

# 황백의 니코틴의 활성 억제에 미치는 효과

이봄비 · 채윤병 · 권영규<sup>1</sup> · 양재하<sup>1</sup> · 김미려<sup>1</sup> · 김광중<sup>1</sup> · 함대현 · 이혜정 · 심인섭\*

경희대학교 동서의학대학원 한의과학과 침구경락학전공, 1: 대구한의대학교 한의과대학 생리학교실

## Inhibitory Action of *Cortex Phellodendris* on Nicotine-induced Behavioral Sensitization

Bom Bi Lee, Yun Byung Chae, Young Kyu Kwon<sup>1</sup>, Cae Ha Yang<sup>1</sup>, Mi Ryo Kim<sup>1</sup>, Kwang Jung Kim<sup>1</sup>, Dae Hyun Hahm, Hye Jeong Lee, In Sub Shim\*

Department of Oriental Medicine Science, Graduate School of East-West Medical Science, Kyung-Hee University,  
1: Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

Substantial evidence suggests that repeated injections of nicotine produce increase in locomotor activity and expression of the immediate-early gene, c-fos in the dopaminergic target areas. Herbal medicine as a therapeutic intervention has been widely used for the treatment of mental dysfunction. Many studies have shown that *Cortex Phellodendris* (CP) can affect the biochemical balance in the central nervous system. In order to investigate whether CP have an influence on their nicotine-induced behavioral sensitization, we examined the effect of CP on nicotine-induced locomotor activity and c-Fos expression in the striatum and nucleus accumbens utilizing the Fos-like immunohistochemistry (FLI). Male SD rats received CP (200mg/kg, i.p.) 30 min before repeated daily injections of nicotine (0.4mg/kg, s.c.) for 7 days. Rats were followed withdrawal for 3 days and one challenge for 1 day. System challenge with nicotine produced a much larger increase in locomotor activity and accumbal FLI. Pretreatment with CP significantly inhibited nicotine-induced locomotor activity and FLI in the striatum and nucleus accumbens. These results demonstrated that reduction in locomotor activity by CP may be reflected by reduction of dopamine release and postsynaptic neuronal activity in the striatum and nucleus accumbens. Our results suggest that CP may have therapeutic effect on nicotine addiction. Supported by a fund (99-PJ9-PG1-002-0004).

Key words : nicotine, behavioral sensitization, c-Fos, striatum, nucleus accumbens, *Cortex Phellodendris*(CP)

### 서 론

세계보건기구의 발표에 의하면 세계적으로 약 10억 정도가 담배를 피우며, 흡연으로 인한 사망률은 1년에 300만 명 이상, 즉, 10초에 1명꼴로 추정하고 있다. 더 심각한 문제는 현재의 흡연 인구의 성장률로 보아 향후 30년 이내에 흡연으로 인한 사망은 한해 천만 명을 넘어설 전망이다<sup>1-3</sup>. 담배에는 수많은 복합물질이 포함되어 있으며, 그 중 중독성을 일으키는 물질은 니코틴이다. 바로 이 니코틴의 강력한 중독성 때문에 여러가지 문제가 발생하며, 흡연자들의 여러가지 금연 노력에도 불구하고 1년 이

내에 80% 이상이 다시 담배를 피우게 되는 원인이 되고 있다. 따라서 이러한 니코틴중독은 개인의 신체적, 행동심리적 문제에 그치지 않고 사회경제적으로 막대한 부담으로 작용하고 있다. 현재 니코틴 중독을 치료하기 위해서 Nicotine gum, transdermal nicotine, patches nasal sprays, nicotine inhalers, bupropin 등의 약물학적 접근이 이루어지고 있으며<sup>4,5</sup>, 새로운 치료법의 도입과 흡연관련 피해의 심각성에 대한 의식증가로 인한 여러가지 치료법이 개발되고 있음에도 불구하고, 많은 한계점을 가지고 있다.

니코틴은 니코틴성 아세틸콜린 수용체(nAChRs)의 효능제로서 코카인, 암페타민 등과 같이 신경자극제(psychostimulant)에 대한 신경화학적, 행동학적 특성이 비슷하게 나타나고 있다<sup>6-7</sup>. 이러한 니코틴은 사람뿐 만 아니라 동물에게도 보상 및 강화작용을 일으키는데, 실험동물에서 니코틴과 같은 중독성 약물들을

