

만성적 니코틴 처치에 의한 행동적 민감화에서 NMDA 수용체와 산화질소의 역할

김영호¹, 심인섭², 김상은³, 김현택¹

¹고려대학교 심리학과, ²경희대학교 동서의학대학원, ³성균관대학교 의과대학

일반적으로 니코틴이나 코카인, 그리고 암페타민을 비롯한 중독성 약물을 반복적, 간헐적으로 투여하면 동물의 보행성 활동과 상동적 행동이 점진적으로 증가하는 '행동적 민감화' 현상이 나타난다. 니코틴의 반복적 투여에 의한 '행동적 민감화' 현상의 신경 기전을 규명하기 위하여, 본 연구는 NMDA 수용체 길항제인 MK-801(0.3mg/kg, i.p.)과 산화질소 합성효소 억제제인 L-NAME(75mg/kg, i.p.)을 사전 처치하고 니코틴(0.4mg/kg, s.c.)의 반복적 투여에 의한 '행동적 민감화' 현상을 관찰함으로써 이 현상에서의 NMDA 수용체와 산화질소의 역할을 알아보고자 하였다. 수컷 sprague dawley 흰쥐에게 니코틴(0.4mg/kg)을 7일 동안 하루에 두 번씩 피하 주사하여 행동적 민감화의 발달을 유도하고(score 707), 3일간의 약물 철회 기간을 거친 후 실험 11일째 날에 동일 용량의 니코틴을 피하 주사한 후 보행성 활동량을 측정함으로써 행동적 민감화의 발현을 설립 하였다(score 741). 이러한, 행동적 민감화의 발달과 발현, 각각의 단계에서 NMDA 수용체와 산화질소의 역할을 규명하기 위하여 MK-801과 L-NAME을 7일간의 민감화 발달 기간중 니코틴 투여 30분전에, 또는 약물 철회 기간에 하루에 두 번씩 사전 처치하였다. 실험 결과, 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달은 MK-801과 L-NAME, 모두에 의해 통계적으로 유의미하게 억제되었으나(각각, 니코틴 처치 통제군의 40.5%, 56.7%), 행동적 민감화의 발현은 MK-801에 의해서만 통계적으로 유의미하게 억제되었다(니코틴 처치 통제군의 41.8%). 이러한 연구 결과는 NMDA 수용체와 산화질소가 니코틴에 의한 행동적 민감화의 생성 또는 발달에 결정적인 역할을 담당하나, 민감화의 발현, 또는 유지에는 NMDA 수용체만이 결정적 역할을 담당하고 있음을 시사한다.

시냅스 가소성(synaptic plasticity)의 모델로 제안되며 기억 형성의 신경 기제로 추측되는 해마의 장기상승작용(Long Term Potentiation; LTP)에 N-methyl-D-aspartate(NMDA) 수용체와 산화질소(NO)가 관련되어 있다는 사실은 비교적 잘 알려져 있다(Bliss & Collingridge, 1993; Collingridge & Bliss, 1987; O'Dell, Hawkins, Kandel, & Arancio, 1991; Schuman & Madison, 1991). 최근 들어, 행동 수준에서의 중추신경계의 가소성을 보여주는 것으로 추측되는, 중독성 약물에 의한 '행동적 민감화(behavioral sensitization)' 현상에도 위의 두 가지

신경전달계가 관련되어 있다는 연구 결과가 나오기 시작하였다. '행동적 민감화'란 적은 양의 중독성 약물을 반복적, 간헐적으로 처치하면 설치류의 보행성 활동(locomotor activity)과 상동적 행동(stereotypy)이 점진적으로 증가하는 현상으로, 신경계의 비교적 지속적이고 영구적인 변화를 수반한다는 점과 약리적으로 구분 가능한 2개의 성분 즉, 활동량의 점진적인 증가가 유도되는 상태인 민감화 반응의 발달(development)과 일단 유도된 높은 활동량이 비교적 장기간 유지되는 상태인 발현(expression)으로 구성되어 있다는 점(Karler,

Chaudhry, Calder, & Turkanis, 1990), 그리고 동일한 자극에 대한 반응이 변화한다는 표면적인 사실에 이르기까지 장기상승작용과 많은 유사성을 가지고 있으며, 인간에서 나타나는 약물 중독(drug addiction)의 유발과 정신병리(psychopathology)에 대한 주요 단서를 제공하고 있다(Post Weiss, Fontana, & Pert, 1992). 대표적인 향정신성 약물(psychostimulant)인 암페타민(amphetamine)이나 코카인(cocaine)과 마찬가지로 니코틴(nicotine)의 만성적 처치도 행동적 민감화를 일으킨다(Benwell & Balfour, 1992; Ksir, Hakan, & Kellar, 1987). 그러나, 니코틴에 의한 행동적 민감화의 신경 기전에 관한 연구는 암페타민이나 코카인 등에 비해 미미한 실정이다.

일반적으로, 중독성 약물에 의한 행동적 민감화를 담당하는 신경적 근거(neural substrate)는 중추 도파민 신경 세포와 그 표적 영역인 측핵(nucleus accumbens)과 선조체(striatum)인 것으로 알려져 있으며 니코틴에 의한 행동적 민감화도 이 두 시스템, 특히 복측피개야(ventral tegmental area, VTA)에서 기시하여 측핵과 후관(olfactory tubercle)내의 목표물에 중지하는 중뇌변연도파민계(mesolimbic dopamine system)에 의해 주로 매개되는 것 같다(Clarke, Fu, Jakubovic, & Fibiger, 1988; Reavill & Stolerman, 1990; Vale & Balfour, 1988). 실제로 중뇌 변연도파민계는 도파민을 주요 신경전달물질로 사용하는데 복측피개야와 측핵에 니코틴을 국부적으로 주입하면 in vitro에서 뿐만 아니라, 미세투석(microdialysis)을 이용한 in vivo 실험에서도 도파민 방출이 증가되었으며(Giorgiuffi-Chesselet, Kemel, Wandscheer, & Glowinski, 1979; Mifsud, Hernandez, & Hoebel, 1989; Rapier, Lunt, & Wonnacut, 1988), 신체에 주입해도 측핵에서 세포외액 도파민 농도가 증가함이 관찰되었다(Damsma, Day, & Mibiger, 1989). 이러한 생화학적 연구결과들은 행동적 연구 결과들과도 매우 잘 일치하여 측핵의 도파민을 고갈시키거나 복측피개야의 도파민 신경세포를 손상하면 니코틴에 의한 보행성 활동이 억제되고 중독성 약물의 강화 능력이 사라졌다(Clarke, 1990; Dichiara & Imperato, 1988; Museo & Wise, 1990). 따

라서 니코틴은 도파민 신경 세포체에 분포하고 있는 니코틴성 아세틸콜린 수용체를 자극하여 도파민 방출을 증가시키며, 지속적인 니코틴에의 노출은 아직 정확히 밝혀지지 않은 생화학적 기제에 의하여 이들 도파민계에 영구적이고 지속적인 변화를 일으킴으로써 행동적 민감화를 야기하는 것 같다(Benwell et al., 1992).

행동적 민감화의 주요 기제로 제안되는 것 중 한가지는 '수용체 민감화(receptor sensitization)' 현상이다. 니코틴 처치에 의한 행동적 민감화의 경우, 특히 주목할 만한 수용체의 민감화는 니코틴성 아세틸콜린 수용체에서 찾아볼 수 있는데, 니코틴의 만성적 처치는 니코틴 수용체 수의 증가를 야기하였으며(Marks, Stitzel, & Collins, 1985; Schwartz & Kellar, 1985), 흡연자를 대상으로 한 사후 연구(postmortem)에서도 비슷한 결과를 얻었다(Benwell & Balfour, 1988). 또한 암페타민과 코카인을 대상으로 한 실험에서는 복측피개야의 도파민 신경 세포체에 위치한 도파민 자가수용체(autoreceptor)의 약감수성(subsensitivity)과 측핵에 위치한 도파민 D1 수용체의 초민감화(supersensitivity)와 함께 측핵의 세포외 도파민 농도의 증가가 관찰됨으로써(Ackerman & White, 1990; Henry & White, 1991; Kalivas & Duffy, 1990; Kamata, & Rebec, 1984; Petit, Pan, Parsons, & Justice, 1990), 니코틴의 경우에도 도파민 수용체의 민감화가 행동적 민감화에 필수적인 역할을 담당할 것으로 추측되고 있다.

