

[¹¹C]Raclopride PET을 이용한 흡연에 의한 도파민 유리 영상 연구

서울대학교 의과대학 핵의학교실¹, 국립 암센터 진료지원센터², 암예방검진센터³
 김유경¹ · 조상수¹ · 이도훈² · 류혜정² · 이은주¹ · 류창형¹ · 정인순¹ · 홍수경¹ · 이재성¹
 서흥관³ · 정재민¹ · 이원우¹ · 김상은¹

Smoking-Induced Dopamine Release Studied with [¹¹C]Raclopride PET

Yu Kyeong Kim, M.D.¹, Sang Soo Cho, M.S.¹, Do-Hoon Lee, M.D.², Hye-Jung Ryu, M.S.²,
 Eun Ju Lee, M.S.¹, Chang Hung Ryu, B.A.¹, In Soon Jeong, M.S.¹, Soo Kyung Hong, M.S.¹,
 Jae Sung Lee, Ph.D.¹, Hong-Gwan Seo, M.D.³, Jae Min Jeong, Ph.D.¹, Won Woo Lee, M.D.¹,
 Sang Eun Kim, M.D.¹

Department of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea¹,

Center for Clinical Services,² and Center for Cancer Prevention,³ Research Institute and Hospital, National Cancer Center, Goyang, Korea

Purpose: It has been postulated that dopamine release in the striatum underlies the reinforcing properties of nicotine. Substantial evidence in the animal studies demonstrates that nicotine interacts with dopaminergic neuron and regulates the activation of the dopaminergic system. The aim of this study was to visualize the dopamine release by smoking in human brain using PET scan with [¹¹C]Raclopride. **Materials and Methods:** Five male non-smokers or ex-smokers with an abstinence period longer than 1 year (mean age of 24.4±1.7 years) were enrolled in this study. [¹¹C]Raclopride, a dopamine D2 receptor radioligand, was administrated with bolus-plus-constant infusion. Dynamic PET was performed during 120 minutes (3×20s, 2×60s, 2×120s, 1×180s and 22×300s). Following the 50 minute-scanning, subjects smoked a cigarette containing 1 mg of nicotine while in the scanner. Blood samples for the measurement of plasma nicotine level were collected at 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, and 90 minute after smoking. Regions for striatal structures were drawn on the coronal summed PET images guided with co-registered MRI. Binding potential, calculated as (striatal-cerebellar)/cerebellar activity, was measured under equilibrium condition at baseline and smoking session. **Results:** The mean decrease in binding potential of [¹¹C]Raclopride between the baseline and smoking in caudate head, anterior putamen and ventral striatum was 4.7 %, 4.0 % and 7.8 %, respectively. This indicated the striatal dopamine release by smoking. Of these, the reduction in binding potential in the ventral striatum was significantly correlated with the cumulated plasma level of the nicotine (Spearman's rho=0.9, p=0.04). **Conclusion:** These data demonstrate that in vivo imaging with [¹¹C]Raclopride PET could measure nicotine-induced dopamine release in the human brain, which has a significant positive correlation with the amount of nicotine administered by smoking.(Korean J Nucl Med 39(6):421-429, 2005)

Key Words: Smoking, Nicotine, Dopamine release, [¹¹C]Raclopride PET

서 론

전 세계적으로 만연하고 있는 흡연에 대한 위험성은 폐암 유발이나 관상동맥질환의 악화 등으로 이미 잘 알려져 있고, 최근에 들어서는 흡연이 중독성 행위로 간주되기 시작하였다. 흡연자에게 있어서 담배는 다른 중독성 약물과 마찬가지로 의존성 또는 내성, 그리고 금연 시에 금단증상을 유발하는데, 이는 담배 내에 포함되어 있는 니코틴 성분으로 인한 것으로 여겨진다.¹⁻³⁾

• Received: 2005. 8. 18. • Accepted: 2005. 12. 2.

• Address for reprints: Sang Eun Kim, M.D., Ph.D., Department of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, #300 Gumi-dong, Bundang-gu, Seongnam 463-707, Korea
 Tel: 82-31-787-7671, Fax: 82-31-787-4018
 E-mail: kse@snu.ac.kr

※ 이 연구는 서울대학교 신입교수 연구정착금으로 지원되는 연구비와 21세기프론티어연구개발사업인 뇌기능활용및뇌질환치료기술개발연구사업단의 연구비 (M103KV010016-05K2201-01630) 및 실시간분자영상기술연구사업 (M1042000007-05N2000-00710)의 지원에 의해 수행되었음.

약물 중독에 있어서 도파민 신경계가 가장 중요한 기능을 담당하고 있는 것으로 생각되는데, 중독과 관련한 도파민 신경계는 중뇌복측피개부위(ventral tegmental area of midbrain)에서 기시하여 변연계(limbic area)와 선조체(striatum), 그리고 전전두엽(prefrontal cortex)에 분포하고 있다. 중독성 약물들은 궁극적으로 변연계 선조체(mesolimbic striatum)의 nucleus accumbens에서 도파민의 유리를 증가시켜 약물에 의한 보상(reward)과 강화(reinforcement) 효과를 나타낸다고 생각된다.

니코틴 중독 역시 도파민 시스템이 매개 한다는 여러 동물 실험의 증거들이 제시되고 있으며, 이전의 소동물 실험에서는 니코틴에 의한 도파민 신경세포의 활성화나 이에 의한 도파민 유리가 관찰되었다. 예를 들어 니코틴에 의하여 복측피개부위의 도파민 신경세포에서 활동전위(action potential)의 발사(firing)와 방출율(bursting rate)이 증가하였다.⁴⁻⁶⁾ 소동물을 이용한 생체내 미세투석법(in vivo microdialysis) 실험에서는 니코틴 주사에 의하여 복측피개부위 또는 nucleus accumbens에서 도파민의 농도가 증가되는 것을 관찰하였으며,⁷⁻¹⁰⁾ 니코틴 억제제 전처리 시에는 니코틴에 의한 nucleus accumbens의 도파민 농도 증가가 감소되는 것이 관찰되었다.¹⁰⁾ 또한 니코틴을 자가 섭취하도록 훈련시킨 소동물모델(nicotine self-administration model)에서 복측피개부위의 도파민 신경계에 병변을 만들었던 경우나 도파민 길항제를 투여한 경우에서 니코틴 자가 섭취율이 감소하는 것이 관찰되었다.^{6,11)} 반면에 니코틴성 아세틸콜린 수용체가 결핍되어 있는 마우스의 경우에는 니코틴의 자가 섭취 모델을 만들 수 없었고, 니코틴에 의한 흥분성 도파민의 활성화도 일어나지 않음을 보고하였다.¹²⁾ 이는 니코틴 의존성에 있어서도 도파민 신경계와 관련됨을 시사하는 증거들이다. 니코틴과 도파민 신경계와의 상호 작용은 운동보행능(locomotor activity) 실험을 통하여도 많이 연구가 되었다. 소동물에서 도파민 또는 니코틴 투여에 의하여 운동보행능의 증가가 관찰되는 반면, 복측피개부위의 도파민 신경세포에 장애를 준 경우에는 니코틴 또는 도파민에 의한 운동보행능의 증가가 감소되었고, 니코틴에 의한 운동보행능의 증가 정도는 변연계 선조체 및 흑질 선조체(nigrostriatal region)에 남아있는 도파민 신경계와 비례관계를 보여서, 니코틴에 의한 운동보행능의 증가가 역시 도파민 시스템을 통하여 일어나는 것을 확인하였다.⁶⁾

지금까지의 동물실험에서 밝혀진 실험 결과들은 니코틴과 도파민 신경계는 긴밀한 상호 관계를 가지고 있으며, 니코틴에 의하여 전달된 흥분성 신경 전달이 도파민 신경세포를 활성화시켜 도파민의 유리를 증가시키고, 유리된 도파민

에 의하여 약물 중독에 관계한 보상 및 강화 효과를 나타낸다고 여겨진다.

