

동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vo1. 14. No. 1, 2003

黃連解毒湯이 우울증 모형 동물의 우울성향 및 PVN의 c-Fos 발현에 미치는 효과

정선용, 김종우, 이정륜*, 장현호*, 김현택*, 황의완
경희대학교 한의과대학 신경정신과 교실
고려대학교 심리학과*

Effects of Hwangryeonhaedoktang on Depression and c-Fos Expression in Paraventricular Nucleus of the Brain in the Chronic Mild Stress Treated Rats.

Sun-Yong Chung, Jong-Woo Kim, Jung-Ryun Lee*,
Hyun-Ho Jang*, Hyun-Taek Kim*, Wei-Wan Whang

Department of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea
Department of Psychology, Korea University, Seoul, Korea*

Objective : This study was designed to assess the protective effects of Hwangryeonhaedoktang on the animal model of depression, induced by chronic mild stress(CMS).

Method : Male Sprague-Dawley rats were used for this experiment. The subjects were divided into 3 groups (1. CMS-drug: Hwangryeonhaedoktang administered during CMS treatment, 2. CMS-vehicle: water administered, 3. normal). After 4 weeks of CMS treatment, they were executed forced swimming test(FST), open field test and c-Fos in paraventricular nucleus(PVN) were measured.

Result :

1. In FST, immobility behavior decreased significantly in CMS-drug group.
2. There was no difference in the open field test between 3 groups
3. c-Fos expressed cell bodies in PVN were significantly less in CMS-drug than in CMS-vehicle group.

Conclusion : These results suggest that Hwangryeonhaedoktang may have protective antidepressant effects in CMS model rats. And these effects could be explained by the elevated stress-coping behaviors which are related with PVN of hypothalamus.

Key words : Hwangryeonhaedoktang, chronic mild stress, forced swimming test, open field test, c-Fos.

I. 緒論

우울증이란 우울 기분, 거의 모든 활동에 있어서의 흥미나 즐거움의 상실, 식욕·체중·수면·정신 운동 활동에서의 변화, 감소된 에너지, 무가치감, 죄책감, 생각하고 집중하고 결정 내리는 데에 대한 어려움, 반복되는 죽음에 대한 생각 또는 자살 계획 및 시도 등의 증상을 포괄하는 정신 장애¹⁾로, 최근 사회가 복잡해지면서 증가한 스트레스에 대한 개인의 대응능력의 저하로 발생이 증가하고 있는, 정신과 영역에서의 대표적인 질환이다^{2,3)}.

한의학적으로는 우울증을 鬱證의 범주로 보고, 氣機가 鬱滯되어 通暢하지 못함으로써 유발되는 病證으로 인식하여 왔다⁴⁾. 鬱證은 《內經》에서 급성적이라기보다는 만성적인 억압으로 말미암아 형성되는 舒暢, 通暢되지 못한 상태로 설명된 이후⁵⁾, 후대로 갈수록 정신적인 개념의 의미가 커져서, 明代의 張介賓⁶⁾에 의해 怒鬱, 思鬱, 憂鬱 등의 情志之鬱이라는 개념으로 설정된 후 우울증을 포함하는 의미가 되었다.

鬱症의 원인은 情志所傷, 肝氣鬱結로 인한 五臟氣機의 不和이며, 그 治法은 順氣, 補氣血, 祛痰開竅 등의 방법이 있다⁷⁾. 그리하여 그 동안의 실험논문들도 順氣를 위주로 하는 分心氣飲^{8,9)}과 補氣血의 의미를 지니고 있는 歸脾溫膽湯^{10,11)}, 歸脾湯¹²⁻¹⁴⁾, 補血安神湯¹⁵⁻¹⁷⁾과 祛痰開竅의 遠志石菖蒲散^{18,19)} 등의 약제가 연구되어 왔다.

그러나 朱²⁰⁾는 “모든 병은 얻은 지 오래되면 鬱이 되고 鬱이 오래되면 蒸熱하여 반드시 火가 생긴다”고 하여 鬱症이 오래되면 鬱久化火하여 火의 양상을 띠게 됨을 알 수 있고, 《東醫寶鑑》²¹⁾에서는 “又有藏府厥陽之火 根於五志之內 六慾七情激之 其火隨起 大怒則火起於肝 醉飽則火起於胃 房勞則火起於腎 悲哀則火起於肺 心爲君主 自焚則死矣”라고 하여 우울증과 관련이 있는 悲哀에 의해서도 火가 발생됨을 알 수 있다. 그리고, 김²²⁾은 전신체열활영에서 우울증환자의 체열이 대조군에 비해 높다는 보고를 하였다. 이상을 종합해 보면, 우울증에 대한 한의학적 치료에서 火와 관련된 처방도 고려할 수 있다고 사료되어,

이번 연구에서 火와 관련된 대표적 처방으로, 熱毒을 치료하는 黃連解毒湯을 사용하여 실험하였다.

黃連解毒湯은 黃芩, 黃連, 黃柏, 梔子로 구성된 淸熱瀉火解毒의 대표적인 處方으로, 傷寒의 大熱과 煩燥로 인하여 잠자지 못하고, 혹은 나온 뒤에 술을 마셔 다시 심해진 증과 一切의 熱毒을 다스린다²¹⁾. 그동안 黃連解毒湯을 이용한 실험이나 임상연구들을 보면, 진통·소염·해열작용²³⁾, 고혈압²⁴⁾, 고지혈증²⁴⁾, 중풍환자의 불면증²⁵⁾ 등에 대해 효과가 있다는 연구는 있었으나, 우울증에 대해 효과가 있다는 연구는 없었다.

우울증의 실험연구를 위한 동물 모델로는 여러 연구들²⁶⁻³⁰⁾이 사용되어 왔으며, 그중에서 Willner에 의해 제안된 chronic mild stress(CMS)모델³¹⁾은 경미한 강도의 스트레스에 반복적으로 노출시켜 우울증의 특징 중의 하나인 무쾌감증을 유발하도록 고안되었으며, 인간의 일상을 잘 모사할 수 있는 모델로 알려져 있다³²⁾.

이번 연구에서는 黃連解毒湯의 우울증에 대한 예방 및 치료효과를 보기 위하여, 우울증 유발을 위해 CMS 처치를 하는 동시에 검액을 투여하고, CMS 처치가 끝난 후 강제수영검사(forced swimming test, FST)를 통해 우울정도를 측정하였고, 면역조직화학적 기법을 이용하여 시상하부의 paraventricular nucleus(PVN)에서 스트레스를 받으면 발현이 증가되는 것으로 알려진 c-fos 단백질의 발현을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗

1. 動物 및 藥材

1) 動物

Sprague Dawley종의 수컷 흰쥐가 피험동물로 사용되었다. CMS 처치 직전 동물의 체중은 약 260g 이었다. 동물은 3-4마리씩 집단 사육하였고 사육실의 실온은 23±2℃로 유지시켰다. 물과 먹

이는 충분히 제공하였고, 주야 주기는 12시간씩 인위적으로 조절하였다. CMS 처치가 시작되면서 통제동물은 원래의 사육실에 그대로 두었고, 스트레스 처치를 받는 동물들은 크기와 조건이 동일한 다른 사육실로 옮겼다.

이는 CMS 처치에 압박이는 불빛과 소음과 같은 스트레스 자극이 포함되어 있었기 때문이다.

2) 實驗群 設定 및 處置

본 연구에는 모두 3 집단의 동물이 사용되었다.

① 正常群(Normal group) : CMS 처치를 받지 않는 집단으로 CMS 처치에 대한 통제군으로 사용되었다.

② 對照群(CMS-vehicle group) : CMS 처치를 받지만 약물투여는 받지 않는 집단으로 약물 대신에 vehicle로 물이 투여되었다. 이 집단은 약물 처치에 대한 통제군으로 사용되었다.

