

원저

人蔘 藥鍼이 에탄올 중독 흰쥐의 해마에서 *c-fos* 생성에 미치는 영향

김민수 · 이은용

세명대학교 한의과대학 침구과교실

Abstract

Effects of *Panax ginseng Radix* herb-acupuncture on *c-fos* expression in the hippocampus of ethanol-intoxicated Sprague-Dawley rats

Kim Min-soo and Lee Eun-yong

Department of Acupuncture & Moxibustion,
College of Oriental Medicine Se-Myung University

Objective : The purpose of this study is to investigate the effect of *Panax ginseng Radix* herb-acupuncture on *c-fos* expression in each area of the hippocampus of acutely ethanol-intoxicated rats.

Methods : Twenty-four male Sprague-Dawley rats were divided into untreated(normal), ethanol-treated(control), *Panax ginseng Radix*-treated(sample A), ethanol-and *Panax ginseng Radix*-treated(sample B) groups. Each group was evaluated by the changes of *c-fos-positive* neurons in each area of the hippocampus by using an image analyzer and microscope.

Results :

1. In the CA1 area, the number of *c-fos-positive* neurons in the control group was diminished compared with the normal group. The number of *c-fos-positive* neurons in the sample B group had no marked difference from the control group.
2. In the CA2-3 area, the number of *c-fos-positive* neurons in the control group was diminished compared with the normal group. The number of *c-fos-positive* neurons in the sample B group was increased compared with the control group.

· 접수 : 2003년 4월 30일 · 수정 : 2003년 5월 10일 · 채택 : 2003년 5월 17일
· 교신저자 : 이은용, 충북 제천시 신월동 세명대학교 부속 한방병원 침구과
Tel. 043-649-1816 E-mail : acupley@netian.com

3. In the Dentate gyrus area, the number of *c-fos*-positive neurons in the control group was diminished compared with the normal group. The number of *c-fos*-positive neurons in the sample B group was increased compared with the control group.

Conclusions : These results indicate that, *c-fos* expression in each area of the hippocampus was reduced in ethanol-intoxicated group. Treatment of *Panax ginseng Radix* herb-acupuncture increased this diminution. *Panax ginseng Radix* could be able to effect on the prevention of the amnesia and learning disability in alcoholism.

Key words : hippocampus, ethanol, *Panax ginseng Radix*, *c-fos*

I. 서 론

에탄올은 술의 주성분으로서 오래 전부터 기호 음료로서의 역할을 해오고 있다. 에탄올의 장기간 내지 과도한 섭취는 신체적 및 정신적 건강에 악영향을 미치게 된다. 이에 대한 연구도 의학, 사회학, 범죄학 등 여러 분야에서 진행되어왔다. 에탄올은 간장, 심장, 위장관 등의 장기 뿐만 아니라 중추 및 말초 신경 양측에 손상을 일으키게 된다¹⁾.

기억은 학습에 의해 저장된 정보를 말하며, 학습은 과정이고 기억은 그 산물이라고 할 수 있다. 인간을 비롯한 포유동물의 학습과 기억의 저장은 뇌의 부분 중 해마(hippocampus)와 관련이 있는 것으로 알려져 있다²⁾⁻⁴⁾.

조기발현 유전자의 일종인 *c-fos*는 세포외 자극으로 발현이 조절되며, 신경세포의 활성을 나타내는 지표로 사용되고 있다³⁾. Ryabiniin 등⁵⁾은 과량의 에탄올을 투여한 흰쥐에서 *c-fos*의 양이 뇌의 여러 부분에서 증가하였으나, 해마에서만 선택적으로 감소하여 에탄올이 해마상 용기의 활성 증가를 방해하여 정상적인 경험 매개 활동을 저해하고, 새로운 정보를 기억할 수 있는 능력을 낮출 것이라고 하였

다. Melia 등⁶⁾은 에탄올이 해마의 단계에서 진행되는 자극을 방해하여 해마와 연관이 있는 학습능력을 저해할 것이라고 보고하였다. 이러한 연구 결과로써 에탄올로 인한 기억력 저하는 해마영역의 *c-fos* 발현과 연관이 있을 것으로 추정되고 있다^{5),6)}.

