

시상밑핵 병소가 파킨슨병 모델 흰쥐에서 자발적 행동과 뇌심부핵 신경세포 전기활동에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 신경외과학교실,¹ 임상의학연구소,² 뇌연구소,³ BK21 의과학사업단⁴
장종희^{1,3,4} · 박용숙¹ · 전미파^{2,4} · 장진우^{1,3,4} · 박용구^{1,3,4} · 정상섭^{1,3}

Alterations of Spontaneous Behaviors and the Neuronal Activities of the Deep Cerebral Nuclei by Subthalamic Lesion with Kainic Acid in Rat Parkinsonian Models with 6-hydroxydopamine

Jong Hee Chang, M.D.,^{1,3,4} Yong Sook Park, M.D.,¹ Mi Fa Jeon, M.S.,^{2,4}
Jin Woo Chang, M.D.,^{1,3,4} Yong Gou Park, M.D.,^{1,3,4} Sang Sup Chung, M.D.^{1,3}

Departments of Neurosurgery,¹ Medical Research Center,² Brain Research Institute,³
BK21 Project for Medical Science,⁴ Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Objective : The purpose of this study is to investigate the effect of ipsilateral subthalamic nucleus(STN) lesioning on the spontaneous behavioral changes and the alteration of neuronal activities of deep cerebral nuclei in the rat parkinsonian model with 6-hydroxydopamine(6-OHDA).

Methods : To identify the spontaneous behavioral changes, apomorphine-induced rotational test and forepaw adjusting step were performed. We subsequently investigated the alteration of neuronal activities in the substantia nigra pars reticulata(SNpr) and globus pallidus(GP), in order to compare them with the behavioral changes in rat parkinsonian models.

Results : The STN lesioning in the rat parkinsonian model clearly improved behavioral changes. Compared to the normal control rats, rat PD models exhibited a significant increase in mean firing rates and the percentage of bursting neurons in the STN and SNpr. In the STN-lesioned rat PD models, mean firing rates and the percentage of bursting neurons in the SNpr were reduced and those in the GP increased.

Conclusion : STN lesioning induced behavior improvement in rat parkinsonian models seems to be consistent with the surgical outcomes of the STN stimulation therapy in advanced Parkinson's disease(PD). The alteration of the neuronal activities in the SNpr and GP suggests that these sites are responsible for the improvement of parkinsonian motor symptoms observed following STN lesioning in rat parkinsonian models. The significance of bursting activity in the SNpr and GP remains obscure. Further study is necessary to elucidate the pathophysiological mechanism of PD.

KEY WORDS : 6-hydroxydopamine · Parkinson's disease · Subthalamic nucleus · Substantia nigra · Globus pallidus · Kainic acid.

서 론

현재까지 기저핵간의 기능적 구조에 대한 가설로 가장 인정받는 것은 DeLong 등¹⁶⁾이 원숭이 파킨슨병 모델에서 얻은 결과를 바탕으로 주장한 운동회로에 대한 가설로, 시상밑핵(subth-

alamic nucleus; STN)의 과활성이 파킨슨병의 병태생리에 중요한 역할을 한다는 것이다. 파킨슨병에서 이러한 STN의 과활성은 선조체(striatum)에서의 도파민 결핍으로 인한 결과로, 억제성인 담창구 시상밑핵 경로(pallido-subthalamic pathway)의 활성도가 감소하기 때문이다. STN은 기저핵의 원심성 구조물을 활성화시키는 것으로 알려져 왔다. 이러한 가설을 바탕으로, STN의 과활성을 감소시키는 기술이 도파민 결핍상태의 쥐^{3,7,15,44)} 원숭이^{4,8)} 나타나는 행동변화를 회복시킨다는 사실이 밝혀졌다. 또한, 실제 파킨슨병 환자에서 높은 주파수로 STN을 자극하면, 무운동증(akinesia), 강직(rigidity), 진전(tremor) 등의 증상이 크게 호전된다는 것을 발견하였다^{6,28,29)}.

• Received : December 31, 2003 • Accepted : January 24, 2004
• Address for reprints : Jin Woo Chang, M.D., Department of Neurosurgery, Brain Research Institute, Yonsei University College of Medicine, 134 Shinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea
Tel : 02) 361-5624, Fax : 02) 393-9979
E-mail : jchang@yumc.yonsei.ac.kr

그러나 이러한 여러 가지 발견에도 불구하고, 아직도 파킨슨병의 정확한 병태생리에 대해서는 밝혀지지 않았으며, 특히, 최근 연구들에 의하면 기존의 가설과 일치하지 않는 주장도 많이 보고되고 있다. 예를 들어, 기존의 가설에 의하면 감소되어 있어야 할 억제성 선조체-시상밑핵 경로의 활성도가 실제로는 오히려 증가해 있거나 변화가 없다는 보고도 있다^{12,21,34,37,38}.

파킨슨병 모델 동물에서 기록한 극파들을 정밀하게 분석해보면, 극파의 발화율(firing rate) 뿐만 아니라 발화 양상(firing pattern)에 변화가 생긴다는 중요한 사실을 알 수 있으며, 실제 대부분의 보고들이 극파간격(interspike intervals: ISIs)의 불규칙성의 증가, 극파 발화의 돌발성 경향(a tendency of firing in bursts), 극파 발화율의 주기적 변화(periodic oscillation in the firing rate) 같은 발화 양상의 변화를 강조하고 있다^{12,25,32,33,36,40,44}. 그러나 이러한 수치들의 변화가 기록된 세포의 일부분에서만 관찰될 수 있다는 점과, 발화율과 발화 양상의 변화가 동일한 세포에서 기록된 것인지 아니면 다른 세포에서 각각 기록된 것인지를 알 수 없다는 점 때문에, 그 의미나 중요성에 대해서는 아직 확실하게 밝혀지지 않았다.

본 연구에서는 6-hydroxydopamine(6-OHDA)로 만든 흰쥐 파킨슨병 모델에서, kainic acid로 STN에 병소를 만든 전후에, 자발적 행동의 변화와 흑질망상부(substantia nigra pars reticulata: SNpr), 담창구(globus pallidus: GP)에서의 신경세포 전기활성도의 변화를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

모든 실험과정은 실험동물의 고통과 수를 최소화하도록 이루어졌다. 몸무게 150~200g의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley rat) 41마리를 이용하였다. 실험동물은 정상대조군(10마리), 흑질치밀부(substantia nigra pars compacta: SNpc) 병소군(10마리), STN 병소군(7마리), SNpc와 STN 모두에 병소를 만든 군(7마리), SNpc에 병소를 만들고 STN에 생리식염수만을 주입한 sham 대조군 (7마리)의 총 5개 그룹으로 나누었다. 하나의 cage에 5마리씩 사육하고 먹이와 물을 충분히 공급하였으며, 온도와 습도가 일정하게 조절되

고 12시간 간격으로 점등 및 소등되는 방에서 관리하였다.