최근 들어, 비경쟁적 NMDA 수용체 길항제인 MK-801이 코카인과 암페타민의 만성적 처치에 의한 행동적 민감화의 발달을 억제하였다는 연구보고(Karler, Calder, Chaudhry, & Turkanis, 1989; Schenk, Valadez, McNamara, House, Higley, Bankson, Gibbs, & Horger, 1993; Wolf & Khansa, 1991)와 미세투석을 이용한 일련의 생화학적 연구에서, 측핵에 글루타메이트 효능제(glutamate agonist)를 투여함으로써 도파민 방출을 증가시켰다는 연구 결과들은 이 현상의 신경 기전 이해에 기본적 토대를 마련해 주었다. 더군다나, 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달과 니코틴성 아세틸콜린 수용체수의 증가도 MK-801에 의해 억제된바 있다(Shoaib &

Stolerman, 1992; Shoaib, Schindler, Goldberg, & Pauly, 1997). 이러한 증거들은 NMDA 수용체가 수용체 민감화와 같은 신경 세포의 장기적 변화와 이로 인한 행동적 민감화에 필수적이며 중추 도파민계가 글루타민계에 의해 조절적 작용을 받고 있음을 직접적으로 암시해주고 있다.

중독성 약물에 의한 행동적 민감화는 중추 도파민계의 세포외액 도파민 방출 증가와 상관성이 높으며(Castaneda, Becker, & Robinson, 1988; Robinson & Becker, 1982), 중독성 약물의 반복적 처치와 동시에 도파민 길항제(antagonist)를 투여함으로써 행동적 민감화가 억제되었다(Kuczenski & Leith, 1981). 이는, 앞서서도 언급하였듯이, 도파민 수용체의 활성화가 행동적 민감화의 발달에 필수적임을 시사한다. 시냅스후 도파민 수용체의 반복적인 활성화가 중독성 약물에 의한 시냅스전 도파민 방출을 증가시킬 수 있음이 제안되었으나 아직까지 그 기전에 대해서는 밝혀지지 않았다. 한가지 가능성은 역행성 신경 전달자(retrograde neuronal messenger)인 산화질소의 역할이다.

산화질소는 대기상에 존재하는 작고 간단한 기체 상태의 분자로 오랫동안 해로운 물질로만 인식되어 왔으나, 최근에는 면역계와 혈관계에서의 중요 역할 뿐 아니라 신경전달자(neuronal messenger)로서의 작용에도 관심이 모아지기 시작하였다. 글루타메이트 분자에 의해 활성화된 NMDA 수용체는 세포외의 Ca^{2+} 을 세포내로 유입시키는데 유입된 Ca^{2+} 은 조인자, 칼모듈린(calmodulin)과 결합하여 산화질소 합성효소(nitric oxide synthase, NOS)를 활성화시킴으로써 산화질소를 생성한다. 그 후, 산화질소는 세포내, 또는 인접세포의 guanylyl cyclase의 heme부위에 부착하여 구조적 변형을 일으킴으로써 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)를 생성하며 cGMP는 세포내의 구조적 화학적 변형을 일으킨다. 이러한 과정은 시냅스후 도파민 수용체의 활성화가 시냅스전 도파민 방출을 조절하는 기제에 대한 가설을 마련해 주며 NMDA 수용체와 산화질소의 유기적 관계를 설명해 준다. 특히 이 가설은 중독성 약물에 의한 행동적 민감화의 발현을 담당하는 주요 기제로 여겨져 왔으나(Robinson & Becker,

1986), 약물에 따라, 혹은 실험실에 따라 일관적인 결과는 얻지 못하고 있다. 실제로 산화질소 합성효소를 선택적으로 차단하여 산화질소의 형성을 방해하는 것으로 알려진 NG-nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME)는 코카인에 의한 행동적 민감화의 '발달'을 차단하였고(Pudlak & Bozarth, 1993), 암페타민과 메타암페타민(methamphetamine)을 대상으로 한 연구에서는 각각 '발현'과 '발달'을 차단시키는 연구 결과가 나왔다(Abekawa, Ohmori, & Koyama, 1995; Ohno & Watanabe, 1994; Stewart, Deschamps, Amir, 1994). 그러나, 아직까지 니코틴에 의한 행동적 민감화에서 산화질소가 어떠한 역할을 하는지, 또는 민감화 반응의 발달과 발현에서 차별적 역할을 하는지에 대한 실험은 수행된 적이 없다. 따라서 본 연구는 만성적 니코틴 처치에 의하여 행동적 민감화를 유발시키고, 행동적 민감화를 발달과 발현 단계로 나누어 각각의 단계에 미치는 산화질소의 역할을 규명해 보았다. 아울러 MK-801이 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달을 차단하였다는 Shoaib등의 연구(1992)를 확장하여 MK-801이 행동적 민감화의 발달과 발현에 미치는 영향도 함께 고찰해 보았다.

실 험 1

실험 1은 MK-801(0.3mg/kg, i.p.)과 L-NAME(75mg/kg, i.p.)이 (-)-d-nicotine hydrogen tartrate(0.4mg/kg, s.c.)의 만성적 처치에 의한 '행동적 민감화의 발달'에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수행되었다. 실험은 하루에 두 번씩 7일 동안 연속적으로 니코틴을 처치하는 민감화 발달 단계(sensitization phase)와 3일 동안 니코틴을 철회하는 약물 철회 기간(withdrawal phase), 그리고 약물 철회 기간이 끝난 다음날 다시 동일량의 니코틴을 한 번 처치하는 검사 단계(testing phase)로 구성되었다. 이 실험에서는 민감화 발달 단계 동안, 니코틴 처치 30분전에 MK-801과 L-NAME을 7일 동안 하루에 두 번씩 처치하고 약물 철회 기간을 거쳐 검사 단계에서 동일 용량의 니코틴을 다시 처치해 봄으로써 니코틴에 의한 행동적 민감화의 유도 즉, 발달 단계에서의 NMDA 수용체와 산화질소의 역할

을 규명해 보았다.

방 법

피험 동물

Sprague dawley 중 흰쥐 수컷 23마리에서 자료를 얻었으며 동물들은 (주)대한실험동물센터에서 공급받아 삼성생명과학연구소 부설 실험동물연구소에서 사육되었다. 실험 시작시 몸무게는 250 - 350g이었으며 3마리씩 개별장에 수용되었다. 주야 주기는 12시간(조명상태: 08:00-20:00, 소등상태: 20:00-08:00)으로 적당한 온도 상태에서 충분한 먹이와 물을 공급받았으며 모든 약물 처치와 행동 측정은 조명 주기에서 실행되었다.

행동 측정 장치

피험 동물의 활동량을 수량화하기 위하여, 본 연구에서는 경악 반사(Startle reflex)를 측정하기 위하여 개발되었던, Parreno등이 고안한 장치의 원리(Parreno, Saraza, & Subero, 1985)를 응용하여 사용하였다. 경악 반사를 측정 할 때의 이 장치의 원리는 스피커 위에 장치된 원판에서 피험 동물이 움직이면 이에 따라 스피커의 가동 코일에서 유도되는 전압을 측정하는 것이었다. 본 연구에서는 이전과 같은 원리를 사용하긴 하였으나 스피커 진동막의 인장 강도가 충분하지 않아, 장기간의 지속적인 측정에 적합하지 못한 점을 보완하기 위해 스피커 진동막 대신에 스프링으로 고정된 아크릴 원판에 가동 코일을 장치하여 유도 전압이 발생하도록 하였다. 이러한 방식은 보다 안정적이고 지속적인 측정을 보장해 주었다. 일단 유도된 전압은 A/D converter에서 디지털화되어 PC로 처리되었다. 디지털화된 측정 자료를 활동량으로 수량화하기 위해 Turbo-Pascal 6.0으로 컴파일된 프로그램을 사용하였으며 수량화 방식은 다음과 같다. 즉, 지속적으로 진동파를 검사하고 그 진동파중 일정한 역치 이상의 파동인 경우, 그 발생횟수를 활동량의 지표로 삼았다. 이것은 윈도우 변별기(window discriminator)와 오실로스코프(oscilloscope)를 소프트웨어로 구현한 것이다.

