

憂鬱症 모델 흰쥐에 대한 調胃升清湯과 St. John's Wort의 抗憂鬱效果에 대한 비교 연구

김경옥, 황의완, 김종우, 김현택*, 지상은*, 김운령*
경희대학교 한의과대학 신경정신과교실

The effects of Jowiseungcheongtang versus St. John's wort in the chronic mild stress model of depression in rats

Kyung-Ook Kim, Ui-Wan Hwang, Jong-Woo Kim,
Hyun-Taek Kim, Sang-Eun Chi, Woon-Ryoung Kim

Dept. of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University, Seoul, Korea
Dept. of Psychology, Korea University*

The aim of this study was to evaluate the effects of Jowiseungcheongtang compared with St. John's wort in the chronic mild stress(CMS) animal model of depression.

Wistar rats were used for this study. The subjects were divided into 4 groups (Naive group: without CMS procedure, CMS-vehicle: water was administered during CMS procedure, CMS-Jowiseungcheongtang: Jowiseungcheongtang was administered after 5 weeks of CMS procedure, CMS-St. John's wort: St. John's wort was administered after 5 weeks of CMS procedure)

During 9 weeks of CMS procedure, The change of the consumption of sucrose and the changes of weights were measured. After CMS procedure, Morris water maze test, open field test, elevated plus maze test and Western blotting were measured. The results were as follows.

1. The consumption of sucrose solution was significantly reversed in Jowiseungcheongtang group and relatively reversed in St. John's Wort group at 7 week.
 2. In open field test, Neither Jowiseungcheongtang nor St. John's wort group showed statistically significant change of exploratory activity. In EPM test, St. John's Wort group showed significant decrease of total arm entry in comparison with Naive group. And Jowiseungcheongtang group was showed no significant change.
 3. In Morris water maze test, St. John's Wort group showed significant increase in escape latency of the last Morris water maze trial. And in watermaze probe test, there was no significant change.
 4. St. John's Wort group showed relative increase in LP1 division of 5HT1A receptor compared with Naive group. Both St. John's Wort and Jowiseungcheongtang group showed relative increase in P2 division of GluR1 compared with Naive group.
- These results suggest that Jowiseungcheongtang is as effective as St. John's Wort in the treatment of depression.

Key Word: Jowiseungchungtang, St. John's wort, Depression, Chronic mild stress.

I. 緒論

憂鬱症이란 우울한 기분, 흥미와 즐거움의 상실, 피로감의 증대와 활동성 저하를 초래하는 기력감퇴, 집중력과 주의력의 감소, 자존심과 자신감의 감소, 죄의식과 쓸모없다는 느낌, 자해나 자살행위 혹은 생각, 수면장애, 식욕감퇴 등, 가벼운 신체적 증상으로부터 정신병적 증상에 이르기까지 다양한 증상들을 포함하는 정서장애이다¹⁻³⁾.

韓醫學에서 憂鬱症의 범주에 해당하는 개념은 鬱症으로⁴⁻¹¹⁾, 情志不舒, 氣機鬱滯로 인하여 發生되는 病症의 하나로 心情抑鬱, 情緒不寧, 脇肋脹痛, 혹은 易怒善哭, 咽中如有異物硬阻, 失眠 등 각종 복잡한 症狀으로 표현된다^{10,11)}.

[內經]에서 처음 木鬱, 火鬱, 土鬱, 金鬱, 水鬱 및 情志內鬱 등에 대한 논술이 있었으며 “久而化鬱”, “日久成鬱”, “伏之化鬱”이라 하여 만성적으로 疏通되지 않고 舒暢, 通暢되지 못하는 상태로 설명되었다¹²⁾.

이후 후대로 갈수록 정신적 측면이 중시되어 明代 張介賓¹³⁾은 怒鬱, 思鬱, 憂鬱 등의 “情志之鬱”이라는 개념을 설정하였으며, 근래에는 서양의학의 건강염려증, 우울증, 갱년기증후군 등의 범주에 鬱症의 증상이 포함된다고 보고 있다¹¹⁾.

현재 일반적으로 사용되는 憂鬱症의 동물 실험 모델은 크게 stress models, separation models, miscellaneous models로 구분되는데¹⁴⁾, 이 중 본 실험에서 사용된 Chronic mild stress(CMS)는 Willner^{15,16)}에 의하여 제안된 스트레스 모델로 일상생활에서 우리가 경험할 수 있는 경미한 스트레스를 반복적으로 가한다는 점과 습관화 현상이 나타나지 않는 점이 특징이며, 憂鬱症의 주요증상인 無快感症에 상응하는 증상이 유발되는 것으로 추정되는데, 이는 韓醫學에서 설명하는 鬱症의 기본 증상과도 일치한다¹⁷⁾.

그동안 이 CMS 憂鬱症 모델을 통하여 歸脾湯^{18,19)}, 歸脾溫膽湯²⁰⁾, 古庵心腎丸去朱砂方^{21,22)}, 分心氣飲^{23,24)}, 遠志石菖蒲散^{25,26)}, 補血安神湯¹⁷⁾, 清火補心湯²⁷⁾, 黃連解毒湯²⁸⁾의 抗憂鬱 효과가 입증되었다.

調胃升清湯은 李濟馬의 東醫壽世保元²⁹⁾에 처음

수록된 處方으로 太陰人의 食後痞滿, 腿脚無力에 사용되며²⁹⁻³¹⁾, 임상적으로 太陰人 肺虛寒症, 癱瘓, 中風虛症, 痰盛咳嗽, 短氣 不思飲食, 虛勞, 健忘 및 諸神經症 등에 포괄적으로 응용되고 있다³²⁻³⁴⁾.

최근 調胃升清湯에 대한 실험적 연구로, 항스트레스 효과^{35,36)}, 진통진정, 수면시간 연장 효과³⁷⁾, 학습과 기억을 증진시키는 효과^{38,39)}, 초기 알츠하이머형 치매 환자들에게 있어 인지 기능의 저하 방지 효과^{40,41)} 등이 있음이 밝혀졌으며, 만성 stress로 인한 憂鬱症에도 효과가 있을 것으로 추정된다.

Hypericum Perforatum은 생약의 일종인 hypericaceae family의 한 종류로 St. John's wort라는 이름으로 서구의 민간요법에서 憂鬱症狀을 개선하는 데에 효험이 있는 것으로 알려져 왔으며⁴²⁾, 독일에서 처음으로 이에 대한 과학적인 문헌보고가 있는 이후 憂鬱症과 관련된 연구들이 계속되고 있다⁴³⁻⁴⁶⁾.

특히, Linde⁴⁷⁾는 경증 혹은 중등도의 憂鬱症에서 우수한 효과를 갖고 있으며, 전통적인 항우울제에 비해서 부작용의 발현율이 적어서 순응도가 높다고 보고하였다.

이에 저자는 調胃升清湯의 抗憂鬱 效能을 객관적으로 檢討하기 위하여 대체의학에서 항우울제로 頻用되고 있는 St. John's wort와 비교실험을 하고자, CMS로 유발된 憂鬱症 모델 원쥐의 자당섭취량 변화측정, 개방장 및 고가미로에서의 행동 검사와 Morris water maze 과제 수행 및 Western blotting을 실시하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗

1. 動物 및 藥材

1) 動物

Wistar 중 원쥐 수컷을 실험동물로 이용하였다. 생후 6주된 원쥐를 구입하여, 일주일 동안 실험실 내 사육실 조건에 적응하도록 하면서, 동시에 핸들링(handling) 절차를 통해 실험자와의 접

축에 익숙해지도록 하였다.

흰쥐들은 일부 CMS 절차를 제외하고는 항상 1마리씩 개별 사육 상자(26×20×13cm)에서 지내도록 하였다. 사육실의 온도는 21±2℃, 습도는 40~50%로 유지하였고, 사육실 내 환풍기와 공기정화기를 항상 가동시켰다. 밤과 낮의 주기는 12시간:12시간이 되도록 하되, 야행성인 흰쥐의 습성을 고려하여, 주로 스트레스 자극이 포함되어 있었기 때문에, CMS 처치가 시작되면서 통제동물은 원래의 사육실에 그대로 두었고, 스트레스 처치를 받는 동물들은 크기와 조건이 동일한 다른 사육실로 옮겼다.

자당용액 섭취량의 측정을 위해 그리고 일부 CMS 절차에 따라 박탈 스케줄이 포함되기도 하였지만, 그 외의 경우에는 물과 먹이를 마음대로 먹을 수 있게 공급해 주었다.

2) 藥材

이 실험에서 사용된 調胃升清湯의 약재는 시중에서 구입하여 정선한 것을 사용하였다. 處方的 내용은 慶熙韓方處方集³²⁾의 1첩 분량을 기준으로 하였다(단, 1錢은 4.0g으로 환산함).

Table 1. Contents of Jowiseungcheongtang

Drug name	Galenical name	Dose
薏苡仁	Caicis Semen	8.0g
乾栗	Castanae Fructus	8.0g
蘿菔子	Raphani Semen	6.0g
龍眼肉	Langanae Arillus	6.0g
麥門冬	Liriapia Tuber	4.0g
桔梗	Platycadi Radix	4.0g
石菖蒲	Acari Rhijama	4.0g
柏子仁	Biatae Semen	4.0g
酸棗仁炒	Zizyphy Semen	4.0g
神曲炒	Massa medicata Fermen tata	4.0g
麻黃	Ephedrae Herba	3.0g
五味子	Maximawicyiae Fructus	3.0g
貢砂仁	Amami Semen	3.0g
遠志	Palygalae Radix	3.0g
Total amount		64.0g

또한, St. John's Wort의 dry hydro-alcoholic extract(0.3% hypericin)는 HBC, U.S.A.로부터 구입하여 사용하였다.

2. 方法

1) 實驗群 設定 및 處置

본 연구에는 모두 4 집단의 동물이 사용되었다.

- ① Naive : CMS 처치를 받지 않는 집단으로 CMS 처치에 대한 통제군으로 사용되었다.
- ② CMS control : CMS 처치를 받지만 약물투여는 받지 않는 집단으로 약물 대신에 vehicle로 물이 투여되었다. 이 집단은 약물처치에 대한 통제군으로 실험이 진행되는 낮 시간이 밤주기에 해당되도록 조정하였다. CMS 처치에 감박이는 불빛과 소음과 같은 사용되었다.
- ③ CMS 調胃升清湯군 : 5주간의 CMS 처치를 받은 후 調胃升清湯을 투여받는 집단으로 약물처치에 대한 실험군으로 사용되었다.
- ④ CMS St. John's wort군 : 5주간의 CMS 처치를 받은 후 St. John's wort를 투여받는 집단으로 약물처치에 대한 실험군으로 사용되었다.

