

녹차추출물과 테아닌 복합물의 신경전달물질 조절을 통한 항스트레스 효과

박상기*[‡] · 김태일[‡] · 이원경* · 박형국* · 홍진태[#]

충북대학교 약학대학, *LG 생활건강 기술연구원

(Received February 3, 2009; Revised May 6, 2009; Accepted May 14, 2009)

Combination of Green Tea Extract and L-Theanine Alleviates Electric Foot Shock Induced Stress by Modulating Neurotransmitters in Mice

Sang-Ki Park*[‡], Tae Il Kim[‡], Won Kyung Lee*, Hyoung Kook Park* and Jin Tae Hong[#]

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheong-ju 361-763, Korea

*LG Household and Healthcare Research Park, Daejeon 305-343, Korea

Abstract — Various neurotransmitters are involved in regulating stress systems. In this study, we investigated the combination relieving effect of green tea extract(GTE) and L-theanine on the stress induced by electric foot shock. Four week oral administration of GTE (24 mg/kg), L-theanine (4 mg/kg) or their combination reduced the levels of dopamine, noradrenaline and corticosterone in blood, brain cortex, hippocampus, and striatum, whereas increased serotonin level. The combination of GTE and L-theanine showed much greater effects than single treatment of each component, and the effects are comparable to diazepam (2 mg/kg). Therefore, this study suggests that the combination of GTE and L-theanine may act effective and be useful for stress relieving treatment.

Keywords □ green tea extract, L-theanine, anti-stress, neurotransmitter

우리 사회가 급격히 발전하고 다변화 되면서 현대인에게 요구되는 역할들이 증대됨에 따라, 여러 가지 스트레스로 인한 범불안 장애 및 정신질환을 호소하는 사람들이 증가하고 있다. 보건복지부가 발표한 '2006년도 정신질환실태 역학조사'에 따르면, 2006년 1년간 한 가지 이상의 정신질환 경험 인구비율인 '정신질환 일년 유병율'은 17.1%로 나타났다. 이는 18세 이상 64세 이하 성인 6명 중 1명 꼴이며, 2006년 현재 평생동안 한가지 이상의 정신질환 경험 인구비율인 '정신질환 평생 유병율'은 성인 3명 중 1명인 30%로 나타났다. 최근 과도한 학구열 또는 각종 스트레스로 인한 청소년 정신질환이 늘고 있는 추세를 감안한다면 전체 인구의 유병율은 더욱 높다고 할 수 있겠다.

불안증과 스트레스를 유발하는 데는 생체내 신경전달물질 및 호르몬이 밀접한 관련이 있다. 외부 자극 및 스트레스에 대해 체내에서는 시상하부에서 신경전달물질 및 호르몬의 분비를 관장하는데, 시상하부에서 중추신경계의 신호전달을 통하여 각 신

경말단에서 dopamine 및 noradrenaline, serotonin 과 같은 신경전달물질의 유리를 조절함으로써 감정상태, 심박동수, 혈압 및 골격근의 혈류 증가 등과 같은 생리활성을 조절하게 된다. 그리고 hypothalamic-pituitary-adrenal(HPA) axis system 을 통하여 혈액으로의 호르몬 분비가 이루어지는데, 이는 시상하부에서 뇌하수체, 부신으로 이어지는 호르몬의 circulation system 으로, 어떠한 외부 자극 또는 스트레스를 받게 되면, 시상하부에서 부신 피질 자극 호르몬 방출인자(corticotropin-releasing factor; CRF)를 분비하게 된다. 뇌하수체의 CRF 와 특이적으로 결합하는 수용체에 이 호르몬이 결합하게 되면 부신 피질 자극 호르몬(adrenocorticotrophic hormone; ACTH)을 분비한다. ACTH는 혈액 및 림프절을 통해 부신에 도착하게 되어 피질에서 corticosterone 과 같은 스테로이드 호르몬과 수질에서 catecholamine 류의 신경전달물질을 혈액으로 방출하여, 심박동수, 혈압 및 에너지 대사 등의 조절에 관여하게 되며, negative feedback regulation 을 통하여 이들 인자들의 분비를 조절한다.^{1,2)}

현재 임상에서는 약물치료와 장기적 정신치료를 병행해 불안증을 치료하고 있으며, 약물치료의 경우에는 주로 diazepam, lorazepam, clonazepam, alprazolam 과 같은 benzodiazepine 계

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로

(전화) 043-261-2813 (팩스) 043-268-2732

(E-mail) jinthong@chungbuk.ac.kr

[‡]두 저자는 본 논문에 공동으로 기여하였음

통의 항불안 약물들을 주로 사용되고 있고,³⁾ azapirone 계의 buspirone 은 선택적으로 serotonin 수용체에 작용하여서 선택적으로 불안증후를 완화시킬 수 있는 약물로 사용이 되고 있다. 또한 최근에는 이러한 약물의 부작용을 보완할수 있는 천연물로부터 유래한 스트레스 조절물질의 연구가 활발히 진행되어 오고 있으며^{3,4)} dopamine과 serotonin이 주요 조절 물질로서 호르몬으로서 연구되고 있다. 테아닌은 녹차의 주요 아미노산중의 하나로서 이전의 연구에서 뇌 알파파를 증가시켜 진정효과를 보이며, dopamine과 serotonin의 조절기능이 있음을 보였으며,⁵⁾ 녹차추출물 함유 음료섭취 시 뇌파의 변화 및 그에 따른 불안증 개선 효과가 있음이 보고된바 있다.⁶⁾ 그러나 위의 연구들은 투여경로 등이 식품으로서의 적합하지 않으며 두 물질을 혼합하였을 때의 효능 및 기전에 대해서는 보고된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 전기자극을 통하여 실험동물에게 스트레스를 가한 후, 녹차 추출물과 테아닌을 복합 경구투여하였을 때 실험동물의 혈액 및 뇌조직으로부터 스트레스 관련 신경전달물질 및 호르몬(dopamine, noradrenaline, serotonin, corticosterone)이 증가 또는 감소는지 여부, 특히 두 물질의 복합 투여 시에 시너지 효과를 보이는지 여부를 확인하여 건강기능식품소재로서의 발굴가능성을 확인하였다.

