

## 흰쥐 해마의 치상회에서 압박자극 적용이 뇌 신경세포 증식에 미치는 영향

유병규\*, 김경미\*\*, 김창주\*\*\*  
\*신구대학 보건의료학부 물리치료과,  
\*\*인제대학교 의생명공학대학 작업치료학과,  
\*\*\*경희대학교 의과대학 생리학교실

### Abstract

#### Effects of Compression Stimulation Application on Cell Proliferation in the Hippocampal Dentate Gyrus of the Sprague-Dawley Rats

Yu, Byong-Kyu\*, Ph.D., Kim, Kyeong-Mi\*\*, Ph.D., O.T., Kim, Chang-Ju\*\*\*, Ph.D.,

\*Department of Physical Therapy, Shingu College

\*\*Department of Occupational Therapy, College of Biomedical Science and Engineering, Inje University

\*\*\*Department of Physiology, College of Medicine, Kyung Hee University

**Objective** : Effect of treadmill exercise on hippocampal neural cell proliferation under normal conditions and alcohol intoxication conditions has been recently studied; however, this effect under sensory stimulation application has not clarified yet. In the present study, the effect of compression stimulation application on hippocampal neural cell proliferation in the dentate gyrus in normal and alcohol intoxicated rats was investigated.

**Methods** : Experimental design: comparative investigation on number of 5-Bromo-2'-deoxy-uridine(BrdU)B-positive cells in dentate gyrus 5 days after commencement. Setting: animal laboratory. Participants: male Sprague-Dawley rats of 3weeks old in age weighing  $80\pm 10$ gm. Intervention: animals were randomly assigned into 4 groups; control-rest group (n=8), control-compression group (n=8), alcohol intoxication-rest group (n=8) and alcohol intoxication-compression group (n=8). Animals of the alcohol intoxicated groups were injected intraperitoneally

with alcohol (2g/kg) twice per day for 3 days. All animals were injected BrdU(50mg/kg) intraperitoneally, and rats compression stimulation application groups were compressed using sphygmomanometer cuff times per day, for 5 days following alcohol administration. Measures: mean number of BrdU-positive cells in dentate gyrus was observed via immunohistochemistry.

**Results :** Compression stimulation application significantly increased the number of BrdU-positive cells in the dentate gyrus. Also, treatment with alcohol for 3 days inhibited cell proliferation, and compression stimulation application alleviated alcohol-induced inhibition of new cell formation.

**Conclusion :** These results suggest the possibility that compression stimulation application may help in improvement following alcohol-induced brain damaged.

**Key Words :** Compression stimulation application, Alcoholism, Cell proliferation, Dentate gyrus, Bromodeoxyuridine, Immunohistochemistry.

## I. 서론

### 1. 연구의 필요성 및 목적

뇌는 동물의 신경계를 통합하는 최고의 중추적인 역할을 하는 기관으로, 중추신경계는 한번 손상을 받으면 회복이 어려워지며, 감각운동 기능의 손상과 더불어 지능 및 성격장애 등을 초래하게 된다. 알코올은 발생시기에 뇌의 형성과 뇌 세포의 발생 및 신경가역성 등에 영향을 미친다. 출생 전 시기의 알코올은 피질의 신경성장인자(NGF) 농도를 변화시키며, 콜린성 아세틸트랜스퍼레이스(choline acetyltransferase)와 신경펩티드 Y(NPY) 신경원을 감소시킨다(Angelucci 등, 1999). 해마는 알코올로 손상을 받아 병적으로 변화되기 쉬운 부위이며(Bonthius 등, 2001), 뇌 성장이 활발히 진행되는 신생아 시기의 알코올 노출은 소뇌 과립신경세포에서 NMDA를 감소시킨다(Gruol 등, 1998). 영아 흰쥐에게 6.6g/kg와 9.8g/kg 용량의 알코올을 투여했을 때 혈중 알코올 농도가 높으면 높을수록 뇌의 중량이 감소되고 심한 소두증(microcephaly), 신경

세포 손상, 과도한 활동을 보이는 행동장애 그리고 공간개념 장애(impaired spatial navigation)를 유발시켜 알코올이 뇌를 손상시킬 수 있으며(West 등, 1989), 뇌 신경세포를 사멸(apoptosis)시킨다고 하였다(Holownia 등, 1997; McAlhany 등, 2000).