최근 들어서는 생체내에서 도파민 유리를 영상화하는 방법이 약물 중독 연구에서 주로 이용되고 있다. [¹¹C]raclopride는 도파민 D2 수용체와 특이적으로 결합하는 PET용 방사성 리간드인데, 코카인, 암페타민 또는 메틸페니데이트(methylphenidate)에 의한 도파민 유리를 영상화하고, 약물 중독의 기전을 이해하려는 많은 연구에서 사용이 되었다.¹³⁻¹⁶⁾ 니코틴의 도파민 신경계의 효과는 Dewey 등¹⁰⁾에 의하여 처음으로 영상화 되었는데 바분을 이용한 동물 실험에서 니코틴 투여 전후에서 선조체에서의 [¹¹C]raclopride의 분포용적의 변화를 관찰하였고, 이후의 실험에서 고농도의 니코틴을 주사하였을 때 선조체에서의 [¹¹C]raclopride 결합이 감소됨을 보였다.¹⁵⁻¹⁷⁾ 그러나 마취제에 의한 중추 신경계 내의 변화가 니코틴에 의한 도파민 신경계에 대한 작용을 평가하는데 영향이 있음이 제기되어, 깨어있는 동물에서 도파민 유리의 영상화 연구가 진행되기 시작하였다.¹⁸⁾ 사람에서는 흡연자를 대상으로 흡연시의 도파민 유리를 영상화하는 연구가 제한적으로 이루어졌다.^{19,20)}

본 연구에서는 정상인에서의 흡연에 대한 도파민 신경계의 반응을 알아보고자 비흡연자들을 대상으로 하여 [¹¹C]raclopride PET(positron emission tomography)을 이용하여 흡연에 의하여 유리되는 도파민을 영상화 및 정량화하고자 하였다. 또한 흡연시 체내로 흡수된 니코틴의 농도와 흡연에 의하여 유리된 도파민의 정도와의 상관관계를 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

5명의 건강한 남자(평균 연령 24.4±1.7세)로 이전에 흡연의 경험이 없거나, 1년 이상 금연한 경우를 대상으로 하였다. 대상자는 병력 청취와 이학적, 신경학적 검사를 통하여 선별되었다. 대상자 모두 심각한 내과적, 신경과적 또는 정신과적 병력은 없었으며, 항정신성 약물 복용의 경력은 없었다. 대상자 중 1명은 과거 흡연력이 없었고, 다른 4명의 경우 평균 2.8±1.3 갑년(pack year)의 과거흡연 경력과 평균 19±7개월의 금연기간을 가지고 있었다.

대상자들은 실험에 참여하기전 검사에 대하여 충분한 설명을 받은 후, 동의서를 작성하였다. 대상자들은 스캔 전에 최근의 흡연 유무를 평가하기 위하여 요 스틱(urine stick)을 이용한 뇨의 정성적 검사에서 모두 니코틴이 검출되지 않았다. 실험 시작 전 흡연 욕구 및 의도와, 흡연에 의한 기대

효과에 대한 평가로 32개 항목으로 구성된 흡연 욕구에 대한 평가 질문(QSU; Questionnaire of Smoking Urges)²¹⁾을 실시하였다. 실험 시작 전 QSU에서는 대상자 모두에서 흡연에 의한 욕구가 전혀 없거나 거의 없었고, 금연에 의한 금단 증상은 전혀 없었다.

2. 뇌 자기공명(MRI: Magnetic resonance image) 영상

뇌의 구조적 이상이 없음을 확인하고, 공간정규화 및 관심 영역 설정을 위한 해부학적 정보를 얻기 위하여 대상자들로부터 뇌 MRI를 얻었다. 뇌 MRI는 1.5-T GE Signa scanner (GE Medical Systems, Milwaukee, WI)를 이용하여 3D-SPGR T1-weighted spoiled gradient echo pulse sequence (echo time = 5.5 ms; repetition time = 14.4 ms; number of excitations = 1; rotation angle = 20 degrees; field of view = 21×21 cm)로 영상을 획득하였으며, 256×256 매트릭스 크기에 1.5 mm의 두께로 시상면을 간격 없이 얻었다.

3. [¹¹C]raclopride PET 영상 획득

ECAT EXACT PET 스캐너(Simens, Knoxville, TN)를 이용하여 [¹¹C]raclopride PET 영상을 획득하였다. 대상자들이 스캐너에 누운 후, 검사 시간 동안의 머리 움직임을 최소화하기 위하여 가열가소성의 마스크(thermoplastic mask)를 이용하여 머리를 고정하였다. 우선, 감쇠 지도를 얻기 위하여 방사성리간드 주사 전 68-Ge/68-Ga를 이용하여 7 분간 투과 스캔을 얻었다. [¹¹C]raclopride 볼루스+연속 주입을 하면서 방출 스캔을 3D 획득 모드로 120 분 동안 시간을 증가시키면서 총 30개 프레임의 동적 영상(20 초 x 3, 1 분 x 2, 2 분 x 2, 3 분 x 1, 5 분 x 22)을 획득하였다. [¹¹C]raclopride 주사는 스캔 시간 동안 Watebe 등²²⁾에 의하여 최적화된 프로토콜에 따라서 볼루스-연속 주입법으로 주사되었다. 평균 총 방사능 1104±301 MBq의 [¹¹C]raclopride를 48 ml의 생리 식염수 용액에 포함되도록 준비하였고, 볼루스의 연속 주사시간 환산량이 105 분(K_{bol}=105 분)이 되도록 하여, [¹¹C]raclopride 용액 21 ml를 1 분에 걸쳐 순간 주사 한 후, 나머지 용액을 0.20 ml/min의 속도로 남은 시간 동안 연속 주사되도록 하였다.

스캔 시작 50 분 전에 대상자들에게 스캐너 위에 누운 상태에서 1mg의 니코틴이 포함되어 있는 담배 한 가치를 5 분 이내에 피도록 하였고, 흡연에 의한 혈중 니코틴의 농도 변화를 측정하기 위하여 흡연 전, 흡연 후 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90 분에 정맥혈을 채취하였다.

