

側坐核(Nucleus Accumbens Septi) 파괴가 Methamphetamine 의 작용에 미치는 영향

충남대학교 이과대학 약학과

이 순 철

= Abstract =

Changes in Behavior and the Effect of Chronic-methamphetamine Following Lesions of the Nucleus Accumbens Septi in Rats

Soon-Chul Lee

Department of Pharmacy, College of Sciences, Chungnam National University

The present study was undertaken to elucidate the characteristics in behavioral changes of chronic doses of methamphetamine on open-field activity in rats.

On the other hand, the nucleus accumbens septi(NAB), one of the major areas containing mesolimbic dopaminergic terminals, has been considered to be an important site of action for dopaminergic agonists. Therefore, it also designed to investigated influence of NAB lesions on behavioral effects of chronic-methamphetamine. Caudal and rostral areas of NAB(cr-NAB) were lesioned by applying DC of 3.0 mA for 15 sec., simultaneously.

The results were as follows:

- 1) The rats exhibited hyperactivity after chronic administration of methamphetamine
- 2) The cr-NAB-lesioned rats showed a significant increase in locomotor activity only at 2 days after NAB lesions
- 3) Methamphetamine-induced hyperactivity was significantly decreased in the NAB-lesioned rats, and stereotyped behavior was induced instead by the drug.
- 4) Dopamine content of striatum was significantly decreased and serotonin content of olfactory bulb was significantly increased in NAB-lesioned rats.

These results suggest that NAB plays an important role in locomotor activity and methamphetamine-induced hyperactivity.

서 론

側坐核(nucleus accumbens septi)은 終腦中の paralimbic system 에 속하며 해부학적으로는 側腦室의 腹

側前部, 中隔野 및 腹內側腺條體의 前部에 位置하고 있다. 한편 Ungerstedt¹⁾등에 의하면 側坐核은 嗅結節과 함께 中腦邊緣도파민系(mesolimbic dopamine system)의 終末部에 속한다. 이와같이 側坐核은 大腦邊緣系와 밀접한 線維連絡을 가지고 있으므로 情動行動에 重要な役割을 담당할 것으로 추측되어 저자는 이미 攻撃行動에 關여하는 側坐核의 역할을 일부 보고한 바 있다^{2,3)}.

* 본 연구는 일본 구주대학에서 일부 수행된 것이며 1983년도 과학재단 연구보조비에 의하여 이루어진 것임.

최근 側坐核이 amphetamine의 작용에 있어서 중요한 부위임이 보고되고 있다. 따라서 저자는 본 연구에 있어서 암페타민의 작용에 미치는 側坐核의 機能的 役割을 명확히 하고자 우선 側坐核破壞에 의한 일반행동의 變化 및 腦內아민의 變動을 檢討하고 이어서 側坐核破壞에 의한 amphetamine의 作用變化를 장기적으로 검토했다.

실험 방법

1) 側坐核 破壞手術

실험당시 체중 250 ± 50 g의 Wistar King A系 雄性 랫트를 사용하였으며 실험동물은 4마리씩 그룹으로 사육되었다. 랫트를 pentobarbital Na으로 마취하고 랫트용 Stereotaxic apparatus로 머리부분을 고정한 후 두개골을 치과용 드릴로 약 1.2 mm의 크기로 구멍을 내어 경막을 제거한 다음 König와 Klippel의 rat brain stereotaxic atlas에 의하여 표면을 피부절연한 스텐레스스틸선제의 단극성 전극을 목적부위에 삽입했다. 파괴는 삽입한 전극을 음극으로 하고 랫트의 몸체를 양극으로 하여 정전류장치에 의하여 3 mA의 직류를 15초간 통째주는 전기응고법에 의하여 양측성으로 행하였다. 파괴부위는 전반부[anterior(A): 9.6 mm, lateral(L): 1.0 mm, horizontal(H): -0.9 mm,

rostral NAB]와 후반부(A: 8.6 mm, L: 1.5 mm, H: -1.4 mm, caudal NAB)로 나누어 동시에 행하였다(cr-NAB 파괴). 뇌파괴수술 후 절개한 피부를 봉합하고 화농을 방지하기 위하여 procaine penicillin G 30만 단위를 1회 근육주사 하였다. 대조군은 동일조작으로 전극을 삽입한 채 전류를 통하지 않은 僞手術群(sham rat)으로 하였다. 실험을 마친 뒤 10% formalin액으로 두부혈관을 관류하여 뇌전체를 적출하고 50~60 μ m 두께의 빙결절편을 만들어서 cresyl violet로 염색 후 현미경하에서 조직학적으로 파괴부위를 확인했다.

