



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](#)

의학박사 학위논문

강글리오사이드 경구 투여의

효능과 안전성: 중년 성인의

작업기억력 및 디폴트 모드

네트워크에의 영향

**Efficacy and Safety of Oral Ganglioside
Supplementation: Impact on Working
Memory and Default Mode Network in
Middle-Aged Adults**

2016 년 2 월

서울대학교 대학원

의학과 정신과학 전공

전 유 진

요약(국문초록)

서론: 뇌보호 효과가 있을 것으로 기대되는 기능성 성분을 경구로 복용함으로써 인지기능을 증진시키거나 뇌의 건강을 유지할 수 있는 방법에 대해 관심이 증가하고 있다. 강글리오사이드는 신경세포막에 정상적으로 존재하는 지질 중 하나로, 신경세포 생존과 시냅스 유지에 중요한 역할을 담당하고 있다. 동물 연구와 중증 뇌신경질환 환자를 대상으로 한 연구들에서 강글리오사이드 투여가 뇌가소성을 촉진하는 효과가 있다고 알려졌으나, 건강한 성인에서 인지기능 증진 효과가 있는지에 대해서는 연구된 바가 없다. 따라서, 이 연구는 중년의 성인이 강글리오사이드를 경구로 복용했을 때 인지기능 증진 효과가 있는지를 평가하고자 하였다. 아울러 강글리오사이드 투여가 인지기능의 효율적인 수행에 기여하는 디폴트 모드 네트워크에 변화를 일으키는지를 보고자 하였다.

방법: 이 연구는 건강한 성인 75명을 모집하여 무작위, 위약대조, 이중맹검 임상시험을 수행하였다. 기저시점에 강글리오사이드 저용량(330 μ g/d) 투여군 30명, 고용량(660 μ g/d) 투여군 30명과 위약대조군 15명으로 무작위 배정하였다. 세 군 모두 기저시점 및 8주차에 인지기능 검사를 시행하고 뇌자기공명영상을 통해 T1와 휴지기 기능적 MRI 영상을 찍었다. 8주차에는 강글리오사이드 저용량 투여군 26명, 강글리오사이드 고용량 투여군 28명과 위약대조군 13명이 방문을 완료하였다.

일차 평가 척도는 작업기억력 복합 점수로 삼았으며, 숫자 외우기, 글자-숫자 나열하기, 공간 작업 기억력, 공간 외우기와 정지 신호 과제를 시행하였다. 이차 평가 척도는 디폴트 모드 네트워크 내 회백질 부피와 기능적 연결성으로 정하였으며, 이를 분석하기 위해 고해상도 T1-강조 영상에 대한 복셀 기반 형태분석 및 휴지기 기능 뇌자기공명영상에 대한 독립 성분 분석을 시행하였다.

결과: 군 간 비교 분석에서 강글리오사이드 고용량 투여군($z = 2.25$, p for interaction = 0.025)과 저용량 투여군($z = 2.13$, p for interaction = 0.033) 모두 위약대조군에 비해 작업기억력 복합 점수가 더 증가하였다. 군 내 비교 분석에서 위약대조군은 시간에 따른 작업기억력 변화를 보이지 않았으며($z = -0.92$, p for time effect = 0.36), 강글리오사이드 고용량 투여군($z = 2.62$, p for time effect = 0.009)과 저용량 투여군($z = 2.18$, p for time effect = 0.029) 만이 시간에 따라 유의한 작업기억력 향상을 보였다. 중증 이상 반응은 관찰되지 않았으며, 강글리오사이드 투여군(고용량, 저용량)과 위약대조군 간에 유의한 실험실적 검사 이상 및 체질량 지수 변화에 차이는 보이지 않았다.

강글리오사이드 투여군이 위약대조군에 비해 다음과 같은 부위에서 회백질 부피가 더 많이 증가하였다: 설전부[bilateral precuneus, (x, y, z) = (0, -66, 32), cluster size = 4529mm³, maximum t = 5.06], 내측 전전두엽[right paracingulate, (x, y, z) = (12, 50, 10), cluster size = 1632 mm³, maximum t = 3.91], 아래 두정피질[left inferior parietal cortex, (x, y, z) = (-46, -72, 30), cluster size = 936 mm³, maximum t = 4.68], 후대상회[left posterior cingulate cortex, (x, y, z) =

(-8, -46, 36), cluster size = 488mm³, maximum t = 3.38]. 또한, 강글리오사이드 투여군이 위약대조군에 비해 후대상회/설전부[(x, y, z) = (-14, -58, 32), cluster size = 640mm³, maximum t = 3.44]의

기능적 연결성이 유의하게 증가하였다. 위약대조군이

강글리오사이드 투여군에 비해 회백질 부피 및 기능적 연결성 증가가 더 큰 부위는 없었다.

강글리오사이드 투여군의 작업 기억력 복합 점수 변화와 설전부의 기능적 연결성 변화간에는 유의한 양의 상관관계가 관찰되었다($r = 0.44$, $p = 0.001$).

결론: 이 연구는 강글리오사이드 경구 복용 이후에 중년 성인에서 작업기억력 수행이 향상되는 동시에 디폴트 모드 네트워크에 구조적, 기능적 변화가 동반됨을 처음으로 보고하였다. 이 연구의 중요성은 뇌가소성을 증진시키는 기능성 원료가 인지기능 증진에 효과가 있을 가능성에 대한 인지기능 증거뿐만 아니라 뇌영상 근거를 제시한 데에 있다.

주요어: 강글리오사이드, 작업기억력, 디폴트 모드 네트워크, 기능적 연결성, 복셀 기반 형태분석법, 뇌자기공명영상

학 번: 2011-30577

목 차

초록	i
목차	iv
표 목록	v
그림 목록	vii
약어 목록	ix
서론	1
연구 재료 및 방법	21
결과	41
고찰	69
참고문헌	86
초록 (영문)	100

표 목 록

Table 1.1. Summary of Randomized Trials on Cognitive Improvement in Middle-Aged Adults	4
Table 1.2. Summary of Neuroimaging Studies on Cognitive Intervention in Healthy Adults	7
Table 1.3. Summary of Studies Examining Ganglioside Effects on the Brain	15
Table 3.1. Characteristics and Baseline Measures of Study Participants.....	44
Table 3.2. Cumulative Incidence of Adverse Events Occurring During the Treatment Period	48
Table 3.3. Summary of Laboratory Monitoring for Safety Assessments Obtained at Each Study Visit.....	49
Table 3.4. Changes Within and Between Treatment Groups in Adjusted Z-Scores of Working Memory Domains from Baseline to Week 8	53

Table 3.5. Detailed Information of Significant Clusters of Voxel-
Based Morphometric Analysis with Ganglioside Treatment..... 58

Table 3.6. Region with Significant Treatment Group-by-Time
Interaction on Gray Matter Volumes in the Default Mode Network
..... 59

Table 3.7. Detailed Information of Significant Clusters of Voxel-
Based Morphometric Analysis in the High-Dose Ganglioside
Group 60

Table 3.8. Detailed Information of Clusters that Showed
Significant Functional Connectivity Increase with Ganglioside
Treatment 64

Table 3.9. Cluster Information of Functional Connectivity Analysis
in the Low-Dose Ganglioside Group..... 65

그림 목록

Figure 2.1 Default Mode Network: The Region of Interest	31
Figure 2.2. Study-specific Default Mode Network Identified Using a Group Independent Component Analysis (ICA)	36
Figure 3.1. Flow Diagrams of Study Participants for Screening, Exclusions, Randomization, and Follow-up	43
Figure 3.2. Effects of Ganglioside on Working Memory Performance	52
Figure 3.3. Effects of Ganglioside on Gray Matter Volumes in the Default Mode Network	56
Figure 3.4. Treatment Group-by-Time Interaction on Gray Matter Volumes in the Default Mode Network	61
Figure 3.5. Effects of Ganglioside on Functional Connectivity in the Default Mode Network	63
Figure 3.6. Treatment Group-by-Time Interaction on Functional Connectivity in the Default Mode Network	66

Figure 3.7. Significant Association Between Ganglioside-Induced
Changes in Functional Connectivity of the Posterior Cingulate
Cortex/Precuneus and Changes in Working Memory
Performance..... 68

약어 목록

Ab, amyloid beta
ACC, anterior cingulate cortex
AD, Alzheimer dementia
ASL, arterial spin labeling
BDNF, brain-derived neurotrophic factor
BET, brain extraction tool
CANTAB, Cambridge neuropsychological test automated battery
CBF, cerebral blood flow
CEN, central executive network
DHA, docosahexaenoic acid
DMN, default mode network
DTBZ, dihydrotetrazine
DTI, diffusion tensor imaging
EPA, eicosapentaenoic acid
FA, flip angle / fractional anisotropy
FAST, FMRIB's automated segmentation tool
FDG-PET, fluorodeoxyglucose positron emission tomography
FLAIR, fluid-attenuated inversion recovery
FLIRT, FMRIB's linear image registration tool
fMRI, functional magnetic resonance imaging
FNIRT, FMRIB's nonlinear image registration tool
FSL, FMRIB's Software Library
FOV, field of view
FWHM, full width at half maximum
GM, gray matter
HARS, Hamilton anxiety rating scale
HDRS, Hamilton depression rating scale
ICA, independent component analysis
IPC, inferior parietal cortex
IPL, inferior parietal lobule
MELODIC, Multivariate exploratory linear optimized decomposition
into independent components
MFG, middle frontal gyrus
MMSE, mini mental status examination
MNI, Montreal Neurological Institute
mPFC, medial prefrontal cortex
MRI, magnetic resonance imaging
MTG, middle temporal gyrus

NEX, number of excitation
NMDA, N-methyl-D-aspartate
PASL, pulsed arterial spin labeling
PCC, posterior cingulate cortex
PET, positron emission tomography
PFC, prefrontal cortex
PUFA, polyunsaturated fatty acid
RAVLT, Rey Auditory Verbal Learning Test
ROI, region of interest
RT, reaction time
SEM, standard error of mean
SFG, superior frontal gyrus
SMCQ, subjective memory complaint questionnaire
SPL, superior parietal lobule
SSRT, stop-signal reaction time
STG, superior temporal gyrus
TBSS, tract-based spatial statistics
TE, echo time
TR, repetition time
UKU, Udvalg for Kliniske Undersogelser
VBM, voxel-based morphometry
WM, white matter

서론

1. 인지기능 향상의 임상적 의의와 선행 연구

1.1. 임상적 의의

인지기능은 일상생활을 영위하는데 필요한 핵심적인 요소로 삶의 질에 지대한 영향을 끼친다 (1). 최근 질병으로 인한 인지기능 저하에 대한 치료 방법뿐만 아니라 건강한 사람에서 인지기능을 향상시킬 수 있는 방법에 대한 관심이 증대하였다. 또한, 평균 수명이 증가함에 따라 나이가 들어도 인지기능 수준을 유지할 수 있는 중재 방법에 대한 수요가 증가하고 있다. 인지기능 증진을 목적으로 약을 복용해 본 적이 있는 비율이 5-20%로 보고되며, 이러한 역학 자료를 통해 인지기능 향상에 대한 수요가 많음을 알 수 있다 (2, 3).

건강한 인구 집단에서 인지기능을 향상시키기 위해 운동, 인지 훈련(cognitive training) 및 기능성 식품(nootropics) 섭취 등의 예방적 중재 방법이 주로 시도되고 있다 (4-7). 도파민, 아세틸콜린과 같이 인지기능에 관여하는 주요 신경전달물질의 농도를 증가시키는 약물의 경우, 남용 및 부작용 가능성으로 인해 건강한 인구집단에서 인지기능개선제로 사용되기는 어렵다. 건강한 인구 집단에서 인지기능을 향상시키는 것은 질병이 있는 환자를 치료하는 경우가 아니므로, 중재 방법의 안전성이 확보되는 것이 중요하다. 뇌가소성을 촉진하는 기능성 식품을 섭취하면 인지기능이 향상될 것이라고 기대하고 있으며, 뇌가소성 촉진의 기전으로는 뇌에 손상을 줄 수 있는 산화 스트레스의 감소, 심혈관계

위험인자의 교정, 뇌혈류 개선 및 신경영양효과 촉진에 있다 (8, 9).

인지기능 향상에 대한 관심이 증가하고 있음에도 불구하고, 건강한 인구 집단에서 인지기능 개선에 도움이 될 수 있는 중재 방법은 아직까지 명확하지 않다. 여러 중재 방법의 인지기능 개선 효과 여부를 알아보기 위한 기존 연구들은 서로 상충된 결과를 보이기도 하여, 어떤 중재 방법의 인지기능 개선 효과를 판단하기 위해서는 객관적이고 민감한 평가 척도를 사용한 체계적인 연구가 필요하다.

이 연구에서는 지역사회에서 생활하고 있는 중년을 대상으로 뇌보호 효과가 있다고 알려진 강글리오사이드를 경구로 보충했을 때, 인지기능 향상 효과가 있는지를 평가하고자 하였다. 이를 위해 무작위 배정 이중맹검 디자인의 임상시험을 수행하고, 평가 척도로는 객관적인 인지기능 검사 도구와 뇌의 변화를 민감하게 감지할 수 있는 뇌영상 지표를 사용하였다.

1.2. 인지기능 향상에 대한 임상시험

인지기능 개선 효과를 살펴본 임상시험은 연구마다 다양한 인지기능 영역을 평가하였는데, 어떤 중재를 시도했을 때 작업기억력 및 실행기능이 유의한 향상을 보이는 대표적인 영역이었다 (7, 10, 11). 작업기억력과 실행기능은 여러 인지기능 영역 중에서도 노화에 영향을 많이 받는 영역으로, 나이가 증가하면서 감소한다 (12). 작업기억력이나 실행기능이 저하되면 일상생활에서의 미세한 인지기능 실패가 반복되고 삶의 질이 저하된다 (13). 임상적으로 유의한 기억력 저하가 없는 정상 인구 집단에 대한 인지기능 중재 연구 중 기억력 증진을 평가 척도로 삼은 경우 음성 결과를 보고하기도 하였다 (14, 15). 따라서 이

연구에서는 인지기능 영역 중에서도 작업기억력에 초점을 맞추어, 전산화 인지기능 검사를 포함하여 작업기억력의 전후 변화를 민감하게 평가할 수 있는 평가 도구를 사용하고자 하였다 (16).

기능성 식품을 섭취하여 특정 영양 성분을 경구로 보충하는 것이 인지기능 개선 효과가 있는지를 살펴본 선행연구 중에 대규모 후향적 연구가 많으며, 임상시험은 상대적으로 적은 편이다. 임상시험 중에서도 무작위 배정, 위약 대조, 이중 맹검, 전향적 중재로 진행되지 않은 경우에는 연구디자인으로 인해 결과를 해석하는 데에 제한이 있다. 인지기능 개선 효과 여부를 평가하기 위해서는 대상 연령대를 어떻게 할지도 신중하게 고려해야 하는데, 연령대에 따라 보이는 정상 인지기능이나 뇌영상 소견에 차이가 날 수 있으며, 인지기능 개선의 핵심 기전도 다를 수 있다 (17).

인지기능 저하가 동반되는 질환이 있는 환자군, 퇴행성 뇌질환이 증가하는 노년기, 학습 성취에 대한 부담을 느끼는 학생 및 젊은 성인에서 연구가 상대적으로 많이 시행되었으며, 그 이외에 지역사회 인구 집단이나 중년의 연령대 등 다양한 인구 집단에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 연구대상자의 본래 인지기능 수준은 다양할 수 있어, 인지기능에 영향을 줄 수 있는 나이, 우울, 불안, 교육 수준 등 잠재적 교란변수를 함께 평가하고 기저시점의 연구대상자 인지기능 수행 정도를 감안하여 분석을 할 필요가 있다. 최근 중년을 대상으로 수행된 무작위 임상시험의 결과를 표 1.1에 요약하였다.

Table 1.1 Summary of Randomized Trials on Cognitive Improvement in Middle-Aged Adults

Authors (Year)	Age	Sample size	Methods	Results
Alharbi (2015) (18)	30-65	24	Flavonoid-rich orange juice (272mg) or placebo (single dose)	↑ Executive function, psychomotor speed (6hr)
Best (2015) (19)	45-60	73	Non-starch polysaccharides (4g) or sucrose control or placebo (single dose)	↑ Recognition, working memory performance
Azhar (2013) (20)	35-65	20	Chicken meat ingredient-168 or placebo (6 weeks)	↑ Working memory (digit span backward, letter-number sequencing), RAVLT (6, 8 weeks)
Thorp (2009) (14)	30-80	34	Soya isoflavones or placebo (6 weeks, cross-over trial)	↑ Spatial working memory
Best (2009) (4)	45-60	109	Saccharide (3.6g/d) or placebo (12 weeks)	↑ Immediate recall (RAVLT), recognition memory (moderate effect size)
Pipingas (2008) (21)	50-65	42	Flavonoids (768mg/d) + vitamin C (120mg/d) or vitamin C (120mg/d) (5 weeks)	↑ Spatial working memory, visuospatial recognition
Durga (2007) (22)	50-70	818	Folic acid (800µg/d) or placebo (3 years)	↑ Memory, sensorimotor speed, information processing speed
Maylor (2006) (23)	55-87	387	Zinc (15 or 30mg/d) or placebo (6 months)	↑ Spatial working memory (3 months)

Duffy (2003) (24)	50-65	33	Soya supplement (60mg total isoflavone equivalents/d) or placebo (12 weeks)	↑ Episodic memory, sustained attention, frontal lobe functions in postmenopausal women No significant change in menopausal symptoms, mood, bodily symptoms or sleepiness
Wesnes (2000) (7)	38-66	256	Ginkgo/ginseng combination or placebo (12 weeks)	↑ Memory index (working memory, word recognition, immediate recall, delayed recall, picture recognition)

Abbreviations: RAVLT, Rey Auditory Verbal Learning Test

1.3. 인지기능 향상에 대한 뇌영상 연구

임상 연구에서 인지기능 향상의 기전과 연관된 뇌내 변화를 관찰하기 위해 뇌영상 지표를 함께 측정하는 것이 권유되고 있다. 인지기능 향상의 효과를 평가하는 중재 연구 중 뇌영상 지표를 사용한 선행 연구는 아직 많지 않으며, 최근 들어 증가하고 있는 추세이다 (표 1.2) (8, 25, 26).

뇌영상 지표는 크게 구조적 뇌영상과 기능적 뇌영상으로 나눌 수 있으며, 구조적 뇌영상 방법으로는 회백질 부피, 대뇌 피질 두께, 또는 백질을 측정하여 구조적 연결성을 평가하는 방법들이 있다. 기능적 뇌영상 방법론으로는 과제를 수행하는 동시에 뇌자기공명영상을 찍어서 뇌의 활동을 분석할 수 있고, 그 외에 휴지기 기능적 연결성, 뇌자기공명영상을 이용한 대뇌 영역별 혈류 분석, 그리고 방사성 동위원소를 사용하여 대뇌의 대사 활동을 측정하는 양전자 방출 단층 촬영이 있다. 선행 연구들을 검토하였을 때, 뇌가소성의 뇌영상 평가 척도로 휴지기 기능적 연결성을 사용한 연구가 많다 (8, 26, 27). 기능적 뇌영상은 정상 노화로 인한 뇌의 차이뿐만 아니라 중재로 인한 뇌의 변화도 민감하게 반영하므로 (28), 중재 방법의 인지기능 향상 여부를 평가할 때 유용하게 사용할 수 있다 (29).

Table 1.2. Summary of Neuroimaging Studies on Cognitive Intervention in Healthy Adults

Authors (Year)	Subjects (n)	Intervention	Outcome Measure	Results
Multimodal neuroimaging				
Chapman (2015) (8)	Healthy older adults (37)	Cognitive training vs wait-list control (12 weeks)	Resting-state CBF (ASL), functional connectivity (fMRI), structural connectivity (DTI)	↑ Global and regional CBF in DMN, CEN ↑ Functional connectivity in DMN, CEN ↑ WM integrity in left uncinate ↑ Executive function
Lampit (2015) (30)	Healthy older adults (12)	Multidomain computerized cognitive training vs active control intervention (12 weeks, 36 sessions)	VBM, cortical thickness analysis, resting-state functional connectivity, MRS, DTI (baseline, 3 weeks, 3 months)	↑ GM density in right postcentral gyrus (3 weeks, 3 months) Positive correlations between postcentral gyrus GM change and global cognition (3 months) ↓ Annualized rate of cortical thickness change in left fusiform gyrus, right supramarginal gyrus, postcentral gyrus (3 months) ↑ Resting-state functional connectivity between PCC and SFG, right hippocampus and STG (3 weeks)
Mozolic (2010) (25)	Healthy older adults (66)	Cognitive training vs educational control program (8 weeks)	Resting-state CBF (PASL), GM volume (VBM)	↑ Resting-state CBF in prefrontal cortex No change in GM volume

Structural neuroimaging				
Witte (2014) (9)	Healthy older adults (65)	Fish oil (long-chain omega-3 PUFA) supplementation vs placebo (26 weeks)	GM volume (VBM), structural connectivity (DTI - TBSS)	↑ GM volume in left hippocampus, precuneus, STG, IPL, postcentral gyrus, right MTG ↑ FA in frontal, temporal, parietal, limbic areas ↑ Executive function Positive correlation between executive function improvement and BDNF level
Engvig (2010) (31)	Middle aged, elderly healthy adults (45)	Memory training program vs passive control (8 weeks)	Cortical thickness analysis	Positive association between improvement in source memory performance and changes in cortical thickness of right fusiform, lateral orbitofrontal cortex
Functional neuroimaging				
Lamport (2015) (32)	Healthy older adults (18)	Cocoa flavanol: low(23mg) or high(494mg) (single dose)	Resting-state CBF (ASL)	↑ Regional CBF in ACC, central opercular cortex (parietal lobe)
Bauer (2014) (33)	Healthy young adults (13)	EPA-rich (30 day) - washout (30 day) - DHA-rich (30 day) (counter-balanced)	BOLD activity during Stroop, spatial working memory task (fMRI)	Both (EPA, DHA): ↑ Functional activation in right precentral gyrus during Stroop EPA-rich supplementation: ↓ Functional activation in left ACC, reaction time (Stroop task) DHA-rich supplementation: ↑ Functional activation in right precentral gyrus during spatial working memory task

Brickman (2014) (34)	Healthy older adults (37)	Cocoa flavanol diet (high, low) ± aerobic exercise (3 month)	Dentate gyrus cerebral blood volume mapping using high-resolution fMRI	↑ Cerebral blood volume in hippocampal body (dentate gyrus, subiculum) Positive association between modified Benton Visual Retention test performance and cerebral blood volume in the right hippocampal body
Li (2014) (35)	Healthy older adults (45)	Multimodal intervention (6 weeks) vs two 120-min lecture	Resting-state functional connectivity within DMN	↑ Resting-state functional connectivity between mPFC and left parahippocampal cortex Positive correlation between resting-state functional connectivity and executive performance
Schmidt (2014) (27)	Healthy adults (12)	Green tea extract (27.5g) or control (Counter-balanced, within-subject design, single dose)	Fronto-parietal functional connectivity during working memory task (fMRI)	↑ Functional connectivity between right SPL and MFG Positive correlation between connectivity increase and task performance improvement
Witte (2014) (36)	Healthy older adults (46)	Resveratrol (polyphenol) vs placebo (26 weeks)	Functional connectivity of hippocampus (fMRI)	↑ Functional connectivity of hippocampus ↑ Word retention Positive correlation between left posterior hippocampus - mPFC functional connectivity increase and retention score increase
Narendran (2012) (37)	Healthy young adults (11)	n-3 PUFA (DHA + EPA) (6 months)	[¹¹ C]DBTZ PET	↑ Working memory performance (n-back task) No change in striatal vesicular monoamine transporter type 2

Mashayekh (2011) (38)	Healthy men (9)	Ginkgo biloba (60mg/d bid) (4 weeks)	Quantitative MR perfusion imaging	↑ Left parietal-occipital WM regional CBF, global CBF
Voss (2010) (26)	Healthy elderly adults (65) Young adult (32)	Aerobic fitness training or control (12 months)	Low frequency coherence of resting-state networks (fMRI)	↑ Functional connectivity within DMN, frontal executive network Positive correlation between functional connectivity and executive function
Small (2006) (39)	Healthy adults (17)	Health longevity lifestyle program or control (14 days)	[¹⁸ F]FDG-PET	↑ Word fluency ↓ Left dorsolateral prefrontal cortex activity (5%)

Abbreviations: ACC, anterior cingulate cortex; ASL, arterial spin labeling; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; CBF, cerebral blood flow; CEN, central executive network; DHA, docosahexaenonic acid; DMN, default mode network; DTBZ, dihydrotetrabenzine; DTI, diffusion tensor imaging; EPA, eicosapentaenoic acid; FA, fractional anisotropy; FDG, fluorodeoxyglucose; fMRI, functional magnetic resonance imaging; GM, gray matter; IPL, inferior parietal lobule; MFG, middle frontal gyrus; mPFC, medial prefrontal cortex; MTG, middle temporal gyrus; MR, magnetic resonance; MRS, magnetic resonance spectroscopy; PASL, pulsed arterial spin labeling; PCC, posterior cingulate cortex; PET, positron emission tomography; PUFA, polyunsaturated fatty acid; SFG, superior frontal gyrus; SPL, superior parietal lobule; STG, superior temporal gyrus; TBSS, tract-based spatial statistics; VBM, voxel-based morphometry; WM, white matter.

