

트립토판 보강식이를 섭취한 마우스에서 serotonin 대사와 morphine 진통기작 관련성에 대한 연구(I)

권영혜 · 이운욱* · 김해리

서울대학교 생활과학대학 식품영양학과, *연세대학교 생활과학대학 식품영양연구소*

A Study on the Serotonin Metabolism and the Morphine-related Analgesic Mechanism in Mice Fed Tryptophan Supplemented Diet (I)

Young-Hye KWON, Youn-Wook LEE* and Harriet Kim

Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Seoul National University

*Research Institute of Food and Nutritional sciences, College of Human Ecology, Yonsei University

(Received December 8, 2000; accepted December 13, 2000)

Abstract – In this study we fed control diet and tryptophan supplemented diets containing 0.1, 0.2, 0.35% tryptophan to ICR mice for 1~3 weeks to investigate the effects of tryptophan supplemented diet on pain sensitivity and the analgesic mechanism of serotonin. Animals fed tryptophan supplemented diets displayed increased antinociception when measured with hot plate and phenylquinone-writhing tests. And animals with tryptophan supplemented diet had higher brain serotonin and 5-HIAA concentration than the control animals.

Key words □ Tryptophan, serotonin, pain sensitivity, analgesic mechanism, 5-HIAA

서 론

영양소란 대부분의 경우 신체가 필요로 하는 열량을 공급하거나 신체의 구성물질로 쓰이는 식품 성분이며, 약품은 특정 기관이나 세포에 영향을 주는 물질이다. 또한 모든 건강한 사람이 필수적으로 같은 영양소를 필요로 하는 반면, 약품은 일반적으로 특정 질병 또는 신체적 조건 하에 있는 사람에게 권장된다. 그러나, 순수한 형태로 복용되거나, 식품의 구성 성분으로서 섭취될 때 약품과 같이 작용할 수 있는 영양소가 있다(Wurtman *et al.*, 1976).

L-Tryptophan은 필수 아미노산으로서의 기능 뿐 만 아니라, 중추신경계에서 monoamine계 신경전달물질인 serotonin (5-hydroxytryptamine : 5HT)의 전구체로서도 중요하다. Serotonin은 잠, 식욕조절(appetite), 체온조절(thermoregulation), 통증민감도(pain sensitivity), 뇌하수체 호르몬 분비 조절 등 여러 다양한 행동 변화에 관여함이 알려져 있다(Sidransky, 1985).

Serotonin과 같은 신경전달물질의 뇌에서의 합성 속도는 부분적으로 'open-loop' 조절계에 의존한다(Wurtman *et al.*, 1976). 즉, 합성은 식이에 의해 유도된 그들 전구체의

혈장내 농도에 따라 증가하거나 감소하게 된다. 이러한 관제는 뇌에 영양 상태를 감지할 수 있는 화학적 'window'를 제공한다. 뇌에서의 serotonin의 합성은 순환하는 tryptophan의 봉선(raphe) 뉴우런으로의 유입으로부터 시작되며, serotonin으로 전환 가능한 tryptophan의 양은 혈장에서의 다음의 두 가지 인자로부터 추정이 가능하다.

첫 번째는 tryptophan의 총 농도(유리형 + albumin결합형)이고, 두 번째는 blood-brain barrier에 위치하는 공통 유입계에 대해 tryptophan과 경쟁하는 다른 중성 아미노산의 총 농도이다.

뇌의 tryptophan 수준을 증가시키는 처리 후의 뇌에서의 serotonin 농도의 증가는 합성의 증가와 함께, monoamine의 분비와 대사의 증가를 의미할 수 있다. 이러한 사실은 serotonin의 주요 대사물질인 5-HIAA(5-hydroxyindoleacetic acid)의 평행적 증가에 의해 예견될 수 있다. 뇌의 세로토닌성 뉴우런(serotonergic neuron)은 음식 섭취나 호르몬의 분비에 대응하여 변화하는 혈장에서의 비율에 따라 신경전달물질의 합성을 조절할 수 있다.

이와 같이, 뇌의 tryptophan 수준을 증가시키는 생리적 그리고 약리적 처치는 serotonin의 합성을 증가시키며(Ternaux *et al.*, 1976; Guan and MaBride, 1987), serotonin에 의한 신경 전달을 촉진시킨다. 따라서, 뇌의 tryptophan 수준을 변

*To whom correspondence should be addressed.

화시키는 처방은 행동을 변화시킬 수 있다(Goowin et al., 1990)고 보고되었다. 실험적으로 유도된 뇌의 serotonin 수준의 감소는 통증민감도의 증가(Harvey et al., 1975; Lytle et al., 1975), 운동성의 증가(Jacobs et al., 1975; Marsden and Curzon, 1976), 군집성(aggression) (Kamtak et al., 1979; Vhamberlain et al., 1987)을 일으키며, 이러한 행동적 변화는 아미노산의 투여에 의해(Lytle et al., 1975; Marsden and Curzon, 1976) 그리고 식이 조절에 의해서(Lytle et al., 1975; Kantak et al., 1981; Kozell et al., 1987) 뇌의 tryptophan 수준이 증가하게 되면 반전됨이 관찰되었다.

