

Effect of Germinated Black Sticky Rice with Giant Embryo on Alcohol Intake in C57BL/6 Mice

Dong-Hun Shin^{1,2}, Sung-Gon Kim^{2,3*}, Hyeon-Kyeong Kim⁴, Sung-Young Huh³ and Won-Tan Byun⁵

¹BlueForest Neuropsychiatry Clinic, Busan 47323, Korea

²Department of Psychiatry, Pusan National University School of Medicine, Yangsan 50612, Korea

³Department of Psychiatry, Pusan National University Yangsan Hospital, Yangsan 50612, Korea

⁴Biomedical Research Institute, Pusan National University Yangsan Hospital, Yangsan 50612, Korea

⁵Department of Psychiatry, Yang San Hospital, Yangsan 50521, Korea

Received December 5, 2019 / Revised February 17, 2020 / Accepted March 16, 2020

Alcohol impacts many central nervous systems, such as dopamine, serotonin, opioids, and gamma-aminobutyric acid (GABA), leading to addiction. Many studies have investigated the relationship between GABA and alcoholism. The purpose of this study was to investigate the effects of GABA high and low rice intake on the alcohol intake behavior of mice. Black sticky rice with giant embryo (BSRGE), black sticky rice (BSR), giant embryo rice (GER), and rice (Rice) were germinated for 48 hr in brown rice. The embryos were then collected and used in the study. The diets were fed to respective C57BL/6 mouse groups ad libitum for 16 days and investigated for 2 hr alcohol intake, 22 hr water intake, 24 hr feed intake, and body weight. As a result of the repeated measure of ANOVA for the daily change of alcohol intake for 2 hr daily between the BSRGE and BSR groups, there was a significant difference in the number of days of intake ($DF = 7, F = 4.812, p = 0.026$). A significant daily decrease in alcohol intake was observed in the BSRGE group compared to the BSR group. This reduction was consistent from Day 10 to Day 16. Alcohol consumption also significantly decreased in the GER group compared to the Rice group. This decrease was observed from Day 12 to Day 16. In conclusion, BSRGE and GER resulted in decreased alcohol intake in C57BL/6 mice compared to BSR and rice. This suggests that BSRGE may prevent relapse in patients with alcohol use disorder.

Key words : Alcohol, BSRGE, GABA

서 론

알코올은 중추신경계의 대뇌보상회로에 작용하여 중독을 유발하는 물질로 알려져 있다. 대뇌보상회로는 dopamine 및 serotonin, opioid, gamma-aminobutyric acid (GABA), glutamate 신경계 등이 관여하며, 만성적인 알코올 섭취는 이러한 신경전달물질계에 변화를 유발한다. 이러한 이유로 중독의 진행 및 재발을 막기 위해서 대뇌보상회로 내의 신경계들의 역할에 대한 연구가 많은 관심을 받고 있다[14, 15, 17, 25]. 이중 GABA는 ligand-gated ion channel complex인 GABA_A 수용체와 G protein-coupled metabotropic 수용체인 GABA_B 수용체에 결합하여 중추성신경계에서 억제성신경전달물질로써 작용한다[29]. 최근에 알코올과 GABA 신경계와의 연관성

에 대해서 많은 생화학적, 전기생리학적, 행동학적 연구의 결과가 있다[14, 26, 35]. 우선 알코올을 급성적으로 섭취하면 중뇌변연경로에서 복측피개영역(VTA)의 GABA계를 억제하여 도파민계와 오피오이드계의 활성도에 영향을 주게 됨으로써 결국 대뇌보상회로의 도파민 뉴런을 자극해서 도파민 분비를 유도하게 한다는 보고가 있다[31]. 이후 만성적으로 알코올을 섭취하면 결국 두뇌의 여러 다양한 영역 내의 GABA 분비의 변화가 발생하고[29, 38], 만성적인 알코올 노출로 인한 GABA계의 조절장애는 음주 중단 이후 금단시기 동안의 과항진이 relief craving을 유발하며[37] 중독 재발의 중요한 요소가 된다고 알려져 있다.

이러한 이론을 근거로 실시된 선행연구를 살펴보면, 우선 동물실험에서 GABA agonist가 알코올 금단 동안의 중추신경계의 과항진성을 줄이는 효과[8, 13]가 있다고 하였으며, 또한 GABA_B agonist인 Baclofen이 알코올 자가 투여 억제 및 강화 행동을 감소시킨다고 하였다[7, 11]. 한편, 임상연구에서는 GABA와 구조적으로 유사한 Acamprosate의 치료 효과가 흥분성 글루타메이트 과활성 억제 및 억제성 GABA 수용체의 활성도 증가의 기전으로 알코올중독 치료제로 승인을 받았으며[10], 또한 GABA_A 활성도 증가 및 glutamatergic transmis-

*Corresponding author

Tel : +82-55-360-2123, Fax : +82-55-360-2153

E-mail : sungkim@pusan.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

sion을 감소시키는 작용기전을 가진 topiramate로 알코올중독 환자를 대상으로 한 이중맹검위약시험에서 투여군에서 위약군보다 금주 일수를 연장한다는 보고[19, 20]와 GABA_B agonist인 Baclofen으로 알코올중독환자를 대상으로 한 이중맹검 위약시험을 한 결과에서 위약군에 비해 투여군의 단주율이 높고 음주갈망을 줄인다[1, 2, 12]고 하였다. 이러한 동물실험 및 임상연구의 결과는 GABA의 활성도가 증가하면 알코올 섭취를 억제하고 있음을 시사하고 있다.

