



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

아로마테라피(Aromatherapy)가 노년기
우울증(Geriatric Depression)에 미치는
영향 분석

濟州大學校 産業大學院

生命産業工學科 環境生命工學專攻

安 賢 眞

2012年 8月

아로마테라피(Aromatherapy)가 노년기
우울증(Geriatric Depression)에 미치는
영향 분석

指導教授 金 仁 中

安 賢 眞

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함

2012年 8月

安賢眞의 理學 碩士學位 論文을 認准함

委員長 蘇 寅 燮 印

委 員 金 仁 中 印

委 員 蔡 洙 鏡 印

濟州大學校 産業大學院

生命産業工學科 環境生命工學專攻

2012年 8月

Analysis of the Effect on Geriatric Depression by Aromatherapy

Hyun-Jin An

(Supervised by professor In-Jung Kim)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement
for the degree of Master of Science

Department of Industrial Life Science and Technology
GRADUATE SCHOOL OF INDUSTRY
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

August, 2012

목 차

목 차	i
표 목차	iii
그림 목차	iv
Summary	v
I. 서론	1
1. 연구의 필요성	1
2. 연구 목적	5
3. 우울증 관련 물질	6
1)세로토닌 수용체(Serotonin receptor)	6
2)세로토닌 수송체(Serotonin transporter)	9
3)RT-PCR(역전사-중합효소 연쇄반응)	11
4. 아로마테라피(Aromatherapy)	14
1)정의(Definition)	14
2)역사(History)	15
3)아로마 에센셜 오일(Aroma Essential oil)	16
4)캐리어 오일(Carrier oil)	20
5)플로랄 워터(Floral water)	21
II. 연구 방법(Materials & Methods)	22
1. 연구 설계	22
2. 연구 대상	23
3. 연구 과정	25
1)준비기간	25
2)본 실험	25
3)연구 도구	30

(1)한국판 노인 우울척도(Geriatric Depression Scale, GDS-K)	30
(2)한국판 간이 인지검사(Mini-Mental State Examination, MMSE-K)	30
(3)RT-PCR(역전사-중합효소연쇄반응)	30
4)타액 분석	33
(1)Total RNA 추출(isolation)	33
(2)cDNA 합성	35
(3)RT-PCR(역전사-중합효소연쇄반응)	36
5)혈액 분석	37
(1)Total RNA 추출(isolation)	37
(2)cDNA 합성	39
(3)RT-PCR(중합효소연쇄반응)	40
 III. 연구 결과	 41
1. 두 집단의 동질성 검정	41
2. 노인 우울척도(GDS-K)와 간이 인지검사(MMSE-K)	43
1)한국판 노인 우울척도(Geriatric Depression Scale, GDS-K)	43
2)한국판 간이 인지검사(Mini-Mental State Examination, MMSE-K)	45
3)노인 우울척도와 간이 인지검사 사이의 상관관계 분석	48
3. 타액 분석	51
4. 혈액 분석	60
 IV. 고찰 및 결론	 69
 국문 요약	 74
참고문헌	76
부록	81
감사의 글	84

표 목 차

표 1. 주요국가의 인구 고령화 속도 비교	2
표 2. 인간 세로토닌 수용체(serotonin receptor)의 종류	8
표 3. 아로마 에센셜 오일(Aroma Essential oil)의 약리적 작용	18
표 4. 연령에 따른 노년기의 분류	23
표 5. 실험 시행 경과	28
표 6. 실험에 사용된 아로마 에센셜 오일의 화학적 조성	29
표 7. 프라이머 쌍의 서열, 유전자 은행 기재번호, 증폭 크기	32
표 8. 대상자의 일반적 특성 통계	42
표 9. 노인우울 척도 검사 결과	44
표 10. 한국판 간이 인지검사 결과	46
표 11. 타액에서 추출한 RNA 샘플 현황	53
표 12. 타액 샘플의 RT-PCR 결과 발현량 비교	59
표 13. 혈액 샘플로 RT-PCR을 실시한 대상자	60
표 14. 혈액 샘플의 RT-PCR 결과	67

그림 목 차

그림 1. 신경세포 연결에서의 세로토닌 수용체와 세로토닌 수송체의 작용 . . .	10
그림 2. 수증기 증류법에 의한 아로마 에센셜 오일 추출	17
그림 3. 후각수용체에 의한 향기 성분의 전기화학적 전달	19
그림 4. 연구 설계 모형도	22
그림 5. 재활병원 및 요양병원에서의 손마사지 장면	27
그림 6. 노인 우울척도(GDS-K)의 실험 전·중·후 비교 그래프	44
그림 7. 간이 인지검사(MMSE-K)의 실험 전·후 비교 그래프	47
그림 8. 실험군 개인별 노인 우울척도와 간이 인지검사 그래프	49
그림 9. 대조군 개인별 노인 우울척도와 간이 인지검사 그래프	50
그림 10. Human Genomic DNA의 PCR 결과	52
그림 11. 타액 샘플 RT-PCR 결과	54
그림 12. 혈액에서 추출한 RNA 샘플	61
그림 13. 실험군 혈액 샘플 RT-PCR 결과	63
그림 14. 대조군 혈액 샘플 RT-PCR 결과	65

Analysis of the Effect on Geriatric Depression by Aromatherapy

Hyun-Jin An

Department of Industrial Life Science and Technology

Graduate School of Industry

JEJU NATIONAL UNIVERSITY

Supervised by Professor In-Jung Kim

Summary

As the population of the elderly soars recently, the high suicide rate of the elderly who suffer from depression has become a social problem. Although anti-depressant medicines, such as serotonin absorption inhibition agents, etc., are being prescribed, they have side effects and therefore, alternative therapies such as aromatherapy has gained much attention.

In this study, the elderly, hospitalized in rehabilitation hospitals or recuperative hospitals, were divided into the experiment group and the control group which consisted of 8 persons, respectively. For them, aroma hand massage was conducted twice for 6 weeks. Later, the depression scale and simple cognition test results of the elderly were compared before, during, and after the

experiment.

Saliva and blood collection was conducted before, during, and after the experiment to compare the increase or decrease in serotonin receptors (HTR1A, HTR2C, HTR6) and serotonin transporter (SERT) through the reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

The depression scale test results of the elderly showed that the average intensity of depression decreased in both experiment group and control group. The experiment group showed the constant decrease in depression, while the depression-reduction effect did not continue in the control group although the massage had an effect in reducing the depression at the early stage of experiment in the control group.

Both experiment group and control group showed an increase in the cognition scores before and after the experiment during the simple cognition test. The average of the combined cognitive scores increased by 2 points on the average in the experiment group, while the average of the combined cognitive scores increased by only 0.5 points in the control group. It was difficult to find any correlation between the improvement in the intensity of depression and the improvement of cognition.

Based on RT-PCR, RNA was collected from human saliva using the 'Hot phenol method' and it was found through the RT-PCR that HTR1A, HTR2C, HTR6, SERT, etc., existed in human saliva

and that more HTR1A and HTR2C manifested compared to HTR6 or SERT.

In relation to the results of blood sample RT-PCR, the manifested quantity differed before, during, and after the experiment based on the gene of the concerned substance by each subject, and resultantly, it was not easy to identify the common features of the quantity manifested before, during, and after the experiment of the matter related to serotonin.

Based on the comparison between the group that showed improvement in depression and the group that did not show any improvement in depression, it was found that the manifested quantity of serotonin receptacles(HTR1A, HTR2C, and HTR6) generally decreased in the group that showed improvement in depression, including the serotonin transporter(SERT), after the experiment.

I. 서론

1. 연구의 필요성

근래 우리나라는 산업화를 통한 경제 성장으로 경제적 풍요와 의료 서비스의 보급이 보편화되어 평균수명의 가파른 증가를 가져왔다. UN에서 국가사회를 분류하는 분류체계를 정리해 보면 전체 인구 중 65세 이상 노인 인구 비율이 4% 미만인 국가를 청년기 사회(young society), 4% 이상 7% 미만인 국가를 장년기 사회(matured society), 7% 이상 14% 미만의 국가를 고령화 사회(aging society), 14% 이상 20% 미만의 국가를 고령 사회(aged society), 그리고 전체 인구 중 65세 이상 노인 인구 비율이 20% 이상인 사회를 초고령 사회(ultra aged society)라고 분류할 수 있다(양영애 등, 2008).

2006년에 통계청에서 발표한 「장래인구추계」를 살펴보면 우리나라는 2000년 65세 이상의 노인인구가 7.2%로 고령화 사회에 진입하여, 2006년에는 9.5%, 향후 2018년이 되면 14.3%로 고령사회로 진입할 것이며, 2026년에는 20.8%로 초고령 사회에 진입할 것으로 예상되고 있다. 프랑스의 경우 고령화 사회에서 고령사회에 도달하는데 115년이 걸렸고, 미국은 71년, 독일은 40년, 일본은 24년 정도가 걸렸으나, 우리나라는 19년 정도 걸릴 것으로 예상되어 국가사회가 다른 선진국들에 비해 급격하게 초고령 사회로 가고 있음을 알 수 있다(양영애 등, 2008).

노인인구의 증가에 따른 노인문제는 다양한 신체, 정신, 사회 및 심리적 문제로 발생되고 있는데, 특히 노인의 만성적 질병 유병률이 증가추세에 있으며 만성질병 중 일반적으로 많이 발생하는 만성퇴행성 관절염, 고혈압, 치매 등은 노인의 일상생활동작(ADL) 수행능력과 관련하여 삶의 질을 저하시키는 요인이 되고 있다(김성미, 2009). 이렇게 노년기의 삶의 질을 저해하는 질병은 여러 가지가 있겠지만, 특히 정신과적 영역에서 대표적인 것들은 자살과 관련이 높은 우울증과 치매와 같은 인지 기능의 장애라고 할 것이다(문정준, 2010).

표 1. 주요국가의 인구 고령화 속도 비교 (양영애 등, 2008에서 인용)

구분	도달연도			소요년수	
	고령화사회 (7%)	고령사회 (14%)	초고령사회 (20%)	고령사회 도달	초고령사회 도달
한국	2000	2018	2026	18	8
일본	1970	1994	2006	24	12
독일	1932	1972	2009	40	37
미국	1942	2015	2036	73	21
프랑스	1864	1979	2018	115	39

보건복지부, 「통계청 자료 및 저출산 고령사회 기본계획 대비 심층분석」, 2006.11.

DSM-IV에는 우울증을 주요우울장애라 명명하고 있는데 그 중 만성형 우울장애는 2년 이상 만성적인 경우로서 노인에게 많다(민성길 등, 2010). 노인 우울증은 환자의 약 70%가 자살을 시도할 정도로 매우 심각한 병리현상 중의 하나이다. 노인들은 다른 연령군에 비하여 신체적 질병, 배우자와의 사별, 경제 사정의 악화, 지나온 세월에 대한 회한, 노화로 인한 고독 및 소외감, 일상생활의 통제 불가능 등 그들이 처한 특수한 상황으로 인하여 우울증이 증가하고 있다(전창선, 2009). 전체 노인인구 중 21%에서 우울 증상이 보고되었고, 국내의 연구에서 노인의 우울 유병률은 50.9%이며 남자노인보다 여자노인의 우울이 높고, 가정에 거주하는 노인보다 시설에 거주하는 여자노인에서 우울이 높게 나타난다고 한다(김성미, 2009 ; 전창선, 2009).

노년기 우울증의 원인으로는 ‘인구통계학적 요인’, ‘사회적 요인’, ‘생물학적 요인’ 등이 있다. ‘인구통계학적 요인’을 살펴보면 역학 조사에서 남성에 비해 여성에서 우울증상의 빈도가 높으며 비흡주 여성과 비흡연 여성이 우울장애가 많은데 반해 남성에서는 음주 남성과 흡연 남성이 우울장애의 위험도가 높다. ‘사회적 요인’으로는 신체적 질병과 기능 상실, 사별과 같은 생활사건, 사회적 지지체계, 재정적 문제, 교육수준, 인격 등이 있다. 노인에게 우울장애를 유발시키는 가장 중요한 단일생활사건은 사별이다(대한노인정신의학회, 2004). ‘생물학적 요인’은 아직 명확하지 않지만 해부학적 측면에서 살펴보면 우울증 노인의 CT촬영에서 뇌 측실이 확장되어 있는 것이 발견되었고 자기공명분광법(MRS)은 우울증 환자의

membrane phospholipid 대사에 장애가 있음을 보여준다. 노르에피네프린과 세로토닌은 우울증에 영향을 미치는 가장 중요한 신경전달물질이기도 하다. 우울증 환자의 경우 혈중, 소변 및 뇌척수액에서 세로토닌 및 세로토닌 대사산물의 감소 현상이 있으나 최근 우울증이 신경전달물질에서의 변화라기보다는 수용체 감수성(receptor sensitivity)의 변화라는 가설이 제안되기도 했다(민성길 등, 2010).

노년기 우울증은 본인도 자각하기 어렵고 주위 사람들도 방치하게 된다는 특징을 가지고 있다. 자세히 살펴보면 가벼운 증상으로 우울증인 것을 못 보고 빠뜨리는 증례가 많고, 우울증답지 않은 병상(비정형 우울)을 나타내는 일이 많으며, 지체되거나 재발하기 쉽다. 합병증을 보이는 예가 많으며, 환경이나 심적인 영향을 받기 쉽고, 치료약의 부작용이 일어나기 쉽다(양영애 등, 2008). 흔히 가성치매(pseudodementia)로도 나타나는데 이는 우울증 때문에 사고가 진행되지 않고, 주의집중이 곤란하여 기억력 장애가 발생하는 치매와 닮은 인지장애(민성길 등, 2010)로 우울증의 개선과 함께 개선된다.

이러한 이유들 때문에 노년기 우울증은 사실 발견되기도 어렵지만 발견된다 하더라도 우리나라의 사회 통념상 적극적인 의료적 접근이 어려운 것이 사실이다. 의료적 접근이 이루어진다 하더라도 심리적 접근보다는 약물에 의존하려는 경향이 많았다. 급성 우울증일 경우 약물을 단기간 사용하는 것이 효과적이지만 장기간 사용할 때는 약효에 대한 내성, 약물의 오·남용 가능성과 의존성 등의 문제(김양희, 2009)와 함께 부작용 때문에 사용상의 한계를 드러내고 있다. 과거에 우울증 치료제로 널리 사용되어 왔던 도파민 수용체의 길항제는 행동장애(movement disorder)를 일으키는 등의 부작용이 있을 수 있고(김소영, 2010), 많은 임상 의사들이 처음 우울증 치료에 사용하는 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI)도 초기 부작용으로 불안, 위장장애, 두통 등이 있을 수 있다(민성길 등, 2010).

약물치료에 대한 이와 같은 제한점에 비해 아로마테라피(aromatherapy)는 부작용이 적고 안위감을 증진시키며 비침습적이고 효율적이면서 쉽게 접근할 수 있는 방식으로써(박선애, 2007) 수면증진 및 스트레스, 우울 감소에도 효과적이므로 노인 환자들을 위해 적용할 수 있는 좋은 중재 방법으로 부각되고 있다(김양희, 2009).

최근 들어 아로마 에센셜 오일(aroma essential oil)의 각종 약리적 효과들에 대한 연구들이 보고되고 있으나(김양희, 2009 ; 전창선, 2009), “우울 측정지”와 같은 설문지 형태를 이용한 연구가 대부분으로 검사자의 주관적 개입이나 답변자의 답변 당시 심리적 상황이 우울 점수에 큰 영향을 줄 수 있어 객관성이 다소 떨어지는 문제점이 있었다.

이에 본 연구에서는 입원 노인들을 대상으로 ‘한국판 노인 우울척도(Geriatric Depression Scale-K, GDS-K)’에 중점을 두어 아로마테라피(aromatherapy) 전·중·후의 변화를 살펴보기 위하여 ‘한국판 간이 인지검사(Mini-Mental State Examination-K, MMSE-K)’를 함께 실시하여 ‘지남력’이나 ‘기억력’, ‘주의집중/계산’, ‘언어기능’, ‘이해/판단’등 인지 능력과의 상관관계를 알아보고, 아로마 테라피(aromatherapy) 전·중·후에 타액과 혈액을 채취하여 타액 및 혈액 속에 존재하는 우울증 관련 물질들의 증감 여부를 RT-PCR(역전사-중합효소 연쇄반응)을 통해 보다 객관적으로 검증하고자 하였다.

2. 연구 목적

본 연구에서는 아로마 에센셜 오일(aroma essential oil)을 이용한 손마사지가 입원 노인의 우울증 개선에 미치는 효과를 알아보고자 했다. 구체적인 목적은 다음과 같다.

- ‘한국판 노인 우울 척도(Geriatric Depression Scale-K, GDS-K)’를 이용해 aroma essential oil을 이용한 손마사지가 입원노인의 우울도에 미치는 효과를 파악한다.
- ‘한국판 간이인지검사(Mini-Mental State Examination-K, MMSE-K)’를 이용해 aroma essential oil을 이용한 손마사지가 입원노인의 인지에 미치는 효과를 파악하여 우울 정도의 증감이 인지에 어떤 영향을 미치는지 그 상관관계를 알아본다.
- ‘RT-PCR(역전사-중합효소 연쇄반응)’을 통해 타액과 혈액 내에 존재하는 세로토닌 수용체(serotonin receptor) 및 세로토닌 수송체(serotonin transporter)의 증감여부를 파악하여 아로마 에센셜 오일(aroma essential oil)을 이용한 손마사지가 입원노인의 우울 증상에 미치는 효과를 과학적, 객관적으로 검증한다.

3. 우울증 관련 물질

우울증 관련 물질로는 최근 관심이 높아진 신경전달물질 세로토닌(serotonin)에 중점을 두었다. 우울증 관련 물질 중의 하나인 뇌유래 신경영양인자(Brain Derived Neurotrophic Factor, BDNF)와 TrkB 수용체(NTRK2) 사이의 signaling (K. Yamada & T. Nabeshima, 2003; 이승연, 2010)에도 관심을 두었으나 주로 뇌의 해마에 존재하는 물질로서 타액샘플에서 RT-PCR을 통해 발현이 되지 않아 연구 대상에서 제외시켰다.

1) 세로토닌 수용체(serotonin receptor)

세로토닌(serotonin)은 뇌의 시냅스에서 분비되는 모노아민계 신경전달물질로서 정신질환과 관련이 있으며 부족할 경우 우울장애(depression), 불안(anxiety), 정신분열(schizophrenia), 섭식장애(eating disorders), 강박장애(obsessive compulsive disorder, OCD), 편두통(migraine) 및 공황장애(panic disorder) 등과 같이 중추신경계와 관련된 정신질환이 나타난다. 항우울제로 알려진 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs)는 연접이전 세포로 세로토닌이 재흡수 하는 것을 막음으로서 세포의 수준의 신경전달물질 세로토닌을 증가시키고, 이로서 연접 이후 수용기와 결합할 수 있는 세로토닌의 수준이 증가하게 한다(김소영, 2010).

세로토닌이라는 이름의 유래는 혈청(serum)에 존재하며 혈관수축을 일으키는(tonic) 물질이라는 뜻에서 serum + tonic → serotonin이라고 불리워졌다고 한다. 따라서 세로토닌에 의한 혈관수축을 막아줄 수 있는 세로토닌 수용체 길항제는 고혈압 치료제로 쓰일 수 있다. 5-HT라고도 불리는 이유는 화학구조가 5-하이드록시트립타민(5-hydroxytryptamine)이기 때문이다. 트립토판의 구조에서 카르복시산을 없애면 트립타민이 된다. 이 구조의 5번 탄소에 OH 즉 수산화기를

불이면 5-hydroxytryptamine이 된다. 바나나와 파인애플에 많이 존재한다고 한다 (부산대학교 약학과 세포신호전달연구실, 2012). 대사에서는 주로 아민산화효소 (플라빈함유)에 의해 산화되어, 최종적으로는 5-히드록시인돌아세트산의 형태로 요로 배출된다. 세로토닌은 중추신경계에서는 중뇌의 봉선핵(縫線核: Raph 핵)에 근원을 둔 세로토닌 뉴런의 신경전달물질 후보로 되어 있고, 장에서는 장관운동을 촉진하는 호르몬으로서의 역할을 추정하고 있으며, 혈소판에도 고농도로 존재하면서 혈소판이 혈관 벽에 점착 시에 방출되어 모세혈관을 수축시킨다 (NAVER지식사전, 2011).

세로토닌은 수용체(receptor)를 매개로 하여 작용하며, 현재까지 인간에서는 17 종류의 수용체가 알려져 있다. G-단백질 커플형 수용체 16개에 이온통로 형태의 수용체 5-HT3까지 더하면 모두 17개의 수용체가 존재한다(임동순, 2012). 미국 국립생물정보센터(NCBI, 2011)에 등록된 유전자 정보를 이용하여 살펴본 결과 총 17종의 세로토닌 수용체를 확인할 수 있었고(표 2), 그 중 불안증, 우울증, 정신 분열증 및 치매 질환에 밀접한 관련이 있음이 보고된 수용체들 중 (김소영, 2010 ; 전시은, 2010) HTR1A, HTR2C, HTR6 세 종류를 연구 대상 세로토닌 수용체로 선정했다. HTR2A도 우울증과 관련이 있다고 알려진 수용체이나 transcript variant가 두 종류(1,2)로 나뉘어 있어 시발체(primer) 선정에 어려움이 있을 듯 하여 연구 대상에서 제외시켰다.

표 2. 인간 세로토닌 수용체(serotonin receptor)의 종류

	serotonin receptor	symbol
1	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 1A, mRNA	HTR1A
2	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 1B, mRNA	HTR1B
3	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 1D, mRNA	HTR1D
4	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 1E, mRNA	HTR1E
5	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 1F, mRNA	HTR1F
6	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 2A, transcript variant (1,2), mRNA	HTR2A
7	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 2B, mRNA	HTR2B
8	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 2C, mRNA	HTR2C
9	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 3A, transcript variant (1,2,3), mRNA	HTR3A
10	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 3B, mRNA	HTR3B
11	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 3, family member C, mRNA	HTR3C
12	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 3, family member D, transcript variant (1,2,3), mRNA	HTR3D
13	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 3, family member E, mRNA	HTR3E
14	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 4, transcript variant (a,b,d,g,i), mRNA	HTR4
15	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 5A, mRNA	HTR5A
16	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 6, mRNA	HTR6
17	Homo sapiens 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 7 (adenylate cyclase-coupled), transcript variant (a,b,d), mRNA	HTR7

2)세로토닌 수송체(Serotonin transporter, SERT)

미국국립생물정보센터(NCBI)에는 ‘Solute carrier family 6 (neuro transmitter transporter, serotonin), member 4’로 등록되어 있으며, ‘SLC6A4’, ‘5-HTT’, ‘5HTT’, ‘SERT’ 등으로 약기한다.

세로토닌 수송체(serotonin transporter, SERT)는 모노아민(monoamine) 수송체 단백질이다. 이 단백질은 신경전달물질인 세로토닌을 연접 공간(synaptic space)에서 연접전 신경세포(presynaptic neuron) 속으로 운반하는 완전한 막 단백질(integral membrane protein)로 세로토닌 수송체(serotonin transporter, SERT) 단백질에 의한 세로토닌의 운반은 세로토닌의 활동을 끝내고 나트륨(sodium)의 존형 형태(sodium-dependent manner)로 재순환된다.

이 단백질은 세로토닌 재흡수 억제제 그룹(SSRI class)을 포함하는 많은 항우울 약물들(antidepressant medications)의 표적 물질이기도 하다. 이 유전자의 프로모터(promoter)에서의 반복된 길이 다형성(repeat length polymorphism)이 세로토닌 흡수율에 영향을 미치고 갑작스런 영아 사망 증후군, 알츠하이머 환자의 공격적 행동, 외상 후 스트레스 장애와 우울증(정신적 외상을 경험한 사람들에서의 민감한 감수성) 등에 작용을 하는 것으로 알려져 왔다. 수송체들로부터 세로토닌의 결합을 감소시키는 것들(선택적 세로토닌 재흡수 억제제 또는 SSRIs)과 증가시키는 것들(선택적 세로토닌 재흡수 강화제 또는 SSREs), 두 약물 모두 정신질환을 치료하는데 사용된다. 플루옥세틴(Fluoxetine)은 선택적 세로토닌 재흡수 억제제의 일종이고, 티아넵틴(tianeptine)은 선택적 세로토닌 재흡수 강화제의 일종이다(WIKIPEDIA, 2011).

기능을 살펴보면, 세로토닌 수송체는 synaptic cleft로부터 synaptic boutons 속으로 되돌아가는 세로토닌을 제거해서 세로토닌의 효과를 종료하고 동시에 연접전 신경세포(presynaptic neuron)에 의해 세로토닌의 재사용을 가능하게 한다. 이 기능이 억제되면 시냅스 내에 잔류하는 세로토닌의 양이 많아진다(박재영, 2010). N. Praschak-Rieder 등(2008)은 일조량과 세로토닌 수송체 활성이 역의 상관관계에 있어서 봄·여름에는 세로토닌 수송체의 활성이 감소하고 가을·겨울에는 증가한다고 말하고 있다. 따라서 봄·여름에 기분이 좋아지는 것은 세로

토닌 수송체의 활성이 감소하여 시냅스 공간의 세로토닌 양이 증가하기 때문이고, 가을·겨울에 우울해지는 것은 세로토닌 수송체의 활성이 감소하여 시냅스 공간의 세로토닌 양이 증가하기 때문이라는 것이다(티타임 with 知的호기심, 2010).