내측전뇌다발(medial forebrain bundle: MFB)과 STN에 대한 수술방법

흰쥐를 ketamine(75mg/kg), ace-promazine(0.75mg/kg), rompun (4mg/kg)이 혼합된 약물을 이용하여 마취하였다. 0.2% 아스코르빈산(ascorbic acid)과 0.9% 생리식염수에 혼합한 8 μ l의 6-OHDA (Sigma, St. Louis, MO, USA)을 정위기구를 이용하여 우측 MFB(전정으로부터 후방 4.4 mm, 측방으로 1.2mm, 경막으로부터 7.5mm 깊이)에 0.5 μ l/min의 속도로 주사하였다¹⁴. 주사가 끝나면 삽입관을 5분간 유지시킨 후 천천히 제거하였다. 노르아드레날린성(noradrenergic) 신경세포가 파괴되지 않도록 6-OHDA 주사 30분 전에 desipramine(12.5mg/kg)을 복강 내 주사한다. STN 병소는 0.5 μ l의 생리식염수에 1 μ g의 kainic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 혼합하여, 우측 STN(전정으로부터 후방 4.7mm, 측방으로 2.5mm, 경막으로부터 8.0mm 깊이)에 0.5 μ l/min의 속도로 총 1 μ l를 주입하였다.

행동학적 검사

반대쪽 앞발적응보행검사(forepaw adjusting step)는 apomorphine 유도 회전검사(apomorphine-induced rotational test) 직전에 시행하였다¹⁴. 간단히 검사방법을 설명하면, 쥐를 90cm/12sec 속도로 움직이는 달차(treadmill)위에 올려 놓는다. 쥐의 뒷발이 들리도록 실험자의 손으로 쥐의 몸통을 안정되게 들어올려 앞발로만 체중을 지탱하도록 한다. 그리고 다른 한 손으로 쥐의 앞발 중 하나를 잡아 올리면 쥐가 몸의 균형을 잡기 위해 체중을 지탱하고 있는 한쪽 앞발로 보행을 하게 되는데 그 횟수를 측정하였다. 각각의 검사는 양쪽 앞발에 대해 번갈아 가며 5회씩 반복 시행하고, 5회의 평균값을 자료로 기록하였다(Fig. 1A). 이 검사는 6-OHDA로 파킨슨병 모델을 만든 지 3주 후와 kainic acid로 STN에 병소를 만든 지 3주 후에 각각 시행하였다.

Apomorphine 유도 회전검사는 자동회전통(automated rotation bowl)과 쥐의 몸통에 부착된 띠로 구성된 자동회전기(automated rotometer)를 이용하여 실시하였다. 0.1mg/kg의 apomorphine 을 MFB에 병소를 만든 지 3주 후와 STN에 병소를 만든 지 3주 후에 각각 복강에 주사하였다. 먼저 쥐를 20분간 회전운동에 익숙하게 한 후, 1시간 동안 매분마다 회전 횟수를 측정하였다. 6-OHDA를 주입한 반대쪽 방향으로 1분 동안 최소 5바퀴

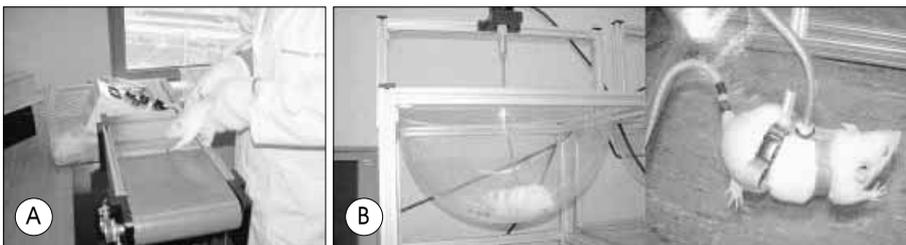


Fig. 1. Behavioral tests. A : Forepaw adjusting step. B : Apomorphine-induced rotational test.

를 완전히 회전한 쥐를 선택하여 실험에 포함시켰다(Fig. 1B). 한 시간 동안의 총 회전 횟수를 측정하여 자료로 이용하였다. 6-OHDA를 주입한 같은 쪽 방향으로 회전한 쥐는 본 실험에서 제외하였다.

미세전극 기록

단일신경세포 전기활동의 세포외측정(extracellular single unit recording)을 위해, urethane(1.3mg/kg)을 흰쥐의 복강 내에 주사하여 마취시켰다. 유리미량피펫(glass micropipette; impedance 7–10 Mohm at 100Hz)을 0.5M sodium acetate buffer (pH 7.6)에 혼합한 2.5% pontamine sky blue로 채워 단일신경세포 전기활동 측정에 사용하였다. 두개골에 드릴로 구멍을 뚫은 후, 미세전극을 정위기구를 이용하여 전기활동을 측정할 각 심부구조물에 삽입하였다(Table 1).

Table 1. Coordinates of each targets

Target	AP*	Lateral**	Depth***
GP	(-)0.8–1.3	2.6–3.2	6.0–6.6
SNpr	(-)5.2–6.04	2.4–2.8	7.4–8.0
STN	(-)3.6–4.16	2.2–2.6	7.4–7.8

*distance (mm) from bregma (+: anterior, -: posterior). **distance (mm) from midline. ***distance (mm) from dura. GP : globus pallidus. SNpr : substantia nigra pars reticulata. STN : subthalamic nucleus.

전기신호는 bridge mode로 DAM80 preamplifier(WPI, UK)를 통해 증폭되었고, 증폭된 신호는 oscilloscope와 audio monitor를 통해 관찰하였다. 단일신경세포 전기활동은 window discriminator(WPI, UK)에 의해 선택되어 신경세포 발화자료가 Spike 2 컴퓨터 프로그램(version 2.18, Cambridge Electronic Design, UK)에 저장되었다. 저장된 자료는 window discriminator에 의해 방형파(square wave)로 바뀌고, A/D converter와 개인 컴퓨터에 의해 디지털 자료로 바뀌어 저장되었다. 각각의 신경세포에 대해, 평균 발화율(firing rate), 평균 극파간격(interspike intervals; ISIs), auto-correlogram, 발화양상(firing pattern) 등을 분석하였다. 극파간격 자료로 각 신경세포의 발화 정도(units degree of burstiness)를 Hutchinson 등^{23,24)}이 보고한 연산방식에 따라 분석하였다. 발화세포(bursting cell)들은 modal interval을 평균 발화율로 나눈 값의 역수가 10점 이상이었다. Autocorrelogram으로 규칙성(rhythmicity)을 분석하였으며, cut-off 치는 0.95로 하였다. 발화양상의 분포를 알아보기 위해, autocorrelogram상에서 명백히 구분되는 파의 정점의 수에 따라 발화양상을 분류하였다¹²⁾.