한편, GABA는 자연계에 널리 분포하며[18, 21], 특히 식물에서는 녹차, 맥아, 황기, 팥잎, 쌀의 배아 등에서 검출되어진다고 한다[23, 30]. 그런데, 일반미의 GABA함유량보다 8-10배 많은 GABA 고함유쌀(눈큰흑찰벼)이 개발되었으며, GABA 고함유쌀과 일반미를 각각 생쥐에게 직접 섭취시켜서 알코올 섭취량에 미치는 영향에 대한 연구에서 GABA 고함유쌀을 섭취한 생쥐군에서 일반미를 섭취한 생쥐군에 비해 알코올 섭취가 유의하게 감소하였다고 보고하였다[24]. 결국 자연계에 분포하는 GABA를 섭취하는 경우에도 동물실험에서 알코올 섭취가 억제될 수 있음을 입증하였다. 하지만, 이 연구에서는 GABA가 존재하는 쌀의 배아만의 섭취량을 측정하지 않고 쌀에서 GABA를 함유하지 않은 부분을 포함한 전체 섭취량을 측정하여 정확한 GABA 섭취량이 평가되지 않았다. 또한 생쥐가 어두운 색상을 선호한다는 선행연구[28]가 있음에도 GABA 고함량 흑색미와 GABA 저함량 일반백색미를 비교함으로써 색상의 선호도에 의한 섭취량의 차이를 배제하지 않았다.

따라서 본 연구에서는 GABA 고함유 쌀인 흑찰거대배아미와 같은 흑색이면서 GABA 함유량이 상대적으로 적은 조생흑찰, 그리고 GABA 고함유 쌀인 거대배아미와 같은 백색이면서 GABA 함유량이 상대적으로 적은 일반미를 이용하여 GABA 섭취량을 정량적으로 측정할 수 있도록 사료로 만든 후, 이를 C57BL/6형 생쥐에게 섭취하도록 하였을 때 알코올 섭취량에 변화가 있는지를 검정하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

4주령의 C57BL/6형 수컷 생쥐를 실험재료로 사용하였다. 도착일로부터 7일 동안 한 우리당 5마리씩 사육하였고, 사육 환경은 온도 21±2℃로 하였으며, 조명은 12시간 명암(점등:

22:00, 소등: 10:00)으로 조정하여 실험 기간 동안 일정하게 semi-SPF (specific pathogen free) 상태로 유지하였다. 물과 생쥐용 배합사료는 24시간 동안 자유로이 섭취하게 하였다. 이후 대상 생쥐의 행동학적 알코올 의존화를 위하여 변형된 무한 접근법(limited access procedure)을 이용하였다[16]. 즉, 한 우리 당 대상 생쥐 한 마리씩 사육하면서 일주일 동안(실험 14일까지) 10%(v/v) 알코올(Sigma, St, Louis, MO, USA)만을 사료와 함께 24시간 제공함으로써 알코올 섭취를 강요한 후, 실험 15일부터 35일까지 21일 동안 매일 2시간(오후 2시부터 오후 4시) 동안 10%(v/v) 알코올만 제공함으로써 이때에 알코올을 섭취할 수 있다는 것을 학습시켰고, 나머지 22시간은 물만 제공하였다. 본 연구는 부산대학교 동물실험윤리위원의 승인(PNU-2010-00097)을 얻어 실시하였다.

사료의 제조

현미내 GABA의 함량을 극대화하기 위하여 실험에 이용한 흑찰거대배아미(밀양263호), 조생흑찰, 거대배아미 및 일반미를 현미상태에서 48시간 발아시켜 배아만을 채취하였다. 이들 발아현미배아를 기존의 사료와 혼합하여 사용하였는데, 이들의 혼합비율은 사료의 형태 및 특성을 유지하면서 발아현미배아의 함량이 최대가 되는 비율로서 48시간 발아현미배아의 비율이 70%가 함유되도록 제조하였다. 이들 사료의 제조시 70%의 발아현미배아가 함유된 사료의 GABA 함량은 Table 1에 나타내었다.

알코올, 물 및 사료의 섭취량과 체중의 측정

생쥐의 알코올, 물 및 사료 섭취량은 각각 제공 직전의 무게와 제공한 뒤의 무게를 측정하여 그 차이를 섭취량(0.001 g까지 측정)으로 하였다. 단, 물과 사료의 섭취량은 오후 2시를 기준으로 하여 각각 22시간 물 섭취량과 24시간 사료 섭취량으로 하였다. 이렇게 측정된 섭취량은 다시 생쥐의 체중 1 kg 당으로 환산하였다. 생쥐의 체중은 실험 33일부터 시험 종료일까지 2일 간격으로 측정하였다.