③ 實驗群(CMS-drug group) : 4주간의 CMS 처치를 받는 동안 黃連解毒湯을 투여받는 집단으로 약물처치에 대한 실험군으로 사용되었다.

3) 藥材

이 실험에서 사용된 약제는 慶熙醫療院 韓方病院 藥劑科를 통해 구입·정선한 것을 사용하였다 (Table 1).

Table 1.
Contents of Hwangryeonhaedoktang

Drug name		Dose
黃芩	Scutellariae Radix	15g
黃連	Coptidis Rhizoma	15g
黃柏	Phellodendri Cortex	15g
梔子	Gardeniae Fructus	15g
Total amount		60g

2. 方法

1) 檢液의 調製

실험에 사용된 黃連解毒湯은 Table 1에 제시된 처방 약제를 10첩 단위로 전탕 후 냉동건조하여 분말 상태로 만들어 사용하였다. 우선, 약제 1첩당 물(시중에서 판매되는 생수를 이용하였음) 300cc의 비율로 혼합하여 환류냉각 장치에서 3시간 동안 가열 후, 1차 전탕액을 얻었다. 이 전탕액을 다시 회전식 진공 플라스크에 넣고 감압농축시켜 2차 원액을 얻었다. 2차 원액은 다시 냉동건조절차를 거쳐 고체 형태의 추출물로 만들어졌다. 이 과정에서 약제 1첩 당 약 3g의 추출물이 얻어지게 되며, 추출물은 분쇄기를 이용해 분말상태로 만들어 이용하였다. 실험이 진행되는 동안 분말상태의 약제는 냉장보관 하였다.

2) 檢液의 投與

분말상태의 추출물을 하루 투여량 만큼씩 물에 녹여 현탁액을 만든 후, 경구투여용 주사기를 이용해 실험동물의 위로 바로 주입하였다. 인간의 경우(체중 60kg 기준) 黃連解毒湯은 1일 처방량이 2첩이고, 이는 정제된 추출물 6g에 해당된다. 이를 기준으로 실험동물에게 투여할 양을 인간 1일 처방량의 5배로 계산하면 1일 투여량이 0.5g/kg이 된다. 첫 날 검액을 투여하기 전에 동물의 체중을 측정하여 첫 날의 투여량을 결정하였고, 그 후에는 1주일 마다 체중을 측정하여 투여량을 조절하였다. 실제 동물에게 투여된 현탁액의 양은 8ml/kg이었다. CMS-vehicle 집단 의 쥐들에게는 동일한 양의 물을 경구투여 하였다.

3) Chronic mild stress 節次

동물에게 가해진 스트레스 자극에는 물 또는 먹이 박탈, 주야 주기의 역전, 과밀집, 격리, 압박이는 불빛, 소음, 사육상자 기울이기, 그리고 축축한 깔짚 등이 포함되었다. 이들 다양한 스트레스 자극들을 적절하게 배열하여 1주일 단위의 스트레스 프로토콜(Figure 1)을 만들었기 때문에 동물은 언제 어떤 종류의 스트레스가 제시될지 예측할 수 없다. 이렇게 만든 스트레스 프로토콜에 따라 다양한 상황에 동물을 4주간 반복해서 노출시켰다. CMS 처치 기간동안 1주일 간격으로 몸무게를 측정하여 관찰하였고, 이를 기준으로 약물 투여량을 조절하였다.

time	D-1	D-2	D-3	D-4	D-5	D-6	D-7
01:00				WN(2h)			WN
02:00							(2h)
03:00							
04:00				WN(2h)			WN
05:00			WD				(3h)
06:00	WD	TH	(15h)		WD	MC	LOF
07:00	FD	(20h)		WN(1h)	FD	(22h)	(18h)
08:00	MC				(18h)		
09:00	(20h)						WN
10:00							(1h)
11:00			EB	SS			
12:00			(2h)	(4h)			
13:00							Tilt
14:00	SI(1h)						(8h)
15:00				SS	RF		LON
16:00		SS	Tilt	(2h)	(2h)	SS	(12h)
17:00		(7h)	(7h)			(9h)	
18:00					MC		
19:00				SS	(22h)		WD
20:00	TH		WN	(3h)		SC	FD
21:00	(20h)	WD	(3h)		(18h)		MC
22:00		(15h)		WD		WN	(20h)
23:00				FD		LOF	
24:00			WN(2h)	(18h)		(12h)	

Figure 1. Chronic Mild Stress Protocol. FD: food deprivation, WD: water deprivation, SS: stroboscope illumination, Tilt: tilt cage (45°), TH: tripled housing, MC: mouse cage, RF: restricted access to food (scattering of ground food), SC: soiled cage (100 ml water in bedding), LOF: light off, LON: light on, SI: sucrose intake, EB: empty water bottle, WN: white noise.

4) Forced swimming test³³⁾의 裝置 및 節次
CMS 모형을 사용한 많은 연구들에서 우울증
대한 지표로 자당섭취량이 측정되었다. 그러
최근에 자당섭취량이 CMS 동물의 우울증에
한 신뢰로운 지표가 될 수 없다는 견해가 등장
있고^{34,35)}, 일부 연구자들은 자당섭취량 대신에
물을 물에 넣어 수영을 하게 하는 FST를 행동
사로 사용하고 있다³⁶⁻³⁸⁾. 본 연구에서도 최근에
기된 자당섭취량이 가진 문제점을 감안하여 우
증을 평가하기 위한 도구로 FST를 사용하였

본 실험에 사용된 장치는 투명 아크릴로 제작
원통형 수조(지름 20cm, 높이 40cm)였다. 이
조에 25cm 높이로 물(25℃)을 채우고 동물을
었다. 실험은 2일 연속해서 실시되었다. 적용시
인 첫째 날에는 동물을 15분간 물이 담긴 수조
넣어 어떤 처치도 가하지 않은 채 자유롭게
영하게 하였다. 15분이 경과하면 동물을 끄집
내어 마른 수건으로 닦은 다음 따뜻한 곳에 두
몸의 물기가 마르게 하였다. 24시간이 경과한
번째 날에는 동일한 수조에 동물을 넣고 5분
수영하게 하였다. 이후의 분석을 위해 첫째날
두 번째 날 모두 비디오 카메라를 사용하여
화였다. 동물이 수영하는 동안 숙련된 실험자
5초에 한번씩 동물의 행동을 관찰하여 기록하
다(총 60회). 기록된 행동은 수영(swimming),
어오르기(climbing), 그리고 무활동(immobility)
었다. 무활동이란 동물이 물에 빠지지 않기 위
서 자세를 유지하는 행동 외에 다른 행동이 나
가지 않는 것이다. 이는 물에 빠진 동물이 물에서
어나기 위한 시도를 포기했음을 의미하는 행동
(behavioral despair)인 동시에 우울증의 한 행동
형으로 간주되어²⁷⁾ 항우울제의 효과를 검증하는
구에 많이 사용된다. 그러므로 FST에서 동물이
활동을 많이 보인다는 것은 우울 성향이 높은 것
로, 수영이나 기어오르기 등의 활동을 많이 나타
면 우울 성향이 낮은 것으로 해석된다.

5) Locomotor activity in open field test^{8,17)}의
置 및 節次

예측 불가능한 만성 스트레스와 본 연구에서
치된 약물이 동물의 활동성과 정서성에 영향을 미

치는가를 알아보기 위해 개방장에서 동물의 보행활
동 정도와 형태를 관찰하였다.

본 연구에 사용된 개방장(open field) 장치는
75×75×25cm 크기의 검은 나무상자이고, 바닥에는 15
cm 간격의 흰 선이 바둑판 모양으로 그려져 있으며,
이 흰 선은 개방장을 중심영역과 주변영역으로 구분
하는 기준으로 사용된다(Figure 2). 흰쥐는 새로운
환경에 노출되었을 때 탐색행동을 보이며, 탐색행동
의 지표로 보행활동이 측정될 수 있다. 또한 어두운
장소를 선호하는 흰쥐는 트여있는 중심영역보다는
벽이 있는 주변영역을 따라 많이 움직이는 경향이
있으므로 중심영역과 주변영역을 돌아다닌 거리를
측정하여 정서성을 평가할 수 있다. 개방장 장치는
2M 높이의 천정에 백열전구(60W 220V) 조명 하에
설치되고, 중앙부 천장에 카메라를 설치하여
SmaTracker V 1.3 (SmarTech, USA)를 사용하여
동물의 행동을 기록하고 분석하였다.

