

식이 단백질 수준 및 Tryptophan 투여가 Serotonin 대사에 미치는 영향

신 동 순 · 김 미 경*

경남대학교 가정교육과

이화여자대학교 식품영양학과*

Effect of Dietary Protein Level and Tryptophan Administration on Brain Serotonin Metabolism

Shin, Dong Soon · Kim, Mi Kyung*

Department of Home Economic Education, Kyungnam University, Kyungnam, Korea

Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul, Korea*

ABSTRACT

This study was designed to confirm the effect of dietary protein level and oral administration of tryptophan on brain serotonin metabolism. Two animal experiments were conducted. The objectives and results of each research were as follows :

In the first experiment, it was investigated whether administration of reserpine to Sprague-Dawley rats fed 6% or 20% casein diet induced decrease in serum tryptophan and large neutral amino acid(LNAA) concentrations, tryptophan/LNAA concentration ratio, brain tryptophan, serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA) contents.

Brain serotonin content of 6% casein diet group was lower than those of 20% casein diet group. Both 6% and 20% casein diet groups administered with reserpine to induce the analogous depression, showed the notable decrease in brain serotonin content when they were compared with 20% casein diet group not administered with reserpine. Serum tryptophan/LNAA ratio and brain 5-HIAA content showed a tendency similar to the change of serotonin content, but the mean difference among all groups was not significant. From these results, it could be said that when the dietary protein level was low, brain serotonin content was decreased.

The second experiment was to see the change in serum tryptophan concentration and tryptophan/LNAA ratio and brain tryptophan, serotonin and 5-HIAA content when tryptophan was administered orally to the animals treated with reserpine.

Serum tryptophan concentration tended to increase in both reserpine-treated 6% and 20% casein diet groups administered with tryptophan, especially in the 6% casein diet group. Serum tryptophan/LNAA concentration ratio tended to increase in reserpine-treated 6% casein diet group, while decrease in reserpine-treated 20% casein diet group. Brain tryptophan content

채택일 : 1992년 12월 24일

was increased in both reserpine-treated 6% and 20% casein diet groups. However, brain serotonin content of reserpine-treated 6% casein diet group showed a tendency to decrease, while that of reserpine-treated 20% casein group increase. Consequently, the effect of tryptophan administration on increase of brain tryptophan and serotonin content in animals treated with reserpine was far more excellent in 20% casein diet groups. It was concluded that dietary protein intake and tryptophan administration increase brain serotonin level.

Accordingly, it was possible to confirm that brain function, particularly in aspect of behavior related to the serotonin, was changed with manipulation of dietary composition.

KEY WORDS : dietary protein · tryptophan · brain serotonin.

서 론

어느 사회, 문화에서나 정신 질환은 다양한 형태로 일어나기 마련이다. 특히 우울증과 같은 정서 장애는 동서 고금을 막론하고 어디서나 볼 수 있는 질환인데, 사회가 발달할 수록 발병율이 높고 남자보다 여자에게 흔히 더 잘 나타나는 경향이 있다고 한다¹⁾. 정상적으로 일상생활을 하고 있는 사람들 중 대략 남자의 5~10%, 여자의 10~20%가 일생에 적어도 한번은 임상적으로 우울증에 걸린다고 한다^{1,2)}.

우울증이 발병하는 원인을 아직 정확하게 규명하지 못하고 있는 실정이지만 여러 학문 분야에서 그 병인을 이해하고 있는 이론은 심리적인 것과 생리화학적 것으로 대별되어 진다. 심리적인 이론에는 애정 상실에 대한 분노나 원망의 감정이 내사화되었다는 Freud의 정신 분석학적 이론, 비합리적인 사고나 믿음의 논리적인 오류가 비정상적인 정서를 야기시켰다는 Beck의 인지론적 이론, 통제할 수 없는 긴장의 경험으로 무기력감이 유발되어 진다는 Saligman의 학습이론이 있다³⁾. 한편 우울증을 생화학적으로 이해하는 이론은 다음과 같다⁴⁻⁶⁾. 첫째, 우울 상태에서 신경 전달 과정 중 주로 양이온인 Na⁺이 세포내에 축적되었다가 그 증세가 회복되면 정상 농도를 유지하게 된다는 것이다. 둘째, 부신 피질이 정신 질환의 근원이라는 생각에서 비롯된 가설로서, 두뇌 시상하부의 작용이나 외부의 긴장성 사건으로 부신의 작용이 증대되면 뇌하수체로부터 adrenocorticotrop hor-

mone(ACTH)의 분비가 증가한다는 것이다. 셋째, 두뇌의 중요 부위에 신경전달 물질이 부족하거나 이 물질의 기능이 결여되어서 우울증이 생긴다는 가장 일반적인 이론으로 dopamine, norepinephrine, serotonin 같은 monoamine계 물질이 그 관심의 대상이 되고 있다. 세번째 이론은 Schildkraut와 Kety가 주장한 “monoamine 가설”에 근거한 것⁷⁾으로, 우울증에서 norepinephrine과 serotonin을 신경 전달물질로 사용하는 시냅스 부위의 활동이 감소하며, 그러한 감소 현상은 특히 시상하부와 이에 연결된 변연계 회로에서 더 현저하다고 한다. 우울증으로 자살한 환자의 두뇌에 serotonin 수준이 낮았으며 우울증 환자의 뇌척수액에 serotonin 대사 물질인 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA) 수준이 낮았다는 보고^{8,9,10)}는 그 직접적인 증거를 제시해 준다. Monoamine oxidase 수준을 억제하고 norepinephrine 수준을 증가시키는 항우울제의 사용¹¹⁾이나 biogenic amine의 분비에 영향을 주는 전기 충격 요법¹²⁾, 또는 monoamine oxidase를 분비시켜 norepinephrine이나 serotonin을 파괴시킴으로써 심한 우울증을 일으키는 reserpine¹³⁾ 같은 약물 효과를 통해 간접적으로 monoamine 가설을 뒷받침하는 증거를 얻고 있지만 아직도 우울증의 발병원인에 대한 논란이 많다.

Serotonin은 신경 세포뿐 아니라 혈소판 등, 신체의 여러 곳에서 발견되며 두뇌에서 발견되는 serotonin은 신체 전체의 1~2% 정도에 해당되는 양이지만¹⁴⁾ 신경 세포가 혈액으로부터 공급된 tryptophan을 전환시켜 직접 합성한 것이다. 따라서

혈액 tryptophan 농도를 전환시킬 수 있는 조건은 두뇌 serotonin 합성율을 결정하는 중요한 요인이 된다. Tryptophan은 단백질 식품속에 구성 아미노산 중 1% 정도의 적은 양으로 존재하는 제한 아미노산이면서 신체에서는 합성할 수 없는 필수 아미노산이므로¹⁵⁾ 식품에서 섭취되는 tryptophan 양은 혈액 농도를 변화시켜 두뇌로 이동되는 tryptophan 양을 결정해 주는 가장 중요한 요인이 된다. 그런데 tryptophan을 비롯한 여러 아미노산들의 혈액 농도는 feed-back 조절없이 식이 내용에 따라 변동된다¹⁶⁾. 즉, 단백질이 풍부한 식품을 섭취하고 난후에는 섭취전보다 혈액 아미노산 농도가 2~3배 정도 증가를 하며, 단백질이 결핍된 식사를 하고 난 후에는 tryptophan을 제외한 다른 중성 아미노산의 혈액 농도가 낮아진다. 후자의 현상은 단백질 섭취량이 적어질 때 상대적으로 식이 구성 비율이 높은 탄수화물 섭취로 많이 분비된 인슈린 때문에 대부분의 중성 아미노산이 근육으로 이동되어짐으로서 나타난 결과이다¹⁷⁾¹⁸⁾. 이런 경우에 혈액내 tryptophan 농도도 낮아지지만 다른 중성 아미노산에 대한 tryptophan의 상대적인 농도비율(tryptophan/LNAA)이 증가하며, 이러한 변화는 두뇌로 이동되는 tryptophan양을 결정하는 요인이 된다. 혈액 아미노산이 두뇌로 이동될 때 blood-brain barrier라는 모세혈관 장벽을 통과하는데 이 장벽구조에는 중성 아미노산, 즉 valine, isoleucine, leucine, phenylalanine, tyrosine, tryptophan을 이동시키는 이동 기제가 있다. 이 기제는 중성 아미노산의 이동을 통제하지 않고 자유롭게 확산시킴으로서 혈액과 두뇌의 아미노산 농도를 일치시키고 있다. 그러나 중성 아미노산들이 공통의 이동 기제를 이용하여 두뇌로 이동되기 때문에 아미노산들끼리 경쟁을 하게되어, 두뇌로 이동되는 tryptophan양은 다른 중성 아미노산의 농도에 대한 상대적인 농도에 의해 결정된다¹⁹⁾. 따라서 두뇌 tryptophan과 serotonin 함량에 영향을 줄 수 있는 식사 조건으로, 무엇보다도 식품에 함유된 tryptophan의 절대량이 중요하지만 인슈린의 분비를 통해 혈액내 중성 아미노산에 대한 tryptophan의 상대적인 비율을 변화시킬 수 있는 식이내 탄수화물과 단백질의 비율도 매우 중요해 진다.

