

Cognitive Improvement Effects of Krill Oil in a Scopolamine-induced Mice Model

Hye-Min Seol¹, Jeong-Ah Lee¹, Mi-Sun Hwang², Sang-Hoon Park³ and Hyeong-Soo Kim^{1,4*}

¹East South Chemical Research Institute, Busan 48308, Korea

²LabToMedi CRO, Busan 50612, Korea

³US Pharmatech Korea Co., Ltd., Busan 48059, Korea

⁴Department of Pharmaceutical Engineering, college of Engineering, Kyungsoo University, Busan 48434, Korea

Received June 14, 2024 / Revised June 28, 2024 / Accepted June 28, 2024

A previous study showed that krill oil improved recognition and memory through anti-oxidative effects in an amyloid β model, but the authors noted that further investigations are necessary of alterations to neurotransmitters' states and of serum lipid profile improvements related to serum lipid peroxidation. Accordingly, in this study, ICR mice were pre-treated intraperitoneally with scopolamine prior to induced neurotransmission impairment, and the effects of krill oil provision on their capabilities of cognition were tested by performing a passive avoidance test (PAT), water maze test (WMT), and novel object recognition test. Then, parameters including the acetylcholine (ACh) concentration, acetylcholinesterase activity (AChE), lipid peroxidation, serum lipid levels, and nerve cell proliferation were investigated. The results showed that krill oil improved the mice's abilities in recognition and memory as the times taken to complete the PAT and WMT were reduced compared to the mice in a comparison scopolamine-treated group. Krill oil produced an increased concentration of ACh, and this was accompanied by a decrease in AChE. As shown in a scopolamine-treated SH-SY5Y cell line, krill oil reduced the activity of AChE. Moreover, the suppression of lipid peroxidation—reflected in the finding that malondialdehyde was decreased with krill oil provision—is speculated to affect the recorded serum triglyceride and cholesterol decreases and LDL cholesterol increase. The intake of krill oil was also found to produce an improvement in brain-derived neurotrophic factor expression by stimulating the activation of cyclic AMP response element binding protein in the brain tissue. Overall, the current results imply that the provision of krill oil raises the cognition and memory by elevating neurotransmitters and by improving the serum lipid profile and nerve cell proliferation, which occur as lipid peroxidation is suppressed in the brain tissue.

Key words : Acetylcholinesterase, cognitive, krill oil, lipid peroxidation, nerve cell

서론

알츠하이머와 같은 만성 뇌질환은 노화와 연계하여 기억력과 인지장애를 일으켜 정상적인 사회활동을 할 수 없게 만드는 것을 특징으로 하고 있어 고령사회에서 생활하고 있는 현대인에게 매우 큰 관심사 중 하나가 되었다. 일반적으로 치매(dementia)라는 이름으로 잘 알려진 이 질환은 뇌신경세포의 손상과 함께 뇌세포의 손상으로 acetylcholine (ACh)과 같은 신경전달물질의 생성 및 전달이 되지 않는 것을 특징으로 하며 이와 관련하여 Amyloid

β 축적으로 인한 활성산소(reactive oxygen species, ROS)와 반응성 질소종(reactive nitrogen species, RNS)의 과잉 생산이 신경세포에 산화 스트레스를 유발하고 신경염증, 미토콘드리아 기능장애 및 뇌의 유전자 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다[5]. 뇌 조직에서의 산화적 스트레스는 신경세포를 구성하고 있는 지질, 단백질, 핵산 등을 손상시킴으로써 치명적인 세포 자멸사를 유도하고[15, 27], 이것이 지속되면 알츠하이머와 파킨슨병과 같은 만성 뇌질환이 발병한다. 특히 알츠하이머 질환에서의 ROS 생성촉진[20]이 미토콘드리아 내 분열, 돌연변이, 탈분극[25]등을 유도할 때 뇌의 특성상 다른 조직에 비해 높은 불포화지방산의 함량과 에너지 요구량과는 상반적으로 항산화제 함량이 낮아 산화적 스트레스에 민감하게 반응하여 손상에 쉽게 노출[19]되는 것으로 알려져 있다. 때문에 치매와 연관한 연구에서의 산화 스트레스와 연관된 malondialdehyde (MDA), catalase, superoxide dismutase (SOD)와 같은 지질 과산화 관련 지표의 수준변화는 매우 중요하다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-663-4898, Fax : +82-51-663-4809

E-mail : tomybelief@ks.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

크릴 오일은 크릴 새우(*Euphausia superba*)로부터 분리한 오일의 일종이며, Eicosapentaenoic acid (EPA), Docosahexaenoic acid (DHA) 등의 다가 불포화 지방산과 astaxanthin 등의 항산화 물질을 다량 함유하고 있고[18], 고지혈증, 염증, 관절염 등 다양한 질병에 대한 예방 및 치료 효능이 보고되고 있으나[10, 14, 29] 인지개선에 대한 개선 효과에 관한 연구는 부족한 실정이다.

선행연구에 따르면, Amyloid β 를 이용한 알츠하이머 유도 모델에서[4] 크릴 오일을 투여했을 때, A β 25-35로 유도된 신경 세포의 산화 스트레스와 세포 사멸을 저하하여 인지 기능이 향상되는 것을 확인하였다[17]. 이에 대해 크릴 오일 투여에 의한 인지기능 개선이 산화 스트레스로부터의 개선뿐만 아니라 ACh와 이를 불활성화 시키는 효소인 acetylcholinesterase (AChE) 등의 신경전달 물질 수준에도 긍정적인 효과를 가지는 지에 대한 확인이 필요하여 뇌에서의 콜린성 기능 장애뿐만 아니라 산화적 스트레스의 유도를 통해 기억력 및 인지기능 손상을 유도하는 것으로 알려진 scopolamine을 이용한 치매 유도 동물 모델[5]에서 이전 연구[17]에 대한 추가적인 검증은 하고자 하였다. Scopolamine은 무스카린성 콜린 수용체(muscarinic cholinergic receptor)의 길항제로서 신경전달 물질인 Ach와 무스카린 수용체 간의 결합을 저해하여 인지기능을 차단시키며, 도파민성 산화를 증가시키는 것으로 알려져 있다[26]. 이에 덧붙여, 본 연구에서는 크릴 오일이 신경세포 증식인자의 발현량에 미치는 영향에 대해서도 확인하고자 하였다. 특히 신경세포의 생존, 성장, 분화에 관여하는 Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) [1, 13]와 BDNF의 발현을 조절하는 cAMP-response element-binding protein (CREB)의 활성화 지표인 CREB의 인산화[7] 수준 변화에 대해서도 조사하였다. BDNF는 해마 피질에서 학습, 기억, 사고에 대한 작용을 하는 것으로 알려져 있고[6, 11] 신경세포 내 CREB는 장기기억[16]과 함께 신경세포의 생존과도 깊은 연관성을 가지는 것으로 알려져 있다. Scopolamine 처리에 의해 유도되는 본 시험 모델에서는 신경세포 증식증가에 대한 가능성이 높지는 않지만 Ach 등의 신경전달물질의 수준변화와 연계된 변화 가능성을 고려하여 이에 대한 확인을 하고자 하였다.

이상과 같이, 본 연구를 통해 scopolamine으로 인지 및 기억력 저하를 유도한 설치류 모델에서 나타날 수 있는 신경전달 물질의 수준 저하와 지질 과산화 촉진 그리고 치매 유사 행동 양상에 대해 크릴 오일이 가질 수 있는 개선 효과를 확인하고 이전 연구 결과[17]와 상호 보완적 연계성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

시험물질

시험에 사용된 크릴 오일은 (주)유에스파마텍에서 제공받아 사용하였고 시험에 사용된 투여량은 이전 연구[17]를 따랐다. 인지기능 및 기억력 저하 유도를 위한 scopolamine (TCI America, USA)과 양성 대조군에 사용된 donepezil (Sigma-Aldrich, USA)은 구입하여 사용하였다.

