牧丹皮가 강제수영부하시험에서 Corticotropin-Releasing Factor, c-Fos 와 Tyrosine Hydroxylase에 미치는 영향

성영석, 이태희 경원대학교 한의과대학 방제학교실

ABSTRACT

Effects of Moutan Cortex on Corticotropin-Releasing Factor, c-Fos and Tyrosine Hydroxylase in Forced Swimming Test

Young-Suk Sung, Tae-Hee Lee

Dept. of Formulae Pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

Objectives: The goal of this study was to investigate the effect of Moutan Cortex as antidepressant in forced swimming test(FST) model.

Methods: The expressions of corticotropin-releasing Factor(CRF), c-Fos and tyrosine hydroxylase(TH) were measured with immunohistochemical method at paraventricular nucleus (PVN), locus coeruleus(LC) and ventral tegmental area(VTA).

Results: The duration of immobility in the forced swimming test was significantly decreased in the Moutan Cortex 100 mg/kg treated group in comparison with the control group(p<0.01). CRF and c-Fos expressions at PVN were decreased in the Moutan Cortex 100mg/kg treated group in comparison with the control group. But only the expression of c-Fos was shown the

[•]교신저자 : 이태희

[•]경기도 성남시 수정구 복정동 산65번지 경원대학교 한의과대학 방제학교실

[•]Tel: 011-792-4656 E-mail: ophm5418@kyungwon.ac.kr

[•]접수: 2009/05/08 1차 수정: 2009/06/08 2차 수정: 2009/06/13 채택: 2009/06/17

significance(p<0.05). TH expressions at LC and VTA were significantly decreased in the Moutan Cortex 100mg/kg and 400mg/kg treated group in comparison with the control group(p<0.001).

Conclusion: According to the results, Moutan Cortex has the antidepressant effect by showing the reduced immobility through the reduction of c-Fos expression at PVN and the reduction of TH expression at LC and VTA.

Key word: Moutan Cortex, Forced Swimming Test, Corticotropin-Releasing Factor, c-Fos, Tyrosine Hydroxylase, Anti-depression

I. 서 론

즐거운 일이 있을 때 즐거워하고 슬픈 일이 있을 때 슬퍼하는 것은 자연스러운 동시에 건강한 것이다. 하지만 어떤 자극에 의해 이전에 비하여,혹은 사회적 통념상 지나치게 우울해 한다면 기분을 조절하는데 이상이 있다고 할 수 있다 .특별히슬퍼해야 할 일이 없는데도 불구하고 장시간 자신의 생활에 지장을 줄 만큼 부적절하게 우울해 있다면 우울장애가 있다고 할 수 있을 것이다. 우울증은 우울하고 슬픈 느낌 이외에도 감정적, 신체적으로 여러 장애를 동반할 수 있는 위험한 정신과 질병이며, 임상적으로 활동증상, 인지증상, 충동장애 조절, 행동증상과 즐거움의 상실, 피로감과신체 증상 등 다양 한 증상들의 조합으로 이루어진 증후군이다.20

韓醫學에서 鬱症은 情志不舒, 七情所傷, 外感 및 飲食內傷으로 인하여 발생하고, 임상표현과 情志內傷으로 인해 발생한다는 특징에 근거해 보았을 때, 서양의학의 신경쇠약이나 갱년기 장애, 우울증, 정신병적 장애와 유사하며³, 대부분의 보고에서 우울증에 대해 鬱症으로 인식하고 있다⁴. 《丹溪心法附餘》⁵¹에 "鬱者 結聚而不得發越也"로

서, 鬱은 氣機가 鬱滯되어 發越하지 못함으로써 유발되는 인체에서의 기능적 장애를 말하는 것으 로 생각되고 있다.

임상적인 증상으로 氣機鬱滯로 인한 氣鬱症狀, 즉 精神抑鬱, 情志不寧, 脅肋脹滿疼痛 等으로 鬱症을 진단하는 중요한 근거가 된다고 하였다⁴⁾. 氣滯는 대부분 일상생활에서 발생되는 스트레스 등으로 氣機의 흐름이 阻滯된 것을 말하는데, 만약 이氣滯가 血行을 不暢케 하면 瘀血이나 痰飮 등이 발생됨으로써 다양한 증상들이 나타나게 된다⁶⁾. 이러한 氣滯瘀血로 인한 증상들을 치료하는 한약재 중 牧丹皮가 상용된다.

牧丹皮(Moutan Cortex)는 毛茛科(Ranunculaceae)에 속한 落葉小灌木인 모란(*Paeonia suffruticosa* ANDR.)의 근피를 건조한 것으로 그 氣味는 苦辛寒하고 心, 肝, 腎經으로 들어가 淸熱凉血, 活血散瘀하는 효능이 있어 溫毒發斑, 吐血衄血, 夜熱早冷, 無汗骨蒸, 經閉痛經, 打撲傷痛 등의 증상에 사용된다".

