



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0092981
(43) 공개일자 2024년06월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61M 21/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61M 21/00 (2013.01)

A61M 2021/0027 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2022-0175834

(22) 출원일자 2022년12월15일

심사청구일자 2022년12월15일

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

손종희

강원도 춘천시 삭주로 77 춘천성심병원 신경과

정혜리

강원도 춘천시 효평길 47-1 401호

이연경

강원도 춘천시 옥천길40번길 32, 205호

(74) 대리인

특허법인본

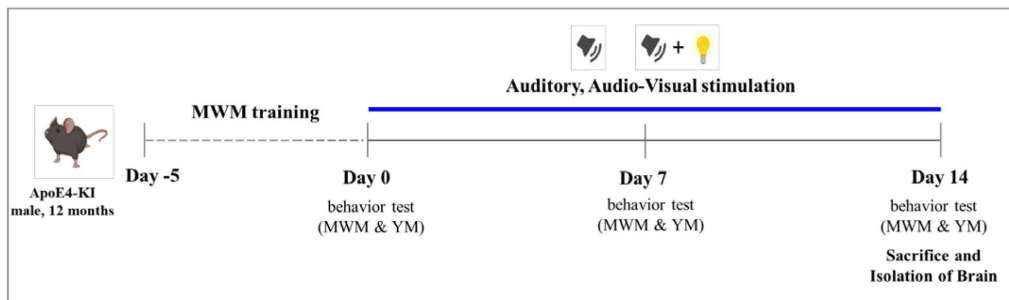
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 청각 또는 시청각 자극을 이용한 알츠하이머병을 치료하기 위한 장치 및 시스템

(57) 요약

본 발명은 청각 또는 시청각 자극을 이용한 알츠하이머병을 치료하기 위한 시스템에 관한 것이다. 본 발명은 대상체에게 30 내지 50 Hz의 주파수를 갖는 청각 자극을 전달하는 장치를 포함하는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 시스템을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61M 2021/0044 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345350909
과제번호	2018R1D1A1B07045645
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(교육부)
연구과제명	초기치매 모델에서 감각자극을 통한 인지기능 개선효과 입증을 위한 실험적 모델 정
립과 임상연구	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	한림대학교
연구기간	2018.06.01 ~ 2023.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에게 30 내지 50 Hz의 주파수를 갖는 청각 자극을 전달하는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치.

청구항 2

제 1 항에 있어서

상기 청각 자극은 40 Hz의 주파수를 갖는 것인, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 청각 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 아세틸콜린 농도를 증가시키는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 청각 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 Bax, caspase-2 및 β -액틴 중 어느 하나 이상의 세포자멸 관련 단백질의 발현 수준을 감소시키는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 청각 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 Bcl-2 세포자멸 관련 단백질의 발현 수준을 증가시키는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 대상체는 APOE4 녹인(Knock-in) 마우스인, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치.

청구항 7

대상체에게 30 내지 50 Hz의 주파수를 갖는 청각 및 시각 복합 자극을 전달하는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치.

청구항 8

제 7 항에 있어서

상기 청각 및 시각 복합 자극은 40 Hz의 주파수를 갖는 것인, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치.

청구항 9

제 7 항에 있어서,

상기 청각 및 시각 복합 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 아세틸콜린 농도를 증가시키는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치.

청구항 10

대상체에게 30 내지 50 Hz의 주파수를 갖는 청각 자극을 전달하는 장치를 포함하는, 치매 또는 알츠하이머병의

치료용 시스템.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

상기 청각 자극은 40 Hz의 주파수를 갖는 것인, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 시스템.

청구항 12

제 10 항에 있어서,

상기 청각 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 아세틸콜린 농도가 증가하는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 시스템.

청구항 13

제 10 항에 있어서,

상기 청각 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 Bax, caspase-2 및 β -액틴 중 어느 하나 이상의 세포자멸 관련 단백질의 발현 수준이 감소하는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 시스템.

청구항 14

대상체에게 30 내지 50 Hz의 주파수를 갖는 청각 및 시각 복합 자극을 전달하는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 시스템.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

상기 청각 및 시각 복합 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 아세틸콜린 농도가 증가하는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 시스템.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 청각 또는 시청각 자극을 이용한 알츠하이머병을 치료하기 위한 장치 및 시스템에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 알츠하이머병(Alzheimer's Disease; AD)은 진행성 인지 상실을 유발하는 퇴행성 신경 질환이다. 많은 환경 및 유전적 위험 요소가 알츠하이머병의 발병과 관련되어 있지만 그 병인은 잘 알려져 있지 않다. 알츠하이머병 환자의 뇌에서 관찰된 변화 중에는 세포 외에서 아밀로이드 플라크 및 타우 단백질 또는 세포 내에서 신경원섬유 엉킴에 의한 아밀로이드-베타($A\beta$)의 비정상적인 축적이 있다. 둘 다 손상된 신경 기능 및 연결성과 관련되어 있어 뇌 기능이 점진적으로 상실된다. 현재, 알츠하이머병 치료에 승인된 약물에는 콜린에스테라제 억제제와 N-메틸 D-아스파테이트 길항제의 두 가지 종류만 있다. 그러나 이들은 알츠하이머병의 증상을 치료하는 데에만 효과적이다. 이들은 질병을 예방하거나, 병의 진행을 멈추거나 역전시키지 않는다.

[0003] 후각 장애, 시각 장애 및 청력 상실을 포함하여 알츠하이머병에서 발생하는 감각 저하가 종종 정상적인 노화보다 더 빠르다. 반대로 감각 상실은 치매, 특히 알츠하이머병 및 노인의 인지 기능 장애의 위험을 증가시킨다. 특히 연령, 성별, 아포지단백 E ϵ 4 상태 및 심혈관 위험 인자와 같은 잠재적인 교란 변수를 통제한 역학 연구에서 연령 관련 인지 저하, 알츠하이머병 및 연령 관련 청력 상실 사이의 연관성이 보고되었다. 또한 동물 모델을 사용한 연구에서 소음 과다 노출로 인한 감각 신경성 난청은 해마 신경 발생을 억제했으며 동물도 인지 기능 저하를 나타냈다. AD 마우스의 전도성 청력 상실 모델에 대한 연구에서도 부분 청력 상실이 AD의 기억 장애를 악화시킬 수 있음을 발견했다.

[0004] 알츠하이머병의 병리를 표적으로 하는 많은 약물의 실패와 현재 사용 중인 약물의 부적절함과 심각한 부작용을

감안할 때 비약물적 개입에 더 많은 관심을 기울였다. 여기에는 감각적, 경두개 자기 및 경두개 전기(직류 및 교류) 자극과 같은 일반적인 비침습적 자극이 포함된다. 감각 기반 중재는 비침습적이며 달성하기 쉽고 부작용을 일으키지 않으며 저렴하여 AD 치료에 대한 유망한 접근 방식이다.

