

생애초기 저산소증으로 인한 신경행동기형

연세대학교 원주의과대학 신경파학교실, 의과대학 악리학교실*, 신경파학교실**

이성수·이서울*·감동원*·김진수**·김동구*

Neurobehavioral Teratology Due to Hypoxic Exposure in Newborn Rats

Sung Soo Lee, M.D., Seoul Lee, Ph.D.*[†], Dong Won Kang, M.D.*[†]
Jin Soo Kim, M.D.**[†], Dong Goo Kim, M.D.*[†]

Department of Neurology, Yonsei University Wonju College of Medicine,

Department of Pharmacology[†] and Neurology^{††}, Yonsei University College of Medicine

Background : Neurobehavioral teratology is a term used for the postnatal effects on behavior of prenatal exposure to drug or to specific environment. Perinatal hypoxia is a major risk factor for development of behavioral abnormalities, such as cerebral palsy, mental retardation and learning disability. The objective of this study is to investigate the effects of neonatal hypoxia on long-term changes of behavior and neurochemical system and to learn the role of 5-hydroxytryptamine(5-HT) in hypoxic stress. **Methods :** Sprague-Dawley rats were grouped by hypoxia and/or 5-HT receptor antagonist treatment. Exposure to 100% N₂ gas was done in postnatal day(PND) 2 for 12 minutes. NAN+90 HBr or ketanserin tartrate or both were injected intraperitoneally 30 minutes before exposure to hypoxic environment. Rats were weighed periodically and examined the eye opening. Wire maneuver test was done on PND 22. Between PND 40-55 and PND 63-84, explorative behavior test and Rota-Rod test were done serially. They were sacrificed in PND 100, and aminergic neurotransmitters and their metabolites were measured by High Performance Liquid Chromatography - Electrochemical Detection(HPLC ECD) system. Receptor binding assay was done using 8-OH-DPAT and ketanserin HCl in brain cortex. **Results :** The group treated with 5-HT receptor antagonist and hypoxia showed higher death rate than 5-HT receptor antagonist or hypoxia alone. There were no differences in weight gain, eye opening, and the result of wire maneuver test among each groups. In explorative behavior test, NAN+N₂ group in male and NAN group in female showed markedly increased activities. In Rota-Rod test, NAN and NAN+N₂ groups in both male and female showed decreased motor coordination. There were no differences in the concentration of aminergic neurotransmitters and their metabolites, when measured in PND 100 according to the brain sites. There were no differences in pKd of 5-HT receptors measured on PND 100. But Bmax of 5-HT_{1A} receptor were low in N₂, NAN and NAN+N₂ groups. NAN and NAN+N₂ groups showed elevated Bmax of 5-HT_{2A/2C} receptor. **Conclusion :** Exposure to hypoxia in neonatal period causes long-lasting neurobehavioral changes with neurochemical abnormalities, and 5-HT receptor activity has a role in that mechanism.

J Kor Neurol Ass 1998;2:143 ~ 154

Key Words : Neurobehavioral teratology, Hypoxia, 5-HT_{1A} receptor, 5-HT_{2A/2C} receptor

서 론

일반적으로 기형학(teratology)은 체성기형학(somatic teratology)을 일컬으며 이에 대한 연구가 주종을 이루어 왔다. 그러나 1963년 Werboff 및 Gottlieb¹는 암울의 출생전 노출로 인한 출생후 행동이상을 설명하여 행동기형(behavioral teratology)이란 용어를 도입하였다. 최근

에는 암울뿐만 아니라 어떠한 물질로도 출생전 노출로 인하여 출생후 기형이 야기된다면 행동기형이란 용어를 사용하고 있다.² 또한 화학물질과 아울러 발생시기의 개체가 경험하는 특수환경상태도 개체의 뇌기능을 비정상적으로 고정하여 출생후 행동이상이 나타날 수 있으므로 이 경우 역시 행동기형이란 용어가 사용될 수 있다고 하겠다. 현재의 지식으로 행동기형이 나타나는 원인은 가시적 보존성이 없다고 하더라도 뇌기능의 범동에 기인함이 일반적으로 받아들여지고 있다.

출생전의 어떠한 사건으로 인한 출생후 행동이상이 따른 시일 내에 고정된다면 별 문제가 없겠으나, 출생 전후의 뇌는 빠르게 발달하는 과정중에 있으므로 이 때의 자극으로

*경주·승인 날짜 : 1997년 11월 4일 · 1998년 4월 2일)

**접수번호 : 97-141

*교신저자 : 이 성 수(Sung-Soo, Lee M.D.)

강원도 원주시 일산동 162

연세대학교 원주기독병원 신경과

전화 : (0371) 741-0521 Fax : (0371) 741-1358

방미암은 비정상적인 뇌기능은 영구히 고정되어 평생 지속될 가능성이 높다.¹³

출산전과 후의 저산소증은 발생장애의 가장 큰 위험인자로 각각 24%와 23%, 또는 30%와 24%로 보고되어 있다.¹⁴ 그리고 또 다른 위험인자인 조산의 경우, 조산 자체가 문제가 아니라 조산으로 인한 이차적 뇌기능 손상이 실제로 문제가 된다. 조산으로 인한 이차적 뇌기능 손상의 중요한 원인으로서 신생아의 호흡관통으로 인한 저산소증이 중요하므로 발생장애의 원인으로 저산소증의 빈도가 더욱 높을 것으로 추측된다. 출산전후 저산소증 노출로 인한 병리적 소견을 발견할 수 있는 경우 그 소견으로는 선택적 신경세포 괴사(selective neuronal necrosis), 거저질파 시상의 대리석화(status marmoratus of basal ganglia and thalamus), 뇌실 주위의 배질연화증(periventricular leukomalacia) 및 국소성 혀혈성 뇌괴사(focal ischemic brain necrosis) 등이 알려져 있다.¹⁵ 그리고 실험동물에서 출산전후 저산소증을 유발한 경우에는 질식 상태의 유발방법에 따라 서로 다른 병리소견을 보인다. 즉 원전질식(total asphyxia)에서는 뇌간에 병변을 보이거나, 아무런 가시적 병변을 보이지 않았다고 하며, 부분적이고 지속적인 질식(partial prolonged asphyxia)에서는 대뇌반구에 병변을 보인다고 한다.¹⁶ 생체내 동물실험을 시행하여 출산전후 저산소증을 유발한 연구에서는 주로 선조체와 소뇌에서 병변을 발견할 수 있다고 했으며,¹⁷ 선조체의 dopaminergic system에 이상이 발견되었고 보고되어 있거나¹⁸ 그의 acetylcholine(ACh)의 합성 및 시나스 유리를 억제하거나¹⁹ 저산소증 유발시 tryptophan hydroxylase의 활성을 감소시켜 5-hydroxytryptamine(5-HT)의 감소를 일으키거나 저산소증 말기에 혈액의 세판류시 효소의 활성 및 5-HT의 함량이 다시 증가된다고 보고되어 있다.²⁰ 그러나 이러한 실험들은 asphyxia 유발직후에 검색한 것으로 영구히 가능장애를 보이는 실제상황과는 다르다고 생각된다. 뇌기능의 장애가 발생하면 뇌는 이를 보상하기 위하여 여러 기전이 반동되게 때문이다.

