

저온 노출이 인지기능과 뇌신경세포생성에 미치는 영향

Influence of cold condition exposure on cognitive function and cell proliferation in rats

임백빈* · 이성필**†

Beak-Vin Lim* · Sung-Pil Lee**†

동서대학교 레포츠과학부, 운동처방전공*

Division of Leisure & Sports Science, Dept. Exercise Prescription, Dongseo University*

동서대학교 디자인전문대학원 서비스디자인학과**

Graduate School of Design, Dept. Service Design, Dongseo University**

Abstract

In the present study was to examine the influence of cold stress conditions on memory function in relation with 5-hydroxytryptamine(serotonin, 5-HT), trptophanhydroxylase(TPH) expression and cell proliferation in the hippocampus. For this study, male Sprague-Dawley rats weighing 250 ± 10 g(7 weeks in age) were used. The rats were randomly divided into three groups(n = 10 in each group): the 22°C-control group, the 4°C-3 days group, the 4°C-5 weeks group. The environmental temperature at 22°C set as the normal conditions, 4°C was as the cold stress conditions. The present results showed that cold stress conditions shorten latency, representing cold stress disturbed memory function. 5-HT and TPH expressions in the dorsal raphe were increased cold stress. Neurogenesis in the dentate gyrus was increased under cold conditions. The present study revealed that cold stress exerted deteriorative memory function. However, through increasing of 5-HT, TPH and BrdU expression under cold stress conditions did not show memory enhancing effect.

Keywords : Cognitive Function, Serotonin, Cell Proliferation, Cold Stress, Hippocampus

요약

본 연구의 목표는 일반적으로 사람들이 일상에서의 추위 노출 시간을 고려하여 단기간 추위노출과 지속적인 장기간의 추위 노출이 인지기능과 뇌의 신경세포생성과 신경전달물질에 미치는 영향을 규명하고자 하였다. 실험 방법으로 인지행동검사(Behavior test)와 면역조직화학법(Immunohistochemistry Method)을 실시하였다. 본 연구에서는 7주령(평균체중 250 ± 10 g) Sprague-Dawley 계열의 수컷 흰쥐(n=40)를 사용하여, 무선배치 방식으로 상온 대조군(n=10), 저온 3일군(n=10), 저온 5주군(n=10)으로 분류 하였다. 22°C(상대습도 40%)의 온도는 상온으로 설정 하였고, 4°C(상대습도 40%)는 추위 스트레스 환경으로 설정 하였다. 수동회피실험의 결과에 의하면, 추위 스트레스는 기억력의 감소를 가져왔다. 그러나 추위 스트레스에 의한 기억력 감소의 보상작용으로 신경전달 물질인 5-HT와 TPH의 증가가 나타나는 것을 면역조직화학법을 통해 해부시경학적으로 확인할 수 있었

† 교신저자 : 이성필 (동서대학교 서비스디자인학과)

E-mail : sungplee@gdsu.dongseo.ac.kr

TEL : 051-320-1946

FAX : 051-320-1945

다. 그러나 보상작용에 의한 새로운 신경세포생성 증가가 기억력을 정상상태로 회복시키지는 못하였다.

주제어 : 인지기능, 신경세포생성, 해마, 세로토닌, 추위 스트레스

1. 서론

새로운 신경세포가 생성되고, 생존하는 데에는 많은 주위 자극의 영향을 받는다. 그 중 중요한 것은 학습(Learning)으로 해마의 기능에 의존적인 학습은 새로운 신경세포의 생성을 증가시키는 반면 해마와 관련이 없는 학습은 신경세포 재생에 영향을 미치지 않는다고 하여 학습이 신경세포생성(neurogenesis)에 중요한 인자임을 보고하였다(Gould et al., 1999). 선행연구에 의하면 해마 치상회 부위에서의 신경세포 생성은 세로토닌(Serotonin), 에스트로겐(Estrogen), NMDA-receptor 길항제(N-methyl-D-aspartate receptor antagonists), 뇌허혈(Ischemia), 발작(Seizure) 그리고, 신체적 운동에 의해 증가되고 반면에 아드레날린스테로이드(Adrenal steroids), 스트레스, 노화(Aging)는 세포생성을 억제한다고 보고하고 있다(Fuchs and Gould, 2000; Gould, 1999).

또한 강화된 환경(Enriched environment)에 노출된 쥐는 치상회의 신경세포 생성이 증가되었다. 이처럼 환경 강화는 다양한 학습의 기회, 사회적 관계, 더 많은 육체적 활동 그리고 더 큰 공간 등이 포함되어 있는데, 학습, 수영, 달리기 그리고 강화된 환경 그리고 대조군으로 나누어 실험한 결과 달리기는 강화된 환경과 같이 새로운 신경세포의 생존을 두 배로 증가시켰고 따라서 수의적인 달리기는 생쥐 치상회에서 새로운 신경세포 생성의 충분한 자극인자가 된다고 보고되었다(van Praag et al., 1999a,b).

