

출생 전 스트레스와 감금 스트레스가 흰쥐 편도복합체 별아교세포에 미치는 영향: I. 별아교세포의 세포체에 미치는 영향

이지용, 최병영, 김동희¹, 정원석, 조병필, 양영철*
연세대학교 원주의과대학 해부학교실, ¹환경의생물학교실

Effects of Prenatal and Restraint Stress on Astrocytes of Amygdala Complex of Rat: I. Effects on the Astrocytic Cell Body

Ji-Yong Lee, Byoung-Young Choi, Dong-Heui Kim¹, Won-Sug Jung,
Byung-Pil Cho and Young-Chul Yang*

Department of Anatomy and ¹Environmental Medical Biology,
Yonsei University, Wonju College of Medicine, Wonju 220-701, Korea
(Received August 5, 2008; Accepted September 19, 2008)

ABSTRACT

The plasticity of nervous system is generated not only due to changes in neurons but also due to changes in neuroglial cells. Astrocyte is important for maintaining the normal brain function and controlling the neuronal functions. The amygdala receives an array of important sensory information of danger signals. This information is further transduced and integrated to produce the highly adaptive emotion, fear. In this study, morphometric changes in the cell bodies of astrocytes in the amygdala, induced by prenatal stress and restraint stress were examined. For this purpose, rats were classified into 4 groups: control group (CON), only restraint-stressed (starting on P90 for 3 days) group (CONR), prenatally-stressed group (PNS), and prenatally and restraint (on P90 for 3 days) stressed group (PNSR). Astrocytes were verified with anti-GFAP immunohistochemistry, counter stained with methylene blue/azure II and were examined using the Neurolucida. Results showed that astrocytes in the amygdala of PNS rats had significantly larger cell bodies than did CON rats and this was enhanced further by restraint stress. Thus this data showed that hypertrophy of the astrocytic cell bodies of amygdala complex is induced by prenatal and restraint stress.

Keywords : Prenatal stress, Restraint stress, Amygdala complex, Astrocyte

서 론

직장을 가진 한국 성인의 약 23% 정도가 스트레스를 앓

고 있으며, 70% 정도가 잠재적인 스트레스군이고 나머지 5% 정도가 stress free군이라는 보고가 있어 (Chang et al., 2005) 스트레스는 현대인에 만연되어 있는 질병이라 할 수 있다. 미국에서도 정신건강과 관련된 문제로 1,900만 정도의

* Correspondence should be addressed to Dr. Young-Chul Yang, Department of Anatomy, Wonju College of Medicine, Yonsei University, 162 Ilsan-dong, Wonju, Gangwon-do, Korea. Ph.: (033) 741-0273, Fax: (033) 742-1434, E-mail: chjyc@yonsei.ac.kr

성인들이 앓고 있는 것으로 조사 보고된 바 있으며 (U.S. Department of Health and Human Services, 1999; National Institute of Mental Health, 2004), 3~5%의 청소년들이 이 문제로 치료를 받고 있다 (Costello & Angold, 1995). 스트레스가 이에 관련하여 심리적인 요인을 더욱 악화시키며, 또한 위와 같은 증상의 원인이기도 하다.

우리 인체에 가해지는 여러 가지 상해 및 자극에 대하여 체내에서는 일련의 비특이 반응이 일어나는데, 이 때 인체에 가해지는 상해 및 자극 등을 스트레스 (stressor)라 하고, 이 때의 긴장상태를 스트레스 (stress)라 하며, 이에 대해 신체 내에서 조직적인 통합된 반응이 나타나는데 이를 스트레스 반응이라 한다. 스트레스 반응으로 분비되는 호르몬을 스트레스호르몬이라 하며 이들은 시상하부에 영향을 미쳐 이 곳에서 뇌하수체나 신장으로 향하는 호르몬의 분비를 자극한다. 따라서 renin-angiotensin system과 hypothalamo-pituitary-adrenal axis (HPA 축)의 활성화가 스트레스에 따른 호르몬 반응의 근간을 이룬다 (Carrasco & van de Kar, 2003). 이 때 HPA 축의 활성화에 관여하는 것으로 알려진 corticotropin-releasing factor (CRF)가 스트레스와 깊은 관계를 갖는 것으로 알려져 있다 (Sarnyai et al., 1995; Fadda & Fatta, 1997; Habib et al., 2001). 따라서 *in vivo*에서 스트레스의 여부를 확인하는데 CRF의 발현이나 이에 의한 최종산물인 글루코코르티코이드의 농도를 측정하여 이용하고 있다.

스트레스 반응으로 CRF는 편도복합체, 시상하부, 청색반점 등 뇌의 여러 구역에서 분비된다 (Habib et al., 2001). 흰쥐에서 편도복합체는 측두엽의 머리에서 꼬리 쪽까지 걸쳐서 존재하는 신경세포의 집단으로 거의 모든 편도복합체 구역에서 위험을 알리는 중요한 감각정보를 받고 이러한 정보를 모아 공포라는 감정을 만들어낸다. 편도복합체는 중심핵 (central nucleus), 가쪽핵 (lateral nucleus), 안쪽핵 (medial nucleus), 바닥핵 (basal nucleus) 및 겉질핵 (cortical nucleus) 등으로 이루어졌다. 편도복합체를 이루는 모든 신경핵이 서로 연관되어 통합된 기능을 하고 있으나, 중심핵은 주로 물리적인 스트레스를 지각하고 이에 대한 신체의 항상성을 유지하는 작용을 하는 반면 (Dayas et al., 2001), 안쪽핵은 정신적인 스트레스에 대해 반응하고 (Dayas et al., 1999), 가쪽핵은 편도로 들어가는 주요 관문으로 다양한 정보를 담은 시상과 겉질의 여러 부위로부터 투사섬유를 받는 것으로 알려져 있다 (Salm et al., 2004).