人蔘(*Panax ginseng Radix*)은 本草 중에서 대표적인 補氣劑로 固脫生津, 安神益智 등의 효능이 있으며, 임상적으로 心神不安, 健忘 등의 치료에 응용되고 있다^{7),8)}. 최근 연구에서는 人蔘이 혈액내 에탄올의 제거속도를 높이고, 음주로 인한 간기능 저하에 대한 보호작용이 있는 것으로 보고되었다⁹⁾. 이러한 연구를 살펴볼 때, 人蔘이 에탄올로 유발된 기억력 저하를 개선할 수 있을 것이며, 이에 대한 검사지표로서 *c-fos*의 발현 정도를 측정하는 방법이 제시될 수 있다. 나아가서 人蔘의 기억력 개선효과를 측정하는 지표로서 *c-fos*를 활용할 수 있을 것이다.

본 연구에서는 人蔘 藥鍼이 에탄올 중독 흰쥐의 해마에서 *c-fos* 발현에 어떠한 작용을 하는지를 알아보기 위해서 면역조직화학 염색법을 통하여 관찰한 바, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

본 실험에서 사용된 동물은 대한 바이오링크(한국, 충북)에서 공급받은 3주령된 체중 $80 \pm 10g$ 의 건강한 Sprague-Dawley 계열 수컷 흰쥐 24마리를 사용하였다. 선정된 실험동물은 전 실험기간을 통하여 충분한 고형사료와 물을 공급하였으며, 밤낮 주기(12시간 light/12시간 dark)를 조절하였다. 온도는 $22 \sim 24^\circ C$, 습도는 60%의 환경조절 장치가 갖추어진 항온 사육실에서 사육케이스($30cm \times 20cm$)를 이용하여 각 군별로 한 사육실내에 6마리씩 동일한 환경에서 사육하였다.

2) 시약 및 기기

실험기기로는 Peristaltic pump(Gilson, USA), Cryocut(Leica, Nuloch, Germany), Image Analyzer(Multiscan, USA), Zeiss microscope(Oberkochen, Germany)을 사용하였다.

시약으로는 Biotinylated mouse secondary antibody와 Avidin-biotin-horseradish peroxidase complex(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA), Ethanol diagnostic kit(Sigma, St. Louis, MO, USA), Zoletil 50(anaesthetica, Vibac, Carros, France)을 사용하였고, 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다.

3) 藥鍼液 제조

실험에 사용한 人蔘은 시중 건재약국에서 구입하여 精選한 다음 사용하였다. 人蔘 100g을 粗末하여 원형 flask에 넣고 증류수 1000ml을 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 $70^\circ C$ 의 온도로 유출하고 여과한 다음, 이 침전물을 3회 여별(3 M paper)한 후 rotary evaporator로 감압농축하였다.

2. 실험방법

1) 실험군 설정

(1) 정상군(Normal) : SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 정상적으로 물과 사료를 공급한 군

(2) 대조군(Control) : SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 에탄올을 투여한 군

(3) 실험군 A(Sample A) : 정상군 흰쥐의 中脘穴에 상응하는 부위에 人蔘 藥鍼($30mg/kg$)을 투여한 군

(4) 실험군 B(Sample B) : 대조군 흰쥐의 中脘穴에 상응하는 부위에 人蔘 藥鍼($30mg/kg$)을 투여한 군

2) 에탄올 투여

흰쥐에게 에탄올 $2g/kg$ 의 용량을 1일 2회, 3일간 복강에 주사하였다.

3) 藥鍼 자극

人蔘 藥鍼은 인체의 中脘穴에 상응하는 부위의 복강에 1일 1회, 5일간 $30mg/kg$ 의 용량으로 주사하였다.

4) 조직처리

모든 실험동물에게 zoletil($60mg/kg$)을 복강주사하여 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 0.05M 인산염완충식염수(phosphate buffered saline, PBS)를 1분간 주입하고, 0.1M 인산염완충액(phosphate buffer, PB)에 녹인 4% paraformaldehyde 용액($4^\circ C$)을 10분간 관류고정시켰다. 이때 관류속도는 $50 \sim 60ml/min$ 이 되도록 하였다. 관류고정 후 뇌를 적출하여 4~6mm 두께로 관상 절개하여 동일한 고정액에 담가서 $4^\circ C$ 에서 16~18시간 동안 후고정한 다음, 0.1M PBS에 녹인 20% sucrose 용액에서 2~5일간 보관하였다.

