

## 황련이 반복적인 코카인 투여로 인한 보행성 활동량과 c-Fos 발현에 미치는 효과\*

이 봄 비 함 대 현 이 혜 정 심 인 섭

경희대학교 동서의학대학원 한의과학과

중뇌변연 도파민계(mesolimbic dopaminergic system)는 코카인에 의한 강화작용 및 보상기능에 중요한 역할을 한다. 반복적으로 코카인을 투여하였을 때, 보행성 활동량 및 도파민계의 표적영역인 측핵과 선조체에서의 c-Fos 발현이 증가하였다. 생약제재인 황련은 중추신경계에 작용하여 신체의 변화를 유지시켜 주며, 진정작용을 통해서 정신불안증의 치료제에도 사용되고 있다. 본 연구에서는 황련이 반복적인 코카인투여로 인한 강화작용과 중독에 따른 행동 및 신경면역학적으로 어떠한 영향을 미치는지를 보고자, 반복적으로 코카인을 투여한 쥐에서 약물 중독의 지표로 사용되고 있는 행동적 민감화 및 c-Fos 발현의 변화 등을 관찰하였다. 10일 동안 반복적으로 흰 쥐에 cocaine hydrochloride(15mg/kg, i.p.)를 투여하기 30분전에 황련(*Capitidis Rhizoma*, 200mg/kg, p.o.)을 처치하였다. 코카인투여 후 행동의 변화는 매일 1시간 동안 측정하였으며, 3일 동안의 약물철회기간(withdrawal)을 거친 다음, 14일째 코카인의 재노출(challenge)에 의한 행동적 민감화 현상을 보았다. 반복적으로 코카인을 투여하였을 때, 보행성 활동량 및 초기 유전자인 c-Fos 등의 발현은 유의하게 증가하였다. 그러나 코카인을 투여하기 전, 황련을 처치한 결과 이들의 지표는 대조군과는 달리 유의하게 감소하였다. 본 연구에서는 황련이 중뇌변연계의 표적부위인 측핵과 선조체에서 강화작용 및 보상작용의 주요 신경전달물질인 도파민의 작용을 억제시키므로, 보행성 활동량 및 신경활성의 지표인 c-Fos의 발현을 감소시키는데 효과가 있으며, 이는 코카인과 같은 중독성 약물의 치료제로서의 가능성을 시사한다.

\* 본 연구는 과학재단 BK21 Project의 지원으로 수행되었음.

† 교신저자 : 심 인 섭 / 449-701 경기도 용인시 기흥읍 서천1리 경희대학교 동서의학대학원 한의과학과 / ishim@khu.ac.kr

과학문명의 발달과 급진하는 경제사회에 따른 현대인들의 잇따른 스트레스로 인해 약물중독은 가장 중요한 사회문제중의 하나이다. 마약과 같은 중독성 약물의 사용은 불법이며, 약물 남용자에 대한 처우가 법적 통제위주로 이루어지기 때문에 약물중독자의 정확한 파악은 이루어지지 않지만, 현재 우리사회의 약물중독자는 증가하고 있고, 또한 여성 및 청소년들의 약물 사용자가 늘어가고 있는 추세이다. 또한 중독성 약물에 따른 약물 중독은 세계적으로 가장 심각한 정신 질환중의 하나로서, 중독성 약물에 대한 치료제의 개발은 시급한 현실이다.

코카인과 같은 중독성 약물들은 반복적인 투여로 인하여 약물처치에 따른 보행성 활동량이 증가한다(Zavala, Nazarian, Crawford, & Mcdougall, 2000). 또한 이러한 보행성 활동량은 행동적 민감화 현상을 보이는데, 이러한 행동적 민감화 (behavioral sensitization)란 적은 양의 중독성 약물을 반복적, 간헐적으로 투여하면 보행성 활동량 (locomotor activity)과 상동적 활동량(stereotypic activity)이 점진적으로 증가하는 현상을 말한다. 행동적 민감화는 활동량이 점진적으로 증가하는 발달(development)단계와 증가된 활동량이 장기간 유지되는 상태인 발현(expression)단계로 구분되며 (Karlter, Chaudhry, Calder, & Turkanis, 1990), 이상의 행동적 민감화는 약물중독의 지표로 사용되고 있다. 코카인은 강화효과를 통하여 탐닉현상이 생기는데, 이러한 행동적 민감화에 영향을 주는 요인은 도파민(dopamine, DA) 신경전달계의 활성화인데, 특히 코카인 투여로 인한 보상 및 강화작용은 복측피개아(VTA)에서 기시하는 A10신경이 측핵으로 투사되는 중뇌 변연계가 중요한 역할을 맡고 있다고 알려져 있다(Einhorn, Johansen, & White, 1988).