사람에서 뇌성마비의 원인으로 여러 요인을 짊 수 수 있으나 미숙분만(premature delivery)이 약 40%로서 가장 많이 동반되며 그 다음으로 되는 역학적 요인으로 출산 전후의 저산소증 노출이 25%에 해당한다.²¹ 따라서 이는 한 요인이 뇌성마비를 유발한다고 생각하기는 힘들고 어떠한 원인으로 미숙, 또는 미숙분만되는 경우 저산소증이 동반되면 저산소증에 특히 민감하여 뇌기능 장애가 발생된다고 생각된다. 따라서 동물모델도 저산소증 노출 뿐만 아니라 저산소증에 특히 민감하여지는 어떠한 선형조건이 이루어져야 하는데, 본 연구는 다음의 이론적 근거에 의거하여 5-HT 활성에 초점을 맞추었다. 첫째로 5-HT는 뇌의 모든 부위에 존재하여 그 역할을 나타낸다. 이러한 5-HT의 분포는 특이작용이 없다는 점이 있으나 뇌 전체의 기능을 향진 또는 억압하고 조화된 기능(harmonic function)을 수행하는 데 필수적이다. 둘째로 5-HT는 뇌의 모

든 부위에 존재하는 다른 종류의 아민인 norepinephrine이나 dopamine보다 정상 생리상태에서 훨씬 약한 활성도를 보인다.²² 이는 정상 생리상태 보다 개체가 환경변화에 적응할 때에 무리 없이 적응을 가능하게 하는 역할을 5-HT가 감당할 가능성이 높음을 나타낸다.셋째로 5-HT는 최근 그 수용체가 14종 이상 발견되어 있고 그 중 생리작용에 중요하게 인정되는 것이 5-HT_{1A}와 5-HT_{2A/2C}수용체이다. 두 종류의 수용체 모두 신호변환기전에서 G단백을 경유하나 5-HT_{1A}수용체는 cAMP을, 5-HT_{2A/2C}수용체는 phosphoinositide의 가수분해산물을 이용한다.²³ 특이한 점은 이 두 수용체가 활성화되었을 때 서로 반대되는 작용을 하는 경우가 많다는 것이다. 따라서 이 두 수용체의 균형이 최종 기능을 결정할 가능성이 높다고 생각된다. 본 연구에서는 5-HT_{1A} 수용체와 5-HT_{2A/2C} 수용체의 활성도를 각각 또는 동시에 억압하여 저산소증에 노출시키고 출산후 이러한 경험을 겪은 동물이 성장하면서 나타내는 행동변이와 잔존하는 신경화학적 변동을 관찰하였다.

출산전후 저산소증의 예방으로는 출생전 태아감시체계 확립과 조기 재생절개수술 실시 등의 엄상적 방법이 시도되고 있고 발생시 치료로는 적절한 호흡, 혈당유지 및 뇌부종에 대한 치료 등의 대중요법만이 실시되고 있는 형편이다. 그 외 실험동물에서 저산소증에 의한 뇌병변에 대한 치료로 barbiturate,²⁴ 아편계 수용체 길항제,²⁵ 칼슘통로봉쇄제,²⁶ prostaglandin과 indomethacin,²⁷ phenytoin,²⁸ glutamate 수용체 길항제²⁹⁻³⁵ 및 5-HT수용체 효험제³⁶⁻³⁹ 등이 시도되었다. 그러나 이러한 약물은 저산소증 노출전 혹은 직후에 투여해야 효과가 있으므로 실제로 사용하는 데에는 제약이 있다. 현재 발생시의 뇌손상이 뇌성마비, 정신박약 및 학습장애의 원인임은 알려져 있으나 이를 치료하는 치료를 위해 뇌를 대상으로 하는 방법은 알려진 바 없는 형편이다. 그러므로 저산소증을 이용한 동물모델을 확립하고 이에 의한 지속되는 신경화학적 변동을 검색함은 이를 질병에 대한 치료방법 개발이라는 측면에서 필수적인 연구라 하겠다.

따라서 본 연구는 발생시 저산소증이 성장후의 행동 및 신경화학계에 미치는 영향을 검색하여 생애초기의 극심한 환경변동으로 인한 뇌기능의 변동 및 이의 지속에 관한 지식을 습득하고자 하였고 또한 저산소 스트레스에 대한 뇌 5-HT의 역할을 알아보기로 하였다. 이 연구로써 생애 초기 저산소증 노출로 인한 행동장애를 신경화학적 변동과 연결시켜 발생장애의 치료방법 개발에 기초를 제공하고자 하였다. 이를 위해 연구자는 발생기간중 저산소증 노출로 인한 행동기형을 성장한 후에 검색하였고, 동시에 뇌 신경전달물질의 활성 빈도를 뇌부위별로 측정하고 뇌 5-HT수용체 경계를 통하여 신경화학적 변동을 행동기형과 연관시키고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험군

실험동물은 임신경험이 없는 Sprague-Dawley계통의 렛트를 이용하였다. 사육실은 평균온도 $21\pm1^{\circ}\text{C}$ 로 유지시켰으며, 07:00부터 19:00까지 12시간 간격으로 명암이 조절되고, 물과 사료(상양식품, 서울, 한국)의 섭취는 제한하지 않았다. 구입한 실험동물은 암수를 구분하여 1주일 동안 사육실 환경에 적응시켰다.

실험실 환경에 적응된 렛트는 암컷 4마리와 수컷 1마리씩 같은 장안에 넣고 교미를 유도하였다. 수태시간을 추정하기 위하여 렛트의 활동시간인 야간시간(19:00부터 07:00까지)에 교미가 이루어 질 수 있도록 수컷은 야간시간에 암컷과 같은 장에 넣고, 다음날 오전 빛이 끝날 때 수컷을 다시 끼내어 낮시간 동안은 교미가 이루어지지 않도록 하였다.

교미를 유도한 다음날 오전 9시에 암컷 렛트는 절도관검사를 시행하여 광학현미경 아래에서 정중이 확인되면 임신한 것으로 판단하여 임신일 0으로 정하였다. 임신한 암컷 렛트는 교미장에서 격리시켰으며 한 장에 다섯마리가 초과되지 않도록 하였다.

임신 15일째부터는 한 개의 사육장에 한 마리씩 분리 사육시켰으며 출신은 21일 경에 있었다. 한 마리의 어미에서 태어난 새끼는 어미의 양육영향을 균등화하기 위하여 암수 5:5의 성비율로 생후 24시간 후 선택하여 10마리씩 사육하였다.

생후 2일된 Sprague-Dawley 렛트를 5-HT_{1A}수용체 봉쇄제와 5-HT_{2A/2C}수용체 봉쇄제를 투여하고 100% N₂ 가스에 노출시켜 저산소증을 유발하고 계속 사육하면서 이들의 행동을 관찰하였다. 실험군은 다음과 같이 나누었다.

1. NH(Not Handled) : 어미전에서 떠나지 않은 군
2. H(Handled) : 모든 실험을 동일하게 시행하나 아무 처치도 받지 않은 군
3. N2 : 100% N₂ 가스에 노출시켜 저산소증을 유발한 군
4. NAN : NAN-190 HBr(5-HT_{1A}수용체 봉쇄제) 처리군
5. NAN+N₂ : NAN-190 HBr 전처치후 저산소증 유발군
6. K : Ketanserin tartrate(5-HT_{2A/2C}수용체 봉쇄제) 처리군
7. K+N₂ : Ketanserin tartrate 전처치후 저산소증 유발군
8. NAN+K : NAN-190 HBr과 ketanserin tartrate 동시 처리군
9. NAN+K+N₂ : NAN-190 HBr과 ketanserin tartrate 동시에 처리후 저산소증 유발군

이유(離乳)는 출생 후 3주에 하였으며, 출생 후 4주에 암수를 구별하여 하나의 사육장에 5마리씩 사육하였으며, 사육환경은 일정하게 유지시켰다.

실험동물은 일정기간마다 체중을 측정하였다. 저산소증 유발 후 생후 2일과 생후 7일에 사망율을 누적 측정하였고 생후 12-15일에 개안율을 검사하였다. 생후 22일에 wire maneuver 검사를 시행하였으며 생후 40-55일과 생후 63-84일에 탐색활동 검색과 Rota-Rod test를 시행하였다. 행동검색이 끝난 실험동물을 생후 100일에 희생시켜서 대뇌피질에서 5-HT_{1A}와 5-HT_{2A/2C}수용체 결합시험을 시행하고 뇌부위변로 아민성 신경전달물질과 그 대사산물의 혈량을 측정하였다.

2. 저산소증 유발

생후 2일된 새끼를 37°C 로 유지되는 364cm plexy glass 상자에 넣어서 100% N₂ 가스환경에 노출시켰으며 N₂ 가스의 유입, 배출속도는 2 l/min이었고, 12분간 노출시켰다. 저산소증 유발 30분전에 실험군에 따라서 2.0 mg/kg NAN-190 HBr(RBI, Natick, MA, USA)과 2.0 mg/kg ketanserin tartrate(RBI, Natick, MA, USA)를 복강으로 주사하였다.