Cryocut (Leica, Germany)을 이용하여 40 μ m 두께의 연속횡단절편을 제작하였고, 자른 조직은 매 5장마다 1장씩 취하여 염색을 시행하였다.

5) 면역조직화학

면역조직화학법은 자유부유(free-floating)법을 이용하였다. 조직절편은 먼저 조직내에 존재하는 내재성 peroxidase를 비활성화시키기 위해서 0.05M PBS와 1%로 희석된 과산화수소수(H₂O₂)에 15분간 반응시킨 후, 10분 간격으로 3회 0.05M PBS로 세척한 후, rabbit anti-*fos* antibody (Diasorin, USA)를 0.05% bovine serum albumin(BSA), 1.5% goat serum, 0.3% Triton X-100의 희석용액에 1:4000으로 희석하여, 24시간 동안 상온에서 반응시켰다. 1차 항체용액에서의 반응이 끝나면, 조직을 0.05M PBS로 10분간 3번씩 세척한 후 2차 항체용액(Vecta Laboratories, Burlingame, CA, USA)의 biotinylated anti-mouse IgG를 1:200으로 희석하여 1시간동안 실온에서 반응시켰다. 2차 항체 용액과 반응 후에 0.05M PBS로 10분간 3번씩 세척한 후, avidin-biotin-horseradish peroxidase complex(Vecta Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 1시간 동안 실온에서 반응시켰다. 발색제로는 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB)을 0.05M Tris 완충용액에 0.02%로 하였으며, 0.003%의 H₂O₂를 첨가하였다. 발색반응은 상온에서 4분간 발색시켰으며, 반응이 끝난 후 조직을 0.05M PBS로 10분간 3번씩 세척하였다. 발색이 끝난 조직은 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간 동안 실온에서 건조시킨 후 ethanol의 농도를 70%, 80%, 90%, 95%, 100%로 높여가며 탈수시키고, xylene으로 투명화시켜 polymount로 봉입하였다.

6) 항체 양성반응 세포수 측정

각각의 항체들과 면역반응이 일어난 세포들은

Zeiss 현미경(Oberkochen, Germany)을 이용하여 관찰하였고, 세포수 측정은 영상분석기(Multiscan, USA)를 이용하여 측정하였다. 각 부위에서 세부구조의 위치와 명칭은 Paxinos와 Watson의 부도를 참고하였다.

7) 통계처리

실험결과는 SPSS Window program(Ver. 7.5)을 이용하였으며, 모든 측정값은 평균값 \pm 표준오차(Mean \pm standard error)로 나타내었고, 유의성은 $p < 0.05$ 로 하였다. 각 실험군간의 통계학적 분석은 ANOVA와 Duncan test 검정을 실시하였다.

III. 결 과

1. 人蔘 藥鉞이 해마의 CA1에서 *c-fos* 발현에 미치는 영향

해마의 CA1 영역에서 *c-fos*의 변화를 관찰한 결과, 대조군에서는 24.57 \pm 1.33로 나타나 정상군의 45.14 \pm 2.71에 비하여 유의하게 감소하였다. 실험군 A에서는 48.21 \pm 2.52로 나타나 정상군과 유의한 차이가 없었고, 실험군 B에서는 26.35 \pm 2.2로 나타나 대조군과 유의한 차이가 없었다<Table 1>.

2. 人蔘 藥鉞이 해마의 CA2-3에서 *c-fos* 발현에 미치는 영향

해마의 CA2-3 영역에서 *c-fos*의 변화를 관찰한 결과, 대조군에서 16.35 \pm 1.71로 나타나 정상군의 26.00 \pm 1.59에 비하여 유의하게 감소하였다. 실험군 A에서는 23.64 \pm 4.74로 나타나 정상군과 유의한 차이가 없었으며, 실험군 B에서는 22.64 \pm 4.95로 나타나 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다<Table 2>.

Table 1. Effects of *Panax ginseng Radix* on *c-fos* expression in the hippocampal CA1 region.

Group	Number of rats	Number of <i>c-fos</i>	Duncan Grouping
Normal	6	45.14 ± 2.71 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	24.57 ± 1.33	B
Sample A	6	48.21 ± 2.52	A
Sample B	6	26.35 ± 2.25	B

¹⁾ Data are mean ± Standard error mean(S.E.M.)