스트레스(Stress)란 현대인의 삶에 일상적인 것이지만 사람마다 스트레스의 개념과 반응은 다르게 나타난다. Hans Selye는 스트레스에 대하여 ‘신체 기관에 어떤 부담을 주는 압박감으로 인하여 비특정적인 신체반응이 일어나는 것(“the nonspecific response of the body to any demand placed upon it”, 1976)이라고 정의하였다. 일반적으로 스트레스에 대한 정의는 다양하지만 크게 세 가지 범주로 나누어진다. 첫째, 자극으로서의 스트레스(Stimulus), 둘째, 반응(Response)로서의 스트레스, 그리고 마지막으로 환경적 개체사이의

상호작용(Interaction)으로서의 스트레스로 나누어 정의한다(이성화, 2004). 인간과 쥐를 대상으로 한 선행연구들을 보면 스트레스에 갑작스런 노출은 기억형성 부위인 해마에 손상을 주는 것으로 보고하고 있다(Bramham et al., 1998; Diamond et al., 1996; Kirschbaum et al., 1996; Shurtleff et al., 1994, 1995; Thomas et al., 1991). 추위에 의한 저체온 현상은 행진, 등산, 요트경기와 갑작스럽게 물에 빠졌을 때와 같은 다양한 상황에서 추위에 노출 되어 발생한다. 추위 스트레스는 인간이나 동물에게 가장 일반적인 스트레스 요인 중 하나인데, 선행연구에 의하면 0℃~10℃ 사이의 중강도 추위 스트레스(moderate cold stress)는 인지수행력(cognitive performance)에 영향을 미치는 것으로 보고되었다(Mäkinen et al., 2005, 2006; Palinkas et al., 2005). 또한 인지기능 검사를 하는 동안 단시간 동안 갑작스런 추위 노출은 경계(vigilance), 반응시간, 추리능력, 단기기억력 등의 행동 수행력을 낮추며(Mahoney et al., 2007; Patil et al., 1995), 4℃의 물에 침수시켜 유발된 저체온증은 흰쥐의 해마 치상회부위에서 새로운 세포의 형성을 감소시키는 것으로 보고되었다(Lee et al., 2002). 선행연구에서는 추위 노출에 의한 스트레스는 인지기능에 부정적인 영향을 미치는 것으로 보고하고 있다. 그리고 만성적인 스트레스는 인체내 생리적 시스템을 과잉활성화(overload)시켜 코티졸 수준이 높게 지속되거나 교감신경 활성화가 지속되면 면역체계, 심혈관, 소화계통 등의 기능적, 구조적 손상이 일어난다. 이러한 결과 항상성 부담(allostatic load)가 발생 되는데, 아는 스트레스에 대하여 장기적으로 반응하는 생리적인 효과로 에너지를 장기적으로 소모한 대가를 일컫는다(McEwen 2002).

지금까지 선행연구에서는 추위 스트레스를 유발하기 위해 Matz 등(1996)의 연구를 따라 매일 3시간씩 주당 6회 3주간 4℃의 방에 생쥐를 노출 시켜 중강도의 추위 스트레스를 유발하였다. 이러한 추위 스트레스 모델을 적용하여 불안장애, 신경세포사멸 그리고 침수등과 관련한 신경세포생성에 대한 연구는 이루어

졌으나 추위에 대한 단기 노출과 장기노출을 비교한 연구는 미비한 실정이다. 또한 사람을 대상으로 추위 스트레스가 인지기능을 저하시키는지에 대한 연구는 이루어 졌지만, 인지기능과 관련한 뇌를 가지고 진행된 해부신경학적 연구는 미비한 실정이다.

본 연구에서는 일반적으로 사람들이 일상에서의 추위 노출 시간을 고려하여 3일 동안의 단기간 추위노출과 5주간의 장기간의 추위 노출이 인지기능 저하에 미치는 효과를 인지행동검사(Behavior test)를 통해 구현하고 뇌의 신경세포생성과 신경전달물질에 미치는 영향을 면역조직화학법(Immunohistochemistry Method)을 사용하여 규명하였다. 따라서 추위 스트레스에 의한 인지기능저하의 해부신경학적 현상을 규명하고자 본 실험을 실시하였다.

2. 연구방법

2.1. 연구 대상

본 연구의 실험동물은 분양 받은 Sprague-Dawley계 열 수컷 흰쥐로 체중 $250 \pm 10g$ (7주령)를 사용하였다. 실험동물은 실험 전 일주일 동안 실험실 환경에 적응시킨 후, 전 실험기간을 통하여 온도 $22\sim 24^{\circ}C$, 습도 60%, 조명은 밤낮 주기가(12시간 주/야)가 조절되는 실험실 환경에서 사육케이지($30cm \times 20cm$)를 이용하여 사육하였다. 본 연구의 동물실험은 K 대학교의 연구윤리 위원회의 심의과정을 거쳐 National Institutes of Health(NIH)의 규정에 따라 실시하였다. 실험군은 상온 대조군($22^{\circ}C \pm 0.5^{\circ}C$), 3일-저온군($4^{\circ}C \pm 0.5^{\circ}C$), 5주-저온군($4^{\circ}C \pm 0.5^{\circ}C$)으로 분류하였고, 각 군 10마리씩의 쥐를 무작위로 배정하였으며, 총 30마리의 쥐를 사용하였다.

2.2. 추위 스트레스 유발

본 연구에서 적용된 추위 스트레스는 Matz 등(1996)의 선행연구를 수정하여 매일 1시간씩 3일간, 그리고 주당 6회 5주간 $4^{\circ}C$ 의 방에 생쥐를 노출시켜 추위 스트레스를 유발시켰다.

