

동의신경정신과 학회지  
J. of Oriental Neuropsychiatry  
Vo1. 14. No. 1, 2003

## 黃連解毒湯이 憂鬱症 模型動物의 水中迷路學習과 腦의 Tyrosine Hydroxylase 發顯 水準에 미치는 效果

홍성원, 김종우, 김은주\*, 김현주\*, 김현택\*, 황의완  
경희대학교 한의과대학 신경정신과 교실  
고려대학교 심리학과\*

### The Effects of Whangryonhaedoktang on Morris Water Maze and Tyrosine Hydroxylase Expression in Ventral Tegmental Area and Locus Coeruleus of the Chronic Mild Stress Animal Model of Depression.

Sung-Won Hong, Wei-Wan Whang

Department of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

**Objective** : The aim of this study was to assess protective effects of Whangryonhaedoktang on the chronic mild stress (CMS) animal model of depression.

**Method** : Male Sprague-Dawley rats were used for this study. The subjects were divided into 3 groups (CMS-drug group: Whangryonhaedoktang was administered during CMS procedure, CMS-vehicle: water was administered during CMS procedure, normal control group: without CMS procedure). After 4 weeks of CMS procedure, Morris water maze (MWM) test and open field test were executed and tyrosine hydroxylase (TH) was measured in ventral tegmental area (VTA) and locus coeruleus (LC) of rat brain.

**Result** :

1. CMS procedure induced defects of spatial learning in early period of MWM test.
2. CMS Whangryonhaedoktang group showed shorter escape latency in comparison with CMS control group in MWM test on the first day of the test.
3. CMS Whangryonhaedoktang group and CMS control group showed no significant difference of activities and emotional behaviors in comparison with normal control group in open field test.
4. CMS Whangryonhaedoktang group showed significant inhibition effects of TH expression in VTA and LC areas in comparison with CMS control group.

**Conclusion** : These results suggest that Whangryonhaedoktang may have inhibition effects to early period defects of spatial learning and protective antidepressant effects in CMS model rats.

**Key words** : Whangryonhaedoktang, Chronic mild stress, Morris water maze, Tyrosine hydroxylase

## I. 緒 論

憂鬱症이란 우울 기분, 흥미나 즐거움의 상실, 식욕·체중·수면 및 정신 운동 활동에서의 변화, 자존심과 자신감의 감소, 무가치감, 죄책감, 집중력과 주의력의 감소, 자해나 자살 행위 또는 생각 등의 증상을 포괄하는 정신장애다<sup>1-3)</sup>.

鬱症은 憂鬱症의 概念과 類似하며<sup>4-6)</sup>, 內經<sup>7)</sup>에서는 氣機가 慢性的으로 疏通되지 않고 舒暢, 通達되지 못한 狀態라는 概念으로 使用되었고, 이후 明代의 張<sup>8,9)</sup>이 怒鬱, 思鬱, 憂鬱 등의 情志之鬱이라는 概念을 設定한 後 憂鬱症을 包含하는 意味가 되었다. 鬱症의 病機에 관하여 元代의 朱<sup>10)</sup>는 '모든 病은 얻은 지 오래되면 鬱이 되고 鬱이 오래되면 蒸熱하여 반드시 火가 생긴다.'라고 하였고, 明代의 王<sup>11)</sup>은 "鬱者燥淫爲病之別稱", "諸氣沸鬱皆屬於肺", "沸鬱屬熱" 등을 통하여 모든 鬱이 火로 變하여 轉化되는 病機를 說明하였다. 鬱症의 治法에 대하여 李 등<sup>4,6,12)</sup>은 文獻的 考察을 통하여 初期에는 順氣 祛痰의 方法이 使用되고, 鬱이 오래되어 氣血의 耗損을 가져오면 補氣血의 方法을 使用한다고 提示하였다.

憂鬱症을 實驗的으로 研究하기 위하여 다양한 동물모델이 提示되고 있는 데<sup>13-20)</sup>, 이 중 Willner<sup>16)</sup>가 제안한 chronic mild stress (CMS) 모델은 쥐에게 豫測할 수 없는 輕微한 強度의 스트레스를 反復的으로 加함으로써 人間의 日常을 잘 模寫할 수 있는 妥當性있는 모델<sup>21)</sup>로 알려져 있다.

CMS 憂鬱症 모델을 鬱證과 結付시킨 實驗的 研究로 順氣爲主의 分心氣飲<sup>22,23)</sup>, 補氣血爲主의 歸脾溫膽湯<sup>24,25)</sup>, 歸脾湯<sup>26)</sup>, 補血安神湯<sup>27,28)</sup>의 治療의 抗憂鬱 效果가 자당 섭취량의 測定과 여러 가지 行動實驗을 통하여 報告되었고, 祛痰을 爲主로 하는 遠志石菖蒲散<sup>29)</sup>은 CMS 處置 過程 中에 投與하고 行動實驗들을 통하여 抗憂鬱 效果和 初期 學習 能力 遲滯를 抑制한다는 報告가 있으나, 清熱瀉火의 病理機轉과 연관된 實驗的 研究는 없었다.

本 實驗에 사용된 黃連解毒湯은 葛<sup>30)</sup>의 肘後方에서 最初로 사용된 處方으로, 清熱 瀉火 등의 效能이 있는데, 一切 火熱로 인해 유발된 煩躁狂亂, 心下煩悶, 狂言如見鬼, 欲起走, 錯語不眠 등의 病

症에 사용하는 處方이다<sup>30-32)</sup>.

黃連解毒湯의 實驗的 研究로 朴<sup>33)</sup>는 解熱 鎮痛 鎮靜, 血糖降下 作用, 辛<sup>34)</sup>은 黃連解毒湯 藥鍼投與에 의한 睡眠時間 延長 效果 및 降壓效果를 報告하였고, 臨床的으로 崔<sup>35)</sup>는 黃連解毒湯 藥鍼投與가 實證의 機能性 頭痛에 優秀한 效果가 있음을 報告하였고, 劉<sup>36)</sup>는 中風患者의 不眠症이 火熱의 樣相을 보일 때 黃連解毒湯으로 不眠이 好轉됨을 報告하였다. 따라서 黃連解毒湯은 煩躁, 心下煩悶, 錯語不眠 등의 精神症狀에 사용되는 바, 火의 성질을 가지고 있는 憂鬱症에 效果의 일 것으로 思料되었다.

이에 著者는 黃連解毒湯이 憂鬱症에 미치는 豫防的 效果를 研究하기 위하여, Sprague-Dawley 係 흰쥐에게 CMS 처치과정 中에 黃連解毒湯을 投與하고, Morris 수중미로(Morris water maze; MWM) 실험을 통해 憂鬱症에 흔히 同伴되는 學習 및 記憶에 대한 評價와 開放場 실험을 통한 行動과 情緒의 變化의 觀察 및 면역조직화학적 方法을 이용한 ventral tegmental area (VTA)와 locus coeruleus (LC)에서 도파민 대사에 關여하는 효소인 tyrosine hydroxylase (TH) 水準 測定을 통하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 動物 및 藥材

#### 1) 動物

Sprague-Dawley 種의 수컷 흰쥐가 피험동물로 사용되었다. CMS 처치 직전 동물들의 체중의 평균은 260g 이었다. 동물은 3-4마리씩 집단 사육하였고 사육실의 실온은 23±2℃로 유지시켰다. 물과 먹이는 충분히 제공하였고 주야 주기는 12시간 씩 인위적으로 조절하였다. CMS 처치가 시작되면서 통제동물은 원래의 사육실에 그대로 두었고, 스트레스 처치를 받는 동물들은 크기와 조건이 동일한 다른 사육실로 옮겼다.

이는 CMS 처치에 감박이는 불빛과 소음과 같

은 스트레스 자극이 포함되어 있었기 때문이었다.

### 2) 實驗群 設定 및 處置

본 연구에는 각각의 집단별로 12마리씩 모두 3 집단의 동물이 사용되었다.

① 正常群 : CMS 처치를 받지 않은 집단으로 CMS 처치에 대한 통제군으로 사용되었다.

② 對照群 : CMS 처치를 받지만 약물투여는 받지 않은 집단으로 약물 대신에 vehicle로 물이 투여되었다. 이 집단은 약물처치에 대한 통제군으로 사용되었다.

③ 實驗群 : 4주간의 CMS 처치를 받는 동안 黃連解毒湯을 투여 받은 집단으로 약물처치에 대한 實驗群으로 사용되었다.

### 3) 藥材

이 실험에서 사용된 약제는 慶熙醫療院 韓方病院 藥劑科를 통해 구입·정선한 것을 사용하였다 (Table I).

**Table I.**  
**Contents of Whangryonhaedoktang**

Drug name	Botanical Origin	Dose
黃連(Coptidis Rhizoma)	Coptis japonica	15g
黃芩(Scutellariae Radix)	Scutellaria baicalensis	15g
黃栢(Phellodendri Cortex)	Phellodendron amurense	15g
梔子(Gardeniae Fructus)	Gardenia jasminoides	15g
Total amount		60g

## 2. 方法

### 1) 檢液의 調製

실험에 사용된 黃連解毒湯은 Table I에 제시된 처방 약재의 10첩 분량 600g을 전탕 후 냉동

건조하여 분말 상태로 만들어 사용하였다. 우선, 약재 1첩 당 물(시중에서 판매되는 생수를 이용하였음) 300cc의 비율로 혼합하여 환류 냉각 장치에서 3시간 동안 가열 후, 1차 전탕액을 얻었다. 이 전탕액을 다시 회전식 진공 플라스크에 넣고 감압 농축시켜 2차 원액을 얻었다. 2차 원액은 다시 냉동건조절차를 거쳐 고체 형태의 추출물로 만들었다. 이 과정에서 약재 1첩 당 약 3g의 추출물이 얻어지게 되며, 추출물은 분쇄기를 이용해 분말상태로 만들어 이용하였다. 실험이 진행되는 동안 분말상태의 약제는 냉장보관 하였다.