牧丹皮에 관한 최근의 실험적 논문들로는 김⁸⁾은 牧丹皮, 桃仁 합이 항염증 작용이 있음을 보고 하였고, 장⁹⁾은 牧丹皮가 B림파구와 비만세포에서 항알러지 작용이 있음을 보고 하였고, 권¹⁰⁾은 牧 丹皮가 세포고사에 억제효과가 있음을 보고하였으며, 이 등¹¹⁾은 牧丹皮로부터 멜라닌 생성 억제성분을 분리했다는 학회보고도 찾아 볼 수 있었으나牧丹皮의 항우울 효과에 대한 보고는 아직 미진한실정이다. 이에 저자는 牧丹皮가 FST에서 흰쥐의우울행동에 미치는 효과를 알아보기 위해 흰쥐에게 FST를 실시하여 행동변화를 살펴보고, 면역조직화학법으로 HPA axis와 관련하여 시상하부의실방핵(PVN, paraventricular nucleus)에서 c-Fos, CRF (corticotropin-releasing factor)와 청반(LC, locos coeruleus),

복측피개야내(VTA, ventral tegmental area)에서 TH(tyrosine hydroxylase)의 발현을 측정하여유의성 있는 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

중량 200g 내외에 Sprague Dawley계 수컷 흰 쥐 (Orient 사)를 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후, 실험에 사용하였다. 낮과 밤 주기는 오전 7시에부터 오후 7시까지를 낮으로, 다른 12시간을 밤으로 하여 자동 조절하였다. 그리고 온도는 20 ~ 24℃, 습도는 60±10%로 유지하였다.

2) 약 재

연구에 사용한 한약재는 毛茛科(Ranunculaceae)에 속한 落葉小 灌木인 모란(*Paeonia suffrutiscosa* ANDR.)의 根皮를 건조한 것을 추출용 시료로 사용하였다. 牧丹皮는 300g에 10배 (w/v)량의 3차증류수를 가하여 100℃에서 4시간 동안 냉각기를 장착한 상태로 환류 추출한 다음, 거즈로 여과하여, 80℃에서 중탕 농축하여 하루 동안 80℃에서 냉각시킨 후, 40℃ 온도로 냉각동결건조시켜 분말

을 획득하였다. 牧丹皮는 62g이 나왔다.(수득율 20.67%) 투약 시는 건조된 약재를 분량에 맞게 saline을 첨가하여 용액을 만들었다.

2. 실 험

1) 실험군

실험은 두 단계로 나누어 실시하였다. 먼저 FST 에서는 대조군(생리식염수 투여, N=8), MC100 (牧丹皮 100 mg/kg p.o.투여, N=8), MC400(牧丹皮 400 mg/kg p.o.투여, N=8)의 3그룹으로 나누어 실시하였고, 면역조직화학법에서는 Normal(N=8), 대조군(생리식염수 투여. N=8), MC100(牧丹皮 100 mg/kg p.o.투여, N=8), MC400(牧丹皮 400 mg/kg p.o.투여, N=8)의 4그룹으로 나누어 실시하였다.

2) 강제수영부하실험

본 실험에서는 절망행동검사(behavioral despair test)라고도 하는 표준화된 검사법인 FST를 이용 하였다. 이 검사법은 약물개발시의 항 우울 효과 를 검색하는 기본적인 실험으로 알려져 있다. 이 실험은 두 번에 걸쳐 이루어지는데, 첫 날은 높이 50cm, 지름 30cm의 투명한 아크릴원통형 수조에 22℃의 물에 흰쥐의 꼬리가 바닥에 닿지 않을 정 도의 물 높이에 강제로 빠뜨린 다음 15분간 있게 하였다. 처음 수분간은 이를 벗어나기 위해 휜쥐 가 심한 저항을 보이나, 시간이 흐를수록 점점 부 동자세를 보이는 시간이 늘어난다. 24시간 후에는 5분간 같은 환경에서 강제 수영을 시키고, 여기서 climbing, swimming, immobility 세 가지를 측정한 다. 전형적인 immobility란 흰쥐가 얼굴을 포함한 상체의 일부분만 수면 위로 드러낸 채 몸의 균형 을 유지하기 위하여 약간의 움직임만을 나타낼 뿐 물 위에 떠 있는 상태이다. 한편, swimming은 흰 쥐가 수면 위를 돌면서 움직이고, 간혹 물밑으로 잠수하기도 하는 상태이다. climbing은 가장 격렬 한 운동 상태인데, 앞발을 적극적으로 사용하여 아크릴 원통 위로 올라오려고 사지를 다 쓰는 상

태이다. 실수와 사람에 의한 오차를 줄이기 위해 비디오카메라로 측정하여 자료를 확보하였다.

