

원저

## 약침이 반복적인 코카인 투여로 인한 행동적 민감화 현상에 미치는 효과

이봄비\* · 양재하\*\* · 함대현\* · 이해정\* · 심인섭\*

\* 경희대학교 동서의학대학원 한의과학과

\*\* 대구한의대학교 한의과대학 생리학교실

### Effect of Herbal-Acupuncture on Repeated Cocaine-induced Behavioral Sensitization in the Rat

B. B. Lee\* · C. H. Yang\*\* · D. H. Hahm\* · H. J. Lee\* · I. Shim\*

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

\*\* Department of physiology, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University, Korea.

Substantial evidence suggests that behavioral and reinforcing effects of cocaine can be mediated by the mesolimbic dopaminergic system. It has been shown that repeated injections of cocaine produce increase in locomotor activity, expression of the immediate-early gene, c-fos in the nucleus accumbens (NAc), which was one of the main dopaminergic terminal areas.

Herbal-acupuncture as a therapeutic intervention has been widely used for the treatment of many functional disorders such as drug abuse. *Coptidis Rhizoma* (CR) and its main component, berberine (BER) were selected as herbal medicine of herbal-acupuncture. Both medicines have been known to have the therapeutic effect on the central nervous system. In order to investigate the effects of CR and BER herbal-acupuncture at shenmen (HT7) point (CR/H and BER/H) on the cocaine-induced behavioral sensitization, the influence of CR/H and BER/H on repeated cocaine-induced locomotor activity, the change of c-Fos expression in the brain by immunohistochemistry were examined.

Male SD rats were given CR/H (0.4mg/kg) and BER/H (0.1mg/kg) 30 min before daily injections of cocaine hydrochloride (15mg/kg, i.p.) 10 days. After 3 days withdrawal, rats received a challenge injection of cocaine (15mg/kg, i.p.). Systemic challenge with cocaine produced much larger increased locomotor activity, accumbal Fos-like immunoreactivity in the NAc. Pretreatment with CR/H and BER/H significantly inhibited cocaine-induced locomotor activity, the change of c-Fos expression in the rats.

Our data demonstrated that the inhibitory effects of cocaine-induced behavioral sensitization by CR/H and BER/H were closely associated with the reduction of presynaptic dopamine release in the NAc. These results suggest that CR/H and BER/H can be effectively applied to cocaine addiction.

**Key words** : Cocaine, Behavioral sensitization, Locomotor activity, c-Fos, Nucleus accumbens (NAc), Herbal-acupuncture, *Coptidis Rhizoma* (CR), Berberine (BER), Shenmen (HT7)

### I. 緒 論

과학문명의 발달과 급진하는 경제사회에 따른 현대인들의 잇따른 스트레스로 인해 약물중독은 가장 중요

한 사회문제중의 하나이다. 약물이란 질병을 예방, 치료하는데 사용되는 물질을 지칭하면, 신체기능의 변화를 일으키는 물질을 말한다. 이러한 약물의 남용은 부정적인 측면에서 신체적, 정신적, 사회적으로 자기 파괴적이

며, 문제를 발생시킨다. 약물중독은 아편이나 신경안정제 또는 알코올과 같은 약물에 대한 신체적인 반응을 지칭한다. 이러한 약물중독은 내성, 금단증상 및 습관화의 현상을 가지는데, 약물의 사용으로 인한 통제력 상실을 의미하기도 한다. 최근의 약물남용은 청소년, 여성 남용자의 증가로 인한 세계적으로 심각한 정신질환 중의 하나로서, 중독성 약물에 대한 치료제의 개발은 시급한 현실이다. 이러한 약물중독의 해결책으로 여러 가지 사회정책 및 치료, 재활을 위한 프로그램이 이루어지고 있지만, 근본적인 치료대책으로서, 한계점을 가지고 있다.

코카인과 같은 중독성 약물들은 반복적인 투여로 인하여 약물처치에 따른 보행성 활동량이 증가한다(Kalivas et al., 1993 ; Robinson and Berridge, 1993). 또한 이러한 보행성 활동량은 행동적 민감화 현상을 보이는데, 이러한 행동적 민감화(behavioral sensitization)란 중독성 약물의 반복 투여 후에 그 약물에 대한 반응의 증가로 정의되는데, 이는 약물중독 발달의 지표로 간주된다. 메트암페타민(methamphetamine), 암페타민(amphetamine), 코카인(cocaine) 등을 포함하는 중독성 약물의 만성 투여는 보행성 활동량(locomotor activity)과 상동성 활동량(stereotype activity)을 지속적으로 증강시키는 행동적 민감화를 일으킨다. 행동적 민감화는 활동량이 점진적으로 증가하는 발달(development)단계와 증가된 활동량이 장기간 유지되는 상태인 발현(expression)단계로 구분된다(Kalivas and Stewart, 1991; Richtand et al., 2001 for review). 동물 연구를 통한 이러한 행동적 민감화 현상의 신경기전 연구는 약물중독의 원인과 관련하여 많은 관심을 불러왔으며, 인간의 약물중독 행동의 원인규명과 약물중독의 뇌 기전 이해에 대한 주요 모델을 제공한다.