CMS 처치 종료후 2-3일 사이에 개방장에서의 보
행활동 검사를 실시하였다. 실험이 시작되기 30분 전
에 동물을 행동관찰실로 옮겨 실험 상황에 적응시켰
다. 그 후 동물을 개방장의 중심영역인 가운데 부분
(Figure 2의 start point)에 올려놓고 15분 동안 보행
활동을 기록하였다. 한 동물에 대한 실험이 종료되면
그 동물이 남긴 냄새를 없애기 위해서 개방장 장치
를 깨끗이 닦아 내었다. 분석한 행동은 ① 15분 동안
동물이 움직인 거리, ② 주변 영역에서 움직인 거리,
그리고 ③ 중심영역에서 움직인 거리가 포함되었다.

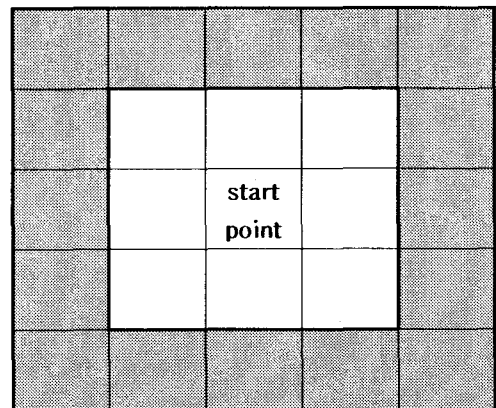


Figure 2. Open Field Apparatus. Dark blocks show marginal area and bright blocks indicate center area.

6) 免疫組織化學 節次 : PVN에서의 c-Fos 發顯
 4주간의 스트레스 및 약물 처치 후 동물을 식
 염수(100ml)에 이어 10% 포르말린 용액(500ml,
 0.2M phosphate buffer와 혼합)으로 심장을 통해
 관류하였다. 500ml의 포르말린 용액중 200ml는
 처음 5분간, 나머지 300ml는 25분간 주입하면서
 고정시켰다. 그 다음 뇌를 적출하여 동일한 고정
 액에 3시간 동안 고정시켰고, 20%의 sucrose가
 함유된 phosphate buffer saline (PBS, pH 7.2)에
 넣어 4℃에서 하루 밤 동안 보관하였다가 냉동절
 편기로 30 μ m 두께의 뇌절편을 만들었다. 이 절편
 을 PBS로 3-4회 세척하여 Fos 발현 연구에 가
 장 널리 사용되는 primary sheep anti-Fos
 antibody (Cambridge Research Biochemicals)에
 노출시켰다(4℃, 72시간). primary antibody는
 0.3% Triton-X100(PBST)에서 2% normal rabbit
 serum과 0.001% keyhole limpets hemocyanin
 (Sigma)으로 2000배 희석하여 준비하였다. 그 후
 뇌절편을 PBST로 세척하고 2시간 동안 실온에
 서 2% normal rabbit serum을 함유하는 PBST
 로 200배 희석한 biotinylated rabbit anti-sheep
 serum (Vector Laboratories)에 반응시켰다.
 PBST로 3회 세척한 다음 뇌절편을 실온에서 2
 시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent
 (Vector Laboratories)에 담갔다. 그 후 PBS로
 3-4회 행군 다음 뇌절편을 착색제(diaminobenzidine)
 로 발현시켰다.

완성된 뇌절편을 현미경에 올리고 100배 확대
 하여 조직사진을 촬영하였다. 사진에서
 paraventricular nucleus(PVN)의 중앙부를 기준
 으로 2x2cm의 정사각형을 그리고, 그 영역에서
 c-Fos가 발현된 cell body의 개수를 세어 발현
 정도에 대한 지표로 삼았다.

7) 統計分析

자료는 집단별 평균과 표준오차(SEM)로 나타
 내었다. FST와 locomotor activity 검사에서 측정
 된 자료는 일원변량분석(one-way ANOVA)과
 필요시 Duncan의 방법을 사용하여 개별 비교하
 였다. 몸무게 변화는 반복측정하의 이원변량분석
 (two-way ANOVA with repeated measures)으
 로 처리하였고, 각각의 측정 시기에서 집단간 비

교를 위한 단순주효과 분석과 Duncan의 개별 비
 교를 실시하였다. 면적조직화학 자료의 분석에도
 FST와 동일한 방법을 적용하였다. 모든 통계분
 석에서 통계적 유의성을 판단하는 기준은 p<.05
 였다.

III. 實驗成績

1. 體重變化

4주간의 CMS 절차를 실시하면서 1주일 간격
 으로 모든 집단의 동물의 체중을 측정하여 그 결
 과를 아래의 Table 2와 Figure 3에 제시하였다.
 CMS 처치만 받은 CMS-vehicle 집단과
 CMS-drug 집단의 체중은 정상동물(Normal)에
 비해 유의미하게 낮았다[F(2, 33)=37.86, p<.01].
 또한 黃連解毒湯을 처치한 CMS-drug 집단의 체
 중이 week 2에서 통계적으로 유의하게
 CMS-vehicle 집단보다도 낮았으나 그 이외에는
 두 집단 간 차이가 없었다.

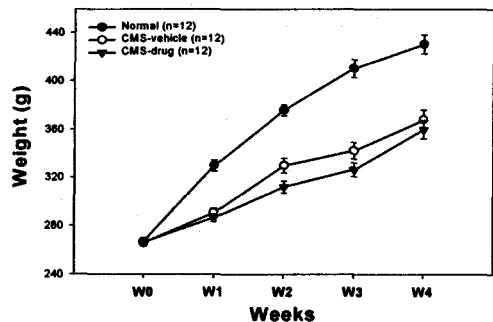


Figure 3. Weight changes during 4 weeks of CMS. Data are shown as mean±SEM.

Table 2. Weight Changes during 4 Weeks of Chronic Mild Stress Procedure

Group	Cases (n)	Body weight(g)				
		baseline	week 1	week 2	week 3	week 4
Normal	12	266.67±3.16	329.58±4.54	375.83±4.52	410.42±7.27	430.42±7.82
CMS-vehicle	12	265.83±2.81	290.42±4.01	329.58±6.20	342.08±6.87	367.92±8.20
CMS-drug	12	266.25±1.39	286.25±3.02	311.67±5.01	326.25±5.74	360.00±7.66
Comparisons		NS	N>Cv=Cd	N>Cv>Cd	N>Cv=Cd	N>Cv=Cd

All values are Mean±SEM.

NS: not significant

N: Normal, Cv: CMS-vehicle, Cd: CMS-drug.

Duncan's method was used in the multiple comparison (p<.05).

2. Forced swimming test 實驗成績

동물의 우울 경향성을 알아보기 위해서 실시한 FST에서 관찰한 무활동(immobility), 수영행동(swimming), 그리고 기어오르기(climbing)의 집단별 성적을 Table 3과 Figure 4에 제시하였다. 세 집단을 대상으로 변량분석한 결과 무활동[F(2, 33)=11.724 p<.01]과 수영행동[F(2, 33)=5.630, p<.01]에서는 집단간 차이가 통계적으로 유의미하였으나, 기어오르기[F(2, 33)=.064, p=.517]에서는 집단간에 차이가 없었다.