2.3. BrdU 투입

새로운 신경세포의 수를 측정하여 세포 생성률의 지표로 얻기 위해 Thymidine analog인 5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)를 $50 mg/kg$ 의 양으로 추위 노출 전 1시간 전에 3일간 복강에 주입하였다. 3일-저온군과 5주-저온군 모두 동일한 기간 동안 BrdU를 주사하였으며, 실험이 끝난 뒤에 BrdU가 혼입된 세포의 수를 측정하여 세포 생성률의 지표로 얻었다.

2.4. 기억력 검사

기억력 검사를 위한 수동회피실험(Passive avoidance task)용 장비는 아크릴판으로 제작되었으며, 크기는 $60cm \times 20cm \times 20cm$ 의 상자로 두 방으로 나누었다. 두 방을 나누는 벽에는 $10cm \times 10cm$ 의 문이 있어 실험자의 의도에 따라 상하로 열고 닫을 수 있게 하였다. 실험 장치로는 좌측 방에는 250W의 전구를 달고 우측 방의 바닥에는 전기충격장치를 설치하였다. 실험동물을 좌측 방에 넣었을 시 어두운 우측 방으로 이동할 때까지의 시간을 측정할 후 2.0mA의 전기충격을 5초간 가하여 우측 방에는 강력한 전기 자극이 있음을 학습시켰다. 기억검사는 학습이 끝나고 $4^{\circ}C$ 온도에서 60분간 각 각 3일과 5주간 지속적으로 노출 후 마지막 노출 후 기억검사를 실시하였고, 300초를 기준으로 실험을 실시하여 각 실험군별 시간을 측정하여 분석 하였다. 기억 검사의 종료는 5주 추위노출 종료 하루전에 맞추어 학습을 시키고 24시간 후 마지막 추위 노출 후 기억 검사를 수행 하였다. 그 후에 바로 희생시켜 뇌 조직을 얻었다. 상온군도 학습 24시간 후에 동일한 방법으로 검사하였다.

2.5. 뇌 적출 및 조직 처리

실험동물들은 Zoletil 50®($10mg/kg$)을 복강 내 주사를 통하여 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 50mM 인산염 완충식염수(phosphate buffer saline, PBS)를 주입하였다. 이 후 100mM 인산 완충액에 녹인 4% paraformaldehyde(PFA) 고정액을 관류하였다. 관류 고정 후 뇌를 적출 한 다음 고정액에 담아서 $4^{\circ}C$ 에서 12

시간 후 고정을 실시하였다. 고정된 뇌 조직은 30% sucrose 용액에서 2~5일간 침전시킨 후 Cryostat (Leica, Nussloch, Germany)를 이용하여 40 μ m 두께의 연속관상 절편을 제작하였다.

2.6. 5-HT와 TPH 면역조직화학법

뇌조직은 자유부유법(free-floating method)을 이용하여 중뇌 봉선핵 부위에서 5-HT 양성세포 수와 TPH 양성세포 수를 관찰하였다. 각 집단에서 뇌 절편을 선택하여 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척한 후, peroxidase 제거를 위해 과산화수소(H₂O₂)에서 30분 간 반응시킨 후 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척하였다. 그리고 1시간 동안 1% BSA와 10%의 horse serum(TPH), goat serum(5-HT, 5-HTA1)과 3% Triton X-100이 들어있는 용액으로 1시간 동안 blocking을 실시하였다. Blocking 후 primary antibody인 anti-serotonin rabbit antibody(1:500; Oncogene Research Product, cambridge, UK)과 anti-TPH mouse antibody Oncogene Research Product)로 24시간 4°C cold room에서 반응시켰다. 그리고 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척 후, 실온에서 1시간 동안 biotinylated rabbit secondary antibody와 biotinylated mouse secondary antibody (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)로 각각 반응시켰다. 다시 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척한 후, 1시간 동안 avidin-biotin-peroxidase complex(Vector Laboratories) 용액으로 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척한 다음, 3,3'-diaminobenzidine(DAB)을 0.05 M tris-buffer(pH 7.6)에 0.02%로 희석하고, 0.02% 과산화수소를 첨가하여 3분 동안 조직을 발색하였다. 발색이 끝난 조직은 gelatin-coating된 슬라이드에 붙인 후 실온에서 24시간 건조시켜 70%, 80%, 90%, 100%로 농도를 높인 에탄올에서 탈수시켰다. 그 다음 xylene으로 투명화시켜 Permount®를 사용하여 봉입하여 관찰하였다.