세포 배양 및 시험물질 처리

한국세포주은행에서 신경세포주 SH-SY5Y (KCLB No. 22266)를 분양받아, 10% FBS와 1% P/S가 첨가된 MEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 신경세포에 대한 크릴 오일의 세포독성 수준을 확인하기 위하여 WST-8 (Roche, Indianapolis, IN, USA)을 사용하여 측정하였다. 96-well plate에 SH-SY5Y를 1×10⁴ cells/well로 분주 하여 10% FBS와 1% P/S가 첨가된 MEM으로 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배지를 제거 후 크릴 오일 추출물을 농도별(10, 50, 100, 300, 500, 700 μ g/mL)로 처리하여 24시간 동안 추가 배양한 후 WST-8을 처리하여 4시간 동안 반응시키고 microplate reader (spectramax M2, molecular device, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Scopolamine을 처리한 신경세포주에서의 크릴 오일 효과를 확인하고자 설정한 5가지 시험군은 정상대조군(N, Normal control), scopolamine 단독처리군(C, 5 mM scopolamine), 양성대조군(P, 5 mM scopolamine + 10 μ M donepezil), 저농도 크릴 오일 처리군(SL, 5 mM scopolamine + 크릴 오일 10 μ g/mL), 그리고 고농도 크릴 오일 처리군(SH, 5 mM scopolamine + 크릴 오일 100 μ g/mL) 등이며 상기와 동일 조건으로 세포를 배양하고 scopolamine 5 mM과 donepezil 10 μ M, 또는 각각의 크릴 오일(10 또는 100 μ g/mL)을 처리하여 24시간 배양한 후 WST-8을 이용한 세포 생존을 측정에 사용하거나 AChE 측정에 활용하였다.

실험동물의 관리 및 시험

총 30마리의 웅성 6주령 마우스(ICR, (주)하나바이오, 경기도, 한국)를 입고하여 1주간 사육실 내 개별 케이지에서 순응기간을 거치고 시험에 투입시켰다. 사육실 내 환경은 실내온도 23±2°C, 습도 60±5%, 조명은 12시간 간격으로 점등을 유지하였으며 사료와 음용수는 자유섭취가 가능하도록 제공하였다. 순응기간 종료 후 실험동물은 체중을 바탕으로 군 간 유의성의 없도록 5개체씩 6개의 군으로 구분하여 배치하였다. 각각의 시험군은 정상 대조군(N, normal, DW 10 mL/kg i.p.), scopolamine 단독 처리군(C, Control, scopolamine 1 mg/kg i.p.), 양성 대조군(P, positive control, scopolamine 1 mg/kg i.p. + Donepezil 5 mg/kg p.o.), 크릴 오일 저용량 투여군(SL, scopolamine 1 mg/kg i.p. + 크릴 오일 100 mg/kg p.o.), 크릴 오일 중용량 투여군(SM, scopolamine 1 mg/kg i.p. + 크릴 오일 200 mg/kg p.o.), 크릴

오일 고용량 투여군(SH, scopolamine 1 mg/kg i.p. + 크릴 오일 500 mg/kg p.o.)으로 구분하여 시험을 진행하였다. 인지기능 저하 유도를 위한 scopolamine 투여는 정상 대조군을 제외한 모든 군에 10 mL/kg 용량으로 3주간 복강투여 하였고 양성 대조군(P)과 시험군의 시험물질은 scopolamine 투여 후 1주일 시점부터 2주간 10 mL/kg 용량으로 경구투여 하였다. 시험 중 실험동물의 활력 및 건강 상태를 매일 육안으로 모니터링하였고 일일 사료섭취량과 음수량과 체중은 주 2회 간격으로 측정하였다. 행동시험 측정을 위해 실험동물은 일정 기간 동안 각각의 행동시험에 대한 적응 훈련을 우선 실시한 후 본 시험을 실시하였다. 각각의 수동회피시험, 수중미로시험, 신물질탐색시험은 시험물질 투여 전과 시험 종료시점에 측정하여 비교하였다. 시험 종료시점에서 모든 동물은 마취를 통해 희생하였고 채취된 혈액과 뇌 등의 장기는 다음 분석을 위해 전처리하여 보관 실시하였다. 본 연구에서 수행한 동물실험은 (주)동남의화학연구원 동물실험 윤리위원회(No. SEMI-24-001, Institutional Animal Care and Use Committee)로부터 승인 받은 범위 내에서 방침 및 법규에 따라 진행하였다.

수동회피 시험(Passive avoidance test) - 기억력 시험

인지 손상이 유도된 실험동물의 기억(학습)능력을 평가하기 위해 shuttle box (JD-SI-10, (주)정도비엔피, Korea) 장비를 이용하여 수동 회피 실험을 진행하였다. 암실에서 전기자극을 기억하고 외부 공간에서 머무는 체류 시간(step-through latency)을 측정하는 방법[21]으로 수행되었다. 본 시험 전 인지 손상 물질인 scopolamine 투여 후 본 실험을 수행하였다.

모리스 수중미로실험(Morris water maze test)

실험동물의 공간지각능력 및 단기, 장기 기억력의 회복에 도움을 주는지 측정할 수 있는 실험이다. Morris 방법[26]을 응용하여 원형 수조 속에 물을 채우고 도피대를 수면 밑에 설치하고 실험동물이 도피대 위치를 인지하게끔 한 뒤 기억하고 찾아가는 데 걸리는 시간을 바탕으로 측정하였다. 실험동물이 도피대를 찾아 올라갈 때까지 걸리는 시간을 escape latency로 하여 훈련하였으며, 본 시험 전 인지 손상 물질인 scopolamine 투여 후 본 실험을 수행하였다.

신 물질 탐색 시험(Novel object recognition test)

신 물질 탐색은 물체의 인지 능력을 측정하기 위한 시험법이며 시험에 사용된 물체인지상자는 불투명 Open-field box (JD-SI-11DM, Korea)로서 (주)정도비엔피에서 구입하였다. 간단히, 모양과 크기가 같은 물체 2개를 먼저 인식하도록 한 후 이 중 하나를 다른 물체로 바꾸었을 때 새로운 물체 탐색에 소요된 시간과 횟수를 측정하여

전체 탐색 시간에 대한 새로운 물체 탐색에 소요된 시간을 비율로 한 discrimination index (%)를 계산하였다[25].

Acetylcholine과 acetylcholine esterase 측정

시험 종료 후 확보한 뇌 조직 또는 신경세포주에서 ACh 함량과 AChE의 활성을 측정하였다. ACh는 acetylcholine assay kit (Cat# ab65345, abcam, UK)를 이용하여 제조사가 공급한 매뉴얼에 따라 전처리 진행 후 microplate reader (spectramax M2, molecular device, USA)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였고 시료에서 측정된 흡광도를 표준곡선에 외삽하는 방식으로 시료의 단백질 함량 대비 ACh 함량을 계산하였다. AChE는 acetylcholinesterase assay kit (Cat# ab138871, abcam, UK)를 사용하여 전처리 된 시료를 반응시키고 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 표준곡선에 외삽하여 시료 내 단백질 함량 대비 AChE 활성을 계산하였다.

혈중 지질 수준 변화 측정

Triglyceride (TG), total cholesterol (CHO), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)의 혈중 지질 수준 변화 측정은 혈청을 자동 생화학 분석기(7100, Hitachi, Japan)를 이용하여 분석하였다.

항산화 및 지질 과산화 지표 측정

뇌 조직에서의 지질 과산화 및 항산화지표 측정을 위해 뇌 조직을 4°C에서 12,000× g, 30분간 원심분리하고 상등액을 시료로 사용하였다. 지질 과산화 수준 확인을 위해 EZ-Lipid peroxidation (TBARS) assay kit (Cat# DG-TBA200, DoGenBio, Korea)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하고 malondialdehyde (MDA) 함량 변화를 지표로 나타내었으며, superoxide dismutase (SOD) 활성은 mouse EZ-SOD assay kit (Cat# DG-SOD400, DoGenBio, Korea)를 이용하여 microplate reader에서 450 nm의 흡광도를 측정하였다.