2. 강글리오사이드의 뇌에 대한 효과

2.1. 지질 보충제

뇌보호 효과가 있을 것으로 생각하여 널리 연구되어 온 인지기능개선제로는 인지질, 오메가-3과 같은 지질(lipid), 식물에서 추출한 은행잎 추출물(ginkgo biloba), 홍삼(panax ginseng), 그리고 항산화 효과가 있는 폴리페놀(플라보노이드) 등이 있다 (11, 36, 40, 41).

그 중에서도 지질(lipid)은 신경세포가 생존하고 정상적으로 기능을 하는 데에 중요하며, 경구로 여러 지질 보충제를 복용하는 것이 신경세포막의 지질 구성에 영향을 끼친다는 연구 결과들이 축적되면서 유력한 뇌보호 성분으로 관심을 받고 있다 (42, 43). 뇌세포막에 존재하는 지질로는 콜레스테롤, 스핑고지질(세라마이드, 스핑고미엘린, 강글리오사이드), 다가 불포화 지방산(리놀렌산, 아라키돈산, 도코사헥사엔산), 포스포이노시타이드(phosphoinositides) 등이 있다.

나이에 따른 지질 성분의 변화는 나이와 관련된 인지기능 변화와 밀접한 관련이 있다 (44). 나이가 들에 따라 신경세포막의 지질 구성에 변화가 일어나는데, 지질 이중막에서 스핑고미엘린(sphingomyelin), 세라마이드(ceramide)가 증가하고 콜레스테롤, 강글리오사이드는 감소하는 것으로 보인다 (43). 정상적인 신경기능에 필요한 지질 성분을 충분히 섭취하지 않는 식이 습관을 지속할 경우 인지기능에 악영향을 끼친다는 여러 연구결과들로 지질 성분을 경구로 보충해줄 필요성에 대한 관심이 증가하였다 (44-46). 특히 중년에 식이로 섭취하는 지질의 패턴에 따라 향후 인지기능 저하의 위험성이 달라질 수 있다는 주장이 제기되고 있다

(6). 이 연구에서는 뇌의 노화 과정에 중요하다고 생각되고 있는 지질 성분 중에서도 상대적으로 연구가 많이 이뤄지지 않은 강글리오사이드의 인지기능 개선 효과를 평가하고자 하였다.

2.2. 강글리오사이드와 정상 뇌기능

강글리오사이드(ganglioside)는 신경계에 특징적으로 풍부하게 존재하는 당스핑고지질(glycosphingolipid)의 일종으로 뇌 내 지질 전체의 약 10% 정도를 차지한다 (42). 신경세포막 지질뿔목(lipid raft)의 중요한 구성성분으로 세포막 인지질 2개의 층 중 바깥 쪽에 주로 위치하면서 세포와 세포 간의 신호 전달, 부착, 인식 등의 의사소통에 관여한다 (47, 48). 강글리오사이드는 신경세포 생존, 형성 및 자멸사(apoptosis)의 조절 및 축삭(axon)의 안정을 유지하는 데에도 중요한 역할을 하고 있어 신경계의 정상 발달 및 분화에 필수적인 물질이다. 강글리오사이드는 지질 뿔목 내에 있는 단백질과의 상호작용을 하며, 신경세포막의 역동적 변화 및 시냅스 신호 전달 과정에 관여한다.

나이가 증가함에 따라 신경세포 막의 강글리오사이드 성분은 감소하는데 (43), 이러한 스핑고지질(sphingolipid) 대사 이상이 퇴행성 뇌질환의 발병기전에 관여하는 것으로 알려졌다 (42, 49). 강글리오사이드를 외부에서 투여했을 때에는 신경영양(neurotrophic) 효과가 있으며, 체외(in-vitro)에서는 뇌유래 신경영양 인자(brain-derived neurotrophic factor) 분비를 증가시키는 것으로 알려져 있다 (50). 나이에 따른 강글리오사이드 감소 및 강글리오사이드의 뇌가소성 촉진 효과를 보고한 여러 연구결과들을 기반으로 강글리오사이드 대사 기전을 타겟으로 한 새로운 치료제 개발에

대한 관심이 증가하고 있다.

2.3. 강글리오사이드의 전임상 연구

강글리오사이드의 뇌보호 효과 및 학습과 기억에 대한 긍정적인 효과는 세포/동물 연구에서 꾸준히 발표되어 왔다(표 1.3).

강글리오사이드를 쥐에 주입했을 때 공간 학습 및 기억력이 향상되었고, 나이에 따른 뇌의 콜린 아세틸기 전이 효소(choline acetyltransferase) 활성 저하가 호전되며 뇌내로 콜린 유입이 증가되었다 (51, 52). 또한, 강글리오사이드 투여 시 해마조직 절편에서의 장기 강화(long term potentiation) 증진과 뇌유래 신경영양 인자(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)의 증가도 관찰되었다 (50, 53). 강글리오사이드를 보충한 식이를 하였을 때 쥐의 뇌에서 총 강글리오사이드 농도가 유의하게 증가하였으며, 이는 경구 복용도 중추신경계에 영향을 미치는 것에 대한 근거가 될 수 있겠다 (54). 이렇게 강글리오사이드는 신경가소성을 증진시키고 뇌기능을 보호하는 잠재 성분으로 관심을 받고 있으나 아직까지 성인에서 인지기능 증진 효과에 대한 중재 연구가 진행된 바가 없어, 이 연구에서 강글리오사이드의 인지기능 개선 효과 및 뇌가소성 촉진 효과를 평가하고자 하였다.

2.4. 강글리오사이드의 임상적 효과

사람을 대상으로 강글리오사이드의 효과를 살펴본 연구는 중증 신경계 질환에서 주로 시행되었다(표 1.3). 90년대 초반에 퇴행성 뇌질환이나 신경손상 환자에게 동물의 뇌 조직에서 추출한 강글리오사이드를 뇌실 내 주입하거나 정맥, 근육 내 주사한

임상시험이 있었다. 최근에는 파킨슨병 환자에서 강글리오사이드를 5년간 정맥 주사했을 때 운동 증상이 유의하게 호전되었다는 보고가 있었다 (55). 하지만 뇌조직에서 추출하는 등 원료의 안전성 및 침습적인 전달 방식 등으로 건강한 사람에서 사용되기에는 어려움이 있어 왔다.

최근에는 음식에서 강글리오사이드를 추출하여 경구로 보충하는 방식이 주목 받고 있다. 성인에서 강글리오사이드 경구 복용의 효과를 본 연구는 아직 발표된 바가 없으나, 복합 우유 지질의 형태로 강글리오사이드를 분유에 첨가하였을 때 신생아의 뇌신경발달에 긍정적인 효과를 보고한 연구들이 소수 있다 (56). 성인에서는 복합 우유 지질의 형태로 강글리오사이드를 포함한 여러 인지질을 경구 투여하여 나이-연관 기억력 장애에서 인지기능 개선 효과가 있는지를 평가하는 무작위 임상시험이 진행 중이며, 연구 프로토콜이 출판된 바 있다 (57).

Table 1.3. Summary of Studies Examining Ganglioside Effects on the Brain

Authors (Year)	Animal	Methods	Results
Animal Studies			
Valdomero (2015) (58)	Male, adult rats	GM1 (porcine brains), intraperitoneal injection	↑ Nucleus accumbens BDNF level
Kreutz (2013) (59)	Male, adult rats,	Ab+GM1 group vs Ab group vs GM1 group vs Sham group	↓ Ab-induced cognitive deficit, Na+K+-ATPase alteration ↑ Antioxidant scavenge capacity
Rong (2013) (60)	Ischemia neonatal rat model	Bilateral carotid artery occlusion + GM1 vs saline	↑ Myelin basic protein (+) cell ↓ Ab precursor protein, glial fibrillary acidic protein (+) cell ↑ Neurobehavioral functions
Lim (2011) (50)	Rat hippocampal neurons, human neuroblastoma cells	Gangliosides vs KCL BDNF release detection	↑ BDNF release: GM1, GT1b No effect: ceramide, sphingosine
Jung (2010) (61)	Male, adult rats	Intracerebroventricular injection of GQ1b 1µg (Alexis, Switzerland)	↑ Activation of the NMDA receptor signaling pathway in hippocampus via ERK1/2, PKA, CREB phosphorylation
Jung (2008) (52)	Male, adult rats	Intracerebroventricular injection of GQ1b 1µg	↑ Spatial memory: Y-maze test (6hr, 12hr) ↑ Spatial learning & memory: Morris Water Maze test (6 days)
She (2008) (62)	Acute lead exposed rats (male, adults)	Saline group vs acute lead group vs GM1 group vs GM1 + lead group vs Blank control group	Neuroprotective effects ↓ Acute lead induced plasticity impairment, reduced superoxide dismutase activity ↓ Lead induced internal free calcium ion fluctuation

Silva (1999) (63)	Male rats and mice	GM1 + scopolamine group vs saline + scopolamine group vs saline + saline group	Scopolamine-induced amnesia attenuation ↓ Latency in passive avoidance task ↓ Time in aversive enclosed arm in discriminative avoidance task
Human Studies			
Schneider (2013) (64)	Parkinson's disease patients (n=77)	GM1 100mg bid, SC injection (120 weeks)	↓ UPDRS motor score ↓ Symptom progression rate
Gurnida (2012) (56)	Healthy infants (n=91)	Standard infant formula group vs Ganglioside-supplementation group vs Breastfed group (16~22 weeks)	↑ Ganglioside serum levels ↑ Hand/eye coordination IQ, performance IQ, general IQ Similar ganglioside serum levels, cognitive development scores with breastfed group
Pham (2011) (65)	Healthy individuals (n=19)	Food analysis Average ganglioside intake	Daily average ganglioside intake by food <200µg/d Mean ganglioside content (µg/g): 1% milk (0.51), regular fat yogurt (0.73), large egg yolk (1.73)
Schneider (2010) (55)	Parkinson's disease patients (n=26)	GM1 100mg bid, SC injection (5 years open study)	↓ UPDRS motor score (off period)
Wang (2003) (66)	Breastfed (n=12) Formula-fed infants (n=9)	Postmortem study Sialic acid concentration in the brain frontal cortex gray matter	Ganglioside-bound sialic acid concentrations in the frontal cortex gray matter: breastfed infants > formula-fed infants Significant correlation between ganglioside-bound sialic acid and ganglioside, DHA, total n-3 fatty acids: breastfed infants
Flicker (1994) (67)	Probable AD (n=12)	GM1 100mg/d IM (6 weeks)	No changes in cognitive test performance
Walker (1993) (68)	Spinal cord injury patients (n=9)	GM1 ganglioside IV/IM (2 months)	↑ Recovery of walking

Geisler (1991) (69)	Spinal cord injury patients (n=37)	GM1 100mg IV (18-32 doses)	↑ Recovery of neurologic function after 1 year
------------------------	---------------------------------------	----------------------------	--

Abbreviations: Ab, amyloid beta; AD, alzheimer dementia; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; DHA, docosahexaenoic acid; NMDA; N-methyl-D-aspartate; UPDRS, Unified Parkinson's Disease Rating Scale.

3. 중년의 연령대와 관련된 뇌의 변화

뇌의 노화는 빠르면 20-30대에 시작하여 나이와 관련된 인지기능 변화가 계속 진행되며 (70), 인지영역 중에서는 주의력, 작업기억력과 실행기능(executive function)이 주로 영향을 받는다고 알려져 있다 (71). 반면에 의미적 기억(semantic memory), 감정 처리(emotional processing)와 자서전적 기억(autobiographical memory) 등은 일생에 걸쳐 큰 변화를 보이지 않아 노화로 인한 뇌의 변화에 상대적으로 영향을 받지 않는 인지 영역으로 생각할 수 있다.

뇌의 노화는 인지기능뿐만 아니라 다양한 뇌의 구조, 기능 변화도 수반되며, 중년의 연령대에서도 휴지기 뇌 네트워크 기능적 연결성 변화와 같은 미세한 뇌의 변화가 관찰된 바 있다 (12). 노화와 관련된 인지기능 저하 및 뇌의 변화에 대해서는 아직 연구가 진행 중이며, 개인마다 기저 상태, 변화 속도와 양상에는 차이가 보일 것으로 생각되어 단면 시점에서 연령대별 비교를 하는 것이 아닌 개별적인 종적 연구가 필요하다.

4. 디폴트 모드 네트워크

휴지기 뇌 네트워크 중에서도 디폴트 모드 네트워크는 대뇌에 광범위하게 분포하며 기저 대사율이 높아서 대뇌피질 네트워크의 통합성을 민감하게 반영하며, 휴지기 상태에 일관되게 찾기가 수월하여 가장 광범위하게 연구된 네트워크이다. 디폴트 모드 네트워크는 나이에 따라 기능적 연결성이 변화하나 (72, 73), 반복 검사를 하였을 때 뇌 부위별 휴지기 활동의 개인 내 변이는 적은 편이어서 중재 연구에서 바이오마커로 사용할 수 있다 (74).

디폴트 모드 네트워크의 휴지기 기능적 연결성 및 과제 수행 시에 활동이 효율적으로 억제되는 것 등 상황에 따른 네트워크 활동 조절이 성공적인 인지기능 수행에 중요하다고 알려져 있으며, 디폴트 모드 네트워크의 기능이 작업기억력 수행과 관련이 있다 (75, 76). 또한, 디폴트 모드 네트워크의 활동 자체는 자서전적 기억, 자기 준거 정보 처리 및 자신의 기억력에 대한 주관적인 인식과 관련이 있으며 뇌의 전체적인 효율을 반영한다고 알려져 있다 (5).

따라서 이 연구에서는 강글리오사이드의 인지기능 향상 효과를 평가할 때 뇌영상 지표로 휴지기 뇌 네트워크의 기능적 연결성을 보고자 하였고, 그 중에서도 가장 널리 연구된 디폴트 모드 네트워크를 관심 영역으로 정하였다. 디폴트 모드 네트워크의 기능적 연결성을 뇌영상 평가 척도로 사용하였고, 동시에 디폴트 모드 네트워크 내의 회백질 부피 변화도 함께 분석하였다.

5. 연구 목적 및 가설

기존의 연구들을 종합하였을 때, **강글리오사이드를 경구 투여했을 때 작업 기억력 수행이 호전되고 디폴트 모드 네트워크의 구조와 기능이 변화할 가능성이 있다.** 중년을 대상으로 8주간 무작위, 이중맹검, 위약-대조 임상시험을 시행하여 강글리오사이드 경구 투여를 했을 때 작업기억력 향상(1차 평가척도: 인지기능)이 있는지, 휴지기 뇌 네트워크의 대표적인 디폴트 모드 네트워크 내 구조적, 기능적 변화(2차 평가척도: 뇌영상)가 있는지를 평가하고자 하였다.

이 연구의 주 가설은 8주간의 투여 이후 강글리오사이드군 (고용량, 저용량) 이 위약대조군에 비해 작업 기억력 향상이 있을 것으로 생각하였다. 따라서 작업 기억력을 평가할 수 있는 인지기능 검사를 기저시점 및 8주차에 평가하여 호전 여부를 비교하고자 하였다.

부 가설로서 8주간의 투여 이후 강글리오사이드군이 위약대조군에 비해 디폴트 모드 네트워크 회백질 부피 및 기능적 연결성 변화가 있을 것이며, 디폴트 모드 네트워크의 구조적, 기능적 변화 정도는 작업 기억력 수행의 향상 정도와 관련성이 있을 것으로 생각하였다. 이를 위해 구조 뇌영상에 대한 복셀 기반 형태 분석 및 기능 뇌영상에 대한 독립 성분 분석을 바탕으로 한 연결성 평가를 하고자 하였다.

연구 재료 및 방법

1. 연구 대상자

연구 대상은 지역 사회에서 광고를 통해 모집하였다. 참여 기준은 1) 만 40-65세 사이의 남녀; 2) 고졸 이상의 학력이었다. 제외 기준으로는 1) DSM-IV-TR에 기반한 구조화 정신과적 면담(Structured Clinical Interview for DSM-IV, SCID-IV)에서 다른 제 1축 정신질환이 진단된 사람 (77); 2) SCID-IV에서 드러난 약물 및 알코올 의존; 3) 첫 방문일을 기준으로 지난 12개월 동안 최소 1회 이상의 주요우울삽화가 있었던 경우; 4) 병력 청취, 신체 검진, 실험실적 검사에서 발견된 심각한 주요 신체질환 및 신경학적 질환; 5) 임신부 및 수유 중인 여성; 6) 의식 소실 혹은 경련을 동반한 두부 외상의 병력; 7) 지능지수 70 미만; 8) 뇌자기공명영상 검사를 시행할 수 없는 경우(예: 체내에 삽입된 금속성 의료기기); 9) 연구 참여 시점 3개월 이내에 중추신경계에 영향을 주는 약물을 복용한 경우였다.

모든 참여자는 연구 참여에 앞서 연구 과정, 잠재적 위험성 및 이익 등에 대한 충분한 설명을 들었으며, 연구 평가 일정은 서면으로 동의서를 작성한 이후에 시행되었다. 연구 계획서는 이화여자대학교 생명윤리심의위원회에서 심의 및 승인을 받았으며, 임상시험 데이터베이스인 clinicaltrials.gov에 등록되었다 (NCT02379481).

2. 연구 방법

2.1. 연구 디자인 및 중재 방법

연구는 무작위, 이중맹검, 위약대조 임상시험으로, 선별 검사를 통해 연구 참여 가능한 75명은 기저시점 방문 시에 강글리오사이드 고용량 투여군(n=30), 강글리오사이드 저용량 투여군(n=30) 또는 위약 대조군(n=15)으로 배정되었다. 강글리오사이드 경구 투여에 대한 안전성 평가의 통계적 검정력을 증대하고 연구대상자의 연구 참여 및 순응도를 강화하기 위해 치료군은 2:2:1의 불균등 비율로 배정하였다 (78, 79). 연구기간은 다른 인지기능 향상 연구들을 참고하여 총 8주로 정하였다 (7). 연구대상자는 기저시점 방문부터 총 8주간 하루에 2알씩 강글리오사이드 또는 위약을 경구 복용하였고, 4주 및 8주에 방문하여 추적 관찰 평가를 수행하였다.

강글리오사이드는 ^(주)농심에서 공급받은 적록(red deer)의 녹골 추출물(deer bone extract)을 원료로 사용하여 제조되었다 (80). 시험약 제조 후 고성능 액체 크로마토그래피 검출(high-pressure liquid chromatography fluorescence detection) 방법을 사용하여 알약 내 활성 강글리오사이드 성분을 정량 측정하여 시험약의 질을 검증하였다 (80). 고용량 투여군에서 사용된 550mg 알약 내에는 녹골 추출물이 275mg 포함되어 강글리오사이드 활성 성분은 165 µg에 해당하였다. 저용량 투여군에서 사용된 550mg 알약 내에는 녹골 추출물이 137.5mg 포함되어 강글리오사이드 활성 성분은 82.5 µg에 해당되었다. 위약은 맛, 색깔, 냄새 등 모든 성상, 섭취 방법 및 알약의 용량까지 모두 강글리오사이드 알약과 동일하여 육안으로 구분할 수 없게 제작되었다. 임상시험에 사용될 시험약은

네이처테크(Naturetech, 진천, 한국)에서 제조되었으며, 위 기관은 건강보조식품 및 약 제조가 일관되고 제품의 질이 신뢰할만한지 식품의약품안전청의 우수약품제조 및 품질관리 기준에 따라 승인을 받은 기관이다.

연구 참여 기간 동안 다른 건강보조식품이나 중추신경계에 영향을 줄 수 있는 병용요법은 허용되지 않았다. 4주차 및 8주차에 연구대상자가 작성한 투약일지 및 복용하지 않고 가지고 온 반납약의 양으로 시험약에 대한 순응도를 모니터링하였다.

2.2. 안전성 및 자가보고척도 평가

기저시점, 4주차 및 8주차에 활력 징후, 체질량 지수 측정 및 기본 혈액 검사를 시행하여 이상 여부를 확인하였다. 임상시험 약물의 안전성 및 부작용 여부는 Udvalg for Kliniske Undersogelser (UKU) Side Effect Rating Scale를 이용한 면담 및 자발적인 보고로 평가하였다 (81).

연구대상자의 기분 및 불안 증상은 해밀턴 우울증 척도 (Hamilton Depression Rating Scale), 해밀턴 불안 척도(Hamilton Anxiety Rating Scale)를 이용하여 기저시점, 4주차 및 8주차에 평가하였다. 아울러 주관적 기억문제 호소 설문지(subjective memory complaint questionnaire)를 사용하여 연구대상자의 기억력에 대한 자가평가를 실시하였다 (82).

