

원저

## 대금음자 약침이 알코올 독성 흰쥐의 해마에서 c-Fos 발현에 미치는 영향

이태호 · 이은용

세명대학교 부속 한방병원 침구과

### Abstract

#### Effect of *Daekumeumja* Herb-acupuncture on c-Fos Expression in Hippocampus of Alcohol Intoxicated Rats

Lee Tae-ho and Lee Eun-yong

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

**Objectives** : The study was conducted to investigate the effect of *Daekumeumja* herb-acupuncture on c-Fos expression in each area of the hippocampus of Alcohol intoxicated rats.

**Methods** : Experimental groups were divided into five groups ; normal group, the alcohol-treated (control) group, the alcohol- 1 mg/kg *Daekumeumja* treated (sample A) group, the alcohol- 5 mg/kg *Daekumeumja* treated (sample B) group, the alcohol- 10 mg/kg *Daekumeumja* treated (sample C) group (n = 6 for each group). Rats of normal group were injected intraperitoneally with saline once a day for 5 consecutive days, while animals of the alcohol-treated (control) group were injected once a day with 2 g/kg of alcohol for the same duration of time. Animals of the alcohol and *Daekumeumja*-treated (sample A, B, C) groups were acupunctured at Chung-wan(CV<sub>12</sub>) with 2 g/kg of alcohol and the appropriate amount of *Daekumeumja* extract once a day for 5 days.

Each groups 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 region of the hippocampus, the number of Fos-positive cells in the sample B, C groups were significantly increased compared with the control group.

2. In the CA2-3 regions of the hippocampus, the number of Fos-positive cells of the sample B, C groups were significantly increased compared with the control group.

· 접수 : 2006년 3월 20일 · 수정 : 2006년 5월 20일 · 채택 : 2006년 5월 20일  
· 교신저자 : 이은용, 충북 제천시 신월동 산21-11 세명대학교 부속한방병원 침구과  
Tel. 043-649-1816 E-mail : acupley@semyung.ac.kr

3. In the Dentate gyrus region of the hippocampus, the number of Fos-positive cells of the sample C group was significantly increased compared with the control group.

**Conclusion :** *c-fos* expression in each area of the hippocampus was reduced in alcohol-intoxicated groups. Treatment of *Daekumeumja* increased this reduction. In conclusion, it can be suggested that *Daekumeumja* possesses protective effects of the amnesia and learning disability in alcoholism.

**Key words :** hippocampus, alcohol, *Daekumeumja*, *c-fos*

## I. 서론

알코올은 인간의 생활과 밀접한 관계를 가지면서 다양한 목적으로 사용되어 왔다<sup>1)</sup>. 이에 따라 발생하는 알코올 남용과 의존은 여러 가지 심각한 신체 및 정신의학적 합병증을 초래하여 심혈관 질환과 압에 이은 3대 공중보건 문제로 인정되고 있으며<sup>2)</sup>, 이에 대한 연구도 의학 뿐만 아니라 인류학, 경제학 등 여러 분야에서 연구되고 있는 실정이다. 알코올은 위장관계, 심혈관계, 조혈계, 면역계에 악영향을 미치며 중추신경계의 기능에도 많은 손상을 미치게 된다<sup>3)</sup>.

학습(learning)은 물리적, 생물학적 환경이 주는 특수한 정보와 지식을 얻는 과정이라고 할 수 있으며, 기억(memory)은 그러한 정보나 지식의 저장된 형태를 의미한다<sup>4)</sup>. 이는 중추 신경계의 고차원적 기능으로 많은 부분 해마(hippocampus)와 관련이 있는 것으로 알려져 있으며<sup>5-7)</sup>, 여러 신경화학 물질과 유전자가 연관되어 있다고 알려져 있다<sup>8-9)</sup>. 그 중 *c-fos*는 조기발현 유전자의 한 종류로 스트레스나 알코올 같은 세포의 자극으로 발현되며, 신경세포의 활성을 나타내는 지표로 사용되고 있다<sup>10)</sup>. Ryabini<sup>11)</sup>은 과량의 에탄올을 투여한 쥐에서 *c-fos*의 양이 해마에서만 선택적으로 감소하여 해마의 활성증가를 방해하여 정상적인 경험매개 활동을 저해하고, 새로운 정보를 기억할 수 있는 능력을 낮출 것이라고 하였고, Melia<sup>12)</sup>는 에탄올이 해마 단계서 진행되는 자극을 방해하여 해마와 연관된 학습 능력을 저해한다고 보고하였다. 이러한 연구 결과를 바탕으로 장<sup>13)</sup>은 알코올이 해마에서의 *c-fos* 발현을 저해함으로써, 기억력이나 행동과 학습능력에 영향을 미칠 수 있다고 하였다.

