

Scopolamine 유발 기억장애 모델에서 천마 추출물의 기억력 개선 효과

최한별·한상윤·김려원·윤철환·김창수¹·이은숙¹·권강범*

원광대학교 한의과대학 생리학교실 및 ㈜일원바이오, 1: 전북특별자치도 농업기술원

Memory Enhancing Effects of *Gastrodia elata* Extract in a Scopolamine-Induced Memory Deficit Model

Han Byeol Choi, Sang Yun Han, Ryeo Won Kim, Cheolhwan Yoon, Chang Su Kim¹, Eun Suk Lee¹, Kang Beom Kwon*

Department of Physiology, School of Korean Medicine, Wonkwang University & Ilwonbio Co., Ltd.,
1: Jeonbuk State Agricultural Research & Extension Services

Gastrodia elata (GE), a traditional medicinal herb rich in gastrodin, is known for its neuroprotective and anti-inflammatory properties. This study investigated the effects of standardized GE extract on scopolamine-induced memory impairment and its underlying mechanisms. Various concentrations of GE extract administration significantly improved learning and memory performance in the Morris Water Maze and Barnes Maze tests. GE extract also reduced hippocampal acetylcholinesterase activity elevated by scopolamine, restored BDNF(Brain-Derived Neurotrophic Factor) expression and CREB(Cyclic AMP Response Element-Binding protein) phosphorylation, and normalized MAPK(Mitogen-Activated Protein Kinase) signaling through decreased ERK(Extracellular signal-Regulated Kinase) and JNK(c-Jun N-terminal Kinase) activation. GE extracts also suppressed scopolamine-induced increases in pro-inflammatory cytokines. These effects were most prominent in the GE200(200mg/kg GE extracts) and GE500(500mg/kg GE extracts) groups and were comparable to donepezil. These findings suggest that *Gastrodia elata* extract ameliorates scopolamine-induced cognitive deficits through cholinergic enhancement, neuroplasticity support, MAPK regulation, and anti-inflammatory actions.

keywords : *Gastrodia elata*, Cognitive impairment, Scopolamine, Gastrodin, BDNF, CREB, MAPK, Neuroinflammation

서론

치매(dementia)는 기억력, 판단력, 학습능력 등 다양한 인지기능이 저하되는 대표적인 퇴행성 뇌질환으로, 고령화 사회의 도래와 함께 발병률이 꾸준히 증가하고 있다. 특히 알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD)은 전체 치매의 약 60~70%를 차지하며, 신경세포의 퇴행과 시냅스 기능 저하로 인해 학습 및 기억 기능에 심각한 장애를 초래한다¹⁻³. 알츠하이머병의 병태생리에는 다양한 가설이 제시되고 있으나, 그중에서도 콜린성 신경전달체계의 기능 저하(cholinergic deficit)는 인지기능 감퇴의 주요한 원인으로 알려져 있다^{4,5}. 이러한 콜린성 가설(cholinergic hypothesis)을 기반으로 현재 임상에서는 acetylcholinesterase(AChE) 억제제인 donepezil, rivastigmine 등이 치료제로 사용되고 있다.

인지기능 저하의 병리적 기전을 규명하기 위한 동물모델 중 scopolamine 유도 기억력 감퇴 모델은 muscarinic acetylcholine receptor를 선택적으로 억제하여 해마(hippocampus)의 콜린성 신경전달을 저해함으로써 학습-기억 장애를 유발하는 모델로 널리 활용된다^{6,7}. Scopolamine 투여는 AChE 활성 증가, 항산화 방어체계 감소, 염증성 사이토카인 증가, 뇌유래 신경영양인자(Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF) 및 cAMP 반응 요소 결합 단백질(Cyclic AMP Response Element-Binding protein, CREB) 활성이 저하되는 것으로 보고되었으며⁸⁻¹⁰, 이는 인간의 초기 치매 증상과 유사한 특징을 보이기 때문에 신경생물학적 기전 연구에 적합한 모델로 평가된다.

천마(*Gastrodia elata* Blume)는 난초과(Orchidaceae)에 속하는 식물의 근경을 건조한 것으로, 한의학에서는 평간식풍(平肝息風),

* Corresponding author

Kang Beom Kwon, Department of Physiology, College of Korean Medicine, Wonkwang University, Iksandae-ro 460, Iksan, Korea.

E-mail : dession@wku.ac.kr ·Tel : +82-63-850-6917

Received : 2025/11/28 ·Revised : 2025/12/08 ·Accepted : 2025/12/08

© 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.2025.12.39.6.186>

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

진경지통(鎭痙止痛)의 효능을 바탕으로 두통, 어지럼증, 간질, 중풍 등을 치료하는 데 사용되어 왔다¹¹⁾. 현대 약리학 연구에서 천마는 항산화, 항염증, 항경련, 신경보호 효과를 나타내며 다양한 신경계 질환 모델에서 효과가 보고되고 있다¹²⁻¹⁴⁾. 천마의 주요 활성 성분으로는 gastrodin(4-hydroxybenzyl alcohol β -D-glucopyranoside)이 알려져 있으며, 중추신경계에서 강력한 신경보호(neuroprotective) 작용을 나타내는 것으로 보고되어 있다¹⁵⁾.

천마 추출물의 주요성분인 gastrodin은 해마에서 뇌유래신경영양인자 발현을 증가시키고 cAMP 반응 요소 결합 단백질 인산화를 촉진하여 시냅스 가소성(synaptic plasticity)을 강화하는 것으로 알려져 있다¹⁶⁾. 또한 Mitogen-Activated Protein Kinase(MAPK) 신호전달 경로 중 Extracellular signal-Regulated Kinase(ERK), c-Jun N-terminal Kinase(JNK)의 과활성화를 억제하여 산화스트레스 및 신경염증을 감소시키며¹⁷⁾, microglia 활성 조절을 통해 염증성 사이토카인(TNF- α , IL-6, IL-1 β)의 발현을 억제하는 효과도 보고되어 있다¹⁸⁾. 특히 gastrodin은 scopolamine으로 유도된 기억력 감퇴 모델에서 공간기억 회복, AChE 활성 감소, 항염증 효과, 신경가소성 회복 등을 유도한다는 연구 결과가 다수 발표되었다^{19,20)}.