최근 신경세포의 사멸(apoptosis)에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있으며, 활성산소(reactive oxygen species)나 산화성 스트레스(oxidative stress)에 의한 신경세포의 독성이나, 유전적으로 조절되는 사멸이 신경세포 사멸의 새로운 유형으로 알려지면서 새로운 기전들이 밝혀지고 있다. 사멸은 세포가 죽을 때 사전에 이미 준비된 상황에서 사망 프로그램을 가동시켜 발생하는 능동적이고 자발적인 사망기전으로 programmed cell death(PCD)라고도 하는데 신경세포의 발생이나 사멸, 항상성 유지 등에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다(Gruol 등, 1998). 과거의 연구에서는 뇌의 신경세포가 출생 후에는 새로 생성되지 않는다고 하였으나 최근에는 포유동물의 일부 특정 영역들에서 성숙기에도 신경세포들의 생성이 일생 동안 계속해서 일어난다고 보고하고 있다(Altman & Das,

1965; Eckenhoff & Rakic, 1988; Gage 등, 1998). 최근 연구에 따르면 강화된 환경에 노출된 쥐의 치상회에서 신경세포 증식과 생성이 증가되어 뇌의 구조적, 기능적 변화에 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다(Greenough, 1975; Juraska 등, 1985; Juraska 등, 1989; van Praag 등, 1999). 환경의 강화에는 다양한 학습의 기회, 사회적 관계, 더 많은 신체적 활동 그리고 더 큰 공간 등이 포함되어 있다. 강화된 환경의 실험방법으로 학습, 수영, 달리기가 적용되어졌는데 수의적 휠 달리기(voluntary wheel running)가 대조군 보다 생쥐의 치상회에서 새로운 신경세포의 생존을 2배로 증가시켜 신경세포의 생성에 충분한 자극인자가 된다고 하였다(van Praag 등, 1999). 또한 새로이 생성된 신경세포의 생존은 복잡한 환경 자극에 의하여 조절된다고 하여, 신경세포의 증식과 생성은 사회적, 신체적 활동에 의하여 조절될 수 있다는 가능성이 제시되었다(Gould 등, 1999; Kem-permann 등, 1998; van Praag 등, 1999). 이러한 사실은 뇌 손상시 뇌 신경세포 생성 및 기능회복의 가능성 면에서 중요한 관심사로 대두되고 있다.

Eriksson 등(1998)은 성인의 뇌에서 성숙 설치류와 원숭이에서처럼 신경세포의 생성이 일어나는지를 알아본 결과, 해마에서 명주 원숭이에 비해 신경세포로 분화되는 BrdU-labeled cells의 숫자가 적었으나 치상회 과립세포층에서는 신경세포가 생성되는 것을 관찰하였다. 따라서 사람의 뇌에서 신경세포 생성이 일어난다는 긍정적인 연구결과는 뇌의 신경가역성(neuroplasticity)에 대한 연구의 필요성을 제시하고 있으며, 뇌의 신경가역성 관점에서 중추신경계 손상 환자에게 적절한 재활운동 프로그램은 뇌 기능의 정상화를 위하여 매우 중요하다고 생각된다. 그러므로 뇌 기능의 정상화를 위하여 새로운 신경세포를 증식, 생존, 분화시키는 인자들을 먼저 규명한다는 것은 뇌 신경손상 치료에 매우 의의가 있다고 하겠다. 그러나 국내외적으로

뇌의 신경세포 증식과 생성에 관한 연구는 매우 한정적으로 진행되고 있는 실정이다.

이에 본 연구는 어린 정상 흰쥐와 알코올을 투여하여 급성 알코올 중독을 유발시킨 흰쥐를 대상으로 감각자극 중 하나인 압박자극이 뇌 신경세포 증식에 어떠한 영향을 미치는가를 객관적으로 평가함으로써 뇌 신경세포를 증식시킬 수 있는 효과적인 적용방법을 제시하고자 한다.

## II. 연구방법

### 1. 연구대상

본 실험에 사용한 동물은 국가 공인 동물 취급업체(Taehan Biolink Co., Chungbuk, Korea)에서 공급받은 3주령 된 체중 80±10g의 건강한 Sprague-Dawley 계열 수컷 흰쥐 48마리이었다. 실험용 동물은 3일간의 환경 적응 기간을 거친 후 적응여부를 판단하여 무작위 표본추출에 의해 알코올을 투여하지 않은 대조군(n=16)과 알코올을 복강에 주사하여 급성 알코올 중독을 유발시킨 알코올군(n=16)으로 구분하고, 대조군을 휴식군(n=8)과 압박군(n=8)으로 나누었고, 알코올군도 휴식군(n=8)과 압박군(n=8)으로 분류하였다.

선정된 실험동물은 전 실험기간을 통하여 충분한 고형 사료와 물을 공급하였으며, 밤낮주기(12시간 light/12시간 dark)를 조절하였다. 온도는 22~24℃, 습도는 60%의 환경조절 장치가 갖추어진 항온 사육실에서 사육케이스(30cm×20cm)를 이용하여 각 군별로 한 사육실 내에 4마리씩 동일한 환경에서 사육하였다.

### 2. 연구도구

본 연구에 사용된 도구 및 시약은 표 1과 같다.