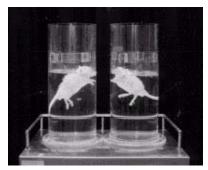


Fig. 1. Equipment of forced swimming test (Photo)

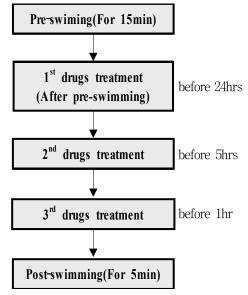


Fig. 2. Experimental scheme of forced swimming test

3) 면역조직화학법(CRF, c Fos, TH)

강제수영 부하시험이 끝난 쥐를 sodium pentobarbital (80 mg/kg, i.p.)로 마취 시킨 후, 0.9% saline 200 ml에 이어 인산용액으로 준비한 4% formalin 용액 100ml을 심장을 통해 관류 하였다. 고정액의 처음 300ml은 2분간, 나머지 700ml은 25분간에 걸쳐 관

류 하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고 정액으로 2시간 후 고정 시키고, 20% sucrose가 함유된 phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 4℃에서 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌 조직을 30μm의 두께로 잘랐다. PBS로 몇 차례 씻고, CRF expression, c-Fos expression, TH 발 현에 가장 널리 사용되는 Goat anti-CRF (Santa Cruz Biotechnology), Rabbit anti c-Fos (Santa Cruz Biotechnology), Mouse anti-Tyrosine Hydroxylase (Zymed Laboratories)에 담갔다. 일차항체는 0.3% Triton-X100(PBST)에서 2% normal donky serum 과 0.001% kehole limpit hemocyanin (Sigma)으로 2000배로 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 primary antiserum에서 72시간 배양하였다. 그 후 뇌 조직 을 PBST로 씻은 다음, 2시간 동안 실온에서 2% normal donky serum을 함유하는 PBST에서 200배 로 희석한 biotinylates goat anti-goat serum (Santa Cruz Biotechnology.)에 반응시켰다. 다시 PBST로 씻은 다음 뇌 조직은 실온에서 1시간 동안 Santa Cruz ABC reagent (Santa Cruz Biotechnology.) 에 담가 반응시켰다. PBST로 몇 번 헹군 다음 뇌 조직을 착색제인 diaminobenzidine을 사용하여 발 색시켰다. 발색이 끝난 조직은 slide에 올려 2시간 동안 실온에서 건조 시킨 후, xvlene으로 투명화 시켜 polymount로 봉입하였다. 뇌 조직의 각 부위 는 염색성을 광학 현미경으로 100배 확대 관찰하 고 사진을 촬영하였다. 뇌의 각 부위의 위치와 명 칭은 Franklin과 Paxinos의 부도를 참고하였다. 12) 현상된 사진에서 격자(2×2cm)를 이용하여 동일한 지역에서 일정한 영역에 반응되어 나타난 염색성 의 정도를 counting하였다.

3. 통계처리

모든 측정값은 (평균값±표준오차)로 표시하였고, 각 실험군의 통계학적 분석은 window용 SPSS를 이용하였다. 행동 실험결과 및 면역조직 화학법에 대한 통계분석은 one way ANOVA로 분석하

였으며, 사후 검정은 LSD를 통해 검증하였으며, P값이 0.05 미만인 것을 통계적으로 유의한 것으로 인정하였다.

Ⅲ. 실험 결과

1. 강제수영부하시험

FST 결과는 Fig. 3, Fig. 4와 같다. 대조군에서 부동행동이 1.825±0.8sec로 나타난 것과 비교해서 牧丹皮 100 mg/kg그룹(MC100)에서는 1.16±0.4 sec 를 나타나서 부동행동이 유의성 있게 감소하였다 (F(2,15)=0.766, p<0.01).

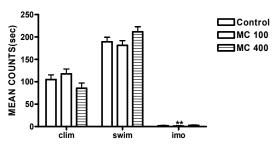


Fig. 3. Effect of Moutan Cortex on Behavior in forced swimming test

Control group was ingested normal saline. MC100 group was ingested Moutan Cortex (100 mg/kg). MC 400 group was ingested Moutan Cortex(400mg/kg). Normal saline and Moutan Cortex were ingested intragastrically 24 hrs, 5 hrs, and 1 hr prior to FST. Each column represents the mean±S.E. from 8 rats.

** Significant difference from the control group (p<0.01) clim-climbing. swim-swimming, imo-immobility

2. 면역조직화학법 결과

1) PVN에서 CRF 발형

FST 실시 후, PVN 내에서의 CRF 발현은 Fig. 4, Fig. 5와 과 같다. 발현 세포수를 비교해 본 결과, 대조군에 비하여 牧丹皮 100 mg/kg 그룹 (MC100)과 牧丹皮 400 mg/kg그룹(MC400)에서 각각 65±15%, 110±23.8%를 나타내, 牧丹皮 100

mg/kg 그룹(MC100)에서는 PVN 내에서의 CRF 의 발현이 감소된 것으로 나타났지만 유의성은 없었다(F(2.11)=8.314, p=0.199).

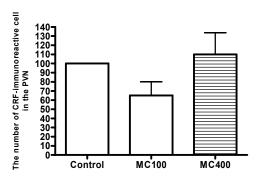


Fig. 4. Expression of CRF-immunoreactive cells in PVN

Control group was ingested normal saline. MC100 group was ingested Moutan Cortex (100 mg/kg). MC 400 group was ingested Moutan Cortex(400mg/kg). Normal saline and Moutan Cortex were ingested intragastrically 24 hrs, 5 hrs, and 1 hr prior to FST. Each column represents the mean \pm S.E. from 8 rats.

