

흰쥐에서 할로페리돌에 의해서 유발된 강경증에 미치는 후구 적출의 영향

전승호 · 김선장 · 배기환 · 이순철*

충남대학교 약학대학

(Received August 1, 1992)

Effects of Olfactory Bulbectomy on Catalepsy Induced by Haloperidol in Rats

Seung-Ho Chun, Seon-Jang Kim, Ki-Hwan Bae and Soon-Chul Lee*

College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

Abstract— We attempted to clarify the effect of bilateral olfactory bulbectomy on catalepsy induced by haloperidol in rats. The incidence of catalepsy induced by haloperidol remarkably increased after lesion of olfactory bulb, which was significantly inhibited by L-5-hydroxytryptophan, L-DOPA, and ginseng's total saponin but reserpine and α -methyl-p-tyrosine were ineffective. The dopamine content of brain was significantly decreased by olfactory bulbectomy, but this result was reversed by ginseng's total saponin.

Keywords □ Olfactory bulb lesion, catalepsy, brain amine, dopamine.

Haloperidol은 butyrophenone계의 major tranquilizer로 정신분열증 등에 사용되며 작용기전은 dopamine receptor를 차단하는 것으로 알려져 있고 추체외로계 부작용을 나타낸다.^{1,2)} 정신병치료제 투여로 실험동물에서 발현되는 catalepsy는 임상적으로 Parkinson씨증후군과 관계가 깊은 것으로 알려져 있고 그원인은 주로 추체외로계 dopamine system의 활성 저하에 의한 것으로 보고되고 있다.^{3,4)} 뇌를 손상시킴으로서 유발되는 특이한 행동양상으로 추체외로계 부작용의 발현기구를 규명하려는 연구가 활발하게 진행중이다. 측좌핵이나 담창구를 파괴하면 haloperidol에 의한 catalepsy가 감소하며,⁵⁾ 시상하부의 측면과 상부를 파괴해도 haloperidol에 의한 catalepsy가 감소한다고 보고⁶⁾되어 있다.

한편 후구(olfactory bulb)는 정서활동과 밀접한 관

계를 가지고 있는 변연계의 일부로 해마, 시상하부, 편도핵, 중격야 등과 밀접한 관계가 있다. 랫트에서 후구를 적출하면 외부자극에 대한 저항성이 증가하고 정동행동 및 일반행동이 증가 한다는 보고⁷⁾가 있다. 그러나 편도핵, 시상하부 등과 밀접한 섬유연락이 있음에도 불구하고 후구적출 흰쥐의 haloperidol catalepsy에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 haloperidol에 의하여 유발되는 catalepsy 발현에 대한 후구적출의 영향 및 각종 약물의 작용을 검토하고 뇌중 아민함량을 측정하여 haloperidol의 강경증에 미치는 후구의 영향 및 그 발현기전에 관하여 검토하고자 본실험을 수행하였다.

실험방법

시약— Haloperidol (HPD, serenace 주사제, 한국 셀 주식회사), 인삼 total saponin (TS, 인삼추출물, 한국

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

인삼연초연구소), α -methyl-p-tyrosine(α -MT, Sigma), L-5-hydroxytryptophan(5-HTP, 협화발효공업주식회사), reserpine(레세르핀주사제, 아주약품공업주식회사), L- β -3,4-dihydroxyphenylalanine(L-dopa, 동경화성주식회사), dopamine·HCl(DA, 동경화성주식회사), noradrenalin·HCl(NE, Aldrich Chemical Company), serotonin creatine sulfate(5-HT, Aldrich Chemical Company), 기타 산 알칼리 및 유기용매류는 국내의 특급시약을 사용하였으며 증류수는 2차 증류수를 사용하였다. 사용약물 중 haloperidol, 인삼의 총사포닌과 reserpine은 0.9% 생리식염수에 희석하여 사용하였고, L-5-hydroxytryptophan, L-dopa, α -methyl-p-tyrosine은 0.5% CMC용액에 현탁하여 사용하였다.