인슈린이 분비될 때 혈액 tryptophan 농도가 다른 중성 아미노산처럼 감소하지 않는 것은 혈액 tryptophan과 알부민의 결합 능력 때문인데 인슈린은 알부민과 결합하고 있던 유리 지방산을 지방세포로 유입시키고 이때 떨어지는 알부민과 tryptophan이 결합함으로써 tryptophan은 인슈린의 영향을 받지 않게 된다. 그러므로 식이 단백질과 탄수화물 수준은 혈액 중성 아미노산에 대한 tryptophan의 농도비율을 변화시킨다²⁰⁾²¹⁾. 사람의 경우 식이 단백질 수준이 10%(쥐의 경우는 18%)일 때를 기준으로 혈액 tryptophan/LNAA 농도비율과 두뇌 tryptophan 및 serotonin 농도가 전환되는 데, 즉 단백질 수준이 10% 이상이 되는 식이에서는 tryptophan/LNAA 농도비율이 감소하고 10% 이하에서는 상승하는 효과를 보임으로서 식이 단백질 수준은 두뇌 tryptophan 농도와 serotonin 합성율에 영향을 줄 수 있다²²⁾. 한편, 두뇌에서 tryptophan을 serotonin으로 전환시키는 tryptophan hydroxylase는 정상적인 생리 상태에서 tryptophan에 포함되지 않으며, 이 효소의 작용을 약물로 억제시키면 신경세포는 효소 합성을 증가시켜 신경 종말로 내보냄으로서 효소 활성의 감소현상을 보상하는 기전을 발휘하므로 이 대사 과정에 대한 조절은 쉽지 않다. 일단 합성된 serotonin은 monoamine oxidase에 의해 5-hydroxyindoleacetaldehyde를 거쳐 5-HIAA로 대사되어 뇌 밖으로 이동된다. 그런데 monoamine oxidase inhibitor나 probenecid(산대사물의 배설을 억제)를 투여할 때 두뇌 serotonin과 5-HIAA 양이 정상 3배까지 직선적으로 증가함으로써 serotonin에 대한 end-product inhibition이 없거나 미약하다는 것을 알 수 있다⁴⁾. 따라서 serotonin 전구체인 혈액 tryptophan의 유용성을 변화시켜서 두뇌 serotonin 합성을 조절해 볼 수 있다는 가능성을 확실하게 제시해 준다.

식이의 구성 성분인 영양소의 섭취를 통해 인간의 행위를 조절해 볼 수 있다는 측면에서 단백질의 섭취와 두뇌 serotonin 합성과의 관계는 많은 관심을 끄는 연구 분야이지만 각 연구자들의 실험 방법의 다양성, 특히 사용하는 물질의 양적인 차이에서 그 결과가 일치하지 않는 점이 많다. 지금까지 식이

단백질과 두뇌 serotonin 합성의 관계에 관한 자료는 대부분 단기간의 식이 투여 방법에 의한 실험 모델에서 얻어진 것들이며, 장기간의 만성적 식이 투여 모델에서 연구된 것이 별로 없었다. 최근 Fernstrom²³⁻²⁶⁾은 단백질 섭취 수준과 혈청 tryptophan/LNAA 농도비율 및 serotonin 합성 사이에 dose-response 관계가 있어야 한다는 생각으로 연구를 하였으나 좋은 결과를 얻지 못하였다.

인간의 두뇌 구조 중, 종과 개체의 보존, 정서, 섭식, 고통으로 부터 도피, 공격성, 쾌락 추구 등을 매개하는 신경 조직층에 속하는 변연계는 편도체, 시상하부, 유두체를 포함하는 일련의 serotonin계 신경회로로서 특히 시상하부는 섭식 중추가 있다고 여겨지는 곳이며 서파 수면과 REM(rapid eye movement) 수면을 조절하는 곳이기도 하다¹⁾¹⁴⁾. 따라서 본 연구자는 정서 장애 특히 우울증, 섭식, 수면이 모두 tryptophan을 전구체로 하는 serotonin의 두뇌 수준 변화를 통해 조절²⁷⁻³²⁾될 수 있고 장기적인 식이 조절의 연구 모델이 될 수 있는 임상 증세라는 점에 관심을 갖게 되었으며 일상적으로 사회 생활을 하고 있는 사람들 경우에도 장기간의 식습관으로 균형잡히지 않은 식사를 계속하여 단백질 섭취가 낮아졌을 때, 혈액과 두뇌 tryptophan 수준이 저하되고 serotonin 합성이 감소되어 우울증에 걸릴 경향이 높아지는지 일련의 실험 연구를 통하여 확인해 볼 필요성을 느끼게 되었다.

우리나라에서는 실험 동물의 두뇌 serotonin 수준을 변화시키기 위해 reserpine을 투여하거나 tryptophan을 투여한 실험 연구는 거의 이루어지지 않았다. 그러므로 본 연구자는 우선 동물 실험 연구를 통해 reserpine을 투여하거나 식이 단백질 섭취 수준이 낮을 때 흰쥐의 혈액과 두뇌 tryptophan 및 serotonin 수준이 낮아져서 우울 성향이 높아지는지, 그리고 고 단백질 섭취나 tryptophan 투여는 두뇌 serotonin 수준을 높혀 우울 성향을 완화시킬 수 있는지를 검증해 보고자 하였다.

연구 방법

본 논문에서는 식이 단백질 섭취 수준이 두뇌

serotonin 대사를 변화시켜 우울증과 같은 정서 변화를 유도할 수 있는지 알아보기 위해 다음과 같은 동물 실험을 계획하였다.

Experiment I.

흰쥐에게 유사 우울증을 유발시키기 위하여 reserpine을 경구 투여하였으며, 이때 섭취하는 식이 단백질 수준을 달리하여 reserpine 투여가 두뇌 serotonin 대사에 미치는 효과를 비교해 보고자 하였다.

Experiment II.

Exp. I에서 식이 단백질 수준이 서로 다른 식이와 reserpine 투여로 유도된 흰쥐의 유사 우울증을 회복시키기 위하여 2주 동안 20% casein 식이와 함께 tryptophan을 경구 투여하였으며, 이때 tryptophan 투여가 두뇌 serotonin 대사에 미치는 효과를 비교해 보고자 하였다.

1. 동물 사육

Exp. I, II에서는 Sprague-Dawley 종 암컷 흰쥐를 Table 1과 같은 실험 계획에 따라 사육하였다. 실험 식이로 사육하기 전 1주일 동안 흰쥐들에게 삼양 사료(stock diet)를 주면서 사육환경에 적응시켰다. 적응 직후 체중이 100~150gr 된 흰쥐를 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 한 군당 7마리씩 분배하였다. 실험 기간 동안 식이와 물은 무제한 공급하였으며 식이 섭취량은 매일, 체중은 일주일에 2번 측정하였다.

실험 식이는 Table 2에서와 같이 6% casein 식이와 20% casein 식이를 준비하였다. 두 실험 식이의 탄수화물 함량은 동일하게 구성하였다. 식이 탄수화물 함량이 증가하면 인슈린의 분비가 증가되며 인슈린에 의해 유리 지방산이 지방세포로 유입되고 혈액의 free albumin 농도가 증가한다. 이 albumin은 tryptophan과 결합을 하며³³⁾ 인슈린은 albumin과 결합한 tryptophan을 제외한 혈액 중성 아미노산들을 근육으로 이동시키므로 혈액내 tryptophan/LNAA 농도비율을 변화시킬 수 있다¹⁷⁾¹⁸⁾. 따라서 이러한 인슈린의 효과를 가능한 줄이고자 하였다. 또한 실험 식이 1gr 당 열량을 같게 하기

Table 1. Experimental design of animal study

Exp. period		Exp.I		Exp.II	
		4 weeks		2weeks	
Treatment group		dietary casein level(%)	reserpine administration level(mg/day)	dietary casein level(%)	tryptophan administration level(mg/day)
Exp I	C20	20	—		
	C20+R	20	2		
	C6	6	—		
	C6+R	6	2		
Exp II	C20-TRP	20	—	20	—
	C20+TRP	20	—	20	40.35
	C20+R-TRP	20	2	20	—
	C20+R+TRP	20	2	20	40.35
	C6-TRP	6	—	20	—
	C6+TRP	6	—	20	40.35
	C6+R-TRP	6	2	20	—
	C6+R+RTP	6	2	20	40.35

C 20 : 20% casein diet(contains tryptophan 0.54mg/g diet)
 C 6 : 6% casein diet(contains tryptophan 0.16mg/g diet)
 +R : reserpine administration
 +TRP : 20% casein diet with tryptophan administration
 -TRP : 20% casein diet without tryptophan administration

위하여 6% casein 식이에는 cellulose를 첨가하였기 때문에 두 실험 식이간에 지방 함량의 차이가 대략 6% 정도 난다. Madras³⁴⁾에 의하면 식이 지방 함량을 0%에서 30%까지 증가시켜 장기간 섭취하였을 때 혈액의 free tryptophan 농도가 다소 증가하지만 혈액내 총 tryptophan 농도가 변화하지 않아서 두뇌 tryptophan과 serotonin 양에 변화를 주지 않는다고 하였으므로 본 연구의 두 실험 식이 사이에 나타나는 지방 함량의 차이는 연구 결과에 큰 영향을 미치지 않을 것으로 보았다.