실험 방법 및 사료 투여

흑찰거대배아미, 조생흑찰, 거대배아미 및 일반미의 발아현미배아로 조제한 사료의 투여는 실험 39일부터 55일까지 16일간 자유섭취를 원칙으로 시행하였으며, 이를 위해 사료의 투

Table 1. Amount of GABA contents

	Brown rice (mg/g)	Germinated brown rice (48hr, mg/g)	Feed including of 70% germinated brown rice (mg/g)	GABA content in daily feed intake (7g/day, mg//kg)
BSRGE	0.34	0.88	0.616	143
BSR	0.05	0.55	0.385	89
GER	0.22	0.87	0.609	141
Rice	0.04	0.44	0.308	71

BSRGE; black sticky rice giant embryo, BSR : black sticky rice, GER; giant embryo rice

여 첫날인 실험 39일 오전에 40마리의 생쥐를 무작위로 흑찰 거대배아미균(BSRGE), 조생흑찰균(BSR)과 거대배아미균(GER) 및 일반미균(Rice)으로 구분하여 각 군당 10마리씩 대상 사료를 투여하였다. 사료섭취는 군에 관계없이 자유섭취를 원칙으로 24시간 제공하였으며, 섭취 사료량의 측정은 알코올 투여 30분전인 오후 1시 30분에 측정하였다. 그리고 오후 2시부터 4시 사이의 2시간 동안 물 제공 없이 10% 알코올만 제공하였다.

알코올 섭취량의 일간 변화가 연구 결과에 미치는 영향을 최소화하기 위하여 사료 투여 전 2일간(실험 37일과 38일)의 알코올 섭취량의 일일평균을 측정하여 사료 섭취 시작 전의 일일 2시간 알코올 섭취량의 기저치(base)로 하였다. 물 섭취량의 변화도 알코올 섭취량의 변화와 마찬가지로 사료 투여 전 2일간의 물(22시간) 섭취량의 일일 평균을 사료 투여 전의 물의 섭취량의 기저치(base)로 하였으며, 16일간의 사료 투여 기간에 대해서는 각 2일간의 알코올, 물 및 사료의 섭취량의 평균을 일일 알코올, 물 및 사료의 섭취량으로 하였다.

통계 처리

BSRGE과 BSR, 그리고, GER과 Rice 간의 알코올, 물, 사료 섭취량의 변화 및 체중의 일일변화에 대해서는 repeated measure ANOVA를 각각 이용하였으며, 사후 검정으로 각 군 간의 평균의 비교 분석은 independent t-test를 이용하여 검정하였다. 각 사료 투여군내 일별 비교시에는 paired t-test를 이용하였다. 통계처리는 윈도우용 사회과학 통계 프로그램인 SPSS (ver. 18)를 이용하였으며, 유의수준은 0.05 미만으로 양측 검정하였다.

결 과

BSRGE와 BSR 간에 2시간 알코올 섭취량의 일변화에 대해 repeated measure ANOVA를 실시하였을 때에 섭취일수(시간)에 따라서는 유의한 차이가 나타났으나(df=7, F=4.812, p=0.026), 교차에 의한 유의성은 관찰되지 않았다(df=7, F=2.643, ns) (Table 2, Fig. 1). GER과 Rice 간에 2시간 알코올 섭취량의 일변화에 대해 repeated measure ANOVA를 실시하였을 때, 유의한 교차가 나타나지 않았다(df=7, F=1.066, ns).

사후검정으로 BSRGE와 BSR 양군을 비교하였을 때, BSR에

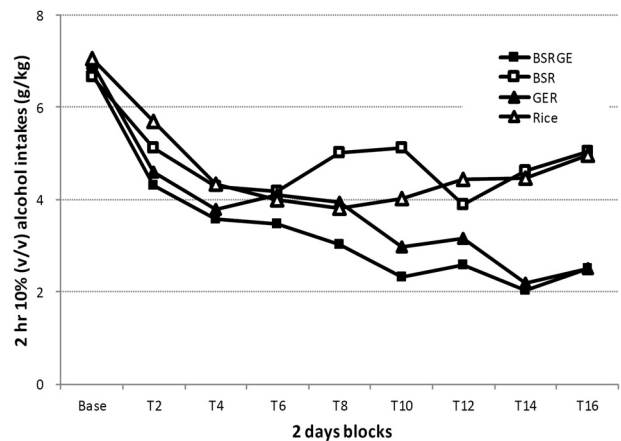


Fig. 1. Two hr 10% (v/v) alcohol intake in C57BL/6 mice before and after feeding with rice (g/kg). Values are mean ± SD. BSRGE; black sticky rice giant embryo, BSR : black sticky rice, GER; giant embryo rice, Base; mean of three days just before starting feed intake, T2-T16 : mean of 2 days.

비하여 BSRGE에서 2시간 알코올 섭취량이 유의하게 감소하였으며, 이러한 감소효과는 섭취 10일째부터 16일째까지 지속적으로 나타났다(10일째, df=14, t=3.18, p=0.012; 12일째, df=14, t=3.39, p=0.004; 14일째, df=14, t=5.11, p=0.001; 16일째, df=14, t=6.79, p<0.001). GER과 Rice 양군을 비교하였을 때 Rice에 비하여 GER에서 2시간 알코올 섭취량이 유의하게 감소하였으며, 이러한 감소효과는 섭취 12일째부터 16일째까지 지속적으로 나타났다(12일째, df=14, t=2.61, p=0.021; 14일째, df=14, t=4.24, p=0.001; 16일째, df=14, t=2.81, p=0.023).