2) 일반행동의 측정

일반행동의 측정에는 Hall의 open-field apparatus를 사용하였다. 사용한 약물은 d-methamphetamine hydrochloride(MA)로 0.9% saline에 용해하여 0.1ml/100g이 되도록 투여용량을 조절하였으며 피하로 투여하였다. 약물농도는 1회투여에 의하여 현저한 자발운동만을 상승시키는 3 mg/kg으로 하였다. 약물은 매일 1회씩 20일간 오전중에 투여되었다. 대조군은 0.9% saline 용액을 0.1 ml/100g의 용량으로 투여하였다. 자발운동량(locomotor activity)은 실험동물을 장치의 밀면중심부에 조용히 놓은 후 3분동안 밀면의 구획을 횡단하는 횟수를 측정하였으며 동시에 탐색행동(re-

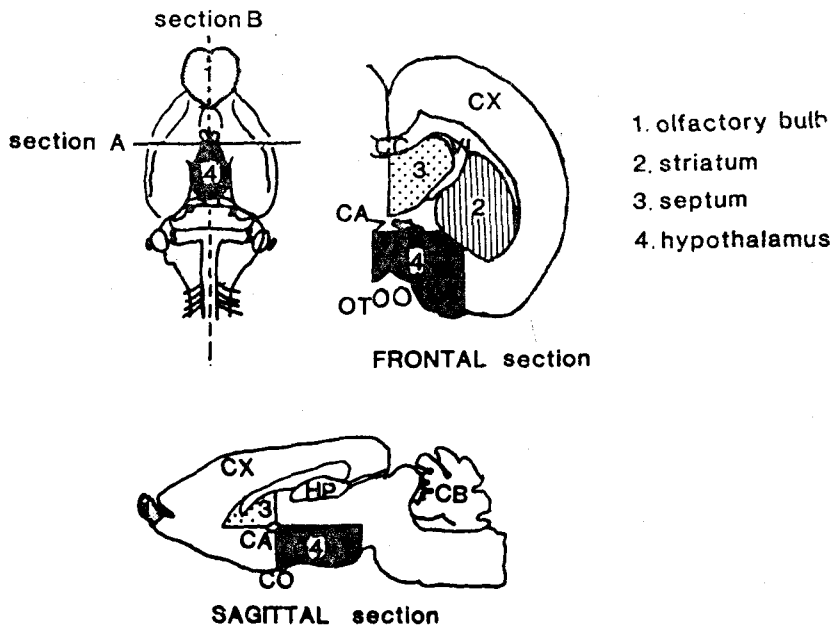


Fig. 1. Brain section in nucleus accumbens septi-lesioned rats.

ring)도 관찰하였다.

3) 뇌중아민의 정량

(1) 뇌조직의 분리채취

수술 후 7일째의 오전 10시부터 12시 사이에 키로친을 이용하여 랫트의 귀뒷부분을 단두했다. 두개골을 열고 뇌전체를 주의깊게 적출해서 0.1% HCl로 세척하고 얼음위에 준비한 여지위에 옮겨서 경막과 송과체를 제거한 후 10초간 액체질소에서 고정하여 Glowinski와 Iversen⁶⁾ 그리고 吉村⁷⁾의 방법을 참고로 하여 뇌전

체를 olfactory bulb, striatum, septum 및 hypothalamus의 4부분으로 나누었다(Fig. 1). 다음에 파괴부위를 확인하기 위하여 전교편과 시교차를 연결하는 면에서 frontal section 하였다. 뇌의 각부위는 토손바란스를 이용하여 조직중량을 측정하였다.