2.3. 연구 표본 수 및 산출 근거

이 연구에서 사용된 시험약은 녹골 추출물을 원료로 사용한 활성 강글리오사이드로, 정상 인구집단에서 인지기능 증진 효과에

대해서 연구된 바가 없다. 따라서, 성인에서 건강기능식품을 통한 인지기능의 호전을 보고한 연구결과에서 호전의 효과 크기를 참고하여 표본수를 산출하였다. 한 개인 내에 시간에 따른 전후 변화를 찾아낼 수 있는 충분한 표본 수인지를 검토하기 위해 *Ginkgo biloba* 추출물을 6주간 복용하고 전후의 작업기억력을 평가한 연구 결과를 참고하였다 (83). 이 연구에서 6주간의 중재 이후에 평가한 작업기억력 수행 정도가 기저시점에 비해 평균 12.6점(표준편차: 27.58) 향상되었다 (83). 이를 토대로 통계 검정력을 산출하면 치료군 60명에서 전후 차이를 찾을 수 있는 통계검정력은 0.9 이상, 50명이었을 때에는 0.8 이상이었다. 또한, 반복측정 자료를 이용하여 그룹간과 그룹내의 상호작용을 분석하고자 하는 연구디자인에서 중등도의 효과크기($d=0.5$)를 0.8의 통계검정력으로 찾아내기 위해 필요한 표본수는 총 66명이었다 (84). 즉, 이 연구의 표본수로 그룹 및 시간에 따른 변화를 찾아낼 수 있는 충분한 검정력을 보일 것으로 추정할 수 있었다. 추적관찰 중 다양한 요인으로 인해 중도탈락율을 15%로 가정하고 위약대조군 13명 및 치료군 50명으로 표본수를 가정했을 때에도 알파 수준 0.05에서 0.8 정도의 통계 검정력을 예상할 수 있었다.

3. 인지기능 평가 척도: 작업 기억력

연구대상자의 인지기능은 기저 시점 및 8주차에 숫자 바로 외우기(digit span forward), 숫자 거꾸로 외우기(digit span backward), 글자-숫자 나열하기(letter number sequencing), 공간 작업기억력(spatial working memory task), 공간 바로 외우기(spatial span forward), 공간 거꾸로 외우기(spatial span backward) 및 정지 신호 과제(stop-signal task)로 평가하였다.

숫자 외우기 검사와 글자-숫자 나열하기 검사는 한국판 웨슬러 성인 지능 검사 III (Korean-Wechsler Adult Intelligence Scale III) 검사 중의 일부로 집중력, 단기 기억력 및 언어 작업 기억력과 관련이 있다 (85). 숫자 외우기 검사에서는 연구대상자에게 일련의 숫자를 불러준 다음에 순서대로 또는 거꾸로 숫자를 말하게 한다. 3개의 숫자 목록부터 시작하여 연구대상자가 성공을 하면 더 긴 숫자 목록으로 넘어가며, 연구 대상자가 기억한 숫자 목록의 최대 길이가 숫자 폭(digit span)이 된다. 글자-숫자 나열하기 검사는 글자와 숫자가 혼합된 목록을 불러주고 글자와 숫자를 각각 순서대로 나열해야 하는 인지기능 과제로 분할 집중력(divided attention), 숫자와 글자를 기억하고 저장된 정보를 머릿속으로 순서대로 조작하는 작업기억력을 요한다 (86, 87).

연구에서 사용된 공간 외우기 검사, 공간 작업기억력 검사 및 정지 신호 과제는 Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB) 내에 포함된 검사 항목이다 (16). CANTAB 검사는 터치 스크린 모니터를 보면서 연구대상자가 모니터를 손으로 누르거나 버튼을 누르는 방식으로 응답을 하게 되어 있는 전산화 인지기능 검사이다. 검사 지시는 CANTAB에서 제공하는 표준화된

문구를 바탕으로 이루어졌다.

공간 외우기 검사는 **Corsi Block** 과제의 컴퓨터 버전이며 (88), 시공간 단기 기억력 및 시공간 작업 기억력을 필요로 하는 과제로, 10개의 흰 박스가 화면에 나타나며 그 중 일부의 색깔이 차례대로 3초 동안 바뀌었다가 흰색으로 돌아온다. 연구대상자는 색이 변하였던 박스를 같은 순서 또는 역순으로 눌러야 한다. 과제에 성공하면 기억해야 하는 박스의 개수가 늘어나며, 연구대상자가 여러 번 실패할 경우에는 검사가 종료된다. 연구대상자가 성공적으로 순서를 기억한 최대 박스 개수가 시공간폭(visuospatial span)이 된다.

공간 작업 기억력 검사(spatial working memory)는 시공간 작업 기억력 및 전략을 세우는 기술을 평가하는 인지 기능 검사이다. 연구대상자는 화면 내에 여러 상자 중 토큰이 숨겨져 있는 위치들을 맞추어야 하는데, 상자를 누르고 난 뒤에 토큰이 없다고 나온 상자의 위치 또는 이미 토큰을 찾았던 상자의 위치를 계속해서 업데이트하고 기억해야 한다. 즉, 이미 눌러본 상자는 피해서 위치를 찾아야 하며, 상자의 개수가 4개에서 8개로 늘어날수록 난이도가 올라가서 과제를 성공적으로 마치기 위해 필요한 인지 기능의 정도가 많아진다. 공간 작업 기억력 검사는 전체 오류의 개수로 수행 정도를 평가하게 된다.

정지 신호 과제(stop signal task)는 두 개의 버튼 위에 각각 왼쪽과 오른쪽 검지를 올려놓은 상태에서 진행되며, 화면에 왼쪽 또는 오른쪽을 가리키는 화살표가 나타나면 연구대상자는 최대한 빨리 해당되는 방향을 눌러야 한다. 검사 문항 중 1/4은 화살표가 화면에 나타난 후 빠- 하는 정지 신호가 주어지며, 이 때에는

반응하려던 것을 멈추어야 한다. 정지-신호 반응 속도(stop-signal reaction time, SSRT)는 반응을 멈추기 위해서 필요한 시간을 뜻하며, SSRT가 길수록 인지 조절 및 반응 억제가 잘 되지 않는다는 것을 의미한다. 성공적인 반응 억제는 작업 기억력 및 실행 기능의 핵심 요소로 상황에 따라 목표를 변경하고 행동에 반영하는 능력이 필요하다 (89).

정보 유형(언어, 비언어) 및 정보 처리 단계(단기 저장, 유지, 실시간 업데이트 및 처리, 전체적인 조절) 측면으로 나누어보았을 때, 위 다섯 가지 검사로 작업 기억력을 포괄적으로 평가하였다고 볼 수 있다 (90). 연구대상의 개별 인지기능 검사 점수를 의존 변수로 넣고, 나이, 성별, 교육 수준, 지능지수(intelligent quotient, IQ), 기저시점 수행 정도를 설명요인으로 넣은 회귀모형을 이용하여 잔차(residual)을 구하여 다른 교란변수의 영향을 보정하였다. 각 검사의 잔차는 전체 대상자의 평균과 위약대조군의 0, 8주차 표준편차(pooled SD)를 이용하여 표준화된 Z 점수로 전환하였다. 이때 Z 점수의 부호는 양의 점수가 위약대조군의 평균보다 더 좋은 점수를 의미하도록 하였다. 다섯 가지 검사의 표준화된 Z 점수를 구한 이후에 평균을 하여 작업기억력에 대한 하나의 복합 점수(composite score)를 구하였다 (91). 0주와 8주 사이의 작업 기억력 영역 복합 점수 차이를 인지기능 평가 척도로 사용하였다.

4. MRI 영상 획득

3.0 Tesla Philips Achieva MR scanner (Philips Medical System, Netherlands)에 32 채널 headcoil을 이용하여 고해상도 T1-강조 (T1-weighted) 영상과 휴지기 기능적 뇌자기공명영상(resting-state functional image)을 얻었다. T1-강조 영상은 3 차원 magnetization-prepared rapid gradient echo imaging sequence 프로토콜을 이용하였고, 영상 파라미터는 다음과 같다: 180장의 연속적인 시상 단면, slice thickness = 1mm, repetition time (TR) = 7.4ms, echo time (TE) = 3.4ms, flip angle (FA) = 8°, field of view (FOV) = 220 X 220 mm², number of excitation (NEX) = 1.

휴지기 기능적 뇌영상은 echo planar imaging sequence 프로토콜을 이용하였는데, 영상 파라미터는 다음과 같다: 38장, slice thickness = 3.5mm, 200 volumes, TR = 2,000ms, TE = 21ms, FA = 76°, FOV = 220 X 220 mm². 기능적 fMRI 촬영 시간은 두 번의 기능적 MRI 영상을 이어서 약 14분간 진행되었다. 연구대상자는 특별히 무엇에 집중하거나 생각하지 않고, 눈을 감고, 잠들지 않아야 함을 설명 들었으며, 기능적 MRI 영상 사이에 연구대상자가 깨어있는지를 확인하였다. 기능적 뇌영상 촬영 이전에는 자기장 불균등성으로 인한 영향을 최소화하기 위해 자동 shimming 과정을 거친 이후 시작되었다.

해부학적 이상 여부를 배제하기 위해 proton density/T2 강조 영상을 axial로 획득하였다. 영상에 사용한 파라미터는 다음과 같다: TR = 3,000ms, TE = 9.5/90ms, FA = 90°, FOV = 202 X 201 mm², slice thickness = 2.5mm, NEX = 1. 시상 단면 FLAIR (fluid-attenuated inversion recovery) 영상은 다음과 같은 파라미터를 사용하여

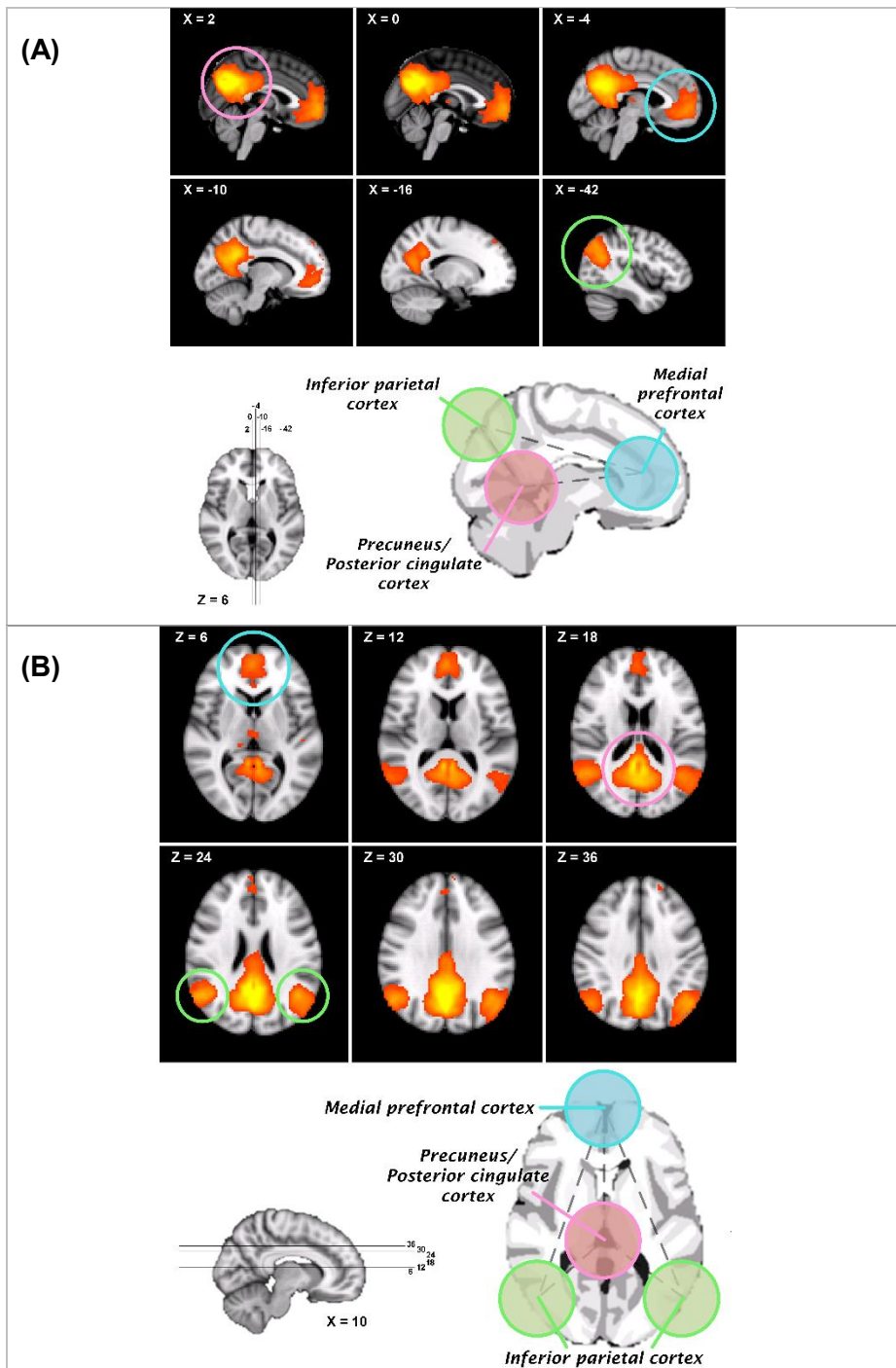
획득하였다: TR = 8,000ms, TE = 332ms, inversion time = 2,400ms, FA = 90°, FOV = 250 X 250 mm², slice thickness = 0.6mm, NEX = 1. 치료 배정에 대한 정보가 없는 두경부 영상학과 전문의(L.S.M)가 proton density/T2 강조 영상과 FLAIR 영상을 검토하여 육안적인 해부학적 이상 여부를 검토하였다.

5. MRI 영상 처리

5.1. 관심 영역: 디폴트 모드 네트워크

디폴트 모드 네트워크는 멀리 서로 떨어져 있는 뇌의 여러 부위를 잇는 대표적인 큰 규모 뇌 네트워크(**large-scale brain network**)로 휴지기 상태에서 높은 상관관계를 가지며 활동이 증가하는 부위들을 일컫는다. 이 연구에서는 디폴트 모드 네트워크 내 회백질 부피 및 기능적 연결성을 뇌영상 평가 척도로 이용하고자 하였다. 관심 영역인 디폴트 모드 네트워크에 대한 마스크를 제작하기 위해 **FRMIB** (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/analysis/brainmap+rsns>) (92) 에서 제공하는 표준화된 휴지기 네트워크 템플릿을 사용하였다. 디폴트 모드 네트워크 템플릿에는 내측 전전두엽 피질(**medial prefrontal cortex, mPFC**, 안쪽 전전두엽 겹질), 하두정피질(**inferior parietal cortex, IPC**, 아래마루겹질), 후대상피질(**posterior cingulate cortex, PCC**), 설전부(**precuneus**, 췌기앞소엽)이 포함된다 (그림 2.1) (93).

Figure 2.1. Default Mode Network: The Region of Interest



5.2. 디폴트 모드 네트워크의 복셀-기반 형태 분석 전처리 과정

관심 뇌영역인 디폴트 모드 네트워크 내 회백질 부피 변화 여부를 평가하기 위해 FMRIB's Software Library (FSL)에 내장되어 있는 최적화된 복셀-기반 형태 분석법(optimized voxel-based morphometry)을 사용하였다 (93). T1 강조 영상에서 뇌실질이 아닌 조직을 제거하기 위해 BET(brain extraction tool) 기능을 이용하여 두경부 뼈와 연조직을 영상에서 제거하였다. 대뇌, 소뇌 등 뇌실질 부위만 남겨진 영상에 FMRIB's Automated Segmentation Tool (FAST)를 이용하여 회백질, 백질 및 뇌척수액으로 조직 유형을 분할하고 각 조직 유형만 남겨둔 영상을 얻었다. 이를 통해 얻어진 회백질 영상 중 기저시점 영상을 모아 연구에 특이적인 템플릿 제작에 사용하였다. 각 치료군에서 동일한 수의 영상을 선택하여 복셀-기반 형태 분석 과정에 사용할 템플릿을 제작하였다. FMRIB's Linear Image Registration Tool (FLIRT)를 이용하여 원공간 위치(native space)에 있던 연구대상자들의 영상을 표준 공간인 Montreal Neurological Institute (MNI) 위치로 정렬하여 공간정규화(spatial normalization)를 한 이후에 모든 영상을 평균하였다. 모든 영상을 평균한 영상과 좌우가 바뀐 영상을 다시 평균을 내어 1차 초기 템플릿을 생성하였다. 2차로 원공간 위치에 있는 회백질 분절 영상을 FMRIB's Non Linear Image Registration Tool (FNIRT)를 이용하여 1차 초기 템플릿에 비선형 등록(non-linear registration)을 한 후 모든 영상의 평균과 좌우가 바뀐 영상을 평균내어 최종 템플릿을 만들었다. 원공간 위치에 있는 연구대상자들의 영상은 최종 템플릿에 비선형 공간 정규화를 하였으며, 공간 등록을 할 때에는 warp field의 Jacobian 결정인자를 곱함으로써 확대, 축소를

보정(modulation)하고 각 복셀의 회백질 밀도를 일정하게 유지하였다 (93). 최종적으로 분석에 사용하기 위해 sigma 3mm 크기의 등방성 가우시안 커널(Gaussian Kernel)으로 편평화(smoothing) 과정을 거쳐 신호 대 잡음비(signal-to-noise ratio)를 증가시켰다.

5.3. 휴지기 기능적 뇌영상 전처리 과정

휴지기 기능적 뇌영상의 전처리 작업은 Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components (MELODIC) 을 이용하였다. 한 피험자 당 400개의 용적 자료에 대해 전처리 과정을 진행하였다. 먼저 강체 공통 등록(rigid body co-registration)을 통해 2번째에서 400번째 용적 자료를 첫번째 영상의 공간에 정합하여 움직임 교정(motion correction)을 하였다. 뇌 실질만을 추출한 이후, full width at half maximum(FWHM)이 5.0mm인 가우시안 커널을 사용하여 공간 편평화(spatial smoothing)을 시행하였다. 신경세포의 활동 등 뇌에서 잡히는 주파수 이외의 범위를 제거하여 0.1Hz에서 0.01Hz 사이의 신호만 남도록 여과하였다(high-pass filtering).

위의 과정을 통해 얻어진 각 연구대상자의 fMRI 영상은 서로 같은 표준 공간으로 정렬하기 위해 1차로 각 연구대상자의 고해상도 T1 강조 영상에 공통등록(co-registration)을 거친 후 표준 MNI 템플릿에 등록하였다. 이 과정에서 각 연구대상자별로 머리 움직임에 대한 파라미터를 구할 수 있으며, 그룹별로 파라미터간 유의한 차이가 있는지 비교함으로써 움직임이 영상의 질에 영향을 끼친 정도를 추정하였다. 첫 부피 영상의 위치를 기준으로 구한

절대 두뇌 움직임(**absolute head motion**)은 강글리오사이드 군이 0.579 ± 0.283 mm, 위약대조군이 0.596 ± 0.349 mm로 그룹간에 유의한 차이는 관찰되지 않았다 ($t = -0.39, p = 0.70$). 영상의 위치가 바로 직전의 영상 위치에 비해 얼마나 움직였는지를 의미하는 상대 두뇌 움직임(**relative head motion**)은 강글리오사이드 군이 0.066 ± 0.040 mm, 위약대조군이 0.061 ± 0.026 mm로 그룹간에 유의한 차이가 관찰되지 않았다 ($t = 1.00, p = 0.32$). 전처리가 끝난 영상은 시간순서대로 하나의 4D 데이터 모음으로 합쳤다.

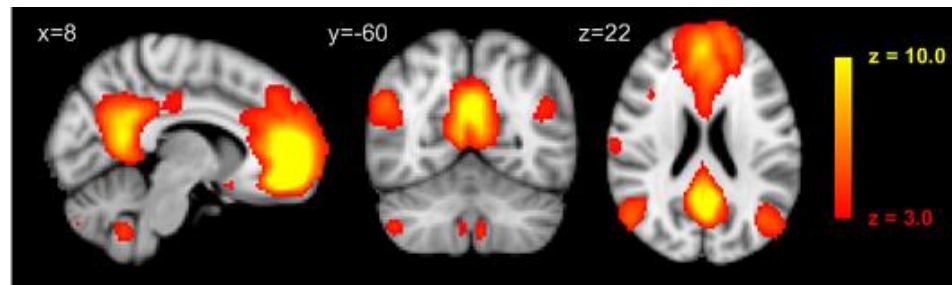
5.4. 디폴트 모드 네트워크의 기능적 연결성 분석: 독립 성분 분석법 (independent component analysis)

디폴트 모드 네트워크 내 기능적 연결성 변화도 MELODIC을 사용하여 분석을 진행하였다 (94). 독립 성분 분석법(**independent component analysis, ICA**)은 4D 기능적 MRI 데이터의 성분을 분해하여 성분별 시간에 따른 활동의 변화 정보가 담긴 1차원 시간 데이터(**time course**)와 성분의 위치 정보를 담은 3차원 공간 지도(**spatial map**)를 분석에 사용하였다 (92, 94, 95). 기능적 연결성의 큰 규모 패턴을 찾아내기 위해 차원수(**dimensionality**)는 50으로 제한하였다. 독립 성분으로 나온 영상 중 해부학적으로, 기능적으로 알려져 있는 다음과 같은 10개의 휴지기 뇌 네트워크를 육안 관찰을 통해 식별하여 표준 휴지기 네트워크와 비교함으로써 독립 성분 분석 과정을 검토하였다: 디폴트 모드 네트워크(**default mode network**), 좌측 전두-두정 네트워크(**fronto-parietal network**), 우측 전두-두정 네트워크, 실행 조절 네트워크(**executive-control network**), 운동 네트워크(**motor network**), 청각 네트워크(**auditory**

network), 내측 시각 네트워크(medial visual network), 가측 시각 네트워크(lateral visual network), 후두엽 시각 네트워크(visual network; occipital lobe), 소뇌 네트워크(cerebellum network). 연구대상자의 영상에서 도출한 디폴트 모드 네트워크는 표준화된 네트워크 템플릿과 유사함을 확인하였다 (그림 2.2).

내측 전전두엽피질, 후두정엽피질과 후측 대상회 및 설전부에 분포하고 있는 디폴트 모드 네트워크로 이뤄진 집단 독립 구성 성분 지도에서 선형 모형에 맞추어 연구대상자별 특이적 시간 정보(time course)와 공간 지도(spatial map)를 추출하는 이중 선형 회귀 접근을 사용하였다(dual linear regression). 연구대상자들의 시간 정보는 분산 정규화(variance normalization)을 거친 후 각 연구대상자의 기능적 MRI 영상에 회귀분석을 하여 DMN에 대한 연구대상자-특이적 공간 지도를 생성하여 통계 분석에 이용하였다.

Figure 2.2. Study-specific Default Mode Network Identified Using a Group Independent Component Analysis (ICA).