한편, BSRGE, BSR, GER 및 Rice의 4군에서 각 군내 비교를 하였을 때, BSRGE의 경우는 일별 2시간 알코올 섭취량이 사료 섭취 전에 비하여 섭취 후 2일째부터 16일째까지 지속적으로 유의하게 감소하였다(2일째 df=7, t=2.42, p=0.046 4일째 df=7, t=3.51, p=0.01; 6일째 df=7, t=3.84, p=0.006; 8일째 df=7, t=3.96, p=0.005; 10일째 df=7, t=4.10, p=0.005; 12일째 df=7, t=3.23, p=0.014; 14일째 df=7, t=3.78, p=0.007; 16일째 df=7, t=3.24, p=0.014). BSR의 경우 일별 2시간 알코올 섭취량이 섭취 후 2일째부터 6일째까지 유의하게 감소하였으나(2일째 df=7, t=2.66, p=0.033; 4일째 df=7, t=3.45, p=0.011; 6일째 df=7, t=2.66,

Table 2. Two hr 10% (v/v) alcohol intake in C57BL/6 mice before and after feeding with rice (g/kg)

	Base	T2	T4	T6	T8	T10	T12	T14	T16
Rice	7.05±4.8	5.71±5.3	4.32±3.1	4.00±3.5	3.82±2.5	4.01±1.9	4.44±0.7	4.46±1.4	4.98±2.4
GER	6.94±3.6	4.58±2.6	3.77±1.2	4.09±1.7	3.95±2.2	2.96±1.0	3.16±1.2 ^s	2.20±0.6 [§]	2.15±0.6 ^s
BSR	6.65±3.7	5.12±4.5	4.27±2.6	4.18±2.2	5.02±3.0	5.12±2.4	3.90±0.9	4.62±1.3	5.03±1.0
BSRGE	6.75±3.5	4.30±2.5	3.59±1.8	3.47±1.9	3.01±1.3	2.31±0.7 ^s	2.58±0.7 [§]	2.04±0.5 [§]	2.51±0.3 [§]

Values are mean ± SD. BSRGE; black sticky rice giant embryo, BSR : black sticky rice, GER; giant embryo rice, Base : mean of three days just before starting feed intake, T2-T16 : mean of 2 days, s: p<0.05, §: p<0.01 independent t-test between rice and GER or between BSR and BSRGE.

$p=0.033$), 섭취 8일째 이후부터는 알코올 섭취량에 유의한 차이가 없었다. GER의 경우는 일별 2시간 알코올 섭취량이 사료 섭취 후 4일째부터 16일째까지 유의하게 감소하였다(4일째 $df=7$, $t=2.70$, $p=0.031$; 6일째 $df=7$, $t=2.67$, $p=0.032$; 8일째 $df=7$, $t=2.44$, $p=0.045$; 10일째 $df=7$, $t=3.11$, $p=0.017$; 12일째 $df=7$, $t=3.07$, $p=0.018$; 14일째 $df=7$, $t=3.84$, $p=0.006$; 16일째 $df=7$, $t=3.84$, $p=0.006$). Rice의 경우 일별 2시간 알코올 섭취량이 사료 섭취 전에 비하여 섭취 후 4일째부터 8일째까지 유의하게 감소하였으나(4일째 $df=7$, $t=2.65$, $p=0.033$; 6일째 $df=7$, $t=2.54$, $p=0.039$; 8일째 $df=7$, $t=2.49$, $p=0.042$), 섭취 10일째 이후부터는 일별 2시간 알코올 섭취량에 유의한 차이가 없었다.

한편, BSRGE, BSR, GER 및 Rice의 4군 간에 22시간 물 섭취량의 일변화에 대해 repeated measure ANOVA를 실시하였을 때, 유의한 교차가 나타나지 않았으며($df=69$, $F=1.095$, ns), BSRGE과 BSR ($df=7$, $F=2.045$, ns) 및 GER과 Rice ($df=7$, $F=0.971$, ns)의 각각의 2처리군 간에 22시간 물 섭취량의 일변화에 대해 repeated measure ANOVA를 실시하였을 때에도 유의한 교차가 나타나지 않았다(Fig. 2).

그리고, 사료 섭취량의 일변화에 대해 repeated measure ANOVA를 실시하였을 때, 유의한 교차가 나타나지 않았으며($df=69$, $F=0.845$, ns), BSRGE과 BSR ($df=7$, $F=1.373$, ns) 및 GER과 Rice ($df=7$, $F=2.491$, ns)의 각각의 2처리군 간의 사료 섭취량의 일변화에 대해 repeated measure ANOVA를 실시하였을 때, 유의한 교차가 나타나지 않았다(Fig. 3).

또한, 체중의 변화에 대해 repeated measure ANOVA를 실시하였을 때에 유의한 교차가 나타나지 않았으며($df=69$, $F=0.825$, ns), BSRGE과 BSR ($df=7$, $F=1.176$, ns) 및 GER과 Rice ($df=7$, $F=1.122$, ns)의 각각의 2처리군 간에 체중의 변화에 대해 repeated measure ANOVA를 실시하였을 때에도 유의한

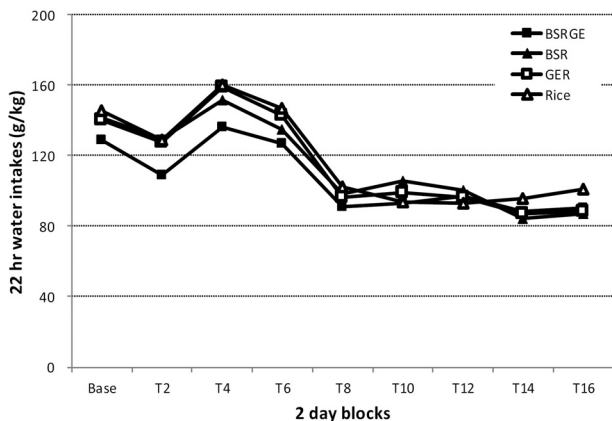


Fig. 2. Twenty two hr water intake in C57BL/6 mice before and after feeding with rice (g/kg). Values are mean \pm SD. BSRGE; black sticky rice giant embryo, BSR : black sticky rice, GER; giant embryo rice, Base; mean of three days just before starting feed intake, T2-T16 : mean of 2 days.