실험방법

실험동물 및 시료

생후 8주 된 수컷 ICR mouse를 중앙실험동물(주)로부터 구입하여, 1주간 순화시키면서 일반증상을 관찰하였고, 체중을 측정하여 건강한 것만을 선별하여 사용하였다. 실험동물은 충북대학교 실험동물연구지원센터에서 GLP 수준의 관리기준에 따라 수용하고, 관리, 투여, 실험을 실시하였다. 실험기간 중의 실험동물은 격리용 마우스 케이지당 3마리씩 수용하였고, 사육실 환경조건은 실내온도 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 10\%$, 조명시간 12시간(오전 7시~오후 7시), 조도 150~200 lux로 조절되었다. 물과 실험동물용 사료는 자유로이 섭취할수 있도록 하였고, 녹차추출물 및 테아닌을 물에 녹여 투여하기 위해 1일 평균 물 섭취량을 측정하였다.

본 시험에 사용된 녹차추출물(Tiantai ming yuan tea products, China)과 L-테아닌(Taiyo Kagaku, Japan)은 (주)LG 생활건강에서 공급받아 사용하였다. 본 시험에서 사용한 녹차추출물은 *Camellia sinensis*의 건조잎을 열수 추출한 것으로 총 카테킨 함량이 20% 이상이며 카페인 함량이 5% 이하인 건강기능식품공전에서 규정한 규격에 합당한 원료를 사용하였다.

시험물질 투여 및 용량

실험동물은 평균 체중과 분산이 균질하도록 군을 분리하고 각 군당 12마리로 하였으며 1일 물 섭취량을 고려하여 물에 녹차추

출물 24 mg/kg과 테아닌 4 mg/kg 을 각각 단독 또는 혼합하여 물에 녹여서 4주간 투여하였다. 양성대조군으로 diazepam을 2 mg/kg의 용량으로 스트레스 유도 30분 전에 1회 복강 투여(i.p.)하였다.

스트레스 유도를 위한 전기자극(Electric Foot Shock)

실험동물에 스트레스를 유도하는 방법으로서 electric foot shock 방법을 이용하였다. 시험물질 투여 종료 후 electric foot shock을 30분간 5초 간격으로 1초간 0.6 mA의 전기 충격을 가하여 스트레스를 유도한 후 마우스를 부검, 혈액 및 뇌를 적출하였다.

혈액 및 뇌의 채취 및 보관

스트레스 유도 후 실험동물을 ether로 마취시킨 후 복부를 절개하여 1 ml syringe 로 복대동맥에서 심정지 직전까지 혈액을 채취하여 heparin 이 코팅되어 있는 blood collection vacutainer (BD, NJ, USA)에 넣어 잘 섞어준 후 상온에서 2시간을 방치하였다. 그 후 4°C , 15000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액(plasma)을 분리하여 냉동보관(-20°C)하였다.

혈액이 제거된 마우스로부터 brain을 적출하여 -20°C 에서 얼린 후 대뇌피질(cortex)과 해마(hippocampus), 줄기뇌체(striatum) 부분을 분리하였다. 여기에 200~500 μl 의 extraction buffer (0.3 M sucrose, 0.15 mM spermine, 0.5 mM spermidine, 10 mM HEPES (pH 7.9), 1.5 mM MgCl_2 , 10 mM KCl, 0.5 mM DTT, 0.2 mM PMSF, 0.1% protease inhibitor, 0.1% phosphatase inhibitor, 0.5% NP 40)를 넣어 균질화시킨 후 최종 부피가 1 ml 이 되도록 extraction buffer를 가해 잘 혼합한 뒤 2시간 동안 4°C 에서 lysis시켰다. 여기에 반응이 끝나면 시료를 1.5 ml tube 에 담아 3분씩 5번 동안 vortex하고 4°C , 15,000 rpm에서 15분간 원심분리 한 후 상등액을 취하였다.

생화학적 분석

분리/적출된 혈액 및 뇌조직내 dopamine(DA), noradrenaline (NE), serotonin(5-HT), corticosterone(CS)의 함량을 ELISA로 측정하였는데, dopamine과 noradrenaline은 Norepinephrine/Dopamine ELISA(Cat# BA-10-5500, LND GmbH & Co. KG, Nordhom, Germany), serotonin은 Serotonin Ultra Sensitive ELISA(Cat# BA-10-5900, LND GmbH & Co. KG, Nordhom, Germany), corticosterone은 Corticosterone EIA kit(cat# 900-097, Assay Designs, Inc. Ann Arbor, MI, USA)을 사용하였고 제조사에서 제공한 실험방법에 따라 분석하였다.

통계학적 분석

연구 결과치는 one-way ANOVA 로 분석하여 투여군의 유의성 여부를 판별하고 그 결과를 통한 군간의 유의성은 post hoc test로 Dunnett's test 를 선택하여 분석하였다. 각각의 단독투여

에 대한 복합물의 상승효과는 Bonferroni's multiple comparison test를 이용하여 통계적 유의성 검정을 실시하였다. 결과는 평균 \pm standard error(S.E)로 나타내었고 $p < 0.05$ 이하를 유의적 차이로 보았다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

실험결과

스트레스에 의해 유도된 dopamine에 대한 녹차추출물/테아닌 복합물의 억제효과

녹차추출물 및 테아닌을 단독 또는 복합으로 4주간 경구투여하

고 electric foot shock으로 스트레스를 유도한 후 혈청 및 뇌 주요 조직의 dopamine함량 변화를 측정하였다. 스트레스 유도 전후의 dopamine 함량을 비교하였을때 스트레스 유도 대조군의 혈장, 대뇌피질 및 해마에서는 유의한 변화를 보이지 않았으며(Fig. 1a, b) 뇌의 줄무늬체(striatum)에서만 스트레스 비유도 정상군(60.4 ± 1.8 ng/mg protein)보다 dopamine 함량이 유의하게 증가하였다(90.4 ± 2.9 ng/mg protein). 한편, 녹차 추출물(24 mg/kg)과 테아닌(4 mg/kg)을 각각 단독으로 투여하였을때는 스트레스 유도 대조군 대비하여 유의한 변화가 없었으나, 동일 용량으로 복합투여하였을때 뇌의 줄무늬체에서 스트레스 유도 대조군(90.4 ± 2.9 ng/mg

