

출생 전 스트레스와 감금 스트레스가 편도복합체에 미치는 영향: II. 별아교세포의 세포질돌기에 미치는 영향

이진숙, 최병영, 조병필, 이지용, 정원석, 양영철

연세대학교 원주의과대학 해부학교실

간추림 : 편도복합체는 위험을 알리는 중요한 감각정보를 받고, 이러한 정보를 모아 공포라는 감정을 만들어낸다. 이와 같은 유해한 경험이 편도복합체 신경전달물질의 균형을 변화시키고 결국 스트레스 반응을 유도한다. 중추신경계통에서 신경전달물질의 조절에 별아교세포가 관여하므로 본 연구에서는 출생 전 스트레스와 성장 후에 받은 스트레스가 편도복합체 별아교세포의 세포질돌기에 어떤 영향을 미치는지를 조사하였다.

이를 위해 흰쥐를 스트레스를 받지 않은 대조군, 성장 후 감금스트레스를 받은 군, 출생 전 스트레스를 받은 군, 출생 전 스트레스와 성장 후 감금스트레스를 모두 받은 군으로 구분하였다. 별아교세포는 GFAP 항체를 이용한 면역조직화학 염색을 시행하여 확인하였으며, methylene blue/azure II로 대조 염색하였다.

NeuroLucida 프로그램을 이용하여 별아교세포 돌기를 측정한 결과, 대부분의 편도복합체 신경핵에서 출생 전 스트레스와 성장 후 감금스트레스를 모두 받은 군에서 한 개의 별아교세포에 분포하는 총 돌기의 수와 길이가 대조군에 비해 유의하게 증가하였는데 이는 스트레스가 편도복합체에 분포하는 별아교세포의 형태적인 변화를 초래하였음을 암시한다.

찾아보기 낱말 : 출생 전 스트레스, 감금 스트레스, 편도복합체, 별아교세포

서론

불안이나 우울의 문제는 지금까지 많은 연구자들의 관심의 대상이었고, 따라서 최근까지 다수의 연구결과들이 보고되었으나 정상적인 혹은 병리적인 불안으로 이행되는 여러 신경생물학적인 여러 과정들이 확실하게 밝혀져 있지 않다. 첫째, 이런 감정적인 상태가 어떻게 뇌에서 나타나는가 하는 것인데, 예를 들면 병리적인 불안이나 우울시 어떤 생리, 신경화학 및 구조적인 변화가 일어나는지에 관하여 아직도 밝혀야 할 문제들이 많이 남아있다. 둘째, 촉발자(triggers)에 대한 문제인데, 이는 어떤 요인에 의해 임상과 연계된 불안이나 우울로 발전되는가 하는 것이다. 마지막으로 쉽게 우울이나 불안에 노

출될 수 있는 취약성 혹은 민감성에 대한 것으로 이미 불안이나 우울에 노출되었던 사람에서 어떤 요인이 민감성을 변화시키는지 밝히는 것이다. 이런 의문점들에 대한 해답을 찾는 데 있어서 신경세포를 대상으로 많은 연구들이 진행되어 왔으며, 특히 급성 혹은 만성 스트레스에 의한 신경회로의 생리, 신경화학 및 구조적인 변화가 이런 문제를 해결할 열쇠라고 생각된다. 그러나 이에 관련하여 신경조직에서 신경세포 이외에 또 하나의 축인 신경아교세포에 대해서는 많은 연구가 이루어지지 않았다.

스트레스에 대한 반응으로 인체에 특정 호르몬의 분비가 증가되는데, 이를 스트레스 호르몬이라 한다. 일부 스트레스 호르몬은 시상하부에 작용하고, 다시 뇌하수체에 영향을 미치며, 뇌하수체 호르몬은 말초 내분비샘의 기능을 조절한다. 이와 같이 시상하부에

교신저자: 양영철(연세대학교 원주의과대학 해부학교실)
전자우편: chjyc@yonsei.ac.kr

서 말초 내분비샘에 이르는 과정 중 부신을 포함하는 일련의 경로, 즉 시상하부-뇌하수체-부신에 이르는 축(HPA axis)의 활성화가 스트레스에 따른 호르몬 반응의 근간을 이룬다(Carrasco와 Van de Kar, 2003). HPA축을 활성화시키는 요인 중 피질자극호르몬분비인자(corticotropin releasing factor, CRF)가 잘 알려져 있으며, 스트레스와 관련하여 많은 연구가 이루어졌다(Sarnyai 등 1995, Fadda와 Fatta 1997, Habib 등 2001). 따라서 *in vivo*에서 스트레스를 받았는지의 여부를 CRF 발현이나 이에 따른 부신에서의 최종분비물인 글루코코르티코이드 농도를 측정하여 확인하고 있다.