²⁾ Means with the same letter are not significantly different at $\alpha=0.05$

Normal : Untreated Group

Control : Ethanol-treated Group

Sample A : *Panax ginseng Radix*-treated Group

Sample B : Ethanol-and *Panax ginseng Radix*-treated Group

Table 2. Effects of *Panax ginseng Radix* on *c-fos* expression in the hippocampal CA2-3 region.

Group	Number of rats	Number of <i>c-fos</i>	Duncan Grouping
Normal	6	26.00 ± 1.59 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	16.35 ± 1.71	B
Sample A	6	23.64 ± 4.74	A
Sample B	6	22.64 ± 4.95	A

¹⁾ Data are mean ± Standard error mean(S.E.M.)

²⁾ Means with the same letter are not significantly different at $\alpha=0.05$

Normal : Untreated Group

Control : Ethanol-treated Group

Sample A : *Panax ginseng Radix*-treated Group

Sample B : Ethanol-and *Panax ginseng Radix*-treated Group

Table 3. Effects of *Panax ginseng Radix* on *c-fos* expression in the hippocampal dentate gyrus region.

Group	Number of rats	Number of <i>c-fos</i>	Duncan Grouping
Normal	6	37.85 ± 1.49 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	17.71 ± 1.45	B
Sample A	6	36.14 ± 2.05	A
Sample B	6	23.07 ± 1.73	C

¹⁾ Data are mean ± Standard error mean(S.E.M.)

²⁾ Means with the same letter are not significantly different at $\alpha=0.05$

Normal : Untreated Group

Control : Ethanol-treated Group

Sample A : *Panax ginseng Radix*-treated Group

Sample B : Ethanol-and *Panax ginseng Radix*-treated Group

3. 人蔘 藥鍼이 해마의 dentate gyrus에서 *c-fos* 발현에 미치는 영향

해마의 dentate gyrus 영역에서 *c-fos*의 변화를 관찰한 결과, 대조군에서는 17.71 ± 1.45 로 나타나 정상군의 37.85 ± 1.49 에 비하여 유의하게 감소하였다. 실험군 A에서는 36.14 ± 2.05 로 나타나 정상군과 유의한 차이가 없었고, 실험군 B에서는 23.07 ± 1.73 로 나타나 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다<Table 3>.

IV. 고 찰

에탄올은 술의 주성분으로서, 주정(酒精)이라고도 하며 각종 음료에 포함되어 있다. 이 물질이 갖는 중추성 약리작용 때문에 약 8천여년 전부터 기호음료로서 널리 음용되어왔다¹⁾. 에탄올은 인체의 신체와 정신에 영향을 미치게 되며, 중추 및 말초신경 양측에 모두 손상을 일으킨다. 특히, 중추신경계는 에탄올의 독성에 민감한 부위로, 신체의 다른 어떤 계통보다 에탄올에 의해 현저하게 영향을 받는다¹⁰⁾. 후뇌의 일부인 해마는 에탄올에 의해 손상을 받아 병적으로 변화되기 쉬운 부위로 알려져 있다¹¹⁾. 에탄올은 해마의 치상회(dentate gyrus)에서 세포의 생성을 억제하고, 세포의 고사(apoptosis)를 진행시키는 것으로 알려졌는데, 이는 에탄올로 유발된 학습과 기억 능력의 저하와 연관이 있을 것이라고 보고되었다¹²⁾.

韓醫學的으로 술은 水穀의 精微와 熟穀之液을 醱酵시켜서 만들며, 甘辛苦淡, 大熱한 性味가 있다. 熱飲하면 傷肺하나, 溫飲하면 和중하고, 적게 마시면 和血行氣, 壯神禦寒하며, 遺興消愁, 辟邪逐穢하고, 水藏을 따뜻하게 하며, 藥勢를 行한다¹³⁾고 하여 적당량의 음주는 건강에 도움이 되고 藥力을 行한다

고 하였다. 그러나, 過飲하면 傷神耗血, 損胃燻精하고, 火를 動하고, 痰을 만들며, 怒를 발하고 慾心을 북돋고, 濕熱을 일으키며, 여러가지 병에 이르게 된다¹⁴⁾고 하였다. 이는 현대 의학에서 과량의 에탄올 섭취로 인하여 여러가지 질환이 유발되는 것과 유사함을 알 수 있다.