세로토닌 수송체는 또한 혈소판에도 존재하는데, 세로토닌이 혈관을 수축시키는 (vasoconstrictive) 물질로서 작용하게 한다(위키백과 : <http://ko.wikipedia.org>).

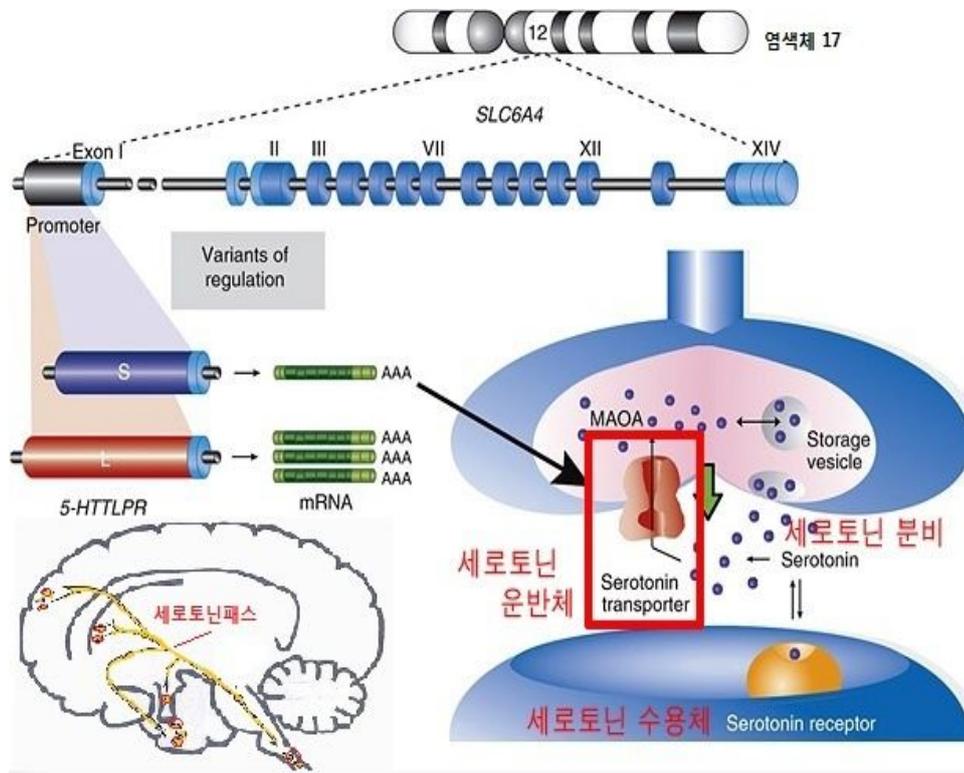


그림 1. 신경세포 연결에서의 세로토닌 수용체와 세로토닌 수송체의 작용
(박재영, 2010에서 인용)

3)RT-PCR(역전사-중합효소 연쇄반응)

중합효소 연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)은 DNA의 원하는 부분을 복제·증폭시키는 분자생물학적인 기술이다. 이 기술은 사람의 게놈(genom)과 같은 매우 복잡하며 양이 지극히 미량인 DNA 용액에서 연구자가 원하는 특정 DNA 단편만을 선택적으로 증폭시킬 수 있다. 또한 증폭에 필요한 시간이 2시간 정도로 짧으며, 실험 과정이 단순하고, 전자동 기계로 증폭할 수 있기 때문에, PCR과 여기서 파생한 여러 가지 기술은 분자생물학, 의료, 범죄 수사, 생물의 분류 등 DNA를 취급하는 작업 전반에서 지극히 중요한 역할을 담당하고 있다.

(1)과정

DNA의 변성(Denaturation) : 92°C~95°C로 가열하여 이중가닥 DNA(dsDNA)를 단일가닥 DNA(ssDNA)로 분리시킨다. 높은 온도일수록 단일가닥 DNA로 잘 이행되지만 Taq DNA 중합효소도 온도가 아주 높은 상태에서는 변성되어 사용하지 못하게 될 수 있으므로 보통 94°C로 한다. 첫 번째 주기(cycle)에서는 확실한 변성을 위하여 약 5분간 지속시킨다.

시발체(Primer)의 결합(Annealing) : 50°C~65°C에서 진행된다. 시발체(Primer)가 자신의 염기서열과 상보적인 염기서열을 갖고 있는 DNA에 결합하는 단계이다. 염기쌍의 결합은 G와 C는 세 군데에서 수소결합이 일어나고, A와 T는 두 군데에서 결합이 일어나므로 G-C결합이 A-T결합보다 강하다. 따라서 G+C 비율에 따라 결합온도에 변화를 주는 것이 좋다. 사실 시발체를 만드는 것도 이 결합 온도(Annealing Temperature)를 고려하여 합성해야 한다. 일반적으로 G-C content 가 50%가 되는 primer 쌍을 이용하는 것이 바람직하다. 보통 30초가량 지속되는 이 단계에서 시발체의 5'→ 3'방향으로 DNA의 합성이 시작된다.

DNA의 신장(Elongation) : 70°C~74°C (Optimal temperature : 72°C)에서 시행하며 원하는 PCR 산물의 크기가 크거나 반응요소의 농도가 낮을 때에는 시간을 연장시킬 수도 있다. Taq중합효소는 보통 1분에 2,000~4,000 염기쌍을 중합할 수 있으므로 원하는 PCR 산물의 크기 1kb마다 1분 정도의 시간을 배당하면 충분히 반응이 일어난다. 마지막 cycle에는 약 10분 정도 시간을 충분히 주는 것

이 좋다.

이 과정이 계속 반복하여 진행되면서(보통 20~40회) DNA의 원하는 부분을 증폭시키는 것이 PCR의 원리이다. 원하는 부분을 제대로 증폭시켰는지 확인하기 위해서 PCR 산물의 크기를 비교할 수 있는 아가로스겔 전기영동을 이용하는 것이 일반적이다. PCR 산물의 크기는 DNA ladder라 불리는 Maker와의 비교를 통해 대략적으로 알 수 있다.

(2)PCR의 역사

PCR(Polymerase Chain Reaction) 법에 대한 발상은 1983년에 캐리 멀리스(K. Mullis)에게서 처음 나왔다. 그는 초창기 생명공학 회사였던 시터스(Cetus)의 연구원이었으며 우연찮게 PCR법을 고안해서 발표하게 된다. 처음 멀리스는 여러 저명한 과학 저널에 PCR법을 투고했으나 채택되지 않았고 실제로 논문은 1987년에 처음 게재된다. 시터스사는 중합효소의 종류를 바꾸는 등, 해당 기술을 개량하고 발전시켜 큰 성공을 거두게 되지만 이후 PCR 기술 자체가 뒤퐁(DuPont)사나 로슈(Roche)사, 프로메가(Promega)사가 연관된 여러 특허 분쟁을 일으키게 된다. 현재는 1992년에 특허권을 획득한 제약 회사 로슈사에 PCR법의 특허가 있다. 개발자 멀리스는 PCR법을 고안한 공로로 1993년 노벨 화학상을 수상한다. 현재는 PCR법도 더욱 다양한 응용 기술이 개발되었다. 이러한 응용 기술로는 역전사효소(reverse transcriptase)를 이용해서 RNA를 직접 증폭시키는 역전사-PCR이 대표적이며, 이외에도 형광 물질을 붙여서 PCR을 진행하며 관측되는 정량적인 변화를 이용하여 원래 DNA나 RNA의 양을 정확히 측정하는 정량적 PCR 또는 실시간 PCR(Real time PCR), 한번에 수많은 PCR을 동시에 시행하는 대용량 PCR 같은 여러 방법이 있다.

(3)PCR법의 이용

PCR(Polymerase Chain Reaction)법은 현재 생물학에서 쓰이지 않는 곳이 없다고 해도 과언이 아닐 정도로 광범위하게 사용되는 기술이다. 또한 근래 과학 수사나 친자 감별 등에 자주 이용되는 DNA 지문 분석(DNA finger printing) 역시 PCR법을 이용해서 이루어진다. 생물학에서는 여러 유전병을 판별하기 위해서

인간 유전학에서 사용하는 경우가 있으며, 오래된 고생물이나 멸종 생물의 희소 DNA를 증폭하기 위해서도 이용된다. 분류학에서도 종간의 DNA 비교를 위해 PCR법을 널리 이용하고 있으며, 분자생물학에서는 DNA나 RNA를 다루기 위해서 반드시 이용되는 매우 중요한 기술로 받아들여지고 있다.

PCR은 DNA의 특정 부분을 증폭시킴으로서 DNA조각의 분리를 가능하게 한다. 이런 PCR의 활용은 조그만 부분을 통해 대량의 순수한 DNA조각들을 얻을 수 있어 혼성화 탐침(hybridization probe) 방법과 DNA 클로닝 등에 이용된다. 이를 선택적 유전자 증폭(Selective DNA isolation)이라 한다.

PCR은 특정 유전자의 목적 서열을 증폭(Amplification)시키므로 극미량의 샘플 만으로도 그 DNA의 서열을 알아 낼 수 있다. 또 PCR은 아주 오래된 DNA에도 사용이 가능해서 고대 맘모스의 유전자 분석 등에 사용되어 왔다. 정량적(quantification)인 PCR의 이용은 샘플 속에 들어있는 특정 DNA 서열의 양을 추정 할 수 있게 해준다. 주로 유전자 발현의 정도 측정에 이용된다.

백혈병이나 림프종 등 질병의 진단에도 PCR이 활용 될 수 있다. 유전체 샘플에 바로 이용 가능한 PCR 검사는 특정 악성 세포의 위치를 아주 정확히 측정 할 수 있다(위키백과, 2012).

4. 아로마테라피(Aromatherapy)

1) 정의(Definition)

영어 ‘Aromatherapy’는 프랑스 화학자 가테포세(Gattefosse)가 1930년대에 언급한 프랑스어 ‘aromatherapie’에서 유래한 것으로, 아로마(aroma) + 테라피(therapy)이다. ‘Aroma’는 그리스어 ‘향신료(spice)’에서 파생한 말로 오늘날에는 일반적으로 ‘향’을 의미하며, ‘Therapy’는 치료의 개념을 가진 ‘treatment’의 뜻이다.

Aromatherapy, 즉 향기요법은 각종 식물의 꽃, 열매, 줄기, 잎, 뿌리 등에서 추출한 휘발성 향유인 에센셜 오일을 흡입하거나 목욕, 마사지 등의 방법을 이용해 심신을 건강하게 하는 요법이다(오홍근, 2003).

아로마(Aroma)는 천연 식물 향으로 부작용이 거의 없고 정신적 안정, 피부 미용, 공기 정화 등에 탁월한 효능을 가지고 있으며 자연 향기 그대로여서 화학 약품과 달리 환경을 오염시키지 않으면서 향의 독특한 성분을 이용한 자연치료, 전인치료의 개념으로 현대인이 스트레스를 해결하고 질병을 예방하는 데 큰 도움을 주고 있다. 이것이 최근 들어 아로마테라피(Aromatherapy)가 각광받는 이유이다. 특징 중 하나는 후각 신경을 통해 대뇌의 중요 부위에 자극을 주어 신체 조직과 기관의 병든 부위와 기능에 효과적인 영향을 준다는 것이다 (오홍근, 2003).

2)역사(History)

이미 오래 전부터 천연식물, 즉 허브에서 즙을 내어 상처에 바르거나 원시적인 훈증법을 이용했다는 기록이 남아 있는데, 이를 나라별로 살펴보면 다음과 같다.

중국에서는 기원전 4000년경 고대 의서 「황제내경」에 식물에서 추출한 성분인 에센셜 오일을 황실 및 귀족층을 중심으로 사용했다는 기록이 있으며, 「본초강목」에는 2000가지 이상의 식물로 혼합된 처방을 기록하고 있다. 바빌론에서도 약용식물 재배에 대한 기록이 남아 있고, 우리나라에서는 허준의 「동의보감」 ‘기미론(氣味論)’에서 사찰에서의 침향 사용 등에서 역사를 짚어볼 수 있다.

이집트는 기원전 3000년경 시신의 방부 처리, 미용, 의료의 목적이나 중요한 의식에 사용했으며, 파피루스에 가장 오래된 식물들의 의학적 효과와 사용법에 대한 기록이 있다. 인도는 가장 오래된 종교서적인 「리그베다」에 식물 700가지에 대해 기술하고 있는데 오늘날 아유르베다(ayurveda) 의학의 초석이 되고 있다. 그리스의 히포크라테스는 ‘매일같이 아로마 목욕을 하면 병을 치료하고 건강을 유지할 수 있다’는 기록을 남겼고, 아우렐리우스의 주치의였던 갈렌(Galen)은 아로마 에센셜 오일의 여러 가지 의학적 효능에 관한 책을 펴냈다. 로마의 의학자였던 디오스코리데스(Pedanius Dioscorides)는 의료용 식물을 수집 기록하여 오늘날 Aromatherapy의 기본을 만들기도 하였다(권소영 등 역, 2008).

그러나, 19세기 후반부터 20세기 후반에 이르기까지는 화학 합성 약물들의 개발이 활발히 이루어지면서 현대 의학에서는 Aromatherapy와 같은 천연물질을 이용한 치료법에는 관심을 갖지 않게 되었다.

현대적 의미의 Aromatherapy는, 우연히 라벤더 오일의 화상에 대한 효능을 알게 되어 아로마 에센셜 오일에 대한 본격적인 연구를 시작하고 개념을 정립하게 된 르네 모리스 가테포세(Rene Maurice Gatefosse), 1차 세계 대전 당시 군의관으로 일하면서 아로마 에센셜 오일을 병사들의 치료에 이용하고 이후 최초의 임상 교과서라 불리는 「아로마테라피 치료(The Practice of Aromatherapy)」라는 책을 출간한 장 발네(Jean Valnet), 그리고 아로마 마사지(aroma massage)의 창시자라 할 수 있는 프랑스의 화학자 마그리트 모리(Marguerite Maury)등에 의해서 본격적인 시대를 열게 되었다(권소영 등 역, 2008).

3)아로마 에센셜 오일(Aroma Essential oil)

아로마 에센셜 오일이란 식물에서 추출한 화학물질과 호르몬 성분으로 Aromatherapy에서 빠뜨릴 수 없는 것이다. 이 오일을 캐리어 오일에 묽게 하여 마사지 오일을 만들고 향을 이용하거나 직접 상처 부위에 바르는 등 다양한 방법으로 사용할 수 있다(이치현 등, 2009).

일반적으로 식물 중에서도 허브와 스파이스는 약 3500종이 있는데, 인체에 사용할 수 있는 오일은 약 300종 이상이 있으며, 그 중 약 60여 종의 오일을 주로 사용한다. 흔히 주변에서 볼 수 있는 것으로는 레몬, 오렌지, 장미, 제라늄, 민트 등이 있으며, 이들 식물의 꽃잎, 열매, 잎, 가지, 뿌리, 종자, 나무껍질 등 여러 부분에서 독자적인 방법으로 추출한 것이다. 눈에 보이지 않지만 허브나 스파이스의 잎 표면에는 0.1mm정도의 작은 원형 주머니가 많이 있는데 이것이 향기 성분이 들어 있는 오일샘이다. 에센셜 오일도 이와 같은 구조로 만들어진 향기 성분의 집합체이다(오홍근, 2002).

추출법도 까다롭고 추출 시기에 따라 그 효과가 달라지는 등 매우 세심한 주의가 필요하기 때문에 희소가치가 높고, 그 수확량에 따라서도 가격차이가 난다. 100kg의 유칼립투스에서 10리터, 100kg의 라벤더에서 3리터, 100kg의 로즈에서 100mg, 3톤의 멜리사에서 0.5리터의 오일이 생산된다고 한다(이치현 등, 2009).

(1)추출법

증류법, 압착법, 용매 추출법 등으로 식물의 꽃, 잎, 열매, 줄기, 뿌리 등에서 추출한다. 같은 식물이라도 열매와 잎 등 추출 부위에 따라 효능이 다르고 오일의 이름도 달라진다. 먼저 증류법에는 물 증류법, 증기 증류법, 재 증류법, 건류법, 정류법 등이 있으며, 전체의 약 80% 정도가 수증기 증류법에 의해 추출된다. 수증기 증류법은 식물의 꽃, 잎, 가지 등에 수증기를 쬐어 데운 후 오일샘에 포함되어 있는 성분을 증기로 추출하고 그 증기를 식혀 액체화하면 비중이 다른 유분과 수분이 자연스럽게 분리되어 물보다 가벼운 기름이 위에 뜨게 되는 구조이다(권소영 등 역, 2008).

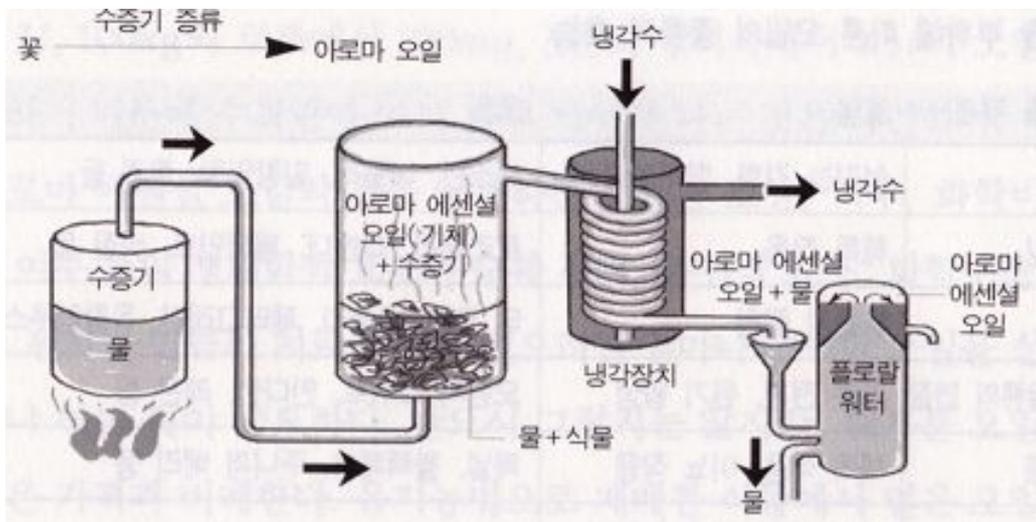


그림 2. 수증기 증류법에 의한 아로마 에센셜 오일 추출 (오홍근, 2003에서 인용)

압착법은 주로 열매의 껍질에서 짠 액체를 추출하는 방법으로 원료는 농약을 사용하지 않고 기른 나무 열매에 한한다. 스펀지법, 에콜레법, 기계 연마법 등이 있다. 용매 추출법에는 앵술루트(absolute), 온침법(마세레이션), 냉침법(앙플라쥬), 탄산가스(CO₂)에 의한 방법 등이 있다. 앵술루트는 휘발성 용제나 알코올 용제 등을 사용하여 추출하는 방법으로 예를 들어 장미꽃을 수증기 증류법으로 추출하면 ‘로즈 오트’, 앵술루트를 이용하면 ‘로즈 앵술루트’라고 한다(권소영 등 역, 2008).

(2)약리적 작용

아로마 에센셜 오일에는 그 종류에 따라 약초와 같이 수많은 약리적 작용들이 있는데, 특히 ‘라벤더’같은 경우에는 만병통치약으로 불릴 정도로 여러 가지 질환에 효능을 보이고 있다.

표 3. 아로마 에센셜 오일(Aroma Essential oil)의 약리적 작용 (오홍근, 2002에서 인용)

효능	적용 가능한 에센셜 오일
일반적 살균 소독	유칼립투스, 라벤더, 네롤리, 파인, 로즈메리, 타임
통증 해소	블랙페퍼, 유칼립투스, 라벤더, 마조람, 로즈메리, 타임
정신 기능 강화	바질, 페퍼민트, 로즈메리, 타임
소화기관 장애 해소	블랙페퍼, 캐머마일 로먼, 페널, 페퍼민트, 로즈메리
생리 장애 치료	캐머마일 로먼, 클라리 세이지, 제라늄, 라벤더, 로즈, 마조람
스트레스 해소	버거못, 캐머마일 로먼, 라벤더, 네롤리, 오렌지 스위트, 샌들우드, 일랑일랑
습진, 피부염 치료	캐머마일 로먼, 라벤더, 네롤리, 티 트리, 몰약
항박테리아 작용	티 트리, 몰약, 시더우드, 유칼립투스, 라벤더, 파출리
상처, 염증 해소	유칼립투스, 라벤더, 레몬, 프랑킨센스, 몰약, 티 트리
호흡기 질환 치료	유칼립투스 페널, 프랑킨센스, 페퍼민트, 파인, 로즈메리, 타임
해독	사이프러스, 페널,, 주니퍼 베리, 레몬, 오렌지 스위트, 로즈메리
우울증 해소	바질, 버거못, 제라늄, 재스민, 라벤더, 네롤리, 페퍼민트, 타임
해충 박멸	바질 시더우드, 유칼립투스, 제라늄, 라벤더, 페퍼민트, 타임

(3) 흡수 경로

후각 신경은 다른 감각들보다 예민하기 때문에 후각신경을 통한 오일의 흡수 속도가 가장 빠르다. 다른 감각 기관들과 비교해 보면 후각은 0.5초, 압각은 0.9초, 청각은 0.15초가 걸린다고 한다. 후각을 통한 흡수 경로를 보면 코 → 실리아(cilia) → 후각구 → 후각신경 → 변연계(Lymbic system) → 뇌피질 → 시상하부 → 뇌하수체 → 호르몬 → 자율신경계를 거치고, 호흡을 통한 흡수는 코 → 부비강 → 인두 → 후두 → 기관지 → 폐포 → 혈관 → 온몸으로 전달되게 된다. 마사지의 경우 피부를 통해 흡수된 오일의 성분은 진피층까지 흡수되어 모세혈관과 임파 순환을 통해 전신에 전달되는데, 친화력을 가진 특정 기관에 머물며 질병을 치료한다. 표피 → 진피 → 체액 → 림프계 → 혈액 → 온몸으로 전달된다. 먹는 방법은 원액이 위 점막 등에 심한 손상을 일으킬 수 있으므로 반드시 캡슐에 넣어 희석된 상태로 복용해야 한다. 이 방법은 아직까지도 대부분의 나라에서는 법적으로 금지하고 있다. 다른 방법들과 비교했을 때 작용 시간이 가장 오래 걸린다(오홍근, 2003).

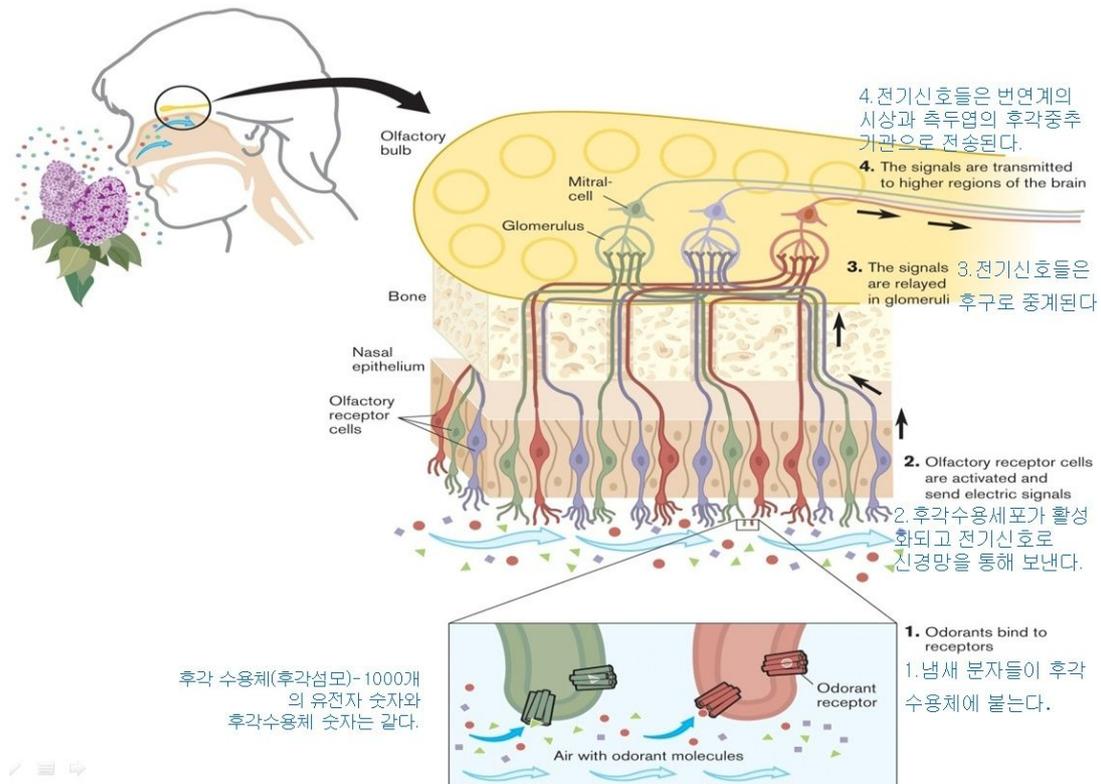


그림 3. 후각수용체에 의한 향기 성분의 전기화학적 전달 (우진규, 2010에서 인용)

(4)분류

향은 휘발성과 성질에 따라 상향(top note), 중향(middle note), 하향(base note)으로 분류된다. 블렌딩은 아로마테라피(Aromatherapy)에서 가장 중요한 요소로 각각의 오일을 혼합해 사용하는 것을 말한다. 아로마 에센셜 오일은 그들이 가지고 있는 특유의 성질로 인해 각각의 오일을 블렌딩 했을 때 한 종류만 사용했을 때보다 시너지 효과가 월등해지므로 적당한 비율의 배합이 중요하다. 상향은 전체 향의 5~10%, 중향은 50~80%, 하향은 전체의 5%이내에서 배합하는 것이 적당하다. 보통은 두세 가지의 오일을 섞어야 제대로 된 효과를 볼 수 있는 반면, 다섯 가지 이상의 오일이 섞이면 오히려 효과가 반감되기도 한다(오홍근, 2002, 2003).