Baseline data from study participants were combined in a group ICA to identify 10 independent components, which were corresponding to anatomically and functionally classical resting-state networks previously described (92). The default mode network, the region of interest, was identified using the study participants

6. 통계처리

6.1. 인구학적 정보 및 임상적 특성 분석

강글리오사이드 고용량 투여군, 강글리오사이드 저용량 투여군과 위약대조군의 인구학적 정보 및 임상적 특성을 비교하기 위해 연속적 변수는 일원 분산 분석(one-way analysis of variance), 범주형 변수는 카이 제곱 검정(chi-square test) 또는 피셔의 정확 검정(Fisher's exact test)를 이용하였다. 통계 분석은 치료 의도(intent-to-treatment) 집단을 대상으로 하였다. 유의수준은 알파 값 0.05 (양측검정)으로 정하였으며, 통계 분석은 Stata 13.1 (StataCorp., College Station, TX)를 사용하였다.

6.2. 안전성 및 자가보고척도에 대한 통계 분석

강글리오사이드군 고용량 투여군, 강글리오사이드 저용량 투여군과 위약대조군 간에 부작용 발생 비율에 차이가 있는지를 비교하기 위해 카이 제곱 검정 또는 피셔의 정확 검정을 시행하였다. 우울, 불안 및 주관적으로 느끼는 기억력 저하의 정도가 임상시험 참여 전후로 유의한 변화가 있는지를 평가하기 위해 혼합모형을 이용한 반복측정 자료 분석(mixed model repeated-measures analysis)을 시행하였다. 각 치료군 별로 분석을 시행하였으며, 의존변수로 방문별 점수, 고정 효과(fixed effect)는 시간 그리고 임의 효과(random effect)는 연구 대상자였다. 우울, 불안 및 주관적으로 느끼는 기억력 저하의 정도가 변화한 정도가 세 군 사이에 유의한 차이가 있는지를 평가하기 위해 치료군-시간 사이의 상호작용(treatment-by-time interaction)도 평가하였다. 이를 위해 의존점수는 각 척도의 방문별 점수, 고정 효과는

치료군(위약대조군, 저용량군, 고용량군)과 시간(0, 4, 8주), 그리고 임의 효과는 연구대상자로 정한 혼합 모형 반복 측정 분석을 시행하였다. 유의수준은 알파 값 0.05 (양측검정)으로 정하였으며, 통계 분석은 Stata 13.1 (StataCorp., College Station, TX)를 사용하였다.

6.3. 인지기능 평가 척도: 작업기억력 복합 점수

위약대조군에서의 작업기억력 수행 변화 정도와 각 강글리오사이드군 (고용량, 저용량)에서의 작업기억력 수행 변화 정도 간에 차이가 있는지를 비교하기 위해서 치료군(위약대조군, 저용량군, 고용량군), 시간과 치료군과 시간 사이의 상호작용을 고정효과, 연구대상자를 임의효과로 정한 혼합 모형 반복 측정 분석을 시행하였다.

세 군 내에서의 시간에 따른 작업기억력 복합 점수에 유의한 차이가 있는지를 보기 위해, 각 군에서 혼합모형을 이용한 반복측정 자료 분석을 시행하였다. 의존변수는 교란변수로 인한 영향을 배제한 작업기억력 복합 Z 점수, 고정 효과는 시간 그리고 임의 효과는 연구대상자였다.

6.4. 뇌영상 평가 척도: 디폴트 모드 네트워크 내 회백질 부피 변화

8주간의 시험약물 복용 전후로 디폴트 모드 네트워크 내 회백질 부피에 통계적으로 유의한 변화가 있는 뇌 부위를 찾기 위해 그룹별 대응표본 t 검정(paired t-test)을 시행하였다. 또한, 강글리오사이드 그룹에서 위약대조군 그룹보다 더 큰 정도의 회백질 부피 변화를 보이는 부위가 있는지를 분석하기 위해 각

복셀별 치료군과 시간 사이에 유의한 상호작용(treatment group-by-time interaction) 여부를 FSL 내 randomise 기능을 이용하여 분석하였다. 복셀별 분석은 디폴트 모드 네트워크 마스크를 사용하여 관심영역 내에서 시행하였다. 각 그룹별 결과의 다중 비교 교정(multiple comparison correction)은 AFNI's AlphaSim 소프트웨어(<http://afni.nimh.nih.gov/afni>) 내 Monte Carlo 시뮬레이션을 이용하였다. 시뮬레이션을 만 번 반복하였을 때, 복셀별 p value가 0.005 미만이면서 cluster 크기가 최소 408 mm^3 인 경우가 $p < 0.05$ 유의수준에 해당하였다.

강글리오사이드가 DMN 구조에 미치는 영향을 평가하기 위해, 유의한 변화를 보인 군집 내 평균 회백질 부피 수치를 추출하여 의존 변수로 넣은 혼합 모형 반복 측정 분석을 시행하였다. 고정 효과는 치료군, 시간, 치료군과 시간 사이에 유의한 상호작용이었고, 임의 효과는 연구대상자였다. 모형에 포함한 공변수(covariate)으로는 나이, 성별과 기저시점의 값이 있었다.

6.5. 뇌영상 평가 척도: 디폴트 모드 네트워크 내 기능적 연결성 변화

DMN내 기능적 연결성 강도의 변화를 그룹별로 비교하기 위하여 대응표본 t 검정을 사용하였다. 또한, 강글리오사이드 그룹에서 위약대조군에 비해 더 큰 정도의 기능적 연결성 변화를 보이는 부위가 있는지를 분석하기 위해 치료군과 시간 사이의 유의한 상호작용을 각 복셀별로 분석하였다. 복셀별 분석은 DMN 내에서 이루어졌다. 다중 비교 교정은 AFNI's AlphaSim 소프트웨어(<http://afni.nimh.nih.gov/afni>)를 사용하여 10,000번 Monte

Carlo 시뮬레이션을 반복하여 $p < 0.05$ 유의수준에 해당하는 복셀별 p value와 군집 크기를 구하였다. 각 복셀별 $p < 0.005$ 이면서 군집이 448mm^3 보다 큰 경우를 다중 비교 교정 후 유의수준으로 정하였다.

강글리오사이드의 DMN 기능적 연결성에의 영향을 평가하기 위해, 유의한 변화를 보인 군집 내 평균 기능적 연결성 값을 추출하여 의존 변수로 넣은 혼합 모형 반복 측정 분석을 시행하였다. 고정 효과는 치료군, 시간, 치료군과 시간 사이에 유의한 상호작용이었고, 임의 효과는 연구대상자였다. 나이, 성별과 기저시점의 값은 공변수로 모형에 포함되었다.

6.6. Correlation

8주간 강글리오사이드 복용과 관련하여 회백질 부피 및 기능적 연결성 강도가 통계적으로 유의한 변화를 보인 군집(cluster)을 이용하여 상관관계 분석에 필요한 자료를 추출하였다. 평균 회백질 부피와 작업 기억력 복합 점수 간의 상관관계를 분석하기 위해 각 연구대상의 변조된 회백질 영상에서 유의한 변화를 보인 군집의 평균 회백질 부피를 추출하였다. 기능적 연결성 변화와 작업 기억력 복합 점수 간의 상관관계를 분석하기 위해 각 연구 대상자의 공간 지도에서 통계적으로 유의한 기능적 연결성 변화를 보인 군집의 평균 Z 점수를 추출하였다. 상관관계 분석은 피어슨 상관관계 분석(Pearson correlation analysis)를 사용하였다. 유의수준은 알파 값 0.05 (양측검정)으로 정하였으며, 통계 분석은 Stata 13.1 (StataCorp., College Station, TX)를 사용하였다.

결 과

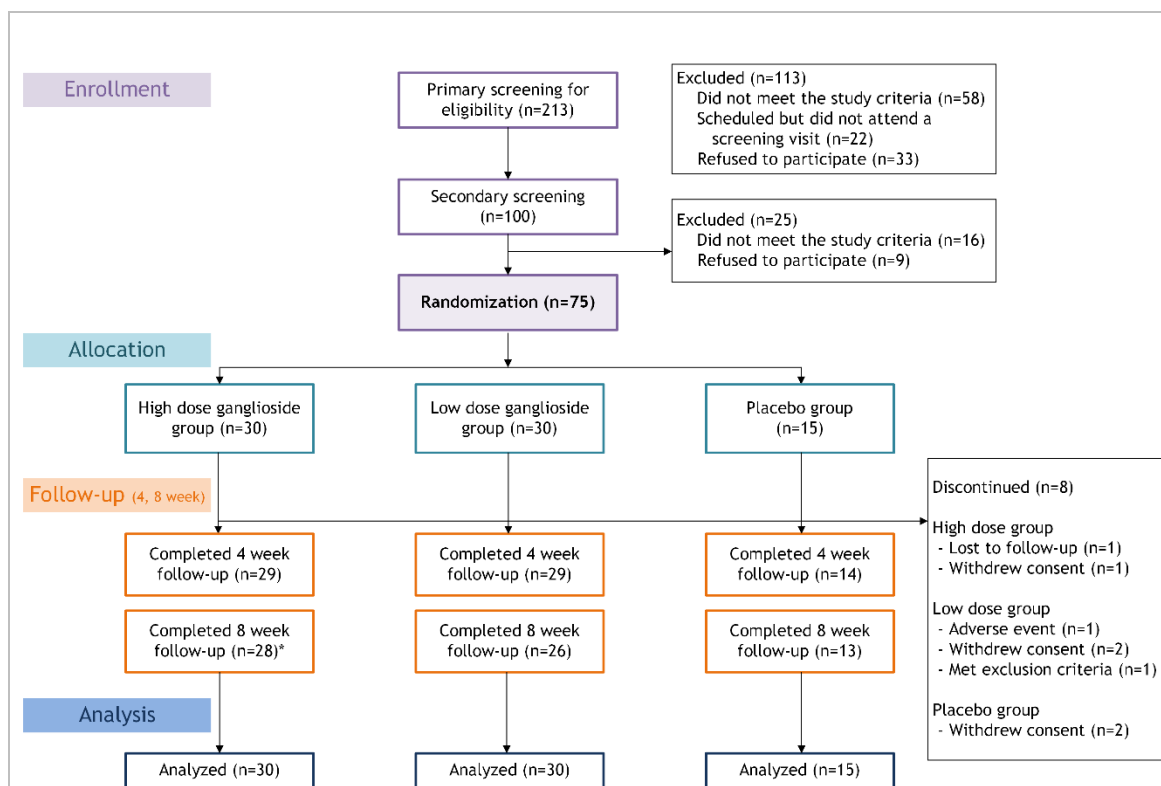
1. 연구대상자의 특성

총 100 명의 대상자를 선별하여 최종 75 명을 강글리오사이드 또는 위약대조군으로 무작위 배정되었다(그림 3.1). 기저 시점에서 강글리오사이드 고용량 투여군과 저용량 투여군의 평균 나이는 각각 53.4 세(표준편차 6.4)와 53.8 세(표준편차 5.9), 여자가 총 23 명씩(76.6%), 교육 연한은 14.5 년(표준편차 2.2)와 15.0 년(표준편차 2.6)으로 위약대조군과 나이, 성별과 교육 연한에서 유의한 인구학적 차이는 보이지 않았다(표 3.1). 또한, 기저시점의 우울, 불안 및 기억력 저하 호소 증상은 세 군간에 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 기저시점의 인지기능 검사 점수를 비교해보았을 때, 위약대조군이 강글리오사이드 저용량 투여군에 비해 작업기억력 수행 점수가 높았다($p = 0.01$).

8 주간의 임상시험 참여를 완료한 연구대상자는 75 명 중 67 명(89.3%)으로, 세 군의 완료율에는 유의한 차이는 관찰되지 않았다(고용량 투여군: 93.3% vs. 저용량 투여군: 86.7% vs. 위약대조군: 86.7%, Fisher's exact $p = 0.66$). 연구 참여 중 5 명은 연구 참여 동의를 철회하였고, 1 명은 연락이 되지 않아 도중 탈락하였다. 1 명은 연구 참여 기간 내 중추신경계에 영향을 주는 약물 복용으로 제외 기준에 해당되어 참여가 종료되었다. 1 명은 졸음을 호소하며 임상시험약물 복용을 중단하고 연구 참여를 중단하였다.

약물 복용 순응도는 강글리오사이드 고용량 투여군, 저용량 투여군과 위약대조군 모두 90% 이상으로, 투약일지로 계산한 순응도와 반납약의 양으로 계산한 순응도 모두 세 군간에 유의한 차이가 나지 않았다(투약 일지: 94.7% vs. 92.5% vs. 95.1%, Fisher's exact $p = 0.70$, 반납약 개수: 93.7% vs. 92.4% vs. 94.1%, $p = 0.84$).

Figure 3.1. Flow Diagrams of Study Participants for Screening, Exclusions, Randomization, and Follow-up.



*One participant in the high-dose ganglioside group did not undergo brain scan at week 8.

Table 3.1. Characteristics and Baseline Measures of Study Participants.

Characteristics	Treatment groups		
	Ganglioside (n = 60)		Placebo (n=15)
	High-dose group* (n = 30)	Low-dose group* (n = 30)	
Sociodemographic characteristics			
Age, mean (SD), years	53.4 (6.4)	54.2 (5.4)	53.6 (5.2)
Women, number (%)	23 (76.7)	23 (76.7)	11 (73.3)
Postmenopausal, number (%), only women	18 (78.3)	14 (60.9)	9 (81.8)
Education, mean (SD), years	14.5 (2.2)	15.0 (2.6)	14.7 (2.1)
Socioeconomic status, number (%)			
Upper	3 (10.0)	9 (30.0)	5 (33.3)
Middle	25 (83.3)	20 (66.7)	8 (53.3)
Lower	2 (6.7)	1 (3.3)	2 (13.3)
Marriage, number (%)			
Married	29 (96.7)	26 (86.7)	15 (100.0)
Never married	0 (0.0)	1 (3.3)	0 (0.0)
Divorced, widowed, or separated	1 (3.3)	3 (10.3)	0 (0.0)
Living alone, number (%)	1 (3.3)	1 (3.3)	0 (0.0)

Clinical characteristics			
MMSE, mean (SD), score	27.4 (1.2)	28.0 (1.2)	27.7 (0.9)
Subjective memory complaints questionnaire, mean (SD), score	3.9 (3.3)	4.4 (2.9)	4.9 (3.6)
Hamilton depression rating scale, mean (SD), score	2.2 (2.5)	1.9 (2.4)	1.7 (2.4)
Hamilton anxiety rating scale, mean (SD), score	2.0 (2.3)	1.8 (2.2)	2.1 (2.7)
Cognitive measures			
Intelligent quotient, mean (SD)	113.7 (9.6)	119.9 (13.2)	118.9 (11.3)
Working memory, domain composite, mean (SD) **	-0.07 (0.20)	-0.14 (0.26)	0.09 (0.29)

*Ganglioside was orally administered in two different dosing schedules; a low-dose schedule with 330 µg/day and a high-dose schedule with 660 µg/day of ganglioside.

** Z scores of the working memory domain were adjusted for age, sex, education, intelligence quotient, and baseline performance level. Positive values of changes in adjusted Z scores represent improved working memory performance with treatment. Significant difference was observed between the low-dose ganglioside and placebo group ($p < 0.05$).

Abbreviations: SD, Standard deviation; MMSE, Mini Mental Status Examination.

2. 안전성 평가 및 자가보고척도 분석 결과

중증 이상반응(serious adverse event)이 관찰되거나 보고된 바는 없었다. 연구 기간 동안 관찰된 모든 이상반응은 아래 표 3.2에 나열하였다.

각 이상반응의 빈도 및 전체적인 빈도는 강글리오사이드 고용량 투여군, 저용량 투여군과 위약대조군 간에 유의한 차이가 관찰되지 않았다(연구 기간 동안 이상반응을 보고한 전체 누적 비율:

강글리오사이드 고용량 투여군, $n = 19, 33.3\%$; 저용량 투여군, $n = 15, 26.8\%$; 위약대조군, $n = 11, 40.7\%$; $\chi^2 = 0.85, p = 0.65$).

강글리오사이드 저용량 투여군에 속하는 한 연구대상자는 4주차에 졸음으로 임상시험약물 복용을 중단하였다.

세 치료군 모두 기저시점 및 8주차에 시행한 혈액 검사에서 시간에 따른 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 또한, 세 치료군 간에 시간에 따른 변화의 정도가 차이가 나는 항목은 없었다(표 3.3).

다만, 모든 치료군의 체질량 지수가 0주차에 비해 8주차에 유의하게 감소한 양상을 보였으나($z = -2.93, p \text{ for time effect} = 0.003$), 변화한 정도에는 치료군 간에 차이가 관찰되지는 않았다($z = 0.77, p \text{ for interaction} = 0.44$).

기저시점의 혈중 콜레스테롤 농도가 고용량 투여군은 평균 196.3 mg/dL (표준편차 41.98), 위약대조군은 평균 217.2 mg/dL (표준편차 37.56)으로 두 군의 평균 농도가 20.9 mg/dL 차이가 났으나 유의한 차이는 아니었다($F = 1.65, p = 0.20$). 혈중 콜레스테롤을 의존변수로 하여, 치료군, 시간 및 치료군-시간에 따른 상호작용을 분석하였을 때에도 위약대조군과 강글리오사이드 고용량 투여군 사이의 치료군 효과가 유의하지 않았으며 ($z = -1.75,$

p for group effect = 0.08), 모든 군에서 시간에 따른 차이가 관찰되지는 않았다 ($z = -0.36$, p for time effect = 0.72). 또한, 치료군과 시간 사이의 유의한 상호작용도 관찰되지 않았다(위약대조군과 저용량 투여군: $z = 0.03$, p for interaction = 0.98; 위약대조군과 고용량 투여군: $z = 0.09$, p for interaction = 0.93).

강글리오사이드 투여 전후로 우울 증상(고용량, $z=-1.04$, p for time effect = 0.300; 저용량, $z = 0.37$, p for time effect = 0.712) 과 불안 증상(고용량, $z=-0.54$, p for time effect = 0.592; 저용량, $z = 0.51$, p for time effect = 0.611) 은 유의한 차이를 보이지 않았다.

주관적으로 느껴지는 기억력 저하 정도는 모든 치료군에서 연구 참여 전후로 유의한 감소를 보였지만 ($z=-3.14$, p for time effect = 0.002), 변화된 정도는 그룹간 차이가 관찰되지 않았다(고용량, $z = 1.08$, p for interaction = 0.281; 저용량, $z = 1.33$, p for interaction = 0.182).

Table 3.2. Cumulative Incidence of Adverse Events Occurring During the Treatment Period.

Type of adverse event	High-dose group (n = 30)		Low-dose group (n = 30)		Placebo (n = 15)	
	n	% ¹	n	% ¹	n	% ¹
Any adverse event	19	33.3	15	26.8	11	40.7
Autonomic						
Accommodation Disturbances	4	7	2	3.6	5	18.5
Reduced Salivation	2	3.5	1	1.8	1	3.7
Orthostatic Dizziness	1	1.8	0	0	0	0
Palpitations/Tachycardia	0	0	0	0	1	3.7
Sleep						
Sleepiness/Sedation	1	1.8	2	3.6	2	7.4
Increased Duration	0	0	3	5.4	1	3.7
Reduced Duration	2	3.5	0	0	0	0
Increased Fatigability	0	0	1	1.8	1	3.7
Increased Dream	0	0	1	1.8	0	0
Gastrointestinal						
Nausea/Vomiting	1	1.8	0	0	0	0
Diarrhea	1	1.8	0	0	0	0
Epigastric soreness	0	0	1	1.8	1	3.7
Constipation	0	0	0	0	1	3.7
Other						
Headache	2	3.5	1	1.8	0	0
Pruritus	1	1.8	0	0	1	3.7
Rash	1	1.8	0	0	0	0
Paresthesia	0	0	1	1.8	0	0
Diminished sexual desire	1	1.8	0	0	0	0

¹ Adverse events were assessed using the UKU side effect rating scale and the self-report adverse events checklist at weeks 4 and 8. The cumulative adverse event rate was measured by calculating the total cumulative observed cases among the total number of side effect assessment during the study period; 57 for the high-dose group, 56 for the low-dose group and 27 for the placebo group, respectively.

Table 3.3. Summary of Laboratory Monitoring for Safety Assessments Obtained at Each Study Visit.

Laboratory profiles ¹	High-dose group (n = 30)	Low-dose group (n = 30)	Placebo (n = 15)
	mean (SD)	mean (SD)	mean (SD)
Absolute neutrophil count ² (/μL)			
Baseline	3049 (1142)	2986 (957)	3259 (1279)
Week 4	3212 (1512)	2981 (1154)	2946 (756)
Week 8	3085 (1267)	2993 (790)	3088 (1119)
Hemoglobin (g/dL)			
Baseline	13.6 (1.7)	13.9 (1.7)	13.9 (0.7)
Week 4	13.2 (1.8)	13.7 (1.4)	13.7 (0.6)
Week 8	13.2 (1.9)	13.9 (1.5)	13.9 (0.8)
Hematocrit (%)			
Baseline	40.7 (4.2)	40.9 (4.5)	41.3 (2.2)
Week 4	39.1 (4.4)	40.1 (3.4)	40.6 (1.8)
Week 8	39.2 (4.7)	40.9 (3.9)	41.3 (2.0)
Platelet (10 ³ /μL)			
Baseline	257.7 (81.1)	251.3 (51.9)	242.5 (36.5)
Week 4	261.1 (79.3)	253.8 (64.1)	241.0 (55.1)
Week 8	250.2 (70.1)	247.5 (52.6)	227.0 (46.8)
Serum creatinine ³ (mg/dL)			
Baseline	0.82 (0.16)	0.79 (0.15)	0.81 (0.13)
Week 4	0.81 (0.17)	0.78 (0.14)	0.79 (0.18)
Week 8	0.79 (0.15)	0.80 (0.13)	0.80 (0.17)
Serum BUN ³ (mg/dL)			
Baseline	13.7 (4.9)	14.4 (4.3)	13.3 (2.5)
Week 4	13.9 (3.0)	14.0 (4.5)	13.9 (3.0)
Week 8	13.3 (3.8)	14.4 (3.9)	14.4 (3.4)
AST ⁴ (units/L)			
Baseline	20.7 (7.5)	22.5 (4.7)	20.9 (3.9)
Week 4	20.1 (4.8)	22.2 (6.1)	21.4 (4.8)
Week 8	21.7 (6.3)	21.5 (5.9)	22.3 (4.8)
ALT ⁴ (units/L)			
Baseline	19.0 (7.8)	21.1 (8.8)	19.3 (5.9)
Week 4	18.7 (7.2)	19.5 (11.1)	18.3 (6.9)
Week 8	22.3 (12.6)	20.0 (11.2)	19.1 (6.9)
Glucose (mg/dL)			
Baseline	95.4 (6.7)	95.1 (8)	93.2 (11.9)
Week 4	94.9 (9.6)	94.5 (9)	95.9 (14.6)
Week 8	92.6 (8.7)	93.6 (9)	95.1 (10.6)
Cholesterol (mg/dL)			
Baseline	196.3 (42.0)	208.5 (34.9)	217.2 (37.6)
Week 4	189.3 (37.6)	203.4 (39.8)	215.9 (47.0)
Week 8	194.7 (48.8)	204.0 (36.3)	210.5 (35.2)
BMI (kg/m ²)			
Baseline	22.7 (2.7)	23.6 (2.3)	24.0 (2.4)
Week 4	22.5 (2.6)	23.4 (2.3)	24.0 (2.5)
Week 8	22.4 (2.6)	23.3 (2.5)	24.1 (2.3)

¹ Values from only participants who underwent laboratory tests at each visit. The high-dose group included 29 and 28 participants at week 4 and 8, respectively. The low-dose group included 30 and 26 participants at week 4 and 8, respectively. The placebo group included 14 and 13 participants at week 4 and 8, respectively.