해마는 변연계의 일부로서 그 기능은 현재까지 충분히 밝혀져 있지는 않으나, 포유동물의 뇌에서 학습과 기억의 저장과 연관이 있는 것으로 알려져 있다¹⁵⁾. 해마는 그 구조의 부위에 따른 추체세포의 크기, 구심성 섬유 분포차, Schaeffer 측지의 유무 등에 의해 CA 영역을 구분하는데 각 영역에 따른 기능적 차이는 명확하게 밝혀지지 않았다.

Hebb²⁾는 뇌에서 기억이 저장되려면 신경 연결(synapse)이 자극을 받은 후 활동 의존성 변화가 일어나야 한다는 이론을 처음으로 제안하였다. 그의 이론에 나타나는 헤비안 시냅스(Hebbian synapse)가 포유동물의 뇌에서 최초로 관찰된 것은 해마에서였다¹⁶⁾.

해마 부위에서 *c-fos*와 기억능력은 밀접한 연관이 있을 것으로 생각되어지고 있다¹⁷⁾. *c-fos*는 조기 발현 유전자의 하나로서 세포외 자극에 대하여 매우 짧은 반감기를 갖는 mRNA를 생산하여 순식간에 발현되는 특성이 있다^{18),19)}. *c-fos*의 생성을 유도하는 세포외 자극에는 신경전달 물질, 탈분극 조건, 칼슘유입을 자극하는 인자, 신경성장요소 외에도 경련, 허혈, 저산소증, 고체온, 직접적인 뇌손상, 스트레스, 통증, 에탄올 등이 있다. 자극을 주지 않은 상태의 성숙 뇌에서 *c-fos*는 뇌 전역 특히 이 상피질(piriform cortex), 전후각핵(anterior olfactory nucleus), 분계선조(stria terminalis) 등에 발현하며 변연계에도 기저 발현을 하여 정상적인 신경세포 기능에 관여하는 것으로 추정되고 있다²⁰⁾. 정상적인 중추신경계는 여러가지 외부 자극에 반응해서 즉각적이고 일시적으로 *c-fos*를 생성한다. 조

기 발현 유전자는 신경세포에서만 발현되는 것은 아니지만 신경세포의 활성도를 측정하는 지표로 흔히 사용된다²¹⁾⁻²³⁾. 해마에서 일어나는 단기 및 장기 기억의 기전은 신경전달 물질의 수용체 활성화 이후 신호전달 체계의 활성화에 의한 것으로 보여지고 있다¹⁷⁾. 특히 장기 기억은 조기 발현 물질 및 후기 반응 유전자의 발현에 의해 형성되는 것으로 추정되고 있다. 조기 발현 유전자인 *c-fos*는 CRE 부위를 가지고 있어 유전자 전사 활성인자인 CREB (cyclic AMP response element-binding protein)의 결합에 의하여 그 발현이 증가되고, 후기 반응 유전자의 발현에도 관여하여 장기 기억을 형성하는 것으로 알려져 있다²⁴⁾. 이처럼 해마부위에서 *c-fos*의 발현과 기억능력은 밀접한 연관이 있을 것으로 추정되고 있다¹⁷⁾.

급성 또는 만성적으로 에탄올에 노출되면, 뇌에서 유전자의 발현에 영향을 미치게 된다^{25),26)}. 에탄올 투여로 인한 *c-fos*의 발현은 뇌의 부위에 따라 다르게 나타나며, 제한된 영역의 뇌 활동에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다^{27),28)}. Ryabiniin 등⁵⁾은 중등도 용량(1.5g/kg)의 에탄올을 투여한 흰쥐에서 *c-fos*의 양이 뇌의 여러 부분에서 증가하였으며, 특히 감정과 행동 자극, 감각 자극을 처리하는 부분에서 이 현상이 뚜렷하게 나타났다고 하였다. 이와는 대조적으로 해마부위에서만 선택적으로 *c-fos*의 양이 감소하였으며 새로운 환경에 노출되었을 때에 나타나는 *c-fos*의 발현을 억제하였다고 보고하여 에탄올이 해마의 정상적인 경험 매개 활동을 저해하며, 새로운 정보를 기억할 수 있는 능력을 낮추는 것이라고 하였다. Melia 등⁶⁾은 흰쥐에게 에탄올을 투여하였을 때 뇌피질에서 *c-fos*의 발현이 증가하였으며, 당시의 정서나 감정에 대한 기억에는 큰 변화가 없었다고 하였다. 반면에 해마에서 *c-fos*의 발현이 감소하였으며, 정황이나 상황에 대한 기억과 같은 해마의 기능과 연관된 기억과 학습 능력

이 저하된다고 하였다. 에탄올은 학습 능력과 기억력의 저하를 유발하며, 이는 해마에서 *c-fos*의 발현 감소와 연관이 있을 것으로 추정된다.