Haloperidol과 다른 약물의 병용투여시 α -methyl-p-tyrosine은 24시간, reserpine은 2시간, 인삼의 총사포닌, 5-hydroxytryptophan은 30분 전에 투여하였으며 L-dopa는 동시에 투여하였다. 투여방법은 인삼의 총사포닌은 경구투여하였으며 다른 약물은 모두 복강투여하였다. 후구적출군의 catalepsy 측정실험과 사용약물 및 병용투여시 투여시간 투여방법은 대조군과 동일하게 하였다. 약물투여는 수술 후 7일이 지난 다음 실시하였으며 1회 약물을 투여한 후 5일 이내에는 다시 투여하지 않았다. 동일약물 투여시는 10일 이상 투여간격을 두었다.

기기-본 실험에서 사용한 기기는 Spectrofluorometer(Perkin Elmer), 냉동원심분리기(MSE Scientific Instruments), Centrifuge(Wifug), Stereotaxic Apparatus(David Korf Instruments, Co.) 등이다.

실험동물-체중 180~280g의 웅성 Sprague-Dawley 흰쥐를 사용하였으며 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 통풍장치가 되어 있는 동물실에서 사육하였다. 사료와 물은 충분히 공급하였고 12시간 주기로 명암을 주었다.

후구적출 수술-흰쥐를 10% urethane 복강내 투여로 마취하고 후구 바로 윗부분의 두개골에 치과용 드릴로서 직경 1mm의 크기로 뚫고 경막을 약 0.8mm의 관을 사용하여 양측 후구를 흡입제거 한후 절개한 피부는 봉합하고 화농방지를 위해 procaine penicillin G 30만 단위를 1회 근육 주사했다(후구적출군 이라함). 대조군으로는 후구적출만 하지않을 뿐 동일 과정을 행한 의수술 군(sham rat)을 사용하였다. 실험 종료후 10% formalin 용액으로 두부혈관을 관류하고 전뇌를 적출해서 파피부위를 확인했다.

Catalepsy 측정실험-외부의 영향을 방지하기 위해 $20 \times 20 \times 20$ cm의 방음상자 내에서 Simon등⁸⁾의 방법으로 측정하였다. 높이 약 12cm의 수평으로 된 철봉에 흰쥐의 앞발을 걸러있게 부자연스러운 자세를 취하게 하여 1분이상 유지한 경우를 catalepsy 양성이라 판정한다. 약물투여 전에 catalepsy를 측정하여 catalepsy 양성인 아님을 확인하고 약물투여 후 30분, 1, 2, 4, 24시간 후에 측정한다.

뇌중 아민 정량실험

1) **시약의 조제**-아민표준액으로는 dopamine·HCl, L-noradrenalin·HCl, 5-hydroxytryptamine creatine sulfate를 사용하였다. 각 시약을 유리염기로 환산하여 100 $\mu\text{g/ml}$ 가 되도록 0.01 N HCl에 용해한 후 냉장고에 보존하여 60일 이내에 사용하였다. 정량시에는 증류수로 희석하여 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ~7 $\mu\text{g/ml}$ 용액으로 하여 사용하였다. 알루미늄은 Anton과 Sayre방법⁹⁾에 의하여 활성화하였다. 알루미늄 100g을 2N HCl 500ml 중에 넣고 교반하면서 $90 \sim 100^\circ\text{C}$ 에서 45분간 가열한다. 가열 종료 후 알루미늄을 90초간 자전침전시켜 부유소립자를 함유한 상층액을 버리고 2N HCl 250ml를 넣고 50°C 에서 10분간 가열한 후 상층액의 pH가 3.4가 될때까지 물로 세척한다.

알루미늄을 흡입여과하고 전기로에 넣어 120°C 에서 1시간, 200°C 에서 2시간 가열한 후 건조용기에 보관하고 30일 이내에 사용한다.

2) **뇌조직의 분리**-흰쥐의 귀 뒷부분을 단두 후 두개골을 열고 뇌전체를 주의깊게 적출해서 0.1% cysteine을 함유한 냉각된 0.1% HCl용액으로 혈액을 씻고 빙냉상태의 여지상에서 뇌의 중량을 측정한다.