본 연구에 사용된 천마 추출물은 한국 식품의약품안전처(MFDS)에서 개별인정형 기능성 원료로 승인된 표준화 소재로서, 이전에 보고한 “LPS로 유도된 인지기능 손상 모델에서 천마 추출물의 보호 효과” 연구의 후속 연구로서²¹⁾, 염증 기반 모델(LPS)뿐 아니라 콜린성 기능 저하 기반의 기억 장애(scopolamine) 유도 모델에서도 천마 추출물이 유효한지 여부를 확인하고, 전반적인 인지·기억 기능 개선 기전을 보다 폭넓게 규명하는 데 그 목적이 있다.

따라서, 천마의 항염증·신경보호 효과에 대한 다양한 연구가 보고되고 있으나, scopolamine 모델에서 천마 추출물이 기억력 개선을 유도하는 다중 기전(AChE 억제, BDNF-CREB 축 활성화, MAPK 신호 조절, 염증성 사이토카인 저해)을 동시에 분석한 연구는 제한적이다. 본 연구에서는 scopolamine으로 유도된 기억력 저하 모델에서 천마 추출물의 행동학적(memory performance) 개선 효과를 평가하고, 해마 조직에서의 콜린성 효소 활성(AChE), BDNF-CREB 신호전달, MAPK 경로(ERK, JNK), 염증성 사이토카인 발현을 분석하여 천마의 기억력 개선 효과 및 기전을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 천마 추출물의 제조

본 연구에 사용된 천마추출물(*Gastrodia elata* Extract)은 한국 식품의약품안전처(MFDS)로부터 건강기능식품 기능성 원료(개별인정형 원료)로 인정받은 천마추출물(인정번호: 제2024-19호)을 사용하였다. 해당 원료는 (주)대평(경상북도 상주시 함창읍 영동길 19-8)에서 기능성 원료인정서에 등재된 공정(원재료(건조 천마) → 1차 물 추출 → 여과 → 2차 물 추출 → 여과 → 혼합 → 농축 → 살균 → 분무건조 과정을 거쳐 제조되었다.

2. 시약 및 재료

RIPA buffer와 BCA Protein Assay kit는 Thermo Fisher Scientific (CA, USA)에서 구입하였고, TRIzol™ Reagent는 Invitrogen (CA, USA)에서 구입하였다. Positive control로 사용한 Donepezil과 Anti- β -Actin Antibody는 Santa Cruz Technology (CA, USA)에서 구입하였다. SAPK/JNK Antibody, Phospho-SAPK/JNK (Thr183/Tyr185) Antibody, p44/42 MAPK (Erk1/2) Antibody, Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) Antibody는 Cell Signaling Technology (MA, USA)에서 구입하였고, Goat Anti-Mouse IgG H&L (HRP), Goat Anti-Rabbit IgG H&L (HRP)는 Abcam(Cambridge, UK)에서 구입하였다. Phosphatase Inhibitor Cocktail, Protease inhibitor Cocktail은 Millipore (Darmstadt, Germany)에서 구입하였다. PVDF blotting membrane은 GE Healthcare Life Sciences (Buckinghamshire, UK)에서 구입하였다. AChE activity kit는 Dogen bio(Seoul, Korea)에서 구입하였다. Prime Script™ reagent kit (perfect realtime)는 Takara (Tokyo, Japan)에서 구입하였다. Power SYBR Green PCR Master Mix는 Applied Biosystems(CA, USA)로부터 구입하였다. 그 외 Chloroform, Isopropanol, Methanol 등 다른 시약들은 Sigma-Aldrich (MO, USA)에서 구입하였다.

3. 동물실험 및 실험군 구성

본 실험은 원광대학교 동물실험 윤리위원회의 승인하에 시행하였으며 (승인번호:WKU25-52), 실험동물에 대한 규정을 준수하였다. 실험동물은 4주령, 평균 19g 무게의 ICR 수컷 생쥐를 설타코 (Osan, Korea)에서 공급받아 사용하였다. 실험 과정 동안에는 일정한 조건(온도, 21 \pm 2°C; 습도, 50~60%; 12시간 주기 명/암)에서 일반 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 1주 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물은 생리식염수를 투여한 정상군(Control, CON), Scopolamin 처리군(SCP), 양성대조군인 4 mg/kg donepezil 투여한 군(DNP), SCP와 천마 추출물 100(GE100), 200(GE200), 500 mg/kg/day(GE500) 농도로 투여한 군의 총 6군으로 나누어 실험을 진행하였다. 기억력 손상을 위해 3mg/kg의 농도로 SCP를 1일 1회, 행동시험 시행일 포함 총 7회 복강 투여하였다. 천마 추출물과 donepezil은 존대를 이용하여 11일간 경구 투여하였으며, 경구로 11일간 투여하는 과정에서, 마지막 5일 동안은 Morris 수중 미로시험(MWM)과 Barnes 미로시험(BM)의 2가지 행동시험을 연속적으로 실시하였다. 마지막 SCP 투여 4시간 후, 모든 실험동물은 diethyl ether를 이용하여 안락사시켰으며 이후 즉시 채혈하고 뇌 조직을 적출하여 -80°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

4. 공간 학습 및 기억 능력 평가시험(MWM, Morris water maze)

마우스를 지름 약 57cm, 깊이 63.5cm의 원형 수조에 넣어 물 환경에 적응시킨 후, 수조 안에 숨겨진 플랫폼을 찾아가도록 훈련하였다. 초기 적응 후, 마우스는 서로 다른 시작 지점에서 수조를 탐색하도록 하였으며, 각 세션에서 플랫폼에 도달하는 데 걸린 시간과 이동 경로를 기록하였다. 훈련은 약물 투여 기간 중 반복하여

수행하였고, 모든 수조의 물은 불투명하게 처리하여 플랫폼이 시각적으로 식별되지 않도록 하였다. 훈련 종료 후, 플랫폼을 제거하고 마우스가 자유롭게 수영하도록 하여 플랫폼이 있던 구역에서 머문 시간과 탐색 경로를 측정하였다. 이를 통해 마우스의 공간 학습 및 기억 능력을 평가하였다.