### 2) 檢液의 投與

분말상태의 추출물을 하루 투여량 만큼씩 물에 녹여 현탁액을 만든 후, 경구투여용 주사기를 이용해 실험동물의 위로 바로 주입하였다. 인간의 경우(체중 60 kg 기준) 黃連解毒湯은 1일 처방량이 2첩이고, 이는 정제된 추출물 6g에 해당된다. 이를 기준으로 실험동물에게 투여할 양을 인간 1일 용량의 5배로 계산하면 1일 투여량이 0.5 g/kg이 된다.

첫 날 검액을 투여하기 전에 동물의 체중을 측정하여 첫 날의 투여량을 결정하였고, 그 후에는 1 주일마다 체중을 측정하여 투여량을 조절하였다. 실제 동물에게 투여된 현탁액의 양은 8 ml/kg이었다. 對照群의 쥐들에게는 동일한 양의 물을 경구투여 하였다.

### 3) Chronic mild stress 節次

동물에게 가해진 스트레스 자극에는 물 또는 먹이 박탈, 주야 주기의 역전, 과밀집, 사회적 격리, 깜박이는 불빛, 소음, 사육 상자 기울이기, 그리고 축축한 깔짚 등이 포함되었다.

이들 다양한 스트레스 자극들을 적절하게 배열하여 1주일 단위의 스트레스 프로토콜을 만들었고 (Figure 1), 동물은 언제 어떤 종류의 스트레스가 제시될지 예측할 수 없다. 이렇게 만든 스트레스 프로토콜에 따라 다양한 상황에 동물을 4주간 반복해서 노출시켰다.

CMS 처치 기간동안 1주일 간격으로 몸무게를 측정하여 관찰하였고, 이를 기준으로 약물 투여량을 조절하였다.

time	D-1	D-2	D-3	D-4	D-5	D-6	D-7								
01:00	WD FD MC (20h)	TH (20h)	WD (15h)	WN(2h)	WD FD (18h)	MC (22h)	SC (18h)	LOF (12h)	WN (2h)						
02:00															
03:00															
04:00											WN(2h)				WN (3h)
05:00															
06:00															
07:00											WN(1h)				
08:00															
09:00															WN (1h)
10:00															
11:00			EB (2h)	SS (4h)											
12:00															
13:00									Tilt (8h)						
14:00	SI(1h)					RF (2h)									
15:00				SS (2h)											
16:00		SS (7h)	Tilt (7h)				SS (9h)		LON (12h)						
17:00															
18:00															
19:00					MC (22h)										
20:00	TH (20h)			SS (3h)					WD						
21:00		WD (15h)	WN (3h)		WD	SC (18h)			FD						
22:00					FD (18h)		WN (3h)		MC (20h)						
23:00							LOF (12h)								
24:00			WN(2h)												

Figure 1. Chronic Mild Stress Protocol. FD: food deprivation, WD: water deprivation, SS: stroboscope illumination, Tilt: tilt cage (45.°), TH: tripled housing, MC: mouse cage, RF: restricted access to food (scattering of ground food), SC: soiled cage (100 ml water in bedding), LOF: light off, LON: light on, SI: sucrose intake, EB: empty water bottle, WN: white noise.

4) Morris water maze의 裝置 및 節次<sup>37)</sup>

본 실험에 사용된 장치는 스테인리스 강관으로 만든 원형의 수조(지름 155cm, 높이 60cm)이다. 원형 수조의 중심을 지나면서 직교하는 두 개의 가상선을 그어 수조를 4개의 사분면으로 나누었다. 그 중 하나의 사분면 중앙에 아크릴로 만든 도피대(지름 10cm, 높이 39cm)를 설치하였다. 수조에 40cm 깊이로 물을 담고 도피대가 보이지 않게 하기 위해서 1kg의 탈지분유를 풀었다. 수조의 위 천장에는 비디오 카메라를 설치하여 학습이 이루어지는 동안 동물의 움직임을 촬영하였다.

실험이 시작되기 30분전에 동물을 미로실험실로 옮겨 실험 상황에 적응시켰다. 학습은 하루 4번씩 시행되었다. 한 시행은 동물을 4개의 사분면 가운데 어느 한 곳의 중앙지점에 시선을 수조의 벽을 향하게 놓는 것으로 시작되어, 동물이 수조에서 자유롭게 수영하여 도피대를 찾아가면 종료된다. 만약 60초 이내에 동물이 도피대를 찾지 못하면 실험자가 동물을 도피대로 부드럽게 유도하고 시행을 종료한다. 각 학습시행에서 측정되는 학습성적은 동물이 도피대를 찾아갈 때까지 소요된 도피잠재기(escape latency)이며, 60초 이내에 도피대를 찾아가지 못한 동물의 도피잠재기는 60초가 된다. 자발적 또는 실험자의 유도에 의해 동물이 도피대 위에 올라가면 15초간 그곳에 머물게 하였다. 15초간의 시행간 간격이 경과하면 다른 사분면의 중앙지점에 동물을 놓고 다음 시행을 실시하였다. 이렇게 각 사분면에서 한번씩 동물을 놓아 4시행이 종료되면 하루의 학습, 즉 한 학습회기가 마무리된다. 이런 회기가 4일간 반복되었다.

4회기의 학습회기가 종료되면 5일째에 기억검사를 실시하였다. 이 때에는 수조에서 도피대를 제거하고 동물이 60초간 수영하면서 돌아다니는 동안에 도피대가 있었던 목표영역(도피대를 중심으로 한 지름 40cm 영역)에 머문 시간과 도피대가 있었던 바로 그 지점을 통과한 빈도를 측정하여 기억성적으로 삼았다.

5) 開放場에서의 活動性 測定<sup>38,39)</sup>

본 연구에 사용된 開放場(open field) 장치는 75×75×25cm 크기의 검은 나무상자이고, 바닥에는 15cm 간격의 흰 선이 바둑판 모양으로 그려져 있

으며 開放場을 중심영역과 주변영역으로 구분하는 기준으로 사용된다(Figure 2). 흰쥐는 새로운 환경에 노출되었을 때 탐색 행동을 보이며 그 지표로 보행활동을 들 수 있다. 또한 어두운 장소를 선호하는 흰쥐는 트여있는 중심영역보다는 벽이 있는 주변영역을 따라 많이 움직이는 경향이 있으므로 중심영역과 주변영역을 돌아다니는 거리를 측정하여 정서성을 평가할 수 있다. 開放場 장치는 2M 높이의 천정에 백열전구(60W 220V) 조명 하에 설치되고, 중앙부 천장에 카메라를 설치하여 SmaTracker V 1.3 (SmarTech, USA)을 사용하여 동물의 행동을 기록하고 분석하였다. CMS 처치 종료 후 2-3일 사이에 開放場에서의 보행활동 검사를 실시하였다. 실험이 시작되기 30분전에 동물을 행동관찰실로 옮겨 실험 상황에 적응시킨 후 동물을 開放場의 중심영역(Figure 2의 start point)에 올려놓고 15분 동안 보행활동을 기록하였다. 한 동물에 대한 실험이 종료되면 그 동물이 남긴 냄새를 없애기 위해서 開放場 장치를 깨끗이 닦아내었다. 분석한 행동은 1) 15분 동안 동물이 움직인 거리, 2) 주변 영역에서 움직인 거리, 그리고 3) 중심영역에서 움직인 거리이다.

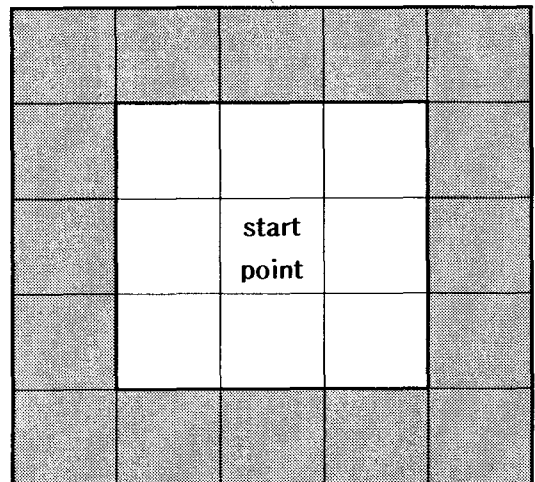


Figure 2. Open Field Apparatus. Dark blocks show marginal area and bright blocks indicate center area.

6) VTA와 LC에서의 TH 免疫組織化學<sup>40-42)</sup>

4주간의 스트레스 및 약물 처치 후 동물을 식염수(100 ml)에 이어 10% 포르말린 용액(500 ml, 0.2 M phosphate buffer와 혼합)으로 심장을 통해 관류하였다. 500 ml의 포르말린 용액 중 200 ml는 처음 5분간, 나머지 300 ml는 25분간 주입하면서 고정시켰다. 그 다음 뇌를 적출하여 동일한 고정액에 3시간 동안 고정시켰고, 20%의 sucrose가 함유된 phosphate buffer saline (PBS, pH 7.2)에 넣어 4°C에서 하루 밤 동안 보관하였다가 냉동절편기로 30 μm 두께의 뇌절편을 만들었다. 이 절편을 PBS로 3-4회 세척하여 Primary anti- mouse TH antibody (Diasorin)에 노출시켰다(4°C, 72시간). Primary antibody는 0.3% Triton-X100 (PBST)에서 2% normal rabbit serum과 0.001% keyhole limpets hemocyanin (Sigma)으로 1000배 희석하여 준비하였다. 그 후 뇌절편을 PBST로 세척하고 실온에서 2시간 동안 2% normal rabbit serum을 함유하는 PBST로 200배 희석한 biotinylated rabbit anti-sheep serum (Vector Laboratories)에 반응시켰다. PBST로 3회 세척한 다음 뇌절편을 실온에서 2시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent (Vector Laboratories)에 담갔다. 그 후 PBS로 3-4회 행군 다음 뇌절편을 착색제(diaminobenzidine)로 발현시켰다.