코카인은 강화효과를 통하여 탐닉현상이 생기는데, 이러한 행동적 민감화에 영향을 주는 요인은 도파민(dopamine, DA) 신경전달계의 활성화인데(Li et al., 2000 ; Steketee, 2003, for review), 특히 코카인 투여로 인한 보상 및 강화작용은 복측피개야(ventral tegmental area, VTA)에서 기시하는 A10신경이 측핵으로 투사되는 중뇌 변연계(mesolimbic dopaminergic system)가 중요한 역할을 맡고 있다고 알려져 있다(Kandel et al., 2000 ; Fallon and Loughlin, 1995).

중독성 약물에 의해 나타나는 행동적 민감화는 초기 유전자(immediate early gene) 중의 하나인 c-Fos 발현의

증가와 상관이 높는데, 특히 c-Fos는 신경활성의 표지자(neural marker)로 이용되고 있으며, 코카인 투여 후에 약물중독의 표적 영역이라 알려진 도파민성 신경세포의 말단 부위인 측핵(nucleus accumbens)과 선조체(striatum)에서 c-Fos(Fos-like-immunoreactive, FLI) 신경세포들이 많이 증가하며, 이러한 행동적 민감화와 c-Fos 발현이 코카인에 따른 쾌감이나 보상적 효과를 매개하는 지표로 간주된다(Alonso et al., 1999).

최근의 연구들을 보면, 실험동물에 반복적으로 D1 receptor agonist인 SKF-38393를 투여한 경우, 보행성 활동량과 신경활성도의 지표인 c-Fos의 발현이 증가되었으며(Sally, et al., 2000), in vivo 미세투석법(microdialysis)를 이용하여 관찰한 실험에서 약물중독과 관련 있는 부위인 선조체 및 측핵에서 코카인 투여로 인한 DA의 농도가 현저하게 증가되었다고 보고된 바 있다(Pontieri et al., 1995). 이는 보행성 활동량의 증가에서 생화학적 측면인 DA와 행동학적인 측면인 보행성 활동량이 깊은 관련이 있다는 실험적인 증거를 제시하였다(Kuczenski et al., 1991).

한편, 약침은 침구학적인 효능에서 내복약이 갖는 소화흡수과정에서의 장기간 소요, 유효성분의 소실, 복용의 불편함을 극복해 주며, 이는 경락, 경혈을 자극함으로써 내장과 병소에 직접 전달하게 하는 것인바, 최소량의 약물로써 최대의 효과를 기대할 수 있다. 또한 본 초학적인 효능에서 한약이 지닌 천연물로서의 안정성을 그대로 살린 채, 한약의 효능을 그대로 발휘하며, 침술의 신속성과 한약의 안정성과 유효성이 인체 내에서 상승작용을 일으킨다(Ann, 1999)

약침의 한약제재로 사용한 황련(*Coptidis Rhizoma*)은 건위·소염·항균 등의 효능이 있어 소화불량, 위염, 장염, 복통, 구토, 이질, 심계(心悸), 번열(煩熱), 인후종통(咽喉腫痛), 토혈, 코피, 하혈, 화상 등의 치료에 처방된다. 또한 황련은 진정작용을 가지고 있어서 정신불안증의 치료에도 사용되고 있는 약제이다. 따라서 황련이 진정작용과 정신불안에 효과가 있음을 비추어 약물중독으로 인한 행동적 변동과 중추신경계에 영향을 미칠 것으로 기대된다(Clement-Cormier et al., 1979 ; Guo et al., 2002 ; Lin et al., 2002 ; Chang and Lin, 2001).

약침의 혈자리로 선정된 신문혈(神門穴, HT7)은 手小陰心經의 穴로서 心經의 原穴이다. 心悸亢進, 신경쇠약, 치매, 전간, 건망증, 뇌빈혈, 두통, 不眠症, 구토, 자궁내막염, 황달, 便秘, 狹心症에 주로 작용하며, 특히 진정작용

에 효과가 있는 穴로서, 정신불안증의 치료에도 사용되고 있다(Hans-Ulrich et al., 2001). 최근에는 신문혈의 자극이 임상과 실험동물에서 정신불안, 우울증, 약물중독에 효과가 있다고 보고 되었다(Hui et al., 2000 ; Ernst et al., 1998; Ulett et al., 1998 ; Avants et al., 1995).

그러나 아직 약침이 코카인에 의한 약물중독에 어떠한 영향을 미치는 지에 관해서는 연구된 바가 없다. 따라서 우리는 본 연구에서 코카인의 중독에 의한 행동적 민감화에 미치는 황련약침과 그 구성성분인 berberine 약침의 효과를 알아보려고 하였으며, 동시에 코카인에 의한 뇌의 활성화에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 하였다.

## II. 實驗方法

### 1. 실험동물

실험동물은 신타코동물센터(Kyungki-do, Korea)로부터 구입한 Sprague-Dawley계 흰쥐(260-270g)로, 일주일 정도 실험실 환경(온도는  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , 습도는  $50 \pm 10\%$ )에 적응시킨 후 사용하였다. 실험동물은 각 cage 당 3-4마리씩 넣어 두었으며, 물과 사료(고형사료 : 실험동물 쥐용, 삼양유지(株))를 자유로이 섭취하도록 하였다.