조직검사

미세전극기록이 끝난 다음에는, 기록부위를 표시하기 위해, 미세전극 침단에 pontamine sky blue를 $-18\mu\text{A}$ 로 20분간 이온도입

(iontophoresis)을 시행하였다. 흰쥐를 깊이 마취시키고 심장을 통해 먼저 125ml 생리식염수와 연이어 250ml 차가운 4% paraformaldehyde로 관류를 시켰다. 뇌를 제거하여 10시간 동안 고정시킨 후, 30% sucrose로 옮겨 평형상태에 이를 때까지 놓아둔다. 조직을 $20\mu\text{m}$ 두께로 얼려 자른 후, rat tyrosine hydroxylase(TH)에 대한 1:750 1차 다크론성(polyclonal) 항체(Pel-freeze, Rogers, AK, USA)와 biotinylated goat anti rabbit IgG 2차 항체(Vector Labs, Burlingame, CA, USA)를 이용하여 면역염색을 하였다. 신호를 증폭시키기 위한 avidin과 biotinylated horseradish peroxidase의 사용을 위해 Elite ABC Vectastain kit(Vector Labs, Burlingame, CA, USA)를 사용하였다. 3,3'-diaminobenzidine tetrachloride dehydrate를 색소원(chromogen)으로 사용했으며, 색변화를 뚜렷이 하기 위해 cobalt chloride/nickel ammonium을 사용하였다. 동시에, STN병소와 뇌심부핵의 전기활동 기록부위를 확인하기 위해 cresyl violet으로 염색을 하였다.

자료분석

전기생리학적 기록자료의 통계학적 분석을 위해서는 ANOVA나 Kruskal-Wallis one-way ANOVA를 사용하였으며, 각 그룹간의 행동자료의 비교를 위해서는 Mann-Whitney U-test를 사용하였다. 통계학적 유의도는 $p < 0.05$ 로 하였다. 모든 통계학적 분석은 SPSS version 9.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다.

결 과

흰쥐 파킨슨병 모델의 병리조직학적 소견

6-OHDA에 의해 만들어진 병소의 위치와 범위를, SNpc와 선조체에서 TH에 면역학적으로 양성인 세포와 섬유가 감소한 것으로 평가하였다(Fig. 2). 실험이 끝난 후에, STN의 병소도 평가하였는데, STN 위치에서 SNpc의 국소적 교질화가 관찰되었다(Fig. 3). STN의 병소가 근처 기저핵까지 침범한 경우나 STN에 제대로 병소가 만들어지지 않은 경우는 자료분석에서 제외하였다. 뇌심부핵(GP, SNpr)의 전기활동 기록 부위는 cresyl violet 염색을 하여 확인하였다(Fig. 4).

STN 병소가 반대쪽 앞발적응보행에 미치는 영향

STN에 병소를 만드는 것이 반대쪽 앞발적응보행에 어떤 영향을 미치는 가를 알아보기 위해, 모든 그룹의 쥐에게 보행검사를 시행하였다. 50마리 중 40마리(80%)에서 성공적으로 파킨슨병 모델이 만들어졌다. 각 그룹에서 평균 앞발적응보행의 수를 Fig. 5에 도시하였다. 파킨슨병 모델 흰쥐(n=7)에서 STN에 병소를 만든 후, 적

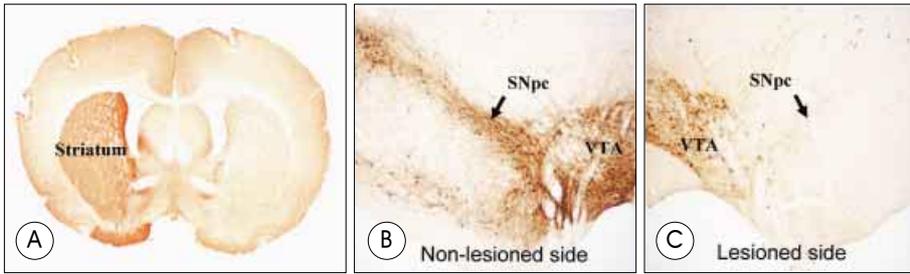


Fig. 2. Immunohistochemistry of tyrosine hydroxylase showing the total degeneration of dopamine neurons in the striatum(A) and dopamine cell bodies in the SNpc (arrow) on the 6-hydroxydopamine injected side(B) compared to the normal side(C). SNpc : substantia nigra pars compacta, VTA : ventral tegmental area.

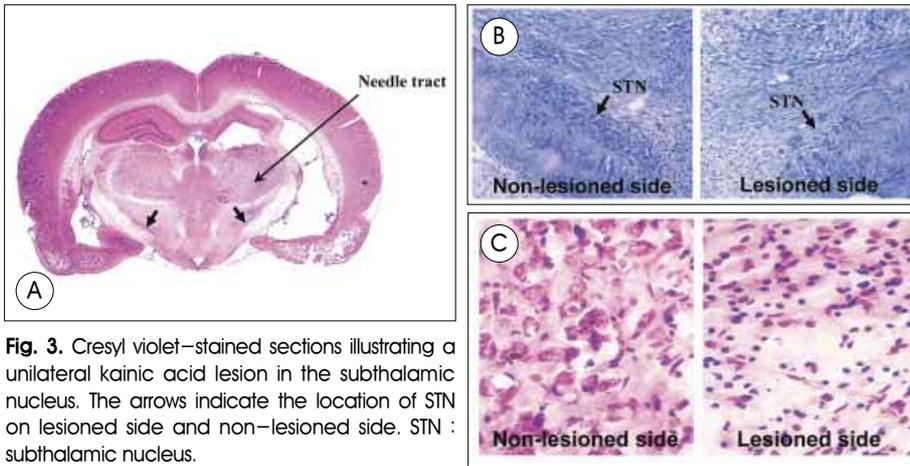


Fig. 3. Cresyl violet-stained sections illustrating a unilateral kainic acid lesion in the subthalamic nucleus. The arrows indicate the location of STN on lesioned side and non-lesioned side. STN : subthalamic nucleus.

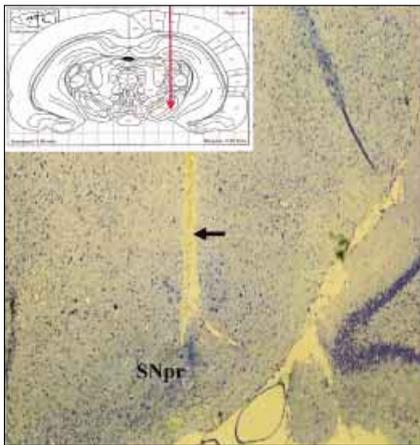


Fig. 4. Photomicrograph showing the pontamine sky blue mark corresponding to a neuron recorded at the end of tracks (arrows) in the SNpr. SNpr : substantia nigra pars reticulata.

감소하였으나(Fig. 5), 파킨슨병 모델 흰쥐에서 감소한 폭보다는 적었다. 또한, 모든 정상 흰쥐에서, 반대쪽 발에 운동이상증(dyskinesia)에 합당한 비정상적 움직임이 관찰되었다. 흥미롭게도, 이러한 비정상적 움직임은 뒷발보다는 앞발에서 더 뚜렷했으며, 같은 쪽 발에서는 관찰되지 않았다.