- [0005] 임상 시험에서 경증에서 중등도의 알츠하이머병 또는 경증 인지 장애가 있는 환자의 리드미컬한 청각 자극은 인지 능력을 높이고 불안을 개선하는 것으로 나타났다. 알츠하이머병 동물 모델 연구에서 청각 자극은 A β 와 타우 병리를 감소시키고 인지 능력을 향상시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 인간 알츠하이머병 환자에서 청각 자극의 치료 효과에 대한 추가 연구의 필요성을 뒷받침한다.

선행기술문헌

- [0006] Martorell AJ, Paulson AL, Suk HJ, Abdurrob F, Drummond GT, Guan W, et al. Multi-sensory Gamma Stimulation Ameliorates Alzheimer's-Associated Pathology and Improves Cognition. Cell. 2019;177(2):256-71.e22.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명은 대상체에게 30 내지 50 Hz의 주파수를 갖는 청각 자극을 전달하는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치를 제공한다.
- [0008] 상기 청각 자극은 40 Hz의 주파수를 갖는 것일 수 있다.
- [0009] 상기 청각 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 아세틸콜린 농도를 증가시킨다.
- [0010] 상기 청각 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 Bax, caspase-2 및 β -액틴 중 어느 하나 이상의 세포자멸 관련 단백질의 발현 수준을 감소시킨다.
- [0011] 상기 청각 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 Bcl-2 세포자멸 관련 단백질의 발현 수준을 증가시킨다.
- [0012] 상기 대상체는 APOE4 녹인(Knock-in) 마우스이다.
- [0013] 본 발명은 또한, 대상체에게 30 내지 50 Hz의 주파수를 갖는 청각 및 시각 복합 자극을 전달하는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 장치를 제공한다.
- [0014] 상기 청각 및 시각 복합 자극은 40 Hz의 주파수를 갖는 것일 수 있다.
- [0015] 상기 청각 및 시각 복합 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 아세틸콜린 농도를 증가시킨다.
- [0016] 본 발명은 또한, 대상체에게 30 내지 50 Hz의 주파수를 갖는 청각 자극을 전달하는 장치를 포함하는 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 시스템을 제공한다.
- [0017] 상기 청각 자극은 40 Hz의 주파수를 갖는 것일 수 있다.
- [0018] 상기 청각 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 아세틸콜린 농도가 증가한다.
- [0019] 상기 청각 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 Bax, caspase-2 및 β -액틴 중 어느 하나 이상의 세포자멸 관련 단백질의 발현 수준이 감소한다.
- [0020] 본 발명은 또한, 대상체에게 30 내지 50 Hz의 주파수를 갖는 청각 및 시각 복합 자극을 전달하는, 치매 또는 알츠하이머병의 치료용 시스템을 제공한다.
- [0021] 상기 청각 및 시각 복합 자극에 의해 대상체의 뇌 조직에 존재하는 아세틸콜린 농도가 증가한다.

발명의 효과

- [0022] 본 발명은 청각 또는 시청각 자극을 이용한 알츠하이머병을 치료하기 위한 시스템을 제공할 수 있다.
- [0023] 본 발명은 또한, 청각 또는 시청각 자극을 이용한 알츠하이머병을 치료하기 위한 장치를 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0024]

도 1은, 본 발명의 실험 방법 흐름도이다.

도 2는, 청각 및 시청각 자극 후 APOE4 녹인 마우스에서 Y-메이즈 테스트 결과이다. (a)는 절대적 교대 비율을 나타내고, (b)는 상대적 교대 비율을 나타낸다.

도 3은, 청각 및 시청각 자극 후 APOE4 녹인 마우스에서 아밀로이드 베타의 발현을 나타낸 것이다. (a)는 아밀로이드 베타 1-42 파지티브 영역의 이미지이고, (b)는 해마 CA3 영역에서의 아밀로이드 베타 1-42 양성을 나타낸 것이다.

도 4는, 청각 및 시청각 자극 후 APOE4 녹인 마우스에서 TUNEL 양성을 나타낸 것이다. (a)는 TUNEL 양성 영역을 나타낸 이미지이고, (b)는 해마 CA3 영역에서의 TUNEL 양성을 나타낸 그래프이다.

도 5는, 청각 및 시청각 자극 후 APOE4 녹인 마우스에서 아세틸콜린 수준을 나타낸 것이다.

도 6은, 청각 및 시청각 자극 후 APOE4 녹인 마우스에서 세포사멸 관련 단백질의 수준을 나타낸 것이다. (a)는 Bax, Bcl-2, Caspase 3, B-actin의 단백질 밴드, (b)는 Bax 단백질의 상대적 발현 수준, (c)는 Bcl-2 단백질의 상대적 발현 수준, (d)는 Caspase 3 단백질의 상대적 발현 수준을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025]

본 명세서에서, "치료"란, 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 치매 또는 알츠하이머 질환, 또는 이의 적어도 하나 이상의 증상을 완화, 감소, 또는 소멸시키는 등 그 증세를 호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0026]

일부 구현예에서, 대상체는 청각 또는 시청각 복합 자극을 제공받는다. 대상체는 예를 들어, 차광 양태 또는 잡음 소거 양태를 포함하는 시스템을 통해 자극을 제공받을 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 자극을 전달하도록 설계된 자극-방출 장치, 예를 들면, 안경류를 통해 시각 자극을 제공받는다. 상기 장치는 다른 광을 차단할 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 자극을 전달하도록 설계된 자극-방출 장치, 예를 들면, 헤드폰을 통해 청각 자극을 제공받는다. 상기 장치는 다른 잡음을 상쇄할 수 있다.

[0027]

본 명세서에서, "대상체(subject)"는 설치류, 고양이, 개과, 또는 영장류와 같은 포유류를 의미한다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 대상체는 인간 또는 APOE4 녹인(Knock-in) 마우스이다.

[0028]

본 명세서에서 "장치"는, 영상 및/또는 오디오를 제공할 수 있는 형태의 장치이면 특별히 제한되지 않으며, 예를 들면, 안경, 헤드폰, 스피커, 모니터 등일 수 있다.

[0029]

본 발명자들은 청각 자극이 인지 쇠퇴의 진행을 감소시키고 알츠하이머병의 병리를 개선할 수 있으며, 다중 감각 통합에 의해 청각 및 시각 자극의 조합이 인지를 더욱 향상시킬 수 있다는 가설을 세웠다. AD에 대한 이전 연구에서는 APP 또는 프레세닐린(PSEN1 또는 PSEN2) 또는 이들의 조합(3xTg, 5xTg)인 형질전환 마우스 모델을 사용했다. 이러한 모델로 얻은 알츠하이머병 기전에 대한 귀중한 통찰력에도 불구하고, 이들 모델은 질병의 유전적(가족적) 형태를 모방할 가능성이 더 크다. 그러나 조기 발병 가족성 알츠하이머병은 알츠하이머병 사례의 5% 미만을 차지하므로 산발적인(sporadic) 인간 알츠하이머병에서 볼 수 있는 훨씬 더 일반적이고 늦은 발병(late-onset) 진행을 모방하는 마우스 모델이 필요하다. 산발성 알츠하이머병에는 여러 원인이 있지만 인간에서 가장 강력한 유전적 위험 인자는 아포지단백 Eε4 대립유전자이다. 따라서, 이 연구에서 본 발명자들은 ApoE4 녹인(Knock-in) 마우스의 인지 및 신경병리에 대한 청각 또는 시청각 자극의 효과를 조사하기 위해 늦은 발병 산발성 AD의 ApoE4 유전자 변형 녹인 마우스 모델을 임상적으로 관련성이 있는 산발적 AD의 모델로서 사용했다.