3. Wire maneuver test

생후 22일 되었을 때 렛트의 꼬리를 잡고 렛트가 앞발로 54cm 높이에 47cm 길이의 철사줄을 잡게한 후 렛트의 몸이 바닥과 수평이 되도록 유지한 상태에서 꼬리를 놓았다. 그 후 철사줄에 매달려 있는 시간을 측정하였다.

4. 탐색활동(explorative behavior) 검색

생후 40-55일에 새로운 환경에 노출되었을 때 개체가 취하는 탐색활동을 검색하였다. 50×50×30cm의 아크릴 상자에 처음으로 노출시키고 주위에 설치되어 있는 적외선 측정장치로 움직임을 검색하였다(Activity meter, Med Associates, St. Albans, VT, USA), 관찰시간은 30분이었으며 매 3분 간격으로 ambulatory activity를 분석하였다.

5. Rota-Rod test

운동조정기능(motor coordination)을 검색하는 Rota-Rod test는 지름 15cm인 rotation rod 위에 렛트를 놓고 30초까지는 1.5 rpm으로, 30초 이후에는 4.5 rpm으로 회전시켜서 rod에서 떨어질 때까지의 시간을 측정하였다. 속도조절기로는 Panasonic Speed Controller(Panasonic Co., Tokyo, Japan)를 사용하였다.

6. 아민성 신경전달물질 혈량 측정

실험동물을 단두하여 적출한 뇌를 염유으로 냉각된 유리관 위에서 Glowinski 및 Iversen(1966)²⁹의 방법을 변형하여 전두피질(frontal cortex), 선조체(corpus striatum), 해마(hippocampus), 시상(thalamus), 시상하부-편도체-충격-시신경교차 연결부위(hypothalamo-

amygdalar-septal-preoptic area), 뇌간(brain stem), 소뇌(cerebellum)를 분리해 축출하였다. 부위별 뇌조직을 냉동시료병(cryovial)에 넣고 액체질소를 이용하여 급속하게 냉동시켜 보관하였다. 축출한 뇌조직은 아린 측정을 위해 Wagner²⁹의 방법을 변형하여 처리한 후 액체크로마토그래피-전기화학적 검출 시스템(High Performance Liquid Chromatography-Electro Chemical Detection(HPLC-ECD) System)을 이용하여 측정하였다. 즉, 뇌조직을 조직무게당 20mg이상의 0.1M perchloric acid (0.25% disodium EDTA 함유)를 가하여 균질화한 후 15분 동안 엔유 속에서 냉각 방치한 후 12,500g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상층액을 여과한 후 여과액중 20μl를 HPLC-ECD system에 주입하여 norepinephrine, dopamine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid(DOPAC), 5-HT(serotonin), 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA) 및 homovanillic acid(HVA)를 분리검출하였고, 각 물질의 검출면적(peak area; μV×sec)을 얻은 후 이를 다시 외부표준화법(external standardization)을 이용하여 함량으로 환산하였다.

High Performance Liquid Chromatography(Waters Instruments, Model 700, Milford, MA, USA)를 사용하였으며, Column은 Biophase ODS 5 μ (250×4.5mm, Bioanalytical System Inc., West Lafayette, IN, USA)를 사용하였다.

이동상(mobile phase)으로는 8% acetonitrile, 92% 0.15M monochloroacetic acid buffer(0.55mM sodium octyl sulfonate, 2mM disodium EDTA 함유, pH 3.35)를 사용하였으며, 원충용액의 유입속도는 1.0ml/min를 유지하였다. 검출기로서 Coulochem II Electrochemical Detector(ESA Inc., Chelmsford, MA, USA)를 사용하였으며 Guard cell 320mV, Electrode cell 240mV, sensitivity 200mA에서 측정하였다.

7. 5-HT_{1A}수용체의 뇌조직내 밀도 및 친화도 측정

5-HT_{1A}수용체에 선택적인 결합물질인 [³H]8-OH-DPAT(Amersham, Buckinghamshire, UK)를 이용하여 실험동물의 축출한 뇌부위 중 대뇌피질에 대한 수용체 결합실험(receptor binding assay)을 시행하였다. 먼저 축출한 뇌조직을 차가운 0.25M sucrose용액에 넣고 cell disrupter(Ika Labortechnik, Dreieich, Germany)로 (13,500rpm, 10초) 균질화시킨 후 500-900g로 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이를 다시 40,000g에서 15분간 원심분리하여 얻은 침전물을 10배의 차가운 50 mM Tris HCl용액(pH 7.6)으로 부유시켜 37°C에서 20분간 incubation시킨 후 다시 40,000g로 15분간 원심분리하였다. 이 침전물을 20mM의 50mM Tris HCl용액(pH 7.6)으로 부유하여 최종적으로 membrane preparation을 만들어 결합실험 세포 균질액으로 이용하였다.

수용체 결합실험은 여러 농도(최종농도 0.125-12nM)

의 [³H]8-OH-DPAT 50μM와 450μM의 세포균질액 및 50μM의 10μM 5-HT HCl(비특이결합) 또는 50 μM Tris HCl(pH 7.6) 원충액(총결합)의 0.5ml 배양액으로 37°C에서 15분간 반응시킴으로써 행하였다. 다음 이 배양액을 Brandel cell harvester(Biomedical Research & Developmental Laboratories, Baltimore, MD, USA)를 이용하여 Whatman GF/B filter에 통과시켜 조직세포를 포집한 후 이를 6ml의 scintillation cocktail에 옮겨 liquid scintillation counter(Beckman, Palo Alto, CA, USA)로 세포에 결합한 [³H]8-OH-DPAT의 방사능을 측정하였다.

특이성 결합은 총결합에서 비특이 결합을 뺀 값으로 계산하였으며 이 값으로 [³H]8-OH-DPAT와 5-HT_{1A}수용체에 대한 Bmax와 Kd를 Scatchard plot을 이용하여 계산하였다.

8. 5-HT_{2A/2C}수용체의 뇌조직내 밀도 및 친화도 측정

5-HT_{2A/2C}수용체에 특이적으로 결합하는 물질로서 [³H]Ketanserin HCl(NEN, Boston, MA, USA)을 최종농도 0.0625-5nM의 여러 농도로 하여 반응시켰으며 비특이결합 측정을 위한 경쟁물질로서는 120μM methysergide를 투여하였다. 그 외의 방법은 5-HT_{1A}수용체 결합실험과 동일하게 시행하였다.

9. 통계처리

실험성적의 특성에 따라 적절한 통계처리를 시행하였다. 즉 체증증가는 분산분석을, 사망률과 생존률은 contingency table analysis, wire maneuver 결과성적은 비모수분석의 Kruskal-Wallis 검사를, 그리고 탐색활동 검색과 Rota-Rod test 및 5-HT수용체 친화도 및 밀도 검사에서는 분산분석에 이어 각 군간의 계획된 비교를 Scheffe's test로 분석하였다.

결 과

1. 생애초기 저산소증 유발 시기에 따른 호흡수 변동

사람과 실험용 뱃드는 발생과정이 일치하지 않기 때문에 사람에서 출생시 저산소증 노출과 유사한 모델을 선택하기 위하여 생후 1일, 2일과 3일 뒤 뱃드를 5% 산소환경에 노출시켜 저산소증에 대처하는 심폐보상작용을 호흡수를 관찰함으로써 검색하였다. 저산소증 유발전과 후 대 10분 간격으로 호흡수를 측정한 바 생후 1, 2일에는 저산소증 유발직전의 호흡수가 각각 79.6±3.0회/min, 87.3±3.9회/min이었는데 저산소증 유발 10분에는 각각 87.8±3.4회/min, 97.1±2.8회/min으로 증가되었다. 그러나 이후 호흡수는 점차로 감소하여 30분 이후에는 18회 이하로 유지되다가 저산소증 유발 50분경 사망에 이르렀다. 이와는 달리 생후 3일에는 저산소증 유발 이후 호흡수가 증가하여 저산소증 유발 50분 이후에 사망하기 직전까지 유지되었다(Fig. 1).

이러한 결과는 생후 2일 이후부터 저산소증에 대한 심폐보상기능이 활발히 나타남을 시사한다. 따라서 본 연구에서는 저산소증 유발 시점을 생후 2일로 선택하여 이후 실험을 진행하였다.