### 2. 실험재료

황련 약침액은 대한약침학회에서 조제한 실험용 약침을 사용하였다. 황련의 주성분은 berberine으로 황련의 4-7%를 차지한다. 그 외 성분으로는 columbamine, coptisine, groenlandicine, berberastine, thalifendine 등으로 알려져 있다. 코카인(Cocaine, Macharlan, Smiss Limit, UK)과 berberine(Sigma, St. Louis, MO)는 표준품을 사용하였으며, 약침 주입기는 0.8ml의 1회용 주사기(26 gauge, 동신메디텍, 한국)를 사용하였다.

### 3. 실험절차

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

을 측정하였다. 1시간 동안 안정시의 활동량 측정을 거친 동물은 코카인(15mg/kg, i.p.)을 투여하기 30분전에 황련약침(0.4mg/kg)과 berberine(0.1mg/kg)을 투여하여 몸 안에서 충분히 약침성분이 흡수되도록 처치하였다. 약침 처치 후의 보행성 활동량을 1시간 동안 측정하였다. 이러한 과정을 10일 동안 반복 처치하여 발달단계(development)에서 약침의 효과를 알아보려고 하였다. 보행성 활동량 측정은 매일 동일한 시간에 한 번 측정되었으며, 10일 동안의 발달과정을 거친 동물은 3일 동안의 약물 철회 기간(withdrawal)을 거친 다음, 14일째 동일한 조건에서 코카인을 재투여하여 행동적 민감화(challenge)에 대한 보행성 활동량을 측정하였다. 실험동물은 각 군마다 5-8마리씩 배정하여 다음과 같이 5개의 군으로 나누었다. 흰쥐에게 생리식염수(1mg/kg, i.p., 0.9% NaCl)를 10일 동안 투여한 후, 3일 동안의 철회 기간을 거친 다음, 14일째 다시 생리식염수에 재노출시킨 군(SAL group(n=5)), 흰쥐에게 코카인(15mg/kg, i.p.)를 10일 동안 투여한 후, 3일 동안의 철회 기간을 거친 다음, 14일째 다시 코카인에 재노출시킨 군(COC group(n=8)), 흰쥐에 코카인 투여 30분전에 생리식염수를 수소염의 원혈인 신문혈에 위와 동일한 방법으로 투여한 군(0.2mg/kg, SAL/H+COC group(n=7)), 흰쥐에 코카인 투여 30분전에 황련약침을 신문혈에 위와 동일한 방법으로 투여한 군(0.4mg/kg, CR/H+COC group(n=7))와 흰쥐에 코카인 투여 30분전에 berberine 약침을 신문혈에 위와 동일한 방법으로 투여한 군(0.1mg/kg, BER/H+COC group(n=5))으로 나누었다.

### 4. 행동측정장치

실험동물의 보행성 활동량을 측정하기 위하여, 본 연구에서는 videotracking을 이용하여 S-MART program (Barcelona, Spain)으로 분석하였다. 측정 상자는 가로, 세로, 높이가 각각  $40 \times 40 \times 45\text{cm}$ 의 크기로 이루어진 검은색 아크릴 상자에서 실험동물의 움직임을 상자 위에 설치된 digital camera를 사용하여 videotracking 방법으로 측정하였다. 실험동물의 움직인 거리를 데이터화하여 정량화 하였다.

### 5. 면역조직화학법(Fos-like immunohistochemistry)

마지막 14일째 행동실험이 끝난 쥐를 sodium

pentobarbital(80mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후, 0.9% saline 200ml에 이어 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 용액 800ml로 심장을 통해 관류하였다. 고정액의 처음 100ml은 2분간, 나머지 700ml은 20분간에 걸쳐 관류하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2시간 후고정 시키고, 20% sucrose가 함유된 phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 4°C에서 하루 동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌 조직을 30 $\mu$ m의 크기로 잘랐다. PBS로 조직을 몇 차례 씻고, Fos expression 연구에 가장 널리 사용되는 primary rabbit anti-Fos antibody(Chemicon, Temecula, CA)에 담구었다. Primary antibody는 0.3% Triton-X 100(PBST)에서 2% normal goat serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA)으로 2000배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 primary antiserum에 4°C에서 72시간 동안 배양하였다. 그 후 뇌 조직을 PBST로 씻은 다음, 2시간 동안 실온에서 2% normal goat serum을 함유한 PBST에서 200배로 희석한 biotinylated goat anti-rabbit serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 반응시켰다. 다시 PBST로 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 1시간 동안 Elite standard vectastain avidin biotin complex(ABC) reagent(Vector Laboratories, Burlingame, CA)에 담구어 반응시켰다. PBST로 몇 번 헹군 다음 뇌 조직을 착색제인 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB ; Sigma, St. Louis, MO)을 사용하여 발색시켰다. 발색이 끝난 조직은 gelatine-coated slide에 얹어서 실온에서 건조시킨 후, xylene으로 투명화 시켜 polymount로 봉입하였다. 뇌 조직의 각 부위는 염색성들을 광학현미경으로 관찰하고 사진을 촬영하였다. 뇌의 각 부위의 위치와 명칭은 Paxinos와 Watson의 부도를 참고하였다. 현상된 사진에서 격자(100 $\times$ 100 $\mu$ m)를 이용하여 동일한 지역에서 일정한 영역에 반응되어 나타난 염색성의 정도를 counting하였다.

