

원 지

황금의 니코틴 약물투여에 의한 유전자 발현과 행동적 변동에 미치는 약리작용

이봄비¹⁾, 채운병¹⁾, 권영규²⁾, 양재하²⁾, 김미려²⁾, 김광중²⁾, 서영민³⁾, 김장현³⁾, 함대현¹⁾, 이혜정¹⁾, 변광호⁴⁾, 심인섭⁴⁾

경희대학교 동서의학대학원 한의과학과 침구경락학전공¹⁾, 대구한의대학교 한의과대학 생리학교실²⁾,
동국대학교 한의과대학 한방병원 소아과³⁾, 가톨릭대학교 의과대학 통합의학교실⁴⁾

Pharmacological Action of *Radix Scutellariae* on Nicotine-Induced Locomotor Activity and C-Fos Expression in Rats.

Bom-Bi Lee¹⁾, Youn-Byoung Chae¹⁾, Young-Kyu Kwon²⁾, Chae-Ha Yang²⁾, Mi-Ryeo Kim²⁾,
Kwang-Jung Kim²⁾, Yong-Min Seo³⁾,
Jang-Hyun Kim³⁾, Dae-Hyun Hahm¹⁾, Hye-Jung Lee¹⁾, Kwang-Ho Pyun¹⁾, In-Sop Shim⁴⁾.

Dept. of Oriental Medicine Science, Graduate School of East-West Medical Science, Kyung-Hee University¹⁾,
Dept. of Physiology, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University²⁾, Dept. of Pediatrics, Division of Korean Oriental
Medicine, Dongguk University³⁾, Dept. of Integrative Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Korea⁴⁾.

Objectives : Substantial evidence suggests that reinforcing effects of nicotine can be mediated by the mesolimbic dopaminergic system. It has been shown that repeated injections of nicotine produce an 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 *Radix Scutellariae* (RS) can affect the biochemical balance in the central nervous system. In order to investigate whether RS has an influence on nicotine-induced behavioral sensitization, we examined the effect of RS on nicotine-induced locomotor activity and c-fos expression in the striatum and nucleus accumbens utilizing the fos-like immunohistochemistry (FLI).

Methods : Male SD rats received RS (200mg/kg, i.p.) 30 min before repeated daily injections of nicotine (0.4mg/kg, s.c.) for 7 days. This was followed by withdrawal for 3 days and one challenge for 1 day.

Results : System challenge with nicotine produced a much larger increase in locomotor activity and accumbal FLI. Pretreatment with RS significantly inhibited nicotine-induced locomotor activity and FLI in the striatum and nucleus accumbens.

Conclusions : These results demonstrate that reduction in locomotor activity by RS may be reflected by reduction of dopamine release and postsynaptic neuronal activity in the striatum and nucleus accumbens. Our results suggest that RS may have therapeutic effect on nicotine addiction.

Key Words: Nicotine, *Radix Scutellariae*, locomotor activity, c-fos, nucleus accumbens, dopamine

· 접수 : 2004년 10월 19일 · 논문심사 : 2004년 12월 21일
· 채택 : 2005년 1월 21일

· 교신저자 : Inso Shim, Department of Integrative Medicine,
College of Medicine, The Catholic University of Korea,
505 Banpo-Dong, Seocho-Ku, Seoul, 137-701, Korea
(Tel : 82-590-2971, Fax : 82-592-6359, E-mail;
ishim@catholic.ac.kr)

* Supported in part by funds from the Korea Institute of
Oriental Medicine and the Oriental Medicine R&D Project
of Health and Welfare (0405-OM00-085-001), Korea.

서 론

최근 WHO의 발표에 따르면 전 세계 흡연인구는
11억 명에 달하며, 이중 남자흡연자의 경우 세계 인
구의 47%, 여자흡연자의 경우 12%에 달하고 있으
며, 매년 3백 50만 명 이상이 흡연과 관련된 질병으

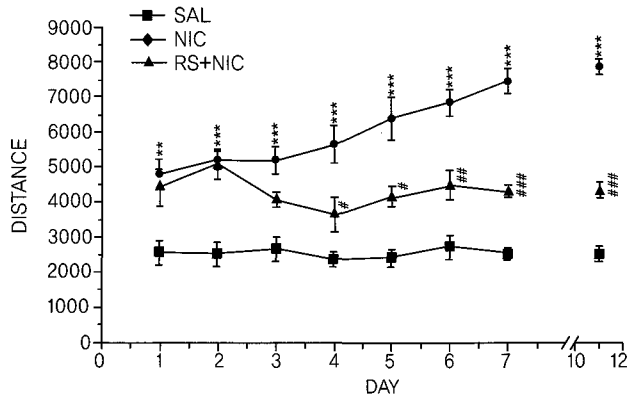


Fig. 1. Effect of *Radix Scutellariae* on repeated nicotine-induced locomotor activity. Nicotine was injected once daily for seven consecutive days, after which rats were challenged with systemic nicotine on day 11. Nicotine was not injected on days 8, 9 and 10 of withdrawal periods. The experimental groups were treated with RS + NIC (n=6) 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 and #, $p < 0.05$, ##, $p < 0.01$, ###, $p < 0.001$ vs. NIC group. Vertical lines indicated S.E.