최근의 연구들을 보면 코카인의 투여로 인한

여 신경활성도를 측정된 결과, 약물 중독과 관련이 있는 측핵 및 선조체 등의 도파민성 신경세포의 투사부위에서 신경활성의 지표라고 알려진 immediate early gene인 *c-fos*의 단백질 *c-Fos*발현이 증가되었다는 보고가 있다(Robertson, Paul, Moratalla, & Graybiel, 1991). 또한 실험동물에 반복적으로 D1 receptor agonist인 SKF-38393를 투여한 경우, 보행성 활동량과 신경활성도의 지표인 *c-Fos*의 발현이 증가되었다(Sally, Shawn, Mdgorzata, & David, 2000). In vivo 미세투석법(microdialysis)를 이용하여 관찰한 실험에서 약물 중독과 관련있는 부위인 선조체 및 측핵에서 코카인 투여로 인한 DA의 농도는 현저하게 증가하였으며 (Pontieri, Tanda, & Dichiaro, 1995), 이는 또한 보행성 활동량이 증가를 보임으로써, 생화학적인 측면인 DA와 행동학적인 측면인 보행성 활동량이 깊은 관련이 있다는 실험적인 증거를 제시하였다 (Kuczenski, Segal, & Aizenstein, 1991).

한편, 생약제재 및 천연물은 오래 전부터 중국에서 쓰여 졌으며, 그 대부분이 식물성이다. 이러한 생약제재는 여러 방면에서 치료제로 사용되고 있으며, 효과가 복합적이며, 부작용이 적다. 이는 부성분이 공존하기 때문에 유효성분의 흡수가 완화하며 따라서 작용이 지속적인 장점을 가지고 있다. 한약제재중의 하나인 황련은 건위·소염·항균 등의 효능이 있어 소화불량, 위염, 장염, 복통, 구토, 이질, 심계(心悸), 번열(煩熱), 인후종통(咽喉腫痛), 토혈, 코피, 하혈, 화상 등의 치료에 처방한다. 또한 황련은 진정작용을 가지고 있어서 정신불안증의 치료에도 사용되고 있는 약제이다. 따라서 황련이 진정작용과 정신불안에 효과가 있음을 비추어 약물 중독으로 인한 행동적 변동과 중추신경계에 영향을 미칠 것으로 기대된다.

따라서 우리는 본 연구에서 코카인의 중독에

의한 행동적 민감화에 미치는 황련의 효과를 알아보려고 하였으며, 동시에 코카인에 의한 뇌의 활성도에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 하였다.

## 방 법

### 실험동물

실험동물은 삼육동물센터로부터 구입한 웅성 Sprague Dawley계 흰쥐(260~300g)로, 일주일 정도 실험실 환경(온도는  $22 \pm 3^\circ\text{C}$ , 습도는  $50 \pm 10\%$ )에 적응시킨 후 사용하였다. 실험동물은 각 cage 당 3~4 마리씩 넣어 두었으며, 물과 사료(고형사료: 실험동물 쥐용, 삼양유지(株))를 자유로이 섭취하도록 하였다.

### 시료제조

황련은 시중건재상에서 구입, 엄선하여 사용하였으며, 코카인(cocaine, Sigma)은 표준품을 사용하였다. 황련 500g을 정확히 평량한 후, 수목상에서 85% 메탄올을 사용하여 3회 추출하였으며, 추출물을 감압 농축한 후, 그 추출물을 동결건조( $-66^\circ\text{C}$ , 10mmHg)시켜 분말 건조하였다. 건조시켜 얻은 황련은 123g으로써, 수율은 26.47%였다.

### 실험절차

실험동물을 동물실에서 행동 측정이 가능한 조건인 실험실로 옮겨 집단별로 8개의 활동량 측정상자에 개별적으로 넣었다. 측정상자에서 60분간의 적응시간을 거친 다음, 60분 동안 동물의 안정시의 보행성 활동량을 측정하였다. 1 시간

동안 안정시의 활동량 측정을 거친 동물은 코카인(15 mg/kg, i.p.)을 투여하기 30 분전에 황련(200 mg/kg, p.o.)을 투여하여 몸 안에서 충분히 한약재가 흡수되도록 처치하였다. 약물 처치 후의 보행성 활동량을 1시간 동안 측정하였다. 이러한 과정을 10일 동안 반복 처치하여 발달과정에서 황련의 효과를 알아보려고 하였다. 보행성 활동량 측정은 매일 동일한 시간에 한 번 측정되었으며, 10일 동안의 발달과정을 거친 동물은 3일 동안의 약물 철회 기간을 거친 다음, 14일째 동일한 조건에서 코카인을 재투여하여 행동적 민감화에 대한 보행성 활동량을 측정하였다. 실험 동물은 각 군마다 6~8마리씩 배정하여 다음과 같이 3개의 군으로 나누었다.