5. 공간 기억 및 회피 탐색 능력 평가시험(BM, Barnes maze)

마우스를 밝은 조명이 비치는 원형 플랫폼 위에 올려 일정 시간 동안 환경에 적응시키고, 가장자리에는 동일한 크기와 모양의 구멍들을 배치하였다. 이 중 한 구멍만이 안전한 은신구로 연결되도록 설정하였다. 적응이 끝난 후, 마우스는 밝은 조명에 의한 회피 동기 하에서 플랫폼 중앙에서 시작하여 안전한 구멍을 찾도록 유도하였다. 각 세션에서 목표 구멍까지 도달하는 시간, 탐색 경로 등을 기록하였다. 훈련은 여러 날 반복하여 수행하였으며, 목표 구멍을 찾아가는 효율성과 탐색 패턴을 분석하여 공간 기억 능력을 판단하였다.

6. AChE activity 측정

뇌 조직의 아세틸콜린에스테라아제(AChE) 활성은 EZ-Acetylcholinesterase Assay Kit (DG-ACE100, Dogen, Korea)를 사용하여 평가하였다. 각 실험군의 해마 조직을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.5)에 분산한 뒤, homogenizer (T10basic, IKA Works, Inc., Germany)로 균질화하였다. 균질화된 시료는 10,000×g에서 5분간 원심분리하여 상층액을 분리하고, 이를 2배 희석하여 효소 원액으로 사용하였다. AChE 활성 측정은 96-well plate에서 수행하였다. 각 well에는 표준곡선 용 시료와 실험 효소원을 넣고, AChE assay buffer로 총 부피가 50 μ l가 되도록 조정하였다. 이어 50 μ l의 반응 혼합물을 첨가하고, 37 °C에서 30분간 반응시킨 후 microplate reader (Multiskan, Thermo Scientific, MA, USA)를 사용하여 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

7. Total RNA 분리

실험이 끝난 후 적출된 해마 조직으로부터 total RNA의 분리는 Trizol reagent를 이용하여 제조회사가 제공하는 방법에 따라 수행하였다. 각각의 조직을 잘게 자른 후 1 ml Trizol로 용해시킨 후 200 μ l chloroform을 첨가하여 얼음 속에서 10분 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 4°C에서 13,000 rpm으로 20분 원심분리하여 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. 위 상층액에 동량의 isopropanol을 첨가하여 섞은 후 4°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 4°C에서 13,000 rpm으로 10분 원심분리하고 침전물을 75% EtOH로 2번 세척하였다. 세척된 RNA를 건조시킨 후 DEPC water 20 μ l로 녹이고 분광광도계(IMPLEN GmbH, Munich, Germany)에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

8. 실시간 역전사 효소 중합반응 (Real Time PCR)

역전사 반응 (reverse transcription reaction)은 1 μ g total RNA와 Prime Script TM reagent kit (perfect realtime)를 이용

하여 제조회사에서 제공하는 방법에 따라 수행하였다. 역전사 반응은 total RNA(1 μ g), oligod(T)primer (25 pmol), PrimeScript RT enzyme Mix I, 5X primeScript Buffer가 함유된 반응액으로 37°C에서 15분, 85°C에서 5초, 4°C로 유지시키는 반응으로 cDNA를 합성하였다. 실시간 역전사 효소 중합 반응은 10배 희석한 cDNA에 Power SYBR Green PCR Master Mix를 이용하여 수행하였다. 발현된 각각 유전자의 mRNA양은 Real-time PCR systems (Applied Biosystems, CA, USA)를 이용하여 β -actin에 대한 상대적인 양으로서 계산하였다. 사용된 primer의 sequence는 Table 1에 기록하였다.

Table 1. Sequences and Accession Numbers for Primer, Forward and Reverse, Used in Real-Time PCR.

Gene	Prime Sequence (5' → 3')	Accession no.
β -actin	Forward: ATCACTATTGGCAACGAGCG Reverse: TCAGCAATGCCTGGGTACAT	NM_007393.5
TNF- α	Forward: TACCTTGCTACTCCAGGTTCTCT Reverse: GTGTGGGTGAGGAGCACGTA	NM_001278601.2
IL-6	Forward: GAGGATACCACTCCCAACAGACC Reverse: AAGTGATCATCGTTGTTTCATACA	NM_031168.1
IL-1 β	Forward: ACCTGCTGGTGTGTGACGTT Reverse: TCGTTGCTTGGTTCCTTGT	NM_008361.4

9. Western blotting

실험이 끝난 후 적출된 대뇌피질 조직 내 단백질은 protease inhibitor, phosphatase inhibitor를 포함한 RIPA lysis buffer를 넣고 균질화한 후 30분 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 13000 rpm, 4°C, 10분 조건으로 원심분리하여 단백질을 추출하였다. BCA protein assay로 단백질량을 정량하여 같은 농도의 단백질량으로 샘플을 만들고, 사용하였다. 20 μ g 단백질은 10% 아크릴아마이드와 함께 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 사용하여 분리하였고, PVDF membranes을 사용하여 이동하였다. 각각의 membrane은 5%의 bovine serum albumin 또는 skim milk를 사용하여 2시간 동안 블로킹하였고, 일차 항체는 1 μ g/ml을 1 : 2000으로 희석하여 4°C 냉장고에서 overnight 처리하였다. 이차 항체는 HRP-conjugated IgG(1:2000 dilution)를 사용하였다. 단백질 발현량은 image analyzer(EZ-Capture ST, Tokyo, Japan)를 사용하여 확인하였다.