집단간 차이가 있는 두 가지 행동유형을 Duncan의 중다비교법으로 자세히 비교하였다. 우울에 대한 지표로 간주되는 "behavioral despair", 즉 무활동은 다른 두 집단에 비해 CMS-vehicle 집단에서 더 많이 나타났고 (p<.05), 이와는 반대 의미를 갖는 수영행동에서는 CMS-drug 집단의 성적이 CMS-vehicle 집단의 성적보다 유의미하게 높았으며(p<.05), 정상집단의 성적도 CMS-vehicle 집단의 성적에 비해 높은 경향성을 보여주었다(p=.051).

Table 3.

Frequency of Each Behavior Measured in Forced Swimming Test Following CMS

Behavioral types	Normal	CMS-vehicle	CMS-drug	comparisons
Immobility	35.33±1.68	42.42±1.49	30.67±1.97	N=Cd<Cv
Swimming	13.58±1.90	8.17±1.35	17.08±7.99	Cv<Cd
Climbing	10.92±1.10	10.25±1.27	12.25±4.65	NS

All values are Mean±SEM.

NS: not significant

N: Normal, Cv: CMS-vehicle, Cd: CMS-drug.

Duncan's method was used in the multiple comparisons (p<.05).

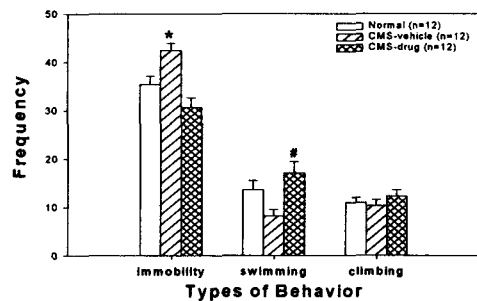


Figure 4.

Frequency of behaviors measured in forced swimming test (Mean±SEM). Asterisk indicates that the differences between the marked group and other two groups were significant and sharp represents the difference between the marked group and CMS-vehicle group(Duncan's method, p<.05).

3. Locomotor activity in open field test 實驗成績

FST를 실시한 결과 CMS-vehicle 군에서 우울성향을 반영하는 행동적 포기(behavioral despair)가 다른 두 집단에 비해 높게 나타났고, 이 변화는 4주간의 黃連解毒湯 투여에 의해 방지되었다. 이런 스트레스 처치 또는 약물 투여의 효과가 동물의 활동성을 변화시켜 나타낸 이차적인 것일 수도 있으므로, 새로운 환경인 개방장에서의 활동성을 알아보기 위한 보행 활동 검사의 집단별 성적을 아래의 Table 4와 Figure 5에 제시하였다. 개방장 검사에서 관찰한 주변영역, 중심영역, 그리고 전체 영역을 동물이 보행한 거리를 세 집단을 대상으로 변량분석한 결과 주변영역, 중심영역, 그리고 전체 거리에서 모두 통계적으로 유의미한 차이가 없었다.

Table 4. Locomotor Activities in Open Field Box Following CMS

	Distance		
	Marginal area	Center area	Total
Normal	22009.98± 468.64	1691.61±246.33	23701.60± 549.76
CMS-vehicle	19523.98± 496.18	1768.35±199.03	21292.33± 470.50
CMS-drug	21821.11±1337.01	1560.92±171.52	23382.03±1263.81
Comparisons	NS	NS	NS

All values are Mean±SEM

NS: not significant

All values are measured by SmaTracker V 1.3 (SmarTech, USA)

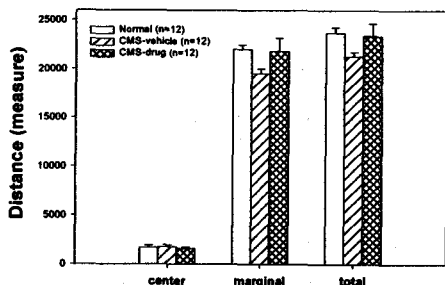


Figure 5. Locomotor activity in open field box. Data are expressed as Mean±SEM.

4. PVN에서의 c-Fos 發顯 結果

스트레스 처치 후에 PVN에서 c-Fos가 발현된 세포체의 수를 측정하는 것이 Table 5와 Figure 6에 제시되어 있다.

c-Fos가 발현된 세포체의 수를 변량분석한 결과 집단간 차이가 관찰되었다[F(2, 12)=19.463, p<.01]. 이를 집단별로 비교해보면 CMS-vehicle > CMS-drug = Normal 집단의 순으로 분석된다 (Duncan's method, p<.05).

Table 5. c-Fos Expression in PVN Following CMS

	(unit : number)		
	Normal	CMS-vehicle	CMS-drug
c-Fos	37.53±4.04	63.67±2.10	40.42±3.30
comparisons	N=Cd<Cv		

All values are Mean±SEM.

NS: not significant.

N: Normal, Cv: CMS-vehicle, Cd: CMS-drug.

Duncan's method was used in the multiple comparisons (p<.05).

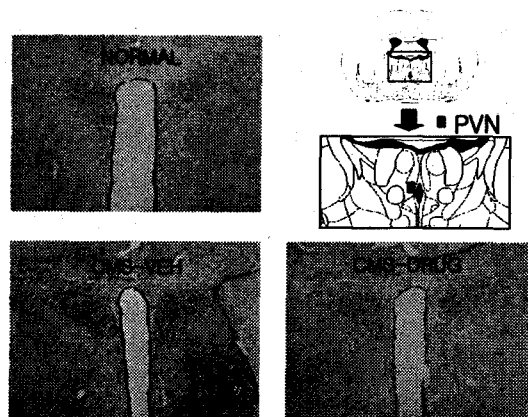


Figure 6. c-Fos expression in PVN following CMS

IV. 考 察

한의학에서 우울증은 鬱證으로 인식되어 왔다³⁹⁾. 鬱은 凡滯而不通⁴⁰⁾, 結取而不得發越²⁰⁾, 病結不散⁴¹⁾의 의미로, 氣機가 鬱滯되어 通暢하지 못함으로써 유발되는 病證을 總稱하는 것이고⁴²⁾ 억울되고 침울한 정신상태로 인하여 모든 생리기능이 침체되는 현상이며, 鬱의 원인으로는 발산시킬 수 없는 욕구불만이나 지속되는 우수, 지나친 사교나 비탄 등이 있다⁴³⁾.

鬱에 대한 최초의 언급은 《內經》⁵⁾에서 보이는데, 《素問·至真要大論》에서는 “諸氣膈鬱皆屬于肺”라고 하였고, 《素問·本病論》에서는 “久而化鬱”, “日久成鬱”, “抑之變鬱”, “伏之化鬱”이라 하여 오래도록 소통이 되지 않은 상태라는 개념으로 鬱을 언급하였다. 치법도 또한 언급되었는데 《素問·刺法論》에서는 “鬱發散而可矣”, 《素問·六元正紀大論》에서는 “木鬱達之, 火鬱發之, 土鬱奪之, 金鬱泄之, 水鬱折之”라 하였다.

朱는 《丹溪心法附餘》²⁰⁾에서 實鬱, 濕鬱, 痰鬱, 血鬱, 熱鬱, 食鬱의 六鬱로 분류하였으며, “모든 병은 언은 지 오래되면 鬱이 되고, 鬱이 오래되면 蒸熱하여 반드시 火가 생긴다.”라고 하여 鬱의 病因病機를 설명하였고, 明代의 張은 《景岳全書》⁶⁾에서 怒鬱, 思鬱, 憂鬱 등의 情志之鬱을 언급하면서 이를 心과 관련시켰으며, 清代의 葉은 《臨証指南醫案》⁴⁴⁾에서 “슬퍼하고 우는 것은 감정이 안에서 일어나서 생긴 병이고, 병이 鬱에서 생겼으므로.....”라 하여 情志之鬱로 인한 임상사례를 상세하게 다룸으로써 鬱證과 정신적인 측면 사이의 관련성을 제시하였다.