① Saline(n=6) 군: 흰쥐에게 생리식염수(1cc/1kg, p.o.)를 10일 동안 투여한 후, 3일 동안의 철회 기간을 거친 다음, 14일째 다시 생리식염수에 재 노출시킨 군.

② Cocaine(n=8) 군: 흰쥐에게 코카인(15mg/kg, i.p.) 투여 30분전에 생리식염수(1 cc/1kg, p.o.)를 위와 동일한 방법으로 투여한 군.

③ *Coptidis Rhizoma* (n=8) 군: 흰쥐에 코카인(15mg/kg, i.p.) 투여 30분 전에 황련(200mg/kg, p.o.)을 위와 동일한 방법으로 투여한 군.

### 행동측정장치

실험동물의 보행성 활동량을 측정하기 위하여, 본 연구에서는 videotracking을 이용하여 S-MART (Panlab, Spain) program 으로 분석하였다. 측정 상자는 가로, 세로, 높이가 각각  $26 \times 30 \times 45$  cm의 크기로 이루어진 검은 색 아크릴 상자에서 실험 동물의 움직임을 상자 위에 설치된 digital camera 를 사용하여 videotracking 방법으로 측정하였다. 실험동물의 움직인 거리를 데이터화하여 정량화

하였다.

### 면역조직화학법

#### (Fos-like immunohisto-chemistry)

마지막 14일째 행동실험이 끝난 쥐를 sodium pentobarbital(80mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후, 0.9% saline 200ml에 이어 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 용액 1000ml로 심장을 통해 관류하였다.

고정액의 처음 300ml은 2분간, 나머지 700ml은 25분간에 걸쳐 관류하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2시간 후고정시키고, 20% sucrose가 함유된 phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 4℃에서 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌 조직을 30 $\mu$ m의 크기로 잘랐다. PBS로 조직을 몇 차례 씻고, Fos expression 연구에 가장 널리 사용되는 primary sheep Fos-antibody (Cambridge Research Biochemicals, Wilmington, DE)에 담구었다. Primary antibody는 0.3% Triton-X100 (PBST)에서 2% normal rabbit serum과 0.001% kehole limpit hemocyanin(Sigma)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 rabbit serum을 함유하는 PBST에서 200배로 희석한 biotinylated rabbit anti-sheep serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 반응시켰다. 다시 PBST로 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 1시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent(Vector)에 담구어 반응시켰다. PBST로 몇 번 행군 다음 뇌 조직을 착색제인 diaminobenzidine을 사용하여 발색시켰다. 발색이 끝난 조직은 gelatine coated slide에 얹어서 2시간동안 실온에서 건조시킨 후, xylene으로 투명화 시켜 polymount로 봉입하였다. 뇌 조직의 각 부위는 염색성들을 광학현미경으로 관찰하고 사

진을 촬영하였다. 뇌의 각 부위의 위치와 명칭은 Franklin과 Paxinos의 부도를 참고하였다. 현상된 사진에서 격자(2×2cm)를 이용하여 동일한 지역에서 일정한 영역에 반응되어 나타난 염색성의 정도를 counting하였다.

### 통계처리

행동 실험결과에 대한 통계분석은 repeated ANOVA로 분석하였으며, 사후 검정은 Tukey test를 통해 검증하였고, 또한 c-Fos cell 결과는 one-way ANOVA로 분석하였으며, 사후 검정은 Tukey test를 통해 검증하였다.

## 결 과

### 반복적인 코카인 투여로 인한 보행성 활동량의 결과

생리식염수 처치군군은 처음 생리식염수를 투여한 1일째의 보행성 활동량이  $2869.2 \pm 473.6$ 였으며, 생리식염수를 반복 처치한 후, 10일째의 활동량은  $1576.2 \pm 251.8$ 였다. 또한 3일간의 철회기간을 거친 다음, 14일째의 생리식염수 재투여시 활동량이  $2500 \pm 274.0$ 으로 보행성 활동량에 별 차이를 보이지 않았다( $F(2,8)=3.668, p>0.05$ )(그림1,2,4). 코카인 처치군은 처음 코카인을 투여한 1일째의 보행성 활동량이  $6013.4 \pm 1330.1$ 였다. 10일 동안 반복되는 코카인 투여에 의한 보행성 활동량을 측정된 결과, 활동량이  $8465.6 \pm 942.5$ 였다. 3일간의 철회 기간을 거친 다음, 14일째 코카인에 재노출했을 때 보행성 활동량은  $9484.9 \pm 1044.5$ 으로 행동적 민감화 현상을 보였다( $F(2,14)=2.258, P<0.05$ ). 그러나 코카인 투여 30분전에 황련을 투여한 집단의 경우, 1일째의 보행성 활