2.7. BrdU 면역조직화학법

뇌조직절편을 50 mM PBS로 세척한 후 0.5% Triton X-100에 반응시켰다. Triton X-100을 세척한 후 65°C에서 50% formamide와 2 × SSC(saline-sodium citratesolution)용액에서 2시간 반응시켰다. 반응 완료 후 2 × SSC로 세척한 후 37°C에서 2 N HCl에 반응시켰다. 반응이 끝나면 바로 100 mM sodium borate, pH 8.5,로 세척한 후 50 mM PBS로 재 세척하였다. 이 과정이 끝난 조직은 자유부유(free-floating)법을 사용하여 면역조직화학 염색을 시행하였다. 항체와 반응하기 전에 50 mM PBS에 10% horse serum과 1% Bovine serum albumin(BSA)를 함유한 차단용액으로 한 시간 동안 반응시켰다. BrdU 항체(Boehringer Mannheim, Germany)를 50 mM PBS에 0.5% BSA와 0.5% sodium azide를 함유한 일차 항체 용액에 1:600의 비율로 희석한 후 24시간 동안 반응시켰다. 50 mM PBS로 세척한 후, biotinylated anti-mouse IgG를 50 mM PBS에 0.3% Triton X-100을 함유한 이차 항체용액에 1:200의 비율로 희석한 후 1시간 동안 반응시켰다. 50 mM PBS로 세척한 후, HRP avidine-biotin complex(Vectastain-Elite™ HRP ABC kit, Vector®, USA)에서 1시간 동안 반응시켰다. 50 mM PBS로 세척한 후, 50 mM Tris 완충액에 과산화수소와 DAB를 함유하는 발색제로 발색 반응을 실시한 다음 세척하였다. 발색이 완료된 조직은 탈수과정을 걸쳐 polymount®로 봉입하였다.

2.8. 자료 분석

SPSS program을 이용하여 이용하여 각 항목에 대한 평균(mean) 및 표준오차(standard error mean; S.E.M.)를 산출하였다. Latency Time, 5-HT과 TPH 발현 그리고 BrdU 발현에 대한 집단 간 차이는 일원분산분석(one-way analysis of variance; ANOVA)을 이용하였고, Duncan's 방법으로 사후검정을 실시하였다. 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하였다.

3. 결과

3.1. 저온노출이 공간기억에 미치는 영향

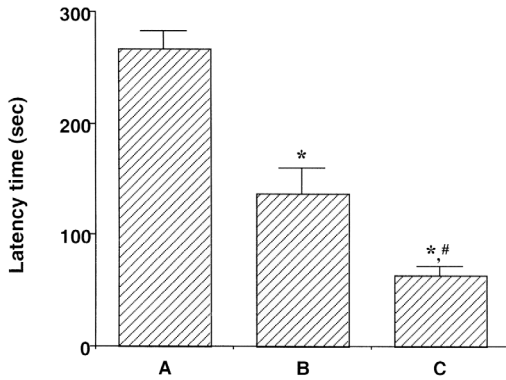


Fig. 1. Influence of cold condition exposure on latency of passive avoidance task. (A) 22°C-control group, (B) 4°C-3 days group, (C) 4°C-5 weeks group.

저온에서의 노출이 기억력에 미치는 영향을 수동회피실험(passive avoidance task)의 결과는 latency time (대기시간)은 상온 대조군은 266.75 ± 15.87 sec, 3일-저온군은 137.17 ± 22.45 sec, 그리고 5주-저온군은 63.67 ± 7.86 sec으로 나타났다.

본 실험결과, 상온 대조군에 비해 3일과 5주간의 저온 노출군의 latency time이 통계적으로 유의한 차이를 나타내어 저온노출이 기억력에 부정적인 영향을 주는 것으로 나타났다. 특히 5주간의 저온노출군의 latency time이 상온 대조군 비해 낮게 나타났고 통계적으로 유의한 차이를 나타내었는데(p < 0.05), 이러한 결과는 장기간 저온노출이 기억력에 부정적인 영향을 미치는 것을 나타낸다(Fig. 1).

3.2. 저온 노출 Dorsal Raphe 부위에서 5-HT 양성세포 발현에 미치는 영향

Dorsal raphe 부위에서 5-HT 양성 세포수는 상온 대조군은 102.43 ± 10.49/section, 3일-저온군은 143.13 ± 7.12/section, 그리고 5주-저온군은 134.67 ± 5.67/section으로 나타났다(Fig. 2.)

본 실험결과 상온 대조군에 비교해서 각각 3일과 5주 저온군의 5-HT 발현이 증가되었으며 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다(P < 0.05). 그러나 3일-저온군과 비교해서 5주-저온군의 5-HT 발현도 변화가 거의 없었으며 통계적으로도 유의한 차이를 나타내지 않았다. 실험 결과 상온 대조군에 비교하여 저온에서의 노출은 모두 5-HT의 발현을 증가시켰는데, 이러한 저온의 추위 스트레스가 5-HT의 분비를 자극하는 요소 중 하나임을 확인할 수 있었다.