스트레스에 의한 CRF의 발현 및 분비 증가는 편도복합체, 시상하부, 청색반점 등에서 이루어진다(Habib 등 2001). 이 중 편도복합체는 여러 경로에서 들어오는 위험을 알리는 중요한 정보를 받고, 이러한 정보를 모아 공포라는 감정을 만들어낸다. 편도복합체는 중심핵(central nucleus), 가쪽핵(lateral nucleus), 안쪽핵(medial nucleus), 바닥핵(basal nucleus) 및 걸질핵(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 등 2001), 안쪽핵은 정신적인 스트레스에 대해 반응하고(Dayas 등 1999), 가쪽핵은 편도로 들어가는 주요 관문으로 다양한 정보를 담은 시상과 걸질의 여러 부위로부터 투사섬유를 받는 것으로 알려져 있다(Salm 등 2004).

여러 가지 요인에 의한 신경계의 가소성(neuroplasticity)은 신경세포에 국한되어 있는 것이 아니며, 신경아교세포 역시 형태계측학적인 변화를 보인다. 신경조직에서 신경아교세포 중 별아교세포(astrocyte)의 기능은 매우 다양하여 신경세포의 지지는 물론 신경세포 수용기의 반응성을 조절하고, 통로전도성(channel conductance), 모든 신경원의 흥분성, 심지어는 신경연접의 수와 형태도 조절하는 것으로 알려져 있다(Muller 1995). 별아교세포의 가소성에 관해서 해마의 자극에 의해 편도복합체 등에서

GFAP의 면역 염색성이 증가하였으며(Hansen 등 1990), 편도를 자극함에 따른 여러 구역에서의 GFAP 염색성의 상승(Khurgel과 Ivy 1996) 등이 보고되었고, 또한 여러 learning model에서도 GFAP가 증가하는 것으로 알려졌다(Kraig 등 1991, Wenzel 등 1991). 출산과 수유에 따른 신경조직의 재편성은 매우 중요한 생리적인 의미를 갖고 있으며 이에 따른 별아교세포의 기능을 여러 연구자들이 보고한 바 있는데, 특히 수유기 동안 시각위해와 뇌실결핵에서 별아교세포 돌기의 길이가 감소하였다는 보고가 있다(Hatton과 Tweedle 1982, Theodosios와 Poulain 1989). 이런 보고들을 종합하여 보면 별아교세포가 정상적인 뇌의 기능을 유지하는데 중요하며, 학습과 기억과정중 신경조직의 구조적인 변화가 별아교세포의 가소성에 기인할 수 있고, 나아가 신경세포의 기능을 조절할 수 있음을 암시한다. 따라서 본 연구는 출생 전 스트레스와 성장 후 스트레스가 흰쥐 편도복합체 각 신경핵에 분포하는 별아교세포 돌기에 어떤 영향을 미치는지 확인하고자 진행하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

임신한 경험이 없는 성숙한 Sprague-Dawley 계열의 흰쥐 암컷을 흰쥐 수컷과 같은 cage에서 사육하며 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 saline (0.9% NaCl)을 피하 주사하고 다시 사육 cage로 옮겼다. 이와 같이 스트레스를 받은 어미에서 출생한 흰쥐를 출생 전 스트레스군이라 하였다. 출생 전 스트레스를 받은 흰쥐와 정상적으로 출생한 흰쥐를 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(control restraint 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 받지 않은 흰쥐 역시 이 때 같이 희생시켜 사용하였다.

2. 실험방법

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; PBS)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 조직내 비특

이 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 세척하였다. 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 Paxinos와 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 (Micro-BrightField Inc., USA)의 Neurolucida system을 이용하여 각 신경핵에 분포하는 GFAP 양성반응세포의 1차, 2차 및 3차 돌기의 수와 길이를 측정하였다.