교차가 나타나지 않았다(Fig. 4).

고찰

본 연구의 결과로서 GABA 고함유 흑찰거대배아미의 발아현미배아로 조제한 사료(BSRGE)를 섭취한 경우가 GABA 함유량이 적은 조생흑찰미의 발아현미배아로 조제한 사료(BSR)를 섭취한 경우에 비하여 흑찰거대배아미 발아현미배아조제 사료 섭취 10일째부터 알코올 섭취량이 유의하게 감소하였으며, GABA 고함유 거대배아미의 발아현미배아로 조제한 사료를 섭취한 경우가 GABA 함유량이 적은 일반미의 발아현미배아로 조제한 사료를 섭취하였을 경우에 비하여 거대배아미 발아현미배아조제사료 섭취 12일째부터 알코올 섭취량이 유

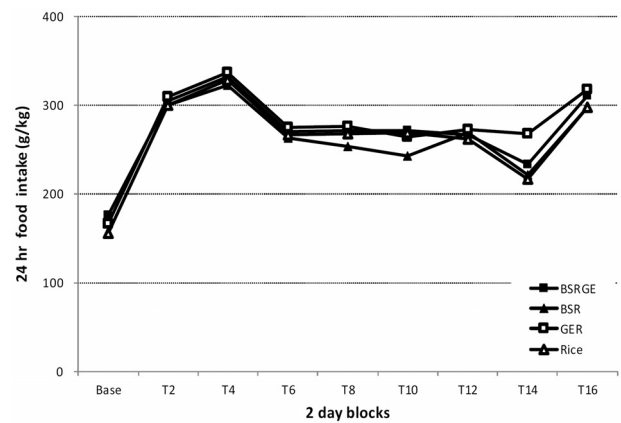


Fig. 3. Food intake in C57BL/6 mice before and after feeding with rice (g). Values are mean \pm SD. BSRGE; black sticky rice giant embryo, BSR : black sticky rice, GER; giant embryo rice, Base; mean of three days just before starting feed intake, T2-T16 : mean of 2 days.

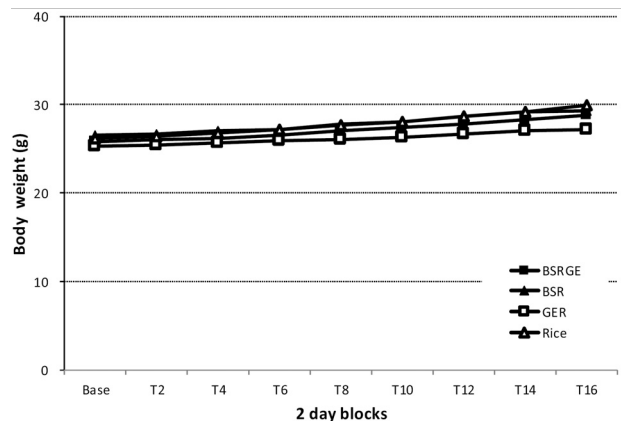


Fig. 4. Body weight in C57BL/6 mice before and after feeding with rice (g). Values are mean \pm SD. BSRGE; black sticky rice giant embryo, BSR : black sticky rice, GER; giant embryo rice, Base; mean of three days just before starting feed intake, T2-T16 : mean of 2 days.

의하게 감소하였다. 그러나, 물과 사료의 섭취량에는 BSRGE 과 BSR, GER과 Rice 각각의 2처리군간의 차이가 없었으며, 또한 체중 변화에도 영향이 없었다.

한편, GABA 고함유 흑찰거대배아미와 GABA 함유량이 적은 일반미를 각각 자유섭취하게 한 후 알코올 섭취에 끼친 영향을 조사한 연구에서 GABA 고함유 흑찰거대배아미 섭취군에서 2시간 알코올 섭취량이 섭취 2일째부터 감소하였다고 보고하였으며, 이러한 동물실험 결과로 흑찰거대배아미에는 알코올 섭취를 억제하는 물질이 함유되어 있는데, 이것은 일반미와의 성분을 비교했을 때 흑찰거대배아미에 많이 함유되어 있는 GABA 등에 의한 것으로 추정하였다[24]. 본 연구에서는 흑찰거대배아미와 조생흑찰, 거대배아미와 일반미 사이에는 일반적인 성분의 차이는 거의 나타나지 않았으나, 가장 많은 함량적 차이가 나는 유용한 성분이 GABA이었으며, 발아현미배아의 경우 GABA 함량이 2배 정도 차이가 나는 것으로 나타났다. 따라서 본 실험에 사용된 GABA 고함유 흑찰거대배아미(눈큰흑찰벼)와 GABA 함유량이 상대적으로 적은 조생흑찰, GABA 고함유 거대배아미와 GABA 함유량이 상대적으로 적은 일반미의 발아배아로 조제한 사료 섭취에 따른 실험 동물의 알코올 섭취량의 감소 차이는 이들 발아현미배아의 유효 성분 중 함량의 차이가 가장 많이 나는 GABA의 용량 의존적인 결과로 추정된다.

