실정이다.

보통 연령의 증가에 따라 남성과 여성 모두에게서 성호르몬의 감소가 나타난다는 사실을 근거로 노화로 인한 신체적, 정신적 부작용 예방법으로 남성과 여성 모두에게서 호르몬 대체요법이 권장되고 있지만, 호르몬 대체요법은 고혈압 및 체중증가, 식욕감퇴 및 호르몬의 불균형 등의 부작용이 있다¹¹⁾. 이에 이러한 위험성을 최소화하면서 노화 증상에 효과적인 치료법에 대한 방안으로 한약재에 대한 관심이 증가하고 있으며, 이에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다.

한의학적으로 노화라고 하면 인간이 겪는 자연스러운 한 과정으로, 선천적인 요인과 후천적인 환경 및 養生에 따라 개인적인 차이가 발생한다고 하였으며, 노화의 발생 원인으로 腎氣不足, 眞元耗散, 陽氣日衰 등을 언급하고 있다¹²⁾. 따라서 노화로 인해 발생하는 노인 우울증도 腎氣의 부족과 관련될 수 있으므로 腎氣를 보충함으로써 우울증 개선에 도움을 줄 가능성이 있을 것이라 생각하였다.

杜沖은 杜沖과에 속한 낙엽교목인 杜沖의 수피를 건조한 것으로 補肝腎, 强筋骨하는 효능을 가지고 腎虛腰痛, 高血壓, 骨折 치료 등에 이용되어 왔다¹³⁻¹⁵⁾. 杜沖에 대한 연구로 피부에 대한 항산화 활성 및 미백효과¹⁶⁾, 골다공증 억제효과¹⁷⁾, 항당뇨효과¹⁸⁾, 암세포 증식 저해효과¹⁹⁾ 등이 보고되었으며, 노화로 인한 기억장애에도 효과가 있다는 연구²⁰⁾도 있지만, 아직껏 杜沖이 노화로 인한 우울증에 미치는 효과에 대한 연구는 진행된 바 없다.

이에 저자는 우울증이 기전상 해마의 용적 감소를 통해 발생하며, 노화로 인해 해마의 기능이 더욱 감소한다는 사실을 바탕으로, 杜沖 추출물이 노화로 인한 우울증에 미치는 효과를 검증하기 위해 노화쥐의 해마를 중심으로 조직화학 및 면역조직화학적 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 정상군(control group)으로 8주령의 ICR계 수컷 생쥐(샘타코, 한국)와 노화군(Aging-elicited group, AE group), 杜沖 투여군(Eucomiae Cortex treatment group, EC group)에 50주령의 ICR계 수컷 생쥐(중앙실험동물, 한국)를 사용하였다. 두 종류의 실험동물은 실험에 사용되기 일주일 전에 구입하여 23±2°C의 온도와 55±5%의 습도로 맞춰진 항온항습실에 적응시켰으며,

적응기간 동안 충분한 사료와 음수를 제공하였다.

본 동물실험은 세명대학교 동물실험윤리위원회의 승인(smecae 18-12-04)하에 실시되었다.

2. 杜沖 추출물 제조 및 투여

증류수 3000 mL과 함께 杜沖(Eucomiae Cortex, EC) 400 g을 round flask에 넣고 2시간동안 100°C에서 가열추출한 뒤, rotary evaporator(Eyela, Japan)로 감압 농축하였다. 그 다음 동결건조기로 건조하여 분말 45.1 g (11.3 %)을 얻어 실험에 사용하였다.

정상군과 노화군에는 별다른 처치를 하지 않고 식이와 음수에 제약이 두지 않았으며, 杜沖 투여군은 0.51g/kg의 杜沖 추출물을 1일 1회씩 증류수에 녹여 6개월 동안 투여하였다.

3. 우울증에 대한 실험

1) 조직 표본 제작

흰쥐를 ether로 마취하여 두개골을 절개하고 뇌를 적출하였다. 적출한 뇌는 brain matrix를 이용하여 해마(hippocampus)와 중뇌(mid brain)부분을 절개하고 실온에서 24시간동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 µm 두께의 연속절편으로 제작하였다.