뇌 조직 및 신경 세포 내 BDNF, CREB, p-CREB 발현량 측정

뇌 조직 및 SH-SY5Y 세포 내 신경세포 증식을 측정을 위해 BDNF, CREB, p-CREB의 발현량 변화를 western blot을 이용하여 확인하였다. RIPA buffer를 이용하여 조직 또는 세포의 lysate를 확보하고 4°C에서 12,000× g, 30분간 원심분리하고 상등액을 회수하여 Bradford assay로 단백질 함량을 측정 후 western blot analysis를 실시하였다[3]. 10% acrylamide 함유 SDS-PAGE에서 전기 영동을 실시하였고 Nitrocellulose blotting membrane (Amersham protran Biotech, Germany)으로 transfer 시킨 후 1차 항체로 BDNF (#sc-546, Santa cruz biotechnology, USA), CREB

(#sc-377154), p-CREB (#sc-7978-R)를 사용하고 결합된 2차 항체 Anti-mouse IgG (#7076, Cell signaling, USA)를 이용하여 ECL solution (Dong-In Biotech Co, Korea)에 반응시켜 Chemi-doc (XRS system, Bio-rad, USA)에서 분석하였다. Image J 프로그램(Wayne Rasband National Institutes of Health, USA, ver 1.46)을 이용하여 표적 단백질의 발현 수준을 정량 하고 beta-actin (#sc-47778) 값으로 보정하였다.

통계처리

통계적 검정은 Statview (ver.5.0.1) 통계 프로그램을 이용하였고, 측정값은 평균±표준편차로 나타내었다. 각 분석 항목에 대한 통계적 유의성은 normality 확인 후 One-way ANOVA test를 실시하고 $p < 0.05$ 수준에서 homogeneity, sample number에 따라 각 그룹 간의 유의성을 Tukey 또는 Fisher's PLSD test를 사용하여 사후검정 하였다.

결과 및 고찰

크릴 오일의 신경세포 내 효과를 검증하기 위해 신경세포주 SH-SY5Y 세포를 사용하였고 농도별 크릴 오일의 세포생존율을 확인하였다.

크릴 오일을 각각 10, 50, 100, 300, 500, 700 µg/mL 농도로 처리한 결과 모든 농도에서 비처리군(Blank) 대비 모든 농도에서 70% 이상의 세포생존율을 확인하였다(Fig. 1A). 크릴오일 10 µg/mL을 저농도군(SL)으로, 크릴 오일 100 µg/mL를 고농도군(SH)군으로 설정하였다. 이 후 5 mM scopolamine 처리 한 세포주에 대한 AChE 활성 변화 측정과 scopolamine 처리에 따른 크릴 오일의 세포생존율 영향을 보기 위해 이를 적용하였다. 그 결과로, scopolamine 단독처리군(C군)이 정상대조군(N군) 의 약 80% 수준으로 나타났으며, 크릴 오일을 처리한, SH군의 세포 생존율은

scopolamine 처리군(C군) 보다 약 10% 수준의 유의적인 증가($p > 0.05$)를 확인하였고(Fig. 1B), 크릴 오일이 scopolamine 처리에 대한 보호 효과를 가지는 것으로 사료된다. 이를 통하여 scopolamine은 신경세포주에 손상을 줄 수 있는 것으로 보여지며, 크릴 오일이 손상으로부터 보호효과를 가지는 것으로 사료되어 실제 생체 내에서의 뇌 신경세포에 대한 보호효과를 가질 수 있는 가능성을 시사하고 있다.

Scopolamine 처리에 따른 ACh 수준저하와 AChE 활성 증가에 대한 크릴 오일의 효과

Scopolamine 처리에 따른 인지기능 저하 유도 마우스모델을 사용하여, 총 3주간 진행된 시험기간 동안 물질 투여에 의한 실험동물의 행태학적 이상은 발견되지 않았고 모든 실험은 정상적으로 진행 되었다. 시험기간 동안의 체중변화에 있어서 donepezil 투여군(P)과 SM군에서 감소하는 양상이 있었지만 통계적인 유의성은 확인되지 않았다.

크릴 오일의 신경전달 물질 활성화에 미치는 효과를 확인하기 위해 scopolamine을 투여한 마우스의 뇌조직을 분리하여 Ach를 측정하였다. Scopolamine을 처리한 마우스에서 3.91 ± 0.66 U/mg protein으로 정상대조군(1.57 ± 0.27 U/mg protein) 대비 약 60% 수준으로 유의하게 감소함으로써 scopolamine은 뇌 조직 내 ACh를 감소시키는 것을 확인하였다($p < 0.05$, Fig. 2A). 이때, donepezil투여군(P, 2.54 ± 0.04 U/mg protein)을 포함한 모든 크릴 오일 투여군(SL군, 2.48 ± 0.04 U/mg protein; SM군, 2.55 ± 0.01 U/mg protein; SH군, 2.58 ± 0.06 U/mg protein)에서 ACh 함량이 C군에 비해 유의적으로 증가되는 것을 확인하여($p < 0.05$), 크릴 오일의 투여가 뇌 조직 내 ACh 수준 증가에 기여하는 것으로 확인되었다(Fig. 2A). Scopolamine은 지질 과산화 현상을 증가시켜 항산화 방어시스템을 파괴시키고 지질 과산화로 인

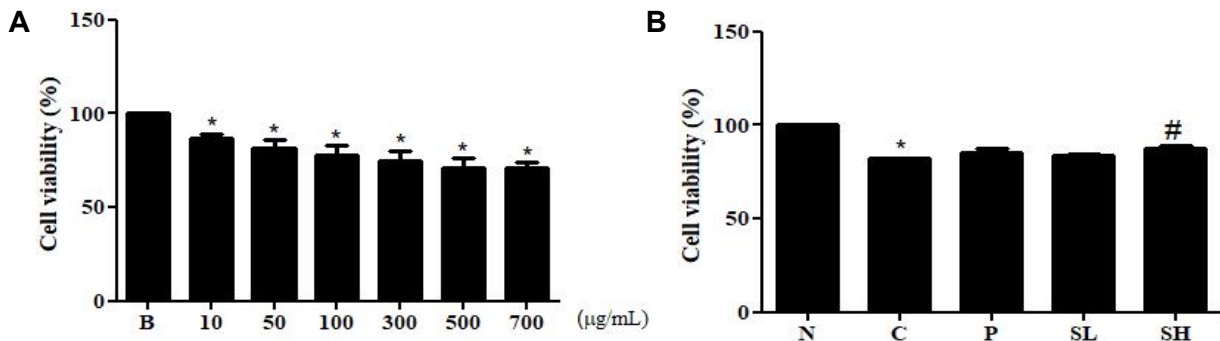


Fig. 1. Estimation of cell viability. Effect on cell viability was estimated with MTT assay. (A) Cell viability change by krill oil concentration in SH-SY5Y cells. (B) Cell viability change in scopolamine treated cell. N, Normal; C, Control, 5 mM scopolamine; P, 5 mM scopolamine + 10 µM donepezil; SL, 5 mM scopolamine + krill oil at 10 µg/mL ; SH, 5 mM scopolamine + krill oil at 100 µg/mL. Values are presented as mean ± SD (n=3). * $p < 0.05$, N vs C and # $p < 0.05$ vs C. One way ANOVA, Post-hoc tested with Tukey.