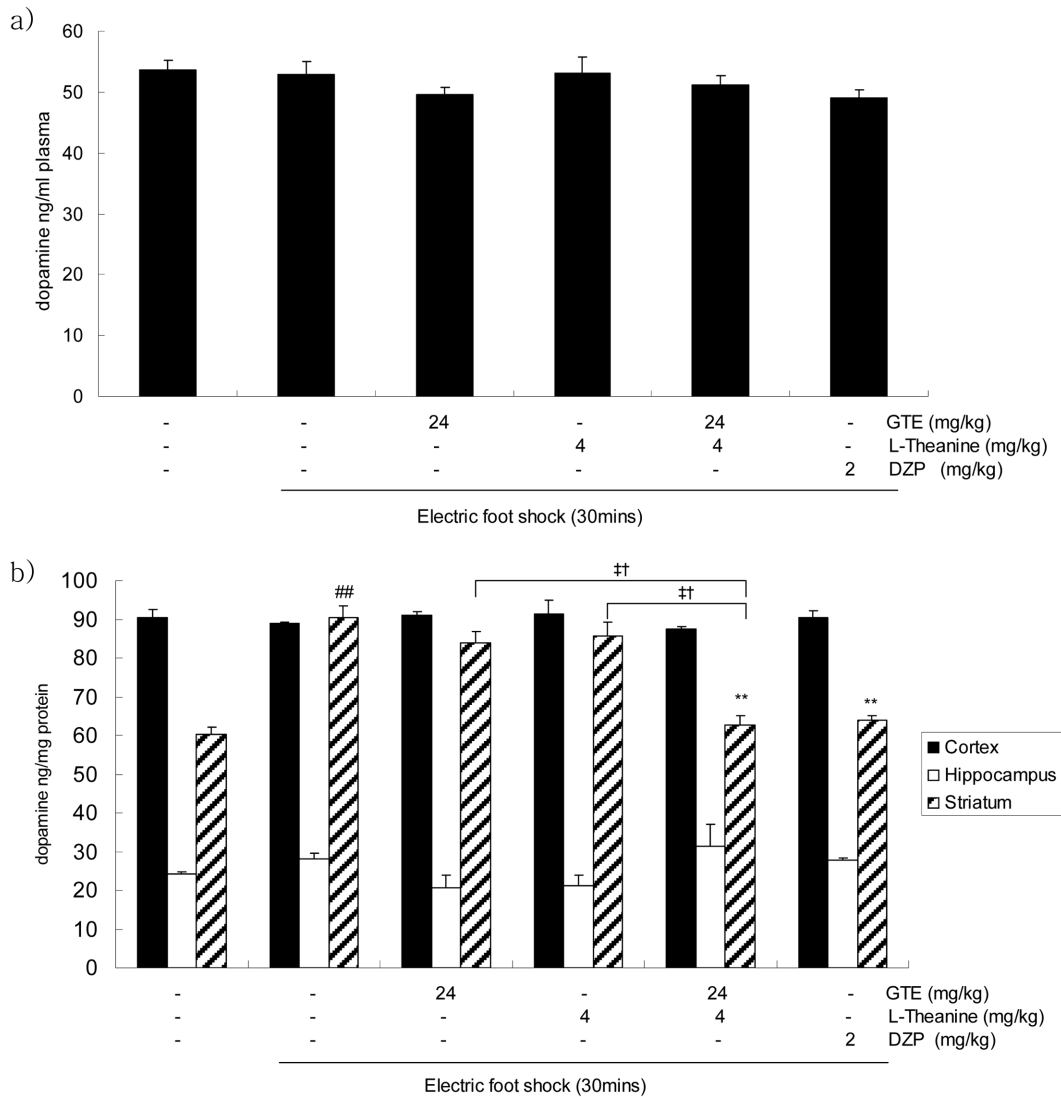


Fig. 1 – Combination of green tea extract (GTE) and L-theanine reduces dopamine in the brain striatum induced by electric foot shock stress. GTE (24 mg/kg), L-theanine (4 mg/kg) or their combination were administered orally for 4 weeks before electric foot shock for 30 min. Blood, cortex, hippocampus and striatum were obtained immediately for dopamine analysis. Diazepam (2 mg/kg i.p.) was used as a positive control. a) Dopamine concentrations in blood. b) Dopamine concentrations in cortex, hippocampus and striatum. Each value represents mean \pm S.E. ** $p < 0.01$ compared with stress-induced control. ## $p < 0.01$ compared with stress-uninduced control. ‡ $p < 0.001$ compared with GTE or L-theanine treatment alone by Bonferroni's multiple comparison test.

protein) 대비 69.5%(62.8±2.2 ng/mg protein, $p < 0.01$) 수준으로 유의하게 감소하였으며, 양성대조군으로 사용한 diazepam (63.8±1.3 ng/mg protein)과 동등한 수준을 보였다(Fig. 1b).

스트레스에 의해 유도된 noradrenaline에 대한 녹차추출물/테아닌 복합물의 억제효과

전기자극에 의한 스트레스를 유도했을 때 noradrenaline 함량 변화를 측정하였다. 스트레스 유도 대조군의 noradrenaline 함량은 혈청 및 뇌의 세 영역 모두에서 스트레스 비유도 정상군(혈장: 38.2±0.9 ng/ml plasma, 피질: 46.6±2.8 ng/mg protein, 해마: 38.2±0.3 ng/mg protein, 줄무늬체: 6.9±1.2 ng/mg protein)

에 비해 유의적으로 증가하였다(혈장: 79.0±1.6 ng/ml, 피질: 92.9±1.5 ng/mg protein, 해마: 107.8±0.7 ng/mg protein, 줄무늬체: 27.2±1.0 ng/mg protein).

시험물질을 투여한 실험군에서의 noradrenaline 함량 변화를 보면, 혈장에서는 녹차 추출물 24 mg/kg(61.2±4 ng/ml plasma, $p < 0.01$, 스트레스 유도 대조군 대비 77.5%)과 테아닌 4 mg/kg (65.0±2.3 ng/ml plasma, $p < 0.01$, 스트레스 유도 대조군 대비 82.3%) 단독투여의 경우보다 두 물질을 함께 투여했을 때(49.2±4.8 ng/ml plasma, $p < 0.01$, 스트레스 유도 대조군 대비 62.3%) 더 큰 감소효과가 나타나 상승효과를 나타내었다(Fig. 2a). 뇌의 해마에서는 녹차추출물 24 mg/kg(96.2±2.5 ng/mg protein, $p <$