2) 해마의 조직화학

해마의 C3지역과 치아이랑에서 피라미드신경세포 변화를 관찰하기 위해 toluidine blue 염색을 실시하였다.

3) 해마와 중뇌의 면역조직화학

해마와 중뇌절편을 proteinase K (20 µg/mL)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum에서 2시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 mouse anti-8-OHdG (1:100, Santa Cruz Biotech, USA), mouse anti-DJ-1 (1:50, Santa Cruz Biotech, USA), anti-SHH (1:50, Santa Cruz Biotech, USA) 그리고 mouse anti-β-endorphin (1:50, Santa Cruz Biotech, USA)에 4°C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG1 (1:100, DAKO, USA)에 실온에서 24시간 link 하였고, 그런 다음 avidin biotin complex kit (Vector Lab, USA)에 1시간동안 실온에서 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액 (pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하였다.

4. 영상 분석 및 통계

면역조직화학의 결과는 image Pro Plus (Media cybernetics, USA)를 이용한 영상분석을 통해 수치화 (means ± standard error) 했다. 각 군의 표본에서 임의로 선정된 해마부위와 중뇌의 흑색질 부위를 x100배율에서 촬영한 다음 positive pixels/20,000,000 pixels로 영상분석 하였다. 피부손상점수와 면역조직화학 결과의 통계는 SPSS software (SPSS 20, SPSS Inc., USA)를 사용하였으며, one-way ANOVA 시행을 통해 유의성

($P < 0.05$)을 검증하고 Duncan's multiple range test로 사후 검증하였다.

결 과

1. 해마내 조직에 대한 杜沖 추출물의 효과

杜沖 추출물이 해마내 조직에 대해 미치는 영향을 알아보기 위한 실험결과, 해마의 C3지역과 치아이랑에서 피라미드신경세포의 손상은 control군보다 AE군에서 증가하였지만, EC군에서는 감소하였다.

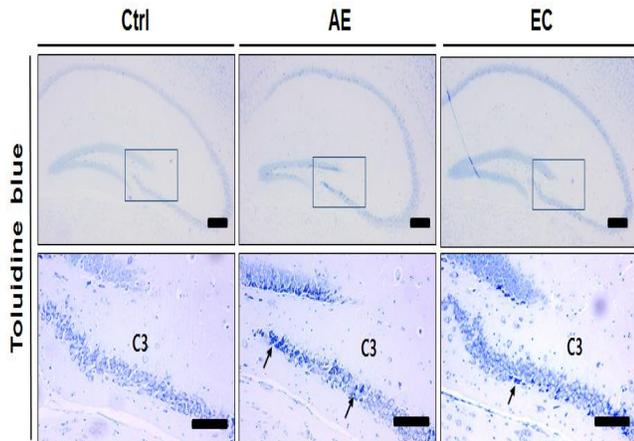


Fig. 1. The Results of Toluidine blue stain in hippocampus. Arrow, positive reaction; Toluidine blue, Toluidine blue stain; Ctrl, Control group; AE, Aging-elicited group; EC, Eucomiae Cortex treatment group; Bar size, 50 μ m.

2. 해마내 세포사멸에 대한 杜沖 추출물의 효과

杜沖 추출물이 해마내 세포사멸에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험결과, 노화된 생쥐 해마에서 DJ-1 양성반응은 감소하였다. 이에 반해 EC군은 AE군에 비해 DJ-1 양성반응이 증가하였는데, 영상분석결과 AE군에 비해 116% 증가한 것으로 관찰되었다.

Table 1. Changes in levels of DJ-1 positivity in hippocampus.

Objective	Group		
	Control	AE	EC
DJ-1	64,323 \pm 1,693	11,478 \pm 671	24,782 \pm 1,360***

Values are mean \pm deviation(n=6). Image analysis for 20,000,000 pixel cells. *** $p < 0.001$ compared with AE.