人蔘은 오가과(Araliaceae)에 속하는 다년생 초본인 蔘의 근으로 한국, 만주 등의 山地에서 自生하고 있으며, 이를 재배하여 보통 3년생 근을 약용으로 쓰고 있다⁷⁾. 本草學에서 人蔘은 대표적인 補氣劑로서, 性味が 甘微苦, 溫하다. 《神農本草經》에서는 主補五臟, 安精神, 安魂魄, 止驚悸, 除邪氣, 明目開心, 益智한다고 하였으며, 《本草求真》에서는 大補肺中元氣, 瀉火, 益土, 通血脈 등의 효능이 있다고 하였다^{8),13)}. 人蔘은 임상적으로 虛勞, 內傷, 自汗, 心神不安, 健忘, 陽痿, 食少倦怠 등 다양한 증후의 치료에 응용되어 왔다^{8),13),14)}. 약리학적으로는 중추신경계에 대하여 주로 대뇌피질의 흥분과정과 동시에 억제과정을 강화하여 신경활동의 기민성을 개선한다. 생체반응에서는 각종의 유해자극에 대한 방어능력을 증강하고, 내분비계에 대해서는 일반적으로 하수체를 흥분시켜 성선자극 호르몬의 분비를 촉진시키는 것으로 알려져 있다⁷⁾. 이외에도 에탄올의 대사에 있어서 혈중의 에탄올 제거속도를 높이고, 간기능 저하에 대한 보호작용이 있는 것으로 알려져 있다⁹⁾.

藥鍼療法은 일반적으로 水鍼療法이라고도 하며²⁹⁾, 1940년대부터 중국에서 그 연구가 시작된 이래 임상적으로 많이 활용되어 왔다²⁰⁾. 우리나라에서도 1970년대 후반부터 그에 대한 기초 실험연구가 진행되었으며 지금까지 다양한 약재를 이용하여, 鎮痛, 解毒, 鎮痙, 補血, 降血壓, 免疫增強 및 抗腫瘍 등에 적용되고 있으며, 중국과 우리나라 등에서 새로운 치료 영역으로, 刺鍼의 효과와 韓藥物의 약리작용을 병용시켜 보다 나은 치료 효과를 얻고자 하는데 그 치료의 의의를 두고 있다³⁰⁾. 人蔘 藥鍼은 일반적으로 수제 알코올법으로 제조하여 사용하며, 흰쥐에게 급성 독성시험에서 무독한 것으로 알려져

있다²⁹⁾.

흰쥐에게 에탄올을 투여하여 중독을 유발한 후, 해마의 각 영역에서 *c-fos*의 생성에 어떠한 영향을 미치며, 또한 人蔘 藥鍼을 주입하였을 때 어떠한 변화가 나타나는지 알아보기 위한 실험을 하여 다음과 같은 유의성 있는 결과를 관찰하였다.

해마의 CA1 영역에서 *c-fos-positive* neuron을 측정된 결과, 대조군이 정상군에 비하여 유의성 ($p < 0.05$) 있는 감소를 나타냈다. 실험군 A는 정상군에 비해 증가하였으나 유의성 ($p < 0.05$) 있는 차이를 나타내지 않았다. 실험군 B는 대조군에 비하여 증가하였으나 유의성 ($p < 0.05$) 있는 차이를 나타내지 않았다<Table 1>. 이로써 살펴보건대 人蔘 藥鍼은 해마의 CA1 영역에서 에탄올 중독으로 감소된 *c-fos*의 발현에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

해마의 CA2-3 영역에서 *c-fos-positive* neuron을 측정된 결과, 대조군이 정상군에 비하여 유의성 ($p < 0.05$) 있는 감소를 나타냈다. 실험군 A는 정상군보다 감소하였으나 유의성 ($p < 0.05$) 있는 차이를 나타내지 않았다. 실험군 B는 대조군보다 유의성 ($p < 0.05$) 있는 증가를 나타냈다<Table 2>. 이로써 살펴보건대, 人蔘 藥鍼은 해마의 CA2-3 영역에서 에탄올 투여로 인한 *c-fos*의 감소를 방어하는 것으로 추정된다.

