

부분 손상 백서 파킨슨씨병 모형의 Apomorphine 유발 회전운동과 Tyrosine Hydroxylase 면역조직화학적 염색 소견의 의의

연세대학교 의과대학 신경외과학교실
한양대학교 의과대학 신경외과학교실*
박용구 · 신형식* · 장진우 · 정상섭

= Abstract =

The Significance of Apomorphine-Induced Rotational Behavior in Partial Lesioned Rat Parkinsonian Models with 6-hydroxydopamine

Yong Gou Park, M.D., Hyung Shik Shin, M.D.*
Jin Woo Chang, M.D., Sang Sup Chung, M.D.

Department of Neurosurgery, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea
*Department of Neurosurgery, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

An apomorphine-induced rotational test has been used in the evaluation of rat parkinsonian models lesioned with neurotoxin 6-hydroxydopamine(6-OHDA). Previous parkinsonian rat models have generally been characterized by unilateral destruction of both nigrostriatal pathway and mesolimbic pathway using 6-OHDA. The authors created partial lesioned rat parkinsonian models using 6-OHDA in which there is destruction of the dopaminergic nigrostriatal pathway and sparing of the mesolimbic pathway. Rats with unilateral lesions of the substantia nigra pars compacta(SNpc) were tested for rotational asymmetry using a cylindrical rotometer device with flat bottom(diameter, 30.5cm) after administration of apomorphine. After completion of the rotation test, the animals were sacrificed and their brains were immunolabeled for tyrosine hydroxylase(TH). Analysis of anatomical and behavioral data suggests that the pattern of rotation(pivotal rotation) is a more reliable index for loss of TH-immunoreactive neurons in lesioned SNpc than the total number of rotational responses to apomorphine. The exact cause of the abnormal ipsiversive rotation which some rats showed is unclear. Further research should be pursued to explain this finding.

KEY WORDS : Parkinson's disease · 6-Hydroxydopamine · Apomorphine · Rotation.

서 론

6-Hydroxydopamine(6-OHDA)을 이용한 백서 파킨슨씨병 모형은 1971년 Ungerstedt에 의하여 개발되어 현재까지 가장 널리 이용되고 있는 모형이다. 이러한 백서 파킨슨씨병 모형은 원숭이를 이용한 영장류 파킨슨씨병 모형보다 경제적이며 손쉽

본 연구의 일부는 한독약품과 연세대학교 대응연구비의 일부지원을 받았다.

게 이용할 수 있는 장점이 있으나, 영장류 파킨슨씨병 모형과는 달리 인간의 파킨슨씨병의 제반 증상을 발현시킬 수 없고 병변 또한 인간의 파킨슨씨병과는 차이가 많아서 실험에 많은 제한이 있어 왔다.⁵⁾¹⁶⁾¹⁹⁾²⁹⁾²⁶⁾ 반면에 영장류 파킨슨씨병 모형은 경제적인 면에서 백서보다 높은 구입 비용뿐만 아니라 실제로 유지 및 관리가 까다롭고 백서 파킨슨씨병 모형처럼 다수의 실험 모형을 만들기가 어려워져서 다수의 반복적 실험 결과를 관찰하는 실험 등에는 이용되기 어려운 단점이 있다.³⁾⁹⁾¹⁵⁾¹⁶⁾ 따라서 최근에 이러한 백서 파킨슨씨병 모형의 문제점들을 극복하고자 하는 시도들이 이

루어져 1989년 Perese 등¹⁹⁾은 과거 Ungerstedt 와 달리 흑질 선조체 경로의 부분적 손상으로 기존의 백서 파킨슨씨병 모형보다 조직병리학적으로 좀더 사람의 파킨슨씨병에 가까운 모형을 만들 수 있다고 주장하였고, Carman 등²⁰⁾은 흑질 및 복측 피개부를 완전히 파괴하지않은 부분적 손상 모형이 오히려 6-hydroxydopamine에 의한 도파민성 신경 세포의 손상 정도와 도파민성 신경 조직의 이식 전후의 회전운동 변화를 더 정확히 측정할 수 있다고 주장하였다.