² Three participants in the high-dose group (1220, 1290, and 1420 / μ L) and three in the low-dose group (1030, 1190, and 1420 / μ L) showed decrease in the levels of absolute neutrophil count below 1500 / μ L at week 4. Three participants in the high-dose group (1210, 1250, and 1420 / μ L) and one in the placebo group (1210 / μ L) showed decrease in the levels of absolute neutrophil count below 1500 / μ L at week 8.

³ One participant in the high dose group (BUN/creatinine: 14/1.0 mg/dL) and two in the low dose group (BUN/creatinine 27/0.9; 23/0.9 mg/dL) showed mild increase in the levels of BUN and/or creatinine beyond the upper normal limit at week 4. Four participant in the high dose group (BUN/creatinine: 14/1.1; 16/1.0; 22/0.7; 22/1.1 mg/dL), two in the low dose group (BUN/creatinine: 21/0.7; 22/0.8 mg/dL) and one in the placebo group (BUN/creatinine: 22/1.0 mg/dL) showed mild increase in the levels of BUN and/or creatinine beyond the upper normal limit at week 8.

⁴ One participant in the high dose group (AST/ALT: 29/42 units/L), two in the low dose group (AST/ALT: 49/54, 27/58 units/L) and one in the placebo group (AST/ALT: 29/35 units/L) showed mild increase in the levels of liver transaminases beyond the upper normal limit at week 4. Four participants in the high dose group (AST/ALT: 11/37; 33/60; 26/39; 36/55 units/L) and two in the low dose group (AST/ALT: 33/43, 39/63 units/L) showed mild increase in the levels of liver transaminases beyond the upper normal limit at week 8.

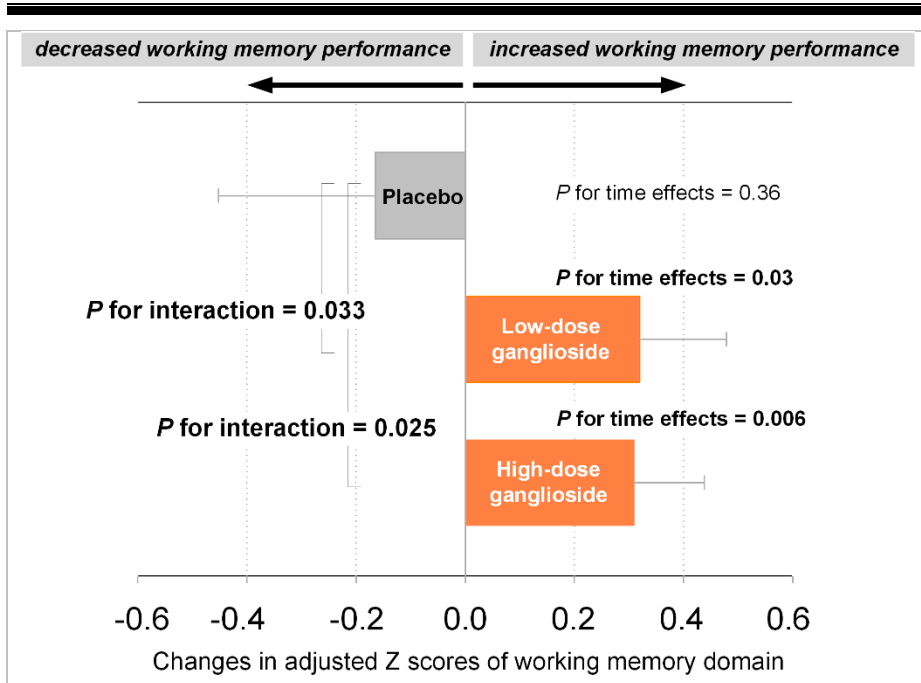
Abbreviations: ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BUN, blood urea nitrogen; BMI, body mass index.

3. 인지기능 검사 평가 항목

강글리오사이드 두 군 모두에서 작업기억력 수행이 유의하게 향상되었다(고용량 투여군, $z = 2.73$, p for time effect = 0.006; 저용량 투여군, $z = 2.18$, p for time effect = 0.03). 위약대조군에서는 작업기억력 수행에 시간에 따른 변화가 관찰되지 않았다($z = -0.92$, p for time effect = 0.36) (그림 3.2). 작업기억력 수행이 변화한 정도는 위약대조군에 비해 강글리오사이드 두 군 모두에서 통계적으로 유의하게 컸다(고용량 투여군, $z = 2.25$, p for interaction = 0.025; 저용량 투여군, $z = 2.13$, p for interaction = 0.033). 강글리오사이드 고용량 투여군에서 작업기억력 복합 z 점수가 변화한 정도의 평균은 0.31(평균의 표준오차: 0.13)이었고, 위약대조군은 -0.17(평균의 표준오차: 0.29)로 두 그룹간 평균 차이는 0.47(평균의 표준오차: 0.27) 이었다. 강글리오사이드 저용량 투여군에서 작업기억력 복합 z 점수가 변화한 정도의 평균은 0.32(평균의 표준오차: 0.16)로 위약대조군과의 평균 차이는 0.48(평균의 표준오차: 0.30) 이었다. 다섯 가지 인지기능 검사의 개별적인 Z 점수 변화는 아래 표 3.4에 기술하였다.

아울러 강글리오사이드가 작업기억력에 미치는 영향이 용량에 의존하는지를 평가하기 위해, 고용량 투여군과 저용량 투여군을 서로 비교하였다. 앞서 저용량 투여군과 고용량 투여군 모두 작업기억력이 연구 참여 전후로 유의하게 차이가 났으나, 작업기억력 수행이 호전된 정도가 용량에 따른 차이가 없었다($z = 0.16$, p for interaction = 0.87).

Figure 3.2. Effects of Ganglioside on Working Memory Performance.



Z scores of the working memory domain were adjusted for age, sex, education, intelligence quotient, and baseline performance level. Positive values of changes in adjusted Z scores represent improved working memory performance with treatment.

The first model examined the time effects on working memory performance in each treatment group using a mixed-model repeated-measures analysis. The dependent variable was adjusted Z scores for the working memory domain. The fixed effect was the time, and the random effect was the subject. Working memory performance significantly improved over the 8-week treatment period in the ganglioside groups (high dose: $z = 2.73$, p for time effects = 0.00; low-dose: $z = 2.18$, p for time effects = 0.03), while working memory performance did not change in the placebo group ($z = -0.92$, p for time effects = 0.36).

The second model examined the between-group differences in changes in working memory performance using a mixed-model repeated-measures analysis. The fixed effects were the treatment groups (ganglioside high-dose, low-dose or placebo), time, and treatment-by-time interaction, and the random effect was the subject. There was a significant difference in changes in working memory performance after treatment between the ganglioside high-dose and placebo group ($z = 2.25$, p for interaction = 0.025) and the ganglioside low-dose and placebo group ($z = 2.13$, p for interaction = 0.033).

Error bars represent standard errors of the mean.

Table 3.4. Changes Within and Between Treatment Groups in Adjusted Z-Scores of Working Memory Domains from Baseline to Week 8¹

Variables	Mean changes in adjusted Z scores from baseline and to week 8 (S.E.M)			Mean difference ² (S.E.M)	
	High-dose	Low-dose	Placebo	High vs Placebo	Low vs Placebo
Working memory, domain composite	0.31 (0.13)	0.32 (0.16)	-0.17 (0.29)	0.47 (0.27)	0.48 (0.30)
Letter-number sequencing	0.57 (0.37)	0.41 (0.37)	-0.52 (0.45)	1.09 (0.63)	0.93 (0.61)
Digit span, forward	0.37 (0.32)	0.34 (0.46)	-0.22 (0.42)	0.59 (0.55)	0.57 (0.72)
Spatial span, span length	-0.20 (0.21)	0.07 (0.21)	-0.42 (0.48)	0.23 (0.45)	0.50 (0.44)
Spatial working memory, total errors	0.54 (0.34)	0.33 (0.26)	0.46 (0.47)	0.08 (0.56)	-0.13 (0.50)
Stop signal task, RT on go trial	0.31 (0.20)	0.45 (0.20)	-0.11 (0.48)	0.42 (0.44)	0.56 (0.44)

¹ Values from only participants who underwent all of the five neuropsychological tests at baseline and week 8. The high-dose ganglioside, low-dose ganglioside and placebo group included 27, 26 and 13 participants, respectively. One participant allocated to high-dose ganglioside group did not perform the digit span task. Positive change scores represent cognitive improvement after treatments.

² Values were mean differences in change scores between the ganglioside (high- and low-dose groups) and placebo groups.

Abbreviations: RT, reaction time; S.E.M, standard error of the mean.

4. 복셀 기반 형태 분석

디폴트 모드 네트워크 관심 영역 내 복셀 기반 형태 분석을 한 결과 강글리오사이드군에서 다중 비교 교정한 $p < 0.05$ 수준에서 회백질 부피 증가를 보인 뇌 부위는 다음과 같았다: 설전부[both precuneus, (x, y, z) = (0, -66, 32), cluster size = 4592 mm³, maximum t value = 5.06], 내측 전전두엽[right paracingulate, 오른쪽 대상결구, (x, y, z) = (12, 50, 10), cluster size = 1632 mm³, maximum t value = 3.91], 아래 두정피질 [left inferior parietal cortex, (x, y, z) = (-46, -72, 30), cluster size = 936 mm³, maximum t value = 4.68], 후대상회[left posterior cingulate cortex, (x, y, z) = (-8, -46, 36), cluster size = 488mm³, maximum t value = 3.38] (그림 3.3, 표 3.5).

위약대조군에서는 DMN 내 유의한 회백질 부피 변화를 보인 부위가 없었다.

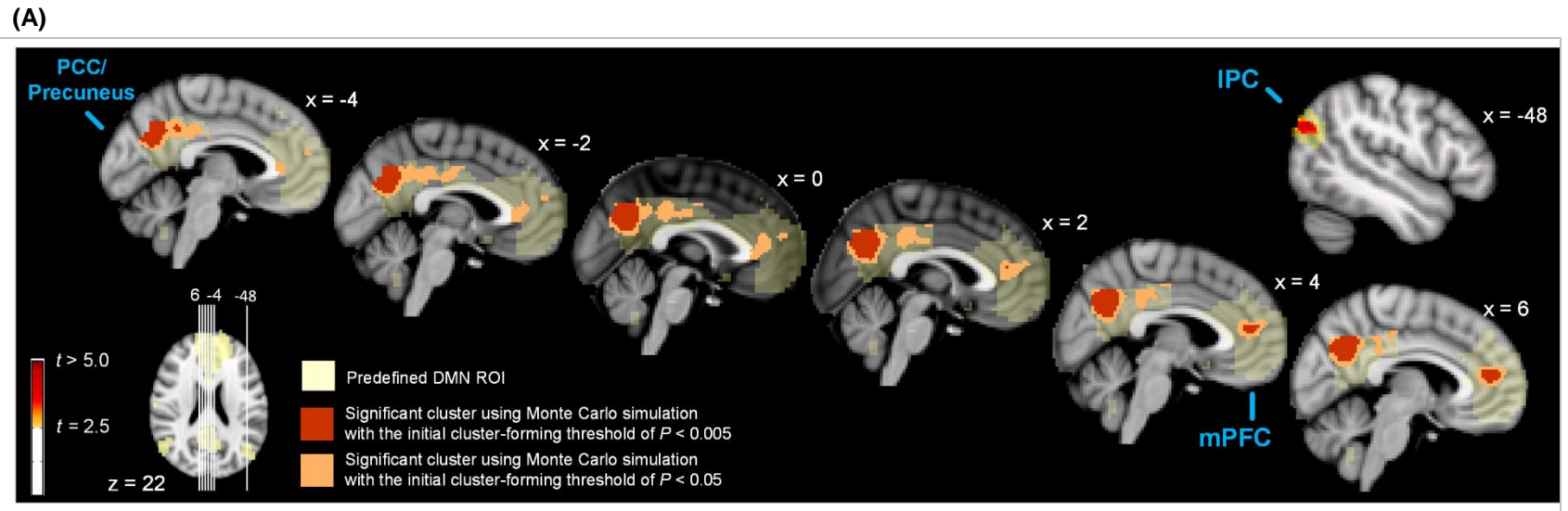
유의한 군집의 평균 회백질 부피 값을 추출하여 비교해보았을 때, 강글리오사이드군이 위약대조군에 비해 회백질 부피 변화 정도가 유의하게 큰 뇌 부위는 다음과 같다: 내측 전전두엽($z=2.01$, p for interaction = 0.04), 후대상회/설전부($z=2.13$, p for interaction = 0.03), 아래 두정피질($z = 2.19$, p for interaction = 0.03) (표 3.6).

DMN내 치료군과 시간 사이의 상호작용이 유의하게 보이는 부위를 그림 3.4와 표 3.6에 기술하였다.

용량-의존 관계를 분석하기 위해 강글리오사이드 고용량 투여군과 저용량 투여군에서의 회백질 부피 변화를 비교하였을 때 유의한 회백질 부피 변화를 보인 부위는 두 군에서 비슷하게 관찰되었다 (표 3.7). 그러나 회백질 부피 변화의 정도에는 용량에 따른 차이가 보이지 않았다: 내측 전전두엽($z=0.13$, p for interaction

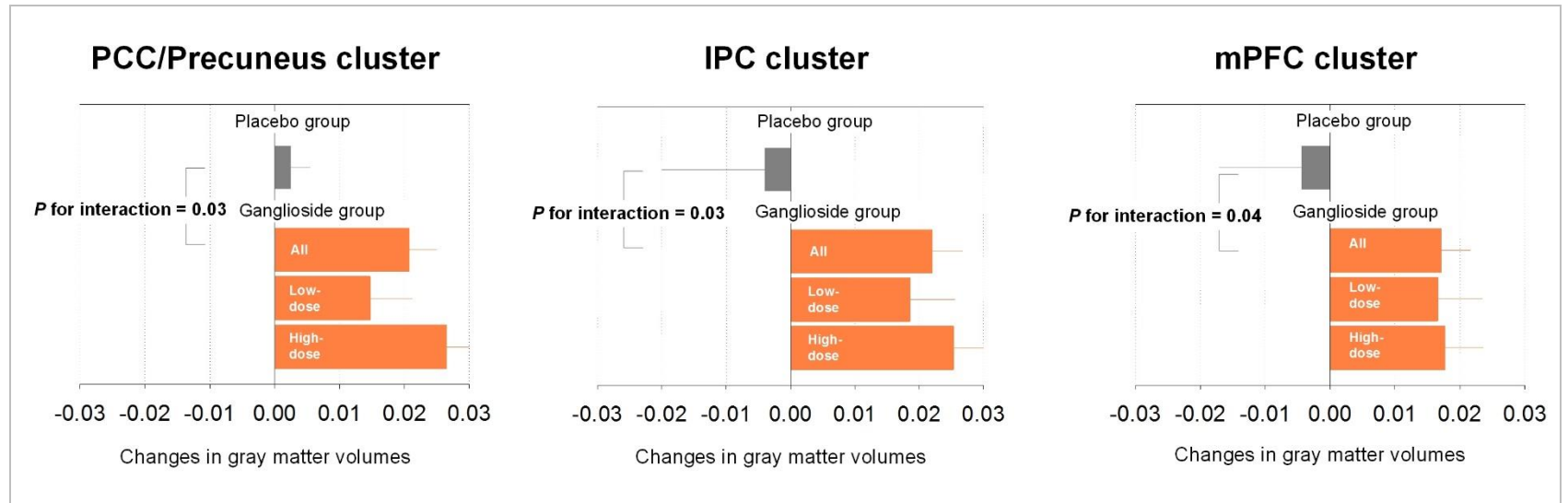
= 0.90), 후대상회/설전부 ($z=1.43$, p for interaction = 0.15), 아래
두정피질($z = 0.74$, p for interaction = 0.46). 복셀별 치료군과 시간
사이의 상호작용 분석을 그림 3.4와 표 3.7에 정리하였다.

Figure 3.3. Effects of Ganglioside on Gray Matter Volumes in the Default Mode Network.



A: Statistical parametric images of VBM represent the clusters showing significant time effects on gray matter volumes in the predefined ROI of the DMN in the ganglioside group. Eight-week treatment with ganglioside significantly increased gray matter volumes of the mPFC, PCC/precuneus, and IPC regions at a cluster-corrected $p < 0.05$. Mean gray matter volumes of the clusters were calculated for each subject.

(B)



B: Bar graphs indicate changes in mean gray matter volumes of the clusters over time in each treatment group. Gray matter volume changes in the mPFC ($z=2.01$, p for interaction=0.04), PCC/precuneus ($z=2.13$, p for interaction=0.03), and IPC ($z=2.19$, p for interaction=0.03) clusters were greater in the ganglioside group than in the placebo group. Error bars represent standard errors of the mean.

Abbreviations: DMN, default mode network; IPC, inferior parietal cortex; mPFC, medial prefrontal cortex; PCC, posterior cingulate cortex; ROI, region of interest; VBM, voxel-based morphometry.

Table 3.5. Detailed Information of Significant Clusters of Voxel-Based Morphometric Analysis with Ganglioside Treatment.

Brain regions	Cluster size (mm ³)	Maximum <i>t</i> value	MNI atlas coordinates		
			(location of maximum <i>t</i> -value)		
			<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>
<i>Gray matter volume increase with ganglioside treatment</i>					
Precuneus (L/R)	4592	5.06	0	-66	32
Paracingulate cortex (R)	1632	3.91	12	50	10
Inferior parietal cortex (L)	936	4.68	-46	-72	30
Posterior cingulate cortex (L)	488	3.38	-8	-46	36

Voxel-wise paired *t*-tests were used to define clusters of significant changes in gray matter volumes in the DMN induced by 8-week treatment with ganglioside. Regions of significant changes at a cluster-corrected $P < 0.05$ were defined as clusters.

There were no significant decreases in gray matter volume with the administration of ganglioside.

Abbreviations: MNI, Montreal Neurological Institute; DMN, default mode network; L, left; R, right.

Table 3.6. Region with Significant Treatment Group-by-Time Interaction on Gray Matter Volumes in the Default Mode Network.

Brain regions	Cluster size (mm ³)	Maximum <i>t</i> value	MNI atlas coordinates (location of maximum <i>t</i> -value)		
			<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>
<i>Significant treatment group (ganglioside vs. placebo)-by-visit interaction on gray matter volumes</i>					
[(Ganglioside pre < Ganglioside post) > (Placebo pre < Placebo post)]					
Precuneus (L/R)	936	4.01	-4	-34	32
<i>Significant treatment group (high-dose ganglioside vs. placebo)-by-visit interaction on gray matter volumes</i>					
[(High-dose ganglioside pre < High-dose ganglioside post) > (Placebo pre < Placebo post)]					
Precuneus (L/R)	1144	4.02	-2	-34	34

Voxel-based morphometric analysis was used to define clusters of significant treatment group-by-time interaction on gray matter volumes in the DMN. Regions of significant changes at a cluster-corrected $P < 0.05$ were defined as clusters.

Abbreviations: MNI, Montreal Neurological Institute; DMN, default mode network; L, left; R, right.

Table 3.7. Detailed Information of Significant Clusters of Voxel-Based Morphometric Analysis in the High-Dose Ganglioside Group.

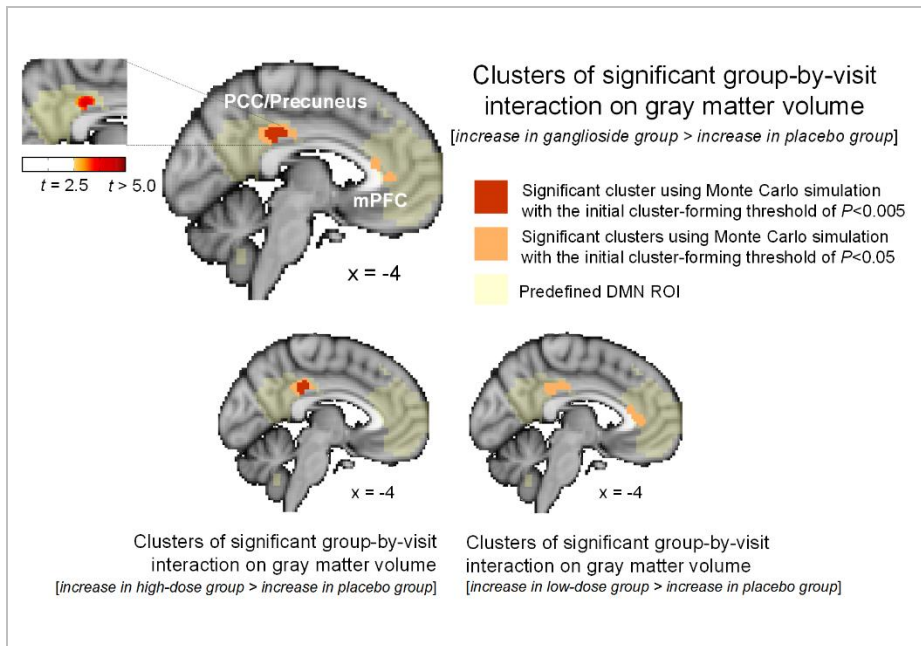
Brain regions	Cluster size (mm ³)	Maximum <i>t</i> value	MNI atlas coordinates (location of maximum <i>t</i> -value)		
			<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>
			<i>Gray matter volume increase with high-dose ganglioside treatment</i>		
Precuneus (L/R)	4312	5.72	0	-66	32
Inferior parietal cortex (L)	1240	5.38	-42	-58	24
Inferior parietal cortex (R)	808	4.62	48	-64	20
Paracingulate cortex (R)	496	3.54	8	50	16

Voxel-wise paired *t*-tests were used to define clusters of significant changes in gray matter volumes in the DMN induced by 8-week treatment with low-dose and high-dose ganglioside. Regions of significant changes at a cluster-corrected $P < 0.05$ were defined as clusters.

There were no significant decreases in gray matter volume with the administration of low-dose and high-dose ganglioside. Regions of increase in gray matter volume with the administration of low-dose ganglioside did not survive cluster-wise correction for multiple comparisons.

Abbreviations: MNI, Montreal Neurological Institute; DMN, default mode network; L, left; R, right.

Figure 3.4. Treatment Group-by-Time Interaction on Gray Matter Volumes in the Default Mode Network.



The figure depicts the regions where the extent of gray matter volume change was greater in ganglioside group than placebo group.