3) **뇌중 아민의 정량법**-뇌중 아민은 형광광도법에 의하여 정량하였다. DA와 NE의 정량은 Anton과 Sayre의 흡착법⁹⁾과 Chang의 요오드 산화, 빙초산에 의한 안정화에 의하여 형광물질을 만드는 trihydroxyindole(THI)방법¹⁰⁾을 이용하였다. 5-HT정량은 Snyder의 방법¹¹⁾에 따랐다.

통계처리-Catalepsy 측정은 Fisher's exact probability test를 이용하였고 뇌중 아민 정량은 Student's t-test를 이용하였다.

결과 및 고찰

Haloperidol의 Catalepsy발현에 대한 후구적출의

Table I—Effects of haloperidol on cataleptic response in O.B. rats

treatment	dose (mg/kg)	n	incidence of catalepsy(%)				
			0.5	1	2	4	24 hrs
sham lesion	0.1	5	0	0	0	20	0
	0.25	11	0	27.3	27.3	18.2	0
	0.5	10	20	40	60	30	0
	1	11	54.5	90.9	100	72.7	9.09
O.B. lesion	0.1	8	0	25	12.5	25	0
	0.25	11	27.3	45.5	81.8*	63.6	0
	0.5	9	44.4	88.9*	100	66.7	0
	1	4	100	100	100	100	25

*p<0.05 : significant difference from the incidence of catalepsy by haloperidol in intact rats.

Table II—Effects of 5-hydroxytryptophan(HTP) or L-DOPA on haloperidol-induced catalepsy in O.B. rats

treatment	dose (mg/kg)	n	incidence of catalepsy(%)				
			0.5	1	2	4	24 hr
sham lesion	HPD(0.5)	10	20	40	60	30	0
	HPD(0.5)+HTP(100)	8	0	12.5	37.5	12.5	0
	HPD(0.5)+DOPA(50)	8	12.5	25	50	25	0
O.B. lesion	HPD(0.5)	9	44.4	88.9	100	66.7	0
	HPD(0.5)+HTP(100)	8	0	0***	50*	50	0
	HPD(0.5)+DOPA(50)	8	0	12.5**	12.5***	25	0

p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 : significant differences from the incidence of catalepsy by HPD in O.B. rats. HPD ; haloperidol, HTP ; L-5-hydroxytryptophan, DOPA ; L-DOPA

영향—Table I에서 보는바와 같이 대조군과 후구적출군은 haloperidol에 의해 용량의존적으로 catalepsy를 발현하였다. 대조군의 ED₅₀는 0.36 mg/kg이며 후구적출군의 ED₅₀는 0.18 mg/kg으로 대조군과 비교할 때 후구적출군은 2배 정도의 적은 용량으로 haloperidol에 의한 catalepsy 발현율의 현저한 증가를 나타내었다.

Haloperidol (0.5 mg/kg)의 Catalepsy발현에 대한 각종 약물의 영향

1) **5-hydroxytryptophan와 L-dopa의 효과**—L-5-hydroxytryptophan(100 mg/kg) 투여에 의하여 대조군의 catalepsy 발현률은 병용투여 후 30분부터 4시간까지 감소하는 경향을 나타내었으나 유의성은 없었다. 그러나 후구적출군에서는 병용투여 후 30분에 44.4%, 1시간에 88.9%로 완전히 억제되었으며 2시간에서 50%의 감소를 나타내는 등 현저한 catalepsy 발현의 억제를 나타내었다. L-dopa(50 mg/kg)와 병용 투여 후 대조군의 catalepsy 발현률은 병용투여 후 30분부터 4시간까지 감소하는 경향을 나타내었으나 유의

성은 없었다. 그러나 후구적출군에서는 병용투여 후 30분에 44.4%, 1시간에 66%(p<0.01), 2시간에서 87.5%(p<0.001)로 현저한 catalepsy발현의 억제를 나타내었다.

2) **Reserpine과 α-Methyl-p-tyrosine의 영향**—Reserpine은 대조군에서는 약간의 증가를 나타내었다. 후구적출군에서는 30분(19.4%), 1시간(26%) 후의 측정에서는 감소를 나타내었으나 4시간 이후의 측정에서는 오히려 10% 정도의 증가를 나타내었다. 한편 α-methyl-p-tyrosine은 대조군에서 병용투여 후 30분에서 4시간까지 catalepsy발현율이 10~20% 정도 감소하였다. 후구적출군에서는 초기에는 10% 정도의 haloperidol에 의한 catalepsy 발현의 감소를 나타내었고 4시간 이후에는 오히려 약 25%의 증가를 나타냈으나 유의성은 없었다.