이봄비 등 / 황련이 반복적인 코카인 투여로 인한 보행성 활동량과 c-Fos 발현에 미치는 효과

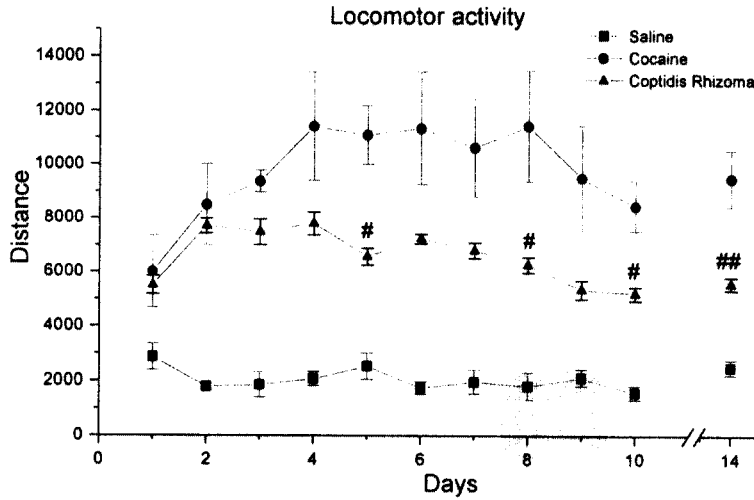


그림 1. 황련이 반복적인 코카인 투여로 인한 보행성 활동량에 미치는 효과 (Mean  $\pm$  S.E.M) #=Cocaine group과의 차이: #,  $P<0.05$ , ##,  $P<0.01$ .

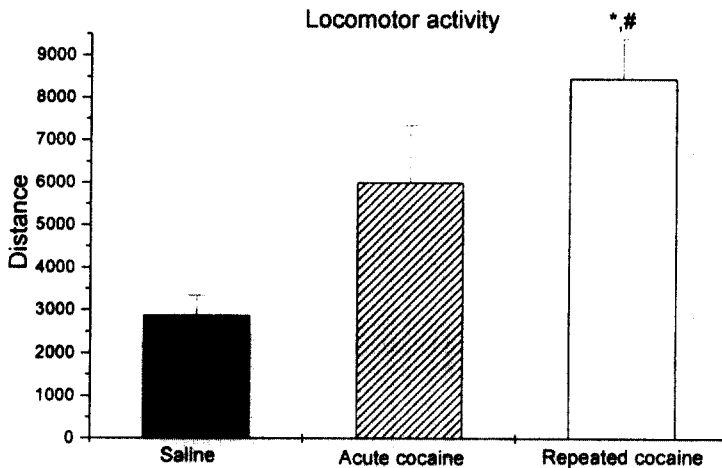


그림 2. 급성 코카인 투여로 인한 보행성 활동량에 미치는 황련의 효과 (Mean  $\pm$  S.E.M.) \*=Cocaine group과의 차이: \*,  $P<0.05$ ; #=Cocaine group과의 차이: #,  $P<0.05$ .

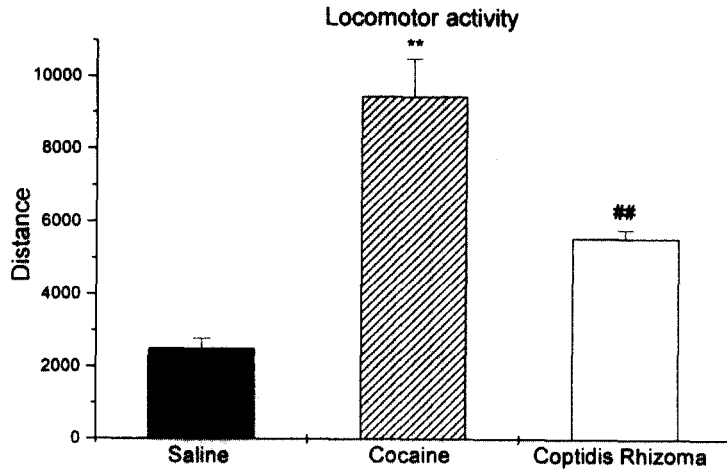


그림 3. 반복적인 코카인 투여로 인한 보행성 활동량의 발현과정에 미치는 황련의 효과(Mean±S.E.M for total 2hr). \*=Cocaine group과의 차이: \*\*, P<0.01; #=Cocaine group과의 차이: ##, P<0.01.