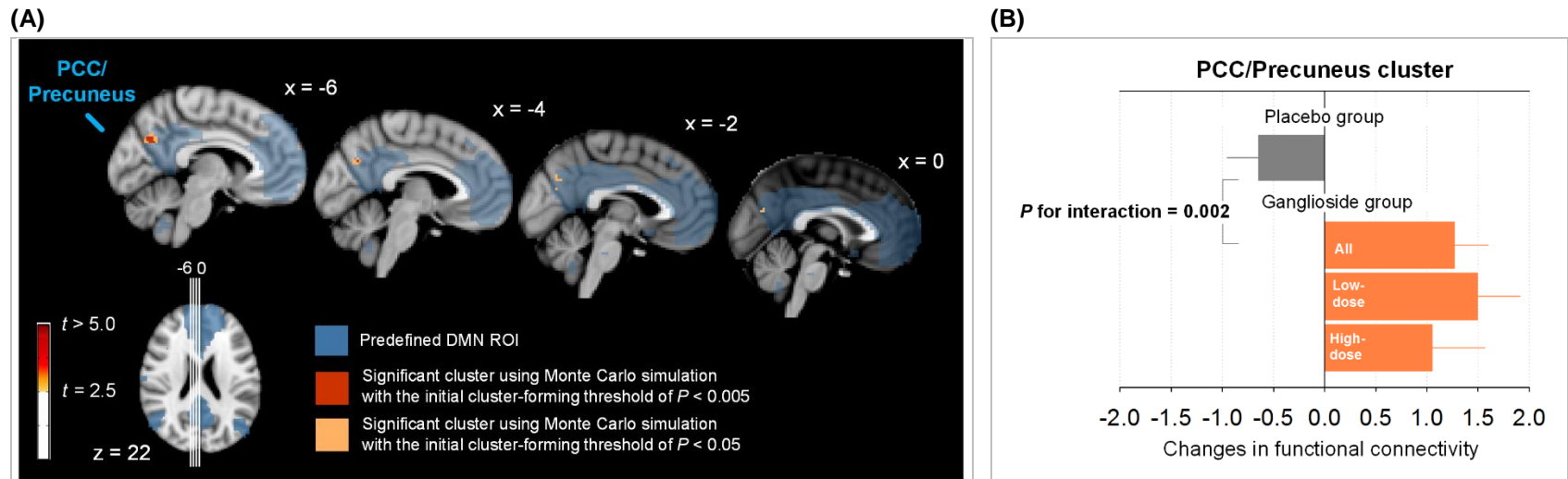
Abbreviations: DMN, default mode network; mPFC, medial prefrontal cortex; PCC, posterior cingulate cortex; ROI, region of interest.

5. 기능적 연결성 분석

강글리오사이드 투여군에서 기능적 연결성에 다중 비교를 교정한 $p < 0.05$ 수준으로 유의한 증가를 보인 뇌 부위는 후대상회와 설전부[(x, y, z) = (-14, -58, 32), cluster size = 640mm³, maximum t value = 3.44] 였다(표 3.8). 위약대조군에서는 기능적 연결성이 유의한 정도로 변한 뇌부위가 보이지 않았다. 변화를 보인 군집의 평균 기능적 연결성을 추출하여 비교해보았을 때, 위약대조군에 비해 강글리오사이드군에서 후대상회/설전부의 기능적 연결성 변화 정도가 더 컸다($z=3.07$, p for interaction = 0.002)(그림 3.5). 복셀별 분석에서 유의한 치료군과 시간 사이의 상호작용을 보이는 부위를 그림 3.6 에서 볼 수 있다.

강글리오사이드의 용량에 따른 기능적 연결성 변화 패턴을 비교하기 위해 저용량 투여군과 고용량투여군으로 나누어 분석하였을 때에도 유사한 뇌부위의 기능적 연결성이 유의하게 변한 것을 볼 수 있다(그림 3.6). 후대상회/설전부의 기능적 연결성 변화 정도는 용량에 따른 차이를 보이지 않았다($z = -0.75$, p for interaction = 0.45). 기능적 연결성의 치료군과 시간 사이의 상호작용에 대한 복셀별 분석 결과를 그림 3.6 와 표 3.9 에서 나타내었다.

Figure 3.5. Effects of Ganglioside on Functional Connectivity in the Default Mode Network.



A: Statistical parametric images of functional connectivity analysis represent the cluster showing significant time effects on functional connectivity in the predefined ROI of the DMN in the ganglioside group. Eight-week treatment with ganglioside significantly increased functional connectivity of the PCC/precuneus regions at a cluster-corrected $p < 0.05$. Mean functional connectivity in the cluster was calculated for each subject.

B: Bar graphs indicate mean functional connectivity changes in the clusters over time in each treatment group. Functional connectivity changes of the PCC/precuneus ($z = 3.07$, p for interaction = 0.002) clusters were greater in the ganglioside group than in the placebo group. Error bars represent standard errors of the mean.

Abbreviations: DMN, default mode network; mPFC, ventromedial prefrontal cortex; PCC, posterior cingulate cortex; IPC, inferior parietal cortex; ROI, region of interest; VBM, voxel-based morphometry.

Table 3.8. Detailed Information of Clusters that Showed Significant Functional Connectivity Increase with Ganglioside Treatment.

Brain regions	Cluster size (mm ³)	Maximum <i>t</i> value	MNI atlas coordinates (location of maximum <i>t</i> -value)		
			<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>
			<i>Functional connectivity increase with ganglioside treatment</i>		
Precuneus (L/R)	640	3.44	-14	-58	32

Voxel-wise paired *t*-tests were used to define clusters of significant changes in functional connectivity in the DMN induced by 8-week treatment with ganglioside. Regions of significant changes at a cluster-corrected $P < 0.05$ were defined as clusters.

There were no significant decreases in functional connectivity with the administration of ganglioside.

Abbreviations: MNI, Montreal Neurological Institute; DMN, default mode network; L, left; R, right.

Table 3.9. Cluster Information of Functional Connectivity Analysis in the Low-Dose Ganglioside Group.

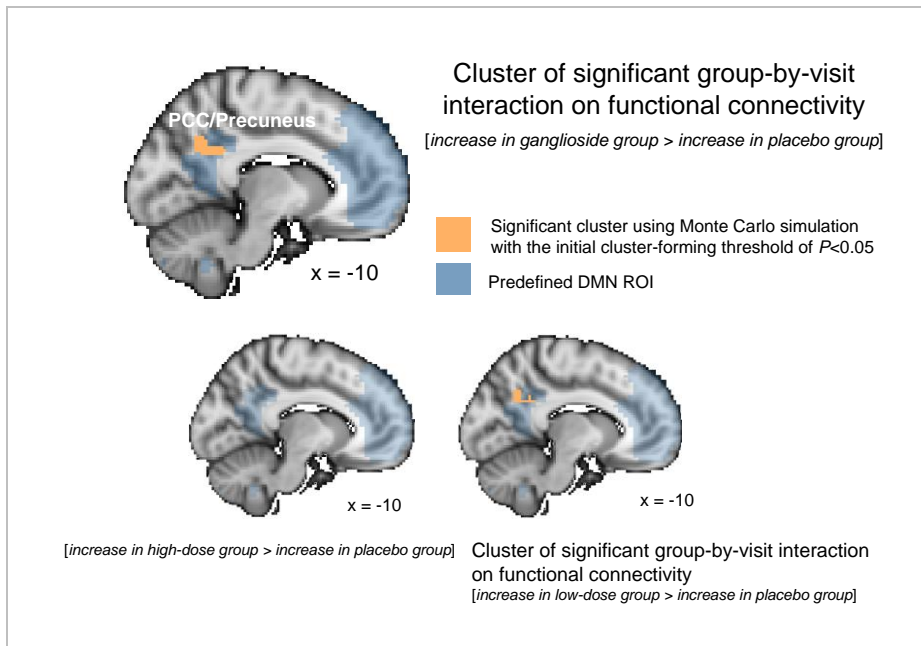
Brain regions	Cluster size (mm ³)	Maximum <i>t</i> value	MNI atlas coordinates (location of maximum <i>t</i> -value)		
			<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>
			<i>Functional connectivity increase with low-dose ganglioside treatment</i>		
Precuneus (L/R)	576	3.42	-10	-62	32

Voxel-wise paired *t*-tests were used to define clusters of significant changes in functional connectivity in the DMN induced by 8-week treatment with low-dose and high-dose ganglioside. Regions of significant changes at a cluster-corrected $P < 0.05$ were defined as clusters.

Regions of increase in functional connectivity with the administration of high-dose ganglioside did not survive cluster-wise correction for multiple comparisons.

Abbreviations: MNI, Montreal Neurological Institute; PCC, posterior cingulate cortex; DMN, default mode network; L, left; R, right.

Figure 3.6. Treatment Group-by-Time Interaction on Functional Connectivity in the Default Mode Network.

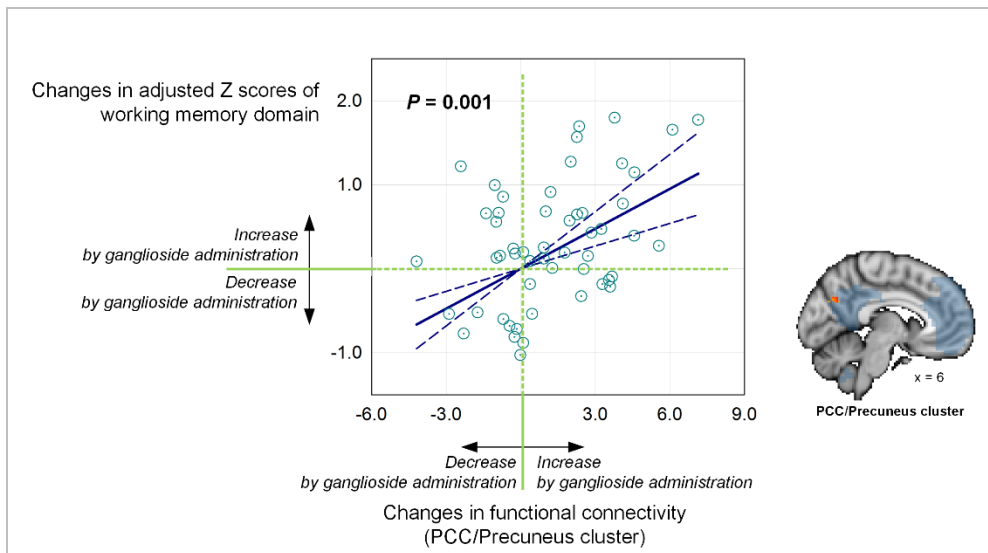


The figure depicts the regions where the extent of functional connectivity change was greater in ganglioside group than placebo group.

6. 상관관계 결과

강글리오사이드 군에서 작업기억력 수행 향상의 정도와 후대상회/설전부 기능적 연결성 증가의 정도는 유의한 상관관계를 보였다($r = 0.44, p = 0.001$) (그림 3.7). 그러나 작업 기억력 수행 향상의 정도와 내측 전전두엽($r = 0.25, p = 0.07$), 후대상회/설전부($r = -0.02, p = 0.91$), 아래두정피질($r = 0.01, p = 0.96$)의 회백질 부피 증가 간에는 유의한 상관관계를 찾지 못하였다.

Figure 3.7. Significant Association Between Ganglioside-Induced Changes in Functional Connectivity of the Posterior Cingulate Cortex/Precuneus and Changes in Working Memory Performance.



Pearson correlation analysis demonstrated that increased functional connectivity of the PCC/precuneus cluster was associated with improved working memory performance in the ganglioside group ($r=0.44$, $p=0.001$).

Abbreviations: PCC, posterior cingulate cortex.

고찰

1. 연구의 결과 요약

만 40세에서 65세 사이의 성인이 강글리오사이드를 8주간 복용하였을 때, 위약을 복용한 대조군에 비해 작업기억력 수행이 향상되고, 내측 전전두엽, 후대상회/설전부 및 아래 두정피질 등 디폴트 모드 네트워크에 속하는 여러 뇌 부위에서 유의한 회백질 부피 증가 및 기능적 연결성 증가가 관찰되었다. 이는 각 연구대상자의 8주 전후의 평가 척도를 비교했을 때에도 유의한 차이가 관찰되었고, 위약대조군과 강글리오사이드군에서의 변화 정도를 비교했을 때에도 강글리오사이드군(고용량, 저용량)에서 더 큰 정도의 변화를 보였다. 중증 이상 반응은 관찰되지 않았으며, 세 군 간에 유의한 실험실적 검사 이상이나 체질량 지수 변화에 차이가 관찰되지 않았다.

디폴트 모드 네트워크 내 뇌부위의 구조적, 기능적 변화와 작업기억력 수행 향상 정도의 관련성을 분석하였을 때, 디폴트 모드 네트워크 내 기능적 연결성 증가의 정도가 클수록 작업 기억력 수행의 향상 정도가 큰 양의 상관관계를 보였다.

2. 강글리오사이드 경구 투여로 인한 인지기능 증진

효과에 대한 고찰

이 연구에서는 중년 성인이 강글리오사이드를 8주간 복용했을 때, 위약대조군에 비해 작업기억력 수행이 유의하게 향상됨을 관찰하였다. 강글리오사이드로 인한 작업기억력 수행 향상의 정도는 저용량 투여군 및 고용량 투여군 모두 중등도 크기의 효과에 해당되었다. 사람에서 강글리오사이드의 인지기능 증진 효과는 연구된 바가 없으나, 랫트에서 미로 검사를 하였을 때 공간 학습과 기억력에 도움을 준다는 기존 연구 결과와 합당하다고 볼 수 있다 (52). 또한, 기억력 손상 동물 모델에서도 강글리오사이드를 투여했을 때 기억력 저하가 감소함을 보고한 기존 연구 결과와도 합당하다고 볼 수 있다 (59, 63).

작업기억력은 나이에 따라 감소되는 대표적인 인지기능 영역으로, 단기적으로 정보를 기억하고 유지하면서 조작하는 데 필요하다. 따라서, 문제 해결 능력이나 계획을 세우고 합리적인 추론을 하는 능력 등 고위인지기능에 핵심적인 인지기능이며, 일상생활을 정상적으로 영위하는데 중요한 영역이다 (87). 작업기억력을 담당하는 국소적인 뇌 부위가 있는 것은 아니며, 광범위한 뇌 네트워크의 활동에 달려있다고 알려져 있다 (96).

강글리오사이드는 근본적인 신경세포의 기능에 필수적인 성분이면서 신경가소성 및 신경영양인자 분비를 촉진하는 것으로 알려져 있으므로 광범위한 뇌 네트워크의 활동을 반영하는 작업기억력은 강글리오사이드의 효과를 평가하기에 적절한 인지기능 영역이라고 볼 수 있다.

강글리오사이드가 작업기억력 이외의 다른 인지기능에는 어떤 영향을 주는지에 대해서도 연구가 필요하다. 주의력이나 각성 수준의 증가 등 다른 인지기능의 향상으로 인해 작업기억력 수행이 간접적으로 증진되었을 가능성을 완전히 배제할 수는 없다. 또한 불안의 감소, 의욕의 증가 등도 작업기억력 수행에 영향을 줄 수 있는 요인이다. 이 연구에서는 그룹간에 유의한 우울, 불안 증상 차이는 관찰되지 않았으며, 강글리오사이드 투여 전후로도 유의한 변화가 관찰되지는 않았다.

이 연구는 일상생활의 기능 수준에 현저한 감소가 없는 사람들을 대상으로 하였지만, 인지기능 저하로 인해 일상생활에 지장이 있는 사람들에서 강글리오사이드를 투여했을 때 작업기억력 점수뿐만 아니라 실제 일상생활 기능 수준 및 삶의 질에도 이익이 있는지도 추후 연구가 필요한 부분이라고 할 수 있겠다.

건강한 인구 집단에서 인지기능을 증진할 수 있는 중재 방법은 최근에 와서야 주목받기 시작하여 연구가 되고 있는 신생 분야로, 현재까지 인지기능 검사만을 평가 척도로 사용한 연구 (4, 6) 또는 인지훈련, 운동과 같은 행동 중재 방법을 사용한 연구들이 대부분이다 (26, 39). 아울러 중년의 연령대를 대상으로 한 중재 연구는 많지 않으며, 식이, 운동 등 생활습관 위험인자를 후향적으로 평가하여 인지기능과의 연관관계를 살펴본 연구들이 대부분이다 (6). 성인을 대상으로 혈청 인지질 검사를 통해 불포화 지방산 식이 상태를 추정한 관찰 연구들에서는 말초 혈액 내 불포화 지방산의 농도가 높을수록 작업기억력과 인지적 유연성 수행 정도가 높고, 노화에 따른 인지기능 저하의 속도가 감소하며 회백질 고음영이 발생하는 정도가 적다고 보고한 바 있다 (44, 97).

기능성 성분을 섭취함으로써 인지기능을 증진할 수 있는지 여부에 대해서는 관심이 증대하면서, 필수 영양 성분에 해당되는 비타민 B12, 티아민, 엽산, 아미노산, 지방산 등의 섭취로 인한 인지기능 증진뿐만 아니라 정상적인 신경계 기능에 필요한 다양한 성분에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다.

기능성 성분이 인지기능을 증진할 수 있는 기전에 대해서는 단기적으로는 신경전달물질 및 신경영양인자의 분비 촉진, 뇌의 에너지 대사 과정의 효율성 증진, 장기적으로는 뇌 혈류 개선이나 뇌가소성 기전이 생각되고 있다 (98). 불포화 지방산 식이를 할 경우 혈중 지질 성분(lipid profile)이 개선되어 인지기능에 이익이 있다는 연구를 참고해보았을 때 (44), 강글리오사이드의 인지기능 향상 기전도 혈중 지질의 개선과 관련이 있을 수 있다. 어린 랫트에서 시행된 강글리오사이드 섭취의 소화기계에 대한 연구에서 소장 점막 내 강글리오사이드의 함입이 증가하고 콜레스테롤은 감소함으로써 항염증효과가 있다고 하였다 (99). 또한, 어린 랫트에서 강글리오사이드 섭취가 소화기계뿐만 아니라 뇌 및 혈장 내 콜레스테롤: 강글리오사이드 비율을 낮춘다고 보고한 연구도 있었다 (54). 하지만, 강글리오사이드가 발달 과정이 아닌 중년, 노년기의 연령대 사람의 혈중 지질에 동일한 영향을 주는지는 알려진 바가 없다.

이 연구에서는 강글리오사이드 투여로 인한 혈중 콜레스테롤 감소는 관찰되지 않았다. 위약대조군에서 강글리오사이드 고용량 투여군에 비해 유의한 정도는 아니었으나 혈중 콜레스테롤이 높은 편이었다. 200mg/d의 기준으로 혈중 콜레스테롤이 높고 낮음을 분류하였을 때, 위약대조군에서 혈중 콜레스테롤이 높은 비율이

66.7%, 강글리오사이드 저용량 투여군이 63.3%, 강글리오사이드 투여군이 43.3%로 유의한 차이가 나지 않았다(피셔의 정확 검정, $p = 0.21$). 또한 혈중 콜레스테롤 평균 농도가 높은 위약대조군의 작업기억력 수행 정도는 기저시점에 강글리오사이드 고용량 투여군에 비해 높은 모습을 보였다. 따라서, 이 연구의 결과와 군간 혈중 콜레스테롤의 차이와는 명확한 연관관계는 없는 것으로 보인다.

이렇듯 아직까지는 기능성 식품의 섭취가 사람에서 인지기능을 증진하기 위해서 어떤 기전이 가장 중요한지에 대해서 알려진 부분이 많지 않다. 사람에서 기능성 성분 경구 보충의 기전을 연구하기 위해서는 다양한 뇌영상 방법론을 적용한 연구가 필요하다. 지금까지는 기능성 성분 복용 전후의 급성 효과를 평가한 실험적인 뇌영상 연구 디자인은 있지만, 조금 더 장기적인 효과를 평가한 뇌영상 연구는 많지 않다. 인지훈련이나 운동과 같은 중재효과를 뇌영상 지표로 평가한 뇌영상 연구로 1년 간의 유산소 운동 중재군에서 디폴트 모드 네트워크 및 전두엽-두정엽 네트워크의 기능적 연결성이 증가하였다는 연구가 있다 (26). 이 연구와 중재 방법이 달라 인지기능 증진의 기전 및 그로 인해 보이는 뇌의 변화에 차이가 있을 수 있어 직접적인 비교는 어려우나, 실행기능 증진과 디폴트 모드 네트워크 기능적 연결성 증가 간에 유의한 상관관계를 보였다는 점은 연구의 결과를 해석할 때 참고할 수 있겠다.

나이에 따른 노화로 인지기능이 저하되는 것을 예방하기 위해서는 나이에 따른 인지기능 변화의 기전에 대해서도 연구가 필요하다고 볼 수 있겠다. 중년의 인지기능에 대한 뇌영상 연구에서

임상 역치하의 인지기능 저하를 보이는 군에서 과제를 하는 동안 디폴트 모드 네트워크의 억제가 잘 되지 않는 현상을 보고하였다 (75). 이 연구는 휴지기의 뇌 활동을 본 것이 아니며 간단한 시각-운동 과제를 블록 방식으로 수행하면서 기능적 뇌영상을 촬영하여, 과제를 하지 않을 때와 과제를 할 때의 **BOLD(blood-oxygen-level-dependent)** 신호를 비교하였다는 점에서 이 연구와 차이가 있다. 그러나, 연구의 관심 뇌영역인 디폴트 모드 네트워크의 기능적 변화를 인지기능 저하의 조기 뇌영상 표지자로 제시하고 있다는 점은 이 연구의 결과를 해석할 때 참고할 수 있다.

그 외에 각 연령대에서의 인지기능 차이를 반영하는 뇌영상 지표를 살펴본 연구들이 있다 (70, 72, 100). 나이가 증가함에 따라 집중력, 작업기억력을 포함한 실행기능과 정보처리속도가 감소하는 것으로 잘 알려져 있으며, 휴지기 뇌 네트워크의 기능 뇌영상이 그 차이를 반영한다고 기술하고 있다 (72, 100). 그러나 사람마다 최대 인지기능이 다르고 감소하는 속도나 정도가 다르므로, 단순히 젊은 성인, 중년과 노년기를 비교하는 단면 연구의 디자인으로는 기존에 가지고 있던 개별적인 차이로 인한 영향과 최근에 일어난 뇌의 변화로 인한 인지기능 저하를 구분할 수 없다는 한계점이 있다.

이 연구는 뇌가소성 효과가 있다고 기대되는 물질의 경구 복용 후에 작업기억력 수행 향상뿐만 아니라 디폴트 모드 네트워크의 구조적, 기능적 변화를 함께 처음으로 보고했다는 의의를 가진다. 또한, 개인의 인지기능 다양성을 감안하여 작업기억력 복합 점수 산출 시에 기저시점의 인지기능 수행 차이로 인한 효과는 배제함으로써 개별 차이로 인한 영향을 최소화하고자 하였다.