해마의 dentate gyrus 영역에서 *c-fos-positive* neuron을 측정된 결과, 대조군이 정상군에 비하여 유의성 ($p < 0.05$) 있는 감소를 나타냈다. 실험군 A는 정상군보다 감소하였으나 유의성 ($p < 0.05$) 있는 차이를 나타내지 않았다. 실험군 B는 대조군에 비하여 유의성 ($p < 0.05$) 있는 증가를 나타냈다<Table 3>. 이로써 살펴보건대, 人蔘 藥鍼은 해마의 dentate gyrus 영역에서 에탄올 투여로 인한 *c-fos*의 감소를 방어하는데 유효한 작용이 있는 것으로 생각된다.

이상의 결과들로 보아 흰쥐에게 에탄올을 투여시

에 해마의 모든 영역에서 *c-fos* 생성이 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 人蔘 藥鍼은 정상쥐의 해마에서 *c-fos* 발현에 변화를 주지는 못했다. 그런데, 人蔘 藥鍼은 흰쥐의 해마에서 에탄올 투여로 인한 *c-fos*의 감소를 다시 증가시키는 것으로 확인되었다. 人蔘 藥鍼을 활용하여, 에탄올로 유발된 *c-fos*의 감소를 예방하고, 이와 연관된 기억과 학습능력의 저하를 방어할 수 있을 것이라는 가능성을 제시하는 결과이다. 향후, 이에 대한 지속적이고 다각적인 연구와 논의가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

人蔘 藥鍼이 에탄올 중독 흰쥐의 해마에서 *c-fos* 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 면역조직화학을 통한 해마의 CA1, CA2-3, dentate gyrus 영역의 *c-fos-positive* neuron을 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 해마의 각 영역에서 에탄올을 투여한 대조군은 모두 각 영역에서의 정상군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.
2. 해마의 각 영역에서 정상군과 정상군에 人蔘 藥鍼을 투여한 실험군 A에서는 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다.
3. CA1 영역에서 에탄올과 人蔘 藥鍼을 투여한 실험군 B는 대조군과 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.
4. CA2-3 영역에서 실험군 B는 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.

5. Dentate gyrus 영역에서 실험군 B는 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.

이상의 결과를 바탕으로 실험동물에 에탄올을 투여시 해마의 각 영역에서 *c-fos*의 생성이 모두 억제됨을 알 수 있었다. 그러나, 人蔘 藥鍼을 병용하여 투여한 경우에는 이러한 감소가 다시 증가함을 확인할 수 있었다. 이로써, 에탄올 증독으로 유발된 학습 능력과 기억 능력의 저하를 방어하는데 人蔘 藥鍼이 유효한 영향을 미칠 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