2. 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제가 사망률에 미치는 영향

사망률은 생후 2일에 환경 자극을 시행하고 24시간까지와 환경 자극 시행부터 7일까지로 나누어 검색하였다. 환경자극 후 24시간에 측정한 사망률은 저산소증만 유발한 군에서는 19.0%의 사망률을 보였고 NAN-190 HBr 투여군에서는 12.0%, ketanserin 투여군에서는 9.5%, NAN-190 HBr과 ketanserin을 동시에 투여한 군에서는

5.6%였다. 5-HT수용체 봉쇄제를 투여한 상태에서 저산소증을 유발한 경우에는 사망률이 단독 경향대보다 2배 이상 현저하게 증가하여 NAN-190 HBr의 경우에는 27.3%, ketanserin은 30%였고 NAN-190 HBr과 ketanserin을 동시에 투여하고 저산소증을 유발하였던 군은 사망률이 53.9%나 되었다. 환경 노출 이후 7일까지의 사망률은 환경 노출 24시간 이내보다 약간 증가하였으나 전반적으로 비슷한 경향을 보았다(Table 1).

이 결과로서 저산소증을 유발하는 경우 단독 노출보다는 5-HT수용체가 봉쇄되었을 경우 신체적 변동이 극심함을 알 수 있었다. 특히 5-HT_{1A}와 5-HT_{2A/C}수용체 모두가 봉쇄되었을 경우에 50% 이상이 사망하여 이후의 연구에서는 NAN+K와 NAN+K+N₂군의 성적은 제외하였다.

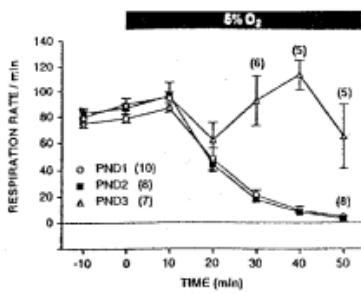


Figure 1. 생애 초기 저산소증 유발 시기에 따른 호흡수 변동. 그림의 값은 생후 1일, 2일 또는 3일에 저산소증 전과 후에 10분간으로 호흡수를 측정하여 평균±표준오차로 표시하였다. ()안의 숫자는 실험동물수를 나타낸 것임. 생후 1일 및 2일과는 달리 생후 3일부터는 저산소증 유발시 호흡수가 증가하여 노출 50분 이후부터 사망할 때까지 유지되었다.

Table 1. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄제 투여 후 24시간 이내와 생후 7일까지의 사망률

군	24시간내		생후 7일까지	
	수컷	암컷	수컷	암컷
NH	0.0(0/12)	0.0(0/15)	8.3(1/12)	13.3(2/15)
H	0.0(0/8)	8.3(1/12)	0.0(0/8)	8.3(1/12)
N ₂	20.2(2/10)	18.2(2/11)	30.3(3/10)	27.3(3/11)
NAN	9.1(1/1)	14.3(2/14)	18.2(2/11)	14.3(2/14)
NAN+N ₂	18.2(2/11)	36.4(4/11)	36.4(4/11)	45.5(5/11)
K	10.1(1/10)	9.1(1/11)	30.0(3/10)	18.8(2/11)
K+N ₂	10.0(1/10)	50.0(5/10)**	20.0(2/10)	50.0(5/10)
NAN+K	9.1(1/1)	0.0(0/7)	18.2(2/11)	0.0(0/7)
NAN+K+N ₂	30.8(4/13)	76.9(10/13)*	46.2(6/13)	84.6(11/13)*

1. 단위는 백분율이고 ()안의 실험동물중 사망한 수임.
2. 저산소증 유발은 12분간 100% N₂ 가스에 노출시켰으며 5-HT 수용체 봉쇄제를 노출 30분전에 2mg/kg로 복강내 주사하였음.
3. **: p<0.01, K군과 비교, *: p<0.01, NAN+K군과 비교 (contingency table analysis)

Table 2. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄제 투여후 생후 14일까지의 체중증가

성별	군	생후 1일	생후 2일	생후 3일	생후 7일	생후 14일
수컷	NH	7.0±0.2(12)	8.2±0.3(12)	9.4±0.5(12)	14.8±0.8(11)	25.1±1.9(10)
	H	7.0±0.2(8)	8.0±0.3(8)	9.6±0.4(8)	15.8±0.4(8)	26.4±1.5(8)
	N ₂	7.2±0.3(10)	8.1±0.4(10)	9.4±0.7(8)	16.6±0.9(7)	26.7±2.0(7)
	NAN	7.5±0.4(11)	8.8±0.5(11)	10.6±0.7(10)	17.1±0.8(9)	27.1±1.6(9)
	NAN+N ₂	7.5±0.4(11)	8.6±0.5(11)	10.5±0.6(9)	16.3±1.0(7)	29.1±1.3(7)
	K	7.8±0.4(10)	9.0±0.5(10)	10.7±0.6(9)	17.2±1.1(7)	29.3±2.3(7)
	K+K ₂	7.9±0.3(10)	9.1±0.4(10)	10.4±0.5(9)	16.6±1.0(8)	25.8±2.4(7)
	암컷	NH	7.2±0.9(15)	8.3±0.3(15)	10.0±0.4(15)	17.8±0.4(13)
H		7.2±0.8(12)	8.5±0.3(12)	9.8±0.4(12)	16.4±0.6(11)	27.6±1.4(11)
N ₂		7.3±0.9(11)	8.4±0.3(12)	9.3±0.5(9)	15.4±0.8(8)	24.1±1.5(8)
NAN		7.0±0.3(14)	8.1±0.4(14)	9.3±0.6(12)	15.5±1.0(12)	25.5±2.3(11)
NAN+N ₂		7.2±0.9(11)	8.2±0.3(11)	9.3±0.4(7)	14.7±1.0(6)	27.7±2.7(6)
K		6.9±0.3(11)	8.0±0.4(11)	9.3±0.5(10)	15.9±0.8(9)	28.1±1.6(8)
K+N ₂		7.3±0.4(10)	8.3±0.5(10)	10.2±1.0(5)	17.6±1.1(5)	31.0±0.6(5)

1. 값은 평균±표준오차이며, 단위는 g이고, ()안의 숫자는 실험동물의 수임.

2. 저산소증 유발은 12분간 100% N₂ 가스에 노출시켰으며 5-HT수용체 봉쇄제를 노출 30분 전에 2mg/kg로 복강내 주사하였음.

3. 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제가 체중증가에 미치는 영향

생후 2일에 저산소증을 유발하였던 군(N₂), NAN-190 HBr(NAN) 또는 ketanserin(K) 투여군, NAN-190 HBr 또는 ketanserin 전처치후 저산소증 유발군(NAN+N₂, K+N₂)은 실험에는 참여했으나 저산소증 유발 또는 약물투여를 받지 않은 군(H)은 모두 어미곁에서 떠나지 않았던 군(NH)과 몸무게 증가에 있어서 차이를 보이지 않았다(Table 2).

이러한 결과로서 본 연구에서 시행한 저산소증과 약물투여에 노출되었던 경험이 이후의 성장과정에 극심한 변동을 초래하지 않은 것으로 사료되며, 본 연구에서 성장 과정중에 시행한 각종 행동검사를 시행할 수 있는 기본적 비能把 제공하였다.

4. 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제가 개안(eye-opening)에 미치는 영향

개안(Eye-opening)은 성장의 지표로 일반적으로 사용되고 있다. 생후 12~15일간 관찰한 개안의 정도는 각 군간에 차이가 없었으며 생후 15일에는 모든 군의 실험동물에서 양안이 개안되었다(Table 3).

Table 3. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄제 투여후 12~15일 사이의 양안 개안율

군	생후 12일	생후 13일	생후 14일	생후 15일
NH	18.2(4/22)	40.9(9/22)	68.2(15/22)	100(22/22)
H	15.8(3/19)	52.6(10/19)	73.7(14/19)	100(19/19)
N ₂	20.0(3/15)	46.7(7/15)	86.7(9/15)	100(15/15)
NAN	30.6(6/20)	55.0(11/20)	80.0(16/20)	100(20/20)
NAN+N ₂	25.0(3/12)	50.0(6/12)	75.0(9/12)	100(12/12)
K	33.3(5/15)	46.7(7/15)	73.3(7/15)	100(15/15)
K+N ₂	30.8(4/13)	53.9(7/13)	84.6(11/13)	100(13/13)

- 단위는 백분율이고 ()안의 숫자는 실험동물중 양안이 이루어 진 수임.
- 저산소증 유발은 12분간 100% N₂ 가스에 노출되었으며 5-HT수용체 봉쇄제를 노출 30분전에 2mg/kg로 복장내 주사하였음.