2) 檢液의 調製

상기한 調胃升清湯의 약재는 10첩 단위로 전탕 후 냉동 건조하여 분말 상태로 만들어 사용하였다.

우선, 약재 1첩당 물(시중에서 판매되는 생수를 이용하였음) 300cc의 비율로 혼합하여 환류냉각 장치에서 3시간 동안 가열 후, 1차 전탕액을 얻는다.

이 전탕액을 다시 회전식 진공 플라스크에 넣고 감압 농축시켜 2차 원액을 얻는다. 2차 원액은 다시 냉동건조절차를 거쳐 고체 형태의 추출물로 만들어진다.

이 과정에서 약재 1첩 당 약 10g의 추출물이 얻어지게 되며, 추출물은 분쇄기를 이용해 분말상

태로 만들어 이용하였다.

실험이 진행되는 동안 분말 상태의 약제는 냉장 보관하였다.

3) 檢液의 投與

調胃升清湯의 경우에는 일반적으로 사용되는 한약의 투여 방식에 근거하였다. 성인의 경우 하루에 검액 2침이 처방되므로, 성인 평균 체중을 60kg으로 볼 때, 하루 處方량은 20g에 해당된다. 성숙한 흰쥐의 체중을 300g으로 보고, 성인 하루 처방량의 10배에 해당하는 양을 계산하면, 흰쥐 한 마리 당 1일 투여량은 약 1g이 된다. 따라서 물 3cc에 검액 1g을 녹여 액체상태로 만든 후, 주사기를 이용해 실험동물에게 매일 한 차례 씩 경구 투여하였다.

St. John's Wort의 경우에는 Gambarana 등⁴⁸⁾의 선행연구에서 사용된 용량을 참조하여 1g/kg을 투여량으로 정하였다.

성숙한 흰쥐의 체중이 약 300g에 해당하기 때문에, 300mg을 물 3cc에 녹여 액체상태로 만든 후, 주사기를 이용해 실험동물에게 매일 한 차례 씩 경구 투여하였다.

실험 대조 집단의 흰쥐들은 검액 대신 물 3cc를 매일 한 차례 씩 경구 투여 받았다. 모든 동물에 있어서 검액 혹은 물의 투여는 매일 동일한 시각에 이루어지도록 하였다.

4) Chronic mild stress 節次

동물에게 가해진 스트레스 자극에는 물 또는 먹이 박탈, 주야 주기의 역전, 과밀집, 사회적 격리, 깜박이는 불빛, 소음, 사육 상자 기울이기, 그리고 축축한 깔짚 등이 포함되었다.

이들 다양한 스트레스 자극들을 적절하게 배열하여 1주일 단위의 스트레스 프로토콜을 만들었고, 동물은 언제 어떤 종류의 스트레스가 제시될지 예측할 수 없다.

이와 같은 절차에 의해 4개 집단을 구분한 후, 바로 CMS 스케줄을 도입하였는데, 따라서 CMS 절차에 속한 흰쥐들은 Fig. 1. 와 같은 스케줄에 따라 여러 가지 스트레스 상황에 노출되었다.

반면, CMS 처치를 받지 않는 흰쥐들은 전과 다름없는 사육 조건에서 지내도록 하였고, 자당

용액 섭취량 측정을 위한 박탈을 제외하고는 가능한 스트레스 자극을 최소화시킨 조건에서 생활하도록 배려하였다.

CMS 처치 기간동안 1주일 간격으로 몸무게 및 자당섭취량을 측정하였다.

실험에 앞서 흰쥐들은 48시간 동안 1% 자당 용액을 자유롭게 섭취하도록 하였는데, 이는 새로운 것을 기피하는 습성을 고려하여 흰쥐들이 미리 자당 용액에 익숙하도록 하기 위해서이다.

이러한 4회의 pre-test를 거쳐 실험 절차에 적용시킨 후, 마지막으로 측정된 자당섭취량에 따라 계산된 자당선호도(sucrose preference)를 기준으로 각 동물에게 일련번호를 부여한 후, 이들을 matched-group 방식에 따라 4집단에 골고루 분배하였다.

본 실험에서, 실험동물들은 CMS 처치를 받는 집단과 그렇지 않은 집단으로 나뉘며, CMS 처치 집단은 다시 검액 처치 집단과 CMS control (물 처치)집단으로 각각 나뉜다. 모두 54마리의 흰쥐가 실험에 이용되었고, 이중 42마리는 CMS 처치를 받았으며, 나머지 12마리는 CMS 처치를 받지 않았다. CMS 절차에 속한 42마리의 흰쥐는 CMS 처치 5주 후부터 다시 調胃升清湯을 투여 받는 집단(n=18)과 St. John's Wort를 투여 받는 집단(n=11) 및 물을 투여 받는 집단(n=13)으로 나뉘었다.

CMS 처치 이외의 변인에 의해 생길 수 있는 집단간 변산을 최소화하기 위해 모든 처치에 앞서 전술한대로 자당섭취량을 측정하여 자당선호도에 따른 순위를 정한 뒤, 이 순위에 따라 4개 집단을 균등하게 할당하는 matched-group 방식을 적용함으로써, 피험자간 설계에 따른 체계적 오차를 방지하였다.

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

Fig. 1. Chronic Mild Stress Protocol. FD: food deprivation, WD: water deprivation, SS: stroboscope illumination, Tilt: tilt cage (45°), TH: tripled housing, 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.

5) 蔗糖攝取量 및 體重의 測定

각 집단 모두에 대해 매주 한차례씩 1% 자당 용액 섭취량을 측정하였다. 20시간 물·먹이 박탈한 상태에서 1% 자당용액에 1시간 동안 노출시켰으며, 노출 전과 후의 용기 무게를 기록함으로써 자당용액의 섭취량을 측정하였다. 체중은 자당용액 측정 1일 전, 24시간 물·먹이 박탈 직후에

실시하였다. 본 연구에서 측정 지표로 사용된 자당선호도(%)는 (자당섭취량 * 100) / (물섭취량 + 자당섭취량)으로 정의되었다. 각 집단의 자당용액 섭취량은 모두 9주 동안 측정되었고, 활동량을 알아보기 위한 행동검사가 진행되는 나머지 기간 동안은 측정되지 않았다.

6) 開放場에서의 活動性 測定^{49,50)}

CMS 처치와 각각의 약물 처치에 따른 활동량의 차이를 알아보기로, 9주 동안의 자당용액섭취량 측정 절차가 모두 끝난 후에 개방장(open field)에서의 여러 가지 행동을 관찰하였다.

실험에 이용된 개방장은 75×75×30cm 규격의 나무로 만든 상자이며, 바닥에는 15cm 간격의 가로·세로선으로 바둑판 모양의 구획이 나뉘어져 있으며 개방장을 중심영역과 주변영역으로 구분하는 기준으로 사용된다. 흰쥐는 새로운 환경에 노출되었을 때 탐색 행동을 보이며 그 지표로 보행활동을 들 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.

개방장의 한쪽 편에는 15×15×15cm의 작은 상자가 연결되어 있어서, 실험동물이 개방장에 나가기 전 대기하는 출발상자로 이용된다. 출발상자와 개방장 사이는 내리닫이문을 설치하여, 출발상자 안에 흰쥐를 넣고 60초 후에 문이 열리게 되며, 문이 열린 후 개방장으로 나갈 때까지 걸린 시간을 측정하였다. 이 측정치가 출발잠재기가 되며, 문이 열린 때부터 네 발이 완전히 출발상자를 벗어나올 때까지의 시간으로 정의하였다.

출발잠재기의 종료와 동시에 개방장에서의 활동이 관찰되기 시작하는데, 개방장에서의 활동은 총 10분 동안 관찰되었고, 그 동안 나타나는 보행활동(locomotion)과 앞발 들고 일어서기(rearing), 몸치장행동(grooming) 등을 기록하였으며, 보행활동은 거리(cm)로 측정하였으며, 일어서기, 몸치장은 발생 횟수로서 기록하였다. 개방장 장치는 2m 높이의 천정에 백열전구(60W, 220V) 조명 하에 설치되고, 중앙부 천장에 카메라를 설치하여 SmarTracker Ver. 1.3 (SmarTech, USA)를 사용하여 동물의 보행활동을 기록하고 분석하였다.

CMS 처치 종료 후 2-3일 사이에 개방장에서 보행활동 검사를 실시하였다.

실험이 시작되기 30분전에 동물을 행동관찰실로 옮겨 실험 상황에 적응시켰다. 그 후 동물을 출발상자에서 출발시켜 10분 동안 보행활동을 기록하였다.

한 동물에 대한 실험이 종료되면 그 동물이 남긴 냄새를 없애기 위해서 개방장 장치를 깨끗이 닦아 내었다. 분석한 행동은 1) 10분 동안 동물이 움직인 거리, 2) 주변 영역에서 움직인 시간(%), 그리고 3) 중심영역에서 움직인 시간(%)가 포함되었다.

7) 高架十字迷路(Elevated plus maze)에서의 不安水準 測定⁵¹⁾

검은 아크릴로 제작된 고가미로가 실험에 사용되었다. 이 장치는 바닥에서 50cm 높이에 설치된 십자형(+) 미로이다. 4개의 통로 가운데 마주보는 2개(길이 50cm, 폭 10cm, 높이 2cm)는 개방되어 있고, 크기가 동일한 다른 2개의 통로는 높이 50cm의 벽으로 둘러싸여 있다. 좁고 어두운 곳을 선호하는 흰쥐는 벽이 설치된 폐쇄통로(closed arm)보다는 벽이 없는 통로에서 더 많은 불안울 느끼기 때문에 불안이 많은 동물일수록 개방통로(open arm)에 머무는 시간이 짧다. 미로는 두 개의 백열전구(60W, 220V) 조명 하에 설치되고, 미로의 중앙부 천장에 카메라를 설치하여 SmarTracker Ver. 1.3 (SmarTech, U.S.A.)를 사용하여 동물의 행동을 기록하고 분석하였다.

CMS 처치 종료 후 10-12일 사이에 고가십자미로 실험을 실시하였다. 실험이 시작되기 30분전에 동물을 행동관찰실로 옮겨 실험 상황에 적응시켰다.

그 후 동물을 고가십자미로의 중앙, 즉 개방통로와 폐쇄통로가 만나는 교차지점에 올려 놓았다. 이 때 동물이 개방통로를 향하도록 하였다. 이런 상황에서 사후의 행동 분석을 위해 동물의 행동을 10분 동안 기록하였다. 한 동물에 대한 실험이 종료되면 그 동물이 남긴 냄새를 없애기 위해서 미로를 깨끗이 닦아 내었다.

분석한 행동은 1) 전체 시간에 대한 개방통로에서 머문 시간의 비율, 2) 개방통로에 들어간 횟수, 그리고 3) 전체통로를 돌아다닌 횟수 등이 포함되었다.