그러나 조직병리학적으로 좀더 인간과 유사한 백서 파킨슨씨병 모형을 만들려는 시도와는 별개로 백서 파킨슨씨병 모형의 또 다른 문제는 백서의 회전운동 자체 및 기전에 대한 논란이다. 1983년 Robinson 및 Becker²¹⁾는 정상 백서의 좌우측 흑질 선조체간에 도파민 양의 비대칭성이 있어서 우성의 선조체에 부분적인 도파민의 감소가 있을 경우 amphetamine 유발 회전운동 검사에서 일반적으로 예측하던 병변 동측의 회전과는 다른 병변 반대측으로 회전을 보일 수 있다고 하였고, Shapiro 등²²⁾은 백서에 게 이러한 선조체 양측의 도파민 비대칭성을 가진 2가지 군이 존재한다고 주장하였다. 또한 본교실에서도 apomorphine 유발 회전운동 검사에서 비정상적인 회전을 보이는 백서 파킨슨씨병 모형을 관찰, 보고한 바가 있다²³⁾. 따라서 본 연구에서는 Carman 등²⁰⁾의 방법을 이용하여 흑질의 파괴만을 유도하고, 복측 피개부의 손상을 피하는 부분적 손상 모형을 만든 후, apomorphine 유발 회전운동 검사와 tyrosine hydroxylase (TH) 면역조직화학적 염색 소견과의 상관관계를 비교 분석함으로써 첫째, 중뇌의 흑질과 복측 피개부의 도파민성 신경세포의 손상 정도와 apomorphine 유발 회전운동 검사간의 관계를 확인하여 신경세포의 손상 정도와 파킨슨씨병 모형의 완성도간의 상관관계를 확인하고자 하였고 둘째, 비정상적인 회전운동 반응을 보이는 백서의 흑질과 복측 피개부의 tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 소견을 정상군과 비교 관찰함으로써 백서 파킨슨씨병 모형의 의의 및 문제점을 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

암수에 관계없이 체중 180~200g의 건강한 50 마리의 백서 (Sprague-Dawley rat)를 1주일 이상 동일한 환경에 적응시킨 후 실험에 이용하였다.

2. 실험 방법

1) 백서 파킨슨씨병 모형을 만드는 과정

Pentobarbital (30mg/kg)을 복강내에 주사하여 백서를 마취한 후, 뇌정위 수술대 (stereotactic frame, Narishige scien-

tific instrument laboratory, Tokyo, Japan)에 고정하였다. 70% alcohol과 betadine으로 두피를 소독하고 두피의 정중선을 절개하여 두개골을 노출시켰다. 수술 현미경하에서 Paxinos 및 Watson²⁴⁾의 백서 뇌도보 (rat brain atlas)에 근거하여 흑질에 해당되는 좌표를 목표지점 (target)으로 하였다. 전정 (bregma)에서 람다 (lambda)까지의 거리를 잰 후 길이가 표준인 경우 전정에서 후방으로 5.2mm, 중앙선에서 1.9mm, 깊이를 뇌경막에서 7.5mm 되도록 좌표를 맞추었다. 맞추어진 좌표에 해당하는 두개골을 미세드릴로 천공한 후, Hamilton 주사기를 이용하여 ascorbic acid (0.2mg/ml)를 함유한 6-hydroxydopamine 3μl (6μg)을 흑질에 5분간에 걸쳐 천천히 주사하였다. 주사가 끝난 다음 지혈시키고 패니실린 30,000 unit를 피하로 주사한 후, 두피를 봉합하였다.