응보행의 수가 2.6 ± 0.5 에서 5.0 ± 0.9 로 의미있게 증가하였다($p < 0.05$; Fig. 5). STN병소의 효과를 정상 흰쥐에 대해서도 알아보았다. 병소를 만들지 않은 정상 흰쥐(12.1 ± 0.8)에 비해 STN에 병소를 만든 경우, 반대쪽 앞발적응보행의 수가 11.8 ± 1.4 로

STN병소가 뇌심부핵의 극파 발화율과 발화양상에 미치는 영향

각각의 그룹에서 전기활동을 기록한 신경세포의 수, 평균 발화율, 극파간격을 Table 2에 나타내었다. 미세전극의 한 경로에서 기록한 평균 신경세포의 수는 2.0~3.4개로 각 그룹에서 비슷했다. 병소를 만들지 않은 정상흰쥐에서, 각 지점의 평균 발화율은 다음과 같다(SNpr: 20 ± 1.3 Hz(n=42), STN; 11 ± 1.0 Hz(n=27), GP: 19 ± 1.6 Hz(n=34)). 정상 흰쥐와 비교해서, 파킨슨병 모델 흰쥐에서는 평균 발화율이 SNpr(27 ± 1.6 Hz), STN(20 ± 1.8 Hz)에서 의미있게 증가하였다($p < 0.05$). 그러나 GP에서의 평균 발화율은 16 ± 1.3 Hz로 감소해 있었다($p < 0.05$). STN에 병소를 만든 파킨슨병 모델 흰쥐에서는, SNpr(24 ± 2.2 Hz)에서의 증가된 평균 발화율이 다시 감소하였으며, GP에서는 18 ± 1.6 Hz로 증가하였다($p < 0.05$). 파킨슨병 모델 흰쥐에 생리식염수로 sham STN 병소를 만든 경우는 변화된 평균발화율이 다시 회복되지 않았다. 정상 흰쥐에 STN 병소를 만든 경우는, GP를 제외하고는 정상 흰쥐의 평균 발화율과 차이가 없었다(GP: 16 ± 1.7 Hz, SNpr; 26 ± 1.7 Hz)($p > 0.05$; Fig. 7).

뇌심부핵의 발화양상을 분류하기 위해, 극파간격 히스토그램의 분석, 점방식 도시(raster display), autocorrellogram을 사용하

STN병소가 회전운동에 미치는 영향

앞발적응보행검사를 통과한 쥐들에 한해서 apomorphine 유도 회전검사를 실시하였다. 6-OHDA를 주사한 모든 흰쥐 파킨슨병 모델(n=24)이 포함되었다. 파킨슨병 모델 흰쥐(n=10)의 한 시간 동안 평균 회전수는 452.8 ± 45.8 이었다(Fig. 6).

STN 병소만 만든 정상 흰쥐(n=7)에서는 apomorphine을 주사하면 병소를 만들지 않은 정상 흰쥐와 마찬가지로 반대쪽은 물론, 같은 쪽으로도 회전운동은 거의 관찰되지 않았다. STN에 병소를 만든 파킨슨병 모델 흰쥐에서는, 한 시간 동안의 평균회전수가 97 ± 13.5 로 의미있게 감소하였다($p < 0.05$). 그러나 파킨슨병 모델 흰쥐에서 STN에 생리식염수만을 주입한 sham 대조군에서는 평균 회전수에 변화가 없었다.

Table 2. The general results from GP, SNpr and STN recorded in normal rats, and in rats with SNpc, STN and SNpc+STN lesions

Group	STN			GP			SNpr		
	Neurons (n)	Mean firing rate(Hz)	ISI(sec)	Neurons (n)	Mean firing rate(Hz)	ISI(sec)	Neurons (n)	Mean firing rate(Hz)	ISI(sec)
Control	27	11±1.0	0.15±0.053	34	19±1.6	0.20±0.012	42	20±1.3	0.04±0.019
PD	49	20±1.8*	0.44±0.106	42	16±1.3*	0.04±0.004	62	27±1.6*	0.06±0.024
STN				35	16±1.2*	0.05±0.005	33	19±1.6	0.05±0.005
PD+STN				44	18±1.6	0.04±0.006	36	24±2.2	0.02±0.007
PD+STNsham	37	20±2.0*	0.36±0.090	30	16±1.7*	0.04±0.005	35	26±1.7*	0.04±0.020

The values: means±SEM. * P< 0.05 in comparison with values from normal animals. ISI : interspike interval. GP : globus pallidus. SNpr : substantia nigra pars reticulata. STN : subthalamic nucleus. SNpc : substantia nigra pars compacta. PD : Parkinson's disease.

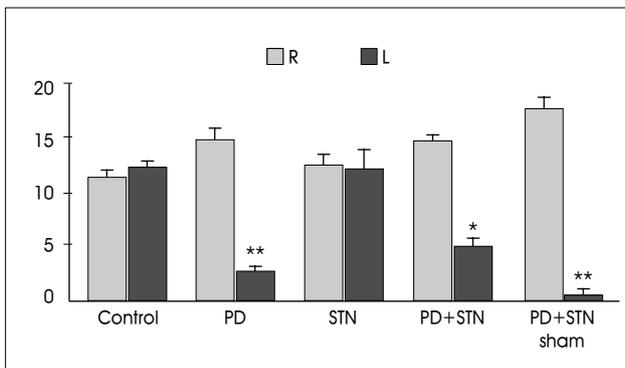


Fig. 5. The numbers of ipsilateral(gray bars) and contralateral(black) forepaw adjusting steps before lesioning, after 6-OHDA lesions, and after unilateral kainic acid lesion of the subthalamic nucleus. Each bar represents the mean±SEM stepping numbers. * p<0.05, ** p<0.01 in comparison with values from normal animals. PD : Parkinson's disease, STN : subthalamic nucleus, SNpc : substantia nigra pars compacta.

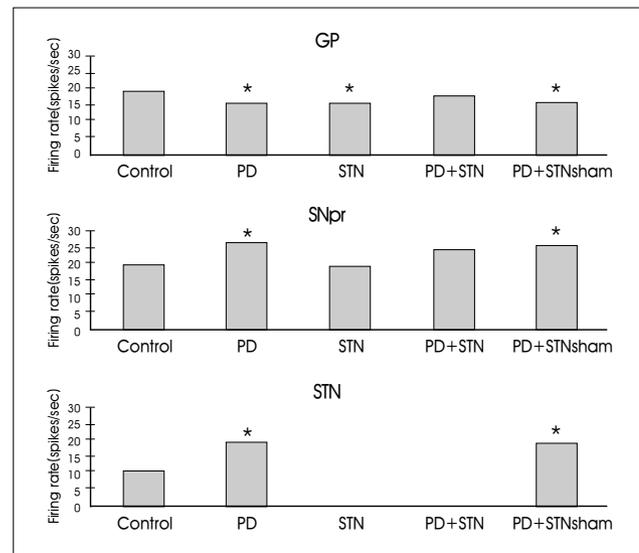


Fig. 7. The mean firing rates(Hz) from GP, SNpr and STN recorded in normal rats, and in rats with SNpc, STN and SNpc+STN lesions. * p<0.05 in comparison with values from normal animals. GP : globus pallidus, SNpr : substantia nigra pars reticulata, STN : subthalamic nucleus, SNpc : substantia nigra pars compacta, PD : Parkinson's disease.