한편, 생쥐가 섭취 행동을 결정하는데 사료의 색상이 끼치는 영향[28]을 고려해서 사료의 색깔을 흑색과 백색의 두 종류로 하였으나 4군 간의 사료 섭취량의 유의미한 차이는 없었다. 즉, 색상의 선호도로 인한 사료의 섭취량의 차이가 없다는 것은 각 군의 GABA 섭취량의 차이는 사료의 GABA 함유량의 차이와 상관관계가 있고, 결국 GABA 함유량의 차이가 나는 사료의 섭취가 알코올 섭취 행동에 영향을 주었다고 판단이 된다.

그리고 초기의 동물실험에서는 뇌 외부에서 투여된 GABA는 Blood-brain Barrier (BBB)를 투과하지 못한다는 주장이 있었다[36]. 그러나 이후의 동물실험에서는 직접 투여한 GABA가 BBB를 통과하는 보고[27]도 있었으며 이는 실험에서 사용된 GABA의 생화학적 구조의 차이, GABA 투여방법의 차이, 실험동물의 종류의 다양성 등의 차이로 기인된 것으로 사료되어진다. 또한 BBB에서 GABA 이동체가 확인되었는데[34], 이는 GABA가 축진이동으로 뇌에서 출입이 가능하다는 것을 지지하며, Kakee 등[22]은 생쥐에서 GABA의 뇌 수입 비율보다 수출 비율이 17배 높다고 보고하였는데, 이는 GABA의 BBB 투과 실험에서의 결과 해석에 영향을 줄 수 있는 요소라고 생각이 된다. 다른 연구에서는 생쥐에 GABA 투여 자체가 뇌 GABA를 33% 증가시키지만, L-arginine과 GABA를 함께 투여했을 때는 뇌 GABA가 383.3% 증가했다고 보고[32, 33]하며, 이는 L-arginine-mediated nitric oxide가 BBB 투과율을 높이는 것으로 추정하고 있다.

한편, 본 실험에서 사용된 발아현미배아의 성분이 모두 분석이 되지 않은 상황에서는 GABA외의 물질이 포함되어 GABA의 BBB 투과성을 증가시킨 가능성도 배제할 수 없다. 그리고 투여된 GABA가 중추신경계에 영향을 미치는 과정이 BBB의 직접적인 통과가 아닌 간접적인 과정을 생각할 수 있는데, 이는 enteric nervous system이 vagus nerve를 통해 중추신경계에 영향을 준다고 하였다[3, 4, 9]. Bravo 등[6]은 동물실험에서 GABA를 생성한다고 알려진 *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1)을 복용한 생쥐에서 대조군에 비해 덜 불안해하고 stress로 증가된 corticosterone이 감소되었으며, 이러한 효과가 vagotomy 이후 나타나지 않았다고 보고하였다. 또한 Ben-Menachem 등[5]은 인체에서 transcutaneous Vagus Nerve Stimulation (tVNS)으로 미주신경을 자극하면 뇌척수액에서 free GABA가 증가하였다고 보고하였다. 결국 이러한 연구 결과는 GABA가 장신경계의 수용체에 결합하여 미주신경을 자극하고, 이로 인해 간접적으로 중추신경계의 GABA계를 향진시킨다는 것을 시사하였다.

본 연구 결과의 중요한 의미로는 GABA 고함유 쌀에서 GABA 함량을 더 증가시킨 발아현미배아의 섭취가 알코올 섭취량에 영향을 줄 수 있다는 가능성을 시사하고 있다는 것이다. GABA계를 증강시키는 약물 혹은 GABA 수용체 효현제가 알코올 의존 환자의 재발 예방에 유용하다는 이전의 연구로 비추어볼 때, 흑찰거대배아미와 조생흑찰미, 거대배아미와 일반미의 발아현미배아 조제사료의 섭취에 따른 실험 동물의 알코올 섭취량의 감소 차이의 결과는 결국 이러한 알코올 중독 치료 약물 개발에 대한 새로운 가능성을 시사하고 있다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ90701703 2012)의 지원에 의해 이루어진 것임.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Addolorato, G., Caputo, F., Capristo, E., Colombo, G., Gessa, G. L. and Gasbarrini, G. 2000. Ability of baclofen in reducing alcohol craving and intake: II--Preliminary clinical evidence. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **24**, 67-71.
2. Addolorato, G., Caputo, F., Capristo, E., Domenicali, M., Bernardi, M., Janiri, L., Agabio, R., Colombo, G., Gessa, G. L. and Gasbarrini, G. 2002. Baclofen efficacy in reducing alcohol craving and intake: a preliminary double-blind randomized controlled study. *Alcohol Alcohol.* **37**, 504-508.