4)캐리어 오일(Carrier oil)

아로마 에센셜 오일에는 식물의 진한 성분이 포함되어 있기 때문에 자극이 강렬해서 블렌딩해서 피부에 바르거나 마사지를 할 때는 반드시 희석해서 사용해야 하는데, 이 때 사용되는 식물성 오일을 캐리어 오일(carrier oil) 또는 식물성 오일이라 한다.

캐리어 오일은 콩류나 식물의 씨앗에서 1차 냉각압축법으로 추출한 100% 천연 오일로 인체에 유익한 다량의 불포화 지방산과 비타민, 미네랄 등의 영양 성분을 포함하고 있다. 진정효과, 피부 연화 및 피부에 영양을 주어 불휘발성 향유(fixed oil)라고도 부른다. 분자가 커서 피부에 쉽게 침투하지 못하는 대신 에센셜 오일을 전달하는 매개체 역할을 하지만, 오일 속에 포함된 비타민 E나 필수지방산과 같은 영양 물질들은 분자 구조가 아주 작기 때문에 혈관 깊숙이 스며든다. 블렌딩은 캐리어 오일에 3%의 에센셜 오일을 희석하는 것이 기본이며, 얼굴과 같은 연약한 피부에 사용할 때는 1%를 희석한다. 블렌딩한 오일은 보통 6개월에서 최대 1년까지 사용 가능하다((권소영 등 역, 2008; 오홍근 2002).

대표적인 캐리어 오일 6종에는 ‘호호바 오일(jojoba oil)’, ‘아보카도 오일’, ‘그레이트프시드 오일’, ‘밀 배아 오일’, ‘로즈힙 오일’, ‘스위트 아몬드 오일’등이 있다. 호

호바 오일(jobba oil)은 어떠한 에센셜 오일과도 잘 어울리며 냄새가 거의 없어 초보자용으로 적합하다. 사막에 사는 관목에서 추출하는데 실제로는 왁스(wax)이며 부패하지 않는다. 아보카도 오일은 아보카도에서 추출한 비타민이 풍부한 오일로 약간 점액질이 있다. 피부 건조, 탈수현상 완화, 습진성 피부에 효과적이다. 그레이프시드 오일은 포도씨에서 추출한 오일로 다른 오일보다 상쾌한 감촉으로 가볍고 냄새가 없으며 피부에 잘 스며든다. 비타민, 미네랄이 풍부하고 수렴 효과가 있어 여드름 많은 지성 피부에 효과적이다. 밀 배아 오일은 피부의 신진대사를 높이는 작용이 있어, 건성 피부의 관리나 습진, 피부병 치료 등에도 적합하고, 로즈힙 오일은 장미의 열매에서 추출한 오일로 피부 세포를 안정시키는 효과가 있다. 스위트 아몬드 오일은 아몬드 씨에서 추출한 오일로 건성 피부의 관리에 적합하다. 에센셜 오일의 침투력을 높여 주기 때문에 많이 사용된다(오홍근, 2002, 2003).

5)플로랄 워터(Floral water)

에센셜 오일을 증류 추출하는 과정에서 얻어지는 수용성 물질 하이드로졸(hydrosol)을 일컫는 말로, 쉽게 말해 정유의 부산물이라 할 수 있다. 허브 워터라고도 한다. 에센셜 오일의 특성을 그대로 갖고 있으며 방향물질을 함유하고 있다. 진정, 소염, 수렴 작용을 하는 안전한 화장수로 주로 토너(toner)로 사용된다(이치현 등, 2009)

II. 연구 방법(Materials & Methods)

1. 연구 설계

제주시에 위치한 N 재활전문병원과 J 노인 요양병원에 입원 중인 노인들을 대상으로, 아로마 에센셜 오일(aroma essential oil)을 이용한 손마사지를 통해 우울증의 정도가 어느 정도 변화되었는지를 노인 우울척도(GDS-K)를 통해 알아보고 간이 인지검사(MMSE-K)를 통해 우울증의 변화와 기억력 등 인지변화 사이의 상관관계를 분석하였다. 또한 설문 조사에서 나타날 수 있는 검사자의 주관적 요소를 객관화하기 위해 피험자들의 타액과 혈액을 채취하여 타액 및 혈액에서 total RNA를 추출하고 역전사-중합효소연쇄반응(RT-PCR)을 실시하여 우울증 관련 물질로 알려진 세로토닌 수용체(serotonin receptor) 및 세로토닌 수송체(serotonin transporter) 등의 증감여부를 분석해 보았다.

이 연구의 설계 모형도는 김양희(2009)의 논문을 참고로 하였으며 다음과 같다.

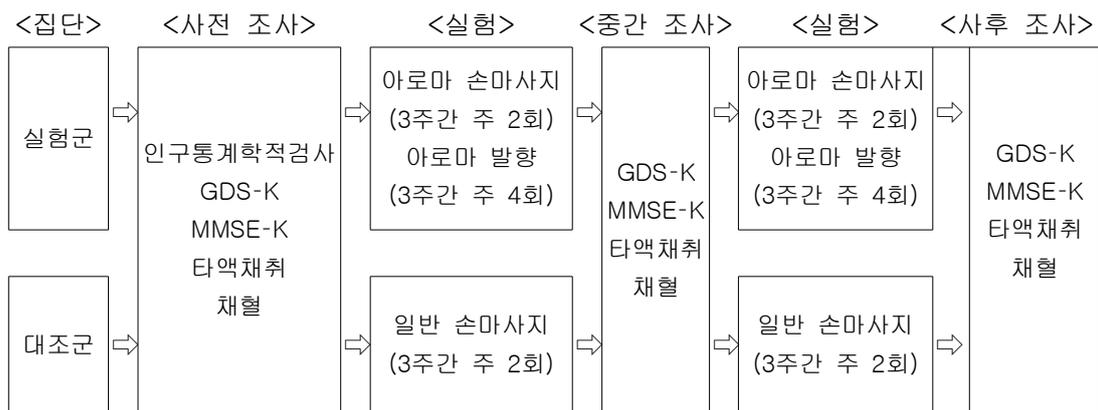


그림 4. 연구 설계 모형도

2. 연구 대상

뉴가튼(Neugarten,1974)은 노년기의 범주를 다음과 같이 정의하고 있다.

표 4. 연령에 따른 노년기의 분류 (양영애 등, 2008에서 인용)

구분	연령	
연소노인 (young-old)	55~64세	아직 사회적으로 일을 하고 있으며 그들의 삶과 사회에서 절정기에 있는 노인.
중고령노인 (middle-old)	65~74세	퇴직한 사람이 대다수이며 건강상태가 양호하고 취미생활을 할 풍부한 시간을 가지고 있는 노인.
고령노인 (old-old)	75세 이상	더 이상 일을 하기 어렵고 신체적으로 노쇠하고 질병에 걸린 경우가 많으며 가장 빈곤하며 외롭고 가장 약한 노인.

본 연구에서는 위의 노년기의 범주가 모두 적용되어 질 수 있도록 55세 이상의 노인을 대상으로 하였으나, 2006년에 통계청에서 발표한 「장래인구추계」에서는 65세에서 74세를 ‘전기노인’, 75세에서 84세를 ‘중기노인’, 85세 이상을 ‘후기노인’으로 나누어 분류하고 있는 점을 고려하여, 연령대를 ‘55세~64세’, ‘65세~74세’, ‘75세~84세’, ‘85세 이상’으로 네 단계로 분류하여 통계 분석하였다. 또한 가능한 주변 환경을 동일시하기 위해 재가노인보다는 노인요양병원에 입원중인 노인을 대상으로 하였으며, 이는 체혈이나 타액채취, 아로마테라피(Aromatherapy) 적용 등의 과정이 좀 더 용이할 것으로 판단되었다.

실험기간 중에는 신경정신과적 약물(수면제, 항우울제 등)을 복용할 경우 순수한 실험결과를 내기가 어려우므로(이승연, 2010) 이러한 약물의 복용이 필요하지 않은 사람을 대상으로 실시하였다.

위 내용에 적합한 입원환자를 대상으로 노인 우울척도 검사(GDS-K)를 실시하여 정도 우울증에 해당하는 범위인 14점 이상부터 대상자로 선발하였으며 기억력 등 인지변화 사이의 상관관계를 분석하기 위하여 한국형 간이 인지검사(MMSE-K)도 함께 실시하였다.

선발된 대상자들에게는 실험에 대한 설명을 드리고 동의한 사람에 한하여 인적 사항에 관한 설문지(연구 참여 동의서) 조사를 실시하였다.

노인우울척도 검사 후 해당되는 대상자는 30여명 정도였으나 최종 연구에 동의한 사람은 24명(실험군 12명, 대조군 12명)이었으며, 연구 진행 과정 중 퇴원하거나 연구 참여 거부 등으로 중도 탈락한 8명이 제외되어 최종 16명(실험군 8명, 대조군 8명)을 실험 대상으로 선정하였다. 최종 실험대상자 중 N 재활전문병원에서는 실험군 5명, 대조군 4명이었으며, J 노인 요양병원에서는 실험군 3명, 대조군 4명이었다. 수집된 자료의 분석 및 타액과 혈액 sample을 통한 RT-PCR (역전사-중합효소연쇄반응)을 실시하였다.

3. 연구 과정

1) 준비기간

준비기간은 4월 한 달간으로 4월 4일부터 15일까지 GDS-K와 MMSE-K를 통한 1차 대상자 선정이 있었으며, 4월 18일부터 22일까지 2차 대상자 선정을 실시하였고, 4월 25일부터 29일까지는 선정된 대상자들에게 연구 참여 동의서(부록 1.)를 통한 연구동의 및 인구통계학적 검사를 실시하였다. 1차 선정 시에는 대상자 선정에 있어서 GDS-K 16점 이상(중도 우울증 이상)과 MMSE-K 20점 이상(drowsy 이상)으로 제한을 두었으나 대상자 선정에 어려움이 있어, 2차 대상자 선정 시에는 GDS-K 14점 이상(경도 우울증 이상)으로 대상자를 선정하고 MMSE-K는 인지 점수의 변화를 보기 위한 참고 자료로만 활용하기로 하고 대상자 선별에서는 제한을 두지 않았다. 이는 치매 환자로 판단되어지는 20점미만 환자라 할지라도 타액 및 혈액 샘플을 통한 RT-PCR(역전사-중합효소연쇄반응)에서는 객관적인 결과가 나올 것으로 예상되어졌기 때문이다.

2) 본 실험

본 실험은 5월 7일부터 6월 15일까지 6주 동안 이루어졌으며, 5월 4일(실험 전 평가), 5월 26일(중간 평가), 6월 16일(실험 후 평가)에 GDS-K, MMSE-K 검사 및 RT-PCR을 위한 타액채취(약1ml)와 채혈(5ml)이 이루어졌다. 타액은 50ml 팔콘 튜브(Falcon tube)에 채취하였으며 가능한 한 식사시간 이전에 마시는 물로 입을 세 차례 헹구 내고(김양희, 2009) 5~10여분 후에 드라이아이스와 함께 보관하여 차갑게 유지된 팔콘 튜브(Falcon tube)에 직접 타액을 받아내어 바로 냉각시켰다. 혈액은 협조 병원에 의뢰하여 해당 병원 간호사가 대상자들의 혈액 5ml를 채혈하여 바로 혹은 하루 정도 냉장 보관 후에 본 연구자에게 건네주었으

며 건네받은 즉시 드라이아이스로 냉각하여 타액과 혈액 모두 실험실에서 -70°C에서 냉동 보관하였다.

실험은 제주관광대학 관광뷰티디자인과 학생들(3명)을 섭외하여 대상자로 선정된 노인들에게 손마사지를 주 2회(수, 토요일) 회당 한 손에 5분씩 10분간 실시(김양희, 2009) 하였으며, 효과의 증진을 위하여 실험군에 한하여 주 2회(월, 금요일) 발향에 의한 향기 흡입을 추가 실시하였다. 발향은 발향을 위해 블렌딩한 아로마 에센셜 오일(aroma essential oil)을 저녁 시간 취침 전에 입고 있는 옷(주로 환자복)의 옷깃에 한 방울씩 떨어뜨림으로서 향기를 흡입할 수 있도록 하였다.

선정된 노인 중 절반은 무작위로 대조군이 되어 캐리어 오일(carrier oil)로만 손마사지를 실시하였고, 실험군은 우울증에 효과가 있다고 알려진 아로마 에센셜 오일(aroma essential oil)을 캐리어 오일(carrier oil)과 블렌딩한 오일(synergy oil)로 손마사지를 실시하였다. 아로마 향의 확산을 방지하기 위하여 대조군과 실험군은 층을 달리 하거나 병실을 달리 하였다(김양희, 2009).

실험군에 사용한 손마사지용 아로마 에센셜 오일(aroma essential oil)은 라벤더:제라늄:캐모마일 로만(2:2:1)으로 캐리어 오일(carrier oil)인 호호바 오일에 2%로 희석(김양희, 2009)하여 사용하였고, 실험군에 사용한 발향용 아로마 에센셜 오일(aroma essential oil)은 라벤더:스위트오렌지:제라늄:캐모마일 로만(60:20:15:5)으로 캐리어 오일(carrier oil)에 희석하지 않고 100%를 사용하여 발향 효과를 증대시켰다. 대조군에 사용한 손마사지용 캐리어 오일(carrier oil)은 호호바 오일(Jojoba oil) 100%를 사용하였다.

보통 아로마 마사지에 사용하는 아로마 에센셜 오일의 캐리어 오일에 대한 희석비율은 3%이고 어린이나 노인 등에는 자극적이지 않게 1%의 희석비율로 사용하는 것이 일반적(오홍근, 2003).이나, 본 실험에서는 아로마 마사지군과 캐리어 오일 마사지군과의 비교 실험으로서 좀 더 효과를 증대시키기 위하여 노인 대상자들에게도 2%의 비율로 희석된 오일을 사용하여 향을 좀 더 강하게 했다.

이상 오일들의 선정 및 블렌딩 비율은 시중에 나와 있는 서적(오홍근, 2003) 및 제주관광대학 관광뷰티디자인과 장예선 교수님의 조언을 참고로 하였으며, 마사지 방법은 기존의 연구논문(김양희, 2009; 조주연, 2009)을 참고로 하여 제주관광

대학 관광뷰티디자인과 장예선 교수님의 도움을 받아 디자인하였다. 마사지를 도와 준 제주관광대학 관광뷰티디자인과 학생들 3명은 학과에서 아로마테라피 (aromatherapy)와 마사지를 전문적으로 배운 학생들로서 마사지와 관련된 국내 자격증 소유자들이었다(그림 5).

실험에 사용된 오일들 중 라벤더, 제라늄, 케모마일 로만, 스위트 오렌지는 La Drome Provencale® (France) 사의 유기농(organic) 제품을 사용하였고, 호호바 오일은 DESERT WHALE JOJOBA COMPANY (USA)의 유기농 제품을 사용하였다. 이들 모든 오일들은 ‘미즈 아로마’ (msaroma@paran.com)를 통해 구입하였다.

이상의 실험 시행경과는 표 5.에 도식화하여 나타내었고, 실험에 사용된 아로마 에센셜 오일(aroma essential oil)의 화학적 조성은 표 6.에 나타내었다.



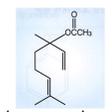
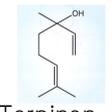
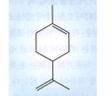
그림 5. 재활병원 및 요양병원에서의 손마사지 장면

표 5. 실험 시행 경과

날짜	4/14	4/20	4/22	5/4	5/6	5/7	5/9	5/11	5/13	5/14	5/16	5/18	5/20	5/21	5/23	5/25	5/26	5/27	5/28	5/30	6/1	6/3	6/4	6/6	6/8	6/10	6/11	6/13	6/14	6/15	6/16	6/17				
<N재활>																																				
○○홍F	GM			☉●		☞				☞		☞		☞		☞	☉●	GM	☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞	☉●	GM			
○복○F			GM	☉●		☞		☞		☞		☞		☞	☞	☉●	GM	☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞	GM			
장○○F			GM	☉●			☞	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☉●	≈	GM	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	☉●	GM			
고○○F			GM	☉●		☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☉●	≈	GM	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	☉●	GM			
신○○F	GM			☉●			☞	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☉●	☞	≈	GM		≈	☞	☞		≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	☉●			
○○녀F	GM			☉●		☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☉●	≈	GM	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	☉●	GM	
○평○M	GM			☉●		☞		☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☉●	≈	GM	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	☉●	GM	
안○○F	GM			☉●		☞		☞		☞		☞		☞		☉●	GM						☞		☞		☞		☞		☞		☞	☉●	GM	
김○○M	GM			☉●		☞		☞		☞		☞		☞		☉●	GM	☞					☞		☞		☞		☞		☞		☞	☉●	GM	
<J요양>																																				
○○남M		GM		☉	●	☞		☞		☞		☞		☞		☉●	GM		☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞	●	GM	
라○○F		GM		☉	●	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☉●	GM	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	☉	●	GM
송○○F		GM		☉	●	☞		☞		☞		☞		☞		☉●	GM		☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞	☉	●	GM
양○○F		GM		☉	●	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☉●	GM	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	☉	●	GM
한○○M			4/25 GM		●	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☉●	GM	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	≈	☞	☉	●	GM
○○화F		GM		☉	●	☞		☞		☞		☞		☞		☉●	GM		☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞	☉	●	GM
○○욱F		GM		☉	●	☞		☞		☞		☞		☞		☉●	GM		☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞		☞	☉	●	GM

타액채취 : ☉, 채혈 : ●, GDS-K : G, MMSE-K : M, 손마사지 : ☞, 발향 : ≈

표 6. 실험에 사용된 aroma essential oil의 화학적 조성

오일 종류	일반적 특성					화학적 조성			
	식물종류	휘발성	원산지	물성	추출	에스테르계	알코올계	테르펜류	케톤계
라벤더 (Lavender)	수풀같은 방향성의 작은 관목	middle note	프랑스 등 유럽	무색에서 연노란색의 달콤한 꽃향기	라벤더 꽃을 수증기 증류법으로 추출	Linalyl acetate (40~50%)  Lavendulyl acetate(~4%)	Linalool (30~40%)  Terpinen-4-ol(~4%) 1,8-cineole	α -pinene(<1%) Limonene(<1%) cis-ocimene (1~3) Camphor(<1%) Caryophyllene (2~5%)	3-octanone (1~3%)
제라늄 (Geranium)	높이 1m까지 자라는 다년생 관목	middle note	이집트, 러시아	투명한 색의 플로럴계 향	잎을 수증기 증류법으로 추출	Citronellyl formate Geranyl formate Geranyl butyrate Geranyl tiglate	Linalool Citronellol Nerol Geraniol	Guaia-6,9-diene	Iso-menthone
캐머마일 로먼 (Chamomile Roman)	국화과에 속하는 다년생 허브	middle note	서부 유럽	연한 노란색의 허브, 과일향	꽃이나 잎을 수증기 증류법으로 추출	Isobutyl angelate Isoamyl angelate	(α -pinene) 	α -pinene β -pinene Camphene Myrcene 1,8-cineole	(Myrcene) 
스위트 오렌지 (Sweet Orange)	스위트 오렌지 나무	top note	미국, 지중해, 스페인, 중국 등	노란색과 오렌지색의 유동성 액체로 신선한 감귤류 향이 난다	과일 껍질을 냉각 압착하여 추출		Linalool Neral Citronellal Decanal	Limonene(90%~)  Myrcene, α -pinene	
호호바 오일 (Jojoba oil)	호호바 나무	Carrier oil	미국 캘리포니아	피지를 조절하고 제거, 우수한 피부연화제로 모든 피부유형에 적합	열매를 냉동, 압착하여 추출	긴 단일 수산화 알코올 사슬과 긴 지방산 사슬이 에스테르 결합한 액체 왁스(wax) 에스테르 화합물로 분자의 안정성 때문에 오일의 부패 가능성이 거의 없다			

3)연구 도구

(1)한국판 노인 우울 척도(Geriatric Depression Scale, GDS-K)

노인의 우울을 평가하는 측정지로 Yesavage(1983) 등에 의해 개발된 자기 보고형 우울척도를 조명제 등(1999)이 번역 제작한 한국어판 노인 우울 척도(Geriatric Depression Scale, GDS)이다. 도구의 특징은 ‘예/아니오’의 단답형으로 평가가 용이하며, 정서·인지·신체·사회적 측면이 골고루 반영되어 전체적으로 나타나는 우울 현상을 쉽게 알 수 있다. 긍정 문항은 1, 5, 7, 9, 15, 19, 21, 27, 29, 30번이고, 점수 결과 14~18점은 우울 의심 혹은 경도 우울을 나타내며, 19~21점은 중도 우울, 22점 이상은 심한 우울을 의미한다(손기철 등, 2006). (부록 2.)

(2)한국판 간이인지검사(Mini-Mental State Examination, MMSE-K)

미국에서 Folstein 등(1975)이 인지능력을 측정하기 위해 개발한 MMSE를 권용철과 박종한(1989)이 한국어판으로 발간한 것으로, 단시간 내에 간단하게 노인의 인지기능과 치매 여부를 평가하기 위해 개발된 선별 검사 도구이다. 치매 의심 노인 또는 뇌손상 환자를 대상으로 하며, 별다른 준비물 없이 평가용지와 연필, 시계, 여분의 종이 한 장 정도만 있으면 평가가 가능하다. 지남력, 기억등록, 기억회상, 주의집중 및 계산, 언어기능, 이해 및 판단 등 6개 영역으로 구성되어 있다. 총 30점이 만점이며 ‘무학’인 경우 시간에 대한 지남력 문항에서 1점, 주의집중 및 계산 문항에서 2점, 언어기능 문항에서 1점을 가산하지만 각 문항에서 만점을 넘지 않도록 주의한다. 24점 이상을 ‘확정적 정상’으로, 20~23점을 ‘치매 의심’으로, 19점 이하를 ‘치매’로 선별한다 (박수현과 정병록, 2008). (부록 3.)

(3)RT-PCR(역전사-중합효소연쇄반응)

PCR은 DNA, RNA 그리고 단백질 수준의 PCR로 나뉠 수 있다. 보통 유전자를 얻는 실험을 할 경우, 그 유전자의 전체를 보려는 것이 아닌 유전자 안에서의 특정 유전자를 관찰하는 것이 목적이다. 하지만 DNA를 바로 PCR하게 되면 특정 유전자를 얻기 힘들고 진핵 생물의 경우, 인트론(Intron; 비발현부위)이 같이

나오는 등 여러 가지 문제점이 있다. 그것을 해결하기 위해 특정 유전자에 시발체(Primer)를 붙인 다음, PCR을 DNA수준이 아닌 RNA나 단백질 수준에서 하는 역전사-PCR(Reverse Transcriptase-PCR)이 있다(위키백과, 2012).

본 실험에서는 RNA 수준에서의 RT-PCR(역전사-중합효소 연쇄반응)을 사용하여 우울증에 관련된 특정 유전자인 세로토닌 수용체(HTR1A, HTR2C, HTR6)와 세로토닌 수송체(SERT)의 발현 정도를 비교하고자 하였다. 초기에 살펴보려 했던 우울증 관련 특정 유전자 중의 하나인 뇌유래 신경영양인자(BDNF : Brain Derivated Neurotrophic Factor)와 TrkB 수용체(NTRK2) 사이의 signaling(K. Yamada & T. Nabeshima, 2003; 이승연, 2010)에 대해서도 알아보려 하였으나 RT-PCR 후의 전기영동 확인 사진에서 BDNF와 TrkB 수용체(NTRK2)의 발현이 확인되지 않아 대상 유전자에서 제외시켰다. 주로 뇌의 해마에 존재하는 물질로서 타액에서는 존재하지 않았거나 존재해도 미미했던 것으로 생각된다.

중합효소 연쇄반응(PCR)의 목적(target) 유전자 서열의 mRNA 서열(sequences) 정보는 미국국립생물정보센터(NCBI)에 등록된 유전자 정보를 이용하였으며, 프라이머(primer)는 PRIMER 3(version 1.1.4)를 이용해서 디자인했다. 프라이머 쌍(primer pairs)의 서열(sequences)과 유전자은행 기재번호(gene bank accession numbers), 증폭 크기(Amplicon length) 등은 표 7.에 나타내었다. control로 사용할 'house keeping' 유전자로는 ACTB, GAPDH, RN18S를 선정했으나(S. S. Wang. et. al., 2008), RT-PCR 후의 전기영동 확인 사진에서 위치와 밴드가 비교적 선명한 GAPDH, RN18S 만을 control로 사용하였다.