5. 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제가 wire maneuver test에 미치는 영향

생후 2일에 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제에 노출되었던 실험동물을 계속 사용하여 생후 22일이 되었을 때 wire maneuver를 시행하였다. Wire maneuver는 철사줄에 얼마나 오래 매달릴 수 있는가 하는 상지의 힘을 측정하게 된다.

철사줄에 매달려 있는 시간은 각 군간에 의의있는 차이를 발견할 수 없었다(Fig. 2).

6. 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제가 담색활동에 미치는 영향

생후 2일에 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제에 노출되었던 실험동물을 생후 40~55일에 담색활동을 조사하였다. 담색활동 검색에서는 새로운 환경에 노출되었을 때 보이는 활동도를 30분간 측정하였다.

전반적으로 암컷이 수컷보다 활발한 활동도를 보였고, 성별에 관계없이 활동도는 새로운 환경에 노출된 초기에 활발하다가 15분 이후에는 안정되는 경향을 보았다.

수컷에서 H군의 30분간의 보행활동도(ambulatory activity)는 397±102/30min이었고 NAN+N₂군을 제외하고는 H군과 차이가 없었다. 수컷에서는 NAN+N₂ 군이 다른군과는 다르게 매우 높은 보행활동도를 나타내어 30분간의 활동도가 2,289±1,190/30min으로 H군의 397±102/30 min의 5배 이상이었다. NAN+N₂군이 다른 군들은 H군과 비교하여 차이가 없었다. 암컷에서는 NAN군이 다른 군과는 다르게 매우 높은 보행활동도를 나타내어 30분간의 활동도가 3,595±1,747/30 min으로 H군의 1,030±162/30min의 3배 이상이었다(Fig. 3).

이러한 결과는 행동기형에 성별차이가 있음을 나타내고 생후 2일에 특수환경에 노출되었던 경험이 생후 40일 이 후에도 서기능의 변동을 초래하고 있음을 보여준다.

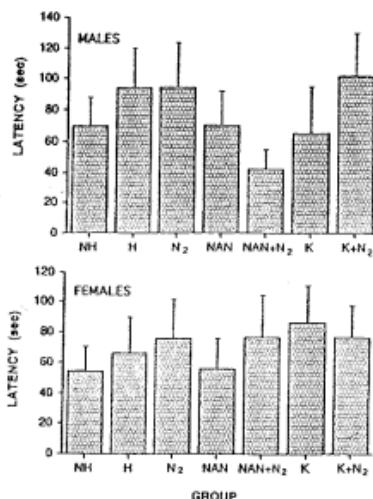


Figure 2. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄제 투여후 생후 22일째 시행한 wire maneuver test 결과. 그림의 값은 wire에 매달렸던 시간을 평균±표준오차로 표시한 것임. 각 군의 실험동물 수는 4마리 이상이었다.

7. 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제가 Rota-Rod test에 미치는 영향

생후 2일에 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제에 노출되었던 뱃드를 사용하여 생후 63~84일에 Rota-Rod test를 실시하였다. Rota-Rod test는 회전하는 원통위에서 균형을 잘 잡을 수 있나를 검색하는 방법으로 운동조정기능의 지표로 사용된다.

원통에서 떨어질 때까지의 latency는 전반적으로 수컷이 암컷보다 길었다. 암수 관계없이 NAN군과 NAN+N₂군

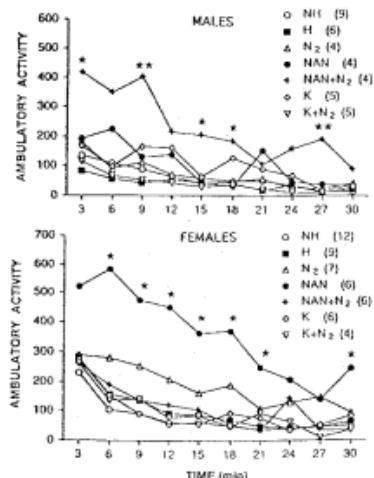


Figure 3. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄제 투여후 생후 40~55일에 시행한 밤울동 검색결과. 그림의 값은 새로운 환경에 노출시킨 후 30분간 3분간격으로 측정한 활동도 수이며 (.)의 수는 실험동물수임.

*: p<0.05, **: p<0.01, H군과 비교(Scheffe's test)

이 다른 군에 비하여 latency가 짧았다. 수컷에서 H군은 원통의 회전속도를 빠르게 한 30초 이후 원통에서 추락하여 평균 추락시간이 36.0±3.3초인데 비하여 NAN군은 27.9±4.2초, NAN+N₂군은 20.7±9.8초로 감소되었고, 암컷에서도 H군의 latency가 25.9±1.2초인데 비하여 NAN군은 6.1±1.6초, NAN+N₂군은 11.3±2.8초로 현저하게 감소되었다(Fig. 4).

8. 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제가 뇌부위별 아민성 신경전달물질 함량에 미치는 영향

생후 2일에 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제에 노출되었던 뱃드를 사용해 생후 100일에 희생시켜 아민성 신경전달물질과

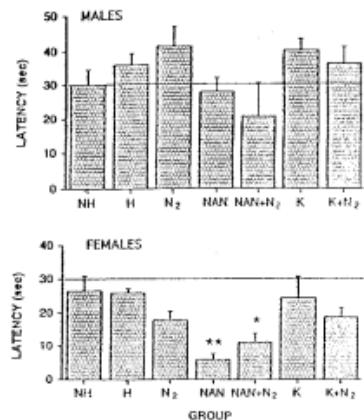


Figure 4. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄제 투여후 생후 63~84일에 시행한 Rota-Rod test 결과. 그림의 값은 원통위에서 떨어질 때까지의 기간을 평균±표준오차로 표기한 것임. 원통의 회전속도는 처음 30초간은 1.5rpm, 30초 이후에는 4.5rpm이었다. 각 군의 실험동물을 수는 4마리 이상이었다.

*: p<0.05, **: p<0.01, H군과 비교(Scheffe's test)

Table 4. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄제 투여후 생후 100일에 측정한 뇌 부위별 5-HT와 5-HIAA 함량

군	FC	CS	Hi	Th	HASP	BS	Cbll	
H	5-HT	2.15±0.29	1.67±0.16	0.72±0.11	3.29±2.04	2.47±0.37	1.31±0.10	ND
	5-HIAA	19.03±1.85	22.77±1.29	6.42±0.27	16.43±2.38	12.89±4.70	6.43±0.63	2.57±0.26
N ₂	5-HT	1.87±0.15	1.92±0.20	0.63±0.06	1.33±0.20	3.09±0.18	1.35±0.14	ND
	5-HIAA	17.20±0.91	21.88±2.07	5.82±0.41	15.60±2.97	13.91±5.78	6.64±0.69	2.53±0.41
NAN	5-HT	1.94±0.35	1.68±0.11	0.51±0.08	0.78±0.27	2.26±0.47	1.38±0.07	ND
	5-HIAA	16.0±2.41	21.94±1.40	5.47±0.62	17.06±0.65	13.87±6.89	6.54±1.36	1.99±0.09
NAN+N ₂	5-HT	1.99±0.20	1.50±0.27	0.67±0.18	1.11±0.18	2.48±0.36	1.03±0.08	ND
	5-HIAA	17.45±1.87	19.60±2.24	5.89±0.55	19.99±1.91	7.50±7.33	6.01±0.75	1.93±0.18

- 값은 평균±표준오차이며, 단위는 $\mu\text{g/g tissue}$ 이고, 실험동물의 수는 4마리 이상임.
- 저산소증 유발은 12분간 100% N₂ 가스에 노출시켰으며 5-HT수용체 봉쇄제를 노출 30분 전에 2mg/kg로 복강내 주사하였음.
- FC: frontal cortex, CS: corpus striatum, Hi: hippocampus, Th: thalamus, HASP: hypothalamus-amygdala-septum-preoptic area, BS: brain stem, Cbll: cerebellum, ND: not detectable.