Exp. I에서 흰쥐에게 유사 우울증을 유발시키기 위해 reserpine(부광제약 제품)을 경구 투여하였다. Reserpine은 두뇌 serotonin과 catecholamine의 저장 기전을 억제하고 monoamine oxidase 대사를 촉진하여 시냅스전 말단의 serotonin과 catecholamine을 파괴시켜 고갈 상태에 빠뜨려서 심한 우울증을 일으키는 효과가 있어 동물 실험에서 유사 우울증 유발 목적으로 사용하는 약물이다^{1,2,10,14,35)}. 따라서

reserpine은 serotonin 합성을 위한 tryptophan 대사 과정에는 영향을 미치지 않고 합성된 serotonin 량을 감소시켜 유사 우울증을 유발시키므로 reserpine을 본 연구에 사용하였다. 사용한 약품 설명서에 의하면 본태성 고혈압 환자나 정신분열증 환자에게 1일 0.2~0.5mg을 경구 투여하며 증세에 따라 1mg까지 증가시킬 수 있으나 장기간 복용하거나 과량 투여할 때 우울증이나 두통, 졸음 등의 증세가 온다고 하였다. Reserpine을 seperate feeding 방법으로 경구 투여하였으며 그 투여량은 다음과 같이 산출하였다. 즉, 평균 체중이 130gr 되는 흰쥐에게 투여한 reserpine량은 성인 여자의 평균 체중을 60Kg으로 하여 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{reserpine 투여량} = \frac{1}{60} (\text{mg/Kg}) \times \frac{130}{1000} (\text{Kg}) = 0.002\text{mg}$$

그러나 실험 동물에게 실제 투여한 양은 산출된 양의 1000배에 해당되는 0.002gr/일 이었으며 이것

단백질 섭취와 두뇌 Serotonin 대사

Table 2. Composition of experimental diets
(/Kg diet)

diet	20% casein diet	6% casein diet
ingredient		
Starch	650gr	650gr
Casein	200gr	60gr
Corn oil	110gr	172gr
Cellulose	—	78gr
Salt mixture *1	40gr	40gr
Vitamin A & D mixture *2	1ml	1ml
Fat-soluble vitamin *3	2ml	2ml
Water-soluble vitamin *4	*	*
Vitamin B 12 *5	1ml	1ml

*1 20gr calcium phosphate(dibasic) ; 2.96gr sodium chloride ; 8.8gr/potassium citrate monohydrate ; 2.08gr potassium sulfate ; 0.96gr magnesium oxide ; 0.14gr managanous carbonate ; 0.24gr ferric citrate.6 H₂O ; 0.064gr zinc carbonate ; 0.012gr cupric carbonate ; 0.0004gr potassium iodate ; 0.0004gr sodium selenate ; 0.0002gr chromium potassium sulfate ; sucrose(to make 40gr totally)

*2 0.1mg retinyl acetate and 0.01mg ergosterol/ml corn oil

*3 25mg tocopherol acetate and 1mg menadione/ml corn oil

*4 2000mg choline chrolidc ; 10mg thiamin chro-ride ; 20mg riboflavin ; 120mg nicotinic acid ; 10mg pyridoxine ; 100mg calcium pantothe-nate ; 0.05mg biotin ; 4mg folic acid ; 500mg inositol ; 100mg para-amino benzoic acid(/Kg diet)

*5 Vitamin B 12 0.01mg/ml distilled water

을 25일간 투여하였고 마지막 3일간에는 0.001gr으로 감량하였는데 그것은 과량 투여하던 약물을 갑자기 중단하였을 때 올 수 있는 대사상의 쇼크를 방지하기 위한 것이었다.

Exp. II에서 흰쥐에게 L-tryptophan을 2주 동안 seperate feeding 방법으로 경구투여하였다. 평균 체중 200gr 되는 흰쥐가 15% casein 식이를 1일 대략 20gr 정도 섭취한다고 가정하여 다음의 식으로 부터 tryptophan 투여량을 추정 산출하였다. 100gr casein에는 269mg의 tryptophan이 함유³⁶⁾되어 있다.

tryptophan투여량 = 20(gr) × 0.15 × 269/100(mg/gr) = 8.07mg

그러나 실제 투여된 tryptophan양은 40.35mg으로 위에서 계산된 8.07mg의 5배 였다. 사람의 경우 균형잡힌 식사에서 하루에 섭취하는 tryptophan량의 4~5배에 해당되는 양을 투여할 때 임상적으로 큰 부작용이 없다고³⁷⁾³⁸⁾ 보고되었다.

2. 혈액 및 두뇌의 성분 분석

실험 종료전 12시간 굶은 동물을 ethly ether로 가볍게 마취시킨 후 단두하여 혈액을 채취하였다. 실험 동물의 혈청내 중성 아미노산-valine, leucine, isoleucine, phenylalanine, tyrosine, tryptophan-농도를 분석하기 위해 채취한 혈액은 1시간 방치하였다가 3000rpm 속도에서 3분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 그 혈청은 -20℃에 보관하였다가 중성 아미노산 농도 분석에 사용하였다. 동물을 희생시킨 직후 두뇌를 채취하여 즉시 그 무게를 재었으며 -20℃에 냉동시켜 두었다가 tryptophan, serotonin, 5-HIAA 농도를 분석하는데 사용하였다. 분석에 사용한 두뇌의 부위는 후두부로서 소뇌를 포함하지 않았으며 좌측 부위는 tryptophan 분석에, 우측 부위는 serotonin과 5-HIAA 분석에 사용하였다(약 0.5gr 씩).

1) 혈청내 중성 아미노산 농도 분석

실험 동물에서 채취한 혈청의 중성 아미노산 농도 분석을 위해 혈청과 3% sulfosalicylic acid를 1:2의 부피 비율로 충분히 섞은 후, 냉장고에서 10분간 방치하였다가 4500rpm 속도에서 약 60분간 원심 분리하여 그 상등액을 취하였다. 이것을 다시 0.45 um의 여과지로 여과하여 아미노산 복합물을 제거한 후, 여과액을 분석직전까지 -70℃에서 냉동 보관하였다. 혈청 유리 아미노산 농도는 아미노산 자동분석기(Hitachi's ion-exchange chromatography ; model 835)로 분석하였으며 570nm와 440nm의 파장에서 electric detector로 측정하였다. 아미노산 분석을 위한 standard solution은 2ml의 5nmol/50ul tryptophan 용액과 아미노산 standard solution용 시약(2ml AN type과 2ml B type : 和光 純藥 제품)을 0.02N HCl에 섞어 총 50ml가 되도록 하였다.

2) 두뇌 tryptophan, serotonin 및 5-HIAA 분석
 실험 동물의 두뇌 tryptophan 양은 Bloxam and Warren 방법^{39,40)}에 의해 spectrophotofluorometer (Hitachi's model 650-10 S)를 사용하여 분석하였다. 즉, 일정량(0.5gr 정도)의 두뇌를 5ml의 cold 12% (w/v) trichloroacetic acid(TCA)와 함께 homogenizer로 균질화시켰다. 균질액을 4°C에서 3000rpm으로 3분간 원심분리한 뒤, 그 상등액 100ul를 취하여 2ml의 cold 10% (w/v) TCA와 함께 18000rpm에서 10분간 다시 원심분리 하였다. 그 상등액 2ml를 시험관에 넣고 0.2ml의 2% (w/v) formaldehyde와 0.1ml의 FeCl₃(0.006 M)/10% TCA 용액을 첨가하여 재빨리 섞은 후 유리 막대로 잘 막고 99~101°C의 물에서 1시간 증탕하였다. 이것을 실온에서 식힌 후 10% TCA를 사용하여 2ml로 부피 조정을 하였다. Tryptophan 농도 측정을 위한 excitation 파장은 373nm이며 emission 파장은 452nm이었다. Tryptophan stock solution(250nM/ml)을 0.1N NH₄ OH로 1 : 100의 비율로 희석시켜 standard solution으로 사용하였다. 두뇌 serotonin과 5-HIAA는 Curzon and Green 방법⁴¹⁾에 의해 분석하였다. 일정량(0.5gr 정도)의 두뇌를 5ml의 cold acidified-n-butanol과 함께 homogenizer로 균질화 하였다. 균질액을 3000rpm에서 3분간 원심 분리한 후, 그 상등액을 n-heptane과 0.1% cysteine 용액을 넣고 5분간 잘 흔든다. 다시 동일한 조건에서 원심 분리한 후 organic phase는 5-HIAA 분석에 사용하기 위해 분리해 두었으며 aqueous phase는 따로 취하여 0.004% (w/v)의 orthophthaldehyde(OPT)/10 N HCl을 첨가하고 충분히 섞은 후, 끓는 물에 10분간 증탕하였다. 이를 25°C로 식혀 spectrophotofluorometer로 excitation 파장 360nm, emission 파장 470 nm에서 serotonin 농도를 측정하였다. Serotonin stock solution(60ug/ml)을 0.1% (w/v) cysteine/0.1 N HCl 용액으로 1 : 100의 비율로 희석하여 standard solution으로 사용하였다. 한편, organic phase는 5-HIAA 농도 측정을 위해 0.5 M phosphate buffer(pH 7) 용액과 함께 10분간 잘 섞은 후, 3000rpm에서 3분간 원심 분리하였다. 이때 분리된 aqueous