[0030]

방법

[0031]

실험동물 및 타임라인

[0032]

산발성 알츠하이머병의 실험 모델인 $Apo^{tm1.1(APOE^4)Adiuj}$ (ApoE4-KI) 생쥐를 사용하였고, 실험에는 12개월 된 수컷 생쥐를 사용하였다. 동물은 $23 \pm 2^\circ \text{C}$ 및 $55 \pm 10\%$ 습도에서 12시간 명암 주기(오전 8시부터 오후 8시까지) 하에 음식과 물을 자유롭게 공급했다. 본 연구는 가이드라인을 따랐으며 한림대학교 동물병원 동물관리위원회의 승인을 받았다(한림 2018-59, 대한민국 춘천). 25마리의 수컷 ApoE4-KI 마우스를 3개의 그룹으로 나누었다: N, 자극 없음($n = 5$); A(auditory), 청각 자극($n = 10$); 및 AV(audiovisual), 시청각 자극($n = 10$). 자극 전, 마우스는 5일 동안 Morris water maze(MYM) 훈련을 받았다. 청각 및 시청각 자극은 14일 동안 하루에 두 번 제공되었다. MYM 및 Y-maze(YM) 테스트를 포함한 행동 테스트는 청각 및 시청각 자극 전(0일) 및 후(7일, 14일)에

수행되었다. 감각 자극 후 14일 째에 뇌 분리하여 마우스를 안락사시켰다. 그런 다음 마우스 뇌 조직을 조직병리학적 및 생화학적 분석에서 평가했다(도 1).

[0033] **감각 자극 프로토콜**

[0034] 청각 자극 또는 청각 및 시각 복합 자극을 방음 챔버 시스템을 사용하여 14일(2시간/1일, 14일) 동안 마우스에 1일 2회 투여하였다. Synapse 소프트웨어는 디지털화된 데이터를 저장하고 동기화하는 데 사용되었으며 RZ6 다중 프로세서 하드웨어(Tucker-Davis Technologies, Inc.)는 다양한 자극을 마우스에 전달하는 데 사용되었다. 청각 자극의 경우 설정은 다음과 같다: 주파수; 40Hz, 온 타임(on time); 12.5msec, 시간 제한; 60분. 시각적 자극은 RZ6 멀티프로세서와 함께 내장된 LUX 라이트 드라이버를 사용하여 전달되었으며 다음 설정으로 제공된다: 백색광 LED, 파장; 400~700 nm, R; 680옴, 주파수; 40Hz, 온 타임(on time); 12.5msec, 시간 제한; 60분. 청각 및 시각 자극은 시간적으로 일치하여 AV 마우스에 청각 및 시각 자극을 동시에 전달할 수 있다.

[0035] **행동 테스트**

[0036] 1) 모리스 수중 미로(Morris water maze) 테스트

[0037] MWM 테스트는 공간 기억을 평가하는 데 사용되었다. 수중 미로 훈련을 위해 원형 수영장(경기장 직경, 100cm)에 무독성 흰색 페인트로 불투명하게 만든 물(온도, 26° C)을 채우고 북쪽, 남쪽, 동쪽 및 서쪽의 4개 벽에 시각적 신호를 배치했다. 탈출 플랫폼(탈출 구역 직경, 8cm)은 개방된 수영 경기장의 사분면 중 하나의 중앙에 배치되었고 수면 아래 1cm에 잠겼다. 모든 동물은 시험 사이에 최소 4시간을 두고 하루에 두 번 120초 동안 훈련되었다. 동물이 할당된 시간 내에 플랫폼을 찾지 못하면 일반적으로 동물을 집어 플랫폼에 10초 동안 놓은 다음 부드럽게 건조시키고 따뜻하게 하였다. 5일의 훈련 후, 마우스는 자극 시작과 그 후 7일 및 14일에 MWM을 수행했다. EthoVision XT(Noldus information Thenology, Leesburg, VA, USA) 비디오 추적 소프트웨어를 사용하여 마우스를 모니터링했다.

[0038] 2) Y 미로(Y maze) 테스트

[0039] 단기 및 공간 작업 기억은 자발적 교대를 측정하는 YM 테스트를 사용하여 평가되었다. Y자 모양의 미로(길이 40cm, 높이 12cm, 너비 10cm)는 120° 각도로 연결된 흰색 아크릴 수지로 만든 세 개의 팔로 구성된다. 마우스를 시작 팔 끝에 놓고 5분 동안 미로의 세 팔을 자유롭게 탐색할 수 있다. 그들의 행동은 비디오 카메라(Sony Corp., Tokyo, Minato, Japan)를 사용하여 기록되었고 위에서 설명한 대로 추적되었다. 주요 결과는 자발적 교대 비율(교대 지수 = 교대/최대 교대 × 100)이었다.

[0040] **조직학적 분석**

[0041] 1) 면역조직화학

[0042] 마우스의 좌반구를 제거하고 4% 파라포름알데하이드에 고정된 후 30% 수크로오스 용액에 담구었다. 뇌 조직은 임베딩 컴파운드를 사용하여 마운트하고, -80°C에서 동결한 다음 저온 유지 장치 마이크로톰(Leica, Wetzlar, Land Hessen, Germany)을 사용하여 슬라이스(30μm 두께)하였다. 냉동 절편 조직 슬라이드를 먼저 0.3% 과산화수소(H₂O₂)에서 15분 동안 배양하여 내인성 과산화효소 활성을 차단한 다음 2% 홀스 혈청에서 60분 동안 배양했다. 그런 다음 항-β-아밀로이드 1-42(1:250, Abcam, Cambridge, MA, UK) 항체에서 4° C에서 밤새 인큐베이션되었고, 1x 인산염 완충 식염수(1x PBS)에서 5분 동안 3회 세척되고, 2차 항체로서 홀스래디쉬 퍼옥시다제(HRP)-접합 염소 항토끼 IgG(1:200, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)에서 실온에서 120분 동안 인큐베이션한 후 세척하였다. 조직을 HRP 활성에 대해 분석하고, 3,3'-디아미노벤지딘으로 검출하고, 메이어 헤마톡실린으로 대조염색하고, 광학 현미경(Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Germany)으로 시각화했다. 아밀로이드 1-42 양성 세포는 Image J 프로그램(Image J, 1.49v, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)을 사용하여 검출 및 분석되었다.