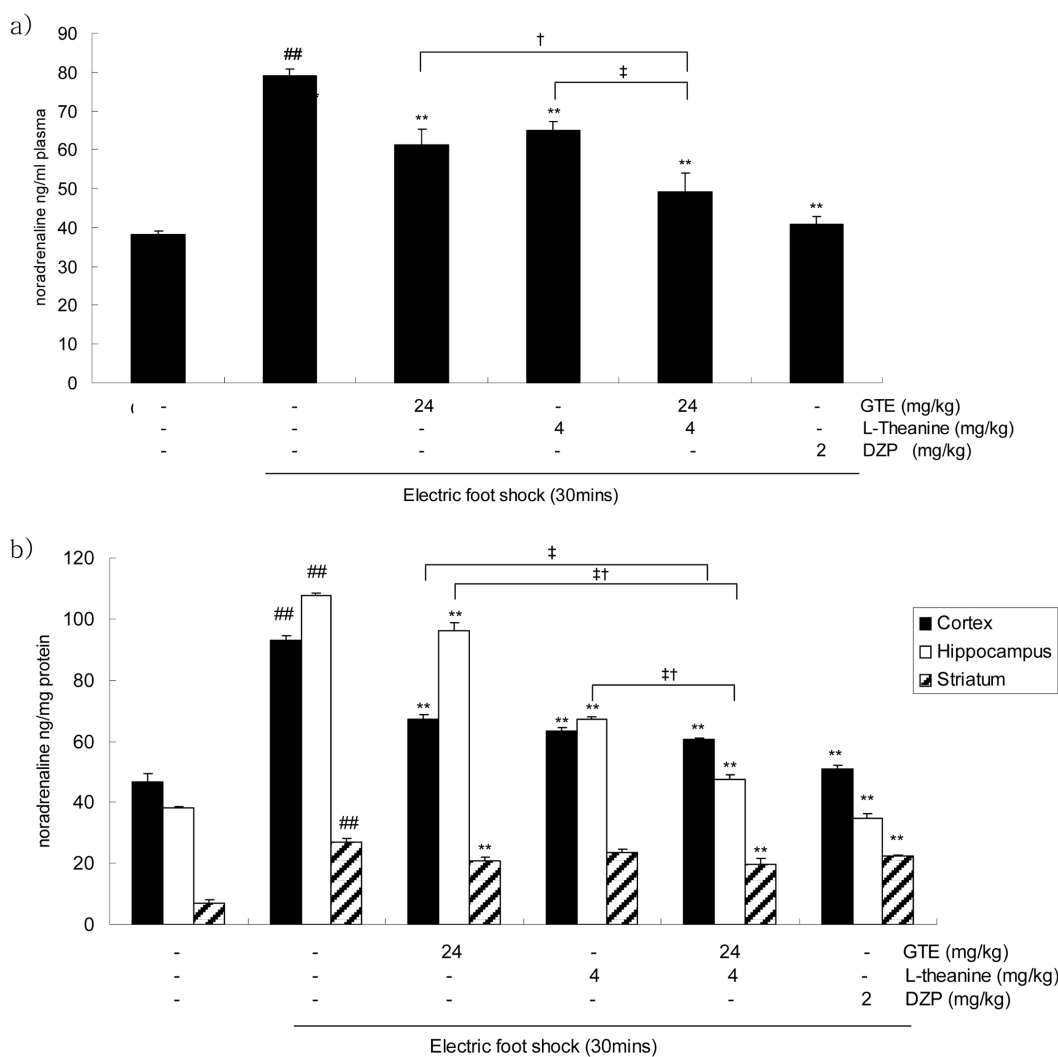


Fig. 2 – Green green tea extract (GTE), L-theanine and thier combination reduce noradrenalin in the blood, cortex and hippocampus induced by electric foot shock stress. GTE (24 mg/kg), L-theanine (4 mg/kg) or their combination were administered orally for 4 weeks before electric foot shock for 30 min. Blood, cortex, hippocampus and striatum were obtained immediately for noradrenalin analysis. Diazepam (2 mg/kg i.p.) was used as a positive control. a) Noradrenalin concentrations in blood. b) Noradrenalin concentrations in cortex, hippocampus and striatum. Each value represents mean±S.E. ** $p < 0.01$ compared with stress-induced control. ## $p < 0.01$ compared with stress-uninduced control. † $p < 0.05$, ‡ $p < 0.01$, ‡‡ $p < 0.001$ compared with GTE or L-theanine treatment alone by Bonferroni's multiple comparison test.

0.05, 스트레스 대조군 대비 89.2%), 테아닌 4 mg/kg(67.0±0.8 ng/mg protein, $p < 0.05$, 스트레스 유도 대조군 대비 62.1%)을 단독으로 투여했을 때 보다 두 물질을 함께 투여했을 때(47.4±1.6 ng/mg protein, $p < 0.01$, 스트레스 유도 대조군 대비 44%) 더 큰 감소효과가 나타났으며, 스트레스 유도 대조군의 44% 수준으로 유의하게 감소하였다. 대뇌피질에서도 녹차추출물 24 mg/kg(67.2±1.4 ng/mg protein, $p < 0.01$, 스트레스 유도 대조군 대비 72.3%)과 테아닌 4 mg/kg(63.3±1.0 ng/mg protein, $p < 0.01$, 스트레스 유도 대조군 대비 68.1%)을 단독 및 복합투여시 모두 유의한 감소를 보였고, 특히 복합투여했을때 스트레스 유도 대조군의 56.1% (60.4±0.6 ng/mg protein, $p < 0.01$) 수준으로 감소하였다. 줄무늬체 영역에서는 다른 두 조직부위에 비해 noradrenaline의 농도가

비교적 낮게 형성되었으며, 녹차추출물(24 mg/kg) 단독 투여 (20.7±1.4 ng/mg protein, $p < 0.01$)와 복합물 투여(19.8±1.7 ng/mg protein, $p < 0.01$)시에 스트레스 유도 대조군 대비 유의한 감소효과를 보였다(Fig. 2b).