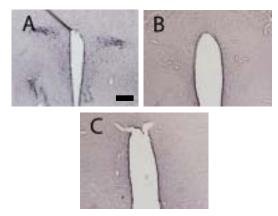


Fig. 5. Photograph of CRF-immunoreactive cells in PVN(scale bar represents 200 µm)

Control group was ingested normal saline. MC100 group was ingested Moutan Cortex (100 mg/kg). MC 400 group was ingested Moutan Cortex(400mg/kg). Normal saline and Moutan Cortex were ingested intragastrically 24 hrs, 5 hrs, and 1 hr prior to FST.

2) PVN에서 c-Fos 발현

FST 실시 후, PVN 내에서의 c-Fos의 발현은 Fig. 6, Fig. 7과 같다. 발현 세포수를 비교해 본결과 대조군에 비하여 牧丹皮 100 mg/kg그룹은 (MC100) 54±7.58%, 牧丹皮 400mg/kg그룹(MC400)은 153.52±14.1

6%를 나타내, 牧丹皮 100 mg/kg그룹(MC100) 은 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다 (F(2,16)=1.263, p<0.05).

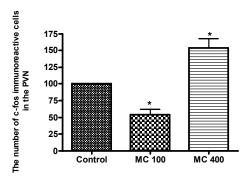


Fig. 6. Expression of c-Fos-immunoreactive cells in PVN

Control group was ingested normal saline. MC100 group was ingested Moutan Cortex (100 mg/kg). MC 400 group was ingested Moutan Cortex(400mg/kg). Normal saline and Moutan Cortex were ingested intragastrically 24 hrs, 5 hrs, and 1 hr prior to FST. Each column represents the mean±S.E. from 8 rats.

*Significant difference from the control group (p<0.05)

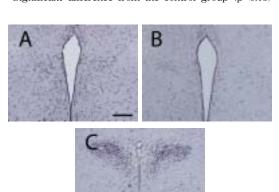


Fig. 7. Photograph of c-Fos-immunoreactive cells in PVN(scale bar represents $200\mu\text{m}$)

Control group was ingested normal saline. MC100 group was ingested Moutan Cortex (100 mg/kg). MC 400 group was ingested Moutan Cortex (400mg/kg). Normal saline and Moutan Cortex were ingested intragastrically 24 hrs, 5 hrs, and 1 hr prior to FST.

3) LC에서 TH 발현

FST 실시 후, LC에서의 TH 발현은 Fig. 8, Fig. 9와 같다. 발현 세포수를 비교해 본 결과, 대조군에 비하여 牧丹皮 100 mg/kg그룹(MC100)은 52.18±6.25%, 牧丹皮 400 mg/kg그룹(MC400)은 26.09±3.13%를 나타내, 牧丹皮 100 mg/kg그룹(MC400) 에서 유의성 있게 감소함을 알 수 있었다(F(2,19)=28.334, p<0.001).

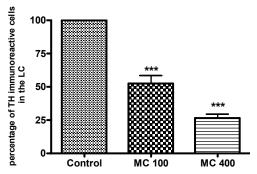


Fig. 8. Expression of TH-immunoreactive cells in LC

Control group was ingested normal saline. MC100 group was ingested Moutan Cortex (100 mg/kg). MC 400 group was ingested Moutan Cortex(400mg/kg). Normal saline and Moutan Cortex were ingested intragastrically 24 hrs, 5 hrs, and 1 hr prior to FST. Each column represents the mean±S.E. from 8 rats.

***Singnificant difference from the control group $(p{<}0.001)$

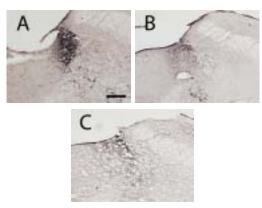


Fig. 9. Photograph of the TH-immunoreactive cells in LC(scale bar represents 100,µm)

Control group was ingested normal saline. MC100 group was ingested Moutan Cortex (100 mg/kg). MC 400 group was ingested Moutan Cortex(400mg/kg). Normal saline and Moutan Cortex were ingested intragastrically 24 hrs, 5 hrs, and 1 hr prior to FST.

4) VTA에서의 TH 발현

FST 실시 후, VTA에서의 TH 발현은 Fig.10, Fig.11과 같다. 발현 세포수를 비교해 본 결과 대조군에 비하여 牧丹皮 100 mg/kg그룹(MC100)은 65.27±3.76%, 牧丹皮 400 mg/kg그룹(MC400)은 61.88±3.20%를 나타내, 牧丹皮 100 mg/kg그룹(MC100)과 400 mg/kg그룹(MC400)에서 유의성 있게 감소함을 알 수 있었다(F(2,17)=59.915, p<0.001).

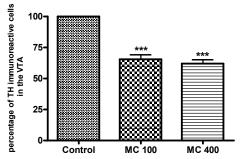


Fig. 10. Expression of TH-immunoreactive cells in VTA

Control group was ingested normal saline. MC100 group was ingested Moutan Cortex (100 mg/kg). MC 400 group

was ingested Moutan Cortex(400mg/kg). Normal saline and Moutan Cortex were ingested intragastrically 24 hrs, 5 hrs, and 1 hr prior to FST. Each column represents the mean±S.E. from 8 rats.