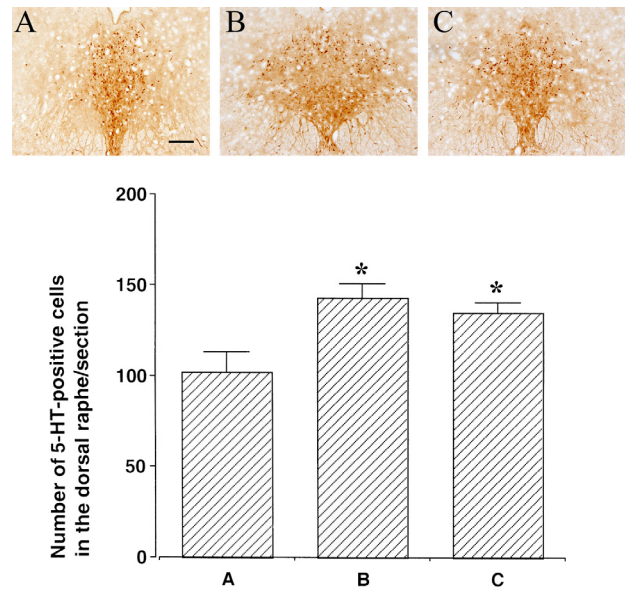


Fig. 2. Influence of cold condition exposure on the 5-hydroxytryptamine(5-HT) synthesis in the dorsal raphe of rats. Above: Photomicrographs of 5-HT-positive cells in the dorsal raphe. The scale bar represents 100 μm. Below: The number of 5-HT-positive cells in the dorsal raphe. The data are presented as the mean ± SEM. (A) 22°C-control group, (B) 4°C-3 days group, (C) 4°C-5 weeks group.

3.3. 저온노출이 Dorsal Raphe 부위에서 TPH 양성세포 발현에 미치는 영향

Dorsal raphe 부위에서 TPH 양성 세포수는 상온 대조군은 $158.89 \pm 5.88/\text{section}$, 3일-저온군은 $262.63 \pm 10.15/\text{section}$, 그리고 5주-저온군은 $224.71 \pm 15.25/\text{section}$ 으로 나타났다(Fig. 3).

본 실험결과 상온 대조군에 비교해서 각 각 3일과 5주 저온군의 TPH 발현이 증가되었으며, 3일 저온군 비교해서 5주 저온군의 TPH 발현도 감소되었으며 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다($P < 0.05$). 저온에서의 노출은 모두 TPH의 발현을 유의하게 증가시켰다($P < 0.05$). 그러나 3일간의 단기간 저온 노출의 TPH발현이 더 많았다.

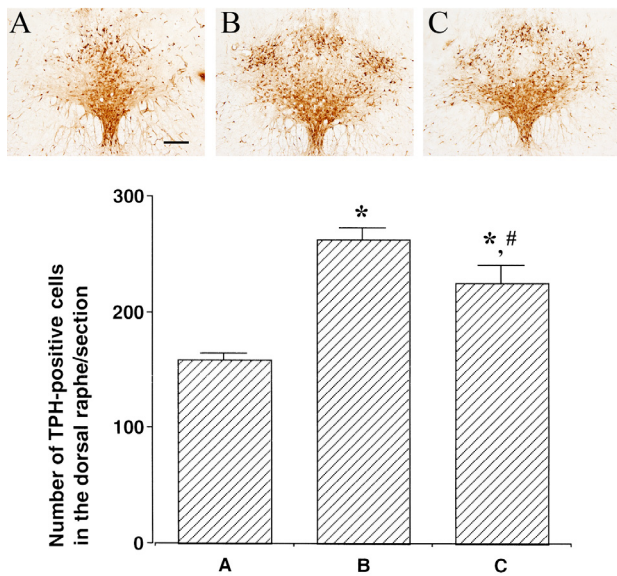


Fig. 3. Influence of cold condition exposure on the Tryptophan hydroxylase(TPH) synthesis in the dorsal raphe of rat. Above: Photomicrographs of TPH-positive cells in the dorsal raphe. The scale bar represents 100 μm . Below: The number of TPH-positive cells in the dorsal raphe. The data are presented as the mean \pm SEM. (A) 22°C-control group, (B) 4°C-3 days group, (C) 4°C-5 weeks group.

3.4. 저온노출이 해마 부위에서 BrdU-양성세포 발현에 미치는 영향

해마 치상회부위에서의 BrdU 양성 세포수는 22°C-상온 대조군은 $154.67 \pm 4.63/\text{mm}^2$, 3일-저온군은 $194.5 \pm 8.49/\text{mm}^2$, 그리고 5주-저온군은 $190.82 \pm 15.04/\text{mm}^2$ 으로 나타났다(Fig. 4.)

본 실험 결과 상온 대조군에 비교해서 3일-저온군과 5주-저온군의 BrdU 양성세포의 수가 통계적으로 유의하게 증가되었다($p < 0.05$). 그러나 5주-저온군의 BrdU 양성세포의 수는 3일-저온군에 비교해서 감소하는 경향을 나타냈으나, 통계적으로 유의한 차이를 나타내지는 않았다. 실험 결과 저온 노출 후 해마 치상회부위에서 신경세포가 증가됨을 확인할 수 있었다. 그럼에도 불구하고 저온 노출에 의한 신경세포생성이 증가한 인지기능에 개선을 가져오지는 못했다.