스트레스에 의해 저하된 serotonin에 대한 녹차추출물테아닌 복합물의 상승효과

전기자극에 의한 스트레스를 유도했을때 serotonin의 함량 변화를 측정하였다. 혈장 및 뇌의 세 영역 모두에서 스트레스 유도 대조군의 serotonin 함량이 스트레스 비유도 정상군(혈장: 19.5±0.6 ng/ml plasma, 대뇌피질: 14.8±0.2 ng/mg protein, 해마: 48.1±0.9 ng/mg protein, 줄무늬체: 47.6±0.7 ng/mg protein)에

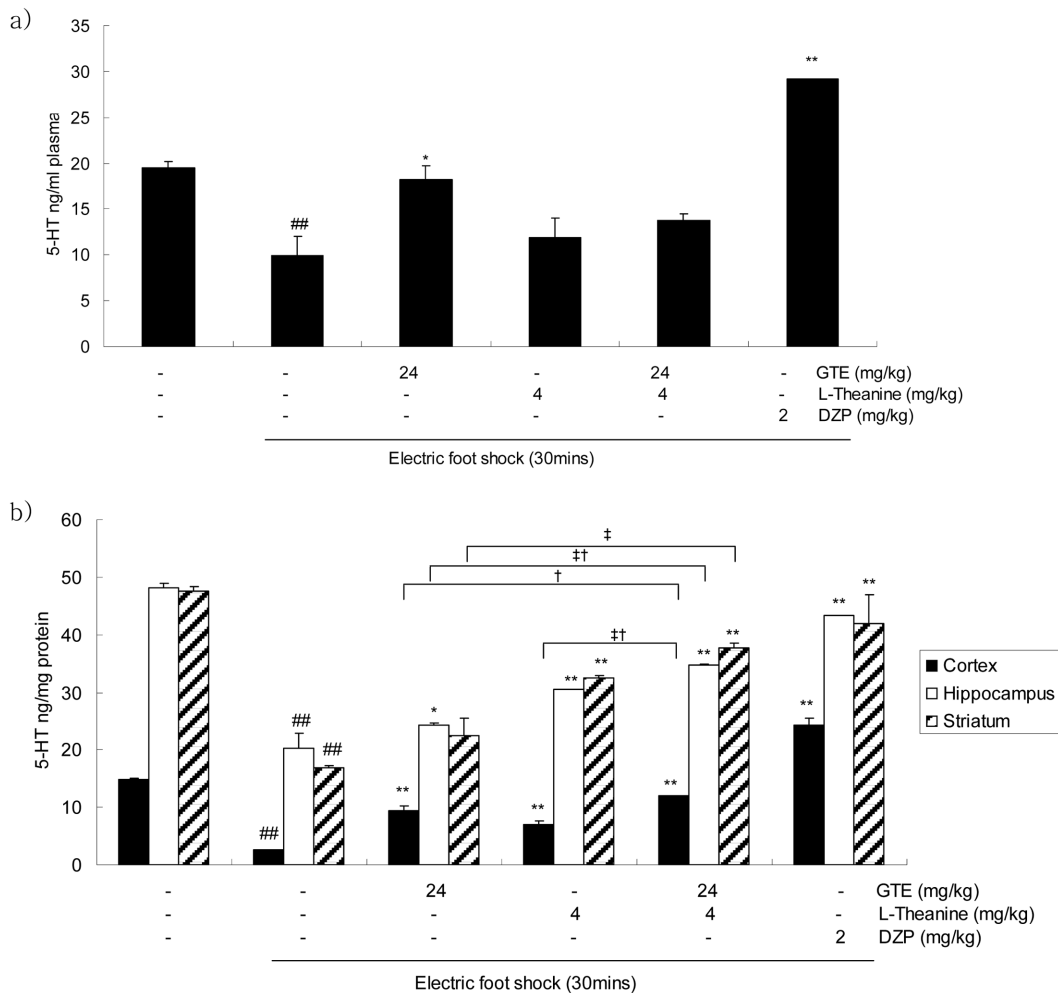


Fig. 3 – Green green tea extract (GTE), L-theanine and thier combination increase serotonin (5-HT) in the cortex, hippocampus and striatum induced by electric foot shock stress. GTE (24 mg/kg), L-theanine (4 mg/kg) or their combination were administered orally for 4 weeks before electric foot shock for 30 min. Blood, cortex, hippocampus and striatum were obtained immediately for serotonin analysis. Diazepam (2 mg/kg i.p.) was used as a positive control. a) Serotonin concentrations in blood. b) Serotonin concentrations in cortex, hippocampus and striatum. Each value represents mean±S.E. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with stress-induced control. ## $p < 0.01$ compared with stress-uninduced control. † $p < 0.05$, ‡ $p < 0.01$, †† $p < 0.001$ compared with GTE or L-theanine treatment alone by Bonferroni's multiple comparison test.

비해 유의적으로 감소하였다(혈장: 9.9 ± 0.7 ng/ml plasma, 대뇌 피질: 2.6 ± 0.1 ng/mg protein, 해마: 20.2 ± 2.7 ng/mg protein, 줄무늬체: 16.8 ± 0.4 ng/mg protein).

시험물질 투여한 실험군에서의 serotonin 함량변화를 보면, 혈장에서는 녹차 추출물 단독투여시에만 스트레스 유도군에 대비하여 유의적으로 증가하였다(18.2 ± 2.1 ng/ml plasma, $p < 0.05$) (Fig. 3a). 뇌의 해마와 피질에서는 녹차추출물(24 mg/kg)과 테아닌(4 mg/kg) 단독 및 복합투여시 모두 유의적으로 증가하였으며, 특히 복합투여시에는 스트레스 유도 대조군 대비 각각 해마에서 171.3%(34.6 ± 0.2 ng/mg protein, $p < 0.01$), 대뇌피질에서 461.5% (12.0 ± 0.1 ng/mg protein, $p < 0.01$)의 수준을 보였다. 줄무늬체에서는 녹차추출물(24 mg/kg) 단독투여시에는 유의한 증가를 보이

지 않았으나, 테아닌 단독 투여시와 복합투여시 스트레스 유도 대조군 대비 각각 193.5%(32.5 ± 0.5 ng/mg protein) 및 225% (37.8 ± 0.7 ng/mg protein)수준으로 증가하는 상승효과를 보였다. 특히, 녹차추출물과 테아닌 복합투여시에 양성대조군 diazepam (2 mg/kg i.p.) 동등한 수준의 효과를 나타내었다(42.0 ± 5.0 ng/mg protein)(Fig. 3b).