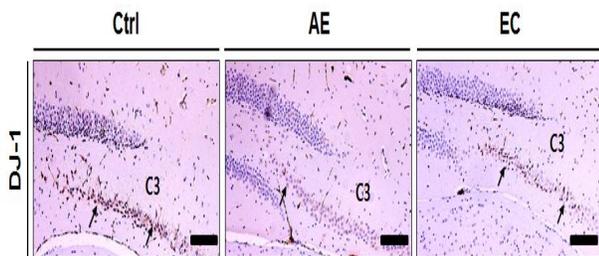


Fig. 2. The Results of changes in hippocampal apoptosis. Arrow, positive reaction; DJ-1, DJ-1 immunohistochemistry; Ctrl, Control group; AE, Aging-elicited group; EC, Eucomiae Cortex treatment group; Bar size, 50 μ m.

3. 해마내 조직증식에 대한 杜沖 추출물의 효과

杜沖 추출물이 해마내 조직증식에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험결과, 노화된 생쥐 해마에서 Sonic Hedgehog(SHH) 양성반응은 감소하였다. 이에 반해 EC군은 AE군에 비해 SHH 양성반응이 증가하였는데, 영상분석결과 AE군에 비해 93% 증가한 것으로 관찰되었다.

Table 2. Changes in levels of SHH Positivity in hippocampus.

Objective	Group		
	Control	AE	EC
SHH	32,522 \pm 1,365	5,607 \pm 357	15,196 \pm 817***

Values are mean \pm deviation(n=6). Image analysis for 20,000,000 pixel cells. *** $p < 0.001$ compared with AE.

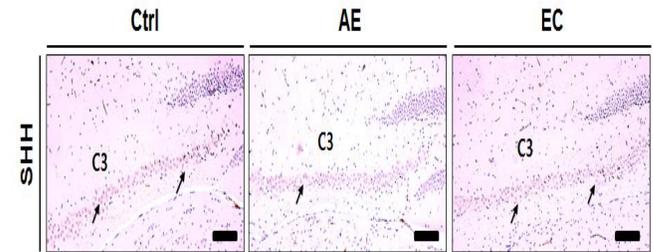


Fig. 3. The Results of changes in hippocampal tissue proliferation. Arrow, positive reaction; SHH, SHH immunohistochemistry; Ctrl, Control group; AE, Aging-elicited group; EC, Eucomiae Cortex treatment group; Bar size, 50 μ m.

4. 해마내 산화스트레스에 대한 杜沖 추출물의 효과

杜沖 추출물이 해마내 산화스트레스에 미치는 영향에 대해 알아보기 위한 실험결과, 노화된 생쥐 해마에서 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OHdG) 양성반응은 증가하였지만 EC군은 AE군에 비해 8-OHdG 양성반응이 59% 감소하였다.

Table 3. Changes in levels of 8-OHdG Positivity in hippocampus.

Objective	Group		
	Control	AE	EC
8-OHdG	9,569 \pm 361	59,963 \pm 1,470	24,782 \pm 1,361***

Values are mean \pm deviation(n=6). Image analysis for 20,000,000 pixel cells. *** $p < 0.001$ compared with AE.

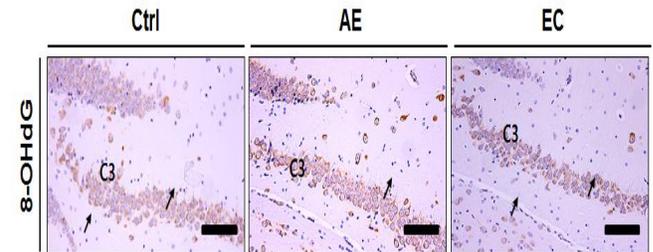


Fig. 4. The Results of changes in hippocampal oxidative stress. Arrow, positive reaction; 8-OHdG, 8-OHdG immunohistochemistry; Ctrl, Control group; AE, Aging-elicited group; EC, Eucomiae Cortex treatment group; Bar size, 50 μ m.

5. 중뇌내 흑색질에 대한 杜沖 추출물의 효과

杜沖 추출물이 중뇌내 흑색질에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험결과, 노화된 생쥐 흑색질에서 β -endorphin 양성반응은 감소

하였다. 이에 반해 EC군은 AE군에 비해 β-endorphin 양성반응이 증가하였는데, 영상분석결과 AE군에 비해 76% 증가한 것으로 관찰되었다.