10. 통계분석

모든 실험 결과는 평균±표준오차(Mean±S.D.)로 계산하였다. 각 군 간의 통계적 유의성 검정에 따른 통계분석은 ANOVA(one-way analysis of variance test) Duncan 사후검정 비교를 실시하여 p<0.05일 때 유의한 것으로 판정하였다(SPSS V12., SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

결 과

1. Morris Water Maze에서 천마 추출물의 기억력 개선 효과

Morris Water Maze(MWM) 실험의 전체 스케줄은 Fig. 1A에 제시된 바와 같이 구성되었으며, 9 일차부터 천마 추출물(GE: 100,

200, 500 mg/kg) 또는 양성대조군 Donepezil(DNP, 4 mg/kg)을 1일 1회 경구 투여하였고, 13 일차부터는 동일한 경로로 scopolamine(SCP, 3 mg/kg)을 병용하여 인지기능 감퇴를 유도하였다. 행동시험은 9~12 일차에 visible platform을 사용한 training 과정을 실시한 후, 13~17 일차에 hidden platform을 이용한 acquisition 단계를 통해 공간학습능력을 평가하였으며, 마지막으로 18일차에는 플랫폼 제거 후 probe trial을 수행하여 공간기억 유지 능력을 측정하였다. Acquisition 단계에서 scopolamine(SCP) 투여군은 Day 1~4 전 기간 동안 escape latency가 정상군(NC)에 비해 유의하게 높게 유지되며 학습곡선이 형성되지 않았으나(Fig. 1B), GE 투여군은 용량 의존적으로 latency가 감소하는 전형적인 학습 패턴을 보였다. 특히 GE200 및 GE500군은 Day 3와 Day 4에서 SCP군 대비 유의한 latency 감소를 나타냈고, DNP군은 정상군과 유사한 가장 빠른 학습 회복을 보였다. Probe trial(Fig. 1C)에서는 SCP군의 target quadrant 체류 시간이 현저히 감소하여 학습된 기억의 유지가 저하되었으나, GE200과 GE500군은 SCP군 대비 유의한 체류시간 증가를 보였으며, GE500군은 정상군에 근접한 수준까지 회복하였다. 이러한 결과는 천마 추출물이 SCP으로 유발된 공간학습 장애 및 기억 유지 저하를 모두 개선하는 효과가 있음을 보여주며, 특히 GE200~500 mg/kg 범위가 가장 뚜렷한 기억 기능 보호 효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

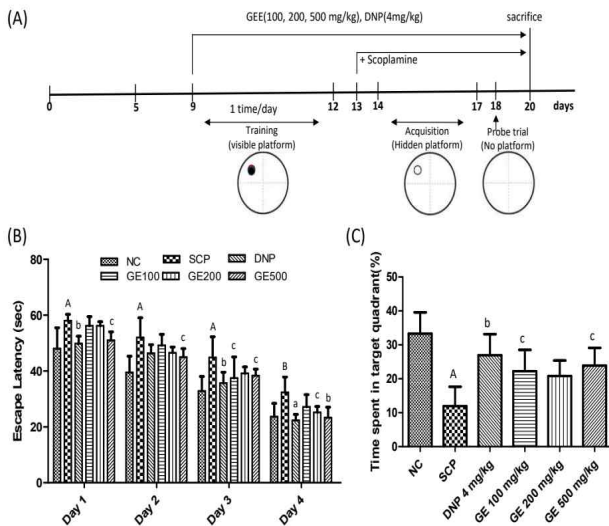


Fig. 1. Effects of *Gastrodia elata* extract on learning and memory in the Morris Water Maze test. (A) Experimental schedule for GE administration and SCP-induced cognitive impairment. Training with a visible platform was performed for 3 days, followed by 4 days of acquisition trials with a hidden platform and a probe trial on Day 18. GE (100, 200, 500 mg/kg, p.o.) or DNP (4 mg/kg, p.o.) was administered once daily; SCP (1 mg/kg, i.p.) was given during the acquisition period. (B) Escape latency during the acquisition phase. (C) Probe trial performance on Day 18. Data are expressed as mean \pm SD. Statistical notation: Ap<0.001, Bp<0.01 vs. NC; ap<0.001, bp<0.01, cp<0.05 vs. SCP; NC, normal control; SCP, scopolamine; GE, *Gastrodia elata* extract; DNP, donepezil.