phase를 0.2ml 씩 서로 다른 시험관에 분주하여 한 시험관에는 1% (w/v) cysteine 용액과 conc HCl를 섞은 후 0.1% (w/v) OPT/methanol 용액과 0.02ml의 0.02% sodium periodate 용액을 첨가하여 끓는 물에서 10분간 두었다가 25°C로 식혀 spectrophotofluorometer로 excitation 파장 360nm, emission 파장 470nm에서 5-HIAA 농도를 측정하였다. 또다른 시험관에는 0.02% sodium periodate 용액과 conc HCl을 먼저 첨가하고 30분후에 1% cysteine 용액과 0.1% OPT/methanol 용액을 첨가한 뒤, 위와 동일한 방법으로 농도를 측정하여 전자의 농도값에 대한 blank 값으로 사용하였다. 5-HIAA stock solution(15 ug/ml)을 pH 7.0 phosphate buffer solution을 1 : 100의 비율로 희석하여 standard solution으로 사용하였다.

3. 자료의 통계 처리

Exp. I, II의 동물 실험 자료는 일원 변량 분석 방법을 적용하여 analysis of variance(ANOVA)표를 작성한 뒤 Fisher's least significant difference(LSD) test에 의해 각 군별 평균치간의 유의성 검정을 하였다. 또한 각 실험 인자(A : 식이 단백질 수준, B : reserpine 투여 유무, C : tryptophan 투여 유무)의 영향과 이 인자들 사이에 상호작용은 다원 분량분석을 하여 분석하였다^{42,43)}. 모든 자료의 값은 평균치와 표준 편차로 표시하였으며 NCSS(number cruncher statistical system, version 4.1)/PC⁺에 의해 통계 처리하였다.

결과 및 고찰

1. Experiment I

Exp. I에서는 식이 단백질 수준과 reserpine 투여가 흰쥐의 혈청 tryptophan 및 중성 아미노산들의 농도와 두뇌 tryptophan, serotonin 및 5-HIAA 함량 변화에 미치는 영향을 비교하였다.

1) 식이 섭취량과 체중

실험 동물의 식이 섭취량과 체중은 Table 3에서 보는 바와 같았다. 실험 4주 동안의 총 식이 섭취량은 단백질 수준에 따라 유의적인 차이를 보여

Table 3. Food consumption and final body weight of rats in Experiment I

group	Food consumption (gr/4 weeks)	Final body weight (gr)
C20	350.7±68.6 ^{1) 2)} b	208.1±18.8 b
C20+R	345.8±49.4 b	217.8±28.0 b
C6	319.5±39.7 ab	152.8±14.4 a
C6+R	309.4±44.6 a	150.3±16.0 a
significant factor ³⁾	A	A

- 1) Mean±S.D.
- 2) Values with different alphabet within the column were significantly different at $\alpha=0.05$ level by Fisher's LSD test
- 3) A : Effect of dietary protein level was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test

6% casein 식이군이 20% casein 식이군보다 적었다. 실험 종료 직후 동물의 체중도 식이 단백질 수준에 따라 유의적인 차이를 보여 6% casein 식이군이 20% casein 식이군보다 낮았다.

그러나 20%와 6% casein 식이군에 reserpine을 투여했을 때 식이섭취량과 체중은 유의적인 변화를 보이지 않았다. 일반적으로 장기간 약물을 섭취하는 동물은 식욕 감퇴, 흡수 장애, 체중 감소의 증세를 보이면서 영양 불량 상태를 나타냈다⁴⁾. 본 실험에서는 실험 동물의 두뇌 serotonin을 낮추기 위해 투여한 reserpine이 식이 섭취량이나 체중에 영향을 주지 않았으므로 약물 투여로 인한 이차적인 영양 불량 상태를 초래하지는 않았다고 생각한다.

2) 혈청내 중성 아미노산 농도

식이 단백질 수준과 reserpine 투여로 인해 변화된 실험 동물의 혈청내 중성 아미노산 농도는 Table 4에서 보는 바와 같았다. 혈청내 중성 아미노산 즉, valine, leucine, isoleucine, phenylalanine, tyrosine, tryptophan의 농도와 이들의 총 농도는 식이 단백질 수준에 따라 유의적인 차이를 보여 6% casein 식이군이 20% casein 식이군보다 낮았다.

Reserpine을 투여했을 때 혈청내 중성 아미노산 농도는 20%와 6% casein 식이군에서 모두 낮아졌다. 그러나 reserpine 투여로 인한 중성 아미노산

Table 4. Serum large neutral amino acid concentration of rats in Experiment I

group	Large neutral amino acid(LNAA)						Total LNAA
	Valine	Leucine	Isoleucine	Tyrosine	Phenylalanine	Tryptophan	
C20	280.5±49.4 ^{1) 2)} c	295.6±21.4 c	174.1±36.8 d	110.2±39.7 c	126.3±47.7 c	97.1±27.3 bc	1083.9±298.7 b
C20+R	261.3±54.9 bc	217.8±48.4 ab	137.9±25.4 abc	83.7±12.8 ab	91.1±13.5 ab	89.3±11.6 ab	900.7±159.3 ab
C6	213.1±20.3 ab	216.6±16.0 ab	138.6±12.6 abc	70.0±14.3 a	91.8±5.7 ab	73.6±16.0 ab	806.6±44.6 a
C6+R	198.4±14.8 a	188.7±7.9 a	115.2±10.3 a	70.4±17.8 a	82.0±6.4 a	72.7±13.8 a	727.4±61.1 a
significant factor ³⁾	A	A	A, B	A	A	A	A

- 1) Mean±S.D
- 2) Values with different alphabet within the column were significantly different at $\alpha=0.05$ level by Fisher's LSD test
- 3) A : Effect of dietary protein level was significant different at $\alpha=0.05$ level by F-test
B : Effect of reserpine level was significantly at $\alpha=0.05$ level by F-test

농도의 감소율이 20% casein 식이군에서 valine 6.8%, leucine 26.3%, isoleucine 20.8%, tyrosine 24.0%, phenylalanine 27.9%, tryptophan 8.0% 이었던 반면에 6% casein 식이군의 감소율은 valine 6.9%, leucine 12.9%, isoleucine 16.9%, phenylalanine 10.7%이었으며 tyrosine과 tryptophan 농도는 거의 감소하지 않았다. 따라서 reserpine 투여로 인한 중성 아미노산 농도의 감소 현상은 20% casein 식이군에서 6% casein 식이군보다 더 심하게 나타났다.

전반적으로 혈청내 중성 아미노산의 농도는 20% casein 식이군(C 20군)이 가장 높았으며, reserpine을 투여한 20% casein 식이군(C 20+R군)과 6% casein 식이군(C 6 군)이 비슷한 수준으로 낮았으며, reserpine을 투여한 6% casein 식이군(C 6+R군)이 가장 낮았다.

3) 혈청내 tryptophan/LNAA 농도비율과 두뇌 tryptophan, serotonin 및 5-HIAA 함량

실험 동물의 혈청 tryptophan/LNAA 농도비율과 두뇌 tryptophan, serotonin 및 5-HIAA 함량을 비교한 결과는 Table 5에서 보는 바와 같았다. 혈청 tryptophan/LNAA 농도비율은 혈청내 tryptophan 농도를 tryptophan을 제외한 다른 중성 아미노산

들의 총 농도로 나눈 값이다. 혈청 tryptophan/LNAA 농도비율은 20%와 6% casein 식이군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 한편 reserpine을 투여했을 때, 20%와 6% casein 식이군의 혈청 tryptophan/LNAA 비율은 각기 reserpine을 투여하지 않은 군에 비해 다소 높아지는 경향을 보였지만 모든 실험군간에 유의적인 차이는 없었다.