표 7. 프라이머 쌍의 서열, 유전자 은행 기재번호, 증폭 크기

mRNA	Accession numbers	OLIGO	Start	length	Tm (°C)	gc%	Primer sequence	Amplicon length(bp)
HTR1A	NM_000524.2	LEFT PRIMER	419	20	59.3	55.00	accccatcgactacgtgaac	501
		RIGHT PRIMER	919	20	59.3	55.00	gaggcaagtgcctcttggag	
HTR2C	NM_000868.2	LEFT PRIMER	2468	20	57.3	50.00	tgaggcacatgacagtgggt	497
		RIGHT PRIMER	2964	20	57.3	50.00	gatgttgaatcctgggttg	
HTR6	NM_000871.1	LEFT PRIMER	1379	20	59.3	55.00	cctcacatggctgggttact	507
		RIGHT PRIMER	1885	20	59.3	55.00	ttgcagcctcctggcttag	
SERT	NM_001045.4	LEFT PRIMER	3446	20	57.3	50.00	actgtccaggtgctttgct	500
		RIGHT PRIMER	3945	20	61.4	60.00	cctctgctgtctggaccttc	
BDNF	NM_170735.5	LEFT PRIMER	3754	20	57.3	50.00	aagtcaagttgggagcctga	498
		RIGHT PRIMER	4251	20	57.3	50.00	ttaacagatctggcccttgc	
NTRK2	NM_006180.3	LEFT PRIMER	2187	20	59.3	55.00	atccctccacagacgtcac	494
		RIGHT PRIMER	2680	20	59.3	55.00	tcctgctcaggacagaggtt	
ACTB	NM_001101.3	LEFT PRIMER	747	20	59.3	55.00	ggacttcgagcaagagatgg	350
		RIGHT PRIMER	1096	20	59.3	55.00	agtacttgcgctcaggagga	
GAPDH	NM_002046.3	LEFT PRIMER	614	20	57.3	50.00	tggaaggactcatgaccaca	355
		RIGHT PRIMER	968	20	57.3	50.00	tcgctgttgaagtcagagga	
RN18S	M10098.1	LEFT PRIMER	1433	20	57.3	50.00	atggccgttcttagttggtg	353
		RIGHT PRIMER	1785	20	57.3	50.00	gggacttaatcaacgcaagc	

4) 타액 분석

(1) Total RNA 추출(isolation)

보관 중인 대상자의 타액에서 RNA를 추출하는 방법은 'Hot phenol method' (T. C. Verwoerd et. al., 1989)를 적용했고 본 실험의 목적에 맞게 시약의 양을 조절하였다. genomic DNA를 분해하기 위해 사용한 DNase는 TaKaRa사의 DNase I(Code 2215A)을 사용하였다.

<본 실험에서 Hot phenol method의 적용>

Extraction Buffer : 100mM LiCl, 100mM Tris-HCl(pH8.0),
10mM EDTA, 1% SDS

1. Nalgene Tube에 extraction buffer(5ml)와 phenol A(5ml)를 넣고 80℃에서 preheating(5분 이상) 시킨다.
2. -70℃에서 차갑게 만들어 놓은 막자사발 안에 액체질소를 넣고 타액 sample을 넣는다.
3. 녹거나 날아가지 않게 액체질소를 조금씩 넣어주며 곱게 갈아서 -70℃에서 잠시 보관한다.
4. Preheating된 buffer가 들어 있는 Nalgene Tube안에 시약스푼(액체질소로 차갑게 준비)으로 곱게 갈린 sample을 잘 긁어서 넣어준다 → 30초간 vortexing
5. Chloroform:Isoamyl Alcohol (24:1)용액을 5ml씩 넣음 → 30초간 vortexing
6. 11,000rpm, 4℃에서 30분 동안 원심분리 한다.
7. 상층액을 새로운 Nalgene tube에 옮겨 담고 4M LiCl을 상층액 부피의 1.1 volume 넣어준다 → 뚜껑에 닿지 않게 돌리면서 섞어준다.
8. -70℃에서 1시간 동안 보관한다.
9. 용액이 살짝 녹은 후 → 11,000rpm, 4℃에서 30분간 원심분리 한다.
10. 상층액을 조심스럽게 따라버리고 70% ethanol(-20℃에서 보관된) 3ml로 washing → 11,000rpm, 4℃에서 10분간 원심분리 → pipet으로 ethanol 제거 → 10분 동안 vacuum dry
11. DEPC-treated water 201.5 μ l에 7~8분간 충분히 pellet을 녹인다.
→ spin down → pipet으로 EP tube(eppendorf tube)에 모두 옮긴다.
(→ 전기영동을 위해 9 μ l를 다른 EP tube에 옮겨 놓는다 : RNA 확인)
12. DNase 처리 : 남아있는 192.5 μ l의 sample에 0.5 μ l의 RNase inhibitor (40unit/ μ l) + 22 μ l의 DNase I buffer(10x)+ 5 μ l의 DNase I(1unit/ μ l)을 넣어서 total volume 220 μ l를 맞추고 tapping으로 섞어준 후 spin down
→ 37℃에서 30분간 보관한다.(DNase I : TaKaRa Co.)
13. Phenol:Chloroform:Isoamyl Alcohol (25:24:1) 용액을 위의 용액과 동일 volume(220 μ l)넣고 vortexing → 11,000rpm, 4℃에서 20분간 원심분리.
14. 새로운 EP tube에 상층액을 옮겨 담고, 상층액 부피의 1/10volume의 3M Sodium Acetate (pH5.2) + 2.5 volume의 100% ethanol(-20℃에서 보관된)을 넣고 뚜껑에 닿지 않게 돌리면서 섞어준 후 -70℃에서 보관.

(2)cDNA 합성

타액에서 추출한 Total RNA는 AccuScript[®] High Fidelity Reverse Transcriptase (An Agilent Technologies Co.)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. cDNA 합성 방법은 AccuScript[®] High Fidelity Reverse Transcriptase(An Agilent Technologies Co.)의 protocol을 그대로 준수했으며, PCR의 효과를 높이기 위해 실험 전·중·후의 Total RNA의 양은 동일하게 맞추되 가능한 한 최대량으로 사용하였다. 합성한 cDNA는 -20°C에서 보관하여 사용하였다.

<cDNA 합성>

1. -70°C에서 ethanol down시켜 보관 중인 RNA sample을 13,000rpm, 4°C에서 30분간 원심분리 한다.
2. 상층액을 조심스럽게 따라버리고 70% ethanol(-20°C에서 보관된) 300 μ l로 washing → 13,000rpm, 4°C에서 10분간 원심분리 → pipet으로 ethanol을 제거.
3. 10분 동안 vacuum dry
4. DEPC-treated water 30 μ l에 7~8분간 충분히 pellet을 녹인다.
→ spin down (→ 정량을 위해 3 μ l를 다른 EP tube에 옮겨 놓는다.)
5. PCR[®] tube 2개에 순서에 맞게 동일량의 시약들과 Total RNA를 넣어준다.
 $x \mu$ l 의 DEPC-treated water for total volume of 17.0 μ l
0.5 μ l 의 40unit/ μ l RNase Block ribonuclease inhibitor
2 μ l 의 10x AccuScript RT buffer
1 μ l 의 500ng/ μ l oligo(dT)
0.8 μ l 의 100mM dNTP mix
 $x \mu$ l 의 RNA (0.01~5 μ g의 total RNA)
6. tapping이나 약한 vortexing으로 mix → spin down
7. PCR 기계(AUTHORIZED THERMAL CYCLER for PCR (TaKaRa Bio Inc.))에 넣어서 65°C 5분, 25°C(room temperature) 5분 정도 되었을 때 기계를 일시정지 시키고 tube를 꺼내어
2 μ l 의 100mM DTT
1 μ l 의 AccuScript high fidelity reverse transcriptase (역전사 효소)
를 넣고 tapping이나 약한 vortexing으로 mix → spin down
8. 다시 PCR 기계에 넣어서 42°C 60분, 70°C 15분, 4°C ∞에서 tube를 꺼냄
9. 2개의 PCR[®] tube에 들어있는 용액을 하나의 EP tube에 옮겨 담는다. (40 μ l)
10. -20°C에서 보관하며 PCR에 사용한다.

(3)RT-PCR(역전사-중합효소연쇄반응)

PCR에 사용한 PCR premix는 GeNet Bio. 사의 'SuPrimeScript RT Premix (2X)' (Cat. No. SR-5000)를 사용하였다. 목적 유전자의 시발체(primer)를 전방 프라이머 1 μ l, 후방 프라이머 1 μ l, 각 대상자의 타액 cDNA 1 μ l, Ultra Pure Water 7 μ l를 넣고 tapping으로 섞어준 후, spin down시켜 PCR 기계(AUTHORIZED THERMAL CYCLER for PCR (TaKaRa Bio Inc.))에 넣어 다음과 같이 가동시켰다.

1cycle	45cycle			1cycle	1cycle
95°C	95°C	62°C	72°C	72°C	4°C
1분	30초	30초	30초	5분	∞

증폭된 PCR 내용물들은 1% 아라로즈겔에 10 μ l로 전기영동(electrophoresis)해서 그 변화를 살펴보았다. control로 선정한 GAPDH와 RN18S는 5 μ l로 전기영동하여 비교하였다. 전기영동에 사용한 Marker는 BIONEER Co.의 '100bp Plus DNA Ladder'(Cat. No. D-1035)를 사용하였다.

5)혈액 분석

(1)Total RNA 추출(isolation)

-70°C에서 보관 중인 냉동 혈액 samples 5ml에서 RNA를 추출하는 방법은 ‘NucleoSpin[®] RNA Blood’(RNA from Blood) Kits을 사용하였으며, ‘NucleoSpin[®] RNA Blood’ Kits의 protocol을 그대로 준수하였다. 단지, Step 1.에서 collection tube(2ml, with lid) 안에 정확하게 400 μ l의 냉동 혈액 샘플을 담기가 어려워 액체질소로 얼려서 곱게 간 혈액 samples을 tube(2ml, with lid) 안에 적당히 담아 그 질량을 측정하여 그에 맞는 양의 시약들을 섞어 주었다. 그에 따라 Step 1.과 Step 2.에서 DL buffer와 proteinase K, 70% ethanol 등이 혈액의 양에 맞추어 protocol에서 지정한 양보다 조금씩 많이 들어갔고, 따라서 Step 3.에서 Nucleo Spin[®] RNA Blood Column으로 혈액과 시약이 섞인 용액(lysate)을 걸러내는데 2회가 아닌 3회를 실시하여야 했다. Step 5.에서 rDNase 처리 시간도 15분 보다 조금 더 늘려서 20~25분간 하였으며, 마지막 Step 7.에서 RNA를 녹여내는 과정에서도 RNase-free H₂O 60 μ l로 한번만 하지 않고 좀 더 농축된, 좀 더 많은 양의 RNA를 얻기 위해 40 μ l와 30 μ l로 2회에 걸쳐 녹여내었다.

<본 실험에서 NucleoSpin[®] RNA Blood Kits의 적용>

Step 1. Lyse blood

-70°C에서 차갑게 만들어 놓은 막자사발 안에 액체질소를 넣고, -70°C에서 보관 중 이던 전혈 5ml의 용기 가장자리를 살짝 녹여 막자사발 안에 모두 넣는다.

녹거나 날아가지 않게 액체질소를 조금씩 넣어주며 곱게 갈아서 뚜껑이 있는 collection tube(2ml) 안에 400 μ l 정도 넣는다.

collection tube의 질량을 측정하여 tube안에 담긴 전혈의 양과 동일한 양의 DL buffer를 넣고 혈액이 완전히 녹도록 빠르게 충분히 섞어준 후 spin down한다.

혈액 100 μ l당 2.5 μ l의 액체 proteinase K를 넣어주고 실온에서 3~15분간 강하게 섞어준 후 spin down한다.

Step 2. Adjust RNA binding conditions

70% ethanol을 DL buffer와 동일한 양만큼 더해주고 강하게 섞어준 후 spin down.

Step 3. Bind RNA

위의 과정을 통해 섞인 용액(lysate) 중 610 μ l(650 μ l를 넘지 않게 한다)를 NucleoSpin[®] RNA Blood Column 속으로 넣어주고 NucleoSpin[®] RNA Blood Column을 11,000xg로 30초간 원심분리 한다. Column을 통과한 용액(flow-through)과 collection tube를 버리고 Column을 새로운 collection tube 안에 둔다. lysate가 모두 Column을 통과하도록 위의 과정을 반복함.

Step 4. Desalt silica membrane

350 μ l의 MDB(Membrane Desalting Buffer)를 Column 속으로 넣어주고 Column을 11,000xg로 30초간 원심분리 한다.

Step 5. Digest DNA

95 μ l의 rDNase를 Column 속으로 넣어주고 실온에서 15분간 놓아둔다.

Step 6. Wash and dry silica membrane

첫 번째 세척 : 200 μ l의 Buffer RB2를 Column 속으로 넣어주고 Column을 11,000xg로 30초간 원심분리 한다. Column을 통과한 용액과 collection tube를 버리고 Column을 새로운 collection tube 안에 둔다.

두 번째 세척 : 600 μ l의 Buffer RB3를 Column 속으로 넣어주고 Column을 11,000xg로 30초간 원심분리 한다. Column을 통과한 용액(flow-through)만 버리고 collection tube는 다시 사용한다.

세 번째 세척 : 250 μ l의 Buffer RB3를 Column 속으로 넣어주고 Column을 11,000xg로 2분간 원심분리 한다. Column을 통과한 용액(flow-through)과 collection tube를 버리고 Column을 뚜껑이 있는 nuclease-free collection tube(1.5ml) 안에 둔다.

Step 7. Elute RNA

40 μ l의 RNase-free H₂O를 Column 속으로 넣어주고 Column을 11,000xg로 30초간 원심분리해서 collection tube(1.5ml) 안에 RNA를 모은다. 30 μ l의 RNase-free H₂O로 같은 과정을 한 번 더 수행해서 RNA를 더 모은다.

(2)cDNA 합성

혈액에서 추출한 Total RNA는 TOPscript™ Reverse Transcriptase (Enzymomics™ Co.)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. cDNA 합성 방법은 TOPscript™ Reverse Transcriptase (Enzymomics™ Co.)의 protocol을 그대로 준수했으며, PCR의 효과를 높이기 위해 실험 전·중·후의 Total RNA의 양은 동일하게 맞추어 가능한 한 최대량으로 사용하였다. 합성한 cDNA는 -20°C에서 보관하여 사용하였다.

<cDNA 합성>

1. -70°C에서 ethanol down시켜 보관 중인 RNA sample을 13,000rpm, 4°C에서 30분간 원심분리 한다.
2. 상층액을 조심스럽게 따라버리고 70% ethanol(-20°C에서 보관된) 300 μ l로 washing → 13,000rpm, 4°C에서 10분간 원심분리 → pipet으로 ethanol을 제거한다.
3. 10분 동안 vacuum dry
4. DEPC-treated water 30 μ l에 7~8분간 충분히 pellet을 녹인다.
→ spin down (→ 정량을 위해 3 μ l를 다른 EP tube에 옮겨 놓는다.)
5. PCR[®] tube 2개에 순서에 맞게 동일량의 시약들과 Total RNA를 넣어준다.
 - 2 μ l 의 10x AccuScript RT buffer
 - 1 μ l 의 TOPscript™ reverse transcriptase (200units/ μ l)
 - 2 μ l 의 dNTP mixture (2mM each)
 - x μ l 의 Total RNA (1ng~5 μ g)
 - 1 μ l 의 Oligo(dT)₁₈ (0.5 μ g)
 - 0.5 μ l 의 RNase inhibitor (40units/ μ l)
 - x μ l 의 Distilled water (up to 20 μ l)
6. tapping이나 약한 vortexing으로 mix → spin down
7. PCR 기계(AUTHORIZED THERMAL CYCLER for PCR (TaKaRa Bio Inc.))에 넣어서 50°C 60분, 95°C 5분, 4°C ∞에 맞추어 가동시킨다.
8. 2개의 PCR[®] tube에 들어있는 용액을 하나의 EP tube에 옮겨 담는다.(40 μ l)
9. -20°C에서 보관하며 PCR에 사용한다.

(3)RT-PCR(역전사-중합효소연쇄반응)

PCR에 사용한 PCR premix는 GeNet Bio. 사의 ‘SuPrimeScript RT-PCR Pre-mix (2X)’ (Cat. No. SR-8000)를 사용하였다. 목적 유전자의 시발체(primer)를 전방 프라이머 1 μ l, 후방 프라이머 1 μ l, 각 대상자의 혈액 cDNA 1 μ l, Ultra Pure Water 7 μ l를 넣고 tapping으로 섞어준 후, spin down시켜 PCR 기계(AUTHORIZED THERMAL CYCLER for PCR (TaKaRa Bio Inc.))에 넣어 다음과 같이 가동시켰다.

1cycle	40cycle			1cycle	1cycle
95°C	95°C	62°C	72°C	72°C	4°C
1분	30초	30초	30초	5분	∞

증폭된 PCR 내용물들은 1% 아라로즈겔에 5 μ l로 전기영동(electrophoresis)해서 그 변화를 살펴보았다. control로 선정한 GAPDH와 RN18S는 2 μ l로 전기영동하여 비교하였다.

타액 샘플에서 ‘Hot phenol method’를 이용해서 RNA를 추출했을 때보다 추출된 RNA의 양이 많아 보다 농축된 혈액 cDNA를 얻을 수 있었다. 따라서 PCR cycle수를 45에서 40으로 줄이고 전기영동 시의 loading 양도 타액 샘플에서보다 줄여서 확인했다. 전기영동에 사용한 Marker는 BIONEER Co.의 ‘100bp Plus DNA Ladder’(Cat. No. D-1035)를 사용하였다.

III. 연구 결과

1. 두 집단의 동질성 검정

선발된 대상자들에게 실험에 대한 설명과 함께 동의를 구하면서 조사했던 인구 통계학적 검사를 통해 두 집단의 동질성 검사를 실시하였다. 검사 도구는 SPSS 12.0 v.을 사용하였다(표 8.).

대상자의 성별분포는 실험군과 대조군 모두 남자 2명, 여자 6명으로 같았고, 연령 또한 실험군 평균 73.75세, 대조군 평균 73.25세로 거의 동일하였다. 그 외 결혼상태, 자녀수, 의료보험, 주거 등에서도 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나, 주상병, 종교, 학력에서 실험군과 대조군 사이의 차이가 나타났다. 그러나 개체수가 적어 통계학적으로 유의한 차이라고 보기 어려웠다.

표 8. 대상자의 일반적 특성 통계

특성	구분	실험군		대조군		χ^2	p
		n(8)	%	n(8)	%		
성	남자	2	25.0	2	25.0	0.000	1.000
	여자	6	75.0	6	75.0		
연령	55-64	1	12.5	1	12.5	3.943	0.268
	65-74	4	50.0	3	37.5		
	75-84	1	12.5	4	50.0		
	85 이상	2	25	0	0.0		
주상병	뇌질환	7	87.5	5	62.5	1.333	0.248
	기타	1	12.5	3	37.5		
종교	기독교	2	25.0	1	12.5	5.200	0.158
	천주교	2	25.0	0	0.0		
	불교	3	37.5	2	25.0		
	무	1	12.5	5	62.5		
학력	초졸 이상	6	75.0	4	50.0	1.067	0.302
	무학	2	25.0	4	50.0		
결혼상태	배우자있음	3	37.5	2	25.0	0.291	0.590
	사별	5	62.5	6	75.0		
자녀수	1-3	2	25.0	2	25.0	1.091	0.580
	4이상	5	62.5	6	75.0		
	무	1	12.5	0	0.0		
의료보험	직장조합	4	50.0	3	37.5	0.476	0.788
	국민공단	3	37.5	3	37.5		
	의료급여1종	1	12.5	2	25.0		
주거	자가	6	75.0	4	50.0	1.067	0.587
	월세	1	12.5	2	25.0		
	무상	1	12.5	2	25.0		

2. 노인 우울척도(GDS-K)와 간이 인지검사(MMSE-K)

1) 한국판 노인 우울 척도(Geriatric Depression Scale-K, GDS-K)

노인 우울 척도 검사 결과 실험군과 대조군 모두 우울도가 낮아지는 것을 볼 수 있었다. 실험군의 경우 평균 우울 점수가 실험 전 23.5점에서 실험 후 17.9점으로 5.6점 낮아진데 비해 대조군의 경우는 평균 우울 점수가 실험 전 20.3점에서 실험 후 14.3점으로 6점 낮아져서 통계적으로 유의한 차이는 볼 수 없었다. 단, 우울점수만으로 보았을 경우 실험군은 22점 이상의 심한 우울에서 18점 이하의 경도 우울로 변화한 반면 대조군은 21점 이하의 중도 우울에서 18점 이하 14점 이상의 경도 우울로 변화했다고 볼 수 있다.

또한 그래프 상으로 보았을 경우 실험군은 실험 전과 실험 3주 후, 실험 후의 변화가 지속적으로 비슷한 비율로 감소하는 반면 대조군의 경우는 실험 초기에는 우울도가 급속히 감소했다가 3주후부터 실험 6주후까지는 감소폭이 거의 없는 것을 볼 수 있다. 이는 실험군의 경우에는 아로마 에센셜 오일에 의한 효과가 지속적으로 나타나는데 반해 대조군의 경우는 실험 초기에는 마사지의 효과로 우울도가 감소했다가 3주 후부터 실험 종료 시까지는 단순 마사지의 효과가 우울도에 크게 영향을 미치지 않은 것으로 보여진다.

표 9. 노인우울 척도 검사(GDS-K) 결과

		4월	5월	6월
실험군	N재활			
	장○○	20	19	17
	고○○	23	22	22
	신○○	24	25	22
	○○녀	27	24	22
	○평○	26	19	19
	J요양			
	라○○	16	17	17
	양○○	28	21	20
	한○○	18	9	2
대조군	N재활			
	○○흥	26	24	11
	○복○	18	24	27
	안○○	17	17	18
	김○○	14	12	14
	J요양			
	○○남	16	2	5
	송○○	18	13	22
	○○화	20	8	11
	○○옥	14	12	3

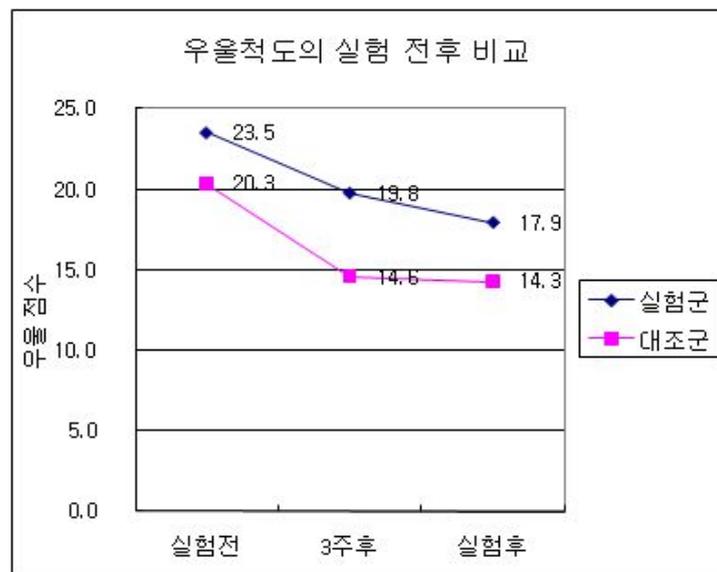


그림 6. 노인 우울척도(GDS-K)의 실험 전·중·후 비교 그래프

2) 한국판 간이 인지검사(Mini-Mental State Examination-K, MMSE-K)

한국판 간이 인지검사는 보통 임상에서 2개월에 한 번 정도 검사하여 그 결과를 비교하는 것을 감안해 볼 때 실험 과정 중간인 실험 3주 후에 실시했던 검사의 점수가 인지 검사의 특성상 큰 의미가 없다고 판단되어 실험 전의 점수와 실험 6주 후의 점수만을 비교 분석하였다. 그 결과 실험군과 대조군 모두 인지 점수의 향상을 보였으나, 실험군의 경우 인지점수의 총합의 평균이 20.6점에서 22.6점으로 평균 2점 상승한데 반해 대조군의 경우는 인지점수의 총합의 평균이 20.5점에서 21점으로 0.5점 상승하는데 그쳤다. 이는 그래프 상에서 쉽게 비교되어지고 있다. 인지 검사의 각 항목별로 점수의 평균을 그래프로 나타내 보면 특히 ‘지남력(orientation)’부분에서 실험군과 대조군의 차이를 볼 수 있는데, 실험군은 평균 0.5점 상승한 반면 대조군은 평균 0.6점 하강했다.