[0043] 2) 말단-테옥시뉴클레오티드 전이효소 매개 Nick End 라벨링(TUNEL) 분석

[0044] 해마와 피질의 세포 사멸 세포는 실온에서 5분 동안 0.2% Triton X-100에서 투과된 조직 조각에서 DeadEnd 형광 측정 TUNEL 시스템(Promega, Madison, Wis, USA)을 사용하여 평가되었다. TUNEL 라벨링은 37° C에서 1시간 동안 재조합 말단 테옥시뉴클레오티드 트랜스퍼라제(rTdT) 효소 및 평형 완충액의 혼합물과 함께 뇌 조각을 인큐베이션하여 수행되었다. 슬라이드를 rTdT 정지 완충액에 15분 동안 놓아서 반응을 정지시켰다. 반응한 조직 조각을 1 μg의 4'6-diamidino-2-pheny lindole(Molecular Probes, Eugene, OR)/L로 대조염색하고 PBS에서 5분

동안 3회 행구었다. 형광 주사 현미경(Olympus, Shinjuku, Tokyo, Japan)을 사용하여 염색된 섹션을 캡처했다. TUNEL 양성 핵의 수는 Image J 프로그램(Image J, 1.49v, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)을 사용하여 결정되었다.

[0045] 생화학적 분석

[0046] 1) 아세틸콜린 분석

[0047] 오른쪽 반구에서 준비된 상등액의 아세틸콜린(Ach) 수준은 제조업체의 지침에 따라 비색 콜린/아세틸콜린 분석 키트(ab65345, Abcam, Cambridge, MA, UK)를 사용하여 측정되었다. 샘플 및 표준을 콜린 및 아세틸콜린에스테라제 분석 완충액과 함께 암실에서 30분 동안 반응시키고 GloMax Discover 마이크로플레이트 판독기(Promega, Madison, Wis, USA)에서 570 nm에서의 흡광도를 측정하였다. Ach 농도는 총 콜린과 유리 콜린 수준의 차이로 계산되었다(Ach = 총 콜린 - 유리 콜린).

[0048] 2) 세포사멸 단백질 분석

[0049] 신경 세포 사멸은 pro-apoptotic 및 anti-apoptotic 단백질 수준을 측정하여 분석되었다. 우반구를 1% 프로테아제 억제제를 함유하는 얼음처럼 차가운 RIPA 완충액에서 균질화하고 4° C에서 10분 동안 13,000 x g에서 원심분리하였다. Pierce BCA 단백질 분석 키트(Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 단백질 농도를 정량화했다. 단백질 샘플(20 µg)을 10분 동안 끓이고 10% 및 15% SDS-폴리아크릴아미드 겔에서 분리하고 PVDF 멤브레인(Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA)으로 옮겼다. 막을 0.1% Tween 20 및 2% 소 혈청 알부민을 포함하는 1x PBS로 4° C에서 밤새 차단한 다음 Bax(1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA), Bcl-2(1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA), caspase-3(1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA) 및 β-액틴(1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA). 2차 항체는 염소 항토끼 IgG(1:2500, Enzo Biochem Inc., Farmingdale, NY, USA) 및 염소 항-마우스 IgG(1:2500, Enzo Biochem Inc., Farmingdale, NY, USA)였다. 단백질 밴드는 Image J 프로그램(Image J, 1.49v, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)을 사용하여 이미지화되었다.

[0050] 통계 분석

[0051] 데이터는 평균 ± 평균의 표준 오차(SEM)로 표시됩니다. 이원 분산 분석(ANOVA)에 이어 Bonferroni 다중 비교 사후 테스트를 사용하여 다양한 그룹 및 시점에서 감각 자극을 평가했다. 일원 ANOVA에 이어 Bonferroni 다중 비교 사후 테스트가 세 그룹의 통계적 비교에 사용되었다. p 값 < 0.05는 통계적 유의성을 나타내는 것으로 간주되었다. 그래프패드 프리즘 8 소프트웨어(GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA)를 사용하여 수치를 생성하고 통계 분석을 수행했다.

[0052] 결과

[0053] 감각 자극 후 ApoE4 KI 마우스의 인지 기능 개선

[0054] MWM 테스트를 사용하여 ApoE4 KI 마우스의 공간 학습 및 기억 능력을 조사했다. 이동 거리, 속도(cm/s), 이동 확률(%), 이동하지 않은 확률(%), 사분면 내 시간(%), 절대 탈출 지연 및 상대 탈출 지연(비율)을 측정했습니다. MWM 테스트에서 A 그룹의 상대 탈출 대기 시간은 N 그룹보다 적었지만 그 차이는 유의하지 않았다(표 1). 감각 자극 데이터를 기반으로 한 양방향 ANOVA에서 MWM의 다른 매개변수에서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 1

				P-value		
	N	A	AV	Between times	Between groups	Interactions
				(F value)	(F value)	(F value)
Absolute escape latency in MWM						
Day 0	18.4±10.86	19.48±11.61	12.78±5.95	ns (0.7339)	ns (0.3360)	ns (0.4332)
Day 7	21.43±7.08	11.07±7.16	13.98±5.40			
Day 14	16.80±4.63	9.40±2.07	13.10±6.80			
Relative escape latency (ratio) in MWM						
Day 0	1±0.59	1±0.6	1±0.47	ns (1.165)	ns (0.2335)	ns (0.3123)
Day 7	1.16±0.38	0.57±0.37	1.09±0.42			
Day 14	0.91±0.25	0.48±0.11	1.03±0.53			
Absolute alternation (%) in YM						
Day 0	69.09±5.09	59.45±6.93	52.74±9.21	< 0.001* (11.59)	ns (2.111)	< 0.001* (4.116)
Day 7	80.77±5.00 [†]	65.51±5.34	45.9±7.78 [†]			
Day 14	43.17±1.67	71.46±8.10 [‡]	48.45±4.53 [‡]			
Relative alternation (ratio) in YM						
Day 0	1.00±0.07	1.00±0.12	1.00±0.17	< 0.05* (4.055)	ns (1.228)	< 0.05* (3.071)
Day 7	1.17±0.07	1.10±0.09	0.87±0.15			
Day 14	0.62±0.02 [#]	1.20±0.14 [#]	0.92±0.09			

[0055]

[0056]

상기 표 1에서 값은 평균 ± SEM으로 표시된다. 통계 분석은 양방향 ANOVA와 Bonferroni의 다중 비교 테스트로 구성되었다. N, 자극 없음; A, 청각 자극; AV, 시청각 자극; MWM, 모리스 수중 미로; YM, Y 미로; NS, 중요하지 않음. *, 양방향 ANOVA에서 통계적으로 유의함; †, 자극 후 7일째에 AV 그룹과 N 그룹 간의 통계적으로 유의한 차이(p < 0.05); ‡ 자극 후 14일째에 AV 그룹과 A 그룹 간의 통계적으로 유의한 차이(p < 0.05); #, 자극 후 14일째에 A군과 N군 간의 통계적으로 유의한 차이(p < 0.05).