李의 《證治彙補》⁴⁵⁾에서는 鬱證의 治法에 관해서 順氣를 우선으로 하고 開提를 다음으로 하며 降火, 化痰, 消積에 이르기까지 마땅히 多少를 나누어 치료해야 한다고 했고, 許의 《中醫腦病學》⁷⁾에서는 鬱證의 治法으로 疏肝理氣解鬱이 가장 중요하고, 겸해서 行血, 化痰, 利濕, 清熱, 消食을 취하라고 언급되어 있다.

기존의 鬱證 연구들을 보면, 順氣를 위주로 하는 分心氣飲^{8,9)}과 補氣血의 의미를 지니고 있는 歸脾溫膽湯^{10,11)}, 歸脾湯¹²⁻¹⁴⁾, 補血安神湯¹⁵⁻¹⁷⁾과 祛

痰開竅의 遠志石菖蒲散^{18,19)} 등의 약제가 연구되어 왔고, 鬱證에 대한 치료 또는 예방 효과가 있다는 결과가 나왔다. 그러나 鬱證에서 清熱위주 약제의 효과에 대한 연구는 없었다.

본 연구에서는 鬱證을, 氣鬱이 오래되어서 나타나는 鬱久化火의 측면²⁰⁾과, 悲哀하면 火가 일어난다²¹⁾는 동의보감의 내용과, 전신체열촬영에서 우울증환자의 체열이 대조군에 비해 높다²²⁾고 보고된 것을 고려하여, 清熱의 치료법을 적용하기로 하고, 清熱藥으로만 구성된 대표적인 처방인 黃連解毒湯을 투여하였다.

黃連解毒湯의 처방내용은 葛의 《肘後備急方》⁴⁶⁾에 “時氣溫疫症 若己六七日 熱極心下煩悶 狂言見鬼 慾起走煩嘔 不得眠口燥呻吟 錯語不得臥症”에 응용한다고 처음으로 수록되었으나 처방내용만 있고 處方名은 기재되지 않았고, 黃連解毒湯이란 方名은 王의 《外臺秘要·崔氏方》⁴⁷⁾에서 처음으로 보여진다. 黃連解毒湯은 黃芩, 黃連, 黃柏, 梔子로 구성된 처방으로, 清熱瀉火解毒의 대표적인 處方이며 外感이나 內傷으로 인한 一切의 火熱을 治하여 三焦熱盛, 大熱煩狂, 口燥咽乾, 錯語不眠, 吐血發斑, 癰腫疔毒 등을 다스린다⁴⁶⁻⁵²⁾.

黃連解毒湯을 구성하는 黃芩, 黃連, 黃柏, 梔子 각각의 효능을 보면, 黃芩⁵³⁾은 實火를 瀉下하고 濕熱을 제거하며 止血하고 胎를 안정시켜서, 심한 熱로 인한 煩渴, 肺가 熱하여 나는 기침, 濕熱로 생긴 泄瀉와 痢疾, 黃疸, 熱淋, 吐衄, 崩漏, 目赤腫痛, 胎動不安, 癰腫疔瘡를 치료하고, 黃連⁵³⁾은 火를 풀고 濕을 제거하며 解毒하여, 流行性 熱病, 장티푸스, 煩悶, 痞滿嘔逆, 細菌性 痢疾, 熱性泄瀉, 肺結核, 嘔吐, 鼻出血, 下血, 消渴, 疳積, 百日咳, 咽喉의 浮腫 및 疼痛, 火眼, 口瘡, 癰疽 瘡毒, 濕疹, 火傷, 燙傷 등을 치료하며, 黃柏⁵³⁾은 熱을 내리고 濕한 것을 燥하게 하며 火를 瀉下하고 解毒하는 효능이 있어서, 더위에 의한 下痢, 糖尿, 黃疸, 夢精, 淋濁, 痔疾, 便血, 赤白帶下, 骨蒸勞熱, 目赤腫痛, 瘡瘍腫毒을 치료하고, 梔子⁵³⁾는 熱을 제거하고, 火를 내리며 涼血하는 효능이 있어서, 熱病, 虛煩, 不眠症, 黃疸, 淋病, 消渴, 吐血, 鼻出血, 血痢, 血尿, 熱毒, 瘡瘍, 捻挫의 痛症을 치료한다고 알려져 있다.

그동안의 黃連解毒湯에 대한 연구를 보면, 진

동·소염·해열작용²³⁾, 고혈압²⁴⁾, 고지혈증²⁴⁾ 등에 효과가 있다는 연구들 외에도, 수면시간 연장^{54,55)}으로 진정작용이 있다는 실험연구 보고가 있고, 黃連解毒湯 藥針投與가 발병 6개월 이내의 중장년층 남성의 緊張性 頭痛에 우수한 효과가 있다⁵⁶⁾는 임상보고와 黃連解毒湯의 경구투여가 중풍 환자의 不眠症에 유효하다⁵⁷⁾는 보고가 있어서 黃連解毒湯이 정신과적인 증상에 효과가 있음을 알 수 있으나, 우울증에 관한 연구는 없었다. 黃芩, 黃連, 黃柏, 梔子 각각의 약물에 대한 연구에서도 李⁵⁷⁾의 黃柏에 대한 실험적 연구에서 黃柏은 血清 serotonin, melatonin 농도 및 행동양태에 영향을 미쳐서 우울증에 효능이 있을 수 있다는 보고 외에는 우울증과 관련된 실험적 연구는 없었다.

우울증의 치료를 위한 항우울제의 개발 과정에서 다양한 우울증 동물모델들이 시도되어 왔다⁵⁸⁾. 동물모델들은 강한 행동상의 유사성·공통된 원인·비슷한 병리적 과정·공통된 치료방법의 조건을 충족시켜야 하는데, 우울증 모델들은 그 안에 어릴 때나 발달단계나 어른이 된 후의 유전적 선택이나, 여러 가지 처치·환경적인 스트레스 또는 약물 처치 등의 결과로 나타나는 우울행동을 포함하고 있다⁵⁹⁾.

이러한 모델로, 유전적으로 선택된 Flinders Sensitive Line(FSL)모델³⁰⁾, 신생아기에 Clorimipramine 처치를 한 neonatal CLI treatment 모델²⁹⁾, 출생후 모성박탈 모델²⁸⁾ 등이 있는데, 최근에는 한번의 강한 스트레스 상황에서의 노출이나, 또는 다양한 정도의 스트레스에의 반복적인 노출이 학습된 무력감(learned helplessness)을 초래하고⁶⁰⁾, 도피 시도(escape attempt)를 방해하고⁶⁰⁾, 맛있는 음식이나 음료의 소비를 감소시키고^{61,62)}, 뇌내자기자극(intracranial self stimulant)에 대한 반응을 방해한다⁶³⁾고 알려지면서, 스트레스가 우울증을 유발하거나, 악화시키는 역할이 점차 강조되고 있고^{60,64)}, 동물에게 스트레스 자극을 주고 우울증상을 유발하는 형태의 모델들이 많이 시도되고 있다. 스트레스를 주는 방법으로는 foot-shock⁶⁵⁾, restraint⁶⁶⁾, tail suspension⁶⁷⁾, 강제보행⁶⁸⁾ 등 다양한 방법이 사용되었는데, 그중에서도 Willner³¹⁾가 제안한 CMS 모델은 인간의 생활 스트레스와 유사한 소음이

나, 빛, 식음료의 제한, 거주환경의 악화 등 경미한 스트레스를 지속적으로 가하여, 인간의 우울증과 유사한 증상을 유발하는 것으로³²⁾, 우울증의 핵심증상인 흥미나 쾌락의 상실(anhedonia)의 증상을 나타내어, 우수한 우울증 동물모델로서 인정받고 있어서⁶⁹⁾ 본 실험에서 우울증 모델로 채택하였다.

CMS 모델을 사용한 실험에서 우울증에 대한 지표로 주로 자당섭취량이 측정되어 왔었는데⁷⁰⁾, 최근에는 자당섭취량의 감소가 음식과 물의 박탈로 유발되는 체중의 감소와 관계가 있다는 보고^{71,72)} 등으로 논란이 있어서, 본 실험에서는 FST⁷¹⁾와 PVN에서 c-Fos가 발현된 세포체 수를 측정하여 우울성향을 평가하였다^{68,73-75)}.

