

원저

백서의 위와 족삼리에서 스트레스 관련(CRF, CRF-R, CRF-BP) 신경전달물질의 발현에 대한 연구

이창현* · 김영호** · 송범용** · 육태한**

*우석대학교 한의과대학 해부학교실, **침구학교실

Abstract

Expression of neurotransmitter(CRF, CRF-R and CRF-BP) related to stress in stomach and zusanli in rats

Lee Chang-hyun*, Kim Yung-ho**, Song Beom-yong** and Yook Tae-han**

*Department of Anatomy and **Acupuncture & Moxibustion,
College of Oriental Medicine, Woo-Suk University

Objective : The expression of CRF(corticotropin releasing factor), CRF-R(receptor) and CRF-BP(binding protein) in CNS neurons projecting to the stomach and ST36 using the pseudorabies virus in the rat was investigated.

Methods : After survival times of 5 days following injection of PRV-Ba-Gal, The thirty rats were perfused, and their brain were frozen sectioned(30 μ m). These sections were stained by PRV-Ba-Gal histochemical staining method and(or) CRF, CRF-R and CRF-BP immunohistochemical method. The common expressed areas of the brain projecting to the stomach and zusanli(ST36) following injection of PRV-Ba-Gal were observed with light microscope.

Results : 1) The dense accumulation of CRF-immunoreactive terminals is seen in the area postrema, n. tractus solitarius, external zone of the median eminence, with some immunoreactive CRF also present in the internal zone. 2) Aggregates of CRF-R immunoreactive perikarya are found in area postrema, n. tractus solitarius, lateral reticular

※ 본 연구는 우석대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행하였음

· 접수 : 2003년 9월 9일 · 수정 : 2003년 9월 12일 · 채택 : 2003년 9월 20일

· 교신저자 : 이창현, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490 우석대학교 한의과대학 해부학교실/침구학교실

Tel. 063-290-1559/063-220-8622 E-mail : chlee@woosuk.ac.kr

n., gigantocellular reticular n., locus coeruleus, paraventricular n. of hypothalamus, median eminence, preoptic n., arcuate n. and hind limb area of cerebral cortex. 3) Aggregates of CRF-BP immunoreactive perikarya are found in area postrema, n. tractus solitarius, lateral reticular nucleus, gigantocellular reticular n., locus coeruleus, paraventricular n. of hypothalamus, median eminence and arcuate n..

Conclusions : These results suggest that PRV-Ba-Gal labeled areas projecting to stomach and ST36 may be related to the central autonomic pathways. A part of CNS neurons projecting to the stomach and ST36 were related to expression of CRF, CRF-R and CRF-BP related to the stress in central autonomic center.

Key words : Stomach, Zusanli(ST36), CRF, CRF-R, CRF-BP, Pseudorabies virus

I. 서론

위(胃)를 비롯한 대부분의 내장기관들은 자율신경을 통한 운동신경과 척수에서 이어진 감각신경의 지배를 받고 있다. 이들 감각 및 운동신경은 대뇌에서 장기에 이르기까지 3~4단계로 연결된 수많은 신경세포체와 축삭(axon)들로 이루어져있으며 각 단계 사이에는 신경연접(synapses)이라고 하는 기능적, 구조적인 창구를 통해 연결되어 있다¹⁾.

위(胃)를 비롯한 내장을 지배하는 중추 신경계내 신경핵을 규명하는 연구는 과거에는 일반적인 방법인 퇴행변성법, 재생법 등이나 cholera toxin(CT)과 horseradish peroxidase(HRP)를 결합한 CT-HRP를 추적자로 이용한 방법이^{2)~5)} 이용되었으나 이러한 연구는 인위적인 손상을 뇌조직에 주게 되므로 정상 상태를 관찰할 수 없다는 단점과 추적자의 한계성 때문에 상위 신경핵까지 추적이 곤란하였다. 이러한 단점을 극복하기 위하여 전기생리학적인 방법^{6)~8)}도 응용하였으나 이들 또한 뇌의 특정부위에 전기자극을 가한 다음 이와 연관된 말초장기의 운동성을 조사한 보고에 지나지 않는다는 점에서 중추신

경계내 신경핵을 규명하는데는 한계를 가지고 있다.

이와 같은 관점에서 최근에 이용되기 시작한 신경친화성 바이러스인 pseudorabies 바이러스의 Bartha strain(PRV-Ba)과 galactosidase가 주입된 pseudorabies 바이러스인 PRV-Ba-Gal은 종래에 사용된 신경추적자들의 한계점을 보완할 수 있어 주목을 받고 있으며, 또한 이는 양방향 이동추적자 이지만 축삭을 따라 이동하면서 바이러스가 증식되어 그 수가 증가될 뿐 아니라 신경연접을 쉽게 통과할 수 있는 특징이 있다^{9)~10)}.

이 바이러스를 이용하여 경혈(經穴)과 내장(內臟)과의 관계에 대한 연구는 Lee 등¹¹⁾이 위(胃)와 족삼리를 지배하는 중추신경계내 신경로를 조사하여 위(胃)와 족삼리(足三里)의 관계에 대한 신경기전을 이해하는데 필요한 공통적인 표지영역을 구축하였다.

족삼리(ST36)¹²⁾는 족양명위경(足陽明胃經)의 경혈 중 하나로 膝下 3寸 脛骨外廉大筋 兩筋肉 사이에 위치하고 위장질환, 장경련, 급만성위염, 식욕부진, 소화불량, 위중한 등의 질환을 치료하는데 사용된다¹²⁾. 또한 동물에서는 족삼리 자극이 토끼 위(胃)의 운동에 미치는 영향¹³⁾ 조사하여 족삼리와 위(胃)와의 연결 또는 기능적 연관성을 입증하고 있다.

한편 사람이 감정과 스트레스 자극에 노출되면 소화

기 계통에 지장을 초래하여 소화기 운동이 변화되며 이는 신경계통에 존재하는 호르몬인 corticotropin releasing factor(CRF)에 의해 야기된다고 알려져 있다¹⁴⁾. 또한 CRF는 자율신경이 기원하는 시상하부에 많이 존재하며, 스트레스로 인한 위(胃)와 대장운동 변화에 밀접한 관계가 있다고 보고되고 있다¹⁵⁾.