이들 행동유형을 많이 보이는 동물일수록 불안수준이 낮은 것으로 해석된다.

8) Morris water maze⁵²⁾

미로는 지름이 155cm, 높이가 60cm인 스테인레스 강관으로 만든 수조였다. 수조의 내부에 40cm 높이로 물이 채워졌고, 임의로 선택된 한 사분면에 도피대가 설치되었다(높이 39cm, 직경 10cm). 도피대를 수면 1cm 아래에 두고 물에는 탈지분유를 풀어 도피대가 보이지 않게 하였다.

동물은 수조의 외부에 존재하는 원격단서를 이용하여 보이지 않는 도피대를 찾아가야 했다. 실험은 동물을 임의의 한 사분면 중앙의 벽에서 물에 넣는 것으로 시작되었다.

이 때, 동물의 시선이 수조의 벽을 향하게 하여 수조의 내부가 보이지 않도록 하였다. 이 때부터 동물이 수영하여 도피대를 찾을 때까지의 도피잠재기(escape latency)를 측정하여 그 시행의 학습성적으로 삼았다. 동물이 도피대를 찾아 올라가면 그 때부터 30초의 시행간 간격이 주어졌다. 이런 시행이 매일 4개의 각 사분면에서 한번씩 4일간 실시되었다. 만약 동물이 60초가 경과되어도 도피대를 찾지 못하면 실험자가 동물을 도피대로 유도하여 그 곳에 30초간 머물게 하였고, 이 때 학습 성적은 60초로 기록하였다.

5일 째 되는 날, 도피대를 제거한 다음 동물이 60초간 수조에서 수영하게 하고, 도피대가 있었던 목표사분면에 머문 시간과 도피대를 중심으로 하는 도피대 영역에 머문 시간, 그리고 도피대를 지나친 횟수를 측정하였다. 중앙부 천장에 카메라를 설치하여 SmarTracker Ver. 1.3 (SmarTech, U.S.A.)를 사용하여 동물의 행동을 기록하고 분석하였다.

9) Western blotting⁵³⁻⁵⁵⁾

① subcellular fractionation과 단백질 정량

전전두엽과 해마를 분리해낸 후에 차가운 500ul의 lysis buffer(320mM sucrose, 10mM Tris-HCl, 5mM NaF, 1mM Na3VO4, 1Mm EDTA,EGTA, protease inhibitor)에 넣어 Teflon-glass homogenizer를 이용하여 10번 균일하게 stroke한다.

분쇄된 조직은 2500rpm으로 10분 동안 4℃에서 원심 분리한다. 상층액만 다시 11,000rpm으로 15분 동안 다시 원심 분리하여 synaptosome(P2)를 얻는다. Vesicle을 포함하는 cytosol과

synaptic membrane(LP1)를 분리하기 위해 P2를 삼투압의 원리를 이용하여 시냅스 막을 30분 동안 lysis시킨다. 그리고 나서 35,000rpm으로 20분 동안 원심 분리한다. 남아있는 pellet을 다시 lysis buffer에 녹여서 단백질을 정량한다. Bradford 단백질 염색법을 이용해서 단백질의 양을 측정한다. BSA(bovine serum albumin)로 기준을 잡고 10ul에 10ug의 동일한 양의 단백질이 함유되도록 한다. 그리고 동일한 양의 단백질이 포함되도록 하여 전체 부피를 맞추고 loading buffer(1M Tris-HCl, 10%SDS, 50%glycerol, 5% 2-mercaptoethanol and 1% bromphenol blu)와 함께 5분 동안 끓여서 단백질을 변성시키고 나서 loading 한다.

② Western blotting

sample을 10%SDS-PAGE를 이용하여 전기영동한다. 그리고 polyvinylidene difluoride membranes(Millipore)으로 transfer시킨다. Transfer된 blot들은 3%BSA가 함유된 TTBS buffer로 1시간 동안 상온에서 block시킨다. 그리고 나서 primary antibody로서 5HT1A receptor(Santa Cruz)와 GluR1(Cheicon) antibody를 상온에서 1시간 동안 반응시킨다. 그리고 나서 3번 washing한 후에 biotinylated anti-mouse secondary antibody(Vector)를 1:500으로 희석하여 상온에서 1시간 동안 둔다. 그리고 3번 washing하고 horseradish peroxidase streptavidin(Vector)을 1:2500으로 희석하여 1시간 동안 상온에서 반응시킨다. 역시 같은 방법으로 3번 씻어낸 후 chemiluminescence kit (Amersham Biosciences)를 이용하여 Biomax film(Kodak, Rochester, New York)에 감광시킨다. 감광된 blot은 NIH-image(ver. 1.6)로 분석하였다

10) 資料分析

실험에서 얻어진 모든 자료는 윈도우용 SPSS (버전 11.0)를 이용해 통계 분석하였다. 자당용액 섭취량과 체중의 경우, 4개 집단에 대해 각 측정치들이 반복적으로 측정되었으므로, 반복측

정 변량분석이 이용되었고, 사전분석(contrast)

에 의하여 각 주에 따른 집단간 차이를 검증하였다.

개방장 및 EPM에서의 각종 행동 지표들은 일원변량분석으로 집단간 비교를 실시하였다. Watermaze의 지표들은 사전분석 및 일원변량분석을 시행하였다.

결과의 통계적 유의성 여부는 $p < .05$ 수준에서 판단하였다.

III. 成績

1. 體重의 變化

약물 처치에 들어가기 전 측정된 몸무게는 baseline에서는 차이가 나지 않았다가, CMS 절차가 시작된 후 1주째부터 유의한 차이를 보였다 (Table 2). 이는 CMS 절차가 스트레스로서 유효하게 작용했음을 보여준다.

Table 2. Body Weights before the Drug Treatments

unit: g

group	N	baseline	week1	week2	week3	week4	week5
Naive	12	310.42±3.62	338.75±3.82	370.00±4.81	385.00±4.93	403.75±5.66	410.42±5.02
CMS total	42	307.86±1.94	307.38±2.04*	315.24±2.57*	325.60±2.63*	327.14±3.02*	327.14±2.68*

*: significant difference between Naive group and CMS group ($p < .001$)

all valuse are Mean ± SEM

약물 처치가 시작된 지 1주 후인 6주부터의 몸무게는 전반적으로 CMS를 받은 group의 몸무게가 Naive에 비해 뚜렷하게 낮았으며, 주별로

차이는 있으나, CMS control group이 調胃升清湯이나 St. John's Wort group보다 높은 경향성이 관찰되었다(Table 3).

Table 3. Body Weights after the Drug Treatments

unit: g

	N	week6	week7	week8	week9
Naive	12	430.42±5.23	438.33±5.90	440.83±5.74	457.50±6.14
CMS control	13	333.85±5.02*	349.23±5.67*	364.23±5.52*	363.08±5.90*
Jowiseungcheongtang	18	327.50±4.27*	343.06±4.82*	352.22±4.69*	341.11±5.02* †
Hypericum perforatum	11	321.36±5.46*	343.64±6.17*	333.64±6.00* † Δ	325.45±6.42* †

*: significant difference between Naive group and the other groups ($p < .001$)

†: significant difference between CMS control group and other groups ($p < .01$)

Δ: significant difference between Jowiseungcheongtang group and St. John 's Wort group ($p < .05$)

all valuse are Mean ± SEM

특히, 8주째에서 調胃升清湯이 St. John's Wort group에 비하여 통계적으로 높은 수치를 나타내었다.

자당선호도(%) 검사상, 약물 처치 전에는 Naive group과 CMS 처치를 받은 그룹 사이에 4주와 5주째에 유의한 차이가 있었다(Table 4).

2. 蔗糖攝取量の 變化

Table 4. Sucrose Preference(%) before the Drug Treatments

group	N	baseline	week1	week2	week3	week4	week5
Naive	12	87.41±2.17	89.22±4.08	90.32±2.84	84.89±4.60	88.73±3.29	91.84±3.86
CMS total	42	85.89±1.18	82.22±2.15	85.74±1.49	79.68±2.42	80.37±1.74*	79.98±2.06**

*: significant difference between Naive group and CMS group (p<.05)
 **: significant difference between Naive group and CMS group (p<.01)
 all valuse are Mean ± SEM

약물 처치후 자당선호도(%)에서 調胃升清湯과 St. John's Wort는 유사한 경향성을 보였으며, 7주째에서 CMS control group에 비해 Naive

group과 調胃升清湯 group이 유의하게 높았다 (p<.05)(Table 5).

Table 5. Sucrose Preference(%) after the Drug Treatments

group	N	week6	week7	week8	week9
Naive	12	86.37±3.77	91.48±3.41*	90.58±2.22	83.99±4.18
CMS control	13	80.47±3.62	81.84±3.28	86.77±2.13	88.77±4.01
Jowiseungcheongtang	18	86.04±3.07	91.01±2.79*	85.53±1.81	87.82±3.41
Hypericum perforatum	11	92.24±3.93*	90.95±3.57	88.35±2.32	82.49±4.36

*: significant difference between CMS control group and other groups (p<.05)
 all valuse are Mean ± SEM

3. 開放場에서의 活動水準

개방장 검사상 그룹간의 일원변량분석 결과에

서 통계적으로 유의한 차이를 보이는 지표는 없었다(Table 6).

Table 6. Locomotor Activities in Open Field

		N	Mean ± Std. Error	Significance
Locomotion (m)	Naive	12	154.94 ± 4.47	NS
	CMS control	6	150.84 ± 3.70	
	Jowiseungcheongtang	18	149.72 ± 3.78	
	Hypericum perforatum	11	151.76 ± 4.05	
Marginal Duration (%)	Naive	12	85.17 ± 4.34	NS
	CMS control	12	85.95 ± 1.99	
	Jowiseungcheongtang	18	89.79 ± 1.52	
	Hypericum perforatum	11	81.87 ± 4.82	
Control Duration (%)	Naive	12	14.79 ± 4.33	NS
	CMS control	12	14.01 ± 1.99	
	Jowiseungcheongtang	18	10.16 ± 1.52	
	Hypericum perforatum	11	18.05 ± 4.80	

NS: Not Significant
all valuse are Mean ± SEM

4. 高架十字迷路에서의 活動水準

EPM 검사상 그룹간의 일원변량분석 결과에서 Total arm entry에서 통계적으로 유의한 차이가 나타났으며(p<.05), Bonferroni 방법에 의한 사후 분석(post hoc test)을 실시한 결과, Naive group

과 St. John's Wort group 간에 유의한 차이가 나타났다(p<.05).

Total arm entry에서 St. John's Wort group이 調胃升清湯 group에 비해 상대적으로 낮은 경향성을 보였으나 유의성은 없었다(Table 7).