그 대사산물의 함량을 측정하였다. 이전의 연구에서 5-HT_{1A} 수용체 활성이 중요하였으므로 H, N₂, NAN 및 NAN+N₂ 군에서 실행하였다. 전두피질, 선조체, 해마, 시상, 시상하부-전도체-중격-시신경교차 연결부위, 뇌간과 소뇌에서 부위별로 측정한 바 norepinephrine, dopamine, DOPAC, 및 HVA함량은 군간에 차이가 없었다. 그리고 5-HT와 그 대사산물인 5-HIAA의 함량에서도 차이를 발견할 수 없었다(Table 4).

9. 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제가 대뇌피질 5-HT수용체 밀도와 친화도에 미치는 영향

생후 2일에 저산소증과 5-HT수용체 봉쇄제에 노출되었던 맷트를 생후 100일에 회생사체 대뇌피질에서 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/2C}수용체 결합시험을 시행하였다. 아인성 신경전단물질에서와 마찬가지로 H, N₂, NAN 및 NAN+N₂ 군에서 실행하였다.

5-HT_{1A} 수용체의 친화도는 각 군간에 차이가 없었으나 수용체 밀도(density, Bmax)는 현저히 차이가 있었다. H군의 Bmax지표가 4.51±0.04pm/g tissue이었는데 비해 N₂, NAN 및 NAN+N₂군의 Bmax치는 각각 1.90±0.04, 1.82±0.09 및 1.884±0.30pm/g tissue으로 H군의 1/2이하였다(Fig. 5). 한편 5-HT_{2A/2C}수용체의

친화도도 군간에 차이가 없었으나 Bmax치가 H군에 비하여 NAN군과 NAN+N₂군에서 증가하여 5-HT_{1A}수용체 봉쇄제인 5-HT_{1A}수용체 뿐만아니라 5-HT_{2A/2C}수용체 밀도도 변화시킴을 나타내었다(Fig. 6).

고 찰

실험 동물에서 출생 전후에 저산소증을 유발하는 방법은 매우 다양하나 크게 나누어 환전 질식을 시키거나³¹⁻³⁴ 혹은 부분적이고 지속적인 질식을 시키는데^{35,36} 이번 실험에서는 사람에서의 출생시 나타나기 쉬운 환전 질식을 사용하였다. 그리고 저산소증이 유발되는 경우에 뇌간의 호흡증추나 말초 화학수용체의 감지 결과로 호흡수의 증가가 이루어지는데 이를 알아보기 위하여 생후 1일, 2일 및 3일된 쥐를 5% 산소환경에 노출시켜서 호흡수의 증가를 관찰하여 보았다. 그 결과 생후 3일 이후에서만 저산소증 유발에 따른 활발한 설비보상작용이 나타남을 볼 수 있었다. 그러므로 생후 2일까지의 저산소증 유발은 자궁내 태아에서의 저산소환경 노출과 비슷한 모델로 생각되었다. 이렇게 출생 전후에 저산소증에 유발된 쥐에서는 말초 화학감수성 및 뇌간의 호흡증추에 변화가 생겨 성장후에도 지속적인 호흡관련을 일으킬 수 있다고 보고되어 있다.^{33,37}

저산소증에만 유발되었거나 혹은 저산소증 유발과 동시에

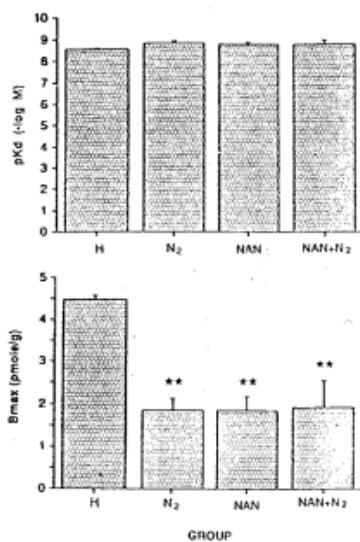


Figure 5. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄제 투여후 생후 100일에 측정한 대뇌피질의 5-HT_{1A}수용체 친화도 (pKd) 및 밀도(Bmax). 그림의 값은 평균±표준오차로 표시한 것임. 각 군의 실험동물 수는 4마리 이상이었다.

**: $p<0.01$, H군과 비교(Scheffe's test)

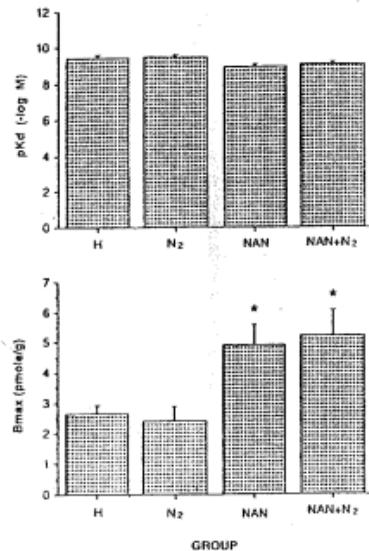


Figure 6. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄제 투여후 생후 100일에 측정한 대뇌피질의 5-HT_{2A/2C}수용체 친화도 (pKd) 및 밀도(Bmax). 그림의 값은 평균±표준오차로 표시한 것임. 각 군의 실험동물 수는 4마리 이상이었다.

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, H군과 비교(Scheffe's test)

에 5-HT수용체 봉쇄제 투여를 받은 군에서는 대조군에 비하여 높은 사망률을 보았다. 원천 질식을 사용하여 출산전 후에 저산소증을 유발시킨 Binienda⁴⁴의 실험에 보고된 사망률을 보면 10분까지는 사망이 없었으나 20분과 30분 노출된 군에서는 각각 21%와 12%의 사망률을 보인 반면 45분간 노출된 군에서는 83%의 사망률을 보았다. 본 실험에서는 12분간 100% N₂환경에 노출시킨 결과 19.0%의 사망률을 보여 비슷한 결과를 보였으나 NAN+N₂군에서는 27.3%, K+N₂군에서는 30%, NAN+K+N₂군에서는 사망률이 53.9%나 되어 5-HT수용체 봉쇄제 투여가 저산소증 유발에 동반되었을 때 사망률을 현저하게 높이는 것을 알 수 있었다. 이런 점은 5-HT_{1A}수용체 표현형인 8-OH DPAT은 연수의 흡입증후에 작용하여 흡입시간을 줄여서 지속성 흡입(apneusis)을 정상화시킨다고 알려져 있고,³⁹ 또 5-HT_{1A}수용체의 부분적 표현형인 buspirone이 지속성 흡입이 생긴 환자의 치료에 쓰인다는 것을³⁹ 고려할 때 5-HT_{1A}수용체 봉쇄제의 투여가 호흡곤란을 일으켰을 가능성을 배제할 수 없을 것으로 생각된다.

출생전후 부분적이고 지속적인 저산소증 유발시 성장에 지장을 주어 체중 증가가 대조군에 비해 멀어진다고 보고된 경우도 있으나⁴⁵ 본 실험에서와 같은 원천 질식때에는 별 차이가 없었다고 보고된 경우도 있다.⁴⁶ 이번 실험에서도 체중 증가에서는 각 군간에 차이를 판별할 수 없었고 그 외에 다른 반발 지표인 개안이나 wire maneuver test에서도 차이를 발견할 수 없었다.

출산 전후 저산소증을 유발시킨 경우 수컷에서만 행동기형으로 열린 공간(open field)에서 과다활동(hyperactivity)을 보일 수 있으며⁴⁷ 또 이러한 과다활동은 생후 20일 이후에는 없어진다는 보고도 있으나,⁴⁸ Binienda⁴⁴는 출생전 저산소증에 노출된 쥐에서 출생후 19일째 시행한 탐색 활동 검사상 대조군과 차이가 없었다고 보고하였다. 본 실험에서는 탐색활동 검사상 수컷에서 NAN+N₂군에서 매우 증가한 활동을 볼 수 있었고 암컷에서도 NAN군에서 높은 과다활동을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 암컷이 수컷보다 생애초기 저산소증과 5-HT_{1A}수용체 봉쇄에 더욱 민감하다는 것을 나타낸다. 즉 예U형(inverted U-shape) 용량-반응곡선에서 암컷의 용량 반응곡선이 수컷의 용량 반응곡선보다 좌측에 위치함을 알 수 있다. 한편 Rota-Rod test를 이용하여 쥐의 운동조정기능을 측정한 Jansen 및 Low⁴⁹의 실험에서 출생 전후에 저산소증에 노출된 쥐들은 대조군에 비하여 더 빨리 원통에서 떠어졌다고 보고하였는데 본 실험에서는 암수 모두에서 NAN군과 NAN+N₂군에서 latency가 현저히 감소된 것으로 나타나 이 역시 탐색 활동 검사와 마찬가지로 저산소증 환경 노출에 못지 않게 5-HT_{1A}수용체 봉쇄제 투여가 행동기형에 영향을 미친 결과로 생각된다.