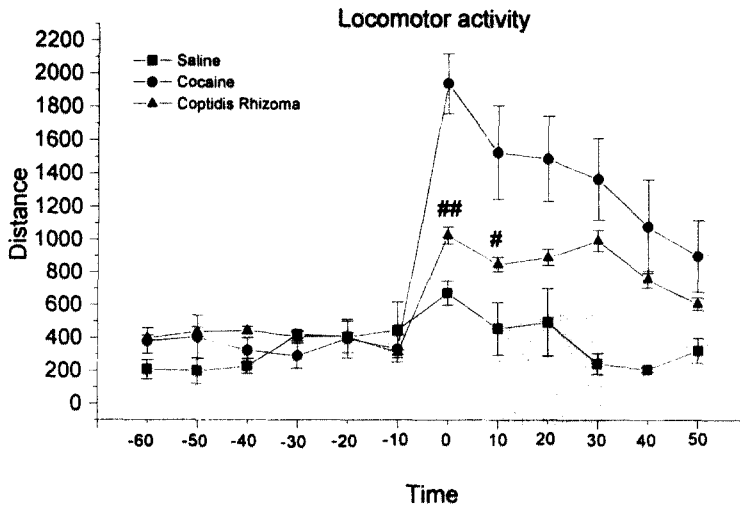


그림 4. 시간별 반복적인 코카인 투여로 인한 보행성 활동량의 발현과정에 미치는 황련 효과 (Mean±S.E.M). #=Cocaine group과의 차이: #, P<0.05, ##, P<0.01.

이봄비 등 / 황련이 반복적인 코카인 투여로 인한 보행성 활동량과 c-Fos 발현에 미치는 효과

그림 5. Photographs showing Fos-like-immunoreactivity neurons in the striatum of Saline(A), Cocaine(B), and Coptidis Rhizoma(C).

그림 6. Photographs showing Fos-like-immunoreactive neurons in the core of the nucleus accumbens of Saline(A), Cocaine(B), and Coptidis Rhizoma(C).

그림 7. Photographs showing Fos-like-immunoreactivity neurons in the shell of Saline(A), Cocaine(B), and Coptidis Rhizoma(C).

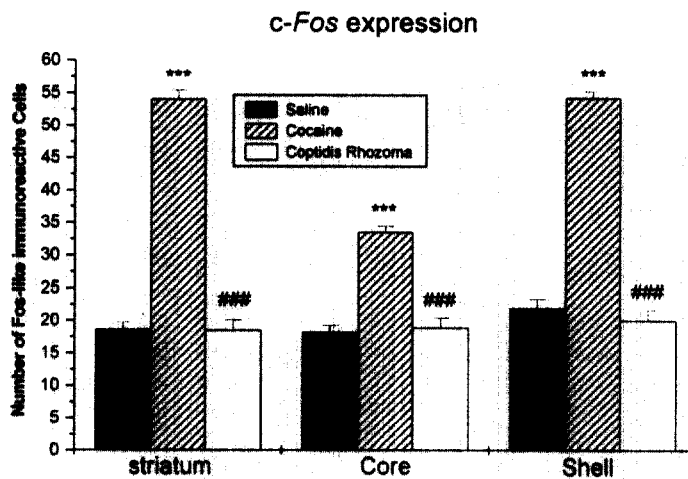


그림 8. 황련이 반복적인 코카인 투여로 인한 c-Fos 발현에 미치는 효과 (Mean±S.E.M of total number of Fos immunoreactivity neurons). \* =Cocaine group과의 차이: \*\*\*, P<0.001; # =Cocaine group과의 차이: ###, P<0.001.



동량이  $5510.1 \pm 337.7$ 였으며, 반복적인 황련의 투여 후, 10일째의 활동량은  $5210 \pm 251.2$ 였으며, 3일간 철회기간을 거친 다음 14일째의 보행성 활동량은  $5577.0 \pm 234.5$ 으로 반복적인 코카인 투여에 대한 보행성 활동량에 별 차이를 보이지 않았다( $F(2,23)=0.061$ ,  $p>0.05$ ). 그러므로 10일 동안 황련을 투여한 군의 경우 코카인 군에 대해 보행성 활동량이 유의한 감소를 보여 주었으며( $F(2,13)=5.262$ ,  $p<0.05$ ), 3일 동안의 철회기간을 거친 다음, 14일째의 코카인에 재노출된 행동적 민감화 현상에서도 유의적인 감소를 보였다( $F(2,13)=4.78$ ,  $p<0.05$ ).

14일째의 보행성 활동량을 10분 단위로 하여 활동량의 변화를 관찰한 결과, 행동적민감화 반응을 보이는 코카인 투여군의 경우, 정상군에 비해 시간에 따른 유의적인 증가를 보였다. 또한 황련을 투여한 군의 경우, 코카인 군과 비교하였을 때, 감소함을 보여 주었다( $F(2,13)=6.044$ ,  $P<0.05$ )(그림 3과 4).