### 6. 통계처리

모든 측정값은 평균값 $\pm$ 표준오차(mean $\pm$ S.E.)로 표시하였고, 각 실험군간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS를 이용하였다. 각 집단간 행동 측정치의 비교는 repeated ANOVA test를 시행하였고, 조직분석법의 측정값은 one-way ANOVA를 시행하였으며, 사후검정은 Tukey test를 적용하였다. 전체 실험의 통계적인 유의성은 신뢰구간 P<0.05에서 의미를 부여하였다.

## III. 實驗結果

### 1. 반복적인 코카인 투여로 인한 보행성 활동량의 결과

생리식염수 처치군은 처음 생리식염수를 투여한 1일째의 보행성 활동량이 2233.5 $\pm$ 187.6였으며, 생리식염수를 반복 처치한 후, 10일째의 활동량은 1649.0 $\pm$ 220.8였다. 또한 3일간의 철회기간을 거친 다음, 14일째의 생리식염수 재투여시 활동량이 1507.7 $\pm$ 259.2으로 보행성 활동량에 별 차이를 보이지 않았다[F(2,14)=2.940, P=0.091]. 코카인 처치군은 처음 코카인을 투여한 1일째의 보행성 활동량이 6714.8 $\pm$ 665.9였다. 10일 동안 반복되는 코카인 투여에 의한 보행성 활동량을 측정된 결과, 활동량이 11511.8 $\pm$ 1293.3였다. 3일간의 철회 기간을 거친 다음, 14일째 코카인에 재노출했을 때 보행성 활동량은 11759.7 $\pm$ 614.9으로 행동적 민감화 현상을 보였다 [F(2,23)=9.729, P<0.01]. 그러나 코카인 투여 30분전에 황련약침과 berberine 약침을 투여한 집단의 경우, 1일째의 보행성 활동량이 각각 6384.7 $\pm$ 184.7과 6688.9 $\pm$ 434.0였으며, 반복적인 황련약침과 berberine 약침의 투여 후, 10일째의 활동량은 각각 7010.0 $\pm$ 587.0과 7319.4 $\pm$ 228.1였으며, 3일간 철회기간을 거친 다음 14일째의 보행성 활동량은 각각 6993.6 $\pm$ 223.0과 6600.3 $\pm$ 160.9으로 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다[F(4,27)= 109.314, P<0.001].

14일째의 보행성 활동량을 10분 단위로 하여 활동량의 변화를 관찰한 결과, 행동적 민감화 반응을 보이는 코카인 투여군의 경우, 정상군에 비해 시간에 따른 유의적인 증가를 보였다. 또한 황련약침과 berberine 약침을 투여한 군의 경우, 코카인 투여군과 비교하였을 때, 유의적으로 감소하였다[F(4,27)=71.307, P<0.001]. <Fig. 1, 2>

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

행동 실험이 끝난 후, 약물중독과 관련이 있는 부위인 측핵에서의 c-Fos발현을 본 결과는 다음과 같다.

먼저 측핵의 core 부위에서는 생리식염수 처치군은 5.07 $\pm$ 0.64였으며, 코카인 투여군은 14.42 $\pm$ 1.13였다. 코카인 투여 30분전에 황련약침과 berberine 약침을 처치

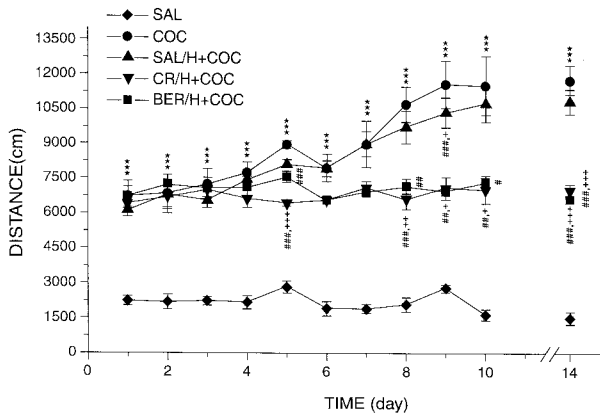


Fig. 1. Effect of herbal-acupuncture on repeated cocaine-induced locomotor activity. Cocaine was injected once daily for ten consecutive days, after which rats were challenged with systemic cocaine on day 14. Cocaine was not injected on days 11, 12, 13 of withdrawal periods. The experimental groups were treated with SAL/H+COC(n=7), CR/H+COC(n=7) and BER/H+COC(n=5) before 30 min injection of cocaine. Significance with Tukey's test following a repeated ANOVA was indicated as \*\*\*,  $P < 0.001$  vs. SAL group, or #,  $P < 0.05$ , ##,  $P < 0.01$ , ###,  $P < 0.001$  vs. COC group, and +,  $P < 0.05$ , ++,  $P < 0.01$ , +++,  $P < 0.001$  vs. SAL/H+COC group. Vertical lines indicated S.E.