Table 7. Locomotor Activities in EPM

		N	Mean ± Std. Error	Significance
Total Arm Entry (m)	Naive	12	106.61 ± 2.80	p<.05
	CMS control	7	103.54 ± 2.40	
	Jowiseungcheongtang	18	101.09 ± 3.78	
	Hypericum perforatum	11	89.64 ± 4.14*	
Open Arm Entry (duration %)	Naive	12	44.99 ± 3.98	NS
	CMS control	7	38.29 ± 6.73	
	Jowiseungcheongtang	18	38.13 ± 4.22	
	Hypericum perforatum	11	40.62 ± 3.68	
Open Arm Entry (distance %)	Naive	12	44.28 ± 3.90	NS
	CMS control	7	36.22 ± 6.79	
	Jowiseungcheongtang	18	38.17 ± 3.83	
	Hypericum perforatum	11	37.80 ± 2.97	

NS: Not Significant

*: significant difference between Naive group and St. John's Wort group (p<.05)

all valuse are Mean ± SEM

5. Morris water maze 成績

Morris water maze 검사에서, 학습 단계인 watermaze trial 중 마지막 trial 에서 도피대에 머문시간이 St. John's Wort group과 Naive group 간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다

(p<.05)(Table 8).

調胃升清湯 group은 T3에서 St. John's Wort group에 비해 높은 경향성을 보였고, St. John's Wort group은 T4에서調胃升清湯 group보다 상대적으로 높은 결과를 나타내었으나, 전반적으로 비슷한 경향성을 보였다.

Table 8. Escape Latency Measured in Morris Water Maze Trials

	trial-1	trial-2	trial-3	trial-4
Naive	45.11±3.01	33.55±3.95	19.80±4.04	12.39±3.40
CMS control	46.34±2.89	32.43±3.79	29.69±3.88	16.83±3.26
Jowiseungcheongtang	46.73±2.46	34.38±3.22	27.87±3.30	15.74±2.77
Hypericum perforatum	51.72±3.15	29.17±4.12	20.14±4.22	23.39±3.55*

*: significant difference between Naive group and St. John's Wort group (p<.05)

all valuse are Mean ± SEM

기억 단계인 Morris water maze probe test상, 그룹간의 일원변량분석 결과에서 전체적으로 통

계적으로 유의한 차이를 보이는 지표는 없었다 (Table 9).

Table 9. The Results of Morris Water Maze Probe Test

		N	Mean±Std. Error	Significance
Quadrant (sec)	Naive	12	23.65±1.44	NS
	CMS control	13	21.88±1.69	
	Jowiseungcheongtang	18	21.34±1.47	
	Hypericum perforatum	11	18.84±1.80	
Annual (sec)	Naive	12	4.90±0.61	NS
	CMS control	13	5.50±0.60	
	Jowiseungcheongtang	18	4.32±0.67	
Target (count)	Naive	12	1.92±0.26	NS
	CMS control	13	3.15±0.53	
	Jowiseungcheongtang	18	1.94±0.43	
	Hypericum perforatum	11	2.36±0.41	

NS: Not Significant

all valuse are Mean ± SEM

6. Western blotting 成績

Western blotting의 결과 데이터는 통계적 처리에 적절하지 않았으므로, 그 경향성을 보기 위하여 Naive 동물에 비해 증가 또는 감소된 피험 동물의 수와 해당하는 %를 Table 10에 기재하였다.

Naive group에 비하여 CMS group의 해마에서 5HT1A와 GluR1 수용체가 감소하는 경향이 확인

되었다.

5HT1A 수용체의 LP1 분획에서 St. John's Wort 투여군의 Naive group에 대한 상대적인 증가가 관찰되었으며, GluR1 수용체의 P2 분획에서 St. John's Wort와 調胃升清湯 투여군의 Naive group에 대한 상대적인 증가가 일관되게 관찰되었다. 또한, St. John's Wort group이 5HT1A 수용체의 LP1, GluR1의 LP1 분획에서 調胃升清湯 group 보다 우세한 경향성을 보였다.

Table 10. Trends of Changes in Hippocampus and Prefrontal Cortex

			Hippocampus			Pre-frontal cortex		
			CMS control N(%)	Jowiseungchu ngtang N(%)	St. John's Wort N(%)	CMS control N(%)	Jowiseungchu ngtang N(%)	St. John's Wort N(%)
5HT1A	LP1	increase	1(25)	2(66)	3(100)	1(25)	2(66)	0(0)
		decrease	3(75)	1(33)	0(0)	3(75)	1(33)	3(100)
	P2	increase	2(50)	1(33)	1(33)	0(0)	1(33)	1(33)
		decrease	2(50)	2(66)	2(66)	3(100)	2(66)	2(66)
GluR1	LP1	increase	1(25)	1(33)	2(66)	3(100)	2(66)	3(100)
		decrease	3(75)	2(66)	1(33)	0(0)	1(33)	0(0)
	P2	increase	1(25)	3(100)	3(100)	1(50)	0(0)	0(0)
		decrease	3(75)	0(0)	0(0)	1(50)	2(100)	2(100)

LP1 : fraction including cytosol and synaptic membrane

P2 : fraction including synaptosome

IV. 考 察

우울한 사람들은 정서적으로 슬픔, 불안, 초조 등을 보이며, 인지적으로는 기억, 사고 및 판단력의 저하, 주의집중 곤란 등의 특징을 보인다. 그리고 동기적으로는 흥미와 기쁨의 감소, 식욕 감퇴를 보이고, 신체적으로는 피로감, 체중의 급격한 변화 등을 나타낸다²⁾. DeLongis⁵⁶⁾와 Lazarus⁵⁷⁾는 사소한 하루하루의 골칫거리도 스트레스 자극이 되며 이런 자극이 憂鬱症과 더 직접적인 관계가 있다고 보고하는 등, 우울증은 주로 만성 스트레스 등에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다^{1,58)}.

한의학에서 憂鬱症의 범주에 해당하는 개념은 鬱症으로⁴⁻¹¹⁾, 鬱症은 情志不舒, 氣機鬱滯로 인하여

발생되는 병증의 하나로 정서적인 면에서 氣分이 항상 憂鬱하고 사람을 싫어한다든지 精神의 抑鬱感이 나타나며, 신체증상으로는 四肢無力, 食慾不振, 食不化 혹은 吞酸, 心下痞滿, 胸悶 혹은 胸痛, 脇肋脹痛, 易怒善哭, 口乾, 舌燥, 咽中如有異物硬阻, 心煩不得臥, 心悸, 坐臥不安, 小便赤澀, 大便秘, 脈沈澀 등 각종 복잡한 증상으로 표현된다^{4,10,11,59)}.

鬱症은 [內經]¹²⁾의 [素門·至真要大論]에서 “諸氣臏鬱皆屬于肺.”라 하여 처음 등장하였으며, [素門·六元正氣大論]에서는 “木鬱達之, 火鬱發之, 土鬱奪之, 金鬱泄之, 水鬱折之.”라 하여 鬱症이라는 病名은 없고 단지 鬱症의 原因과 治法에 대한 논술이 있었으며, [素門·本病論篇]에서는 “久而化鬱”, “日久成鬱”, “伏之化鬱”이라 하여 만성적으로 疏通되지 않고 舒暢, 通暢되지 못하는 상태로 설명

되었다. 그 후 金元時代에 이르러 鬱症을 일종의 독립적인 病症이라 보고 비교적 명확하게 그 개념을 파악하기 시작하였는데¹⁰⁾, 朱丹溪⁶⁰⁾는 氣, 血, 火, 食, 濕, 痰의 六鬱之說에 근거하여 六鬱湯, 越鞠丸 등 그에 상응하는 治療方劑를 창립하여 鬱症에 대한 인식과 치료내용이 풍부해졌다. 明代 虞搏의⁶¹⁾ [醫學正傳]에서 鬱症을 病症의 명칭으로 처음 채용하였고, 情志, 外邪, 飲食등의 素因으로 일어나는 鬱症을 論하였다. 明代이후에 정신적 측면이 중시되어 張介賓¹³⁾에 이르러 怒鬱, 思鬱, 憂鬱 등의 “情志之鬱”이라는 개념으로 設定하였으며, 근래에는 서양의학의 건강염려증, 우울증, 갱년기증후군 등의 범주에 鬱症의 증상이 포함된다고 보고 있다¹¹⁾.

李濟馬의 [東醫壽世保元]²⁹⁾에서는 “蓋古之醫師不知心之愛惡所欲 喜怒哀樂偏着者爲病 而但知脾胃水穀 風寒暑濕觸犯者爲病”라 하여 喜怒哀樂의 性情이 病의 主要原因이 된다고 하였으며, 四象人의 先天的인 臟腑大小가 결정되는 것을 性情의 작용으로 설명하였고 後天的인 病因病理도 모두 喜怒哀樂의 升降原理에 의하여 특징지어지는 것으로 설명하는 등 身體의 疾患의 原因·病理·診斷·治療에 心理的인 因子가 특히 중요한 의미를 갖는다고 하여⁶²⁾, 心身均衡의 治療精神을 추구하는 四象醫學의 處方들이 情志不舒 등으로 發生되는 鬱症에 적합하리라고 사료되었다. 또한, 金⁶³⁾과 徐⁶⁴⁾의 연구에서 太陰人은 憂鬱症, 強迫症, 內向性의 인격특성이 강하다고 보고하였으며, 金⁶⁵⁾은 太陰人은 吸聚之氣의 포용력이 있어서 주위에 사람을 두루 편하게 하나, 본인은 대인관계에서 스트레스를 많이 받으니, 표현을 적절히 못하고, 속으로 오래 간직하는 편이며, 자율신경계가 취약하다고 하여 四象人 중에서도 太陰人이 憂鬱症의 성향을 많이 띠고 있다고 사려 되었다. 이에 본 연구에서는 이러한 정신적 특징을 갖는 太陰人의 方劑 중에서 補虛調氣, 安神定志의 효능을 지닌³⁰⁾ 調胃升清湯을 憂鬱症 모델 實驗 方劑로 채택하였다.