신경조직에서 별아교세포 (astrocyte)의 기능은 매우 다양하여 주로 신경세포의 지지, 영양 등에 관계하며, 또한 신경세포의 활성을 조절할 뿐 아니라 정상적인 신경연접의 형성에도 영향을 미친다 (Ouyang & Giffard, 2004). 별아교세포에는 glial fibrillary acidic protein (GFAP)이라는 특이 단백질이 존재하며, 이에 대한 항체를 이용한 면역조직화학염색법은 별아교세포를 연구하는데 매우 유용하다 (Song et

al., 2004). GFAP는 별아교세포 이외에 뇌실막세포에서도 발생초기에 발현이 이루어지다가 뇌실막세포가 완전히 분화하면 소실되고 뇌실막세포에 국한하여 여전히 분포하는 것으로 알려져 있다 (Yang et al., 2000). 별아교세포의 가소성에 관해서 해마를 자극하면 해마 자체는 물론 편도와 이상엽 겉질에서 GFAP의 면역염색성이 증대하였고 (Hansen et al., 1990), 편도를 자극하였을 때 역시 해마, 편도, 이상엽 겉질의 GFAP 면역염색성이 상승하였다 (Khurgel & Ivy, 1996). 일반적으로 다양하고 복잡한 환경에서 자란 동물은 별아교세포의 크기와 돌기 수가 증가하고 (Sirevaag et al., 1988), 돌기의 면역염색도가 증가하며 (Sirevaag & Greenough, 1991), 별아교세포의 핵도 증가한다 (Sirevaag & Greenough, 1987). 이러한 보고들은 별아교세포가 정상적인 뇌의 기능을 유지하는데 중요하며, 학습과 기억 하에서 신경조직의 구조적인 변화가 별아교세포의 가소성에 기인할 수 있음을 뜻한다.

발생중인 유기체는 다양한 외부의 영향에 매우 민감하며, 특정 시기에 받은 영향은 일생동안의 행동이나 대사과정을 지배하기도 한다. 사람인 경우 출생전의 스트레스는 유아에게 정신박약과 수면장애를 유발하고 (Stott, 1996), 일부 동물에서는 성체가 되어서도 스트레스에 대한 심리 및 생화학적 저항력이 저하되는 것으로 알려져 있다 (Barbazanges et al., 1996). Valle et al. (1997)은 출생전 스트레스를 받은 군과 출생 직후 스트레스를 받은 군 그리고 대조군을 모두 출생 90일 후에 30분 동안 감금하고 난 후 corticosterone을 측정하였더니 출생전 스트레스를 받은 군이 가장 높았다고 보고한 바 있다. 이를 바탕으로 본 연구는 출생전의 스트레스가 출생하여 성장한 후 받는 스트레스에 어떤 영향을 미치는지, 특히 별아교세포의 세포체에 어떤 변화가 일어나는가를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

임신한 경험이 없는 성숙한 Sprague-Dawley 계열의 흰쥐 암컷을 수컷과 합사시켜 질전 (vaginal plug)의 형성을 확인하여 임신 시작일 (G0)로 간주하고 임신한 암컷을 수컷과 분리하였다. G14일부터 출산일 전까지 하루에 한 번씩 사육 cage에서 새로운 cage로 옮기고 0.1 mL의 0.9% saline을 피하 주사하고 다시 사육 cage로 옮겼다. 이와 같이 스트레스를 받은 어미에서 출생한 흰쥐를 출생 전 스트레스군이 라 하였다. 출생 전 스트레스를 받은 흰쥐와 정상적으로 출생한 흰쥐를 모두 성체가 된 것으로 간주하는 출생 후 90일까지 사육하고 이들 중 일부를 3일 동안 감금하였다. 따라서 실험동물은 전체적으로 아무 스트레스도 받지 않은

대조군(control group: CON), 감금 스트레스만 받은 군(restraint-stressed group: CONR), 출생 전 스트레스를 받은 군(prenatally-stressed group: PNS) 및 출생 전 스트레스와 감금스트레스를 받은 군(prenatally- and resrtraint-stressed group: PNSR)으로 구분하였다. 감금은 움직임을 제한하도록 고안된 원통형 장치에 흰쥐를 넣고 25°C의 정상적인 조명하에서 하루에 2시간씩 실시하였다. 3일째 감금처리가 끝난 흰쥐는 바로 희생시키고, 감금 스트레스를 주지 않은 흰쥐 역시 이 때 같이 희생시켜 사용하였다.