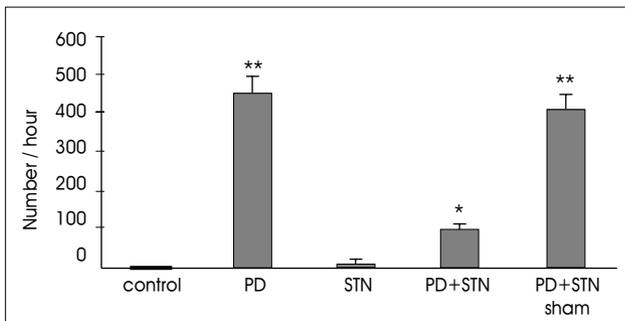


Fig. 6. Apomorphine-induced contralateral rotational behavior of rats after 6-hydroxydopamine lesion and unilateral kainic acid lesion of the subthalamic nucleus. Each bar represents the mean±SEM rotations per hour. * p<0.05, ** p<0.01 in comparison with values from normal animals. PD : Parkinson's disease, STN : subthalamic nucleus, SNpc : substantia nigra pars compacta.

였다. Hutchinson 등^{23,24}이 보고한 연산방식에 따라 SNpr, GP의 각 신경세포의 발화양상을 돌발성(bursting)과 비돌발성(non-bursting) 신경세포로 분류하였다. 비돌발성 신경세포에는 긴장성(tonic)과 긴장-돌발 혼합성(mixed tonic-bursting) 신경세포가 포함되었다. Fig. 8은 각 그룹에서 SNpr, STN, GP의 발화양상을 보여준다. SNpr, STN에서의 돌발성 신경세포의 전체 신경세포에 대한 비율은, 정상 흰쥐의 경우, 각각 29%, 30%였으며, 파킨슨병 모

델 흰쥐의 경우, 각각 44%, 38%였다. 파킨슨병 모델 흰쥐에서 STN에 병소를 만든 경우는, 그 비율이 SNpr에서는 20%로 감소하였다(p<0.05). 그러나, 정상 흰쥐에서 STN에 병소를 만든 경우와 sham STN 병소 파킨슨병 모델 흰쥐에서는 정상 흰쥐에 비해, SNpr의 돌발성 신경세포의 비율에 특이한 차이가 없었다(p>0.05; Fig. 8). 6-OHDA로 병소를 만든 흰쥐에서, GP의 돌발성 신경세포의 비율은 17%로 정상 흰쥐와 비슷하다. SNpc와 STN 모두에 병소를 만든, STN 병소 파킨슨병 모델 흰쥐에서는, 그 비율이 34%로 정상 흰쥐(18%)에 비해 의미있게 증가하였다. 또한, STN에만 병소를 만든 흰쥐에서도, GP의 돌발성 신경세포의 비율이 23%로 증가하였다.

고찰

전 기생리학적 기록은 STN이 글루타메이트성(glutamatergic) 투사를 통해, 쥐의 SNpr과 원숭이의 내측 담창구에서 높은

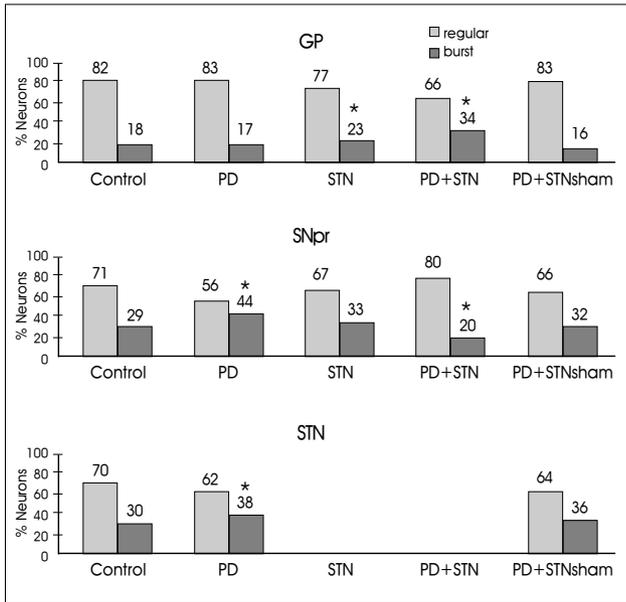


Fig. 8. Firing pattern. The proportions of GP, SNpr and STN, according to their firing pattern, recorded in normal rats, and in rats with SNpc, STN and SNpc+STN lesions. * $p < 0.05$ in comparison with values from normal animals. GP : globus pallidus, SNpr : substantia nigra pars reticulata, STN : subthalamic nucleus, SNpc : substantia nigra pars compacta, PD : Parkinson's disease.

활성도를 유지하는데 중요한 역할을 한다는 사실을 확인시켜주었다^{20,39}. 따라서 STN은 기저핵의 회로를 총괄하는 주된 구조물로 생각되며, 높은 주파수로 STN을 자극하는 것이 파킨슨병 환자에서 매우 효과적인 치료방법으로 여겨지고 있다^{6,13,26,28}. 그러나 기저핵에 대한 현재 모델과, 파킨슨병 증상이 호전되는 기전에서 STN의 역할에 대해서는 아직 논란이 많다^{10,30,40}. 즉, STN과 간접 경로(indirect pathway)의 역할에 대해서는 아직도 확실히 밝혀져 있지 않다.

행동학적 자료

한쪽 SNpc에 병소를 만든 쥐는 병소의 반대쪽 방향으로 회전운동을 하게 되는데, 이러한 회전 운동은 파킨슨병 흰쥐의 탈신경된(denervated) 쪽의 감각된 도파민수용체가 apomorphine에 의해 자극되기 때문인 것으로 생각된다^{17,18,45}. 이러한 경우에, STN에 병소를 만들면 회전운동이 뚜렷이 감소된다($p < 0.05$). 그러나 파킨슨병 모델이 아닌 정상 흰쥐에서 STN에 병소를 만든 경우나, 아무런 병소를 만들지 않은 정상 흰쥐의 경우에는, apomorphine을 주입해도 뚜렷한 회전 운동은 관찰되지 않는다.

파킨슨병 모델 흰쥐에서 STN에 병소를 만든 후, apomorphine 유도 회전 운동이 감소하는 기전은 확실히 밝혀져 있지 않다. 단지, STN 병소는 같은 쪽의 간접 선조-흑질 경로(indirect striatonigral pathway)를 차단하는 것으로 알려져 있으며, 탈신경된 쪽에서의

감작된 도파민 수용체의 효과를 줄임으로써 양쪽의 간접 경로 사이의 불균형을 해소해주는 것이 아닌가 생각된다. 또한, STN 병소에 의해 야기되는 글루타메이트 활성의 감소가 SNpr의 활성도를 떨어뜨리는 것도 apomorphine 유도 회전 운동을 감소시키는 기전으로 생각된다¹².