酒傷은 술로 인해 야기되는 제반 증상을 의미하는 것으로, 간질환, 심질환, 뇌혈관질환 등의 신체적 장애 이외에도, 神志가 昏亂되고 그로 인하여 사물을 分揀하지 못하는 정신적 장애도 포함한다<sup>14)</sup>. 對金飮子是 酒食傷을 치료하고 胃氣를 고르게 하며, 痰을 제거하는 처방으로 酒傷에 芘用되어 왔다<sup>15)</sup>. 그 동안의 연구에서 對金飮子是 알코올의 투여로 인한 간 손상을 치료하는 데 효과적인 것으로 보고되었으나<sup>16-17)</sup>, 아직까지 酒傷으로 인한 기억과 학습, 인지 능력 장애에 대한 對金飮子の 영향이 보고된 바는 없었다.

이에 본 연구에서는 기억과 학습 능력에 대한 기준으로 *c-fos*의 발현 정도를 측정하는 방법이 사용될 수 있으리라 사료되어, 면역조직화학 염색법을 통하여 對金飮子が 알코올 독성이 유발된 흰쥐의 해마에서 *c-fos* 발현에 어떠한 작용을 하는지 알아보았다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 동물 및 재료

#### 1) 실험 동물

실험을 위해 체중 180±10g의 Sprague-Dawley (SD)계 수컷 쥐(샘타코, 한국)를 사용하였다. 실험 과정은 NIH(National Institutes of Health)와 Korean academy of medical sciences의 실험 동물 관리 요령에 따라 진행되었다. 각각의 동물은 20±2℃의 온도에서 사육되었고, 낮 12시간 밤 12시간으로 구성된 밤낮 주기에서 충분한 사료와 물을 공급받았다.

Table 1. The Amount and Composition of *Daekumeumja* Extract

Pharmaceutical name (Herbal name)	Amount (g)
<i>Citri Pericarpium</i> (陳皮)	12.00
<i>Magnoliae Cortex</i> (厚朴)	2.80
<i>Atractylodis Rhizoma</i> (蒼朮)	2.80
<i>Glycyrrhizae Radix</i> (甘草)	2.80
Total amount	20.40

## 2) 약재

본 실험에서 사용한 약재는 세명대학교 부속 한방병원에서 구입한 것을 엄선하여 사용하였으며, 처방은 동의보감에 기재된 對金飲子로 1첩의 구성약재와 용량은 다음과 같다(Table 1).

## 3) 對金飲子 약침액 제조

상기 처방 구성대로 10첩의 對金飲子(204g)를 증류수에 혼합하여, 가열 추출한 후 rotary evaporator (Tokyo, Rikakikai, Japan)로 농축한 뒤 냉동하였다. 추출 전 무게의 14.7%인 30g의 추출 분말을 생리 식염수로 희석하여 사용하였다.

## 2. 실험방법

### 1) 실험군 설정

- (1) 정상군(Normal): SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 생리 식염수를 투여한 군.
- (2) 대조군(Control): SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 알코올을 투여한 군.
- (3) 실험군 A(Sample A): SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 알코올과 對金飲子 1mg/kg을 투여한 군.
- (4) 실험군 B(Sample B): SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 알코올과 對金飲子 5mg/kg을 투여한 군.
- (5) 실험군 C(Sample C): SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 알코올과 對金飲子 10mg/kg을 투여한 군.

### 2) 알코올 투여 및 혈중 알코올 농도 측정

정상군의 쥐에게 5일 연속으로 하루에 한 번씩 복강내로 생리 식염수를 주사하였고, 대조군과 실험군 A, B, C에게는 같은 기간 동안 2g/kg의 알코올을 하루에 한 번씩 주사하였다.

