

부동스트레스가 흰쥐 뇌 조직 내 TH, BDH와 CRH 유전자 발현에 미치는 영향

¹연변대학교 간호대학, ²JB 줄기세포 연구소, ³광주기독병원 세포유전학실

천 영 일^{1,2} · 김 윤 식³

Effect of immobilization stress on the expression of TH, BDH and CRH gene in rat brain

Yong-Ri Qian^{1,2} and Yoon-Sik Kim³

¹College of Nursing Yanbian University, No. 39 Jiankang Road, Yanji city Lilin Prov, China

²JB STEM CELL INSTITUTE, INC, College of Medicine, Chosun Univ, Gwangju, Korea

³Department of Cytogenetics Division, Kwangju Christian Hospital, Gwangju, Korea

Purpose : Catecholamines are the neuro-transmitters in the sympathetic nervous system (SNS) and are activated by stress stimulus. Tyrosine hydroxylase (TH) and Dopamine- β -Hydroxylase (DBH) are very important enzymes in the catecholamine synthesis. Corticotropin releasing hormone (CRH) is released in the process of reacting to stresses.

The aim of this study is to find out what effects immobilization stresses have on the expression of TH, BDH and CRH mRNA in a rat's brains.

Methods : We compare expression levels in rat's brains of TH, DBH and CRH mRNA induced by immobilization stresses between the test group and controled group.

The expression levels of TH, DBH and CRH mRNA are measured by RT-PCR and the Western Blotting Analysis (WBA).

Results : In brains and adrenal glands of the immobilization stress group, the expression levels of TH and DBH mRNAs are significantly two to three times higher ($P < 0.01$), and CRH mRNAs are approximately one and a half times higher ($P < 0.05$) than those of controlled group.

Conclusion : This study suggest that the expression levels of TH, DBH and CRH mRNAs are activated by stress stimulus in a rat's brains and adrenal glands.

Key words : Immobilization stress, TH, DBH and CRH mRNAs

서 론

현 시대를 살아가는 사람이라면 누구나 피할 수 없는 것이 스트레스이다. 과중한 업무부담, 경제적 비교, 냉혹한 대

인관계, 심해가는 환경오염 등이 원인인 스트레스는 사람들에게 정서적 변화를 일으키며 나아가서는 심각한 정신적 장애와 신체적 질병을 일으킨다. 이러한 사회적 근원은 그 개인에게 치명적일 뿐만 아니라 사회에도 엄청난 위험을 가져다주고 있어 스트레스는 이미 사회적 암 증이라고 불린다¹⁾. 이러한 스트레스가 인체에서 어떠한 기작에 의해 영향을 미치는가에 대한 연구는 활발하게 연구되어 지고 있지만 분명

책임저자: 김윤식, 광주광역시 남구 양림로 190

광주기독병원 세포유전학실

Tel : 062)650-5126

E-mail : kys2982@naver.com

하게 밝혀지지 않는 실정이다. 현재까지 밝혀진 스트레스의 내분비계에 대한 영향으로는 자율신경계를 통하여 카테콜아민(catecholamine)이나 corticosteroid의 분비가 촉진되고 혈압이 상승되며, 부정맥 등이 발생하는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 현상은 신경내분비계에서 카테콜아민이 교감신경전달물질과 효과기세포에서 분비하는 호르몬으로서 신체의 정상적인 생리활동 과정에서 매우 중요한 작용을 한다는 것을 의미한다²⁾. 카테콜아민은 뇌, 교감신경, 교감신경절 및 크롬 친화성세포에서 전구체 화합물인 아미노산 Tyrosine으로부터 일련의 효소 촉매작용에 의하여 형성된다(Fig. 1). Tyrosine hydroxylase (TH)은 카테콜아민 합성에 관여하는 첫 번째 효소로서 tyrosine을 Dopamine (DA)의 전구체인 L-DOPA로 전환하는데 관여하며, TH효소를 많이 함유하고 있는 PC 12 세포를 이용한 클로닝으로 규명되었다. 또한 TH와 함께 카테콜아민 합성에서 주요하게 관여하는 유전물질의 하나인 Dopamine β hydroxylase (DBH)는 도파민을 노르에피네프린으로 전환하는데 관여하며 부신피