(2) 시약의 조제

① 아민표준액 : 아민으로서는 L-noradrenaline hydrochloride(sigma), dopamine hydrochloride(半井化學), 5-hydroxytryptamine creatinesulfate(sigma)를 이용했다. 각시약을 free base로 환산해서 10 mg을

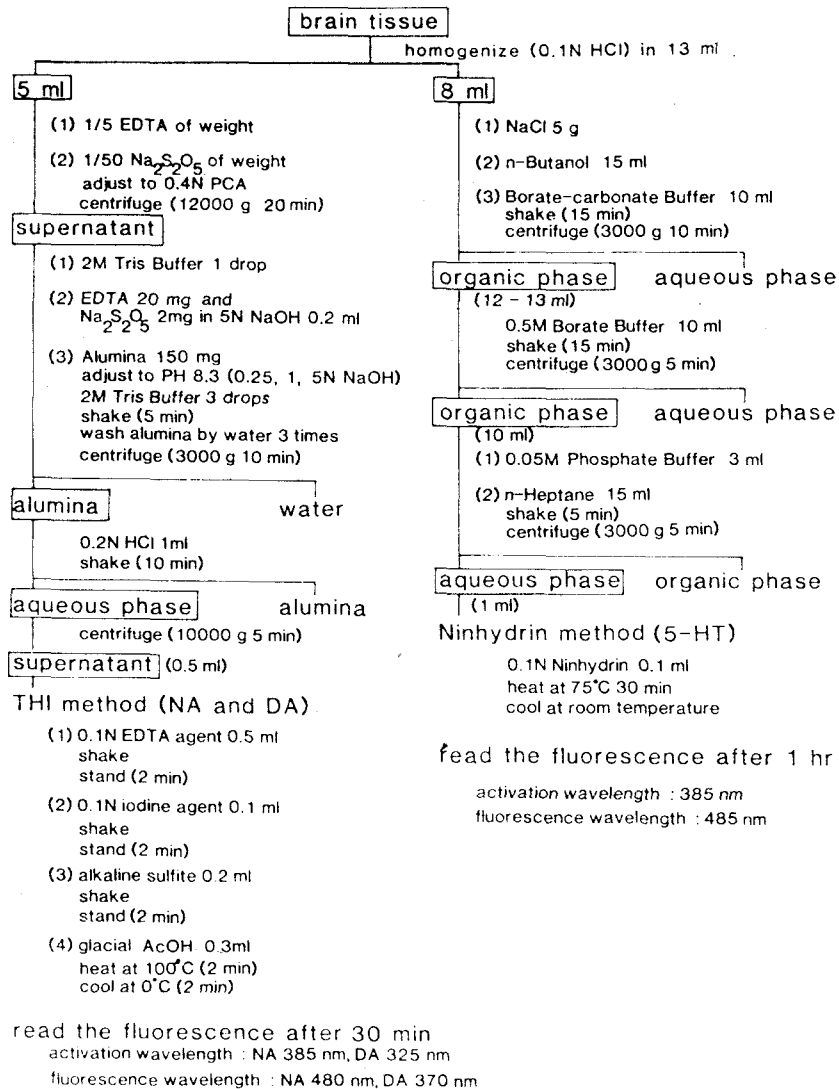


Fig. 2. Procedure for simultaneous assay of noradrenaline, dopamine and 5-hydroxy tryptamine from discrete brain areas.

병량하여 0.01 N HCl에 용해하여 100 ml로 하고 병량기에 보존하여 60일 이내에 사용했다.

② **알루미늄**: 알루미늄(Woelm neutral activity grade)를 Anton과 Sayre⁸⁾의 방법에 의하여 활성화하였다.

③ **0.4 N 과염소산(PCA)**: 70% PCA 33.5g에 물을 가하여 전량 500 ml로 하고 사용전에 그 100 ml에 L-cystein 0.1g을 가하였다.

④ **0.1 N EDTA 시약**: EDTA-2 Na 37.2g을 1M 초산나트륨에 용해하여 전량 1L로 하고 5N NaOH로 pH 7.0으로 조정하였다.

⑤ **alkaline sulfite**: 아황산나트륨 2.5g을 물 10 ml에 용해하여 사용시에 이용액 1 ml를 5N NaOH 9 ml를 가하였다.