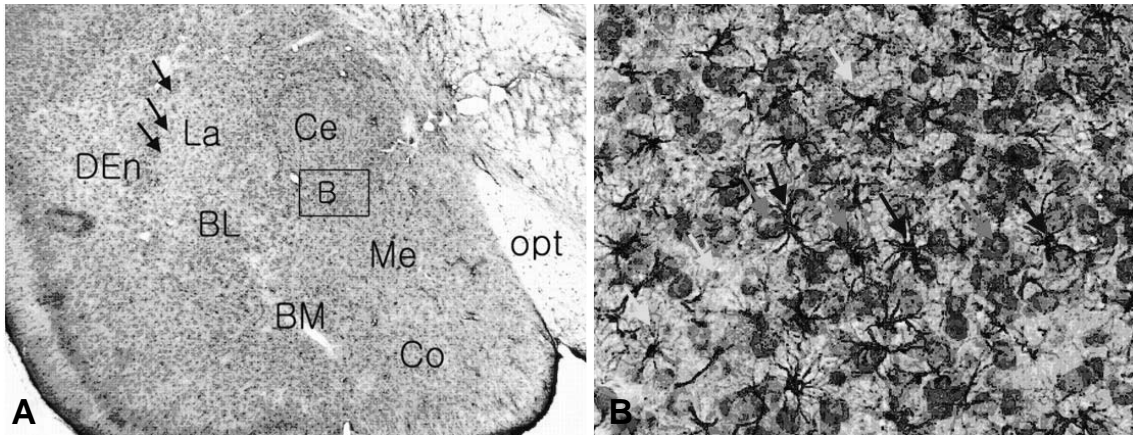


Fig 1. A. Structure of the amygdala complex. BL: basolateral nucleus, BM: basomedial nucleus, Ce: central nucleus, Co: cortical nucleus, DEn: dorsal endopyriform nucleus, La: lateral nucleus, Me: medial nucleus, opt: optic tract, arrows: external capsule. ×40. B. Higher magnification view of Fig. A (rectangle B). Astrocytes stained with GFAP immunohistochemistry (black arrows), as well as nucleus of the neuron (red arrows) and the neuroglia (yellow arrows) stained with methylene blue/azure II were observed. ×200.

Table 1. Number of GFAP immunoreactive cells in various amygdala nuclei

	Co	Ce	Me	BL	BM	La
CON	33.10±6.03	35.67±6.86	35.08±3.93	34.06±6.37	39.47±6.80	39.62±7.96
CONR	36.98±6.69	34.44±6.01	36.06±5.67	33.82±5.66	41.12±4.53	36.91±4.32
PNS	35.94±5.08	39.32±5.71	41.93±5.26	32.0±4.88	40.71±5.88	36.96±5.36
PNSR	33.75±5.63	36.82±8.46	34.51±4.56	34.06±5.68	33.88±4.48	36.07±5.26

CON: control group, CONR: control restraint stressed group, PNS: prenatal stressed group, PNSR: prenatal and restraint stressed group, Ce: central nucleus, La: lateral nucleus, Me: medial nucleus, BL: basolateral nucleus; BM: basomedial nucleus, Co: cortical nucleus.

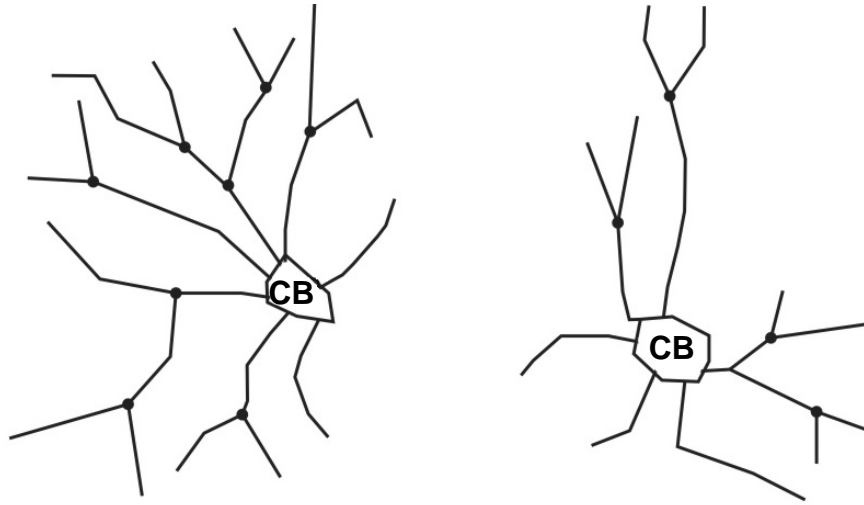


Fig. 2. Diagrams of astrocytic cell body(CB) and its processes were made using Neurolucida.