표 1. 실험 도구 및 시약

실험 도구	회사명
Freezing microtome	Leica, Nussloch, Germany
Zeiss microscope	Oberkochen, Germany
Treadmill	Korea
Aneroid sphygmomanometer	Japan
Alcohol diagnostic kit	Sigma, USA
실험 시약	회사명
5-Bromo deoxyuridine(bromo deoxyuridine)	Sigma, St. Louis, MO, USA
BrdU-specific mouse monoclonal antibody	BoehringerMannheim, Mannheim, Germany
Biotinylated mouse secondary antibody	Vector Laboratories, Burlingame, USA
avidin-biotin-horseradish peroxidase complex	Vector Laboratories, Burlingame, USA
Zoletil 50(anaesthetic)	Vibac, Carros, France

3. 연구절차

1) 혈중 알코올 농도 측정 방법

알코올은 2g/kg의 용량을 하루 2회 3일간 복강에 주사하였다. 3일째 알코올을 투여한 한 시간 후에 일부 쥐에서 심장천자로 혈액을 채취하여 알코올을 투여하지 않은 대조군(n=6)과 투여한 알코올군(n=6)의 혈중 알코올 농도를 alcohol diagnostic kit(Sigma, USA)를 이용하여 측정하였다.

2) 적용 방법

실험용 어린 흰 쥐 집단은 3일간의 환경적응 훈련을 실시하여 적응기를 거친 후 무작위로 대조군과 알코올군으로 분류하여 각각 휴식과 압박자극 적용을 실시하였다. 모든 군은 thymidine analog인 BrdU(5-bromo-2'-deoxyuridine-5'-monophos-

phate)를 복막 내에 주입하였다(50mg/kg). BrdU는 5일간 매 적용 1시간 전에 복강에 주입하였으며, 5일간의 압박자극이 끝난 1시간이 지난 뒤 실험동물을 마취하에 희생시켰다.

휴식군은 실험동물의 자연스러운 성장에 따른 뇌 신경세포 생성의 변화를 살펴보기 위하여 항온사육실에서 실험기간 동안 어떠한 자극이나 운동을 실시하지 않은 방치된 상태이었으며, 압박군은 수동식 혈압계(Sphygmomanometer, Japan)의 cuff를 이용하여 70mmHg 압박강도로 몸통 및 근위부 관절부위에 압박자극을 실시하였다. 압박자극은 1일 총 3회로 나누어 5일간 연속적으로 압박하되 한번 압박할 때 10초 압박, 3초 휴식을 취하며, 1회 압박시 총 10번을 반복하여 압박하였다(표 2).

표 2. 압박자극 적용 프로토콜

구분	압박강도 (mmHg)	압박시간(sec/time)		압박빈도 (time/day)	압박기간 (days/wk)
		압박	이완		
본 압박	70	10	3	3	5

### 3) 조직 처리 및 뇌 적출

실험이 끝난 동물은 Zoletil 50(10mg/kg, i.m.; Vibac, Carros, France)으로 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 0.05M phosphat buffer saline(PBS)을 5분간 주입하고, 0.1M 의 phosphate buffer(PB)에 녹인 4%의 paraformaldehyde(PFA) 용액을 4°C에서 10분간 관류하였다. 뇌를 적출하여 4% PFA에 담겨 4°C에서 24시간 후 고정하였다. 고정된 뇌 조직을 30% sucrose 용액에서 일주일간 침전 후 freezing microtome(Leica, Nussloch, Germany)으로 40 $\mu$ m의 두께로 연속 관상절편을 제작하였다.

### 4) 면역조직 화학법

뇌 절편을 각 군마다 각각 최소 8장씩을 선택하여 0.05M PBS 에서 3분씩 3번 세척하였으며, 0.5 % Triton  $\times$  - 100 으로 20분간 incubation하였다. 다시 0.05M PBS 에서 3분씩 3번 세척하였다. Formamide 50 % + 2  $\times$  SSC solution을 용기에 2ml 넣고 조직을 옮겨서 65°C의 shaking water bath에서 2시간 동안 incubation 한 뒤, 2  $\times$  SSC solution 으로 5분간 2 번 세척한 후 2N HCl 에 조직을 옮겨 30분간 incubation 하였다. 0.1 M sodium borate(pH 8.5)로 25°C에서 10분 이상 중화시켰고, 이어서 0.05M PBS 에서 3분씩 3번 세척한 후 1 시간 동안 1% BSA와 10% horse serum 그리고 3% Triton  $\times$  -100으로 blocking하였다.

BrdU primary antibody(1:600)로 하룻밤 incubation 시킨 후 다시 0.05M PBS에서 3분씩 3번 세척한 후 실온에서 1시간 동안 secondary antibody(1:200)로 incubation시킨 뒤 0.05M PBS 에서 3 분씩 3번 세척한 후 실온에서 1시간 동안 ABC solution으로 처치하였다. 0.05M PBS 에서 3분씩 3 번 세척한 후 조직을 DAB 발색용액으로 반응시킨 후 표본을 gelatin-coating 된 slide에 놓고 탈수시킨 후 mounting하였다.