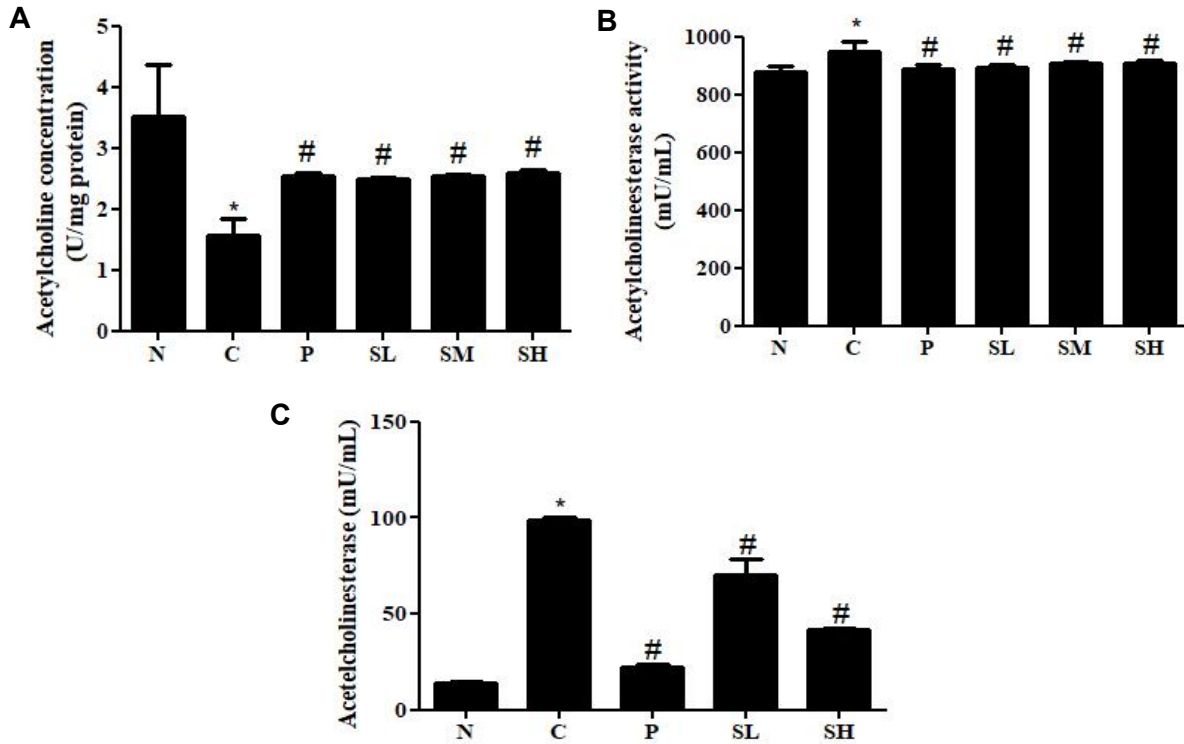


Fig. 2. Estimation of acetylcholine concentration and acetylcholinesterase activity. (A) Acetylcholine concentration change in scopolamine treated mice. (B) Acetylcholinesterase activity change in scopolamine treated mice. (C) Acetylcholinesterase activity change in SH-SY5Y cells. N, Normal, distilled water; C, Control, scopolamine + distilled water; P, scopolamine + donepezil; SL, scopolamine + krill oil at 100 mg/kg/day; SM, scopolamine + krill oil at 200 mg/kg/day; SH, scopolamine + krill oil at 500 mg/kg/day. Values are represented as mean ± SD (n=5). * $p < 0.05$, N vs C and # $p < 0.05$ vs C. One way ANOVA, Post-hoc tested with Tukey.

해 생성된 다양한 독성물질들로 조직들을 손상시키는 것으로 알려져 있으며[9, 23], 무스카린 수용체로서의 작용에 따라 ACh수준을 낮추는 것으로 알려져 있다[26, 29]. 크릴 오일 투여로 Ach 함량 증가를 확인하였고 이는 scopolamine 처리에 따른 뇌기능 손상을 개선시킬 수 있음을 시사한다.

ACh는 Choline acetyltransferase (ChAT)에 의해 합성되며 AChE에 의해 분해되는 신경전달물질로[2], 크릴 오일에 의한 ACh 수준 증가가 AChE 활성 저하에 의한 것인지 확인하기 위해, 뇌 조직 내 AChE 활성을 측정하였다. 뇌 조직 내 AChE 활성에 있어서 scopolamine 처리(C)군이 정상대조군 보다 높은 활성을 나타내었고(N, 878.99 ± 19.97 mU/mL vs C, 948.44 ± 33.18 mU/mL, $p < 0.05$) 이때, P, SL, SM, 그리고 SH군에서 AChE의 활성이 각각 887.23 ± 15.10 , 894.25 ± 11.51 , 907.04 ± 7.33 mU/mL, 그리고 907.90 ± 11.25 mU/mL로 모두 scopolamine 처리군 대비 유의적으로 감소($p < 0.05$)하는 것으로 확인되었다(Fig. 2B). 본 연구결과를 통하여 크릴 오일에 의한 AChE 활성 저하가 실제 ACh의 수준증가에 기여를 하는 것으로 사료된다.

scopolamine으로 유도된 신경손상 세포에서 크릴 오일

이 AChE 활성에 미치는 영향을 확인하였다.

AChE 활성 관련 연구에서 주로 사용되는 SH-SY5Y 세포에 scopolamine을 처리하여 AChE의 활성이 정상 대조군에 비해 7배 수준으로(N군 vs. C군, 13.80 ± 1.00 vs. 98.44 ± 1.72 mU/mL, $p < 0.05$) 증가 되는 것을 확인하였고, 이에 대해 donepezil 처리군은 약 77%(22.42 ± 1.66 mU/mL) 수준으로 AChE 활성이 감소되는 것을 확인하였다. SL군과 SH군에서 각각 29%(69.93 ± 8.25 mU/mL) 와 57%(42.00 ± 0.38 mU/mL) 수준으로 활성이 유의하게 감소되는($p < 0.05$) 것을 확인하였다(Fig. 2C).

크릴 오일에 의한 뇌 조직 지질과산화 조절과 혈중 지질 수준의 변화

Scopolamine에 의한 지질 과산화 증가와 세포 손상 효과에 대해 많은 연구들에서 제시하고 있으며[22, 23, 28], 본 연구에서도 scopolamine 처리에 의한 마우스 뇌 조직 내 지질 과산화 수준을 MDA와 SOD를 통하여 확인하였다. 지질 과산화 MDA 농도는 정상대조군에서 12.24 ± 1.04 μ M, C군에서 14.89 ± 1.64 μ M로 약 20% 정도로 유의한 증가($p < 0.05$)를 보였다. 반면 scopolamine 처리에 따른 지질

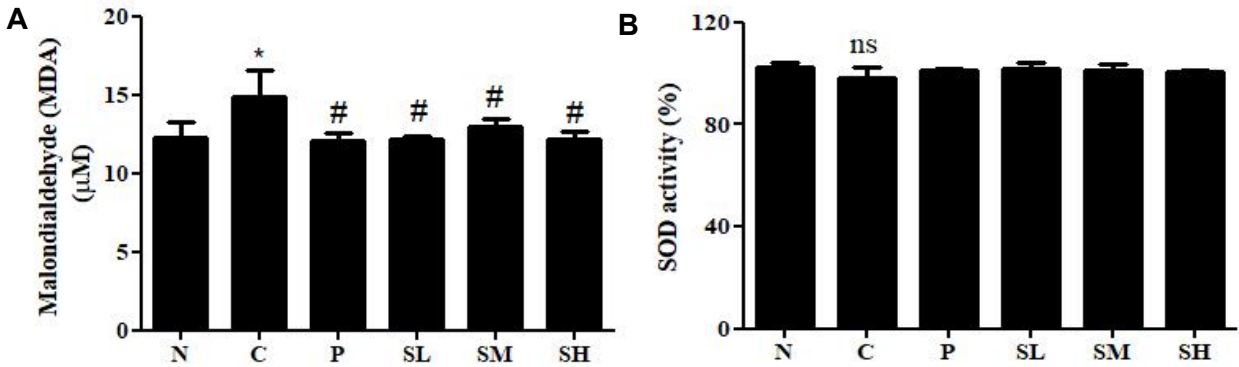


Fig. 3. Estimation of malondialdehyde and superoxide changes in brain tissue. (A) Malondialdehyde concentration change in scopolamine induced mice. (B) Superoxide dismutase activity change in scopolamine induced mice. N, Normal, distilled water; C, Control, scopolamine + distilled water; P, scopolamine + donepezil; SL, scopolamine + krill oil at 100 mg/kg/day; SM, scopolamine + krill oil at 200 mg/kg/day; SH, scopolamine + krill oil at 500 mg/kg/day. Values are represented as mean \pm SD (n=5). ns, not significant, * p <0.05, N vs C and # p <0.05 vs C. One way ANOVA, Post-hoc tested with Tukey.

과산화는 donepezil 투여군(P)에서 $12.05 \pm 0.52 \mu\text{M}$, SL군 $12.19 \pm 0.20 \mu\text{M}$, SM군에서 $13.01 \pm 0.49 \mu\text{M}$, 그리고 SH군에서 $12.16 \pm 0.62 \mu\text{M}$ 로 C군 수준의 약 80% 수준으로 모두 유의하게 감소(p <0.05)되는 것을 확인하였다(Fig. 3A). 또한 scopolamine에 의한 SOD의 활성 변화를 측정된 결과 크릴 오일은 물론이고 donepezil 투여군(P)에서 SOD 활성에 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다(Fig. 3B).