3. 통계처리

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

결 과

Anti-GFAP 항체를 이용한 면역조직화학과 methylene blue/azure II에 의한 대조염색을 시행한 결과 신경세포는 methylene blue/azure II에 의해 진한 청색으로, 신경아교세포는 옅은 청록색으로 염색되었다(Fig. 1A, B). 또한 GFAP 면역조직화염색에 양성반응을 보이는 별아교세포의 세포체 및 세포돌기를 뚜렷하게 관찰할 수 있었다(Fig. 1B). 흰쥐 뇌의

관상절편에서 편도복합체는 머리쪽의 시각교차가 나타나는 부위에서 겉질핵부터 나타나기 시작하여 꼬리쪽으로 가면서 중심핵, 가쪽핵, 안쪽핵, 바닥가쪽핵, 바닥안쪽핵, 겉질핵 등을 구별할 수 있었다(Fig. 1A).

대조군의 편도복합체에서 GFAP 양성반응을 보이는 별아교세포의 수는 광학현미경 200× 배율에서 시야 당 33.10±6.03개(겉질핵)에서 39.62±7.96개(가쪽핵)로 신경핵에 따른 차이는 없었으며, 대조군과 실험군 간에도 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 1).

Neurolucida 프로그램을 이용하여 별아교세포의 세포체 및 세포돌기를 그릴 수 있었다. 세포체는 모양이 다양하였으며, 돌기는 세포체에서 시작되는 1차 돌기에서부터 2차 및 3차 돌기까지 그 수 및 길

Table 2. Number and length of cell processes of a astrocyte in various amygdala nuclei

a) Cortical nucleus

	Primary process		Secondary process		Tertiary process		Total	
	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)
CON	7.99±0.68	87.87±9.89	7.18±1.25	65.66±11.81	2.68±1.01	23.75±9.62	18.23±2.85	180.77±28.88
CONR	8.22±0.55	91.42±5.37	9.55±0.82*	87.58±8.79*	4.06±1.22*	33.35±10.22	23.06±2.63*	224.56±22.74*
PNS	7.88±0.58	82.47±8.21	10.07±1.51*	98.69±16.59*	3.87±1.05	35.49±10.95*	21.87±3.64*	221.10±34.04*
PNSR	8.17±0.43	88.3±11.86	10.34±1.95*	97.86±8.96*	4.48±1.62*	41.10±14.38 [†]	23.88±4.26*	240.73±27.69*

b) Central nucleus

	Primary process		Secondary process		Tertiary process		Total	
	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)
CON	8.49±0.78	97.09±9.05	7.39±1.35	65.33±10.19	2.50±0.88	20.06±6.65	18.71±2.59	185.01±19.55
CONR	7.61±0.93	83.75±13.44	8.73±0.93	83.85±16.12*	2.31±0.43	19.83±4.08	19.11±2.36	189.53±31.06
PNS	7.80±0.25	84.64±9.05	8.95±1.13	89.40±10.17*	2.93±0.99	25.70±8.09	20.60±2.0	205.43±21.16
PNSR	7.49±0.51*	82.77±16.69*	8.92±1.23*	91.25±10.91*	3.30±0.96	30.06±7.78	20.21±1.98	207.80±13.95

c) Medial nucleus

	Primary process		Secondary process		Tertiary process		Total	
	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)
CON	8.51±1.01	89.92±10.11	7.30±1.39	67.81±10.76	2.23±0.73	20.19±6.0	18.16±2.56	180.49±16.95
CONR	8.0±0.58	87.25±10.15	8.59±1.07*	83.70±16.41*	2.44±0.92	21.94±7.49	17.82±3.51	181.27±42.73
PNS	7.27±0.70*	77.08±11.84*	8.76±0.77*	84.57±6.49*	2.76±0.71	26.13±7.01	19.14±1.73	192.61±18.45
PNSR	7.66±0.45	80.72±12.41	8.64±1.17*	88.74±11.06*	3.29±0.62 ^{†,††}	30.57±3.47 ^{†,***}	20.55±1.63*	207.87±8.96*