### 5) 항체 양성반응 세포 수 측정

각각의 항체들과 면역반응이 일어난 세포들은 현미경을 통하여 관찰하였고, 해마의 과립세포층의 면적을 영상 분석기(IBAS, Kontron)를 이용하여 분석하였다. BrdU 양성 세포 수는 해마의 치상회 과립세포층의 mm<sup>2</sup> 단위로 표시하였다.

## 5. 자료 처리 및 분석

수집된 자료는 SPSS/window(version 10.0)를 이용하였다. 기술 통계학적 분석을 통해 각 집단에서의 측정값을 평균 및 표준오차로 기술하였으며, 이에 대한 정규성은 Shapiro-Wilks test로 평가하였다. 또한 집단간의 신경세포 증식 값 차이의 유의성은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA test)을 실시하였고 던칸 방법(Duncan method)을 이용하여 다중범위 검정을 실시하였다. 유의수준은  $\alpha$  =0.05로 설정하였다.

## IV. 연구결과

대조군과 알코올군에게 휴식과 압박자극 적용을 적용하였다. 실험집단별 BrdU 면역조직화학적 검사를 시행하여 해마의 치상회 부위에서 BrdU 양성 세포수를 관찰하여 신경세포 생성의 변화를 정량적으로 분석한 결과는 다음과 같다.

### 1. 실험동물의 체중 변화

실험 5일 동안 실험전과 실험후의 체중은 표 3과 같다. 대조군은 휴식군, 압박군 모두에서 체중 증가가 있었다. 알코올군은 모든 집단에서 체중 감소가 나타났다. 이는 급성 알코올 중독에 의한 부작용으로 생각된다.

표 3. 실험동물의 체중 변화 비교

(단위 : gm)

집단	처치 전		처치 후	
	M	SE	M	SE
대조군				
휴식군	85.71	2.02	111.42	1.42
압박군	82.85	1.84	92.85	1.84
알코올군				
휴식군	83.75	1.82	70.00	0.00
압박군	81.25	2.26	68.00	5.83

2. 실험동물의 알코올 농도

11.44mg/dl이었다.

실험동물의 실험 전 알코올 농도는 그림 1과 같다. 알코올은 2g/kg의 용량을 하루 2회 3일간 복강에 주사하여 투여하였으며, 실험 3일째 알코올 투여 1시간이 지난 뒤 심장천자로 혈액을 채취하였다. 알코올을 투여하지 않은 대조군과 급성 알코올 중독을 유발시킨 알코올군의 혈중 알코올 농도를 측정된 결과, 대조군의 알코올 농도는 0.48mg/dl 상태인 반면, 알코올군의 농도는 155.95±

3. 해마의 치상회에서 신경세포 증식 변화

대조군의 휴식군(CR)과 압박군(CC) 그리고 알코올군의 휴식군과 압박군으로 구분하여 해마의 치상회에서 신경세포 증식에 대한 집단간의 차이를 알아보고자 일원배치 분산분석을 실시한 결과는 표 4와 그림 2와 같다.

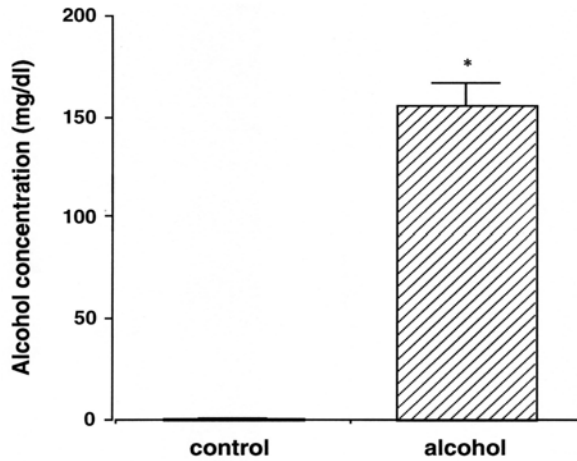


그림 1. 실험동물의 알코올 농도 비교

표 4. 해마의 치상회에서 집단간 뇌 신경세포 증식 변화 비교

요인	제공합	자유도	평균 제공합	F값	P값	사후검정*
집단간	14128.364	3	40.688	40.688	.000	B A D C
집단내	9722.727	84	115.747			
전체	23851.091					