2. Barnes Maze에서 천마 추출물의 공간기억 보호 효과

Barnes Maze 시험의 전체 실험 스케줄은 Fig. 2A에 제시된 바와 같이 구성되었으며, 동물은 9 일차부터 천마 추출물(GE: 100, 200, 500 mg/kg) 또는 donepezil(DNP, 4 mg/kg)을 1일 1회 경구투여하였고, 13 일차부터는 동일하게 scopolamine(SCP, 3 mg/kg)을 병용하여 기억력 감퇴를 유도하였다. 행동시험은 5~9 일차에 escape chamber와 guidance를 활용한 초기 훈련을 진행한 후, 13~17 일차에 escape chamber를 활용한 acquisition 단계를 통해 공간탐색 능력과 회피 학습능력을 평가하였으며, 18 일차에는 escape chamber를 제거한 probe trial을 통해 학습된 공간기억의 유지 여부를 측정하였다. Acquisition 결과(Fig. 2B)에 따르면, scopolamine(SCP)군은 Day 1~4 모두에서 escape latency가 정상군(NC)에 비해 유의하게 증가하였고 오류(primary error) 횟수도 높게 나타나 공간탐색과 회피 학습능력이 전반적으로 저하된 전형적인 인지장애 패턴을 보였다. 반면 GE100, GE200, GE500군에서는 모두 SCP군 대비 escape latency가 감소하는 개선 경향이 확인되었으며, 특히 GE200과 GE500군에서는 모든 기간 동안 latency 감소가 뚜렷하게 나타나 용량 의존적 개선 효과가 관찰되었다. DNP군은 모든 날짜에서 가장 빠르게 latency가 감소하여 정상군과 유사한 학습 회복 양상을 보였다. Probe trial(Fig. 2C) 결과에서도 SCP군은 target area 체류시간이 현저히 감소하였으나, GE200과 GE500군은 SCP군 대비 유의한 시간 증가를 보였고 GE500군은 정상군에 근접한 회복 수준을 나타내어 Barnes Maze에서도 천마 추출물이 공간기억 유지능력을 개선하는 효과가 있음을 확인하였다. 이러한 결과는 천마 추출물이 SCP로 유발된 공간탐색 장애와 기억 유지 저하를 모두 완화하며, GE200~500 mg/kg 범위가 Barnes Maze에서도 가장 효과적인 기억 기능 보호 작용을 나타낸다는 것을 의미한다.

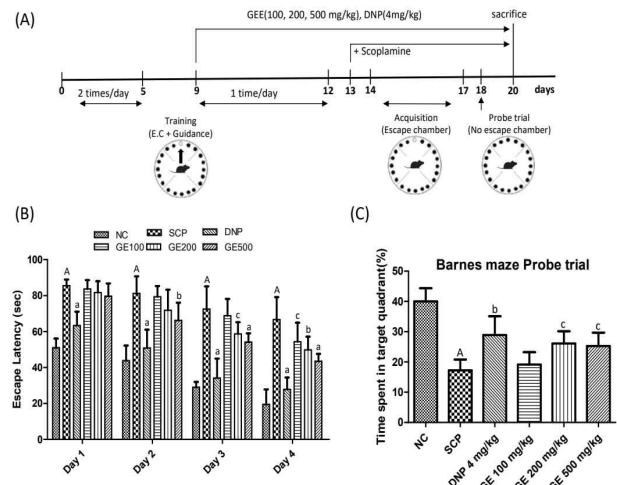


Fig. 2. Effects of *Gastrodia elata* extract on spatial memory in the Barnes Maze test. (A) Experimental schedule for the Barnes Maze test. GE and DNP were administered as in Fig. 1, and SCP was injected to induce memory impairment. (B) Escape latency during the 4-day acquisition trials. (C) Probe trial results on Day 18 showing time spent around the target hole. Data are expressed as mean \pm SD. Statistical notation: Ap<0.001, Bp<0.01 vs. NC; ap<0.001, bp<0.01, cp<0.05 vs. SCP; NC, normal control; SCP, scopolamine; GE, *Gastrodia elata* extract; DNP, donepezil.

3. 해마 조직에서 AChE 활성 억제 효과

해마 조직에서 측정된 acetylcholinesterase(AChE) 활성 결과는 Fig. 3에 제시하였다. Scopolamine(SCP) 투여군은 정상군(NC)에 비해 AChE 활성이 유의하게 증가하여($p < 0.001$), 콜린성 신경전달이 현저히 저해된 상태임을 확인하였다(Fig. 3). 반면 양성대조군인 donepezil(DNP, 4 mg/kg) 투여군은 AChE 활성을 정상군 수준까지 크게 감소시켜 가장 강력한 억제효과를 보였으며, 천마 추출물(GE) 투여군 또한 SCP군 대비 AChE 활성이 유의하게 감소하였다. 특히 GE200군과 GE500군은 각각 $p < 0.01$, $p < 0.001$ 수준으로 억제효과를 나타내어 고용량에서 더 강한 개선효과가 확인되었고, 이는 DNP군과 유사한 패턴을 보였다. GE100군에서도 AChE 활성 감소 경향이 나타났으나 유의성은 제한적이었다. 이러한 결과는 천마 추출물이 SCP에 의해 증가된 해마 AChE 활성을 억제함으로써 콜린성 신경전달 기능 회복에 기여함을 의미하며, 특히 200~500 mg/kg 용량에서 뚜렷한 약리효과를 나타냄을 보여준다.

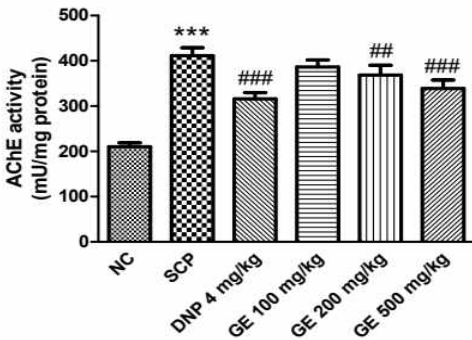


Fig. 3. Effects of *Gastrodia elata* extract on Acetylcholinesterase (AChE) activity in hippocampal tissue. AChE activity were analyzed as described in materials and methods. Data are expressed as mean \pm SD. *** $p < 0.001$ vs. NC; ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ vs. SCP. NC, normal control; SCP, scopolamine; GE, *Gastrodia elata* extract; DNP, donepezil.