[0057]

자발적 교대를 기반으로 한 단기 공간 작업 기억을 평가하기 위해 YM 테스트를 수행했다. 절대적 및 상대적 퍼센트 교대가 측정되었다. 감각 자극에 기반한 양방향 ANOVA는 절대적(시간, F = 11.59, p < 0.001; 그룹, F = 2.111, p = ns; 상호 작용, F = 4.116, p < 0.001) 및 상대적(시간, F = 4.055, p < 0.05; 그룹, F = 1.228, p = ns; 상호 작용, F = 3.071, p < 0.05) 교대에 대한 시간의 상당한 영향을 나타냈다. 사후 쌍별 비교(post-hoc pairwise test)는 N 그룹보다 AV 그룹(45.90 ± 7.78 대 80.77 ± 5.00, p < 0.05)에서 자극 후 7일째에 상당히 더 낮은 절대적 교대를 보여주었다. 자극 후 14일째에 절대적(71.46 ± 8.10 vs. 43.17 ± 1.67, p < 0.05) 및 상대적(1.20 ± 0.14 vs. 0.62 ± 0.02, p < 0.05) 교대 모두 A 그룹이 N 그룹보다 유의하게 더 높았다(도 2).

[0058]

감각 자극 후 ApoE4 KI 마우스의 해마에서 Aβ 침착 감소

[0059]

도 3은 청각 및 시청각 자극 후 ApoE4-KI 마우스에서 Aβ 발현 수준을 보여준다. 일방향 ANOVA 분석에서 해마 각질층(cornu ammonis; CA) 3 영역의 Aβ 발현 수준은 A 그룹(1174.67 ± 457.19 vs. 3282.00 ± 338.95)과 AV 그룹(1348.05 ± 263 ± 833 vs. 0092)에서 N 그룹보다 유의하게 낮았고, 이는 사후 쌍별 테스트(post-hoc pairwise test) (p < 0.01)에서도 볼 수 있다. 그러나 해마 CA 1, 2, 치상회(dentate gyrus), 피질을 포함한 다른 뇌 영역에서는 이러한 차이가 관찰되지 않았다(표 2).

표 2

	N	A	AV	P-value
CA1	51.60±23.96	314.10±155.14	384.70±110.97	ns
CA2	113.60±86.41	269.10±99.82	251.30±76.63	ns
CA3	3282.00±338.95	1174.67±457.19 [†]	1348.00±263.17 [‡]	< 0.001*
DG	93.00±56.88	217.20±90.11	128.40±39.66	ns
Cortex	322.20±145.70	651.10±227.3	441.40±139.60	ns

상기 표에서 값은 평균 ± SEM으로 표시된다. 통계 분석은 일원 ANOVA와 Bonferroni의 다중 비교 테스트로 구성되었다. N, 자극 없음; A, 청각 자극; AV, 시청각 자극; NS, 중요하지 않음; *, 일원 분산 분석에서 통계적으로 유의함; †, A군과 N군 사이의 해마 CA3 영역의 통계적으로 유의한 차이(p < 0.001); ‡ AV 그룹과 N 그룹 사이의 해마 CA3 영역에서 통계적으로 유의한 차이(p < 0.001).

감각 자극 후 ApoE4 KI 마우스의 해마에서 세포 사멸 감소

TUNEL 염색을 사용하여 해마 및 피질 세포에서 세포사멸사에 대한 감각 자극의 효과를 관찰했다. 도 4는 ApoE4-KI 마우스의 청각 및 시청각 자극 후 세포의 TUNEL 양성을 나타낸다. 일원 ANOVA에서 해마 CA3 영역의 TUNEL 양성은 N 그룹보다 A 그룹(0.11 ± 0.03 vs. 0.39 ± 0.16)과 AV 그룹(0.13 ± 0.03 vs. 0.39 ± 0.16)에서 유의하게 낮았고, 이는 post-hoc pairwise 테스트에서도 볼 수 있다(p < 0.01). 대조적으로, 이 차이는 해마 CA 1, 2, 치상회 및 피질을 포함한 다른 뇌 영역에서는 관찰되지 않았다(표 3).

표 3

	N	A	AV	P-value
CA1	0.10±0.04	0.05±0.01	0.07±0.03	ns
CA2	0.07±0.03	0.05±0.02	0.12±0.11	ns
CA3	0.39±0.16	0.11±0.03 [†]	0.13±0.03 [‡]	< 0.01*
DG	0.11±0.06	0.04±0.01	0.04±0.01	ns
Cortex	0.11±0.06	0.05±0.02	0.07±0.02	ns

상기 표에서 값은 평균 ± SEM으로 표시된다. 통계 분석은 일원 ANOVA와 Bonferroni의 다중 비교 테스트로 구성되었습니다. N, 자극 없음; A, 청각 자극; AV, 시청각 자극; NS, 중요하지 않음; *, 일원 분산 분석에서 통계적으로 유의함; †, A군과 N군 사이의 해마 CA3 영역의 통계적으로 유의한 차이(p < 0.05); ‡ AV 그룹과 N 그룹 사이의 해마 CA3 영역에서 통계적으로 유의한 차이(p < 0.05).

감각 자극 후 ApoE4 KI 마우스에서 뇌 아세틸콜린 수준의 변화

총 콜린, 유리 콜린 및 Ach 수준은 청각 및 시청각 복합 자극을 받거나 받지 않은 세 그룹의 마우스에서 유의하게 달랐다. ELISA 결과 A군과 AV군이 N군보다 유의하게 더 높은 총 콜린, 유리 콜린, Ach 수치를 보였으나(표 4, p < 0.001), A군과 AV군 사이의 차이는 유의하지 않았다(도 5).

표 4

	N	A	AV	P-value
Total choline (nmol/mg)	149.31±18.79	422.72±28.58 [†]	465.66±51.82 [‡]	< 0.001*
Free choline (nmol/mg)	7.47±0.94	21.14±1.43 [†]	23.28±2.59 [‡]	< 0.001*
Acetylcholine (nmol/mg)	31.01±3.14	44.77±2.46 [†]	48.02±2.30 [‡]	< 0.001*

[0069]

[0070]

상기 표에서 값은 평균 ± SEM으로 표시된다. 통계 분석은 일원 ANOVA와 Bonferroni의 다중 비교 테스트로 구성되었다. N, 자극 없음; A, 청각 자극; AV, 시청각 자극; *, 일원 분산 분석에서 통계적으로 유의함; †, A군과 N군 사이의 해마 CA3 영역의 통계적으로 유의한 차이(p < 0.001); ‡ AV 그룹과 N 그룹 사이의 해마 CA3 영역에서 통계적으로 유의한 차이(p < 0.001).

[0071]

감각 자극 후 ApoE4 KI 마우스에서 세포 사멸 관련 단백질의 변화

[0072]

청각 및 시청각 자극을 받은 ApoE4-KI 마우스에서 세포사멸 관련 단백질 Bax, Bcl-2, caspase-2 및 β-액틴 대조군의 웨스턴 블롯 밴드 및 상대 발현 수준이 도 6에 나와 있다. Western blot에서 pro-apoptotic protein의 발현은 N group보다 A group에서 유의하게 낮았다(Bax, 0.64 ± 0.06 vs. 0.99 ± 0.10, p < 0.01; caspase-3, 1.20 ± 0.10 vs. 1.48 ± 0.08, p < 0.05). Bax의 발현은 AV 그룹이 N 그룹보다 유의하게 낮았고(0.64 ± 0.06 vs. 0.97 ± 0.11 vs., p < 0.01), 항세포사멸 단백질 Bcl-2의 발현은 유의하게 더 높았다(1.96 ± 0.19 vs. 1.49 ± 0.13, p < 0.05)(표 5).