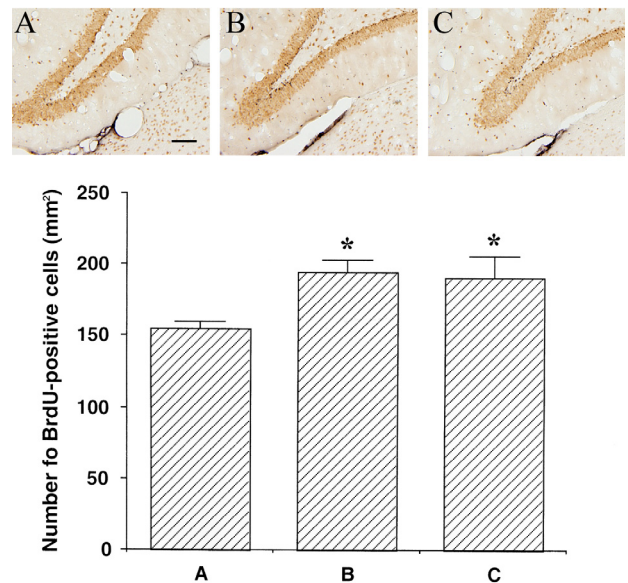


Fig. 4. Influence of cold condition exposure on cell proliferation in the dentate gyrus. Above: Photomicrographs of 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)-positive cells. The sections were stained for BrdU(black) and neuronal nuclei (NeuN; brown). The scale bar represents 100 μm in(A-C). Below: Mean number of BrdU-positive cells in each group. Values are represented as the mean \pm standard error mean (S.E.M.). (A) 22°C-control group, (B) 4°C-3 days group, (C) 4°C-5 weeks group.

4. 논의

스트레스는 인체의 내분비계와 심혈관계 뿐만 아니라 행동학적인 변화를 야기할 수 있다(Khoshbouei et al., 2002). 이러한 스트레스 상황은 생활의 한 부분으로 누구에게나 발생될 수 있는 일반적인 현상이지만 급격히 과도하게 주어지거나 만성적인 스트레스(chronic stress)로 주어지는 경우 우울증(depression)이나 불안장애(anxiety disorder)와 같은 신경정신과적인 이상(neuropsychiatric disorder)의 원인이 되기도 한다(McEwen, 2002).

또한 갑작스런 추위 스트레스는 단기 기억력을 감소시켜서 인지기능에 부정적인 영향을 미치는 것으로 보고되었다(Ahlers et al., 1991; Shurtleff et al., 1993, 1994; Thomas et al., 1991). 본 연구결과에서도 3일의 단기간 4°C 저온 노출 후 수동회피실험을 통한 기억력 검사결과 기억력이 대조군에 비해 50% 정도 낮게 나타났으며 5주간의 장기적인 저온 노출의 결과 기억력이 대조군에 비교해서 77% 감소되었다.

이러한 결과를 종합하여 보면 저온에서의 단기간(Acute)의 노출뿐만 아니라 장기간의 추위노출은 추위 스트레스로 작용하여 인지기능을 떨어트리는 부정적인 요인으로 생각되며, 특히 장기간의 추위 스트레스는 더욱더 인지기능에 부정적인 영향을 미치는 것으로 생각된다.

최근의 많은 연구결과에서 해마에서 새로운 신경세포의 생성이 증가되면 synaptic plasticity가 증가되어 인지기능의 향상을 가져온다고 보고되었다(Gould et al., 1999; Kempermann et al., 1998). 반면에 뇌 신경세포의 손실은 인지기능과 기억력의 저하를 초래하는 요인으로 알코올과 뇌허혈 그리고 노화와 더불어 고온의 열 스트레스가 보고되었다(서진희 등 2009; Chodzko-Zajko and Moore, 1994; Hicks and Birren, 1970; Gould and Tanapat, 1999; Leker and Shohami, 2002). Liu 등(1998)의 실험에서 뇌 허혈(cerebral ischemia)에 의한 손상 후 치상회에서 증가된 신경세포생성은 아마도 허혈성 손상에 대한 보상적 적응반응이며 허혈에 의한 해마의 손상 후 기능적인 회복을 촉진시키는 것으로 알려져 있다.

Gould(1999)는 세로토닌과 해마에서의 신경세포생성에 관한 연구에서 세로토닌은 transformating growth factor-alpha(TGF- α)와 같이 신경세포의 생성과 분화를 자극하여 증가시키는 작용을 한다고 하였다. 해마는

새로운 기억을 저장시키는데 결정적인 역할을 한다. 외부 정보는 뇌에서 단기기억(short-term memory)으로 저장되고 똑같은 정보에 의한 몇 차례의 학습을 통해서 단기기억이 장기기억(long-term memory)으로 변한다. 단기기억은 세로토닌 수용체의 활성화로 protein kinase A(PKA) 또는 protein kinase C(PKC)를 활성화시켜 K⁺ 이온 채널을 인산화시키고 Ca²⁺이온 채널을 열어 신경전달물질(neurotransmitter)들의 분비를 증가시키는 spike-duration-independent mechanism에 의해 유도된다(Biegler et al., 2001). 이러한 기억과 신경세포생성에 중요한 역할을 하는 세로토닌은 중추신경계에 광범위하게 존재하며, 주로 중뇌 봉선핵(dorsal raphe nuclei) 부위에서 세로토닌성 신경세포에 의해 최초로 생성되고 발현된다. 이런 세로토닌은 시상하부(hypothalamus)에서 선조체(striatum)와 미상핵(caudate nucleus)을 지나서 대뇌(cerebrum)를 거쳐 해마로 전달되어 뇌 전체에 분포하게 된다(Hariri and Weinberger, 2003). 중추신경계에서 세로토닌의 합성은 세로토닌의 전구물질인 트립토판과 세로토닌 합성의 효소인 TPH(tryptophan hydroxylase)의 농도에 크게 의존하여 TPH는 세로토닌성 기능 조절에 중요한 역할을 한다(Clark & Russo, 1988).