이에 저자는 위(胃)와 족삼리를 지배하는 신경로 내에서 신경전달물질중의 하나인 corticotropin releasing factor(CRF), CRF-receptor 및 CRF-binding protein의 공통된 영역내에 존재하는지를 확인하고 스트레스로 인한 위장의 운동장애와 족삼리의 침구치료와의 형태학적 상호 관련성에 대하여 비교한 결과 유의성이 있어 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

체중 250g 내외의 성숙한 Sprague Dawley계 흰쥐 30마리를 암수 구별없이 사용하였다. 실험동물은 외부와 격리된 20~25℃의 온도를 유지한 동물사육장에서 사료와 물을 자유로이 공급하며 사육하였다.

2) 바이러스

Pseudorabies 바이러스는 Bartha strain에 B-galactosidase의 유전자가 주입된 변종 PRV-Ba-Gal(PRV-Ba-Gal라 함)을 제주대의 해부학교실에서 증식시킨 것을 분양받아 사용하였다. 이 strain은 porcine kidney fibroblast(PK15-cell)에서 키운 것으로 plaque forming unit는 평균 1×10^8 pfu/ml를 냉동(-70℃)보관하며 주사 직전에 녹여 신선한 것을 사용하였다. 위(胃)와 족삼리(足三里)에서 투사하는 공통영역과 CRF, CRF-BP 및 CRF-R 발현부위를

동일절편에서 서로 비교하기 위하여 PRV-Ba-Gal 염색은 X-gal 효소화학 염색법으로 염색하였고, CRF 등은 면역조직화학 염색법에 의하여 관찰하였다

2. 방법

1) 바이러스주입

쥐 실험군의 실험동물들은 실험 직전에 Ketamine hydrochloride(케타라 50mg/ml)와 Xylazine(롬폰, 20mg/ml)을 각각 체중 100g당 0.15ml, 및 0.05ml씩 섞은 용액을 각각 복강내 주사하여 마취시킨 후 복강을 열어 위를 노출시켰다. 위(胃)를 완전히 노출시켜 주위 조직으로부터 격리시켜 위(胃의) 배쪽과 등쪽의 큰 만곡 가까운 위체부의 장막과 근육층 사이에 PRV-Ba-Gal 바이러스를 주입하였다. 이때 주입시 주사 압력에 의한 유출을 막기 위해 주사바늘을 장막 아래 부분에 약 5mm 정도 삽입한 후 0.5mm 정도 후퇴한 후 주입하여 이때 1부위에 평균 1 μ l씩 6~10부위에 6~10 μ l의 바이러스를 주입하였다. 족삼리(ST36)군은 위 실험군과 동일하게 마취시킨 뒤 하퇴 앞부분을 노출시켜 주위부분부터 깨끗이 정리하고 골도법에 의하여 족삼리(足三里)(ST36) 부분에 Hamilton 주사기를 이용하여 약 10 μ l의 PRV-Ba-Gal을 주입하였다.

2) 조직처리

PRV-Ba-Gal을 주입한 후 약 5일의 생존시간을 준 다음 각 흰쥐들은 다시 동일 마취액으로 마취시키고 심장을 통하여 관류고정을 실시하였다. 관류고정은 먼저 0.1M sodium phosphate buffer(이하 PB라함)에 heparin(1000IU/1000ml)을 섞은 용액을 10분간 관류시키고 4% paraformaldehyde-lysine-periodate를 30분간 관류 시켰다. 관류고정이 끝난 후 대뇌, 소뇌 및 뇌줄기를 적출한 다음 동일 고정액에 4℃에서 4시간 동안 담가 후고정을 시행하였다. 그후 다시 0.1M PB로 1시간 동안 수세하고 20

% phosphate buffered sucrose 용액에 12시간 내지 48시간 동안 담가 보관하였다. 보관된 뇌조직들은 동결절편기를(CM3000, Leica) 이용하여 약 30 μ m 두께의 관상연속절편을 만들어 6-well plate에 순서대로 보관하여 약 500장 정도의 조직절편을 free floating method로 면역 또는 효소조직화학 염색을 시행하였다.

3) PRV-Ba-Gal 효소화학 염색

위(胃)와 족삼리(足三里)에서 투사되는 영역내 CRF, CRF-receptor 및 CRF-binding protein의 발현을 관찰하기 위하여 1차적으로 PRV-Ba-Gal에 대한 효소화학 반응을 37°C에서 약 3시간의 효소-기질반응을 실시하였다. 효소반응은 Panicali 등의¹⁶⁾ 방법에 따랐다. 먼저 40mg의 X-gal(Sigma, USA)을 1ml의 DMSO에 녹인 용액을 만들어 -20°C의 냉동실에 넣어 보관하였다. 기질용액은 0.021mg의 potassium ferrocyanide, 0.017mg의 potassium ferricyanide, 0.001mg의 sodium deoxycholate를 2 μ l의 Nonidet P-40에 녹인 후 10 μ l의 2M magnesium chloride를 더하였다. 그후 250 μ l의 X-gal/DMSO 용액을 추가한 뒤 전체 기질액에 PB를 더하여 10ml로 만들었으며 pH는 7.3~7.4를 유지하였고 기질용액은 항상 사용 직전에 만들어 신선한 것을 사용하였다. 조직들은 1.5ml의 eppendorf tube속에 넣어 37°C의 항온수조에서 약 3시간 동안 암 종이에 싸서 빛을 차단한 뒤 반응시켰다. 효소반응이 끝난 조직들은 PB로 15분간 37°C에서 2회 수세하였다. 그후 4°C에서 30분간 방치한 뒤 파란색의 효소-기질반응을 광학현미경과 실체현미경으로 관찰한 후 cresyl violet 염색시약을 이용하여 대조염색을 시행하였다.

4) Corticotropin releasing factor(CRF), CRF-receptor(CRF-R) 및 CRF-binding protein(CRF-BP)의 면역조직화학 염색

실험동물들은 앞에서 기술한 동일한 방법으로 위와 족삼리에 PRV-Ba-Gal을 주입하고 X-gal 효소화학염색을 시행한 뒤 다음과 같은 1차항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 시행하였다. 1차항체는 rabbit polyclonal antibody인 CRF, CRF-Receptor, CRF-Binding protein(Santa cruz) 항체를 이용하였다. 염색은 각각의 항체를 1 : 500으로 희석한 1차항체에 조직절편들을 담가 실온에서 12시간 내지 24시간 동안 반응시켰다. 이때 1차 항체의 희석은 0.1M PB에 1% normal goat serum(Vector Laboratories, Inc.제)과 0.3% Triton X-100(Sigma)이 섞여 있는 것을 사용하였다. 그후 조직절편들은 실온에서 15분간 2회 0.1M PB로 세척하며 Hsu 등의¹⁷⁾ 방법에 따라 2차 항체인 1 : 200으로 희석된 biotinylated anti-rabbit IgG(Vector Laboratories, Inc.제)에 실온에서 1시간 가량 반응시켰다. 다시 15분간 2회의 0.1M PB 수세과정을 거친 후 peroxidase가 표지된 ABC 용액에 담가 실온에서 1시간 가량 반응시킨다. 그후 다시 0.1M PB로 15분간 2회 수세하고 나서 30mg의 3-3' diaminobenzidine를 150ml의 0.1M PB에 녹인 용액에서 5분간 반응시킨 후 과산화수소를 0.005% 되게 첨가하여 갈색의 발색반응을 약 5분간 시행하였다. 반응이 끝난 조직들은 gelatin이 입혀진 슬라이드 위에 차례대로 얹어 4°C에서 12시간 이상 건조시켰다. 그후 통상적인 방법에 따라 에탄올과 xylene의 탈수와 투명화를 거친 후 permount로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