\* 교신저자 : 심인섭, 용인시 기흥읍 서전리 1 경희대학교 동서의학대학원

· E-mail : ishim@kyu.ac.kr, · Tel : 031-206-6551

· 접수 : 2004/03/06 · 수정 : 2004/04/27 · 채택 : 2004/05/24

투여한 결과 보행성 활동량(locomotor activity)을 증가시키며, 약물의존성을 지닌 다른 신경자극성 약물들과 마찬가지로 만성적으로 약물을 투여할 경우, 이러한 행동의 활성화가 더욱 증대되는 “행동적 민감화 현상(behavioral sensitization)” 이 나타난다. 이러한 행동적 민감화 현상은 약물중독의 발달과 약물에 의한 정신신경증의 지표로 이용되고 있다<sup>8-10)</sup>. 따라서 실험동물들 통한 행동적 민감화 현상의 신경기전 연구는 약물중독에 따른 행동의 원인을 규명하며, 약물중독의 뇌 기전 이해에 대한 주요한 정보를 제공하고 있다. 중추신경계의 주요 도파민계인 중뇌변연계(mesolimbic system)와 흑질선조체(nigrostriatal pathway)는 코카인, 암페타민, 모르핀, 니코틴과 같은 중독성 약물의 강화작용(reinforcing property)에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 중독성 약물들은 도파민계의 표적 영역인 측핵(nucleus accumbens)과 선조체(striatum)에서 도파민의 유리를 자극하며, 이러한 중뇌변연도파민계가 손상될 경우, 니코틴의 강화현상과 보행성 활동량의 감소가 나타난다<sup>11,12)</sup>. 현재까지 밝혀진 바에 따르면, 니코틴은 도파민 뉴런의 세포체에 분포하고 있는 니코틴성 아세틸콜린 수용체를 자극하여 뇌의 주요 신경전달물질인 도파민의 유리를 증가시키며, 행동적 민감화(behavioral sensitization)를 일으키는 것으로 알려져 있다. 따라서 이러한 도파민계의 활성화와 행동적 변화가 흡연 후의 쾌감이나 보상적 효과를 매개하는 표지자로 간주되어 왔다<sup>11,12)</sup>. 중독성 약물에 의해 나타나는 행동적 민감화는 초기유전자(early gene)중의 하나인 c-fos 발현의 증가와 상관이 높는데, 특히 c-Fos는 신경활성의 표지자(neural marker)로서, 니코틴 투여 후에 약물중독의 표적 영역으로 알려진 도파민성 신경세포의 말단 부위인 측핵과 선조체에서 c-Fos(Fos-like- immunoreactive, FLI) 신경세포들이 증가함을 보여주었다<sup>13-18)</sup>. 한편, 니코틴을 주입하기 전에 Haloperidol 등의 도파민 길항제를 미리 처치하게 되면, 니코틴에 의한 도파민 방출 증가 작용을 억제하여 행동적 민감화 현상을 차단시켜, 약물중독의 발달 및 발현에 있어서 억제 효과를 보였다. 그러나 이러한 약물들은 운동실조, 강직 등의 심각한 부작용으로 인해 새로운 약물의 개발 및 치료법의 필요성이 대두되고 있다<sup>19)</sup>.

한편, 한약재제 및 천연물은 오래 전부터 중국에서 쓰여 왔으며, 그 대부분이 식물성이다. 이러한 한약재제는 여러 방면에서 치료제로 사용되고 있으며, 효과가 복합적이며, 부작용이 적다. 이는 부성분이 공존하기 때문에 유효성분의 흡수가 완화하며 따라서 작용이 지속적인 장점을 가지고 있다.

한약재제중의 하나인 황백은 혈당저하, 폐렴쌍구균, 인형결핵균, 포도상구균등에 대하여 발육저지 작용을 함과 동시에 종양세포의 번식을 저지시키고, 살균작용을 한다. 미각반사의 항진에 의하여 위액의 분비를 촉진하며, 식욕을 항진시키고, 일반 알칼로이드가 지니는 전신작용을 하지 않기 때문에 다량으로 투여해도 부작용이 없으므로 정장제, 건위제로 작용한다. 또한 이 약물에 대하여 여러 세균의 내성(耐性)이 생기지 않으며, 혈압강하, 중추신경계 억제, 항염증 등에 작용하며, 황련해독탕, 시호청간탕, 형개연교탕 등에 사용되고 있다. 특히 황백은 진정작용을 가지고 있어서 정신불안증의 치료에도 사용되고 있는 약제이다

<sup>20-23)</sup>. 따라서 황백이 진정작용과 정신불안에 효과가 있음을 비추어 니코틴 약물중독으로 인한 행동적 변동과 중뇌변연도파민계에 영향을 미칠 것으로 기대된다. 이에 우리는 본 실험에서 니코틴의 반복 투여로 인한 행동적 민감화 현상에 미치는 황백의 효과를 알아보고자 하였으며, 동시에 니코틴에 의한 뇌의 활성화에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

본 실험에 사용한 흰쥐는 Sprague-Dawley계로 생후 7주령(260±10g)의 수컷(샘타코, 한국)을 구입하여 온도 23±3℃, 상대습도 50±5%, dark/light 12시간의 환경을 유지하면서 1주일 이상 실험실에서 적응시킨 후 사용하였으며, 고휘사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

### 2. 약제 제조 및 약물 투여 방법

#### 1) 약제 제법

황백을 round flask에 넣고 85% 메탄올을 넣은 다음 3회 추출하여 여과한 여액을 rotary evaporator로 감압 농축한 다음 동결건조기로 동결 건조하여 추출물(회수율 18.5%)을 얻었다.

#### 2) 약제투여방법

실험동물에게 매일 한차례 일정한 시간인 오전 10시경에 제조된 약제를 생리식염수에 녹여(200mg/kg, i.p.) 투여한 후 행동검사를 실시하였다.

### 3. 실험절차

실험은 하루에 두 번씩 7일 동안 연속적으로 nicotine(0.4mg/kg, s.c.; Sigma, St. Louis, MO)을 처치하는 민감화 발달단계(development phase)와 3일 동안 니코틴을 철회하는 약물철회단계(withdrawal phase), 그리고 약물철회기간이 끝난 다음날 다시 동일 용량의 니코틴을 한번 처치하는 검사단계(challenge phase)로 구성되었다. 이러한 니코틴의 반복적인 처치에 의한 활동량의 점진적인 증가로 표현되는 행동적 민감화 현상이 일어나는지 확인하기 위하여 통제군은 생리식염수(1mg/kg, i.p., 0.9% NaCl)만을 반복적으로 투여하였다.