⑥ **n-butanol 및 heptan**: Ansell과 Beeson⁹⁾방법에 의하여 식염으로 포화하였다.

⑦ **0.5 M Borate buffer**: 붕산 31g, 고히 NaOH 16.7g을 물에 용해하여 전량을 1L로 하고 5N NaOH로 pH 10.4로 조정하여 식염으로 포화하였다.

⑧ **Borate-carbonate buffer**: 0.5M 붕산완충액에 탄산나트륨 300g을 물에 용해하여 전량을 1L로 한 용액을 가하여 pH 10.7로 조정하였다.

⑨ **0.1 N ninhydrin**: 사용시에 ninhydrin 0.178g을 물에 용해하여 전량 10 ml로 한다.

⑩ **2 M Tris buffer**: Tris amino methane 242.1g을 물에 용해하여 전량을 900 ml로 하고 농염산으로 pH 8.3으로 조정하여 전량을 1L로 한다.

⑪ **0.1 N 요드시약**: 요드 1.27g을 무수에탄올에 용해하여 전량 100 ml로 하였다.

(3) 뇌중아민의 정량법

아민은 형광정량법에 의하여 정량했다. NA과 DA의 정량은 Anton과 Sayre⁸⁾의 흡착법과 Chang¹⁰⁾의

요드산화, 빙초산에 의한 안정화에 의하여 형광물질을 만드는 THI 방법을 이용하였다. 5-HT의 정량은 Snyder¹¹⁾등의 방법에 따랐다(Fig. 2).

실험 성적

1) 파괴부위의 확인

側坐核의 전반 및 후반부 파괴에 의하여 側坐核은 거의 파괴되었다. Fig. 3은 전반 및 후반부파괴시의 대표적인 파괴부위를 나타낸 것이다.

2) 일반행동의 변화

(1) 랫트의 일반행동에 미치는 MA 연속투여의 영향

Fig. 4는 1일 1회씩 20일간 MA의 연속투여에 의한 자발운동량의 변화를 나타낸 것이다.

MA의 20일간 연속투여에 의하여 랫트의 자발운동량은 현저하게 증가하였다. 그러나 자발운동량의 현저한 증가에도 불구하고 연속투여 7일째 이후에는 대조군과 비교시 유의성을 나타내지 않았다. 즉 MA의 연속투여에 의하여 외관상의 통계로는 자발운동량의 향진이 현저하게 나타났으나 내용적으로는 자발운동량이 단독투여시 보다 더욱 현저하게 증가하는 것과 오히려 자발운동량은 현저하게 감소하고 측정시간인 3분내내 무엇인가를 찾는 듯이 두리번거리는(常動行動) 두가지의 아주 독특한 행동양식이 포함되었다. rearing은 현저한 변화를 나타내지 않았다.

(2) 랫트의 일반행동에 미치는 側坐核破壞의 영향

랫트의 자발운동량은 즉좌각파괴 후 2일에 대조군과 비교하여 유의성 있는 증가를 나타냈다($p < 0.002$). 그러나 이러한 변화는 7일 이후에는 점차 감소되어 대조

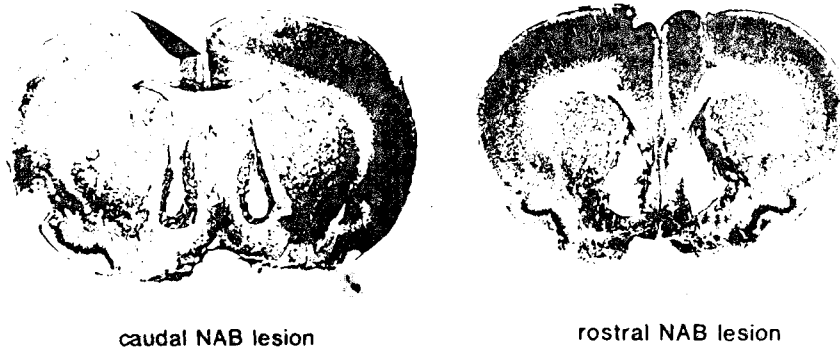


Fig. 3. Photographs of representative lesions in nucleus accumbens septi.

군과 비교시 유의성을 나타내지 않았다.