이러한 가설을 뒷받침하는 여러 실험 결과들이 보고되고 있다. 파킨슨병 동물모델에서 STN에 신경독소성 병소를 만들거나 높은 주파수로 자극을 하면 운동 장애를 호전시킨다는 연구 결과들이 보고되었다^{4,5,9}. 본 연구에서도 kainic acid를 이용한 STN의 병소가, 파킨슨병 모델 흰쥐의 자발적 운동 행태를 평가하는 데 유용한 반대쪽 앞발적응보행검사에서 운동장애를 호전시키는 결과를 관찰할 수 있었다. 또한, 흰쥐 파킨슨병 모델에서 STN 병소가 자발적인 발의 움직임을 크게 호전시키는 데에도 어느 정도 기여하는 것으로 생각된다.

미세전극 기록 결과

현재의 운동회로에 대한 가설에 의하면, 선조-흑질 신경세포의 D1 도파민 수용체가 억제성인 GABA성 선조-흑질 경로의 활성도를 증가시키는 것으로 작용한다^{16,17}. 파킨슨병 모델 흰쥐에서, 도파민성 탈신경의 결과, SNpr로 투사되는 선조체의 GABA성 신경세포가 저활성화되어 SNpr에 대한 억제성 신호가 감소하여, SNpr 자체의 GABA성 활성도가 증가하게 되며, STN으로부터의 SNpr로의 흥분성 신호가 증가하면서 더욱 증폭되게 된다. 본 연구에서는 이러한 예상과 일치하는 결과를 보여주었다. 즉, 본 연구의 흰쥐 파킨슨병 모델에서 SNpr($27 \pm 1.6\text{Hz}$)과 STN($20 \pm 1.8\text{Hz}$)에서 극파의 발화율이 증가되어있는 것과, 이러한 모델에서 kainic acid로 STN에 병소를 만들면 SNpr 신경세포의 과흥분성을 정상($24 \pm 2.2\text{Hz}$)으로 다시 회복시키는 것을 확인하였다. 또한, sham STN 병소 파킨슨병 모델 흰쥐에서는 SNpr 신경세포의 발화율은 $26 \pm 1.7\text{Hz}$ 로 여전히 증가되어 있어, 파킨슨병 모델 흰쥐에 비해 의미 있는 차이가 없었다($p > 0.05$).

파킨슨병의 전통적인 병태생리 모델에 의하면, SNpc의 도파민성 신경세포의 결핍이 GP 신경세포의 발화율을 감소시킨다². Albin¹은 STN의 증가된 신경활성도는, GP 신경세포에서 STN 신경세포로의 GABA성 신경전달이 감소한 때문일 것이라고 보고하였다. 본 연구의 결과도 GP 신경세포의 발화율의 감소를 확인시켜 주었다. STN에 병소를 만든 파킨슨병 모델 흰쥐에서 GP 신경세포의 발화율은 $18 \pm 1.6\text{Hz}$ 로, STN에 병소를 만들지 않은 파킨슨병 모델흰쥐($16 \pm 1.3\text{Hz}$)에 비해 정상에 가까웠다.

저자의 실험 결과, 흰쥐 파킨슨병 모델의 SNpr에서 돌발성 신경세포의 비율은 44%로, 정상 흰쥐에서의 29%보다 더 높았다. 파킨

스병 모델 흰쥐의 STN에 병소를 만들면 20%로 감소하였다($p < 0.05$). 또한, 정상 흰쥐의 STN에 병소를 만든 경우와 파킨슨병 모델 흰쥐에 sham STN 병소를 만든 경우에는 SNpr의 돌발성 신경세포의 비율에 특이한 차이를 관찰할 수 없었다($p > 0.05$). 그러나 많은 저자들이 상반되는 연구결과를 보고하였다. Kreiss 등²⁷⁾은 정상 흰쥐에 비해, 파킨슨병 모델 흰쥐에서 STN에 더 규칙적인 신경세포들이 존재한다고 보고하였다. Rohlfis 등⁴⁰⁾은 파킨슨병 모델 흰쥐에서 SNpr의 신경활성도가 정상 흰쥐에 비해 현저히 낮고, 이와 반대로 반대쪽 SNpr의 신경활성도는 정상 흰쥐에 비해 현저히 높다고 하였다. 또한, 이들은 평균 발화율의 감소 외에도, 병변 쪽의 SNpr내에 많은 신경세포들이 돌발성 발화양상을 나타낸다고 하였다. MacLeod 등³⁰⁾은 지속적인 돌발성 양상의 발화는 자발적인 발화가 감소함에 따른 생리적 보상기전의 적응증이 될 수도 있으며, 병소를 만들고 2주안에 관찰되는, 같은 쪽 SNpr 신경세포의 평균 발화율의 감소는 선조체에서 도파민의 연결 후(postsynaptic) 억제 작용 때문일 것으로 추정된다고 하였다. 그러나 이러한 주장은 본 연구의 결과와는 일치하지 않는 듯 하다. 본 연구에서는 6-OHDA로 만든 모든 파킨슨병 모델 흰쥐의 SNpr에서 평균 발화율이 확실히 증가되어 있었다. 또한, STN에 병소를 만든 파킨슨병 모델의 실험결과는 SNpr의 평균 발화율이 STN의 병소에 의해 감소된다는 이론을 확인시켜 주었다.

발화양상에 관해서는, 파킨슨병 모델에서 6-OHDA를 주입한 같은 쪽 SNpr에서 돌발성 신경세포의 비율이 본 연구에서와 비슷한 정도로 증가된다는 연구결과들이 보고되어왔다^{30,43)}. 흰쥐 파킨슨병 모델에서, 발화양상이 다른 신경세포가 존재하긴 하지만, SNpr의 발화율이 증가되어 있고, STN의 병소가 SNpr의 이러한 평균 발화율과 돌발성 신경세포의 비율을 감소시키는 것으로 관찰되었다. 그러나 흰쥐 파킨슨병 모델에서 담창구의 병소가 STN의 기본 발화율(basal firing rate)을 크게 증가시키는데 불구하고⁴²⁾, STN 신경세포의 기본 발화율(basal firing rate)이 실질적으로는 정상 흰쥐와 크게 다르지 않다는 보고도 있다²²⁾. 이 경우 모두에서, 정상 흰쥐와 비교했을 때, 신경세포의 돌발성 양상의 빈도는 증가되었다. 본 연구의 결과는 쥐와 원숭이 모델에서 보고된 바와 같이, STN이 기저핵의 원심성구조물을 흥분시킨다는 견해를 확인시켜 주었다^{20,39)}. 수많은 전기생리학적 연구들이 GP 신경세포의 평균 발화율과 발화양상에 변화가 많다는 사실을 보여주었다^{21,37)}. Ni 등³⁵⁾은 STN의 병소는 정상 흰쥐와 비교할 때, 돌발성 발화 신경세포들을 사라지게 하고, 기존에 SNpc에 병소를 만든 흰쥐에서 발화양상을 정상으로 만든다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 SNpc에 병소를 만든 쥐에서 발화양상에는 큰 변화를 관찰할 수 없었다. STN과 SNpc에 모두 병소를 만든 그룹에서는, STN의 병소가 파

킨슨병 모델과 비교해서 돌발성 발화 신경세포를 약간 증가시키는 것으로 보였다.