#### 1) 발달단계

실험동물을 동물실에서 행동측정이 가능한 조건인 실험실로 옮겨 집단별로 8개의 보행성 활동량 측정상자에 개별적으로 넣었다. 측정상자에서 60분간의 적응시간(adaption)을 거친 다음, 60분 동안 동물의 기저활동량(baseline)을 측정하였다. 1시간 동안 안정시의 활동량 측정을 거친 동물은 니코틴(0.4mg/kg, s.c.)을 투여하기 30분전에 황백(200mg/kg, i.p.)을 투여하여 몸 안에서 충분히 약제의 성분이 흡수되도록 하였다. 약물 처치 후의 보행성 활동량(treatment)을 1시간 동안 측정하였다. 약물처치 후 약 6시간 후에 동물실내에서 다시 한번 약물을 주입하였다.

#### 2) 검사단계

3일 동안의 약물철회단계가 끝난 다음, 즉 마지막 니코틴을

투여한지 72시간 경과 후, 동일용량의 니코틴을 재투여하는 1회  
의 검사단계가 실시되었다.

4. 실험군의 구성

실험군의 분리는 쥐를 생리식염수 투여군(SAL group; 1mg/  
kg, i.p., n=5), 니코틴 투여군(NIC group; 0.4mg/kg, s.c., n=6), 황  
백 투여군(CP+NIC group; 200mg/kg, i.p., n=5)으로 나누었으며,  
각 군은 약물처치 후 행동검사를 실시하였으며, 마지막 행동검사  
가 끝난 후 조직검사를 실시하였다.

5. 행동측정 장치

실험동물의 보행성 활동량을 측정하기 위하여, 본 연구에서  
는 videotracking방법을 이용하여 쥐의 움직임을 측정하였으며,  
S-MART program(Barcelona, Spain)으로 분석하였다. 측정 상자  
는 가로, 세로, 높이가 각각 40×40×45 cm의 크기로 이루어진 검은  
색 아크릴 상자에서 실험동물의 움직임을 상자 위에 설치된  
digital camera를 사용하여 측정하였다. 실험동물의 움직인 거리  
는 데이터화하여 정량하였다.

6. 면역조직화학법(Fos-like immunohistochemistry)

마지막 11일째 행동실험이 끝난 쥐를 sodium pentobarbital  
(80mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후, 0.9% saline 200ml에 이어  
phosphate buffer로 준비한 4% formalin 용액 800ml로 심장을 통  
해 관류하였다. 고정액의 처음 100ml은 2분간, 나머지 700ml은  
20분간에 걸쳐 관류하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고  
정액으로 2시간 후고정 시키고, 20% sucrose가 함유된  
phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 4℃에서 하루 동안 보관  
하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌 조직을 30µm의 크기로  
잘랐다. PBS로 조직을 몇 차례 씻고, Fos expression 연구에 가장  
널리 사용되는 primary rabbit anti-Fos antibody(Cemicon,  
Temecula, CA)에 담구었다. Primary antibody는 0.3% Triton-X  
100(PBST)에서 2% normal goat serum (Vector Laboratories,  
Burlingame, CA)으로 200배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은  
primary antiserum에 4℃에서 72시간 동안 배양하였다. 그 후 뇌  
조직을 PBST로 씻은 다음, 2시간 동안 실온에서 2% normal goat  
serum을 함유한 PBST에서 200배로 희석한 biotinylated goat  
anti-rabbit serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 반응  
시켰다. 다시 PBST로 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 1시간 동안  
Elite standard vectastain avidin biotin complex(ABC)  
reagent(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 담구어 반응시  
켰다. PBST로 몇 번 헹군 다음, 뇌 조직을 착색제인  
3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB; Sigma, St. Louis,  
MO)을 사용하여 발색시켰다. 발색이 끝난 조직은 gelatine-  
coated slide에 얹어서 실온에서 건조시킨 후, xylene으로 투명화  
시켜 polymount로 봉입하였다. 뇌 조직의 각 부위는 염색성을  
광학현미경으로 관찰하고 사진으로 촬영하였다. 뇌의 각 부위의  
위치와 명칭은 Paxinos와 Watson의 부도를 참고하였다<sup>24)</sup>. 현상  
된 사진에서 격자(100×100µm)를 이용하여 동일한 지역에서 일정  
한 영역에 반응되어 나타난 염색성의 정도를 측정하였다.

7. 통계처리

모든 측정값은 평균값±표준오차(mean±S.E.)로 표시하였고,  
각 실험군간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS를 이용하였다.  
각 집단간 행동 측정치의 비교는 repeated ANOVA test를 시행  
하였고, 조직분석법의 측정값은 one-way ANOVA를 시행하였으  
며, 사후검정은 Tukey test를 적용하였다. 전체 실험의 통계적인  
유의성은 신뢰구간 P<0.05에서 의미를 부여하였다.