실험 절차

동물을 사육장에서 외부 소음이 차단된 실험실로 옮겨 각각 무게를 잰 후 집단별로 4개의 활동량 측정 상자에 개별적으로 넣어졌다. 상자 내에서 60분간의 적응 기간을 거친 후, 다시 60분간 기저 활동량이 측정되었다. 기저 활동량 측정기간이 끝나기 30분전에 한 집단의 동물들은 생리식염수(1ml/kg, 0.9%NaCl, i.p.)를, 다른 두 집단의 동물들은 MK-801(0.3mg/kg, i.p.)과 L-NAME(75mg/kg, i.p.)을 각각 처치 받았다. 위의 각 약물 투여 30분 후에 세 집단 모두에 니코틴(0.4mg/kg, s.c.)을 투여하고 한 회기당 20분씩 구성된, 총 6회기에 걸쳐 '니코틴 처치후 활동량'이 7일 동안 측정되었다. 활동량 측정은 매일 동일한 시간(11:00-12:00)에 한 번 측정되었으며, 약물 처치는 활동량 측정시 약물 처치후 6시간 후에 사육장내에서 한번 더 시행되었다. 7일 동안 위의 절차를 반복하는 민감화 발달 단계후 3일간의 약물 철회 기간동안 모든 동물은 원래의 케이지에 옮겨 실험 시작전과 동일한 환경에서 충분한 먹이와 물을 공급받았다. 약물 철회 기간이 끝난 다음날 즉, 마지막 니코틴 투여 후 72시간이 경과한 후에 동물들은 다시 활동량 측정 장치로 옮겨져 1회의 검사 단계가 실시되었다. 검사 단계는 니코틴에 의한 행동적 민감화의 변화 유무를 알아보는 중요한 단계로서, 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달 및 유도에 미친 MK-801과 L-NAME의 효과를 알아보기 위해서는 이 단계가 필수적으로 요구되어진다. 검사 단계의 실험 절차는 민감화 발달 단계와 동일하나, 니코틴 처치 30분전에 MK-801이나 L-NAME을 처치하지 않고 니코틴만을 처치 한 후 활동량을 측정하는 점이 다르다. 이외에 생리식염수만을 7일간의 민감화 발달 단계와 검사 단계에서 처치하고 활동량을 측정한 집단과 민감화 발달 단계에서 생리식염수를 처치하고 3일 후의 검사 단계에서 니코틴에 처음 노출시킨 집단이 있으며 이는 모든 실험의 통제 또는 비교 집단이 되었다.

결 과

그림 1은 MK-801(0.3mg/kg, i.p.)과 L-NMAE (75mg/kg, i.p.)이 니코틴(0.4mg/kg, s.c.)에 의한 행동적 민감화의 발달에 미친 영향을 알아보기 위하여 7일 동안의 민감화 발달 단계동안 집단별 약물을 처치하고 매일 6회기-120분, 총 7일 동안 관찰한 활동량의 변화이다. 분석은 반복 측정식 변량분석을 사용하였으며 결과는 다음과 같다.

MK-801의 효과를 분석한 그림 1-A는 측정일에 따른 차이 [F(6,12)=578, n.s.], 집단간 차이 [F(2,11)= 24.469, p<.01], 집단과 측정일의 상호작용 효과 [F(12,12)=1.156, n.s.]를 보여준다. 즉, 집단간 차이만 유의미함을 알 수 있다. 이는 순수 생리식염수 처치 집단과 니코틴 처치전 MK-801 처치 집단의 활동량의 변화가 뚜렷하지 않기 때문이다. 행동 측정일에 따른 집단별 사후 분석(scheffe) 결과, 니코틴 처치전 생리식염수를 처치한 집단은 순수 생리식염수 처치 집단에 비해 실험 5-6일째에서 유의미한 차이를 보이며 니코틴처치전 MK-801을 처치한 집단은 실험 2-6일에 걸쳐 유의미하게 높은 활동량을 보여주고 있으며 MK-801의 처치는 자체가 높은 활동량을 유발하는 것으로 나타났다. 그림 1-B는 민감화 발달 단계동안 처치한 L-NAME의 효과를 보여준다. 반복측정에 의한 변량 분석의 결과는 측정일에 따른 차이 [F(6,13)=15.950, p<.01], 집단간 차이 [F(2, 12)=14.128, p<.01], 집단과 측정일의 상호작용 효과 [F(12,13)=3.535, p<.01]가 있었으며 행동 측정일에 따른 집단별 사후 분석(scheffe) 결과, 니코틴 처치전 생리식염수를 처치한 집단은 실험 5-7일에 걸쳐 순수 생리식염수 처치 집단에 비해 활동량의 유의미한 증가를 보인 반면, 니코틴 처치전 L-NAME을 처치한 집단은 유의미한 차이를 보이지 않았다. 그러나 본 연구 결과는 니코틴과 MK-801, 또는 니코틴과 L-NAME의 혼합된 효과를 반영하고 있으므로, 엄밀한 의미에서 MK-801과 L-NAM E이 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달에 미친 영향이라고 볼 수는 없다. 그럼에도 불구하고 니코틴 처치전 생리식염수를 처치한 집단의 활동량이 점진적으로 증가함으로써, 행동적 민감화가 성공적으로 수행되었음을 보여주고 있다.

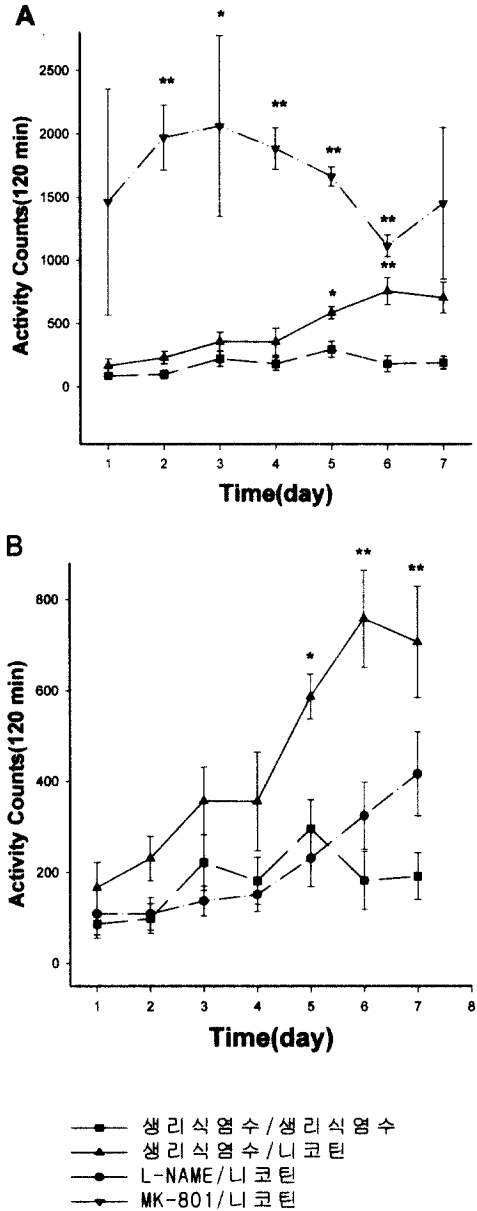


그림 1. MK-801과 L-NAME이 7일간의 민감화 발달 단계동안 니코틴에 의한 활동량의 변화에 미친 영향. 각 집단은 위의 제시된 약물중 첫 번째 약물과 두 번째 약물을 30분 간격으로 7일 동안 매일 2회씩 처치 받았으며 두 번째 약물 처치후 120분간의 활동량이 7일 동안 하루에 1회씩, 연속하여 측정되었다. (* p<.05, ** p<.01 : 순수 생리식염수 처치 집단과의 비교)

그림 2는 각 약물처치의 실험 1일째(급성 처치)와 실험 7일째(만성 처치)의 효과를 비교하기 위하여 제시되었다. 분석은 Paired T-test를 사용하였는데 생리식염수만을 처치한 집단과 니코틴 처치전 MK-801을 처치한 집단은 활동량의 유의미한 변화를 보이지 않았으나 [$t_{(4)}=1.931$, n.s.; $t_{(3)}=.029$, n.s.], 니코틴 처치전 생리식염수를 처치한 집단 [$t_{(3)}=3.687$, $p<.05$] 과 니코틴 처치전 L-NAME을 처치한 집단 [$t_{(4)}=4.092$, $p<.05$] 은 활동량의 유의미한 증가를 보였다. 그러나 이 역시 잔여 약물효과(residual drug effect)로 말미암아, MK-801과 L-NAME이 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달에 미친 영향이라고 판단하기에는 미흡하다. 따라서 7일간의 민감화 발달 단계와 3일간의 약물 철회 기간을 거친 후에 니코틴이나 생리식염수를 1회 투여하는 검사 단계가 요구되어진다. L-NAME과 MK-801이 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달에 미친 영향을 분석하기 위한 검사 단계의 활동량이 그림 3에 제시되어 있다. 변량 분석 결과, 집단간 차이는 매우 유의미한 것으로 나타났으며 [$F(4,18)=13.623$, $p<.01$], 사후 검증(Scheffe) 결과, 민감화 발달 단계동안 생리식염수/니코틴을 처치하고 검사 단계에서 다시 니코틴을 처치한 집단의 활동량은 순수 생리식염수만을 처치한 집단에 비해 유의미하게 높았으며($p<.01$), 검사 단계에서 처음으로 니코틴을 처치한 집단에 비해서도 높은 활동량을 보여주었다($p<.01$). 즉, 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달을 명확히 관찰할 수 있다(그림 3-A). 그림 3-B는 니코틴에 의해 형성된 행동적 민감화의 발달이, 민감화 발달 단계동안 투여된 MK-801이나 L-NAME에 의해 유의미하게 약화되었음을 보여주고 있다(각각 $p<.01$, $p<.05$). 그러나 MK-801이 L-NAME보다 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달을 더 강하게 억제한 것으로 나타났다.