사후검정\* A, 대조-휴식군; B, 대조-압박군; C, 알코올-휴식군; D, 알코올-압박군

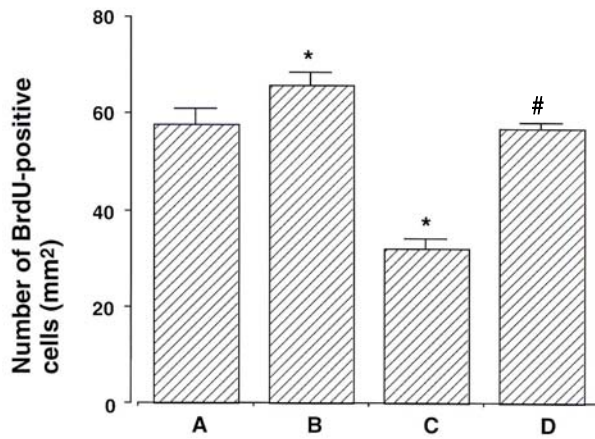
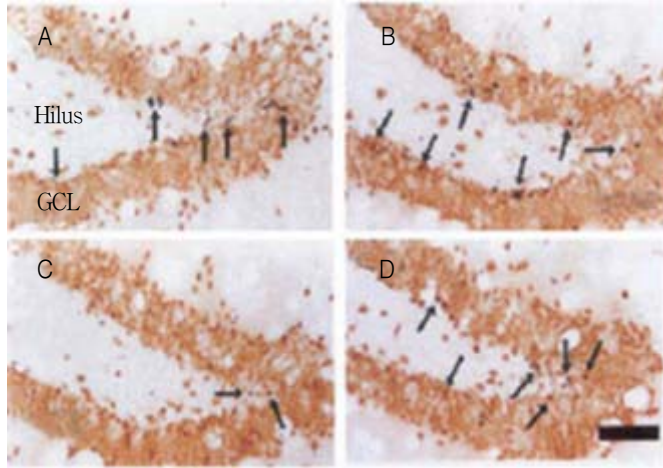


그림 2. 해마의 치상회에서 현미경 사진촬영과 BrdU 양성 세포수 분석 비교

GCL: 해마의 과립세포층. 화살: BrdU 항체 양성 세포. 스케일바; 50 $\mu$ m.

A, 대조-휴식군; B, 대조-압박군; C, 알코올-휴식군; D, 알코올-압박군

\*p<0.05 대조군의 휴식군과 비교 #p<0.05 알코올군의 휴식군과 비교

신경세포 증식에 대한 효과에서 대조군의 휴식군이  $256.05 \pm 13.29$ 개/ $\text{mm}^2$ , 압박군이  $291.93 \pm 11.07$ 개/ $\text{mm}^2$ , 알코올군의 휴식군이  $142.20 \pm 14.61$ 개/ $\text{mm}^2$ , 압박군이  $252.06 \pm 8.86$ 개/ $\text{mm}^2$ 으로 나타나 집단간 통계적으로 유의한 차이가 있었다[F=40.866, p=0.000]. 신경세포 증식에 대한 효과에서 집단간 사후 검정 결과, 대조군의 압박군이 신경증식이 가장 활발히 일어나 나머지 다른 집단에 비해 유의한 차이가 있었고, 반면 알코올군의 휴식군은 신경증식이 가장 적게 일어나 나머지 집단과 유의한 차이를 보였다.

## V. 고찰

본 연구는 어린 정상 흰쥐와 급성 알코올 중독으로 뇌손상을 유발시킨 흰쥐에게 압박자극이 뇌 신경세포 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 계획되었다. 이를 위해 thymidine analog인 BrdU를 5일간 매 적용 1시간 전에 복강 내에 주입하였으며(50mg/kg), 5일간의 휴식과 압박자극을 마치고 1시간이 지난 뒤 실험동물을 마취하에서 희생시켰다. BrdU 면역조직화학법으로 해마의 치상회 부위에서 BrdU 양성인 세포 수를 관찰하여 해마의 치상회 과립세포층 면적당( $\text{mm}^2$ ) 신경세포 생성의 변화를 정량적으로 분석하였다.

알코올은 중추신경계를 손상시킬 뿐 아니라(Pierce 등, 1989) 영아기의 고농도 알코올 노출로 인해 뇌의 중량이 감소되고 뇌의 신경세포를 손상시킬 수 있다고 보고하였다(West, 1989). 최근 알코올에 의해 뇌의 신경세포 사멸이 유발된다고 알려졌다(Holownia 등, 2000), Ikonomidou 등(2000)은 발달과정의 뇌에서 에탄올은 세포사멸성 신경퇴행을 유발시킨다고 하였으며, Gruol 등(1998)은 신생아 알코올 노출은 소뇌 과립세포에서 NMDA를 감소시킨다고 보고하였다. 선행 연구 중 Bonthius와 West(1991)는 사람에서 생후 9개월 영아에 해당하는 흰쥐를 선택하여 뇌가 급속히 성장