d) Basolateral nucleus

	Primary process		Secondary process		Tertiary process		Total	
	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)
CON	8.42±0.95	106.83±10.75	8.21±1.63	78.10±14.57	2.91±1.10	22.26±8.33	19.82±4.0	212.79±35.12
CONR	7.84±0.73	92.02±13.23*	9.27±0.39	90.63±7.25	4.35±0.84 [†]	38.01±8.18 [†]	21.98±0.72*	208.34±24.08
PNS	7.74±0.54	87.01±8.82*	10.0±1.11*	97.50±15.34*	3.39±0.60	30.55±3.76	21.68±1.80*	220.84±26.58
PNSR	7.79±0.67	91.56±11.16*	9.38±1.14*	96.01±15.35*	4.15±1.10 [†]	37.25±7.46 [†]	22.06±1.82*	232.16±18.58

e) Basomedial nucleus

	Primary process		Secondary process		Tertiary process		Total	
	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)
CON	8.42±0.76	91.04±4.88	7.51±1.28	67.86±10.71	1.80±0.76	14.46±5.87	18.27±2.51	175.97±18.27
CONR	7.94±0.52	80.27±4.43	8.36±0.59	77.51±6.39	2.48±0.83	21.15±8.15	19.22±1.22	179.31±7.13
PNS	7.30±0.78*	75.26±8.43*	8.21±1.02	77.32±8.55	2.70±0.61	24.19±5.76	18.89±1.23	176.61±15.43
PNSR	8.15±0.44***	87.87±5.44***	9.81±1.46***	95.94±9.91***	3.84±1.37 ^{†,***}	34.32±12.24 ^{†,††}	22.15±4.04*	224.04±30.28***

f) Lateral nucleus

	Primary process		Secondary process		Tertiary process		Total	
	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)	Number	Length (μm)
CON	8.65±0.83	98.73±7.60	7.92±1.26	72.75±13.60	2.85±0.40	23.10±4.63	19.04±2.35	191.73±29.30
CONR	8.22±1.16	94.88±16.80	8.75±0.51	83.15±11.05	3.60±1.42	30.26±12.20	21.15±1.29	212.27±25.28
PNS	7.99±0.57	91.89±10.77	9.59±1.14*	94.24±18.43*	3.52±0.96	31.13±8.58	20.48±1.51	220.65±25.09
PNSR	7.96±0.24	90.61±3.11	9.0±0.68	90.80±9.63*	3.85±1.36	34.89±10.47	21.13±2.26	222.49±12.31

*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 CONR group $p < 0.01$, ***significantly different from PNS group $p < 0.05$

이를 측정하였다(Fig. 2). 대조군에서 각 신경핵에 분포하는 한 개의 별아교세포에서 유래하는 1차 돌기는 평균 7.99 ± 0.68 개(겉질핵)에서 8.65 ± 0.83 개(가쪽핵)였으며, 총 길이(μm)는 87.87 ± 9.89 (겉질핵)에서 106.83 ± 10.75 (바닥가쪽핵)였다. 2차 돌기의 수는 7.18 ± 1.25 (겉질핵)에서 8.21 ± 1.63 (바닥가쪽핵), 길이는 65.33 ± 10.19 (중심핵)에서 78.10 ± 14.57 (바닥가쪽핵), 3차 돌기의 수는 1.80 ± 0.76 (가쪽안쪽핵)에서 2.91 ± 1.10 (바닥가쪽핵), 길이는 14.46 ± 5.87 (바닥안쪽핵)에서 23.10 ± 4.63 (가쪽핵)이었다. 한 개의 세포에서 유래한 3차 돌기까지 돌기의 총 수와 총 길이는 각각 18.16 ± 2.56 (안쪽핵)에서 9.82 ± 4.0 (바닥가쪽핵), 175.97 ± 18.27 (바닥안쪽핵)에서 212.79 ± 35.12 (바닥가쪽핵)이었다(Table 2).