최근 경구 식이 보충의 중재 효과를 평가할 때, 인지기능에

대한 평가 척도 이외에 2차 평가 척도로 뇌영상 표지자를 포함하는 것을 널리 권장하고 있다. 이는 뇌영상 표지자를 통해 살아있는 사람에서 중재 효과의 작용 기전에 대한 정보를 얻을 수 있고, 뇌의 변화를 민감하게 감지하여 식이 보충의 장기적인 효과 여부를 좀 더 조기에 예측할 수 있다는 장점이 있기 때문이다 (98). 하지만 아직까지 뇌영상 표지자와 인지기능 간의 연관성에 대해서 명확히 설명되지 않은 부분이 있고, 효과를 평가하는 물질의 작용기전에 따라 어떤 특정 뇌영상 표지자가 민감한 변화를 보일 지가 달라질 수 있으므로 다중 뇌영상 자료를 분석하는 것이 유리하다. 이 연구에서는 T1와 휴지기 fMRI의 서로 다른 방법론을 사용한 뇌영상 자료를 획득하여 함께 분석한 장점이 있으며, 뇌영상 표지자 중에서 개인 간 변이(inter-individual variance)를 최소화할 수 있는 뇌영상 분석 방법을 선택함으로써 위음성이 나올 가능성을 낮춘 장점이 있다고 볼 수 있겠다 (101).

4. 강글리오사이드 투여에 따른 디폴트 모드 네트워크 내 회백질 부피 및 기능적 연결성 변화에 대한 고찰

연구에서 강글리오사이드 투여군은 위약대조군에 비해 디폴트 모드 네트워크 내 회백질 부피 및 기능적 연결성 증가를 보였다. 이는 다중비교를 교정한 이후에도 통계적으로 유의한 차이를 보였으며, 작업기억력 수행의 변화와 디폴트 모드 네트워크의 기능적 연결성 변화 간에는 양의 상관관계를 보였다. 이는 강글리오사이드 투여로 인해 디폴트 모드 네트워크의 효율이 향상되어 작업기억력 수행의 향상으로 이어졌을 가능성을 시사한다.

디폴트 모드 네트워크는 큰 규모의 뇌 네트워크로 자서전적 기억(*autobiographical memory*), 자기 준거 정보 처리(*self-referential processing*), 실행기능 조절(*executive control*) 등 여러 중요한 뇌의 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다 (102, 103). 그 중 특히 연구에서 유의한 기능적, 구조적 변화를 보인 후대상회/설전부 부위는 디폴트 모드 네트워크의 허브 역할을 하는 핵심 부위로 (104) 조기에 퇴행성 변화를 겪으며 (71), 일생동안 뇌의 건강을 유지하는 것과 밀접한 연관성을 가지고 있는 부위이자(71), 전체 네트워크로 퇴행성 변화가 확장되는 중심으로 생각되고 있다 (105). 최근 이 연구와 같은 독립 성분 분석 방법론을 사용한 기능적 뇌영상 연구들의 결과를 바탕으로 후대상회/설전부 부위의 낮은 기능적 연결성이 퇴행성 뇌질환의 초기 뇌영상 지표로 생각하고 있다 (106).

디폴트 모드 네트워크는 정상 노화 과정에서도 민감한 변화를 보이는 휴지기 뇌 네트워크로 알려져 있다. 나이가 증가함에 따라

과제에 따라 특이적인 뇌 부위들이 활성화되기 보다는 전반적으로 활성화되는 탈분화(dedifferentiation) 양상을 보이며 (107), 이는 노화로 인한 변화의 보상 반응으로 생각되고 있다 (108). 또한, 과제를 수행할 때 필요한 뇌 부위가 유동적으로 신속하게 반응해야 하는데 이 때 억제되어야 하는 휴지기 뇌 네트워크가 계속 활성화되어 있는 조절 이상이 작업 기억력, 실행 기능 저하와 관련이 있다고 알려져 있다 (100). 운동, 인지훈련 등 뇌가소성 증진 중재를 통해 이러한 노화와 관련된 디폴트 모드 네트워크의 기능적 변화를 회복하는 것이 인지기능 증진 효과와 관련이 있다고 한다 (26). 따라서, 디폴트 모드 네트워크의 기능적 연결성은 필요한 뇌 부위들을 유동적으로 동원하여 성공적으로 과제를 수행해내는 능력과 관련이 있다고 볼 수 있다 (26). 연구에서 강글리오사이드 투여를 통해 디폴트 모드 네트워크의 기능적 연결성이 향상되어, 과제 수행 시 필요한 뇌영역으로의 동원이 신속히 이뤄지고 작업 기억력 수행이 증진된 것이라고 조심스럽게 가정해 볼 수 있겠다 (75, 106, 109). 하지만, 디폴트 모드 네트워크의 휴지기 활동, 과제를 수행할 때의 뇌활동 및 인지기능 간의 관련성에 대한 좀 더 명확한 규명이 뒷받침되어야 한다. 이를 위해 휴지기 기능뇌영상과 과제 기반 기능뇌영상을 중재 전후로 비교하는 연구가 도움이 될 수 있겠다.

강글리오사이드 투여가 디폴트 모드 네트워크 내 구조적, 기능적 변화를 일으킨 구체적인 기전은 잘 알려져 있지 않지만, 산화 스트레스 감소 및 여러 신경영양인자와의 상호작용으로 인해 뇌보호, 뇌가소성 촉진 효과를 일으킬 수 있겠다 (80, 110). 강글리오사이드의 뇌가소성 촉진 기전은 주로 동물에서 연구가

되었으며, 최근에 Valdomero 등은 살아있는 랫트에서
강글리오사이드를 복강 내 주입하였을 때 기저핵에 BDNF 단백질
농도가 증가함을 보인 바 있다 (58). Lim 등은 인간
신경모세포에서도 강글리오사이드 주입 시 BDNF가 분비가
촉진됨을 보고한 바 있다 (50). 그 외 강글리오사이드를 투여할
경우 신경세포의 손상이 회복되고, 시냅스 안정화, 시냅스 돌기
증가가 된다는 것을 밝힌 전임상 연구들이 있다 (50, 51, 80).

이 연구에서 작업기억력 수행 향상과 디폴트 모드 네트워크의
기능적 연결성은 유의한 상관관계를 보였으나, 회백질 부피
변화와의 상관관계는 유의하지 않았다. 작업기억력 과제를 할 경우
전두엽, 두정엽, 측두엽과 여러 피질하 뇌 부위에 광범위한
활성화가 나타난다고 알려져 있으며 (111), 작업기억력 수행의
향상과 관련이 있는 뇌의 활동 변화로는 증가, 감소가 모두 보고된
바 있다 (111, 112). 같은 수준의 과제를 수행할 때, 더 적은 정도의
뇌 활동으로도 성공적으로 수행할 수 있게 되면 작업기억력 수행의
정도는 나아지고 뇌 활성화는 감소하는 패턴이 관찰되는 것으로
알려져 있다 (113). 이렇듯 인지기능 훈련을 통한 작업기억력
증진은 네트워크 효율성과 관련이 높다고 한다 (113). 이러한
측면에서 살펴보았을 때, 강글리오사이드 투여로 인한 인지기능
증진이 국소적인 뇌 부위의 변화를 반영하는 회백질 부피 증가와는
상관관계를 보이지 않고, 네트워크 효율성을 반영하는 기능적
연결성과 유의한 상관관계를 보였을 수 있겠다.

특히, 이 연구에서 작업기억력 수행과 유의한 상관관계를
보였던 후대상회/설전부의 기능적 연결성 저하는 나이와 관련된
인지기능 저하와 특이적으로 연결된 뇌영상 표지자로 알려져 있다

(109, 114). 기존의 연구에서 후대상회/설전부 부위의 회백질 부피가 위축되지 않는 것이 성공적인 노화와 관련이 있다는 보고도 있었으나 (115, 116), 이 연구에서는 뒤쪽 DMN 회백질 부피의 변화와 작업기억력 수행의 향상과는 유의한 상관관계를 보이지 않았다. 뒤쪽 DMN은 작업기억력의 수행뿐만 아니라 다른 인지기능에도 영향을 줄 수 있으며, 다중 뇌영상 연구를 수행할 때 일부 뇌영상 평가 척도만이 특정 인지기능 평가 척도와 유의한 상관관계를 보이는 경우가 있다. 신체 활동의 정도와 노화로 인한 뇌의 변화 간에 상관관계를 살펴보았던 다중 뇌영상 연구에서는 통계 모델의 설명력을 비교하여 중재효과를 유의하게 설명해주는 뇌영상 표지자를 탐색하였는데, 기능적 연결성과 뇌혈류가 중재효과를 유의하게 설명해주었고, 회백질 부피와 구조적 연결성은 유의한 설명요인이 아니었다 (117). 또한, 사람마다 나이에 따른 회백질 위축의 정도와 대뇌 위축에 대한 기능적 연결성의 보상적 반응은 다르다고 알려져 있어 (118), 구조적 뇌영상 표지자와 기능적 뇌영상 표지자가 인지기능에 미치는 영향이 이질적일 수 있겠다.

5. 종합 고찰

연구를 통해 중년에서 강글리오사이드를 투여했을 때 위약에 비해 유의하게 작업 기억력 수행이 호전되고 디폴트 모드 네트워크 내 구조 및 기능이 변화함을 관찰하였다. 강글리오사이드 경구 투여에 대한 순응도는 90% 이상으로 높은 편이었으며, 강글리오사이드군과 위약대조군 간에 유의하게 차이가 나는 유해 반응은 없었다. 강글리오사이드군에서 보고한 유해반응은 경하고 저절로 회복되었으며, 용량과 관련을 보이지는 않았다. 안전성 평가를 위해 체질량 지수와 혈액학적 검사를 시행하였는데, 군간 차이를 보이는 항목은 없었다.

강글리오사이드는 유제품 및 육류에 존재하는 영양소로 식이로 섭취하는 양은 건강한 성인에서는 200 μ g/일 미만에서부터 신생아에서는 7.0mg/일까지 넓은 범위를 보였다 (38, 119). 따라서, 이 연구에서 사용한 용량은 인지 저하를 호소하는 중년의 연령대에서 인지기능 증진 목적으로 안전하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

선행 연구에서 디폴트 모드 네트워크의 변화를 인지기능 변화의 조기 뇌영상 표지자로 사용하고 있으며, 인지 훈련이나 운동 등과 같이 인지기능을 증진시킬 수 있는 중재 방법의 효과를 보고한 연구들에서 뇌 네트워크의 가소성을 인지기능이 증진되는 기전으로 보고하고 있다.

디폴트 모드 네트워크는 뇌 전체의 효율과 정상 노화 과정으로 인한 변화를 민감하게 반영하는 뇌 회로이다. 연구 결과에서 작업 기억력 수행의 호전 정도와 디폴트 모드 네트워크의 기능적 연결성 간에 유의한 상관관계를 발견하였는데, 이는 디폴트 모드

네트워크의 기능적 연결성 저하 또는 과제를 수행할 때 억제되지 못하는 양상 등이 인지기능 저하와 관련이 있다는 연구결과들과 흐름을 같이 한다고 볼 수 있다.

연구에서 강글리오사이드 투여가 디폴트 모드 네트워크의 구조적, 기능적 변화 및 작업기억력 수행 향상을 일으킨 기전을 알 수는 없지만, 기존 동물 연구를 통해 신경영양효과(neurotrophic effect)가 시냅스 돌기 증가를 비롯한 뇌가소성 촉진으로 이어졌을 가능성을 생각해 볼 수 있다.

6. 연구의 장점과 의의

강글리오사이드의 뇌보호 효과는 세포 및 동물 연구에서 제기되어 왔으나 사람에서는 일부 중증 신경질환에서만 연구되어 왔다. 이 연구를 통하여 사람에서도 인지기능 개선 효과가 있는지에 대해 결과를 제시할 수 있다는데 의의가 있다. 인지기능뿐만 아니라 뇌영상 지표도 함께 평가함으로써 강글리오사이드 투여로 인한 뇌의 변화를 민감하게 감지할 수 있었을 것으로 생각된다.

인지기능 향상에 대한 많은 중재방법들이 연구되고 있으나 다양한 연구 방법과 혼합된 결과들로 인해 실제 효과가 있는지에 대해 판단하는 것이 혼란스러운 경우도 있다. 연구는 무작위 배정, 위약대조, 이중맹검, 전향적 중재로 연구를 진행하였으며, 연구가 상대적으로 많이 이뤄지지 않고 노화 과정 중에 있는 중년의 연령층을 대상으로 시행했다는 점에서 의의가 있다. 중년의 연령대는 노년기에 비해 상대적으로 가역적인 변화 가능성이 더 많을 수 있겠다. 아울러 특정 물질의 뇌보호 효과를 뇌영상 평가 지표로 평가하고, 성인에서 강글리오사이드 경구 보충의 인지기능 증진 효과는 처음 발표한 연구로 의미가 있겠다.

7. 연구의 한계와 앞으로 나아갈 방향

이 연구는 지역사회 광고를 통해 인지기능 증진에 대한 관심이 많은 사람들이 대상이 되었으므로 건강에 대해 관심이 있고 동기가 있는 사람으로 편향되었을 가능성이 있다. 연구대상자의 실제 인지기능 정도에는 편차가 있을 수 있으며, 정밀한 진단적 평가를 시행했을 때 경도인지기능장애가 있는 사람이 연구대상으로 포함되어 있을 가능성을 완전히 배제하지 못한 점이 한계일 수 있겠다. 또한, 식이 습관이나 운동 등과 같이 인지기능에 영향을 줄 수 있는, 통제하지 못한 교란 변수가 있을 수 있겠다. 우울과 불안 증상을 평가해보았을 때에는, 치료군 간에 유의한 변화는 관찰되지 않아 강글리오사이드 투여 효과가 우울과 불안의 호전 때문일 가능성을 시사하고 있지는 않다.

연구에 참여한 대상자들의 원래 인지기능 수준에 대한 자료가 없으므로, 인지기능이 예전보다 저하된 상태에서 호전이 된 것인지 본래 수준에서 더 향상이 된 것인지는 알 수 없다는 한계점이 있다. 연구에서는 8주간이라는 비교적 짧은 시간 동안 강글리오사이드 투여를 하였으며, 작업기억력 수행의 향상 및 디폴트 모드 네트워크 내 구조, 기능 변화는 일시적인 변화일 수 있다. Ginkgo biloba/Panax Ginseng 조합 추출물을 중년의 건강한 성인에서 투여하였을 때, 복용 4주 후부터 유의한 기억력 호전이 있었으며, 12주간 복용을 한 뒤에 복용 중단 2주 후에 검사하였을 때 기억력 호전 효과가 지속됨을 보고하기도 하였다 (7). 하지만 이 연구에서는 강글리오사이드 투여를 중단한 이후에 추적 관찰한 자료가 없으므로 투여를 중단한 이후에도 인지기능 향상이 지속되는지는 알 수 없다.

이 연구에서는 용량에 따른 반응(dose-response relationship)을 찾지 못하였다. 그 이유로는, 첫 번째로 군 내 전후 차이 및 치료군과 대조군 간의 차이를 감지할 수 있는 기준으로 표본 수를 산출하였으며, 치료군과 대조군 간의 차이보다 서로 다른 용량에 따른 반응 차이의 크기가 적을 것이므로 이를 감지하기 위해서는 더 많은 수의 표본이 필요할 것으로 생각된다. 두 번째로, 강글리오사이드는 인간에서 인지기능 증진 목적으로는 연구된 바가 없어 동물연구를 통해 효과가 있으면서 안전성에는 문제가 없을 만한 용량을 추정하여 시험약을 제조하였다. 따라서 용량에 따른 천정효과로 인해 용량-의존 반응을 찾지 못하였을 가능성이 있다. 세 번째로, 포도당이나 강글리오사이드와 같이 대뇌의 기능에 필수적인 물질들은 뇌-혈관-장벽을 통해 대뇌 내 농도가 굉장히 좁은 범위로 유지되고 있다. 따라서, 경구로 복용하는 양을 늘렸을 때 대뇌 내 농도가 비례해서 증가하지 않을 가능성이 있겠다.

강글리오사이드는 우유와 같은 유제품과 계란 등 음식에 포함되어 있는 성분이지만, 원료에서 추출을 하여 경구로 복용했을 때의 장기적인 안전성에 대해서는 규명이 되어 있지 않다. 또한, 강글리오사이드를 추출할 때 사용한 원료나 추출방법에 따라 인지기능에 대한 효과는 달라질 가능성이 있다. 강글리오사이드 투여가 인지기능을 증진시키는 기전, 인지기능 증진 목적으로 사용할 경우 최적의 원료 및 추출 방법이 무엇인지에 대해서 추후 연구가 필요하겠다.

이 연구는 지역사회 중년 성인을 대상으로 하였는데, 강글리오사이드 복용이 정상인 뿐만 아니라 퇴행성 뇌질환의 전임상 단계로 고려되고 있는 주관적 인지기능 저하군에서도

효능을 보이는지를 규명하는 연구가 필요하다. 주관적인 인지기능 저하를 호소하는 군 중에 특히 알츠하이머 치매의 위험군임을 반영하는 기준을 이용하여 세심하게 선별된 연구대상에 적용을 해 볼 수 있겠다. 퇴행성 뇌질환의 위험군이 강글리오사이드를 복용했을 때 인지기능 저하 호소가 호전이 되는지, 앞으로의 인지기능 저하를 예방할 수 있는지 및 장기간 복용 시의 영향 등과 같은 연구 주제가 임상적으로 의미가 있는 후속 연구가 되겠다.

참 고 문 헌

1. WHM Ponds MVB, Jellemer Jolles, Rudolf. Age-related changes in subjective cognitive functioning. *Educational Gerontology*. 2000;26(1):67-81.
2. Franke AG, Heinrich I, Lieb K, Fellgiebel A. The use of Ginkgo biloba in healthy elderly. *Age*. 2014;36(1):435-44.
3. Dietz P, Striegel H, Franke AG, Lieb K, Simon P, Ulrich R. Randomized response estimates for the 12-month prevalence of cognitive-enhancing drug use in university students. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2013;33(1):44-50.
4. Best T, Kemps E, Bryan J. Saccharide effects on cognition and well-being in middle-aged adults: A randomized controlled trial. *Developmental Neuropsychology*. 2009;35(1):66-80.
5. Gunning-Dixon FM, Raz N. Neuroanatomical correlates of selected executive functions in middle-aged and older adults: a prospective MRI study. *Neuropsychologia*. 2003;41(14):1929-41.
6. Kalmijn S, Van Boxtel M, Ocke M, Verschuren W, Kromhout D, Launer L. Dietary intake of fatty acids and fish in relation to cognitive performance at middle age. *Neurology*. 2004;62(2):275-80.
7. Wesnes K, Ward T, McGinty A, Petrini O. The memory enhancing effects of a Ginkgo biloba/Panax ginseng combination in healthy middle-aged volunteers. *Psychopharmacology*. 2000;152(4):353-61.
8. Chapman SB, Aslan S, Spence JS, Hart JJ, Bartz EK, Didehbani N, et al. Neural mechanisms of brain plasticity with complex cognitive training in healthy seniors. *Cerebral Cortex*. 2015;25(2):396-405.
9. Witte AV, Kerti L, Hermannstädter HM, Fiebach JB, Schreiber SJ, Schuchardt JP, et al. Long-chain omega-3 fatty acids improve brain function and structure in older adults. *Cerebral Cortex*. 2014;24(11):3059-68.
10. Katagiri M, Satoh A, Tsuji S, Shirasawa T. Effects of astaxanthin-rich

- Haematococcus pluvialis extract on cognitive function: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2012;51(2):102.
11. Richter Y, Herzog Y, Lifshitz Y, Hayun R, Zchut S. The effect of soybean-derived phosphatidylserine on cognitive performance in elderly with subjective memory complaints: a pilot study. *Clinical Interventions in Aging*. 2013;8:557.
 12. Hedden T, Gabrieli JD. Insights into the ageing mind: a view from cognitive neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*. 2004;5(2):87-96.
 13. Newson RS, Kemps EB. The nature of subjective cognitive complaints of older adults. *The International Journal of Aging and Human Development*. 2006;63(2):139-51.
 14. Thorp AA, Sinn N, Buckley JD, Coates AM, Howe PR. Soya isoflavone supplementation enhances spatial working memory in men. *British Journal of Nutrition*. 2009;102(09):1348-54.
 15. Macready AL, Butler LT, Kennedy OB, Ellis JA, Williams CM, Spencer JP. Cognitive tests used in chronic adult human randomised controlled trial micronutrient and phytochemical intervention studies. *Nutrition Research Reviews*. 2010;23(02):200-29.
 16. Fray PJ, Robbins TW, Sahakian BJ. Neuropsychiatric applications of CANTAB. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 1996.
 17. Jiao J, Li Q, Chu J, Zeng W, Yang M, Zhu S. Effect of n-3 PUFA supplementation on cognitive function throughout the life span from infancy to old age: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2014;100(6):1422-36.
 18. Alharbi MH, Lampert DJ, Dodd GF, Saunders C, Harkness L, Butler LT, et al. Flavonoid-rich orange juice is associated with acute improvements in cognitive function in healthy middle-aged males. *European Journal of Nutrition*. 2015:1-9.
 19. Best T, Howe P, Bryan J, Buckley J, Scholey A. Acute effects of a dietary

- non-starch polysaccharide supplement on cognitive performance in healthy middle-aged adults. *Nutritional Neuroscience*. 2015;18(2):76-86.
20. Azhar ZM, Zubaidah JO, Norjan KO, Zhuang CY-J, Tsang F. A pilot placebo-controlled, double-blind, and randomized study on the cognition-enhancing benefits of a proprietary chicken meat ingredient in healthy subjects. *Nutrition Journal*. 2013;12(1):121.
21. Pipingas A, Silberstein RB, Vitetta L, Rooy CV, Harris EV, Young JM, et al. Improved cognitive performance after dietary supplementation with a *Pinus radiata* bark extract formulation. *Phytotherapy Research*. 2008;22(9):1168-74.
22. Durga J, Van Boxtel MP, Schouten EG, Kok FJ, Jolles J, Katan MB, et al. Effect of 3-year folic acid supplementation on cognitive function in older adults in the FACIT trial: a randomised, double blind, controlled trial. *The Lancet*. 2007;369(9557):208-16.
23. Maylor EA, Simpson EE, Secker DL, Meunier N, Andriollo-Sanchez M, Polito A, et al. Effects of zinc supplementation on cognitive function in healthy middle-aged and older adults: the ZENITH study. *British Journal of Nutrition*. 2006;96(04):752-60.
24. Duffy R, Wiseman H, File SE. Improved cognitive function in postmenopausal women after 12 weeks of consumption of a soya extract containing isoflavones. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2003;75(3):721-9.
25. Mozolic JL, Hayaska S, Laurienti PJ. A cognitive training intervention increases resting cerebral blood flow in healthy older adults. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2010;4:16.
26. Voss MW, Prakash RS, Erickson KI, Basak C, Chaddock L, Kim JS, et al. Plasticity of brain networks in a randomized intervention trial of exercise training in older adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2010;2.
27. Schmidt A, Hammann F, Wölnerhanssen B, Meyer-Gerspach AC, Drewe J, Beglinger C, et al. Green tea extract enhances parieto-frontal connectivity during working memory processing. *Psychopharmacology*.