두뇌 tryptophan 함량은 6% casein 식이군이 20% casein 식이군 보다 낮은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 또한 reserpine을 투여했을 때 20%와 6% casein 식이군의 두뇌 tryptophan 함량도 모두 낮은 경향을 보였다.

두뇌 serotonin 함량은 식이 단백질 수준에 따라 유의적인 차이를 보여 6% casein 식이군이 casein 식이군보다 적었다. Reserpine 투여 효과는 단백질 섭취 수준에 따라 다르게 나타나서 20% casein 식이군에서 두뇌 serotonin 함량이 유의적으로 낮아진 반면, 6% casein 식이군에서는 다소 낮아지는 하였으나 유의적인 차이를 보이지 않았다.

두뇌 5-HIAA 함량은 두뇌 serotonin 함량 변화와 대체로 비슷한 경향을 보여 6% casein 식이군이 20% casein 식이군보다 적었고, reserpine 투여로 5-HIAA 함량이 낮아지는 경향을 보였으나 모든

Table 5. Serum tryptophan/LNAA concentration ratio and brain tryptophan, serotonin and 5-HIAA contents of rats in Experiment I

group	Serum tryptophan/LNAA (ratio)	Brain tryptophan (ug/g wet wt)	Brain serotonin (ug/g wet wt)	Brain 5-HIAA (ug/wet wt)
	N.S.			N.S.
C20	0.102±0.034	8.6±1.8 ^{1) 2)} b	1.99±0.37 b	0.50±0.41
C20+R	0.114±0.009	7.1±1.0 ab	1.33±0.20 a	0.32±0.06
C 6	0.102±0.025	7.5±0.7 ab	1.16±0.21 a	0.31±0.08
C 6+R	0.111±0.017	6.2±0.7 a	1.12±0.29 a	0.27±0.04
significant factor ³⁾		A, B	A, B, AB	

1) Mean±S.D

2) Values with different alphabet within the column were significantly different at α=0.05 level by Fisher's LSD test

3) A : Effect of dietary protein level was significant at α=0.05 level by F-test

B : Effect of reserpine level was significant α=0.05 level by F-test

AB : Interaction between A and B factors was significant at α=0.05 level by F-test

N.S. not significant at α=0.05 level by Fisher's LSD test

실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.

따라서 본 실험 결과로부터 두뇌 serotonin 함량은 혈청 tryptophan 농도의 변화와 비슷한 경향을 보여 6% casein 식이군이 20% casein 식이군보다 유의적으로 낮았다. 또한 6% casein 식이군의 두뇌 serotonin 수준은 reserpine을 투여한 20% casein 식이군의 두뇌 serotonin 수준보다 더 낮았다. 그러나 6% casein 식이군과 20% casein 식이군에 reserpine을 투여하였을 때 두뇌 serotonin 수준은 90% casein 식이군에서 유의적으로 낮아졌다. 20%와 6% casein 식이군에 함유된 tryptophan의 양은 각기 식이 1gr당 0.54mg, 0.16mg으로³⁶⁾ 20% casein 식이군의 tryptophan 섭취량은 6% casein 식이군의 약 3배가 된다. 그런데 혈액 tryptophan 농도는 6% casein 식이군이 20% casein 식이군의 약 75% 수준에 이르고 있으며 reserpine 투여로 20% casein 식이군의 혈청 tryptophan 농도는 8% 정도 감소했는데 반하여 6% casein 식이군의 농도는 감소하지 않았다. 아마도 저단백 식이를 섭취할 때 낮아진 두뇌 serotonin 수준을 유지하기 위한 기전이 작용되었거나 혹은 두뇌 serotonin이 워낙 낮아져서 reserpine의 영향을 받을 여지가 없었던 것으로 생각해 볼 수 있겠다.

Serotonin의 합성 전구체인 혈청 tryptophan은 그 절대량보다 혈청의 중성 아미노산의 대한 상대적 농도 비율에 의해 두뇌로 이동하며 그 이동 정도에 따라 두뇌 serotonin 합성율이 변화한다³³⁾고 알려져 있다. 그러나 본 실험에서 혈청 tryptophan/LNAA 비율은 식이 단백질과 reserpine 투여에 의해 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 실험 식이의 탄수화물 수준이 동일하였기 때문에 혈청 중성 아미노산에 대한 인슐린의 효과가 어느 정도 배제되었을 것이고, 또한 식이 단백질 수준은 모든 혈청 중성 아미노산 농도 변화에 비슷한 영향을 주었기 때문이라고 생각할 수 있겠다. 한편, 두뇌 serotonin의 유일하고 효과적인 대사 작용은 monoamine oxidase에 의한 탈아민 반응으로, 그 대사 산물로서 5-HIAA가 생긴다. 두뇌 serotonin 대사 과정은 end-product inhibition이 없다는 점에서 두뇌 5-HIAA 수준은 두뇌 serotonin 합성율의 좋은 지표가 될

수 있다고⁴⁵⁾ 여겨진다. 본 실험에서 5-HIAA 함량은 유의적인 차이는 아니었지만 6% casein 식이군이 20% casein 식이군보다 낮은 경향을 보였으며 reserpine을 투여할 때 다소 낮아지는 경향을 보여 두뇌 serotonin 함량 변화를 반영한 것으로 보였다.

이상과 같이 식이 단백질 수준이 낮을 때, 또는 reserpine을 투여했을 때 흰쥐의 두뇌 serotonin 수준이 낮아짐을 확인하였으므로 이 실험 동물에서 6% casein 식이와 reserpine 투여로 낮아진 두뇌 serotonin 수준을 회복시키는 데 20% casein 식이와 tryptophan 투여가 어느 정도의 효과를 나타내는지 알아보려고 다음 실험을 수행하였다.

2. Experiment II

Exp. II에서 Exp. I과 같이 식이 단백질 수준과 reserpine 투여를 달리하여 흰쥐를 사육한 뒤, 감소된 두뇌 serotonin 수준을 회복하기 위하여 이

Table 6. Food consumption and final body weight of rats in Experiment II

group		Food consumption (gr/2 weeks)	Final body weight (gr)
C20	-TRP	163.7±20.3 ^{1) 2)} a b	230.8±16.4 c
C20	+TRP	161.6±23.5 b	218.2±28.2 bc
C20+R	-TRP	175.2±39.6 b	236.7±20.4 c
C20+R	+TRP	169.7±54.4 b	232.3±26.0 c
C 6	-TRP	145.2±39.0 a	184.4±18.2 a
C 6	+TRP	152.9±16.2 ab	192.6±11.3 a
C 6+R	-TRP	165.5±18.4 ab	199.6±19.3 ab
C 6+R	+TRP	146.1±16.1 a	184.4±14.0 a
significant factor ³⁾		A	A, AC

1) Mean±S.D

2) Values with different alphabet with the column significantly different at α=0.05 level by Fisher's LSD test

3) A : Effect of dietary protein level was significant at α=0.05 level by F-test

C : Effect of tryptophan level was significant at α=0.05 level by F-test

AC : Interaction between A and C factor was significant at α=0.05 level by F-test

Table 7. Serum neutral amino acid concentration of rats in Experiment II ($\mu\text{M/L}$)

group	Large neutral amino acid(LNHH)						Total	
	Valine	Leucine	Isoleucine	Tyrosine	Phenylalanine	Tryptophan	LNAA	
	N.S.							
C20 -TRP	227.9±29.6	197.4±28.6 ¹⁾ a	121.1±13.5 a	79.6±9.0 a	88.3±10.2 a	84.4±13.6 a	794.1±94.3 a	
C20 -TRP	234.6±55.3	213.9±56.0 ab	131.6±24.5 ab	91.7±17.1 ab	96.1±16.9 a	89.3±9.7 a	857.2±180.8 a	
C20+R-TRP	248.1±68.6	220.3±40.8 ab	135.0±26.9 ab	77.7±13.7 a	93.7±7.9 a	82.7±22.7 a	857.5±155.9 a	
C20+R+TRP	282.9±79.4	265.3±58.5 b	157.3±38.1 b	91.4±20.4 ab	105.9±14.3 b	84.1±33.1 a	986.9±222.9 ab	
C 6 -TRP	239.1±12.7	234.6±38.8 ab	142.3±18.4 ab	95.3±11.4 ab	92.8±19.2 a	82.0±13.1 a	886.1±86.2 a	
C 6 -TRP	267.5±31.0	237.8±19.5 ab	157.4±16.7 b	100.5±25.2 ab	92.0±15.6 a	92.6±18.0 a	906.7±102.9 ab	
C 6+R-TRP	253.1±43.2	232.5±30.6 ab	146.6±10.7 ab	83.7±17.1 a	100.1±10.5 a	90.7±17.3 a	983.9±78.2 ab	
C 6+R+TRP	256.1±60.8	233.5±44.7 ab	129.9±20.2 ab	105.1±20.6 b	88.7±11.6 a	113.8±12.4 b	927.1±114.6 ab	

1) Mean±S.D

2) Values with different alphabet within the column were significantly different at $\alpha=0.05$ level by Fisher's LSD test

3) A : Effect of dietary protein level was significant different at $\alpha=0.05$ level by F-test

B : Effect of reserpine level was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test

C : Effect of tryptophan level was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test

AB : Interaction between A & B factor was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test

N.S. not significant at $\alpha=0.05$ level by Fisher's LSD test

단백질 섭취와 두뇌 Serotonin 대사

실험 동물들에게 2주 동안 20% casein 식이와 함께 L-tryptophan을 투여하였다. Exp. I에서와 같이 섭취한 식이 단백질의 수준에 따라 tryptophan 투여가 흰쥐의 혈청 tryptophan과 중성 아미노산 농도, 두뇌 tryptophan, serotonin 및 5-HIAA 함량 변화에 미친 영향을 비교하였다.