생애초기 부분적이고 지속적인 저산소증을 유발하였을 때에 성장후에도 tryptophan hydroxylase와 tyrosine hydroxylase의 활성이 계속 감소되었다거나⁵⁰ 선조체내

dopamine의 유리와 흡수가 증가되었다는 보고⁵¹ 및 중뇌-뇌간에서 norepinephrine 합성이 증가되었다는 보고⁵² 및 전뇌에 걸쳐서 norepinephrine 합성이 증가되었다고 한 보고⁵³ 등 장기간에 걸친 저산소증 유발에 의해서 뇌 신경 전달물질들의 지속적인 변화가 초래되었다고 대부분 보고 하였으나, 생애초기 저산소증 유발에도 불구하고 해마와 선피질의 norepinephrine 합성이 장기적인 영향은 없었다고 하는 보고도 있다.⁵⁴ 1993년 Dell Anna 등⁵⁵은 본 실험과 동일하게 생후 2일에 100% N₂ 가스에 노출시켜 저산소증을 유발한 렛트를 생후 60일에 회생시켜 monoamine 소증을 측정한 결과 선조체에서 DOPAC과 5-HIAA의 합성이 증가되었다고 보고하였으나 이때 피질 및 해마, 선조체의 5-HT, tyrosine hydroxylase의 합성은 변화가 없었다고 하였다. 본 실험에서도 생후 100일째에 뇌 부위 벌로-전두피질, 선조체, 해마, 시상, 시상하부-편도체-중격-시신경 교차 연결 부위, 뇌간과 소뇌-아민성 신경전달물질인 norepinephrine, 5-HT, dopamine 및 대사 산물인 5-HIAA와 DOPAC, HVA를 측정하였으나 각 군간의 차이를 발견할 수 없었다. 이것은 출생전후 저산소증에 노출된 렛트의 선조체에서 dopamine system을 조사한 Lun 등⁵⁶의 실험이나 뇌간의 noradrenaline system을 조사한 Soulier 등⁵⁷의 실험에서와 마찬가지로 각각의 아민성 신경 전달물질의 합성보다는 각 신경전달물질의 대사에 필요한 효소의 변화와 이에 따른 대사율의 변화가 더 각 system의 가능에 영향을 주는 것으로 알려진 바 같이 합성 자체에는 큰 이상이 없을 수 있다는 것을 나타낸다고 생각된다.

저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄제의 투여가 대뇌피질 5-HT수용체 밀도와 천화도에 미치는 영향에서도 5-HT_{1A}수용체 밀도는 N₂군, NAN군, 및 NAN+N₂군에서 대조군에 비해 현저히 떨어져 있었는데 이것은 저산소환경 노출 단독으로도 5-HT_{1A}수용체에 5-HT_{1A}수용체 봉쇄제 투여와 마찬가지 효과를 나타낼 수 있는 것으로 생각되었다. 또 5-HT_{2A/2C}수용체의 밀도를 보았을 때 NAN군과 NAN+N₂군에서 증가한 것도 5-HT_{1A}수용체 봉쇄제의 투여가 5-HT_{2A/2C}수용체에도 영향을 미치고 그 영향이 성장 후에도 지속됨을 알 수 있었다.

이상의 결과로 보아 생애초기의 저산소증 유발은 성장 후 행동과 뇌 신경화학적 변동을 초래하는 신경행동기형을 나타내게 되며, 이에 5-HT_{1A}수용체 활성이 중요한 역할을 할 것으로 생각되어 평후 다양한 5-HT수용체의 표현제 및 봉쇄제를 이용한 연구가 저산소증, 5-HT수용체, 및 신경행동 기형 사이의 관계를 밝히는 데에 필요하리라 생각된다.

결 론

생애초기 저산소증 유발이 야기하는 행동학적 및 신경화학적 기형을 규명하기 위하여 생후 2일된 렛트를 100% N₂ 가스환경에 12분간 노출시키고 성장후에 행동과 신경화학적 변동을 검색하였다. 또한 저산소 스트레스에 대한

5-HT의 역할을 알아보기 위하여 저산소증 유발 단독 또는 5-HT_{1A}과 5-HT_{2A/2C}수용체가 봉쇄된 상태에서 저산소증 유발을 시행하여 다음과의 결과를 얻었다.

1. 생후 2일에 저산소증 유발 또는 5-HT수용체 봉쇄를 각각 단독으로 치치한 경우보다 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄를 동시에 치치한 경우의 사망률이 높았다.
 2. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄를 경험한 렛트의 발달지표로 검색한 층증증가, 개안, 및 wire maneuver test는 군간에 차이가 없었다.
 3. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄를 경험한 렛트의 생후 40~55일의 탐색행동감자상 수컷의 NAN+N₂군과 암컷의 NAN군에서 보행활동도가 현저히 증가되었다.
 4. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄를 경험한 렛트의 생후 63~84일의 Rota-Rod test상 암수 모두 NAN군과 NAN+N₂군에서 운동조정기능이 감소되어 있었다.
 5. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄를 경험한 렛트의 뇌를 생후 100일에 취하여 뇌 부위별 아민성 신경전달물질과 그 대사산물의 함량을 측정하였으나 군간에 차이가 없었다.
 6. 생후 2일에 저산소증 유발과 5-HT수용체 봉쇄를 경험한 렛트의 뇌를 생후 100일에 측정한 대뇌피질의 5-HT_{1A}수용체와 5-HT_{2A/2C}수용체의 친화도(pKd) 및 밀도(Bmax)를 측정한 결과 수용체 친화도에는 변화가 없었다. 5-HT_{1A}수용체 밀도는 N₂, NAN 및 NAN+N₂군에서 현저하게 감소되었고, 생애초기에 5-HT_{1A}수용체 봉쇄를 경험한 군에서 5-HT_{2A/2C}수용체 밀도가 증가되었다.
- 이상의 결과로 보아 생애초기의 저산소증 유발은 성장 후 행동과 뇌 신경화학적 변동을 초래하는 신경행동기형을 나타내며 이에는 5-HT_{1A}수용체 활성이 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Werboff J, Gottlieb JS. Drugs in pregnancy: Behavioral teratology. *Obstet Gynecol Surv* 1963;18:420-423.
2. Vorhees CV. Principles of behavioral teratology. In Riley EP, Vorhees CV, eds. *Handbook of behavioral teratology*. NY, Plenum Press, 1986;pp 23-48.
3. Kim DG. Cocaine and development: A neurobehavioral assessment. (Thesis). MN, USA, University of Minnesota, 1992.
4. 김진호, 한태환. 한국 뇌성마비의 임상적 고찰. *최신의학* 1983;26:1046-1053.
5. 박창일, 박은숙, 임선영, 등. 뇌성마비에서의 뇌파검사, 전산화 단층촬영 및 유발전위검사 소견. *대한재활의학회지* 1992;16:230-238.
6. Volpe JJ. Perinatal hypoxic-ischemic brain injury: overview in fetal and perinatal neurology. In Fukuyama Y, Suzuki Y, Kamoshita S, Casaeer P, eds. *Fetal and perinatal neurology*. Basel, Karger, 1992;pp 232-252.
7. Meyers RE. Two patterns of perinatal brain damage and their conditions of occurrence. *Am J Obstet Gynecol* 1972;112:246-276.
8. Yoshioka H, Fujiiura K, Sawada T. Perinatal hypoxic-ischemic brain injury in fetal and perinatal neurology. In Fukuyama Y, Suzuki Y, Kamoshita S, Casaeer P, eds. *Fetal and perinatal neurology*. Basel, Karger, 1992;pp 257-267.
9. Johnston MV. Neurotransmitter alterations in a model of perinatal hypoxic-ischemic brain injury. *Ann Neurol* 1983;13:511-518.
10. Yoshioka H, Mino M, Morikura Y, et al. Changes in cell proliferation kinetics in the mouse cerebellum after total asphyxia. *Pediatrics* 1985;76:965-969.
11. Silverstein F, Johnston MV. Effects of hypoxia-ischemia on monoamine metabolism in the immature brain. *Ann Neurol* 1984;15:342-347.
12. Zouakia A, Guilloteau D, Zimmer L, et al. Evolution of dopamine receptors in the rat after neonatal hypoxia-ischemia: autoradiographic studies. *Life Sci* 1997;60: 151-162.
13. Flavin MP, Yang Y, Riopelle RJ. The effect of hypoxia on neurotransmitter phenotype of forebrain cholinergic neurons. *Brain Res* 1992;26:201-206.
14. Hedner T, Lundborg P. Serotonin metabolism in neonatal rat brain during asphyxia and recovery. *Acta Physiol Scand* 1980;109:163-168.
15. Paneth N. The causes of cerebral palsy, Recent evidence. *Clin Invest Med* 1993;16:95-102.
16. Sanders-Busch E. Adaptive regulation of control 5-HT receptors linked to phosphoinositide hydrolysis. *Neuropsychopharmacology* 1990;3:411-416.
17. Conn PJ, Sanders-Busch E. Relative efficacies of piperazines at the phosphoinositide hydrolysis-linked serotonergic(5-HT2 and 5-HT1C) receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1987;242:552-557.
18. Steer CR. Barbiturate therapy in the management of cerebral ischemia. *Dev Med Child Neurol* 1982;24: 219-231.
19. Hosobuchi Y, Baskin DS, Woo SK. Reversal of induced ischemic neurologic deficit in gerbils by the opiate antagonist naloxone. *Science* 1982;215:69-71.
20. Wiernsperger N, Gygax P, Hofman A. Calcium antagonist PY108-068: Demonstration of its efficacy in various types of experimental brain ischemia. *Stroke* 1984;15:679-685.