Table 4. Changes in levels of β-endorphin Positivity in hippocampus.

Objective	Group		
	Control	AE	EC
β-endorphin	65,675±1,535	20,724±624	36,523±1,190***

Values are mean±deviation(n=6). Image analysis for 20,000,000 pixel cells. ***p<0.001 compared with AE.

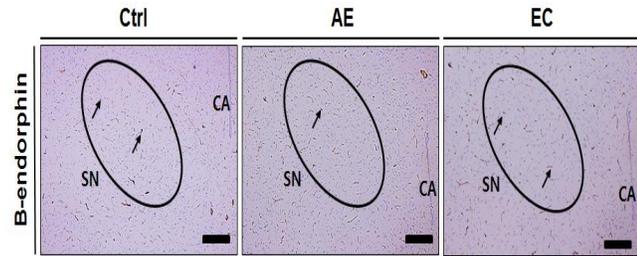


Fig. 5. Effects on substantia nigra in midbrain. Arrow, positive reaction; β-endorphin, β-endorphin immunohistochemistry; Ctrl, Control group; AE, Aging-elicited group; EC, Eucomiae Cortex treatment group; Bar size, 50μm.

고찰

노화는 인간이 성숙기의 정점에 도달한 이후부터 죽음에 이르기까지 인체 전반에 걸쳐서 나타나는 현상이지만, 뇌기능과 관련해서도 여러 가지 신경퇴행성 질환들을 일으키는 중요한 원인이 된다. 그래서 노인의 뇌에서는 만성적인 신경퇴행이 특징적으로 나타나고 있는데, 특히 해마는 뇌손상이나 노화 진행시에 매우 취약한 부위이다²¹⁻²³.

해마는 대뇌의 측두엽 부위에 위치하고 있는 조직으로 중추신경계통에서 인지능력과 기억에 가장 핵심적인 역할을 하며, 성인이 된 후에도 신경의 가소성과 재생이 일어나는 부위로 알려져 있다^{24,25}. 해마에서 담당하고 있는 학습과 기억, 감정 및 공격성 등의 역할은 해마를 구성하고 있는 신경세포의 가소성과 재생의 증가와 비례하여 능력이 향상되는데, 노화의 진행에 따라 해마에서 새로운 신경세포가 생성되는 속도는 감소한다²⁶⁻²⁸. 이 외에도 알츠하이머병의 초기나 측두엽간질, 외상후 스트레스장애, 오랜 시간에 걸친 스트레스, 우울증 등에서도 해마는 빠르게 손상되어 해마의 기능적, 구조적 이상이 유발된다는 보고도 있다^{29,30}.

노화가 진행되면 갖가지 만성질환과 체력 저하에 따른 신체적 문제뿐만 아니라 심한 고독감과 외로움을 느끼면서 우울증 같은 정신적인 질병을 앓게 된다. 노인 우울증의 경우 피로감, 수면장애, 신체적 문제 등을 특징으로 가지지만 노인의 특성과 우울 증상이 노화의 과정으로 여겨져 조기 발견과 치료에 어려움이 있다. 또한 우울증 진단을 받은 노인환자와 일반 노인을 대상으로 우울군과 우울증 회복군, 정상군으로 나누어 삶의 질을 비교한 결과 우울군에서 삶의 질이 가장 낮게 나타났고, 정상군에서 삶의 질이 가장 높게 나타났다는 연구결과³¹에서처럼 우울증은 노인 삶의 질에 부정적 영향을 미치는 것이 확실함에도 불구하고 진단 및 치료 없이 방

치되는 경우가 다반사이다. 따라서 노인 인구가 증가하고 있는 현재 사회에서 노년기 삶의 질 향상을 위해 노인 우울증에 대한 심층적인 연구가 필요하다.