1957년 Brondic와 Shore가 중추신경계에서 세로토닌성 뉴우런이 다양한 자극에 대한 동물의 반응을 억제하는 역할을 한다는 가설을 제안한 이래, 세로토닌성 뉴우런의 활성의 증가는 무통각(analgesia)을 일으킨다는 사실이 제시되었다. Serotonin의 진통작용은 상행선 세로토닌성 뉴우런과 하행성 세로토닌성 뉴우런이 수반됨이 알려져 있다. 특히 통증 지각의 조절에 있어서 연수망상체(medullary reticular formation)의 거대 봉선핵(raphe magnus nucleus)이 흥분되면, 세로토닌성 섬유가 척수의 후외측삭(dorsolateral funiculus)으로 하강해 교양질(substantia gelatinosa)에 종착되어 여기서 엔케팔린성 억제성 개재뉴우런(enkephalinergic inhibitory interneurons)을 활성화해서 통증 전달에 관여하는 substance P 함유 구심성 감각신경(primary afferent neuron)을 억압함으로써 진통효과를 나타낸다는 보고가 있다(Basbaum and Fields, 1978; 1984; ribot et al., 1984).

뇌 속에서 serotonin 세포체들은 주로 중뇌(midbrain), 뇌교(pons), 연수(medulla)의 봉선핵과 망상체(reticular system)에 대다수 존재하며(Anden et al., 1966; Bjorklund et al., 1972), 특히 봉선핵 뉴우런에서는 substance P, enkephalins, cholecystokinin, thyrophin-releasing hormone, γ -aminobutyric acid 등이 serotonin과 함께 존재하는 것이 발견되었다(Kalia et al., 1984; Kiss et al., 1982). Serotonin은 시냅스로 방출되면, 일부는 능동 수용체 펌프에 의해 전 시냅스 신경종말(presynaptic nerve terminal)로 수송되어, monoamine oxidase (MAO)에 의해 탈아미노화되고 aldehyde dehydroxynase에 의해 산화되면 불활성인 5-HIAA라는 대사물을 생성한다. 또한 다른 일부는 후 시냅스 세포에 존재하는 수용체와 반응하여 신경전달과정을 완성하게 된다.

Yaksh와 Tyce(1979)에 따르면, 척수에서의 serotonin의 이온삼투요법(iontophoresis)은 유행성 자극에 반응하는 후각(dorsal horn) 뉴우런의 흥분을 억제하는 것으로 보고되고 있으며, 이러한 자극에 대하여 반응하는 후각 뉴우런의 억제는 수막강내(intrathecal)로 주입된 serotonin에 의한 진통작용을 설명한다. 무통각은 봉선핵 부위의 중뇌 회백질 부위의 전기자극에 의해서도 생성될 수 있다(Mayer et al., 1976). 이러한 자극에 의한 tail-flick latency의 증가는 p-

CPA의 전치리에 의하여 감소되며(Akil et al., 1972; Aimone et al., 1987; Barbero et al., 1985; Hammond et al., 1984), p-CPA에 의한 효과는 5-hydrotryptamine의 투여에 의하여 발전되고 이 물질은 그 자체가 전기자극의 효과를 증가시킨다(Akil et al., 1975). Serotonin의 전구체인 tryptophan에 의해서도 전기자극에 의한 진통효과가 증가된다(Malin et al., 1990). 또한, low-current transcranial electrostimulation(TE)에 의한 진통효과는 모두 naloxone과 p-CPA에 의하여 가역적이며, 이는 이들이 부분적으로 내인성 opioid와 serotonergic activity에 의해 중개되는 것을 의미한다.

이와 같이 tryptophan은 통증을 치료하는데 약리적 효과를 가지나, serotonin 전구체의 최종적 효과는 serotonin 분비 속도에 의해 제한된다. 따라서 다른 자극이 없이 tryptophan만으로는 뇌의 serotonin 수준은 증가시킬 수 있지만 serotonin 분비나 진통효과를 유도할 수는 없다(Trulson, 1985; Lookingland et al., 1986; Grazia De Simoni et al., 1987)는 연구 결과들도 발표되고 있다. 그러나, Schaechter (1990) 등은 serotonin의 분비가 세포 내 serotonin 수준과 비례한다고 하였으며, 신경 말단으로부터 분비 가능한 serotonin의 양은 tryptophan hydroxylase의 활성에 의해 조절되고, 따라서 tryptophan의 유용도에 의해 결정된다고 보고하였다. 또한 많은 실험 결과들이 뇌의 tryptophan 수준이 증가되었을 때 *in vivo*(Broderick and Jacoby, 1988; Carboni et al., 1989; De Simoni et al., 1987; Joseph and Kennett, 1981; Ternaux et al., 1976; 1977)와 *in vitro* (Schaechter and Wurtman, 1989; Auerbach and Lipton, 1985) serotonin의 분비가 증가되었음을 보여주었다.

따라서 본 실험에서는 식이에 의하여 보강된 serotonin 전구체인 tryptophan이 serotonin의 진통효과를 유도할 수 있는지 알아보고자, tryptophan 보강식을 먹인 마우스에게 hot-plate 시험과 phenylquinone-writhing 시험을 행하여 진통효과를 측정하고, 뇌의 serotonin과 그의 대사물인 5-HIAA의 농도를 분석하여 진통효과와의 관계를 살펴보고자 한다.