혈청 알코올 농도의 분석을 위해, 마지막 알코올

주사 후 2시간 뒤에 심장 천자를 통하여 혈액을 수집했다. 혈중 알코올 농도는 Sigma Diagnostics kit (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 분석하였다.

### 3) 對金飲子 약침 투여

5일 동안 하루에 한 번씩, 제시된 농도의 對金飲子 약침을 인체의 中脘(CV<sub>12</sub>)에 상응하는 부위에 주사하였다.

### 4) 조직 처리

실험 동물은 Zoletil 50<sup>®</sup>(Vibac, Carros, France)을 10mg/kg의 농도로 복강 내 주사하여 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 50mM 인산염 완충식염수(phosphate buffered saline, PBS)를 주입하고, 이후 100mM 인산염완충액(phosphate buffer, PB)에 녹인 4% paraformaldehyde(PFA) 고정액을 관류하였다. 관류 고정 후 뇌를 적출한 다음 PFA 고정액에 담아서 4℃에서 12시간 동안 고정을 실시하고, 고정된 뇌조직은 30% sucrose 용액에서 2~5일간 침전시킨 후 microtome(Leica, Nussloch, Germany)을 이용하여 40 $\mu$ m두께의 연속관상 절편을 제작하였다.

### 5) c-Fos 면역조직화학

c-Fos의 면역염색은 He<sup>189</sup>가 제시한 방법에 따라 시행되었다. 먼저 조직은 자유부유(free-floating)법을 사용하여 면역조직화학 염색을 시행하는데, Bregma로부터 3.30mm~4.16mm거리의 해마 배측면에서 각 그룹당 8~10장씩 selecting 한 후 50mM PBS로 3번 세척한다. 그리고 항체와 반응하기 앞서 50mM PBS에 10% goat 혈청과 1% Bovine serum albumin (BSA)을 함유한 차단 용액으로 한 시간 동안 반응시키고, c-Fos 항체(SantaCruz, USA)를 50mM

PBS에 0.5% BSA와 0.5% sodium azide를 함유한 일차 항체 용액에 1 : 1000의 비율로 희석한 후 24 시간 동안 반응시킨다. 일차 항체 반응 후 PBS로 세척하고 biotinylated anti-rabbit IgG를 50mM PBS에 0.3% Triton X-100을 함유한 이차 항체용액에 1 : 200의 비율로 희석한 후 1시간 동안 반응시키고, HRP avidine-biotin complex(Vectastain-Elite™ HRP ABC kit, Vector®, USA)에서 1시간 동안 반응시킨다. 그 후 50mM PBS로 세척하고, 50mM Tris 완충액에 과산화 수소와 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB)를 함유하는 발색제로 3분 동안 발색반응을 실시한 다음 PBS로 세척한다. 발색이 끝난 조직은 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간 동안 실온에서 건조시킨 후 ethanol의 농도를 70%, 80%, 95%, 100%로 높여가며 5분 간격으로 탈수하고, xylene으로 투명화시켜 polymount로 봉입하였다.

#### 6) 자료 분석

해마의 각 영역에서 Fos 양성세포는 광학 현미경(Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰하였고, 세포수 측정은 각각의 해마 영역을 부위별로 분류한 뒤, 영상분석기(Multiscan, USA)를 이용하였다.

#### 7) 통계 분석

각 군 간 차이의 통계학적 의의는 분산분석(ANOVA)으로 결정되어졌고, Scheffe의 사후 검정을 뒤이어 시행하였다. 결과는 Fos 양성 세포를 평균±평균의 표준오차로 표현하였다. 각 군간 차이는 유의수준을

0.05로 검정하였다.

### III. 결 과

#### 1. 해마 CA1에서 Fos 양성 신경세포의 발현

해마 CA1에서 Fos 양성 세포수 관찰 결과 정상군은 158.87±11.48, 대조군은 78.12±4.76 이었고, 실험군 A, B, C는 각각 95.87±4.31, 119.37±7.91, 132.25±5.47로 나타났다. 대조군의 양성 세포수는 정상군에 비해 유의한 감소를 나타내었고, 실험군 B, C는 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었으나, 실험군 A는 통계학적인 유의성을 관찰할 수 없었다(Table 2).