이전연구[17]에서, Amyloid β 주입 마우스 모델에서 MDA 함량은 크릴 오일 투여군(100, 200, 500 mg/kg)에서 C군 대비 유의적인(p <0.05) 수준으로 감소하였고 항산화 효과에 의한 MDA 감소의 가능성을 제시하였다. 항산화 효과에 의한 MDA의 감소는 SOD 증가를 예상할 수 있으나 scopolamine을 이용한 인지 저하 모델을 사용한 본 연구에서는, SOD에 대한 크릴 오일의 효과를 확인할 수 없었다. 다만 MDA에 의한 지질 과산화 억제로 인한 산화 스트레스 억제에 효과적임을 나타내고 있다.

지질 과산화 억제효과와 연계하여 본 연구에서 크릴 오일에 의한 혈중 지질 수준의 개선 효과를 확인하였다. Scopolamine을 투여한 동물의 혈중 지질수준은 정상대조군과 비교하여 중성지질(triacylglycerol, TG) 수치가 약 1.5 배 증가(N vs. C, 98.06 ± 10.95 vs. 151.41 ± 20.58 mg/dL, p <0.05) 됨을 확인하였다. 이에 대해 SL군, SM군, SH군의 중성지질 수준이 각각 87.19 ± 9.00 mg/dL, 121.76 ± 5.74 mg/dL 그리고 76.07 ± 9.64 mg/dL로 scopolamine 처리군의 약 50% 유의적인(p <0.05) 수준으로 감소하였다(Fig. 4A).

또한, 크릴 오일 고농도 처리군인 SH군에서 TG 감소 효능을 크릴 오일의 주된 성분인 지방산이 함유되어 있는 오메가 3를 섭취한 마우스의 선행연구[12] 비교하였다. 오메가 3의 섭취 농도가 높아질수록 TG의 함량이 증가하였고, 이 결과와 본 실험과 비교하였을 때, 고농도의 크릴

오일 섭취가 크릴 오일의 지방산의 증가로 높아진 SM군의 혈중 TG를 감소시키는 것으로 사료된다.

뇌 조직에서 지질 과산화가 혈중 지질수준에 어떻게 영향을 미치는지 추가연구가 필요하나, 지질 과산화에 의한 뇌 조직의 손상은[28], 체내 에너지 대사에 영향을 미칠 가능성이 높고, 이에 따라, 각 조직에서의 에너지 사용이 원활하지 못하여 체내 지질 수준에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

혈중 중성지질의 증가는 체내 지질합성과 높은 연관성을 가지며, 주로 잉여 에너지원(탄수화물, 지방)으로부터 생산 및 운반이 되므로, 본 연구에서의 크릴 오일 섭취는 지질 과산화와 연계하여 신경전달의 활성화로 정상적인 에너지 대사 형태로 전환시켰을 것이라 사료된다.

총 콜레스테롤은 이와 연계하여, 혈중 콜레스테롤의 지질 운반 및 말초 조직에서의 활용을 목적으로 혈액 내 순환되는 것으로 체내 잉여지질의 증가에 의해 혈중 수준이 높아지는 것으로 알려져 있다[24]. 본 연구에서는 scopolamine 처리에 따라 정상대조군의 85% 수준으로 유의하게 증가되는 것이(N vs. C, 117.62 ± 1.87 vs. 137.04 ± 6.29 mg/dL, p <0.05) 확인되었고 donepezil 투여군(P, 119.62 ± 15.15 mg/dL)은 scopolamine 투여군의 약 85% 수준으로 감소(p <0.05) 하였다. SL군(124.10 ± 11.06 mg/dL)에서는 scopolamine 투여군의 약 90% 수준의 감소하는 경향을 확인하였으며 특히, SM군과 SH군에서 각각 118.53 ± 9.13 과 116.65 ± 7.43 mg/dL로 확인되어, scopolamine 처리군의 약 85% 수준까지 유의하게 감소되는 것을 확인하였다(p <0.05, Fig 4B).

추가하여, 혈중 LDL-C 농도도 scopolamine을 처리한 군에서 정상대조군보다 약 15% 증가(N vs. C, 9.91 ± 0.98 vs. 11.24 ± 0.73 mg/dL, p <0.05)된 것을 확인하였고, SH군에서

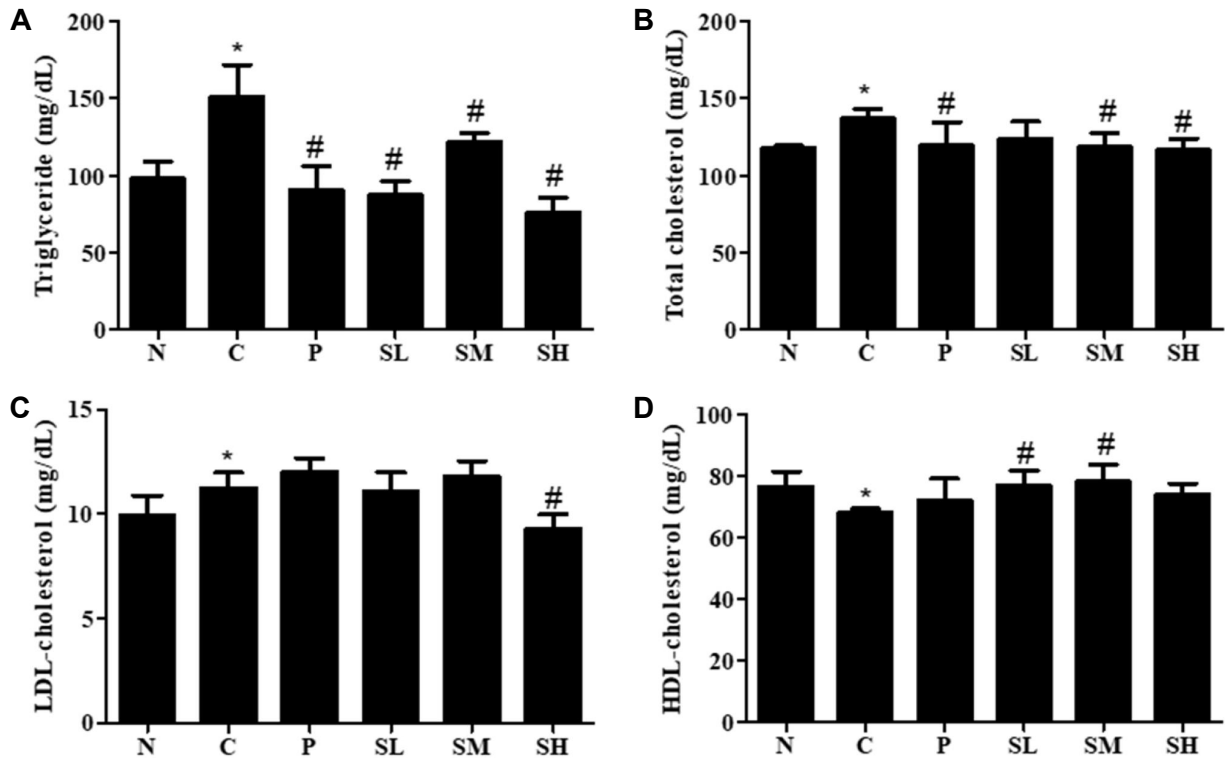


Fig. 4. Estimation of serum lipid profile change in scopolamine treated mice. (A) Triglyceride. (B) Total cholesterol. (C) LDL-cholesterol. (D) HDL-cholesterol. N, Normal, distilled water; C, Control, scopolamine + distilled water; P, scopolamine + donepezil; SL, scopolamine + krill oil at 100 mg/kg/day; SM, scopolamine + krill oil at 200 mg/kg/day; SH, scopolamine + krill oil at 500 mg/kg/day. Values are represented as mean ± SD (n=4). **p*<0.05, N vs C, #*p*<0.05 vs C. One way ANOVA, Post-hoc tested with Fisher's PLSD.

는 scopolamine 처리군의 82% 수준으로 혈중 LDL-C이 감소(9.30±0.67 mg/dL, *p*<0.05) 하는 경향을 확인 할 수 있었다. 하지만 donepezil 투여군(P, 12.01±0.66 mg/dL)을 포함하여 SL군(11.08±0.92 mg/dL)과 SH군(11.81±0.74 mg/dL)에서 scopolamine 처리군과 유의한 차이가 확인되지 않았다(Fig. 4C).