***:Significiant difference from the control group (p<0.001)

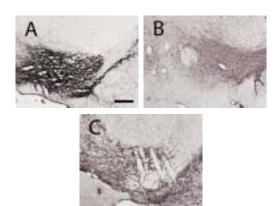


Fig. 11. Photograph of the TH-immunoreactive cells in VTA(Scale bar)

Control group was ingested normal saline. MC100 group was ingested Moutan Cortex (100 mg/kg). MC 400 group was ingested Moutan Cortex (400mg/kg). Normal saline and Moutan Cortex were ingested intragastrically 24 hrs, 5 hrs, and 1 hr prior to FST.

IV. 고 찰

우울증은 우울하거나 자극받기 쉬운 기분 또는 흥미나 관심의 감소 중 하나의 증상이 있고, 체중 감소나 증가, 불면 또는 과수면, 정신 운동 지연이나 혼란, 피곤이나 의욕감소, 가치 없다고 느끼거나 지나친 죄책감, 집중력 감소와 우유부단, 죽음에 대한 사고나 자살사건 자살기도 중 4가지 이상의 증상이 있는 경우인데, 2주 이상 이러한 증상이 지속될 때 憂鬱症이라고 진단한다¹³⁾.

임상에서 우울은 기본적 정서이므로 우울증을 진단받지 않은 환자에서도 우울증상을 발견하게 되는 경우가 많은데, 성인에서 가장 흔한 정신과 적 장애로서 평생 유병률은 대체로 남자 10%, 여 자 20%, 양극성 장애는 남녀 모두 1%이다. 그러 나 빈도는 주요우울증에서 남자 0.2%, 여자 0.6%, 양극성장애는 남자 0.01%, 여자 0.03%이다. 우리 나라의 경우 우울증의 평생 유병률이 남자 약 2%, 여자 약 6% 정도로 보고되고 있다¹⁴.

우울증을 치료하는 데에는 발병원인에 따라 다양한 항우울제가 쓰이는데, 주로 삼환계 항우울제 (TCA), Monoamine Oxidase 억제제(MAOI), 선택적 5-HT 재흡수 억제제(SSRI) 등이 주류를 이루고 있다¹⁵⁾. 그런데 이들은 구갈, 발한, 변비, 피로감, 시야 흐림 등의 부작용이 있어¹⁶⁾ 한약을 이용하여 이러한 부작용을 최소화한 새로운 항우울제개발이 필요할 것이다.

한의학에서 鬱症은 情志不舒로 인하여 氣機가 울체되어 생기는 病으로, 鬱이란 억압되고 침울한 정신 상태로 인하여 모든 생리기능이 침체되는 현 상으로 의욕상실, 흥미상실, 침묵, 무기력 등 생기 가 없는 것을 의미한다. 《東醫寶鑑 內景篇 氣門》 에 "入門曰 鬱者 病結不散者"17)라 하였으며, 《素 問・刺法論》에서 "抑之鬱發",《素問・本病論》에 서 "久而火鬱", "日久成鬱", "抑之變鬱", "伏之化 鬱"¹⁸⁾ 이라 하여 氣機가 오래도록 소통되지 않아 발생하는 것을 鬱症임을 설명하였으며, 心情抑鬱, 情緒不寧, 胸部滿悶, 脇肋脹痛, 或易怒慾哭, 或咽中 如有異物梗阻 등을 주요증상으로 보았다^{19,20)}. 이러 한 氣鬱증이 오래되면 瘀血 및 痰飮이 발생하게 되어 다양한 증상들이 나타 날수 있는데⁷⁾ 이러한 氣滯瘀血증상을 치료하는 한약재로 牧丹皮가 상용 된다.

牧丹皮(Moutan Cortex)는 毛茛科(Ranunculaceae) 에 속한 落葉小灌木인 모란(Paeonia suffruticosa ANDR.)의 근피를 건조한 것으로 藥性은 味는 辛苦, 性은 凉, 無毒하며 心, 肝, 腎의 3經에 작용하며, 《神農本草經》에 "味辛寒, 主寒熱, 中風瘈瘲, 驚癎邪氣, 除癥堅瘀血留舍腸胃, 安五臟, 療癰瘡."라하였고²¹⁾ 《名醫別錄》에는 "除時氣頭痛 客熱 五勞勞氣 頭腰痛 風噤 癲癎"라 하여²²⁾ 牧丹皮는 淸熱養血 작용을 하므로 血分 熱症에 사용하고, 活血

行療하는 작용이 있기 때문에 瘀血 積聚血滯에 사용하였다^{23,24)}.