2. 실험 방법

각 군의 흰쥐를 sodium pentobarbital (150 mg/kg, i.p.)을 이용하여 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 0.9% NaCl을 포함하는 0.1 M 인산염완충액(pH. 7.4)을 투여하여 혈액을 제거한 후에 4% paraformaldehyde로 관류 고정하였다. 뇌를 적출한 후 Leica 1000S vibratome (Leica, Germany)으로 30 µm 두께의 관상절편을 제작하여 실험재료로 사용하였다.

부유법을 이용한 면역조직화학염색을 시행하기 위하여 우선 0.5% 과산화수소를 포함하는 methyl alcohol에 10분간 처리하여 각 절편에 내재되어 있는 과산화효소의 활성을 제거하고, 이어서 조직 내 비특이 면역반응을 없애기 위해 normal goat serum에서 10분간 처리하였다. 1차 항체로 rabbit polyclonal anti-GFAP antibody (Dako, Demark), 2차 항체로는 biotinylated anti-rabbit IgG (Biogenex, USA)를 사용하여 면역조직화학염색을 시행하고 이어서 avidin-biotin-peroxidase complex (Biogenex, USA)로 처리하였다. 각 단계가 끝날 때마다 0.1% triton X-100을 포함하는 PBS로 세척

하였다. 면역조직화학염색이 끝난 절편은 0.05% diaminobenzidine이 용해된 0.1 M 인산염완충액(pH. 7.4)으로 발색시킨 후 유리 슬라이드에 올려놓고 실온에서 건조시켰다. 면역염색이 끝난 절편의 일부는 유리슬라이드에서 건조시킨 후 methylene blue/azure II로 대조염색을 실시하였다.

염색이 끝난 절편은 Paxinos & Watson (1998)의 방법에 따라 편도복합체를 이루는 각 신경핵을 구분하고, 실험동물 1마리에 5장의 표본을 대상으로 무작위로 한 지점의 광학현미경 200배 시야에서 각 신경핵에 분포하는 단위면적당 GFAP 양성반응세포의 수를 확인하였다. 또한 mbf bioscience (MicroBrightField Inc., USA)의 NeuroLucida software를 이용하여 각 신경핵에 분포하는 GFAP 양성반응세포 세포체의 면적, 둘레길이, 직경 및 원형성 등을 측정하였다.

3. 통계 처리

각 결과에 대한 실험군 간의 유의성을 비교하기 위하여 two way anova test 및 student t-test를 실시하였다.

결 과

GFAP 면역조직화학과 대조염색을 시행한 결과, 신경세포는 methylene blue/azure II에 의해 진한 청색으로, 신경아교세포는 옅은 청록색으로 염색되었다(Fig. 1A, B). 또한 GFAP 면역조직화학염색에 양성반응을 보이는 별아교세포는 세포체는 물론 세포돌기도 뚜렷하게 관찰할 수 있었다(Fig. 1B). 흰쥐 뇌의 관상절편에서 편도복합체는 머리쪽으로부터 시각교차가 나타나는 부위에서 처음 피질핵부터 나

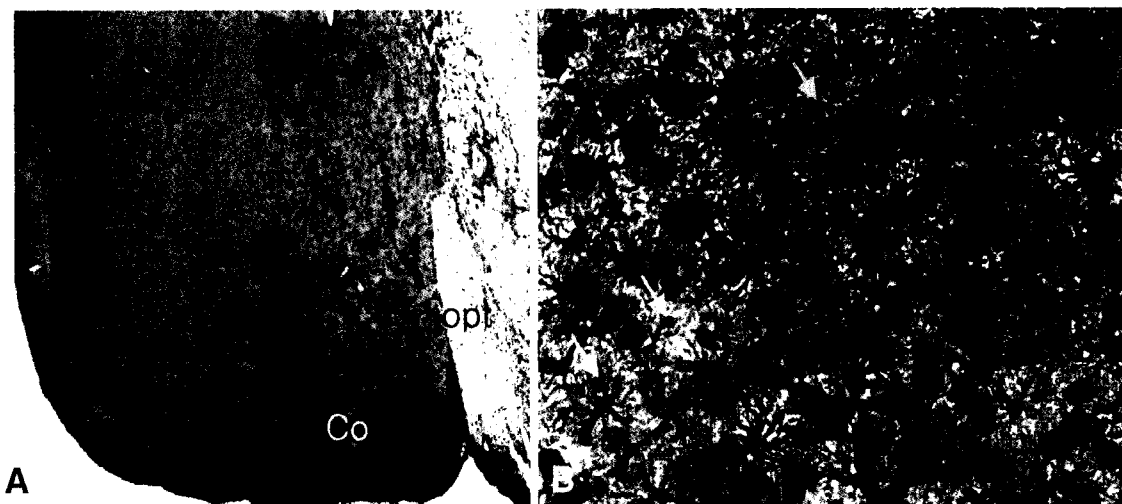
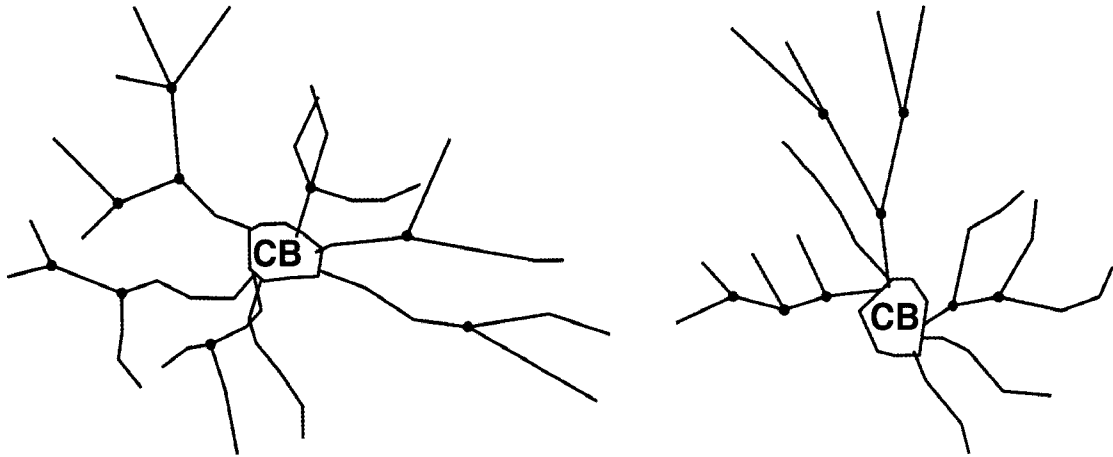