결 과

1. 행동검사

1) 니코틴 반복 처치로 유도된 행동적 민감화 현상의 발단 및 발현  
생리식염수를 처치한 통제군(SAL군)은 처음 생리식염수를  
투여한 1일째의 보행성 활동량이 2814.9±272.8였으며, 생리식염  
수를 반복 처치한 후, 7일째의 활동량은 2544.0±202.7였다. 또한  
3일간의 철회기간을 거친 다음, 11일째 생리식염수 재투여시 활  
동량이 2577.8±233.7로 보행성 활동량에 별 차이를 보이지 않았  
다. 니코틴을 반복적으로 처치한 대조군(NIC군)은 처음 니코틴  
을 투여한 1일째의 보행성 활동량이 4791.0±504.9였으며, 니코틴  
을 반복 처치한 후, 7일째의 활동량은 7313.1±391.5였다. 또한 3  
일간의 철회 기간을 거친 다음, 11일째 니코틴 재투여시 활동량  
이 7784.8±237.8로 행동적 민감화 현상을 보였다. 그러나 니코틴  
투여 30분전에 황백을 투여한 군(CP+NIC군)의 경우, 1일째의 보  
행성 활동량이 3582.7±277.6였으며, 니코틴과 황련을 반복 처치  
한 후, 7일째의 활동량은 4265.9±863.2였다. 3일간 철회기간을 거  
친 다음, 11일째의 보행성 활동량이 4332.8±220.1으로 반복적으  
로 니코틴을 투여한 대조군과 비교하였을 때, 보행성 활동량이  
유의적으로 감소하였음을 보여주었다(F(2,13)=141.175, P<0.001)  
(Fig. 1, 2). 따라서 황백의 반복적인 처치는 니코틴 약물중독 모델  
에서 행동적 민감화의 발현단계에서 효과가 있음이 관찰되었다.

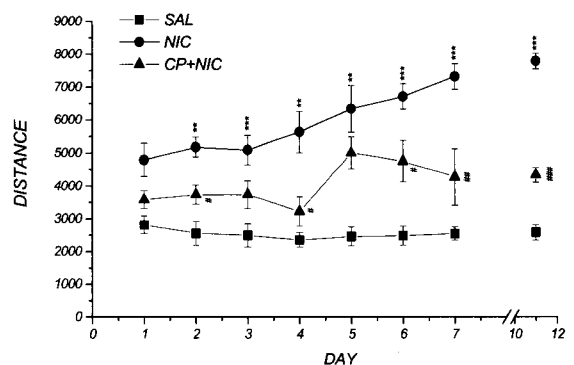


Fig. 1. Effect of cortex Phellodendris on repeated nicotine-induced locomotor activity. Nicotine was injected once daily for seven consecutive days, after which rats were challenged with systemic nicotine on day 11. Nicotine was not injected on days 8, 9, 10 of withdrawal periods. The experimental groups were treated with SAL (n=5), NIC (n=6) and CP+NIC (n=5) before 30 min injection of nicotine. Significance with Tukey's test following a repeated ANOVA was indicated as \*\*, P<0.01, \*\*\*, P<0.001 vs. SAL group, or #, P<0.05, ##, P<0.01, ###, P<0.001 vs. NIC group. Vertical lines indicated S.E.

2) 검사단계에서 보행성 활동량 비교 (10분 회기별 분석)

검사단계에서 니코틴 약물 투여 60분 동안 활동량의 변화를  
10분 단위별로 관찰한 결과, 통제군에 대하여 니코틴 반복 처치

군이 모든 회기에서 증가된 활동량을 보여주었으며, 니코틴 투여 후 10분 회기별로 집단별 사후분석 결과, 니코틴 처치군은 통제군에 비해 약물처치 후 유의한 증가를 보여주었다. 또한 황백을 투여한 군의 경우, 니코틴 투여군인 대조군과 비교하였을 때, 보행성 활동량이 유의적으로 감소함을 보여 주었다( $F(2,13)=134.877, P<0.001$ )(Fig. 1, 2). 따라서 황백의 반복적인 처치는 니코틴 약물 중독 모델에서 행동적 민감화의 검사단계에서 효과가 있음이 관찰되었다.

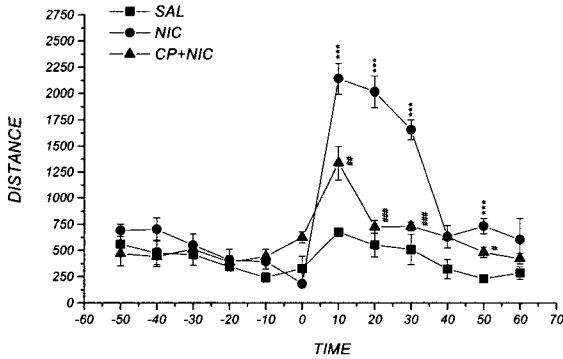


Fig. 2. Effect of cortex Phellodendris on repeated nicotine-induced locomotor activity on day 14. Locomotor activity was shown for 6 consecutive 10 min after treatment periods. Nicotine was injected once daily for seven consecutive days, after which rats were challenged with systemic cocaine on day 11. Cocaine was not injected on days 8, 9, 10 of withdrawal periods. The experimental groups were treated with SAL (n=5), NIC (n=6) and CP+NIC (n=6) before 30 min injection of nicotine. Significance with Tukey's test following a repeated ANOVA was indicated as \*\*\*,  $P<0.001$  vs. SAL group, or #,  $P<0.05$ , ##,  $P<0.01$ , ###,  $P<0.001$  vs. NiC group. Vertical lines indicated S.E.