실험재료 및 방법

실험계획 및 실험식이

이유한 ICR male mice를 서울대학교 실험동물 사육장으로부터 공급받아 7~10마리씩 나누어 생후 5주 까지 일 반 고형사료를 먹이면서 사육하였다. 그 후, 정상식이군과 tryptophan 보강식이 군으로 나누어 각 실험식이로 1~3주간 사육하고 체중을 측정하였다. 이 때, 온도는 20~25°C, 습도는 55% 정도, 명암주기는 12시간 간격(08:00-20:00)으로 유지되었으며, 물과 식이는 자유로이 섭취하도록 하였다.

Table 1. Composition of Experimental Diet (g/100 g diet)

Ingredient	Control	High Trp.
Corn starch	64.7	64.5
Casein	15.0	15.0
Corn oil	10.0	10.0
Cellulose	5.0	5.0
Salt mixture(1)	4.0	4.0
Vitamin mixture(2)	1.0	1.0
D, L-Methionine	0.2	0.2
Choline Chloride	0.1	0.1
D, L-Tryptophan	-	0.1/0.2/0.35

Tryptophan 보강식이의 tryptophan 수준은 식이의 0.1, 0.2, 0.35%로 하였고, 정상 식이와 총 열량섭취를 같게 하기 위해 옥수수 전분을 감소시켰다(Table 1). 이들은 냉동 보관하였다가 공급하였고, 섭취량을 측정하였다.

(실험식이 1)

25~30 g의 ICR mice를 정상식이군과 실험식이군으로 나누어 3주간 tryptophan 0.35% 보강식이를 섭취하게 한다.

(실험식이 2)

25~30 g의 ICR mice를 3가지 실험식이군으로 나누어 1주간 tryptophan 0.1%, 0.2%, 0.35% 보강식이를 섭취하게 한다.

실험동물 희생 및 시료수집

정상식이군과 tryptophan 보강식이군을 보강식이의 정도와 injection test의 treat에 따라 나누어 시료를 수집하였다. 각 군은 10~15마리로 하였다. Decapitation 방법으로 희생하였고, 모두 희생하기 전 체중을 측정하였다. 희생 후 즉시 뇌를 적출하여 냉동보관(-70°C)하였다가 분석에 이용하였다.

진통효과의 측정

Phenylquinone-writhing Test

진통효과의 측정은 phenylquinone-writhing test를 이용하였다. 25~30%의 ICR male mice에 0.03% phenylquinone 용액을 복강주사하여 투여 후 20분간의 writhing 횟수를 세었다. 이때 phenylquinone은 5% ethanol 생리식염수에 용해시켜 사용하였고 주사용량은 4.5 mg/kg이었다.

Writhing은 phenylquinone 투여로 생기는 뒷다리를 쭉 빼는 stretch를 기준으로 하였고 정상식이군과 tryptophan 보강식이군간의 writhing 횟수를 비교하여 진통효과의 지표로 삼았다. 양성대조로 사용한 진통제 acetaminophen은 80 mg/kg의 용량으로 투여하였다.

Hot-plate Test

55°C로 유지되는 열판에 ICR mice를 놓은 후 열자극에 대하여 반응하여 jump를 하는 시간(초)를 end point로 하

여 통증 역치를 결정하였다.

Serotonin 함량 측정

Curzon(1970) 방법에 의해 측정하였다. 뇌를 cold acidified n-butanol로 10배 희석하여 균질화한 후 3000 rpm에 10분간 원심분리하였다. 상층액 2.5 ml를 시험관에 옮긴 후 n-heptane 5 ml과 0.1N HCl 0.4 ml(0.1% cystein 함유)을 넣어 강렬히 교반한 후 원심분리하였다. 수용액 층 0.2 ml에 0.004% 0-phthaldehyde(OPT) 용액 1.2 ml를 넣고 5분 동안 교반한다. 가열 수조통에서 15분간 끓인 후 찬물로 냉각시켜 activation 360 nm, emission 470 nm에서 측정하였다.

5-Hydroxyindoleacetic acid 함량 측정

뇌를 cold acidified n-butanol로 10배 희석하여 균질화한 후 3000 rpm 10분간 원심분리하였다. 상층액 2.5 ml를 시험관에 옮긴 후 n-heptane 5 ml와 0.1N HCl 0.4 ml (0.1% cystein 함유)을 넣어 강렬히 교반한 후 원심분리하였다. 위의 상층액 6 ml에 2,3-dinitrophenylhydrazine reagent를 2 ml 넣고 30분 동안 방치하였다. 그 후 CHCl₃ 25 ml을 넣은 후 몇 분 흔들어 준 후 원심분리시켜 유기층을 제거한 후 다시 CHCl₃ 25 ml로 앞의 과정을 반복하였다. 수용액 층을 10 ml 취한 후 NaCl 4 g과 ether 25 ml을 넣고 5분간 흔든 후 원심분리하였다. Ether층을 제거하고 수용액층을 1 ml취해 0.5 ml nitrosonaphtol reagent를 넣고 nitrous acid 용액 0.5 ml을 첨가하였다. 이를 잘 섞고 37°C 항온수조에서 5분 동안 가열한 후 냉각시켰다. Ethyl acetate 5 ml를 첨가한 후 흔들고 상이 분리된 후 ethyl acetate층을 제거하고 다시 위의 과정을 반복하였다. 마지막 수용액 층을 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

실험 결과는 SPSS를 이용하여 각 실험군마다 평균±표준편차를 계산하였고, p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 군간의 유의성을 검증하였다.