Fig. 1. A. Structure of the amygdala complex. BL: basolateral amygdala nucleus, BM: basomedial amygdala nucleus, Ce: central amygdala nucleus, Co: cortical amygdala nucleus, ec: external capsule, La: lateral amygdala nucleus, Me: medial amygdala nucleus, opt: optic tract. $\times 40$; B. High power of Fig. 1A. Well observed astrocytes stained with GFAP immunohistochemistry (black arrow), nucleus of the neuron (red arrow) and the neuroglia (yellow arrow) stained with methylene blue/azure II. $\times 200$.

Table 1. Number of GFAP immunopositive cells in amygdala nuclei

	Ce	La	Mc	BL	BM	Co	Total
CON	35.67±6.86	39.62±7.96	35.08±3.93	34.06±6.37	39.47±6.80	33.10±6.03	35.34±6.77
CONR	34.44±6.01	36.91±4.32	36.06±5.67	33.82±5.66	41.12±4.53	36.98±6.69	36.60±6.08
PNS	39.32±5.71	36.96±5.36	41.93±5.26	32.00±4.88	40.71±5.88	35.94±5.08	37.24±6.18
PNSR	36.82±8.46	36.07±5.26	34.51±4.56	34.06±5.68	33.88±4.48	33.75±5.63	35.09±5.63

Mean ± S.D.

**Fig. 2.** Diagrams of astrocytic cell body (CB) and its processes using NeuroLucida.

타나기 시작하여 꼬리쪽으로 가면서 중심핵, 기쪽핵, 안쪽핵, 바닥기쪽핵, 바닥안쪽핵, 걸질핵 등으로 구별할 수 있었다(Fig. 1A).

흰쥐 대조군에서 GFAP 양성반응을 보이는 별아교세포의 수는 광학현미경 200× 배율에서 시야 당 33.10±6.03개(걸질핵)에서 39.62±7.96개(기쪽핵)로 신경핵에 따른 차이는 없었으며, 모든 실험군에서도 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 1).

NeuroLucida 프로그램을 이용하여 별아교세포의 세포체 및 세포돌기를 그릴 수 있었다. 세포체의 모양은 타원형에서 원형에 이르기까지 다양하였으며(Fig. 2A, B), 동 프로그램을 이용하여 세포체의 면적(area)과 둘레길이(perimeter), 단경과 장경(diameter I, II), 단경과 장경의 비(D. ratio) 및 원형성(roundness)을 측정할 수 있었다(Table 2). 대조군에서 별아교세포 세포체의 면적은 평균 25.69±3.37 μm²(안쪽핵)에서 32.89±5.27 μm²(바닥기쪽핵), 둘레의 길이는 20.81±0.69 μm(안쪽핵)에서 23.93±2.66 μm(바닥기쪽핵), 장경은 7.66±0.26 μm(안쪽핵)에서 9.09±1.08 μm(바닥기쪽핵), 단경은 4.54±0.42 μm(걸질핵)에서 5.31±0.37 μm(바닥기쪽핵)로 각 항목에서 신경핵에 따른 유의한 차이는 없었다. 원형성 역시 0.51±0.03(걸질핵)에서 0.56±0.03(안쪽핵, 바닥안쪽핵)으로 비슷하게 나타났다.

편도복합체의 각 신경핵에서 출생 전 및 성장 후 스트레

스가 별아교세포 세포체의 각 측정 항목에 미치는 영향을 확인하여 보았다. 바닥기쪽핵을 제외한 나머지 신경핵에서 PNSR군 별아교세포 세포체가 대조군에 비해 면적이 유의하게 증가하였다. 특히 안쪽핵과 기쪽핵의 PNSR군의 세포체는 대조군은 물론 CONR군에 비해서도 면적이 유의하게 증가한 것으로 나타났으며, 중심핵에서는 모든 실험군이 대조군에 비해 세포체의 면적이 증가하였다. 세포체 둘레길이는 안쪽핵의 PNSR군만이 대조군에 비해 증가한 것으로 나타났다. 원형성은 바닥안쪽핵을 제외한 나머지 신경핵에서 PNSR군이 증가하였다.