3) **인삼 총사포닌의 효과**—인삼 총사포닌(100 mg/kg)은 haloperidol에 의한 catalepsy발현에 대하여 대조군에서는 병용투여 후 30분에서 4시간까지 10~20% 정도의 catalepsy발현율이 감소하였으나 유의성은

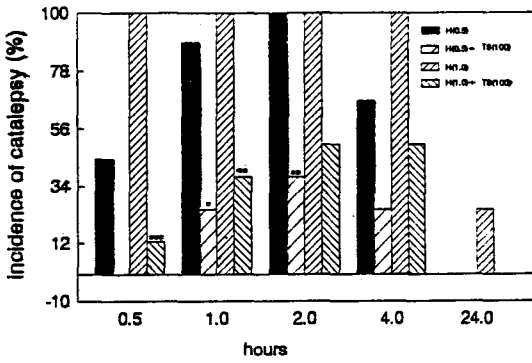


Fig. 1—Effects of ginseng's total saponin(TS) on haloperidol-induced catalepsy in O.B. rats.

*p<0.02, **p<0.01, ***p<0.002: Significant differences from the incidence of catalepsy by haloperidol in O.B. rats.

H; haloperidol, TS; ginseng's total saponin

없었다. 한편, 후구적출군에서는 Fig. 1에 나타난 것처럼 병용투여 후 30분부터 4시간까지 44.4%~87.5%의 현저한 억제 효과를 나타냈으며 1시간(p<0.02), 2시간(p<0.01)에서 유의성있는 감소를 나타냈다.

뇌중 아민 정량실험—후구적출에 의한 영향을 검토하기 위하여 뇌중 아민 함량을 측정하였다. 뇌는 소뇌를 제외한 전뇌를 사용하였다. Table III에서 보는 것처럼 후구적출군의 dopamine함량은 대조군에 비해 약 30%의 현저한 감소(p<0.05)를 나타내었다. 그러나 noradrenalin(11%)과 5-HT(6%) 함량은 대조군에 비해 약간의 감소를 나타냈으나 유의성은 없었다. 또한 후구적출 후 인삼 총사포닌 100 mg/kg을 투여하면 159%의 현저한 dopamine함량 증가(p<0.05)를 나타내었다.

정신병치료제에 의하여 유발되는 catalepsy는 추체

외로계의 활성저하에 의한 것으로 알려져 있다.^{12,13} 본 실험의 결과에서 보면 흰쥐에서 변연계의 일부본인 후구를 제거하면 haloperidol에 의해 유발되는 catalepsy가 증가한다. 이러한 결과는 haloperidol에 의해 유발되는 catalepsy의 발현기구가 추체외로계 뿐만 아니라 중뇌 변연계도 관여한다고 생각되는데 Anden등¹³도 유사한 보고를 하고 있다. Haloperidol과 dopamine의 전구물질인 L-dopa를 병용투여한 경우 대조군에서는 haloperidol 단독투여시보다 catalepsy 발현율이 약간 감소하였으나 후구적출군에서는 1시간 2시간에서 유의성있게 감소하였다.

Zelter등¹⁴은 L-dopa가 뇌중 noradrenalin의 함량에는 영향을 미치지 않고 dopamine의 함량을 증가시킴으로서 catalepsy를 억제한다고 보고하고 있으며 본 연구에서도 L-dopa를 전처치했을 경우 catalepsy가 유의성있게 감소한 것과 후구적출 흰쥐에서 뇌중 dopamine함량이 유의성 있게 감소한 것(Table III)을 아울러 검토할 때 뇌중 도파민함량 변화가 haloperidol에 의하여 유발되는 catalepsy 발현율을 변화시키는 데 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