#### 2. 해마 CA2와 CA3에서 FOS 양성 신경세포의 발현

해마 CA2와 CA3에서 Fos 양성 세포수 관찰 결과 정상군은 37.12±2.95, 대조군은 23.37±1.46이었고, 실험군 A, B, C는 각각 20.62±1.66, 30.25±1.70, 33.37±1.87로 나타났다. 대조군의 양성 세포수는 정상군에 비해 유의한 감소를 나타내었고, 실험군 B, C는 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었으나, 실험군 A는 통계학적인 유의성을 관찰할 수 없었다(Table 3).

Table 2. Number of *c-fos* positive cells in the hippocampal CA1 region

Group	Number of <i>c-fos</i> positive cells
Normal	158.87 ± 11.48 <sup>a)</sup>
Control	78.12 ± 4.76*
Sample A	95.87 ± 4.31
Sample B	119.37 ± 7.91 <sup>#</sup>
Sample C	132.25 ± 5.47 <sup>#</sup>

a) Values were presented as mean ± Standard error mean(S.E.M).

Normal: the normal group.

Control: the alcohol-treated group.

Sample A: the alcohol- 1 mg/kg *Daekumeumja* treated group.

Sample B: the alcohol- 5 mg/kg *Daekumeumja* treated group.

Sample C: the alcohol- 10 mg/kg *Daekumeumja* treated group.

\* represents  $p < 0.05$  compared to the normal group.

# represents  $p < 0.05$  compared to the alcohol-treated group.

Table 3. Number of c-fos positive cells in the hippocampal CA2 and CA3 regions

Group	Number of c-fos positive cells
Normal	37.12 ± 2.9 <sup>5a)</sup>
Control	23.37 ± 1.46 <sup>*</sup>
Sample A	20.62 ± 1.66
Sample B	30.25 ± 1.70 <sup>#</sup>
Sample C	33.37 ± 1.87 <sup>#</sup>

a) Values were presented as mean ± Standard error mean(S.E.M).

Normal: the normal group.

Control: the alcohol-treated group.

Sample A: the alcohol- 1 mg/kg *Daekumeumja* treated group.

Sample B: the alcohol- 5 mg/kg *Daekumeumja* treated group.

Sample C: the alcohol- 10 mg/kg *Daekumeumja* treated group.

\* represents p < 0.05 compared to the normal group.

# represents p < 0.05 compared to the alcohol-treated group.

Table 4. Number of c-fos positive cells in the hippocampal dentate gyrus region

Group	Number of c-fos positive cells
Normal	78.50 ± 4.11 <sup>a)</sup>
Control	38.12 ± 3.56 <sup>*</sup>
Sample A	28.50 ± 1.65
Sample B	42.62 ± 1.98
Sample C	49.62 ± 1.87 <sup>#</sup>

a) Values were presented as mean ± Standard error mean(S.E.M).

Normal : the normal group.

Control : the alcohol-treated group.

Sample A : the alcohol- 1 mg/kg *Daekumeumja* treated group.

Sample B : the alcohol- 5 mg/kg *Daekumeumja* treated group.

Sample C : the alcohol- 10 mg/kg *Daekumeumja* treated group.

\* represents p < 0.05 compared to the normal group.

# represents p < 0.05 compared to the alcohol-treated group.

### 3. 해마 Dentate Gyrus에서 FOS 양성 신경세포의 발현

해마 Dentate Gyrus에서 Fos 양성 세포수 관찰 결과 정상군은 78.50±4.11, 대조군은 38.12±3.56 이었고, 실험군 A, B, C는 각각 28.50±1.65, 42.62±1.98, 49.62±1.87로 나타났다. 대조군의 양성 세포수는 정상군에 비해 유의한 감소를 나타내었고, 실험군 C는 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었으나, 실험군 A, B는 통계학적인 유의성을 관찰할 수 없었다(Table 4).