그림 4는 검사 단계에서 측정된 120분간의 활동량을 20분 단위(회기, session)로 나누어, 시간의 경과에 따라 작성한 그래프이다. 반복 측정적 변량분석에 의하면 회기에 따른 차이 [$F(5,22)=21.967$, $p<.01$], 집단간 차이 [$F(4,21)=13.636$, $p<.01$], 집단과 회기의 상호작용 효과 [$F(20,22)=6.166$, $p<.01$]

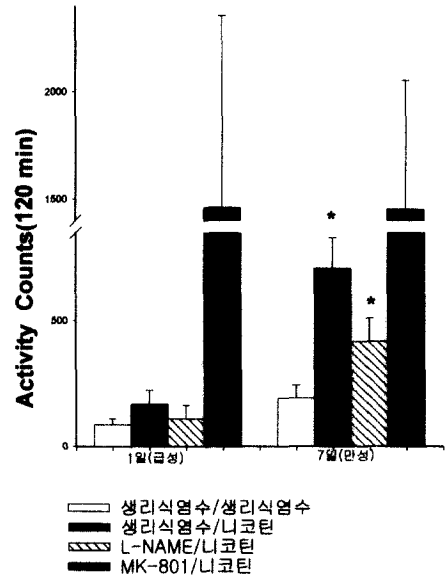


그림 2. 각 약물 처치에 의한 실험 1일째와 7일째의

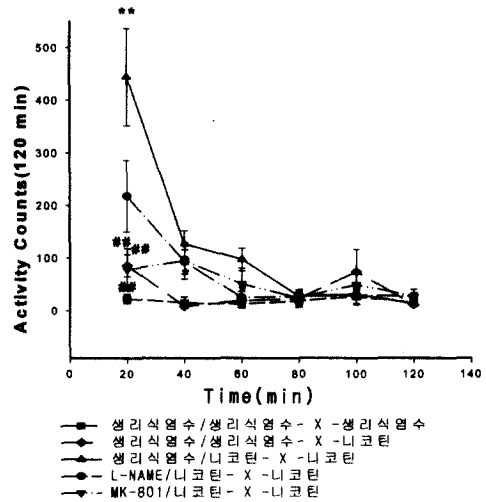


그림 4. MK-801과 L-NAME이 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달에 미친 영향-시간 경과 분석(Time-course analysis). 검사 단계동안 측정된 120분간의 활동량을 20분의 회기로 나누어 제시한 활동량의 변화이다. 그림 하단에 제시된 약물은 민감화 발달 단계-약물 철회 기간-검사 단계에서 처치된 약물을 나타내며 X는 약물이 처치되지 않았음을 의미한다. ** $p<.01$: 순수생리식염수 처치 집단과의 비교. ## $p<.01$: 민감화 발달 단계에서 니코틴 처치전 생리식염수를 처치한 집단과의 비교.

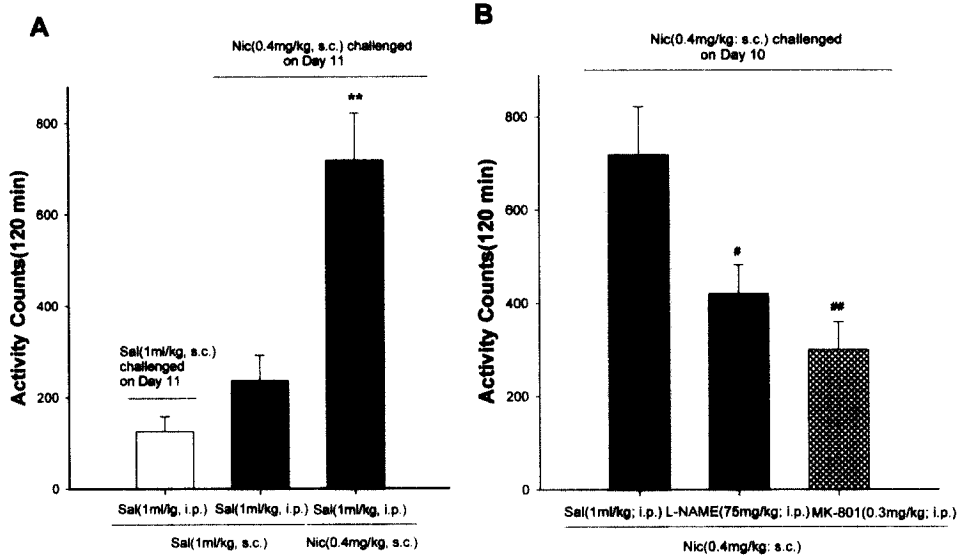


그림 3. MK-801과 L-NAME이 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달에 미친 영향. 민감화 발달 단계동안, 그림의 X축에 있는 약물들을 처치하고 30분후, X축 밑줄 하단에 있는 약물들을 처치하는 과정이 7일 동안 하루에 2번씩 반복되었으며, 3일간의 약물 철회 기간후, 검사단계에서 그림의 상단에 있는 약물을 처치하고 120분간의 활동량을 측정하였다. 그림 A는 순수 생리식염수 처치집단과의 유의도를 보여주며 그림 B는 민감화 발달 단계에서 니코틴 처치전 생리식염수를 처치한 집단과의 유의도를 보여준다. (** p<.01, # p<.05, ## p<.01 Sal:생리식염수 Nic:니코틴)

가 있었으며 회기별 집단간 차이를 알아보기 위한 사후 분석(scheffe)에 의하면 민감화 발달 단계에서 생리식염수/니코틴을 처치하고, 검사 단계에서 니코틴을 처치한 집단의 높은 활동량은 주로 니코틴 처치후 20분내에 유의미하게 증가하였음을 알 수 있으며 MK-801과 L-NAME은 니코틴 처치에 의한, 이러한 초기의 즉각적 행동변화를 상당히 차단하였음을 알 수 있다. 그러나 MK-801은 만성적 니코틴 처치에 의한 1회기에서의 높은 활동량을 유의미하게 억제한 것에 비해 L-NAME은 순수 생리식염수 처치 집단이나 만성적 니코틴 처치 집단에 비교하여 어느 회기에서도 유의미한 차이를 보여주지 않았다. 그럼에도 불구하고 민감화 발달 단계에서 니코틴 처치전 L-NAME을 처치한 집단은, 거의 모든 회기에 걸쳐 니코틴 처치전 생리식염수를 처치한 집단에 비해 억제된 활동 경향을 보여주었다.

실험 2

실험 2는 MK-801(0.3mg/kg, i.p.)과 L-NAME(75mg/kg, i.p.)이 (-)-d-nicotine hydrogen tartrate(0.4mg/kg, s.c.)의 만성적 처치에 의한 행동적 민감화의 발현에 미치는 영향을 검토하고자 하였다. 실험 1과 마찬가지로 민감화 발달 단계(sensitization phase)와 약물 철회 기간(withdrawal phase), 그리고 검사 단계(testing phase)로 구성되었으나 7일간의 민감화 발달 단계에서 니코틴 처치 30분전에 투여하던 생리식염수나 MK-801, 그리고 L-NAME을 약물 철회 기간 동안 처치하고 검사 단계에 니코틴을 투여한 점이 다르다. 이는 이미 형성된, 니코틴에 의한 행동적 민감화를 유지, 또는 발현시키는데 있어서 NMDA 수용체와 산화질소의 역할을 알아 본 것이다.

방법

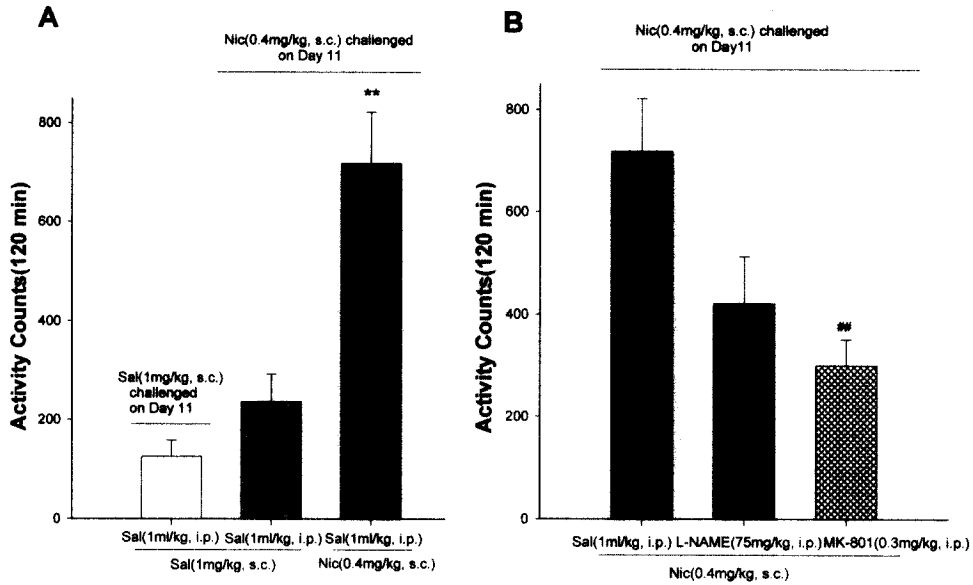


그림 5. MK-801과 L-NAME이 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발현에 미친 영향.