한의학에서는 노화과정을 腎氣虛, 命門火衰와 관련이 있다고 설명하고 있으며, 노화로 인해 나타나는 증상들도 腎氣不足과 밀접한 관련이 있다고 언급하였다¹². 이에 노화로 인해 발생하는 정신 질환인 우울증도 腎氣不足과 밀접한 관련이 있을 것이라 추정되며, 補肝腎의 효능을 가지는 杜沖이 노인 우울증에 효과를 나타낼 것으로 생각하였다.

杜沖은 甘溫한 성질로 補肝腎, 強筋骨, 安胎의 효능이 있으며, 強壯, 鎮靜, 鎮痛作用으로 腰背神經痛, 流產 등의 질병을 예방하는데 사용되어 왔다¹³⁻¹⁵. 杜沖에 대한 연구로 김 등¹⁶은 杜沖추출물이 자외선 차단효과, 항산화효과, 미백효과를 나타낸다고 보고하였고, 이 등¹⁷은 杜沖이 주가 된 조성물은 골흡수 지표인 deoxypyridinoline을 감소시키고, 경골의 trabecular 골면적을 증가시키므로써 골다공증 억제효과를 나타내며, 홍¹⁸은 杜沖이 L6 근육세포에서 AMPK가 아닌 PI 3-kinase에 의해 당흡수를 증가시키고, 최 등¹⁹은 杜沖의 MeOH 추출물이 A549(비소세포암주), SK-OV-3(난소암주), SK-MEL-2(흑색종주), XF498(중추신경계암주) 및 HCT-15(직장암주) 등 5종의 인체유래 암세포주에 대해 우수한 세포증식저해효과를 나타냈다고 보고하였다. 또한 이²⁰는 杜沖이 신경세포의 사멸 감소를 통해 노화로 인한 기억력 감퇴에 긍정적인 영향을 미친다고 보고하였지만, 杜沖이 노화로 인한 우울증에 미치는 효과에 대한 연구는 없다.

이에 저자는 杜沖 추출물이 노화로 인한 우울증에 미치는 효과를 알아보기 위해 노화쥐의 해마를 중심으로 조직화학 및 면역조직화학적 실험을 진행하였다.

해마와 우울증의 관계에 대한 신경생물학적 기전은 아직 뚜렷하게 밝혀진 게 없다. 하지만 우울증이 있을 경우 신경회로적인 측면에서 해마의 기능이 비정상적으로 이루어진다는 의견이 제시되었으며, 다수의 연구에서는 해마용적이 주요우울장애 환자에게서 정상인에 비해 감소되었다는 보고가 있다^{9,29,31,32}.

특히 해마의 C3 부위와 치아아랑은 피라미드신경세포로 구성되어 있고 노화에 쉽게 손상되는 것으로 알려져 있듯이³³ 본 연구에서도 피라미드신경세포의 손상이 노화군에서 두드러지게 증가하였지만, 杜沖군은 피라미드신경세포의 손상이 감소하였다. 즉, 해마의 C3와 치아아랑을 구성하고 있는 피라미드신경세포의 손상 감소로 해마용적의 감소도 억제되었으며, 해마용적이 주요우울장애 환자에게서 정상인에 비해 감소되었다는 보고에 따라 杜沖 추출물은 노화로 인한 우울증을 개선시키는 것으로 생각된다.

DJ-1은 세포내 여러 기관에서 발견되는 단백질로 세포증식, RNA 결합 그리고 산화스트레스에 대한 방어 작용 등을 포함한 다양한 세포내 기능에 관여한다고 알려져 있으며 특히, 뇌에서는 세포 사멸을 방어하는 기능을 한다³⁴. 따라서 노화군 해마에서 감소된 DJ-1 양성반응이 杜沖군에서 증가한 결과로 보아 杜沖 추출물이 해마내 신경세포의 사멸을 억제하였다는 사실을 알 수 있으며, 이러한 작용을 바탕으로 노화로 인한 우울증을 개선시킨 것으로 생각된다.

또한 杜冲 추출물이 해마내 조직증식에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험결과, 노화군 해마에서 감소된 Sonic Hedgehog (SHH) 양성반응이 杜冲군에서는 증가하였다. SHH는 hedgehog 단백질 중의 하나로 SHH 신호전달과정은 자가재생성 능력과 분열 능력을 통해 줄기세포 항상성과 분화의 균형을 유지하는데 중요한 것으로 알려져 있다. 따라서 SHH 양성반응^{35,36)}이 杜冲군에서 증가된 것은 杜冲이 해마세포의 증식과 분화를 발생시켜 노화로 인한 우울증 개선에 기여한 것으로 보인다.