기존의 CMS 모델을 이용한 우울증의 실험에서는, 먼저 CMS 처치를 3주정도 하여 실험동물에서 우울증을 유발하고, 그 다음에 실험약물을 4주정도 투여하여 치료효과를 보는 실험들을 하여 왔으나^{8,9,11-13,16,17,76)}, 최근에는 우울증에 대한 약물의 치료효과뿐 아니라 예방효과를 측정하기 위해, CMS 처치의 시작과 동시에 약물을 투여하여, 우울증 유발의 억제에 관한 실험이 행해지고 있다^{18,19)}. 본 실험에서도 黃連解毒湯의 우울증에 대한 치료효과뿐 아니라, 예방효과를 측정하기 위하여, CMS 처치를 시작함과 동시에 黃連解毒湯을 투여하였다.

본 연구의 실험에서는 4주간의 CMS 절차를 실시하면서 1주일 간격으로 모든 집단의 동물의 체중을 측정하였다. CMS 처치만 받은 CMS-vehicle 집단과 黃連解毒湯을 처치한 CMS-drug 집단의 체중은 정상동물(Normal)에 비해 유의미하게 낮았는데, 이런 결과는 CMS 프로토콜에 물과 먹이를 박탈하는 스트레스가 포함되었기 때문일 것이다.

우울증에 대한 지표로 활용되는 FST는 흰쥐를 도피 불가능한 수조에 빠뜨리고 나서의 활동 상황을 측정하는 것으로, 처음에는 출구를 찾아 격렬히 수영을 하고, 수조의 벽을 기어오르려는 노력을 하나, 결국은 코를 수면 위에 내놓기 위한 최소한의 동작 이외에는 특징적인 부동자세를 취함이 관찰되는데, 이 특징적인 부동자세를 스트레스로 유발된 학습된 무력감 혹은 절망행동

(behavioral despair)으로 보고²⁷⁾, 일정시간동안 일정시간간격으로 흰쥐를 관찰하면서 흰쥐가 나타내는 부동자세의 횡수를 측정하여 우울성향을 측정하는 것이다^{33,36-38)}. 우울증에 치료효과가 있다고 알려진 대부분의 항우울제, 전기충격요법, REM 수면박탈, 좋은 생활환경 등에 의하여, 이 부동자세의 횡수가 감소된다는 점에서 우울증의 지표로 간주되었고, 실험방법이 간단하고 예측타당도(predictive validity)가 인정되어 있어서 항우울제의 효과판정을 위한 방법으로 현재까지 널리 사용되고 있다^{33,37,77)}.

본 연구의 실험에서는 우울에 대한 지표로 간주되는 무활동이 CMS-vehicle 집단에서 다른 두 집단보다 더 많이 나타났고($p < .05$), 이와는 반대 의미를 갖는 수영행동에서는 다른 두 집단보다 유의미하게 낮았다. 이 분석 결과는 만성적인 스트레스에 노출된 동물이 FST에서 정상동물에 비해 우울 성향을 더 많이 보여준다는 점과, 스트레스를 가하면서 黃連解毒湯을 투여하면 스트레스에 의한 우울 성향의 증가가 차단됨을 나타낸다. 다시 말해서 무활동과 수영행동 분석결과를 CMS 처치가 동물의 우울 성향을 높인다는 것과 CMS와 함께 투여된 黃連解毒湯이 항우울효과를 가지고 있음을 보여준다.

CMS 처치가 정서에 미치는 영향을 측정하기 위해서, 개방장 검사를 하였다^{8,17)}. CMS 처치로 인한 스트레스 또는 약물 투여의 효과가 동물의 활동성을 변화시켜 나타난 이차적인 것일 수도 있으므로, 새로운 환경인 개방장에서 동물의 활동성을 알아보기 위한 보행활동 검사를 실시하였다. 보행활동은 비교적 불특정한 탐색활동으로, 운동협응(motor coordination)의 방해로 인해 증가되는 수도 있어 개방장에서의 행동이 단순히 특정한 내적 상태를 반영하는 것이 아니라 여러 가지 요인에 영향을 받을 수 있다는 단점이 있으나, 다양한 행동들은 불안이나 공포와 같은 정서 상태를 특정하고자 하는 데 가장 분명하고 직접적인 자료를 제공할 수 있다⁷⁸⁾. 실험결과 정상군, 대조군, 실험군 모두에서 차이가 없었다. 이 분석 결과는 만성적인 스트레스에 노출된 동물과 黃連解毒湯을 투여한 동물이 정상 동물과 비교하여 활동성에 변화가 없음을 보여주었다. 또한 주변

영역과 중심영역을 보행한 거리에도 통계적으로 유의미한 차이가 없으므로, 만성 스트레스 및 黃連解毒湯의 처치가 동물에서 불안이나 공포와 같은 정서성의 변화에는 영향을 미치지 않았음을 보여준다.

PVN은 뇌-뇌하수체-부신축에서 중요한 부위이며 뇌하수체의 호르몬 분비, 특히 부신피질호르몬 자극인자 분비에 영향을 미친다⁷⁹⁾. 정신적 스트레스에 대하여 그 생체 방어 반응으로서 ACTH 및 부신피질계의 기능이 항진된다고 하는 시스템은 생체에 부가된 스트레스의 유무와 정도를 아는 지표로써 널리 사용되고 있다²⁾. 즉, 정신적 스트레스를 많이 받은 경우, PVN은 그에 대하여 뇌하수체의 호르몬 분비를 더욱 활성화시키므로, PVN의 활성도가 크면 정신적 스트레스를 많이 받고 있다고 추정할 수 있다.

PVN의 활성도를 측정하는 방법으로는 면역조직화학법을 사용하였는데, 면역조직화학법은 지표물질을 항체반응시켜서 나타나는 유사 면역반응성으로 대뇌 여러부위에서의 발현을 간접적으로 측정하는 것이다^{73,80)}. 본 실험에서는 c-fos 단백질 이용하였는데, c-fos 단백질은 c-fos gene의 산물이고, c-fos gene은 proto-oncogene의 일종이며 immediate early gene(IEG)의 하나로서 세포분열과 세포분화의 역할 뿐만 아니라 세포 표면에 전달된 자극에 반응하여 장기간 지속되는 세포 반응을 매개하는 역할을 한다고 알려져 있다^{73,81)}. c-fos gene의 산물인 c-fos 단백질(c-fos protein, c-Fos)은 여러 약물이나 스트레스를 포함한 생리적 자극에 의해 발현되므로⁸²⁾, 스트레스 및 스트레스와 관련된 우울증 연구에서 자주 관찰되어지는 지표이다^{68,74,75)}. 본 실험에서는 PVN의 활성도를 측정하는 방법으로, PVN에서 면역조직화학법을 이용하여 c-Fos가 발현된 세포체수를 측정하였고, 측정치를 Duncan's method($p < .05$)로 분석한 결과 CMS-vehicle > CMS-drug = Normal 집단의 순으로 분석되었다. 이는 CMS 처치에 의해 증가되는 PVN의 c-Fos 발현이, CMS 처치와 동시에 투여된 黃連解毒湯에 의해 그 증가가 억제됨을 의미한다.