스트레스에 따른 별아교세포 돌기의 변화는 1차 돌기인 경우 대부분의 신경핵에서 대조군에 비해 실험군이 전체적으로 길이나 숫적으로 다소 감소하는 경향을 보였으며, 특히 중심핵에서는 출생 전에 스트레스를 받고 태어난 흰쥐가 성장 후에 다시 스트레스를 받았을 때(PNSR군) 돌기의 수나 길이에서 대조군에 비해 유의한 감소를 보였고, 바닥가쪽핵과 바닥안쪽핵에서는 출생전 스트레스를 받은 군(PNS군)이 대조군에 비해 수나 길이 모두 유의한 감소를 보였다. 이에 비해 2차 및 3차 돌기는 대부분의 신경핵에서 돌기의 수나 길이가 대조군에 비해 유의하게 증가한 것으로 나타났으며, 돌기의 총 수와 총 길이에 있어서도 대조군에 비해 유의하게 증가하였다(Table 2).

고 찰

흰쥐에서 편도복합체는 관자엽의 머리쪽에서 꼬리쪽까지 걸쳐서 존재하는 신경세포의 집단으로 거의 모든 편도복합체 구역에서 위험을 알리는 중요한 감각정보를 받고, 이러한 정보를 모아 공포라는 감정을 만들어낸다. 공포나 불안 혹은 우울과 같은 감정적인 증상은 스트레스에 의해 유발될 수 있으

며(McEwen과 Stellar 1993), 저혈압 스트레스(Curtis 등 2002), 출혈, 소음, 감금 스트레스(Dayas 등 2001) 등 다양한 종류의 스트레스는 편도복합체와 밀접한 상관관계를 맺고 있다. 이 외에도 편도복합체는 중독된 약물의 투여 중단 시 나타나는 금단증상과도 관련이 있어서 금단증상이 나타나는 시기에 편도복합체 등에 초기발현 유전자인 c-fos의 발현이 증가되는 것으로 나타나기도 하므로(Sarnyai 등 1995) 편도복합체는 스트레스 반응의 중추로 간주되고 있다. 대체적으로 물리적인 스트레스보다는 심리적인 스트레스에 반응하는 것으로 알려져 있는 편도복합체는(Chowdhury 등 2000) 여러 개의 신경핵으로 이루어졌으며, 신경핵에 따라 스트레스와 연관된 기능이 다르다고 알려져 있으나(Vochteloo와 Koohaas 1987, Dayas 등 1999, 2001, Salm 등 2004), 모든 신경핵이 서로 연관되어 통합된 기능을 하고 있으며, 실험대상 동물과 스트레스 방법에 따라 신경핵의 기능이 달라질 수도 있음을 여러 학자들이 보고한 바 있다. 특히 Bush와 Barfield (1974)는 흰쥐에서 편도복합체를 제거하였더니 공격성의 변화가 없었다고 보고하였으나, Bunnell (1966)은 공격성이 약해졌다고 보고하였고, Vochteloo와 Koolhaas (1987)는 특히 중심편도핵에 병변이 생겼을 경우 공격성이 감소하였음을 확인하였다. 이 외에도 편도복합체의 중심핵과 가쪽핵은 스트레스 반응에 있어서 서로 상보적인 기능을 수행한다는 보고도 있다(Grijalva 등 1990).

출생 전 스트레스와 성장 후 스트레스가 편도복합체의 별아교세포에 미치는 영향을 조사한 본 연구에서 모든 실험군이 대조군에 비해 별아교세포의 숫적 변화는 관찰할 수 없었다. Salm 등(2004)은 실험동물에서 출생 전 스트레스를 받은 군이 출생 후 성체가 되었을 때 가쪽편도핵의 용적이 증가하였으며, 이 핵에서 신경세포의 밀도가 유의하게 증가한 반면 신경아교세포는 변하지 않았으나 총 세포 수에 있어서는 가쪽편도핵에서 신경세포와 신경아교세포 모두 증가하였다고 보고하였다(Salm 등 2004). 그러나 신경아교세포의 밀도가 변하지 않았다는 것은 현미경 시야 당 신경아교세포의 수는 변하지 않