3. 결과조사

PRV-Ba-Gal을 위(胃)와 족삼리(足三里)에 주사하여 투사된 부위에서 다시 CRF, CRF-R 및 CRF-BP가 염색된 공통부위를 조사하여 지도화하고 부위별로 세포수를 계산하여 지배영역별로 나누어 관찰하였다.

III. 결 과

1. PRV-Ba-Gal을 위(胃)와 족삼리(足三里)에 주입한 후 중추신경계에 투사되는 영역에서의 corticotropin releasing factor (CRF)의 발현<Table 1>

PRV-Ba-Gal을 위에 주입한 후 중추신경계에 투사되는 영역에서의 CRF의 발현부위는 연수에서 가쪽그물핵, 뒤배가쪽그물핵, 거대세포그물핵의 신경세포체와 맨아래구역과 고립로핵의 신경섬유에서 강한 염색반응을 나타내었고, 교에서는 청색반점의 신경세포체에서 강한 염색반응을 나타내었다. 중뇌에서는 적색핵의 신경세포체에서 강한 양성반응을 나타내었고 제3뇌신경의 동안신경섬유 및 등쪽솔기핵의 신경섬유에 양성반응을 나타내었다. 소뇌에서는

purkinje cell layer에 강한 염색반응을 나타내었다. 간뇌에서는 시상하부의 뇌실주위핵의 신경세포체에서 강한 염색반응을 나타내었고 정중융기, 궁상핵 및 preoptic nucleus의 신경섬유에 양성반응을 나타내었다. 중뇌에서는 대뇌피질의 hind limb 영역에 양성반응을 나타내었다.

PRV-Ba-Gal을 족삼리(足三里)에 주입한 후 중추신경계에 투사되는 영역에서의 CRF의 발현부위는 연수에서 가쪽그물핵, 뒤배가쪽그물핵, 거대세포그물핵의 신경세포체와 맨아래구역, 고립로핵의 신경섬유에서 강한 양성반응을 나타내었다. 교에서는 청색반점의 신경세포체 소뇌에서는 대체적으로 purkinje cell layer에 강한 염색반응을 나타내었다. 간뇌의 시상하부의 뇌실주위핵의 신경세포체와, 정중융기, 궁상핵 및 preoptic nucleus의 신경섬유에 강한 염색반응을 나타내었다. 또한 중뇌에서는 대뇌피질의 hind limb area의 신경세포체에 강한 염색반응을 나타내었다.

Table 1. Expression of CRF in CNS Labeled Nuclei after PRV-Ba-Gal injection into Stomach and Zusanli(ST36)

Brain area	Stomach	Zusanli
Hindlimb area	●	●
Paravent. hypoth. n.	●	●
Preoptic n.	●	●
Arcuate n.	●	●
Median eminence	●	●
Red nucleus	●	●
Dorsal raphe n.	●	●
Locus coeruleus n.	●	●
Purkinje cell layer	●	●
Oculomotor n.	●	●
Gigantocellular reticular n.	●	●
Area postrema	●	●
Nucleus tractus solitarius	●	●
Rostrolateral reticular n.	●	●
Lateral reticular n.	●	●

2. PRV-Ba-Gal을 위(胃)와 족삼리(足三里)에 주입한 후 중추신경계에 투사되는 영역에서의 CRF-receptor의 발현 관찰<Table 2>

PRV-Ba-Gal을 위(胃)에 주입한 후 중추신경계에 투사되는 영역에서의 CRF-receptor의 발현부위는 연수에서 맨아래구역, 고립로핵 및 미주신경등쪽핵의 신경세포체 및 신경섬유에 강한 양성반응을 나타내었고, 신경세포체는 거대세포핵과 가쪽그물핵에 양성반응을 나타내었다. 교에서는 청색반점의 신경세포체에 강한 양성반응을 나타내었고, 중뇌의 적색핵의 신경세포체에 강한 양성반응을 나타내었다. 간뇌에서는 시상하부의 뇌실주위핵과 궁상핵의 신경세포체에 강한 양성반응을 나타내었고 신경섬유는 궁상핵에 강한 양성반응을 나타내었다. 중뇌에서는 대뇌피질의 hind limb 영역의 신경세포체에 강한 염색반응을 나타내었다.

Table 2. Expression of CRF-R in CNS Labeled Nuclei after PRV-Ba-Gal injection into Stomach and Zusanli(ST36)

Brain area	Stomach	Zusanli
Hindlimb area	●	●
Paravent. hypoth. n.	●	●
Preoptic n.	●	●
Arcuate n.	●	●
Median eminence	●	●
Red nucleus	●	●
Dorsal raphe n.	●	●
Locus coeruleus n	●	●
Purkinje cell layer	●	●
Oculomotor n.	●	●
Gigantocellular reticular n.	●	●
Area postrema	●	●
Nucleus tractus solitarius	●	●
Dorsal motor n. of vagus nerve	●	●
Rostrolateral reticular n.	●	●
Lateral reticular n.	●	●

PRV-Ba-Gal을 족삼리에 주입한 후 중추신경계에 투사되는 영역에서의 CRF-receptor의 발현부위는 연수의 맨아래구역, 고립로핵 및 미주신경등쪽핵의 신경세포체 및 신경섬유에 양성반응을 나타내었고, 거대세포핵과 가쪽그물핵의 신경세포체에서도 양성반응을 나타내었다. 교에서는 청색반점의 신경세포체에 양성반응을 나타내었고, 중뇌에서는 중심회백질과 Edinger-Westphal nucleus의 신경세포체에 양성반응을 나타내었다. 간뇌에서는 시상하부의 뇌실주위핵의 신경세포체에서, 궁상핵, 정중융기 및 preoptic nucleus의 신경섬유에 강한 양성반응을 나타내었다.