고 찰

출생 전 스트레스를 받은 90일된 흰쥐와 스트레스를 받지 않은 대조군을 각각 30분 동안 감금하고 나서 30분 후에는 모두 감금 스트레스를 받지 않은 군보다 corticosterone의 농도가 높게 나타났으나 120분 후에는 대조군은 감금 전의 상태로 돌아갔으나 출생 전 스트레스를 받은 군은 높은 수준을 유지하였다(Barbazanges et al., 1996). 또한 출생 전 스트레스를 받은 군과 출생 직후 스트레스를 받은 군 그리고 대조군을 모두 출생 90일에 30분 동안 감금하고 난 후 corticosterone을 측정하였더니 출생 전 스트레스를 받

Table 2. Morphometric analysis of cell bodies of GFAP immunopositive cells in amygdala nuclei

	Area (μm^2)	Perimeter (μm)	Diameter I (max, μm)	Diameter II (min, μm)	D. Ratio (max/min)	Roundness
a) Central amygdala nucleus						
CON	26.78 \pm 4.54	21.22 \pm 1.65	8.04 \pm 0.48	4.77 \pm 0.52	1.75 \pm 0.13	0.53 \pm 0.03
CONR	31.69 \pm 3.83*	22.28 \pm 1.20	8.41 \pm 0.59	5.36 \pm 0.30	1.62 \pm 0.10	0.57 \pm 0.02
PNS	33.31 \pm 2.87 [#]	23.47 \pm 0.89	8.78 \pm 0.28*	5.40 \pm 0.28	1.69 \pm 0.14	0.56 \pm 0.02
PNSR	35.65 \pm 3.89 [#]	23.57 \pm 1.35	8.80 \pm 0.40*	5.60 \pm 0.40	1.61 \pm 0.06	0.61 \pm 0.03*
b) Lateral amygdala nucleus						
CON	29.20 \pm 2.39	22.51 \pm 1.01	8.63 \pm 0.57	4.99 \pm 0.47	1.53 \pm 0.66	0.51 \pm 0.07
CONR	31.76 \pm 3.59	23.25 \pm 1.19	8.89 \pm 0.89	5.30 \pm 0.28	1.70 \pm 0.07	0.55 \pm 0.02
PNS	33.86 \pm 5.05	22.94 \pm 1.28	8.47 \pm 0.35	5.56 \pm 0.59	1.57 \pm 0.15	0.60 \pm 0.06
PNSR	37.0 \pm 0.96 ^{###}	23.87 \pm 0.44	9.00 \pm 0.28	5.88 \pm 0.09	1.54 \pm 0.07*	0.61 \pm 0.04*
c) Medial amygdala nucleus						
CON	25.69 \pm 1.46	20.81 \pm 0.69	7.66 \pm 0.26	4.85 \pm 0.10	1.60 \pm 0.07	0.56 \pm 0.04
CONR	28.20 \pm 2.64	21.43 \pm 1.05	8.15 \pm 0.24	4.92 \pm 0.35	1.68 \pm 0.07	0.54 \pm 0.02
PNS	30.87 \pm 3.54 [#]	22.04 \pm 1.23	8.09 \pm 0.13	5.34 \pm 0.42	1.45 \pm 0.29	0.58 \pm 0.03
PNSR	32.68 \pm 2.75 ^{###}	22.70 \pm 0.70*	8.31 \pm 0.35	5.49 \pm 0.30	1.55 \pm 0.12	0.60 \pm 0.04 ^{###}
d) Basolateral amygdala nucleus						
CON	32.89 \pm 5.27	23.93 \pm 2.66	9.09 \pm 1.08	5.31 \pm 0.37	1.74 \pm 0.14	0.53 \pm 0.05
CONR	32.89 \pm 5.71	23.41 \pm 1.29	8.58 \pm 0.43	5.39 \pm 0.49	1.65 \pm 0.12	0.57 \pm 0.04
PNS	34.18 \pm 3.80	23.39 \pm 0.99	8.89 \pm 0.30	5.44 \pm 0.35	1.68 \pm 0.10	0.48 \pm 0.12
PNSR	35.71 \pm 2.54	23.40 \pm 1.14	8.57 \pm 0.49	5.74 \pm 0.27	1.54 \pm 0.11*	0.62 \pm 0.03 ^{####}
e) Basomedial amygdala nucleus						
CON	27.29 \pm 2.92	21.13 \pm 1.73	8.01 \pm 0.51	4.90 \pm 0.37	1.68 \pm 0.07	0.56 \pm 0.03
CONR	31.26 \pm 2.91	22.28 \pm 0.95	8.43 \pm 0.52	5.29 \pm 0.28	1.64 \pm 0.09	0.56 \pm 0.03
PNS	29.66 \pm 3.21	21.86 \pm 1.25	8.17 \pm 0.40	5.15 \pm 0.29	1.61 \pm 0.09	0.56 \pm 0.02
PNSR	32.97 \pm 3.41 [#]	22.75 \pm 1.01	8.43 \pm 0.37	5.49 \pm 0.35	1.58 \pm 0.05	0.59 \pm 0.02
f) Cortical amygdala nucleus						
CON	25.84 \pm 3.37	21.35 \pm 1.87	8.22 \pm 0.89	4.54 \pm 0.42	1.83 \pm 0.26	0.51 \pm 0.04
CONR	28.73 \pm 3.24	21.62 \pm 1.33	7.89 \pm 0.77	5.07 \pm 0.19	1.61 \pm 0.11*	0.58 \pm 0.03*
PNS	29.09 \pm 2.98	21.55 \pm 1.54	8.02 \pm 0.59	5.12 \pm 0.22	1.62 \pm 0.08	0.57 \pm 0.05
PNSR	32.44 \pm 3.36 [#]	22.76 \pm 1.26	8.25 \pm 0.38	5.51 \pm 0.37	1.54 \pm 0.06*	0.60 \pm 0.02*