4. 뇨/혈장 니코틴 및 코티닌 측정

채취된 정맥혈 샘플은 즉시 혈장으로 분리하였고, 검사 전 채취한 뇨 시료와 함께 -20°C에 보관하였다. 10 ng/ml Nicotine-d₃ 50 ul와 10 ng/ml Cotinine-d₃ 50 ul를 이용하여 각각의 내부 표준 용액(internal standard: IU)의 최종농도가 5 ng이 되도록 한 후 30 초간 와동(vortexing)시켜서 표준 시료를 준비하였다. 100 ul 혈장 또는 뇨 샘플을 1 M NaOH 0.9 ml를 넣은 후, diethyl ether 2 ml를 각각 첨가하고, 90 초간 와동시킨 후 30 분간 방치하였다. 0.3% HCl 용액이 포함된 MeOH 50 ul가 들어 있는 튜브에 ether 층을 1 ml 씩 옮겨 담고, ether 와 methanolic HCl 이 잘 혼합되도록 30 분간 와동하고, 50°C의 증발 농축기(evaporator)에서 뚜껑을 연 채 건조시켰다. 건조된 튜브에 50 ul의 용출 완충액(elution buffer: MeOH:water=80:20)을 넣고, 여러 번 와동시킨 후 바이알(vial)에 옮겨 담았다. 준비된 시료는 액체 크로마토그래피-대기 화학 이온화 질량 분광계(Liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry; LC-APCI-MS) 시스템을 이용하여 니코틴과 주 대사물인 코티닌을 동시에 측정하였다. HPLC에서 분석용 칼럼은 일반 칼럼 없이 가드 칼럼(security guard cartridge, 4.0×100 mm 내경 3 μm, Phenomenex, Torrance, CA) 만을 사용하였다. 주입량 2 ul, 유속 0.3 ml/min으로 methanol-water (80:20, v/v)를 이동상으로 구성하였다. 이때 질량 분광계(mass spectrometer)에서의 측정조건은 Nic/Cot [M+H]⁺ spectra m/z 163.1, 177.1, Nic-d₃/Cot-d₃ [M+H]⁺ spectra m/z 166.1, 180.1, DP80, CE25로, CUR10, GS125, NC2, time 600 msec, ion source temperature는 400°C로 하였다.

5. 데이터 분석

모든 영상 데이터의 전처리 및 통계 분석을 위하여 AnalyzeTM (version 6.1, Mayo Biomedical Engineering, Rochester, Minnesota) 과 SPM2 (Wellcome Department of Imaging Neuroscience, Institute of Neurology, University College London)를 이용하였다. 동적 영상은 검사 도중의 머리 움직임을 영상 정합에 의하여 인접 프레임끼리 순차적으로 보정하였다. 움직임이 보정된 동적 PET 영상은 MRI 와 정합 및 관심영역의 설정 시에 더 많은 해부학적 정보를 얻기 위하여 [¹¹C]raclopride 순간 주사 후 0분에서 40분 영상을 합산한 영상(summed images)을 만들었고, 합산 영상과 MRI의 상호 정보(mutual information)를 이용하여, 각각의 MRI에 공간 정합하였다. 공간 정합된 영상은 전후교련선(anterior commissure-posterior commissure line; AC-PC

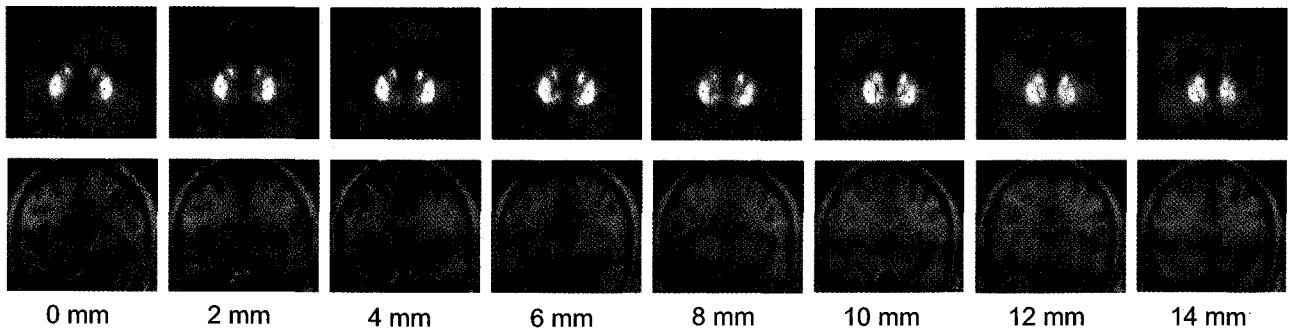


Fig. 1. Regions of interest were drawn on a summed [¹¹C]raclopride PET image and corresponding MRI. PET scan was coregistered to MRI and spatially normalized into standard space (MNI space). Images represent the coronal slices at the levels of 0 to 14 mm anterior to the plane of the anterior commissure with 2-mm intervals. The boundaries of ROIs for precommissural caudate (red line), precommissural putamen (green) and ventral striatum (yellow) were determined using the criteria which were established by Mawlawi.²³⁾

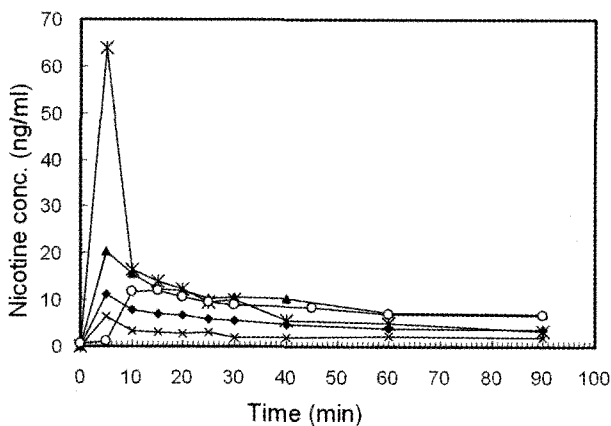


Fig. 2. Serial changes in the plasma levels of nicotine over the time in the individual subjects were plotted. Plasma levels (ng/ml) are shown on the y-axis, and time (minutes) is shown on the x-axis. The data were collected before (at time 0) and after a cigarette smoking. The cigarette smoking was completed within 5 minutes.

line)을 정렬하기 위하여 표준 뇌 MRI 템플릿에 공간 정규화하였고, 이 때 변환 매트릭스(transformation matrix)를 합산 PET 영상과 각각의 동적 영상 프레임에 적용하였다.