3. PRV-BA-Gal을 위(胃)와 족삼리(足三里)에 주입한 후 중추신경계에 투사되는 영역에서의 CRF-binding protein의 발현<Table 3>

PRV-BA-Gal을 위에 주입한 후 중추신경계에 투사되는 영역에서의 CRF-binding protein의 발현부위는 연수의 맨아래구역, 고립로핵 및 미주신경등쪽핵의 신경세포체 및 신경섬유에 양성반응을 나타내었고, 거대세포핵, 뒤배가쪽그물핵 및 가쪽그물핵의 신경세포체에서도 양성반응을 나타내었다. 솔기핵의 경우 아핵인 불명솔기핵, 창백솔기핵 및 큰솔기핵에서 강한 양성반응을 나타내었다. 교에서는 청색반점, 적색핵 및 코리케퓨즈핵의 신경세포체에 강한 염색반응을 나타내었다. 간뇌에서는 시상하부의 뇌실주위핵의 신경세포체와 궁상핵 및 정중융기의 신경섬유에서 강한 양성반응을 나타내었다.

PRV-BA-Gal을 족삼리(足三里)에 주입한 후 중추신경계에 투사되는 영역에서의 CRF-binding protein의 발현부위는 연수에서 맨아래구역, 고립로핵 및 미주신경등쪽핵의 신경세포체에 강한 염색반응을 나타내었고 거대세포핵, 뒤배가쪽그물핵 및 가

Table 3. Expression of CRF-BP in CNS Labeled Nuclei after PRV-Ba-Gal injection into Stomach and Zusanli(ST36)

Brain area	Stomach	Zusanli
Paravent. hypoth. n.	●	●
Preoptic n.	●	●
Arcuate n.	●	●
Median eminence	●	●
Red nucleus	●	●
Dorsal raphe n.	●	●
Locus coeruleus n	●	●
Purkinje cell layer	●	●
Gigantocellular reticular n.	●	●
Dorsal motor n. of vagus nerve	●	●
Raphe obscurus n.	●	●
Raphe pallidus n.	●	●
Raphe magnus n.	●	●
Rostrolateral reticular n.	●	●
Lateral reticular n.	●	●

쪽그물핵의 신경세포체에도 강한 염색반응을 나타내었다. 교에서는 청색반점의 신경세포체에 강한 염색반응을 나타내었다. 간뇌에서는 시상하부의 뇌실주위핵, 궁상핵, preoptic nucleus 및 정중용기의 신경세포체에 강한 염색반응을 나타내었다.

IV. 고찰

현재까지 위(胃)의 중추신경지배에 관한 연구는 상위 신경핵과 위(胃) 사이의 연결을 주로 전기생리학적인 방법으로 전기적인 자극을 뇌의 특정부위에 가한 다음 이와 연관이 있는 말초장기의 운동성을 조사한 보고가 대부분이었다. Hurley-Guis와 Neafsey⁶⁾는 전기생리학적인 방법으로 전두엽 및 내측전두피질(Medial frontal cortex)이 위(胃)의 운동과 관계있다고 보고하였고 McCann 등⁷⁾은 수뇌에 있는 불명술기핵이 위(胃)와 기능적으로 연결되어 있다고 보고하였다.

그러나 형태학적으로는 현재까지 신경해부학의 분야 중 신경로의 조사는 보편적으로 이용되는 fluoro-gold, nuclear yellow, true blue, HRP 등의 추적자를 이용하여 축삭내로 이동하는 면에서는 각광을 받고 있는 추적자임에는 틀림이 없으나, 이들은 연결을 건너 이웃하는 세포인 상위신경세포나 하위세포로 이동하지 못한다는 큰 단점을 안고 있다. 따라서 신경계통의 선택적 이동이 확실하게 신경연접을 건너 이동하여 1회 주입으로 전체 신경로의 구성이 가능한 신경친화성 추적자가 요구되어 오던 바 최근에 herpes simplex viridae에 속하는 pseudorabies 바이러스의 한 종류로 야생형과는 달리 병원성이 약화된 Bartha strain이 보고되고 있다^{9,18)}.

Pseudorabies 바이러스를 이용하여 특정장기의 중추신경축을 조사한 바로는 외국을 중심으로는 부

신¹⁹⁾ 과 심장²⁰⁾ 등에서 보고된 바 있고 국내에서는 자궁²¹⁾ 등의 내장기관을 대상으로 보고되어 국내외적으로 활기를 띄게 되었다. 내장(內臟)과 경혈(經穴) 및 경락(經絡)과의 관계를 밝힌 추적자를 이용한 연구는 방광²²⁾ 등의 내장기관을 대상으로 보고한 바 있다.

한편 한의학에서는 족삼리(足三里)¹²⁾는 足陽明胃經의 합穴로 膝下 3寸 脛骨外廉大筋 兩筋肉사이 위치하며, 위장질환, 장경련, 급만성위염, 식욕부진, 소화불량, 위중한 등 각종 위(胃) 관련 질환을 치료한다¹²⁾. 또한 足陽明胃經에 대하여 脈起於鼻交頰中……屬胃……下膝三寸……¹²⁾이라 하였으므로 족삼리(足三里)는 위(胃)와 매우 밀접하게 관련되어 있음을 표현한 것이다. 그리고 동물에서는 족삼리(足三里) 자극이 토끼 위(胃)의 운동에 미치는 영향¹³⁾을 조사하여 족삼리(足三里)와 위(胃)와의 연결 또는 기능적 연관성을 입증하고 있다. 따라서 위(胃)와 족삼리(足三里)에 대한 연관성을 밝히는 것은 매우 중요한 것으로 생각된다.

그러나 본 연구에서는 동·서의학의 방법과 개념을 연결시켜 현재까지는 신경추적자의 한계성으로 인해 조사할 수 없었던 족삼리(足三里)와 위(胃)의 연결을 신경로를 조사하여 그 연결을 형태학적으로 입증하고자 하였다.

본 실험에서 위(胃)와 족삼리(足三里)에서 연수로의 공통된 투사영역은 뒤배가쪽그물핵, 가쪽그물핵, 거대세포그물핵, 맨아래구역, 고립로핵 및 미주신경등쪽핵이었다. 본 실험의 표지영역 중 가쪽그물핵(A1 noradrenalin cell 과 C1 adrenalin cell)은 심혈관과 호흡반사를 통합조절하는 곳으로 알려져 있으며 교감신경 흥분시 척수의 교감신경 절전신경 기둥에 투사하여 firing rate를 증가시킨다고 하였다. 또한 이 핵은 척수와 삼차신경의 감각신경 결가지를 받거나, 시상하부의 뇌실주위핵과 외측시상하부핵으로부터 하행투사를 받아 자율신경 반사를 조절한다

고 하였다²³⁾.