## 2. 니코틴 반복 처치에 의한 FLI의 발현

행동 실험이 끝난 후, 약물중독과 관련이 있는 부위인 선조체와 측핵에서 c-Fos 발현을 본 결과는 다음과 같다.

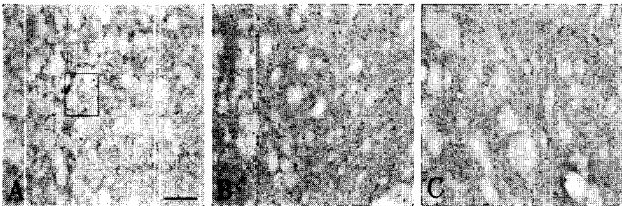


Fig. 3. Representative photographs showing c-Fos expression in the striatum of SAL(A), NIC(B) and CP+NIC(C) groups. Scale bar represents 100  $\mu$ m.



Fig. 4. Representative photographs showing c-Fos expression in the core of SAL(A), NIC(B) and CP+NIC(C) groups. Scale bar represents 100  $\mu$ m.

선조체 부위에서 FLI 발현은 생리식염수 처치군은  $3.53\pm 0.47$ 였으며, 니코틴 반복 투여군은  $11.39\pm 0.83$ 였다. 니코틴 투여 30분 전에 황백을 처치한 군의 경우  $7.61\pm 0.80$ 로 니코틴 투여군에 대

하여 유의하게 감소함을 보여주었다( $F(2,50)=26.937, P<0.01$ ). 측핵의 core 부위에서 FLI 발현은 생리식염수 처치군은  $5.53\pm 0.52$ 였으며, 니코틴 투여군은  $12.94\pm 0.86$ 였으며, 니코틴 투여 30분전에 황백을 처치한 군의 경우  $7.73\pm 0.40$ 로 니코틴 투여군에 대하여 유의하게 감소함을 보였다( $F(2,50)=30.117, P<0.001$ ). 다음으로 측핵의 shell 부위에서 FLI 발현은 생리식염수 처치군  $6.53\pm 0.88$ 였으며, 니코틴 투여군의 경우  $14.50\pm 0.62$ 였으며, 니코틴 투여 30분전에 황백을 처치한 군의 경우  $10.20\pm 0.92$ 로 니코틴 투여군에 대하여 유의하게 감소를 보였다( $F(2,50)=29.584, P<0.001$ )(Fig. 3-6).



Fig. 5. Representative photographs showing c-Fos expression in the shell of SAL(A), NIC(B) and CP+NIC(C) groups. Scale bar represents 100  $\mu$ m.

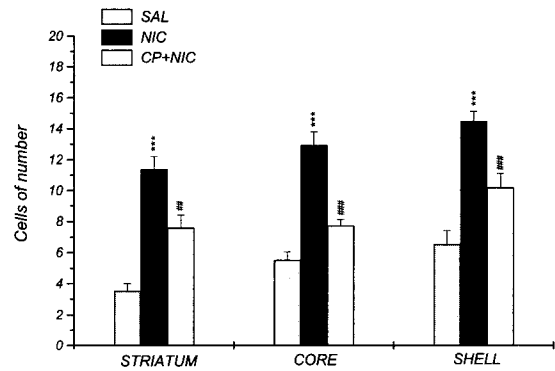


Fig. 6. Expression of c-Fos in the brain after systemic injections of saline or nicotine with CP. Results were presented as mean  $\pm$  S.E. total number of Fos-like immunoreactive neurons within a  $100\times 100 \mu$ m grid over the areas at  $100\times$  magnification. Significance with Tukey's test following a one-way ANOVA was indicated as \*\*\*,  $P<0.001$  vs. SAL group, or ##,  $P<0.01$ , ###,  $P<0.001$  vs. NIC group. Cells within brain area were counted on each of 3 sections per animal.

## 고찰

본 실험에서는 니코틴중독을 유발하기 위해 7일간 하루에 2회 씩  $0.4\text{mg/kg}$ 의 니코틴을 피하 주사하였다. 통제군인 생리식염수 처치군은 한 시간 동안의 보행성 활동량을 측정하였을 때, 활동량의 증가는 나타나지 않았다. 니코틴 반복 처치군은 처음 니코틴에 급성으로 노출되었을 때에는 통제군보다 약간의 활동량의 증가를 보였으며, 반복적으로 니코틴에 노출됨에 따라 통제군 및 니코틴 급성 처치군에 비하여 보행성 활동량이 점진적으로 증가하여 행동적 민감화 현상에서 발달단계가 성공적으로 유도되었다. 또한, 7일 동안 반복적으로 니코틴을 처치한 후에 3일 동안의 약물철회기간을 거친 후, 제 11일째 같은 용량의 니코틴을 재투여함으로써 높은 보행성 활동량이 유지되는 현상인 행동적 민감화 현상의 발현단계를 성공적으로 유도하였다.