- 2014;231(19):3879-88.
28. Sheline YI, Raichle ME, Snyder AZ, Morris JC, Head D, Wang S, et al. Amyloid plaques disrupt resting-state default mode network connectivity in cognitively normal elderly. *Biological Psychiatry*. 2010;67(6):584-7.
 29. Petrella JR, Prince SE, Wang L, Hellegers C, Doraiswamy PM. Prognostic value of posteromedial cortex deactivation in mild cognitive impairment. *PLoS One*. 2007;2(10):e1104.
 30. Lampit A, Hallock H, Suo C, Naismith SL, Valenzuela M. Cognitive training-induced short-term functional and long-term structural plastic change is related to gains in global cognition in healthy older adults: a pilot study. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2015;7.
 31. Engvig A, Fjell AM, Westlye LT, Moberget T, Sundseth Ø, Larsen VA, et al. Effects of memory training on cortical thickness in the elderly. *NeuroImage*. 2010;52(4):1667-76.
 32. Lamport DJ, Pal D, Moutsiana C, Field DT, Williams CM, Spencer JP, et al. The effect of flavanol-rich cocoa on cerebral perfusion in healthy older adults during conscious resting-state: a placebo controlled, crossover, acute trial. *Psychopharmacology*. 2015;232(17):3227-34.
 33. Bauer I, Hughes M, Rowsell R, Cockerell R, Pipingas A, Crewther S, et al. Omega-3 supplementation improves cognition and modifies brain activation in young adults. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. 2014;29(2):133-44.
 34. Brickman AM, Khan UA, Provenzano FA, Yeung L-K, Suzuki W, Schroeter H, et al. Enhancing dentate gyrus function with dietary flavanols improves cognition in older adults. *Nature Neuroscience*. 2014;17(12):1798-803.
 35. Li R, Zhu X, Yin S, Niu Y, Zheng Z, Huang X, et al. Multimodal intervention in older adults improves resting-state functional connectivity between the medial prefrontal cortex and medial temporal lobe. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2014;6.
 36. Witte AV, Kerti L, Margulies DS, Flöel A. Effects of resveratrol on memory

- performance, hippocampal functional connectivity, and glucose metabolism in healthy older adults. *The Journal of Neuroscience*. 2014;34(23):7862-70.
37. Narendran R, Frankle WG, Mason NS, Muldoon MF, Moghaddam B. Improved working memory but no effect on striatal vesicular monoamine transporter type 2 after omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation. *PLoS One*. 2012;7(10):e46832.
 38. Mashayekh A, Pham DL, Yousem DM, Dizon M, Barker PB, Lin DD. Effects of Ginkgo biloba on cerebral blood flow assessed by quantitative MR perfusion imaging: a pilot study. *Neuroradiology*. 2011;53(3):185-91.
 39. Small GW, Silverman DH, Siddarth P, Ercoli LM, Miller KJ, Lavretsky H, et al. Effects of a 14-day healthy longevity lifestyle program on cognition and brain function. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*. 2006;14(6):538-45.
 40. Bookheimer SY, Renner BA, Ekstrom A, Li Z, Henning SM, Brown JA, et al. Pomegranate juice augments memory and fMRI activity in middle-aged and older adults with mild memory complaints. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013.
 41. Richter Y, Herzog Y, Eyal I, Cohen T. Cognitex Supplementation in Elderly Adults with Memory Complaints: An Uncontrolled Open Label Trial. *Journal of Dietary Supplements*. 2011;8(2):158-68.
 42. Di Paolo G, Kim T-W. Linking lipids to Alzheimer's disease: cholesterol and beyond. *Nature Reviews Neuroscience*. 2011;12(5):284-96.
 43. Ledesma MD, Martin MG, Dotti CG. Lipid changes in the aged brain: effect on synaptic function and neuronal survival. *Progress in Lipid Research*. 2012;51(1):23-35.
 44. Muldoon MF, Ryan CM, Sheu L, Yao JK, Conklin SM, Manuck SB. Serum phospholipid docosahexaenoic acid is associated with cognitive functioning during middle adulthood. *The Journal of Nutrition*. 2010;140(4):848-53.
 45. Pottala JV, Yaffe K, Robinson JG, Espeland MA, Wallace R, Harris WS.

- Higher RBC EPA+ DHA corresponds with larger total brain and hippocampal volumes WHIMS-MRI Study. *Neurology*. 2014;82(5):435-42.
46. Titova OE, Sjögren P, Brooks SJ, Kullberg J, Ax E, Kilander L, et al. Dietary intake of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids is linked to gray matter volume and cognitive function in elderly. *Age*. 2013;35(4):1495-505.
 47. Katsel P, Li C, Haroutunian V. Gene expression alterations in the sphingolipid metabolism pathways during progression of dementia and Alzheimer's disease: a shift toward ceramide accumulation at the earliest recognizable stages of Alzheimer's disease? *Neurochemical Research*. 2007;32(4-5):845-56.
 48. Mielke MM, Lyketsos CG. Alterations of the sphingolipid pathway in Alzheimer's disease: new biomarkers and treatment targets? *Neuromolecular Medicine*. 2010;12(4):331-40.
 49. Ariga T, Wakade C, Yu RK. The pathological roles of ganglioside metabolism in Alzheimer's disease: effects of gangliosides on neurogenesis. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2011;2011.
 50. Lim ST, Esfahani K, Avdoshina V, Mocchetti I. Exogenous gangliosides increase the release of brain-derived neurotrophic factor. *Neuropharmacology*. 2011;60(7):1160-7.
 51. Fong TG, Neff NH, Hadjiconstantinou M. GM1 ganglioside improves spatial learning and memory of aged rats. *Behavioural Brain Research*. 1997;85(2):203-11.
 52. Jung WR, Kim HG, Kim KL. Ganglioside GQ1b improves spatial learning and memory of rats as measured by the Y-maze and the Morris water maze tests. *Neuroscience Letters*. 2008;439(2):220-5.
 53. Fujii S, Igarashi K, Sasaki H, Furuse H, Ito K-i, Kaneko K, et al. Effects of the mono-and tetrasialogangliosides GM1 and GQ1b on ATP-induced long-term potentiation in hippocampal CA1 neurons. *Glycobiology*. 2002;12(5):339-44.
 54. Park EJ, Suh M, Ramanujam K, Steiner K, Begg D, Clandinin MT. Diet-

- induced changes in membrane gangliosides in rat intestinal mucosa, plasma and brain. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2005;40(4):487-95.
55. Schneider JS, Sendek S, Daskalakis C, Cambi F. GM1 ganglioside in Parkinson's disease: results of a five year open study. *Journal of the Neurological Sciences*. 2010;292(1):45-51.
 56. Gurnida DA, Rowan AM, Idjradinata P, Muchtadi D, Sekarwana N. Association of complex lipids containing gangliosides with cognitive development of 6-month-old infants. *Early Human Development*. 2012;88(8):595-601.
 57. Scholey AB, Camfield DA, Hughes ME, Woods W, Stough CK, White DJ, et al. A randomized controlled trial investigating the neurocognitive effects of Lacprodan® PL-20, a phospholipid-rich milk protein concentrate, in elderly participants with age-associated memory impairment: the Phospholipid Intervention for Cognitive Ageing Reversal (PLICAR): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2013;14(1):404.
 58. Valdomero A, Perondi MC, Orsinger OA, Cuadra GR. Exogenous GM1 ganglioside increases accumbal BDNF levels in rats. *Behavioural Brain Research*. 2015;278:303-6.
 59. Kreutz F, Scherer EB, Ferreira AG, dos Santos Petry F, Pereira CL, Santana F, et al. Alterations on Na⁺, K⁺-ATPase and acetylcholinesterase activities induced by amyloid- β peptide in rat brain and gm1 ganglioside neuroprotective action. *Neurochemical Research*. 2013;38(11):2342-50.
 60. Rong X, Zhou W, Chen X-W, Tao L, Tang J. Ganglioside GM1 reduces white matter damage in neonatal rats. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. 2013;73:379-86.
 61. Jung W, Kim H, Shin M, Park D, Kim K. The effect of ganglioside GQ1b on the NMDA receptor signaling pathway in H19-7 cells and rat hippocampus. *Neuroscience*. 2010;165(1):159-67.
 62. She J-Q, Wang M, Zhu D-M, Tang M, Chen J-T, Wang L, et al.

- Monosialoanglioside (GM1) prevents lead-induced neurotoxicity on long-term potentiation, SOD activity, MDA levels, and intracellular calcium levels of hippocampus in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2009;379(5):517-24.
63. Silva R, Felicio L, Frussa-Filho R. Ganglioside GM1 attenuates scopolamine-induced amnesia in rats and mice. *Psychopharmacology*. 1999;141(2):111-7.
 64. Schneider JS, Gollomp SM, Sendek S, Colcher A, Cambi F, Du W. A randomized, controlled, delayed start trial of GM1 ganglioside in treated Parkinson's disease patients. *Journal of the Neurological Sciences*. 2013;324(1):140-8.
 65. Pham PH, Duffy T-L, Dmytrash AL, Lien VW, Thomson AB, Clandinin M. Estimate of dietary ganglioside intake in a group of healthy Edmontonians based on selected foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011;24(7):1032-7.
 66. Wang B, McVeagh P, Petocz P, Brand-Miller J. Brain ganglioside and glycoprotein sialic acid in breastfed compared with formula-fed infants. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2003;78(5):1024-9.
 67. Flicker C, Ferris SH, Kalkstein D, Serby M. A double-blind, placebo-controlled crossover study of ganglioside GM-1 treatment for Alzheimer's disease. *The American Journal of Psychiatry*. 1994;151(1):126.
 68. Walker JB, Harris M. GM-1 ganglioside administration combined with physical therapy restores ambulation in humans with chronic spinal cord injury. *Neuroscience Letters*. 1993;161(2):174-8.
 69. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Recovery of motor function after spinal-cord injury—a randomized, placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *New England Journal of Medicine*. 1991;324(26):1829-38.
 70. Salthouse TA. When does age-related cognitive decline begin? *Neurobiology of Aging*. 2009;30(4):507-14.
 71. Buckner RL. Memory and executive function in aging and AD: multiple factors that cause decline and reserve factors that compensate. *Neuron*.

2004;44(1):195-208.

72. Damoiseaux J, Beckmann C, Arigita ES, Barkhof F, Scheltens P, Stam C, et al. Reduced resting-state brain activity in the “default network” in normal aging. *Cerebral Cortex*. 2008;18(8):1856-64.
73. Chua EF, Schacter DL, Rand-Giovannetti E, Sperling RA. Understanding metamemory: neural correlates of the cognitive process and subjective level of confidence in recognition memory. *NeuroImage*. 2006;29(4):1150-60.
74. Rombouts SA, Barkhof F, Goekoop R, Stam CJ, Scheltens P. Altered resting-state networks in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease: an fMRI study. *Human Brain Mapping*. 2005;26(4):231-9.
75. Hansen NL, Lauritzen M, Mortensen EL, Osler M, Avlund K, Fagerlund B, et al. Subclinical cognitive decline in middle-age is associated with reduced task-induced deactivation of the brain's default mode network. *Human Brain Mapping*. 2014;35(9):4488-98.
76. Bluhm RL, Osuch EA, Lanius RA, Boksman K, Neufeld RW, Théberge J, et al. Default mode network connectivity: effects of age, sex, and analytic approach. *Neuroreport*. 2008;19(8):887-91.
77. First MB, Spitzer RL. Gibbon Miriam, and Williams, Janet BW (2002). Structured clinical interview for DSM-IV-TR axis I disorders, research version, non-patient edition. (SCID-I/NP) New York: Biometrics Research, New York State Psychiatric Institute, 2002.
78. Avins AL. Can unequal be more fair? Ethics, subject allocation, and randomised clinical trials. *Journal of Medical Ethics*. 1998;24(6):401-8.
79. Dumville J, Hahn S, Miles J, Torgerson D. The use of unequal randomisation ratios in clinical trials: a review. *Contemporary Clinical Trials*. 2006;27(1):1-12.
80. Kim CR, Jeon HL, Shin SK, Kim HJ, Ahn C-W, Jung SU, et al. Neuroprotective action of deer bone extract against glutamate or A β 1–42-induced oxidative stress in mouse hippocampal cells. *Journal of Medicinal Food*. 2014;17(2):226-35.

81. Lingjaerde O, Ahlfors U, Bech P, Dencker S, Elgen K. The UKU side effect rating scale: A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 1987;76(s334):1-100.
82. Youn JC, Kim KW, Lee DY, Jhoo JH, Lee SB, Park JH, et al. Development of the subjective memory complaints questionnaire. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. 2009;27(4):310-7.
83. Mix JA, Crews WD. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial of Ginkgo biloba extract EGb 761® in a sample of cognitively intact older adults: neuropsychological findings. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. 2002;17(6):267-78.
84. Stonehouse W, Conlon CA, Podd J, Hill SR, Minihane AM, Haskell C, et al. DHA supplementation improved both memory and reaction time in healthy young adults: a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2013;97(5):1134-43.
85. Wechsler D. WAIS-III, wechsler adult intelligence scale: Administration and scoring manual: Psychological Corporation; 1997.
86. Crowe SF. Does the letter number sequencing task measure anything more than digit span? *Assessment*. 2000;7(2):113-7.
87. Engle RW, Tuholski SW, Laughlin JE, Conway AR. Working memory, short-term memory, and general fluid intelligence: a latent-variable approach. *Journal of Experimental Psychology: General*. 1999;128(3):309.
88. Robbins TW, James M, Owen AM, Sahakian BJ, Lawrence AD, McInnes L, et al. A study of performance on tests from the CANTAB battery sensitive to frontal lobe dysfunction in a large sample of normal volunteers: Implications for theories of executive functioning and cognitive aging. *Journal of the International Neuropsychological Society*. 1998;4(05):474-90.
89. Miller EK, Cohen JD. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annual Review of Neuroscience*. 2001;24(1):167-202.

90. Alloway TP, Gathercole SE, Pickering SJ. Verbal and visuospatial short-term and working memory in children: Are they separable? *Child Development*. 2006;77(6):1698-716.
91. Johnson MK, McMahon RP, Robinson BM, Harvey AN, Hahn B, Leonard CJ, et al. The relationship between working memory capacity and broad measures of cognitive ability in healthy adults and people with schizophrenia. *Neuropsychology*. 2013;27(2):220.
92. Smith SM, Fox PT, Miller KL, Glahn DC, Fox PM, Mackay CE, et al. Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(31):13040-5.
93. Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RNA, Friston KJ, Frackowiak RSJ. A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *NeuroImage*. 2001;14(1):21-36.
94. Beckmann CF, Smith SM. Tensorial extensions of independent component analysis for multisubject FMRI analysis. *NeuroImage*. 2005;25(1):294-311.
95. Filippini N, MacIntosh BJ, Hough MG, Goodwin GM, Frisoni GB, Smith SM, et al. Distinct patterns of brain activity in young carriers of the APOE-ε4 allele. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(17):7209-14.
96. Wager TD, Smith EE. Neuroimaging studies of working memory. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*. 2003;3(4):255-74.
97. Bowman GL, Dodge HH, Mattek N, Barbey AK, Silbert LC, Shinto L, et al. Plasma omega-3 PUFA and white matter mediated executive decline in older adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2013;5.
98. De Jager CA, Kovatcheva A. Summary and discussion: Methodologies to assess long-term effects of nutrition on brain function. *Nutrition Reviews*. 2010;68(suppl 1):S53-S8.
99. Park EJ, Suh M, Thomson B, Thomson AB, Ramanujam KS, Clinin MT. Dietary ganglioside decreases cholesterol content, caveolin expression

- and inflammatory mediators in rat intestinal microdomains. *Glycobiology*. 2005;15(10):935-42.
100. Sambataro F, Murty VP, Callicott JH, Tan H-Y, Das S, Weinberger DR, et al. Age-related alterations in default mode network: Impact on working memory performance. *Neurobiology of Aging*. 2010;31(5):839-52.
 101. Allen EA, Erhardt EB, Wei Y, Eichele T, Calhoun VD. Capturing inter-subject variability with group independent component analysis of fMRI data: a simulation study. *NeuroImage*. 2012;59(4):4141-59.
 102. Kelley WM, Macrae CN, Wyland CL, Caglar S, Inati S, Heatherton TF. Finding the self? An event-related fMRI study. *Journal of Cognitive Neuroscience*. 2002;14(5):785-94.
 103. Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. A default mode of brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001;98(2):676-82.
 104. Fransson P, Marrelec G. The precuneus/posterior cingulate cortex plays a pivotal role in the default mode network: Evidence from a partial correlation network analysis. *NeuroImage*. 2008;42(3):1178-84.
 105. Brettschneider J, Tredici KD, Lee VMY, Trojanowski JQ. Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies. *Nature Reviews Neuroscience*. 2015;16(2):109-20.
 106. Greicius MD, Srivastava G, Reiss AL, Menon V. Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: evidence from functional MRI. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(13):4637-42.
 107. Geerligs L, Maurits NM, Renken RJ, Lorist MM. Reduced specificity of functional connectivity in the aging brain during task performance. *Human Brain Mapping*. 2014;35(1):319-30.
 108. Sala-Llloch R, Arenaza-Urquijo EM, Valls-Pedret C, Vidal-Piñeiro D, Bargalló N, Junqué C, et al. Dynamic functional reorganizations and relationship with working memory performance in healthy aging. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2012;6.

109. Andrews-Hanna JR, Snyder AZ, Vincent JL, Lustig C, Head D, Raichle ME, et al. Disruption of large-scale brain systems in advanced aging. *Neuron*. 2007;56(5):924-35.
110. Mocchetti I. Exogenous gangliosides, neuronal plasticity and repair, and the neurotrophins. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2005;62(19-20):2283-94.
111. Hempel A, Giesel FL, Garcia Caraballo NM, Amann M, Meyer H, Wüstenberg T, et al. Plasticity of cortical activation related to working memory during training. *American Journal of Psychiatry*. 2004;161(4):745-7.
112. Landau SM, Garavan H, Schumacher EH, D'Esposito M. Regional specificity and practice: dynamic changes in object and spatial working memory. *Brain Research*. 2007;1180:78-89.
113. Brehmer Y, Rieckmann A, Bellander M, Westerberg H, Fischer H, Bäckman L. Neural correlates of training-related working-memory gains in old age. *NeuroImage*. 2011;58(4):1110-20.
114. Salami A, Pudas S, Nyberg L. Elevated hippocampal resting-state connectivity underlies deficient neurocognitive function in aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111(49):17654-9.
115. Kalpouzos G, Chételat G, Baron J-C, Landeau B, Mevel K, Godeau C, et al. Voxel-based mapping of brain gray matter volume and glucose metabolism profiles in normal aging. *Neurobiology of Aging*. 2009;30(1):112-24.
116. Mann SL, Hazlett EA, Byne W, Hof PR, Buchsbaum MS, Cohen BH, et al. Anterior and posterior cingulate cortex volume in healthy adults: effects of aging and gender differences. *Brain Research*. 2011;1401:18-29.
117. Boraxbekk C-J, Salami A, Wåhlin A, Nyberg L. Physical activity over a decade modifies age-related decline in perfusion, gray matter volume, and functional connectivity of the posterior default mode network—a multimodal approach. *NeuroImage*. 2015.

118. He J, Carmichael O, Fletcher E, Singh B, Iosif A-M, Martinez O, et al.
Influence of functional connectivity and structural MRI measures on
episodic memory. *Neurobiology of Aging*. 2012;33(11):2612-20.
119. Giuffrida F, Elmelegy IM, Thakkar SK, Marmet C, Destailats F.
Longitudinal evolution of the concentration of gangliosides GM3 and GD3
in human milk. *Lipids*. 2014;49(10):997-1004.

Abstract

Efficacy and Safety of Oral Ganglioside Supplementation: Impact on Working Memory and Default Mode Network in Middle-Aged Adults

Yujin Jeon

Department of Medicine, Psychiatry

The Graduate School

Seoul National University

Introduction: Recently, there has been an increasing interest in identifying a way to enhance cognition or maintain brain health through oral supplementation of functional compounds that are expected to have neuroplastic effects. Gangliosides, highly concentrated lipids in the neuronal cell membrane, are essential for neuron survival and synapse maintenance. Gangliosides could potentially promote neuroplasticity, but the previous studies were only conducted in animals and patients with severe neurological disorders. Thus, this study aimed to assess the efficacy of oral ganglioside supplementation on working memory performance in middle-aged adults, which is yet unknown. Also, the effect of gangliosides on the default mode network, which reportedly contributes to efficient cognitive performance, was examined.

Methods: Seventy-five individuals participated in this randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Individuals were allocated to the ganglioside group (330 µg/day, low-dose, n = 30 and 660 µg/day, high-dose, n = 30) or the placebo group (n = 15) at baseline (week 0). Working memory measures, structural and resting-state functional magnetic resonance images were obtained at baseline and week 8. Among the 60 individuals (low dose 30, high dose 30) receiving ganglioside, 54 (low dose 26, high dose 28) completed the trial. Among the 15 individuals allocated to the placebo group, 13 completed the trial.

The primary outcome measure was the working memory composite score. Cognitive tasks including digit span, letter-number sequencing, spatial working memory, spatial span and stop-signal task were administered. The secondary outcome measures were the gray matter volume and functional connectivity in the default mode network. Changes in gray matter volume and functional connectivity were assessed by optimized voxel-based morphometry of the high resolution T1-weighted magnetic resonance images and independent components analysis of the resting functional magnetic resonance images, respectively.

Results: The ganglioside high-dose group ($z = 2.62$, p for time effect = 0.009; $z = 2.25$, p for interaction = 0.025), and low-dose group ($z = 2.18$, p for time effect = 0.029; $z = 2.13$, p for interaction = 0.033), showed a significant improvement in working memory performance, while the placebo group did not ($z = -0.92$, p for time effect = 0.36). There were no serious adverse events, and the laboratory findings did not differ between both ganglioside groups and placebo group.

Voxel-based morphometry showed significant gray matter volume increase in the following brain regions among ganglioside group than placebo group at corrected $p < 0.05$: bilateral precuneus [(x, y, z) = (0, -66, 32), cluster size = 4529 mm³, maximum $t = 5.06$], right paracingulate [(x, y, z) = (12, 50, 10), cluster size = 1632 mm³, maximum $t = 3.91$], left inferior parietal cortex [(x, y, z) = (-46, -72, 30), cluster size = 936 mm³, maximum $t = 4.68$], left posterior cingulate cortex [(x, y, z) = (-8, -46, 36), cluster size = 488 mm³, maximum $t = 3.38$]. Functional connectivity showed significant functional connectivity increase in the posterior cingulate cortex and precuneus region with the administration of ganglioside [(x, y, z) = (-14, -58, 32), cluster size = 640 mm³, maximum $t = 3.44$] at corrected $p < 0.05$. There were no regions showing more significant increase in gray matter volume or functional connectivity in individuals with the administration of placebo than ganglioside.

Significant correlation was found between ganglioside-induced increases in functional connectivity in the precuneus and working memory improvement ($r = 0.44$, $p = 0.001$).

Conclusions: This randomized clinical trial demonstrated that 8-week oral administration of ganglioside improved working memory performance and structural and functional properties of the default mode network in middle-aged adults. This study is the first to demonstrate cognitive enhancing effects of ganglioside in human. Ganglioside-induced increases in gray matter volume and functional connectivity in the default mode network may underlie the potential nootropic effects of ganglioside.

Keywords: ganglioside, working memory, default mode network,
functional connectivity, voxel-based morphometry, brain magnetic
resonance imaging

Student number: 2011- 30577