이외에도 DNA 자체에 손상을 주는 활성산소가 노화의 기전 중 하나로 많이 보고되어 있다. 활성산소는 생체내의 대사과정에서 생성되는 산물이며 또한 세포의 거대분자 훼손에 관여하는 독성 대사물질이다^{37,38)}. 이는 노화, 질병, 스트레스 등에 의해 증가되며, DNA 손상 뿐 아니라 지질과산화물을 일으켜 암, 고혈압, 동맥경화, 심장질환, 류마티스 관절염 등과 같은 만성 퇴행성 질환들을 일으키는 원인이 되기도 한다. 이와 같이 노화로 인해 증가되는 활성산소는 세포의 거의 모든 곳을 공격하고 파괴하는데 특히 에너지를 생성하는 미토콘드리아의 DNA는 Histone 단백질이 없어 유리의 공격이 쉽고 guanine과 같은 염기에 산화를 일으킴으로써 손상이 일어난다^{39,40)}. 이런 활성산소로 인한 DNA 손상을 측정하는 지표로 8-OHdG가 활용되고 있는데, 노화군 해마에서 8-OHdG 양성반응이 증가된 것은 노화로 인한 산화스트레스가 증가된 것을 반영하며, 杜冲군에서 8-OHdG 양성반응이 감소된 것은 杜冲이 노화로 증가된 활성산소가 일으키는 해마의 DNA 손상을 감소시킴으로써 해마내 산화스트레스를 억제하고 이러한 작용을 통해 우울증을 개선시키는 것으로 생각된다.

또한 피라미드신경세포의 손상 감소와 신경세포 사멸 억제, 줄기세포의 증식과 분화 증가와 DNA 손상으로 발생하는 산화스트레스의 억제는 결과는 결론적으로 杜冲 추출물이 해마조직의 용적 감소를 억제하고 용적이 감소된 조직의 증식 및 분화를 발생시키는 작용을 한다는 뜻으로, 우울증환자에게서 해마 용적의 감소가 관찰되었다는 기존의 연구결과와도 부합하면서 노화로 인한 우울증에 개선효과가 있다는 사실을 더욱 뒷받침해준다.

β -endorphin은 생체내에서 β -lipotropin의 분해로 인해 enkephalin 구조를 가지고 있으며 뇌의 아편 수용체에 결합되어 매우 강력한 morphine과 유사한 작용을 나타내는 인자로, 주로 통각의 억제와 다양한 행동적 생리과정, 체온조절, 호흡, 심혈관계 반응에 영향을 주는 것으로 밝혀졌으며, 또 진통효과나 환각제 특성을 지니고 고통, stress, 피로감 등의 정신적 상태에 관여한다고 하였다⁴¹⁾. 실험결과, 노화군 흑색질에서 β -endorphin 양성반응이 감소하였지만 杜冲군에서는 β -endorphin 양성반응은 증가하였다. 이는 杜冲이 β -endorphin의 활성화에 따른 통각의 억제를 통해 기분을 좋게 해주는 작용을 통해 노화로 인한 우울증을 개선시킨다는 사실을 나타낸다.

이상의 실험결과를 종합하여 살펴보면, 杜冲은 노화로 인한 해마내 피라미드신경세포의 손상과 사멸을 억제하고, 해마내 줄기세포의 증식과 분화 및 산화스트레스 억제를 통하여 해마를 보호하며, β -endorphin의 활성을 증대시켜 노화로 인한 우울증에 효과를 나타내는 것으로 추정된다.

결론

補肝腎의 작용을 가진 杜冲 추출물이 노화로 인해 발생한 우울증에 미치는 효과를 알아보기 위하여 노화군의 해마부위를 중심으로 조직화학 및 면역조직화학적 실험을 통해 다음과 같은 결과를 얻었다.