### 반복적인 코카인 투여로 인한 c-Fos expression의 결과

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

먼저 선조체 부위에서는 생리식염수 처치군은  $18.63 \pm 1.10$ 였으며, 코카인 투여군은  $54.13 \pm 1.30$ 였다. 코카인 투여 30분전에 황련을 처치한 군의 경우  $18.50 \pm 1.59$ 로 유의하게 감소함을 보여주었다( $F(2,23)=232.39$ ,  $p<0.001$ ). c-Fos 발현의 측핵의 core 부위에서는 생리식염수 처치군은  $18.25 \pm 0.96$ 였으며, 코카인 투여군은  $33.62 \pm 0.86$ 였으며, 황련을 처치한 군의 경우  $18.88 \pm 1.57$ 로 코카인 투여군에 대하여 유의한 감소함을 보였다( $F(2,23)$

$=54.77$ ,  $p<0.001$ ). 다음으로 측핵의 shell 부위에서는 생리식염수 처치군은  $22.0 \pm 1.36$ 였으며, 코카인 투여군의 경우  $54.38 \pm 0.96$ 였으며, 황련을 처치한 군의 경우  $20.0 \pm 1.70$ 으로 코카인 투여군에 대하여 유의한 감소를 보였다( $F(2,23)=194.31$ ,  $p<0.001$ )(그림 5-8).

## 논 의

본 실험에서는 반복적인 코카인 처치로 인한 행동적 민감화 현상을 성공적으로 유도하고, 또한 코카인 처치 30분전에 생약제재인 황련을 투여하여 3일 동안의 철회기간을 거친 후, 행동적 민감화 현상의 발현에 미치는 효과를 보았다. 약물 중독 모델을 만들기 위하여 10일간 반복적으로 15mg/kg의 코카인을 복강투여 하였다. 보행성 활동량에서 생리식염수(saline)를 반복 처치한 군은 처치 후 한 시간 동안, 보행성 활동량이 동물의 자발적인 행동을 배제하고는 행동의 변화에 별 차이를 보이지 않았다. 하지만 코카인에 처음 급성으로 노출되었을 경우, 약물 처치 후, 한 시간 동안 보행성 활동량이 생리식염수를 처치 받은 군보다 급격히 증가하였으며, 약물 중독모델인 반복적으로 코카인에 노출된 경우, 생리식염수 처치군과 코카인 급성 처치군에 대해서 보행성 활동량이 점진적으로 증가함을 보임으로써, 행동적 민감화 현상에서 발달단계가 성공적으로 유도되었음을 보였다. 또한 10일 동안 반복적으로 코카인에 노출된 후, 3일 동안의 약물 철회기간을 거친 후, 14일째 같은 용량의 코카인에 재노출 되었을 경우, 발달단계보다 더 높은 수치를 보임으로써, 행동적 민감화 현상의 발현단계가 성공적으로 유도됨을 보였다. 이에 대해 10일 동안 코카인을 반복 처치하기 30분전에 황련을

처치한 군은 14일째 같은 용량의 코카인을 재투여 하였을 경우, 보행성 활동량이 유의하게 감소하였다. 이로써 행동적 민감화 현상의 발현을 억제하는 현상을 보여줌으로써 한약제재인 황련이 코카인의 약물 중독 치료에 효과가 있음을 제시하였다.

코카인은 약리학적으로 심박출량을 증가시키고, 혈압을 상승시키며, 말초혈관을 수축시키는 등의 심혈관계 질환을 주로 야기하며(Foltin, & Fischman, 1988), 또한 중추신경계에서 신경전달물질 중의 하나인 도파민의 방출을 증가시키므로 약물 중독의 발병 인자를 제공한다(Dismukes, & Mulder, 1977). 이러한 약물 중독은 하나의 정신적인 문제로서, 신경화학적으로 측핵과 선조체 부위에서 도파민의 과도한 방출에 기인한다는 사실이 보고된 바 있다(Kreek, 1996). 이러한 약물중독을 한의학적인 관점에서 볼 때, 한의학에서 말하는 “火”의 개념과 비슷하며, 이와 같은 관점으로 접근할 필요가 있다.

『內經』에서 病機條에 질병의 발생 기전으로 “火”에 대한 언급이 많이 있다. “諸熱瘈瘲皆屬於火”, “諸禁鼓慄如喪神守皆屬於火”, “諸病浮腫痛酸驚駭皆屬於火”, “諸逆衝上皆屬於火”, “諸躁狂越皆屬於火”로써 “火”에 대하여 언급하고 있는데, 이는 마음이 불안하고 급하여 정신에 이상이 생기기 미친 듯이 뛰어 다니는 현상이라고 정의하였다. 이는 중독성 약물을 반복 처치할 경우 나타나는 행동적인 측면과 매우 유사하다.