1) 식이 섭취량과 체중

Tryptophan 투여기간 동안의 실험 동물의 총식이 섭취량과 실험 종료시 체중은 Table 6에서 보는 바와 같다. 실험 2주 동안 모든 실험 군간에 식이 섭취량은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 tryptophan 투여로 다소 감소하는 경향을 보였다. 같은 기간에 흰쥐의 체중은 식이 단백질 수준에 따라 유의적인 차이를 보여 6% casein 식이군이 20% casein 식이군보다 가벼웠으며, 전반적으로 tryptophan을 투여할 때 체중이 감소하는 경향을

보였다. 그러나 식이 단백질 수준과 tryptophan 투여와의 상호 작용의 영향으로 6% casein 식이군에서는 tryptophan 투여로 체중이 다소 증가하는 경향을 보였다. 결과적으로 tryptophan 투여기간에 20% casein 식이군의 체중이 6% casein 식이군보다 유의적으로 높았으며 tryptophan 투여는 흰쥐의 체중 변화에 큰 영향을 주지 않았다. 따라서 실험 동물에서 tryptophan 투여에 의한 이차적인 부작용은 없었던 것으로 생각된다.

2) 혈청내 중성 아미노산 농도

Table 7에서 보는바와 같이 실험동물에게 2주 동안 20% casein식이다. tryptophan을 준 결과, 혈청내 중성 아미노산 농도는 각 군간에 유의적인 차이없이 비슷한 수준을 보였다. 그러나 tryptophan을 투여했을 때 혈청 중성 아미노산 농도는 다소 높아지는 경향을 보였으며 특히 tyrosine 농

Table 8. Serum tryptophan/LNAA concentration ratio and tryptophan, serotonin and 5-HIAA contents of rats in Experiment II

group	Serum tryptophan/LNAA (ratio)	Brain tryptophan (ug/g wet wt)	Brain serotonin (ug/g wet wt)	Brain 5-HIAA (ug/wet wt)
C20 -TRP	0.119±0.018 ^{1) a b}	7.4±0.8 ab	2.18±0.71 d	0.29±0.15
C20 +TRP	0.097±0.050 ab	8.8±0.9 de	1.05±0.18 ab	0.28±0.04
C20+R-TRP	0.106±0.015 ab	8.5±0.5 cde	0.90±0.17 a	0.30±0.04
C20+R+TRP	0.091±0.023 a	9.5±1.9 ef	1.87±0.20 cd	0.29±0.03
C 6 -TRP	0.122±0.046 ab	8.0±0.7 bcd	1.28±0.16 ab	0.30±0.06
C 6 +TRP	0.108±0.014 ab	6.1±0.6 a	1.38±0.32 b	0.24±0.07
C 6+R-TRP	0.111±0.014 ab	7.4±1.5 bc	1.47±0.20 bc	0.31±0.03
C 6+R+TRP	0.127±0.040 b	9.7±0.6 f	1.07±0.36 ab	0.29±0.05
significant factor ³⁾		A, B, C, AC, BC, ABC	BC, ABC	N.S.

1) Mean±S.D

2) Values with different alphabet within the column were significantly different at α=0.05 level by Fisher's LSD test

3) A : Effect of dietary protein level was significant at α=0.05 level by F-test

B : Effect of reserpine level was significant α=0.05 level by F-test

C : Effect of tryptophan level was significant at α=0.05 level by F-test.

AC : Interaction between A & C factor was significant at α=0.05 level by F-test

BC : Interaction between B & C factor was significant at α=0.05 level by F-test

ABC : Interaction among A, B & C factor was significant at α=0.05 level by F-test

N.S. not significant at α=0.05 level by Fisher's LSD test

도는 reserpine을 투여한 6% casein 군에서 유의적으로 증가하였다. 혈청 tryptophan 농도도 tryptophan을 투여할 때 증가하는 경향을 보였으며 특히 reserpine을 투여한 6% casein 식이군에서 유의적으로 높았다. 혈청 증성 아미노산 총 농도도 tryptophan을 투여할 때 대체로 높아지는 경향을 보였으나 reserpine을 투여한 6% casein 식이군에서는 낮아지는 경향을 보였다.

3) 혈청 tryptophan/LNAA 농도비율과 두뇌 tryptophan, serotonin 및 5-HIAA 함량

Table 8에서와 같이 혈청 tryptophan/LNAA 비율은 유의적인 차이는 아니었으나 20% casein 식이군이 6% casein 식이군보다 대체로 낮은 경향을 보였으며 tryptophan을 투여할 때 그 비율이 낮아졌다. 그러나 reserpine을 투여했던 6% casein 식

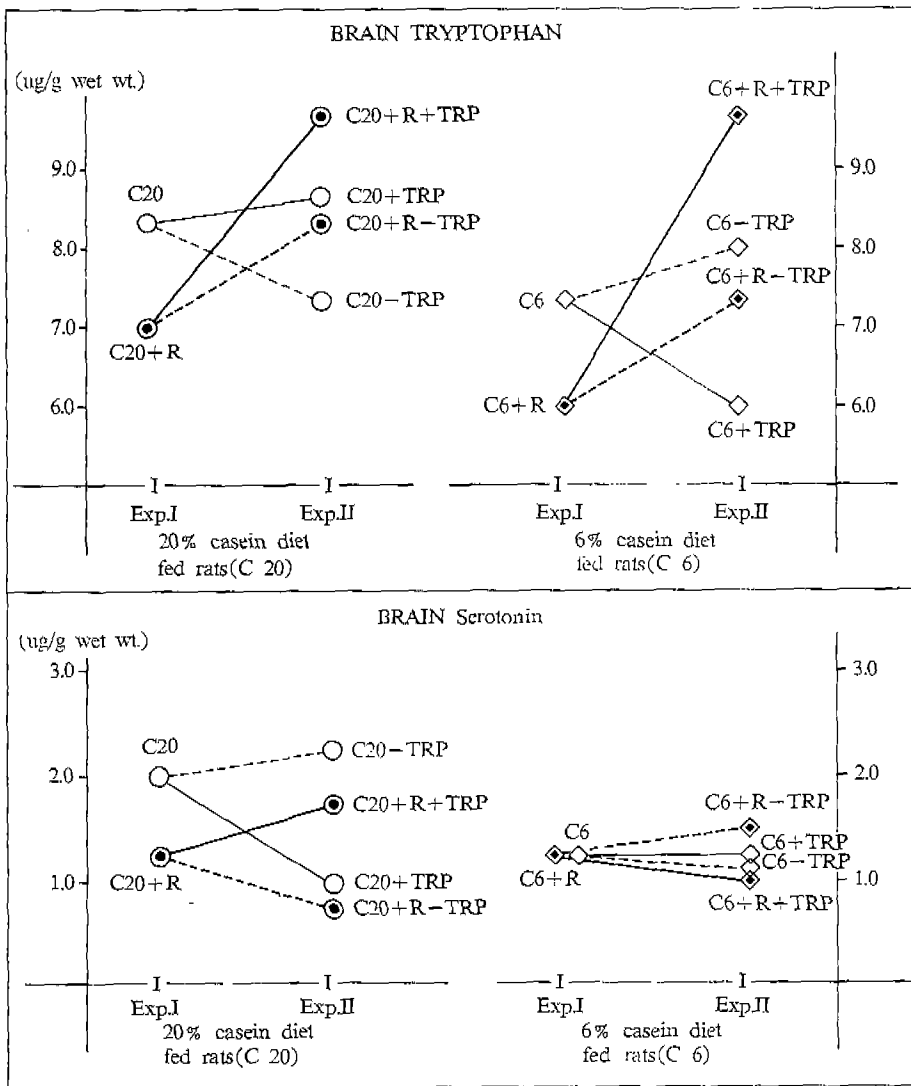


Fig. 1. Brain tryptophan and serotonin contents of rats in Experiment I and II.
 — tryptophan treated --- tryptophan not treated
 ●◇ reserpine treated ○◇ reserpine not treated

이군에서 tryptophan/LNAA 비율이 tryptophan 투여로 높아지는 경향을 보였다.