염색이 완료된 뇌절편을 현미경하에서 VTA와 LC를 중심으로 100배 확대하여 조직사진을 촬영하였다. 조직사진에서 2×2cm의 정사각형을 그리고 그 영역에서 TH가 가장 많이 발현된 부위를 선택한 후 Scion Image Program을 사용하여 TH 발현 정도를 density로 측정하였다.

7) 統計分析

자료는 집단별 평균과 표준오차(SEM)로 나타내었다. 開放場에서 측정된 자료는 일원변량분석(one-way ANOVA)과 필요시 Duncan의 방법을 사용하여 개별 비교하였다. 수중미로의 학습성적은 반복측정하의 이원변량분석(two-way ANOVA with repeated measures)으로 처리하였고, 각 훈련회기에서 집단간 비교를 위한 단순 주효과 분석과 Duncan의 개별 비교를 실시하였다. 면역조직화학 자료의 분석에도 開放場과 동일한

방법을 적용하였다. 모든 통계분석에서 통계적 유의성을 판단하는 기준은  $p < .05$ 였다.

III. 實驗成績

1. Morris water maze 實驗成績

우울증 모형동물의 인지기능, 특히 학습 및 기억 능력에 黃連解毒湯이 어떤 영향을 미치는지를 알아보기 위해서 실시한 수중미로학습 성적을 Table II와 Figure 3에 나타내었다.

반복측정이 포함된 이원혼합설계 모형을 적용한 변량분석 결과, 훈련 회기의 집단간 차이[F(2, 33)=4.00,  $p < .05$ ]와 회기별 효과[F(3, 99)=61.16,  $p < .01$ ]에서 유의미한 차이가 발견되었으나, 집단×회기 상호작용 효과[F(6, 99)=2.02, NS]는 차이가 발견되지 않았다.

이 차이를 Duncan 방법을 이용하여 주효과를 분석한 결과 實驗群의 도피 잠재기는 對照群의 잠재기에 비해 유의미하게 짧은 것으로 나타났다. 그러나 두 번째 학습 회기에서부터 4번째 회기까지의 학습 성적은 집단간에 차이가 없었다.

5일째에 실시한 기억검사의 성적을 살펴보면 (Table II, Figure 3) 도피대가 있었던 목표영역에 머문 시간과 도피대가 있었던 지점을 통과한 횟수 모두에서 집단간 차이가 발견되지 않았다.

Table II.

Learning and Memory Scores Measured in the Training and Probe Sessions of MWM

Sessions	Normal	CMS-vehicle	CMS-drug	Comparisons	
Training	Day 1	41.00±2.91 <sup>1)</sup>	51.82±2.20	38.12±2.95	N=Cd<Cv
	Day 2	27.79±2.76	29.54±3.52	21.83±2.79	NS
	Day 3	19.75±2.77	22.14±3.24	17.29±2.51	NS
	Day 4	21.21±2.79	16.10±1.04	16.86±1.41	NS
Probe	Annulus	6.12±0.83 <sup>1)</sup>	5.79±1.02	6.83±0.83	NS
	Crossing	1.42±0.43 <sup>2)</sup>	1.92±0.42	1.33±0.33	NS

All values are Mean±SEM (unit: <sup>1)</sup>sec, <sup>2)</sup>frequency), n=12

NS: no significant difference

(Duncan's multiple range test, p <.05)

Normal: normal group without CMS

CMS-vehicle: group with CMS administered Water

CMS-drug: group with CMS administered Whangryonhaedoktang

Cv: CMS-vehicle, Cd: CMS-drug.

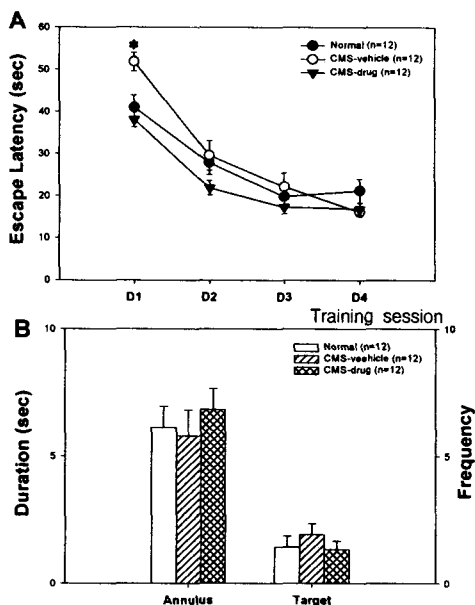


Figure 3.

Graph 'A' shows the learning curves in Morris water

maze. In the first session (D1), escape latency of Whangryonhaedoktang group was shorter than those of other two groups (Duncan's method, p<.05). Graph 'B' indicates two memory indices in the probe test, in which the escape platform was removed from the water tank. Annulus means the duration that animals stayed in a circle (40 cm in diameter) including the place where the escape platform was. Target means the frequency that rats passed the place where the escape platform was. Normal: normal group without CMS, CMS-vehicle: group with CMS administered Water, CMS-drug: group with CMS administered Whangryonhaedoktang.

## 2. 開放場에서의 活動性 測定 結果

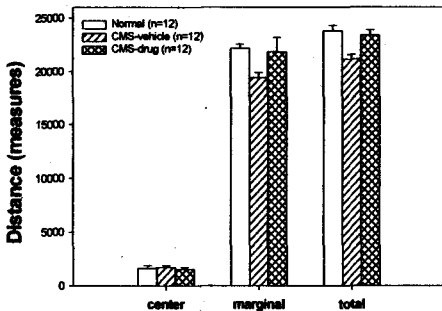
수중미로 학습에서는 對照群에서 학습 초기의 결함이 관찰되었고, 이 학습결함이 4주간의 黃連解毒湯의 투여에 의해 방지되었다. 이런 스트레스 처치 혹은 약물 투여의 효과가 동물의 활동성을 변화시켜 나타난 이차적인 것일 수도 있으므로 새로운 환경인 開放場에서의 활동성을 알아보

기 위한 開放場 검사의 집단별 성적을 아래의 Table III과 Figure 4에 제시하였다. 開放場 검사에서 관찰한 주변영역, 중심영역, 그리고 전체 영역을 동물이 보행한 거리를 세 집단을 대상으로 변량분석한 결과 주변영역, 중심영역, 그리고 전체 거리에서 모두 차이가 없었다.

**Table III.**  
**Locomotor Activities in Open Field Box Following CMS**

	Normal	CMS -vehicle	CMS -drug	Comparisons
Marginal area	22137.34	19417.80	21821.11	NS
	±411.87	±472.46	±1337.01	
Center area	1654.15	1730.50	1560.92	NS
	±251.39	±177.77	±171.52	
Total	23791.48	21148.30	23382.03	NS
	±510.80	±434.66	±503.00	

All values are Mean±SEM, n=12  
(unit : pixel measured by SmaTracker V 1.3 (SmarTech, USA))  
NS: no significant difference(Duncan's multiple range test, p<.05)  
Normal: normal group without CMS  
CMS-vehicle: group with CMS administered Water  
CMS-drug: group with CMS administered Whangryonhaedoktang



**Figure 4.** Locomotor activity in open field box. Data are expressed as Mean±SEM.  
Normal: normal group without CMS  
CMS-vehicle: group with CMS administered Water  
CMS-drug: group with CMS administered Whangryonhaedoktang

**3. TH 水準 測定 結果**

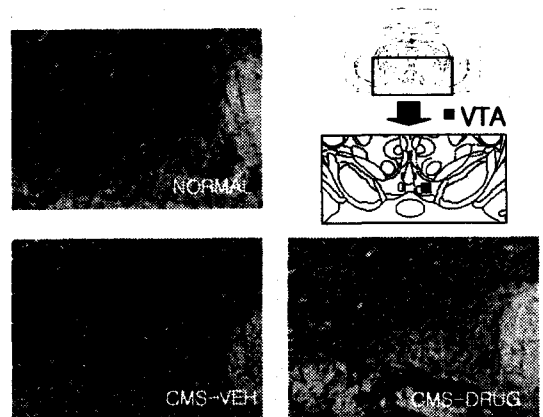
1) VTA에서 TH 水準 測定 結果

VTA에서 TH 수준 측정 결과를 Table IV와 Figure 5에 제시하였다. Table IV와 Figure 5에서 볼 수 있듯이 VTA에서 TH 수준은 다른 두 집단에 비해 만성 스트레스에만 노출된 對照群에서 현저히 높았다[F(2, 12)=15.163, p<.01]. 이 차이를 자세히 비교해보면 對照群 > 實驗群 = 正常群 순으로 분석된다(Duncan's method, p<.05).