2) Apomorphine 유발 회전운동 검사

6-Hydroxydopamine을 주사한 다음 4주 후부터 apomorphine (0.25mg/kg)을 복강내에 주사하고 바닥을 평편하게 만든 원주통 (직경 30.5cm)에서 육안으로 회전운동을 관찰하였다. 회전운동은 6-hydroxydopamine 주사 후 12주까지 4주 간격으로 총 3회 반복 관찰하였다. 회전운동은 apomorphine 주사 후 15분간의 적응기가 지난 후 30분간의 총 회전수를 측정하였으며, Pycocock²⁵⁾의 기준에 따라 분당 최소한 3회 이상의 회전을 보인, 즉 30분간 최소 90회 이상의 회전을 보인 경우를 파킨슨씨병 모형이 완성된 것으로 간주하였다.

3) Tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사

총 3회의 apomorphine 유발 회전운동 검사를 모두 시행한 후, tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사를 실시하였다. Pentobarbital (30mg/kg)을 복강내에 주사하여 마취한 후, 300~400ml의 생리적 식염수를 심장을 통하여 관류시킨 다음 10% 중성 포르말린액으로 관류 고정하였다. 수술대에 백서를 고정한 다음 두피를 절개하고 소형 감자로 조심스럽게 두개골을 제거한 후 뇌경막, 시신경, 후각신경 및 경척수를 절단하고 뇌를 추출하여 10% 중성 포르말린액에 후고정하였다. 적출된 뇌를 고정액에 약 24시간 고정한 다음 흑질 선조체간을 0.3mm 간격으로 50μm의 두께가 되도록 세절하여 6연속 절편을 얻어서 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 세절된 조직은 일반적인 면역조직화학적 염색 방법에 따라 labelled streptavidin-biotin (LSAB) kit (DAKO, Copatum, Carpinteria, CA, USA)를 이용하여 염색하였으며, 일차 항체로는 tyrosine hydroxylase에 대한 항체 (Eugene Tech International Inc., Ramsey, NJ, USA)를 1:500으로 희석하여 사용하였다. 발색제로는 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)를 사용하였고 광학 현미경으로 관찰하였다. 병변의 손상 정도는 광학 현미경하에서 핵이

뚜렷히 확인되는 양측 흑질과 복측 피개부의 tyrosine hydroxylase 양성 염색 신경세포의 수를 비율로 계산하였다.

4) 니슬 염색 검사

니슬 염색 검사는 세절된 뇌 절편간의 여분 절편을 이용하였다. 50µm의 두께로 세절된 조직을 실온에서 24시간 고정한 후 슬라이드에 올려 0.1% toluidine blue 수용액으로 염색한 다음 일반적인 조직 처리 방법을 이용하여 탈수 봉입하였다.

3. 통계학적 분석 처리

실험 백서의 apomorphine 유발 회전운동의 변화는 SPSS version 4.0의 비모수 검정중 Mann-Whitney U 검정을 이용하였고, P값이 0.05이하인 것을 통계적 유의 수준으로 하였다.

결 과

1. Apomorphine 유발 회전운동 검사

백서 파킨슨씨병 모형에게 apomorphine(0.25mg/kg)을 복강내에 주사한 후 회전운동 반응을 12주까지 4주 간격으로 총 3회 반복 관찰하였다. Apomorphine을 주사한 다음 15분간의 적응기가 지난 후 30분간의 총 회전수와 회전 양상을 측정하여 Table 1의 결과를 얻었다.

회전운동의 양상은 6-hydroxydopamine의 주사 부위를 기준으로 병변 부위로의 회전을 동측 회전(ipsiversive rotation), 병변 부위의 반대방향으로의 회전을 반대측 회전(contraversive rotation)으로 구분하여 4개의 유형으로 분류하였다. 즉 제 1형에는 병변 반대측으로 축회전(pivotal rotation)을 보인 경우를, 제 2형에는 병변 반대측으로 광회전(wide rotation)을 보인 경우를, 제 3형에는 병변 동측으로 축회전 혹은 광회전을 보인 경우를, 제 4형에는 좌우 양측으로의 회전 선호도가 없거나 apomorphine 유발 회전운동 검사에 무반응인 경우를 포함시켰다. 총 50마리의 백서중 병변 반대측으로 축회전을 보인 제 1형이 20마리로 40%의 가장 높은 빈도를 보였고, 병변 반대측으로 광회전을 보인 제 2형은 18마리로 36%의 높은 빈도를 보였다. 즉 총 38마리(76%)에서 일반적으로 apomorphine 주사후 예측되는 병변 반대측의 회전을 관찰할 수 있었다. 비정상적인 병변 동측의 회전을 보인 제 3형은 3마리로 6%의 빈도를 보였고, 좌우 양측으로의 회전 선호도가 없거나 무반응인 제 4형은 9마리로 18%를 차지하였다(Table 1).