(3) MA의 작용에 미치는 側坐核破壞의 영향

Fig. 5는 側坐核파괴 후 MA의 연속투여에 의한 자발운동량의 변화와 상동행동의 발현률을 나타낸 것이다.

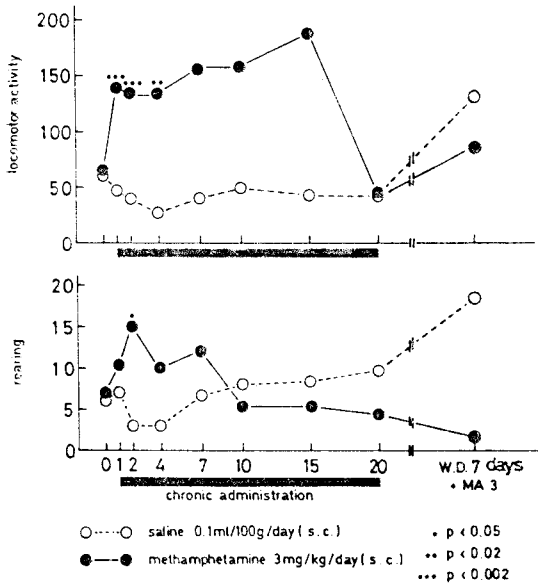


Fig. 4. Effect of chronic doses of methamphetamine on open-field activity in rats.

MA의 연속투여에 의하여 僞手術群은 현저한 자발운동량의 증가를 나타냈으나 20일간의 투여기간 중 상동행동은 전혀 발현되지 않았다. 한편 側坐核破壞群(cr-NAB)에서는 파괴 후 1日째에 MA을 투여하면 자발운동량의 증가는 전혀 나타나지 않고 그대신 상동행동이 현저하게(62.5%) 발현되었다. 이러한 변화는 側坐核破壞 후 4日째를 정점으로 점차 減弱되어 10日째 이후부터는 유의성을 나타내지 않았다.

3) 側坐核破壞에 의한 뇌중아민량의 변동

실험성적에 이용한 동물의 수는 僞手術群이 5마리, 側坐核破壞群이 7마리였다. 각 뇌조직의 중량은 olfactory bulb(71.5±8.9 mg), striatum(106.5±8.5 mg), septum(39.4±7.3 mg) 및 hypothalamus(62.8±8.5 mg, mean±S.D)였다. Table 1은 側坐核破壞에 의한 뇌각부위에서의 아민의 변동을 나타낸 것이다.

고찰

강력한 중추흥분제인 메타amphetamine을 연속 투여한 결과 지속적으로 자발운동량이 현저하게 증가하는 것과 자발운동량은 오히려 감소하고 동시에 상동행동이 발현되는 두가지의 행동이 나타났다. 메타amphetamine은 소량에서는 자발운동의 향진을 나타내며 대량에서는

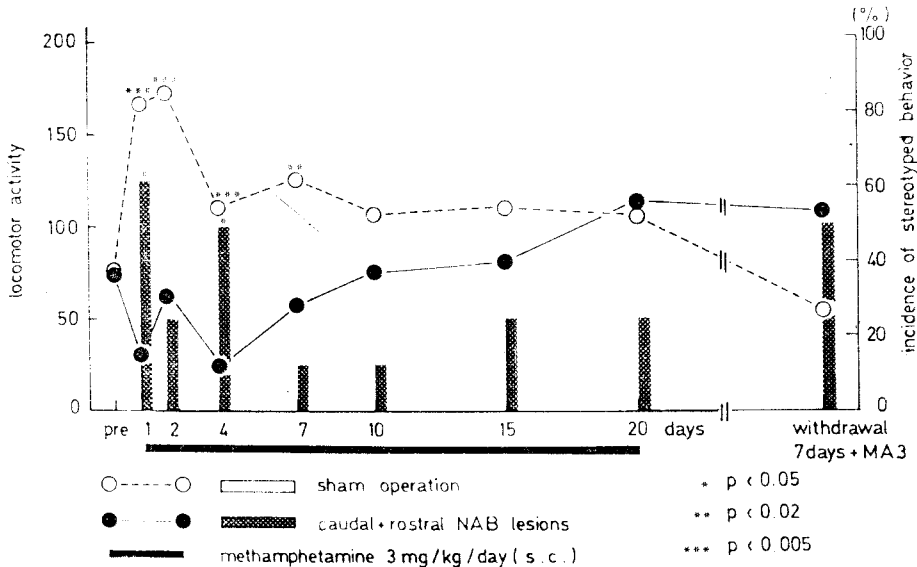


Fig. 5. Influence of nucleus accumbens septi lesions on behavioral effects of chronic-methamphetamine in rats.