본 연구결과 세로토닌과 TPH의 발현은 상온 대조군에 비교하여 3일-저온군과 5주-저온군은 통계적으로 유의한 수준으로 증가하였다. 그러나 3일 저온군에 비교해 5주 저온노출군이 다소 감소하였으나 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다.

또한 새로운 신경세포의 생성 지표인 BrdU의 발현 역시 세로토닌과 TPH와 유사한 경향으로 증감 하였는데, 이러한 결과는 선행연구에서 나타나듯 세로토닌과 TPH가 BrdU의 발현을 증가시키는 요소로 작용함을 나타내는 것으로 생각된다. 이는 Lui 등(1998)의 연구에서 언급한 신경세포의 생성에 부정적 영향을 미치는 요소에 보상작용이 일어나듯 인지기능과 신경세포생성에 부정적인 영향을 준 추위 스트레스 환경에서 기억력 감소를 회복시키기 위한 보상적 작용으로 생각된다. 본 수동회피실험의 결과에 의하면, 3일간의 단기간 노출과 5주간의 장기간 추위 스트레스는 기억력에 부정적인 영향을 주었다.

기억력은 추위 스트레스에 의해 감소되지만 단기간보다 장기간의 추위 스트레스가 더 부정적인 결과를 나타냈다. 따라서 장기간의 추위 스트레스는 기억력을 더욱 부정적임을 알 수 있었다. 추위 스트레스에

의한 기억력 감소의 보상작용으로 신경전달 물질인 5-HT와 TPH의 증가가 나타나는 것을 면역조직화학법을 통해 해부시경학적으로 확인할 수 있었다. 그러나 보상작용에 의한 새로운 신경세포생성 증가가 기억력을 정상상태로 회복시키지는 못하였다. 본 실험을 통해 추위 스트레스가 기억력을 감소시키는 요인임을 다시 확인하였으며 그 작용을 해부시경학적으로 규명하였다. 또한 기억력 개선을 위한 보상작용이 일어남을 본 실험을 통해 확인하였으나 그 효과는 미비하였다.

5. 결론

본 연구는 저온 환경에서의 단기 또는 장기 노출에 의한 추위 스트레스가 세로토닌과 TPH의 발현, 기억력 그리고 신경세포생성에 미치는 영향을 규명하고자 하였다. 저온 환경의 추위 스트레스 노출은 신경세포생성에 관여하는 신경전달물질인 세로토닌과 TPH의 발현을 증가시켰고, 해마 치상회 부위에서 신경세포생성이 유의하게 증가되었음에도 불구하고 기억력을 감소시켰다. 따라서 추위 스트레스환경에서의 단기간 또는 장기간 노출은 기억력을 감소시키는 부정적인 요소 중 하나로 생각된다. 그러나 이를 회복하기 위한 보상작용으로 신경전달물질인 세로토닌과 TPH의 발현 증가와 신경세포의 생성이 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 실제 기억력을 개선시키는 수준까지는 미치지 못하였다. 따라서 급격하거나 지속적으로 추운환경에 노출되는 것 모두 기억력에 부정적임을 확인할 수 있었다.

REFERENCES

- Ahlers, S. T., Thomas, J. R., & Berkey, D. L. (1991). Hippocampal and body temperature changes in rats during delayed matching-to-sample performance in a cold environment. *Physiology & Behavior*, *50*(5), 1013-1018.
- Biegler, R., McGregor, A., Krebs, J. R., & Healy, S. D. (2001). A larger hippocampus is associated with longer-lasting spatial memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*, 6941-6944.
- Bramham, C. R., Southard, T., Ahlers, S. T., & Sarvey, J. M. (1998). Acute cold stress leading to elevated corticosterone neither enhances synaptic efficacy nor impairs LTP in the dentate gyrus of freely moving rats. *Brain Research*, *789*(2), 245-255.
- Chodzko-Zajko, W. J., & Moore, K. A. (1994). Physical fitness and cognitive functioning in aging. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, *22*, 195-220.
- Clark, M. S. & Russo, A. F. (1998). Measurement of tryptophan hydroxylase mRNA levels by competitive RT-PCR. *Brain Research*, *2*, 273-285.
- Diamond, D. M., Fleshner, M., Ingersoll, N., & Rose, G. M. (1996). Psychological stress impairs spatial working memory: relevance to electrophysiological studies of hippocampal function. *Behavioral Neuroscience*, *110*(4), 661-672.
- Fuchs, E. & Gould, E. (2000). Mini-review: in vivo neurogenesis in the adult brain: regulation and functional implications. *The European Journal of Neuroscience*, *12*(7), 2211-214.
- Gould, E. & Tanapat, P. (1999). Stress and hippocampal neurogenesis. *Biological Psychiatry*, *46*(11), 1472-1479.
- Gould, E. (1999). Serotonin and hippocampal neurogenesis. *Neuropsychopharmacology*, *21*, 46S- 51S.
- Gould, E., Beylin, A., Tanapat, P., Reeves, A., & Shors, T. J. (1999). Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nature Neuroscience*, *2*(3), 260-265.
- Hariri, A. R. & Weinberger, D. R. (2003). Functional neuroimaging of genetic variation in serotonergic neurotransmission. *Genes Brain Behavior*, *2*, 341-349.
- Hicks, L. H. & Birren, J. E. (1970). Aging, brain damage, and psychomotor slowing. *Psychological Bulletin*, *74*(6), 377-396.
- Kempermann, G., Kuhn, H. G., & Gage, F. H. (1998). Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. *The Journal of Neuroscience*, *18*(9), 3206-3212.
- Khoshbouei, H., Cecchi, M., & Morilak, D. A. (2002). Modulatory effects of galanin in the lateral bed nucleus of the stria terminalis on behavioral and