로 사망하고 있다고 한다. 더 심각한 문제는 현재의 흡연인구의 성장률로 보아 향후 30년 이내에 흡연으로 인한 사망은 한해 천만 명을 넘어설 전망이다¹⁻³⁾.

담배 성분 중의 니코틴은 흡연으로 인한 사망의 직접적인 원인물질은 아니지만 니코틴의 중독성은 흡연으로 인한 손실에 주요한 요인을 제공하고 있다. 흡연자들의 여러 가지 금연 노력에도 불구하고 1년 이내에 80% 이상이 다시 담배를 피우게 되며, 흡연의 높은 재발률은 바로 니코틴의 강력한 중독성 때문이다. 따라서 니코틴 중독은 개인의 신체적, 행동심리적 문제에 그치지 않고 사회경제적으로 막대한 부담으로 작용하고 있다. 그러므로 약물중독에 대한 연구 및 치료제의 개발은 매우 중요한 사회문제로 대두되고 있다.

흡연은 폐결핵, 폐렴, 독감, 기관지염, 폐기종, 천식, 만성기도장애 등 호흡기질환과 류마티스성 심장질환, 고혈압, 폐성 심장질환, 뇌혈관질환, 동맥경화, 대동맥류와 같은 심혈관질환 및 폐암, 구강암, 인두암 등 각종 암을 일으킨다. 또한 담배에는 4000종 이상의 화학물질이 있으며, 이 중에는 약리적 활성 물질 뿐 아니라, 항원성, 세포독성, 돌연변이 유발,

발암작용 등의 성질을 가진 물질이 포함되어 있다.

현재 니코틴 중독을 치료하기 위해서는 Nicotine gum, transdermal nicotine, patches nasal sprays, nicotine inhalers, bupropin 등의 약물학적 접근이 이뤄지고 있다^{4,5)}. 이러한 새로운 치료법의 도입과 흡연관련 피해의 심각성에 대한 의식증가로 인한 치료법이 개발되고 있지만, 많은 한계점을 갖고 있는 것이 현실이다.

과거에는 니코틴을 신체적 의존이 없고 사회에 해독이 없는 의존으로 코카인과 구별하였으나 니코틴도 신체적 의존이 있다는 것이 밝혀졌으며, 담배연기를 통해 흡수된 니코틴은 폐순환을 통하여 10~15초 만에 뇌에 도달하여 니코틴 콜린 수용체에 작용한다. 신경근 접합부의 니코틴 수용체는 운동신경으로부터 방출된 아세틸콜린을 받아서 골격근을 흥분시키는 역할을 하며, 이때 흡연자는 담배 고유의 만족감을 느끼게 된다. 지속적 흡연은 뇌 조직의 니코틴 콜린 수용체의 수를 증가시키고 따라서 더 많은 양의 니코틴을 요구하게 되며, 니코틴의 양이 줄었을 때 이를 갈망하게 되는 의존성을 일으키게 된다.

니코틴은 사람뿐 만 아니라 동물에게도 강화 현상

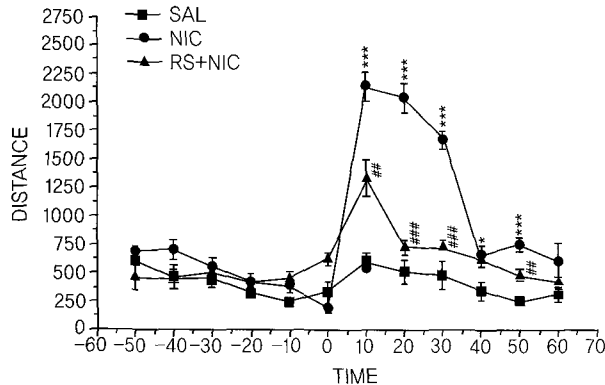


Fig. 2. Effect of *Radix Scutellariae* on repeated nicotine-induced locomotor activity on day 11. Locomotor activity was shown for 6 consecutive 10 min after treatment periods. Nicotine was injected once daily for seven consecutive days, after which rats were challenged with systemic nicotine on day 11. Nicotine was not injected on days 8, 9 and 10 of withdrawal periods. The experimental groups were treated with RS + 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 and ##, $p < 0.01$, ###, $p < 0.001$ vs. NIC group. Vertical lines indicated S.E.

과 의존성을 일으키는 작용을 하며, 실험동물에서 니코틴은 보행성 활동량(locomotor activity)을 증가시키며, 만성적으로 약물을 처치할 경우 이러한 행동의 활성화가 더욱 증대되는 “행동적 민감화 현상 (behavioral sensitization)”이 나타난다. 이러한 행동적 민감화 현상은 약물중독의 발달과 약물에 의한 정신신경증의 지표로 이용되고 있다⁸⁻¹⁰.