선조체 내의 관심영역 (ROIs; Regions of interests)은 Mawlawi 등²³⁾의 연구에서 사용되었던 방법에 근거하여 좌우 각각에 복측선조체 (ventral striatum: VST), 교련전 배측미상핵 (precommissural dorsal caudate: caudate head), 교련전 피각(precommissural putamen: anterior putamen)에 관심영역을 설정하였다(Fig. 1). 이들의 경계는 공간 정합된 MRI 위에서 해부학적 정보를 토대로 설정되었고, 그러한 각 관심영역은 공간 정합되어 있는 동적 영상의 각 프레임에 적용하였다. 참고 조직(reference region)을 위한 관심영역을 양측 소뇌에 두었으며, 각 관심영역의 좌우 방사능을 평균하여 사용하였다.

기저 조건 및 흡연 조건에서의 [¹¹C]raclopride의 수용체 결합능 (binding potential: BP)은 조직비 방법(tissue ratio method)에 근거하여 평형 상태의 선조체와 참고조직의 방사능비를 이용하여 구하였다. 이 때 $BP = k_3/k_4 = (C_{ROI}/C_{cerebellum} - 1)$ 이고, C_{ROI} 와 $C_{cerebellum}$ 는 각각 선조체 내 ROIs와 소뇌에서의 평형 상태 (기저 조건: 20-35 분, 흡연 조건: 65-80 분)에서의 방사능 농도이다. 흡연에 의한 도파민 유리는 기저 조건과 흡연 조건에서 [¹¹C]raclopride의 결합능의 차이로, 도파민 유리에 의한 결합능 감소율($\Delta BP = (BP_{baseline} - BP_{smoking})/BP_{baseline} \times 100 (\%)$)로 계산하였다.

흡연 전후의 [¹¹C]raclopride 결합능 차이는 Wilcoxon signed rank test를 이용하여 검증하였고, 체내로 들어간 니코틴의 양과 흡수된 니코틴에 의한 도파민 유리와 상관관계를 알아보려고 Spearman 상관 분석을 이용하였다. 통계적 분석은 SPSS 12.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하였고, 흡연에 의하여 흡수된 니코틴의 양은 니코틴/코티닌의 농도-시간 곡선에서 흡연 시작 시부터 검사 종료 시까지의 각각의 AUCs (area under curves)를 구하여 계산하였다.

결 과

Fig. 2는 흡연에 의한 혈중 니코틴의 평균 농도 변화이다. 혈중 니코틴의 농도는 5-10분 째 혈액 샘플에서 최고 혈중치를 나타내었고, 이 후에 혈액으로부터 재빨리 제거되었다. 5명의 피험자 중 흡연 경험이 없었던 1명에서 가장 낮은 혈중 니코틴 농도를 보였다. 니코틴 대사에 의하여 발생된 주 대사물인 코티닌의 농도는 흡연 후 약 60-70분 까지 증가하는 양상으로 나타났다.

Fig. 3은 [¹¹C]raclopride 연속 주입에 의한 시간 방사능 곡선으로, 도파민 D2 수용체의 특이 결합 부위인 선조체의 각

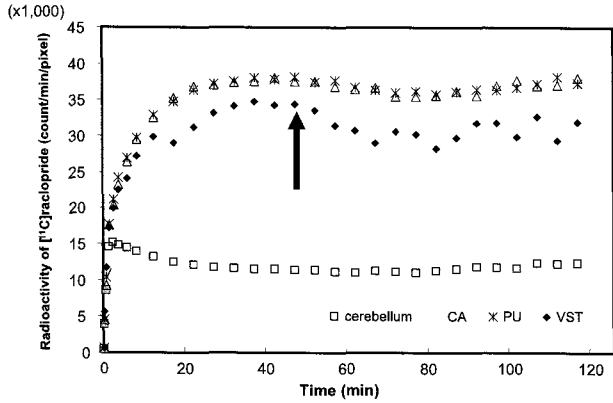


Fig. 3. Representative time-activity curves in the caudate head, anterior putamen, ventral striatum and cerebellum during bolus plus constant infusion of [¹¹C]raclopride over 120 minutes are shown in this figure. Black arrow indicates the beginning of smoking. Smoking induced the decrease in the radioactivity of [¹¹C]raclopride in striatal regions, but no change in the cerebellar activity. (△ caudate head, *anterior putamen ◆ ventral striatum, □ cerebellum).

하여 검사 시작 약 65-70분 이후에 다시 재 평형을 이루었다. 이 때 소뇌에서는 스캔 시간동안 흡연에 의한 방사능의 변화가 거의 관찰되지 않았다. 흡연 전후의 내인성 도파민의 유리에 의한 방사성 리간드의 결합능의 변화는(Fig. 4) 흡연 전 평형 상태인 30-50분 영상과, 흡연 후 재평형에 도달한 70분-90분의 영상에서 각 관심영역에서 흡연 전후의 [¹¹C]raclopride 결합능 및 결합능 변화율로 계산하였다. 흡연 전후의 각 관심영역에서 [¹¹C]raclopride 결합능이 평균 5.4%의 감소를 보였으며, 미상핵, 피각, 그리고 복측선조체에서 각각 4.7%, 4.0%, 7.8%로(Table 1), 이는 흡연에 의한 선조체에서의 도파민 유리를 반영한다. 이 중 복측선조체에서의 흡연에 의한 [¹¹C]raclopride 결합능 감소율은 흡연 후 혈중 니코틴 축적 농도와 양적 상관관계를 보였다($\rho=0.9$, $p=0.04$) (Fig. 5).

고 찰

관심영역에서 높은 방사능을 보이고, 참고조적인 소뇌에서 낮은 방사능 농도를 보인다. 블루스-연속 주입에 의하여 평형 상태에 도달한 후, 흡연시작 후(화살표 부위) 흡연에 의하여 유리된 도파민에 의하여 방사성 리간드의 결합이 감소

이 연구에서 [¹¹C]raclopride PET을 이용하여 흡연에 의한 선조체에서의 도파민 유리를 영상화하여 정량화 하였으며, 특히 변연계 선조체인 복측선조체에서의 도파민의 유리에 의한 방사성리간드의 결합능의 감소는 흡연에 의하여 체