저자는 Pycocck²⁰의 기준에 따라 분당 최소한 3회 이상의 회전을 보인, 즉 30분간 최소 90회 이상의 회전을 보인 경우를 파킨슨씨병 모형이 완성된 것으로 간주하였는데, 제 3형과 제 4형에서는 apomorphine 유발 회전운동 검사상 백서 파킨슨씨병 모형의 범주에 포함된 백서는 없었다. 병변 반대측 회전을 보인

38마리의 백서중 제 1형의 3회 평균 회전수는 179.7±23.3회, 제 2형의 평균 회전수는 111.3±13.2회였으며(Table 2), 파킨슨씨병 모형의 성공율은 제 1형이 20마리중 17마리로 85%, 제 2형이 18마리중 12마리로 66.7%의 성공율을 보여 총 50마리중 29마리로 58%의 백서 파킨슨씨병 모형의 성공율을 보였다(Table 3).

2. Tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사

Fig. 1은 정상 백서의 흑질과 복측 피개부의 tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 소견으로 양측 흑질과 복측 피개부에 모두 양성 염색 신경세포가 관찰되었다. Fig. 2은 병변 반대측으로 축회전을 보인 제 1형의 흑질과 복측 피개부의 6연속 절편으로 tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사에서 우측 흑질의 거의 전부와 일부의 복측 피개부가 파괴된 소견을 관찰할 수 있다. Fig. 3는 Fig. 2의 D절편의 확대 소견과 니슬 염색 검사와의 비교 소견으로 tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사에서 음성을 보이는 우측 흑질의 거의 전부와 일부의 복측 피개부가 역시 니슬 염색 검사에서도 toluidine blue 양성 염색 신경세포가 소실되었음을 보여주어, tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사에서 음성을 보이는 우측 흑질의 거의 전부와 일부의 복측 피개부의 도파민성 신경세포가 파괴되었음을 확인할 수 있었다. 제 1형의 모든 백서가 tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사에서 병변측 흑질이 병변 반대측 흑질에 비하여 95% 이상의 양성 염색 신경세포가 감소된 소견을 보였다. 그러나 전례에서 복측 피개부는 50%

Table 1. Classification of rats according to their postoperative apomorphine-induced rotational behavior(n=50)

Pattern of rotational behavior	No. of rats	%
Contralateral pivotal rotation	20	40
Contralateral wide rotation	18	36
Ipsilateral pivotal or wide rotation	3	6
Non-preferred rotation or no response	9	18

Table 2. Comparison of mean numbers of apomorphine-induced rotations

	No. of rotations
Group 1	179.7±23.3
Group 2	111.3±13.2
Group 3	66.7± 5.4

Data are provided as mean±S.E.M.