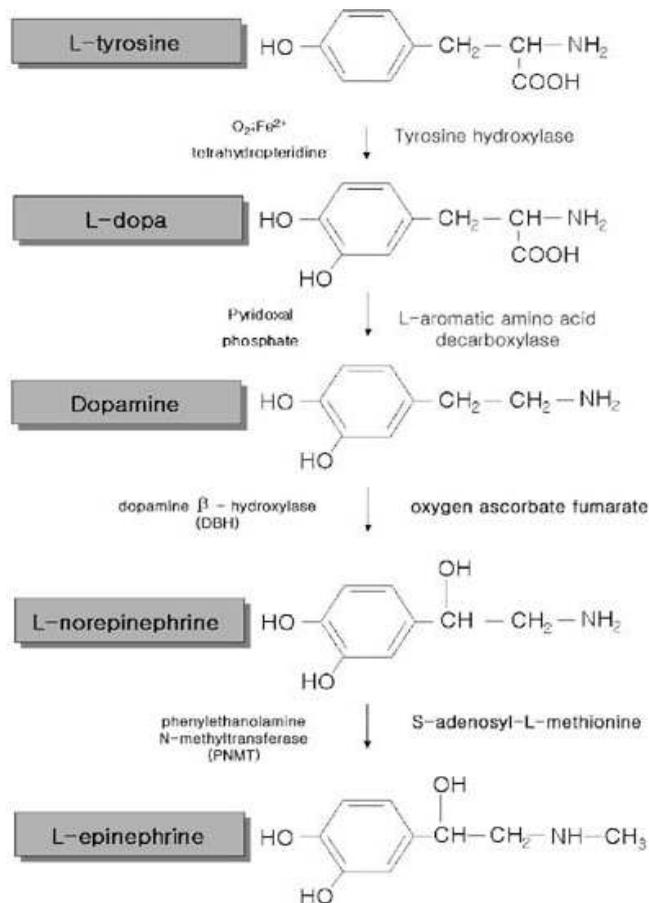


Fig. 1. The pathway of Catecholamine biosynthesis.

질에서 분리되고 있다³⁾. 그리고 스트레스에 의해 증가가 촉진되는 것으로 알려진 부신피질 자극호르몬 방출호르몬 (Corticotropin releasing hormone; CRH) 유전자는 시상하부에서 분비하는 Corticotropin releasing factor (CRF)로서 뇌하수체 Adrenocorticotrophin hormone (ACTH)의 분비에 관여한다⁴⁾. 효소의 활성은 카테콜아민 합성조절에 직접적인 영향을 주기에 효소활성 및 그 유전자에 대한 연구가 현재 중요한 과제로 대두되고 있다⁵⁾. TH와 DBH의 활성 그리고 CRH의 분비는 여러 가지 스트레스의 원인이라고 할 수 있는 약물, 열, 추위, 감염, 외상, 출혈, 신경자극 등 여러 가지 약리적, 환경적, 생리적인 자극과 다양한 인자에 의해 영향을 받는다^{6, 7)}. 이러한 외부적 스트레스 인자에 의한 변화를 보이는 TH, DBH와 CRH 유전자의 발현의 증가는 스트레스에 의해 발생할 수 있는 현대인에게 무서운 질환을 일으키는 중요한 인자일 가능성이 높을 것으로 사료되고 있다.

이에 우리는 동물 스트레스 모델을 만들어 스트레스가 흰 쥐 뇌 조직에서 교감신경계의 흥분을 전달하는 신경전달물질인 카테콜아민을 합성하는데 관여하는 TH, DBH 그리고 CRH 유전자의 발현을 촉진시키는 것을 알아보려고 RT-PCR, Western blotting 등 방법으로 TH와 DBH 및 CRH 인자들의 발현양상에 대하여 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 생후 6-8주된 약 200 g의 *Sprague Dawley* rat (specific pathogen free male)를 한국화학연구소 안정성 연구부로부터 구입하여 실험에 사용하였다. 사료와 물은 자유롭게 먹게 하며, 사육실의 온도는 25°C, 상대 습도는 40-60%로 유지하였고 밤과 낮이 12시간마다 반복되도록 조절하였다.