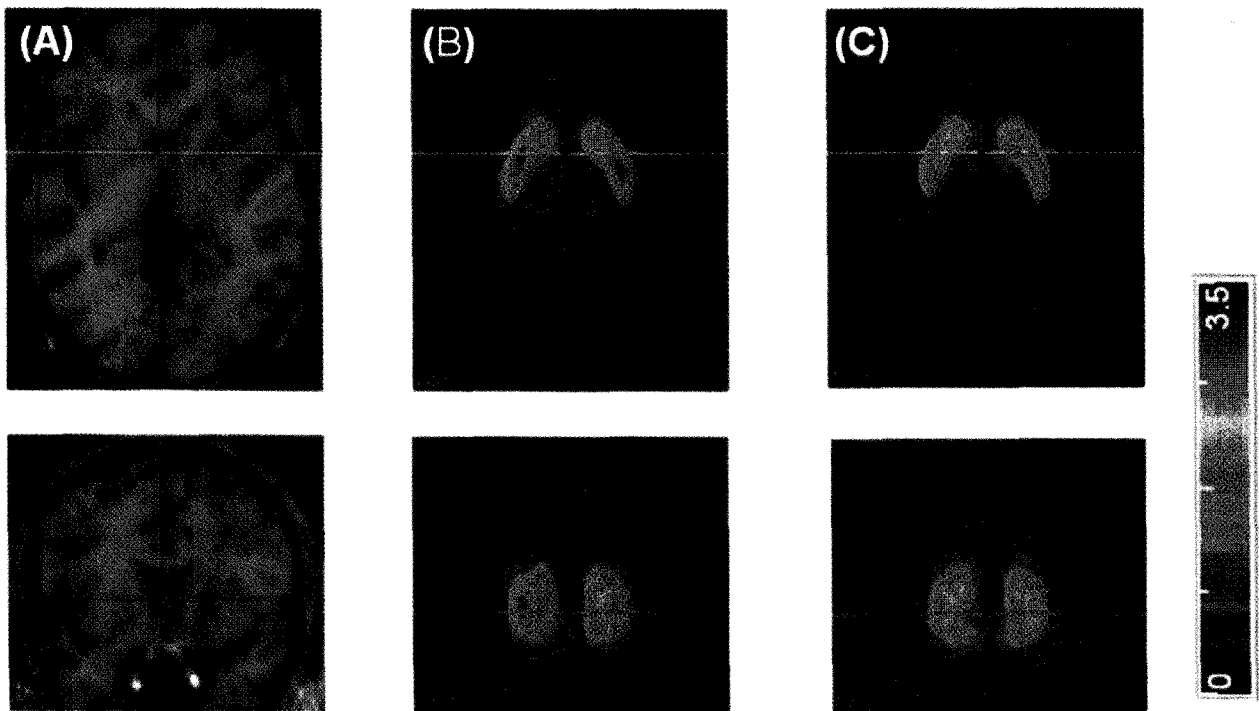


Fig. 4. Transaxial and coronal slices of standard MRI (A) and [¹¹C]raclopride binding potential image for striatal regions before (B) and during/after smoking (C) were presented in this figure. Binding potential of [¹¹C]raclopride during/after smoking in striatal regions was significantly decreased compared with before smoking.

Table 1. Binding Potential of [¹¹C]raclopride during Baseline and Smoking Condition

	caudate	anterior putamen	ventral striatum
Baseline	2.16±0.34	2.30±0.35	1.84±0.34
Smoking	2.06±0.32	2.21±0.34	1.66±0.09
significance†	p=0.04	p=0.04	n.s
ΔBP‡	4.7±2.6%	4.0±2.7%	7.7±13%

Binding potential (BP) = (C_{ROI}/C_{cerebellum}-1), in which C_{ROI} and C_{cerebellum} represent the radioconcentration in the region of interests (caudate, anterior putamen and ventral striatum) and cerebellum as a reference region. Data in 30-50 minutes and 70-90 minutes were collected for calculating BP in baseline condition and smoking condition, respectively.

† Wilcoxon signed rank test for testing the difference in BP between baseline and smoking condition.

‡ ΔBP= (BP_{baseline}-BP_{smoking})/BP_{baseline} × 100 (%)

내로 흡수된 니코틴의 양과 정적 상관관계를 보였다.

이 연구에서 사용된 [¹¹C]raclopride는 도파민 D2 수용체에 특이적으로 결합하는 방사성 리간드로 도파민과 D2 수용체에 경쟁적 결합하는 성을 이용하여 약물자극 또는 행동 자극에 의하여 유리되는 내인성 도파민을 비침습적인 방법으로 영상화 할 수 있었다. [¹¹C]raclopride는 D2 수용체와 가역성 결합을 가지는 방사성 리간드로 특히 도파민의 유리를 평가하는데 있어서 매우 좋은 것으로 평가 받고 있는데, [¹²³I]iodobenzamide 나 [¹²³I]iodobenzofuran과 같은 다른 D2 수용체 특이 방사성리간드와 비교하였을 때 수용체 결합능이 1~2 정도로 D2 수용체에 대한 친화도(affinity)가 상대적으로 낮아서 빨리 초기 평형에 도달할 수 있다. 또한, 내인성 도파민 유리 측정 시에는 D2수용체로부터 빨리 해리되고, 해리된 [¹¹C]raclopride가 빨리 조직으로부터 혈액으로

제거되기 때문에 자극에 의하여 유리되는 도파민을 평가하는 데에 있어서 다른 높은 친화력을 가지는 방사성 리간드에 비하여 더욱 예민하다고 평가되고 있다.²⁴⁾ 특히, 이 연구에서 사용한 블루스+연속 주입법에 의한 방법은 혈액과 조직에서 “진평형(true equilibrium)”을 이름으로써, 약물 또는 행동자극에 동반되는 국소 뇌혈류의 변화에 구애 받지 않고 자극과 관련된 신경 전달 물질의 유리를 정확하게 측정할 수 있어 최근 신경전달물질 유리 영상화 및 정량화 연구에서 확립된 방법으로 사용되고 있다.²⁵⁻²⁷⁾

지금까지 중독성 약물에 의한 도파민 신경계의 활성화가 코카인 또는 암페타민 등 정신자극제 (psychostimulant)에 의한 내인성 도파민의 유리가 [¹¹C]raclopride PET을 이용하여 많이 영상화 되었고,¹³⁻¹⁶⁾ 약물 중독자 또는 정상인에서 중독성 약물에 대한 서로 다른 도파민의 반응들이 영상화 되