스트레스에 의해 유도된 corticosterone에 대한 녹차추출물테아닌 복합물의 억제효과

전기자극에 의한 스트레스 유도시 corticosterone의 함량 변화를 측정하였다. 스트레스 유도 대조군의 corticosterone 함량은 혈장 및 뇌의 세 영역 모두에서 스트레스 비유도 정상군(혈장:

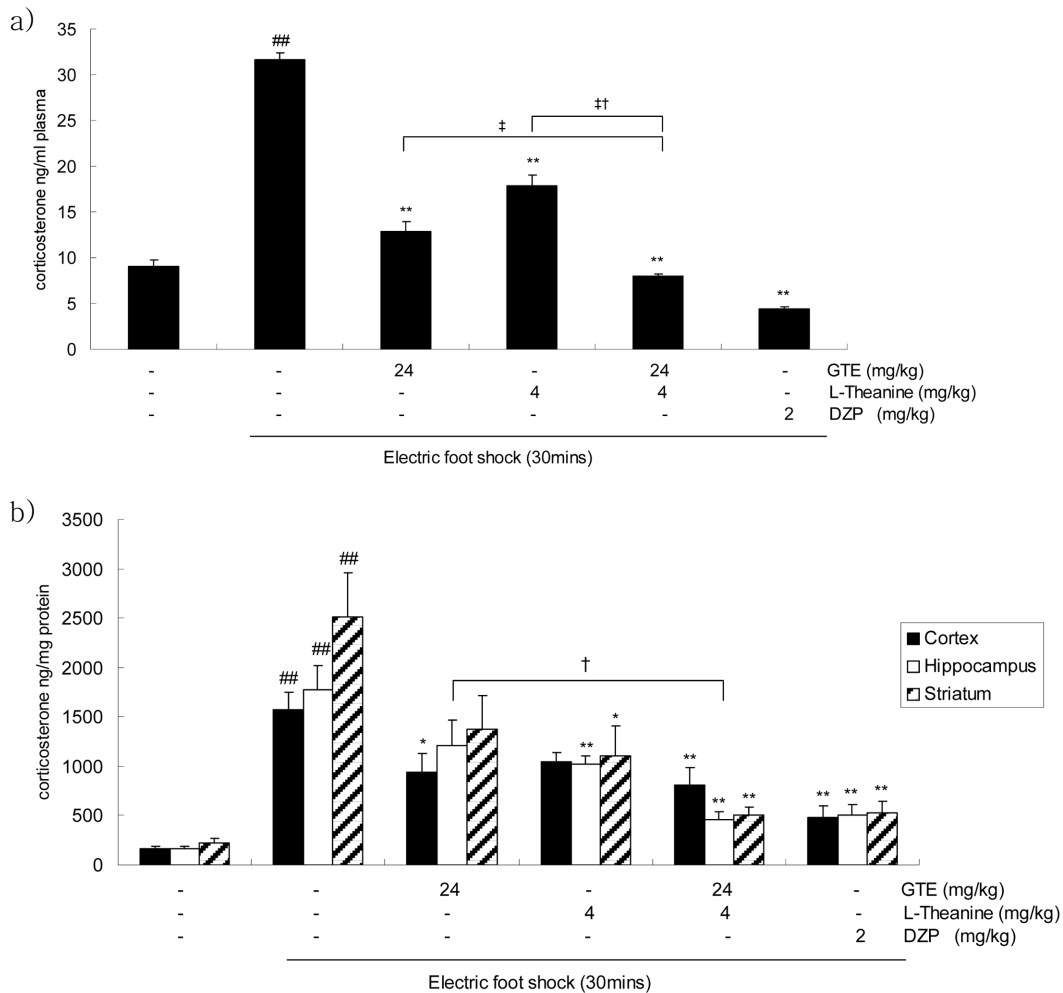


Fig. 4 – Green green tea extract (GTE), L-theanine and thier combination reduce corticosterone in the blood, cortex, hippocampus and striatum induced by electric foot shock stress. GTE (24 mg/kg), L-theanine (4 mg/kg) or their combination were administered orally for 4 weeks before electric foot shock for 30 min. Blood, cortex, hippocampus and striatum were obtained immediately for corticosterone analysis. Diazepam (2 mg/kg i.p.) was used as a positive control. a) Corticosterone concentrations in blood. b) Corticosterone concentrations in cortex, hippocampus and striatum. Each value represents mean \pm S.E. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with stress-induced control. ## $p < 0.01$ compared with stress-uninduced control. † $p < 0.05$, ‡ $p < 0.01$, †† $p < 0.001$ compared with GTE or L-theanine treatment alone by Bonferroni's multiple comparison test.

9.0±0.8 ng/ml plasma, 피질: 164.4±26.1 pg/mg protein, 해마: 161.4±32.3 pg/mg protein, 줄무늬체: 227.1±45.5 pg/mg protein)에 비해 유의하게 증가하였다(혈장: 31.7±0.7 ng/ml plasma, 대뇌피질: 1579.4±176.4 pg/mg protein, 해마: 1774.5±248.5 pg/mg protein, 줄무늬체: 2514.4±450 pg/mg protein).

시험 물질을 투여한 실험군에서의 corticosterone 함량 변화를 보면, 혈장에서는 녹차 추출물과 테아닌을 단독 투여하였을 때 및 복합 투여하였을 때 모두 스트레스 유도 대조군과 대비하여 유의적으로 감소하였으나, 특히 복합 투여하였을 때 상승 효과를 나타내어 스트레스 유도 대조군 대비 24.9% 수준(7.9±0.3 ng/ml plasma, $p < 0.01$)으로 감소하였다(Fig. 4a). 뇌의 대뇌피질에서도 녹차추출물과 테아닌 복합투여 시에 스트레스 유도 대조군 대비 51.6%(814.2±167.2 pg/mg protein, $p < 0.01$,) 수준으로 감소하여 더 우수한 효과를 보였다. 해마와 줄무늬체의 경우, 테아닌 단독 투여 시 및 녹차추출물과 테아닌 복합 투여 시에 유의한 감소 효과를 보였으며, 특히 복합 투여 시 해마와 줄무늬체에서 각각 스트레스 유도 대조군 대비 25.6%(454.2±87.0 pg/mg protein) 및 20.2%(508.5±83.7 pg/mg protein) 수준으로 감소하였다. 해마와 줄무늬체에서 복합투여시의 효과는 양성대조군인 diazepam(2 mg/kg i.p.)과 동등한 수준을 나타내었다(해마: 510.0±105.5 pg/mg protein, 줄무늬체: 532.0±114.5 pg/mg protein)(Fig. 4b).