- 曹準承. 알콜의 代謝 및 作用. 培英學熟 論文集. 1974 ; 2(1) : 13-21.
- 손현. 설치류의 해마에서 학습과 기억의 세포생리학적 모델로서의 장기 강화(long-term potentiation). 한양의대학술지. 1997;17(2) : 39-50.
- 신수진, 우행원. 노화쥐의 해마형성체와 내후각뇌피질에서 세포사 관련물질들의 변화에 대한 면역세포화학적 연구. 神經精神醫學. 2001 ; 40(3) : 520-533.
- Swanson LW, Teyler TJ, Thompson RF. Hippocampal long term potentiation mechanism and implication for memory. Neurosci Res Prog Bull. 1989 ; 20 : 613-768.
- Ryabinin AE, Criado JR, Henriksen SJ, Bloom FE, Wilson MC. Differential sensitivity of *c-Fos* expression in hippocampus and other brain regions to moderate and low doses of alcohol. Molecular Psychiatry. 1997 ; 2(1) : 32-43.
- Melia KR, Ryabinin AE, Corodimas KP, Wilson MC, LeDoux JE. Hippocampal-dependent learning and experience-dependent activation of the hippocampus are preferentially disrupted by ethanol. Neuroscience. 1996 ; 74 : 313-322.
- 顏正華. 中藥學. 北京 : 人民衛生出版社. 1991 : 721-8.
- 陳兆桓. 神農本草經. 臺北 : 文光圖書有限公司 (券一). 1976 : 12-1.
- 강효신. 인삼이 주정대사(酒精代謝)에 미치는 영향에 관한 연구. 동서의학. 1976 ; 1(2) : 3-5.
- 의과대학 교수편. Katzung's Clinical Pharmacology 7판. 서울 : 한우리. 1998 : 424-431.
- 김연희, 김이화, 장미현, 임백빈, 김연정, 정주호, 서정철, 김창주. 갈화약침이 알콜증독 흰쥐의 치상회에서 신경세포 생성에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001 ; 18(6) : 206-214.
- Jang MH, Shin MC, Jung SB, Lee TH, Bahn GH, Kwon YK, Kim EH, Kim CJ. Alcohol and nicotine reduce cell proliferation and enhance apoptosis in dentate gyrus. 2002 ; 13(12) : 1509-1513.
- 黃宮綉. 本草求真. 北京 : 人民衛生出版社. 1987 : 210-2.
- 楊東喜. 本草備要解析. 6版. 新竹市 : 國興出版社. 1984 : 22-7,475-1.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. J Neuroscience. 1998 : 18,3206-3218.
- Bliss TVP, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of anesthetized rabbit following

- stimulation of the perforant path. J Physiol. 1973 ; 232,331-356.
17. 김경옥, 강두경, 김영식, 남정현, 이용성, 손현. 흰쥐 해마 절편에서 도파민 수용체의 활성화에 의한 *c-fos* 발현에 관한 연구. 정신건강 연구. 1999 ; 18 : 198-211.
 18. Sheng M, McFadden G, Greenberg ME. Membrane depolarization and calcium induce *c-fos* transcription via phosphorylation of transcription factor CREB. Neuron. 1990 ; 4 : 571-582.
 19. Sheng M, Greenberg ME. The regulation and function of *c-fos* and other immediate early genes in the nervous system. Neuron. 1990 ; 4 : 477-485.
 20. 이왕복, 권순학, 김행미. 저산소성 허혈이 신생 쥐 뇌 *c-fos*의 발현에 미치는 영향. 소아과. 2000 ; 43(2) : 386-394.
 21. Harris JA. Using *c-fos* as a neural marker of pain. Brain Res Bull. 1998 ; 45 : 1-8.
 22. Redburn JL, Leah JD. Accelerated breakdown and enhanced expression of *c-Fos* in the rat brain after noxious stimulation. Neurosci Lett. 1997 ; 237 : 97-100.
 23. 황규돈, 신명동, 유기수. 포르말린에 의한 동통 자극이 흰쥐 뇌신경 세포의 *c-Fos* 단백질 발현에 미치는 영향. 대한소아신경학회지. 1999 ; 7(1) : 29-41.
 24. Konradi C, Cole RL, Heckers S, Hyman S E. Amphetamine regulates gene expression in rat striatum via transcription factor CREB. J Neurosci. 1994 ; 14(9) : 5623-34.
 25. Torres G, Horowitz JM. Drugs of Abuse and Brain Gene Expression. Psychosomatic Medicine. 1999 ; 61(5) : 630.
 26. Matsumoto I, Wilce PA. Ethanol and Gene Expression in Brain. Alcoholism, Clinical and Experimental Research. 2001 ; 25(5) : 82-86.
 27. Weitemier AZ, Woerner A, Backstrom P, Hyytia P, Ryabinin AE. Expression of *c-Fos* in Alko Alcohol Rats Responding for Ethanol in an Operant Paradigm. Alcoholism, Clinical and Experimental Research. 2001 ; 25(5) : 704-710.
 28. Thiele TE, Roitman MF, Bernstein IL. Learned tolerance to ethanol-induced *c-Fos* expression in rats. J. Neurosci. 1988 ; 112 : 193-198.
 29. 李惠貞, 種類別人蔘水鍼역기스의 毒性研究. 大韓鍼灸學會誌. 1993 ; 10(1) : 167-173.
 30. 謝成. 實用新鍼灸學. 香港 : 醫藥衛生出版社. 1978 : 7-11.