표 10. 한국판 간이 인지검사(MMSE-K) 결과

	지남력		기억력		주의집중 /계산		언어		이해/판단		합	
	4월	6월	4월	6월	4월	6월	4월	6월	4월	6월	4월	6월
실험군	N재활											
장○○	8	9	6	5	0	1	7	6	2	2	23	23
고○○	8	7	6	5	3	3	5	5	2	2	24	22
신○○	10	10	4	4	2	1	5	5	2	2	23	22
○○녀	8	8	3	4	2	2	6	7	2	2	21	23
○평○	8	8	5	5	1	0	6	7	2	2	22	23
J요양												
라○○	7	4	3	6	1	3	6	6	2	2	19	21
양○○	4	7	5	4	3	3	6	7	2	2	20	23
한○○	5	9	3	4	0	2	7	7	2	2	17	24
대조군	N재활											
○○홍	6	7	4	3	2	2	7	6	1	2	20	20
○복○	9	10	5	5	4	2	6	6	2	2	26	25
안○○	10	8	5	6	2	2	6	7	2	2	25	25
김○○	9	7	5	5	3	5	6	6	2	2	25	25
J요양												
○○남	4	3	2	3	0	0	6	5	1	1	13	12
송○○	5	5	3	6	2	2	6	6	1	1	17	20
○○화	3	3	3	3	2	3	4	7	2	2	14	18
○○옥	10	7	5	6	1	2	6	6	2	2	24	23

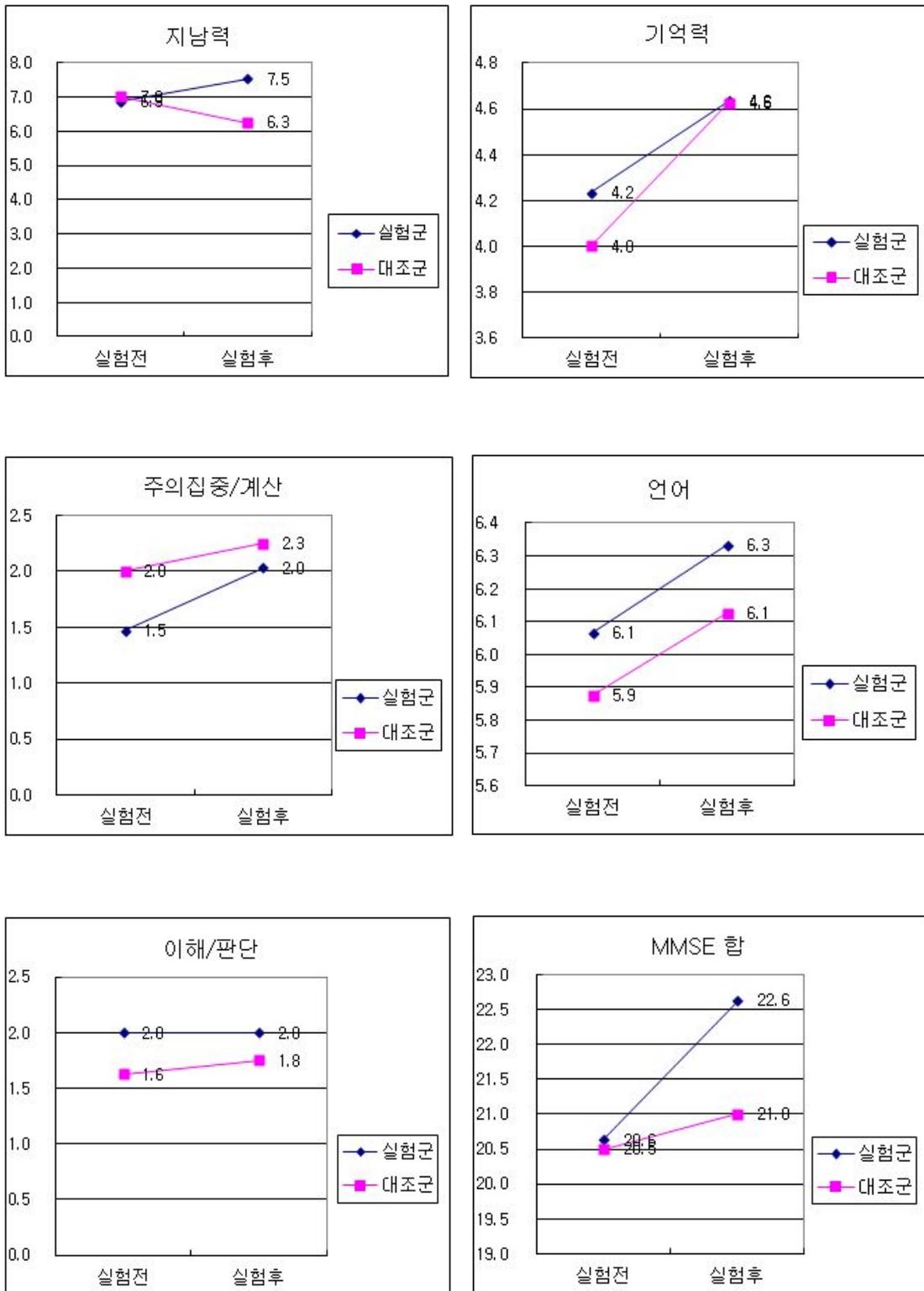


그림 7. 간이 인지검사(MMSE-K)의 각 영역별 실험 전·후 비교 그래프

3) 노인 우울척도와 간이 인지검사 사이의 상관관계 분석

실험에 참여한 대상자들의 우울척도와 인지검사 사이의 상관관계를 실험군과 대조군으로 나누어 개인별로 비교해 그래프로 나타내 보았다.

실험군의 경우 실험 전후 비교 시 우울척도가 3점 이상 향상을 보인 사람이 5명, 1~2점의 미미한 향상을 보인 사람이 2명, 우울 점수가 1점 높아진 사람이 1명이었으며, 인지도가 3점 이상 향상을 보인 사람이 2명, 1~2점의 미미한 향상을 보인 사람이 3명, 향상이 없거나 오히려 인지 점수가 1점 낮아진 사람이 3명이었다.

대조군의 경우에는 우울척도가 3점 이상 향상을 보인 사람이 4명, 향상이 없거나 오히려 우울 점수가 높아진 사람이 4명이었으며, 인지도가 3점 이상 향상을 보인 사람이 1명, 1~2점의 미미한 향상을 보인 사람이 1명, 향상이 없거나 오히려 인지 점수가 낮아진 사람이 6명이었다. 이러한 결과로 볼 때 실험군이 대조군에 비해 우울도의 향상(우울 점수가 낮아짐)을 보인 사람이 많았으며, 인지 점수의 향상을 보인 사람도 대조군보다 많았다.

그래프로 비교해 볼 때 우울도의 향상과 인지도의 향상 간의 연관성을 찾기는 힘들었으나, 각 개인별로 우울도의 향상군과 비향상군을 나누어 비교해 보면 우울척도가 3점 이상 향상을 보인 사람 9명 중 인지 점수의 향상을 보인 사람이 5명이었으며, 1~2점의 미미한 향상을 보인 사람 2명 중 인지 점수의 향상을 보인 사람이 1명이었고, 우울점수의 향상이 없는 비향상군 5명 중 인지 점수의 향상을 보인 사람은 1명이었다. 즉, 우울척도 점수상으로 향상군은 11명 중 6명(55%)이 인지의 향상을 보였고 비향상군은 5명 중 1명(20%)만 인지 향상을 보이고 있다. 대상자의 수가 적어 통계적으로 일반화시키기에 어려움이 있으나 우울증이 향상되면서 인지 능력도 함께 향상되는 비율이 더 많았음을 알 수 있다.

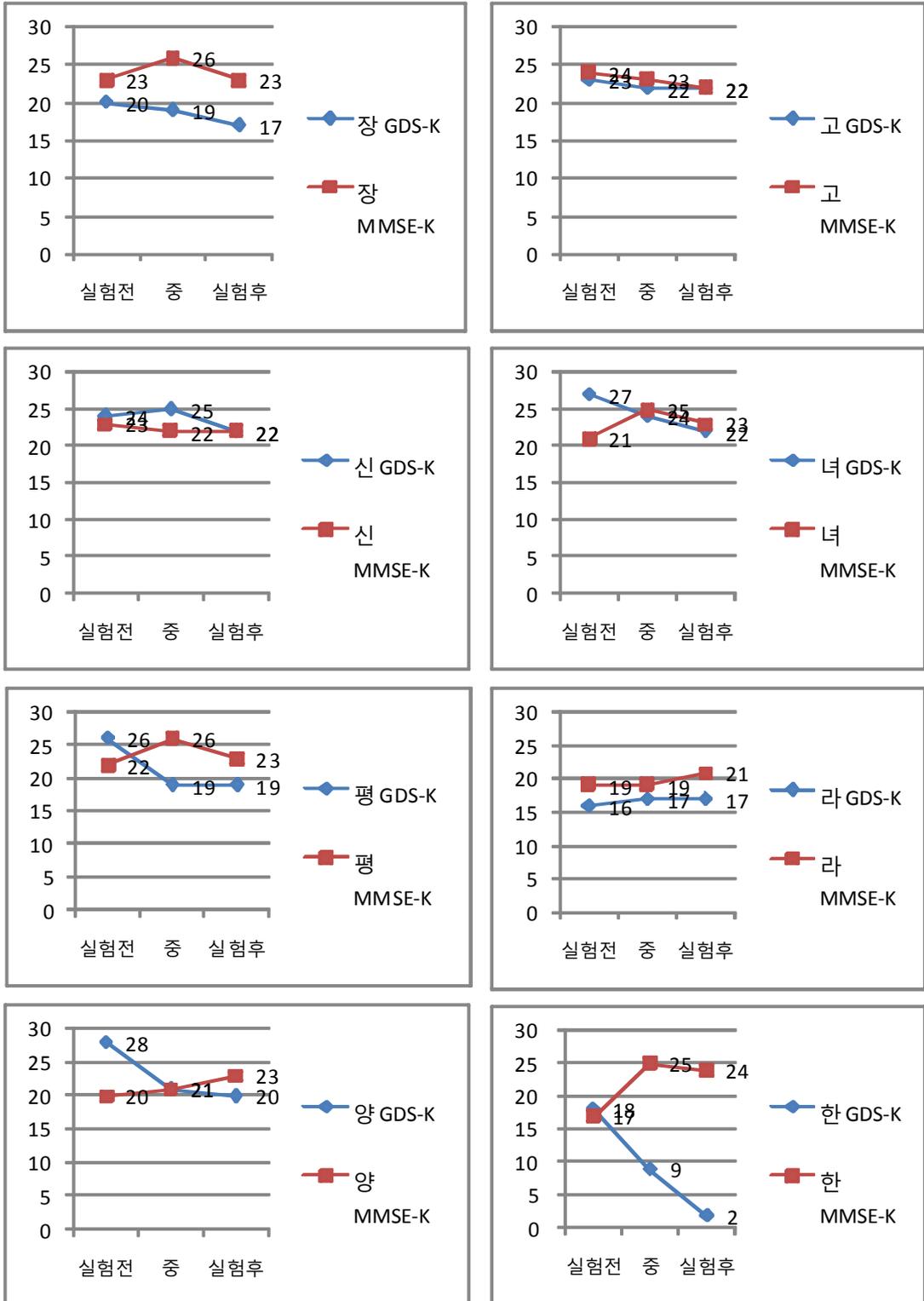


그림 8. 실험군 개인별 노인 우울척도와 간이 인지검사 그래프

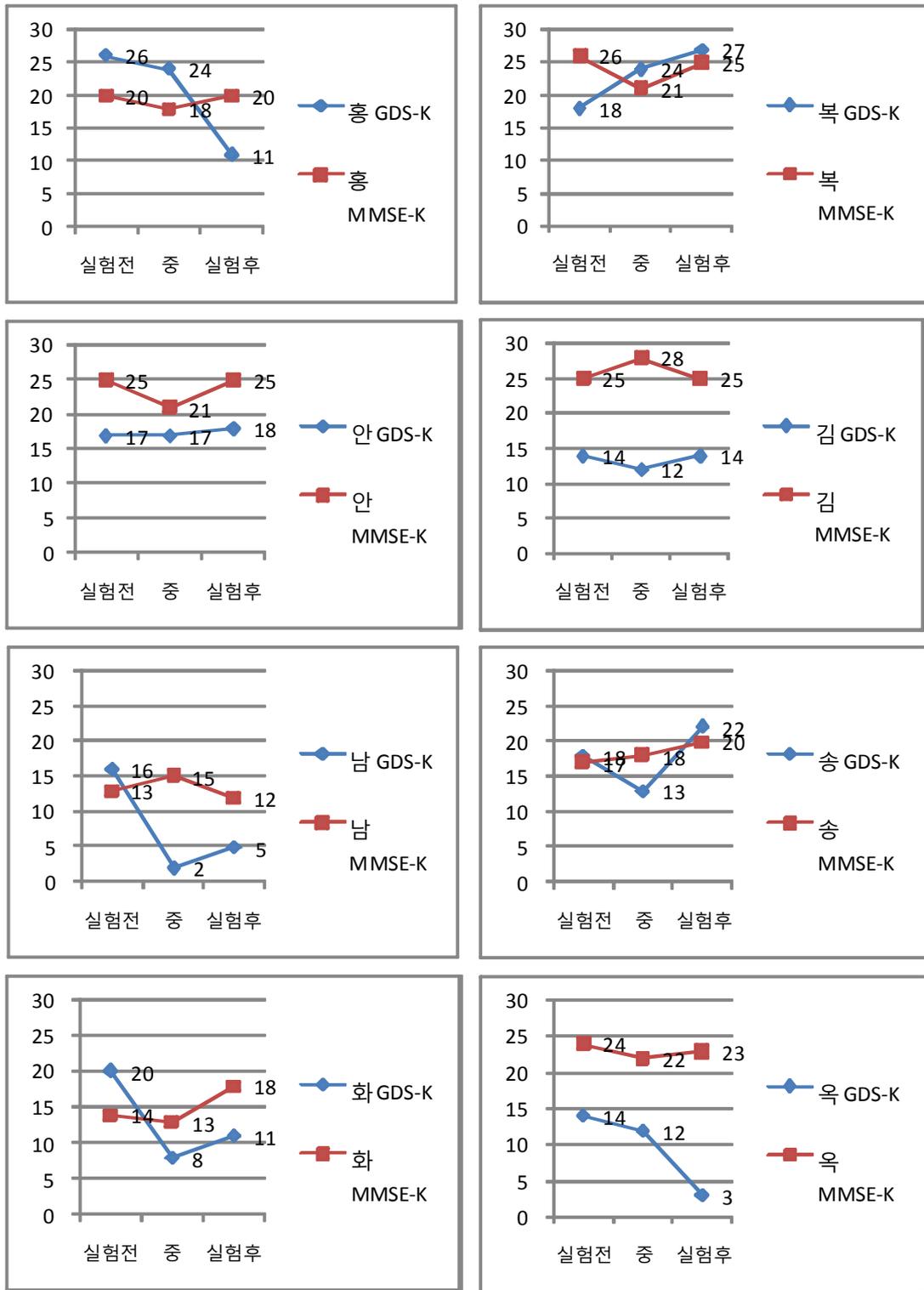


그림 9. 대조군 개인별 노인 우울척도와 간이 인지검사 그래프

3. 타액 분석

1) 적합한 실험 조건 찾기

먼저 중합효소 연쇄반응(PCR)에 적합한 T_M 값을 찾기 위해 인간의 gDNA를 control로 해서 T_M 값을 60°C 부터 2°C 씩 온도를 올리면서 중합효소 연쇄반응(PCR)을 실시하였다. 증폭결과를 알아보기 위해 1% Agarose gel에 $1\mu\text{l}$ 로 전기영동하여 처음 디자인한 특정 유전자의 프라이머에 적합한 크기(대략 500bp) 부위에 적합한 밴드가 나타나는지 비교하였다. 전기영동에 사용한 Marker는 BIO-NEER Co.의 '100bp Plus DNA Ladder'(Cat. No. D-1035)를 사용하였다.

그 결과 BDNF와 NTRK2를 제외한 대부분의 대상 유전자에서 64°C 가 적합한 T_M 값으로 나타났고, BDNF와 NTRK2는 60°C 가 적합한 T_M 값으로 보여졌다. 그러나 인간의 타액에서 추출한 RNA로 cDNA를 합성해서 중합효소 연쇄반응(PCR)을 실시했을 때에는 T_M 값을 58°C , 60°C , 62°C 로 조정해서 각각 PCR을 해봐도 전기영동상 적합한 밴드가 나오지 않아 BDNF와 NTRK2는 대상 물질에서 제외시켰다. 또한 다른 대상 유전자들도 인간의 타액에서는 T_M 값 62°C 에서 가장 적합한 밴드가 나타나서 실험에는 T_M 값을 62°C 로 PCR을 실시했다.

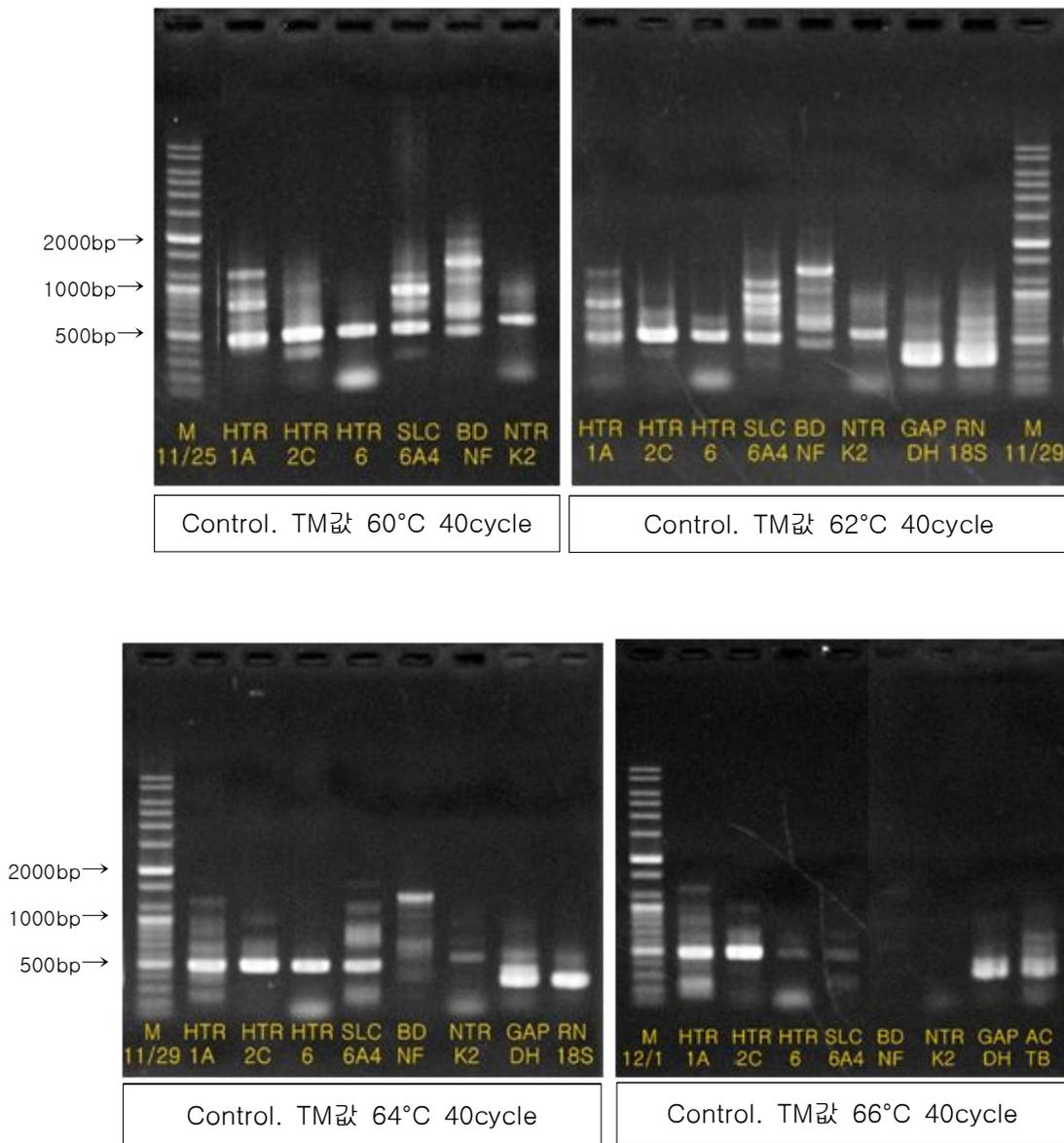


그림 10. Human Genomic DNA의 PCR 결과

2) 실험 대상자의 타액 샘플 PCR 결과

모두 16명의 실험 대상자의 타액 중 실험 전·중·후의 타액 모두에서 정상적으로 RNA가 추출된 경우가 많지 않았다.

타액은 혈액보다 시료를 채취하기가 간편하다는 이점이 있었으나, 노인분들이 대부분 입이 말라 타액을 많이 얻기가 어려웠으며(적은 경우 0.5ml 정도 밖에 되지 않았음), 타액의 특성상 RNA를 분해하는 RNase를 함께 가지고 있어 운반, 보관, 또는 실험 중에도 RNA가 상당수 분해되었던 것으로 보여져 cDNA를 합성하기에 충분한 양의 RNA가 추출되지 못했다.

따라서 본 실험에서는 cDNA가 적절하게 합성되어 PCR결과가 비교적 관찰 가능하게 나온 샘플들만 모아서 비교해 보았다.

표 11. 타액에서 추출한 RNA 샘플 현황

		4월(실험전)	5월(실험중)	6월(실험후)
실험군	장○○	○	△	○
	고○○	X	X	△
	신○○	?	○	△
	○○녀	X	X	○
	○평○	X	X	○
	라○○	X	○	△
	양○○	X	○	△
	한○○	X	○	○
대조군	○○홍	?	○	○
	○복○	X	X	△
	안○○	○	△	△
	김○○	△	X	?
	○○남	X	○	○
	송○○	X	?	○
	○○화	?	?	○
	○○옥	△	○	○

(○: 있음, △: 약간 있음, X: 없음, ?: 불확실)

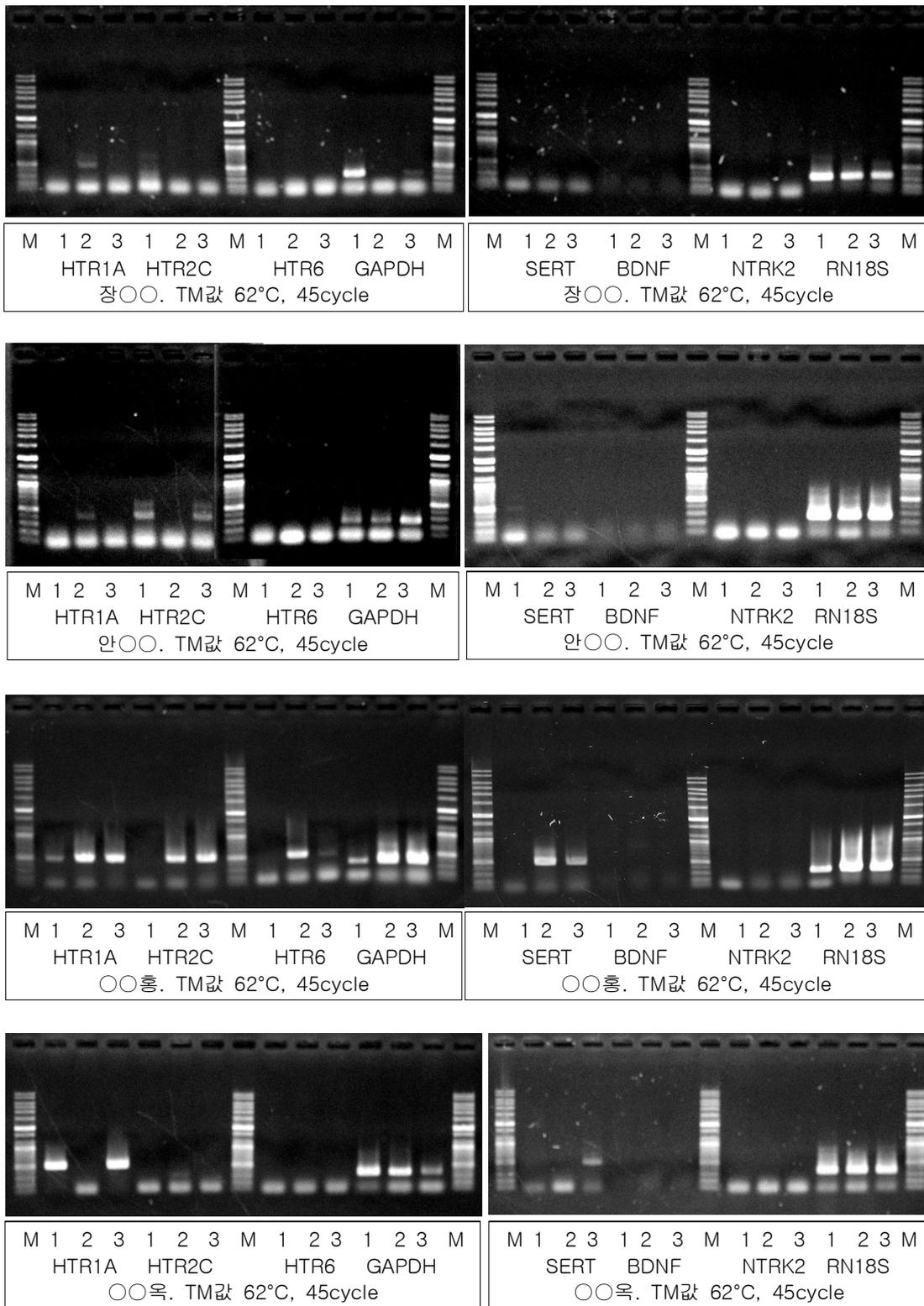


그림 11. 타액 샘플 RT-PCR 결과 (M:Marker, 1:실험전, 2:실험중, 3:실험후)