민감화 발달 단계동안, 그림의 X축 밑줄 밑에 있는 약물을 7일 동안 하루에 두 번씩 처치하고 3일간의 약물 철회 기간 동안 X축에 있는 약물들을 하루에 두 번씩 처치하였다. 실험 11일 째인 검사 단계에서 그림의 상단에 있는 약물들을 처치하고 120분 동안 활동량이 측정되었다. 그림 A는 순수 생리식염수 처치 집단과의 유의도를 보여주며 그림 B는 민감화 발달 단계와 약물 철회 기간, 그리고 검사 단계에서 각각 니코틴, 생리식염수, 니코틴을 처치한 집단과의 유의도를 보여준다. (** $p < 0.01$, ## $p < 0.01$ Sal:생리식염수 Nic:니코틴)

피험 동물

Sprague dawley 종 흰쥐 수컷 15마리에서 자료를 얻었으며 통제 집단은 실험 1의 자료를 사용하였다. 그 외의 사항은 실험 1과 동일하다.

행동 측정 장치

실험 1과 동일하다.

실험 절차

전반적인 실험 절차는 실험 1과 동일하나, 민감화 발달 단계에서 니코틴(0.4mg/kg, s.c.) 처치 30분 전에 투여하던 생리식염수(1ml/kg, i.p.)나 MK-801(0.3mg/kg, i.p.), 그리고 L-NAME(75mg/kg, i.p.)을 3일간의 약물 철회 기간동안 처치하는 점이 다르다. 약물 철회 기간동안의 약물 처치는 민감화 발달 단계에서 니코틴을 처치하던 시간과 동일하게,

하루에 두 번씩 이루어 졌으며, 물과 먹이가 충분히 공급되는 사육장에서 수행되었다. 본 실험 역시, 검사 단계는 니코틴에 의한 행동적 민감화의 변화 유무를 알아보는 중요한 단계로서, 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발현 및 유지에 미치는 MK-801과 L-NAME의 효과를 알아보기 위하여 필수적으로 요구되어졌다.

결 과

7일간의 민감화 발달 단계를 거쳐 3일간의 약물 철회 기간동안 3집단으로 나누어 각각 생리식염수(1ml/kg, i.p.), MK-801(0.3mg/kg, i.p.), L-NAME(75mg/kg, i.p.)을 하루에 두 번씩 처치하고 검사 단계에서 니코틴(0.4mg/kg, s.c.)을 투여한 후 측정된 활동량이 그림 5에 제시되어 있다. 변량 분석 결과, 집단간 차이는 매우 유의미한 것으로 나타났다

[F(4,20)=10.575 p<.01]. 사후 검증(scheffe) 결과, 민감화 발달 단계에서 니코틴을 처치하고 약물 철회 기간동안 생리식염수를 처치한 집단은 민감화 발달 단계와 검사 단계에서 생리식염수를 처치한 집단에 비해 유의미하게 높은 활동량을 보였다 (p<.01). 즉, 니코틴에 의한 행동적 민감화가 발현, 유지되고 있음을 보여주었다(그림 5-A). 그림 5-B는 약물 철회 기간 동안 투여한 MK-801과 L-NAME이 니코틴에 의한 행동적 민감화에 미친 영향을 직접적으로 보여주고 있다. 약물 철회 기간 동안 MK-801의 투여는 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발현을 유의미하게 억제시켰지만(p<.01), L-NAME의 투여는 행동적 민감화의 발현을 억제시키는 경향이 있기는 하나 통계적으로 유의미하지는 않았다(p>.1). 그림 6은 검사 단계에서 측정된 120분간의 활동량을 니코틴 처치 후 20분 단위(회기, session)로 나누어, 시간의 경과(time-course)에 따라 작성한 그래프이다. 전체적인 그래프의 양상은 실험 1의 결과와 유사하며 반복 측정식 변량분석의 결과도 회기에 따른 차이 [F(5,20)=38.666, p<.01], 집단간 차이 [F(4,19)= 10.116, p<.01], 집단과 회기의 상호작용 효과 [F(20,20)=9.413, p<.01]가 있는 것으로 나타났다. 회기에 따른 집단별 사후 분석(scheffe) 결과, 만성적 니코틴 처치 집단은 순수 생리식염수 처치 집단과 비교하여 2회기까지 활동량의 유의미한 증가를 보여주었으며 약물 철회 기간동안 L-NAME을 처치한 집단은 2회기에서만 만성적 니코틴 처치 집단에 비해 유의미한 활동량의 감소를 보였을뿐(p<.01), 1회기에서는 오히려 순수 생리식염수 처치 집단과 비교하여 활동량의 유의미한 증가를 보여주었다(p<.05). 이에 비해 MK-801 처치 집단은 1-2회기 모두에서 만성적 니코틴 처치 집단에 비해 활동량의 유의미한 감소를 보임으로써(각각 p<.01, p<.05), 전체 회기에 걸친 활동량을 분석한 그림 5에서 MK-801이 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발현을 통계적으로 유의미하게 억제하고 L-NAME은 유의미한 억제성을 보이지 못한 결과는 주로 이러한 차이에 기인한 것으로 나타났다.

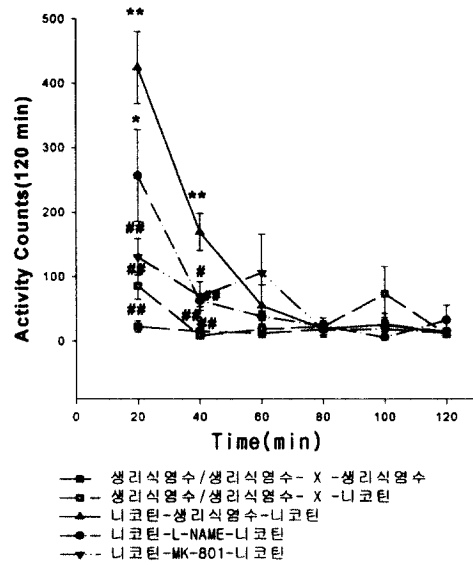


그림 6. MK-801과 L-NAME이 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발현에 미친 영향-시간 경과 분석(Time-course analysis). 검사 단계에서 측정된 120분간의 활동량을 20분의 회기로 나누어 제시한 활동량의 변화이다. 그림 하단에 제시된 약물은 민감화 발달 단계-약물 철회 기간-검사 단계에서 처치된 약물을 나타내며 X는 약물이 처치되지 않았음을 의미한다. (* p<.05, ** p<.01; 순수 생리식염수 처치 집단과의 비교 # p<.05, ## p<.01; 각 단계에서 니코틴-생리식염수-니코틴을 처치한 집단과의 비교)

논 의

만성적 니코틴 처치에 의한 행동적 민감화의 발달과 발현에서 NMDA 수용체와 산화질소의 역할을 알아보기 위하여 수행한 본 실험의 결과는 다음과 같다. (1)소량의 니코틴(0.4mg/kg, s.c.)을 7일 동안 반복적으로 처치함으로써 행동적 민감화를 성공적으로 유도(발달)하였으며 일단 유도된 활동량의 증가는 니코틴 처치를 철회한 3일 후에도 유지(발현)됨이 관찰되었다. (2)MK-801과 L-NAME은 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달을 통계적으로 유의미하게 억제하였으며 억제의 강도는 MK-801 처치 집단에서 더 강하게 나타났다. (3)MK-801은 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발현을 유의미하게 억제하였으나 L-NAME은 그렇지

못 하였다.

행동적 민감화 연구 결과들에 대한 해석과 통합에 있어서 어려운 점은 실험자에 따라 약간씩 다른 실험적 패러다임을 채택한다는 것이다. 특히 민감화 발달 단계 기간과 약물 철회 기간의 설정, 그리고 활동량 측정 방법과 약물 처치 방법 등에 있어서 일관적이지 못하다. 활동량 측정법에 있어서 본 연구는 스피커 진동막을 개조한 스태빌리미터(stabilimeter)를 사용하여 활동량을 측정하였다. 대다수의 행동적 민감화 연구가 채택하는 photo-cell-count 기법은 보행성 활동과 상동적 행동에 의한 활동량을 구분하여 측정할 수 있는 장점을 제공하는데 비해, 제한적인 센서의 수로 인한 측정 활동량의 손실을 야기할 수 있다. 그러나 본 실험의 활동량 측정 장치는 비록, 행동의 양식을 구분하여 측정하지는 못하지만 photo-cell-count 기법에 의한 활동량의 손실을 보정해 주는 장점이 있었다. 니코틴(0.4mg/kg)과 MK-801(0.3mg/kg)의 처치 용량은 이전의 Shoab 등의 연구(1992)를 참조하였으나 이들의 연구가 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달만을 분석한 것임에 비해 본 연구는 행동적 민감화의 발현까지 확대 연구하였으며, 행동적 민감화를 극대화시키기 위하여 7일간의 민감화 발달 단계동안 하루에 두 번씩 약물을 처치한 점이 다르다.