동물실험에서  $0.1\sim 0.4\text{mg/kg}$ 의 농도로 니코틴을 처치하면

니코틴 중독모델이 이루어지며, 5번 정도의 니코틴주입은 도파민 반응의 민감화가 형성된다. 또한 7일간의 지속적인 처치 후 약물철회를 통하여 니코틴의 금단현상이 나타난다고 보고되었다. 따라서 본 실험에서의 결과는 이상의 결과들과 일치한다<sup>18,25,26</sup>. 니코틴 처치 30분전에 한약제재인 황백을 투여하여 3일 동안의 약물 철회기간을 거친 후, 행동적 민감화 현상의 발현에 미치는 효과를 보았다. 니코틴을 반복 처치하기 30분전에 황백을 처치한 군은 니코틴을 반복적으로 투여한 대조군에 대해 보행성 활동량이 유의하게 감소하였다. 이로써 니코틴이 행동적 민감화 현상의 발달 및 발현을 모두 억제하는 현상을 보여줌으로써 한약제재인 황백이 니코틴의 약물중독 치료에 효과가 있음을 제시하였다. 니코틴을 포함하여 코카인, 암페타민 등의 신경자극성 약물을 반복적으로 주사하면, 약물의 처치에 따른 보행성 활동의 점진적인 증가로 표현되는 “행동적 민감화 현상”이 나타나는데, 이러한 행동성 민감화란 적은 양의 중독성 약물을 반복적, 간헐적으로 처치하면 보행성 활동(locomotor activity)과 상동적 행동(stereotypy activity)이 점진적으로 증가하는 현상으로, 신경계의 비교적 지속적이고 영구적인 변화를 수반한다는 점과 약리적으로 구분 가능한 2개의 성분 즉, 점진적으로 활동량의 증가가 유도되는 상태인 민감화 반응의 발달(development)과 일단 유도된 높은 활동량이 비교적 장기간 유지되는 상태인 민감화 반응의 발현(expression)으로 구성되어 있다<sup>26</sup>. 따라서 본 실험에서는 반복적인 니코틴 처치로 행동적 민감화 현상을 유도한 한 후, 니코틴 처치 전 황백을 처치한 후 행동적 민감화 현상의 발현에 미치는 영향을 살펴보았다.

니코틴은 약리학적으로 심박동량을 증가시키고, 말초혈관을 수축시키며, 혈압을 상승시키는 등의 심혈관계 질환을 주로 야기하며, 중추신경계에 도파민 방출을 증가시켜서 정신분열증의 양성증상의 범주에 해당하는 현상을 유발하기도 한다. 정신분열증 환자의 90%정도가 니코틴 중독 환자이고, 니코틴중독과 정신분열증과의 상관관계가 많이 보고되고 있다<sup>28</sup>. 정신분열증과의 신경학적 근거를 이루는 것도 측핵과 선조체 부위의 도파민의 과도한 방출에 기인한다는 사실이 실험적으로 증명되었으며, 정신분열증의 동물 모델도 역시 코카인, 암페타민 등의 중독성약물을 반복적으로 처치하여, 행동적 민감화 현상과 도파민 방출의 증가를 통해 이루어진다<sup>29,31</sup>. 이러한 신경학적, 행동학적 측면에서 정신분열증의 동물모델과 매우 흡사하다는 점들을 고려하여 볼 때, 한의학의 질병관증에서 ‘火’의 범주에서 접근을 해 볼 필요성이 있다. 이는 마음이 불안하고 급하여 정신에 이상이 생기기 미친 듯이 뛰어 다니는 현상이라고 정의하였다. 니코틴, 코카인, 암페타민 등의 약물의 반복적인 처치로 보행성 활동이 매우 증가하고 실험동물의 상태가 매우 각성되는 등의 증상이 유사한 경향을 나타낸다. 정신분열증의 양성증상이 신경학적 기저가 측핵에서 도파민 방출 증가가 지표가 되는 것 역시 니코틴으로 유발된 행동적 민감화 현상과 관련된다 할 수 있다.

한약제재인 황백은 청열조습, 사회제증, 해독정창, 습열사리, 황달, 대화, 열립, 각기, 골증노열, 도한, 유정, 창양중독 작용을 하며, 특히 방광습열, 노도열, 하초열, 고미건위, 정장, 수렴, 방부

약, 소염약, 안약원료로 쓰인다. 그 주요성분은 berberine으로 황백의 4~7%를 차지한다고 하였다. 그 외 성분으로는 jatrorrhizine, menispermine, palmatine,  $\beta$ -sitosterol, campesterol, magnoflorine, guanidine, phellodendrine, obakunone 등이 알려져 있다. 또한 황백은 기존에 중추신경억제작용, 진통 및 진정작용에 효과가 있다고 보고된 바 있다<sup>20-23</sup>. 일반적으로 중독성 약물에 의한 행동적 민감화 현상을 담당하는 신경학적 근거(neural substrate)는 중추 도파민신경세포와 그 표적 영역인 측핵과 선조체로 알려져 있으며 니코틴에 의한 행동적 민감화 현상도 이 두 시스템, 특히 복측피개아(ventral tegmental area)에서 기시하여 측핵과 후관(olfactory tubercle)내의 표적부위에 종지하는 중뇌변연도파민계에 의해 주로 매개된다<sup>11,33-34</sup>.