**Table IV.**  
**Optical Density of Tyrosine Hydroxylase in VTA Following CMS Treatment**

	Normal	CMS-vehicle	CMS-drug
TH	61.90±5.03 <sup>a</sup>	92.93±4.95 <sup>b</sup>	66.65±2.33 <sup>a</sup>
Comparisons	N=Cd<Cv		

All values are Mean±SEM. Same letters in raw are not significantly different(Duncan's multiple range test, p<.05).  
Normal: normal group without CMS  
CMS-vehicle: group with CMS administered Water  
CMS-drug: group with CMS administered Whangryonhaedoktang  
Cv: CMS-vehicle, Cd: CMS-drug.



**Figure 5.** Tyrosine Hydroxylase in VTA following CMS treatment.  
Normal: normal group without CMS  
CMS-VEH: group with CMS administered Water  
CMS-DRUG: group with CMS administered Whangryonhaedoktang  
VTA: ventral tegmental area



2) LC에서 TH 水準 測定 結果

LC에서 TH 수준 측정 결과를 Table V와 Figure 6에 제시하였다. Table V와 Figure 6에서 볼 수 있듯이 LC에서 TH 수준은 다른 두 집단에 비해 만성 스트레스에만 노출된 對照群에서 현저히 높았다[F(2, 9)=5.86, p<.05]. 이 차이를 자세하게 비교해보면 對照群 > 實驗群 = 正常群 순으로 분석된다(Duncan's method, p<.05).

**Table V.**  
**Optical Density of Tyrosine Hydroxylase in LC Following CMS Treatment**

	Normal	CMS-vehicle	CMS-drug
TH	76.75±2.23 <sup>a</sup>	106.26±11.04 <sup>b</sup>	78.29±3.80 <sup>a</sup>
Comparisons	N=Cd<Cv		

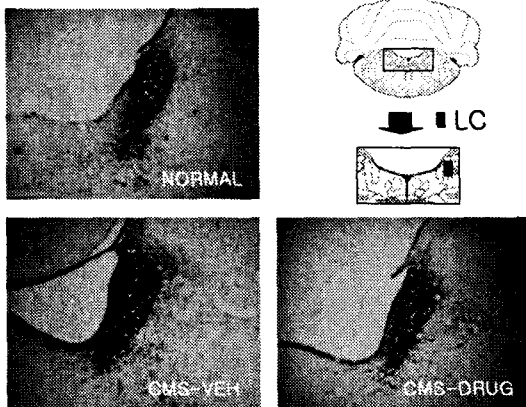
All values are Mean±SEM. Same letters in rows are not significantly different (Duncan's multiple range test, p<.05)

Normal: normal group without CMS

CMS-vehicle: group with CMS administered Water

CMS-drug: group with CMS administered Whangryonhaedoktang

Cv: CMS-vehicle, Cd: CMS-drug.



**Figure 6.** Tyrosine Hydroxylase in LC following CMS treatment.  
Normal: normal group without CMS  
CMS-VEH: group with CMS administered Water  
CMS-DRUG: group with CMS administered Whangryonhaedoktang  
LC: Locus coeruleus.

IV. 考察

憂鬱症은 憂鬱한 感情과 興味 혹은 기쁨의 喪失 등과 같이 人間의 病的狀況에서 일어나는 情緒의 病理現狀을 말하는 것으로 最近 社會가 복잡해지면서 精神科 領域에서 發病이 增加하고 있는 代表의 疾患이다<sup>43)</sup>. 韓醫學에서는 憂鬱症을 鬱症의 範疇에서 解釋하였는데 鬱이란 抑壓되고 沈鬱한 精神狀態로 因하여 모든 生理 機能이 沈滯되는 現狀이니, 發散시킬 수 없는 欲求不滿이나 持續되는 憂愁, 지나친 思慮나 悲嘆 등이 原因이 되는 수가 많다고 定義하고 있다<sup>44,45)</sup>.

鬱에 對하여 內經<sup>7)</sup>의 【素問·至眞要大論】에서 “諸氣臏鬱 皆屬于肺”라고 처음 소개되었고, 【素問·四運大論】, 【素問·氣交變大論】, 【素問·五常政大論】 등에서 氣候變化에 의한 鬱의 發病을 說明하였으며, 【素問·本病論】에서는 “久而化鬱”, “日久成鬱”, “抑之變鬱”, “伏之化鬱”이라 하여 氣機가 慢性的으로 疏通 되지 않고 舒暢, 通達되지 못한 상태라는 概念으로 鬱證을 說明하고 있다.

鬱症이 病因뿐만 아니라 病證으로서 제대로 認識되고 그 病機를 詳細하게 敍述한 것은 元시대 이후로, 朱<sup>10)</sup>는 ‘모든 병은 얻은 지 오래되면 鬱이 되고 鬱이 오래되면 蒸熱하여 반드시 火가 생긴다.’라고 하여 病機的으로 ‘鬱久化火’를 重視하였다. 明代의 王<sup>11)</sup>은 “鬱者燥淫爲病之別稱”, “諸氣沸鬱皆屬于肺”, “沸鬱屬熱” 등을 통하여 모든 鬱이 火로 轉化되는 病機를 說明하였고, 張<sup>8)</sup>은 【景岳全書·明集 雜證論·鬱證】에서 怒鬱, 思鬱, 憂鬱 등의 情志之鬱을 언급하면서 概念上으로는 憂鬱症을 包含하게 되었으며 病機上으로는 心과 관련시켜 說明하였다. 徐<sup>9)</sup>는 鬱證은 人體生理過程 중에 일어나는 機能的인 障病 及 病理的인 產物을 말하는 것이고, 憂鬱症은 精神的인 면에 있어서의 情緒의 病理 現狀을 말하는 것으로 그 概念은 서로 다르지만, 鬱證과 憂鬱症은 情志所傷과 생활, 環境적 스트레스 因子 등의 原因으로 인해 發生하고, 情緒的인 面과 身體的인 面에서 症狀이 나타나는 점에서 서로 類似하다고 하여 憂鬱症을 鬱證의 範圍에 包含하였다.

鬱證의 治法에 대하여 李<sup>46)</sup>는 順氣를 優先으로 하며 降火, 化痰, 消積의 治療를 兼한다고 하였고, 林<sup>47)</sup>은 開鬱은 理氣를 위주로 한다고 하였으며, 張<sup>48)</sup>은 鬱證을 肝氣鬱結, 氣鬱化火, 痰氣鬱結의 實證과 久鬱傷神, 陰虛火旺의 虛證으로 나누어 각각의 多樣한 症狀를 列舉하였는데, 實證과 虛證 모두에서 火에 의한 症狀를 記述하고 있고 徐<sup>9)</sup>는 鬱證의 治療로 順氣를 優先으로 하여 鬱結된 氣運을 풀어 주고 降火, 化痰, 消食 등의 治法을 사용할 수 있다고 하였다. 따라서 鬱證의 治法은 初期에는 氣機가 鬱滯되므로 이를 解消하기 위한 祛痰 또는 順氣의 方法이 사용되고, 鬱이 오래되어 氣血의 耗損을 가져오게 되면 補氣血하는 方法을 사용하기도 하나<sup>46)</sup>, “鬱久化火”의 病理機轉을 바탕으로 한다면 크게 順氣·祛痰·補氣血·清熱瀉火의 4가지로 大別된다고 할 수 있다. 既存의 憂鬱症 동물 실험에서 順氣를 爲主로 하는 分心氣飲<sup>22,23)</sup>과 補氣血을 目的으로 하는 補氣血安神湯<sup>27,28)</sup>, 古庵心腎丸去朱砂<sup>49)</sup> 및 歸脾湯<sup>26)</sup>, 祛痰을 目的으로 하는 遠志石菖蒲散<sup>29)</sup> 등이 이미 사용된 바가 있으나, 清熱瀉火와 관련된 研究는 없어, 本 研究에서는 臨床에서 清熱瀉火에 널리 사용되는 黃連解毒湯을 가지고 實驗에 臨하였다.

黃連解毒湯은 葛<sup>30)</sup>의 肘後備急方에 處方名 없이 傷寒時氣溫病方으로 收錄되었으며, 王<sup>50)</sup>의 外臺秘要에서 崔氏方으로 酒傷에 最初로 使用되었으며, 그 후 劉<sup>51)</sup>는 大金花丸이라 하였으며, 張<sup>8)</sup>은 解毒湯이라 하여 火證에 사용하였고 以後 一切 火證에 清熱瀉火解毒시키는 方劑로 이용되었다<sup>31)</sup>.

黃連解毒湯은 黃連 黃芩 黃柏 梔子로 구성되어 전체적인 藥性이 苦寒하며 歸經은 心, 肺, 肝, 大腸, 腎經의 順으로 入하고 清熱, 瀉火 등의 效能이 있는데 一切 火熱로 인해 유발된 狂躁煩心, 錯語不眠, 頭痛, 眩暈 驚悸, 中風, 消渴, 癰疽, 浮腫, 口燥咽乾 등의 症狀에 사용하는 경우가 많았다<sup>31,52)</sup>.

黃連解毒湯을 構成하고 있는 藥物의 本草學의 效能<sup>31,52,53,54)</sup>을 考察하면 黃連은 性味가 苦寒하며 心, 肝, 肺, 胃經에 入하고 心火 및 中焦火를 瀉하여 燥濕開鬱, 解渴除煩, 清心火, 解毒制痢, 腹痛心痛, 癰疽疥瘡, 疔毒 등의 主治를 가지며 抗菌, 抗原蟲, 抗真菌, 強壓作用, 利膽作用, 平滑筋弛緩作用 등의 藥理作用이 있다.