우선, MK-801과 L-NAME이 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수행한 실험 1에서 민감화 발달 단계에서 활동량에 미친 두 약물의 효과는 상이하게 나타났다. 즉, 니코틴 처치전 MK-801 처치 집단은 니코틴 처치전 생리식염수 처치 집단보다 월등히 높은 활동량을 7일 동안 지속적으로 보인 반면, 니코틴 처치전 L-NAME 처치 집단은 니코틴 처치전 생리식염수를 처치한 집단보다 낮은 활동량을 지속적으로 보여주었다. 그럼에도 불구하고 검사 단계에서 측정된 활동량은 두 약물을 처치한 집단 모두에서 니코틴 처치전 생리식염수를 처치한 집단에 비해 억제됨이 관찰되었다. 이는 활동량의 변화에 즉각적으로 미치는 각 약물의 약리학적 기제가 행동적 민감화와 관련성이 없거나, 또는 두 약물이 각각

상이한 기제를 통하여 행동적 민감화에 영향을 미칠 수 있음을 시사한다. 실제로 MK-801은 용량의존적으로 보행성 활동을 증가시키는 성질이 있으며(Clineschmidt, Martin, & Bunting, 1982), L-NAME은 암페타민이나 코카인 처치에 의한 즉각적인 활동량의 증가를 억제하는데(Pudlak et al., 1993), 이는 독립적인 운동 기능의 저하와 관련될 수 있다(Ohno et al., 1994). 특히, 두 약물 처치에 의한 활동량의 즉각적인 변화는 중추 도파민계와 독립적인 현상일 가능성이 큼으로써(Carlsson & Carlsson, 1989; Stewart et al., 1994), 민감화 발달 단계에서 측정된 두 약물 처치 집단의 활동량의 변화는 행동적 민감화와 관련된 기제의 결과는 아닌 듯하다. 따라서, 민감화 발달 단계가 지난 3일 후에 이들 두 약물을 처치하지 않고 측정된 검사 단계의 활동량이 행동적 민감화의 발달 유무를 결정할 수 있는 중요한 근거가 되며, 두 약물 처치에 의해 검사 단계에서 활동량이 억제된 결과는 이들 약물이 표면적이고 즉각적인 약리학적 기제가 아닌, 더욱 고차원적인 기제에 의하여 행동적 민감화를 억제하였음을 시사하고 있다.

이전의 여러 연구들에서 NMDA 수용체 길항제들은 해마에서 나타나는 장기상승작용의 발달과, 발달중인 시각 피질(visual cortex)의 시냅스 변형, 그리고 후각 변별 학습과 공간 기억 과제의 습득을 저해함으로써 NMDA 수용체가 신경 가소성과 깊이 연관되어있음을 보여준과 동시에(Morris, Davis, & Butcher, 1990), 암페타민이나 코카인에 의한 행동적 민감화의 발달을 억제함으로써(Karler et al., 1989; Wolf et al., 1991; Kalivas & Alesdter, 1993), 행동적 민감화가 신경 가소성의 한 형태이며 NMDA 수용체의 활성화가 니코틴을 비롯한 여러 중독성 약물에 의해 발생하는 행동적 민감화 발달의 공동 기제일 수 있음을 암시해 주었다.

본 연구의 결과는 MK-801 만큼은 아니지만 L-NAME도 니코틴 처치에 의한 행동적 민감화의 발달을 억제하였다. 이미 Ohno등은 30mg/kg과 100mg/kg의 L-NAME을 7일간의 민감화 발달 단계 동안 차별적으로 처치하여 메타암페타민에 의한 행동적 민감화의 발달이 용량 의존적으로 억제됨

을 관찰하였으며(Ohno et al., 1994), 코카인을 대상으로 한 다른 연구에서도 21일간의 민감화 발달 단계동안 처치한 L-NAME(30mg/kg)이 행동적 민감화의 발달을 억제시킴이 관찰되었다(Pudiak et al., 1993). 더군다나 물핀에 의한 진통 작용의 내성(analgesic tolerance)과 의존성(dependence)도 NMDA 수용체 길항제뿐만 아니라 산화질소 합성효소 억제제에 의해서도 감소되었다(Trujillo, & Akil, 1991; Tiseo, & Inturrisi, 1993). 그러나 이러한 연구들에서 사용한 산화질소 합성효소 억제제들, 즉 L-NAME 이나 NG-Nitro-L-arginine(L-NA)등이 투여후 비교적 장기간(적어도 5일)동안 산화질소 합성효소의 활성을 억제할 수 있음이 보고되었다(Dwyer, Bredt, & Snyder, 1991). 이는 L-NA ME등에 의한 행동적 민감화의 억제 효과가 산화질소 합성효소 활성의 결핍에 의한 표면적인 현상일 뿐, 행동적 민감화의 뇌기계와 관련이 없을 가능성을 제기하였다. 그러나 약물 철회 기간을 3일과 10일로 나누어 관찰한 결과 10일간의 약물 철회 기간이 지난 후에 코카인을 투여하여도 행동적 민감화가 억제됨이 관찰됨으로써 산화질소와 행동적 민감화의 관련성은 더욱 밀접해졌다(Haracz, MacDonall, & Sircar, 1996).

아직까지 행동적 민감화의 신경화학적 기전이 명확히 밝혀진 것은 아니지만, 이러한 연구 결과들은 NMDA 수용체와 산화질소가 행동적 민감화와 관련된 신경계의 장기적 변화에 중요한 역할을 담당함을 암시하며 서론에서 언급한 NMDA 수용체와 산화질소의 유기적 관계의 이론적 토대를 제공하고 있다. 즉, 만성적 니코틴 처치로 인해 향상된 도파민성 신경전달이 NMDA 수용체의 활성화를 야기하고, 뒤이어 산화질소의 형성을 촉발할 수 있다. 이러한 순차적 효과에 의해 형성된 산화질소는 역행성 신경 전달자로 작용하여 시냅스전 cGMP나 세포내 구조적 변형을 야기함으로써 반복적 니코틴 처치에 의한 점진적인 반응의 증가를 매개할 수 있다. 실제로, 산화질소는 선조체 절편에서 도파민 방출을 증가시켰으며(Lonart, Cassels, & Johnson, 1993; Zhu & Luo, 1992), 미세투석 실험에서는 또 다른 산화질소 합성효소 억제제인 L-NA가 NMDA 자체가 유발한 선조체에서의 도파민 방출

증가를 억제함으로써, 도파민 방출이 산화질소에 의해 조절될 수 있음을 보여주었다(Ishida, Yamamoto, & Mitsuyama, 1994). 따라서 NMDA 수용체의 일부 중요한 효과가 산화질소에 의해 분담될 수 있다(Bredt & Snyder, 1992; Garthwaite, 1991; Snyder & Bredt, 1991). 그러나 NMDA 수용체와 산화질소가 각각 다른 기제를 통하여 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발달에 영향을 미칠 가능성도 배제할 수 없다.

실험 1의 결과에서 한가지 더 주목할 점은 L-NA ME 처치 집단이 MK-801 처치 집단보다 행동적 민감화의 발달이 덜 억제되었다는 점이다. 이러한 결과는 코카인이나 메타암페타민 연구에서 일반적으로 보고된 바 있다(Ohno et al., 1995; Pudiak et al., 1993). 최근에 L-NAME이 산화질소 합성효소의 억제제로 작용할 뿐만 아니라 무스카린성 수용체(muscarinic receptor)의 길항제로 작용하며(Buxton, Cheek, Eckman, Westfall, Sanders, & Keef, 1983), 무스카린성 수용체 길항제인 스코폴라민(scopolamine)이 암페타민에 의한 활동량의 증가를 향상시켰다는 보고가 있었다(Martin-Iverson, Leclere, & Fibiger, 1993). 따라서 L-NAME의 항 무스카린성 특성이, 산화질소 생성 억제에 의한 행동적 민감화 발달 약화를 어느 정도 차폐함으로써 억제의 강도가 약하게 보이게 했을 가능성이 있다. 실제로 Ohno등은 무스카린성 수용체에 길항적 효과가 없는 L-NA를 사용하여 메타암페타민에 의한 행동적 민감화의 발달을 완벽히 차단한 바 있다(Ohno et al., 1994). MK-801이 L-NAME보다 더 강한 억제력을 보인 또 다른 이유는 NMDA 수용체와 산화질소의 순차적 관계에서 NMDA 수용체의 차단이 더욱 근본적이라는 점이다. 물론 이러한 결과가 L-NAME과 MK-801의 독립적인 약리학적 기제를 반영할 가능성은 많다.