니코틴 반복처치로 유도된 행동적 민감화 현상을 매개하는 신경학적 기전을 살펴보기 위해 최근 면역조직화학적 방법을 이용하여 proto-oncogene인 c-fos의 발현의 강도와 기간을 통하여 신경의 활성도를 측정할 수 있어, Fos 단백질의 발현을 측정하여 다양한 행동학적, 약물학적 처치에 의한 신경의 회로를 관찰하고 있다<sup>13-14</sup>. 여러 연구결과들을 보면, 니코틴의 주입이 측핵, 선조체, 전전두엽 등의 도파민성 신경세포의 투사부위에서 c-fos 발현의 증가를 야기시켰다<sup>16-18</sup>. 이에 니코틴의 반복처치로 인해 유발된 행동적 민감화로 인한 실험동물의 뇌에 있어서 c-fos의 변화를 관찰하고자 도파민의 방출부위인 측핵에서 면역조직화학 분석법을 이용한 c-fos 염색을 통하여 신경학적 활성도를 확인하여 황백이 도파민의 방출과 관련된 기전에 의하여 니코틴의 행동적 민감화 현상을 억제시킴을 보여주었다. 측핵은 각각 다른 기능을 수행하는 두개의 주요 부분인 core부위와 shell부위로 나눌 수 있다<sup>35,36</sup>. 해부학적으로 측핵 core 부위는 운동성 기능을 조절하는 뇌의 영역에 주로 투사하고, 배외측 선조체와 밀접한 관련을 갖으며, 측핵 shell 부위는 편도체 등의 변연계의 주요기능을 담당하며 복내측 선조체와 관련되어 정서와 관련된 약물탐닉에 대한 motive와 더욱 밀접한 관련을 지닌다<sup>37</sup>. 측핵에서 FLI는 통제군 및 니코틴 급성 처치군에 비해서 니코틴 반복 처치군의 core와 shell 부위에서 모두 유의한 증가를 보였다. 이는 측핵에서 도파민성 신경세포의 활성을 나타내어 니코틴 반복 처치에 의한 중뇌변연도파민계의 활성화를 통해 행동적 민감화 현상이 일어남을 의미한다.

이상의 결과에서, 한약제재인 황백은 반복적인 니코틴 투여로 인한 약물중독 모델에서 보행성 활동량을 감소시키고, 신경활성 지표인 c-Fos 활성을 감소시키므로, 약물중독을 억제시키는 효과를 보여 주었다.

## 결론

니코틴 약물중독 동물모델인 니코틴 반복 처치에 의한 행동적 민감화 현상에서 한약제재인 황백의 효과를 알아보기 위하여 행동학적으로 보행성 활동량을 측정하고, 면역조직화학분석법을 이용하여 측핵과 선조체에서 신경활성지표로 사용되는 c-Fos의 발현을 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

7일 동안 반복적인 니코틴(0.4mg/kg, s.c.)투여로 인하여 행동적 민감화를 성공적으로 유도(발달)하였으며 일단 유도된 행동적 민감화 현상은 니코틴 처치를 철회한 3일 후에 다시 한번 니코틴에 노출되었을 때, 행동적 민감화 현상이 유지(발현)됨이 관찰되었다. 행동학적 검사에서 황백은 니코틴에 의한 행동학적 민감화 현상의 발현단계에서 보행성 활동량을 유의하게 감소되는 효과를 보였다. 행동학적 검사에서 황백은 니코틴에 의한 행동학적 민감화 현상의 검사단계에서 보행성 활동량을 유의하게 감소되는 효과를 보였다. 면역조직화학분석에서 니코틴 반복 투여군이 측핵과 선조체에서 c-Fos 발현(Fos-like immunoreactivity: FLI)이 생리식염수 투여군인 통제군에 대해 유의하게 증가하였다. 면역조직화학분석에서 황백은 약물 중독과 관련이 있는 부위인 측핵과 선조체에서 니코틴 반복 투여군에 대해 c-Fos의 발현을 유의하게 억제하였다.

이상의 결과에서, 한약제재인 황백은 반복적인 니코틴투여로 유도된 행동적 민감화 현상으로 설정된 니코틴 약물중독 모델에서 행동학적으로 보행성 활동량을 감소시키고, 측핵과 선조체에서 신경활성을 감소시키므로, 약물중독에서의 치료제로서의 가능성을 시사한다.

### 참고문헌

1. Pollin, W. The role of the addictive process as a key step in causation of all tobacco-related disease. *JAMA* 252, 2874, 1984.
2. Ravenholt, R.T. Addiction mortality in the United States: tobacco, alcohol and other substances. *Pop Dev Rev* 10, 697-724, 1980.
3. Fiore, M.D. Trends in cigarette smoking in the United States: the epidemiology of tobacco use. *Med Clin North Am* 76, 289-303, 1992.
4. Henningfield, J. E. Nicotine medications for smoking cessation. *N Engl J Med* 333, 1196-203, 1995.
5. Hurt, R.D., Sachs, D.P., Glover, E.D., Offord, K.P., Johnston, J.A., Dale, L.C. A comparison of sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation. *N Engl J Med* 337, 1195-202, 1997.
6. Byrne, G. Nicotine likened to cocaine, heroin. *Science* 240, 1143, 1988.
7. Pontieri, F.E., Tanda, G., Chiara, DG. Effect of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature* 382, 255-8, 1996.
8. Robinson, T.E., Becker, T.B. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal model of amphetamine psychosis. *Brain Res Rev* 11, 157-98, 1986.
9. Panagis, G., Nisell, M., Nomikos, G.G., Chergui, K., Svensson, T.H. Nicotine injections into the ventral tegmental area increase locomotion and Fos-like

- immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rats. *Brain Res* 730, 133-42, 1996.
10. Segal, D.S., Greyer, M.A., Schuckit, M.A. Stimulant-induced psychosis: an evaluation of animal methods. *Essays Neurochem. Neuropharmacol* 5, 95-129, 1981.
11. Clarke, P.B.S., Fu, D.S., Jakubovic, A. and Fibiger, H.C. Evidence that mesolimbic dopaminergic activation underlies the locomotor stimulant action of nicotine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 246, 701-8, 1988.
12. Corrigan, W.A., Franklin, K.B., Coen, K.M., Clarke, P.B. The mesolimbic dopamine system is implicated in the reinforcing effects of nicotine. *Psychopharmacology* 107, 285-9, 1992.
13. Dragunow, M., Faull, R. The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. *J Neurosci Methods* 29, 261-5, 1989.
14. Sagar, S.M., Sharp, F.R., Curran, T. Expression of c-fos protein in brain: Metabolic mapping at the cellular level. *Science* 240, 1328-30, 1988.
15. Panagis, G., Nisell, M., Nomikos, G.G., Chergui, K., Svensson, T.H. Nicotine injections into the ventral tegmental area increase locomotion and Fos-like immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rats. *Brain Res* 730, 133-42, 1996.
16. Kiba, H., Jayaraman, A. Nicotine induced c-fos expression in the striatum is mediated mostly by dopamine D1 receptor and is dependent on NMDA stimulation. *Brain Res Mol Brain Res* 23, 1-13, 1994.
17. Mathieu-Kia, A.M., Pages, C., Besson, M.J. Inducibility of c-Fos protein in visuo-motor system and limbic structures after acute and repeated administration of nicotine in the rat. *Synapse* 29, 343-54, 1998.
18. Shim, I., Javaid, J.I., Wirtshafter, D., Jang, S.Y., Shin, K.H., Lee, H.J. Nicotine-induced behavioral sensitization is associated with extracellular dopamine release and expression of c-Fos in the striatum and nucleus accumbens of the rat. *Behav Brain Res* 121, 137-47, 2001.
19. Suemaru, K., Gomita, Y., Furuno, K., Araki, Y. Chronic nicotine treatment potentiates behavioral responses to dopaminergic drugs in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 46, 135-9, 1993.
20. Yuan, L.M., Wu, P., Xia, T. and Chen, X.X. Preparative separation of alkaloids from Cortex Phellodendri by high speed countercurrent chromatography. *Se Pu* 20, 185-6, 2002.
21. Kong, L.D., Yang, C., Qui, X.I., Wu, H.P., Ye, D.J. Effects of different processing products of Cortex Phellodendri on scavenging oxygen free radicals and anti-lipid

- peroxidation. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 26, 245-8, 2001.
22. Lee, Y.M., Kim, H., Hong, E.K., Kang, B.H., Kim, S.J. Water extract of 1:1 mixture of Phellodendron cortex and Aralia cortex has inhibitory effects on oxidative stress in kidney of diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 73, 429-36, 2000.
  23. Wang, Y.M., Zhao, L.B., Lin, S.L., Dong, S.S., An, D.K. Determination of berberine and palmatine in cortex phellodendron and Chinese patent medicines by HPLC. *Yao Xue Xue Bao* 24, 275-9, 1989.
  24. Paxinos, G. and Watson, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic press. New York, USA.
  25. Perkin, K.A., Epstein, L.H., Grobe, J., Fonte, C. Tobacco abstinence, smoking cues, and the reinforcing value of smoking. *Pharmacol Biochem Behav* 47, 107-12, 1994.
  26. Benwell MEM and Balfour DJK. The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *Br. J. Pharmacol.* 105:849-56, 1992.
  27. Karler, R., Chaudhry, I.A., Calder, L.D., Turkanis, S.A. Amphetamine behavioral sensitization and the excitatory amino acids. *Brain Res* 537, 76-82, 1990.
  28. Diwan, A., Castine, M., Pomerleau, C.S., Meador-Woodruff, J.H., Dalack, G.W. Differential prevalence of cigarette smoking in patients with schizophrenic vs mood disorders. *Schizophr Res* 33, 113-8, 1998.
  29. Yui, K., Ikenoto, S., Ishiguro, T., Goto, K. Studies of amphetamine or methamphetamine psychosis in Japan: relation of methamphetamine psychosis to schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci* 914, 1-12, 2000.
  30. Soares, J.C. and Innis, R.B. Neurochemical brain imaging investigations of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 46, 600-15, 1999.
  31. Kaliva, P.W., Rierce, P.C., Sorg, B.A. A role for sensitization in psychostimulants-induced paranoia and psychosis. *J Pharmacol* in press, 1997.
  32. Goldstein, M., Deutch, A.Y. Dopaminergic mechanism in the pathogenesis of schizophrenia. *FASEB J* 6, 2413-21, 1992.
  33. Reavill, C., Stolerman, I.P. Locomotor activity in rats after administration of nicotine agonists intracerebrally. *Br J Pharmacol* 99, 273-8, 1990.
  34. Vale, A.L., Balfour, D.J.K. Studies on the role of brain dopamine system in the psychostimulant response to nicotine. *Br J Pharmacol* 94, 373, 1988.
  35. Pierce, R. C. and Kalivas, P. W. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res Brain Res Rev* 25, 192-216, 1997.
  36. Zahm, D.S., Borg, J.S. On the significance of subterritories in the 'accumbens' part of the rat ventral striatum. *Neuroscience* 50, 751-67, 1992.
  37. Heimer, L., Zahm, D.S., Churchill, L., Kalivas, P.W., Wohlman, C. Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience* 41, 89-125, 1991.