Mean \pm S.D.*significantly different from CON group ($p < 0.05$), [#]significantly different from CON group ($p < 0.01$), **significantly different from CONR group ($p < 0.05$),***significantly different from PNS group ($p < 0.05$)

은 군이 가장 높았다는 보고도 있다 (Valle et al., 1997). 이러한 보고들은 출생 전의 스트레스가 출생 후 성체가 된 후에도 스트레스에 대한 반응에 큰 영향을 미치고 있음을 뜻한다.

스트레스와 밀접한 구조인 편도복합체는 중심핵 (central nucleus), 가쪽핵 (lateral nucleus), 안쪽핵 (medial nucleus), 바닥핵 (basal nucleus) 및 겹질핵 (cortical nucleus) 등으로 이루어졌다. 편도복합체를 이루는 모든 신경핵이 서로 연관되어 통합된 기능을 하고 있으나, 중심핵은 주로 물리적인 스트레스를 지각하고 이에 대한 신체의 항상성을 유지하는 작용을 하는 반면 (Dayas et al., 2001), 안쪽핵은 정신적인 스트레스에 대해 반응하고 (Dayas et al., 1999), 가쪽핵은 편도로

들어가는 주요 관문으로 다양한 정보를 담은 시상과 겹질의 여러 부위로부터 투사섬유를 받는 것으로 알려져 있다 (Salm et al., 2004).

스트레스에 관련한 편도복합체의 기능에 있어서 Adolphs et al. (1995)은 사람인 경우 한 쪽 혹은 양쪽 편도에 손상이 오면 공포를 초래하는 시각적 자극의 인지가 결핍된다고 보고하였다. 또한 최근 기능적 영상 연구에서 얼굴에 공포의 표정이 나타나든지 다른 공포를 유발하는 시각적인 자극을 가할 때 편도의 활성이 나타난다는 보고가 있으며 (Phan et al., 2002), 이외에도 De Bellis et al. (2000)은 MRI를 이용하여 anxiety disorders 인 경우 편도의 용적이 증가한다고 보고하는 하는 등 스트레스와 편도의 관련성은 여러 실

험결과들을 통해 입증된 바 있다. 실험동물에서 출생 전 스트레스를 받은 군이 출생 후 성체가 되었을 때 가쪽편도핵의 용적이 증가하였으며, 이 핵에서 신경세포의 밀도가 유의하게 증가한 반면 신경아교세포는 변하지 않았으나 총세포 수에 있어서는 가쪽편도핵에서 신경세포와 신경아교세포 모두 증가하였다는 보고가 있다(Salm et al., 2004). 그러나 신경아교세포의 밀도가 변하지 않았다는 것은 현미경 시야 당 신경아교세포의 수는 변하지 않았음을 의미하며, 본 연구에서도 가쪽편도핵을 비롯한 편도복합체를 구성하는 모든 신경핵에서 스트레스에 의한 현미경 시야 당 별아교세포 수는 변하지 않은 것으로 나타나 스트레스에 의해 단위 면적당 별아교세포의 수는 변하지 않은 것으로 사료된다. 그러나 출생 전 스트레스를 받은 흰쥐에 출생하여 성장 후 다시 스트레스를 가한 실험군(PNSR군)의 편도복합체 신경핵에서 대조군에 비하여 별아교세포 세포체의 면적이 증가하였고, 일부 편도핵에서는 출생 전 스트레스를 받은 군(PNS)이나 성장 후 감금 스트레스를 받은 군(CONR)에서도 대조군에 비하여 세포체의 면적이 증가한 것으로 나타났으므로 스트레스가 편도복합체의 신경핵에 분포하는 별아교세포의 증식(hyperplasia)을 초래하지는 못했지만 이 세포의 비대(hypertrophy)를 유발시켰음을 의미한다.