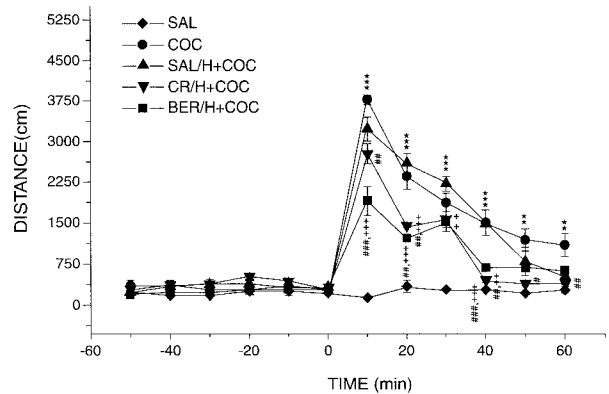


Fig. 2. Effect of herbal-acupuncture on repeated cocaine-induced locomotor activity on day 14. Locomotor activity was shown for 6 consecutive 10 min after treatment periods. Cocaine was injected once daily for ten consecutive days, after which rats were challenged with systemic cocaine on day 14. Cocaine was not injected on days 11, 12, 13 of withdrawal periods. The experimental groups were treated with SAL/H+COC(n=7), CR/H+COC(n=7) and BER/H+COC(n=5) before 30 min injection of cocaine. Significance with Tukey's test following a repeated ANOVA was indicated as \*\*,  $P < 0.01$ , \*\*\*,  $P < 0.001$  vs. SAL group, or #,  $P < 0.05$ , ##,  $P < 0.01$ , ###,  $P < 0.001$  vs. COC group, and +,  $P < 0.05$ , ++,  $P < 0.01$ , +++,  $P < 0.001$  vs. SAL/H+COC group. Vertical lines indicated S.E.

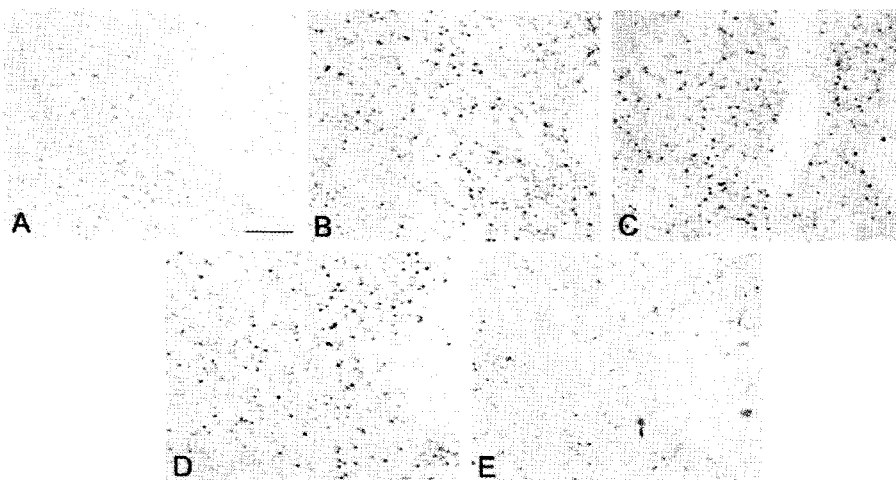


Fig. 3. Representative photographs showing c-Fos expression in the CORE of SAL(A), COC(B), SAL/H+COC(C), CR/H+COC(D) and BER/H+COC (E) groups. Scale bar represents  $100\mu\text{m}$ .

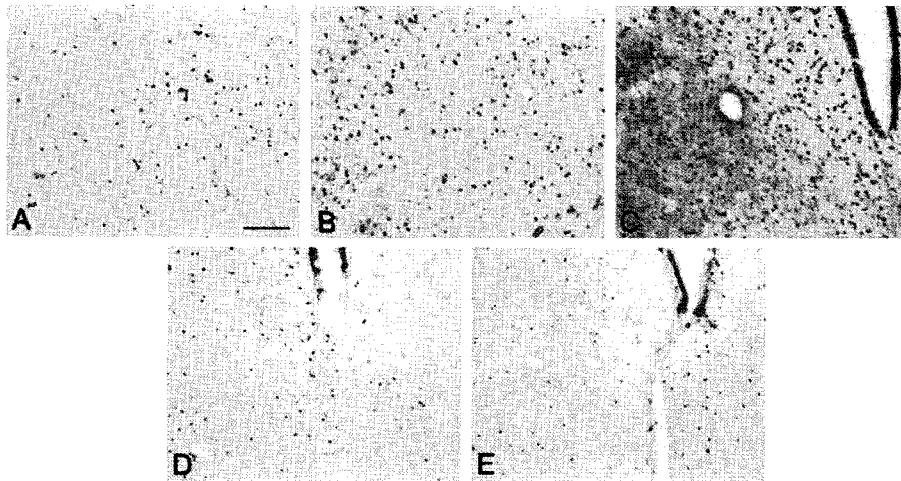


Fig. 4. Representative photographs showing c-Fos expression in the ARCH of SAL(A), COC(B), SAL/H+COC(C), CR/H+COC(D) and BER/H+COC (E) groups. Scale bar represents 100µm.