있음을 의미하며, 이는 가쪽편도핵을 비롯한 편도복합체를 구성하는 모든 신경핵에서 스트레스에 의한 현미경 시야 당 별아교세포 수는 변하지 않은 것으로 나타난 본 연구의 결과와 일치하였다. 이외에도 스트레스가 별아교세포의 숫적 변화에 미치는 영향에 대해서는 다양하게 보고되어 있다. Sirevaag와 Greenough (1991)는 젖을 떼 후 복잡한 환경에서 30일 동안 사육한 흰쥐의 대뇌 판자엽 겉질에서는 별아교세포의 비대가, 67일 동안 사육한 흰쥐에서는 증식이 나타났다고 보고하였으며, Bridges 등 (2008)은 스트레스에 유도되는 글루코코르티코이드를 투여하였더니 스트레스와 관련된 또 다른 구역인 해마의 CA1에는 별아교세포가 증가하였으나, CA3에서는 증가하지 않았다고 보고한 반면, Mouton 등 (2002)은 CA3에서 증가하였다고 상반되게 보고하였다. 이런 결과들과 본 실험의 결과를 종합하여 보면 스트레스가 별아교세포에 미치는 영향은 실험동물이나, 스트레스의 종류 및 스트레스 기간 등에 따라 다른 것으로 사료되며, 편도복합체를 구성하는 신경핵들 역시 실험동물 및 스트레스 종류와 지속 시간 등에 따라 그 영향이 다양하게 나타난다고 볼 수 있다 (Cullinan 등 1995, Dayas 등 1999, Thorsell 등 1999, Dayas 등 2001, Curtis 등 2002).

Sirevaag와 Greenough (1991)의 실험결과에 의하면 별아교세포의 증식이나 비대에 의해 세포질돌기의 밀도가 증가하는데 이는 별아교세포가 신경연접 활성화이나 연접의 생성을 조절하는 기능에 관여함을 암시한다고 하였다. 본 연구에서도 대조군에 비해 PNSR군에서 한 개의 별아교세포가 갖고 있는 총 돌기 수와 길이가 대부분의 신경핵에서 증가한 것으로 나타났다. 특히 PNS 혹은 CONR군이 대조군에 비해 소량 증가하였으나 일부를 제외하고는 유의하지는 않았지만, PNSR군에서는 유의하게 증가한 것으로 보아 출생 전의 스트레스가 성장 후 받는 스트레스에도 영향을 미친 것으로 사료된다. Hatton과 Tweedle (1982), Thodosis와 Poulain (1989) 등은 수유기 동안 별아교세포의 돌기가 위축되며, 이는 신경세포들 사이에 직접적인 접촉을 증대시킬 것이라고 주장하였으나, 일반적으로 스트레스를 받고 성장