본 실험의 표지영역 중 고립로핵과 미주신경등쪽핵은 미주신경반사와 관련된 미주신경복합체로서 고립로핵은 연수의 부교감 절전신경세포체와 척수의 교감신경 절전신경세포체에 하행투사하는 부위이며, 위장관, 심혈관 및 호흡반사를 조절하는 그물핵에 투사하거나 내장에서 들어온 감각을 시상하부 및 대뇌 피질에 상행투사하는 영역이다²⁴⁾. 본 실험의 공통된 표지영역인 미주신경등쪽핵은 위액분비, 혈액분비 및 위장관의 운동 등에 관여하며, 특히 이 복합체의 GABAA 수용체는 장의 운동을 자율적으로 통합조절한다고 하였다²⁵⁾.

본 실험의 공통된 표지 영역중 솔기핵은 아핵인 불명솔기핵, 창백솔기핵 및 큰솔기핵에 투사하였다. 불명솔기핵과 창백솔기핵은 생리적으로 교감신경 억제 경로 및 심혈관 반사를 조절한다고 하였고^{26),27)}, 큰솔기핵은 진통효과 기능이 있으며²⁸⁾ 체온발생을 억제한다고 하였다²⁹⁾. 이러한 영역들은 족삼리(足三里)(ST36) 자극시 나타나는 진통효과, 체온조절 및 교감신경 억제기능과 관련된 영역임을 형태학적으로 뒷받침하고 있다.

본 실험의 위(胃)와 족삼리(足三里)에서 투사되는 공통된 표지영역 중 다리뇌에서는 팔결핵, 코리케푸즈핵, A5 noradrenalin 세포 및 청색반점에 표지되었다. 코리케푸즈핵은 척수의 교감신경 절전신경세포체, 고립로핵 및 연수의 그물핵을 지배하며^{30),31)}, A5영역은 척수의 교감신경 절전신경세포체와 고립로핵에 하행투사하거나 중심회백질에 투사하여 내장의 운동 및 혈압을 조절한다고 하였다^{32),33)}. 청색반점은 자율신경을 조절하는 핵으로 알려져 있으며 척수로 내려가 감각신경 세포체의 작용을 촉진 또는 억제시킬 뿐만 아니라 대뇌의 활동을 조절하는 곳으로 알려져 있다.

본 실험의 위(胃)와 족삼리(足三里)에서 투사되는 간뇌의 공통된 표지영역은 뇌실주위핵, 외측시상

하부핵, 시신경교차뒤핵, preoptic nucleus 및 분계선조침상핵이었다. 이 핵 가운데 뇌실주위핵은 우리 몸의 항상성 조절과 신경내분비 및 자율신경을 조절하는 곳으로서 중심회백질, 팔결핵, 고립로핵, 그물핵 및 연수와 척수의 자율신경과 관련된 구조에 하행 투사하여 내장의 운동 및 감각을 조절한다고 하였다³⁴⁾. Hermann 등⁸⁾은 전기자극 실험에 의하여 분계선조침상핵은 뇌줄기의 미주신경등쪽핵과 peptide를 함유한 축삭에 의하여 연결되어 위장관의 기능을 조절한다고 하였다. 이상의 PRV-Ba-Gal를 이용하여 위와 족삼리에서 투사하는 공통된 표지영역들은 말초장기를 조절하는 상위핵들로서 혈관과 내장의 운동을 조절하는 자율신경 중추임을 알 수 있었다.

최근에 시상하부내에 CRF가 많이 존재하며 이 호르몬은 스트레스시에 많이 분비되어 위(胃)와 대장(大腸)의 운동에 변화를 초래한다고 알려져 있다¹⁵⁾. 그러나 이와 같은 연구도 시상하부와 위(胃)사이의 기능적인 연결에 대해서만 보고하였으므로 본 실험에서는 pseudorabies 바이러스를 이용하여 직접적으로 위(胃)와 이어진 신경로를 통해 기전이 일어나는지를 조사하고자 하였으며, CRF가 한의학의 경혈(經穴)과도 연관이 있는 물질인지를 확인하고자 하였다.

CRF는 시상하부에서 발견된 호르몬으로서 양의 시상하부 조직으로부터 추출하였다³⁵⁾. 이 peptide 호르몬은 부신피질호르몬과 β -endorphine의 분비를 자극한다³⁶⁾. CRF를 흰쥐의 외측 시상하부핵에 주입하면 위산 분비를 억제하는 기능이 있다고 하였다³⁷⁾.

스트레스성 자극이나 감정과 행동의 변화들은 복부를 불편하게 하여 위장관의 기능변화를, gastric fistula를 한 사람에서 공포, 노여움, 스트레스는 위액분비, 혈액순환 및 위비움을 억제한다고 하였다³⁸⁾. CNS에 CRF를 외부에서 주입시 내분비, 자율신경, 대사, 심혈관, 위, 행동의 변화를 일으킨다고 하였

다³⁹⁾. 위장관 기능에 대한 CNS에서의 CRF의 효과는 위산분비와 위비움의 감소 및 소장 통과거리를 증가시킨다고 하였다⁴⁰⁾.

CNS에 작용하는 CRF는 스트레스와 관련된 생리학적 및 행동의 변화를 매개하는 주요역할을 한다⁴¹⁾. CRF를 흰쥐의 뇌실내에 주입하면 교감신경로를 활성화하고 혈압과 심박동을 증가시키며 혈장내 catecholamin을 증가시키며, 위비움과 위산분비를 억제한다⁴²⁾. 위장관의 기능은 직접 신경의 작용에 의해서만 조절되는 것이 아니고 일부 somatostatin hormone이 CRF에 의하여 유도된 효과와 유사하게 위 조절 효과를 나타낸다. somatostatin은 gastrin 방출에 대한 억제기능에 의하여 위산분비를 억제한다⁴³⁾. 또한 직접 위(胃)의 벽세포(parietal cell)로부터 위산 분비를 억제하여 위비움을 감소시키고 점막의 혈액순환을 줄인다⁴³⁾.