黃芩은 性味가 苦寒하며 心, 肺, 膽, 大腸, 小腸經에 入하고 肺熱을 清하며 上焦之火를 瀉하여 癰疽腹痛, 寒熱往來, 黃疸五淋血閉, 氣逆癰疽瘡瘍, 失血降痰, 酒炒即上行, 瀉肺火利胸中氣 등의 主治를 가지며 抗炎, 抗菌, 抗真菌, 解熱, 強壓, 對血脂血糖作用, 利膽作用, 解痙作用, 鎮靜作用 등의 藥理作用이 있다.

黃柏은 性味가 苦寒하며, 腎, 膀胱, 大腸經으로 入하고 下焦之火를 瀉하여 骨蒸勞熱, 陰虛生內熱 諸證, 諸痿癱瘓, 消渴黃疸, 水腫便閉, 水瀉熱痢, 治血腸風, 漏下赤白, 諸瘡瘍, 口瘡 殺蟲 등의 主治를 가지며 抗菌 抗真菌, 收斂 消炎, 血壓 血糖降下作用 血小板凝集抑制作用 등의 藥理作用이 있다.

梔子は 大苦大寒하며 心肝脾胃經에 入하고 三焦火를 瀉하여 衄血筋淋, 血痢之病以息, 心煩懊憹 不眠 五黃五淋, 瘡瘍 등의 主治를 가지며 解熱 黃疸消退 止血 抗菌 抗真菌 鎮靜 強壓 등의 藥理作用이 있다.

그간 黃連解毒湯에 대한 實驗의 研究를 通하여 杜<sup>33)</sup>는 penobarbital sodium의 睡眠時間 延長으로 鎮靜작용이 있음을, 鄭<sup>55)</sup>은 體溫 및 血壓降下作用이 있음을, 金<sup>56)</sup>은 血栓症 및 高粘度血症에 經口投與에 의해 效果가 있음을 報告하였고, 金<sup>57)</sup>은 降壓 및 高脂血症 抑制作用, 辛<sup>34)</sup>은 經口投與와 藥鍼施術群에서 각각 睡眠時間 延長 效果, 金<sup>58)</sup>은 鎮痛, 解熱 및 消炎에 藥鍼投與가 效果가 있다고 報告하고 있다. 또한 臨床 論文을 通하여 崔<sup>35)</sup>는 黃連解毒湯을 藥鍼投與하여 발병 6개월 이내의 中장년층 男性의 緊張性 頭痛에 優秀한 效果가 있음을 報告하였고, 劉<sup>36)</sup>는 黃連解毒湯 經口投與가 中風에 동반된 不眠時, 頭部熱感, 顔面紅潮, 胸悶煩燥, 口乾咽燥, 喜冷飲, 便秘, 舌紅, 脈實有力한 火熱證에 有效함을 報告하였고, 松橋<sup>32)</sup>는 兩極性 情緒障礙의 躁症狀態에서 體力이 實하거나 青年의 境遇에 黃連解毒湯이 多頻度로 使用된다고 報告하였다. 따라서 黃連解毒湯은 清熱瀉火하는 處方의 特性上, 慢性的인 스트레스를 받고 있는 狀況下에서 대처할 수 있는 能力을 높여주어 憂鬱症의 發病 豫防 및 發病 後의 煩燥狂亂, 心下煩悶, 狂言如見鬼, 慾起走, 錯語不眠 등의 火熱證의 精神症狀를 抑制할 수 있을 것으로 思料되었다.

抗憂鬱劑 개발과정에서 多樣한 憂鬱症 동물모

델이 개발되어 왔는데<sup>13-17)</sup> learned helplessness, behavioral despair, tail suspension, chronic mild stress(CMS), olfactory bulbectomy, differential reinforcement of low rate(DRL) behavior, conditioned place preference, intra-cranial self-stimulation(ICSS) 등이 있고, 최근에는 유전적으로 선택된 flinders sensitive line(FSL) 모델<sup>18)</sup>, 신생아기에 clorimipramine 처치를 한 neonatal CLI treatment 모델<sup>19)</sup>, 출생 후 모성박탈 모델<sup>20)</sup> 등이 있다.

스트레스를 주는 방법으로 foot-shock<sup>59,60)</sup>, 구속(restraint)<sup>61)</sup>, tail suspension<sup>62)</sup>, 강제보행<sup>63)</sup> 등의 강한 stress 자극을 주었으나最近에는 人間의 日常生活을 잘 模寫할 수 있는 輕微한 強度의 반복적인 스트레스를 利用하는 方法이 選好되고 있다. 그 중에서도 Willner가 제안한 CMS 모델<sup>64)</sup>은 人間이 日常生活에서 經驗할 수 있는 輕微한 스트레스를 加한다는 점과 실험동물이 豫測할 수 없게 스트레스를 加하여 습관화 현상(habituation)이 나타나지 않는 特徵<sup>21)</sup>이 있다. 또한 憂鬱症의 代表的 症狀이라고 할 수 있는 무쾌감증(anhedonia)<sup>1)</sup>으로 간주되는 자당용액(sucrose solution)의 攝取量 減少 및 힘든 상황에 露出되었을 때 벗어나려는 시도를 쉽게 포기하는 행동적 절망(behavioral despair)<sup>65)</sup>도 많이 보이는 長點이 있는 신뢰도와 타당도를 갖춘 憂鬱症 동물모델로서 認定받고 있어서<sup>66,67)</sup> 본 實驗에서 憂鬱症 모델로 採擇하였다.

스트레스에 대한 CMS 모델의 반응 樣相에 대한 最近의 報告들을 살펴보면, 무쾌감증<sup>1)</sup>으로 간주되는 자당 섭취의 減少는 아무런 處置를 하지 않을 경우, CMS 절차를 철회한 후에도 持續되는 것으로 알려져 있고<sup>64,68)</sup> 이는 음식이나 단맛에 대한 취향이나 섭취하는 행위(consummatory behavior)의 변동으로 誘發되기보다 음식이라는 보상(reward)에 대한 反應性이 低下되어 나타나는 것으로 報告되고 있다<sup>21,69)</sup>. CMS에 노출된 모델은 자당섭취감소 외에도 보행 활동량의 저하<sup>70)</sup>, 공격성이나 성행위의 감소<sup>71)</sup>, 명암주기(fragmentation) 변동<sup>72)</sup>, 체중증가의 抑制 및 코르티코스테론(corticosterone)유리 증가<sup>73)</sup> 등의 行動樣相을 나타낸다.

CMS의 무쾌감증<sup>1)</sup>의 神經生理學的 機轉은 동기

부여된 행동(motivated action)이나 보상작용(reward) 등에 관여하고 스트레스 반응에도 중요한<sup>74)</sup> 대뇌 도파민 신경계와 관련되어 說明되고 있다.

이에 著者は 黃連解毒湯이 憂鬱症에 미치는 豫防的 效果에 대해 연구하기 위하여, 憂鬱症 모델인 CMS처치를 하면서 黃連解毒湯을 投與하고, MWM 實驗을 통해 憂鬱症에 흔히 同伴되는 學習 및 記憶에 대한 評價를 하였다. 또 開放場을 이용하여 行動과 情緒 變化를 觀察하고, 腦의 여러 領域으로 dopamin (DA)성 投射를 하는 VTA와 norepinephrine(NE)를 방출하는 LC에서 각각의 物質 合成에 관여하는 주된 효소인 TH의 水準을 면역조직화학법을 利用하여 測定하였다.

韓醫學에서의 스트레스 理論은 人間을 自然에 對하여 小宇宙로 여기는 概念<sup>75)</sup>과 整體概念<sup>76)</sup>, 그리고 精神과 肉體의 不分離에 對한 思考인 身形不可離의 原則<sup>45)</sup>을 基本으로 한다. 外部環境的 要因에 해당하는 外因, 人體內部的 感情變化에 의한 內因 그리고 飲食, 疲勞, 毒蟲 및 外傷 등의 不內外因을 모두 스트레스인자(stressor)로 본다<sup>77)</sup>. 이러한 病因들이 人體의 陰陽平衡을 變造시켜 疾病을 發生하므로 治療方法에 있어서도 이미 變造가 일어난 狀態의 矯正 뿐만 아니라 變造를 일으키는 過程을 遮斷하여 疾病의 豫防을 重視하고 있다<sup>78)</sup>. 이런 점에서 憂鬱症 모델 쥐를 만든 후 韓藥物의 投與를 통해 그 有效性을 評價하던 既存의 研究들<sup>22-28)</sup>과 다르게, 본 實驗에서는 鬱久化火의 病理機轉과 연관되어 治未病의 觀點에서 接近하여 CMS 過程 中에 黃連解毒湯을 投與하고 CMS 初期의 憂鬱狀態를 評價하여 豫防的 抗憂鬱 效果與否를 評價하려 하였다.

一般的으로 CMS 모델을 사용한 實驗에서는 憂鬱症에 대한 指標로 자당 섭취량이 測定되었는데<sup>64,68)</sup>, 最近에 자당 섭취량의 減少가 음식과 물의 剝奪로 誘發되는 體重 減少와 關係가 있다는 보고<sup>79,80)</sup>와 자당 섭취량의 減少가 아무런 處置를 하지 않을 경우, CMS 절차를 撤回하고 난 후에도 수주간 持續되어<sup>64,68)</sup> 初期過程 中에 狀態를 評價하는데 어려움이 있다. 또한 憂鬱症 환자들은 즐거움 또는 쾌락을 추구하는 성향이 減少되는 氣分障礙와 함께 주의집중이나 學習 및 記憶能力과 같은

認知的 缺陷이 나타나는데<sup>181)</sup>, 우울한 사고가 간접 요인이 되거나<sup>82)</sup>, 認知的 勞力을 持續的으로 경주하지 못하거나<sup>83,84)</sup> 동기가 저하된<sup>85)</sup> 것으로 보거나 생체합성아민계 신경전달물질의 不足에 의한 神經生物學的 機能異常으로 惹起되는 것으로 보고 있다.