저자는 강제수영검사를 통하여 牧丹皮의 투여가 동물의 우울행동에 미치는 영향을 실험하였다. 강제수영시험은 약물의 항우울 작용을 예측할 수 있는 타당도가 큰 방법으로 실험동물을 물이 담긴 원통에 빠뜨리면 처음에는 원통 밖으로 나가려 애를 쓰다가 결국 포기하고 후반부에 부동자세를 취하는 일종의 행동좌절(behavioral despair)양상을 보이게 된다. 시험대상 약물이 효과가 있으면 부동자세를 취하는 시간이 감소하기 때문에 이를 토대로 약물의 효능을 검정한다²⁵⁾. 이 실험에서는 대조군의 부동시간에 비해 牧丹皮 100 mg/kg 투여 군에서 부동시간이 감소하여 항우울 효과가 있는 것으로 나타났다.

우울증삽화의 발생이 대개의 경우 다양한 형태 의 스트레스가 있는 정황에서 일어난다는 점은 비 록 스트레스가 우울증을 일으키는 충분조건은 아니 라 할지라도 그것이 우울증 발현에서 중요한 역할을 할 수 있음을 시사한다^{26,27)}. 최근의 여러 실험적 증 거들에 따르면 일반적으로 스트레스 현상은 HPA axis의 과도한 활동 및 그로 인한 glucocorticoid의 증가와 관련된다²⁸⁾. 정신적 스트레스는 대뇌피질 을 통해 인식되어 변연계를 통해 시상하부로 전달 되고, 신체적 스트레스는 뇌간을 통해 역시 시상 하부로 전달되는 것으로 알려져 있다. 스트레스가 계속되면 시상하부의 PVN에서 CRF를 방출하고 이는 뇌하수체 전엽으로 이동하여 ACTH가 분비되 도록 유도하며 이 ACTH는 혈액순환을 통해 부신 으로 이동하고 부신피질에서 작용하여 corticosteroid 합성을 유발하며 따라서 혈장내 glucocorticoid의 농도를 높인다. 이렇게 해서 glucocorticoid의 농도 가 높아지게 되면 신경세포들을 죽이는 등 건강을 해치는 작용을 하게 되며 생리적, 정신적 이상을 유발할 수 있다^{29,30)}.

본 실험에서는 牧丹皮가 FST에서 흰쥐의 우울 행동을 억제하는 것이 HPA axis와 관련하여 항우 울 효과를 나타내는 것이 아닌가 하는 추론을 확인해보기 위해 시상하부의 PVN에서 CRF를 측정하여 보았다. CRF는 HPA axis에서 스트레스의영향을 중개하고 스트레스에 대한 내분비, 자율신경, 행동적, 면역 등의 반응을 매개하는 중요한 역할을 한다. 스트레스를 경험하면 PVN에서 뿐만아니라 청반이나 편도체 중심핵 등의 부위에서 CRF mRNA와 그 생성이 증가되고, 특히 청반과편도체 중심핵 등의 부위가 스트레스로 인하여 증가된 CRF가 여러 행동적인 변화를 유발하는데중요한 역할을 하는 것으로 추정되고 있다^{30,31)}. 본실험의 결과, 대조군과 비교하여 牧丹皮 100 mg/kg 그룹(MC100)은 PVN 내에서의 CRF의 발현을 억제시켰으나 유의성은 없었다.

c-Fos 단백질은 여러 약물이나 스트레스를 포함 한 생리적 자극에 의해 발현되므로, 스트레스 및 스트레스와 관련된 우울증 연구에서 자주 관찰되 어지는 지표로 본 실험연구에서도 스트레스를 받 으면 c-Fos 발현이 증가되는 것으로 알려진 PVN 에서 신경세포 활동성에 대한 지표가 되는 c-Fos 가 발현된 세포체의 수를 측정하였는데^{32,33)}. 대조 군과 비교해 본 결과. 牧丹皮 100 mg/kg그룹 (MC100)은 대조군에 비해 감소를 나타내었다. 이 는 牧丹皮의 투여가 PVN에 작용하여 c-Fos의 발 현을 억제한 결과로 볼 수 있다. 반면 牧丹皮 400 mg/kg그룹(MC400)은 대조군에 비해 증가를 나타 냈다. 이는 약물의 투여량 변화에 따라 牧丹皮의 항우울 효과가 관련이 있음을 보여주는 것이라 할 수 있는데 이를 확인하기 위해 용량을 더욱 세분 화한 후속실험이 필요하다고 여겨진다.

TH는 phenylalanine에서 dopamine, norepinephrine, epinephrine으로 전환되는 카테콜라민 변환과정의 초기 전환단계에서 tyrosine을 dopa로 전환시키는 효소로서 rate-limiting 단계 역할을 한다^{34,35)}. TH는 도파민계 대사를 평가하고자 할 때, 관찰하는 지표 중 하나로 스트레스 조건에서는 도파민체계가 활성화 되어 도파민의 이용율과 전환율이 증가

되어 도파민의 수준은 감소되고 상대적으로 도파 민 대사에 관여하는 TH의 수준은 증가하는 현상 이 나타난다^{36,37,38)}. 후뇌 협부, 4뇌실 앞에 위치하 는 Locus Ceruleus는 색소를 띄고 있어 청반, 청색 반점등으로 불리는데, 중뇌, 간뇌, 중뇌, 소뇌, 교 뇌, 수뇌 및 척수 등 광범위하게 중추신경계에 분 포하는 noradrenalin성 섬유가 청반에서 유래한다 ^{39,40,41)}. 중뇌 흑색질의 등쪽내측에서는 많은 세포 들이 염색성을 보이며, 복측피개야(VTA, Ventral Tegmental Area)로 불린다⁴²⁾. 중뇌 dopamine system 은 2개의 기능 단위로 나뉘는데 하나는 운동기능 에 영향을 끼치는 흑질에서 시작하는 흑질-선조로 이고, 또 하나는 감정에 영향을 미치는 복측피개 야에서 시작하는 중뇌-피질변연로 이다. 이처럼 복측피개야에서 많은 신경세포들이 도파민계 대사 에 관여하고 있다^{43,44,45)}.