2. 스트레스 모형 제작과 조직 채취

본 실험에서는 immobilization stress 방식을 선정하여 스트레스 동물모형을 제작하였다. 섬유끈으로 스트레스 실험군 흰쥐를 나무판에 양와위로 사지와 머리를 고정하여 2시간 동안 immobilization stress를 준 다음 house에 되돌렸다가 2시간 지나서 단두 살사하였다. 스트레스를 주지 않은 정상 실험군은 조직 채취 일주일 전부터 하루 3회씩 손으로 잡

아 사육케이지에서 꺼내는 적응 훈련을 시켰다. 또한 짧은 시간 내에 단두 살사하여 스트레스 영향을 최소화 하였으며 1분 내에 뇌와 부신 조직을 채취하여 액체질소에 급 냉동하여 -70°C 에 보관하며 사용하였다.

3. Rat 조직 total RNA의 분리

1 mL의 TRIZOL Reagent 용액에 -70°C 냉동시킨 쥐의 조직 100 mg을 신속히 절단하여 4°C 에서 homogenizer (labware size 5, PYREX)로 조직을 파쇄, 실온에서 10 분간 반응시킨 후 $12,000\times\text{g}$ 로 10분간 원심 분리하여 지방조직 등 고분자물질들을 제거하였다. 상층액에 chloroform $200\ \mu\text{L}$ 를 첨가하여 15초간 교반하고 실온에서 3분간 반응시킨 후 4°C , $12,000\times\text{g}$ 로 15분간 원심 분리하여 투명 상층액만을 새로운 tube에 옮기고 $500\ \mu\text{L}$ isopropanol을 첨가해 실온에서 10분간 반응시켰다. 반응시킨 샘플은 4°C 에서 $12,000\times\text{g}$ 로 10분간 원심 분리하여 상층액을 버리고 pellet에 75% 에탄올 (DEPC로 희석) 1 mL를 첨가하여 세척하고, 4°C 에서 $7,500\times\text{g}$ 로 5분간 원심 분리하여 모은 RNA pellet을 speed vacuum을 이용하여 건조시켰으며, 이 pellet을 DEPC-water에 녹여 -20°C 에 보관하면서 사용하였다.

4. RT-PCR

추출한 RNA를 각각 $2\ \mu\text{g}$ 를 사용하여 역전사 반응용액 1 μL oligo-dT (100p), $2\ \mu\text{L}$ 2.5 mM dNTPS, $4\ \mu\text{L}$ 100 mM DTT, $0.2\ \mu\text{L}$ 40 units, RNase inhibitor, $0.5\ \mu\text{L}$ 200 U, M-MLV reverse transcriptase에서 역전사 반응을 하였다. 얻어진 cDNA를 RNase로 처리한 후 시료 cDNA를 다시 제작한 특정 primer로 second PCR를 수행하였다(Table 1). 증폭된 PCR product는 1.2% agarose gel상에서 전기영동하고 ethidium bromide로 염색하여 비교 분석하였다.

5. Western blotting analysis

단백질 분리를 위한 SDS-PAGE는 12% separating gel 30% acryl-amide/bis-acrylamide 4 mL, 1.5 M Tris-HCl

buffer (0.4% SDS, pH 8.8) 2.5 mL, DW 3.5 mL, 10% ammonium persulfate $80\ \mu\text{L}$, TEMED $20\ \mu\text{L}$ 과 4% stacking gel 30% acrylamide/bis-acrylamide 0.67 mL, 0.5 M Tris-HCl buffer (0.4% SDS, pH 6.8) 1 mL, D. W 2.3 mL, 10% APS $20\ \mu\text{L}$, TEMED $10\ \mu\text{L}$ 으로 실온에서 중합반응을 시켜 만들었다. 단백질 시료 $15\ \mu\text{g}$ 과 5 X sample buffer를 혼합하여 7분간 끓여 얼음에서 식힌 후 loading하고 100 V로 시작해 200 V로 전기영동 후 gel은 CBB R-250을 이용해 염색과 탈색하여 확인하였다. Western blotting은 Jacqueline 등, (2001)의 방법을 이용하였다. 단백질 gel을 PVDF membrane에서 semidry 방법으로 75°C 에서 1.5시간 transfer하였다. Membrane blocking을 위하여 blocking sol. (1% BSA/PBS-T)을 이용하여 실온에서 1시간동안 진탕반응 시킨 후 PBS-T buffer로 10분간 3회 washing하고 TH primary 항체(1:1000)를 4°C 에서 10시간 반응시켰다. 반응 후 PBS-T buffer로 10분간 3회 washing하고 이차 항체(biotinylated antibody, vectastain ABC kit)를 1:100으로 희석하여 실온에서 1.5시간동안 진탕 반응시킨다. 다음 PBS-T buffer로 10분간 3회 washing 한 후 A+B complex (사용하기 전 4, 30분방치)를 희석하여 1시간 진탕 반응시킨다. 또 다시 PBS-T buffer로 10분간 3회 washing 한 후 DAB 반응액(0.2% DAB, 50 mM Tris-HCl, pH: 7.4)과 30% 과산화수소로 발색하여 TH 특이적 단백질 밴드를 확인하였다.