4. BDNF/CREB 신호전달 조절 효과

해마 조직에서의 신경가소성 관련 단백질과 MAPK 신호전달 경로의 변화를 Fig. 4에 제시하였다. 먼저 Fig. 4A의 Western blot 분석에서 scopolamine(SCP) 투여군은 정상군(NC)에 비해 BDNF 단백질 발현이 현저히 감소하였고, CREB의 인산화 비율(p-CREB/CREB) 또한 크게 저하되어 SCP 투여가 해마의 신경가소성을 강하게 손상시킴을 확인하였다. 반면 Donepezil(DNP)군은 BDNF 발현과 p-CREB 비율을 정상군 수준까지 회복시켰으며, 천마 추출물(GE) 투여군 역시 용량 의존적으로 개선 효과를 나타내었다. 특히 GE200군과 GE500군에서는 BDNF 발현이 유의하게 증가하고, p-CREB/CREB 비율도 $p < 0.01$, $p < 0.001$ 수준의 뚜렷한 회복을 보여 DNP군과 유사한 수준의 신경가소성 회복 효과를 나타냈다. Fig. 4B에서 제시한 MAPK 경로 분석에서는 SCP군에서 p-ERK 및 p-JNK 발현이 정상군 대비 현저히 증가하여 scopolamine에 의한 스트레스 반응 및 신경손상이 활성화된 상태가 관찰되었다. 그러나 GE200 및 GE500군은 p-ERK 및 p-JNK 발현을 유의하게 감소시켜(각각 $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$) MAPK 신호전달의 과활성화를 효과적으로 억제하였다. 이러한 단백질 발현 변화는 천마 추출

물이 BDNF/CREB 축을 활성화하고 동시에 ERK와 JNK의 과활성화를 억제함으로써, 손상된 신경가소성과 신경보호 기전을 다중적으로 회복시키는 역할을 수행함을 의미한다.

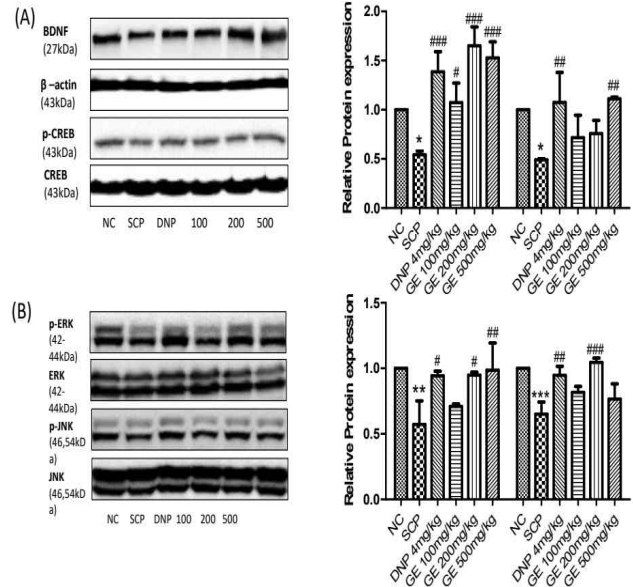


Fig. 4. Effects of *Gastrodia elata* extract on BDNF-CREB signaling and MAPK pathway proteins. (A) Western blot analysis of BDNF, CREB, and p-CREB levels. (B) Effects on MAPK signaling. Data are expressed as mean \pm SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. NC; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ vs. SCP. NC, normal control; SCP, scopolamine; GE, *Gastrodia elata* extract; DNP, donepezil.

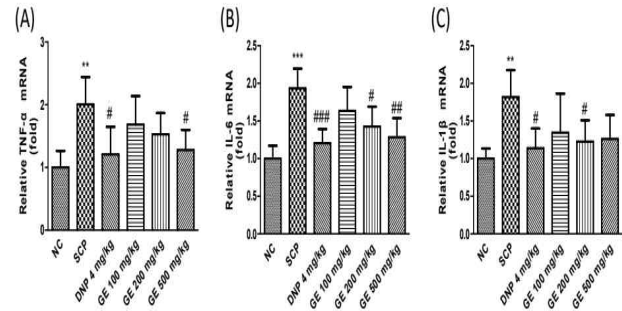


Fig. 5. Effects of *Gastrodia elata* extract on inflammatory cytokine mRNA expression. Real-Time PCR were analyzed as described in materials and methods. Data are expressed as mean \pm SD. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. NC; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ vs. SCP. NC, normal control; SCP, scopolamine; GE, *Gastrodia elata* extract; DNP, donepezil.

5. 염증성 사이토카인 발현 억제 효과

해마 조직에서 염증성 사이토카인의 mRNA 발현 변화를 분석한 결과는 Fig. 5에 제시하였다. Scopolamine(SCP) 투여군에서는 정상군(NC)에 비해 TNF- α , IL-6, IL-1 β 발현이 모두 유의하게 증가하여($p < 0.01$ 또는 $p < 0.001$) scopolamine이 해마에서 강한 신경염증(neuroinflammation)을 유도함을 확인하였다(Fig. 5A-C). 반면 양성대조군인 donepezil(DNP)군은 세 가지 사이토카인 발현을 모두 정상군에 가까운 수준으로 감소시켜 항염증 효과를 명확히

나타났다. 천마 추출물(GE) 투여군 또한 SCP군에 비해 염증성 사이토카인 발현을 유의하게 억제하였으며, 그 효과는 용량 의존적으로 증가하였다. 구체적으로, GE200군과 GE500군에서 TNF- α 발현은 $p < 0.05$ 또는 $p < 0.01$ 수준으로 감소하였으며, IL-6 발현 역시 $p < 0.01$ 및 $p < 0.001$ 수준으로 유의하게 억제되었다. 또한 IL-1 β 발현도 GE200 및 GE500군에서 유의한 감소($p < 0.05$ 또는 $p < 0.01$)가 관찰되었다. 이러한 결과는 천마 추출물이 SCP에 의해 야기된 신경염증 반응을 효과적으로 완화시키며, 특히 GE200-500 mg/kg 범위에서 가장 강력한 항염증 효과를 나타낸다는 것을 의미한다. 더불어 TNF- α , IL-6, IL-1 β 의 동시 억제는 천마 추출물이 단일 경로가 아닌 다중 염증조절 기전을 통해 신경보호 효과를 발휘함을 뒷받침하는 결과이다.