혈중 HDL-C는 말초조직으로부터 체외로 배출하기 위해 지질을 운반하는 형태이며, HDL-C 증가는 혈중 지질 수준 조절에 중요한 역할을 한다[7]. 본 연구에서 HDL-C 농도변화에 있어서 SL군과 SM군에서 각각 77.01±04.73 mg/dL와 78.22±5.61 mg/dL로 나타나 scopolamine 처리군(68.27±1.27 mg/dL)의 약 1.2배 수준까지 유의하게 증가시키는 것을 확인하였다. 이때, donepezil 투여군 (P, 77.00±4.73 mg/dL)과 SH군(74.16±3.50 mg/dL)은 혈중 HDL-C 농도 변화에 영향을 주지 않았다(Fig. 4D).

이상의 결과를 토대로, 크릴 오일은 뇌조직 내 지질 과산화 억제 및 뇌 신경보호를 통해 혈중 지질 수준을 개선시키는 효과를 가지는 것으로 사료된다.

크릴 오일 섭취에 따른 인지기능 개선 효과의 행동실험

크릴 오일 섭취에 따른 인지기능 개선 효과를 행동실험으

로 확인하였다. 전기 자극이 있는 장소에 대한 기억과 인식을 하고 해당 장소로의 이동 시간이 지연(머물게) 되는 것을 통해 인지와 기억력의 개선 여부를 평가를 하는 수동회피시험에서 scopolamine을 처리한 군은 자극이 없는 장소에서 머무는 시간(retention time)이 정상대조군의 30% 수준으로 짧아졌다(N vs. C, 120.00±0.00 sec vs. 35.80 ±7.35 sec, *p*<0.05). 이에 반해 donepezil 투여군(P)에서는 머무름 시간이 101.08±17.57 sec, SL군 104.19±14.98 sec, SM군 114.43±12.46 sec, 그리고 SH군에서 120.00±0.00 sec로 모두 정상대조군 수준으로 유의하게(*p*<0.05) 증가하였다(Fig. 5A).

또한, 수면에 가려진 도피대의 위치를 기억하고 주변 환경을 인식하여 도피대를 찾아 가는 탈출지연시간(escape latency time)이 얼마나 걸리는지에 대한 수중미로 시험에 있어서도 scopolamine을 처리한 군의 escape latency time이 120.00±0.00 sec로 측정되어 정상대조군의 20.29±11.48 sec에 비해 5배 이상의 시간이 소요되었다(*p*<0.05, Fig. 5B). 이에 대해 크릴 오일을 섭취한 모든 군에서 탈출지연시간이 SL군에서 52.00±31.04 sec, SM에서 31.23±14.38 sec, SH군에서는 54.48±33.19 sec로 측정되어 scopolamine 처리군에 비해 각각 40%, 70%, 40% 수준으로 감소되는 것을

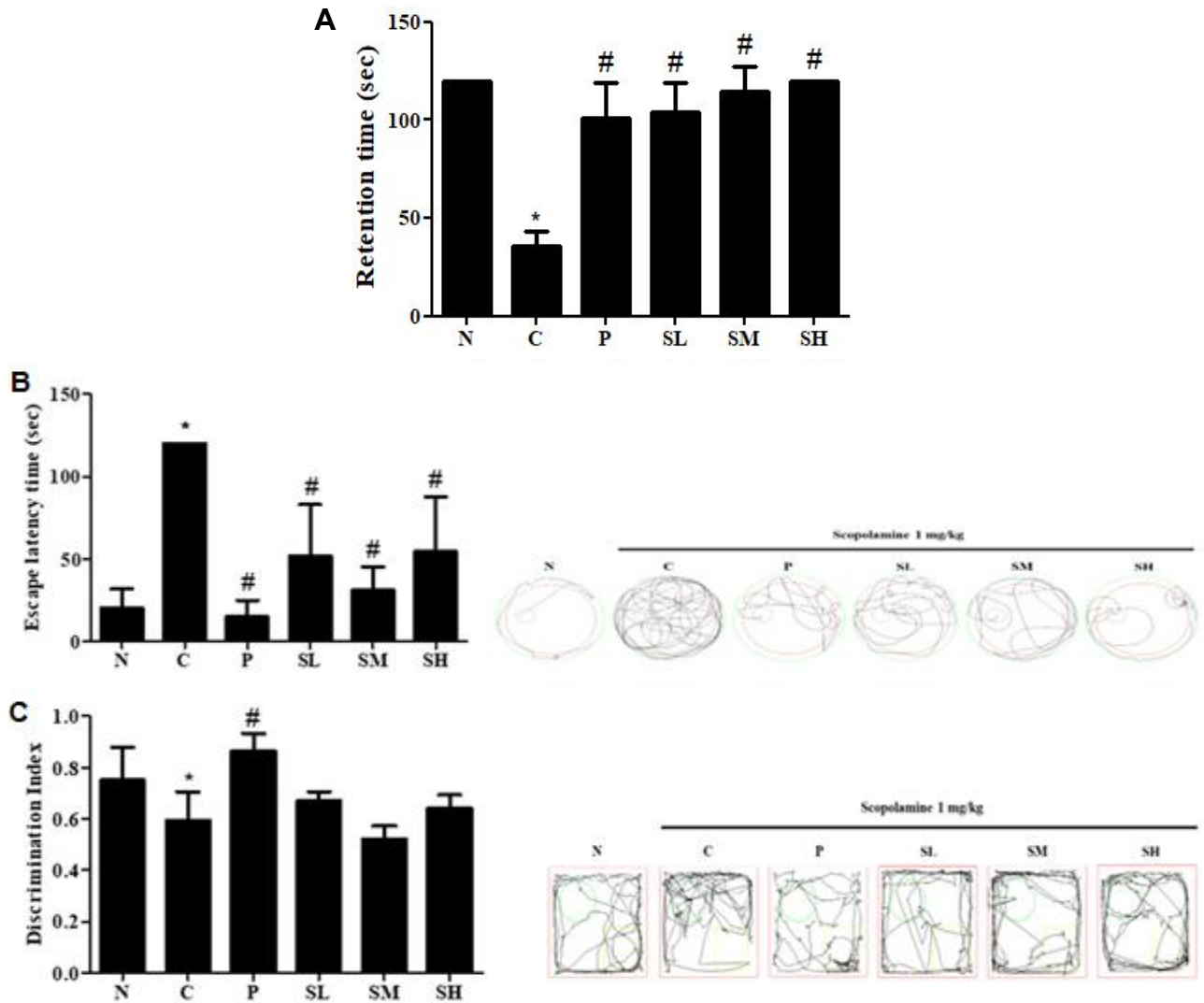


Fig. 5. Behavioral experiments for cognitive and memory functions. (A) Passive avoidance test. (B) Morris water maze test. (C) Novel object recognition test. N, Normal, distilled water; C, Control, scopolamine + distilled water; P, scopolamine + donepezil; SL, scopolamine + krill oil at 100 mg/kg/day; SM, scopolamine + krill oil at 200 mg/kg/day; SH, scopolamine + krill oil at 500 mg/kg/day. Values were represented as mean ± SD (n=4). * $p < 0.05$, N vs C and # $p < 0.05$ vs C. One way ANOVA, Post-hoc tested with Fisher's PLSD.

확인하였으나, SM군에서 정상대조군, donepezil 투여군 (P, 54.48±33.19 sec) 에서 확인된 탈출지연 시간 만큼 유의적으로($p < 0.05$) 단축되는 것을 확인 하였다(Fig 5B).

새로운 물체에 대한 변별력(discrimination index, DI)을 통해 인지기능을 평가하는 신물질탐색시험에서는 전체 탐색시간에 대한 신규물질 탐색시간의 비율을 DI 값으로 도출하였고 scopolamine처리군에서 DI가 0.59±0.11로 나타나 정상 대조군(0.75±0.16)의 약 15% 수준으로 유의하게($p < 0.05$) 감소되었을 때, donepezil 투여군(P)에서는 DI가 0.87±0.06로 측정되어 유의적으로($p < 0.05$) 변별력 개선 효과가 나타났다. 하지만, SL군 (0.67±0.04), SM군 (0.52±0.05), SH군 (0.64±0.05) 모두 scopolamine 처리군의 DI 값

과 유의적 차이가 없는 것으로 확인되었다(Fig. 5C).