本 研究에서는 CMS 동물을 對象으로 空間學習 能力과 記憶能力을 알아보기 위해서 인지실험모델로 일반적으로 널리 사용되고<sup>86,87)</sup> 憂鬱症과 관련된 研究에서도 이미 사용된 바가 있는<sup>83,88)</sup> MWM 實驗을 通하여 憂鬱症에 흔히 동반되는 學習 및 記憶에 대한 評價를 하였고 開放場을 이용하여 行動과 情緒의인 變化를 觀察하였다.

5일간의 MWM 실험을 하고 이원 반복측정 변량분석을 실시한 결과 각 군의 훈련 회기의 집단간 차이 [F(2, 33)=4.00, p<.05]와 회기별 효과[F(3, 99)=61.16, p<.01]에서 유의미한 차이가 발견되었으나, 이 둘간의 상호작용효과는 관찰되지 않았다.

이 차이를 Duncan 방법을 이용하여 회기별로 주 효과를 분석한 결과 첫 번째 학습 회기에서의 성적은 黃連解毒湯이 투여된 實驗群의 도파 잠재기는 對照群의 잠재기에 비해 유의하게(p<0.05) 짧았으며 正常群과는 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 두 번째 학습 회기에서부터 4번째 회기까지의 학습 성적은 집단간에 차이가 없었다. 5일째에 실시한 기억검사의 성적을 살펴보면 도파대가 있었던 목표영역에 머문 시간과 도파대가 있었던 지점을 통과한 횟수 모두에서 집단간 차이가 발견되지 않았다. 이는 4주간의 CMS 처치가 학습 초기에서의 학습을 지체시킨다는 것을 의미하며 이런 CMS 처치에 의해 유발되는 학습지체가 黃連解毒湯에 의해 억제될 수 있음을 의미한다.

한편 CMS의 신경생리학적 기전으로 도파민 외에도 신경펩타이드로 CMS에 노출된 실험동물에서 측핵 부위에서 met-enkephalin의 감소<sup>89)</sup>와 bed nucleus of the stria terminalis(BNST)부위에서 CRF가 증가<sup>90)</sup>하는 것과 이로 인한 실험동물에서 불안반응이 유발될 가능성<sup>91,92)</sup>이 있으며 본 연구에서의 학습능력지체가 불안반응에 의한 2차 적인 행동효과일 수 있으므로 이에 대한 검증이 필요하다.

MWM실험에서는 對照群의 學習 初期의 缺陷이

觀察되었고, 이 學習缺陷이 4주간의 黃連解毒湯의 投與에 의해 防止되었다. 이런 스트레스 處置 혹은 藥物 投與의 效果가 동물의 活動性을 變化시켜 나타난 二次的인 것일 수도 있으므로 새로운 환경인 開放場에서의 活動性을 알아보기 위한 開放場 檢査를 시행하였다.

開放場<sup>38,39)</sup>은 동물의 불안상태를 알아보는 매우 간단한 절차로, 흰쥐를 새롭고 넓은 공간에 내보낸 후 일정기간 동안 이들이 보이는 다양한 활동을 관찰한다. 開放場 活動은 크게 탐색활동(exploration activity)과 공포반응으로 區分되는데, 보행활동(locomotion)과 냄새맡기(sniff), 앞발 들고 서기(rearing)등의 행동은 탐색활동으로 분류되며, 동결반응(freezing), 몸치장행동(grooming), 배설행동(defaecation)등은 공포반응의 지표로 사용된다.

스트레스에 대한 개체의 반응의 양상에 대한 보고들을 살펴보면, 한번의 단일한 또는 급성의 스트레스 경험의 경우에는, 단기간 지속되거나(short lasting), 장기간 지속되더라도 통제할 수 있는(long lasting controllable) 경험에서는 탐색행동(exploration)이 증가하고<sup>93)</sup>, 도파민 분비가 증가한다는 보고<sup>94)</sup>가 있고 이러한 경험이 장기간 지속되면서 피할 수 없게(long lasting unavoidable) 되면 탐색행동과 탈출행동(escape)이 줄어들고<sup>95)</sup> 도파민 분비가 감소하는 양상을 보인다는 보고가 많다<sup>96,97)</sup>. 비교적 불특정한 탐색행동이라 할 수 있는 보행활동은 운동협응(motor coordination)의 방해로 인해 증가되는 수도 있어 開放場에서의 행동이 단순히 특정한 내적 상태를 반영하는 것이 아니라 여러 가지 요인에 영향을 받을 수 있다는 단점이 있으나, 다양한 행동들은 불안이나 공포와 같은 정서상태를 특정하고자 하는 데 가장 분명하고 직접적인 자료를 제공할 수 있다<sup>38)</sup>.

本 研究의 開放場 실험에서 주변영역, 중심영역 및 전체 영역을 동물이 보행한 거리를 세 집단을 대상으로 변량 분석한 결과 활동성 측정에서는 주변영역, 중심영역 및 전체 영역에서 모두 차이가 없었다.

이는 만성적인 스트레스에 노출된 동물과 黃連解毒湯을 처치한 동물이 정상 동물과 비교하여 활동성에 변화가 없음을 의미한다. 또한 주변 영역과

중심영역을 보행한 거리에도 통계적으로 유의미한 차이가 없으므로 만성 스트레스 및 黃連解毒湯의 처치가 동물의 情緒에도 影響을 미치지 않았음을 보여준다.

동물이 스트레스 조건에 노출되면 그에 대한 적응반응의 일환으로 DA와 NE을 비롯한 catecholamine 체계가 활성화되어 DA의 이용율(utilization)과 전환율(turnover rate)이 증가됨에 따라 DA의 수준은 감소되는 현상<sup>59)</sup>이 나타난다. 또한 스트레스에 대한 반응으로 주의집중, 각성 및 행동적 반응을 위한 NE의 증가가 관찰된다<sup>41,98)</sup>. 따라서 本 研究에서는 腦의 여러 領域으로 DA성 投射를 하는 VTA와 NE를 放出하는 LC에서 각각의 물질 합성에 關與하는 주된 효소인 TH의 수준을 면역조직화화법을 이용하여 측정하였다.

TH는 L-tyrosine, L-dopa, dopamine, norepinephrine, epinephrine으로 진행되는 카테콜아민 대사의 첫 번째 과정에서 사용되는 효소<sup>99)</sup>로 憂鬱症에서 흔히 제안되고 있는 신경생물학적인 병인 중의 하나인 단가아민의 결핍에 관련되어, 도파민계 대사를 평가하고자 관찰되어지는 지표의 하나이다<sup>40,100-102)</sup>.

LC 및 VTA에서 TH와 관련된 선행연구들에서 Ortiz<sup>102)</sup>는 CMS 처치 후 VTA에서 TH의 면역반응이 증가하였다고 하였고, Wang<sup>40)</sup>은 2주간의 강제보행스트레스를 받은 憂鬱症 모델 쥐의 LC에서 TH mRNA의 표현이 증가하였다고 하였으며, Serova<sup>42)</sup>는 FSL 쥐에서 VTA에서 TH mRNA 수치가 기저수치보다 2배 이상 높다고 하여 憂鬱症 모델에서는 도파민계가 과항진 되어 있다고 보고하였고, 玄<sup>29)</sup>은 4주간의 CMS 처치가 VTA에서 TH 면역 발현을 증가시킨다고 하였다. Komori<sup>101)</sup>는 FRS(short-term forced running stress)를 이용한 실험에서 단기스트레스 상황에서는 LC 영역의 TH 활동성이 증가하고, 憂鬱症 양상의 상황에서는 감소함을 보고하여 스트레스의 종류와 강도, 그리고 개체 반응의 다양성 등에 의한 차이의 가능성을 제시하였다.

本 實驗에서 VTA에서 TH 수준은 正常群 및 實驗群에 비해 對照群에서 현저히 높았다[F(2, 12)=15.163, p<.01]. 이 차이를 Duncan's method로 비교해보면 對照群 > 實驗群 = 正常群으로 분석

된다(p<.05). 이는 黃連解毒湯이 만성 스트레스의 노출에 의한 VTA의 TH 발현을 현저하게 억제하는 것을 의미한다. 기존의 TH 발현을 관찰한 遠志石菖蒲散<sup>29)</sup>의 보고에도 TH 발현의 抑制가 관찰되었으나, 玄<sup>29)</sup>의 報告에서는 遠志石菖蒲散 投與群이 正常群과 유의한 차이를 보여 본 실험의 黃連解毒湯이 TH 발현을 보다 강력하게 억제할 수 있다고 간접적으로 비교할 수 있다.

한편 LC에서 TH 水準을 測定한 結果는 VTA의 結果와 同一한 樣相을 보였는데 LC에서 TH 수준은 다른 두 집단에 비해 만성 스트레스에만 노출된 對照群에서 현저히 높았다[F(2, 9)=5.86, p<.05]. 다시 이 차이를 Duncan's method로 분석해 보면 對照群 > 實驗群 = 正常群으로 분석된다(p<.05). 이 結果는 만성 스트레스에 노출되면 VTA 및 LC에서 TH 수준이 현저히 증가되어 Wang과 Komori의 보고와 일치함을 의미하며 스트레스를 가하는 동안에 黃連解毒湯을 투여하면 이런 TH의 증가가 억제됨을 보여준다.