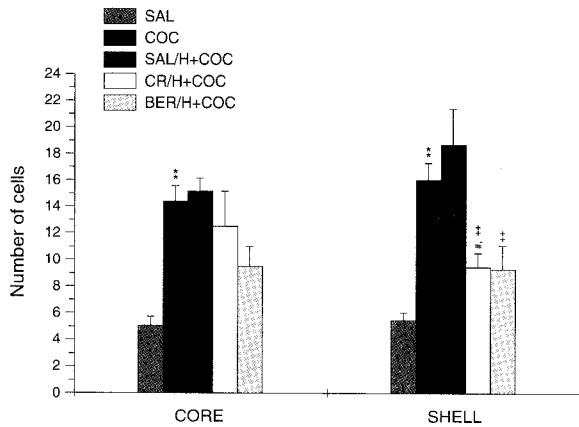


Fig. 5. Expression of c-Fos in the nucleus accumbens after systemic injections of saline or cocaine with CR/H and BER/H. Results were presented as mean±S.E. total number of Fos-like immunoreactive neurons within a 100×100µm grid over the areas at 100× magnification. Significance with Tukey's test following a one-way ANOVA was indicated as \*\*, P<0.01, \*\*\*, P<0.001 vs. SAL group, or #, P<0.05, ##, P<0.01 vs. COC group, and ++, P<0.01, +++, P<0.001 vs. SAL/H+COC group. Cells within the accumbal cell area were counted on each of 3 sections per animal.

한 군의 경우 각각  $12.48 \pm 2.70$ 과  $9.53 \pm 1.38$ 로 코카인 투여군에 비해 유의하게 감소함을 보였다[F(4,95)=5.676, P<0.001]. 측핵의 shell 부위에서는 생리식염수 처치군은  $5.40 \pm 0.51$ 였으며, 코카인 투여군은  $15.92 \pm 1.28$ 였다. 코카인 투여 30분전에 황련약침과 berberine 약침을 처치한 군의 경우 각각  $9.33 \pm 1.01$ 과  $9.20 \pm 1.74$ 로 코카인 투여군에 비해 유의하게 감소함을 보였다[F(4,95)=9.480, P<0.001]. <Fig. 3-5>

#### IV. 考 察

본 실험에서는 반복적인 코카인 처치로 인한 행동적 민감화 현상을 성공적으로 유도하고, 또한 코카인 처치 30분전에 황련약침과 그 구성성분인 berberine 약침을 투여하여 3일 동안의 철회 기간을 거친 후, 행동적 민감화 현상의 발현에 미치는 효과를 보았다. 약물중독 모델을 만들기 위하여 10일간 반복적으로 15mg/kg의 코카인을 복강투여 하였다. 보행성 활동량에서 생리식염수(saline)를 반복 처치한 군은 처치 후, 한 시간 동안 보행성 활동량이 동물의 자발적인 행동을 배제하고는 행동의 변화에 별 차이를 보이지 않았다. 하지만 코카인에 처음 급성으로 노출되었을 경우, 약물 처치 후, 한 시간 동안 보행성 활동량이 생리식염수를 처치 받은 군보다 급격히 증가하였으며, 약물중독 모델인 반복적

으로 코카인에 노출된 경우, 생리식염수 처치군과 코카인 급성 처치군에 대해서 보행성 활동량이 점진적으로 증가함을 보임으로써, 행동적 민감화 현상에서 발달단계가 성공적으로 유도되었음을 보였다. 또한 10일 동안 반복적으로 코카인에 노출된 후, 3일 동안의 약물 철회 기간을 거친 후, 14일째 같은 용량의 코카인에 재노출되었을 경우, 발달단계보다 더 높은 수치를 보임으로써, 행동적 민감화 현상의 발현단계가 성공적으로 유도됨을 보였다. 이에 대해 10일 동안 코카인을 반복 처치하기 30분전에 황련약침과 berberine 약침을 처치한 군은 14일째 같은 용량의 코카인을 재투여 하였을 경우, 보행성 활동량이 유의하게 감소하였다. 이로써 행동적 민감화 현상의 발현을 억제하는 현상을 보여줌으로써 약침인 황련과 그 구성성분인 berberine이 코카인의 약물 중독 치료에 효과가 있음을 제시하였다.

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

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

약침의 한약제재로 사용한 황련은 역대 본초서에 수록되어 한방 임상에 중요하게 처방되는 약물중의 하나이다(Tang and Eiesenbrand, 1992). 여러 가지 연구에서 황련은 in vitro와 in vivo 실험에서 아세틸콜린 증강작용, 평활근 이완작용, 해열, 항이노작용 등에 효과가 있으며(Yamahara, 1976), 중추신경억제작용, 진통 및 진정작용에 효과가 있다고 보고 된 바 있다. 또한, 열독 섬어 불면 소갈 복통 하리 등에 효능이 있으며, 황련과 그 구

성성분중에 하나인 berberine은 중뇌변연계(central dopaminergic systems)를 억제시킨다고 보고 된 바 있다(Hwang et al., 2002).

한편, 한의학의 침자극 요법은 인체의 氣血循環을 조절하고 經絡과 臟腑 間의 불균형 되어지는 부조화의 상태를 협조상태로 회복시키는 것으로, 이는 체내의 항상성 조절을 의미한다고 볼 수 있다(Stux and Pomeranz, 1987 ; Cao et al, 1983).

실험에 사용된 陰經중 神間穴은 手小陰心經의 穴로서 心經의 原穴이다. 이 穴은 銳衝 또는 中都라고도 하는데 손바닥 뒤 예골끝 맥이 뛰는 우묵한 곳에 위치한다. 腕關節을 背側으로 直角으로 구부리면 flexor carpi ulnaris m.와 flexor digitorum superficialis m.의 중간의 陷沒點을 취혈하며, 安神寧志, 清火涼營, 清心熱, 調氣逆의 혈성을 가지고 있다. 神門穴은 安神, 捻心을 주작용으로 하며, 심계항진, 심장쇠약, 치매, 전간, 건망증, 뇌빈혈, 두통, 불면증, 구토, 자궁내막염, 황달, 변비, 협심증에 작용한다. 神門穴 자침이 혈압 및 심박동수 변화에 길항적으로 작용하며, 혈압 및 심박동수의 조절을 요하는 병증치료에 神間穴의 침요법이 유효한 효과가 있다고 보고 되었다(Ann, 1999).