고찰

본 연구에서는 scopolamine 모델을 이용하여 천마(*Gastrodia elata*) 추출물의 기억력 개선 효과와 그 분자적 기전을 다각도로 평가하였다. Scopolamine은 muscarinic acetylcholine receptor를 차단하여 급성 기억장애를 유도하는 대표적인 약리 모델로, 공간학습 저하(Acquisition 손상), 기억 유지 감소(Probe trial 장애), 콜린성 신경전달 저해 및 신경염증 증가와 같은 병태생리를 가지는 것으로 알려져 있다⁶⁻⁹). 본 연구에서도 scopolamine(SCP)군은 escape latency 증가, target quadrant 탐색 감소, AChE 활성 증가, BDNF-CREB 축의 억제, MAPK 경로의 과활성화, 염증성 사이토카인 증가 등 전형적인 scopolamine 유발 기억장애 특징을 뚜렷하게 나타냈다.

천마 추출물은 이러한 다면적인 병태생리 변화를 다양한 수준에서 개선하였다. 행동시험에서 GE200-GE500 mg/kg 투여군은 Morris Water Maze와 Barnes Maze에서 현저한 회복을 나타내어 천마가 급성 콜린성 기억장애 모델에서 인지 기능을 유의하게 개선할 수 있음을 확인하였다. 또한 천마 추출물은 AChE 활성을 억제하여 콜린성 신경전달을 회복시키고, BDNF 증가와 CREB 인산화를 통해 시냅스 가소성(synaptic plasticity)을 정상화하며, ERK 및 JNK의 과활성화를 억제하여 신경세포 스트레스를 완화시켰다. 해마 염증성 사이토카인의 동시 감소 역시 scopolamine에 의해 유발된 신경염증을 완화하는 데 기여한 것으로 나타났다. 이러한 다중 경로의 회복 작용은 gastrodin의 항염증 및 신경보호 기전과 부합하며²²⁻²⁹), 천마 추출물이 단일 기전이 아닌 복합적 신경생물학적 경로를 통해 기억을 개선하는 'multi-target neuroprotective agent'로 작용함을 시사한다.

본 연구는 천마 추출물의 기억력 개선 효과를 행동-분자-염증-신경가소성-신호전달 수준까지 통합적으로 평가했다는 점에서 기존 연구보다 폭넓은 분석을 수행하였다. 특히 본 연구에서 사용된 천마 추출물은 gastrodin 33.3 mg/g(허용범위:80~120%, 식약처 기준)을 함유한 표준화 원료로, 약효 일관성과 재현성을 확보했다는 점에서 의의가 크다. 또한 scopolamine 모델 특성상 급성 기억장애를 중심으로 평가했음에도, 천마가 다양한 경로에서 정상화 효과를 나타냈다는 점은 향후 초기 치매 예방적 접근(prevention) 또

는 경도인지장애(MCI) 단계 적용 가능성에 대한 과학적 근거를 제공한다.

다만 본 연구는 몇 가지 제한점을 가진다. 첫째, scopolamine 모델은 알츠하이머병의 전체 병태를 완전히 반영하지 못하며, 콜린성 기능 저하 중심의 급성 모델이라는 점에서 만성 알츠하이머 모델에서의 검증이 필요하다. 둘째, gastrodin 외에도 천마 추출물에는 다양한 페놀성 화합물이 존재하기 때문에, 주요 활성을 나타내는 주요 지표 성분의 기여도(specific contribution) 분석이나 성분 분획 연구가 후속 연구에서 필요하다. 셋째, 천마 추출물의 경구 흡수, 대사체 생성, 뇌 도달 가능성(Blood-brain barrier permeability) 등에 대한 약동학적 연구도 향후 보완해야 할 요소이다. 넷째, microglia subtype 변화(M1→M2), 산화스트레스 표지자, 시냅스 구조 단백질(Synapsin, PSD-95) 등 보다 세분화된 기전 연구 역시 천마의 작용 범위를 명확히 규명하는 데 도움이 될 것이다.

그럼에도 불구하고, 본 연구는 천마 추출물이 scopolamine으로 유발된 급성 기억장애를 다중 기전을 통해 효과적으로 회복시킨다는 점을 행동·생화학·분자 수준에서 입증하였으며, 이는 천마가 기억력 개선을 위한 천연물 기반 기능성 소재 또는 잠재적 신경보호 후보물질로서 가치가 있음을 시사한다. 향후 만성 모델 실험과 인체 적용시험을 통해 기전적 근거를 확장한다면, 천마 추출물은 치매 예방 또는 경도인지장애(MCI) 개선을 위한 건강기능식품 및 치료 보조 소재로서 중요한 가능성을 가질 것으로 기대된다.

결론

본 연구에서는 scopolamine으로 유도된 인지기능 저하 마우스 모델을 이용하여 천마 추출물(*Gastrodia elata* extract, GE)의 기억력 개선 효과와 그 분자적 기전을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

행동실험(Morris Water Maze, Barnes Maze)에서 천마 추출물은 scopolamine으로 손상된 공간학습 능력과 기억 유지 능력을 유의하게 개선하였으며, 특히 GE200 및 GE500 mg/kg 용량에서 가장 강한 개선효과를 나타냈다. 이러한 행동학적 회복은 해마 조직에서 관찰된 콜린성 기능 조절, 신경가소성 관련 인자의 회복, 염증 및 스트레스 신호 억제를 통해 뒷받침되었다.

해마 조직 분석에서 천마 추출물은 scopolamine으로 증가한 acetylcholinesterase(AChE) 활성을 유의하게 억제하여 콜린성 신경전달을 회복시켰으며, BDNF와 p-CREB 발현을 증가시켜 시냅스 가소성을 강화하였다. 또한 과활성화된 p-ERK 및 p-JNK를 감소시켜 MAPK 기반 신경손상 신호를 완화하였고, TNF- α , IL-6, IL-1 β 등 염증성 사이토카인 발현을 억제하여 해마 신경염증을 효과적으로 감소시켰다.