21. Hallenbeck JM, Leitch DR, Duka AJ. Prostaglandin I2: indomethacin, and heparin promote postischemic neuronal recovery in dogs. *Annu Neurol* 1982;12: 145-156.
22. Artru AA, Michenfelder JD. Cerebral protective, metabolic and vascular effects of phenytoin. *Stroke* 1980;11:377-382.
23. Simon RP, Swan JH, Griffiths T, et al. Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors may protect against ischemic damage in the brain. *Science* 1984;226: 850-852.
24. Meldrum BS, Evans M, Griffiths T, et al. Ischemic brain damage: The role of excitatory activity and of calcium entry. *Br J Anaesth* 1985;57:44-46.
25. Kochhar A, Zivin JA, Lyden PD, et al. Glutamate antagonist therapy reduces neurologic deficits produced by focal central nervous system ischemia. *Arch Neurol* 1988;45: 148-153.
26. Shibata S, Kagami-Ishi Y, Tominaga K, et al. Ischemia-induced impairment of 2-deoxyglucose uptake and CA1 field potentials in rat hippocampal slices: protection by 5-HT1A receptor agonists and 5-HT2 receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 1992;229:21-29.
27. Prehn JH, Welsch M, Backhauss C, et al. Effects of serotonergic drugs in experimental brain ischemia: evidence for a protective role of serotonin in cerebrovascular ischemia. *J Brain Res* 1993;630:10-20.
28. Peruche B, Backhauss C, Prehn JH, et al. Protective effects of 5-HT1A receptor agonists against neuronal damage demonstrated in vivo and in vitro. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 1994;8:73-83.
29. Glowinski J, Iversen LL. Regional studies of catecholamine in the rat brain-I. *J Neurochem* 1966;13: 655-669.
30. Wagner J, Vitali P, Palfreyman MG, et al. Simultaneous determination of 3,4-dihydroxyphenylalanine, 5-hydroxytryptophan, norepinephrine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, homovanillic acid, serotonin, and 5-hydroxydoleacetic acid in rat cerebrospinal fluid and brain by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Neurochem* 1982;38:1242-1254.
31. Raju TNK. Some animal models for the study of perinatal asphyxia. *Biol Neonate* 1992;62:202-214.
32. Yoshioka H, Yoshida A, Ochi M, et al. Granule cell deficit in the mouse cerebellum after total asphyxia. *Ann Neurol* 1986;19:356-359.
33. Bjelke B, Andersson K, Ögren SO, et al. Asphyctic lesion: proliferation of tyrosine hydroxylase-immunoreactive nerve cell bodies in the rat substantia nigra and functional changes in dopamine neurotransmission. *Brain Res* 1991; 543:1-9.
34. Binienda Z, Frederick DL, Ferguson SA, et al. The effects of perinatal hypoxia on the behavioral, neurochemical, and neurohistological toxicity of the metabolic inhibitor 3-nitropropionic acid. *Metab Brain Dis* 1995;10:269-282.
35. Lun A, Berndt C, Gross J, et al. Long-term effects of postnatal hypoxia and flunarizine on the dopaminergic system. *Pharmacol Biochem Behav* 1993;46: 867-871.
36. Tanaka H, Takahashi S, Miyamoto A, et al. Effects of neonatal hypoxia on brainstem cholinergic neurons - pedunculopontine nucleus and laterodorsal tegmental nucleus. *Brain Dev* 1995;17:264-270.
37. Soulier V, Dalmau Y, Cottet-Emard JM, et al. Long-term influence of neonatal hypoxia on catecholamine activity in carotid bodies and brainstem cell groups of the rat. *J Physiol* 1997;498:523-530.
38. Lalley PM, Bischoff AM, Richter DW. Serotonin 1A-receptor activation suppresses respiratory apnea in the cat. *Neurosci Lett* 1994;172:59-62.
39. Wilken B, Lalley P, Bischoff AM, et al. Treatment of apneustic respiratory disturbance with a serotonin-receptor agonist. *J Pediatr* 1997;130:89-94.
40. Okubo S, Mortola JP. Long-term respiratory effects of neonatal hypoxia in the rat. *J Appl Physiol* 1988; 64:952-958.
41. Binienda Z. A fetal rat model of acute perinatal ischemia-hypoxia. *Ann NY Acad Sci* 1995;765:28-38.
42. Shen Y, Isaacson RL, Smotherman WP. The behavioral and anatomical effects of prenatal umbilical cord clamping in the rat and their alteration by the prior maternal administration of nimodipine. *Rest Neurol Neurosci* 1991;3:11-22.
43. Nyakas C, Markel E, Schurman T, et al. Impaired learning and abnormal open-field behaviors of rats after early postnatal anoxia and the beneficial effect of the calcium antagonist nimodipine. *Eur J Neurosci* 1991;3:168-174.
44. Jansen EM, Low WC. Long-term effects of neonatal ischemic-hypoxic brain injury on sensorimotor and locomotor tasks in rats. *Behav Brain Res* 1996;78: 189-194.
45. Hedner T, Lundborg P, Engel J. Brain biochemical and behavioral changes in 4 weeks old rats after neonatal oxygen deprivation. *Pharmacol Biochem Behav* 1979;10: 647-650.
46. Gross J, Lun A, Berndt CH. Early postnatal hypoxia induces long-term changes in the dopaminergic system in rats. *J Neural Transm* 1993;93:109-121.
47. Seidler FJ, Slotkin TA. Effects of acute hypoxia on neonatal rat brain: regionally selective, long-term alterations in catecholamine levels and turnover.

- Brain Res Bull* 1990; 24:157-161.
48. Simon N, Volicer L. Neonatal asphyxia in the rat: greater vulnerability of males and persistent effects on brain monoamine synthesis. *J Neurochem* 1976;26:893-900.
49. Yamamoto H, Kato T. The effects of neonatal anoxia on brain cholecystokinin-8-like immunoreactivity and monoamine levels of mature rats. *Dev Brain Res* 1986;26:285-288.
50. Dell'Anna ME, Calzolari S, Molinari M, et al. Neonatal anoxia induces transitory hyperactivity, permanent spatial memory deficits and CA1 cell density reduction in developing rats. *Behav Brain Res* 1991;45:125-134.