실험결과 및 고찰

체중 및 식이섭취량의 변화

3주 동안 0.35% tryptophan 보강식이를 먹었을 때의 체중의 변화를 Table 2에 나타내었다. 본 실험에서는 정상식이군과 보강식이군과의 체중의 변화를 관찰하였을 때, 정상식이군에 비해 tryptophan 보강식이군의 체중이 장기간이 지나면 유의적으로 감소하였다(p<0.05).

이와 같은 tryptophan 보강식이에 따른 체중 및 식이섭취량의 변화를 단기적으로 살펴보기 위해 실험식이의 보강

Table 2. Changes in body weight of mice fed tryptophan supplemented diet

Age (weeks)	On diet (weeks)	Body weight	
		Control diet	0.35% trp diet
5	0	25.84 ± 2.96 ^a	26.66 ± 4.69 ^a
6	1	26.35 ± 3.23 ^a	24.53 ± 4.56 ^a
7	2	27.68 ± 3.50 ^a	25.10 ± 2.58 ^a
8	3	30.03 ± 3.74 ^b	20.19 ± 3.26 ^c

*Means with the same letter are not significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

농도(0.1, 0.2, 0.35%)를 달리하여 관찰하여 보았다(Fig. 1, 2).

실험식이의 농도에 따른 실험군간의 체중과 식이섭취량이 tryptophan 보강 양이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였으나, 각 실험군간의 유의적인 차이는 없었다($p < 0.05$). 또한 같은 실험군내에서도 식이섭취량과 체중이 시일이 지남에 따라 감소하는 경향을 보였으나, 식이섭취량의 경우 1일째와 1일째를 제외하고는 유의적인 차이를 보이지 않았다

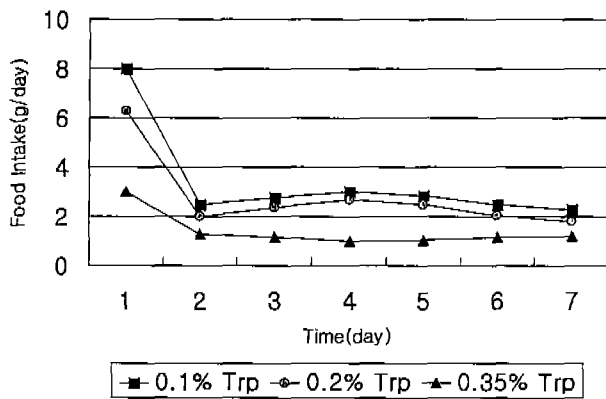


Fig. 1. Changes in food intake of mice fed 3 different levels of tryptophan supplemented diet.

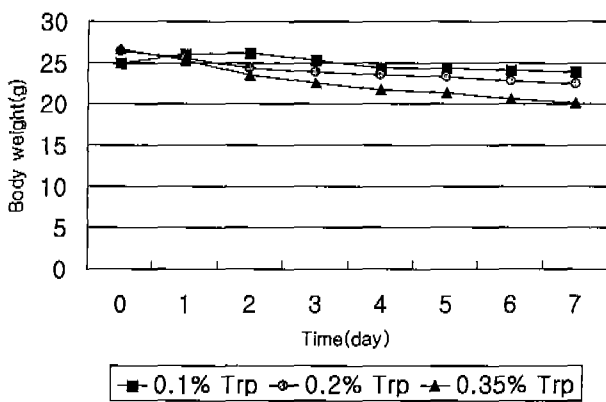


Fig. 2. Changes in body weight of mice fed 3 different levels of tryptophan supplemented diet.

($p < 0.05$).

본 실험 결과는 tryptophan을 투여했을 때(Lanthmand and Blundell, 1979; Ng *et al.*, 1992)와 tryptophan 보강식이(Kim, 1990; Lee, 1991)에 의해 식이섭취량과 체중이 감소하였다는 보고와 일치한다. 이와 같은 tryptophan 보강식에 의한 식이섭취량과 체중의 감소는 사람을 대상으로 한 실험에서도 관찰되었다(Leiter *et al.*, 1987; Heraief *et al.*, 1985).

Tryptophan 보강식에 의한 체중과 식이섭취량이 감소하는 것은 tryptophan의 보강에 의해 뇌에서의 serotonin의 합성이 증가되었으며, 이에 따른 식욕저하(Sidransky, 1985)에 의하여 식이섭취량과 체중이 감소된 것으로 생각된다.

Typtophan 보강식이의 농도와 공급기간에 따른 진통효과

Typtophan 보강식에 의한 통증민감도의 변화를 관찰하기 위하여 두 가지의 시험을 행하였다.