調胃升清湯은 李濟馬의 [東醫壽世保元]²⁹⁾에 처음 수록된 處方으로 太陰人의 肺燥寒症을 치료하는 약물이다. 肺燥寒症이란 太陰人 특유의 呼散之氣 부족에서 오는 燥病證으로 食滯痞滿, 腿脚無力, 黃疸, 虛勞夢泄, 咳嗽 등의 증후로 太陰調胃湯, 調

胃升清湯 등으로 潤燥發汗시켜 해소시킨다고 하였다^{31,33,62)}. 調胃升清湯은 太陰調胃湯에 遠志, 天門冬, 酸棗仁, 龍眼肉을 추가한 方劑로, 遠志는 寧心安神하고 龍眼肉은 補益心脾, 酸棗仁은 補肝, 寧心安神하니⁶⁶⁾, 太陰調胃湯에 鎮靜, 安神 작용을 더 강화시켰다고 볼 수 있다. 즉, 太陰調胃湯에는 燥濕, 治痰, 利水하는 薏苡仁, 乾栗, 麻黃, 蘿菘子와 肺元을 돕고 潤燥시키는 麥門冬, 五味子, 桔梗, 石菖蒲가 들어 있기 때문에 이 경우에 기초적인 方劑가 되고, 여기에 遠志, 龍眼肉, 酸棗仁, 天門冬을 추가함으로써 신경증상을 제거하도록 한 方劑이다³³⁾. 또한 調胃升清湯은 임상적으로 躁鬱症, 不安症이나 焦燥症을 진정시켜주는 方劑로, 구체적으로는 脈緩, 胸悶, 下肢沈重, 易疲勞, 多眠, 頭重, 早朝不爽, 大便軟 후 1일 2-3회, 平素易減胃, 飽滿, 全身沈重, 困臥 등의 증이 있는 모든 신경증에 이용된다³²⁾.

기존의 調胃升清湯에 대한 실험적 연구로, 김³⁵⁾은 항스트레스 효과에 대한 실험적 연구를, 유³⁷⁾는 항경련, 진통진정, 수면시간 연장에 효과가 있음을, 우³⁸⁾는 방사형미로 학습에 있어 흰쥐의 학습과 기억에 대한 효과를, 이³⁹⁾는 AD 모델 흰쥐에게 학습과 기억을 증진시키는 효과가 있음을, 엄³⁶⁾은 항스트레스 효과 및 면역저하억제효과를 보고하였다. 최근 김⁴⁰⁾과 조⁴¹⁾는 초기 알츠하이머형 치매 환자들에게 있어 인지 기능의 저하방지 효과가 있음을 보고하는 등, 항스트레스효과나 기억과 학습 등에 관한 인지 기능 쪽의 실험이 주로 진행되었으나, 아직까지 스트레스로 인한 항우울에 대한 연구는 없었다.

서양의학에서도 최근에는 생약 extract의 약효를 인정하고 연구하는 추세에 있으며, 憂鬱症과 관련해서는 주로 St. John's wort (*Hypericum perforatum*)에 관한 연구가 진행되고 있다^{48,67-69)}. *Hypericum Perforatum*은 생약의 일종인 *Hypericaceae* family의 한 종류로 St. John's wort라는 이름으로 서구의 민간요법에서 우울증상을 개선하는 데에 효험이 있는 것으로 알려져 왔으며⁴²⁾, 1998년 독일과 오스트리아에서 전 세계에서 처음으로 경도와 중증도의 憂鬱症에서의 치료목적의 사용 승인을 받았다. 특히, Linde⁴⁷⁾는 경증 혹은 중증도의 憂鬱症에서 우수한 효과를 갖고 있으며, 또

한 전통적인 항우울제에 비해서 부작용의 발현율이 적어서 순응도가 높다고 보고하였다. 미국 식품의약청에서는 이 물질을 건강보조식품으로 분류하여 규제를 받지 않은 상태에 있었으나, 최근 이 물질의 위장장애, 알러지 반응, 피로, 광독성, 그리고 약물 상호작용으로 인한 부작용 등의 문제점들이 알려지면서⁷⁰⁾ 규제를 강화하는 방향으로 계획을 수정하고 있다.

St. John's wort에 대한 최근 실험 연구로, Woelk⁷¹⁾는 St. John's wort와 imipramine의 약효를 비교하여 憂鬱症 치료에 St. John's wort가 imipramine 과 같은 정도의 효과가 있으며, 부작용은 더 적음을 보고하였다. Kumar⁷²⁾는 CMS 등을 이용하여 St. John's Wort의 항스트레스 작용을 보고하였으며, Obach⁷³⁾는 St. John's wort의 extract가 human cytochrom P450 enzyme activity를 억제하는 가능성이 있음을 보고했고, Yu⁴⁶⁾는 이 약제의 extract가 mouse의 hypothalamus와 hippocampus의 5-HT level을 상승시키는 효과를 관찰하고 이 약제의 효과가 serotonergic system과 연관이 있다고 추정하였다. Phun⁷⁴⁾은 St. John's Wort의 抗憂鬱 효과가 MAO, catechol O-methyltransferase 또는 serotonin reuptake의 억제 등과 관련이 있으며 최근에 hypericin의 σ receptors에 관한 중요한 효과에 대한 논증이 새로운 가능성들로 등장하고 있다고 보고하였고, Buchholzer⁷⁵⁾는 St. John's Wort의 주요성분인 hyperforin의 저용량 투여는 ACh release를 촉진시키는 반면, 고용량 투여는 synaptic choline uptake와 ACh release를 억제한다고 밝혔다. 이결과 neurodegenerative disorders를 지닌 환자에 있어서도 St. John's Wort의 치료적 유용성이 기대되어진다고 보고한 바 있다.

본 실험의 우울증 모델에는 CMS 모델을 사용하였는데, CMS는 1984년 Willner^{15,16)}에 의하여 제안된 실험 모델로, Katz⁷⁶⁾가 제안한 강한 스트레스 자극 대신 인간의 일상을 모사할 수 있는 경미한 강도의 반복적인 스트레스를 이용하였다. 즉, CMS 절차에서는 물·먹이의 박탈이나, 사육 상자에서의 파트너 교체, 소음과 현란한 조명의 제시 등, 여러 가지 예측할 수 없는 다양한 자극들을 계속해서 제공해주게 된다. 이러한 스트레스 절차를

수 주간 반복하면, 흰쥐들은 憂鬱症의 대표적 증상이라고 할 수 있는 무쾌감증(anhedonia)에 상응하는 증상으로, 자당용액(sucrose solution)의 섭취량에서 상당한 감소를 보이게 된다. 이러한 섭취량의 감소는 아무런 처치를 하지 않을 경우, CMS 절차를 철회하고 난 후에도 수 주간 지속되는 것으로 알려져 있다⁷⁷⁻⁷⁹⁾. 다수의 항우울제들은 CMS 처치에 따른 자당섭취량의 감소를 원래 수준으로 회복시켜 주는데 효과가 있는 것으로 밝혀졌다⁸⁰⁾. CMS에 노출된 실험동물에서 자당에 대한 섭취량 감소 외에 보행 활동량의 저하⁸¹⁾, 공격성이나 성행위의 감소⁸²⁾, 명암 주기의 변동⁸¹⁾, 렘 수면 잠복기의 감소, 렘 수면 회수나 수면의 분절 증가⁸³⁾, 체중 증가의 억제 및 코르티코스테론 유리 증가⁸⁴⁾ 등 憂鬱症의 임상 양상과 비슷한 행동 양상이나 검사 소견을 보여 憂鬱症의 표면 타당도를 어느 정도 충족시킨다.

최근에는 면역계, 내분비계 등에 CMS 모델이 미치는 영향에 대한 분자생물학적인 연구가 이루어지고 있으며⁸⁴⁻⁸⁸⁾, CMS 모델은 종에 따른 편차가 있는 것으로 나타났는데⁸⁹⁾, Sprague-Dawley Rat은 자당섭취가 감소하는데 비교적 많은 시간이 걸리는 것으로 보고 되고 있다⁹⁰⁾.

池¹⁷⁾는 동양의학의 “鬱“의 개념이 급성적이라기 보다 만성적인 억압을 통해 발생하는 것으로 설명되고 있으며, CMS 모델에서의 평가 지표가 소화기 계열의 자당 섭취라는 점에서 동양의학의 鬱證 개념과 이론적으로 연관된 바가 크기 때문에, 동양의학의 鬱證에 적절한 모델인 것으로 평가하였다. 그러나 CMS 모델은 憂鬱症 동물을 만들기엔 시간과 노력이 많이 든다는 단점을 또한 가지고 있다.

그동안 CMS 憂鬱症 모델을 사용하여, 李²³⁾와 李²⁴⁾는 分心氣飲을, 車²⁰⁾는 歸脾溫膽湯을, 池¹⁷⁾는 補血安神湯을, 洪²⁸⁾은 黃連解毒湯을, 趙²⁷⁾는 清火補心湯 등의 효과를 검증하였으나, 이러한 연구들은 모두 韓醫學 複合處方 연구에 제한되어 있다. 따라서 본 실험에서는 調胃升清湯의 抗憂鬱 효과를 평가하기 위해 CMS 우울증 모델을 사용하는 것 이외에, 서구에서 대체의학의 일환으로 憂鬱症에 보편적으로 이용하는 St. John's wort와의 비교 실험을 최초로 실시하였고, 이전의 실험에서 성

인 남자에게 처치하는 분량의 5배 정도의 調胃升清湯을 흰쥐에게 처치한데 비하여 본 연구에서는 St. John's wort의 기존 실험 용량⁴⁸⁾에 의거하여 이에 준한 용량인 10배 정도의 고용량을 투여하였다.

또한, 이러한 기존 CMS 연구들에서 나타난 문제점 중 하나는, 피험 동물로서 SD rat을 사용했다는 점이다. SD rat은 스트레스에 강하기 때문에, sucrose test의 결과, 즉 anhedonia로 정의되는 憂鬱症 유발에 더 많은 시간이 걸리는 특징이 있다. 이러한 단점을 극복하기 위해, 본 연구에서는 SD rat을 사용하지 않고, Wistar rat을 사용하였는데, Wistar rat은 Stress에 좀 더 민감한 것으로 알려져 있으며^{87,90)}, 초창기 Willner의 CMS 모델에도 Wistar rat이 사용되었다^{77,91)}.

憂鬱症의 신체적 증상인 몸무게의 변화 측정 결과, 약물 처치가 시작된 지 1주 후인 6주부터 몸무게는 전반적으로 CMS를 받은 group의 몸무게가 Naive에 비해 뚜렷하게 낮았으며, 주별로 차이는 있으나, CMS control group이 調胃升清湯이나 St. John's Wort group보다 높은 경향성이 관찰되었다. 특히, 8주째에서 調胃升清湯이 St. John's Wort group에 비하여 통계적으로 높은 수치를 나타내었다. 이는 調胃升清湯, 특히 St. John's Wort가 몸무게를 증가시키는 것이 아니라 오히려 감소시키는 효과가 있음을 나타낸다.