## IV. 고찰

술의 주요성분인 알코올은 보통 에탄올을 일컫으며, 각종 음료에 다양한 농도로 포함되어 있다. 알코올은 신체의 여러 부분에 손상을 미치지만, 그 중에서도 중추신경계에 가장 흔한 그리고 가장 심각한 영향을 미친다<sup>19)</sup>. 모든 만성 알코올 의존 환자에서 전반적인 신경인지기능에 이상이 나타나는 것은 아니지만, 만성적 음주가 추상능력, 문제해결능력, 운동수행력, 지각능력, 기억력 등 다양한 신경인지기능에 이상을 초래한다는 것은 이미 많은 이전의 연구를 통해 밝혀졌다<sup>20-21)</sup>. 해마의 구역의 대부분은 알코올 투여시 신경세포의 수가 비투여군에 비해 현격하게 줄어든다는 보고<sup>22)</sup>가 있으며, Aaron<sup>23)</sup>은 고농도의 알코올이 해마의 place cell과 신경 세포의 전기적인 활

성을 저해하여, 공간 학습과 기억에 장애를 미칠 수 있다고 하였다.

韓醫學의 술은 苦甘辛하며 大熱한 性味가 있어, 肝胃를 돕고 氣血의 鬱滯를 活潑化하게 하고, 癥癖을 破壞하며 藥力을 돌게 하여 惡邪를 물리친다고 하였고, 恬糟는 성질이 溫中하며 宿食을 소화시키고 일체의 菜蔬毒을 滅殺할 수 있다고 하였다<sup>24)</sup>. 또한 혈액 순환을 촉진시키고 寒氣를 막아 주어 風寒痺痛, 筋脈攣急, 胸痺, 心腹冷痛을 치료한다고 하였으나, 장기간 마시면 腸胃를 상하고, 筋骨이 軟化되며 傷神耗血, 損胃亡精, 生痰動火된다고 하여 효능과 과용시의 부작용을 같이 언급하였다<sup>25)</sup>.

해마는 측두부에 위치한 변연계(limbic system)의 가장 중심적인 신경 구조로 세포구조학적으로 CA1, CA2, CA3 및 CA4세포영역으로 구성된 해마본체(hippocampal proper)와 치상회(dentate gyrus)세포영역으로 이루어져 있다. 해마의 기능에 대하여서는 초기에는 변연계가 정서경험과 정서표현을 정교화시키는 기능을 할 것이라는 가설이 제안되었고, 해마를 손상시킨 원숭이에서 정서행동의 변화를 관찰함으로써 가설을 뒷받침하였다. 이후 해마가 학습 및 기억과 같은 인지기능에 관련된 신경구조일 것이라는 견해들이 제시되면서 수 많은 실험연구들이 진행되었다<sup>5)</sup>.

기억의 저장시 전기적 활성도가 증가하면서 신경전달이 급격히 증가하여, 시냅스의 유효성이 변화하는 시냅스 가소성(synaptic plasticity)이라는 현상이 일어난다. 서술 기억(declarative memory)에 중요한 역할을 하는 해마의 신경회로에서 장기 시냅스 강화(Long-Term Potentiation, LTP)를 관찰할 수 있는데, 이는 시냅스 유효성이 수 초간 강화되는 것이다. 이처럼 기억의 저장은 시냅스의 유효성의 변화를 필요로 하고, 그에 따라 화학 물질 이송, 단백질 합성 및 유전자 발현이 필요하게 된다<sup>4)</sup>.

Proto-oncogene의 일종인 *c-fos* 단백질은 자극 후 15~90분 이내의 빠른 시간내에 관찰되며 24시간 이내에 소실되는 것으로 알려져 있기 때문에 일명 immediately early-gene(IEG)이라고도 하는데, IEG는 일반적으로 세포 분열, 분화와 신경세포와 같이 더 이상 분열하지 않는 성숙한 세포의 신호 전달계에서도 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다. 이들 IEG는 세포표면에 전달된 자극에 의하여 유발된 2차 전령(second messenger) 신호를 특정 유전자의 발현 조절을 매개로 하여 장기간 지속되는 세포반응과 연결시켜주는 핵 매개체(nuclear mediator), 또는

3차 전령(third messenger)으로서의 역할을 하고 있다<sup>26-27)</sup>. 이러한 *c-fos*의 생성은 탈분극 인자, 갈슘유입 자극 인자, 신경전달물질 및 경련, 허혈, 저산소증, 고체온, 직접적인 뇌손상, 스트레스, 통증, 에탄올 등과 같은 세포의 자극에 의해 유도된다<sup>28)</sup>.