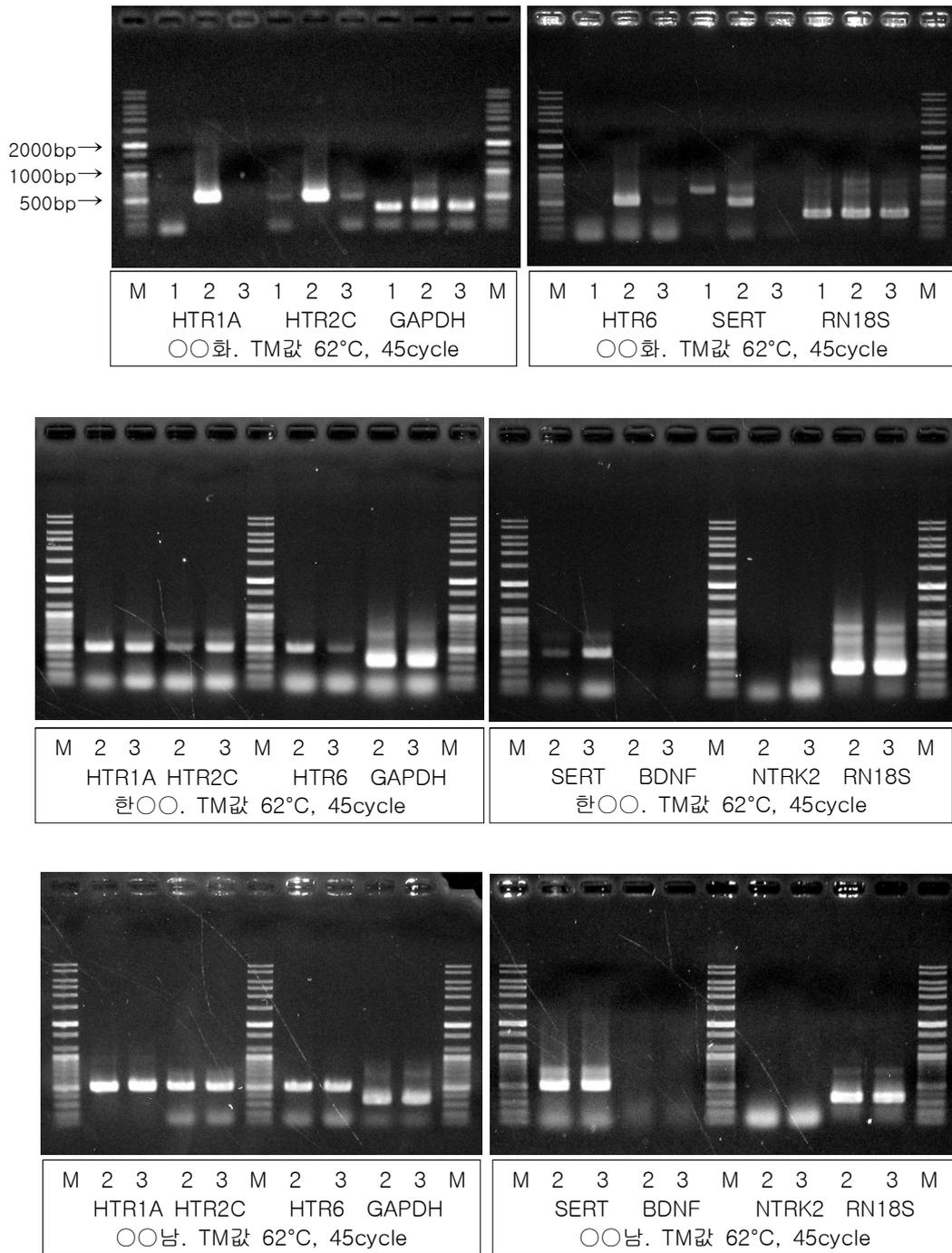


그림 12. 타액 샘플 RT-PCR 결과 (계속, M:Marker, 1:실험전, 2:실험중, 3:실험후)

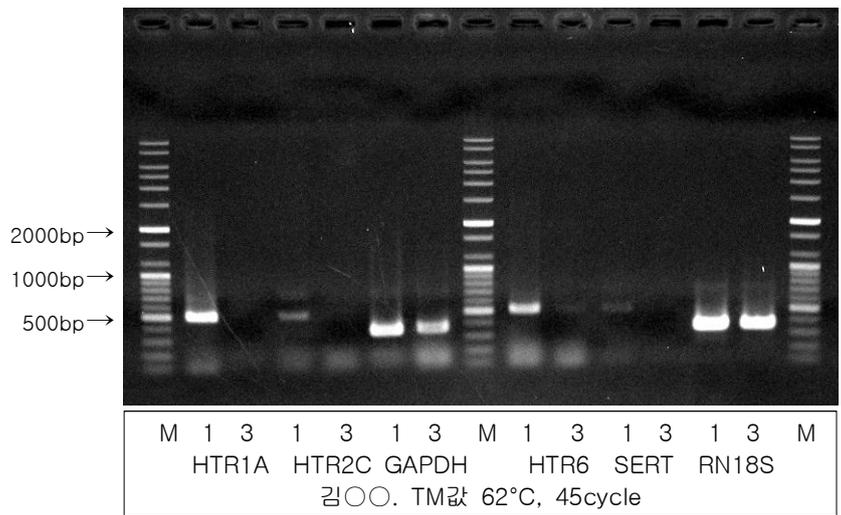
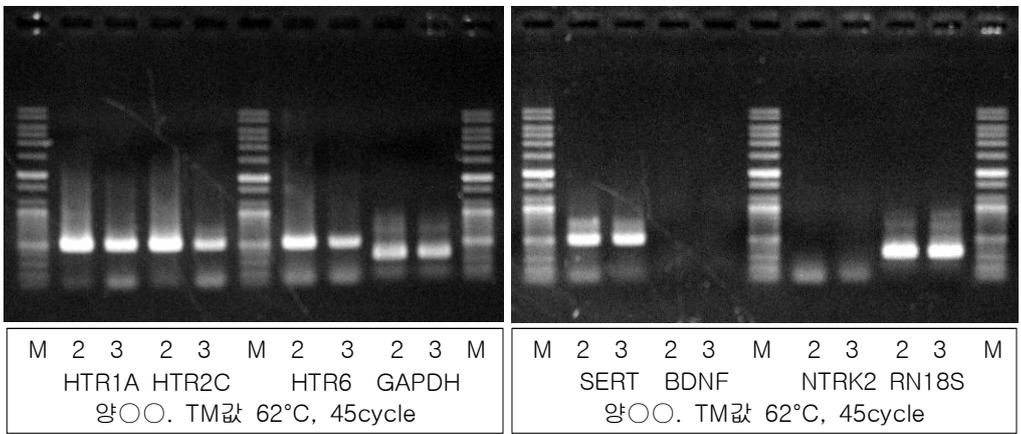
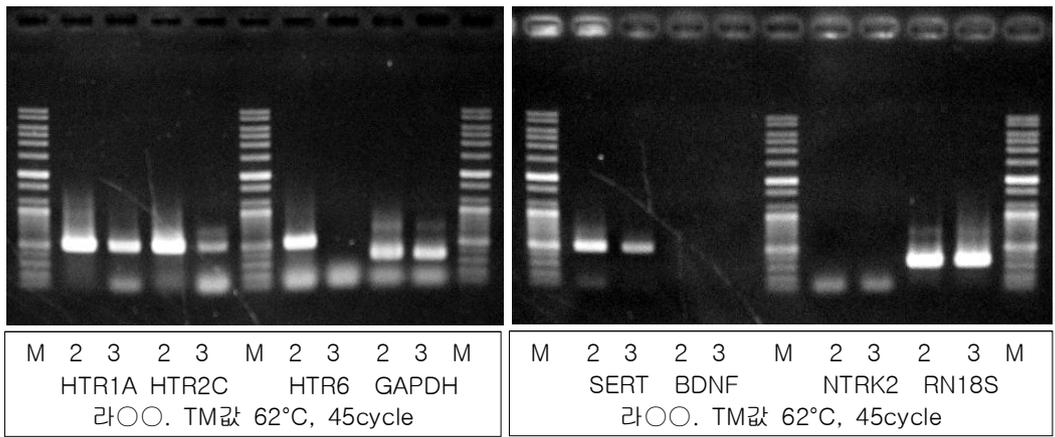


그림 12. 타액 샘플 RT-PCR 결과 (계속, M:Marker, 1:실험전, 2:실험중, 3:실험후)

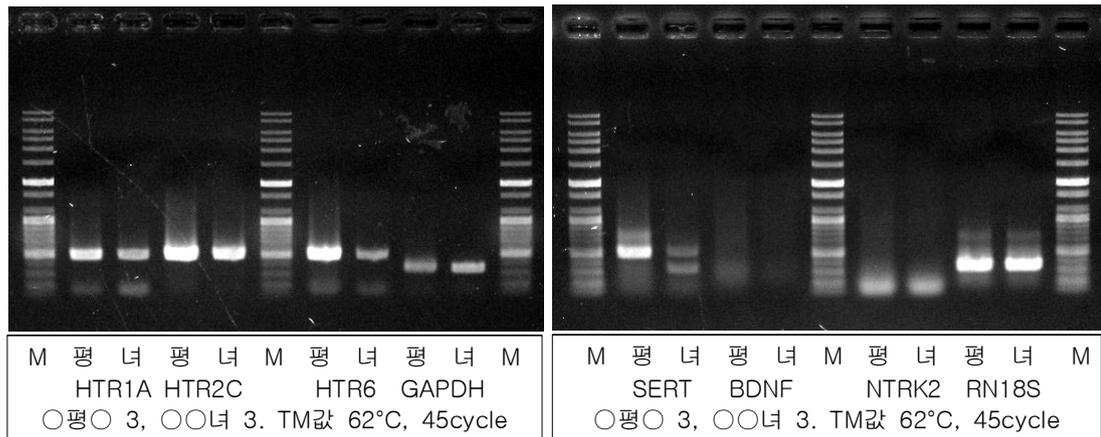
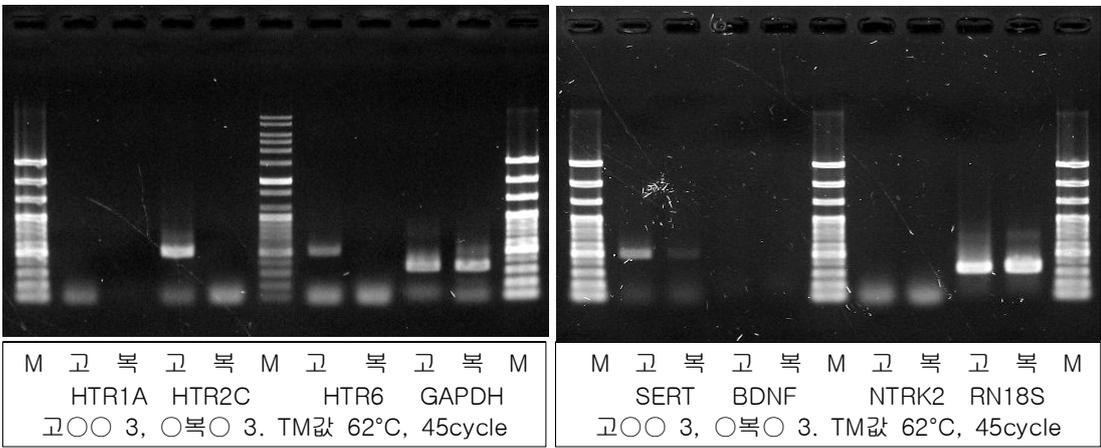
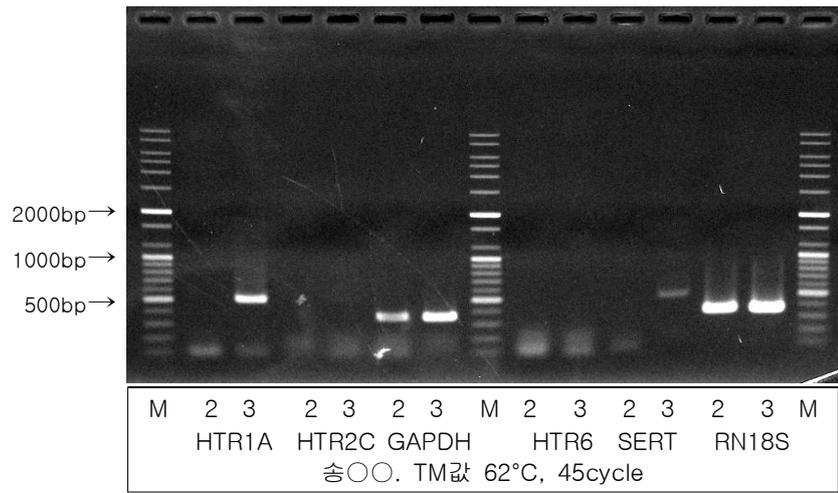


그림 12. 타액 샘플 RT-PCR 결과 (계속, M:Marker, 1:실험전, 2:실험중, 3:실험후)

3) RT-PCR 결과 분석

실험군인 ‘장’의 경우 실험 전·중·후의 RNA가 비교적 많이 추출된 편이었으나 정량을 하고 cDNA를 합성하는 과정에서 RNA를 효과적으로 활용하지 못하여 RT-PCR 결과 만족할만한 결과를 얻지 못했다. 대조군인 ‘안’의 경우에도 실험 대상 물질의 결과와 control의 발현정도를 비교해서 결과를 내기가 어려웠다. 대조군 ‘홍’의 경우는 1(실험전)의 경우만 RNA의 양이 적어 발현량이 적었고 다른 2(실험중), 3(실험후)의 경우는 발현량이 비교 가능한 결과를 얻었다. HTR2C는 2(실험중)보다 3(실험후)의 발현량이 약간 많아 보이나 HTR1A, HTR6, SERT는 3(실험후)보다 2(실험중)의 발현량이 많은 것을 볼 수 있다. 대조군 ‘옥’은 control의 발현량과 ‘HTR1A’, ‘SERT’의 비교가 어려웠다. 대조군 ‘화’는 control의 발현량을 비교해 볼 때 2(실험중)의 RNA 양이 많음을 알 수 있다. 대상 물질들의 발현도 2(실험중)의 경우만 발현량이 많아 1이나 3과의 비교가 어려웠다.

실험군 ‘한’과 대조군 ‘남’은 control의 발현량이 일정해서 대상물질의 발현 정도가 비교 가능했다. ‘한’의 경우 HTR2C와 SERT는 3(실험후)의 발현량이 많았고, HTR1A와 HTR6는 2(실험중)의 발현량이 많았다. ‘남’의 경우에는 2(실험중)와 3(실험후)의 발현량에 차이가 없었다.

실험군 ‘라’와 실험군 ‘양’은 control의 발현량을 비교해 볼 때 2(실험중)의 발현량이 약간 많아서 전기영동상 밴드가 고르게 나왔음에도 대상물질의 발현량이 2(실험중)의 경우가 많다고 단정지어 말하기가 어려웠다. 대조군 ‘김’과 대조군 ‘송’의 경우에도 control의 발현량이 각각 2(실험중)와 3(실험후)이 더 많아서 대상물질의 발현량이 각각 2(실험중) 또는 3(실험후)의 경우가 많다고 단정지어 말하기가 어려웠다

3(실험후)의 RNA만 남아 있다고 생각되어지는 ‘고’, ‘복’, ‘평’, ‘녀’ sample은 RNA를 최대한 사용하여 RT-PCR을 했을 때, ‘고’의 경우는 HTR2C>SERT>HTR6>HTR1A의 순으로 발현량이 많았고, ‘평’의 경우는 HTR2C>HTR6>SERT>HTR1A의 순으로 발현량이 많았으며, ‘녀’의 경우는 HTR2C>HTR1A>HTR6>SERT의 순으로 발현량이 많았다. ‘복’은 RNA의 양이 적어서인지 RT-PCR 결과 SERT만 약하게 발현되었다. 이러한 결과들을 표 12.에 정리해 보았다

표 12. 타액 샘플의 RT-PCR 결과 발현량 비교 (증폭양 많음>적음)

		1(실험전)	2(실험중)	3(실험후)
실험군	장	HTR2C만	HTR1A만	X
	고	X	X	HTR2C>SERT>HTR6 >HTR1A
	신	HTR2C만	X	X
	녀	X	X	HTR2C>HTR1A>HTR6 >SERT
	평	X	X	HTR2C>HTR6>SERT >HTR1A
	라	X	HTR1A>HTR2C>HTR6 >SERT	HTR1A>SERT>HTR2C >HTR6
	양	X	HTR1A>HTR2C>HTR6 >SERT	HTR1A>SERT>HTR2C >HTR6
한	X	HTR1A>HTR6>HTR2C >SERT	SERT>HTR1A>HTR2C >HTR6	
대조군	홍	HTR1A만	HTR1A>SERT>HTR6 >HTR2C	HTR2C>HTR1A>SERT >HTR6
	복	X	X	SERT만
	안	HTR2C>SERT	HTR1A만	HTR2C만
	김	HTR1A>HTR6>HTR2C >SERT	X	HTR6만
	남	X	SERT>HTR1A>HTR2C >HTR6	SERT>HTR1A>HTR6 >HTR2C
	송	X	X	HTR1A>SERT
	화	HTR2C>SERT	HTR2C>HTR1A>HTR6 >SERT	HTR2C>HTR6
옥	HTR1A만	HTR2C만	HTR1A>SERT	

위 표를 살펴보면 실험군, 대조군 모두 세로토닌 관련 대상물질 중 HTR1A와 HTR2C의 발현량이 HTR6나 SERT의 발현량보다 많음을 알 수 있다.

4. 혈액 분석

1) RNA추출

‘NucleoSpin[®] RNA Blood’(RNA from Blood) Kits을 사용해 추출한 RNA 70 μ l 중 9 μ l로 10x dye를 사용해 전기영동을 실시하였다. DEPC로 처리한 1x TAE buffer로 만든 1% 아가로즈 겔을 사용했다. Kits을 사용한 RNA추출은 타액에서 ‘Hot phenol method’를 사용했을 때보다 다량의 농축된 RNA를 비교적 균일하게 얻을 수 있었으며, DNase 처리 과정 등을 따로 거치지 않아도 되어서 비교적 간단하게 RNA를 얻을 수 있었다. 이번 실험과 같이 추출해야 하는 RNA 샘플이 다량인 경우 용이하게 사용이 가능했다.

실험 결과 분석 등의 문제로 대상자 16명의 혈액 샘플을 모두 검사하지는 않았고, GDS-K와 MMSE-K 결과상 MMSE-K점수가 20점 이상인 대상자 중에서 GDS-K점수가 3점 이상 향상된 6명과 향상이 없었던 1명, 더 나빠진 1명, 총 8명을 선정하여 실험 전·중·후에 채혈한 혈액샘플에서 RNA를 추출하여 RT-PCR을 실시하였다. 실험군 중 N재활병원에서 2명, J요양병원에서 2명을 선정했으며, 대조군 중에서도 N재활병원에서 2명, J요양병원에서 2명을 선정했다. 이 중 ‘김’은 향상 없는 샘플이고, ‘송’은 더 나빠진 샘플에 속한다.

표 13. 혈액 샘플로 RT-PCR을 실시한 대상자

	실험군	대조군
N재활병원	장○○, ○○녀	○○홍, 김○○
J요양병원	양○○, 한○○	송○○, ○○옥

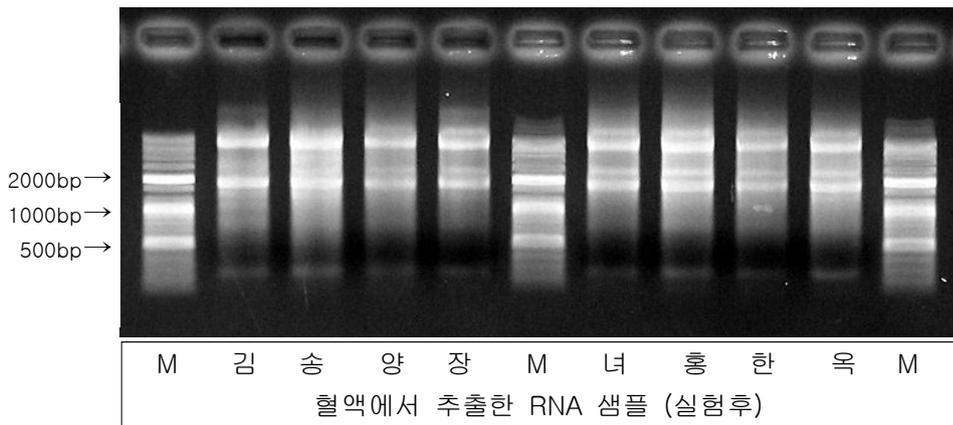
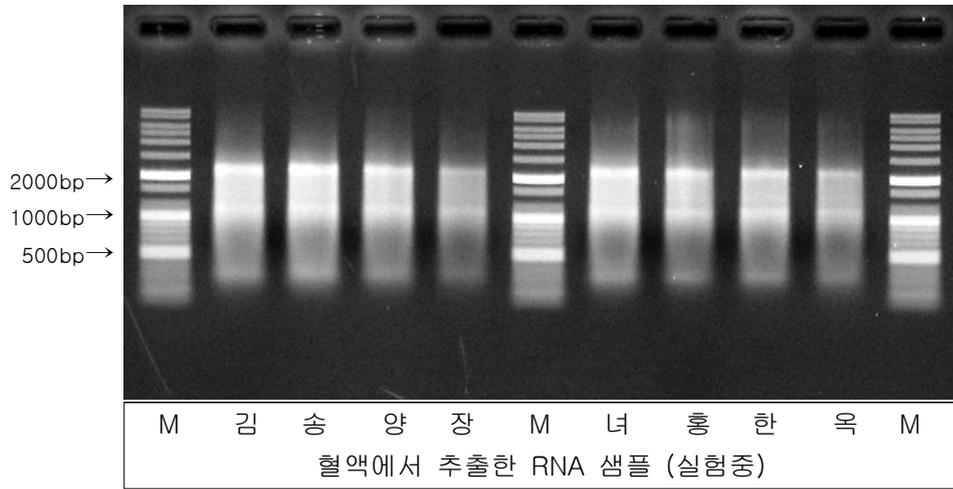
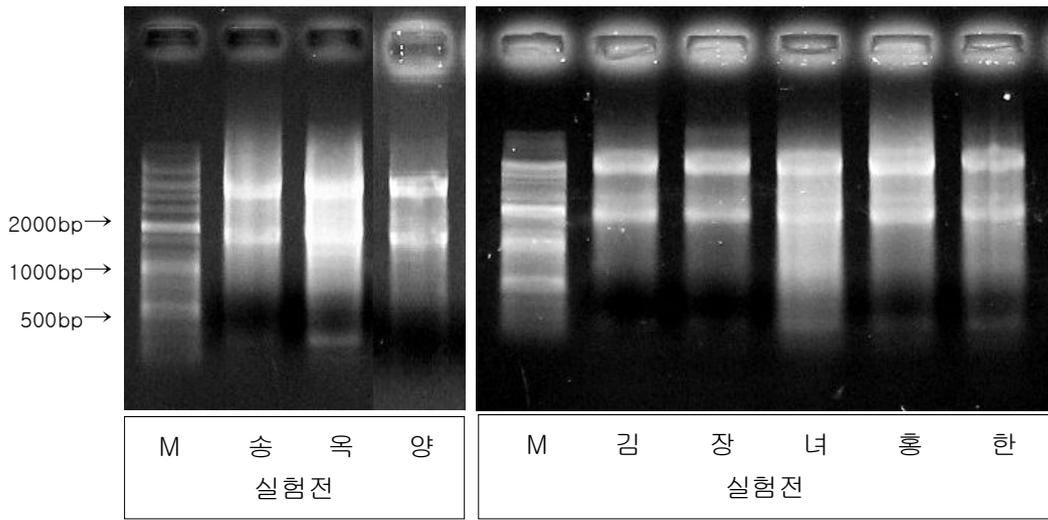


그림 12. 혈액에서 추출한 RNA 샘플 (M:Marker)

2) 실험 대상자의 혈액 샘플 PCR 결과

추출한 RNA로 RT-PCR을 하는 과정과 조건은 타액 샘플과 동일하게 실시하려 하였으나, 타액에서 추출한 RNA보다 많은 양의 RNA가 추출되어 최다량을 사용하여 cDNA를 합성하고 PCR을 하자 증폭량이 너무 많아서 실험 전·중·후의 대상 유전자 증감 여부를 파악하기가 어려웠다. 이런 문제로 PCR은 40cycle만 돌렸으며 전기영동도 대상 유전자 물질은 5 μ l로, control인 house keeping 유전자는 2 μ l로 전기영동하여 결과를 확인하였다.

HTR2C의 경우 프라이머의 문제로 보이는 듯 증폭이 잘 되지 않아 별도로 PCR을 실시하여 재확인하였지만 타액의 경우에서처럼 만족할만한 결과를 보이지 않았다. 타액 샘플에서는 HTR1A와 HTR2C의 발현량이 HTR6나 SERT의 발현량보다 많았지만 혈액 샘플의 경우에는 유난히 HTR2C만이 발현량이 적어 타액과 혈액의 차이인지 타액 샘플보다 나중에 혈액 샘플에 사용한 HTR2C 프라이머에 문제가 생긴 것인지는 좀 더 연구가 필요할 것으로 보인다.