憂鬱症의 대표적 증상인 무쾌감증을 살펴 보기 위해 실시한 자당 선호도 분석 결과, 調胃升清湯과 St. John's Wort는 유사한 경향성을 보였으며, 특히 7주째에서 CMS control group에 비해 Naive group과 調胃升清湯 group이 유의하게 높았고 ($p < .05$), St. John's Wort group은 CMS control group에 비해 비교적 높은 경향성을 나타내었다. 이러한 결과로 볼 때 調胃升清湯과 St. John's Wort가 CMS 처치에 따른 자당섭취량의 감소를 원래 수준으로 회복시켜 주는데 효과가 있음을 알 수 있다. 그러나 이러한 경향성이 시간이 경과함에 따라 일관되게 나타나지는 않았는데, CMS control group의 자당선호도가 증가하는 경향을 보이는 것으로 보아, 이 그룹에 속한 흰쥐들이 CMS 절차에 적용한 결과가 아닌가 추정된다.

憂鬱症의 情緒성을 평가하기 위해서 본 실험에

서는 不安 상태에 대한 행동검사인 開放場^{49,50,92)}과 Elevated plus maze(EPM)^{51,93,94)}를 실시하였다.

이전의 開放場 실험에서 Zanoli⁴³⁾는 St. John's Wort의 단일성분이 아닌 total extract가 open field에서 locomotor activity를 증가시킨다고 보고하였으며, Coleta⁹⁵⁾는 10-100mg/kg 용량 투여에서 뚜렷한 immobility 시간의 증가, rearing과 다른 공포반응 지표들의 감소로 분명한 진정효과를 나타내었고, Kumar⁹⁶⁾은 St. John's Wort(100-200mg/kg)가 현저하게 open field에서의 보행을 증가시켰고 앞발 들고 서기와 중심에서의 activity 등은 약간 증가시켰으며 공포반응인 몸치장행동과 배설행동에는 변화를 주지 못하였다고 보고하였으나, 본 실험의 개방장 활동 검사에서는 調胃升清湯이나 St. John's Wort 모두에서 CMS control 군과의 유의한 차이점을 관찰할 수 없었다. 이는 CMS control group 흰쥐들이 CMS 절차에 적용한 것으로 보이는 9주째 행동 검사가 실시되었기 때문이라 추정되어지는데, 향후 이에 대한 보완실험이 시행되어야 할 것이다.

Kumar⁹⁶⁾의 St. John's Wort(100 and 200mg/kg) 투여 쥐의 EPM 실험에서 open arm entry, open arm/closed arm entries 비율과 open arm에 머문 시간의 증가가 현저하게 관찰되어져, St. John's Wort의 항불안 효과가 뚜렷하게 입증되었으며, Coleta⁹⁵⁾는 5mg/kg 용량 투여시에도 EPM open areas에 머문 시간의 증가 등으로 불안 완화 효과를 나타냄을 보여 주었다. 그런데, 이 결과들과는 대조적으로 본 실험에서는 total arm entry에서 Naive group에 비해 St. John's Wort group이 오히려 통계적으로 낮은 결과를 보였고, CMS 대조군이나 調胃升清湯 group보다도 낮은 경향성을 보였다. 그러나, Open arm entry에 있어서는 CMS 대조군에 비해 조금 높은 경향성은 있었으나 유의미하지는 않다. 調胃升清湯 group은 CMS 대조군과 유의한 차이가 없었으므로 행동검사에서 抗不安 효능을 입증하지 못하였다.

憂鬱症은 감정 뿐 아니라 인지기능도 연관된 복합적인 증후군^{1,31,97,98)}으로서, 이를 측정하기 위해 본 연구에서는 학습과 기억의 인지기능 평가에 보편적으로 사용되는 Morris water maze 과제^{52,99-101)}를 실시하였다.

Morris water maze 검사 결과, 학습 단계인 watermaze trial 중 마지막 trial에서 St. John's Wort group과 Naive group 사이의 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < .05$). 調胃升清湯 group은 T3에서 St. John's Wort group에 비해 높은 경향성을 보였고, St. John's Wort group은 T4에서 調胃升清湯 group보다 상대적으로 높은 결과를 나타내었으나, 전반적으로 비슷한 경향성을 보였다. 기억 단계인 watermaze probe test 상, 그룹간의 일원변량분석 결과에서 전체적으로 통계적으로 유의한 차이를 보이는 지표는 없었다. 기존의 실험에서 Widy-Tyszkiewicz¹⁰²⁾는 Morris water maze를 통하여 9주 동안 St. John's Wort를 투여한 흰쥐의 학습 및 기억 증진효과를 입증하였고, 김⁴⁰⁾과 조⁴¹⁾는 調胃升清湯이 초기 알츠하이머형 치매 환자에게 있어 인지 기능의 저하방지 효과가 있음을 보고하였으며, 이³⁹⁾는 Morris water maze를 이용하여 AD모델 백서의 학습과 기억 증진 모두에 대하여 調胃升清湯이 유효함을 입증하였으나 본 실험에서는 調胃升清湯과 St. John's Wort 모두에서 인지 기능 향상을 입증하지 못하였다.

調胃升清湯과 St. John's wort의 抗憂鬱 효과를 평가하기 위해서는 brain function을 통한 검증이 필요한데^{53,55,103-109)} 이번 연구에서는 해마와 전전두엽에서 GluR1과 5HT_{1A} receptor의 회복을 살펴 보았다.

우울증과 관련된 뇌의 신경전달물질에 관한 St. John's Wort의 최근 실험에서 Franklin¹¹⁰⁾은 St. John's Wort가 brain dopamine function의 어떤 측면을 증가시킨다고 보고하였고, Feng⁴⁴⁾과 Calapai⁶⁸⁾는 5-HT, noradrenaline, dopamine 등의 증가를 초래한다고 하였다. Butterweck⁴⁵⁾는 St. John's Wort의 단기 투여가 아닌 장기투여(8주)가 憂鬱症의 Pathophysiology와 관련된 뇌 영역에서의 신경전달 Level을 변화시킨다고 보고하였으며, Yu⁴⁶⁾는 이 약제의 extract가 mouse의 hypothalamus와 hippocampus의 5-HT level을 상승시키는 효과를 관찰했고, 이 약제의 효과가 serotonergic system과 연관이 있다고 추정하였다. Kaehler¹¹¹⁾은 St. John's Wort의 중요 抗憂鬱 성분인 Hyperforin이 rat의 locus coeruleus에서 monoamines dopamine, noradrenaline, serotonin

뿐 아니라 excitatory amino acid glutamate의 extracellular level을 증가시킨다고 보고하였다. 또한, Butterweck⁶⁷⁾은 憂鬱症에 대한 St. John's Wort의 작용 기전을 논한 연구에서 이 약제가 adenosine, GABA(A,B), glutamate receptors에 분명한 친화성을 가지며, rat의 frontal cortex에서 β -adrenergic receptors의 하향조정, 5-HT(2) receptors의 상향조정을 유도한다고 하였다.

본 실험의 Western blotting의 결과 분석에 있어서 몇가지 문제가 발생하였는데, 첫째는 실험일간의 조건이 동일하지 않았다는 것이고, 둘째는 Naive를 100% 기준으로 잡고 각 group의 상대적 수치(%)를 구하였으나 이러한 방법을 사용할 경우 naive간의 變散이 무시되는 오류가 발생할 수 있다. 세 번째, 그룹을 고정요인으로, 실험일을 랜덤요인으로 두고 혼합모형 two-way ANOVA 이원분산분석을, 실험동물의 수가 적고 그룹마다 수가 일정하지 않기 때문에 본 연구에서 통계적 분석을 행하지는 않았다. 대신 Naive에 대한 각 그룹의 경향성을 increase/decrease로 나누어 기술하였다.

그 결과, Naive 동물에 비하여 CMS 동물의 해마에서 5HT_{1A}와 GluR1 수용체가 감소하는 경향이 확인되었다. 5HT_{1A} 수용체의 LP1 분획에서 St. John's Wort 투여군의 Naive 동물에 대한 상대적인 증가가 관찰되었으며, GluR1 수용체의 P2 분획에서 St. John's Wort와 調胃升清湯 투여군의 Naive 동물에 대한 상대적인 증가가 일관되게 관찰되었다. 또한, St. John's Wort group이 5HT_{1A} 수용체의 LP1, GluR1의 LP1 분획에서 調胃升清湯 group 보다 다소 우세한 경향성을 보였다. 이러한 결과들은 St. John's Wort와 調胃升清湯의 抗憂鬱 효과의 가능성을 시사한다고 해석할 수도 있을 것이다. 그러나 이러한 경향성은 전전두엽에서는 일관되게 나타나지 않았기 때문에, 확정적인 결론을 내릴 수 없으며, 이에 관해서는 향후 연구를 통하여 검증할 필요가 있을 것으로 생각된다.

이상의 결과에서 보았듯이 본 실험에서 調胃升清湯과 St. John's Wort 모두 자당섭취도나 Western Blotting에서 비슷한 결과를 보여 調胃升清湯이 St. John's Wort와 견줄만한 抗憂鬱 효과가 있음이 입증되었다. 그러나, 개방장·高架十字

迷路에서의 행동 검사나 인지 기능 검사상 기존 실험들과는 다르게 유효한 결과가 나타나지 않았다. 이는 CMS 우울증 모델의 불안정성, 처음 시도한 Wistar rat 실험에 대한 skill의 미숙 등이 그 원인으로 생각되어지는데, 향후 이에 대한 보완적 실험 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한, 본 실험은 調胃升清湯의 抗憂鬱 효능을 서구의 생약인 St. John's Wort와 비교 실험하여 검증하였는데, 향후 調胃升清湯에 St. John's Wort를 첨가한다면 調胃升清湯과 St. John's Wort를 병용 투여하여 단독 투여했을 때와의 효과를 비교하는 실험을 실시하여 임상에 있어서의 활용도를 넓히는 작업도 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

抗憂鬱에 대한 調胃升清湯과 St. John's wort의 效能을 比較實驗 하고자, CMS로 유발된 憂鬱症 모델 흰쥐의 자당섭취량의 변화측정, 開放場 및 高架十字迷路에서의 행동검사와 Morris water maze 과제 수행 및 Western blotting을 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 자당선호도 검사상, 調胃升清湯과 St. John's Wort는 유사한 경향성을 보였으며, 7주제에서 CMS control group에 비해 Naive group과 調胃升清湯 group이 유의하게 높았다.
2. 開放場 검사상 그룹간의 일원변량분석 결과에서 통계적으로 유의한 차이를 보이는 지표는 없었다. EPM 검사상 Total arm entry에서 Naive group에 비하여 St. John's Wort group이 통계적으로 낮은 결과를 보였다.
3. Morris water maze 검사에서 학습 단계인 water maze trial 중 마지막 trial에서 St. John's Wort group과 Naive group 사이의 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 기억 단계인 water maze probe test 상, 전체적으로 통계적으로 유의한 차이를 보이는 지표는 없었다.
4. 5HT1A 수용체의 LP1 분획에서 St. John's Wort 투여군의 Naive 동물에 대한 상대적인

증가가 관찰되었으며, GluR1 수용체의 P2 분획에서 St. John's Wort 와 調胃升清湯 투여군의 Naive 동물에 대한 상대적인 증가가 일관되게 관찰되었다.