표 5

Apoptosis-related proteins	N	A	AV	P-value
Bax / β-actin	0.99±0.10 ^{††}	0.64±0.06 ^{††, ##}	0.97±0.11 ^{##}	< 0.01*
Bcl-2 / β-actin	1.76±0.16	1.49±0.13 [#]	1.96±0.19 [#]	< 0.05*
Caspase 3 / β-actin	1.48±0.08 [†]	1.20±0.10 [†]	1.36±0.09	< 0.05*

[0073]

[0074]

상기 표에서 값은 평균 ± SEM으로 표시된다. 통계 분석은 일원 ANOVA와 Bonferroni의 다중 비교 테스트로 구성되었다. N, 자극 없음; A, 청각 자극; AV, 시청각 자극; *, 일원 분산 분석에서 통계적으로 유의함; †, A 그룹과 N 그룹 간의 통계적으로 유의한 차이(p < 0.05); ††, A 그룹과 N 그룹 간의 통계적으로 유의한 차이(p < 0.01); #, AV와 A 그룹 간의 통계적으로 유의미한 차이(p < 0.05); ##, AV와 A 그룹 간의 통계적으로 유의한 차이(p < 0.01).

[0075]

논의

[0076]

이 연구에서는 산발성 알츠하이머병의 실험 모델인 ApoE4-KI 마우스의 인지 및 신경병리에 대한 청각 및 시청각 자극의 효과를 조사했다. 단기 및 공간 작업 기억을 평가하는 데 사용되는 YM 테스트에서 A 그룹이 N 그룹보다 유의하게 더 나은 수행을 보였다. 조직학적 분석에서 해마 CA3 부위의 Aβ 발현과 TUNEL 양성 모두 A군과 AV군이 N군보다 유의하게 낮았다. 총콜린, 유리콜린, Ach 수치를 측정한 결과 A군과 AV군이 N군보다 유의하게 높은 수치를 보였다. pro-apoptotic protein Bax와 caspase-3의 발현은 A군에서 유의하게 낮았고, anti-apoptotic protein Bcl-2의 발현은 N군보다 AV군에서 유의하게 높았다.

[0077]

현재까지 인지 또는 행동 수행에 대한 청각 자극의 유익한 효과에 대한 대부분의 증거는 동물 연구보다는 임상

연구에서 나왔다. 치매가 없는 노인과 기억상실 정도인지장애 환자에서 수면 중에 적용된 청각 자극은 아침 단어 회상에 긍정적인 영향을 미쳤다. 40Hz에서 전달되는 시각 자극과 결합된 청각 자극은 인지 능력, 주변 인식, 상호 작용 토론/스토리텔링 능력 및 알츠하이머병 환자의 각성을 향상시키는 것으로 나타났다. 동물 연구에서 5x-FAD 마우스의 공간 기억과 인식은 40Hz 청각 자극 후 개선되었으며 MWM, 새로운 물체 인식 및 새로운 물체 위치 작업을 포함한 행동 테스트를 사용하여 평가되었다. 5x-FAD 및 타우병증 마우스 모델에 대한 연구에서 40Hz 또는 감마 진동에서의 청각 자극은 아밀로이드 수준을 감소시켰다. 빛에 의한 감마 진동과 결합된 청각 자극은 소교세포 클러스터링 반응을 생성하고 생쥐의 내측 전전두엽 피질에서 아밀로이드 함량을 감소시켰다. 이러한 결과는 여러 뇌 영역에 걸쳐 광범위한 효과를 갖는 여러 감각 양식이 인지 기능을 향상시킬 수 있음을 시사한다. 유사하게, 우리 연구는 ApoE4 KI 마우스에서 감마 주파수 청각 자극 후인지 기능과 신경 병리학의 개선을 보여주었다. 그러나 마우스의 시청각 자극은 청각 자극 단독보다 더 나은 결과를 산출하지 못했다.

[0078] 알츠하이머병 치료제 개발에 사용되는 대부분의 마우스 모델은 APP, PSEN1 또는 PSEN2의 돌연변이에 의해 유발되는 가족성 알츠하이머병을 기반으로 하지만 대부분의 알츠하이머병 환자는 후기 발병 산발성 알츠하이머병을 앓고 있다. 따라서 우리의 연구는 산발성 AD의 마우스 모델인 ApoE4 KI 마우스를 조사했다. 이러한 형태의 알츠하이머병에 대한 강력한 위험 요소는 골수 세포 2(TREM2)에서 발현되는 유발 수용체의 드문 점 돌연변이와 함께 아포지단백 E ϵ 4 대립 유전자이다. 임상적 관련성이 있는 검증된 새로운 인간화 APOE ϵ 4/ ϵ 4 마우스 계통의 사용은 이 연구의 이점이었다.

[0079] 본 발명에서 해마 CA3 영역의 A β 발현 수준은 유의하게 낮았고 콜린성 시스템의 마커는 N 군보다 A 및 AV 군에서 유의하게 더 높은 수준이었다. 해마 CA3 영역의 TUNEL 양성은 세포사멸 관련 단백질의 생화학적 분석 결과와 유사하게 A군과 AV군에서 N군보다 유의하게 낮았다. 이전 연구에서는 AD 환자에서 TUNEL 양성 세포와 아밀로이드 플라크 밀도 사이의 중간 정도의 상관관계를 발견했으며 A β 가 AD에서 세포 손상을 유발하는 여러 요인 중 하나라고 제안했다. 뇌에서 A β 의 침착은 알츠하이머병의 병리학적 변화에서 잘 확립된 중심 연결고리이다. 더욱이, A β 침착에 의해 촉발된 병리학적 과정은 추가 침착을 촉진하여 반응 캐스케이드로 이어진다. 또한 A β 는 신경 독성을 나타내어 신경 세포의 세포 사멸을 유도하고 결과적으로 인지 기능을 손상시키는 것으로 보고되었다. 알츠하이머병에서 콜린성 시스템의 이상은 또한 비정상적인 아밀로이드 전구체 단백질 대사과 타우 인산화를 유도하여 신경 독성, 신경 염증 및 세포 사멸을 유발한다. 우리의 결과는 청각 또는 시청각 자극이 콜린성 시스템에 영향을 미쳐 아밀로이드 축적을 줄이고 세포 사멸과 신경 손상을 억제한다는 것을 시사한다.