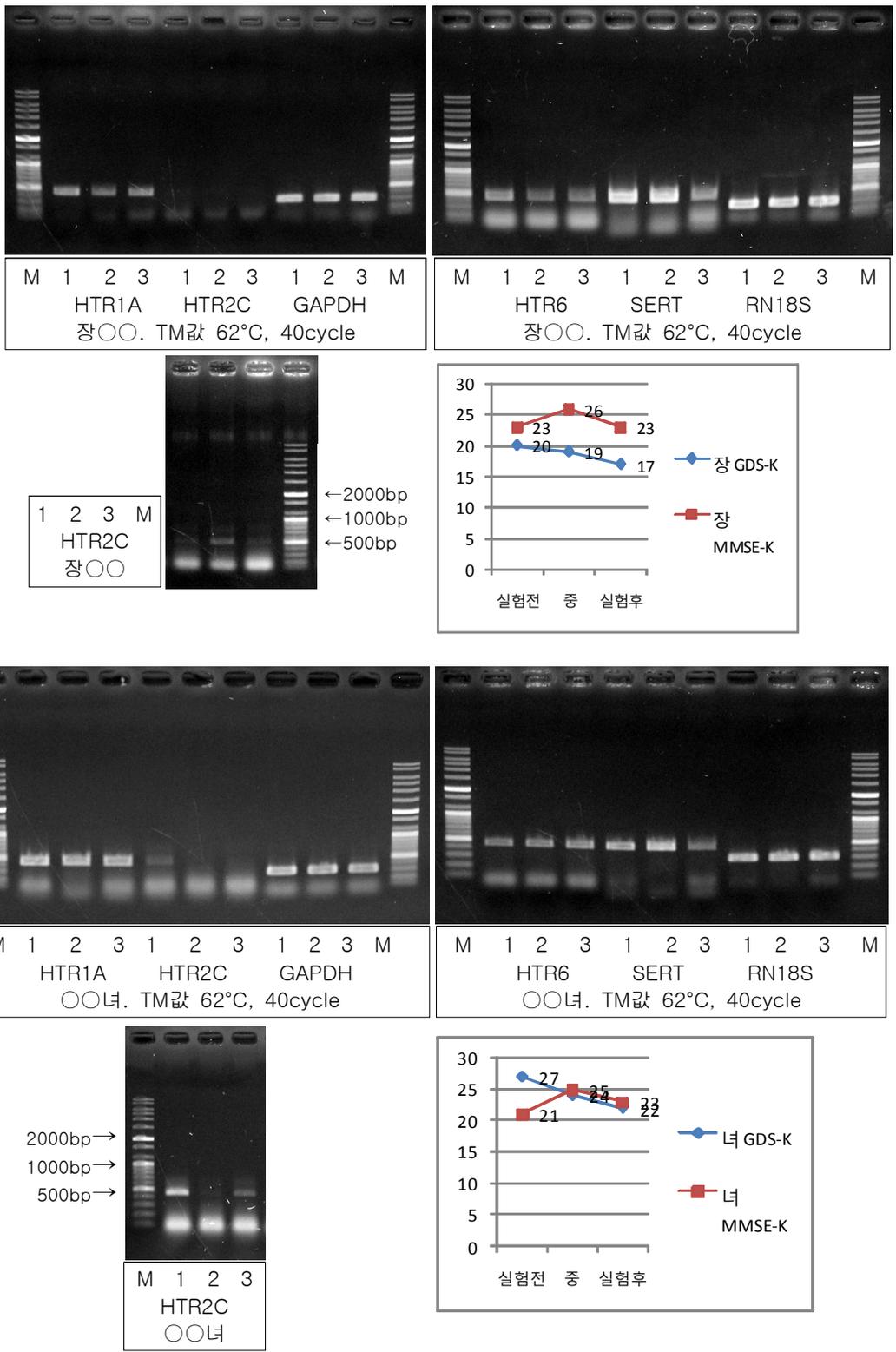


그림 13. 실험군 혈액 샘플 RT-PCR 결과 (M:Marker, 1:실험전, 2:실험중, 3:실험후)

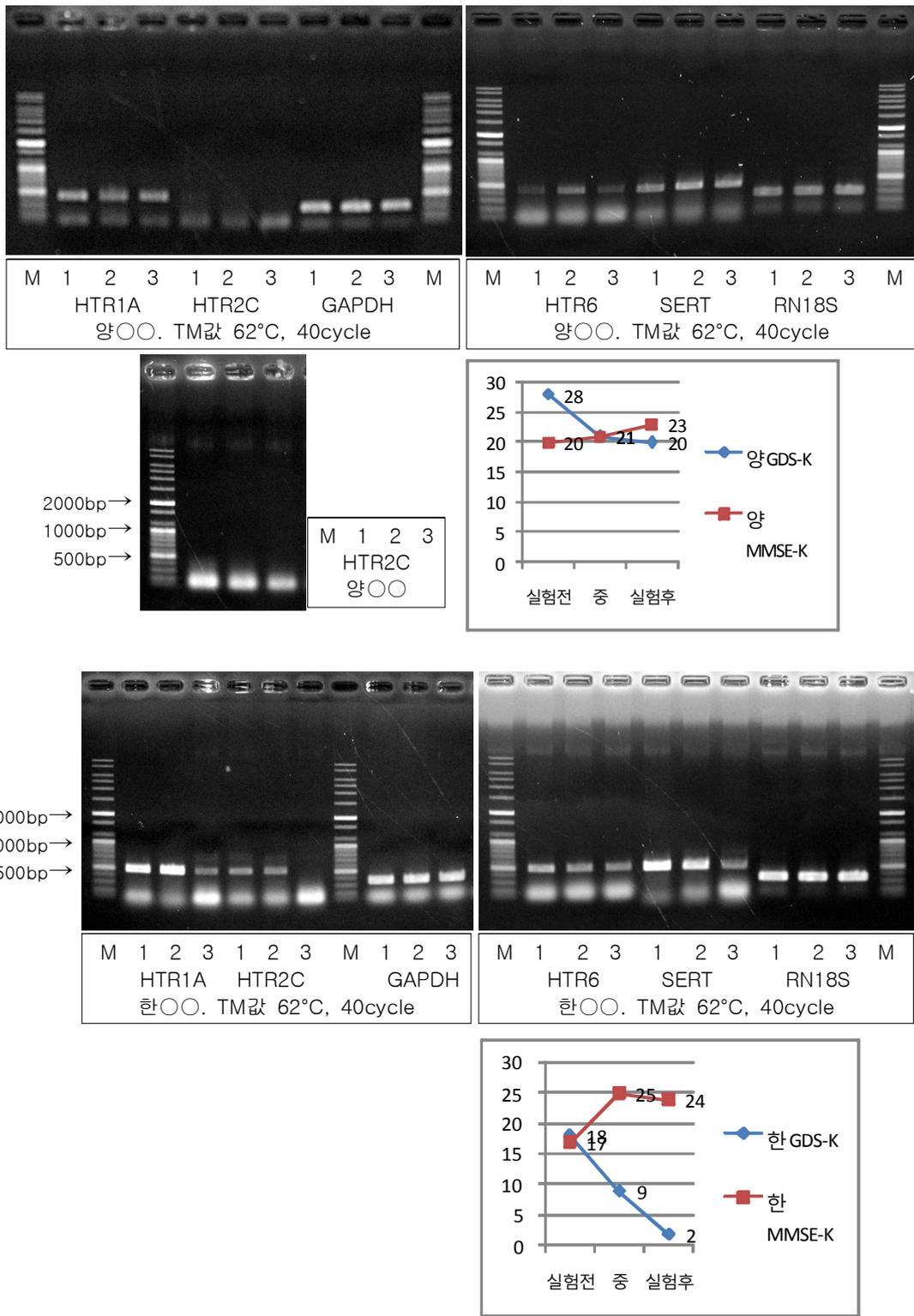


그림 13. 실험군 혈액 샘플 RT-PCR 결과 (계속, M:Marker, 1:실험전, 2:실험중, 3:실험후)

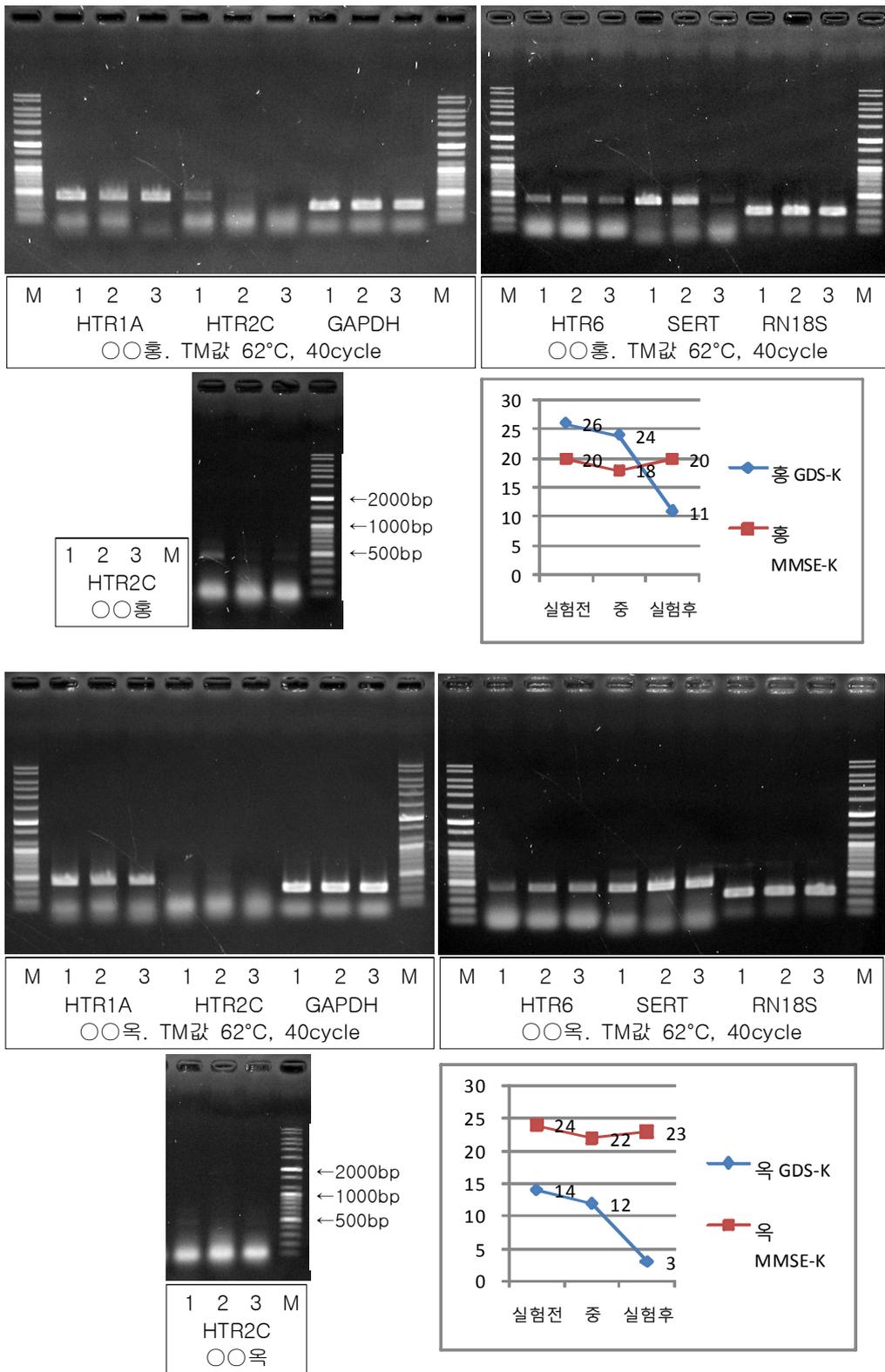


그림 14. 대조군 혈액 샘플 RT-PCR 결과 (M:Marker, 1:실험전, 2:실험중, 3:실험후)

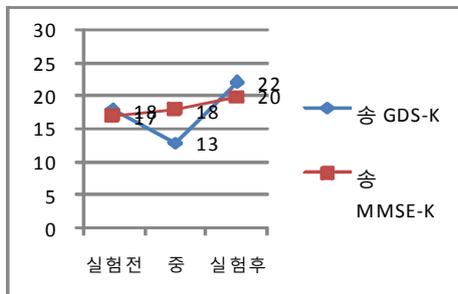
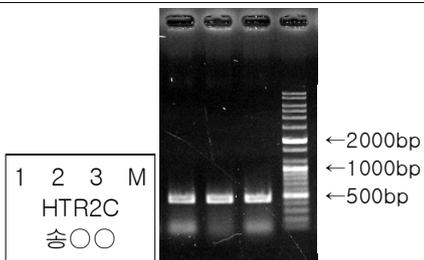
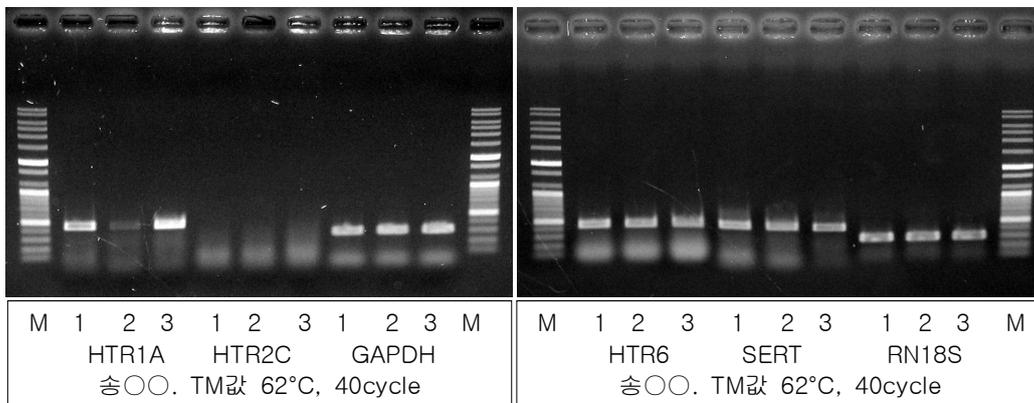
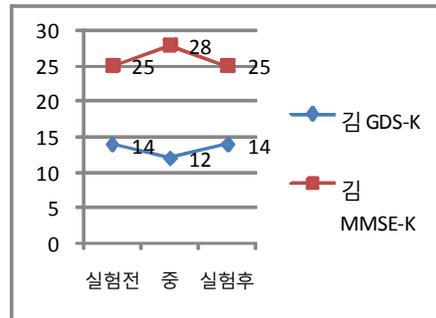
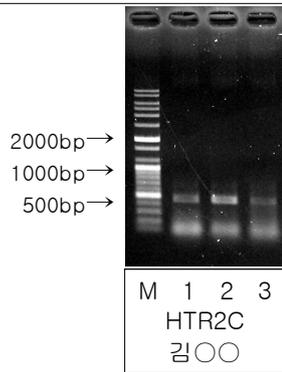
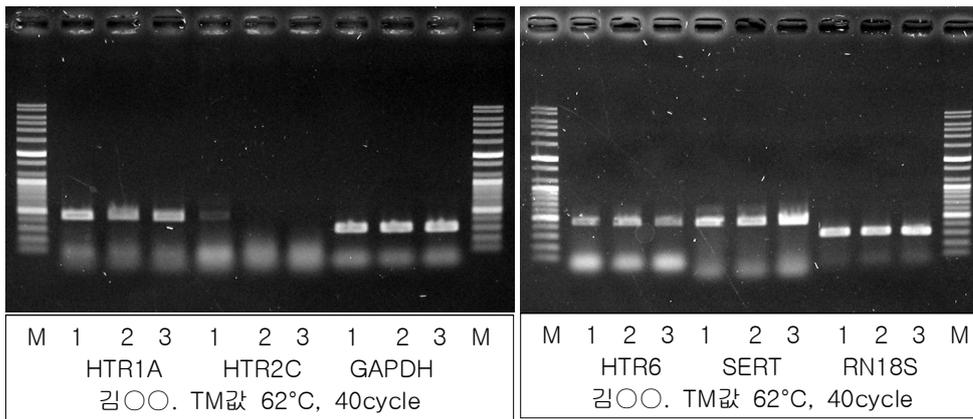


그림 14. 대조군 혈액 샘플 RT-PCR 결과 (계속, M:Marker, 1:실험전, 2:실험중, 3:실험후)

3) RT-PCR 결과 분석

Kits을 사용해 추출한 RNA는 비교적 깨끗한 RT-PCR 결과를 보여주어서 HTR2C를 제외하고는 실험 전·중·후의 대상 물질의 발현량을 비교하기가 용이하였고, control의 발현량도 비교적 균일했다. 그러나 전기영동 사진만으로는 어느 것이 더 발현량이 많다고 단정짓기 어려울만큼 별 차이가 없는 것들도 있어서 발현량 비교에 약간의 어려움이 있었다. 이 결과는 표 14.에 정리하였다.

표 14. 혈액 샘플의 RT-PCR 결과 (증폭양 많음>적음, 1:실험전, 2:실험중, 3:실험후)

		HTR1A	HTR2C	HTR6	SERT	
실험군	장	1>3>2	2>3>1	1>3>2	2>1>3	
	녀	1>3>2	1>3>2	3>2>1	2>1>3	
	양	1>3>2	X	2>1>3	2>3>1	
	한	2>1>3	2>1>3	1>2>3	1>2>3	
대조군	홍	3>1>2	1>3>2	2>1>3	1>2>3	항상군
	옥	2>1>3	1>3>2	2>3>1	2>3>1	↑
	김	1>3>2	2>1>3	2>1>3	3>2>1	↓
	송	3>1>2	3>2>1	1>2>3	1>2>3	비항상군

위 표를 보고 세로토닌 관련 물질의 실험 전·중·후의 발현량의 공통점을 찾기는 어려웠다. 실험군 또는 대조군별로 RT-PCR을 통해 증폭된 양에 특이할 만한 공통적 성향이 없었고 실험 대상자 수가 많지 않아 통계적 처리에 어려움도 있었다. 단지, 실험군과 대조군 모두 세로토닌 관련 물질이 실험후에 더 발현량이 감소하는 경향이 있는 것으로 나타났다.

이런 경향은 우울증 항상군과 비항상군으로 나누어 보면 특히 SERT에서 두드러지게 나타나고 있다. N. Praschak-Rieder et al.(2008)의 연구에 의하면 세로토닌 수송체의 활성이 감소하면 시냅스 공간의 세로토닌 양이 증가하여 우울 정도가 감소한다는 것을 알 수 있다. 우울점수의 변화를 나타내주는 그래프와 SERT

를 RT-PCR한 결과를 직접 비교해보면 노인 우울척도 점수에서 향상을 보인 ‘장’, ‘녀’, ‘한’, ‘홍’의 경우 SERT의 발현량이 실험후에 현저히 줄어들고 있음을 알 수 있다. 반면 노인 우울척도 점수에서 변화가 없거나 오히려 우울정도가 증가한 ‘김’, ‘송’의 경우에는 SERT의 발현량의 변화가 거의 없음을 알 수 있다.

IV. 고찰 및 결론

근래 우리나라는 산업화를 통한 경제 성장으로 경제적 풍요와 질 높은 의료 서비스가 보편화되었고 이로 인한 평균수명의 빠른 증가로 다른 선진국들에 비해 빠른 속도로 고령사회가 되고 있다. 노인 인구의 증가에 따른 노인문제는 생산인구가 줄어든다는 경제적 문제와 함께 다양한 신체, 정신, 사회 및 심리적 문제로 발생되고 있다(김성미, 2009). 특히 문제가 되고 있는 노인의 만성적 질병 중 사회문제가 되고 있는 노인 자살은 노년기 우울증이 그 원인이라 하겠다(전창선, 2009). 약물 부작용을 많이 호소하는 노인에게 우울증 치료에 있어서 약물 보다는 아로마테라피와 같은 대체 요법이 관심을 받고 있다(오홍근, 2003).

예전부터 민간요법처럼 많이 사용되어 오던 아로마테라피(Aromatherapy)는 최근 많은 연구를 통해 부작용이 적고 증상에 효과적이라는 사실이 입증되면서 많은 관심을 받고 있다(김성미 2009; 김양희, 2009; 김연숙, 2008; 김장순 등, 2009; 조주연, 2009; 신설애, 2010). 그러나 ‘우울척도’나 ‘우울측정지’ 같은 설문지 형태의 자료 분석은 검사자의 주관적 개입이나 답변자의 답변 당시 심리적 상황이 우울 점수에 큰 영향을 줄 수 있어 객관성이 다소 떨어지는 문제점이 있었다.

이에 본 연구에서는 기존의 연구방식에 RT-PCR(역전사-중합효소 연쇄반응)이라는 과학적 방법을 더해 보다 객관적으로 검증하고자 하였다. 입원 노인들을 대상으로 아로마 손 마사지를 실시한 실험군과 일반 손 마사지를 실시한 대조군으로 나누어 실험을 실시하였다. ‘한국판 노인 우울척도(Geriatric Depression Scale-K, GDS-K)’에 중점을 두어 손 마사지 전·중·후의 변화를 살펴보고 ‘한국판 간이 인지검사(Mini-Mental State Examination-K, MMSE-K)’를 함께 실시하여 ‘지남력’이나 ‘기억력’, ‘주의집중/계산’, ‘언어기능’, ‘이해/판단’등 인지 능력과의 상관관계를 알아보고, 손 마사지 전·중·후에 타액과 혈액을 채취하여 타액 및 혈액 속에 존재하는 우울증 관련 물질들의 증감 여부를 RT-PCR(역전사-중합효소 연쇄반응)을 통해 보다 객관적으로 검증하고자 하였다.

GDS-K 검사 결과 실험군 평균과 대조군 평균 모두 우울도가 낮아져서 실험군

은 ‘심한 우울’에서 ‘경도 우울’로, 대조군은 ‘중도 우울’에서 ‘경도 우울’로 향상을 보였다. 그래프 상으로 보았을 경우 실험군은 실험 전과 실험 3주 후, 실험 후의 변화가 지속적으로 비슷한 비율로 감소하는 반면 대조군의 경우는 실험 초기에는 우울도가 급속히 감소했다가 3주후부터 실험 6주후까지는 감소폭이 거의 없었다. 이것은 아로마 손 마사지를 실시한 실험군이 일반 손 마사지를 실시한 대조군보다 효과적으로 우울증 향상에 영향을 미친다는 사실을 보여준다.

MMSE-K에서도 실험 전후 비교에서 실험군과 대조군 모두 인지 점수의 향상을 보였으나, 실험군의 경우 인지점수의 총합의 평균이 20.6점에서 22.6점으로 평균 2점 상승한데 반해 대조군의 경우는 인지점수의 총합의 평균이 20.5점에서 21점으로 0.5점 상승하는데 그쳤다. 특히 ‘지남력(orientation)’부분에서 실험군과 대조군의 차이를 볼 수 있는데, 실험군은 평균 0.5점 상승한 반면 대조군은 평균 0.6점 하강했다. 우울증 향상은 인지능력 향상에도 영향을 미친다는 사실을 알 수 있다.

대상자들의 우울척도와 인지검사 사이의 상관관계를 실험군과 대조군으로 나누어 개인별로 비교해 그래프로 나타내 보았을 때도 실험군의 경우 대부분 그래프가 상향 또는 하향의 한 방향으로 가는 반면 대조군의 경우에는 선이 중간에서 꺾이는 경우가 많았다. 이것은 실험군의 경우에는 아로마 에센셜 오일에 의한 우울증 감소의 효과가 지속적으로 나타난데 반해 대조군의 경우는 실험 초기에는 마사지의 효과로 우울증 감소의 효과가 나타나지만 그 효과가 지속되지는 못한다는 것으로 해석되어질 수 있다고 본다.

그러나 개인별 그래프 비교에서 우울도의 향상과 인지도의 향상 간의 큰 연관성을 찾기는 힘들었다. 인지도에 영향을 끼칠 정도의 기간과 빈도가 아니었던 것으로 보여지고, 대상자 수가 아로마 마사지 실험군 8명, 일반 마사지 대조군 8명으로 그 수가 적어 통계상 유의할 만한 결과를 내기가 어려웠다. MMSE-K에서 치매로 의심되는 대상자들(대조군 중 2명)도 있어 그들의 GDS-K가 신뢰성이 떨어지는 문제도 있었다.

하지만 각 개인별로 GDS-K 향상군과 비향상군으로 나누어 비교해 보면 우울척도가 3점 이상 향상을 보인 사람 9명 중 인지 점수의 향상을 보인 사람이 5명이었으며, 1~2점의 미미한 향상을 보인 사람 2명 중 인지 점수의 향상을 보인 사

람이 1명이었고, 우울점수의 향상이 없는 비향상군 5명 중 인지 점수의 향상을 보인 사람은 1명이었다. 즉, 우울척도 점수상으로 향상군은 11명 중 6명(55%)이 인지의 향상을 보였고 비향상군은 5명 중 1명(20%)만 인지 향상을 보이고 있다. 대상자의 수가 적어 통계적으로 일반화시키기엔 어려움이 있으나 우울증이 향상되면서 인지 능력도 함께 향상되는 비율이 더 많았음을 알 수 있다.

보다 객관적인 증명을 위해 실시했던 타액과 혈액 샘플을 이용한 세로토닌 관련물질의 RT-PCR 결과를 보면, 우선 타액 실험에 있어서, 모두 16명의 실험 대상자의 타액 중 실험 전·중·후의 타액 모두에서 정상적으로 RNA가 추출된 경우가 많지 않았다. 또한 RNA가 어느 정도 추출된 경우에도 RT-PCR을 진행하는 과정에서 사용해야 할 RNA의 양을 제대로 파악하지 못하여 RT-PCR 결과가 제대로 나오지 않은 경우도 있었다.

따라서 타액에서 추출한 RNA로는 RT-PCR을 통하여 실험 전·중·후의 세로토닌 관련 물질의 증감 여부를 비교하기는 힘들었으나, 주로 식물에서 RNA를 추출하는 방법인 'Hot phenol method'로 인간의 타액에서 RNA를 추출하였고, 세로토닌 관련 물질의 유전자를 RT-PCR을 통하여 정상적으로 증폭시켜 냈다는 데 의의를 둘 수 있겠다. 사실 세로토닌은 중뇌, 장, 혈소판 등에 존재하는 물질로서(NAVER지식사전, 2011) 이번 실험 결과 인간의 타액 내에 세로토닌 관련 물질인 HTR1A, HTR2C, HTR6, SERT 등이 존재하며 다량은 아니지만 RT-PCR이 가능할 정도의 RNA를 추출해낼 수 있다는 것을 알 수 있었다. 또한 실험군, 대조군 모두 타액 샘플로 RT-PCR을 한 세로토닌 관련 대상물질 중 대체로 HTR1A와 HTR2C의 발현량이 HTR6나 SERT의 발현량보다 많다는 것도 알 수 있었다.