Table 1. Brain amine levels in nucleus accumbens septi-lesioned rats

	sham operation(n=5)	cr-NAB lesions(n=7)	% of sham operation
	$\mu\text{g/g}$ tissue (mean \pm S.E.)	$\mu\text{g/g}$ tissue (mean \pm S.E.)	
5-HT			
olfactory bulb	0.52 \pm 0.06	1.03 \pm 0.19*	190.7
striatum	0.54 \pm 0.07	0.51 \pm 0.07	94.4
septum	0.95 \pm 0.23	1.31 \pm 0.14	137.9
hypothalamus	0.85 \pm 0.11	1.05 \pm 0.15	123.5
DA			
striatum	4.77 \pm 0.54	3.05 \pm 0.39*	63.9
septum	1.02 \pm 0.30	N.D.	
NA			
striatum	0.22 \pm 0.09	0.54 \pm 0.29	245.5
septum	0.33 \pm 0.08	N.D.	
hypothalamus	0.73 \pm 0.22	0.41 \pm 0.06	56.2

* p<0.05

상동행동을 발현한다는 것이 보고되어 있다¹²⁾. 이런 점에 미루어 볼때 단독투여시에 자발운동의 항진만을 나타내는 소량을 선택했음에도 불구하고 연속투여에 의하여 상동행동이 발현됨은 자발운동량의 감소에도 불구하고 메타amphetamine의 작용증가를 나타내는 것이라고 생각할 수 있다. 한편 메타amphetamine의 작용은 전달물질인 catecholamine의 유리항진 및 재도입의 억제에 의한 것으로 알려져 있다^{13,14)}. 따라서 중추 catecholamine 특히 dopamine의 중추부위인 側坐核을 선택하여 메타amphetamine의 작용에 미치는 側坐核의 영향을 검토했다.

側坐核破壞 후 2일에 랫트의 자발운동량은 현저하게 증가하였으나 그 효과는 수술 후의 시간 경과와 함께 감약되었다. 따라서 側坐核이 자발운동의 조절에 중요한 역할을 나타내고 있음이 시사된다. 한편 側坐核破壞에 의하여 메타amphetamine의 자발운동항진작용은 거의 나타나지 않았다(Fig. 5). 메타amphetamine의 자발운동항진작용은 側坐核內에 dopamine 길항약의 주입에 의하여 억제되며¹⁵⁾ 6-OHDA의 側坐核內 주입에 의하여 catecholamine 신경종말의 손상을 일으킬 때 소실된다¹⁶⁾는 것이 보고 되었다. 따라서 側坐核의 破壞에 의하여 메타amphetamine의 자발운동항진작용이 나타나지 않는 현재의 실험결과는 위의 보고와 함께 側坐核이 메타amphetamine의 자발운동작용을 나타내는 작용점으로 중요함을 시사하고 있다. 또한 側坐核破壞에 의하여 메타amphetamine의 자발운동항진작용의 억제뿐만 아니라

동시에 현저한 상동행동의 발현이 특히 주목된다. 현재의 실험결과 만으로는 정확한 이유를 설명하기 어려우나 Table 1의 결과와 Kelly¹⁶⁾등과 Price¹⁷⁾등에 의한 견해를 아울러 생각할 때, 즉 mesolimbic dopamine system의 중추부위인 側坐核을 破壞하면 당연히 메타amphetamine의 자발운동항진작용은 소실하고 nigro-striatal dopamine system에 대한 메타amphetamine의 작용량이 남게되며 특히 側坐核破壞에 의한 striatum에서의 유의성 있는 dopamine 함량의 감소에 의하여 striatum의 dopamine 수용체의 감수성이 증대되어 소량의 메타amphetamine의 투여에도 불구하고 상동행동이 발현되는 것으로 추측할 수 있다.