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, 도파민 신경회로를 실험적으로 손상시키면 중독성 약물의 강화능력이 사라진다. 따라서 중뇌변연도파민계가 손상될 경우, 니코틴의 강화 현상과 보행성 활동의 감소가 나타난다^{11,12}.

현재까지 밝혀진 바에 따르면, 니코틴은 도파민 뉴런의 세포체에 분포하고 있는 니코틴성 아세틸 콜린 수용체(nAChRs)를 자극하여 뇌의 주요 신경전

달물질인 도파민의 유리를 증가시키며 행동적 민감화(behavioral sensitization)를 일으키는 것으로 알려져 있다. 이러한 도파민계의 활성화와 행동적 변화가 흡연 후의 쾌감이나 보상적 효과를 매개하는 표지자로 간주되어 왔다^{11,12}.

중독성 약물에 의해 나타나는 행동적 민감화는 초기유전자중(early gene)중의 하나인 c-Fos 발현의 증가와 상관이 높는데, 특히 c-Fos는 신경활성의 표지자(neural marker)로 이용되고 있으며, 니코틴 투여 후에 약물 중독의 표적 영역이라 알려진 도파민성 신경세포의 말단 부위인 측핵과 선조체에서 c-Fos(Fos-like-immunoreactive, FLI) 신경세포들이 많이 증가한다¹³⁻¹⁸.

한편, 니코틴을 주입하기 전에 Haloperidol 등의 도파민 길항제를 미리 처치하게 되면, 니코틴에 의한 도파민 방출 증가 작용을 억제하여 행동적 민감화 현상을 차단시켜, 약물 중독의 발달 및 발현에 있어서 억제 효과를 보였다. 그러나 이러한 약물들은 운동실조, 강직 등의 심각한 부작용으로 인해 새로운 약물의 개발 및 치료법의 필요성이 대두되고 있다¹⁹.

한편, 한약제제 및 천연물은 오래 전부터 중국에

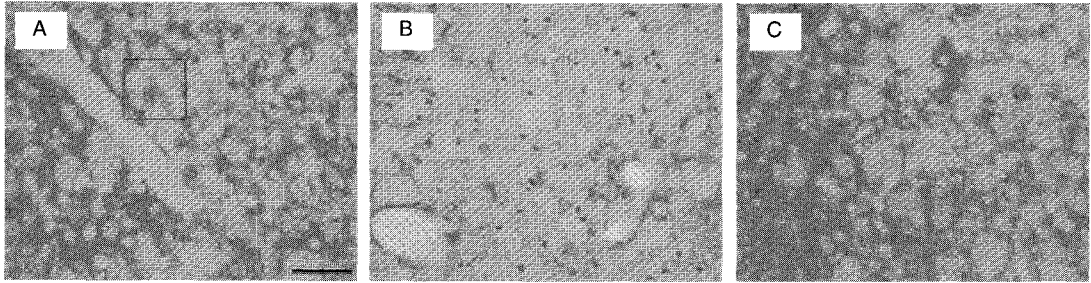


Fig. 3. Representative photographs showing c-Fos expression in the lateral striatum of SAL (A), NIC (B) and RS+NIC (C) groups.

서 쓰여 졌으며, 그 대부분이 식물성이다. 이러한 한약제재는 여러 방면에서 치료제로 사용되고 있으며, 효과가 복합적이며, 부작용이 적다. 이는 부성분이 공존하기 때문에 유효성분의 흡수가 완화하며 따라서 작용이 지속적인 장점을 가지고 있다.

한약제재중의 하나인 황금은 체액분비를 촉진하고 그 구성 성분중에 하나인 바이콜레인(Baicalein)이 소화관 연동운동능력을 향진하여 소화 흡수를 촉진하며, 담즙분비를 촉진하여 간기능을 강화한다. 또한 이뇨작용을 촉진하며, 혈관투과성 향진을 억제하고 소염작용이 강하여 혈관의 염증성출혈, 울혈을 완화시킨다. 비만세포막을 강화하여 화학전달 물질의 유리를 억제하여 항알러지 작용을 하며 특히 알러지로 인한 간염을 개선하고, 죽상동맥경화를 억제시킨다고 보고되고 있다. 특히 황금은 진정작용을 가지고 있어서 정신불안증의 치료에도 사

용되고 있는 약제이다. 따라서 황금이 진정작용과 정신불안에 효과가 있음을 비추어 니코틴에 의한 약물중독으로 인한 행동적 변동과 중뇌 변연 도파민계에 영향을 미칠 것으로 기대된다.