6. 통계분석

동물 실험군은 Rat 6마리를 기본단위로 하였으며 PCR 전기영동 gel의 농도 측정은 imagemaster VDS software (Pharmacia Biotechnol)를 이용하여 5회 반복하여 측정하였으며 β -actin으로 normalization하였다. Paired t test를 이용하여 P 값이 0.05 이하일 때를 유의 값으로 하였다.

Table 1. Oligonucleotide Primers for PCR Used in this Study

Gene name	5' primer (5'-3')	3' primer (5'-3')	product size (bp)
Rat TH	GCT GTC ACG TCC CCA AGG TT	CAG CCC GAG ACA AGG AGG AG	220
Rat DBH	TCA ACT ACT GTC GOC ACG TGC	AOC AGT CAA AGC TCC ATG ATG C	320
Rat CRH	AGG TAC CTC GCA GAA CAA CA	ACA CGC GGA AAA AGT TAG CC	382
β -actin	CCT CTA TGC CAA CAC AGT	AGC CAC CAA TCC ACA CAG	

결 과

1. 부동스트레스 모델에서 TH 유전자 발현 양상

TH 유전자 발현양상은 부동스트레스 모델 흰쥐와 스트레스를 받지 않은 정상적인 흰쥐의 뇌와 부신 조직에서 비교·분석해보면 실험결과는 Fig. 2와 같이 부동스트레스를 받은 실험쥐에서 2-3배 유의하게 증가되었다(** $P < 0.01$).

2. 부동스트레스 모델에서 DBH 유전자 발현 양상

DBH 유전자 발현양상은 부동스트레스 모델 흰쥐와 스트레스를 받지 않은 정상적인 흰쥐의 뇌와 부신 조직에서 비교·분석해보면 실험결과는 Fig. 3과 같이 부동스트레스를 받은 실험쥐에서 2-3배 유의하게 증가되었다(** $P < 0.01$).

3. 부동 스트레스 모델에서 CRH 유전자 발현 양상

CRH 유전자 발현양상은 부동스트레스 모델 흰쥐와 스트레스를 받지 않은 정상적인 흰쥐의 뇌와 부신 조직에서 비교·분석해보면 실험결과는 Fig. 4와 같이 부동스트레스를 받은 실험쥐에서 1.5-2배 유의하게 증가되었다(* $P < 0.05$).

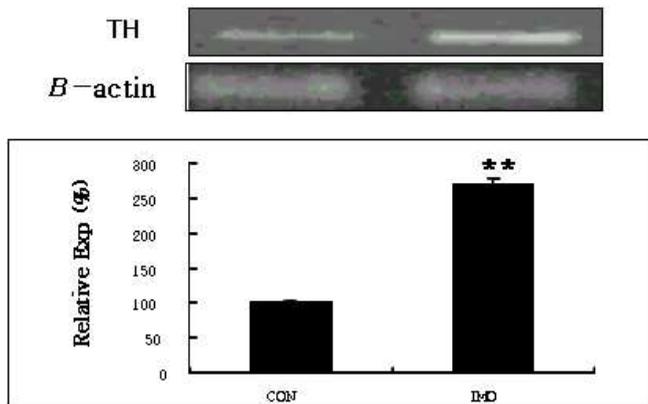


Fig. 2. Comparison of expression level of TH gene induced of immobilized stress (IMO) for 2 hrs and untreated normal (CON) in rat brain. After 2 hrs of stress, the rat brain was obtained and showed the expression of TH mRNA level as described in materials and methods. The PCR products were electrophoresed on to 1.2% agarose gel and visualized with 0.5 μ g/mL etidium bromide. The values were calculated using imagemaster VDS software program and converted to relative percentage and statistical significance was defined as * $P < 0.05$ or ** $P < 0.01$ by paired t test of TH expression in panel.