두뇌 tryptophan 함량은 식이 단백질 수준과 tryptophan 투여에 의한 영향 및 두 인자간의 상호작용의 영향으로 유의적인 변화를 하였다. 따라서 20% casein 식이군의 두뇌 tryptophan 함량은 6% casein 식이군보다 낮은 편이었으며, tryptophan의 투여로 20% casein 식이군의 두뇌 tryptophan 함량은 유의적으로 증가하였고 6% casein 식이군에서는 오히려 낮아지는 경향을 보였다. 한편, reserpine을 투여한 20% casein 식이군의 두뇌 tryptophan 함량은 reserpine을 투여한 6% casein 식이군의 것보다 높은 경향을 보였으며, tryptophan 투여로 두 식이군의 두뇌 tryptophan의 함량은 모두 증가하는 경향을 보였는데 특히 reserpine을 투여한 6% casein 식이군의 경우는 유의적이었다.

두뇌 serotonin 함량은 식이 단백질 수준과 tryptophan 투여와의 상호작용의 영향이 유의적이어서 20% casein 식이군이 6% casein 식이군보다 많았으나 tryptophan을 투여했을 때 20% casein 식이군에서는 두뇌 serotonin이 유의적으로 감소했던 반면, 6% casein 식이군에서는 증가하는 경향을 보였다. 그러나 reserpine을 투여한 20% casein 식이군의 두뇌 serotonin 함량이 reserpine을 투여한 6% casein 식이군보다 낮았는데 tryptophan의 투여로 reserpine을 투여한 20% casein 식이군의 두뇌 serotonin 함량이 유의적인 증가를 하였다.

두뇌 5-HIAA 함량은 모든 실험 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으며 전반적으로 tryptophan 투여로 다소 감소하는 경향을 보였다.

따라서 reserpine을 투여하여 실험 동물의 두뇌 serotonin을 고갈시킨 후, 이를 회복시키기 위해 투여한 tryptophan의 효과는 20% casein 식이군에서 우수하게 나타나 두뇌 serotonin 함량을 유의적으로 증가시켰음을 확인하였다(Fig. 1). Reserpine을 투여한 6% casein 식이군에서는 tryptophan의 투여로 두뇌 tryptophan 함량이 증가했음에도 불구하고 두뇌 serotonin 함량은 감소하는 경향을 보였다. 아마도 저 단백질 식이를 섭취한 결과, 두뇌 tryptophan을 serotonin으로 전환시키는 효소인 trypto-

phan hydroxylase의 기능이 결핍되었고 그로 인하여 serotonin 합성이 효과적으로 이루어 지지 못한 것 이라고 생각할 수 있다.

본 실험에서 혈청 tryptophan/LNAA 농도비율이나 두뇌 5-HIAA 함량은 두뇌 tryptophan이나 serotonin 함량의 변화를 예측하는데 일관성 있는 결과를 보여주지 않았다. Wurtman과 Fernstrom^{20,25)}은 두뇌 tryptophan 수준을 알 수 있는 가장 좋은 지표로 혈액 총 tryptophan 농도나 free tryptophan 농도, tryptophan/LNAA 비율중에서 혈액 tryptophan/LNAA 비율을 들고 있다. 그 이유는 식이와 함께 섭취된 tryptophan이 혈액내에서 다른 중성 아미노산들과는 무관하게 대사되므로 이런 상황에서 두뇌로 이동되는 tryptophan양은 blood-brain barrier에서 다른 중성 아미노산과의 경쟁정도에 의해 결정되기 때문이라는 것이다. 그러나 본 실험에서는 혈청 tryptophan/LNAA의 농도비율과 두뇌 5-HIAA 함량은 식이 단백질 수준이나 tryptophan 투여에 의한 영향을 거의 받지 않았으며, 5-HIAA의 경우 Curzon과 Green⁴¹⁾이 제시한 두뇌 수준(0.51±0.05 ug/g midbrain)보다 다소 낮았다. 더우기 tryptophan을 투여했을 때 두뇌 tryptophan이 증가해도 5-HIAA 함량은 증가하지 않았는데 이는 혹시 reserpine의 지속적인 효과로 두뇌에서 5-HIAA가 계속 제거되었기 때문이 아닌가 생각된다.

결과적으로 reserpine 투여에 의해 감소된 원주의 두뇌 tryptophan과 serotonin 함량을 증가시키는 tryptophan 투여 효과는 식이 단백질 수준이 높을 때 더 우수하게 나타났다. 그러나 식이 조작으로 실험 동물의 혈청내 tryptophan/LNAA 농도 비율이나 두뇌 tryptophan, serotonin 수준이 높아졌어도 serotonin계 신경세포의 전기적인 활성에는 차이가 나지 않았다는 Trulson⁴⁶⁾의 결과에서와 같이 식이 단백질을 통해 tryptophan을 두뇌로 이동시키는 방법은 시간적, 양적인 측면에서 복강이나 정맥을 통한 약물적인 투여 방법에 비해 두뇌에 영향을 주기에는 역부족이라는 반대 의견이 있다. 또한 실험 동물에서 유도된 두뇌 serotonin 대사의 변화가 사람에서 보이는 우울증과 같은 정서 변화를 유발시키는지 확인할 수 없다는 문제점이 있다.

요약 및 결론

인간의 행위를 조절 통제하는 두뇌에서는 그 정보 전달의 매체로 신경전달물질을 사용한다. 그 중에 정서나 섭식, 수면의 조절 부위로 알려진 변연계에는 tryptophan을 전구체로 하는 serotonin인 많이 존재한다고 알려져 있다. 그 합성 전구체가 되는 tryptophan은 혈액에서 두뇌로 이동될 때 서로 경쟁하는 중성 아미노산들 때문에 그 아미노산들에 대한 상대적인 농도비율에 의해 두뇌 이동량이 결정되며 이것은 serotonin 합성량을 조절하는 요인이 될 수 있다. 그런데 혈액내 tryptophan의 상대적인 농도비율은 식이내 단백질과 탄수화물의 함량에 따라 분비가 조절되는 인슈린의 영향으로 변화되어 질 수 있으며 이와 같은 관계는 장기간의 편중된 식습관이 두뇌 기능에 영향을 미칠 수 있다는 생각을 가능하게 한다.

본 논문에서는 식이 단백질 수준의 변화와 tryptophan의 경구투여를 통해 두뇌 serotonin 대사에 영향을 미칠 수 있는지 알아보기 위해 두편의 동물 실험을 시행하였다.

첫번째 실험은 Sprague-Dawley 종 흰쥐에게 6% casein 식이와 20% casein 식이를 섭취시키면서 reserpine을 투여하였을 때 흰쥐의 혈청 tryptophan 및 중성 아미노산 농도와 tryptophan/LNAA 농도 비율, 두뇌 tryptophan, serotonin 및 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA) 수준이 낮아지는지 보았다.

두뇌 serotonin 함량은 식이 단백질 섭취 수준에 따라 유의적인 차이를 보여 6% casein 식이군이 20% casein 식이군보다 낮았다. 혈청 tryptophan/LNAA 농도비율, 혈청 및 두뇌 tryptophan 농도, 두뇌 5-HIAA 함량도 비슷한 경향을 보였지만 유의적인 차이는 아니었다. 두뇌 serotonin 수준을 감소시켜 유사 우울증을 유발시키기 위한 목적으로 reserpine을 투여했을 때 6% casein 식이군과 20% casein 식이군에서 두뇌 serotonin 함량이 유의적으로 감소하였다.

두번째 실험에서는 reserpine 투여로 두뇌 serotonin 함량이 낮아진 흰쥐에게 tryptophan을 경구하여

혈액 tryptophan과 tryptophan/LNAA 농도비율, 두뇌 tryptophan, serotonin 및 5-HIAA 수준 변화를 살펴 보았다.

혈청 tryptophan 농도는 tryptophan을 투여했을 때 reserpine-treated 6%, 20% casein 식이군에서 모두 증가하는 경향을 보였으며 특히 6% casein 식이군에서 유의적으로 높았다. 혈청 tryptophan/LNAA 농도비율은 tryptophan을 투여했을 때 유의적인 아니나 reserpine-treated 6% casein 식이군에서 높고 reserpine-treated 20% casein 식이군에서 낮은 경향을 보였다. 두뇌 tryptophan 함량은 reserpine-treated 6%, 20% casein 식이군에서 모두 증가하였으며 6% casein 식이군의 경우 유의적이었다. 그러나 두뇌 serotonin 함량은 reserpine-treated 6% casein 식이군에서 감소하는 경향을 보였으나 reserpine-treated 20% casein 식이군에서는 유의적인 증가를 하였다. 결과적으로 reserpine 투여에 의해 감소된 흰쥐의 두뇌 tryptophan과 serotonin 함량을 증가시키기 위한 tryptophan의 효과는 20% casein 식이군에서 우수하게 나타났다. 따라서 식이 단백질 수준이 높을 때와 tryptophan을 섭취시킬 때 reserpine 투여로 낮아진 두뇌 serotonin 수준이 높아짐을 확인하였다.