이에 우리는 본 실험에서 니코틴의 반복 투여로 인한 행동적 민감화 현상에 미치는 황금의 효과를 알아보고자 하였으며, 동시에 니코틴에 의한 뇌의 활성화도에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용한 흰쥐는 Sprague-Dawley계로 생후 7주령($260 \pm 10g$)의 수컷(샘타코, 한국)을 구입하여 온도 $23 \pm 3^\circ C$, 상대습도 $50 \pm 5\%$, dark/light 12시간의 환경을 유지하면서 1주일 이상 실험실에서 적

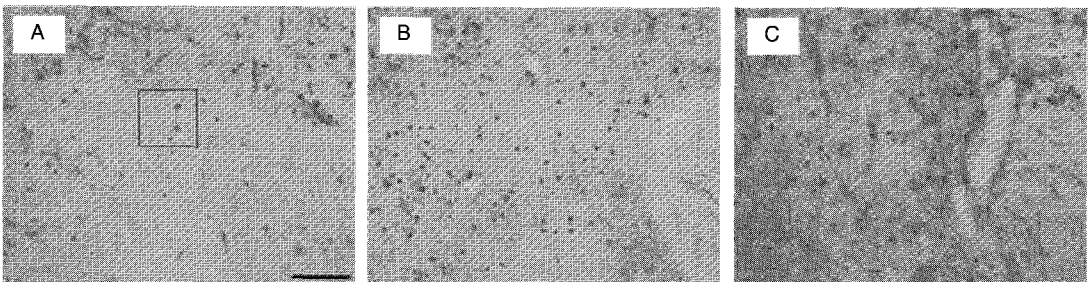


Fig. 4. Representative photographs showing c-Fos expression in the core of SAL (A), NIC (B) and RS+NIC (C) groups.

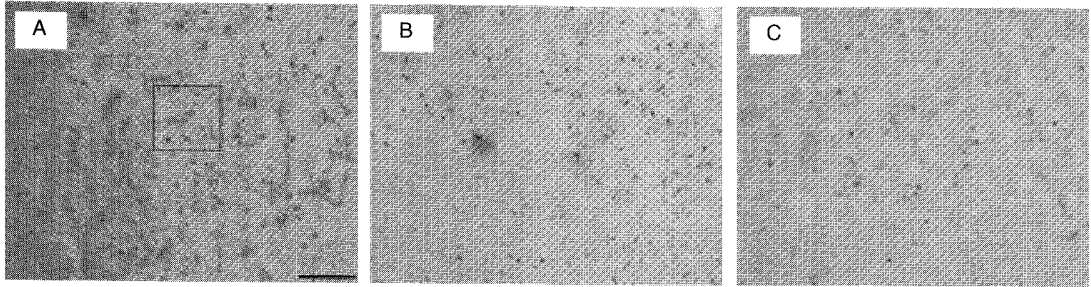


Fig. 5. Representative photographs showing c-Fos expression in the shell of SAL (A), NIC (B) and RS+NIC (C) groups.

응시킨 후 사용하였으며, 고품사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2. 약물 제조 및 약물 투여 방법

1) 검액조제

황련은 시중건재상(정도산업)에서 구입, 엄선하여 사용하였다. 약물을 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) 약물투여방법

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

3. 실험절차

실험은 하루에 두 번씩 7일 동안 연속적으로 nicotine hydrogen tartate(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 더 처치하는 검사단계(challenge phase)로 구성되었다. 이러한 니코틴의 반복적인 처치에 의한 활동량의 점진적인 증가로 표현되는 행동적 민감화 현상이 일어나는지를 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 황금(200mg/kg, i.p.)을 투여하여 몸 안에서 충분히 약물의 성분이 흡수되도록 처치하였다. 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 니코틴 투여한지 72시간 경과 후에 실험군에 약물을 처치한 후, 동일용량의 니코틴을 투여하는 1회의 검사단계가 실시되었다.

4. 실험군의 구성

실험군의 분리는 쥐를 생리식염수 투여군(SAL group; 1mg/kg, i.p., n=5), 니코틴 투여군(control, NIC group; 0.4mg/kg, s.c., n=6), 황금 투여군(RS+NIC group, 200mg/kg, i.p., n=5)인 3가지 그룹으로 나누었으며, 각 군은 약물처치 후 행동검사를 실시하였으며, 마지막 행동검사가 끝난 후 조직검사를 하였다.

5. 행동측정 장치

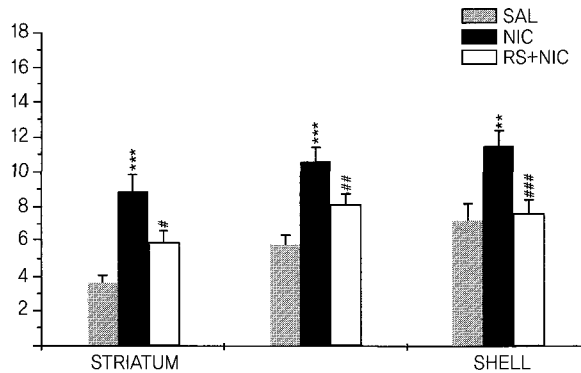


Fig. 6. Expression of c-Fos in the striatum after systemic injections of saline or nicotine with *Radix Scutellariae*. Results are presented as mean±S.E. total number of Fos-like immunoreactive neurons within a 100×100 μm grid over the areas at 100× magnification. Significance with Tukey's test following a one-way ANOVA was indicated as ***, $p<0.001$ vs. SAL group and #, $p<0.05$, ##, $p<0.01$, ###, $p<0.001$ vs. NIC group. Cells within the accumbal cell area were counted on each of 3 sections per animal.