이상의 결과와 선행연구에서[17] 나타난 바와 같이, 수동회피실험과 수중미로실험의 결과에서 C군 대비 크릴 오일 투여(100, 200, 500 mg/kg) 군에서 모두 유의적인 수준의($p < 0.05$) 인지 기능의 기억력 개선과 공간 기억력이 향상되는 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 다만 NOR에서는 크릴 오일 투여군에서 유의적인 차이를 확인할 수 없었고 scopolamine 투여한 인지저하 마우스 모델과 일치함을 확인하였다.

신경세포 증식에 대한 효과

뇌 조직에서의 신경세포 증식인자의 변화 가능성을 확

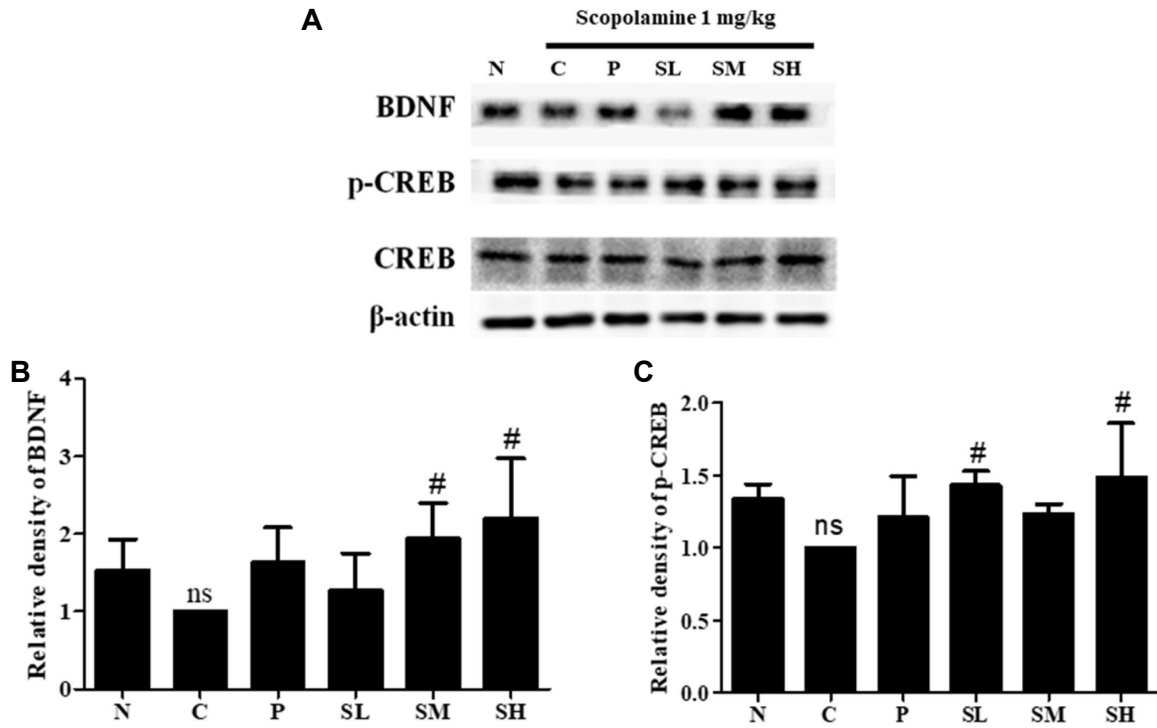


Fig. 6. Estimation of neuronal protein expressions in brain tissue. (A) Protein expression was measured by western blot. (B) BDNF/ beta-actin. (C) p-CREB/beta-actin. N, Normal, distilled water; C, Control, scopolamine + distilled water; P, scopolamine + donepezil; SL, scopolamine + krill oil at 100 mg/kg/day; SM, scopolamine + krill oil at 200 mg/kg/day; SH, scopolamine + krill oil at 500 mg/kg/day. Values are represented as mean \pm SD (n=3). ns, not significant. # p <0.05 vs C. Post-hoc tested with Fisher's PLSD.

인하고자 뇌신경세포의 증식과 성장을 촉진하는 인자인 BDNF의 발현과 BDNF의 발현을 촉진시키는 활성화형 CREB 단백질(p-CREB)의 수준을 측정하였다(Fig. 6A). Scopolamine 투여에 따라 β -actin 대비 BDNF 발현수준이 정상대조군에서 1.53 ± 0.40 수준으로 발현될 때 scopolamine 처리군에서 65% 수준(1.00 ± 0.00)으로 발현되었으나 통계적 유의성은 확인되지 않았다. 마찬가지로, donepezil 투여군(P)과 SL군에서 각각 1.63 ± 0.45 와 1.26 ± 0.49 수준으로 발현되어 scopolamine 처리군과의 통계적 유의성을 확인할 수 없었다(Fig. 6B). 하지만, SM군과 SH군에서 BDNF 발현이 각각 1.94 ± 0.46 , 2.20 ± 0.77 수준으로 나타나 정상대조군의 유의한 차이는 나타나지 않았지만 scopolamine 처리군의 94%와 120% 수준으로 증가($p < 0.05$)되는 것을 확인 하였다.

이전연구[17] Amyloid β 유도 인지저하 모델에서 크릴 오일에 따른 BDNF 발현 감소를 확인하였고 이는 본 연구의 SM군과 SH군에서의 효과와 일치된다. 이는 p-CREB를 통한 CREB 활성화에 있어서도 비슷한 결과를 확인할 수 있었으며, Scopolamine 처리군과 비교하여 정상대조군에서는 1.26 ± 0.18 로 유의하지 않은 증가를 나타내었고 donepezil 투여(P, 1.15 ± 0.09) 또한 p-CREB 발현양에 영향을 미

치지 않았음에도 SL군 (1.21 ± 0.08), SM군 (1.41 ± 0.23)와 SH군 (1.54 ± 0.33)에서 각각 scopolamine 섭취군의 21%, 41%와 54% 수준으로 p-CREB 발현이 증가되는 것을 확인 하였고 SM군을 제외한 섭취 군에서 통계적 유의성을 확인 하였다.

선행연구[17]에서도 크릴 오일에 의한 p-CREB 발현 증가를 확인하였으며, 이상의 결과로 크릴 오일의 p-CREB의 활성화증가로 인한 BDNF 발현 증가를 확인하였으며 신경세포 증식인자 발현을 증가시키는 크릴 오일의 효과는 지질 과산화와 동반되어 나타나는 것으로 사료된다(Fig. 6C).