4. Western blotting analysis를 이용한 스트레스 모델에서 TH 단백질 발현 양상 비교

단백질 수준에서의 발현양상을 관찰하기 위하여 Western

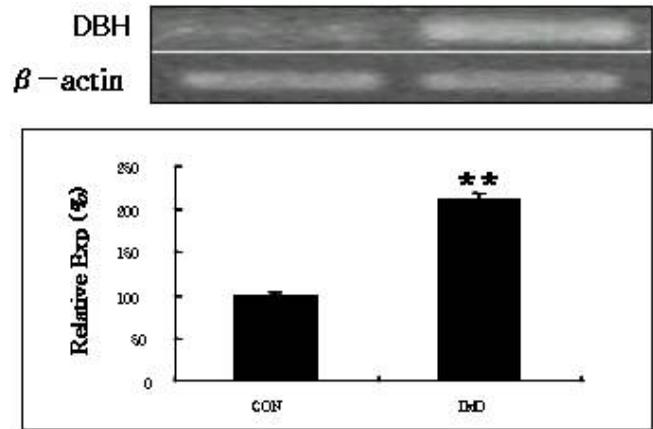


Fig. 3. Comparison of expression level of DBH gene induced of immobilized stress (IMO) for 2 hrs and untreated normal (CON) in rat brain. After 2 hrs of stress, the rat brain was obtained and showed the expression of DBH mRNA level as described in materials and methods. The PCR products were electrophoresed on to 1.2% agarose gel and visualized with 0.5 μ g/mL etidium bromide. The values were calculated using imagemaster VDS software program and converted to relative percentage and statistical significance was defined as * $P < 0.05$ or ** $P < 0.01$ by paired t test of DBH expression in panel.

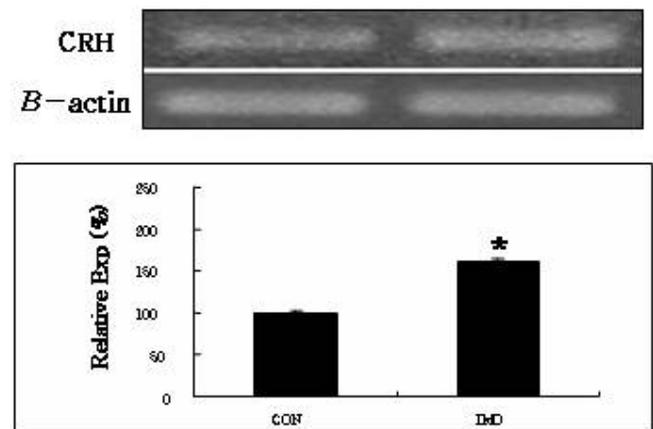


Fig. 4. Comparison of expression level of CRH gene induced of immobilized stress (IMO) for 2 hrs and untreated normal (CON) in rat brain. After stress treatment, the rat brain was obtained and showed the expression of CRH mRNA level as described in materials and methods. The PCR products were electrophoresed on to 1.2% agarose gel and visualized with 0.5 μ g/mL etidium bromide. The values were calculated using imagemaster VDS software program and converted to relative percentage and statistical significance was defined as * $P < 0.05$ or ** $P < 0.01$ by paired t test of CRH expression in panel.