실험동물의 보행성 활동량을 측정하기 위하여, 본 연구에서는 videotracking을 이용하여 S-MART program(Barcelona, Spain)으로 분석하였다. 측정 상자는 가로, 세로, 높이가 각각 40×40×45cm의 크기로 이루어진 검은 색 아크릴 상자에서 실험동물의 움직임을 상자 위에 설치된 digital camera를 사용하여 videotracking 방법으로 측정하였다. 실험동물의 움직인 거리를 데이터화하여 정량화 하였다.

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 통해 관류하였다. 고정액의 처음 100ml은 2분간, 나머지 700ml은 20분간에 걸쳐 관류하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2시간 후고정시키고, 20% sucrose가 함유된 phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 4℃에서 하루동안 보관하였다. 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(Chemicon,

Temecula, CA)에 담구었다. Primary antibody는 0.3% Triton-X 100(PBST)에서 2% normal goat serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA)으로 2000배 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 반응시켰다. 다시 PBST로 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 1시간 동안 Elite standard vectastain avidin biotin complex(ABC) reagent(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 담구어 반응시켰다. PBST로 몇 번 행군 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 염색성들을 광학현미경으로 관찰하고 사진을 촬영하였다. 뇌의 각 부위의 위치와 명칭은 Paxinos와 Watson의 부도를 참고하였다²⁴⁾. 현상된 사진에서 격자(100×100μm)를 이용하여 동일한 지역에서 일정한 영역에 반응되어 나타

난 염색성의 정도를 counting하였다.

7. 통계처리

모든 측정값은 평균값±표준오차(mean±S.E.)로 표시하였고, 각 실험군간의 통계학적 분석 Window 용 SPSS를 이용하였다. 각 집단간 행동 측정치의 비교는 repeated ANOVA test를 시행하였고, 조직분석법의 측정값은 one-way ANOVA를 시행하였으며, 사후검정은 Tukey test를 적용하였다. 전체 실험의 통계적인 유의성은 신뢰구간 $p<0.05$ 에서 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 2569.8 ± 331.2 였으며, 생리식염수를 반복 처치한 후, 7일째의 활동량은 2525.6 ± 166.5 였다. 또한 3일간의 철회기간을 거친 다음, 11일째 생리식염수 재투여시 활동량이 2506.6 ± 203.7 로 보행성 활동량에 별 차이를 보이지 않았다. 니코틴을 반복적으로 처치한 대조군(NIC군)은 처음 니코틴을 투여한 1일째의 보행성 활동량이 4795.6 ± 426.7 였으며, 니코틴을 반복 처치한 후, 7일째의 활동량은 7474.7 ± 368.2 였다. 또한 3일간의 철회기간을 거친 다음, 11일째 니코틴 재투여시 활동량이 7869.3 ± 218.1 로 행동적 민감화 현상을 보였다. 그러나 니코틴 투여 30분전에 황금을 투여한 군(RS + NIC군)의 경우, 1일째의 보행성 활동량이 4443.9 ± 564.2 였으며, 니코틴과 황금을 반복 처치한 후, 7일째의 활동량은 4300.2 ± 142.3 였다. 3일간 철회기간을 거친 다음, 11일째의 보행성 활동량이 4332.8 ± 220.1 로 반복적으로 니코틴을 투여한 대조군과 비교하였을 때, 보행성 활동량이 유의적으로 감소하였음을 보여주었다($F(2,15)=288,882$, $p<0.001$)(Fig. 1, 2). 따라서 황금의 반복적인 처치는

니코틴 약물중독 모델에서 보행성 활동량의 발현단계에서 효과가 있음이 관찰되었다.

2) 검사단계에서 보행성 활동량 비교(10분 회기별 분석)

검사단계에서 니코틴 약물 투여 60분 동안 활동량의 변화를 10분 단위별로 관찰한 결과, 통제군에 대하여 니코틴 반복 처치군이 모든 회기에서 증가된 활동량을 보여주었으며, 니코틴 투여 후 10분 회기별로 집단별 사후분석 결과, 니코틴 처치군은 통제군에 비해 약물처치 후 유의한 증가를 보여주었다. 또한 황금을 투여한 군의 경우, 니코틴 투여군인 대조군과 비교하였을 때, 보행성 활동량이 유의적으로 감소함을 보여 주었다($F(2,15)=172.759$, $p<0.001$)(Fig. 1, 2). 따라서 황금의 반복적인 처치는 니코틴 약물중독 모델에서 보행성 활동량의 검사단계에서 효과가 있음이 관찰되었다.