Haloperidol과 serotonin의 전구물질인 L-5-hydroxytryptophan을 병용투여한 경우 대조군에서는 haloperidol에 의하여 유발되는 catalepsy 발현율이 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었고 후구적출군에서는 발현율이 유의성있게 억제되었다. Carter등¹⁵은 뇌중 serotonin 대사를 억제하면 haloperidol에 의한 catalepsy의 발현율은 감소한다고 하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

그러나 뇌조직 중 아민함량 측정에 관한 본 실험 결과에서는 serotonin 함량이 약간 감소하였으나 유의성에는 미치지 못하였다. 뇌중 monoamine을 고갈

Table III—Amine levels of brain in the olfactory bulbectomized rats

amines	intacts(n=7)	O.B. rats(n=7)	O.B. + TS(n=7)
	g/g tissue (mean + S.E.)	g/g tissue (mean + S.D.)	g/g tissue (mean + S.D.)
dopamine	3.67 + 0.41	2.54 + 0.24*	4.05 + 0.47**
noradrenalin	1.97 + 0.11	1.76 + 0.19	1.89 + 0.27
5-HT	1.73 + 0.20	1.63 + 0.23	1.67 + 0.23

*p<0.05 : Significant differences from the values of intact rats.

**p<0.05 : Significant differences from the values of O.B. rats.
excitation wavelength; DA: 325 nm, NA: 385 nm, 5-HT: 385 nm
emission wavelength; DA: 370 nm, NA: 480 nm, 5-HT: 485 nm

시키며 고혈압 치료제로 사용되는 reserpine을 투여한 경우 대조군과 후구적출군 모두 haloperidol catalepsy 발현에 현저한 차이를 보이지 않았으나 4시간째의 측정에서는 병용투여한 경우가 발현율과 지속시간이 연장되는 경향을 보였다. catecholamine 합성억제제인 α -methyl-p-tyrosine을 haloperidol과 병용투여한 경우 대조군이나 후구적출군 모두 현저한 차이를 보이지 않았으나 4시간째의 측정에서는 병용투여한 경우가 발현율과 지속시간이 연장되는 경향을 보였다. 따라서 후구적출에 의하여 뇌중 아민 특히 dopamine 신경 활성 변화가 일어나며 이러한 변화에 의하여 haloperidol에 의한 catalepsy 발현이 변용되는 것으로 추정된다.

한편, 후구적출군에 인삼의 총사포닌을 투여하면 뇌중 dopamine 함량이 유의성 있게 증가하였으며 noradrenalin 함량은 약간 증가하였다(Table III).

Kim 등¹⁶⁾은 생쥐에 인삼의 총사포닌을 투여하면 뇌중 dopamine과 noradrenalin의 함량이 증가한다는 보고를 하고 있으며 또한 인삼투여시 뇌간에서 dopamine과 noradrenalin의 함량이 증가한다는 보고도 있다.¹⁷⁾ 따라서 본실험의 결과는 dopamine 함량 변화에는 잘 일치하고 있으나 noradrenalin 함량 변화에 대해서는 추후 좀더 세분된 뇌조직에 의한 신경생화학적 검토를 수행하여야 할 것으로 생각된다. 결과적으로 인삼 total saponin의 catalepsy 억제작용은 적어도 뇌중 catecholamine 함량, 특히 dopamine 함량 증가에 의한 것으로 추정된다.

이상의 결과를 종합해 볼때 흰쥐에서 후구를 적출하면 catecholamine neurons에 손상을 주어 뇌중 아민의 함량이 감소하고 이로 인하여 haloperidol에 의한 catalepsy 발현이 증가하는 것으로 추정되는바 뇌중 아민의 함량을 증가시키는 L-dopa, L-5-hydroxytryptophan, 인삼의 총사포닌에 의하여 haloperidol에 의한 catalepsy 발현이 억제되는 반면 α -methyl-p-tyrosine과 reserpine 같은 약물에 의하여 발현율이 증가되거나 지속시간이 연장되는 것 같다.

결 론

Haloperidol의 catalepsy 발현에 대한 후구적출의 영향을 검토하고자 후구적출 흰쥐에서 수종 약물의 효과를 검토하고, 뇌중 아민 함량을 측정하여 halope-

ridol에 의한 catalepsy 발현과의 상호관계를 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다. 흰쥐에서 후구를 적출함으로써 haloperidol에 의한 catalepsy 발현율은 유의성 있게 증가하였으며, 뇌중 dopamine 함량은 현저하게 감소하였으나 5-HT 및 noradrenalin 함량은 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다.