본 연구의 실험결과를 종합하면, vehicle을 투여한 대조군에 비교하였을 때, 黃連解毒湯을 투

여한 실험군에서 FST에서 무활동이 감소하였고, 개방장검사에서 대조군·정상군과 별다른 차이점을 보이지 않았으며, PVN의 c-Fos 발현이 억제되었다. 이러한 결과는 CMS로 유발되는 우울증의 동물모형에서, 黃連解毒湯은 우울성향을 감소시킨다고 할 수 있으며, 우울증의 치료로 청열의 방법이 적용될 수 있음을 의미한다. 또한 향후 우울증에 적용할 수 있는 청열제의 개발과 함께, 기존 치료법과의 비교 실험을 통하여, 더 효과적인 항우울, 항스트레스 효과를 가진 천연약물 및 그 배합에 대한 탐색과 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

4주간 黃連解毒湯을 투여하면서 CMS로 유도한 우울증 모델 흰쥐의 CMS-vehicle 집단 및 CMS-drug 집단 그리고 Normal 집단에서 forced swimming test와 개방장에서의 행동변화를 관찰하고, PVN에서 c-Fos의 수준을 면역조직화학법으로 측정된 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. FST에서 측정된 결과 CMS-vehicle 집단에서 immobility가 증가되어 CMS 처치가 우울 성향의 증가를 유발함을 보여준다.

2. CMS-drug 집단에서는 immobility가 Normal 집단과 비슷한 수준으로 나타났는데 이는 CMS 처치에 의해 유발되는 우울 성향이 黃連解毒湯에 의해 억제되었음을 의미한다.

3. CMS 처치 및 黃連解毒湯의 투여는 개방장에서의 행동변화 관찰 결과 흰쥐의 활동성 및 불안이나 공포와 같은 정서성에 영향을 미치지 않았다.

4. PVN에서 측정된 c-Fos 발현 수준은 CMS-vehicle 집단에서 CMS-drug 집단과 Normal 집단과 비교했을 때 유의미하게 높았다.

이는 CMS 처치가 스트레스와 관련성이 있는 뇌영역인 PVN에 있는 신경세포의 활동을 증가시킨 것으로 보이고, 이런 증가가 黃連解毒湯에 의해 억제되었음을 의미한다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 黃連解毒湯은 만성적 스트레스로 유발되는 우울증을 억제할 수 있고, 예방적 효과가 있을 가능성을 보여주었다.

參 考 文 獻

1. American Psychiatric Association. Diagnostics and statistical manual of mental disorders (4th Edition). Washington DC:American Psychiatric Association. 1994:317-328.
2. 대한신심스트레스학회. 스트레스 과학의 이해. 서울 : 신광출판사. 1997:25-29, 238-239, 421-424.
3. 민성길. 최신정신의학. 서울 : 潮閣. 1998:06-219, 586-591.
4. 徐元熙, 李相龍. 鬱症과 憂鬱症의 比較考察. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 1997;6(1):505-514.
5. 洪元植 編. 精校黃帝內經素問. 서울:東洋醫學研究院.1981:277, 282, 288-289, 303-304.
6. 張介賓. 景岳全書. 서울:정당. 1999:385-386, 692, 1150.
7. 許沛虎 主編. 中華臨床醫學系列叢書 中醫腦病學. 北京:中國醫藥科技出版社. 1998:453-459.
8. 이승기, 김종우, 황의완, 김현택, 곽소영, 박은혜. 분심기음의 우울증 모델 흰쥐에 대한 실험적 연구. 한의학회지. 2001;22(3):129-140.
9. 이주은. Chronic Mild Stress 로 유발된 憂鬱症 모델 흰쥐에 대한 分心氣飲의 實驗的 研究. 慶熙大學校 大學院. 2000.
10. 조진영, 황의완. 귀비은담탕이 흰쥐의 항스트레스와 면역반응에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 1995;6(1):1-17.
11. 차윤주, 김종우, 황의완, 김현택, 곽소영, 김민

- 정. 우울증 모델 흰쥐에 대한 귀비온담탕의 실험적 연구. 동의신경정신과학회지. 2001;12(2):53-68.
12. 류재규, 황의완. 귀비탕과 Ascorbic Acid가 열 및 유영 Stress Guinea Pig의 뇌 Catecholamine 함량에 미치는 영향. 동의신경정신과학회지. 1995;6(1):41-49.
 13. 李貞雅. Chronic Mild Stress로 誘發된 憂鬱症 모델 흰쥐에 대한 歸脾湯의 實驗的 研究. 동의신경정신과학회지. 2001;12(1):123-135.
 14. 이화신, 황의완. 열Stress 및 유영Stress에 대한 귀비탕과 Ascorbic Acid의 항Stress효능 비교연구. 동의신경정신과학회지. 1995;6(1):19-39.
 15. 김종우, 황의완. 보혈안신탕 투여가 운동선수에 유발된 스트레스반응에 미치는 영향. 경희대논문집. 1996;19(1):57-75.
 16. 林承萬. Chronic Mild Stress로 유발된 憂鬱症 모델 흰쥐에 대한 補血安神湯의 實驗的 研究. 慶熙大學校 大學院. 2001.
 17. 지상은, 김종우, 황의완 외 3인. 우울증유발 흰쥐에 대한 보혈안신탕의 항우울효과. 대한신심스트레스학회지. 2001;9(1):15-32.
 18. 김광호, 황의완. 원지석창포산이 Chronic Mild Stress 처치 흰쥐의 우울과 학습장애에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 2001.
 19. 현경철, 황의완. 遠志石菖蒲散이 CMS를 받은 흰쥐의 憂鬱. 學習. 그리고 뇌의 TH 및 c-Fos 발현에 미치는 影響. 경희대학교 대학원. 2002.
 20. 朱丹溪. 丹溪心法附錄. 서울:大星文化社. 1982:515-527.
 21. 許浚. 原本東醫寶鑑. 서울:남산당. 1998:396, 417.
 22. 김태현, 이용근, 류영수. 전신체열촬영에 의한 우울증과 안면마비의 객관적 진단방법 모색. 동의신경정신과학회지. 2000;11(2):87-102.
 23. 김광호, 김성수. 황련해독탕과 온성오혈방의 수침 및 경구투여가 진통. 소염. 해열작용에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1994;15(1):9-25.
 24. 김은선, 박치상, 박창국. 황련해독탕과 온청음이 고혈압 및 고지혈증에 미치는 영향. 대한한 의학회지. 1999;20(1):185-196.
 25. 류순현, 양대진, 조기호, 김영석. 황련해독탕 가미방으로 호전시킨 중풍환자 불면증 3예. 대한한의학회지. 2001;22(2):120-127.
 26. Kitayama I, Yaga T, Kayahara T, Nakano K, Murase S, Otani M, Nomura J. Long-term stress degenerates, but imipramine regenerates, noradrenergic axons in the rat cerebral cortex. Biol Psychiatry. 1997;42(8):687-96.
 27. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression, a new animal model sensitive to antidepressant treatment. Nature. 1977;266:730-732.
 28. Rots NY, de Jong J, Workel JO, Levine S, Cools AR, De Kloet ER. Neonatal maternally deprived rats have as adults elevated basal pituitary-adrenal activity and enhanced susceptibility to apomorphine. J Neuroendocrinol. 1996;8(7):501-506.
 29. Vogel G, Hagler M, Hennessey A, Richard C. Dose-dependent decrements in adult male rat sexual behavior after neonatal clorimipramine treatment. Pharmacol Biochem Behav. 1996;54(3):605-609.
 30. Yadid G, Nakash R, Deri I, Tamar G, Kinor N, Gispan I, Zangen A. Elucidation of the neurobiology of depression, insights from a novel genetic animal model. Prog Neurobiol. 2000;62(4):353-378.
 31. Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressants. Psychopharma. 1987;93:358-364.
 32. D'aquila P, Brain P, Willner P. Effect of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression. Physio Behav. 1994;56:861-867.
 33. 박제민, 김종백, 강철중. 흰쥐의 중추성 Serotonin 고갈이 강제수영 중 부동자세 시