최근 들어 산화질소가 중독성 약물에 의한 행동적 민감화의 발현에 중요한 역할을 할 것이라는 가설이 제기되었다. 이미 산화질소는 해마의 장기상승작용에서 이 현상의 유지나 발현에 더욱 관여하고 있음이 증명된바 있으며(Haley, Wilcox, & Champman, 1992; Iga, Yoshioka, Togashi, & Saito,

1993), 일부 중독성 약물에 의한 행동적 민감화 연구도 이를 지지해주고 있다(Lichtensteiger, Hifti, Felix, Huwylar, Melamed, & Schumpf, 1982). 그러나 행동적 민감화 실험의 결과들이 일치를 보이는 것은 아니다. 본 실험의 결과도 L-N AME의 처치가 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발현을 유의미하게 차단하지 못하였으며 오히려 MK-801이 행동적 민감화의 발현을 유의미하게 차단하였다. 그럼에도 불구하고, 실험 2의 검사 단계에서 측정된, 활동량의 억제 경향성은 산화질소가 니코틴에 의한 행동적 민감화의 발현에 필수 요소는 아닐지라도 행동적 민감화의 발현을 담당하는 도파민 기능에 조절적 작용을 할 가능성을 남겨 놓았다. 중요한 사실은 대다수의 중독성 약물이 비슷한 생화학적 기체에 의하여 행동적 민감화를 조율할 수 있지만, 약물에 따라 상이한 기체가 행동적 민감화를 매개할 수 있다는 점이다. 예를 들어, 만성적 니코틴 처치로 활동량의 증가를 유발 한 후 다른 중독성 약물을 처치 할 경우 행동적 민감화 반응이 나타나지 않는다(Shenk, Snow, & Horger, 1991). 따라서 중독성 약물에 의한 행동적 민감화 연구는 이 현상을 담당하고 있는 공통적인 신경 생리학적 기체 뿐만 아니라 각각의 중독성 약물에 따른 세부적인 약리학적 기체에 대해서도 깊은 주의를 기울여야 할 것이다.

아직까지 니코틴에 의한 행동적 민감화의 뇌 기체에 대하여 밝혀진 것이 미미하지만 본 연구는 니코틴에 의한 행동적 민감화가 장기상승작용과 같은 신경 가소성 원리에 의해 매개될 수 있음을 암시해 주고 있다. 앞으로의 연구는 더욱 세부적인 기체에 대한 논의가 이루어져야 할 것이며 특히 도파민계와 글루타메이트계의 상호작용과 산화질소의 역할에 대한 세부 연구는 니코틴뿐만 아니라 다른 중독성 약물에 의한 '중독' 현상 규명에 실마리를 제공해 줄 것이며 학습과 보상, 동기와 같은 심리학적 주제에 대한 통찰력을 제공해 줄 것이다.

참고 문헌

- Abekawa, T., Ohmori, T., and Koyama, T. (1994) Effects of repeated administration of a high dose of methamphetamine on dopamine and glutamate release in rat striatum and nucleus accumbens. *Brain Res*, 643, 276-281.
- Ackerman, J. M., and White, F. J. (1990). A10 somatodendritic dopamine autoreceptor sensitivity following withdrawal from repeated cocaine treatment. *Neurosci. Lett.*, 117, 181-187.
- Benwell, M. E. M., and Balfour, D. J. K. (1988). Evidence that tobacco smoking increases the density of (-)- [3 H] nicotine binding sites in human brain. *J. Neurochem*, 50, 1243-1247.
- Benwell, M. E. M., and Balfour, D. J. K. (1992). The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *Br. J. Pharmacol.*, 105, 849-856.
- Bliss, T. V. P., and Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361, 31.
- Bredt, D. S., and Snyder, S. H. (1992). Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron*, 8, 3.
- Buxton, I. L. O., Cheek, D. J., Eckman, D., Westfall, D. P., Sanders, K. M., and Keef, K. D. (1993). N^G-Nitro-L-arginine methyl ester and other alkyl esters of arginine are muscarinic receptor antagonists. *Circ Res*, 72, 387.
- Carlsson, M., and Carlsson, A. (1989). The NMDA antagonist MK-801 causes marked locomotor stimulation in monoamine-depleted mice. (1989). *J. Neural Transm*, 75, 221-226.
- Castaneda, E., Becker, J. B., and Robinson, T. E. (1988). The long-term effects of repeated amphetamine treatment in vivo on amphetamine, KCl and electrical stimulation evoked striatal dopamine release in vitro. *Life Sci*, 42, 2447-2456.
- Clarke, P. B. S. (1990). Mesolimbic dopamine activation - the key to nicotine reinforcement? *In Giba Foundation Symposium 152: The Biology of Nicotine Dependence*, Wiley, Chichester, pp. 153-168.
- Clarke, P. B. S., Fu, D. S., Jakubovic, A., and Fibiger, H.C. (1988). Evidence that mesolimbic dopaminergic activation

- underlies the locomotor stimulant action of nicotine in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, *246*, 701-708.
- Clineschmidt, B. V., Martin, G. E., and Bunting, P. R. (1982). Anticonvulsant activity of (+)-5-methyl-10, 11-dihydro-³H-dibenzo(a,d) cyclohepten-5, 10-imine(MK-801), a substance with potent anticonvulsant, central sympathomimetic and apparent anxiolytic properties. *Drug. Dev. Res.*, *2*, 123-134.
- Collingridge, G. L., and Bliss, T. V. P. (1987). NMDA receptor: their role in long-term potentiation. *Trends Neurosci.*, *10*, 288.
- Damsma, G., Day, J., and Mbigier, H. C. (1989). Lack of tolerance to nicotine-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *Eur. J. Pharmacol.*, *168*, 363-368.
- Dichiara, G., and Imperato, A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Pro Natl Acad Sci*, *85*, 5274-5278.
- Dwyer, M. A., Bredt, D. S., and Snyder, S. H. (1991). Nitric oxide synthase: irreversible inhibition by L-N^ω-nitroarginine in brain in vitro and in vivo. *Biochem Biophys. Res. Commun.*, *176*, 1136-1141.
- Garthwaite, J. (1991). Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci.*, *14*, 60.
- Giorguieff-Chesselet, M. F., Kemel, M. L., Wand-scheer, D., and Glowinski, J. (1979). Regulation of dopamine release by presynaptic nicotine receptor in rat striatal slices: Effects of nicotine in a low concentration. *Life Sci*, *25*, 1257-1262.
- Haracz, J. L., MacDonall, J. S., and Sircar, R. (1996). Effects of nitric oxide synthase inhibitors on cocaine sensitization. *Brain research*, *746*, 183-189.
- Henry, D. J., and White, F. J. (1991). Repeated cocaine administration causes persistent enhancement of D1 dopamine receptor sensitivity within the rat nucleus accumbens. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, *252*, 833-839.
- Haley, J. E., Wilcox, G. L., and Chapman, P. E. (1992). The role of nitric oxide in hippocampal long-term potentiation. *Neuron*, *8*, 211-216.
- Iga, Y., Yoshioka, M., Togashi, H., and Saito, H. (1993). Inhibitory action of N-omega-nitro-L-arginine methyl ester on in vivo long-term potentiation in the rat dentate gyrus. *Eur. J. Pharmacol.*, *238*, 395-398.
- Ishida, Y., Yamamoto, R., and Mitsuyama, Y. (1994). Effects of L- and D-enantiomers of N-nitro-arginine on NMDA-evoked striatal dopamine overflow. *Brain Res. Bull.*, *34*, 483.
- Kalivas, P. W., and Alesdatter, J. E. (1993). Involvement of N-methyl-D-aspartate receptor stimulation in the ventral tegmental area and amygdala in behavioral sensitization to cocaine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, *267*, 486.
- Kalivas, P. W., and Duffy, P. (1990). The effect of acute and daily cocaine treatment on extra-cellular dopamine in the nucleus accumbens. *Synapse*, *5*, 48-58.
- Kamata, K., and Rebec, G. V. Long-term amphetamine treatment attenuates or reverses the depression of neuronal activity produced by dopamine agonists in the ventral tegmental area. *Life Sci*, *34*, 2319-2427.
- Karler, R., Calder, L. D., Chaudhry, I. A., and Turkkanis, S. A. (1989). Blockade of 'reverse tolerance' to cocaine and amphetamine by MK-801. *Life Sci*, *45*, 599.
- Karler, R., Chaudhry, I. A., Calder, L. D., and Turkkanis, S. A. (1990). Amphetamine behavioral sensitization and the excitatory amino acids. *Brain Res*, *537*, 76-82.
- Ksir, C. J., Hakan, R. L., and Kellar, K. J. (1987). Chronic nicotine and locomotor activity: influences of exposure dose and test dose. *Psychopharmacology*, *92*, 25-29.
- Kuczenski, R. and Leith, N. J. (1981). *Pharmacol Biochem Behav.*, *15*, 405-413.
- Lichtensteiger, W., Hifti, F., Felix, D., Huwyler, T., Melamed, E., and Schlumpf, M. (1982). Stimulation of nigrostriatal dopamine neurons by nicotine. *Neuropharmacology*, *21*, 963-968.
- Lonart, G., Cassels, K. L., and Johnson, K. M. (1993). Nitric oxide induces calcium-dependent ³H] dopamine release from striatal slices. *J. Neurosci. Res.*, *35*, 192.
- Marks, M. J., Stitzel, J. A., and Collins, A. C. (1985). Time course study of the effects of chronic nicotine infusion on drug response and brain receptors. *J. Pharmacol.*