후구 적출 흰쥐에서 L-dopa, L-5-hydroxytryptophan, 인삼 총사포닌 등은 haloperidol에 의하여 발현되는 catalepsy를 유의성있게 억제하였으나 reserpine과 α -methyl-p-tyrosine은 발현율에 있어서는 유의성이 없었으나 발현시간을 지속시키는 경향을 보였다. 인삼 총사포닌은 후구적출 흰쥐의 뇌중 dopamine의 함량을 유의성 있게 증가시켰다.

문 헌

- 1) Costall B. and Naylor R. J.: Neuroleptic and non-neuroleptic catalepsy. *Arzneim-Forsch(Drug Res.)*, **23**, 674(1973a).
- 2) Fog, R.: On stereotypy and catalepsy-Studies on the effect of amphetamine and neuroleptics in rats. *Acta. Neurol. Scand.*, **48**, Suppl., 50(1972).
- 3) Costall B. and Naylor R.J.: On catalepsy and catatonias and the predictability of the catalepsy test for neuroleptic activity. *Psychopharmacologia(Berl.)*, **34**, 233(1974).
- 4) Lipton, M. A. Dimascio, A. and Killan, K. F.: A Generation of Progress in *Psychopharmacology*, Raven Press, New York, p. 1057(1978).
- 5) Ueki, S. and Sugano, H.: Effect of olfactory lesion on behavior. *Abst. 23rd Internat. Congress of Physiol. Sci.*, **457** (1965).
- 6) 이순철 : 측좌핵 파괴 rat의 정동행동 특성에 관한 약리학적 연구. 박사학위 논문, 규슈슈우대학 약학부, 후쿠오카, 일본 (1981).
- 7) Costall, B. and Naylor, R. J.: A role for the amygdala in the development of the cataleptic and stereotypic action of the narcotic agonists and antagonists in the rat. *Psychopharmacologia(Berl.)*, **35**, 203(1974).
- 8) Simon, P., Malatray, J. and Boissier, J. R.: Antagonism by amantadine of prochlorperazine induced catalepsy. *J. Pharm. Pharmacol.*, **22**, 546(1970).
- 9) Anton, A. H. and Sayre, D. F.: A study on the

- factors affecting the aluminium oxide trihydroxyindole procedure for the analysis of catecholamine. *J. Pharm. Exp. Ther.*, **1388**, 360(1962).
- 10) Chang, C. C.: A sensitive method for spectrophotometric assay of catecholamine. *Int. J. Neuropharmacol.*, **3**, 643(1964).
 - 11) Snyder, S. H., Axelrod, J. and Zweig, M.: A sensitive and specific fluorescence assay for tissue serotonin. *Biochem. Pharmacol.*, **14**, 831(1965).
 - 12) Sanberg, P. R.: Haloperidol induced catalepsy is mediated by postsynaptic dopamine receptors. *Nature*, **284**, 472(1980).
 - 13) Anden, N. E.: Dopamine turnover in the corpus striatum and limbic system after treatment with neuroleptic and anti-acetylcholine drugs. *J. Pharm. Pharmacol.*, **24**, 905(1972).
 - 14) Zetler G. and Thornerr R.: Drug-induced catalepsy as influenced by psychostimulants, apomorphine, L-dopa and yohimbine. *Pharmacology* **10**, 238(1973).
 - 15) Carter C. J. and Pycocck C. J.: Potentiation of haloperidol-induced catalepsy by dopamine agonists: Possible involvement of central 5-hydroxytryptamine. *Pharmac. Biochem. Behav.*, **10**, 475(1978).
 - 16) Kim, Y. C., Lee, J. H., Kim, M. S. and Lee, N. G.: Effect of the saponin fraction of panax ginseng on catecholamine in mouse brain. *Arch. Pharm. Res.*, **8**(1), 45(1985).
 - 17) Petkov, V.: Effect of ginseng on the brain biogenic monoamines and 3',5'-AMP system experiment on rats. *Drug Res.*, **5**(1), 387(1978).