하는 생후 4~9일 동안 매일 하루에 4회나 2회 걸쳐 4.5 g/kg 용량의 알코올을 투여시킨 집단과 6.6 g/kg의 알코올을 투여시킨 두 집단을 비교한 결과 매일 저용량의 알코올 4.5g/kg을 투여시켰던 흰쥐에서 대조군 보다 뇌의 중량이 더욱 감소하였고 뇌의 신경세포가 소실되었다고 보고하였다. Bonthius와 West(1990)는 생후 4~10일에 해당되는 흰쥐에게 12번 식사 중 매일 4회에 걸쳐 또는 2회에 걸쳐 저 용량의 알코올 농도(4.5g/kg)을 투여시킨 후 평균 혈중 알코올 농도를 측정된 결과 알코올 농도가 190.7mg/dl으로 나타났으며 해마의 CA1 피라미드 신경세포가 손상되었다고 보고하였다. 그러므로 알코올이 발생시기 뇌의 형성과 뇌 신경세포의 발생 및 신경가역성 등에 부정적 영향을 미쳐 중추신경계를 손상시키는 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 뇌 손상을 유발시키기 위하여 어린 흰쥐에게 2g/kg의 알코올 용량을 하루 2회 3일간 복강에 주사하였으며, 3일째 알코올 투여 후 1시간이 지난 뒤 일부 흰쥐에게서 심장천자로 혈액을 채취하였다. 알코올을 투여하지 않은 대조군과 알코올을 투여한 뇌손상군의 혈중 알코올 농도를 alcohol diagnostic kit(Sigma)를 이용하여 측정된 결과 대조군이 0.48mg/dl, 알코올군이 156.0mg/dl로 나타났다.

임상에서 감각운동 발달장애를 보이는 뇌성마비와 뇌졸중, 그리고 촉각방어를 보이는 환자들의 증상을 치료하기 위해 여러 가지 치료방법 중의 하나인 심부압박 촉각 방법이 사용되고 있다. 심부압박은 환자의 몸에 손을 견고하게 대거나 마사지나 베개나 공 등으로 눌러 주는, 즉 피부 위에 압박을 줄 수 있는 활동 등을 통해 적용된다고 하였다(Wilbarger, 1995). Dykes(1983)는 피부 기계적 수용기와 심부 기계적 수용기 중 피부를 자극하고 관절을 자극하는 압박자극으로 인하여 피부에 위치한 말초 감각수용기 cutaneous slowly adapting Type I 과 II 기계적 수용기와 joint slowly adapt-



ing 기계적 수용기를 통하여 감각정보는 뇌에 전달된다고 하였다. 구체적으로 압박자극은 submodality인 cutaneous slowly adapting을 통하여 시상의 복후외측회(nucleus ventralis posterolateralis)/복후내측회(nucleus ventralis posteromedialis)로 전달되고 최종적으로 대뇌피질의 Brodmann 3b에 도달하게 된다는 것이다. 또한 Wall(1988)은 이러한 기계적 자극은 기계수용기를 통해 척수를 거친 모든 관련된 정보는 ventrobasal complex에 도달하여 S I영역으로 대부분이 중계된다고 하였으며, S II와 posterior parietal 영역을 통해 기억을 저장시키거나 저장된 기억을 일부 담당하는 변연계의 entorhinal cortex와 해마부위, 지속적인 감각 되먹임을 통해 움직임 조절하는 운동계 그리고 외부 세계에 대한 것을 완전하게 추상적으로 감각지도를 창조해 내는 상측두회의 다감각 피질에 최종적으로 체성감각 정보를 도달시킨다고 하였다. 그러므로 본 연구는 감각자극의 하나인 기계적 자극요인으로 Sphgmomanometer(Japan)를 이용하여 몸통 및 근위부 관절 압박자극을 선택하여 해마 치상회의 신경세포 생성을 관찰하게 되었다. 그러나 압박자극의 빈도나 압박강도는 연구자의 주관적 경험을 토대로 설정되었으므로, 앞으로 압박에 대한 자극의 빈도 및 자극의 강도에 대한 구체적이고 객관화된 연구가 필요할 것으로 생각된다. 왜냐하면 자극의 강도가 커질수록 자극은 점차 넓은 범위로 퍼져 자극과 인접한 감각기관만 자극하는 것이 아니라 주변의 감각기관까지 보충자극(recruitment)하는 경향을 보일 뿐 아니라 적정자극은 개개의 감각수용체에 민감하게 반응하기 때문이다.

최근 연구에 따르면 강화된 환경에 노출된 쥐에서 뇌의 구조적, 기능적 변화가 일어남을 알 수 있었고(Greenough, 1975; Juraska 등, 1989; van Praag 등, 1999), van Praag 등(1999)은 강화된 환경이 성장 설치류의 치상회에서 신경세포 생성을 증가시켰다고 보고하였는데, 특히 신체활동인 수의