결 론

- 1) 메타amphetamine을 연속 투여하면 현저한 작용증가가 나타난다.
- 2) 側坐核破壞에 의하여 자발운동이 항진되며 이 효과는 수술 후의 시간 경과와 함께 점차 감약된다.
- 3) 側坐核破壞後 메타amphetamine을 투여하면 자발운동은 현저히 억제되고 동시에 상동행동이 높게 발현되었다.
- 4) 側坐核破壞에 의하여 腺條體의 dopamine 함량은 현저히 감소되고 olfactory bulb의 serotonin 함량은 증가하였다.

參 考 文 獻

- 1) Ungerstedt, U.: *Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. Acta Physiol. Scand.*, 82:1-48, 1971.
- 2) Lee, S.C., Yamamoto, T., Watanabe, S. and Ueki, S.: *Changes in emotional behavior following lesions of the nucleus accumbens septi in rat. Jap. J. Pharmacol.*, 30:79, 1980.
- 3) Soon Chul Lee, Tsuneyuki Yamamoto and Showa Ueki.: *Characteristics of aggressive behavior induced by Nucleus accumbens septi lesions in rats. Behav. Neural Biol.*, 37:237-245, 1983.
- 4) König, J.F.R. and Klippel, R.A.: *The rat brain: A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore, Williams and Wilkins, 1963.*
- 5) Hall, C.S.: *Emotional behavior in the rat. 1. Defecations and urination as measures of individual differences in emotionality. J. Compt. Psychol.*, 18:385-403, 1934.
- 6) Glowinski, J. and Iversen, L.L.: *Regional studies on catecholamines in the rat brain. J. Neurochem.*, 13:655-659, 1966.
- 7) 吉村裕之 博士論文: rat 의 mouse-killing behavior 發現機構에 관한 藥理學的 및 神經化學的 研究, 九州大學藥學部, 1976.
- 8) Anton, A.H. and Sayre, D.F.: *A studies in the factors affecting the aluminium oxide trihydroxyindole procedure for the analysis of catecholamines. J. Pharm. Exp. Ther.*, 138:360-375, 1962.
- 9) Ansell, G.B. and Beeson, M.F.: *A rapid and sensitive procedure for the combined assay of noradrenaline, dopamine and serotonin in a single brain brain sample. Anal. Biochem.*, 23:196-206, 1968.
- 10) Chang, C.C.: *A sensitive method for spectrofluorometric assay of catecholamine. Int. J. Neuropharmacol.*, 3:643-649, 1964.
- 11) Snyder, S.H., Axelrod, J. and Zweig, M.: *A sensitive and specific fluorescence assay for tissue serotonin. Biochem. Pharmacol.*, 14:831-835, 1965.
- 12) Kelly, P.M., Seviour, P.W. and Iversen, S.D.: *Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens septi and corpus striatum. Brain Res.*, 94:507-522, 1975.
- 13) Thornburg, J.E. and Moore, K.E.: *The relative importance of dopaminergic neuronal systems for the stimulation of locomotor activity induced by amphetamine and other drugs. Neuropharmacol.*, 12:853-866, 1973.
- 14) Weissman, A., Koe, B.K. and Tenen, S.S.: *Antiamphetamine effects following inhibition of tyrosine hydroxylase. J. Pharmacol. Ext. Ther.*, 151:339-352, 1966.
- 15) Pijnenburg, A.J.J., Honig, W.M.M. and Van Rossum, J.M.: *Inhibition of D-amphetamine-induced locomotor activity by injection of haloperidol into the nucleus accumbens of the rat. Psychopharmacol.*, 41:87-95, 1975.
- 16) Kelly, P.H. and Iversen, S.D.: *Selective 6-OHDA-induced destruction of mesolimbic dopaminergic neurons: Abolition of psychostimulant-induced locomotor activity in rats. European J. Pharmacol.* 40:45-46, 1976.
- 17) Price, M.T.C. and Fibiger, H.C.: *Apomorphine and amphetamine stereotype after 6-hydroxydopamine lesions of the substantia nigra. European J. Pharmacol.*, 29:249-252, 1974.