이러한 結果들은 黃連解毒湯의 神經生理學的 抗憂鬱 效果는 대부분의 항우울제들과 비슷하게 도파민계와 관련되어서 나타나고 있음과 스트레스에 의한 憂鬱症 誘發 抑制 效果가 있음을 보여준다고 하겠다.

결과들을 종합하면 CMS 處置는 開放場 實驗에서 情緒性과 活動性에 影響을 미치지 않았고, MWM 實驗에서 初期의 學習遲滯를 惹起시켰으며, 黃連解毒湯은 이러한 學習遲滯에 대한 豫防的 抗憂鬱 效果가 있었으며 스트레스에 대응하는 체계인 VTA 및 LC의 도파민계 신경 발현을 有意하게 抑制하였다. 韓醫學的 觀點에서 考察한다면 淸熱瀉火의 安心作用을 가진 黃連解毒湯이 鬱久化火의 病機로 鬱證을 誘發하는 過程을 抑制한다고 思料된다.

本 研究를 통하여 著者는 行動實驗 및 면역조직학적 方法을 통해 黃連解毒湯의 憂鬱症 誘發抑制 效果를 檢證하였으나, 향후 抗憂鬱劑 및 憂鬱 豫防劑 開發을 爲하여 治療의 效能의 檢證과 藥物 자체의 配合 및 用量 등의 比較를 통한 深度있는 檢證도 必要할 것으로 思料되며, 이후 持續적인 臨床의 研究도 補完되어야 할 것으로 思料된다.

## V. 結論

憂鬱症에 對한 黃連解毒湯의 效能을 研究하기 위하여 4주간의 CMS로 誘導한 憂鬱症 모델 흰쥐의 正常群, 對照群 및 黃連解毒湯 實驗群에서 MWM 實驗으로 行動變化를 觀察하고, 開放場에서 活動性과 情緒性을 觀察하였으며, VTA와 LC에서 TH 水準을 면역조직화학법을 利用하여 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. CMS 處置過程은 Morris water maze 實驗 結果 學習 初期過程에 缺陷을 일으켰다.

2. 黃連解毒湯 實驗群은 Morris water maze에 서 제 1일째에 실시한 記憶檢査에서 對照群보다 有意하게 도피잠재기가 짧게 나타났고, 제 2일부 터는 모든 집단에서 차이가 나지 않았다.

3. 黃連解毒湯 實驗群 및 對照群은 開放場 실험에서 正常群과 비교하여 活動性 및 情緒性에 차이가 없었다.

4. 黃連解毒湯 實驗群은 對照群에 비하여 VTA와 LC에서 TH 발현을 유의하게 억제하였다.

이러한 결과들은 黃連解毒湯이 慢性的 스트레스로 인한 憂鬱症의 發生을 防止할 수 있고, 初期에 發生되는 學習의 遲滯에도 豫防의 效果가 있음을 보여준다.

## 參 考 文 獻

1. American Psychiatric Association. Diagnostics and statistical manual of mental disorders (4th Edition). Washington DC:American Psychiatric Association. 1994:317-328.
2. 이부영. ICD-10 精神 및 行態障碍. 서울:一潮閣. 1994:150-155.
3. 민성길. 最新精神醫學. 서울:一潮閣. 1998:206-219, 586-591.
4. 李吉才, 姜允皓. 鬱證에 대한 文獻的 考察 (治法을 中心으로). 東西醫學. 1995;20(1):46-55.
5. 田炳薰, 鄭遇悅. 鬱證의 病因·病證 分類에 關한 文獻的 考察. 大韓韓醫學會誌. 1986;7(2):219-227.
6. 鄭대규, 서부일, 권순주. 鬱證에 對한 文獻的 考察 (症治를 中心으로). 濟韓東醫學術院 論文集. 1993;4(1):500-508.
7. 洪元植 編. 精校黃帝內經素問. 서울:東洋醫學研究院. 1981:277, 282, 288-289, 303-304.
8. 張介賓. 景岳全書. 서울:정담. 1999:385-386, 692, 1150.
9. 徐元熙, 李相龍. 鬱症과 憂鬱症의 比較考察. 大田大學校 韓醫學研究所 論文集. 1997;6(1):505-514.
10. 朱震亨. 丹溪心法附餘. 서울:大星文化社. 1982:515-527.
11. 王肯堂. 證治準繩. 서울:成輔社. 1982:100-103.
12. 송필정. 鬱症에 대한 文獻的 考察. 동의정신과학회지. 1995;6(1):107-113.
13. Overmeier JB, Seligman MEP. Effects of inescapable shock upon subsequent escape and avoidance learning. Journal of Comparative and Physiological Psychology. 1967;78:946-948.
14. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment. Nature. 1977;266:730-732.
15. Porsolt RD. Animal models of depression: utility for transgenic research. Rev.

- Neurosci.. 2000;11(1):53-58.
16. Willer P. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*. 1984;83:1-16.
  17. Barrette RJ, White DK. Reward system depression following chronic amphetamine : Antagonism by haloperidol. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1980;13:555-559.
  18. Yadid G, Nakash R, Deri I, Tamar G, Kinor N, Gispan I, Zangen A. Elucidation of the neurobiology of depression: insights from a novel genetic animal model. *Prog. Neurobiol.* 2000;62(4):353-378.
  19. Vogel G, Hagler M, Hennessey A, Richard C. Dose-dependent decrements in adult male rat sexual behavior after neonatal clorimipramine treatment. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1996;54(3):605-609.
  20. Rots NY, de Jong J, Workel JO, Levine S, Cools AR, De Kloet ER. Neonatal maternally deprived rats have as adults elevated basal pituitary-adrenal activity and enhanced susceptibility to apomorphine. *J. Neuroendocrinol.* 1996;8(7):501-506.
  21. 신경호: 우울증의 실험모델과 항우울제의 선택. *대한정신약물학회지*. 2001;11(4):291-303.
  22. 李升基. 憂鬱症誘發 白鼠에 대한 分心氣飲의 抗憂鬱 效果. 慶熙大學校 大學院. 2000.
  23. 李娃恩. Chronic Mild Stress로 유발된 憂鬱症 모델 흰쥐에 대한 分心氣飲의 實驗的 研究. 慶熙大學校 大學院. 2000.
  24. 趙忠勳. 歸脾溫膽湯의 Chronic Mild Stress로 유발된 憂鬱症 모델 흰쥐에 대한 實驗的 研究. *대한신심스트레스학회지*. 2000;8(1):9-16.
  25. 申倫周. 憂鬱症 모델 흰쥐에 대한 歸脾溫膽湯의 實驗的 研究. 慶熙大學校 大學院. 2000.
  26. 李貞雅. Chronic Mild Stress로 誘發된 憂鬱症 모델 흰쥐에 대한 歸脾湯의 實驗的 研究. *동의신경정신과학회지*. 2001;12(1):123-135.
  27. 林承萬. Chronic Mild Stress로 유발된 憂鬱症 모델 흰쥐에 대한 補血安神湯의 實驗的 研究. 慶熙大學校 大學院. 2001.
  28. 池相垠, 김종우, 황의완, 김현택, 박소영, 김민정. 憂鬱症誘發 흰쥐에 對한 補血安神湯의 抗憂鬱效果. *대한심신스트레스학회지*. 2001;9(1):15-32.
  29. 玄炘徹. 遠志石菖蒲散이 CMS를 받은 흰쥐의 憂鬱, 學習 그리고 腦의 TH 및 c-FOS 발현에 미치는 영향. 慶熙大學校 大學院. 2002.
  30. 葛洪. 肘後備急方. 台北:集文書局. 1978:38-39.
  31. 王昂. 醫方集解. 台北:文光圖書有限公司. 1983:290-291.
  32. 松橋俊夫. 韓方による 精神科治療. 東京:金剛出版社. 1988:56-84.
  33. 杜鎬京. 黃連解毒湯의 藥理學的 研究. 경희대학교 대학원. 1981.
  34. 辛吉祚. 黃連解毒湯 藥針製劑의 安定性 및 效能에 關한 研究. 경희대학교 대학원. 1994.
  35. 최은규, 구병수. 黃連解毒湯藥針의 機能性 頭痛 治療效果에 대한 臨床的 考察. *동의신경정신과학회지*. 2000;11(1):75-96.
  36. 류순현, 양대진, 조기호, 김영석. 黃連解毒湯 加味方으로 호전시킨 中風患者 不眠症 3례. *대한한의학회지*. 2001;22(2):120-127.
  37. Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S. The use of the Morris Water Maze in the study of memory and learning. *Int. J. Neurosci*. 1989;48(2):29-69.
  38. Walsh R, Cummins R. The Open-Field Test:A Critical Review. *Psychological Bulletin*. 1976;83(3):482-504.
  39. Simon P, Soubrie P. Behavioral studies to differentiate anxiolytic and sedative activity of the tranquilizing drugs. In *Modern Problems of Pharmacopsyciatry*. 1979;14:99-143.
  40. Wang P, Kitayama I, Nomura J. Tyrosine hydroxylase gene expression in the locus coeruleus of depression-model rats and rats exposed to short-and long-term forced walking stress. *Life Sci.* 1998;62(23):2083-2092.
  41. Sands SA, Strong R, Corbitt J, Morilak