본 실험에서는 스트레스 부여 후 청반과 복측 피개야에서 TH발현이 증가하였으며, 牧丹皮 100 mg/kg, 400 mg/kg 투여군 모두 유의한 TH발현 감소를 확인할 수 있었다. 청반영역에서는 특히 牧丹皮 400 mg/kg 투여군에서 다른 그룹에 비해 유의성 있게 감소하였고, 복측피개야에서는 牧丹皮 100 mg/kg 투여군과 400 mg/kg 투여군에서 모두 유의성 있는 감소를 확인 하였다.

이상과 같은 실험 결과로 볼 때 牧丹皮는 시 상하부의 PVN에 작용하여 PVN에서 HPA axis와 관련된 스트레스물질인 CRF, c-Fos의 발현을 억 제하며, 특히 LC에서 norephinephrine 대사에 관여 TH 발현을 억제하고 VTA에서 도파민계 대사에 관여하여 TH 발현을 억제시켜 흰쥐의 부동행동 감소를 통하여 항우울 작용을 나타내는 것으로 생 각된다.

V. 결 론

牧丹皮가 흰쥐의 우울행동에 미치는 효과를

알아보기 위해 FST를 실시하여 행동변화에 미치는 영향을 보고, 면역조직화학법으로 시상하부의 PVN에서 CRF, c-Fos와 LC, VTA에서 TH의 변화를 측정하여 아래와 같은 유의성 있는 결과를 얻었다.

- 1. FST를 실시하고 부동행동이 나타나는 시간을 관찰한 결과, 대조군에 비해 牧丹皮 100 mg/kg 그룹에서 유의성 있게 감소하였다(p<0.01).
- 2. CRF의 발현을 관찰한 결과, 대조군에 비해 牧 丹皮 100 mg/kg그룹에서 CRF의 발현이 감소 하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다.
- 3. c-Fos의 발현을 관찰한 결과, 대조군에 비해 牧 丹皮 100 mg/kg그룹에서 c-Fos의 발현이 유의 성 있게 감소하였다(p<0.05).
- 4. LC에서 TH의 발현을 관찰한 결과, 대조군에 비해 牧丹皮 100 mg/kg그룹과 牧丹皮 400 mg/kg 그룹에서 TH의 발현이 유의성 있게 감소하였다(p<0.001).
- 5. VTA에서 TH의 발현을 관찰한 결과, 대조군에 비해 牧丹皮 100 mg/kg그룹과 牧丹皮 400 mg/kg 그룹에서 TH의 발현이 유의성 있게 감소하였다(p<0.001).

이상과 같은 실험결과를 볼 때, 牧丹皮가 FST에서 시상하부의 PVN에서 c-Fos와 LC, VTA에서 TH를 감소시켜 흰쥐의 부동행동을 억제시키는 항우울 효과가 있다고 사료된다.

참고문헌

- 1. 대한신경정신의학회. 신경정신의학. 서울:중앙 문화사. 2005:164-99.
- 2. 민성길. 최신정신의학. 서울:일조각. 2006:275-8.
- 3. 전국한의과대학 신경정신과교과서편찬위원회. 서 울:집문당. 2007:256-7.

- 4. 대전대학교한의학연구소. 신경증에 관한 연구. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 1997;6(1):505-14.
- 5. 朱震亨. 丹溪心法附餘. 서울:大星文化社. 1993:515.
- 6. 신길구. 신씨본초학. 서울:고문사. 1987:497-8.
- 7. 全國韓醫科大學 本草學教授. 本草學. 서울:永林 計. 1991:193-5.
- 8. 김영일. 牧丹皮·桃仁합이 항염증 작용에 미치는 영향. 익산. 원광대 대학원. 2006.
- 9. 장성익. 牧丹皮 추출물의 생쥐의 B림파구와 비 만세포에서 항알러지 작용에 관한 연구. 대한동 의병리학회. 2001;15(4):631-5.
- 10. 권덕윤. 牧丹皮가 세포고사의 억제에 미치는 영향에 관한 연구. 익산. 원광대 대학원. 2004.
- 11. 이승호, 박지수, 김소영, 김진준, 정시련. 牧丹 皮로부터 멜라닌 생성억제 성분의 분리. 대한 약학회지. 1998;42(4):353-6.
- Paxinos G, Watson C. "The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates". Academic Press. New York. 1986.
- 13. E. Braunwald 외. 해리슨 내과학. 서울:정담. 2003:2627-30.
- 14. 민성길. 최신정신의학. 서울:—潮閣. 1999:199-219, 257-78, 613.
- 15. 조맹제. 항우울제의 최신지견. 가정의학회지.1998;19(5):35-44.
- 16. 기백석. 항우울제에 대한 개요-부작용을 중심으로. 대한의사협회지. 1995;38(10):1210-20.
- 17. 허준. 동의보감. 서울:동의보감출판사. 2005: 77, 91.
- 18. 이경우 역. 編注譯解 皇帝內徑素問. 서울:여강 출판사. 2000:5:279-88, 330-5
- 19. 李用粹. 證治彙補. 台北:旋風出版社. 1965:107-13.
- 20. 林佩琴. 類證治裁. 台北:旋風出版社. 1967:192-8.
- 21. 清・孫星衔. 神農本草經. 臺灣:聞名學社出版社. 1985:2:18.
- 22. 신민교. 臨床本草學. 서울:영림사. 2002:385-7.
- 23. 신민교, 이상인, 안덕균. 韓藥臨床應用. 서울:성