- neuroendocrine responses to acute stress. *Neuropsychopharmacology*, 27(1), 25-34.
- Kirschbaum, C., Wolf, O. T., May, M., Wippich, W., & Hellhammer, D. H. (1996). Stress- and treatment-induced elevations of cortisol levels associated with impaired declarative memory in healthy adults. *Life Sciences*, 58(17), 1475-1483.
- Lee, K. S., Lim, B. V., Jang, M. H., Shin, M. C., Lee, T. H., Kim, Y. P., Shin, H. S., Cho, S. Y., Kim, H., Shin, M. S., Kim, E. H., & Kim, C. J. (2002). Hypothermia inhibits cell proliferation and nitric oxide synthase expression in rats. *Neuroscience Letters*, 329(1), 53-56.
- Lee, S. H. (2004). Stress and Cognitive Aging. Graduate School Seoul National University.
- Leker, R. R. & Shohami, E. (2002). Cerebral ischemia and trauma-different etiologies yet similar mechanisms: neuroprotective opportunities. *Brain research. Brain Research Reviews*, 39(1), 55-73.
- Liu, J., Solway, K., Messing, R. O., & Sharp, F. R. (1998). Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils. *The Journal of Neuroscience*, 18(19), 7768-7778.
- Mahoney, C. R., Castellani, J., Kramer, F. M., Young, A., & Lieberman, H. R. (2007). Tyrosine supplementation mitigates working memory decrements during cold exposure. *Physiology & Behavior*, 92(4), 575-582.
- Mäkinen, T. M., Palinkas, L. A., Reeves, D. L., Pääkkönen, T., Rintamäki, H., Leppäluoto, J., & Hassi, J. (2006). Effect of repeated exposures to cold on cognitive performance in humans. *Physiology & Behavior*, 87(1), 166-176.
- Mäkinen, T. M., Rintamäki, H., Korpelainen, J. T., Kampman, V., Pääkkönen, T., Oksa, J., Palinkas, L. A., Leppäluoto, J., & Hassi, J. (2005). Postural sway during single and repeated cold exposures. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, 76(10), 947-953.
- Matz, J. M., LaVoi, K. P., Epstein, P. N., & Blake, M. J. (1996). Thermoregulatory and heat-shock protein response deficits in cold-exposed diabetic mice. *The American Journal of Physiology*, 270(3 Pt 2), R525-532.
- McEwen, B. S. (2002). Protective and damaging effects of stress mediators: the good and bad sides of the response to stress. *Metabolism*, 51(6 Suppl 1), 2-4.
- Palinkas, L. A., Mäkinen, T. M., Pääkkönen, T., Rintamäki, H., Leppäluoto, J., & Hassi, J. (2005). Influence of seasonally adjusted exposure to cold and darkness on cognitive performance in circumpolar residents. *Scandinavian Journal of Psychology*, 46(3), 239-246.
- Patil, P. G., Apfelbaum, J. L., & Zacny, J. P. (1995). Effects of a cold-water stressor on psychomotor and cognitive functioning in humans. *Physiology & Behavior*, 58(6), 1281-1286.
- Selye, H. (1976). The stress concept. *Canadian Medical Association Journal*, 15(8), 718.
- Seo, J. H., Shin, M. S., Kim, C. J., Lee, K. S., & Lim, B. V. (2009). Influence of Treadmill Exercise Under Heat Stress Conditions on Serotonin Expression, Cell Proliferation, and Short-term Memory in the Rats Brains. *Korean Journal of Sport Science*, 20(4), 743-754.
- Shurtleff, D., Thomas, J. R., Schrot, J., Kowalski, K., & Harford, R. (1994). Tyrosine reverses a cold-induced working memory deficit in humans. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 47(4), 935-941.
- Shurtleff, D., Thomas, J. R., Ahlers, S. T., & Schrot, J. (1993). Tyrosine ameliorates a cold-induced delayed matching-to-sample performance decrement in rats. *Psychopharmacology*, 112(2-3), 228-232.
- Thomas, J. R., Ahlers, S. T., & Schrot, J. (1991). Cold-induced impairment of delayed matching in rats. *Behavioral and Neural Biology*, 55(1), 19-30.
- van Praag, H., Christie, B. R., Sejnowski, T. J., & Gage, F. H. (1999a). Running enhances neurogenesis, learning and long-term potentiation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(23), 13427-13431.
- van Praag, H., Kempermann, G., & Gage, F. H. (1999b). Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience*, 2(3), 266-270.

원고접수 : 2011.07.12

수정접수 : 2011.08.02

게재확정 : 2011.08.16