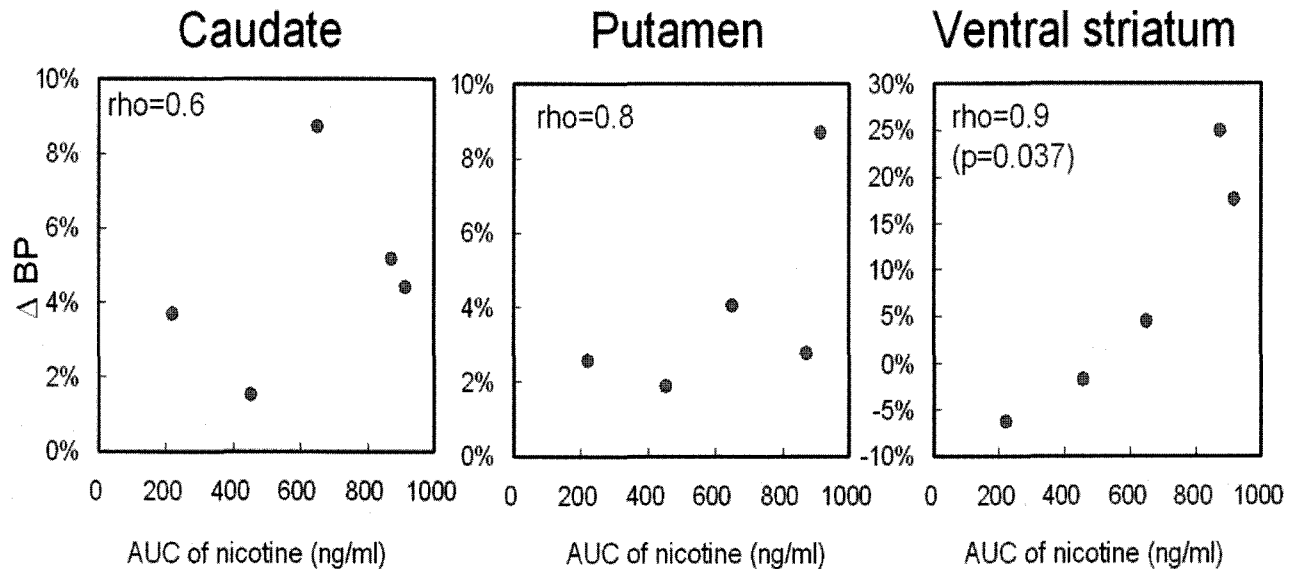


Fig. 5. Scatter plot in this figure shows the relationship between the cumulated plasma nicotine during 90 minutes after the beginning of smoking and the smoking-induced decrease of [¹¹C]raclopride binding potential in the striatum. ΔBP is shown on the y-axis, and the cumulative plasma level of nicotine (ng/ml) is shown on the x-axis.

었다.²⁸⁾ 지금까지 동물 실험에서 나온 결과들이 니코틴에 의한 도파민의 유리를 직간접적으로 측정하여 니코틴 중독에 대한 도파민 가설의 증거로 제시되고는 있으나, 다른 중독성 약물에 비하여 니코틴에 의한 도파민의 반응을 영상화 한 연구는 아직까지 제한적으로 진행되었다. 원숭이를 이용한 동물 실험에서는 니코틴에 의한 도파민의 유리를 영상화하였으나, 이들 동물 실험의 결과만으로 사람에서 흡연에 대한 도파민 반응과 니코틴 중독을 설명하기에 한계가 있다. 따라서 사람에서의 흡연에 의한 도파민 신경계의 반응을 알아보는 것이 필요하였고, 흡연 중독성이 없는 비흡연자에서 흡연에 대한 정상 도파민 신경계의 반응을 영상화함으로써 중독성 흡연자에서의 도파민 신경계의 병적인 변화를 알아내기 위한 기본적 정보를 제공해 줄 수 있다.

본 연구에서 흡연 전후에 선조체 내에서의 D2 수용체의 결합능이 감소되어 흡연에 의한 도파민 유리를 관찰할 수 있었다. 또한 흡연에 의한 D2 수용체 결합능의 감소 정도는 흡연에 의하여 체내로 흡수된 니코틴의 양과 상관관계를 나타내었다. 그러나 흡연에 의한 D2 수용체의 결합능 감소는 4~9%로 암페타민 등 다른 중독성 약물에 의한 도파민 유리^{15,16)}에 비하여 그 효과가 적었다. 이러한 소견은 이전의 동물 실험에서도 나타났었는데, Fadda 등²⁹⁾에 의한 미세투석법 실험에서 같은 조건의 니코틴 및 코카인 자극에 의하여 nucleus accumbens 내의 도파민 유리를 측정하였는데 니코틴은 코카인 자극에 의한 경우의 약 67% 정도의 도파민을 유리하는데 그쳤고, 원숭이를 이용한 도파민 유리 영상화 연구에서도 니코틴 투여 후 선조체의 [¹¹C]raclopride 결합능 감소 역시 암페타민에 의한 경우보다 낮아서 평균 5±7%의 D2 수용체 결합능 감소를 보고하였다.³⁰⁾

흡연자에서도 흡연에 의한 도파민 신경계의 반응은 다른 중독성 약물에 비하여 크지 않은 것으로 생각된다. 최근 Brody 등¹⁹⁾은 흡연자에게서 흡연 후에 유리된 도파민에 의한 [¹¹C]raclopride 수용체 결합능의 감소를 관찰하였는데, 실험도중 담배를 피운 경우에서 nucleus accumbens 및 복측 선조체내에서 의미있는 도파민 수용체의 결합능 감소를 관찰하였으나 다른 중독성 약물에 의한 도파민 유리보다 낮았으며, 다른 연구²⁰⁾에서는 흡연에 의한 [¹¹C]raclopride 결합능 감소의 경향을 보였으나 전체 대상자에서 도파민의 유리에 의한 수용체 결합능 감소는 유의 수준에 도달하지 못하였다. 그러나 이 연구에서는 흡연에 의하여 유리된 도파민이 흡연에 의한 쾌감(hedonia)의 증가와 상관관계가 있음을 밝혔다.

이 연구에서 체내로 흡수된 니코틴의 양과 비례하여 복측 선조체에 도파민 유리가 증가되는 것을 보였고, 미상핵 및

피각에서도 도파민 유리와의 상관성은 경향성을 보였으나 (Fig. 5) 통계적 유의치에 도달하지는 못하였다. 특히 복측 선조체의 경우 약물 중독에 중추 역할을 하는 것으로 생각되는 중변연계 도파민 신경회로의 말단이 위치하는 것으로 이 부위에서의 도파민의 유리는 다른 선조체 영역보다 니코틴 농도와 더 높은 상관관계를 나타내었을 것으로 생각된다. 반면에 피험자 전체에서 복측 선조체에서 도파민 유리에 의한 흡연 전후 방사성 리간드의 결합능 감소는 유의한 감소를 보였으나, 복측선조체만을 따로 보았을 때 이 연구에서는 그 변화가 다양하여 복측선조체의 변화는 통계적으로 유의하지 않았다. 연구의 결과에서 의미있는 도파민 유리를 보인 영역과 니코틴 양과의 상관관계를 보이는 영역이 서로 다르게 관찰되었는데 이러한 통계의 유의성의 차이는 적은 피험자수와 PET영상 검사의 민감도와 관련되어 있는 오류의 가능성을 포함한다. 그럼에도 불구하고 이 연구에서 영상을 이용하여 측정된 도파민 수용체의 가용성 변화는 기존의 동물실험을 통하여 얻은 생물학적인 변화⁶⁾나 미세침습법서의 결과^{7-10,29)}와 일치하고 있어 의미 있는 변화로 생각할 수 있을 것이다.