본 연구의 결과, 실험 동물에서 식이 단백질 수준이 낮을수록 두뇌 serotonin 함량이 적은 경향을 볼 수 있었으며, 식이 단백질 수준이 높을 수록 투여한 tryptophan이 reserpine 투여로 낮아진 두뇌 serotonin을 증가시키는 효과가 좋았다. 이러한 결과들을 식이 단백질 섭취 수준이 낮아서 두뇌 tryptophan 및 serotonin 수준이 낮아지면 우울증에 걸릴 경향이 높아지며 고단백 질 식이와 tryptophan 섭취는 두뇌 serotonin 수준을 높혀 우울증을 회복시킬 수 있다는 가설에 부합하였다. 따라서 식이 성분을 변화시켜 두뇌 기능, 특히 정서와 관련된 행위의 변화를 유도할 수 있다는 가능성을 확인할 수 있었다. 그러나 실험 동물에서 유도된 두뇌 serotonin 대사 변화가 사람에서 보이는 우울증과 같은 정서 변화를 유도하는지 확인할 수 없었으므로 사람을 대상으로 식이 단백질 수준과 우울 경향과의 관계를 확인할 필요가 있다. 신경 전달물질과 연관된 영

양소와 두뇌 기능과의 관계 연구는 육체와 정신의 관계를 이해하는데 보다 가까이 접근할 수 있다는 관점에서 계속 연구해 볼 가치가 있다고 여겨진다.

Literature cited

- 1) 이정균. 정신의학, 일조각, 181-205, 1985
- 2) Rosenberg & Leiman. 생리 심리학, 장현갑(역) (교육 과학사, 1987), 536-46, 1982
- 3) Garfield SL. 임상 심리학, 김증술, 원호백(공역) (법문사, 1988), 186-206, 1983
- 4) Sourkes TL. Biochemistry of mental depression, Can. Psychiatri. Associa J 22 ; 467-81, 1977
- 5) Coppen A. The biochemistry of affective disorders, Brit. J Psychiatric 113 ; 1237-64, 1967
- 6) 이범상. Biological psychiatry의 최근 동향-정서 장애의 내분비계통을 중심으로 23(1) ; 43-9, 1984
- 7) Kety SS. A biologist examines the mind and behaviors, Science 132 ; 1861-70, 1960
- 8) Show DM. 5-HT in the hindbrain of depressive suicides. Brit J Psychiat 113 ; 1407-11, 1967
- 9) Bourne HR. Noradrenaline, 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in hidbrains of suicidal patients, Lancet 2 ; 805-8, 1968
- 10) Birkmayer W. Biochemical post-mortem findings in depressed patients. J Neural Transmission 37 ; 95-109, 1975
- 11) 민성길. 항우울제와 항불안제-새로운 약물을 중심으로. 신경정신의학부록 25(2) ; 3-13, 1986
- 12) Davison GC ect. 이상 심리학. 이봉건(역)(1985), 185-215, 1980
- 13) Kety SS. The biological substrates of abnormal mental states, Fed. Proceed 37(9) ; 2267-70, 1978
- 14) Cooper JR, ect. 신경 약리학의 생화학적 기초, 서유현(역), (한국 학술 진흥 재단 번역 총서 61 권, 대한 교과서 주식회사, 1988) 301-11, 1986
- 15) Growdon JH. Neurotransmitter precursors in the diet, In : Nutrition and brain, 3(ed, RJ Wurtzman and JJ Wurtzman), Ravin Press, 117-21, 1979
- 16) Scrimshaw NS. Daily fluctuation of plasma amino acid levels in adult men : Effect of dietary tryptophan intake and distribution of meals. J Nutrition 101 ; 61-70, 1971
- 17) Fernstrom JD. Diurnal variations in plasma concentration of tryptophan, tyrosine and other neutral amino acid : Effect of dietary protein intake. Am J Clini Nutri 32 ; 1912-22, 1979
- 18) Houtsmuller MT. Metabolic fate of dietary lecithin, In : Nutrition and brain(ed. RJ. Wurtzman, JJ Wurtzman) 5, Ravin Press, 83-94, 1979
- 19) Fernstrom JD. Neutral amino acid in the brain. J Neurochem 30 ; 1531-8, 1978
- 20) Fernstrom JD & RJ Wurtzman. Nutrition and Brain, In : Human physiology and environment in health and diseases(ed. AJ Vander), Freeman and Company 38-45, 1976
- 21) Wurtman JJ. Neurotransmitter control of carbohydrate consumption, In : Experimental assessment and clinical applications of conditional food aversion, Anna. NY. Acade Science 443 ; 145-51, 1985
- 22) Wurtman RJ. Precursor control of neurotransmitter synthesis, Pharmacol. Review 32(4) ; 315-35, 1981
- 23) Wurtman RJ. Fernstrom JD. Brain serotonin content : Increase following ingestion of carbohydrate diet. Science 174 ; 1023-5, 1971
- 24) Wurtman RJ. Fernstrom JD. Brain serotonin content : physiological regulation by plasma neutral amino acid. Science ; 178 ; 414-6, 1972
- 25) Fernstrom JD. Acute and chronic effects of protein and carbohydrate ingestion on brain tryptophan levels and serotonin synthesis. Nutr. Rev, (sup) 5, 1986
- 26) Fernstrom JD, Faller DV. Neutral amino acid in the brain : change in response to food ingestion. J Neurochemi 30 ; 1531-38, 1978
- 27) Hartmann EL. L-tryptophan and sleep. Psychopharmacologia 19 ; 114-27, 1971
- 28) Dietrich SH. Nutrition and sleeping behavior, In : Nutrition and neurobiology. Bibliotheca Nutritio et Dieta, 38 ; 87-93, 1986
- 29) Wyatt RJ. Effect of L-tryptophan on human sleep. The Lancet, Oct(24), 842-5, 1970
- 30) Coppen A. Tryptophan in the treatment of depression. The Lancet, Dec(2), 1178-80, 1967
- 31) Coppen A. The comparative antidepressant value

- of L-tryptophan and imipramine with and without attempted potentiation by liothyronine. *Arch Gen Psychia* 26 : 234-41, 1972
- 32) Takashiki S. Effect of L-5-hydroxytryptophan on brain monoamine metabolism and evaluation of its clinical effect in depressed patients. *J Psychia Res* 12 ; 177-86, 1975
- 33) Lytle LD etc. Mechanisms of nutritent action on brain function, In : *Human nutrition : nutrition and behavior*, ed. Plenum Press 223-65, 1984
- 34) Madras BM, Munro HN. Relevance of free tryptophan in serum to tissue tryptophan concentration. *Metabolism* 23(12), 1107-16, 1974
- 35) Moller SE. Plasma amino acids as an index for subgroups in manic depressive psychosis : correlation to effect of tryptophan. *Psychopharmacology* 49 ; 205-13, 1976
- 36) FAO of United Ntions. Food composition tables for the near east, FAO Food & Nutrition Paper 26 : 147, 1982
- 37) Bender DA. Metabolic and pharmacological studies, In : *Chemistry and biochemistry of amino acid*(ed Barret GC), Chapman & Hall Ltd 167, 1985
- 38) Bower MB etc. Long-term therapy of myolonus and other neurologic disorder with L-5-OH-tryptophan and carbidopa. *N Engl J Med* 296 ; 70-5, 1977
- 39) Bloxam DL, Warren WH. Error in the determination of tryptophan by the method of Denkla and Dewey. A revised procedure. *Anal Biochemi* 60 : 621-5, 1974
- 40) Denkla WD, Dewey HK. The determination of tryptophan in plasma, liver and urine. *J Lab & Med* 69(1) ; 160-9, 1967
- 41) Curzon G, Green A. Rapid method for the determination of 5-hydroxytryptamine and 5-HIAA in small regions of rat brain. *Brit J Pharma* 29 ; 653-5, 1970
- 42) Daniel WW. *Biostatics : A foundation for analysis in the health Sciences*, 3 rd ed. John Wiley & Sons, 230-47, 1983
- 43) 임인재. 교육, 심리, 사회 연구를 위한 통계 방법. 박영사, 355-420, 1983
- 44) Roe DA. Drug induced nutritional deficiency, In : *Diet and Drug interaction*, AVI, 83-103, 1989
- 45) Wurtman RJ, Fernstrom JD. Brain serotonin content : physiological dependence on plasma tryptophan levels. *Science*, 173 ; 149-52, 1971
- 46) Trulson ME. Dietary tryptophan does not alter the function of brain serotonin neurons, *Life science* 37 ; 1067-72, 1985