한 동물은 스트레스와 연관된 구역에서 별아교세포 돌기의 숫적 증가가 나타난다고 알려져 있다 (Sirevaag와 Greenough 1987). 또한 Sirevaag 등 (1991)은 스트레스에 영향 받은 구역에서 별아교세포의 비대 및 돌기의 증가가 이루어지며, 이는 이 구역의 신경연접활성과 새로운 연접의 생성을 조절하는 기능을 수행할 것이라고 주장하였다. 따라서 스트레스에 의해 이루어지는 신경계의 가소성에 별아교세포 역시 관여하는 것으로 생각되며, 본 연구에서 스트레스 후에 이루어지는 편도복합체 별아교세포 돌기의 수 및 길이의 증가 역시 이와 같은 연유에서 나타난 결과로, 특히 출생 전 스트레스가 성장 후에도 영향을 미치는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Bridges N, Slais K, Sykova E : The effect of chronic corticosterone on hippocampal astrocyte number: A comparison of male and female Wistar rats. *Acta Neurobiol Exp* 68: 131-138, 2008.
- Bunnell BN : Amygdaloid lesioning and social dominance in the hooded rat. *Psychol Sci* 6: 93-94, 1966.
- Bush DE, Barfield RJ : A failure of amygdaloid lesions to alter agonistic behavior in the laboratory rat. *Physiol Behav* 12: 887-892, 1974.
- Carrasco GA, van de Kar LD : Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol* 463: 235-272, 2003.
- Chowdhury GMI, Fujioka T, Nakamura S : Induction and adaptation of Fos expression in the rat brain by two types of acute restraint stress. *Brain Res Bull* 52: 171-182, 2000.
- Cullinan WE, Herman JP, Battaglia DF, Akil H, Watson SJ : Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience* 64: 477-505, 1995.
- Curtis AL, Bello NT, Connolly KR, Valentino RJ : Corticotropin-releasing factor neurones of the central nucleus of the amygdala mediates locus coeruleus activation by cardiovascular stress. *J Neuroendocrinol* 14: 667-682, 2002.
- 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: 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 Neuroscience* 11: 2312-2322, 1999.
- Fadda P, Fatta W : Stress-induced sleep deprivation modifies corticotropin releasing factor levels and CRF binding in rat brain and pituitary. *Pharmacol Res* 35: 443-446, 1997.
- Grijalva CV, Levin ED, Morgan M, Roland B, Martin FC : Contrasting effects of centromedial and basolateral amygdaloid lesions on stress-related responses in the rat. *Physiol Behav* 48: 495-500, 1990.
- Habib KE, Gold PW, Chrousos GP : Neuroendocrinology of stress. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30: 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: 307-311, 1990.
- Hatton GI, Tweedle CD : Magnocellular neuropeptidergic neurons in hypothalamus: increase in membrane apposition and number of specialized synapses from pregnancy to lactation. *Brain Res Bull* 8: 197-204, 1982.
- Khurgel M, Ivy GO : Astrocytes in kindling: relevance to epileptogenesis. *Epilepsy Res* 26: 163-175, 1996.
- Kraig RP, Dong LM, Thisted R, Jaeger CB : Spreading depression increases immunohistochemical staining of glial fibrillary acidic protein. *J Neurosci* 11: 2187-2198, 1991.
- McEwen BS, Stellar E : Stress and the individual mechanisms leading to disease. *Arch Intern Med* 153: 2093-2101, 1993.
- Mouton PR, Long JM, Lei D-L, Howard V, Jucker M, Calhoun ME, Ingram DK : Age and gender effects on microglia and astrocytes numbers in brains of mice. *Brain Res* 956: 30-35, 2002.
- Muller CM : Glial cells and activity dependent central nervous system plasticity, *Neuroglia*, New York, Oxford University Press, pp 221-302, 1995.
- Paxinos G, Watson C : The rat brain. In stereotaxic coordinates, Academic Press, San Diego, pp 22-44, 1998.
- 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: 89-97, 1995.
- Sirevaag AM, Black JE, Greenough WT : Astrocyte hypertrophy in the dentate gyrus of young male rats reflects variations of individual stress rather than group environmental complexity manipulations. *Exp Neurol* 11: 74-79, 1991.
- Sirevaag AM, Greenough WT : Differential rearing effects on rat visual cortex synapses. III. Neuronal and glial nuclei, boutons, dendrites, and capillaries. *Brain Res* 424: 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: 273-278, 1991.
- Theodosios DT, Poulain DA : Neuronal-glial and synaptic plasticity in the adult rat paraventricular nucleus. *Brain Res* 484: 361-366, 1989.
- Thorsell A, Karlsson K, Ekman R, Heilig M : Behavioral and endocrine, adaptation, and up-regulation of NPY expression in rat amygdala following repeated restraint stress. *Neuroreport* 10: 3003-3007, 1999.
- Vochtelloo JD, Koolhaas JM : Medial amygdala lesions in male rats reduce aggressive behavior: interfere with experience. *Physiol Behav* 41: 99-102, 1987.
- 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: 122-131, 1991.

Abstract

Effects of Prenatal Stress and Restraint Stress on Amygdala Complex of the Rat: II. Effects on the Astrocytic Cell Processes

Jin Suk Lee, Byoung Young Choi, Byung Pil Cho, Ji Yong Lee,
Wonsug Jung, Young Chul Yang

Department of Anatomy, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju 220-701, Korea

The hypothesis that adverse experience alters the balance of neurotransmitters in the amygdala rendering it hyperresponsive to stress was examined in the present study. Since astrocytes regulate the brain's neurochemical milieu by uptaking neurotransmitters, we have examined these cells in the amygdala of prenatally stressed rats, a model of pathological anxiety. Here we examined morphometric changes on the cell bodies of astrocytes in the amygdala induced by prenatal stress and restraint stress.

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 stained with GFAP immunohistochemistry were counter stained with methylene blue/azure II and were examined using the Neurolucida.

The present study showed that prenatal and restraint stress caused the significant increase in the total number and length of the amygdaloid astrocytic processes.

In conclusion, astrocytes show structural indices of activation with stress.

Key words : Prenatal stress, Restraint stress, Amygdala complex, Astrocyte