[0080] 5x-FAD 및 APP/PS1 마우스를 사용한 알츠하이머병 마우스 모델에 대한 이전 연구에서 40Hz 빛 깜박임 요법으로 구성된 시각 자극은 A β 및 미세아교세포 변환 수준을 줄이는 것 외에도 감마 진동을 유도했다. 40Hz에서 빛 깜박임을 사용하여 청각 및 시각 자극을 결합하면 5x-FAD 마우스의 해마, 청각 피질 및 내측 전두 피질에서 A β 병리를 감소시켰지만, 두 자극이 단독으로 사용된 경우에는 그렇지 않았습니다. 신경 퇴행의 마우스 모델에서 40Hz 톤의 깜박이는 빛과 소리 자극의 조합은 A β 플라크를 감소시켰을 뿐만 아니라 해마와 전두엽 피질을 포함한 고차원 뇌 영역으로 확장하는 더 광범위한 효과를 보였다. 감마파(~25-100Hz)는 인간 두뇌에서 가장 빠른 뇌 파이며 인지 기능, 특히 기억에 중요한 역할을 한다. 그들은 또한 뇌 내 의사 소통과 건강한 뇌 활동의 기본이다. 비정상적인 감마 진동은 마우스 모델과 인간 환자 모두에서 AD의 특징이다. 예비 임상 시험에서 알츠하이머병과 관련된 정도인지 장애가 있는 환자는 집에서 4주 또는 8주 동안 시청각 자극을 사용하여 매일 1시간 감마 깜박임을 받았다. 안정 상태 EEG, fMRI의 기본 모드 연결을 통한 신경 회로, 사이토카인의 변화를 통한 면역 신호 및 CSF의 면역 인자에 의해 입증된 신경 활동과 관련하여 유리한 결과가 보고되었다.

[0081] 그러나 시청각 자극은 청각 자극 단독으로 얻은 것보다 행동 테스트 또는 신경 병리학적 소견과 관련하여 더 나은 결과를 얻지 못했다. 우리 연구와 위에서 논의한 연구의 차이점은 AD 마우스 모델, 마우스의 연령 및 감각 자극의 지속 시간을 포함한 자극 프로토콜의 차이에 기인할 수 있다. 특히, 우리 연구에서 시청각 자극은 시간적으로 일치했다. 다중 감각 통합이라고 하는 다중 감각에 걸쳐 정보를 합성하는 능력은 단일 감각 자극의 시간 구조와 같은 상향식 자극 기능과 주의와 같은 하향식 프로세스에 의해 조절된다. 이전 연구에서는 시간적으로 밀접하게 전달된 두 개의 단일 모드 자극에 대한 반응이 이러한 반응의 합보다 더 크며, 쌍을 이루는 자극의 시간적 비동기가 증가함에 따라 다감각 향상의 크기가 감소했다. 우리의 연구에서 시청각 자극은 시간적으로 합동이며 쌍으로 제시되었습니다. 그러나 최근 연구에 따르면 공통 소스에서 동시에 발생하는 청각 및 시각 신호가 뇌의 다감각 뉴런에 도달하는 데 걸리는 시간은 신경 및 비신경 요인의 영향을 받는다. 소리는 빛보다 훨씬 느리게 이동하기 때문에 더 늦게 도착한다. 다른 연구에서는 시뮬레이션된 소스 거리가 증가함에 따라 청각 및 시각 자극의 정렬이 추가 사운드 이동 시간에 해당하는 양만큼 청각 자극 전달의 지연이 필요하다는 것을 보여주었다. 주의력 결핍이나 높은 수준의 의사 결정 충돌과 같은 인지 기능 장애가 있는 경우 이중 감각 자극

은 성능을 향상시키는 다감각 대상으로 처리되기보다는 동시 시각 및 청각 정보로 인식된다. 따라서 시청각 자극의 방법과 인지 기능 장애의 마우스 모델의 사용으로 인해 시청각 자극 후 원하는 다감각 통합 효과가 불가능했을 수 있다. 시청각 자극에 의한 다감각 통합의 효과를 조사하기 위해서는 보다 정확한 연구 방법에 기반한 추가 연구가 필요하다.

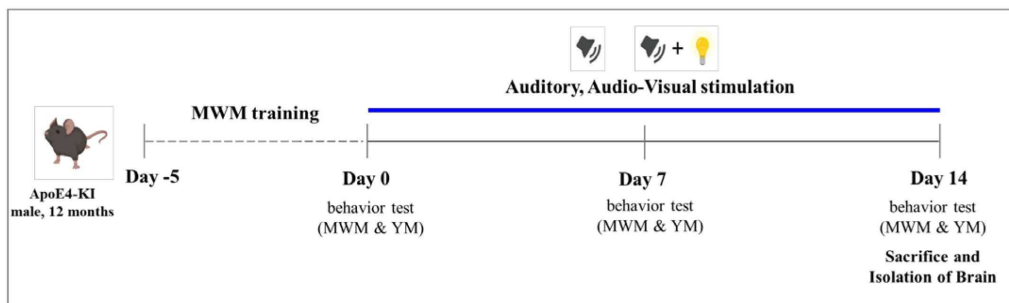
[0082] 위에서 언급한 바와 같이, 이전의 많은 알츠하이머병 연구는 조기 발병 가족성 알츠하이머병의 마우스 모델을 사용했지만 우리는 보다 흔한 후기 발병 산발성 알츠하이머병의 동물 모델인 ApoE4-KI 마우스를 사용했다. ApoE4-KI 마우스는 12개월에 시작하여 15-18개월에 분명하게 해마 의존적 학습 및 기억에서 연령 의존적 손상을 나타낸다. 이 연구에 사용된 12개월 ApoE4-KI 마우스의 병리학적 변화는 초기 단계 질병과 일치했지만 주로 해마의 CA3 영역에서 신경 병리학적 이상이 명백했다. AD에서 뇌의 일부 영역은 해마의 CA1 및 CA3 영역에서 해마 신경 밀도의 현저한 감소와 같이 질병의 초기 단계에서 신경 기능 장애로 이어지는 특정 퇴행 과정에 특히 취약하다. AD가 진행되는 동안 산화 스트레스 경로는 CA3 영역에서 활성화되고 CA1 영역으로 진행된 다음 다른 해마 및 피질 영역으로 계속 진행된다. 해마의 CA3 영역은 단기 기억 내에서 새로운 공간 정보를 인코딩하고 공간 정보의 기억 통합에 중요한 역할을 한다. 공간 작업 기억을 평가하기 위해 자발적 교대를 사용하는 YM 테스트에서 비정상은 해마의 CA3 영역에서 관찰되는 조직병리학적 비정상에 해당한다.