한편, 비흡연자들을 대상으로 한 본 연구의 결과와 흡연자의 결과들^{19,20)}에서 니코틴에 의한 도파민 유리의 증가는 다른 중독성 약물과 마찬가지로 약물 중독자 또는 흡연자 뿐만 아니라 정상인에서도 니코틴에 의하여 도파민의 유리가 증가됨을 보여 니코틴에 의한 도파민 유리 증가만으로 담배에 대한 의존성 또는 니코틴 중독을 설명할 수 없다. 흡연자들을 대상으로 하였던 Brody 등¹⁹⁾의 연구에서는 본 연구와 비교하였을 때 흡연에 의하여 더 많은 도파민이 유리되었으나, 연구 방법이 서로 다르기 때문에 단순히 비교하기는 어렵다. 그러나 만성적으로 니코틴에 노출되어 있는 흡연자의 경우 낮은 농도의 니코틴이 혈중에 지속적으로 존재하고 있어 흡연에 의하여 일시 증가되는 니코틴에 대하여 다른 반응을 나타낼 것으로 생각된다

만성 흡연자들의 경우 혈중에 지속적으로 존재하는 저농도의 니코틴은 도파민 신경세포 및 축삭에서 니코틴성 아세틸콜린 수용체의 니코틴에 대한 반응을 탈감작(desensitization)시키고, 니코틴에 의한 도파민 신경세포의 활동전위(action potential) 유발 빈도를 낮추어 보상이 기대되지 않는 기저 상태에서 도파민의 유리를 억제시킨다고 알려져 있다.³¹⁻³³⁾ 또한 이러한 만성 흡연자들에게서 시냅스절 내 기저 도파민의 감소가 상향조절(up-regulation)에 의한 D2 수용체의 증가를 동반할 수도 있다.³⁴⁾ 반면, 흡연자들과 같이 기저 도파민 유리가 감소되어 있는 경우 보상과 관련된 도파민 신경세포의 위상 반응(phasic response)은 신경세포의 활동

전위를 폭발적(burst like action potential)으로 일어나게 하여,^{4,5,35)} 일시적으로 많은 도파민을 유리할 것으로 생각된다. 따라서 흡연자들에서 동일한 흡연 자극 또는 보상이 예측되는 다른 자극에 대한 도파민 신경계의 반응이 비흡연자들과 차이를 보일 수 있음이 짐작되어지고, 이러한 변화가 흡연에 대한 중독성 성격과 관련되어 질 것으로 이에 대한 연구가 뒷받침되어야 할 것이다.

본 연구는 적은 수의 비흡연자만을 대상으로 한 연구로 니코틴에 의한 도파민 유리와 니코틴 중독의 상관성을 입증하는 데에는 어려움이 있으나, 니코틴에 도파민 신경계의 반응을 영상화하고 정량화하는 방법론을 마련하였고, 중독성이 없는 비흡연자에서 흡연에 의한 정상적인 도파민 신경계의 반응을 알아봄으로써 니코틴 중독자에서의 도파민 신경계의 변화를 찾아내는 다음 단계의 연구에서 기본적 정보를 제공할 수 있으리라 생각된다. 이 연구에서 보여준 초기 결과는 니코틴 중독에서의 도파민 시스템의 역할을 이해하는 앞으로의 연구의 기초가 될 것이다.

요 약

목적: 흡연에 보상 강화 효과는 흡연 시에 담배 내에 포함되어 있는 니코틴 성분에 의한 선조체에서의 도파민 유리가 중심 역할을 할 것으로 생각된다. 지금까지의 여러 동물 실험에서 니코틴과 도파민의 상호 관계와 니코틴에 의한 도파민 유리가 연구되었다. 이 연구에서는 [¹¹C]raclopride PET을 이용하여 생체에서 흡연에 의한 도파민 유리를 영상화 하고자 하였다. **대상 및 방법:** 비흡연자이거나 과거 흡연력이 있으나 1년 이상의 금연을 시행한 5 명의 정상인 남자를 대상으로 하였고, 이들의 평균 연령은 24세 이었다. 도파민 D2 수용체 영상을 위한 방사성 리간드인 [¹¹C]raclopride를 볼루스+연속 주입법에 의하여 주사하면서 120 분간 30 개의 동적 영상(3×20초, 2×60초, 2×120초, 1×180초, 22×300초)을 얻었다. 영상 촬영 시작 50 분에 니코틴 함량 1 mg의 담배를 피도록 하였으며, 담배를 피우기 직전과 흡연 시작 5 분 후부터 흡연에 의하여 흡수된 혈중 니코틴 농도를 측정하기 위하여 일정 간격으로 정맥혈 샘플을 획득하였다. 30 개의 프레임은 인접 프레임과의 정합에 의하여 움직임을 보정하였고, 움직임을 보정된 120 분 간의 동적 영상을 합하여 평균 영상을 만든 다음, 뇌 MRI와 공간 정합을 하였다. 평균 영상과 MRI의 공간 정합 정보를 이용하여, 각 프레임을 MRI에 공간 정합시켜, 공간 정합된 동적 영상에서 선조체에 MRI 정보를 이용하여 좌우 각각 3 개의 관심 영역(ventral striatum:VST, precommissural dorsal caudate:

caudate nucleus; precommissural putamen; anterior putamen)과 소뇌에 관심영역을 설정하였고, 동적 영상으로부터 각 관심 영역 별로 시간-농도 곡선을 구하였다. [¹¹C]raclopride 주사 후 선조체에서의 리간드 특이적 결합에 의한 항정상상태(steady state)에 도달한 후 흡연전 평형 상태(equilibrium state)인 30-50 분과 흡연 후 재평형에 도달한 70-90 분 영상에서 각 관심 영역에서의 방사성 농도를 구하였고, 조직비 방법에 근거하여 기저상태 및 흡연 상태의 방사성 리간드의 수용체 결합능(binding potential:BP)을 구하였다($BP = C_{ROI}/C_{cerebellum} - 1$). 흡연에 의한 도파민의 유리는 흡연 전후의 [¹¹C]raclopride의 수용체 결합능의 변화율로 계산하였다. 흡연에 의한 혈중 니코틴의 상승은 흡연 후 90 분간의 혈중 니코틴의 측정 농도로 계산되었으며, 흡연에 의한 [¹¹C]raclopride의 수용체 결합능의 감소율과 혈중 니코틴의 측정 농도와의 상관관계를 스피어만 상관분석법(Spearman's correlation)에 의하여 알아보았다. **결과:** 흡연에 의한 선조체에서의 평균 [¹¹C]raclopride의 수용체 결합능의 변화는 미상핵에서 4.7%, 전피각에서 4.0%, 복측 선조체에서 7.8%의 감소를 보여 흡연에 의한 선조체내 도파민 유리를 정량화 하였다. 특히 선조체에서의 도파민 유리에 의한 수용체 결합능의 감소는 흡연에 의한 혈중 니코틴의 측정 농도와 양의 상관관계를 보였다($\rho=0.9, p=0.04$). **결론:** [¹¹C]raclopride PET을 이용하여 비흡연 정상인에서 흡연에 의한 도파민 유리를 영상화 및 정량화 하였고, 흡연에 의한 선조체내 도파민 유리는 흡연시 흡수된 니코틴의 측정 농도와 상관관계를 가짐을 보였다. 이 연구에서의 확립된 방법과 결과는 앞으로 흡연자에서 니코틴에 의한 도파민 신경계의 활성화 연구에 기여할 것이다.