적 휠 달리기 운동과 강화된 환경이 생존한 신경세포 총수를 2배로 증가시켰으며, 신경세포 신경세포 수도 증가하였다고 보고하여 수의적 운동의 중요성을 강조하였다. 그러나 물 속 미로학습과 강요적인 수영훈련에서는 BrdU 양성 세포수의 총 수가 변화되지 않은 것으로 보아 뇌 신경세포 생성에 긍정적인 영향을 미치지 못했다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 알코올을 투여하지 않은 대조군과 알코올을 투여한 알코올군을 다시 휴식군과 압박군으로 분류하여 5일간의 적응양식을 적용한 후 해마의 치상회의 신경세포 증식을 알아본 결과, 집단간 신경세포 증식에 매우 유의한 차이가 나타났다. 대조군의 압박군이 다른 집단보다 신경세포 증식이 가장 많이 나타나, Kim(2001)의 강제적 저강도 트레드밀 운동이 해마에서 신경세포를 증식시키는 효과와 비슷한 결과를 보였다. 즉 본 연구에서 압박자극 적용을 적용했던 정상 흰쥐나 급성 알코올로 중독된 흰쥐 모두는 자유롭게 방치되어 휴식을 적용 받았던 알코올군의 흰쥐 보다 해마의 치상회에서 신경세포가 증식되었는데 이는 뇌의 신경세포가 손상이 되었다 하더라도 압박자극 적용과 같은 적절한 자극이 제공된다면 뇌의 신경세포는 증식할 수 있다고 생각된다. 이러한 까닭은 새로운 신경세포가 증식되어 일부는 생존하며 죽게 되지만 대부분은 이동 후 세포로 분화하였다는 보고들(Cameron 등, 1993; Palmer 등, 1995)이 많기 때문이다.

Laundy-Ekman(1998)은 신경가역성은 주기적으로 변화하는 것이 아니라 신경계에 몇 초 이상의 시간 동안 변화되는 능력이라고 하였다. 그러므로 신경가역성이란 신경세포가 일평생 동안 주어지는 자극에 변화할 수 있는 능력을 말하는 것이다. 이들 변화는 습관화, 감각, 조건반사, 학습과 기억 그리고 손상으로부터의 회복기전이다. 따라서 이러한 사실은 정상적인 뇌나 알코올이나 허혈 등으로 손상된 뇌에 적절한 자극을 제공 할 때 뇌 신경세포

의 생성 및 기능회복의 가능성이라는 면에서 중요한 관심사가 될 것이다.

Field 등(1986)은 미숙아에게 촉각과 고유수용성 감각을 적용하였을 때 환아의 입원일과 치료비용을 줄이는 긍정적인 결과를 보였으며, 신생아 집중 치료실 아동들에게 촉각자극을 실시한 결과 성장률, 체중 및 주의력 등이 증가되었고 울음이 감소되었다고 보고하였다. 또한 Eliot(1999)는 아동을 안아주거나 마사지하거나 또는 두드려 주거나 흔들어 주는 방법들은 미숙아나, 사람 면역결핍 바이러스(human immunodeficiency virus) 감염 등을 지닌 아동을 건강하게 만들며 운동발달을 향상시킨다고 주장하였다. 그리고 촉각자극을 받은 신생아 환児들은 두려움이 감소되고, 억제성 신경전달 물질(benzodiazepines)인 GABA를 분비하기 위해서 더욱 많은 수용기를 가졌으며, 기억과 학습에 관련된 해마의 퇴행을 감소시켰을 뿐 아니라 같은 연령층 보다 더 높은 인지능력을 지녔다고 하였다. 신생아시기에 적용된 촉각자극의 하나인 handling을 적용한 환児는 스트레스 반응 체계에서 스트레스에 대해 정상적인 호르몬을 분비하였다.

본 연구를 통하여 압박자극 적용이 해마 치상회에서 새로운 뇌 신경세포를 증식시키며, 특히 알코올 중독으로 인한 뇌 손상시 압박자극 적용이 뇌의 신경세포를 활발하게 증식시키는데 탁월한 효과가 있음을 증명할 수 있었다.

## VI. 결론

본 연구는 Sprague-Dawley 계열 어린 흰쥐 48마리를 대상으로 정상 상태인 대조군과 급성 알코올 중독을 유발시킨 알코올군으로 구분하여 각각 휴식과 압박자극 적용을 적용한 후 BrdU 면역조직화학검사를 시행하고, 해마의 치상회 부위에서 BrdU 양성 세포수를 관찰하여 신경세포 생성의 변화를 정량적으로 분석한 결과, 다음과 같은 결론을

얻었다.

1. 대조군에서 압박자극 적용은 휴식 적용 보다 해마의 치상회 부위에서 신경세포 증식을 의미 있게 증가시켰다.
2. 알코올군은 대조군 보다 신경세포 증식이 억제되었으며, 알코올군에서 압박자극 적용은 휴식 적용 보다 해마의 치상회 부위에서 신경세포 증식을 의미 있게 증가시켰다.

이상의 결과를 종합하면, 정상 상태뿐 아니라 알코올 중독시 압박자극을 적용하는 것이 아무런 적용을 받지 않고 휴식을 적용한 상태보다는 해마의 치상회에서 신경세포를 증식시키는 것으로 보아 중추신경계 손상 환자들에게 적절한 감각-운동 자극이 제공된다면 뇌 신경세포를 증식시키고 뇌 기능 회복에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 생각된다.