- DA. Effects of acute restraint stress on tyrosine hydroxylase mRNA expression in locus coeruleus of Wistar and Wistar-Kyoto rats. *Molecular Brain Research*. 2000;75:1-7.
42. Serova L, Sabban EL, Zangen A, Overstreet DH, Yadid G. Altered gene expression for catecholamine biosynthetic enzymes and stress response in rat genetic model of depression. *Brain Res. Mol. Brain Res.*. 1998;63(1):133-138.
43. 李定均. 精神醫學. 서울:一潮閣. 1996:212-256.
44. 金相孝. 東醫神經精神科學. 서울:杏林出版社. 1980:152-154.
45. 黃義完, 金知赫. 東醫精神醫學. 서울:現代醫學書籍社. 1987:38-39, 471-487, 576-582, 608-611.
46. 李用粹. 證治彙補. 臺北:旋風出版社. 1976:107-113.
47. 林佩琴. 類證治裁. 臺北:旋風出版社. 1978:181-198.
48. 趙尚華. 張子琳醫療經驗選集. 山西:山西人民出版社. 1986:88-91.
49. 김중찬. 憂鬱症 모델 흰쥐의 水中迷路學習과 VTA의 TH 水準에 대한 古庵心腎丸去朱砂方의 효과. 경희대학교 대학원. 2002.
50. 王燾. 外臺秘要方. 서울:대성문화사. 1992:47.
51. 劉完素. 劉河間三六書. 서울:성보사. 1968:198.
52. 윤길영. 동의방제학. 서울:고문사. 1971:81.
53. 李尙仁. 本草學. 서울:修書院. 1981:495-496, 501-509.
54. 이영중. 한방제제의 歸經·八綱. 서울:일증사. 1981:33.
55. 鄭遇悅. 黃連解毒湯 엑기스가 家兔의 體溫 및 血壓에 미치는 影響. 대한동의병리학회지. 1988;3(1):5-8.
56. 김영식. 血栓症 및 高粘度血症에 대한 當歸飲과 黃連解毒湯의 실험적 비교연구. 경희의학. 1991;7(3):322-331.
57. 김은선, 박치상, 박창국. 黃連解毒湯과 溫清飲이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 影響. 대한한학회지. 1999;20(1):185-196.
58. 김광호, 김성수. 黃連解毒湯과 溫性瘀血方의 水鍼 및 經口投與가 鎮痛, 消炎, 解熱作用에 미치는 影響. 대한한학회지. 1994;15(1):9-25.
59. Herman JP, Guillonneau D, Dantzer R, Scatton B, Semerdjian-Rouquier L, Le Moal M. Differential effects of inescapable footshocks and of stimuli previously paired with inescapable footshocks on dopamine turnover in cortical and limbic areas of the rat. *Life Sci.*. 1982;30(25):2207-2214.
60. Beck CH, Fibiger HC. Chronic desipramine alters stress-induced behaviors and regional expression of the immediate early gene, c-fos. *Pharmacol. Biochem. Behav.*. 1995;51(2-3):331-338.
61. Hann MK, Bannon MJ. Stress-induced c-fos expression in the rat locus coeruleus is dependent on neurokinin 1 receptor activation. *Neuroscience*. 1999;94(4):1183-1188.
62. Thierry B, Steru L, Simon P, Porsolt RD. The tail suspension test: ethical considerations. *Psychopharmacology (Berl)*. 1986;90(2):284-5.
63. Nakase S, Kitayama I, Soya H, Hamanaka K, Nomura J. Increased expression of magnocellular arginine vasopressin mRNA in paraventricular nucleus of stress-induced depression-model rats. *Life Sci.*. 1998;63(1):23-31.
64. Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressants. *Psychopharma*. 1987;93:358-364.
65. 김광호. 遠志石菖蒲散이 Chronic Mild Stress 처치 흰쥐의 憂鬱과 學習障礙에 미치는 影響. 경희대학교 대학원. 2001.
66. Geyer MA, Markou A. Animal models of psychiatric disorders In: Bloom FE, Kupfer



- DJ eds. Psychopharmacology: the fourth generation of progress. New York:Raven Press. 1995:787-789.
67. Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl)*. 1997;134(4):319-329.
68. Muscat R, Towell A, Willner P. Changes in dopamine autoreceptor sensitivity in an animal model of depression. *Psychopharmacology (Berl)*. 1988;94(4):545-50.
69. Papp M, Willner P, Muscat R. An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress. *Psychopharmacology (Berl)*. 1991;104(2):255-9.
70. Gorka Z, Moryl E, Papp M. Effect of chronic mild stress on circadian rhythms in the locomotor activity in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1996;54(1):229-34.
71. D'Aquila PS, Brain P, Willner P. Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression. *Physiol. Behav.* 1994;56(5):861-7.
72. Cheeta S, Ruigt G, van Proosdij J, Willner P. Changes in sleep architecture following chronic mild stress. *Biol. Psychiatry*. 1997;41(4):419-27.
73. Ayensu WK, Pucilowski O, Mason GA, Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS. Effects of chronic mild stress on serum complement activity, saccharin preference, and corticosterone levels in Flinders lines of rats. *Physiol. Behav.* 1995;57(1):165-9.
74. Pani L, Porcella A, Gessa G. The role of stress in the pathophysiology of the dopaminergic system. *Mol. Psychiatry*. 2000;5(1):14-21.
75. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:南山堂. 1986:86-105.
76. 大韓東醫生理學會 編. 東醫生理學. 서울:경희대학교출판국. 1983:21, 83.
77. 文潛典, 安圭錫, 崔昇勳. 東醫病理學. 서울:高文社. 1990:13-27.
78. 김종우. 한의학적 관점에서 본 STRESS. *경희의학*. 1997;13(3):252-258.
79. Nielsen CK, Arnt J, Sanchez C. Intracranial self-stimulation and sucrose intake differ as hedonic measures following chronic mild stress: interstrain and interindividual differences. *Behav. Brain Res.* 2000;107(1-2):21-33.
80. Reid I, Forbes N, Stewart C, Matthews K. Chronic mild stress and depressive disorder: a useful new model?. *Psychopharmacology (Berl)*. 1997;134(4):365-367.
81. Golinkoff M, Sweeney JA. Cognitive impairments in depression. *J. Affect Disord*. 1989;17(2):105-12.
82. Miller WR. Psychological deficit in depression. *Psychology Bulletin*. 1975;82:238-260.
83. Wrenn CC, Crawley JN. Pharmacological evidence supporting a role for galanin in cognition and affect. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2001;25(1):283-299.
84. Weingarter H. Psychobiological determinants of memory failures, In N. Butters. L. Squires(Ed). *Neuropsychology of Memory*. New York:Guilford. 1984.
85. McAllister TW. Cognitive functions in the affective disorders. *Comparative Psychiatry*. 1981;22:572-586.
86. Gusev PA, Alkon DL. Intracellular correlates of spatial memory acquisition in hippocampal slices: long-term disinhibition of cal pyramidal cells. *J. Neurophysiol.* 2001;86(2):881-899.
87. Kamal A, Biessels GJ, Duis SE, Gispen WH. Learning and hippocampal synaptic

- plasticity in streptozotocin-diabetic rats: interaction of diabetes and ageing. *Diabetologia*. 2000;43(4):500-506.
88. Koroleva VI, Korolev OS, Mares V, Pastalkova E, Bures J. Hippocampal damage induced by carbon monoxide poisoning and spreading depression is alleviated by chronic treatment with brain derived polypeptides. *Brain Res.* 1999;816(2):618-627.
89. Dzedzicka-Wasylewska M, Papp M. Effect of chronic mild stress and prolonged treatment with imipramine on the levels of endogenous Met-enkephalin in the rat dopaminergic mesolimbic system. *Pol. J. Pharmacol.* 1996;48(1):53-6.
90. Stout SC, Mortas P, Owens MJ, Nemeroff CB, Moreau J. Increased corticotropin-releasing factor concentrations in the bed nucleus of the stria terminalis of anhedonic rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2000;401(1):39-46.
91. Davis M, Walker DL, Lee Y. Amygdala and bed nucleus of the stria terminalis: differential roles in fear and anxiety measured with the acoustic startle reflex. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1997;352(1362):1675-87.
92. Davis M, Walker DL, Lee Y. Roles of the amygdala and bed nucleus of the stria terminalis in fear and anxiety measured with the acoustic startle reflex. Possible relevance to PTSD. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1997;821:305-31.
93. Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1981;5(2):247-251.
94. Cabib S, Puglisi-Allegra S. Stress, depression and the mesolimbic system. *Psychopharmacology*. 1996;128:331-342.
95. Zacharko RM, Anisman H. Stressor-induced anhedonia and the mesocorticolimbic system. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1991;15:391-405.
96. Rossetti ZL, Lai M, Hmadan Y, Gessa GL. Depletion of mesolimbic dopamine during behavioral despair: partial reversal by chronic imipramine. *Eur. J. Pharmacol.* 1993;242:313-315.
97. Cabib S, Puglisi-Allegra S. Genotype-dependent effects of chronic stress on striatal and mesolimbic dopamine metabolism in response to apomorphine. *Brain Res.* 1995;564:92-96.
98. Smith MA, Brady LS, Glowa J, Gold PW, Herkenham M. Effects of stress and adrenalectomy on tyrosine hydroxylase mRNA levels in the locus coeruleus by in situ hybridization. *Brain Research*. 1991;544:26-32.
99. Beitner-Johnson D, Guitart X, Nestler 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):2165-2176.
100. 김용주, 김지윤, 김동선, 조희중, 배용철, 박매자. 흰쥐 척수 및 등뿌리신경절에서 Tyrosine Hydroxylase 함유구조물의 분포. 대한해부학회지. 1997;30(2):147-153.
101. Komori T, Nomura J, Inoue K, Kitayama I. Tyrosine hydroxylase activity in discrete brain regions of depression model rats. *Jpn. J. Psychiatry Neurol.* 1990;44(4):747-754.
102. 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):443-452.