(1) 니코틴 반복 처치에 의한 FLI(Fos-like-immunoreactivity)의 발현

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

선조체 부위에서 FLI 발현은 생리식염수 처치군은 3.60 ± 0.41 였으며, 니코틴 반복 투여군은 8.94 ± 0.94 였다. 니코틴 투여 30분전에 황금을 처치한 군의 경우 6.00 ± 0.65 로 니코틴 투여군에 대하여 유의하게 감소함을 보여주었다($F(2,50)=13.078$, $p<0.001$). 측핵의 core 부위에서 FLI 발현은 생리식염수 처치군은 5.87 ± 0.51 였으며, 니코틴 투여군은 10.61 ± 0.80 였으며, 니코틴 투여 30분전에 황금을 처치한 군의 경우 8.13 ± 0.62 로 니코틴 투여군에 대하여 유의하게 감소함을 보였다($F(2,50)=11.696$, $p<0.001$). 다음으로 측핵의 shell 부위에서 FLI 발현은 생리식염수 처치군 7.20 ± 0.99 였으며, 니코틴 투여군의 경우 11.50 ± 0.90 였으며, 니코틴 투여 30분전에 황금을 처치한 군의 경우 7.60 ± 0.78 로 니코틴 투여군에 대하여 유의하게 감소함을 보였다

($F(2,50)=11.063, p<0.001$)(Fig. 3-6).

고찰

본 실험에서는 니코틴 중독을 유발하기 위해 7일간 하루에 2회씩 0.4mg/kg의 니코틴을 피하주사하였다. 통제군인 생리식염수 처치군은 한시간 동안의 보행성 활동량을 측정했을 때, 활동량의 증가는 나타나지 않았다. 니코틴 반복 처치군은 처음 니코틴에 급성으로 노출되었을 때에는 통제군보다 약간의 활동량의 증가를 나타내었고, 반복적으로 니코틴에 노출됨에 따라 통제군 및 니코틴 급성 처치군에 비하여 보행성 활동량이 점진적으로 증가하여 행동적 민감화 현상의 발달이 성공적으로 유도되었다. 또한, 7일 동안 반복적인 니코틴 처치후에 3일 동안의 약물철회기간을 거친 후 제 11일째 같은 용량의 니코틴으로 검사하였을 경우, 높은 보행성 활동량이 유지되는 현상인 행동적 민감화 현상의 발현이 나타났다.

니코틴은 0.078~0.3mM의 농도로 nicotine cue에 대한 ED50가 나타나며, 동물실험에서 0.1~0.4mg/kg의 농도로 처치하여 니코틴 중독모델이 이루어지고 있으며, 5번 정도의 약물주입으로, 도파민 반응이 민감화가 형성되며, 7일간의 지속적인 처치 후 약물철회를 통하여 니코틴의 금단현상이 나타난다고 보고되고 있으며 본 실험에서 이상의 결과와 일치하였다^{18, 25-26}.

니코틴 처치 30분전에 한약제재인 황금을 투여하여 3일 동안의 약물철회기간을 거친 후, 행동적 민감화 현상의 발현에 미치는 효과를 보았다. 니코틴을 반복 처치하기 30분전에 황금을 처치한 군은 니코틴을 반복적으로 투여한 대조군에 대해 보행성 활동량이 유의하게 감소하였다. 이로써 행동적 민감화 현상의 발달 및 발현을 억제하는 현상을 보여줌으로써 한약제재인 황금이 니코틴의 약물 중독 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 있다²⁶. 따라서 본 실험에서는 반복적인 니코틴 처치로 행동적 민감화 현상을 유도한 한 후, 니코틴 처치 전 황금을 처치한 후 행동적 민감화 현상의 발현에 미치는 영향을 살펴보았다.

니코틴은 약리학적으로 심박동량을 증가시키고, 말초혈관을 수축시키며, 혈압을 상승시키는 등의 심혈관계 질환을 주로 야기하며, 중추신경계에도 파민 방출을 증가시켜서 정신분열증의 양성증상의 범주에 해당하는 현상을 유발하기도 한다. 정신분열증 환자의 90%정도가 니코틴 중독 환자이고, 니코틴 중독과 정신분열증과의 상관관계가 많이 보고되고 있다²⁸. 정신분열증과의 신경학적 근거를 이루는 것도 측핵과 선조체 부위의 도파민의 과도한 방출에 기인한다는 사실이 실험적으로 증명되었으며, 정신분열증의 동물모델도 역시 코카인, 암페타민 등의 중독성 약물을 반복적으로 처치하여, 행동적 민감화 현상과 도파민 방출의 증가를 통해 이루어진다²⁹⁻³¹. 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 생기어 미친 듯이 뛰어나는 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 되는것 역시 니코틴으로 유발된 행동적 민감화 현상과 관련된다고 할 수 있다.

한약제재인 황금은 꿀풀과에 속하는 중국, 시베리아 원산의 숙근초로 우리나라에서도 재배되고 있다. 키는 1m까지 자라며 뿌리는 굵고 노랗고 오래된 것은 지름이 3~4cm에 이른다. 생약은 뿌리를 캐어 말린 것으로 한방에서 이노, 완하, 해열약으로 사용하며 화농을 치하고 객혈, 하혈, 비혈에 지혈제로도 쓰인다. 주로 황금탕, 삼황사심탕, 소시호탕, 갈근황련황금탕 등에 배오되며 허약한 체질에 강장약으로도 쓰인다. 주요성분은 바이카린(baicalin(4.3%)), 바이카레인(baicalein), 와고닌(wogonin(0.5%)), 와고닌 글루쿠로니드(wogonin glucuronide), 오로자이린 에이(oroxylin A), 스크루캡프로벤(skullcapflavone) 등이 알려져 있다²⁰⁻²³⁾.