Phenylquinone writhing 시험은, 0.03% phenylquinone 용액을 복강 주사하여 투여 직후부터 20분간의 writhing 횟수를 세었다. Writhing은 phenypqinone 투여로 인하여 생기는 뒷다리를 쪽 뺀 stretch를 기준으로 하였고, 정상식이군과 tryptophan 보강식이군간의 writhing 횟수를 비교하여 진통효과의 지표로 삼았다.

$$\frac{\text{NW of control group} - \text{NW of tryptophan group}}{\text{NW of control group}} \times 100\%$$

(NW : Number of Writhing)

먼저 Fig. 3의 결과를 살펴보면, 정상군과 0.35% tryptophan 보강식이군간의 유의적인($p < 0.05$)차이가 있음을 알 수 있다. 정상식이군은 보강식이군보다 stretch response latency가 60~200초 가량 짧았다. 실험식이를 1주일간 공급하였어도 정상식이군과 보강식이군에서 차이가 났으며, 이

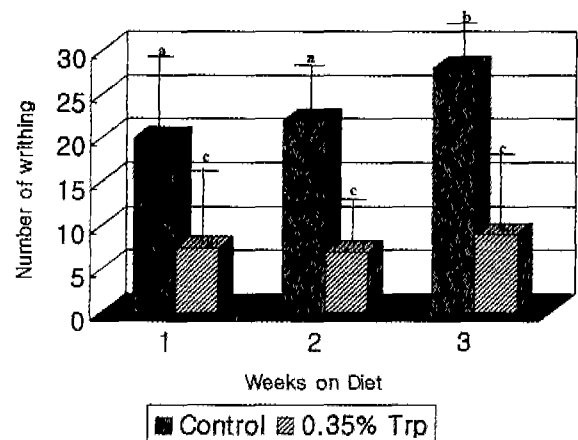


Fig. 3. Effect of tryptophan supplemented diet (0.35%) on pain sensitivity measured by phenylquinone writhing test.

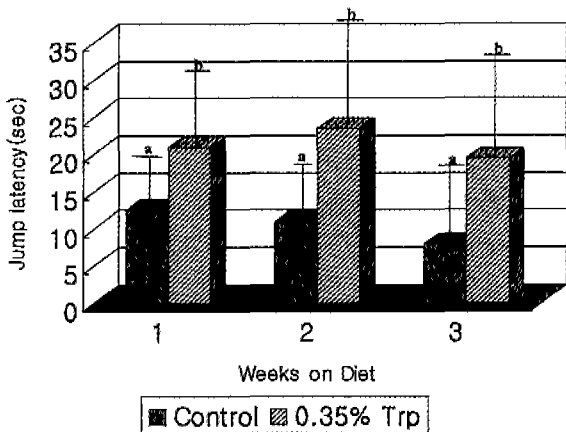


Fig. 4. Effect of tryptophan supplemented diet (0.35%) on pain sensitivity measured by hot-plate test.

런 경향은 실험식이를 2주, 3주 공급하였어도 비슷하게 나타났다. 그러나 보강식이를 공급하는 기간 사이에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다($p < 0.05$).

또한 정상식이군과 보강식이군간의 writhing 횟수를 비교하여 진통효과의 지표로 삼은 결과(Fig. 3)를 살펴보면, 식이 섭취 기간에 따라 보강식이군이 59~70%의 저해를 나타낸 것을 알 수 있다.

그리고, hot plate 시험을 통하여서도 tryptophan 보강식에 의한 통증민감도의 변화를 측정하였는데, 이는 55°C로 유지되는 열판에 쥐를 올려 놓은 직후부터 jump하는 시간(초)을 측정하였으며, 60초를 cut-off value로 정하였다.

Fig. 4의 결과를 살펴보면, 정상식이군과 tryptophan 보강식이군간에 유의적인($p < 0.05$)차이가 있음을 알 수 있다. 정상식이군은 보강식이군에 비해 8~13초 빨리 반응하였다. 이러한 실험 결과는 백서에서 쥐를 열판에 올려놓은 직후부터 뒷발을 뺄 때의 시간을 측정한 이(1991)의 시험에서 정상식이군이 보강식이군보다 6~8.5초 빨리 반응한다는 결과와 유사하다.

그러나 각 식이의 공급기간에 따라서는 유의적인 변화를 관찰할 수 없었다. 이러한 실험결과는 앞에서 살펴본 phenylquinone-writhing 시험의 경우 공급기간에 따른 유의적인 변화가 일어나지 않는 것과 일치한다.

이와 같이 0.35%의 tryptophan 보강식이를 장기간 섭취한 실험군에서 진통효과가 나타난 것을 관찰한 후, 단기간에 걸친 그리고 저농도의 보강식이를 섭취한 실험군에서의 진통효과를 알아보기 위하여 0.1, 0.2, 0.35%의 보강식이를 섭취한 실험군에서 phenylquinone-writhing 시험을 행하였다(Fig. 5).