본 실험에서 PRV-Ba-Gal을 위(胃)와 족삼리(足三里)에 주입한 후 중추신경계에 투사되는 영역에서의 스트레스와 관련된 CRF의 발현 부위를 관찰한 바 CRF의 발현 부위는 연수에서 맨아래구역, 고립로핵 및 미주신경등쪽핵의 신경세포체 및 신경섬유에 강한 양성반응을 나타내었고, 신경세포체는 거대세포핵과 가쪽그물핵에 양성반응을 나타내었다. 교에서는 청색반점의 신경세포체에 강한 양성반응을 나타내었고, 간뇌에서는 시상하부의 뇌실주위핵과 궁상핵의 신경세포체에 강한 양성반응을 나타내었고 신경섬유는 궁상핵과 정중용기에 강한 양성반응을 나타내었다. 중뇌에서는 대뇌피질의 hindlimb 영역의 신경세포체에 강한 염색반응을 나타내었다.

Hisano 등⁴⁴⁾의 보고에 의하면 CRF는 시상하부에서 신경내분비와 자율적인 기능에 영향을 미친다고 하였으며, 이 인자는 중추신경계내에 광범위하게 분포하는데 CRF에 면역반응을 나타내는 부위는 뇌실주위핵(paraventricular nucleus, PVN)에 많

이 존재하며 정중용기에 투사한다고 하였다. PVN은 기능적으로 다양한 신경내분비 활성을 통합하는 연결망을 통하여 서로 기능적으로 연결이 되어있으며, 이러한 연결연결은 투사하는 신경원과 감각섬유들이 이 peptide에 면역반응을 보이기 때문에 뇌줄기(brain stem)의 자율신경 중심과 PVN 사이의 신경적 연결을 의미한다⁴⁴⁾. 뇌실주위핵에 있는 CRF는 스트레스에 대한 행동반응, 내분비, 자율신경을 통합 조절하며^{35),45)}, ACTH의 분비를 자극하는 뇌하수체-문맥계로 방출된다. 뇌줄기의 CRF는 스트레스에 반응하여 자율신경 및 행동과 관련된 영역에 매개된다. 이러한 영역은 청색반점, Barringtons nucleus, 미주신경등쪽핵 및 팔결핵이라 하였고⁴⁶⁾, 이외에도 편도핵은 CRF와 관련된 신경세포체와 수용체를 함유하고 있으며 스트레스 유발에 의한 행동과 자율적인 반응에 관련되어있다고 하였다⁴⁶⁾. 편도핵의 스트레스에 의한 CRF system의 활성화는 두려움과 관련된 행동 발현에 결정적인 역할을 한다. 그래서 이 편도핵은 감정과 스트레스에 의해서 유발된 반응하에서 작용하는 중요한 신경회로이다⁴⁷⁾. 1시간의 속박 스트레스는 뇌실주위핵에서 CRF mRNA 수준의 증가. 속박 스트레스에 반응하여 편도핵의 CRF 신경원을 활성화하며 이 신경원은 스트레스에 반응하여 자율신경, 행동 및 내분비 반응을 나타낸다고 하였다⁴⁸⁾.

본 실험의 표지영역인 청색반점은 스트레스를 일으키는 인자에 활성화되어 CRF 신경전달물질로 추정되는 표적 가운데 하나이다⁴⁹⁾. CRF에 면역반응을 보인 신경종말과 청색반점의 수상돌기 사이의 특수한 연결연결이 이 증거이다⁵⁰⁾. CRF를 청색반점에 주입하면 이 핵에서의 분비량을 증가시키고 이 핵의 표적기관에서 norepinephrine을 증가시킨다⁵¹⁾.

시상하부의 PVN에서 위비움과 결장 통과거리의 조절에 대한 CRF의 역할을 규명하기 위하여 PVN내

에 CRF를 주입한 바 용량 의존적으로 위비움의 억제와 결장 통과거리를 억제하였다. PVN의 endogenous CRF는 속박에 의한 stress와 관련된 위장관의 통과시간의 변화를 매개하였다.

실험동물과 사람을 감정과 스트레스 자극에 대하여 노출시키면 위장관의 운동을 변화시킨다⁵²⁾. CRF는 위장관 운동기능에 대한 여러가지 스트레스의 효과를 매개한다. 또한 CRF를 뇌척수액에 주입하면 위장관 통과시간에 대한 여러가지 형태의 스트레스 효과를 나타낸다⁴¹⁾.

CRF의 기능은 pituitary-adrenal axis의 활성화로부터 독립적으로 자율신경계를 통하여 매개된 중추신경계에 의하여 조절된다⁵³⁾. CRF 면역반응세포, 신경섬유 및 수용체는 여러가지 뇌의 핵에 위치하는데 이 핵들이 내장의 기능을 조절한다고 하였다. 특히 PVN은 CRF-like 면역반응세포, 신경섬유 및 수용체가 함유되었다고 하였다⁵⁴⁾.

이상의 실험결과로 위(胃)의 운동이나 질병과 관계된 경혈(經穴)인 족삼리(足三里)(ST-36)의 신경로와 위(胃)에서 투사하는 공통영역들은 자율신경의 center와 일치함을 알 수 있었으며 이러한 핵들의 대부분은 CRF, CRF-R 및 CRF-BP에 대하여 공통적으로 면역반응을 보였다. 또 위와 같은 결과로 인해 胃를 지배하는 신경로와 위(胃)의 경혈(經穴) 중의 하나인 족삼리(足三里)의 신경로 및 신경 전달물질이 일치하는 부분을 밝힘으로써 종래의 한의학 중 침구치료 기전이 서양의학쪽의 신경로를 통하여 이어지고 또 효과를 발휘한다는 것을 형태학적으로 뒷받침하는 귀중한 첫 시도라고 생각된다. 이는 한의학 분야와 서양의학 분야를 잇는 가교로서의 역할을 하여 앞으로는 인위적으로 위(胃)와 관련된 질환을 일으켜 침구치료를 시행하여 위(胃)의 신경로와 경혈(經穴)의 신경로를 관찰하여 질병의 치료기전을 보다 과학적인 방법으로 구축하여야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

흰쥐에서 위(胃)와 족삼리(足三里)에 양방향 추적자인 PRV-Ba-Gal을 주입한 후 중추신경계에 표지된 영역과 표지된 영역에서의 스트레스와 관련된 CRF, CRF-R 및 CRF-BP의 발현부위를 면역조직화학 염색법과 x-gal 효소화학 염색법으로 관찰한 바 다음과 결과를 얻었다.

1. 위(胃)와 족삼리(足三里)에서 투사되는 공통된 영역에서 CRF의 발현부위는 연수의 맨아래구역과 고립로핵의 신경섬유, 교에서는 청색반점의 신경세포체, 간뇌의 시상하부 뇌실주위핵의 신경세포체, 정중용기, preoptic nucleus, 궁상핵의 신경섬유, 중뇌의 hind limb 영역 및 소뇌의 purkinje cell layer 이었다.