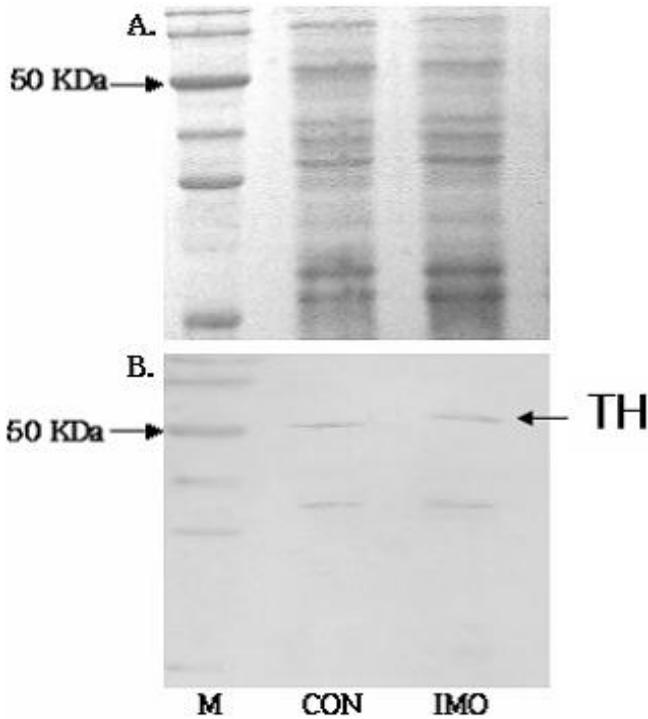


Fig. 5. Western blotting analysis of TH amount by immobilization stress rat brain. A, SDS-PAGE for protein of rat brain; B, western blotting of TH. Abbreviations: M, molecular standard marker; CON, saline treated; IMO, immobilization stress in rat for 2 hrs.

blotting을 수행하였다. 결과 부동스트레스 실험군의 뇌 조직 TH 단백질발현은 정상군과 비교해 증가됨이 관찰되었으나 유의한 수준은 되지 못하였다(Fig. 5).

고 찰

스트레스에 의한 반응은 스트레스 종류에 관계없이 비 특이적인 반응이 나타나는데 이러한 반응군을 general adaptation syndrome이라고 부른다. 개체는 스트레스에 직면하면 주로 hypothalamic pituitary adrenal (HPA) 반응축과 locus coeruleus norepinephrine system이 작동되는데 즉각적인 반응으로 교감신경계가 반응하며, 다음으로 부신수질에서 norepinephrine과 epinephrine을 분비하고 결과적으로 뇌하수체에서 ACTH를 분비하여 이들이 말초에서 호르몬 분비를 촉진함으로써 장기간 지속되는 반응을 나타낸다⁸⁾. 교감신경계가 작동하면 중추와 말초신경세포에서 카테콜아민 신경전달물질합성이 증가되어 그 흥분이 직접적으로 각 조직에 전달되며 부신수질에서는 norepinephrine과 epinephrine의 합성과 혈중 방출량이 증가되어 간접적으로 각 효과기를 작동

시킨다⁹⁾. 교감신경흥분은 신체의 대부분 혈관을 수축시키고 심장박동, 심근수축력을 증가시켜 혈압상승을 유발하며 심장부담을 증가시키고 또 혈액응고를 촉진한다²⁾. Blumenthal 등은 장기간 거둬지는 스트레스에 직면하면 sympathoadrenal system의 불규칙적인 활성화가 일어나 고혈압, 동맥경화와 같은 심혈관질환 발병률이 증가하고 또한 환자의 심근경색을 유발하여 생명위험을 일으킨다고 하였다¹⁰⁾. 또한 부교감신경의 상대적인 억제로 인해 소화선의 분비가 감소되고 위장 근육이 이완되어 장 내용물의 이동이 더디어져 식욕부진, 소화불량, 변비 등 질병을 일으킨다. 이러한 스트레스가 인체에 미치는 영향이 매우 크므로 스트레스를 줄일 수 있는 방법이 중요하게 떠오르고 있다.

특히 스트레스는 내분비계에 대한 영향으로 자율신경계를 통하여 카테콜아민이나 corticosteroid의 분비를 촉진시켜 혈압을 올리거나 부정맥을 일으키고 장기간 분비 카테콜아민은 뇌, 교감신경, 교감신경절 및 크롬 친화성세포에서 전구체 화합물인 아미노산 Tyrosine으로부터 일련의 효소 촉매 작용에 의하여 형성된다. TH는 생합성 경로의 첫 번째 효소로서 DA의 전구체인 L-DOPA로 전환하는데 관여하며, TH 효소를 많이 함유하고 있는 PC 12 세포를 이용한 클로닝으로 규명되었다. DBH는 도파민을 노르에피네프린으로 전환하는데 관여하며 부신수질에서 분리되었었다³⁾. CRH는 시상하부에서 분비하는 CRF로서 뇌하수체 ACTH의 분비를 조절하여 코티졸 등 부신피질호르몬의 분비에 관여한다⁴⁾. 신경내분비계에서 카테콜아민(도파민, 노르에피네프린, 에피네프린)은 교감신경전달물질과 효과기 세포에서 분비하는 호르몬으로서 신체의 정상적인 생리활동과정에서 매우 중요한 작용을 한다²⁾. CRH는 시상하부에서 분비하는 CRF로서 뇌하수체 ACTH의 분비를 조절하여 코티졸 등 부신피질호르몬의 분비에 관여한다⁴⁾. 따라서 이들 합성에 관여하는 효소의 활성변화도 매우 중요하게 대두되고 있다. 특히 TH와 DBH는 카테콜아민 생합성과과정에서의 주요한 합성조절 효소로서, 관련효소들 중에서도 제일 중요한 작용을 한다. TH는 부신수질에서 대량으로 발현되며, 중추신경계에서는 주로 사이너(Diencephalon)의 시상하부(Hypothalamus)와 중뇌(Midbrain)의 후적핵부(Retrorubral), 흑질(Substantia nigra), 복피개(Ventral tegmentum) 부위의 도파민 신경세포에 많이 존재한다¹¹⁾. TH는 또 도파민 신경세포의 고도의 특이적인 표지효소로 알려져 있어 immunohistochemistry를 이용한 신경세포의 면역화학적 연구도 활발히 진행되고 있다¹²⁾