## 참고 문헌

- Altman J, Das GD. Autoradiographic and histological evidence of postnatal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol.* 1965;124:319-335.
- Angelucci F, Fiore M, Cozzari C, et al. Prenatal ethanol effects on NGF level, NPY and ChAT immunoreactivity in mouse embryonic olfactory cortex, a preliminary study. *Neurotoxicol Teratol.* 1999;21:415-25
- Bonthius DJ, West JR. Alcohol-induced neuronal loss in developing rats: increased brain damage with binge exposure. *Alcohol Clin Exp Res.* 1990;14(1):107-118.
- Bonthius DJ, West JR. Permanent neuronal deficits in rats exposed to alcohol during the brain growth spurt. *Teratology.* 1991;44(2): 147-163.
- Bonthius DJ, Woodhouse J, Bonthius NE, et al.

- Reduced seizure threshold and hippocampal cell loss in rats exposed to alcohol during the brain growth spurt. *Alcohol Clin Exp Res.* 2001;25(1): 70-82.
- Cameron HA, Woolley CS, McEwen BS, Gould E. Differentiation of newly born neurons and glia in the dentate gyrus of the adult rat. *Neuroscience.* 1993;56:337-344.
- Dykes RW. Parallel processing of somatosensory information: a theory. *Brain Reser Rev.* 1983;6:47-115.
- Eckenhoff MF, Rakic P. Nature and fate of proliferative cells in the hippocampal dentate gyrus during the life span of the rhesus monkey. *J Neurosci.* 1988;8:2729-2747.
- Eliot L. What's going on in there. United States & Canada, Bantam Co. 1999.
- Eriksson PS, Perfilieva E, Eriksson BT, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine.* 1998;4:1313- 1317.
- Field TM, Schanberg SM, Scafidi F, et al. Tactile/kinesthetic stimulation effects on preterm neonates. *Pediatrics.* 1986;77(5):654-8.
- Gage FH, Kempermann G, Palmer TD, Peterson DA, Ray J. Multipotent progenitor cells in the adult dentate gyrus. *J. Neurobiol.* 1998;36: 249-266.
- Gould E, Beylin A, Tanapat P, et al. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nature Neuroscience.* 1999;2:260-265.
- Greenough WT. Experiential modification of the developing brain. *Am Sci.* 1975;63: 37-46.
- Gruol DL, Ryabinin AE, Parsons KL, et al. Neonatal alcohol exposure reduces NMDA induced Ca<sup>2+</sup> signal in developing cerebellar granule neurons. *Brain Res.* 1998; 793:12-20.
- Holownia A, Ledig M, Menez JF. Ethanol-induced cell death in cultured rat astroglia. *Neurotoxicol Teratol.* 1997;19: 141-146.
- Ikonomidou C, Bittigau P, Ishimaru MJ, et al. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. *Science.* 2000; 287:1056-1060.
- Juraska JM, Fitch J, Henderson C, et al. Sex differences in the dendritic branching of dentate granule cells following differential experience. *Brain Res.* 1985;333:73-80.
- Juraska JM, Fitch J, Washburne DL. The dendritic morphology of pyramidal neurons in the rat hippocampal CA3 area II. Effects of gender and experience. *Brain Res.* 1989;479: 115-119.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. *J Neuroscience.* 1998;8:3206- 3213.
- Kim SH. Treadmill exercise increases neurogenesis in dentate gyrus of Sprague-Dawley rats. Thesis for the degree of doctor of medical science. Graduate school Kyung Hee University Seoul, Korea. 2001.
- Laundy-Ekman L. *Neuroscience: Fundamentals for rehabilitation.* W. B Saunders CO. 1998.
- McAlhany Jr RE, West JR, Miranda RC. Glial-derived neurotrophic factor (GDNF) prevents ethanol-induced apoptosis and JUN kinase phosphorylation. *Dev Brain Res.* 2000;119:209-216.
- Palmer TD, Ray J, Gage FH. FGF-2-responsive neuronal progenitors reside in proliferative

- and quiescent regions of the adult rodent brain. *Mol Cell Neurosci*. 1995;6:474-486.
- Pierce DR, Goodlett CR, West JR. Differential neuronal loss following early postnatal alcohol exposure. *Tetatology*. 1989;40:113-126.
- van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience*. 1999;2:266-270.
- Wall JT. Fundamental neuroscience. *Trends in Neuroscience*. 1988;11:549-557.
- West JR, Goodlett CR, Bonthius DJ, et al. Manipulating peak blood alcohol concentrations in neonatal rats: review of an animal model for alcohol-related developmental effects. *Neurotoxicology*. 1989;10(3):347-65.
- Wilbarger P. The sensory diet: activity programs based on sensory processing theory. Sensory integration special interest section newsletter. American Occupational Therapy Association. 1995;18(2).