이러한 결과는 천마 추출물이 콜린성 조절-신경가소성 증가-MAPK 조절-항염증 작용이라는 다중 기전을 통해 기억력을 보호한다는 것을 의미한다. 종합하면, 천마 추출물은 scopolamine에 의해 유도된 기억장애를 다양한 신경생물학적 경로를 통해 효과적으로 개선하였으며, 이는 천마가 인지기능 또는 기억력 개선용 천연

물 신약 또는 건강기능식품 개발을 위한 유망한 소재가 될 수 있음을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 지역특화기술개발연구사업(과제번호: RS-2025-05192968)의 지원을 받아 수행되었음.

References

1. Alzheimer's Association. 2022 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*. 2022;18(4):700-89.
2. Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*. 2004;430(7000):631-9.
3. Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*. 2018;25(1):59-70.
4. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;66(2):137-47.
5. Bartus RT, Dean RL 3rd, Beer B, Lippa AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*. 1982;217(4558):408-14.
6. Klinkenberg I, Blokland A. The validity of scopolamine as a pharmacological model for cognitive impairment: a review of animal behavioral studies. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010;34(8):1307-50.
7. Ebert U, Kirch W. Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *Eur J Clin Invest*. 1998 Nov;28(11):944-9.
8. Tang KS. The cellular and molecular processes associated with scopolamine-induced memory deficit: a critical review. *Life Sci*. 2019;233:116702.
9. Harrison FE, Hosseini AH, McDonald MP, May JM. Vitamin C reduces spatial learning deficits in middle-aged and very old APP/PSEN1 transgenic and wild-type mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2009 Oct;93(4):443-50.
10. Goverdhan P, Sravanthi A, Mamatha T. Neuroprotective effects of meloxicam and selegiline in scopolamine-induced cognitive impairment and oxidative stress. *Int J Alzheimers Dis*. 2012;2012:974013.
11. Taguchi H, Yosioka I, Yamasaki K, Kim I. Studies on the constituents of *Gastrodia elata* BLUME. *Chem Pharm Bull*. 1981;29:55-62.
12. Kim HN, Kim YR, Kim HN, et al. The verify of memory improvement by *Gastrodia elata* Blume depends on the amount. *J Oriental Neuropsychiatry*. 2014;25(3):243-52.
13. Huang GB, Zhao T, Muna SS, et al. Therapeutic potential of *Gastrodia elata* Blume for the treatment of Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*. 2013;8(12):1061-70.
14. Park YM, Lee B, Kim YJ, et al. Prolonged oral administration of *Gastrodia elata* extract improves learning and memory deficits and reduces neuronal cell death in rats. *Lab Anim Res*. 2015;31(2):69-77.
15. Ahn EK, Jeon HJ, Lim EJ, Jung HJ, Park EH. Anti-inflammatory and anti-angiogenic activities of *Gastrodia elata* Blume. *J Ethnopharmacol*. 2007;110(3):476-82.
16. Dai JN, Zong Y, Zhong LM, et al. Gastrodin inhibits expression of inducible NO synthase, cyclooxygenase-2 and proinflammatory cytokines in cultured LPS-stimulated microglia via MAPK pathways. *PLoS One*. 2011;6(7):e21891.
17. Ma CL, Ma XM, Wang JJ, et al. Neuroprotective effect of gastrodin in methamphetamine-induced apoptosis through regulating cAMP/PKA/CREB pathway in cortical neurons. *Hum Exp Toxicol*. 2020 Aug;39(8):1118-29.
18. Dai Y, Zhang H, Zhang J, et al. Gastrodin, a promising natural small molecule for the treatment of central nervous system disorders. *Int J Mol Sci*. 2024 Sep 2;25(17):9540.
19. Wu CR, Hsieh MT, Huang SC, Peng WH, Chang YS, Chen CF. Effects of *Gastrodia elata* and its active constituents on scopolamine-induced amnesia in rats. *Planta Med*. 1996 Aug;62(4):317-21.
20. Hsieh MT, Wu CR, Chen CF. Gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol facilitate memory consolidation and retrieval, but not acquisition, on the passive avoidance task in rats. *J Ethnopharmacol*. 1997 Mar;56(1):45-54.
21. Kwon KB, Kim HR, Kim YS, Park EH, Kang HW, Ryu DG. Protective effect of *Gastrodia elata* Rhizoma extracts on the LPS-induced cognitive impairment model. *J Oriental Neuropsychiatry*. 2022;33(3):277-85.
22. Thoenen H. Neurotrophins and activity-dependent plasticity. *Prog Brain Res*. 2000;128:183-91.
23. Schinder AF, Poo MM. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity and learning. *Trends Neurosci*. 2000;23(12):639-45.
24. Tao X, Finkbeiner S, Arnold DB, Shaywitz AJ, Greenberg ME. Ca²⁺ influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron*. 1998;20(4):709-26.
25. Sakamoto K, Karelina K, Obrietan K. CREB: a multifaceted regulator of neuronal plasticity and protection. *J Neurochem*. 2011 Jan;116(1):1-9.

26. Johnson GL, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science*. 2002;298(5600):1911-12.
27. Streit WJ, Mrak RE, Griffin WST. Microglia and neuroinflammation: a pathological perspective. *J Neuroinflammation*. 2004;1:14.
28. Fiebich BL, Batista CRA, Saliba SW, Yousif N, de Oliveira ACP. Role of microglia TLRs in neurodegeneration. *Front Cell Neurosci*. 2018;12:329.
29. Qin L, Wu X, Block ML, et al. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia*. 2007;55(5):453-62.