[0083] **결론**

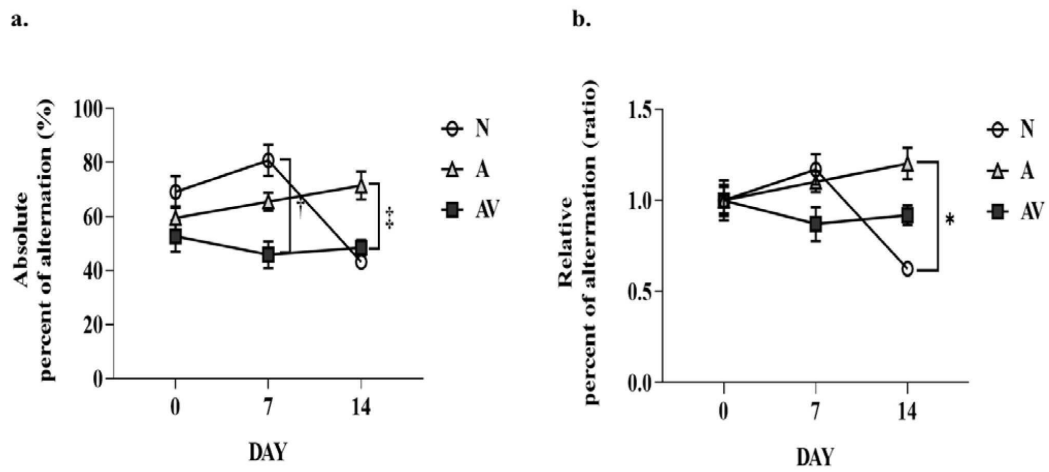
[0084] 본 발명은 40Hz에서 청각 또는 시청각 자극이 아밀로이드 수준을 감소시키고, 신경 세포 사멸을 억제하고, 해마에서 콜린성 전달을 강화함으로써 산발성 알츠하이머병 마우스 모델에서 인지 능력과 신경 병리학을 향상시킬 수 있음을 보여주었다. 이것은 임상적으로 가장 흔한 알츠하이머 유형인 후기 발병 산발성 알츠하이머병의 마우스 모델에서 청각 또는 시청각 자극의 치료 효과를 입증한 첫 번째 연구이다.

도면

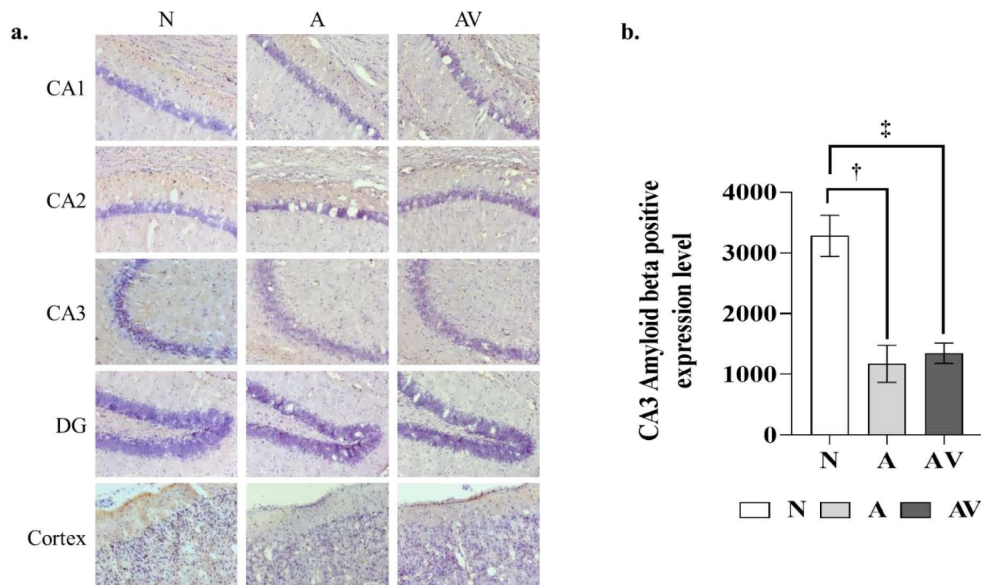
도면1



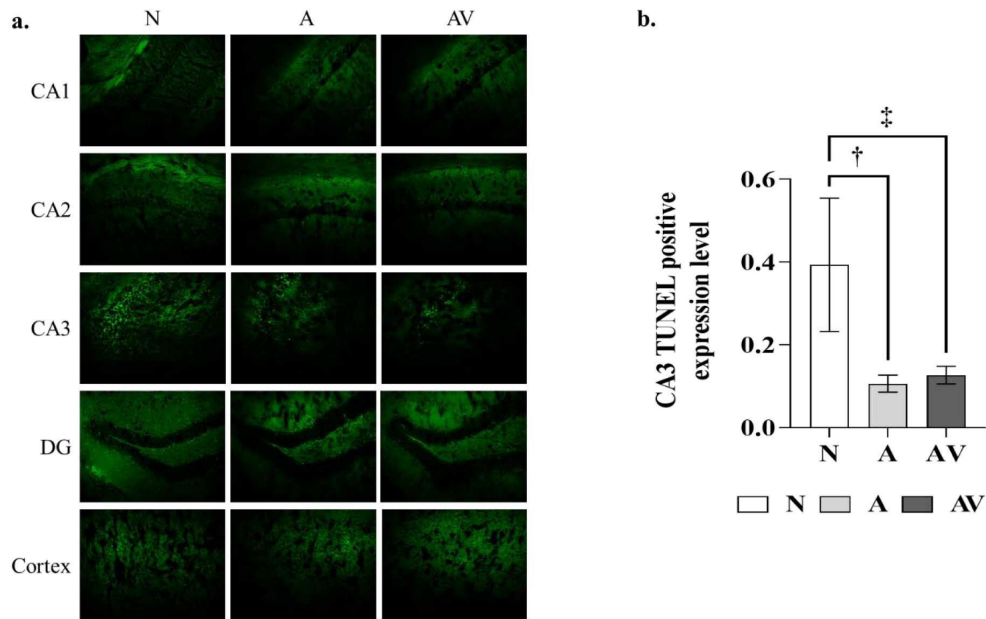
도면2



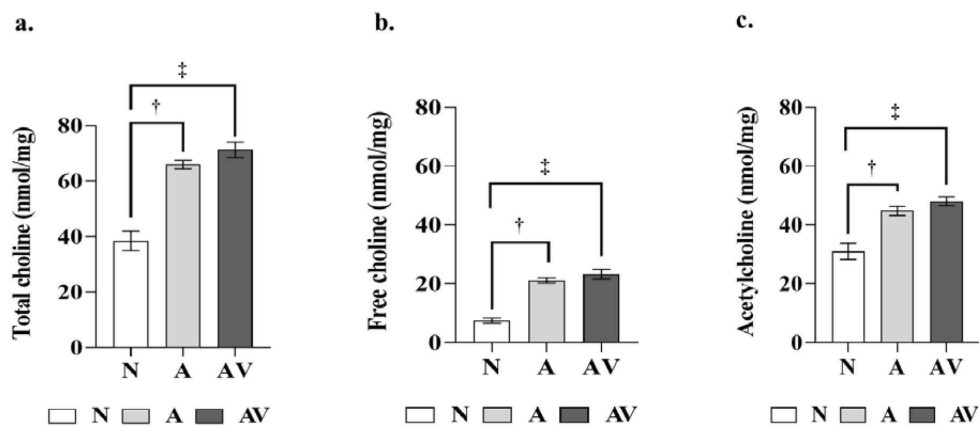
도면3



도면4



도면5



도면6