보강식이의 보강 농도에 따른 기간별의 진통효과를 살펴보면, 보강식이의 보강농도에 따라서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 그러나 일반적으로 1주일간의 기간동안에는

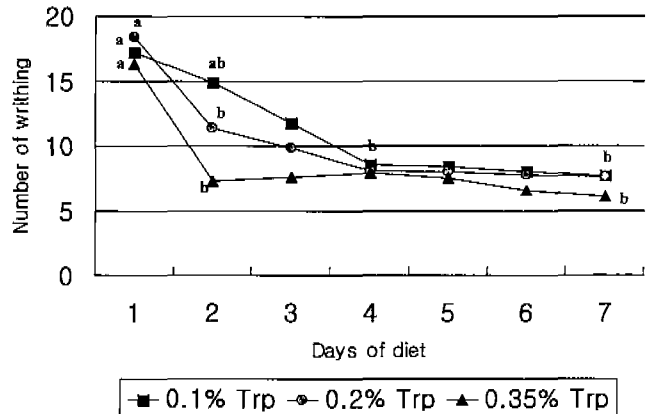


Fig. 5. Effect of various tryptophan supplemented diets (0.1, 0.2, 0.35%) on pain sensitivity measured by phenylquinone test.

보강식이의 공급기간이 길수록 진통효과가 큰 것으로 나타났다($p < 0.05$). 이러한 단기간의 식이공급에서 나타난 결과는 앞에서 살펴본 장기간 동안의 공급기간(1, 2, 3주)간에 유의적인 차이가 없는 것과는 다른 양상을 보여준다. 2일째의 경우부터는 각 군이 모두 1일째와 유의적인($p < 0.05$) 차이를 가지고 진통효과가 증가된 것으로 미루어 보아 뇌에서의 serotonin의 양이 1일간의 tryptophan 보강식에 의해서도 증가된 것으로 보인다.

이러한 결과는 사람을 대상으로 tryptophan을 복용(50 mg/kg/day)시킨 Yuwiler(1981) 실험에서도 살펴볼 수 있는데, tryptophan의 복용에 의해 1일째는 serotonin의 농도가 복용 1~3시간 후 최고치를 나타낸 후 다시 원래의 수준으로 감소하는데 비해 계속해서 복용하면, 2일째부터는 serotonin의 기준수준이 증가하였다.

본 실험의 결과로 tryptophan을 보강시킨 식이가 정상식 이보다 화학물질과 열자극에 대해 진통효과가 있음을 알 수 있다. 일반적으로 진통효과의 측정에 이용되는 방법들은 acetic acid, phenylquinone, formalin 등의 화학물질을 투여한 후 stretching 횟수를 측정하는 방법과 물리적인 압력을 가하는 Randall-Selitto 시험, 꼬리에 복사열을 가하거나 실험동물을 일정한 온도의 열판에 올려놓아 열자극에 대한 반응을 보는 시험, 그리고 일정부위에 전기 자극을 주는 방법들이 있다. 이러한 방법들은 가하여 주는 자극의 차이에 따라 반응하는 신경전달체계에 차이가 있게 된다.

그러나 앞에서 살펴본 이러한 결과는 tryptophan을 보강시킨 식이가 백서에서 압력자극에 대해서 진통작용을 보인다는 이(1991)의 결과, tryptophan이 결핍된 옥수수 식이를 먹인 쥐와 카페인 식이를 먹인 쥐에게 전기자극을 주었을 때, 카페인 식이군이 tryptophan이 결핍된 식이보다 진통효과가 유의적으로 높았다는 Messing(1976)의 실험 보고와 함께 serotonin에 의한 진통효과가 다양한 자극에 대해 작

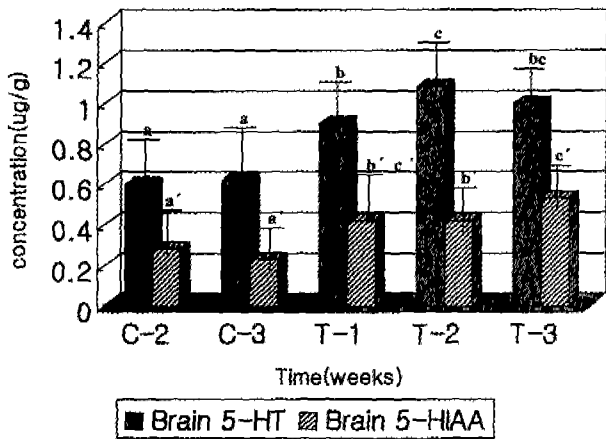


Fig. 6. Effect of tryptophan supplemented diet (0.35%) on brain serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid concentration.

용할 수 있음을 알 수 있다.

또한 사람을 대상으로 한 Seltzer(1983) 등의 실험 결과에 의하면, 3g/day의 tryptophan을 사람에게 복용시켰을 때 placebo군에 비하여 증가된 통증 내성 역치를 보였다.

뇌의 serotonin 대사 변화

실험식이 공급 1, 2, 3 주의 뇌의 5-HT(serotonin)와 5-HIAA 농도를 Fig. 6에 나타내었다. 뇌의 5-HT농도는 tryptophan 보강식이군이 정상군에 비해 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 또한 정상식이에서는 공급기간에 따른 농도의 변화가 유의적이지 않았으나, 보강식이군에서는 공급기간에 따른 5-HT의 농도가 1주와 2주간에 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$).

Tryptophan을 보강한 식이를 섭취한 경우 $trp/LNAA$ 의 비율이 증가하므로 뇌로의 tryptophan의 유입량이 증가하게 되고, 이러한 증가는 tryptophan을 serotonin으로 전환시키는 효소인 tryptophan hydroxylase가 포화되지 않고 있으므로($K_m = \text{dir } 25M \text{ in vivo}$) serotonin의 증가를 가져오기 때문인 것 같다.