STN은 감각 운동 피질 중추로부터 주된 피질 구심성 신호를 받으며, 기저핵의 원심성 구조물들에 대한 피질정보의 선택성을 증가시킨다⁴²⁾. 피질 부위는 긴장성, 특히 위상성(phasic) 활성을 만들기 때문에, 이런 STN의 역할은 마취를 하지 않은 동물이 정상적인 운동을 할 때에 더욱 뚜렷해지는 경향이 있다. 저자는 본 실험을 urethane으로 마취한 쥐에서 시행하였다. 과거에, urethane으로 전신마취를 하는 것은 동물의 발화율에 영향을 미칠 수 있기 때문에, 근차단체를 이용한 국소마취를 해야 한다는 보고도 있었다^{27,41)}. 그러나 Hassani와 Feger²¹⁾은 urethane이 6-OHDA로 만든 흰쥐 파킨슨병 모델에서 전기생리학적 반응을 측정하는 경우, STN 신경세포의 자극을 막지 않는다 하였고, 그 외에도 본 연구에서처럼 urethane이나 chloral hydrate를 이용하여 전신마취를 한 많은 연구 결과들이 보고되었다^{31,35,44)}.

발화양상의 변화에 대한 기전은 “in vitro” 도파민성 세포에서 글루타메이트가 돌발성 신호를 만드는 것과 비슷한 것으로 생각된다^{11,19)}. 본 연구에서는, 정상 흰쥐에서 이미 보고된 바와 같이 STN에 병소를 만든 후, SNpr 신경세포 극파간격이 규칙적으로 되고, 규칙적인 발화양상이 증가되는 것을 관찰할 수 있었다⁴²⁾. 흰쥐 파킨슨병 모델에서도 마찬가지로, STN에 병소를 만들면 SNpr의 발화양상이 규칙적으로 된다⁴²⁾. 이들은 STN 병소에 의해 간접 경로가 차단되어 정상 쥐와, 특히, 파킨슨병 모델 쥐에서 SNpr 신경세포의 발화양상이 규칙적으로 된다고 하였다.

결론

본 연구에서 흰쥐 파킨슨병 모델에서 kainic acid로 STN에 병소를 만드는 것이 자발적 또는 약물로 유도한 행동장애를 호전시켰으며, 이러한 결과는 진행된 파킨슨병 환자에서 현재 시행되고 있는 시상밑핵 자극술의 치료효과를 뒷받침하는 결과이다. 또한, STN에 병소를 만든 경우 SNpr과 GP의 신경활성도가 변화하는 것으로 보아, 이러한 뇌심부핵이 행동장애의 호전에 관여하리라 생각된다. 그러나 SNpr과 GP의 돌발성 양상의 발화의 중요성은 아직 밝혀지지 않았으며, 파킨슨병의 병태생리학적 기전을 정확히 설명하기 위해서는 향후 추가연구가 필요하다.

References

1. Albin RL, Young AB, Penney JB : The functional anatomy of basal ganglia disorders. **Trends Neurosci** 12 : 366-375, 1989
2. Alexander GE, Crutcher MD, DeLong MR : Basal ganglia thalamocortical circuits : parallel substrates or motor, oculomotor, 'prefrontal' and 'limbic' functions. **Prog Brain Res** 85 : 119-146, 1990