이상의 결과로 調胃升清湯이 St. John's Wort 와 유사한 抗憂鬱 效能이 있음이 입증되었다.

參 考 文 獻

1. 민성길 : 최신정신의학, 서울, 一潮閣, pp. 206-219, 586-591, 1998.
2. 이근후 : 정신장애의 진단 및 통계편람 제4판 (DSM-IV), 서울, 하나출판사, pp.419-433, 1995.
3. 李符永 : ICD-10 精神 및 行態障礙, 一潮閣, pp.150-160, 1998.
4. 黃義完, 金知赫 : 東醫 精神醫學, 現代醫學書籍社, pp.608-611, 1992.
5. 徐元熙, 李相龍 : 鬱症과 憂鬱症의 比較考察, 대전대학교 한의학연구소 논문집, 6(1):505-514, 1997.
6. 宋必正, 鄭大奎 : 鬱症에 대한 文獻的 考察, 동의신경정신과학회지, 6(1):107-114, 1995.
7. 李吉才, 姜允皓 : 鬱證에 대한 文獻的 考察(治法을 中心으로), 동서의학, 20(1):46-55, 1995.
8. 田炳薰, 鄭遇悅 : 鬱證의 病因·病證 分類에 關한 文獻的 考察, 대한한의학회지, 7(2):219-227, 1986.
9. 정대규, 서부일, 권순주 : 鬱證에 對한 文獻的 考察 (症治를 中心으로), 濟韓東醫學術院 論文集, 4(1):500-508, 1993.
10. 王彦恒 主編 : 實用中醫精神醫學, 人民衛生出版社, pp.72-89, 2000.
11. 許沛虎主編 : 中醫腦病學, 中國醫藥科技出版社, pp.453-459, 1998.
12. 洪元植 編 : 精校黃帝內經素門, 서울, 東洋醫學研究院, pp.277, 282, 288-289, 303, 1981.
13. 張介賓 : 景岳全書, 서울, 大星文化社, pp.413-419, 1988.

14. 신경호 : 憂鬱症의 실험모델과 항우울제의 선별, 대한정신약물학회지, 11(4):291-303, 2001.
15. Willner P : The validity of animal model of depression, Psychopharmacology, 83:1-16, 1984.
16. Willner P : Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression : a 10-year review and evaluation, Psychopharmacology(Beal), 134(4): 319-329, 1997.
17. 지상은, 김종우, 황의완, 김현택, 곽소영, 김민정 : 憂鬱症誘發 원쥐에 대한 補血安神湯의 抗憂鬱效果, 대한 심신스트레스학회지, 9(1):15-32, 2001.
18. 성우용, 김종우, 황의완, 박은혜, 이정륜, 김현택 : 憂鬱症誘發 원쥐에 대한 歸脾湯의 抗憂鬱效果, 동의신경정신과학회지, 13(2):121-147, 2002.
19. 이정아, 김종우, 황의완, 곽소영, 김민정, 박은혜 : Chronic Mild Stress로 誘發된 憂鬱症 모델 원쥐에 대한 歸脾湯의 實驗的 研究, 동의신경정신과학회지, 12(1):123-135, 2001.
20. 차윤주, 김종우, 황의완, 김현택, 곽소영, 김민정 : 憂鬱症 모델 원쥐에 대한 歸脾溫膽湯의 實驗的 研究, 동의신경정신과학회지, 12(2):53-68, 2001.
21. 김중찬, 김종우, 황의완, 김현주, 김은주, 김현택 : 憂鬱症 모델 원쥐의 水中迷路學習과 VTA의 TH 水準에 對한 古庵心腎丸去朱砂方의 效果, 대한스트레스학회지, 11(1):25-38, 2003.
22. 이재혁, 김종우, 황의완, 김현택 : 古庵心腎丸去朱砂方이 憂鬱症 모델 원쥐의 憂鬱 性向 및 PVN의 c-fos 發顯에 미치는 效果, 동의신경정신과학회지, 13(2):107-119, 2002.
23. 李升基 : 憂鬱症誘發 白鼠에 대한 分心氣飲의 抗憂鬱效果, 경희대학교 대학원, 2000.
24. 李姓恩 : Chronic Mild Stress로 유발된 憂鬱症 모델 원쥐에 대한 分心氣飲의 實驗的 研究, 경희대학교 대학원, 2000.
25. 김광호 : 원지석창포산이 Chronic Mild Stress 처치 원쥐의 우울과 학습장애에 미치는 영향, 경희대학교 대학원, 2001.
26. 현경철, 김종우, 황의완, 박순권, 이정륜, 김현주 : 遠志石菖蒲散이 CMS를 받은 원쥐의 憂鬱, 學習, 그리고 뇌의 TH 및 c-Fos 발현에 미치는 影響, 대한스트레스학회지, 10(1):25-42, 2002.
27. 趙忠勳 : 清火補心湯이 憂鬱症 모델動物의 絕望行動, 不安 및 腦의 TH와 c-fos 發顯에 미치는 效果, 경희대학교 대학원, 2003.
28. 홍성원, 김종우, 김은주, 김현주, 김현택, 황의완 : 黃連解毒湯이 憂鬱症 모델動物의 水中迷路學習과 뇌의 Tyrosine Hydroxylase 發顯 水準에 미치는 效果, 동의신경정신과학회지, 14(1):27-44, 2003.
29. 李濟馬 : 東醫壽世保元, 행림출판사, p.116, 122, 1979.
30. 東醫學研究所 편저 : 朝鮮民族四象醫學, 여강출판사, p.338, 1993.
31. 李乙浩, 洪淳用 : 四象醫學原論, 서울, 杏林出版社, pp.321, 335, 343, 349-352, 1979.
32. 慶熙醫療院韓方病院 編 : 漢方基本處方集, 서울, 慶熙醫療院 韓方病院, p.221, 1988.
33. 金昌玟, 柳順燮 : 東醫四象精解, 서울, 아카데미 서적, pp.648-649, 2000.
34. 元持常 : 東醫四象新編, 서울, 정담, p.188, 2002.
35. 金容文 : 調胃升清湯의 抗stress效果에 關한 實驗的 研究, 경희대학교 대학원, 1988.
36. 嚴孝眞 : 調胃升清湯加鹿茸이 拘束스트레스 원쥐의 抗스트레스와 免疫反應에 미치는 影響, 경희대학교 대학원, 1997.
37. 柳志杰 : 調胃升清湯의 效能에 關한 實驗的 研究, 경희대학교 대학원, 1985.
38. 우주영, 김종우, 황의완, 김현택, 박순권 : 調胃升清湯이 원쥐의 방사형 미로 학습과 기억에 미치는 影響, 동의신경정신과학회지, 8(1):69-79, 1997.
39. 李雄錫 : 調胃升清湯이 Alzheimer's disease 모델 白鼠의 학습과 기억에 미치는 影響, 경희대학교 대학원, 1998.
40. 金保均 : 알츠하이머형 치매환자에 대한 調胃升清湯의 효능, 경희대학교 대학원, 2003.

41. 조성훈, 김중우, 김현택, 정경천, 황의완 : 調胃升清湯이 초기 Dementia of Alzheimer type 환자의 인지기능 변화에 미치는 효과, 동의신경정신과학회지, 14(1):17-26, 2003.
42. Benedetto vitiello : Hypericum perforatum Extracts as Potential Antidepressants, J. Pharm. Pharmacol, 51:513-517, 1999.
43. A.Vandenbogaerde, P.Zanoli, G.Puia, : Evidence That Total Extract of Hypericum perforatum Affects Exploratory Behavior and Exerts Anxiolytic Effects in Rats, Pharmacology Biochemistry and Behavior, 65(4):627-633, 2000.
44. Feng Chen, Amir H. Rezvani, Andrew J. Lawrence : Autoradiographic quantification of neurochemical markers of serotonin, dopamine and opioid systems in rat brain mesolimbic regions following chronic St. John's wort treatment, Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 367:126-133, 2003.
45. Veronika Butterweck, Tobias Bockers, Brigitte Korte, Werner Wittkowski, Hike Winterhoff : Long-term effects of St. John's wort and hypericin on monoamine levels in rat hypothalamus and hippocampus, Brain Res 930:21-29, 2002.
46. Yu PH : Effect of the Hypericum perforatum extract on serotonin turnover in the mouse brain, Pharmacopsychiatry, 33(2):60-65, 2000.
47. Linde K, Mulrow CD : St. John's wort for depression, Cochrane Database Syst Rev, (2):CD000448, 2000.
48. Gambarana C, Ghiglieri O, Tolu P, De Montis MG, Giachetti D, Bombardelli E, Tagliamonte A : Efficacy of an Hypericum Perforatum (St. John's Wort) Extract in Preventing and Reverting a Condition of Escape Deficit in Rats, Neuropsychopharmacology, 21(2):247-257, 1999.
49. Simon P, Soubrie P : Behavioral studies to differentiate anxiolytic and sedative activity of the tranquilizing drugs, In Modern Problems of Pharmacopsychiatry, 14:99-143, 1979.
50. Walsh R, Cummins R : The Open-field Test: A Critical Review, Psychological Bulletin, 83(3):482-504, 1976.
51. Salum, C., Morato, S., and Roque-da-Silva, A. C. : Anxiety-like behavior in rats: a computational model. Neural Networks, 13, 21-29, 2000.
52. Morris R : Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat, J. Neurosci Methods, 11:47-60, 1984.
53. Martinez-Turrillas R, Frechilla D, Del Rio J : Chronic antidepressant treatment increases the membrane expression of AMPA receptors in rat hippocampus, Neuropharmacology, 43(8):1230-1237, 2002.
54. Todd E. Anthony, Efrain C. Azmitia : Molecular characterization of antipeptide antibodies against the 5HT1A receptor: evidence for state-dependent antibody binding, Molecular Brain Research, 50:277-284, 1997.
55. Zhou FC, Patel TD, Swartz D, Xu Y, Kelley MR : Production and characterization of an anti-serotonin 1A receptor antibody which detects functional 5HT1A binding sites, Brain Res Mol Brain Res, 8:69(2):186-201, 1999.
56. DeLongis A, Coune JC, Dakof G, Folkman S, Lazarus RS : Relationship of daily hassles, uplifts, and major life events to health status, Health Psychol 1:119-136, 1982.
57. Lazarus RS, DeLongis A, Folkman S, Gruen R : Stress and adaptational outcomes : The problems of confounded measures, Am Psychologist 40:770-779, 1985.
58. 김덕호 : 신체증상 및 기분 증상을 주증상의