¹³⁾ DBH는 뇌교(pons)의 청반(locus coeruleus)과 그 주위 노르에피네프린 신경세포에 많이 존재하고 있으며 부신수질에서도 발현된다. 효소의 활성화는 카테콜아민 합성조절에 직접적인 영향을 주기에 효소활성 및 그 유전자에 대한 연구가 현재 중요한 과제로 대두되고 있다⁵⁾. TH와 DBH의 활성화는 약물, 열, 추위, 감염, 외상, 출혈, 신경자극 등 여러 가지 약리적, 환경적, 생리적인 자극과 다양한 인자에 의해 영향을 받는다^{6, 7)}.

이에 우리는 동물 스트레스 모델을 만들어 스트레스가 교감신경계의 흥분을 전달하는 신경전달물질인 카테콜아민을 합성하는데 관여하는 TH, DBH 그리고 CRH 유전자의 발현을 촉진시키는 가를 알아보고자 본 연구를 수행하여 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

첫째로 RT-PCR을 통한 스트레스 모델에서 TH와 DBH 및 CRH 유전자 발현 양상 비교에서 TH의 발현양상은 부동스트레스를 받은 실험쥐와 정상적인 생활을 한 쥐의 뇌와 부신 조직에서 비교·분석해보면 결과는 부동의 스트레스를 받은 실험쥐에서 2-3배 유의하게 증가되었다(** $P < 0.01$). 그리고 DBH 발현양상도 부동스트레스를 받은 실험쥐와 정상적인 생활을 한 쥐의 뇌와 부신 조직에서 비교·분석 결과는 부동의 스트레스를 받은 실험쥐에서 2-3배 유의하게 증가되었다(** $P < 0.01$). 그리고 여기에 더하여 CRH 유전자의 발현양상도 부동스트레스를 받은 실험쥐와 정상적인 생활을 한 쥐의 뇌와 부신 조직에서 비교·분석에서도 결과는 부동의 스트레스를 받은 실험쥐에서 1.5배 정도 유의하게 증가되었다(* $P < 0.05$). 이러한 결과는 스트레스의 발생과 TH, DBH 및 CRH유전자의 큰 상관관계가 있을 알 수 있었다. 그리고 두 번째 Western blotting analysis를 이용한 스트레스 모델에서 TH 단백질 발현 양상 비교해 보기위해 정상과 부동스트레스 실험군의 흰쥐의 뇌 조직에서 각각 단백질을 분리하고, SDS-PAGE 전기영동으로 확인 한 후 Tyrosine Hydroxylase antibody를 이용하여 Western blotting을 수행하였다. 정상실험군과 비교해 부동스트레스 실험군에서 약간 증가됨을 보였으나 유의성이 있을 정도의 증가는 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 연속되어지는 스트레스가 아닌 짧은 시간 동안의 스트레스로 인해 단백질발현까지는 영향을 미치지 못하였을 가능성도 있을 것으로 사료된다.

우리는 이번 실험모델을 통해 뇌와 부신에서 TH, DBH와 CRH 유전자는 스트레스 자극에 의해 발현이 활성화 됨을 제시할 수 있었으며 이는 스트레스와 관련이 있는 것으로 알

려진 카테콜아민은 TH와 DBH 및 CRH 유전자 물질의 조절 작용에 의해 조절 될 수 있음을 증명할 수 있었다고 사료된다.