3. Anderson JJ, Thomas NC, Engber TM : Differential effect of subthalamic nucleus ablation on dopamine D1 and D2 agonist-induced rotation in 6-hydroxydopamine-lesioned rats. **Brain Res** **588** : 307-310, 1992
4. Aziz TZ, Peggs D, Sambrook MA, Crossman AR : Lesion of the subthalamic nucleus for the alleviation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced Parkinsonism in the primate. **Mov Disord** **6** : 288-292, 1991
5. Baunez C, Amalric M : Evidence for functional differences between entopeduncular nucleus and substantia nigra: effects of APV(DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid) microinfusion on reaction time performance in the rat. **Eur J Neurosci** **8** : 1972-1982, 1996
6. Benabid AL, Koudsie A, Benazzouz A, Vercueil L, Fraix V, Chabardes S, et al : Deep brain stimulation of the corpus luyisi(subthalamic nucleus) and other targets in Parkinson's disease. Extension to new indications such as dystonia and epilepsy. **J Neurol** **248(Suppl 3)** : III37-III47, 2001
7. Benazzouz A, Gao DM, Ni ZG, Piallat B, Bouali-Benazzouz R, Benabid AL : Effect of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on the neuronal activities of the substantia nigra pars reticulata and ventrolateral nucleus of the thalamus in the rat. **Neuroscience** **99** : 289-295, 2000
8. Benazzouz A, Gross C, Geger J, Boraud T, Bioulac B : Reversal of rigidity and improvement in motor performance by subthalamic high-frequency stimulation in MPTP-treated monkeys. **Eur J Neurosci** **5** : 382-389, 1993
9. Bergman H, Wichmann T, DeLong MR : Reversal of experimental Parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. **Science** **49** : 1436-1438, 1990
10. Bruet N, Windels F, Bertrand A, Feurstein C, Poupard A, Savasta M : High frequency stimulation of the subthalamic nucleus increases the extracellular contents of striatal dopamine in normal and partially dopaminergic denervated rats. **J Neuropath Exp Neurol** **60** : 15-24, 2001
11. Bunney BS, Chiodo LA, Grace A : Midbrain dopamine system. Electrophysiological functioning : a review and new hypothesis. **Synapse** **9** : 79-94, 1991
12. Burbaud P, Gross C, Benazzouz A, Coussemaeq M, Bioulac B : Reduction of apomorphine-induced rotational behaviour by subthalamic lesion in 6-OHDA lesioned rats is associated with a normalization of firing rate and discharge pattern of pars reticulata neurons. **Exp Brain Res** **105** : 48-58, 1995
13. Chang JW, Lee BW, Lee MS, Chang JH, Park YG, Chung SS : Microelectrode recording-guided deep brain stimulation in patients with movement disorders(the first trial in Korea) in Lultas-Ilinsky K, Ilinsky IA(eds) : **Basal ganglia and thalamus in health and movement disorders**. New York : Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2001, pp341-347
14. Chang JW, Wachtel SR, Young D, Kang UJ : Biochemical and anatomical characterization of forepaw adjusting steps in rat models of Parkinson's disease : studies on medial forebrain bundle and striatal lesions. **Neuroscience** **88** : 617-628, 1999
15. Delfs JM, Ciaramitaro VM, Parry TJ, Chesselet MF : Subthalamic nucleus lesions : widespread effects on changes in gene expression induced by nigrostriatal dopamine depletion in rat. **J Neurosci** **15** : 6562-6575, 1995
16. DeLong MR : Primate model of movement disorders of basal ganglia origin. **Trends Neurosci** **13** : 281-285, 1990
17. Di Chiara G, Morelli M, Porcedu ML, Gessa GL : Evidence that nigral GABA mediates behavioral responses elicited by striatal receptors stimulation. **Life Sci** **23** : 2045-2051, 1978
18. Fletcher GH, Starr MS : Role of the substantia nigra in the expression of dopamine D1 receptor-mediated and D2 receptor-mediated behaviours. **Neuroscience** **23** : 1001-1010, 1987
19. Grace AA, Bunney BS : The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: bursting firing. **J Neurosci** **4** : 2866-2876, 1984
20. Hamada I, DeLong MR : Excitotoxic acid lesions of the primate subthalamic nucleus result in transient dyskinesias of the contralateral limbs. **J Neurophysiol** **68** : 1850-1858, 1992
21. Hassani OK, Mouroux M, Feger J : Increased subthalamic neuronal activity after nigral dopaminergic lesion independent of disinhibition via the globus pallidus. **Neuroscience** **72** : 105-115, 1996
22. Hollerman JR, Grace AA : Subthalamic nucleus firing in the 6-OHDA treated rat: basal activity and responses to haloperidol. **Brain Res** **590** : 291-299, 1992
23. Hutchinson WD, Allan RJ, Opitz H, Levy R, Dostrovsky JO, Lang AE, et al : Neurophysiological identification of the subthalamic nucleus in surgery for Parkinson's disease. **Ann Neurol** **44** : 622-628, 1998
24. Hutchinson WD, Levy R, Dostrovsky JO, Lozano AM, Lang AE : Effects of apomorphine on globus pallidus neurons in parkinsonian patients. **Ann Neurol** **42** : 767-775, 1997
25. Jackson A, Crossman AR : Basal ganglia and other afferent projections to the peribrachial region in the rat : a study using retrograde and anterograde transport of horseradish peroxidase. **Neuroscience** **6** : 1537-1549, 1981
26. Kim SH, Chang JH, Chang JW, Park YG, Chung SS : Microelectrode recording-guided deep brain stimulation in patients with movement disorders. **J Korean Neurosurg Soc** **31** : 11-15, 2002
27. Kreiss DS, Mastropietro CW, Rawji SS, Walters JR : The response of subthalamic nucleus neurons to dopamine receptor stimulation in a rodent model of Parkinson's disease. **J Neurosci** **17** : 6807-6819, 1997
28. Kumar R, Lozano AM, Kim YJ, Hutchison WD, Sime E, Hallett E, et al : Double-blind evaluation of subthalamic nucleus deep brain stimulation in advanced Parkinson's disease. **Neurology** **51** : 850-855, 1998
29. Limousin P, Krack P, Pollak P, Benazzouz A, Ardouin C, Hoffmann D, et al : Electrical stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. **New Eng J Med** **339** : 1105-1111, 1998
30. MacLeod NK, Ryman A, Arbuthnott GW : Electrophysiological properties of nigrothalamic neurons after 6-hydroxytryptamine lesions in the rat. **Neuroscience** **38** : 447-456, 1990
31. Meissner W, Reum T, Paul G, Harnack D, Sohr R, Morgenstern R, et al : Striatal dopaminergic metabolism is increased by deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in 6-hydroxydopamine lesioned rats. **Neurosci Lett** **303** : 165-168, 2001
32. Monakow KH, Akert K, Kunzle H : Projections of precentral and premotor cortex to the red nucleus and other midbrain areas in Macaca fascicularis. **Exp Brain Res** **34** : 91-105, 1979
33. Murer MG, Riquelme LA, Tseng KY, Cristal A, Santos J, Pazo JH : D1-D2 dopamine receptor interaction: an in vivo single unit electrophysiological study. **Neuroreport** **8** : 783-787, 1997
34. Nakao N, Ogura M, Nakai K, Itakura T : Intraatrial mesencephalic grafts affect neuronal activity in basal ganglia nuclei and their target structures in a rat model of Parkinson's disease. **J Neurosci** **18** : 1806-1817, 1998
35. Ni Z, Bouali-Benazzouz R, Gao Dongming, Benabid AL, Benazzouz A : Changes in the firing pattern of globus pallidus neurons after the generation of nigrostriatal pathway are mediated by the subthalamic nucleus in the rat. **Eur J Neurosci** **12** : 4338-4344, 2000
36. Orieux G, Francois C, Feger J, Yelnik J, Vila M, Ruberg M, et al : Metabolic activity of excitatory parafascicular and pedunculopontine inputs to the subthalamic nucleus in a rat model of Parkinson's disease. **Neuroscience** **97** : 79-88, 2000
37. Pan HS, Walters JR : Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway decrease the firing rate and alters the firing pattern of globus pallidus neurons in the rat. **Synapse** **2** : 650-656, 1988
38. Porter RHP, Greene JG, Higgins DS Jr, Greenamyre JT : Polysynaptic regulation of glutamate receptors and mitochondrial enzyme activities in the basal ganglia of rats with unilateral dopamine depletion. **J Neurosci** **14** : 7192-7199, 1994
39. Robledo P, Feger J : Excitatory influence of rat subthalamic nucleus to substantia nigra pars reticulata and the pallidum complex : electrophysiological data. **Brain Res** **518** : 47-54, 1990
40. Rohlfs A, Nikkiah G, Rosenthal C, Rundfeldt C, Brandis A, Samii M, et al : Hemispheric asymmetries in spontaneous firing characteristics of substantia nigra pars reticulata neurons following a unilateral 6-hydroxydopamine lesion of the rat nigrostriatal pathway. **Brain Res**

- 761 : 352-356, 1997
41. Ruskin DN, Bergstrom DA, Mastropietro CW, Twery MJ, Walters JR : Dopamine agonist-mediated rotation in rats with unilateral nigrostriatal lesions is not dependent on net inhibitions of rate in basal ganglia output nuclei. **Neuroscience** **91** : 935-946, 1999
 42. Ryan LJ, Clark KB : Alteration of neuronal responses in the subthalamic nucleus following globus pallidus and neostriatal lesions in rats. **Brain Res Bull** **29** : 319-327, 1992
 43. Sanderson P, Mavoungou R, Albe-Fessard D : Changes in substantia nigra pars reticulata activity following lesions of the substantia nigra pars compacta. **Neurosci Lett** **67** : 25-30, 1986
 44. Tseng KY, Kasanetz F, Kargieman L, Pazo JH, Murer MG, Riquelme LA : Subthalamic nucleus lesions reduce low frequency oscillatory firing of substantia nigra pars reticulata neurons in a rat model of Parkinson's disease. **Brain Res** **904** : 93-103, 2001
 45. Ungerstedt U : Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. **Acta Physiol Scand (Suppl)** **367** : 69-93, 1971