감각 뉴런으로 분비되는 5-HT(serotonin)는 뉴런의 세포막에 존재하는 수용체의 구조를 변화시켜 cAMP라는 2차 전령자(second messenger)를 생산한다. 단기 시냅스 촉진을 일으키는 중요한 2차 전령자로서 cAMP는 단백질 인산화 효소 A(PKA)와 결합하여 목표 단백질(target protein)을 인산화시킨다. 장기 기억에서 cAMP의 형성이 반복적으로 일어나게 되며 활성화되는 PKA의 활성 소단위의 확산 정도가 커지게 되어, 유전자 발현에 관여하는 전사 인자들을 인산화시킨다. 기억 형성에 관련된 전사 인자 중에 CREB(cyclic AMP response element-binding protein)이 잘 알려져 있는데<sup>4)</sup>, CREB는 CRE(cAMP response element)부위를 가지고 있는 IEG와 결합하여, IEG의 발현을 증가시키며 2차 유전자 발현도 촉진시키는데, 대표적인 IEG로 *c-fos*가 있다<sup>29)</sup>. 이처럼 뇌조직에서 *c-fos*의 발현은 좋은 대사 지표이며 자극에 관련된 신경조직에서 신경가소성 변화에 관여하는 것으로 생각되며<sup>27)</sup>, 특히 장기 기억시 해마에서 발현 빈도가 높다고 알려져 있다<sup>18)</sup>.

알코올 중독으로 인한 중추 신경계에 관한 여러 가지 연구가 이루어지고 있는데, 장<sup>13)</sup>은 어린 쥐에게 알코올을 투여시 해마의 대부분의 영역에서 *c-fos*의 발현이 장애 받는다고 하였고, 농도가 높아질수록 그 정도는 심해진다고 하였다. Ryabinin<sup>11)</sup>은 알코올을 투여시 뇌의 다른 부분과 달리 해마에서는 선택적으로 *c-fos*의 발현이 억제된다고 하였으며, 알코올이 경험을 매개로 하여 기억하는 능력을 낮출 것이라고 하였다. Melia<sup>12)</sup>는 흰쥐에게 알코올을 투여했을 시, 대뇌피질에서는 *c-fos*발현이 증가하고 정서나 기억 능력에 별다른 변화가 없다고 하였으나, 해마에서는 *c-fos*발현이 감소하고, 기억과 학습 능력이 장애받는다고 하여, 알코올이 해마 의존성의 기억과 학습 능력에 영향을 미친다고 하였다.

對金飮子는 陳皮(Citri Pericarpium), 厚朴(Magnoliae Cortex), 蒼朮(Atractylodis Rhizoma), 甘草(Glycyrrhizae Radix), 이상 네 가지 약재로 구성된 처방으로 《太平惠民和劑局方》<sup>30)</sup>에 최초로 수록되었으며 和胃消痰하여 酒傷을 치료하는 처방으로 平胃散과 처방구성 약물이 동일하다<sup>14)</sup>. 황<sup>31)</sup>은 알코올과 스트레스로 유

발된 공장점막 손상에 대한 對金飲子의 효과를 보고하였고, 최 등<sup>16-17)</sup>은 對金飲子が 알코올로 인해 유발된 白鼠의 간손상에 유의한 효과가 있다고 보고하였다. 이와 같이 對金飲子は 酒傷으로 인한 신체 증상에 빈용되지만, 아직까지 알코올로 인한 중추 신경계 장애에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 흰쥐에게 알코올을 투여한 후 중독을 유발하여 해마의 각 영역에서 어떠한 영향을 미치는지 알아보고, 對金飲子를 병용 투여했을 때, 농도 별로 어떠한 차이가 있는지 알아보기 위한 실험을 하여 다음과 같은 유의성 있는 결과를 관찰하였다.

해마의 CA1 영역에서 *c-fos* 양성 세포수를 측정된 결과, 대조군이 정상군에 비하여 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 감소를 나타냈다. 실험군 A는 대조군에 비해 증가하였으나 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 차이를 나타내지 않았고, 실험군 B와 실험군 C는 대조군보다 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 증가를 나타냈다. 이로써 살펴보면 대 對金飲子는 해마의 CA1 영역에서 알코올 독성으로 감소된 *c-fos* 발현을 증가시켰으며, 對金飲子의 농도가 5mg/kg, 10mg/kg일 때 유의한 영향을 미쳤다.