여러 가지 요인에 의한 신경계의 가소성은 신경세포에 국한되어 있는 것이 아니며, 신경아교세포 역시 형태적·생리학적 변화를 보인다. 신경조직에서 신경아교세포 중 별아교세포의 기능은 매우 다양하여 신경세포의 지지는 물론 신경세포 수용기의 반응성을 조절하고, 통로 전도성, 모든 신경원의 흥분성, 심지어는 신경연접의 수와 형태도 조절하는 것으로 알려져 있다(Muller, 1995). 별아교세포의 가소성에 관해서 해마의 자극에 의한 편도복합체 등에서 GFAP의 면역염색성의 증대(Hansen et al., 1990), 편도를 자극함에 따른 여러 구역에서의 GFAP 면역염색성의 상승(Khurgel & Ivy, 1996) 등이 보고되었고, 또한 다양한 learning model에서도 GFAP가 증가하는 것으로 알려졌다(Kraig et al., 1991; Wenzel et al., 1991). 이런 보고들을 종합하여 보면 별아교세포가 정상적인 뇌의 기능을 유지하는데 중요하며, 학습과 기억하에서 신경조직의 구조적인 변화가 별아교세포의 가소성에 기인할 수 있고, 나아가 신경세포의 기능을 조절할 수 있음을 의미한다. 본 연구에서도 스트레스를 받은 흰쥐 편도복합체의 신경핵에서 별아교세포의 비대와 모양이 보다 둥글게 변한 것으로 나타났으므로 스트레스에 의한 편도복합체의 기능 변화에 별아교세포가 관여한 것으로 사료된다.

특히 출생 전 스트레스는 받지 않고 성장 후 감금 스트레스만 받은 실험군(CONR군)은 중심핵에서만 대조군에 비해 별아교세포의 면적이 증가하였으며, 출생 전 스트레스만 받은 군(PNS군)에서는 중심핵과 안쪽핵의 별아교세포에서

유의한 면적 증가를 보였으나, 출생 전 및 성장 후 스트레스를 받은 군(PNSR군)에서는 바닷가쪽핵을 제외한 편도복합체의 모든 신경핵에서 유의한 면적 증가를 보였으므로, 출생 전에 받은 스트레스의 영향이 출생하여 성장한 후에도 지속되며, 출생 후 받는 스트레스에도 영향을 주는 것으로 추측할 수 있다. 출생 전 스트레스를 받은 군과 출생 직후 스트레스를 받은 군 그리고 대조군을 모두 출생 90일에 30분 동안 감금하고 난 후 corticosterone을 측정하였더니 출생 전 스트레스를 받은 군이 가장 높았다는 보고도(Valle et al., 1997) 있으므로 본 연구의 결과는 출생 전의 스트레스가 출생 후 성체가 된 후에도 스트레스에 대한 반응에 큰 영향을 미치고 있음을 뜻한다.

참 고 문 헌

- Adolphs R, Tranel D, Damasio H, Damasio AR: Fear and the human amygdala. *J Neurosci* 15 : 5879-5891, 1995.
- Barbazanges A, Piazza PV, Moal ME, Maccari S: Maternal glucocorticoids secretion mediates long-term effects of prenatal stress. *J Neurosci* 16(12) : 3943-3949, 1996.
- Carrasco GA, van de Kar LD: Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol* 463 : 235-272, 2003.
- Chang SJ, Koh SB, Kang MG, Cha BS, Park JK, Hyun SJ, Park JH, Kim SA, Kang DM, Chang SS, Lee KJ, Ha EH, Ha M, Woo JM, Cho JJ, Kim HS, Park JS: Epidemiology of psychosocial distress in Korean employees. *J Prev Med Public Health* 38(1) : 25-37, 2005. (Korean)
- Costello EJ, Angold A: Anxiety disorders in children and adolescents; In *Epidemiology*. New York, London, Guilford, pp. 109-124, 1995.
- Dayas CV, Buller KM, Crane JW, Xu Y, Day TA: Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups. *Eur J Neurosci* 14(7) : 1143-1152, 2001.
- Dayas CV, Buller KM, Day TA: Neuroendocrine responses to an emotional stress: evidence for involvement of the medial but not the central amygdala. *Eur J Neurosci* 11(7) : 2312-2322, 1999.
- De Bellis MD, Casey BJ, Dahl RE, Birmaher B, Williamson DE, Thomas KM, Axelson DA, Fristaci K, Boring AM, Hall J, Ryan ND: A pilot study of amygdala volumes in pediatric generalized anxiety disorders. *Biol Psychiatry* 48 : 51-57, 2000.
- Fadda P, Fatta W: Stress-induced sleep deprivation modifies corticotropin releasing factor levels and CRF binding in rat brain and pituitary. *Pharmacol Res* 35(5) : 443-446, 1997.
- Habib KE, Gold PW, Chrousos GP: Neuroendocrinology of stress. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30(3) : 695-728, 2001
- Hansen A, Jorgensen OS, Bolwig TG, Barry DI: Hippocampal

kindling alters the concentration of glial fibrillary acidic protein and other marker proteins in rat brain. *Brain Res* 531(1-2) : 307-11, 1990.

Khurgel M, Ivy GO: Astrocytes in kindling: relevance to epileptogenesis. *Epilepsy Res* 26(1) : 163-175, 1996.

Kraig RP, Dong LM, Thisted R, Jaeger CB: Spreading depression increases immunohistochemical staining of glial fibrillary acidic protein. *J Neurosci* 11(7) : 2187-2198, 1991.

Muller CM: Glial cells and activity dependent central nervous system plasticity. In: Knobil E and Ransom BR, eds, *Neuroglia*, New York, Oxford University Press, pp. 221-302, 1995.