2. 위(胃)와 족삼리(足三里)에서 투사되는 공통된 영역에서 CRF-R의 발현부위는 연수의 맨아래구역, 고립로핵, 미주신경등쪽핵, 거대세포핵, 가쪽그물핵 신경세포체이었고, 교에서는 청색반점의 신경세포체, 간뇌에서는 뇌실주위핵, 궁상핵, 정중용기, preoptic nucleus이었고, 중뇌에서는 hind limb 영역이었다.

3. 위(胃)와 족삼리(足三里)에서 투사되는 공통된 영역에서 CRF-BP의 발현부위는 연수의 맨아래구역, 고립로핵, 미주신경등쪽핵, 거대세포핵, 뒤배가쪽그물핵 및 가쪽그물핵 신경세포체이었고, 교에서는 청색반점의 신경세포체, 간뇌에서는 뇌실주위핵, 궁상핵, 정중용기이었다.

이상의 실험 결과로 위(胃)와 족삼리(足三里)에

서 투사된 공통된 영역들은 경혈(經穴)과 내장(內臟)을 조절하는 자율신경과 관련된 centre임을 알 수 있었으며 이 핵들의 대부분의 영역들은 스트레스와 관련된 CRF, CRF-R 및 CRF-BP이 발현됨을 알 수 있었다.

VI. 參考文獻

1. Snell RS. Clinical neuroanatomy for medical students. 3rd ed. Little, Brown and Company, Inc. 1992 : 459-490.
2. Leslie RA, Gwyn DG, Hopkins DA. The central distribution of the cervical vagus nerve and gastric afferent and efferent projections in the rat. Brain Res. 1982 ; 8 : 37-43.
3. Shapiro RE, Miselis RR. The central neural connections of the area postrema of the rat. J. Comp. Neurol. 1985a ; 234 : 344-364.
4. Shapiro RE, Miselis RR. The central organization of the vagus nerve innervating the stomach of the rat. J. Comp. Neurol. 1985 b ; 238 : 473-488.
5. Rinaman L, Card JP, Schwaber JS, Miselis RR. Ultrastructural demonstration of a gastric monosynaptic vagal circuit in the nucleus of the solitary tract in rat. J. Neurosci. 1989 ; 9(6) : 1985-1996.
6. Hurley-Guis KM, Neafsey EJ. The medial frontal cortex and gastric motility : microstimulation results and their possible significance for the overall pattern of organization of rat frontal and parietal cortex. Brain Res. 1986 ; 365 : 241-248.
7. McCann MJ, Hermann GE, Rogers RC. Nucleus raphe obscurus(nRO) influences vagal control of gastric motility in rats. Brain Res. 1989 ; 486 : 181-184.
8. Hermann GE, McCann MJ, Rogers RC. Activation of the bed nucleus of the stria terminalis increases gastric motility in the rat. J. Autonomic Nerv. Sys. 1990 ; 30 : 123-128.
9. Card JP, Rinaman L, Schwaber JS, Miselis RR, Whealy ME, Robbins AK, Enquist LW. Neurotropic properties of pseudorabies virus : uptake and transneuronal passage in the rat central nervous system. J. Neurosci. 1990 ; 10(6) : 1976-1994.
10. Card JP, Rinaman LM, Lynn RB, Lee BH., Meade RP, Miselis RR, Enquist LM. Pseudorabies virus infection of the rat central nervous system : Ultrastructural characterization of viral replication, transport, and pathogenesis. J. Neurosci. 1993 ; 13(6) : 2515-2539.
11. Lee CH, Jung HS, Lee TY, Lee SY, Yuk SW, Lee KG, Lee BH. Studies of the central neural pathways to the stomach and Zusanli(ST36). Am. J. Chin. Med. 2001 ; 29 : 211-220.
12. 전국한의학대학교 침구경혈학교실. 침구학, 서울, 집문당, 1991 : 83, 343-345, 382-383.
13. 정희철. 足三理에 대한 平胃散 약침이 가토의 위운동에 미치는 영향. 원광대학교. 원광대학교 대학원 석사학위 논문, 1996.
14. Williams CL, Burks TF. Stress, opioids, and gastrointestinal transit. In : Neuropeptides

- and Stress, edited by Y. Tache, Morlry, J. E., and Brown. M. R. New York : Springer-Verlag, 1998.
15. Mnnikes M, Schmidt BG, Raybould HE. CRF in the paraventricular nucleus mediate gastric and colonic motor response to restraint stress. *Am. J. Physiol.* 1992 ; 262 : G137-G143.
 16. Panicali D, Grzeleckia A, Huang C. Vaccinia virus vectors utilizing the β -galactosidase assay for rapid selection of recombinant viruses and measurement of gene expression. *Gene.* 1996 ; 47 : 93-199.
 17. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase techniques : A comparison between ABC and unlabeled antibody(PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.* 1981 ; 29 : 577-580.
 18. Robbins AK, Ryan JP, Whealy ME, Enquist LW. The gene encoding the gIII envelope protein of pseudorabies virus vaccine strain Bartha contains a mutation affecting protein localization. *J. Virol.* 1989 ; 250-258.
 19. Strack AM, Loewy AD. CNS cell groups regulating the sympathetic outflow of the adrenal gland as revealed by transneuronal cell body labeling with pseudorabies virus. *Brain Res.* 1990 ; 491 : 274-296.
 20. Standish A, Enquist LW, Schwaber JS. Innervation of the heart and its medullary origin of adrenal gland by viral tracing. *Science.* 1994 ; 263 : 232-234.
 21. 이봉희, 최완성, 조경제, 권해영, 배지홍, 송준경, 이홍식, 백상호. Pseudorabies 바이러스를 이용한 흰쥐 자궁의 신경지배에 관한 연구. *대한해부학회지.* 1993 ; 26(3) : 225-233.
 22. 김정연, 전홍재, 이상룡, 이창현, 정옥봉. 족태 양방광경에서 투사되는 신경원의 표지부위에 대한 연구. *대한경락경혈학회지.* 2000 ; 17(1) : 81-100.
 23. Bieger D, Hopkins DA. Viscerotopic representation of the upper alimentary tract in the medulla oblongata in the rat : The nucleus ambiguus. *J. Comp. Neurol.* 262 : 546-562, 1987.
 24. Ross CA, Ruggiero DA, Reis DJ. Projections from the nucleus tractus solitarii to the rostral ventrolateral medulla. *J. Comp. Neurol.* 1985 ; 242 : 511-534.
 25. Greenwood B, Barron KW. Tonic GABAA receptor-mediated neurotransmission in the dorsal vagal complex regulates intestinal motility in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 1988 ; 346 : 197-202.
 26. Gilbey MP, Cootte JH, MacLeod VH. Peterson DF. Inhibition of sympathetic activity by stimulating in the raphe nuclei and the role of 5-hydroxytryptamine in the effect. *Brain Res.* 1981 ; 226 : 131-142.
 27. Oliveras JL, Sierralta F, Fardin V, Besson JM. Implication des systemes serotoninergiques dans l'analgesie induite par stimulation electrique de certaines structures du tronc cerebral. *J. Physiol(Paris).* 1981 ; 77 : 473-482.
 28. Bruck K, Hinckel P. Thermoafferent systems and their adaptive modifications. *Pharmacol. Ther.* 1982 ; 17 : 357-381.
 29. Han JS, Terenius L. Neurochemical basis