3. Auteri, M., Zizzo, M. G. and Serio, R. 2015. GABA and GABA receptors in the gastrointestinal tract: from motility to inflammation. *Pharmacol. Res.* **93**, 11-21.
4. Barrett, E., Ross, R. P., O'Toole, P. W., Fitzgerald, G. F. and Stanton, C. 2012. γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J. Appl. Microbiol.* **113**, 411-417.
5. Ben-Menachem, E., Hamberger, A., Hedner, T., Hammond, E. J., Uthman, B. M., Slater, J., Treig, T., Stefan, H., Ramsay, R. E., Wernicke, J. F. and Wilder, B. J. 1995. Effects of vagus nerve stimulation on amino acids and other metabolites in the CSF of patients with partial seizures. *Epilepsy Res.* **20**, 221-227.
6. Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., Bienenstock, J. and Cryan, J. F. 2011. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **108**, 16050-16055.
7. Chester, J. A. and Cunningham, C. L. 1999. Baclofen alters ethanol-stimulated activity but not conditioned place preference or taste aversion in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **63**, 325-331.
8. Cooper, B. R., Viik, K., Ferris, R. M. and White, H. L. 1979. Antagonism of the enhanced susceptibility to audiogenic seizures during alcohol withdrawal in the rat by gamma-aminobutyric acid (GABA) and "GABA-mimetic" agents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **209**, 396-403.
9. Cryan, J. F. and O'Mahony, S. M. 2011. The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behavior. *Neurogastroenterol. Motil.* **23**, 187-192.
10. Dahchour, A. and De Witte, P. 2000. Ethanol and amino acids in the central nervous system: assessment of the pharmacological actions of acamprosate. *Prog. Neurobiol.* **60**, 343-362.
11. Daoust, M., Saligaut, C., Lhuintre, J. P., Moore, N., Flipo, J. L. and Boismare, F. 1987. GABA transmission, but not benzodiazepine receptor stimulation, modulates ethanol intake by rats. *Alcohol* **4**, 469-472.
12. Flannery, B. A., Garbutt, J. C., Cody, M. W., Renn, W., Grace, K., Osborne, M., Crosby, K., Morreale, M. and Trivette, A. 2004. Baclofen for alcohol dependence: a preliminary open-label study. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **28**, 1517-1523.
13. Frey, H. H. and Loscher, W. 1980. Cetyl GABA: effect on convulsant thresholds in mice and acute toxicity. *Neuropharmacology* **19**, 217-220.
14. Gilpin, N. W. and Koob, G. F. 2008. Neurobiology of alcohol dependence: focus on motivational mechanisms. *Alcohol Res. Health* **31**, 185-195.
15. Harris, R. A., Brodie, M. S. and Dunwiddie, T. V. 1992. Possible substrates of ethanol reinforcement: GABA and dopamine. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **654**, 61-69.
16. Heyser, C. J., Roberts, A. J., Schulteis, G. and Koob, G. F. 1999. Central administration of an opiate antagonist decreases oral ethanol self-administration in rats. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **23**, 1468-1476.
17. Hoffman, P. L. and Tabakoff, B. 1996. Alcohol dependence: a commentary on mechanisms. *Alcohol Alcohol.* **31**, 333-340.
18. Jeon, G. U., Lee, M. Y., Yoon, J. M., Jang, S. H., Jung, M. R., Jeong, H. S. and Lee, J. S. 2010. Effects of heat treatment and selected medicinal plant extracts on GABA content after germination. *J. Kor. Soc. Food. Sci. Nutr.* **39**, 154-158.
19. Johnson, B. A., Ait-Daoud, N., Bowden, C. L., DiClemente, C. C., Roache, J. D., Lawson, K., Javors, M. A. and Ma, J. Z. 2003. Oral topiramate for treatment of alcohol dependence: a randomised controlled trial. *Lancet* **361**, 1677-1685.
20. Johnson, B. A., Rosenthal, N., Capece, J. A., Wiegand, F., Mao, L., Beyers, K., McKay, A., Ait-Daoud, N., Anton, R. F., Ciraulo, D. A., Kranzler, H. R., Mann, K., O'Malley, S. S. and Swift, R. M. 2007. Topiramate for treating alcohol dependence: a randomized controlled trial. *JAMA.* **298**, 1641-1651.
21. Jung, I. S., Kim, Y. J., Choi, I. S., Choi, E. Y., Shin, S. H., Gal, S. W. and Choi, Y. J. 2007. Studies on antioxidant activity and inhibition of nitric oxide synthesis of germinated brown rice soaked in mycelial culture broth of *Phellinus linteus*. *J. Life Sci.* **17**, 1141-1146.
22. Kakee, A., Takanaga, H., Terasaki, T., Naito, M., Tsuruo, T. and Sugiyama, Y. 2001. Efflux of a suppressive neurotransmitter, GABA, across the blood-brain barrier. *J. Neurochem.* **79**, 110-118.
23. Kim, H. J., Kim, H. J., Jun, B. S., Cha, J. Y., Kim, H. K. and Cho, Y. S. 2001. Analysis of γ -aminobutyric acid concentrations in Korean plants and mushrooms. *J. Life Sci.* **11**, 537-542.
24. Kim, H. K., Kim, S. G., Lee, J. S., Lee, S. S., Jung, W. Y., Han, S. I. and Kim, B. J. 2013. Effect of feeding with high γ -aminobutyric acid (GABA) containing giant embryo black sticky rice (*Oryza sativa* L.) on alcohol intake in C57BL/6 mice. *J. Life Sci.* **23**, 698-702.
25. Koob, G. F., Roberts, A. J., Schulteis, G., Parsons, L. H., Heyser, C. J., Hyytiä, P., Merlo-Pich, E. and Weiss, F. 1998. Neurocircuitry targets in ethanol reward and dependence. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **22**, 3-9.
26. Korpi, E. R. 1994. Role of GABA receptors in the actions of alcohol and in alcoholism: recent advances. *Alcohol Alcohol.* **29**, 115-129.
27. Loscher, W. and Frey, H. H. 1982. Transport of GABA at the blood-CSF interface. *J. Neurochem.* **38**, 1072-1079.
28. Lottes, O. C., Kiszonas, A. M., Fuerst, E. P. and Morris, C. F. 2016. Wheat grain consumption and selection by inbred and outbred strains of mice. *Physiol. Behav.* **165**, 154-158.
29. Lovinger, D. M. 2008. Communication networks in the brain: neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. *Alcohol Res. Health* **31**, 196-214.
30. Ramputh, A. I. and Bown, A. W. 1996. Rapid [gamma]-aminobutyric acid synthesis and the inhibition of the growth and development of oblique-banded leaf-roller larvae. *Plant Physiol.* **111**, 1349-1352.
31. Ross, S. and Peselow, E. 2009. Pharmacotherapy of addictive disorders. *Clin. Neuropharmacol.* **32**, 277-289.
32. Shukla, A., Dikshit, M. and Srimal, R. C. 1996. Nitric oxide-dependent blood-brain barrier permeability alteration in