황련은 최초의 본초서인 <神農本草經> 상품에 味苦寒 主熱氣目通紫像泣出明目腸? 腹痛下痢婦人陰中腫通 久服令人不忘 一名玉連生川谷이라 기재된 이래(王鈞默, 王恒棻 輯著, 1988) 상한론(傷寒論)에서 심(心), 위경(胃經)에 귀경하는 방제로 처방되었으며(鄒潤安, 1977; 江蘇新醫學院編, 1982), 이후 입심(入心), 간(肝), 위

(胃), 대장(大腸)하여 청열조습 청심제번 사화해독약(淸熱燥濕 淸心際煩 裝火解毒) 하는 공능이 있어서(全國韓醫科大學 教授 共著, 1991; 辛民教, 1994), 역대 본초서에 수록되어 한방 임상에 중요하게 처방되는 약물중의 하나이다. 동의보감에서는 황련은 Ranunculaceae에 속하는 속근초로서 독이 없는 약제로서, 그 뿌리는 황색을 띠며, 주성분은 berberine으로 황련의 4~7%를 차지한다고 하였다. 그 외 성분으로는 plamatine, jutrorrhizine 등이 알려져 있으며, in vitro, in vivo 실험에서 아세틸콜린 증강작용, 평활근 이완작용, 해열, 항이노작용 등에 효과가 있다고 보고된 바 있다(Tang, & Eiesenbrand, 1992). 또한 황련은 기존에 중추신경억제작용, 진통 및 진정작용에 효과가 있으며, 열독 섬어 불면 소갈 복통 하리 등에 효능이 있다고 보고된 바 있다(Yamahara, 1976; 두호경, 과 박헌재, 1982).

일반적으로, 중독성 약물에 의한 행동적민감화 현상은 중추 신경세포에서 도파민이 담당하고 있으며, 그 표적 영역인 측핵과 선조체가 이를 담당하고 있다. 본 연구에서는 코카인 반복 투여로 인한 행동적 민감화 현상을 매개하는 신경학적 기전을 살펴보기 위하여 면역조직화학적 방법을 이용하여 proto-oncogene인 c-fos 발현의 정도를 통해 신경의 활성도를 측정하였다. 코카인을 반복적으로 주사하면 측핵 및 선조체 등에서 신경 활성 지표인 c-Fos의 발현이 증가된다(Heilig, Engel, & Soderpalm, 1993; Asin, Nikkel, Wirtshafter, 1994). 이에 코카인을 반복 처치함으로써 행동적 민감화로 인한 도파민의 방출과 관련된 기전에서 황련이 c-Fos의 발현을 유의적으로 억제시킴을 보여주었다. 이는 도파민성 신경세포의 활성화가 중뇌변연도파민계의 활성화를 통해서 행동적 민감화 현상을 일으킴을 의미한다. 특히 측핵은 각각 다른 기능을 수행하는 두 개의 주요한

부위로 나뉘는데, 해부학적으로 shell 부위는 편도체 중인 변연계의 주요 기능을 담당하고 있으며, 복내측선조체과 관련되어 약물탐닉의 motive에 영향을 주고 있으며, core부위는 운동성 기능을 조절하며, 배외측선조체와 관련되어 있다.

이상의 결과에서, 생약제재인 황련은 반복적인 코카인 투여로 인한 약물 중독 모델에서 보행성 활동량을 감소시키고, 신경활성 지표인 c-Fos 활성을 감소시키므로, 약물중독을 억제시키는 효과를 보여 주었다. 이로써 황련은 약물중독 치료제로써의 가능성을 시사한다.

### 결 론

반복적인 코카인 투여로 인한 약물 중독 모델에서 행동적 민감화 현상에 대한 생약제재인 황련의 효과를 알아보기 위하여 행동학적인 방법으로 보행성 활동량을 측정하였고, 면역조직화학 분석법을 이용하여 측핵과 선조체에 신경활성지표로 사용되는 c-Fos의 발현을 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

- (1) 10일 동안 반복적인 코카인(15mg/kg, i.p.)투여로 인하여 행동적 민감화의 단계인 발달의 단계를 성공적으로 유도하였으며, 3일 동안의 철회기간을 거친 후, 14일째 코카인에 재노출시 발현의 단계를 성공적으로 유도하였다.
- (2) 황련은 반복적인 코카인으로 인한 행동학적 민감화 현상에서 보행성 활동량이 유의하게 감소되었다.
- (3) 황련 처치는 코카인등 약물 중독과 관련이 있는 부위인 측핵과 선조체에서 c-Fos의 발현을 유의하게 억제하였다.

이상의 결과에서, 생약제재인 황련은 반복적인

코카인 투여로 인한 약물 중독 모델에서 보행성 활동량을 감소시키고, 신경활성을 감소시키므로, 약물중독에서의 치료제로서의 가능성을 시사한다.

### 참고문헌

두호경, 박헌재 (1982). A Pharmacological Study of Whangryonhaedokrang. *경희대논문집*, 12, 103-114.

辛民敦 (1994). 原色 本草學. p. 310, 永林社, 서울.

王鈞默, 王恒榮 (1988). 神農本草經校證. p.304, 吉林科學技術出版社, 1988.

全國韓醫科大學 本草學 教授 共著 (1991). 本草學. p. 180, 永林社, 서울.