- 로 호소하는 憂鬱症 환자군의 비교, 경희대학교 대학원, 1999.
59. 上海中醫學院 編 : 中醫 內科學, 香港, 商務印書館, pp.187-193, 1983.
60. 朱丹溪 : 丹溪心法附餘, 서울, 大星文化社, pp.515-527, 1982.
61. 虞搏 : 醫學正傳, 서울, 成輔社, pp. 85-87, 1986.
62. 전국 한의과대학 사상의학 교실 엮음 : 四象醫學, 서울, 集文堂, pp.46-50, 80, 1997.
63. 金鍾元, 金鍾佑, 高炳熙, 宋一炳 : 四象體質分類 檢査와 多面的 人性檢査의 比較分析을 통한 四象體質鑑別과 四象體質別 人格特性에 關한 考察, 대한한의학회지 15(1):66-74, 1994.
64. 서용, 김락형, 권보형, 송정모 : Beck 우울 척도, 상태-특성 불안 척도를 이용한 사상인의 심리특성에 대한 연구, 사상체질의학회지, 12(1):136-143, 2000.
65. 金度淳, 黃義完 : 동의심학초고, 사상의학회지, 5(1):99-106, 1993.
66. 全國 韓醫科大學 本草學敎室 共編 : 本草學, 서울, 永林社, pp.493-494, 496-497, 585-586, 1991.
67. Butterweck V : Mechanism of action of St. John's Wort in depression : What is know?, CNS Drug, 17(8):539-562, 2003.
68. G. calapai, A. Crupi, F. Firenzuoli, G.Costantino, G.Inferrera, G.M.Campo, A.P.Caputi : Effects of Hypericum perforatum on Levels of 5-Hydroxytryptamine, Noradrenaline and Dopamine in the Cortex, Diencephalon and Brainstem of the Rat, J. Pham Pharmacol, 51:723-728, 1999.
69. Vorbach EU, Arnold KH, Wolpert E : St. John's wort: a potential therapy for elderly depressed patients?, Drugs Aging, 16(3):189-197, 2000.
70. Woelk H, Burkard G, Grunwald J : Benefits and risks of the hypericum extract L1 160: drug monitoring study with 3250 patients, J Geriatr Psychiatry Neurol, 7(suppl 1):34-38, 1994.
71. Woelk H : Comparison of St John's and imipramine for treating depression: randomised controlled trial, BMJ, 321(7260):536-539, 2000.
72. Kumar V, Singh PN, Bhattacharya SK : Anti-stress activity of Hypericum perforatum L, Indian J Exp Biol, 39(4):344-349, 2001.
73. Obach RS : Inhibition of human cytochrome P450 enzyme by constituents of St. John's Wort, an herbal preparation used in the treatment of depression, J Pharmacol Exp Ther, 294(1) :88-95, 2000.
74. Dean A Bennett Jr, Lisa Phun, Jeffrey F Polk, Susan A Voglino, Vladislau Zlotnik, Robert B Raffa : Neuropharmacology of St. John's Wort (Hypericum), The Annals of Pharmacotherapy, 32:1201-1208, 1998.
75. Marie-Luise Buchholzer, Claudia Dvorak, Shyam S. Chatterjee, Jochen Klein : Dual Modulation of Striatal Acetylcholine Release by Hyperforin, a Constituent of St. John's Wort, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 301(2):714-719, 2002.
76. 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, 5:247-251, 1981.
77. Muscat R, Towell A, Willer P : Changes in dopamine autoreceptor sensitivity in an animal model of depression, Psychopharmacology, 94(4):545-550, 1988.
78. Willner P : The anatomy of melancholy: The catecholamine hypothesis of depression revisited, Reviews in Neuroscience, 1:77-99, 1987.
79. 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, Psychopharmacology,

- 93:358-364, 1987.
80. Muscat R, Papp M, Willer P : Reversal of stress induced anhedonia by the atypical antidepressants, fluoxetine and maprotiline, *Psychopharmacology*, 109:433-438, 1992.
81. Gorka Z, Moryl E, Papp M : Effect of chronic mild stress on circadian rhythms in the locomotor activity in rats, *Pharmacol Biochem*, 54(1):229-234, 1996.
82. D'Aquila PS, Brain P, Willer P : Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression, *Physiol Behav*, 56(5):861-867, 1994.
83. Cheeta S, Ruigt G, van Proosdij J, Willer P : Changes in sleep architecture following chronic mild stress, *Biol Psychiatry*, 41(4):419-427, 1997.
84. Ayensu WK, Pucilowski O, Mason GA, Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS : Effects of chronic mild stress on serum complement activity, saccharin preference, and corticosterone levels in Flinders lines of rats, *Physiol Behav*, 57(1):165-169, 1995.
85. Azpiroz A, Fano E, Garmendia L, Arregi A, Cacho R, Beitia 'g, Brain PF : Effects of chronic mild stress (CMS) and imipramine administration, on spleen mononuclear cell proliferative response, serum corticosterone level and brain norepinephrine content in male mice, *Psychoneuroendocrinology*, 24(3):345-361, 1999.
86. Dziejzicka-Wasylewska M, Willer P, Papp M : Changes in dopamine receptor mRNA expression following chronic mild stress and chronic antidepressant treatment, *Behav Pharmacol*, 8(6-7):607-618, 1997.
87. Kioukia N, Bekris S, Antoniou K, Papadopoulou-Daifoti Z, Christofidis I : Effects of chronic mild stress(CMS) on thyroid hormone function in two rat strains, *Psychoneuroendocrinology*, 25(3):247-257, 2000.
88. Kubera M, Basta-Kaim A, Holan V, Simbirtsev A, Roman A, Pigareva N, Prokopieva E, Sham J : Effect of mild chronic stress, as a model of depression, on the immunoreactivity of C57BL/6 mice , *Int J Immunopharmacol*, 20(12):781-789, 1998.
89. 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*, 107(1-2):21-33, 2000.
90. Marona-Lewicka D, Nichols DE : The Effect of Selective Serotonin Releasing Agents in the Chronic Mild Stress Model of Depression in Rats, *Stress*, 2(2):91-100, 1997.
91. Willner P., J.-L. Moreau, C.K. Nielsen, M. Papp, A. Sluzewska :Decreased hedonic Responsiveness Following Chronic Mild Stress is not secondary to loss of body weight, *Physiology & Behav.*, 60(1):129-134, 1996.
92. Fukuda S, Iwahara S : Dose effect of chlordidazepoxide upon habituation of open-field behavior in white rats, *Psychologia*, 17:82-90, 1974.
93. Dawson, GR, Tricklebank, MD : Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents. *Trends Pharmacol Sci*, 16(2):33-36, 1995.
94. Treit, D., Menard, J., and Royan, C. : Anxiogenic Stimuli in the Elevated Plus-Maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 44:463-469, 1993.
95. Coleta M, Campos MG, Cotrim MD, Proenca da Cunha A : Comparative evaluation of *Melissa officinalis* L., *Tilia eu* L., *Passiflora edulis* Sims. and *Hypericum perforatum* L. elevated plus maze anxiety test, *Pharmacopsychiatry*, 34 Suppl 1:S20-21, 2001.

96. Kumar V, Jaiswal AK, Singh PN, Bhattacharya SK : Anxiolytic activity of Indian *Hypericum perforatum* Linn: experimental study, *Indian J Exp Biol*;38(1):36-41, 2000.
97. 이양현, 박용진 : 항우울제와 인지기능, *생물치료정신의학*, 8(1):186-197, 2002.
98. 조선영, 박순권, 이기철, 김현택 : 스트레스 憂鬱症 동물모델에서 paroxetine의 항우울효과와 기억증진효과, 대한 심신스트레스학회지, 5(1):55-64, 1997.
99. De Quervain DJ, Roozendaal B, McGaugh JL : Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory, *Nature*, 20; 394(6695):787-790, 1998.
100. Gallagher M, Nicolle MM : Animal models of normal aging: relationship between cognitive decline and markers in hippocampal circuitry, *Behav Brain Res*, 30;57(2):155-162, 1993.
101. Kant GJ, Wylie RM, Vasilakis AA, Ghosh S : Effects of triazolam and diazepam on learning and memory as assessed using a water maze, *Pharmacol Biochem Behav*, 53(2):317-322, 1996.
102. Widy-Tyszkiewicz E, Piechal A, Joniec I, Blecharz-Klin K : Long term administration of *Hypericum perforatum* improve spatial learning and memory in the water maze, *Biol Pharm Bull*, 25(10):1289-1294, 2002.
103. Klimek V, Zak-Knapik J, Mackowiak M.: Effects of repeated treatment with fluoxetine and citalopram, 5-HT uptake inhibitors, on 5HT1A and 5-HT2 receptors in the rat brain, *J Psychiatry Neurosci*, Jan 19(1):63-67, 1994.
104. Lopez JF, Chalmers DT, Vazquez DM, Watson SJ, Akil H. : Serotonin transporter mRNA in rat brain is regulated by classical antidepressants, *Biol Psychiatry*, Feb 15;35(4):287-290, 1994.
105. Meltzer HY : Commentary on "clinical studies on the mechanism of action of clozapine; the dopamine-serotonin hypothesis of schizophrenia.", *Psychopharmacology*, 99:S18-S27, 1989.
106. Merriam EP, Thase ME, Haas GL, Kewhavan MS, Sweeney JA : Prefrontal cortical dysfunction in depression determined by Wisconsin Card Sort Performance, *Am J Psychiatry* 156:780-782, 1999.
107. Owens MJ, Nemeroff CB : The serotonin transporter and depression. *Depress Anxiety*, 8 Suppl 1:5-12. Review, 1998.
108. Trullas R, Skolnick P. : Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant actions, *Eur J Pharmacol*, Aug 21;185(1):1-10, 1990.
109. Welner SA, De Montigny C, Desroches J, Desjardins P, Suranyi-Cadotte BE. : Autoradiographic quantification of serotonin1A receptors in rat brain following antidepressant drug treatment, *Synapse*.;4(4):347-352, 1989.
110. Franklin M, Chi J, McGavin C, Hockney R, Reed A, Campling G, Whale RW, Cowen PJ : Neuroendocrine Evidence for Dopaminergic Actions of *Hypericum Extract* (LI 160) in Healthy Volunteers, *Biol Psychiatry*, 46:581-584, 1999.
111. Kaehler ST, Sinner C, Chatterjee SS, Philippu A : Hyperforin enhances the extracellular concentrations of catecholamines, serotonin and glutamate in the rat locus coeruleus : *Neuroscience Letters*, 262:199-202, 1999.
112. 이경규, 임명호, 강영규, 이종현, 백기청, 김현우 : 憂鬱症 환자에서 *Hypericum Perfratum*(St. John's Wort)에 의해 유발된 조증 1례, *대한정신약물학회지*, 12(2): 151-156, 2001.