- Exp. Ther.*, 235, 619-628.
- Martin-Iverson, M. T., Leclere, J.-F., and Fibiger, H. C. (1983). Cholinergic-dopaminergic interactions and the mechanisms of action of antidepressants. *Eur. J. Pharmacol.*, 94, 193.
- Mifsud, J. C., Hernandez, L., and Hoebel, F. G. (1989). Nicotine infused into the nucleus accumbens increases synaptic dopamine as measured by in vivo microdialysis. *Brain Res.*, 478, 365-367.
- Morris, R. G. M., Davis, S., and Butcher, S. P. (1990). Hippocampal synaptic plasticity and NMDA receptors: a role for information storage?, *Phil. Trans R. Soc. London*, 329, 187.
- Museo, E., and Wise, R. A. (1990). Microinjections of nicotine agonist into dopamine terminal fields: effects on locomotion. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 37, 113-116.
- O'Dell, T. J., Hawkins, R. D., Kandel, E. R., and O. Arancio. (1991). Test of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 11285.
- Ohno, M. and Watanabe, S. (1994). Nitric oxide synthase inhibitors block behavioral sensitization to methamphetamine in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 275, 39-44.
- Parreno, A., Saraza, M. L., and Subero, C. (1985). A new stabilimeter for small laboratory animals. *Physiol. Behav.*, Mar;34(3), 475-8.
- Petit, H. O., Pan, H. T., Parsons, L. H., and Justice, J. B. (1990). Extracellular concentration of cocaine and dopamine are enhanced during chronic cocaine administration. *J. Neurochem.*, 55, 798-804.
- Post, R. M., Weiss, S. R., Fontana, D. and Pert, A. (1992). Conditioned sensitization to the psychomotor stimulant cocaine. *In P.W.*
- Pudlak, C. M., and Bozarth, M. A. (1993). L-NAME and MK-801 attenuate sensitization to the locomotor-stimulating effect of cocaine. *Life Sci.*, 53, 1517.
- Rapier, C., Lunt, G. G., and Wonnacut, S. (1988). Stereoselective nicotine-induced release of dopamine from striata synaptosomes: Concentration dependence and repetitive stimulation. *J. Neurochem.*, 50, 1123-1130.
- Reavill, C., and Stoleran, I. P. (1990). Locomotor activity in rats after administration of nicotine agonists intracerebrally. *Br. J. Pharmacol.*, 99, 273-278.
- Robinson, T. E., and Becker, J. B. (1982). Behavioral sensitization is accompanied by an enhancement in amphetamine-stimulated dopamine release from striatal tissue in vitro. *Eur. J. Pharmacol.*, 85, 253-254.
- Robinson, T. E., and Becker, J. B. (1986). Enduring changes in brain and behaviour produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Res. Rev.*, 396, 157-198.
- Schenk, S., Snow, S., and Horgler, B. A. (1991). Pre-exposure to amphetamine but not nicotine sensitizes rats to the motor activating effect of cocaine. *Psychopharmacology*, 103, 62-66.
- Schenk, S., Valadez, C., McNamara, D. T., House, D. T., Higley, D., Bankson, M. G. Gibbs, S., and Horgler, B. A. (1993). Development and expression of sensitization to cocaine's reinforcing properties: role of NMDA receptors. *Psychopharmacology*, 111, 332-338.
- Schman, E. M., and Madison, D. V. (1991). A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. *Science*, 254, 1503.
- Schwartz, R. D., and Keller, K. J. (1985). In vivo regulation of (3H)acetyl choline recognition sites in brain by nicotinic cholinergic drugs. *J. Neurochem.*, 45, 427-433.
- Shoaib, M., and Stoleran, I. P. (1992). MK-801 attenuates behavioral adaptation to chronic nicotine administration in rats. *Br. J. Pharmacol.*, 105, 514-515.
- Shoaib, M., Schindler, C. W., Goldberg, S. R., and Pauly, J. R. (1997). Behavioral and biochemical adaptations to nicotine in rats: influence of MK801, an NMDA receptor antagonist. *Psychopharmacology*, 134, 121-130.
- Snyder, S. H., and Bredt, D. S. (1991). Nitric oxide as a neuronal messenger. *Trends Pharmacol. Sci.*, 12, 125.
- Stewart, J., Deschamps, S.-E., and Amir, S. (1994). Inhibition of nitric oxide synthase does not block the development

- of sensitization to the behavioral activating effects of amphetamine. *Brain Res*, 641, 141.
- Tiseo, P. J., and Inturrisi, C. E. (1993). Attenuation and reversal of morphine tolerance by the competitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, LY274614. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 264, 1090.
- Trujillo, K. A., and Akill, H. (1991). Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Science*, 251, 85.
- Vale, A. L., and Balfour, D. J. K. (1988). Studies on the role of brain dopamine system in the psychostimulant response to nicotine. *Br. J. Pharmacol.*, 94, 373.
- Wolf, M. E., and Khansa, M. R. (1991). Repeated administration of MK-801 produces sensitization to its own locomotor stimulant effects but blocks sensitization to amphetamine. *Brain Res*, 562, 164.
- Zhu, X.-Z., and Luo, L.-G. (1992). Effect of nitroprusside(nitricoxide) on endogenous dopamine release from rat striatal slices. *J. Neurochem*, 59, 932.

사 의

본 연구 수행에 많은 도움을 준 삼성의료원의 백진영 연구원과 고려대학교 심리학과 김상희에게 심심한 감사의 말씀을 드린다.

The Roles of NMDA antagonist, MK-801 and nitric oxide synthase inhibitor, L-NAME in behavioral sensitization induced by repeated administration of nicotine

Youngho Kim¹, Insup Shim², Sangeun Kim³, Hyunteak Kim¹

¹Dept. of Psychology, Korea University,

²Kyunghee Graduate School of East-West Medicine,

³Medical School of Sungkyunkwan University

Repeated intermittent administration of psychostimulants produces an enhancement of the subsequent behavioral effects of these drugs. This behavioral sensitization has been implicated in maintenance of and relapse to drug-taking, there has been great interest in elucidating the mechanisms underlying both the development and expression of behavioral sensitization. An accumulation of data from studies of stimulant-induced locomotor activity and stereotypy has implicated excitatory amino acids and nitric oxide(NO) in the development and expression of behavioral sensitization. The present study examined the effects of non-competitive NMDA receptor antagonist, MK-801 and nitric oxide synthase inhibitor, N^G-nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME) on behavioral sensitization induced by repeated administration of nicotine. Repeated administration of nicotine(0.4mg/kg, s.c.) twice daily for consecutive days result in an augmentation of the locomotor and stereotypy activating effect of nicotine(0.4mg/kg, s.c.) challenged 3 days after last injection. Administration of the NMDA receptor antagonist, MK-801(0.3mg/kg, i.p.) and nitric oxide inhibitor, L-NAME(75mg/kg, i.p.), before daily nicotine injections, attenuated the development of behavioral sensitization to subsequent nicotine challenge. Whereas, administration of MK-801(0.3mg/kg, i.p.) and L-NAME (75mg/kg, i.p.) twice daily for withdrawal periods of 3 days ensuing after chronic nicotine treatment periods of 7 days results in different consequences. MK-801 attenuated the expression of behavioral sensitization to nicotine, but L-NAME did not significantly reduce activity scores. These results suggest that NMDA receptor is involved in the expression as well as development of behavioral sensitization to nicotine, and that nitric oxide synthesis is involved in the development of behavioral sensitization to nicotine but not critically involved in expression of behavioral sensitization to nicotine. However, nitric oxide synthesis may have a modulatory role in expression of behavioral sensitization to nicotine. In addition, behavioral sensitization is thought to be mediated by changes in central dopaminergic systems. Accordingly, NMDA receptor and nitric oxide may influence on these changes similar to proposed role of nitric oxide and NMDA receptor in cellular adaptation and learning.