- 보사. 1982:124-6.
- 中國中醫藥管理局. 中華本草. 上海:上海科學技術出版社. 1998:663-72.
- 25. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. European Journal of Pharmacology. 1978;47(4):379–91.
- Sapolsky, RM, Romero LM, Munck AU. How fo glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. Endocr Rev. 2000 ;21(1):55-89.
- Korte SM. The darwinian concept of stress benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. Neurosci Biobehav Rev. 2005;29(1):3-38.
- Vazquez DM. Stress and the Developing Limbic-Hypothalamic-Adrenal axis. Psychoneuroendocrinnology. 1998;23(7):663-700.
- Herman JP, Cullinan WE. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamopituitary-adrenocorticoal axis. Trends Neurosci. 1997;20(2):78-84.
- 30. 권용욱, 이태희. 청피가 FST에서 나타내는 우울행동에 미치는 영향. 경기. 경원대 대학원.2008.
- Nestler EJ, McMahon A, Sabban EL, Tallman JF, Duman RS. Chronic antidepressant administration decreases the expression of Tyrosine hydroxylase in the rat locus coeruleus. Proc Natl Acad Sci USA. 1990;87:7522-6.
- 32. Doucet JP, Squinto SP, Bazan NG. Fos-jun and the primary genomic response in the nervous system. Mol Neurobiol. 1990;4:27-55.
- 33. Muchimapura S, Fulford AJ, Mason R, Marsden CA. Isolation rearing in the rat disrupts the hippocampal response to stress. Neuroscience.

2002;112:697-705.

- 34. 배상도. 면역조직화학법에 의한 흰쥐 태자의 Tyrosine hydroxylase의 개체 발생. 대한 해부학회지. 1991;24(4):478-88.
- 35. 김학성, 이경순, 노재섭, 이승호, 황윤정, 이명 구. 수종의 생약이 Bovine Adrenal Tyrosine hydroxylase 및 Dopamine B- Hydroxylase 활 성에 미치는 영향(2). 생약학회지. 1994;25(4) :194-7.
- Miller WR. Psychological deficit in depression. Psychology Bulletin. 1975;82:238–60.
- 37. Beitner-Johnson D, Guitart X, Nesteler EJ. Neurofilament proteins and the mesolimbic dopamine system: common regulation by chronic morphine and chronic cocaine in the rat Ventral Tegmental Area. J. Neurosci. 1992;12(6):2165-76.
- 38. Komori T, Nomura J, Inoue K, Kitayama I. Tyrosine hydroxylase activity in discreste brain regions of depression model rats. Jpn. J. Psychiarty Neurol. 1990;44(4):747–54.
- 39. 배춘상, 백서용, 조희중, 차중익, 천병훈. 신경 해부학. 서울:고문사. 1998:102-208.
- Mokha SS, Mcmillan JA, Iggo A. Descending control of spinal nociceptive transmission. Actions produced on spinal multireceptive neurones from the nuclei locus coeruleus(LC) and raphe magnus(NRM). Exp. Brain. Res. 1985;58:213-6.
- Nakazato, T. Locus coeruleus neurons projecting to the forebrain and the spinal cord in the cat. Neuroscience 1987;23:529–38.
- 42. Crossman AR, Neary D. Neuroanatomy. New York; Churchill Livingstone 1996:65–69, 121–2.
- 43. Daniel SM, Amer Karmal, Marten PS, Geert MJ. Modulation of cellular activity and synaptic transmission in the Ventral Tegmental Area. European Journal of Pharmacology 2003

;480:97-115.

- 44. Ortiz J, Fitzgerald LW, Lane S, Terwilliger R, Nestler EJ. Biochemical adaptations in the mesolimbic dopamine system in response to repeated stress. Neuropsychopharmacology, 1996
- ;14(6):443-52.
- 45. 고동균, 이태희. 지골피가 스트레스로 인한 기 억저하와 우울행동에 미치는 영향. 대한본초학 회지. 2007;22:137-46.