- the rat brain. *Experientia* **52**, 136-140.
33. Shyamaladevi, N., Jayakumar, A. R., Sujatha, R. and Paul, V. 2002. Subramanian EH. Evidence that nitric oxide production increases gamma-amino butyric acid permeability of blood-brain barrier. *Brain Res. Bull.* **57**, 231-236.
 34. Takanaga, H., Ohtsuki, S., Hosoya, Ki. and Terasaki, T. 2001. GAT2/BGT-1 as a system responsible for the transport of gamma-aminobutyric acid at the mouse blood-brain barrier. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **21**, 1232-1239.
 35. Ticku, M. K. 1990. Alcohol and GABA-benzodiazepine receptor function. *Ann. Med.* **22**, 241-246.
 36. Van Gelder, N. M. and Elliott, K. A. 1958. Disposition of g-aminobutyric acid administered to mammals. *J. Neurochem.* **3**, 139-143.
 37. Verheul, R., van den Brink, W. and Geerlings, P. 1999. A three-pathway psychobiological model of craving for alcohol. *Alcohol Alcohol.* **34**, 197-222.
 38. Weiner, J. L. and Valenzuela, C. F. 2006. Ethanol modulation of GABAergic transmission: the view from the slice. *Pharmacol. Ther.* **111**, 533-554.

초록 : 흑찰거대배아미 발아현미배아의 섭취가 C57BL/6 생쥐의 알코올 섭취에 미치는 영향

신동훈^{1,2} · 김성곤^{2,3*} · 김현경⁴ · 허성영³ · 변원탄⁵

(¹푸른숲정신건강의학과의원, ²부산대학교 의과대학, ³양산부산대학교병원 정신건강의학과, ⁴양산부산대학교병원 의생명융합연구소, ⁵양산병원)

알코올 중독과 GABA계와의 관련성에 대한 많은 연구가 있으며, 중추신경계의 GABA계를 항진시키면 알코올 중독의 재발을 억제한다는 보고가 있다. 이에 GABA 고함유쌀과 저함유쌀의 섭취가 생쥐의 알코올 섭취 행동에 미치는 영향을 조사하고자 한다. 흑찰거대배아미(BSRGE), 조생흑찰벼(BSR)와 거대배아미(GER) 및 일반미(Rice)를 각각 현미상태에서 48시간 발아시켜 배아만을 채취하여 발아현미배아의 비율이 70%가 함유되도록 기존의 사료에 혼합하여 사료화한 후 C57BL/6 생쥐에게 16일 동안 자유 섭취시키면서 2시간 알코올 섭취량, 22시간 물 섭취량, 24시간 사료섭취량 및 체중의 변화를 조사하였다. 흑찰거대배아미군과 조생흑찰군 간에 일별 2시간 알코올 섭취량의 일변화에 대해 repeated measure ANOVA를 실시하였을 때에 섭취일수(시간)에 따라서는 유의한 차이가 나타났다(df=7, F=4.812, p=0.026). 일별 2시간 알코올 섭취량의 일변화에 대해 양군을 비교하였을 때, BSR에 비하여 BSRGE에서 2시간 알코올 섭취량이 유의하게 감소하였으며, 이러한 감소효과는 섭취 10일째부터 16일째까지 지속적으로 나타났다(10일째, df=14, t=3.18, p=0.012; 12일째, df=14, t=3.39, p=0.004; 14일째, df=14, t=5.11, p=0.001; 16일째, df=14, t=6.79, p<0.001). GER과 Rice 양군을 비교하였을 때 Rice에 비하여 GER에서 2시간 알코올 섭취량이 유의하게 감소하였으며, 이러한 감소효과는 섭취 12일째부터 16일째까지 지속적으로 나타났다(12일째, df=14, t=2.61, p=0.021; 14일째, df=14, t=4.24, p=0.001; 16일째, df=14, t=2.81, p=0.023). GABA 고함유쌀인 BSRGE과 GER을 첨가한 사료를 섭취한 경우 GABA 저함유쌀인 BSR과 Rice를 첨가한 사료를 섭취한 것에 비해 C57BL/6 생쥐의 알코올 섭취량이 억제되었다. 이는 GABA 고함유쌀인 흑찰거대배아미가 알코올 사용 장애 환자의 재발 방지에 시도될 수 있음을 시사하고 있다.