鄒潤安 (1977). 本經疏證. p. 63, 風出版社, 北.

江蘇新醫學院編 (1982). 中藥大辭典. p.2022, 2661, 上海科學技術出版社, 上海.

Asin, K. E., Nikkel, A. L., & Wirtshafter, D. (1994) Repeated D1 receptor agonist treatment blocks cocaine-induced locomotor activity & c-Fos expression. *Brain Res*, 21, 637(1-2), 342-4.

Dismukes, K., & Mulder, A. H. (1977). Effects of neuroleptics on release of 3H-dopamine from slices of rat corpus striatum. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 14, 297(1), 23-9.

Einhorn, L. C., Johansen, D. A., & White, F. J. (1988). Electrophysiological effect of cocaine in the mesoaccumbens dopamine system: studies in the ventral tegmental area. *J Neurosci*, 8(1), 100-12.

Foltin, R. W., & Fischman, M. W. (1988). Ethanol and cocaine interactions in humans: cardiovascular consequences. *Pharmacol Biochem Behav*, 31(4),

- 877-83.
- Heilig, M., Engel, J.A., & Soderpalm, B. (1993). *c-fos* antisense in the nucleus accumbens blocks the locomotor stimulant action of cocaine. *Eur J Pharmacol*, 236(2), 339-40.
- Karler, R., Chaudhry, I. A., Calder, L. D., & Turkkanis, S.A. (1990). Amphetamine behavioral sensitization & the excitatory amino acids. *Brain Res*, 537, 76-82.
- Kreek, M.J. (1996). Opiates, opioids and addiction. *Mol Psychiatry*, 1(3), 232-54.
- Kuczenski, R., Segal, D. S., & Aizenstein, M. L. (1991). Amphetamine, cocaine, and fencamfamine: relationship between locomotor and stereotypy response profiles and caudate and accumbens dopamine dynamics. *J Neurosci*, 11(9), 2703-12.
- Pontieri, F. E., Tanda, G., & Di Chiara, G. (1995). Intravenous cocaine, morphin, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the "shell" as compared with the "core" of the rat nucleus accumbens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 12304-12308.
- Robertson, H. A., Paul, M. L., Moratalla, R., & Graybiel, A.M. (1991). Expression of the immediate early gene *c-fos* in basal ganglia: Induction by dopaminergic drugs. *Can J. Neurol. Sci*, 19, 380-383.
- Sally, A. F., Shawn, A. R., Mdgorzata, K., & David, J. K. (2000). Prenatal exposure of the dopamine agonist SKF-38393 disrupts the timing of the initial response of the suprachiasmatic nucleus to light. *Brain Research*, 858, 284-289.
- Tang, W., & Eiesenbrand, G. (1992). Chinese drugs of plant origin. 361-371. *Springer-Verlag, Berlin*.
- Yamahara, J. (1976). Central depressive action of coptidis rhizoma and its constituents. *Nipp. Yaku. Zas*, 899-908.
- Zavala, A. R., Nazarian, A., Crawford, C.A., & Mcdougall S. A. (2000). Cocaine-induced behavioral sensitization in the young rat. *Phycopharmacology(Berl)*, 151(2-3), 291-8.

## Effect of *Coptidis Rhizoma* on repeated cocaine-induced behavioral sensitization and Fos-like immunoreactivity in the brain of the rats

Bombae Lee    Daihyun Hahm    Hyejung Lee    Insup Shim

Oriental Medical Science, Graduate School of East-West Medical Science,  
Kyung Hee University

Substantial evidence suggests that behavioral and reinforcing effects of cocaine can be mediated by the mesolimbic dopaminergic system. Many studies have shown that *Coptidis Rhizoma* has a suppressive effect on the central nervous system (CNS) and can affect the neurotransmitter systems in the CNS. In order to investigate whether *Coptidis Rhizoma* has an influence on cocaine-induced reinforcement and behavioral sensitization, we examined the effect of *Coptidis Rhizoma* on repeated cocaine-induced locomotor activity and c-Fos expression in the nucleus accumbens and the striatum utilizing Fos-like immunohistochemistry method. Male SD rats received *Coptidis Rhizoma* (200mg/kg, p.o.) 30 min before injections of cocaine (15mg/kg, i.p.) for 10 days. Rats were followed withdrawal for 3 days and one challenge for 1 day. Systemic challenge with cocaine produced a much larger increase in locomotor activity and expression of c-Fos in the nucleus accumbens and the striatum. Pretreatment with *Coptidis Rhizoma* decreased in cocaine-induced locomotor activity and c-Fos expression. These results demonstrated that reduction in locomotor activity by *Coptidis Rhizoma* may be mediated by reduction of dopamine release and of postsynaptic neuronal activity in the nucleus accumbens. Our results suggest that *Coptidis Rhizoma* may have therapeutic effect on cocaine addiction.