한글요약

목적: 카테콜라민은 교감신경계에서 신경전달물질이며 스트레스자극에 의해 활성화된다. TH와 DBH는 카테콜라민 합성에 매우 중요한 효소이다.

CRH는 스트레스 반응에서 방출되는 호르몬이다.

이번 연구의 목적은 부동스트레스가 흰쥐 뇌에서 TH, DBH와 CRH 유전자발현에 어떤 영향을 미치는가를 알아보기 위한 것이다.

방법: 2시간 동안 부동스트레스와 무처리 흰쥐의 뇌에서 TH, DBH와 CRH 유전자 발현량을 비교하였다.

TH, DBH와 CRH 유전자 발현은 RT-PCR과 western blotting analysis에 의해 정량하였다.

결과: 부동스트레스 흰쥐 그룹의 뇌와 부신에서 TH와 DBH 유전자발현은 정상그룹보다도 약 2-3배 유의하게 증가하였으며, CRH유전자는 약 1.5배 유의하게 증가하였다.

결론: 이번 연구는 흰쥐의 뇌와 부신에서 TH, DBH와 CRH 유전자는 스트레스 자극에 의해 발현이 활성화됨을 확인할 수 있었다.

참고문헌

- 1) Kitazawa, M., Anantharam, V. and Kanthasamy, A. G. (2001) dieldrin-induced oxidative stress and neurochemical changes contribute to apoptotic cell death in dopaminergic cells. *Free Radical Biology & Medicine* 31:1473-85.
- 2) 강대길, 권혁일, 김광진 외 24인. 의학생리학. 도서출판 정담 2002
- 3) 서유현. 신경전달물질. 민음사 1992:115-91.
- 4) Herman, J. P., Figueiredo, H., Mueller, N. K., Lai, Y. U., Osfrander, M. M., Choi, D. C. et al. Mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2003;24:151-80.
- 5) Greenwood, B. N., Kennedy, S., Smith, T. P., Campeau, S., Day, H. E. W. and Fleshner, M. Voluntary freewheel running selectively modulates catecholamine content in peripheral tissue and c-fos expression in the central sympathetic circuit following exposure to uncontrollable stress

- in rats. *Neuroscience* 2003;120:269-81.
- 6) Sutoo, D. and Akiyama, K. Neurochemical changes in mice following physical or psychological stress exposures. *Behavioural Brain Research* 2002;134:347-54.
 - 7) Helfferich, F. and Palkovits, M. Acute audiogenic stress-induced activation of CRH neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus and catecholaminergic neurons in the medulla oblongata. *Brain Research* 2003;975:1-9.
 - 8) Makino, S., Smith, M. A. and Gold, P. W. Regulatory role of glucocorticoids and glucocorticoid receptor mRNA levels on tyrosine hydroxylase gene expression in the locus coeruleus during repeated immobilization stress. *Brain Research* 2002;943:216-23.
 - 9) 양병환, 백기청, 김정희 등. 스트레스 연구. 한양대학교 정신건강연구소 총서 1집 1999;135-62.
 - 10) Blumenthal, J. A., Bavyak, M., Wei, J., O'Connor, C., Waugh, R., Eisenstein, E., Mark, D., et al. Usefulness of psychosocial treatment of mental stress-induced myocardial ischemia in men. *Am. J. Cardiol* 2002;89:164-8.
 - 11) Phillips, J. K., Dubey, R., Sesiashvilvi, E., Takeda, M., Christie, D. L. and Lipski, J. Differential expression of the noradrenaline transporter in adrenergic chromaffin cells, ganglion cells and nerve fibres of the rat adrenal medulla. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 2001;21:95-104.
 - 12) Magnone, M. C., Bertolucci, C., Piazza, F. and Foa, A. Daily and circadian rhythms of neurotransmitters and related compounds in the hypothalamic suprachiasmatic nuclei of a diurnal vertebrate. *Brain Research* 2003;973:115-21.
 - 13) Acerbo, M. J., Hellmann, B. and Gunturkun, O. Catecholaminergic and dopamine-containing neurons in the spinal cord of pigeons: an immunohistochemical study. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 2003;25:19-27.