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 복측피개야(ventral tegmental area)에서 기시하여 측핵과 후관(olfactory tubercle)내의 표적부위에 중지하는 중뇌 변연 도파민계에 의해 주로 매개된다^{11, 33, 34)}.

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 있다¹³⁻¹⁴⁾. 여러 연구결과들을 보면, 니코틴의 주입이 측핵, 선조체, 전전두엽 등의 도파민성 신경세포의 투사부위에서 c-Fos 발현의 증가를 야기시켰다¹⁶⁻¹⁸⁾. 이에 니코틴의 반복처치로 인해 유발된 행동적 민감화로 인한 실험동물의 뇌에 있어서 c-Fos의 변화를 관찰하고자 도파민의 방출부위인 측핵에서 면역조직화학적 분석법을 이용한 c-Fos 염색을 통하여 신경학적 활성도를 확인하여 황금이 도파민의 방출과 관련된 기정에 의하여 니코틴의 행동적

민감화 현상을 억제시킴을 보여주었다. 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 중뇌 변연도파민계의 활성화를 통해 행동적 민감화 현상이 일어남을 의미한다.

욕구회로(motive circuit)와 관련된 신경핵은 변연계 핵(limbic nuclei)에서 추체내·추체의 운동체계에 정보의 흐름으로 형성되어, 편도체는 복측피개야(VTA)와 측핵의 shell부위와 ventral pallidum(VP)의 복내측(ventromedial)부위에 연결을 하고, 운동성 기능을 조절하는 신경세포는 복측피개야에서 측핵 core부위와 VP의 배외측(dorsolateral) 부위에 연결되어 있다³⁵⁾. 측핵은 각각 다른 기능을 수행하는 두개의 주요 부분인 core부위와 shell부위로 나눌 수 있다³⁶⁾. 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 지닌다³⁷⁾.

이상의 결과에서, 한약제재인 황금은 반복적인 니코틴 투여로 인한 약물중독 모델에서 보행성 활동량을 감소시키고, 신경활성 지표인 c-Fos 활성을 감소시키므로, 약물중독을 억제시키는 효과를 보여주었다. 이로써 황금은 약물중독 치료제로써의 가능성을 시사한다.

결 론

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

(1) 7일 동안 반복적인 니코틴(0.4mg/kg, s.c.)투여

로 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.

(2) 행동학적 검사에서 황금은 니코틴에 의한 행동학적 민감화 현상의 발현단계에서 보행성 활동량을 유의하게 감소되는 효과를 보였다.

(3) 행동학적 검사에서 황금은 니코틴에 의한 행동학적 민감화 현상의 검사단계에서 보행성 활동량을 유의하게 감소되는 효과를 보였다.

(4) 면역조직화학분석에서 니코틴 반복 투여군이 측핵 core와 shell 부위에서 c-Fos 발현(Fos-like immunoreactivity : FLI)이 생리식염수 투여군인 통제군에 대해 유의하게 증가하였다.

(5) 면역조직화학분석에서 황금 처치는 약물 중독과 관련이 있는 부위인 측핵과 선조체에서 니코틴 반복투여군에 대해 c-Fos의 발현을 유의하게 억제하였다.

이상의 결과에서, 한약제재인 황금은 반복적인 니코틴 투여로 유도된 행동적 민감화 현상으로 설정된 니코틴 약물 중독 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. *J. Am. Med. Assoc.* 1984;252:20.
2. Ravenholt RT. Addiction mortality in the United States; tobacco, alcohol and other substances. *Pop. Dev. Rev.* 1980;10:697-724.
3. Fiore MD. Trends in cigarette smoking in the United States: the epidemiology of tobacco use. *Med. Clin. North. Am.* 1992;76:289-303.

4. Henningfield JE. Nicotine medications for smoking cessation. *New Engl. J. Med.* 1995;333:1196-203.
5. Hurt RD, Sachs DP, Glover ED, Offord KP, Johnston JA, Dale LC. A comparison of sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation. *N. Engl. J. Med.* 1997;337(17):1195-202.
6. Byrne G. Nicotine likened to cocaine, heroin. *Science.* 1988;240(4856):1143.
7. Pontieri FE, Tanda G, Di Chiara G. Effect of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature* 1996;382:255-8.
8. Robinson TE, Becker TB. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration : a review and evaluation of animal model of amphetamine psychosis. *Brain Res. Rev.* 1986;11:157-98.
9. Panagis G, Nisell M, Nomikos GG, Chergui K, Svensson TH. Nicotine injections into the ventral tegmental area increase locomotion and Fos-like immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rats. *Brain. Res.* 1996;730(1-2):133-42.
10. Segal DS, Greyer MA, Schuckit MA. Stimulant-induced psychosis: an evaluation of animal methods. *Essays Neurochem. Neuropharmacol.* 1981;5:95-129.
11. Clarke PBS, Fu DS, Jakubovic A, Fibiger HC. Evidence that mesolimbic dopaminergic activation underlies the locomotor stimulant action of nicotine in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1988;246:701-8.
12. Corrigan WA, Franklin KB, Coen KM, Clarke PB. The mesolimbic dopamine system is implicated in the reinforcing effects of nicotine. *Psychopharmacology* 1992;107:285-9.
13. Dragunow M, Faull R. The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. *J.*