혈액 샘플로 RT-PCR을 했을 경우도 세로토닌 관련 물질의 실험 전·중·후의 발현량의 공통점을 찾기는 쉽지 않았다. HTR1A, HTR6, SERT의 발현이 비교적 뚜렷하게 나타났으나, 각 대상자별, 대상물질 유전자별로 실험 전·중·후의 발현량의 정도가 제각각이어서 실험군, 대조군별 또는 향상군, 비향상군에 따른 공통적 성향이 없었다.

단지 실험군과 대조군 모두 세로토닌 관련 물질이 실험후에 더 발현량이 감소하는 경향이 있는 것으로 나타났고 이런 경향은 우울증 향상군과 비향상군으로

나누어 보면 특히 SERT에서 두드러지게 나타나고 있다. GDS-K 점수의 변화를 나타내주는 그래프와 SERT를 RT-PCR한 결과를 직접 비교해보면 노인 우울척도 점수에서 향상을 보인 ‘장’, ‘녀’, ‘한’, ‘홍’의 경우 SERT의 발현량이 실험후에 현저히 줄어들고 있음을 알 수 있다. 반면 노인 우울척도 점수에서 변화가 없거나 오히려 우울정도가 증가한 ‘김’, ‘송’의 경우에는 SERT의 발현량의 변화가 거의 없음을 알 수 있다.

N. Praschak-Rieder 등(2008)은 일조량과 세로토닌 수송체 활성이 역의 상관관계에 있어서 봄·여름에는 세로토닌 수송체의 활성이 감소하고 가을·겨울에는 증가한다고 말하고 있다. 따라서 봄·여름에 기분이 좋아지는 것은 세로토닌 수송체의 활성이 감소하여 시냅스 공간의 세로토닌 양이 증가하기 때문이고, 가을·겨울에 우울해지는 것은 세로토닌 수송체의 활성이 감소하여 시냅스 공간의 세로토닌 양이 증가하기 때문이라는 것이다. 이 논문에 따르면 세로토닌 수송체의 활성이 감소하면 시냅스 공간의 세로토닌 양이 증가하여 우울 정도가 감소한다는 것을 알 수 있다. SERT는 세로토닌을 연접전 신경세포로 재흡수시켜 세로토닌의 활성을 떨어뜨리는데(박재영, 2010), SERT의 발현이 감소했다는 것은 세로토닌의 활성이 증가하여 우울증이 감소했다는 것이므로 아로마 손 마사지 실험군이 일반 손 마사지 대조군에 비해 우울증이 감소했다는 것을 과학적 객관적으로 증명해준 것이라 할 수 있겠다.

또한, 세로토닌 수용체(HTR1A, HTR2C, HTR6) 역시 최근 우울증이 신경전달물질에서의 변화라기보다는 수용체 감수성(receptor sensitivity)의 변화라는 가설이 제안되기도(민성길 등, 2010) 했기 때문에 우울증의 감소가 세로토닌 수용체의 수적 증가로 인한 것이 아니라 세로토닌을 받아들이는 감수성에만 변화가 생긴 것일 수도 있다는 생각이 든다.

그러나 세로토닌 수송체(SERT)의 기능이 감소된 사람이 불안 또는 우울과 관련된 성격 특성을 가진다는 이론과 함께(박재영, 2010), 세로토닌 수용체들(HTR1A, HTR2C, HTR6)이 우울증 감소와 함께 증가할 것으로 여겨졌던 물질들이어서(김소영, 2010) 보다 심도 있는 연구가 필요할 것으로 보인다.

그리고, 전기영동 사진만으로는 어느 것이 더 발현량이 많다고 단정 짓기 어려울 만큼 별 차이가 없는 것들도 있어서 발현량 비교에 약간의 어려움이 있었다.

RT-PCR 결과를 전기영동 사진만으로 발현량을 비교하기 보다는 Real-Time PCR과 같이 보다 수치적이고 시각적인 자료들로 결과를 비교해 보는 것이 보다 신뢰도 있는 결과를 낼 수 있지 않았을까 생각된다.

이번 연구 결과로 아로마 향을 적용하여 손 마사지를 실시한 경우가 향이 없는 일반 마사지만을 실시한 경우보다 더 효과적으로 우울증을 감소시켜 주는 것을 알 수 있었고, 우울증의 개선은 인지 능력에도 향상을 가져온다는 것을 알 수 있었다.

연구에 사용한 아로마 에센셜 오일의 블렌딩 비율이 우울증에 효과적이었음도 더불어 알 수 있었다. 기존의 연구들에서는 라벤더 오일 한 가지로만 실험을 한 경우가 많았으나 3~4가지의 에센셜 오일을 적절한 비율로 블렌딩할 경우 그 효과가 더 증가한다는 이론(오홍근, 2003)에 힘을 실어주는 결과라 할 수 있겠다.

또한 실험군 뿐 아니라 대조군에서도 약간의 우울증 개선과 인지 능력 향상이 있었음을 볼 때 마사지에 의한 효과도 있었음을 함께 알 수 있다(조주연, 2009; 이명희, 2008)

아로마테라피(Aromatherapy)에 관한 기존의 연구들과 더불어 아로마 에센셜 오일의 효과를 객관적으로 증명하기 위한 방법으로 도입한 RT-PCR법도 아직 많은 연구 과제를 안고 있기는 하지만 새로운 시도가 아니었나 생각하고, 또 새로운 결과를 얻었다고 생각한다.

국문 요약

최근 급격하게 증가하고 있는 노인 인구에 따른 문제 중의 하나인 노인 우울증이 높은 노인 자살률로 인해 사회문제로 대두되고 있다. 이에 대한 치료로 세로토닌 재흡수억제제(SSRIs)와 같은 항우울제 약물들이 처방되기도 하나 이는 약물 부작용 등의 문제점을 갖고 있어서 아로마테라피(Aromatherapy)와 같은 대체요법들의 관심이 많아지고 있다.

본 연구에서는 N재활전문병원 및 J노인요양병원에 입원 중인 노인들을 대상으로 실험군 8명, 대조군 8명으로 나누어 각각 아로마 손마사지와 일반 손마사지를 일주일에 2번 6주간 시행한 후 실험 전·중·후에 노인 우울척도(GDS-K)와 간이 인지검사(MMSE-K)를 실시하여 변화를 비교하였으며, 역시 실험 전·중·후에 타액채취와 채혈을 실시하여 역전사-중합효소 연쇄반응(RT-PCR)을 통해 세로토닌 수용체(HTR1A, HTR2C, HTR6)와 세로토닌 수송체(SERT)의 증감 여부를 비교하였다.

GDS-K 검사 결과 실험군 평균과 대조군 평균 모두 우울도가 낮아졌지만 실험군은 우울증 감소의 효과가 지속적으로 나타남에 반해, 대조군의 경우는 실험 초기에는 마사지의 효과로 우울증 감소의 효과가 나타났으나 그 효과가 지속되지는 못했다. MMSE-K에서도 실험 전후 비교에서 실험군과 대조군 모두 인지점수의 향상을 보였으나, 실험군의 경우 인지점수의 총합의 평균이 평균 2점 상승한데 반해 대조군의 경우는 0.5점 상승하는데 그쳤다. 실험 대상자 수가 적어 일반화시키기 어려운 점이 있으나, 아로마 손마사지를 실시한 실험군이 일반 손마사지만을 실시한 대조군보다 효과적인 우울증 감소와 인지 향상을 보였다고 할 수 있겠다.

타액 샘플 RT-PCR 결과 'Hot phenol method'로 인간의 타액에서 RNA를 추출하였고, RT-PCR을 통하여 인간의 타액 내에 HTR1A, HTR2C, HTR6, SERT 등이 존재하며, HTR1A와 HTR2C의 발현량이 HTR6나 SERT의 발현량보다 많다는 것을 알 수 있었다.

혈액 샘플 RT-PCR 결과에서는 각 대상자별, 대상물질 유전자별로 실험 전·중·후의 발현량의 정도가 제각각이어서 세로토닌 관련 물질의 실험 전·중·후의 발현량의 공통점을 찾기는 쉽지 않았지만, 우울증 향상군과 비향상군으로 나누어 비교했을 때 우울증 향상군에서 세로토닌 수송체(SERT)를 비롯한 세로토닌 수용체(HTR1A, HTR2C, HTR6)들의 발현량이 실험 후에 대체로 줄어드는 경향이 있음을 알 수 있었다. 이는 세로토닌 수송체(SERT)가 신경세포의 시냅스에서 세로토닌을 연접 이전 세포로 재흡수시키기 때문에 세로토닌 수송체(SERT)의 활성이 떨어지면 시냅스 공간에서의 세로토닌의 양이 많아져 우울증이 감소한다는 이론을 뒷받침해 주는 결과라고 할 수 있겠다.

참고문헌

- 권소영, 김성은, 김은정, 김준홍, 유강목 (역) (2008) 살바토레의 아로마테라피 완
벽가이드. 서울: 현문사.
- 김무영 (2010) 노인 여성의 백혈구에서 측정된 미토콘드리아 DNA 양과 우울증
과의 관련성. 석사학위논문, 연세대학교, 서울.
- 김성미 (2009) 향요법 손마사지가 시설 여성노인의 불안, 수면 및 우울에 미치는
효과. 지역사회간호학회지 20, 4:493-502
- 김소영 (2010) Discovery of Serotonin 5-HT_{2C} and 5-HT₆ receptor antagonists
for central nervous system(CNS) disorders. 석사학위논문, 고려대학교, 서울.
- 김양희 (2009) 라벤더 오일을 이용한 손 마사지가 입원 노인에서 수면의 질 개선
에 미치는 효과. 박사학위논문, 계명대학교, 대구.
- 김연숙 (2008) 아로마테라피 적용이 산욕기 산모의 회음부 불편감, 피로 및 우울
에 미치는 효과. 석사학위논문, 을지대학교, 대전.
- 김장순, 이종렬, 전용수, 김보라, 박천만 (2009) 아로마테라피가 스트레스 관련 호
르몬에 미치는 영향. 한국미용학회지 15, 4:1452-1462
- 대한노인정신의학회 (2004) 노인정신의학. 서울: 중앙문화사.
- 문정준 (2010) 60세 이상 노인 인구에서 인지기능과 우울증, 자살사고, 혈청지질
농도와의 연관성. 석사학위논문, 인제대학교, 부산.
- 미국국립생물정보센터(National Center for Biotechnology Information, NCBI)
(2011) Serotonin Receptor. 2011년 6월 25일. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- 민성길 등 (2010) 최신정신의학. 제5판. 서울: 일조각.
- 박무원 (2010) 산삼과 인삼 메탄올 추출물의 항우울증 및 기억력 증진 효과에 관
한 비교연구. 박사학위논문, 경희대학교, 서울.
- 박수현, 정병록 (2008) 작업치료사를 위한 임상지침서. 개정판. 서울: 군자출판사.
- 박재영 (2010) 삼대립 세로토닌 수송체 유전자와 생활사건 스트레스가 초기 성인
우울증에 미치는 영향. 석사학위논문, 충북대학교, 청주.

- 백종윤 (2009) *Streptococcus mutans*의 Glucan과 Teichoic acid에 의한 대식세포 유전자 발현에 미치는 효과. 석사학위논문, 순천향대학교, 아산.
- 부산대학교 약학과 세포신호전달연구실 (2012. 1. 27) 세로토닌[Serotonin]. 2012년 7월 3일 출력. <http://blog.naver.com/imdi4b/149300547>.
- 손기철, 김수연, 이손선, 송종은, 조문경 (2006) 전문적 원예치료를 위한 평가도구 및 프로그램. 서울: 쿠북.
- 순희자 (2004) 노인 의료복지 서비스 증진 방안에 관한 연구. 석사학위논문, 상명대학교, 서울.
- 신설애 (2010) 상담자의 스트레스 및 심리적 소진에 아로마테라피가 미치는 영향에 관한 연구. 석사학위논문, 덕성여자대학교, 서울.
- 양영애, 김영희, 이한석, 정원미, 조무신, 홍재란 등 (2008) 노인작업치료. 제 3판. 서울: 계축문화사.
- 오정애 (2010) 노인 우울 감소를 위한 인지-행동 원리에 기반을 둔 심리교육적 프로그램의 개발과 효과(지역사회 노인 대상으로). 석사학위논문. 덕성여자대학교. 서울.
- 오홍근 (2002) 생활에 활력을 더해 주는 아로마테라피. 서울: 삼호미디어.
- 오홍근 (2003) 아로마테라피 핸드북. 서울: 양문.
- 우진규 (2010) Perfume[향기공학특론 대학원수업 발표자료]. 제주대학교, 제주.
- 위키백과 (2012) 중합효소 연쇄반응. 2012년 7월 3일 출력. <http://ko.wikipedia.org>.
- 이명희, 이계숙, 장예선, 정병렬, 함주옥 (2008) Body Aesthetic Basic Massage 이론과 실기. 서울: 퍼시픽북스.
- 이승연 (2010) 급성 우울증 환자와 만성 우울증 환자의 혈청 Brain Derived Neurotrophic Factor 비교연구. 석사학위논문, 성균관대학교, 서울.
- 이치현, 임미혜, 이명숙, 박원우, 김경란, 김문주 등 (2009) Aroma Therapy. 서울: 훈민사.
- 장호원 (2007) 사람 장내에서 *Saccharomyces cerevisiae* 와 *Saccharomyces sensu stricto* complex 측정을 위한 정량분석 방법. 석사학위논문, 충남대학교, 대전.

- 전시온 (2010) 한국인 주요 우울 장애 환자에서 mirtazapine 치료반응과 CYP2D6 P34S 다형성간의 약물유전학적 연합연구. 박사학위논문, 고려대학교, 서울.
- 전창선 (2009) 노인우울증에 관한 심리사회적 요인 연구. 석사학위논문, 상지대학교, 원주.
- 조주연 (2009) 주의력 결핍 과잉행동장애(ADHD)를 겪는 학령기 아동에게 어머니의 아로마 마사지가 미치는 영향. 석사학위논문, 건국대학교, 서울.
- 통계청 (2006. 11.) 성 및 연령별 노인인구. 장래인구추계. 2011년 8월 27일 출력. <http://www.nso.go.kr>.
- 티타임 with 知的호기심 (2010. 10. 9) 우울증과 세로토닌[serotonin]. 2012년 7월 3일 출력. <http://blog.naver.com/msnayana/80116733493>
- A. Caspi, K. Sugden, T. E. Moffitt, A. Taylor, I. W. Craig, H. L. Harrington, J. McClay, J. Mill, J. Martin, A. Braithwaite, R. Poulton (2003) Influence of Life Stress on Depression: Moderation by a Polymorphism in the 5-HTT Gene. *Science* 301:386-389
- B. N. Tatjana, C. S. Lipa, J. Branimir (2004) Expression of brain and platelet serotonin transporters in sublines of rats with constitutionally altered serotonin homeostasis. *Neuroscience Letters* 369:44-49
- C. D. Neff, V. Abkevich, J. C. L. Parker, Y. Chen, J. Potter, R. Riley et. al. (2009) Evidence for HTR1A and LHPP as interacting genetic risk factors in major depression. *Molecular Psychiatry* 14:621-630
- C. F. Kao, Y. S. Fang, Z. Zhao, P. H. Kuo (2011) Prioritization and Evaluation of Depression Candidate Genes by Combining Multidimensional Data Resources. *PLoS ONE* 6(4)
- F. Haghghi, H. Bach-Mizrachi, Y. Y. Huang, V. Arango, S. Shi, A. J. Dwork, G. Rosoklija, H. T. Sheng, I. Morozova, J. Ju, J. J. Russo, J. J. Mann (2008) Genetic architecture of the human tryptophan hydroxylase 2 Gene: existence of neural isoforms and relevance for major depression. *Molecular Psychiatry* 13:813 - 820
- J. A. Clark, R. B. Flick, L. Y. Pai, I. Szalayova, S. Key, R. K. Conley, A. Y.

- Deutch, P. H. Hutson, E. Mezey (2008) Glucocorticoid modulation of tryptophan hydroxylase-2 protein in raphe nuclei and 5-hydroxytryptophan concentrations in frontal cortex of C57/Bl6 mice. *Molecular Psychiatry* 13:498 - 506
- J. E. Lim, A. Papp, J. Pinsonneault, W. Sade'e, D. Saffen (2006) Allelic expression of serotonin transporter (SERT) mRNA in human pons: lack of correlation with the polymorphism SERTLPR. *Molecular Psychiatry* 11:649 - 662
- K. Yamada, T. Nabeshima (2003) Brain-Derived Neurotrophic Factor/TrkB Signaling in Memory Processes. *Journal of Pharmacological Sciences* 91:267 - 270
- M. Kaneko, J. L. Hanover, P. M. England, M. P. Stryker (2008) TrkB kinase is required for recovery, but not loss, of cortical responses following monocular deprivation. *NATURE NEUROSCIENCE* 11(4)
- M. Masuda, S. Senju, S. I. Fujii, Y. Terasaki, M. Takeya, S. I. Hashimoto, K. Matsushima, E. Yumoto Y. Nishimura (2002) Identification and Immunocytochemical Analysis of DCNP1, a Dendritic Cell-Associated Nuclear Protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 290:1022-1029
- NAVER지식사전 (2011) 세로토닌[Serotonin]. 2011년 12월 7일 출력. <http://terms.naver.com>.
- N. Praschak-Rieder, M. Willeit, A. A. Wilson, S. Houle, J. H. Meyer (2008) Seasonal Variation in Human Brain Serotonin Transporter Binding. *ARCH GEN PSYCHIATRY/VOL 65 (NO. 9), SEP 2008* : 1072-1078.
- S. A. Bustin (2002) Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *Journal of Molecular Endocrinology* 29:23 - 29.
- S. S. Wang, W Kamphuis, I Huitinga, J. N. Zhou, D. F. Swaab (2008) Gene expression analysis in the human hypothalamus in depression by laser

- microdissection and real-time PCR : the presence of multiple receptor imbalances. *Molecular Psychiatry* 13:786 - 799.
- T. C. Verwoerd, B. M. M. Dekker, A. Hoekema (1989) A small-scale procedure for the rapid isolation of plant RNAs. *Nucleic Acids Research* 17(6):2362.
- T. Zhou, S. Wang, H. Ren, X. R. Qi, S. Luchetti, W. Kamphuis, J. N. Zhou, G. Wang, D. F. Swaab (2010) Dendritic cell nuclear protein-1, a novel depression-related protein, upregulates corticotropin-releasing hormone expression. *Brain* 133:3069 - 3079
- WIKIPEDIA (2011) Serotonin Transporter. 2011년 6월 25일 출력. http://en.wikipedia.org/wiki/Serotonin_transporter
- W. Liu, S. S. Baker, R.D. Baker, N. J. Nowak, L. Zhu (2011) Upregulation of Hemoglobin Expression by Oxidative Stress in Hepatocytes and Its Implication in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Plosone* 6:1-7

부 록 2.

Geriatric Depression Scale (GDS-K)									
이름	성 별	남	여	나 이	세	번호	질 문	응 답	
아래는 지난 1주일 동안 어르신 의 기분 을 알아보 기 위한 질문입니 다. 질문을 잘 읽으 시고 그렇 다면 '예', 그렇지 않 다면 '아니오'에 O표 하십 시오. [검사일 : 2011년 월 일]						15	지금 살아 있다는 사실이 정말 좋다고 느껴지십니까?	예	아니오
						16	기분이 가라앉거나 울적할 때가 자주 있습니까?	예	아니오
번호	질 문			응 답		17	요즘 자신이 아무 쓸모없는 사람처럼 느껴지십니까?	예	아니오
1	자신의 삶에 대체로 만족하십니까?			예	아니오	18	지난 일에 대한 걱정을 많이 하십니까?	예	아니오
2	활동이나 관심거리가 많이 줄었습니까?			예	아니오	19	산다는 것이 매우 신나고 즐겁습니까?	예	아니오
3	삶이 공허하다고 느끼십니까?			예	아니오	20	새로운 일을 시작하는 것이 어렵습니까?	예	아니오
4	지루하거나 따분할 때가 많습니까?			예	아니오	21	생활의 활력이 넘치십니까?	예	아니오
5	앞날이 희망적이라고 생각하십니까?			예	아니오	22	자신의 처지가 절망적이라고 느끼십니까?	예	아니오
6	떨쳐 버릴 수 없는 생각들 때문에 괴롭습니까?			예	아니오	23	다른 사람들이 대체로 자신보다 낫다고 느끼십니까?	예	아니오
7	대체로 활기차게 사시는 편입니까?			예	아니오	24	사소한 일에도 속상할 때가 많습니까?	예	아니오
8	자신에게 좋지 않은 일이 생길 것 같아 걱정스럽습니까?			예	아니오	25	울고 싶을 때가 자주 있습니까?	예	아니오
9	대체로 행복하다고 느끼십니까?			예	아니오	26	집중하기가 어렵습니까?	예	아니오
10	아무 것도 할 수 없을 것 같은 무력감이 자주 듭니까?			예	아니오	27	아침에 기분 좋게 일어나십니까?	예	아니오
11	불안해지거나 안절부절 못할 때가 자주 있습니까?			예	아니오	28	사람들과 어울리는 자리를 피하는 편이십니까?	예	아니오
12	외출하는 것보다 그냥 집안에 있는 것이 더 좋습니까?			예	아니오	29	쉽게 결정하는 편이십니까?	예	아니오
13	앞날에 대한 걱정을 자주 하십니까?			예	아니오	30	예전처럼 정신이 맑습니까?	예	아니오
14	다른 사람들보다 기억력에 문제가 더 많다고 느끼십니까?			예	아니오	총 점 []점 / 30점			

감사의 글

남편 직장을 따라 서울에서 제주로 내려온 지 벌써 만 4년이 훌쩍 지났습니다. 다니던 직장을 그만두고 다소 게을러 질 수도 있었을 저에게 새로운 배움의 기쁨을 누리게 해준 대학원에서의 시간도 벌써 3년이 더 지났네요. 대학을 졸업한 지 15년 만에 다시 맛보는 학업의 시간에, 졸업 논문을 쓴다고 실험하느라 컴퓨터 앞에서 작업하느라 보낸 시간에 그 시간들이 어떻게 지나갔는지도 모르게 논문을 내게 되었습니다. 이 모든 과정들을 함께 해주시고 처음부터 끝까지 이끌어 주신 하나님께 먼저 감사의 기도를 드립니다.

산업대학원이라 쉽게 쉽게 졸업할 줄만 알았는데 쉽게 졸업 못하게끔 잡아주신 김인중 교수님께 진실로 감사를 드립니다. 생각지도 못한 실험실에서의 실험의 기회를 주시고 직접 생명공학이 어떤 것인가를 체험하게 해주셔서 저로서는 생애에 다시 맞볼 수 없는 귀한 경험을 주셨습니다.

산업대학원에 처음 입학할 때부터 자상한 눈으로 지켜봐 주시고 따뜻한 말로 논문의 방향을 잡아주려고 애써 주셨던 김소미 교수님이 아니었다면 지금 이 논문이 나오지 않았을 것 같습니다. 진실로 감사를 드립니다.

수업 시간마다 생명공학에 대해서는 거의 아는 게 없는 산업대학원생에게 자상하게 알려 주시고 배려해 주셨던 김찬식 교수님, 이동선 교수님, 그리고 김민영 교수님을 만나게 된 것은 저에게 큰 복이었던 것 같습니다. 많지 않은 산업대학원생인데도 번거로운 행정적인 문제도 귀찮아 하지 않으시고 성심껏 도와주신 류기중 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

아는 사람 없던 제주에서 저를 따뜻하게 맞아주시고 비전을 제시해 주시고 논문 심사까지 해주신 한라대학교 작업치료과 채수경 교수님과 저에게 원예치료사로서 한걸음 내딛을 수 있는 기회를 주시고 논문 심사의원장도 맡아 주신 원예학과 소인섭 교수님께도 특별히 감사의 마음을 전합니다.

허브가 뭔지, 아로마가 뭔지도 모르던 저에게 아낌없이 지식을 나누어 주셨던 제주관광대학 관광뷰티디자인과 장예선 교수님과 노인분들 기분을 맞춰 가며 힘든 것도 참아가며 마사지를 도와준 관광뷰티디자인과 신영민, 오래은, 한혜림 학

생에게 감사를 드립니다.

제가 모르는 게 있을 때, 난관에 부딪혔을 때 항상 도움이 되어 주시고 해결사가 되어 주셨던 서수정 박사님을 비롯해서, 처음 실험실에서 실험을 시작할 때 파이펫 잡는 법도 모르는 저에게 귀찮아 하면서도 하나에서 열까지 차근차근 알려 주셨던 실험실 대장 허지만씨에게도 진실로 감사를 드리고, 오승규, 김성우, 김석준, 김종성... 실험실 식구들에게도 감사를 드립니다. 1년여의 실험실 생활에서 항상 도움 되는 것 없이 짐만 되고 도움만 받았던 것 같아서 너무 미안하고 감사하기만 합니다.

끝으로 사랑하는 나의 가족에게 감사의 말을 전하고 싶습니다. 학교 다니느라 실험하느라 논문 쓰느라, 먹는 것 입는 것 공부하는 것 하나도 제대로 챙겨주지 못해서 항상 미안한 엄마를 공부한다고 자랑스러운 눈으로 보아주던 우리 예쁜 딸들 승연이, 승미에게 정말로 사랑한다고 말하고 싶습니다. 그리고 언제나 짜증을 부리면서도 내가 원하는 것은 뭐든지 들어주고 아낌없이 지원해주는 사랑하는 나의 반쪽, 나의 남편에게 고마움을 전하며 이 논문을 바칩니다.

2012년 8월

안 현 진