References

1. Domino EF. Tobacco smoking and nicotine neuropsychopharmacology: some future research directions. *Neuropsychopharmacology* 1998;18:456-68.
2. Dani JA, Heinemann S. Molecular and cellular aspects of nicotine abuse. *Neuron* 1996;16:905-8.
3. Di Chiara G. Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol* 2000;393:295-314.
4. Mereu G, Yoon KW, Boi V, Gessa GL, Naes L, Westfall TC. Preferential stimulation of ventral tegmental area dopaminergic neurons by nicotine. *Eur J Pharmacol* 1987;141:395-9.
5. Nisell M, Nomikos GG, Svensson TH. Nicotine dependence, midbrain dopamine systems and psychiatric disorders. *Pharmacol Toxicol* 1995;76:157-62.
6. Corrigall WA, Coen KM, Adamson KL. Self-administered nicotine activates the mesolimbic dopamine system through the ventral tegmental area. *Brain Res* 1994;653:278-84.
7. Yoshida M, Yokoo H, Tanaka T, Mizoguchi K, Emoto H, Ishii H,

- et al. Facilitatory modulation of mesolimbic dopamine neuronal activity by a mu-opioid agonist and nicotine as examined with in vivo microdialysis. *Brain Res* 1993;624:277-80.
8. Nisell M, Nomikos GG, Svensson TH. Systemic nicotine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens is regulated by nicotinic receptors in the ventral tegmental area. *Synapse* 1994;16:36-44.
 9. Pontieri FE, Tanda G, Orzi F, Di Chiara G. Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature* 1996;382:255-7.
 10. Dewey SL, Brodie JD, Gerasimov M, Horan B, Gardner EL, Ashby CR Jr. A pharmacologic strategy for the treatment of nicotine addiction. *Synapse* 1999;31:76-86.
 11. Corrigan WA. Nicotine self-administration in animals as a dependent model. *Nicotine Tob. Res* 1999;1:11-20.
 12. Picciotto MR, Zoli M, Rimondini R, Lena C, Marubio LM, Pich EM, et al. Acetylcholine receptors containing the beta2 subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine. *Nature* 1998;391:173-7.
 13. Hartvig P, Torstenson R, Tedroff J, Watanabe Y, Fasth KJ, Bjurling P, et al. Amphetamine effects on dopamine release and synthesis rate studied in the Rhesus monkey brain by positron emission tomography. *J Neural Transm* 1997;104:329-39.
 14. Drevets WC, Price JC, Kupfer DJ, Kinahan PE, Lopresti B, Holt D, et al. PET measures of amphetamine-induced dopamine release in ventral versus dorsal striatum. *Neuropsychopharmacology* 1999;21:694-709.
 15. Drevets WC, Gautier C, Price JC, Kupfer DJ, Kinahan PE, Grace AA, et al. Amphetamine-induced dopamine release in human ventral striatum correlates with euphoria. *Biol Psychiatry* 2001;49:81-96.
 16. Martinez D, Slifstein M, Broft A, Mawlawi O, Hwang DR, Huang Y, et al. Imaging human mesolimbic dopamine transmission with positron emission tomography. Part II: amphetamine-induced dopamine release in the functional subdivisions of the striatum. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23:285-300.
 17. Cumming P, Gjedde A. Nicotine-induced reduction of [¹¹C]raclopride in pig striatum. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;21(suppl1):S111.
 18. Tsukada H, Miyasato K, Kakiuchi T, Nishiyama S, Harada M, Domino EF. Comparative effects of methamphetamine and nicotine on the striatal [¹¹C]raclopride binding in unanesthetized monkeys. *Synapse* 2002;45:207-12.
 19. Brody AL, Olmstead RE, London ED, Farahi J, Meyer JH, Grossman P, et al. Smoking-induced ventral striatum dopamine release. *Am J Psychiatry* 2004;161:1211-8.
 20. Barrett SP, Boileau I, Okker J, Pihl RO, Dagher A. The hedonic response to cigarette smoking is proportional to dopamine release in the human striatum as measured by positron emission tomography and [¹¹C]raclopride. *Synapse* 2004;54:65-71.
 21. Tiffany ST, Drobes DJ. The development and initial validation of a questionnaire on smoking urges. *Br J Addict* 1991;86:1467-76.
 22. Watabe H, Endres CJ, Breier A, Schmall B, Eckelman WC, Carson RE. Measurement of dopamine release with continuous infusion of [¹¹C]raclopride: optimization and signal-to-noise considerations. *J Nucl Med* 2000;41:522-30.
 23. Mawlawi O, Martinez D, Slifstein M, Broft A, Chatterjee R, Hwang DR, et al. Imaging human mesolimbic dopamine transmission with positron emission tomography: I. Accuracy and precision of D(2) receptor parameter measurements in ventral striatum. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;21:1034-57.
 24. Endres CJ, Carson RE. Assessment of dynamic neurotransmitter changes with bolus or infusion delivery of neuroreceptor ligands. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:1196-210.
 25. Ito H, Hietala J, Blomqvist G, Halldin C, Farde L. Comparison of the transient equilibrium and continuous infusion method for quantitative PET analysis of [¹¹C]raclopride binding. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:941-50.
 26. Carson RE, Breier A, De Bartolomeis A, Saudners RC, Su TP, Schmall B, et al. Quantification of amphetamine-induced changes in [¹¹C]raclopride binding with continuous infusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997;17:437-47.
 27. Laurelle M. Imaging synaptic neurotransmission with in vivo binding competition techniques: A critical review. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;20:423-51.
 28. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Logan J, Gatley SJ, Hitzemann R, et al. Decreased striatal dopaminergic responsiveness in detoxified cocaine-dependent subjects. *Nature* 1997;24:386:830-3.
 29. Fadda P, Scherma M, Fresu A, Collu M, Fratta W. Baclofen antagonizes nicotine-, cocaine-, and morphine-induced dopamine release in the nucleus accumbens of rat. *Synapse* 2003;50:1-6.
 30. Marengo S, Carson RE, Berman KF, Herscovitch P, Weinberger DR. Nicotine-induced dopamine release in primates measured with [¹¹C]raclopride PET. *Neuropsychopharmacology* 2004;29:259-68.
 31. Pidoplichko VI, DeBiasi M, Williams JT, Dani JA. Nicotine activates and desensitizes midbrain dopamine neurons. *Nature* 1997;390:401-4.
 32. Zhou FM, Liang Y, Dani JA. Endogenous nicotinic cholinergic activity regulates dopamine release in the striatum. *Nat Neurosci* 2001;4:1224-9.
 33. Dani JA, Ji D, Zhou FM. Synaptic plasticity and nicotine addiction. *Neuron* 2001;16:349-52.
 34. Silvestri S, Negrete JC, Seeman MV, Shammi CM, Seeman P. Does nicotine affect D2 receptor upregulation? A case-control study. *Acta Psychiatr Scand* 2004;109:313-7.
 35. Rice ME, Cragg SJ. Nicotine amplifies reward-related dopamine signals in striatum. *Nat Neurosci* 2004;7:583-4.