해마의 CA2-3 영역에서 *c-fos* 양성 세포수를 측정된 결과, 대조군이 정상군에 비하여 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 감소를 나타냈다. 실험군 A는 대조군에 비해 증가하였으나 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 차이를 나타내지 않았고, 실험군 B와 실험군 C는 대조군보다 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 증가를 나타냈다. 이로써 살펴보면 대 對金飲子는 해마의 CA2-3 영역에서 알코올 독성으로 감소된 *c-fos* 발현을 증가시켰으며, 對金飲子의 농도가 5mg/kg, 10mg/kg일 때 유의한 영향을 미쳤다.

해마의 dentate gyrus 영역에서 *c-fos* 양성 세포수를 측정된 결과, 대조군이 정상군에 비하여 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 감소를 나타냈다. 실험군 A와 실험군 B는 대조군에 비해 증가하였으나 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 차이를 나타내지 않았고, 실험군 C는 대조군보다 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 증가를 나타냈다. 이로써 살펴보면 대 對金飲子는 해마의 CA2-3 영역에서 알코올 독성으로 감소된 *c-fos* 발현을 증가시켰으며, 對金飲子의 농도가 10mg/kg일 때 유의한 영향을 미쳤다.

이상의 결과를 종합하면, 알코올을 투여한 대조군은 해마의 CA1, 2, 3 및 dentate gyrus에서 정상군에 비해서 유의한 감소를 나타내었다. 이러한 결과는 장<sup>13)</sup>, Ryabinin<sup>11)</sup>, Melia<sup>12)</sup>의 실험과 일치함을 알 수 있었다. 이에 반하여 대금음자 약침 투여시 해마의 *c-fos* 양성 세포수가 대조군에 비하여 증가함을 관찰할 수

있었다. 이는 대금음자가 알코올 독성에 의해 손상된 해마의 기능을 회복시킬 가능성을 제시하는 결과이다. 향후 이에 대한 지속적이고 다각적인 연구와 논의가 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

對金飲子が 알코올 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 *c-fos* 양성 세포 수는 대조군이 정상군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.
2. CA1 영역에서 *c-fos* 양성 세포 수는 對金飲子를 투여한 실험군 B, C가 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다.
3. CA2-3 영역에서 *c-fos* 양성 세포 수는 對金飲子를 투여한 실험군 B, C가 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다.
4. dentate gyrus 영역에서 *c-fos* 양성 세포 수는 對金飲子를 투여한 실험군 C가 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다.

이상의 결과를 바탕으로 실험동물에 알코올을 투여시 해마의 각 영역에서 *c-fos* 생성이 모두 억제됨을 알 수 있었다. 그러나, 對金飲子를 병용하여 투여한 경우에는 이러한 감소가 다시 증가하는 것을 알 수 있었다. 이로써 알코올 중독으로 유발된 학습 능력과 기억 능력의 저하를 방어하는데 對金飲子가 유효한 영향을 미칠 것으로 사료된다.

## VI. 참고 문헌

1. Clair HR. Recognizing Alcoholism and Its Effects ; A Mini Guide. Basel:Karger. 1991 : 1-2.
2. 대한신경정신의학회. 신경정신과학. 서울 : 하