고 찰

불안증은 특별한 이유없이 장기간에 걸쳐 지속적이고 회복되지 않는 신경과민 및 긴장, 근심을 나타내는 정신질환 중의 하나이며, 정확한 발병원인은 밝혀져 있지 않지만 주로 과도한 스트레스 등의 정신적인 원인 및 뇌의 구조적, 기능적 이상으로 인한 신경전달물질 및 호르몬의 이상으로 인하여 발병되게 된다. 현재 임상에서는 정신치료와 함께 약물치료를 병행하고 있는데 중추신경을 억제함으로써 긴장된 중추신경을 완화시키고, 진정을 시켜 증상의 완화 및 치료를 목적으로 하는 약물들이 주로 사용되고 있다. 본 연구에서는 항스트레스 효능 평가를 위하여 녹차 추출물 및 테아닌을 단독 또는 복합 투여한 후 electric foot shock(30분 동안 5초 간격으로 1초간 0.6 mA 유도)을 가해 스트레스를 유도했을 때, 스트레스 유도 대조군에 비해 noradrenaline과 corticosterone의 수치가 혈장 및 뇌의 피질(cortex), 해마(hippocampus), 줄무늬체(striatum) 영역에서 유의적으로 감소한 것을 확인할 수 있었으며, serotonin 수치는 혈장(plasma) 및 피질(cortex), 해마(hippocampus), 줄무늬체(striatum) 전 영역에서 농도 의존적으로 유의적인 증가를 확인할 수 있었다. Dopamine은 뇌의 줄무늬체(striatum) 영역에서만 유의적인 변화가 있었고 스트레스 유도시 30% 정도 증가되는 것이 확인되었으며, 녹차

추출물과 테아닌의 단독 투여에 의해서는 유의차가 없었으나 두 물질의 복합투여시에는 스트레스 유도 대조군 대비 69.5% 수준으로 감소하여 두 물질의 혼합에 의한 상승효과를 나타내었다. Noradrenalin, corticosterone 및 serotonin의 함량변화에서도 혈장 및 뇌조직의 각각의 특정부위에서 녹차추출물과 테아닌 복합물은 각각 단일물질 보다 더 큰 저해효과를 확인하였다.

스트레스와 관련된 신경전달물질의 변화와 불안/스트레스와의 관계를 살펴보면, 우선 dopamine의 경우 catecholamine 형태의 신경전달물질의 일종으로 뇌신경 세포의 흥분 전달역할을 하며, 주의 집중, 긴장, motivation 상태를 주로 조절한다고 알려져 있고, 과도하게 분비될 경우 정신분열과 같은 질환을 유발하게 되며, 부족하게 될 경우 파킨슨 질병과 같은 운동장애를 유발한다고 알려져 있다. Dopamine system의 경우 스트레스에 대해 민감하게 반응을 하며, 여러 가지 급성 스트레스는 dopamine의 유리를 증가시킨다고 보고되어 있으며,^{7,8)} naphthalene, beta-naphthoflavone 및 benzopyrene과 같은 endotoxin에 의한 스트레스에 급, 만성으로 노출되었을 경우에도 dopamine과 dopamine의 amine metabolites인 3,4-dihydroxyphenylacetic acid(DOPAC) 등이 증가한다고 보고되어 있다.⁹⁾ Noradrenaline 또한, HPA axis system에 의해 스트레스에 적응하기 위하여 부신피질에서 분비되는 신경전달물질로, 교감신경을 활성화시켜 혈압, 심박동수, 호흡수 등 스트레스나 불안감이 생길 경우 생리적으로 나타나는 현상을 조절하는 역할을 한다. Cold stress를 통하여 스트레스 상태를 실험동물에 유도할 경우 norepinephrine 유리를 증가시키고, basolateral amygdala의 neuronal activity를 활성화시킨다고 보고되어 있으며,¹⁰⁾ Saito 등이 발표한 연구에도 급성 cold stress 상태에서 noradrenaline의 분비가 증가하여 medial preoptic area를 조절하여 체온을 유지한다고 알려졌다.¹¹⁾ Serotonin의 경우 간헐적 cold stress를 유도하였을 경우 serotonin의 level이 감소되며, serotonin 결핍이 학습능력과 주의력을 떨어뜨린다는 연구결과가 보고되어 있으며,¹²⁾ 선천적으로 수면시간이 긴 마우스와 짧은 마우스를 이용하여 구속 스트레스(restraint stress)를 유도하여 corticosterone의 level과 ethanol의 안정작용(sedative)이 미치는 영향을 연구한 결과에서도 급성 및 반복 구속 실험에서 corticosterone의 level이 상승한 것을 확인할 수 있었다.¹³⁾ 그리고 현재 임상적으로 흔히 사용되는 항불안 약물인 benzodiazepine류의 약물들을 사용하여 본 실험에서 측정된 신경전달물질들의 level을 측정해 본 연구결과들에 의하면, electric foot shock과 microdialysis를 이용, 뇌내에 CRF를 주입할 경우 비처리군인 대조군에 비하여 norepinephrine이 300% 이상 수치가 상승하였으며, 대표적인 benzodiazepine계통 약물인 chlordiazepoxide를 5mg/kg 복강주사로 처리하였을 경우 상승된 norepinephrine 수치를 유의적으로 감소시키는 것으로 밝혀졌다.¹⁴⁾ 그러나 이러한 약물들은 지나친 안정효과(sedative effect), 근이완,

불면증, 약물의존성등을 초래하므로 이를 극복하기 위해 천연물을 이용한 연구들이 진행되고 있다. Komiya 등은 lemon oil 향을 이용한 anti-stress 효능을 마우스의 serotonin과 dopamine 활성 측정률 통하여 측정한 결과, lemon oil 향이 dopamine의 활성을 억제하며, serotonergic neuron 활성을 증가시켜 항스트레스 효능이 있음을 보였으며,¹⁵⁾ Oh¹⁶⁾ 등은 *Magnolia obovata* 추출물에서 GABA/benzodiazepine receptor가 연관된 항불안 효능을 보고한 바 있다. 이와 같은 연구결과들을 비교할 때 스트레스/불안 유도 시 dopamine, noradrenaline 및 corticosterone의 level이 증가하고, serotonin 의 level 이 감소하는 것을 알 수 있으며, 본 시험 물질이 실제 임상에서 사용되고 있는 약물들과 유사하게 신경전달물질 및 호르몬과 같은 인자들의 변화를 줄여주는 것으로 보아 녹차추출물/테아닌 복합물이 항불안/항스트레스 효능을 보인다고 판단된다.