이상의 결과를 종합하여, 크릴 오일의 섭취는 AChE 저하를 통해 뇌 조직 내 ACh 농도를 높이고 지질 과산화물 저해 효과에 따른 뇌조직 보호와 동반하는 혈중 지질 수준의 개선 그리고 신경세포 증식인자 발현 증대를 통해 인지 기능 개선 효과가 있음을 확인하였다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Acheson, A., Conover, J. C., Fandl, J. P., DeChiara, T. M., Russell, M. and Thadani, A. 1995. A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. *Nature* **374**, 450-453.
- Blusztajn, J. K. and Wurtman, R. J. 1983. Choline and cholinergic neurons. *Science* **221**, 614-620.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
- Briggs, R., Kennelly, S. P. and O'Neill, D. 2016. Drug treatments in Alzheimer's disease. *Clin. Med.* **16**, 247-253.
- Darvesh, S., Walsh, R., Kumar, R., Caines, A., Roberts, S., Magee, D., Rockwood, K. and Martin, E. 2003. Inhibition of human cholinesterases by drugs used to treat Alzheimer disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **17**, 117-126.
- Egan, M. F., Kojima, M., Callicott, J. H., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S. and Bertolino, A. 2003. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* **112**, 257-269.
- Emiel, P. C. van. Der. Vorst. 2020. High-density lipoproteins and apolipoprotein A1. *Subcell Biochem.* **94**, 399-420.
- Finkbeiner, S., Tavazoie, S. F., Maloratsky, A., Jacobs, K. M., Harris, K. M. and Greenberg, M. E. 1997. CREB: a major mediator of neuronal neurotrophin responses. *Neuron* **19**, 1031-1047.
- Giacobini, E. 1990. The cholinergic system in Alzheimer disease. *Prog. Brain Res.* **84**, 321-332.
- Grimstad, T., Bjørndal, B., Cacabelos, D., Aasprong, O. G., Janssen, E. A., Omdal, R., Svardal, A., Hausken, T., Bohov, P., Portero-Otin, M., Pamplona, R. and Berge, R. K. 2012. Dietary supplementation of krill oil attenuates inflammation and oxidative stress ulcerative colitis in rats. *Scand. J. Gastroenterol.* **47**, 49-58.
- Hariri, A. R., Goldberg, T. E., Mattay, V. S., Kolachana, B. S., Callicott, J. H. and Egan, M. F. 2003. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *J. Neurosci.* **23**, 6690-6694.
- Hong-Ping, G., Joseph, L. G., Michael, S. B. and Guosheng, L. 2009. Accelerated fatty acid oxidation in muscle averts fasting-induced hepatic steatosis in SJL/J Mice. *J. Biol. Chem.* **36**, 24644-24652.
- Huang, E. J. and Reichardt, L. F. 2001. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu. Rev. Neurosci.* **24**, 677-736.
- Ierna, M., Kerr, A., Scales, H., Berge, K. and Griinari, M. 2010. Supplementation of diet with krill oil protects against experimental rheumatoid arthritis. *BMC. Musculoskelet. Disord.* **11**, 136.
- Kamat, P.K., Kalani, A., Rai, S., Swarnkar, S., Tota, S. and Nath, C. 2016. Mechanism of oxidative stress and synapse dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease: Understanding the therapeutics strategies. *Mol. Neurobiol.* **53**, 648-661.
- Kandel, E. R. 2012. The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB. *Mol. Brain* **5**, 14.
- Kim, J. H., Meng, H. W., He, M. T., Choi, J. M., Lee, D. J. and Cho, E. J. 2020. Krill oil attenuates cognitive impairment by the regulation of oxidative stress and neuronal apoptosis in an amyloid β -induced Alzheimer's disease mouse model. *Molecules* **25**, 3942.
- Kjetil, B., Kathy, M., Melody, H., Nils, H. and Lena, B. 2014. Krill oil supplement action lowers serum triglycerides without increasing low-density lipoprotein cholesterol in adults with borderline high or high triglyceride level. *Nutr. Res.* **34**, 126-133.
- Ko, Y. H., Kwon, S. H., Ma, S. X., Seo, J. Y., Lee, B. R. and Kim, K. 2018. The memory-enhancing effects of 7,8,4'-trihydroxyisoflavone, a major metabolite of daidzein, are associated with activation of the cholinergic system and BDNF signaling pathway in mice. *Brain Res. Bull.* **142**, 197-206.
- Lavado, L. K., Zhang, M. H., Patel, K., Khan, S. H and Patel, U. K. 2019. Biomarkers as potential predictors of the neurodegenerative decline in Alzheimer's disease. *Cureus.* **11**, 5573.
- Lee, H. J., Lee, D. Y., Kim, H. L. and Yang, S. H. 2020. *Scrophularia buergeriana* extract improves memory impairment via inhibition of the apoptosis pathway in the mouse hippocampus. *Appl. Sci.* **10**, 7987.
- Lee, J. S., Kim, H. G., Lee, H. W., Han, J. M., Lee, S. K., Kim, D. W., Saravanakumar, A. and Son, C. G. 2015. Hippocampal memory enhancing activity of pine needle extract against scopolamine-induced amnesia in a mouse model. *Sci Rep.* **5**, 9651.
- Mansoorali, K. P., Prakash, T., Kotresha, D., Prabhu, K. and Rao, N. R. 2012. Cerebroprotective effect of *Eclipta alba* against global model of cerebral ischemia induced oxidative stress in rats. *Phytomedicine.* **19**, 1108-1116.
- Nguyen, P., Leray, V., Diez, M., Serisier, S., Le Bloc'h, J., Siliart, B. and Dumon, H. 2008. Liver lipid metabolism. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **92**, 272-283.
- Noda, Y., Mouri, A., Ando, T., Waki, Y., Yamada, Y., Yoshimi, A., Yamada, K., Ozaki, N., Wang, D. and Nabeshima, T. 2010. Galantamine ameliorates the impairment of recognition memory in mice repeatedly treated with methamphetamine: involvement of allosteric potentiation of nicotinic acetylcholine receptors and dopaminergic-ERK1/2 systems. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **13**, 1343-1354.
- Reid, S. N. S., Ryu, J. K., Kim, Y. S. and Jeon, B. H. 2018. GABA-enriched fermented *Laminaria japonica* improves cognitive impairment and neuroplasticity in scopolamine- and ethanol-induced dementia model mice. *Nutr. Res. Pract.* **12**, 199-207.
- Salim, S. 2017. Oxidative stress and the central nervous

- system. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **360**, 201-205.
28. Shabani, S. and Mirshekar, M. A. 2018. Diosmin is neuro-protective in a rat model of scopolamine-induced cognitive impairment. *Biomed Pharmacother.* **108**, 1376-1383.
29. Sung, N. Y., Song, H. Y., Ahn, D. H., Yoo, Y. C., Byun, E. B., Jang, B. S., Park, C. H., Park, W. J. and Byun, E. H. 2016. Antioxidant and neuroprotective effects of green reea seed shell ethanol extracts. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* **45**, 958-965.
30. Taraschenko, O. D., Barnes, W. G., Herrick-Davis, K., Yokoyama, Y., Boyd, D. L. and Hough, L. B. 2005. Actions of tacrine and galanthamine on histamine-N-methyltransferase. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.* **27**, 161-165.
31. Ulven, S. M. and Holven, K. B. 2015. Comparison of bio-availability of krill oil versus fish oil and health effect. *Vasc. Healthcare. Risk. Manage.* **11**, 511-524.

초록 : Scopolamine 유도 인지 저하 마우스 모델에서 크릴 오일의 인지 개선 효과

설혜민¹ · 이정아¹ · 황미선² · 박상훈³ · 김형수^{1,4*}

(¹㈜동남의화학연구원, ²랩투메디 CRO, ³㈜유에스파마텍코리아, ⁴경성대학교)

선행연구에서 크릴 오일의 항산화 작용을 통한 Amyloid β 로 저하된 설치류의 인지능과 기억력을 개선시킨다는 것을 확인하였으나 신경전달물질 등의 조절에 대한 유효성 확인과 지질 과산화와 혈중지질과의 연계성이 필요하여 본 연구를 진행하였다. Scopolamine으로 신경전달 체계를 교란시킨 ICR mice에서 크릴 오일 섭취에 따른 수동회피, 수중미로, 신물질 탐색 등의 행동시험을 실시하여 인지 및 기억력 개선에 대한 유효성과 뇌 조직에서의 acetylcholine 수준과 acetylcholinesterase의 활성 변화와 함께 지질 과산화와 혈중지질 수준 그리고 신경세포 증식인자의 발현량에 대한 변화를 조사하였다. 그 결과 scopolamine 처리군에 비해 크릴 오일 섭취로 인한 수동회피시험에서의 정체시간 지연과 수중미로시험에서의 탈출지연시간 단축을 확인하여 인지 및 기억력을 개선을 확인하였다. 또한, acetylcholine 수준이 scopolamine 처리군 보다 증가되는 것을 확인하였고 여기에는 acetylcholine esterase의 활성 감소가 동반되었다. Scopolamine을 처리한 신경세포주에서도 크릴 오일 처리에 따라 acetylcholinesterase의 활성이 감소되는 것을 확인하였다. 또한, 크릴 오일이 지질 과산화 억제에 의한 malondialdehyde 생성 수준을 감소시키는 것이 혈중 중성지질, 콜레스테롤과 LDL-C 등의 저하와 HDL-C의 상승과 연관되는 것으로 확인되며 CREB의 활성 증가를 통해 BDNF의 상승으로 신경세포 증식인자 발현량 증가에 대한 효과가 있는 것으로 확인되었다. 따라서, 본 연구를 통해 크릴 오일은 뇌 조직 내 acetylcholine 등 신경전달물질 수준의 개선, 지질 과산화 억제 등을 통한 혈중지질 개선과 신경세포 증식 인지기능 및 기억력 개선 효과를 가지는 것으로 확인하였다.