- Neurosci. Methods. 1989;29:261-5.
14. Sagar SM, Sharp FR, Curran T. Expression of c-fos protein in brain : Metabolic mapping at the cellular level. *Science*. 1988;240:1328-30.
 15. Panagis G, Nisell M, Nomikos GG, Chergui K, Svensson TH. Nicotine injections into the ventral tegmental area increase locomotion and Fos-like immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rats. *Brain Res*. 1996;730:133-42.
 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*. 1994;23(1-2):1-13.
 17. Mathieu-Kia AM, Pages C, Besson MJ. Inducibility of c-Fos protein in visuo-motor system and limbic structures after acute and repeated administration of nicotine in the rat. *Synapse* 1998;29(4):343-54.
 18. Shim I, Javaid JI, Wirtshafter D, Jang SY, Shin KH, Lee HJ. 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*. 2001;121(1-2):137-47.
 19. Suemaru K, Gomita Y, Furuno K, Araki Y. Chronic nicotine treatment potentiates behavioral responses to dopaminergic drugs in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 1993;46(1):135-9.
 20. Akao T, Kawabata K, Yanagisawa E, Ishihara K, Mizuhara Y, Wakui Y, Sakashita Y, Kobashi K. Baicalin, the predominant flavone glucuronide of scutellariae radix, is absorbed from the rat gastrointestinal tract as the aglycone and restored to its original form. *J Pharm Pharmacol* 2000;52(12):1563-8
 21. Fukutake M, Yokota S, Kawamura H, Iizuka A, Amagaya S, Fukuda K, Komatsu Y. Inhibitory effect of Coptidis Rhizoma and Scutellariae Radix on azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation in rat colon. *Biol Pharm Bull* 1998;21(8):814-7
 22. Wakui Y, Yanagisawa E, Ishibashi E, Matsuzaki Y, Takeda S, Sasaki H, Aburada M, Oyama T. Determination of baicalin and baicalein in rat plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr* 1992;575(1):131-6.
 23. Kubo M, Matsuda H, Tanaka M, Kimura Y, Okuda H, Higashino M, Tani T, Namba K, Arichi S. Studies on Scutellariae radix. VII. Anti-arthritic and anti-inflammatory actions of methanolic extract and flavonoid components from Scutellariae radix. *Chem Pharm Bull* 1984;32(7):2724-9
 24. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic press. New York, USA.
 25. Perkin KA, Epstein LH, Grobe J, Fonte C. Tobacco abstinence, smoking cues, and the reinforcing value of smoking. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 1994;47:107-12.
 26. Benwell MEM, Balfour DJK. The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *Br. J. Pharmacol*. 1992;105:849-56.
 27. Karler R, Chaudhry IA, Calder LD, Turkanis SA. Amphetamine behavioral sensitization and the excitatory amino acids. *Brain Res*. 1990;537:76-82.
 28. Diwan A, Castine M, Pomerleau CS, Meador-Woodruff JH, Dalack GW. Differential prevalence of cigarette smoking in patients with schizophrenic vs mood disorders. *Schizophr Res*. 1998;33(1-2):113-8.
 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.* 2000;914:1-12.
30. Soares JC, Innis RB. Neurochemical brain imaging investigations of schizophrenia. *Biol. Psychiatry.* 1999;46(5):600-15.
31. Kaliva PW, Rierce PC, Sorg BA. A role for sensitization in psychostimulants-induced paranoia and psychosis. *J. Pharmacol.* in press, 1997.
32. Goldstein M, Deutch AY. Dopaminergic mechanism in the pathogenesis of schizophrenia. *FASEB J.* 1992;6(2):2413-21.
33. Reavill C, Stolerman IP. Locomotor activity in rats after administration of nicotine agonists intracerebrally. *Br. J. Pharmacol.* 1990;99:273-8.
34. Vale AL, Balfour DJK. Studies on the role of brain dopamine system in the psychostimulant response to nicotine. *Br. J. Pharmacol.* 1988;94:373.
35. Pierce RC, Kalivas PW. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res Brain Res Rev.* 1997;25(2):192-216.
36. Zahm DS, Borg JS. On the significance of subterritories in the 'accumbens' part of the rat ventral striatum. *Neuroscience* 50;751-67, 1992.
37. Heimer L, Zahm DS, Churchill L, Kalivas PW, Wohltman C. Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience* 1991;41:89-125.