- 나의학사. 1997 : 263.
3. 대한내과학회 해리슨내과학 편집위원회 편. 해리슨 내과학. 서울 : MIP. 2003 : 2640-3.
  4. 강봉균. 기억과 시냅스 가소성. 한국뇌학회지. 2001 ; 1(1) : 14.
  5. 현성용. 해마의 기능에 관한 이론적 고찰. 사회문화연구. 1991 ; 10 : 91-107.
  6. Swason LW, Teyler TJ, Thompson RF. Hippocampal long term potentiation mechanism and implication for memory. Neurosci Res Prog Bull. 1989 ; 20 : 613-768.
  7. 신수진, 우행원. 노화쥐의 해마형성체와 내후각뇌피질에서 세포사 관련물질들의 변화에 대한 면역세포화학적 연구. 신경정신의학. 2001 ; 40(3) : 520-33.
  8. Iqbal U, Dringenberg HC, Brien JF, Reynolds JN. Chronic prenatal ethanol exposure alters hippocampal GABA<sub>A</sub> receptors and impairs spatial learning in the guinea pig. Behav Brain Res. 2004 ; 150 : 117-125.
  9. Renee AC, Nicole LK, Paul JC. Hippocampal c-fos is necessary for long-term memory of a socially transmitted food preference. Neurobiol Learn Mem. 2005 ; 84 : 175-83.
  10. Dragunow M, Faull R. The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. J Neurosci Methods. 1989 ; 29 : 261-5.
  11. 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. Mol Psychiatry. 1997 ; 2(1) : 32-43.
  12. 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 : 313-22.
  13. Jang MH, Jung SB, Lee MH, Kim H, Lee SJ, Sim YJ, Lee HH, Kim EK, Kim CJ, Shin HS, Kim JS, Kim EH. Influence of maternal alcohol administration on c-Fos expression in the hippocampus of infant rats. Neurosci Lett. 2005 ; 378 : 44-48.
  14. 황의완, 김지혁. 東醫精神醫學. 서울 : 현대의학서적사. 1987 : 440-1.
  15. 허준. 동의보감. 서울 : 법민문화사. 1999 : 1138.
  16. 김영철. 加味對金飮子の 효능에 관한 실험적 연구. 경희대학교논문집. 1993 ; 16 : 7-29.
  17. 유기원. 酒傷病에 應用되는 加味對金飮子가 Ethanol로 因한白鼠의 肝損傷에 미치는 影響. 경희대학교논문집. 1980 ; 3 : 1-16.
  18. He J, Yamada K, Nabeshima T. A Role of Fos Expression in the CA3 Region of the Hippocampus in Spatial Memory Formation in Rats. Neuropsychopharmacology. 2002 ; 26 : 259-68.
  19. Victor M, Adams RD. On the etiology of the alcoholic neurologic disease : with special reference the role of nutrition. Am J Clinical Nutr. 1961 ; 9 : 379-97.
  20. Eckardt MJ, Martin PR. Clinical assessment of cognition in alcoholism. Alcohol Clin Exp Res. 1986 ; 10 : 123-7.
  21. Parsons OA. Neuropsychological deficits in alcoholics. Alcohol Clin Exp Res. 1977 ; 1 : 51-6.
  22. 전진숙, 한호성, 장희경, 길영기, 김순옥. 백서 뇌의 정상 노화와 병적 노화 과정의 조직학적 차이 및 약물효과. 생물치료 정신의학. 1997 ; 3(1) : 85-95.
  23. Aaron MW, Phillip JB. Effects of ethanol on hippocampal place-cell and interneuron activity. Brain Res. 2000 ; 876 : 154-65.
  24. 李 梲. 國譯 編註醫學入門. 서울 : 남산당. 2001 : 1117-22.
  25. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외. 중약대사전. 서울 : 정담. 1999 : 3868-73.
  26. Morgan JI, Curran T. Stimulus-transcription coupling in neurons ; role of cellular immediately early genes. Trends Neurosci. 1989 ; 12 : 459-62.
  27. 조성범, 채한정, 강장숙, 김형룡. Lidocaine에 의한 경련이 뇌조직에서 c-fos 발현에 미치는 영향. 원광생체재료매식. 1998 ; 7(1) : 89-90.
  28. 김민수, 이은용. 人蔘 藥鍼이 에탄올 중독 흰 쥐의 해마에서 c-fos 생성에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2003 ; 20(3) : 136.



29. Sheng M, Greenberg ME. The regulation and function of *c-fos* and other immediate early genes in the nervous system. *Neuron*. 1990 ; 4 : 477-85.
30. 陳師文. 太平惠民和劑局方. 북경 : 중국중의약 출판사. 1996 : 48-9.
31. 황태현, 최준혁, 임성우. 에탄올과 스트레스로 유발된 생쥐의 공장 점막 손상에 대한 對金飲子の 방어효과. *대한한방내과학회지*. 2003 ; 24(4) : 735-46.