- 간, 불안 및 수동적 회피 학습에 미치는 효과. 신경정신의학. 1996;35(3):699-709.
34. Forbes NF, Stewart CA, Matthews K, and Reid IC. Chronic mild stress and sucrose consumption: validity as a model of depression. *Physiology & Behavior*. 1996;60:1481-1484.
35. Matthews K, Forbes NF, and Reid IC. Sucrose consumption as an hedonic measure following chronic unpredictable mild stress. *Physiology & Behavior*. 1995;57:241-248.
36. Cesana R, Ciprandi C, Borsini F. The effect of BIMT 17, a new potential antidepressant, in the forced swimming test in mice. *Behav Pharmacol*. 1995;6(7):688-694.
37. David DJ, Bourin M, Hascoet M, Colombel MC, Baker GB, Jolliet P. Comparison of antidepressant activity in 4- and 40-week-old male mice in the forced swimming test: involvement of 5-HT1A and 5-HT1B receptors in old mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2001;153(4):443-449.
38. Yildiz F, Erden BF, Ulak G, Ulkan T, Gacer N. Antidepressant-like effect of 7-nitroindazole in the forced swimming test in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2000;149(1):41-44.
39. 강형원, 장현호, 강인선, 문형철, 황유진, 유영수. 우울증의 한방적 이해에 관한 문헌고찰. 동의신경정신과학회지. 2001;12(2):1-15.
40. 周命新. 醫門寶鑑. 서울:杏林書院. 1975:97-100.
41. 李挺. 醫學入門. 서울:南山堂. 1974:81-87.
42. 田炳薰, 鄭遇悅. 鬱證의 病因 病證分類에 關한 文獻의 考察. 大韓韓醫學會誌. 1986;7(2):219-227.
43. 黃義完, 金知赫. 東醫精神醫學. 서울:現代醫學書籍社. 1987:38-39, 471-487, 576-582, 608-611.
44. 葉天士. 臨証指南醫案. 서울:정담. 1998:463-473.
45. 李用粹. 證治彙補.台北:旋風出版社. 1976:107-113.
46. 葛洪. 肘後備急方. 北京:人民衛生出版社. 1996:37.
47. 王燾. 外臺秘要. 臺北:國立中國醫藥研究所. 1964:72.
48. 劉東亮. 中醫常用方劑手冊. 北京:人民軍醫出版社. 1996:69-70.
49. 任健 主編. 中國歷代名醫名方大全書. 北京:學苑出版社. 1996:68.
50. 彭懷仁 主編. 中華名醫方劑大全. 北京:金盾出版社. 1990:602-603.
51. 黃榮宗. 中醫急症方精選. 四川:四川科學技術出版社. 1988:22-23.
52. 黃泰康, 施誠. 中醫方劑現代研究大全. 北京:科學出版社. 1996:1418-1419.
53. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순. 중약대사전. 서울:도서출판 정담. 1999:4360-4367, 5001-5009, 5024-5042, 5052-5063.
54. 杜鎬京. 黃連解毒湯의 藥理學的 研究. 경희대학교 대학원. 1981.
55. 辛吉祚. 黃連解毒湯 藥針製劑의 安定性 및 效能에 關한 研究. 경희대학교 대학원. 1994
56. 최은규, 구병수. 黃連解毒湯藥針의 機能性 頭痛 治療效果에 對한 臨床의 考察. 동의신경정신과학회지. 2000;11(1):75-96.
57. 李漢哲, 李東奎, 金瞳, 李泰均. 甘草, 丁香, 知母 및 黃柏이 白鼠의 血清 Serotonin, Melatonin 濃度 및 行動樣態에 미치는 影響. 대한한방부인과학회지. 2000;13(2):136-148.
58. Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat, implications for a model of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1981;5(2):247-251.
59. Redei EE, Ahmadiyeh N, Baum AE, Sasso DA, Slone JL, Solberg LC, Will CC, Anisman H, Zacharko RM. Multiple neurochemical and behavioral consequences of stressors: implications for depression. *Pharmacol Ther*. 1990;46:119-136.
60. Cancela LM, Rossi S, Molina VA. Effect of different restraint schedules on the

- immobility in the forced swimming test: modulation by an opiate mechanism. *Brain Res Bull.* 1991;26:671-675.
61. 조선영, 박순권, 이기철, 김현택. 스트레스 우울증 동물모델에서 paroxetine의 항우울효과와 기억증진효과. *대한신심스트레스학회지.* 1997;5(1):55-65.
62. Griffiths J, Shanks N, Anisman H. Strain-specific alterations in consumption of a palatable diet following repeated stressor exposure. *Pharmacol Biochem Behav.* 1992;42:219-227.
63. Moreau JL, Jenk F, Martin JR, Mortas P, Haefley WE. Antidepressant treatment prevents chronic unpredictable mild stress-induced anhedonia as assessed by ventral tegmentum self-stimulation behavior in rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1992;2:43-49.
64. Kendler KS, Kessler RC, Walters EE, MacLean C, Neale MC, Heath AC, Eaves LJ. Stressful life events, genetic liability, and onset of major depression in women. *Am J Psychiatry.* 1995;152:833-842.
65. Beck CH, Fibiger HC. Chronic desipramine alters stress-induced behaviors and regional expression of the immediate early gene. c-Fos. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995;51(2-3):331-338.
66. Hann MK, Bannon MJ. Stress-induced c-Fos expression in the rat locus coeruleus is dependent on neurokinin 1 receptor activation. *Neuroscience.* 1999;94(4):1183-1188.
67. Porsolt RD. Animal models of depression: utility for transgenic research. *Rev Neurosci.* 2000;11(1):53-58.
68. Nakase S, Kitayama I, Soya H, Hamanaka K, Nomura J. Increased expression of magnocellular arginine vasopressin mRNA in paraventricular nucleus of stress-induced depression-model rats. *Life Sci.* 1998;63(1):23-31.
69. Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl).* 1997;134(4):319-329.
70. Montgomery AM, Suri A. Potentiation of the effects of raclopride on sucrose consumption by the 5-HT2 antagonist ritanserin. *Psychopharmacology.* 1996;123(1):98-102.
71. Nielsen CK, Arnt J, Sanchez C. Intracranial self-stimulation and sucrose intake differ as hedonic measures following chronic mild stress: interstrain and interindividual differences. *Behav Brain Res.* 2000;107(1-2):21-33.
72. Reid I, Forbes N, Stewart C, Matthews K. Chronic mild stress and depressive disorder: a useful new mode?. *Psychopharmacology (Berl).* 1997;134(4):365-367.
73. 방승규, 김우선. 절망행동모형에 의한 흰쥐 대뇌의 Fos 발현의 증가. *신경정신의학.* 1995;35(1):1949-1955.
74. Kollack-Walker S, Don C, Watson SJ, Akil H. Differential expression of c-Fos mRNA within neurocircuits of male hamsters exposed to acute or chronic defeat. *J Neuroendocrinol.* 1999;11(7):547-559.
75. Steciuk M, Kram M, Kramer GL, Petty F. Decrease in stress-induced c-Fos-like immunoreactivity in the lateral septal nucleus of learned helpless rats. *Brain Res.* 1999;822(1-2):256-259.
76. Papp M, Wieronska J. Antidepressant-like activity of amisulpride in two animal models of depression. *J of Psychopharmacology.* 2000;14(1):46-52.
77. Masuda Y, Sugiyama T. The effect of globopentaosylceramide on a depression model. mouse forced swimming. *Tohoku J*

- Exp Med. 2000;191(1):47-54.
78. Walsh R, Cummins R. The Open-Field Test:A Critical Review. Psychological Bulletin. 1976;83(3):482-504.
79. Wiegand SJ, Price JL. The cells of origin of afferent fibers to the median eminence in the rat. J Comp Neurol. 1980;192:1-19.
80. Morgan JI, Cohen D, Hempstead J, Curran T. Mapping patterns of c-fos expression in the central nervous system after seizure. Science. 1987;237:192-197.
81. Doucet JP, Squinto SP, Bazan NG. Fos-jun and the primary genomic response in the nervous system. Mol Neurobiol. 1990;4:27-55.
82. Michael AP, Wen-Sen L, Gloria SR. Induction of c-Fos immunoreactivity in the rat forebrain by conditioned and unconditioned aversive stimuli. Brain Res. 1992;597:41-50.