National Institute of Mental Health. Facts about anxiety disorders. <http://www.nimh.nih.gov/publicat/adfacts.cfm>, 2004.

Ouyang YB, Giffard RG: Changes in the astrocytic mitochondrial function with stress: effects of Bcl-2 family proteins. *Neurochem Int* 45(2-3) : 371-379, 2004.

Paxinos G, Watson C: The rat brain. In stereotaxic coordinates. Academic Press, San Diego, pp. 22-44, 1998.

Phan KL, Wager T, Tayler SF, Liberzon I: Functional neuroanatomy of emotion: a meta-analysis of emotion activation studies in PET and MRI. *Neuroimage* 16 : 331-348, 2002.

Salm AK, Pavelko M, Krouse M, Webster W, Kraszpulski M, Birkle DL: Lateral amygdaloid nucleus expansion in adult rats is associated with exposure to prenatal stress. *Develop Brain Res* 148 : 159-167, 2004.

Sarnyai Z, Biro E, Gardi J, Vecsernyes M, Julesz J, Telgedy G: Brain corticotropin-releasing factor mediates 'anxiety-like' behavior induced by cocaine withdrawal in rats. *Brain Res* 675 (1-2) : 89-97, 1995.

Sirevaag AM, Greenough WT: Differential rearing effects on rat visual cortex synapses. III. Neuronal and glial nuclei, boutons, dendrites, and capillaries. *Brain Res* 424(2) : 320-332, 1987.

Sirevaag AM, Greenough WT: Plasticity of GFAP-immunoreactive astrocyte size and number in visual cortex of rats reared in complex environments. *Brain Res* 540(1-2) : 273-278, 1991.

Sirevaag AM, Smith S, Greenough WT: Rats reared in a complex environment have larger astrocytes with more processes than rats raised socially or individually. *Society for Neuroscience Abstracts* 14 : 1135, 1988.

Song DY, Park JC, Park BG, Lee JS, Choi BY, Yang YC, Kang HS, Cho BP: Neuroglial proliferative activity following medial forebrain bundle axotomy. *Korean J Anat* 37(4) : 329-336, 2004. (Korean)

Stott DN: Follow-up study from birth of the effects of prenatal stress. *Dev Med Child Neurol* 15 : 770-787, 1996.

U.S. Department of Health and Human Services. Mental Health: A report of the surgeon general. Chapter 4. Sec. 2. Anxiety disorders. <http://www.surgeongeneral.gov/library/chapter4/sec2.html>, 1999.

Valle M, Mayo W, Dellu F, Le Moal M, Simon H, Maccari S: Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: Correlation with stress-induced corticosterone secretion. *J Neurosci* 17(7) : 2626-2636, 1997.

Wenzei J, Lammert G, Meyer U, Krug M: The influence of long-term potentiation on the spatial relationship between astrocyte processes and potentiated synapses in the dentate gyrus neuropil of rat brain. *Brain Res* 560(1-2) : 122-131, 1991.

Yang YC, Cho BP, Kang HS: Immunohistochemical and immunocytochemical study about the glial fibrillary acidic protein in the tanocytes of the area postrema of bat. *Korean J Electron Microscopy* 30(4) : 377-387, 2000. (Korean)

< 국문 초록 >

신경계통의 가소성은 신경세포의 변화에 의해 이루어질 뿐 아니라 신경아교세포의 변화에 의해서도 이루어진다. 신경아교세포 중 별아교세포는 신경세포의 기능을 조절하므로 정상적인 뇌의 기능을 유지하는데 매우 중요하다. 뇌에서 편도복합체는 위협 혹은 유해한 일련의 감각정보를 받아들이는 구역으로 받아들이는 일련의 이와 같은 정보를 통합하고 변환시켜 공포라는 감정을 만들어낸다. 이런 과정은 편도복합체 신경세포에서 분비되는 신경전달물질의 균형변화에 의해 이루어지며, 신경전달물질의 조절에 별아교세포가 관여하므로 본 연구에서는 출생 전 스트레스와 성장 후에 받은 스트레스가 편도복합체 별아교세포의 세포체에 어떤 영향을 미치는지 조사하였다. 이를 위해 흰쥐를 스트레스를 받지 않은 대조군(CON), 성장 후 스트레스를 받은 군(CONR), 출생 전 스트레스를 받은 군(PNS), 출생 전 스트레스와 성장 후 스트레스를 모두 받은 군(PNSR)으로 구분하였다. 별아교세포는 GFAP 항체를 이용한 면역조직화학 염색을 시행하여 확인하였으며, methylene blue/azure II로 대조 염색하였다. Neurolucida 프로그램을 이용하여 계측한 별아교세포의 세포체는 일부 편도복합체 신경핵에서 출생 전 스트레스를 받은 PNS 군이 대조군에 비하여 면적이 증가하였으며, 이런 경향은 출생 전 스트레스를 받고 다시 성장 후 스트레스를 받은 PNSR군에서 더욱 증가하였다. 따라서 흰쥐의 편도복합체에 분포하는 별아교세포는 스트레스에 영향을 받아 비대해지는 경향을 보인 것으로 나타났으며, 출생 전 스트레스가 성장 후에도 영향을 미치는 것으로 사료된다.