이러한 결과는 tryptophan 수준을 증가시키는 처치는 백서의 측뇌실(lateral ventricle) (Ternaux et al., 1976)과 축핵(nucleus accumbens) (Guan and MaBride, 1987)으로 퍼지는 매질로 분비되는 5-HT의 양을 증가시킨다는 결과와 비슷한 양상을 보인다.

5-HIAA농도는 tryptophan 보강식이군이 정상군에 비해 유의적($p < 0.05$)으로 증가하였으며, 2주와 3주간에는 같은 보강식이군 내에서도 유의적인 차이를 보였다.

이러한 결과는 tryptophan 투여에 의해서 유의적으로 5-HIAA의 농도가 증가한다는 Arnold 등(1986)의 결과와 일치한다.

보강식이에 의한 이와 같은 5-HT와 5-HIAA 농도의 변

화를 두 가지 통증민감도의 실험 결과로 살펴볼 때, serotonin 대사 변화와 진통작용과의 관계를 알 수 있다. 즉, 5-HT의 농도와 진통작용과는 비례관계를 보여주며, 이러한 결과는 chronically implanted intrathecal catheter에 의한 serotonin의 투여는 백서의 hot-plate test와 tail-flick test에서 투여량에 비례하는 반응 latency의 증가를 보였다는 Schmauss 등(1983)의 결과와 일치한다.

요약 및 결론

Tryptophan 보강식이 쥐의 통증민감도에 미치는 영향을 알아보고자 보강식이의 조성과 공급기간을 달리하여 hot-plate시험과 phenylquinone-writhing시험을 행하여 진통효과를 측정하였고, 뇌의 serotonin과 그의 대사물의 농도를 분석하여 진통효과와의 관계를 살펴보았다.

Hot-plate시험과 phenylquinone-writhing시험을 행한 결과, tryptophan보강식이군이 정상식이군보다 진통효과가 유의적($p < 0.05$)으로 높았으며, 이러한 경향은 보강식이를 1주일 공급하여도 나타났고, 2주, 3주의 실험결과에서도 같은 경향을 볼 수 있었다. 열자극에 대한 jump latency 역시 정상식이군에 비해 보강식이군의 진통효과가 유의적($p < 0.05$)으로 높았다. 또한 보강식이의 조성을 달리하여, phenylquinone-writhing시험을 행한 결과, 1주일 동안 공급기간에 따른 진통효과의 유의적($p < 0.05$)인 차이는 볼 수 있었으나, 보강 조성에 따른 진통효과의 유의적인 차이는 보이지 않았다.

뇌의 serotonin(5-HT)과 5-HIAA의 농도는 정상식이군에 비해 보강식이군에서 공급기간동안 계속해서 유의적($p < 0.05$)으로 높게 나타났다.

이상의 실험 결과, 정상식이를 먹인 쥐들과 비교하였을 때 tryptophan 보강식이 쥐와 약물과 열자극에 대한 통증민감도를 저하시켜서 진통작용을 나타내며, 이러한 진통작용에는 serotonin의 대사가 관련되어 보강식이에 의해 serotonin의 대사가 증가함을 알 수 있다. 이를 통해 식이에 의해 보강된 serotonin의 전구체인 tryptophan만으로도 다른 자극 없이 serotonin의 분비나 진통효과를 유도할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 서울대학교 생활과학연구소 일부 지원으로 이루어졌습니다.