杜冲 추출물은 해마의 C3 부위와 치아이랑에서 피라미드신경세포의 손상을 감소시켰고, 노화된 생쥐 해마에서 감소된 DJ-1 양성반응은 증가시켰으며, 노화된 생쥐 해마에서 감소된 SHH 양성반응도 증가시켰다. 또한 노화된 생쥐 해마에서 증가된 8-OHdG 양성반응은 감소시켰고, 노화된 생쥐 흑색질에서 감소된 β -endorphin 양성반응은 증가시켰다.

따라서 위의 결과를 토대로 杜冲 추출물은 노화로 인한 해마내 피라미드신경세포의 손상을 감소시키고, 신경세포의 사멸을 억제하며, 해마내 줄기세포의 증식과 분화를 발생시키고, DNA 손상으로 발생하는 산화스트레스를 억제하여 해마용적의 감소를 개선하며, β -endorphin이 통각의 억제를 통해 기분을 좋게 해주는 작용을 증대시켜 노화로 인한 우울증에 효과를 나타내는 것으로 추정된다.

감사의 글

이 논문은 2018학년도 세명대학교 교내학술연구비 지원에 의해 수행된 연구임

References

1. Kim HS, Kim BS. The effects of self-esteem on the relationship between the elderly stress and depression. *Journal of the Korean Gerontological Society*. 2007;27(1):23-37.
2. Kwon SM, Min BB. *Elderly mental disorders*. Seoul: Hakjisa; 2000. p. 135, 199-201.
3. Kim MH, Chung SD, Lee GY. Development and evaluation of preventive mental health program for depression among the elderly in community. *Korean Journal of Social Welfare*. 2001;44:318-45.
4. Jung KH, Oh YH, Kang EN, Kim KR, Lee YK, Oh ME, et al. Survey of the elderly in 2017. Policy Report of Korea Institute for Health and Social Affairs. 2017.
5. Ji YS. *Clinical Exercise Prescription Mechanism*. Ulsan: 21st century educational company; 2006.
6. Hong K. *Sports Medicine*. Seoul: HongKyung publishing co.; 1998.
7. Atchley RC. *Social forces and aging*. California: Wadsworth Publishing Company; 1991.
8. Jeong HS, Yim HW, Jo SJ. Strategies to increase treatment adherence in elderly depression. *Korean Journal of Research in Gerontology*. 2013;22:79-93.