- of acupuncture analgesia. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1982 ; 22 : 193-220.
30. Ellenberger HH, Feldman JL. Brainstem connections of the rostral ventral respiratory group of the rat. *Brain Res.* 1989 ; 513 : 35-42.
 31. Loewy AD, McKeller S, Saper CB. Direct projections from the A5 catecholamine cell group to the intermediolateral cell column. *Brain Res.* 1978 ; 174 : 309-314.
 32. Neil JJ, Loewy AD. Decreases in blood pressure in response to L-glutamate microinjections into the A5 catecholamine cell group. *Brain Res.* 1982 ; 241 : 271-278.
 33. Stanek KA, Neil JJ, Sawyer WB, Loewy AD. Changes in regional blood flow and cardiac output after L-glutamate stimulation of A5 cell group. *Am. J. Physiol.* 1984 ; 246 : H44-H51.
 34. Saper CB, Loewy AD, Swanson LW, Cowan WM. Direct hypothalamo-autonomic connections. *Brain Res.* 1976 ; 117 : 305-312.
 35. Vale W, Spiess J, Rivier C, Rivier J. Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and β -endorphin. *Science.* 1981 ; 213 : 1394-1397.
 36. Rivier C, Braustein M, Spiess J, Rivier J, Vale W. In vivo corticotropin-releasing factor induced secretion of adrenocorticotropin, β -endorphin and corticosterone. *Endocrinology.* 1982 ; 110 : 272-278.
 37. Tache Y, Goto Y, Gunion M., Vale W., Rivier J., Brown M. Inhibition of gastric acid secretion in rats by intracerebral injection of corticotropin-releasing factor. *Science.* 1983 ; 222 : 935-937.
 38. Stern RM. Responsiveness of the stomach to environmental stress. In : Holzl R, Whitehead, WE, eds. *Psychophysiology of the gastrointestinal tract : experimental and clinical applications.* New York : Plenum. 1983 : 181-207.
 39. Lenz HJ, Raedler A, Greten H, Vale W.W, Rivier J.E. Stress-induced gastrointestinal secretory and motor responses in rats are mediated by endogenous corticotropin-releasing factor. *Gastroenterology.* 1988 ; 95 : 1510-1517.
 40. Lenz HJ. Extrapituitary effects of corticotropin-releasing factor. *Horm. Metab. Res.* 1987 ; 16(suppl) : 17-23.
 41. Lenz HJ, Burlage M, Raedler A, Greten H. Central nervous system effects of corticotropin-releasing factor on gastrointestinal transit in the rat. *Gastroenterology.* 1988 ; 94 : 598-602.
 42. Fisher LA, Rivier J, Rivier C, Spiess J, Vale W, Brown M.R. Corticotropin-releasing factor : central effects on mean arterial blood pressure and heart rate in rats. *Endocrinology.* 1982 ; 110 : 2222-2224.
 43. Konturek S, Tasler J, Cieskowski M, Coy DH, Schally AV. Effect of growth hormone release-inhibiting hormone on gastric secretion, mucosal blood flow, and serum gastrin. *Gastroenterology.* 1976 ; 70 : 757-761.
 44. Hisano S, Fukui Y, Chikamori-Aoyama M, Aizawa T, Shibasaki T. Reciprocal synaptic relations between CRF-immunoreac-

- tive- and TRH-immunoreactive neurons in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus. *Brain Res.* 1993 ; 620 : 343-346.
45. Imaki T, Katsumata H, Miyata M, Naruse M, Imaki J, Minami S. Expression of corticotropin-releasing hormone type 1 receptor in paraventricular nucleus after acute stress. *Neuroendocrinology.* 2001 ; 73 : 293-301.
46. Swiergiel AH, Takahashi LK, Rubin WW, Kalin NH. Antagonism of corticotropin-releasing factor receptors in the locus coeruleus attenuates shock-induced freezing in rats. *Brain Res.* 1992 ; 587 : 253-268.
47. Sakanaka M, Shibasaki T, Lederis K. Distribution and efferent projections of corticotropin-releasing factor like immunoreactivity in the rat amygdaloid complex. *Brain Res.* 1986 ; 382 : 213-238.
48. Kalin NH, Takahashi LK, Chen FL. Restraint stress increases corticotropin-releasing hormone mRNA content in the amygdala and paraventricular nucleus. *Brain Res.* 1994 ; 656 : 182-186.
49. Valentino RJ, Foote SL, Page ME. The locus coeruleus as a site for integrating corticotropin-releasing factor and noradrenergic mediation of stress responses. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1993 ; 697 : 173-188.
50. Van Bockstaele EJ, Colago EEO, Valentino RJ. Corticotropin-releasing factor containing axon terminals synapse onto catecholamine dendrites and may presynaptically modulate other afferents in the rostral pole of the nucleus locus coeruleus in the rat brain. *J. Comp. Neurol.* 1996 ; 364 : 523-534.
51. Curtis AL, Pavcovich LA, Valentino RJ. Long-term regulation of locus coeruleus sensitivity to corticotropin-releasing factor by swim stress. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999 ; 289 : 1211-1219.
52. Narducci F, Snape WJ, Battle WM, Jr, London RL, Cohen S. Increased colonic motility during exposure to a stressful situation. *Dig. Dis. Sci.* 1985 ; 30 : 40-44.
53. Swanson LW, Sawchenko PE, Lind RW. Regulation of multiple peptides in CRF parvocellular neurosecretory neurons : implications for the stress response. *Prog. Brain Res.* 1986 ; 68 : 169-190.
54. Sheldon RJ, Jiang Q, Porreca F, Fisher LA. Gastrointestinal motor effects of corticotropin-releasing factor in mice. *Regul. Peptides.* 1990 ; 28 : 137-151.