참고문헌

김은미 (1990) Stress를 받은 쥐의 뇌에서 serotonin 이용에

- 관한 연구. 서울대학교 가정학 석사학위 논문.
- 이정인 (1991) Tryptophan 보강식이와 restriction stress가 통증민감도에 미치는 영향. 서울대학교 가정학 석사학위 논문.
- Aimone L. D, Jones S. L and Gebhart G. F (1987) Stimulation-produced descending inhibition from the periaqueductal and nucleus raphe magnus in the rat: Mediation by spinal monoamines but not opioids. *Pain*. **31**, 123-136.
- Akil H and Liebeskind J. C (1975) Monoaminergic mechanisms of stimulation-produced analgesia. *Brain Res.* **94**, 279-296.
- Akil H and Mayer D. J (1972) Antagonism of stimulation-produced analgesia by p-CPA, a serotonin synthesis inhibitor. *Brain Res.* **44**, 692-697.
- Anden N. E, Dahlström A, Fuxe K, Larsson K, Olson L, and Ungerstedt U (1966) Ascending monoamine neurons to the telencephalon & diencephalon. *Acta Physiol Scand.* **67**, 313-326.
- Arnold M A and Fernstrom J. D (1981) L-tryptophan injection enhances pulsatile growth hormones secretion in the rat. *Endocrinol* **108**, 331-335.
- Basbaum A. I, and Fields H. L (1978) Endogeneous pain control mechanism: Review and hypothesis. *Ann. Neurol* **4**, 451-462.
- Basbaum A. I, and Fields H. L (1984) Endogeneous pain control system: Brainstem spinal pathways and endorphine circuitry. *Ann. Rev. Neuroscience* **7**, 309-338.
- Bjorklund A, Falck B, and Owman C. H (1972) Fluorescence microscopic and microspectrofluorometric techniques for the cellular localization and characterization of biogenic amines. In: Rall J. E and Kopin IJ(Eds.), *The thyroid and biogenic amines*, North-Holland Publ., Amsterdam, 318-368.
- Curson G and Green AR(1970) Rapid method for the determination of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in small regions of brain. *Brit. J. Pharmacol* **39**, 653-655.
- Goodwin G. M, Cowen P. J, Fairburn C. G, Parry-Billings M, Calder P. C, and Newsholme E. A (1990) Plasma concentrations of tryptophan and dieting. *Brit. Med. J.* **300**, 1499-1500
- Guan X. M and MaBride W. J (1987) Effects of K⁺-stimulation and precursor loading on the *in vivo* release of dopamine, serotonin and their metabolites in the nucleus accumbens of the rat. *Life Sci.* **40**, 2579-2586.
- Harvey J. A, Schlosberg A. J, and Yunger L. M (1975) Behavioral correlates of serotonin depletion. *Fed Proc* **34**, 1796-1801.
- Jacobs B. L, Trimbach C, Eubanks E. E, and Trulson M (1975) Hippocampal medication of raphe lesion-and PCPA-induced hyperactivity in the rat. *Brain Res.* **94**, 253-261.
- Kantak K. M, Hegstrand L. R, and Eichelman B (1981) Dietary tryptophan reversal of septal lesion and 5,7-DHT lesion elicited shock-induced fighting. *Pharmacol Biochem Behav* **15**, 343-350.
- Kantak K. M, Hegstrand L. R, Whitman J, and Eichelman B (1979) Effects of dietary supplements and a tryptophan-free diet on aggressive behavior on rats. *Pharmacol Biochem Behav* **12**, 173-179.
- Kozell L, Sandyk R, Wagner G. C, and Fisher H (1987) The effects of L-tryptophan on haloperidol-induced movement disorder in the rat. *Life Sci.* **41**, 1739-1744.
- Leiter L. A, Hrboticky N, and Anderson G. H (1987) Effects L-tryptophan on food intake and selection in lean men and women, in human obesity (Wurtman R. J and Wurtman J. J, eds). *Ann. NY Acad Sci.* **449**, 327-328.
- Lytle L. D, Messing R. B, Fisher L, and Phebus L (1975) Effects of long-term corn consumption on brain serotonin and the response to electrical shock. *Science* **190**, 692-694.
- Marsden C. A and Curzon G (1976) Studies on the behavioral effects of tryptophan and p-chlorophenylalanine. *Neuropharmacol* **15**, 164-171.
- Malin D. H, Lake R. F, Hamilton and Skolnick M. H (1990) Augmented analgesic effects of L-tryptophan combined with low current transcranial electrostimulation. *Life Sci.* **47**, 263-267.
- Mayer D. J and Price D. D (1976) Central nervous system mechanisms of analgesia. *Pain* **2**, 379-404.
- Messing R. B and Lytle L. D (1977) Serotonin-containing neurons: Their possible role in pain and analgesia. *Pain* **4**, 1-21.
- NG L. T and Anderson G. H (1992) Route of administration of tryptophan and tyrosine affects short-term food intake and plasma and brain amino acid concentrations in rats. *J. Nutr* **122**, 283-293.
- Rivot J. P, Weil-Fugazza J, Godefoy F, Bineau-Thurotte M, Ory-Lavolle L, and Besson J. M (1984) Involvement of serotonin in both morphine and stimulation-produced analgesia: Electrochemical and biochemical approaches. In: *Advances in pain research and therapy*. Vol 6. edited by Kruger L and Liebeskind JC, pp289-303, New York: Raven Press.
- Schaechter J. D and Wurtman R. J (1989) Tryptophan availability modulates serotonin release from rat hypothalamic slices. *J Neurochem* **53**, 1925-1933.
- Schaechter J. D and Wurtman R. J (1990) Serotonin release varies with brain tryptophan levels. *Brain Res* **532**, 203-210
- Schmauss C, Hammond D. L, Ochi J. W, and Yaksh T. L (1983) Pharmacological antagonism of the antinociceptive effects of serotonin in the rat spinal cord. *Eur. J. Pharmacol* **90**, 349-357.
- Seltzer S, Dewart D, Pollack R. L, and Jackson E (1982/83) The effects of dietary tryptophan on chronic maxillifacial pain and experimental pain tolerance. *J. Psychiat Res.* **17**(2), 181-186.
- Sidransky H(1985) Tryptophan: Unique action of essential amino acid: In *Nutritional pathology*: Mareel Dekker pp1-55.
- Ternaux J. P, Bioreau A, Bourgoin S, Hamon M, Hery F, and Glowinski J(1976) *In vivo* release of 5-HT in the lateral ventricle of the rat: Effects of 5-hydroxytryptophan and tryptophan. *Brain Res.* **101**, 533-548.
- Trulson M. E (1985) Dietary tryptophan does not alter the function of brain serotonin neurons. *Life Sci* **37**, 1067-1072.
- Wurtman R. J and Fernstrom J. D (1976) Control of brain neurotransmitter synthesis by precursor availability and nutritional state. *Biochem Pharmacol* **25**, 1691-1696.