9. Lorenzetti V, Allen NB, Fornito A, Yücel M. Structural brain abnormalities in major depressive disorder: a selective review of recent MRI studies. *J Affect Disord.* 2009;117(1-2):1-17.
10. Kim NY. Predicting factors of suicidal ideation in elderly with depression: focusing on social networks and resilience. The graduate school of information in clinical nursing, Hanyang University. 2019.
11. Kim KR, Yoon JH. Effects of exercise training types on health related fitness, endocrine system in elderly women. *Journal of Sport and Leisure Studies.* 2005;25:263-75.
12. Lee HM, Seo JC, Kim YS. The study on aging process research. *Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society* 2001;18(1):146-56.
13. Kim HC. Chinese medicine pharmacology. Seoul: Jipmoondang; 2001. p. 447-9.
14. Lee SI, Ahn DK, Shin MK. Clinical application of Chinese medicine. Seoul: Seonbosa; 1982. p. 345-6.
15. Wui OB. Sinnongbonchogyong. Seoul: Eui Seong Dang Publishing Co.; 2003. p. 100-1.
16. Kim SH, Kim IC. Antioxidative properties and whitening effects of the eucommiae cortex, salviae miltiorrhizae radix, aurantii nobilis pericarpium and cnidii rhizoma. *J East Asian Soc Dietary Life* 2008;18(4):618-23.
17. Lee DS, Byun SY. Effects of the dietary mixture of eucommia ulmoides oliver on osteoporosis. *Korean J Biotechnol. Bioeng.* 2001;16(6):614-9.
18. Hong EJ. Eucommia ulmoides extract stimulates glucose uptake through PI 3-kinase mediated pathway in L6 rat skeletal muscle cells. Graduate School of East-West medical science Kyunghee University: Dept. of East-west Medical Science. 2008.
19. Choi YH, Seo JH, Kim JS, Heor JH, Kim SK, Choi SU, et al. Inhibitory effects of the stem bark extract of eucommia ulmoides on the proliferation of human tumor cell lines. *Kor J Pharmacogn.* 2003;34(4):308-13.
20. Lee IS. Effects of eucommiae cortex administration on short-term memory, cell proliferation, and cell death in the hippocampus of aged rats. Graduate School of Kyungwon University: Dept. of oriental medicine. 2009.
21. Rogers J, Webster S, Lue LF, Brachova L, Civin WH, Emmerling M, et al. Inflammation and Alzheimer's disease pathogenesis. *Neurobiol Aging.* 1996 Sep-Oct;17(5):681-6.
22. Patrylo PR, Williamson A. The effects of aging on dentate circuitry and function. *Prog Brain Res.* 2007;163:679-96.
23. Is M, Comunoglu NU, Comunoglu C, Eren B, Ekici ID, Ozkan F. Age-related changes in the rat hippocampus. *J Clin Neurosci.* 2008 May;15(5):568-74.
24. Wolfer DP, Lipp HP. Evidence for physiological growth of hippocampal mossy fiber collaterals in the guinea pig during puberty and adulthood. *Hippocampus.* 1995;5(4):329-40.
25. Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci.* 1999 Mar;2(3):260-5.
26. Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med.* 1998 Nov;4(11):1313-7.
27. Kim YP, Kim H, Shin MS, Chang HK, Jang MH, Shin MC, et al. Age-dependence of the effect of treadmill exercise on cell proliferation in the dentate gyrus of rats. *Neurosci Lett.* 2004 Jan 23;355(1-2):152-4.
28. Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci.* 1996 Mar 15;16(6):2027-33.
29. McKinnon MC, Yucel K, Nazarov A, MacQueen GM. A meta-analysis examining clinical predictors of hippocampal volume in patients with major depressive disorder. *J Psychiatry Neurosci.* 2009;34(1):41-54.
30. Lee MS, Kwak DI, Jung IK. Impairment of self-maintenance skills and instrumental activities of daily life in geriatric depression. *J Korean Geriatr Psychiatry.* 2000;4(1):91-100.
31. Lee JG, Kim EH, Lee JH. Effect of Gentianae Radix on Neurogenesis and Apoptosis in Hippocampus of Ethanol-induced Newborn Rats. *J orient Neuropsychiatr.* 2010;21(2):29-44.
32. Hampel H, Bürger K, Teipel SJ, Bokde AL, Zetterberg H, Blennow K. Core candidate neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2008;4(1):38-48.
33. Sousa N, Lukoyanov NV, Madeira MD, Almeida OF, Paula-Barbosa MM. Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement. *Neuroscience.* 2000;97(2):253-66.
34. Giroto S, Cendron L, Bisaglia M, Tessari I, Mammi S, Zanotti G, et al. DJ-1 is a copper chaperone acting on SOD1 activation. *J Biol Chem.* 2014;289(15):10887-99.
35. Ingham PW, McMahon AP. Hedgehog signaling in

- animal development: paradigms and principles. *Genes Dev.* 2001;15(23):3059-87.
36. Pasca di Magliano M, Hebrok M. Hedgehog signalling in cancer formation and maintenance. *Nat Rev Cancer.* 2003;3(12):903-11.
37. Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981 Nov;78(11):7124-8.
38. Harman D, Eddy DE, Noffsinger J. Free radical theory of aging: inhibition of amyloidosis in mice by antioxidants: possible mechanism. *J Am Geriatr Soc.* 1976 May;24(5):203-10.
39. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr.* 1993 May;57(5 Suppl):715S-724S
40. Gohil K, Packer L, de Lumen B, Brooks GA, Terblanche SE. Vitamin E deficiency and vitamin C supplements: exercise and mitochondrial oxidation. *J Appl Physiol* (1985). 1986 Jun;60(6):1986-91.
41. Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA, Morris HR. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature.* 1975 Dec 18;258(5536):577-80.