최근 테아닌의 연구 결과를 살펴보면, 랫드에 microdialysis 로 테아닌을 뇌에 주입한 후 줄무늬체(striatum)에서 dopamine등 신경전달물질의 농도를 측정한 결과 테아닌은 AMDA receptor 조절을 통해 astrocyte 에서 glycine의 유리 유도하므로써 간접적으로 dopamine의 유리를 조절하여 신경 전달과 감정을 완화시켜주는 것으로 밝혀졌다.¹⁷⁾ 그리고 Yokogoshi 등은 같은 방법으로 테아닌을 brain에 injection한 후 monoamine의 농도를 각 brain 영역 별로 측정한 결과 noradrenaline과 dopamine의 농도가 줄무늬체(striatum)에서 약 1.5배 이상 증가하는것으로 나타났으며,¹⁸⁾ 또한 serotonin의 농도도 해마(hippocampus) 및 줄무늬체(striatum), 시상하부(hypothalamus)에서 유의적으로 증가하였다. 테아닌의 주입방법과 용량, 스트레스 부가여부 등 본 실험과 차이점에 따라서 신경전달물질 및 호르몬의 변화양상에도 차이가 있는 것으로 보이나 본 실험에서와 마찬가지로 테아닌이 불안 및 스트레스와 관련된 신경전달물질 및 호르몬을 조절하는 역할을 하는 것에서는 본 실험과 일치한다고 판단된다. 특히 본 연구에서는 녹차추출물과의 병용투여에 의해서 호르몬의 조절작용에 있어서 시너지효과가 나타남을 확인하였는데 이는 녹차추출물내의 테아닌 함량이 불과 1~2% 인것에 비해서 큰 상승효과를 확인하였고 그 원인으로는 녹차추출물내의 카테킨과 같은 기타 항산화물질과 연관될것으로 추측되나 그 기전에 대해서는 후행연구가 필요할것으로 보인다.

본 연구결과는 녹차추출물과 테아닌은 복합물이 불안증 및 스트레스로 인해 생체내에 발현되는 신경전달물질 및 호르몬 조절작용을 통하여 그 유발 원인을 억제시킴으로써 우수한 항불안/항스트레스 기능성 물질로 개발이 가능하리라 판단된다.

감사의 말씀

본 실험은 LG생활건강에서 지원한 연구비로 수행하였으며 이

에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) Charney, D. S. : Neuroanatomical circuits modulating fear and anxiety behaviors. *Acta. Psychiatr. Scand. Suppl.* **417**, 38 (2003).
- 2) Millan, M. J. : The neurobiology and control of anxious states. *Prog. Neurobiol.* **70**, 83 (2003).
- 3) Sugimoto, Y., Furutani, S., Itoh, A., Nakajima, H., Oshiro, H., Sun, S. and Yamada, J. : Effects of extracts and neferine from the embryo of *Nelumbo nucifera* seeds on the central nervous system. *Phytomedicin.* **15**, 1117 (2008).
- 4) Arago, G. E., Carneiro, L. M., Junior, A. P., Vieira, L. C., Bandeira, P. N., Lemos, T. L. and Viana, G. S. : A possible mechanism for anxiolytic and antidepressant effects of alpha- and beta-amyrin from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **85**, 827 (2006).
- 5) L-theanine : monograph, *Alter Med Rev.* **10**, 136 (2005).
- 6) 윤상원 : Sun- α 가 함유된 음료수가 뇌파출현 및 암기력에 미치는 영향에 관한 분석 연구. *한국정신과학회지* **1**, 109 (1997).
- 7) Kalivas, P. W. and Duffy, P. : Selective activation of dopamine transmission in the shell of the nucleus accumbens by stress. *Brain Res.* **675**, 325 (1995).
- 8) Tidey, J. W. and Miczek, K. A. : Social defeat stress selectively alters mesocorticolimbic dopamine release: an *in vivo* microdialysis study. *Brain Res.* **721**, 140 (1996).
- 9) Gesto, M., Soengas, J. L. and Miguez, J. M. : Acute and prolonged stress responses of brain monoaminergic activity and plasma cortisol levels in rainbow trout are modified by PAHs (naphthalene, beta-naphthoflavone and benzo(a)pyrene) treatment. *Aquat. Toxicol.* **86**, 341 (2008).
- 10) Buffalari, D. M. and Grace, A. A. : Chronic cold stress increases excitatory effects of norepinephrine on spontaneous and evoked activity of basolateral amygdala neurons. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **12**, 95 (2009).
- 11) Saito, T., Ishiwata, T., Hasegawa, H., Nomoto, S., Kotani, Y., Otokawa, M. and Aihara, Y. : Effect of chronic cold exposure on noradrenergic modulation in the preoptic area of thermoregulation in freely moving rats. *Life Sci.* **83**, 79 (2008).
- 12) Lapid-blumh, M. D., Soto-pina, A. E., Hensler, J. G. and Morilak, D. A. : Chronic intermittent cold stress and serotonin depletion induce deficits of reversal learning in an attentional set-shifting test in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **202**, 329 (2009).
- 13) Parker, C. C., Ponicsan, H., Spencer, R. L., Holmes, A. and Johnson, T. E. : Restraint stress and exogenous corticosterone differentially alter sensitivity to the sedative-hypnotic effects of ethanol in inbred long-sleep and inbred short-sleep mice.

- Alcohol*. **42**, 477 (2008).
- 14) Swiergiel, A. H., Li, Y., Wei, Z. Y. and Dunn, A. J. : Effects of chlordiazepoxide on footshock- and corticotropin-releasing factor-induced increases in cortical and hypothalamic norepinephrine secretion in rats. *Neurochem. Int.* **52**, 1220 (2008).
 - 15) Komiya, M., Takeuchi, T. and Harada, E. : Lemon oil vapor causes an anti-stress effect via modulating the 5-HT and DA activities in mice. *Behav. Brain Res.* **172**, 240 (2006).
 - 16) Seo, J., Lee, S., Lee, Y., Kwon, B., Ma, Y., Hwang, B., Hong, J. and Oh, K. : Anxiolytic -like effects of obovatol isolated from *Magnolia obovata*:Involvement of GABA/benzodiazepine receptors complex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* **31**, 1363 (2007).
 - 17) Yamada, T., Terashima, T., Okubo, T., Juneja, L. R. and Tokogoshi, H. : Effects of theanine, gamma-glutamylethylamide, on neurotransmitter release and its relationship with glutamic acid neurotransmission. *Nutr. Neurosci.* **8**, 219 (2005).
 - 18) Yokogoshi, H., Kobayashi, M., Mochizuki, M. and Terashima, T. : Effect of theanine, r-glutamylethylamide, on brain monoamines and striatal dopamine release in conscious rats. *Neurochem. Res.* **23**, 667 (1998).