일반적으로, 중독성 약물에 의한 행동적 민감화 현상은 중추 신경세포에서 도파민이 담당하고 있으며, 그 표적 영역인 측핵과 선조체가 이를 담당하고 있다. 본 연구에서는 코카인 반복 투여로 인한 행동적 민감화 현상을 매개하는 신경학적 기전을 살펴보기 위하여 면역조직화학적 방법을 이용하여 proto-oncogene인 c-fos 발현의 정도를 통해 신경의 활성도를 측정하였다. 코카인을 반복적으로 주사하면 측핵 및 선조체 등에서 신경 활성 지표인 c-Fos의 발현이 증가된다(Heilig et al., 1993 ; Asin et al., 1994) 이에 코카인을 반복 처치함으로써 행동적 민감화로 인한 도파민의 방출과 관련된 기전에서 황련이 c-Fos의 발현을 유의적으로 억제시킴을 보여주었다. 이는 도파민성 신경세포의 활성화가 중뇌 변연 도파민계(mesolimbic dopaminergic system)의 활성화를 통해서 행동적 민감화 현상을 일으킴을 의미한다. 특히 측핵은 각각 다른 기능을 수행하는 두 개의 주요한 부위로 나뉘는데, 해부학적으로 shell 부위는 편도체 등인 변연계의 주요 기능을 담당하고 있으며, 복내측선조체와 관련되어 약물탐닉의 motive에 영향을 주고 있으며, core부위는 운동성 기능을 조절하며, 배외측선조체와 관련되어 있다(Zahm and Brog, 1992).

이상의 결과에서, 황련약침과 그 구성성분인 berberine 약침은 반복적인 코카인 투여로 인한 약물중독 모델에서 보행성 활동량을 감소시키고, 신경활성 지표인 c-Fos 활성을 감소시키므로, 약물중독을 억제시키는 효과를 보여 주었다. 이로써 황련약침과 berberine 약침은 약물중독 치료제로써의 가능성을 시사한다.

### V. 結 論

반복적인 코카인 투여로 인한 약물중독 모델에서 행동적 민감화 현상에 대한 황련약침과 그 구성성분인 berberine 약침의 효과를 알아보기 위하여 행동학적인 방법으로 보행성 활동량을 측정하였고, 면역조직화학분석법을 이용하여 측핵에서 신경활성지표로 사용되는 c-Fos의 발현을 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 10일 동안 반복적인 코카인(15mg/kg, i.p.)투여로 인하여 행동적 민감화의 단계인 발달단계를 성공적으로 유도하였으며, 3일 동안의 철회 기간을 거친 후, 14일째 코카인에 재노출시 발현단계를 성공적으로 유도하였다.

2. 황련약침과 berberine 약침은 반복적인 코카인으로 인한 행동학적 민감화 현상에서 보행성 활동량이 유의하게 감소되었다.

3. 황련약침과 berberine 약침은 코카인과 같은 약물중독과 관련이 있는 부위인 측핵에서 c-Fos의 발현을 유의하게 억제하였다.

이상의 결과에서, 황련약침과 그 구성성분인 berberine 약침은 반복적인 코카인 투여로 인한 약물 중독 모델에서 보행성 활동량과 신경활성을 감소시키므로, 약물중독에서 치료제로서의 가능성을 시사한다.

### VI. 參考文獻

1. Ahn KS.(1999) The essence of oriental medicine. Sonamoo. Seoul, Korea. p. 295.
2. Alonso R, Gnanadicom H, Frechin N, Fournier M, Fur G and Soubrie P.(1999) Blockade of neurotensin

- receptors suppresses the dopamine D1/D2 synergism on immediate early gene expression in the rat brain. Eur J of Neurosci. 11(3) : 967-74.
3. Asin KE, Nikkel AL and Wirtshafter, D.(1994) Repeated D1 receptor agonist treatment blocks cocaine-induced locomotor activity & c-Fos expression. Brain Res. 21 ; 637(1-2) : 342-4.
4. Avants SK, Margolin A, Chang P, Kosten TR and Birch S.(1995) Acupuncture for the treatment of cocaine addiction: Investigation of a needle puncture control. J Subst Abuse Treat. 12(3) : 195-205.
5. Cao XD, Xu SF and Lu WX.(1983) Inhibition of sympathetic nervous system by acupuncture. Acupunct Electrother Res. 8(1) : 25-35.
6. Chang CK and Lin MT.(2001) DL-Tetrahydropalmatine may act through inhibition of amygdaloid release of dopamine to inhibit an epileptic attack in rats. Neurosci Lett. 20 ; 307(3) : 163-6.
7. Clement-Cormier YC, Meyerson LR, Phillips H and Davis VE.(1979) Dopamine receptor topography. Characterization of antagonist requirements of striatal dopamine-sensitive adenylate cyclase using protoberberine alkaloids. Biochem Pharmacol. 15 ; 28(20) : 3123-9.
8. Dismukes K and Mulder AH.(1977) Effects of neuroleptics on release of 3H-dopamine from slices of rat corpus striatum. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 14;297(1) : 23-9.
9. Ernst E, Rand JI and Stevinson C.(1998) Complementary therapies for depression: an overview. Arch Gen Psychiatry. 55 : 1026-32. review.
10. Fallon JH and Loughlin SE.(1995) Substantia nigra. In : Paxinos G, editor. The rat nervous system. Academic Press. New York, USA. pp. 629-48.
11. Foltin RW and Fischman MW.(1988) Ethanol and cocaine interactions in humans : cardiovascular consequences. Pharmacol Biochem Behav. 31(4) : 877-83.
12. Guo H, Yu Y, Xing L, Jin GZ and Zhou J.(2002) (-)-Stepholidine promotes proliferation and neuronal differentiation of rat embryonic striatal precursor cells in vitro. Neuroreport. 15;13(16) : 2085-9.
13. Hans-Ulrich H, Angelika S, Elmar P, Jorg K and Kay L.(2001) Color atlas of acupuncture: Body points, Ear



- points, Trigger points. Thieme. Stuttgart. New York, USA. pp. 32-3.
14. Heilig M, Engel JA and Soderpalm B.(1993) c-fos antisense in the nucleus accumbens blocks the locomotor stimulant action of cocaine. *Eur J Pharmacol.* 236(2) : 339-40.
  15. Hwang JM, Wang CJ, Chou FP, Tseng TH, Hsieh YS, Lin WL and Chu CY.(2002) Inhibitory effect of berberine on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage in rat liver. *Arch Toxicol.* 76(11) : 664-70.
  16. Hui KK, Liu J, Makris N, Gollub RL, Chen AJ, Moore CI, Kennedy DN, Rosen BR and Kwong KK.(2000) Acupuncture modulates the limbic system and subcortical gray structures of the human brain : evidence from fMRI studies in normal subjects. *Hum. Brain Mapp.* 9(1) : 13-25.
  17. Kalivas PW, Sorg BA and Hooks MS.(1993) The pharmacology and neural circuitry of sensitization to psychostimulants. *Behav Pharmacol.* 4(4) : 315-34.
  18. Kalivas PW and Stewart J(1991) Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Res Brain Res Rev.* 16(3) : 223-44. review.
  19. Kandel ER, Schwartz JH and Jessel TM.(2000) Principles of neural science. Fourth edition. Mc Graw Hill. New York, USA. pp. 1009-10.
  20. Kreek MJ. (1996) Opiates, opioids and addiction. *Mol Psychiatry.* 1(3) : 232-54.
  21. Kuczenski R, Segal DS and Aizenstein ML.(1991) Amphetamine, cocaine, and fencamfamine : relationship between locomotor and stereotypy response profiles and caudate and accumbens dopamine dynamics. *J Neurosci.* 11(9) : 2703-12.
  22. Li Y, White FJ and Wolf ME.(2000) Pharmacological reversal of behavioral and cellular indices of cocaine sensitization in the rat. *Psychopharmacology.* 151(2-3) : 175-83.
  23. Lin MT, Wang JJ and Young MS.(2002) The protective effect of dl-tetrahydropalmatine against the development of amygdala kindling seizures in rats. *Neurosci Lett.* 8 ; 320(3) : 113-6.
  24. Paxinos G and Watson C.(1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press. New York, USA.
  25. Pontieri FE, Tanda G and Di Chiara G.(1995) Intravenous cocaine, morphin, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the "shell" as compared with the "core" of the rat nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci USA.* 92 : 12304-8.
  26. Richtand NM, Woods SC, Berger SP and Strakowski SM.(2001) D3 dopamine receptor, behavioral sensitization, and psychosis. *Neurosci Biobehav Rev.* 25(5) : 427-43. Review.
  27. Robinson TE and Berridge KC.(1993) The neural basis of drug craving: an incentive sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev.* 18(3) : 247-91.
  28. Sally AF, Shawn AR, Mdgorzata K and David JK. (2000) Prenatal exposure of the dopamine agonist SKF-38393 disrupts the timing of the initial response of the suprachiasmatic nucleus to light. *Brain Research.* 858 : 284-9.
  29. Steketee JD.(2003) Neurotransmitter systems of the medial prefrontal cortex : potential role in sensitization to psychostimulants. *Brain Res Brain Res Rev.* 41(2-3) : 203-28. Review.
  30. Stux G and Pomeranz B.(1987) Basics of acupuncture. Springer-Verlag. Berlin. pp. 1-18.
  31. Tang W and Eiesenbrand G.(1992) Chinese drugs of plant origin. Springer-Verlag. Berlin. 361-71.
  32. Ulett GA, Han S and Han JS.(1998) Electroacupuncture : mechanisms and clinical application. *Biol Psychiatry.* 15 ; 44(2) : 129-38. review.
  - Yamahara J.(1976) Central depressive action of coptidis rhizoma and its constituents. *Nipp Yaku Zas.* 899-908.
  33. Zahm DS and Brog JS.(1992) On the significance of subterritories in the 'accumbens' part of the rat ventral striatum. *Neuroscience.* 50(4) : 751-67.