Table 3. Success rates of selective parkinsonian rat model

	No. of rats		Success rates(%)
	more than 90 turns/30min	total	
Group 1	17	20	85
Group 2	12	18	66.7
Total	29	50	58

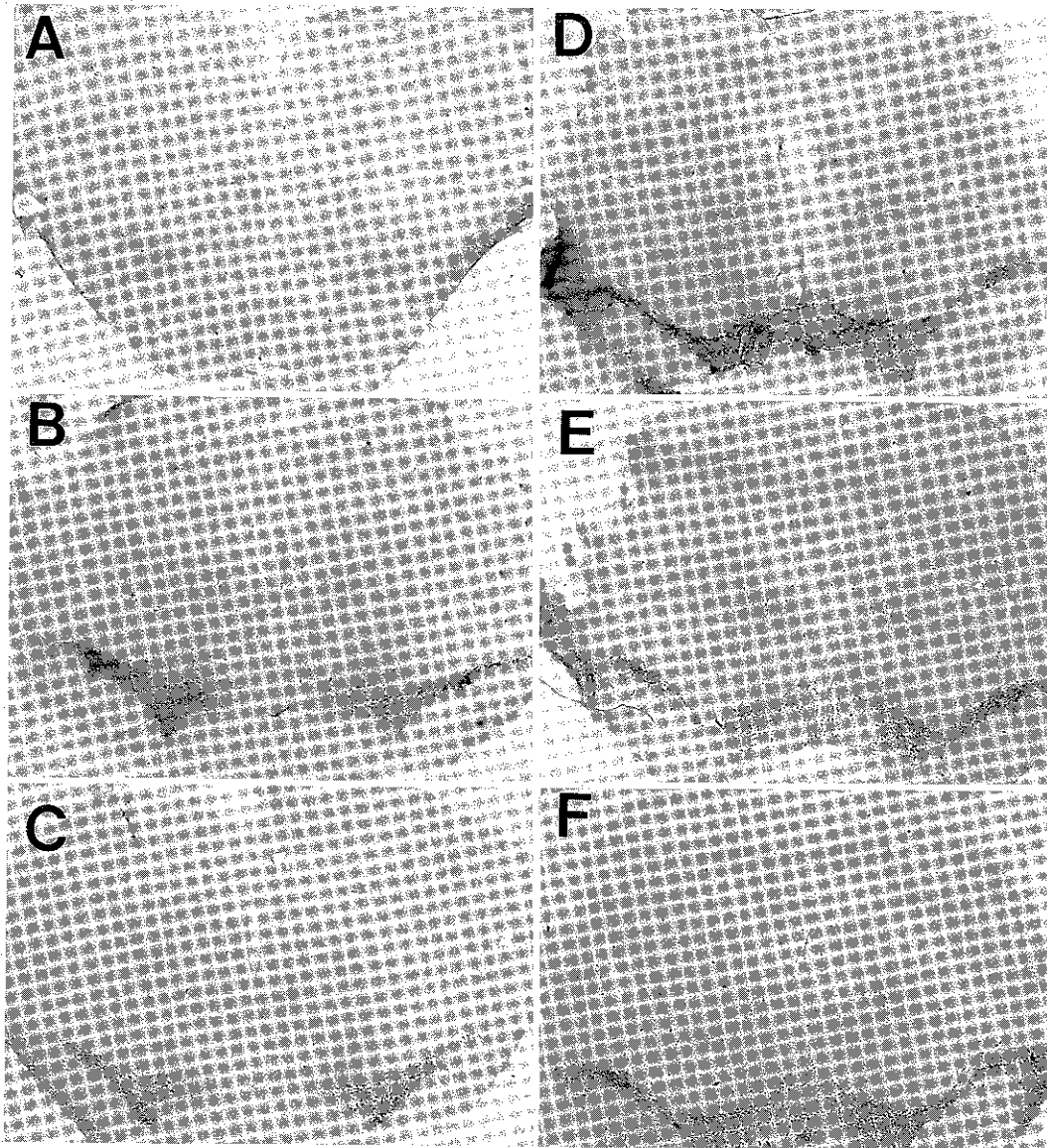


Fig. 1. Photomicrograph of TH immunohistochemically stained SN of normal rat. TH-immunoreactive neurons are found in SNpc on both sides(X10).
TH : tyrosine hydroxylase

미만의 일부 파괴를 보이거나 또는 완전히 보존된 것을 관찰할 수 있었다.

Apomorphine 유발 회전운동 검사상 병변 반대측으로 광회전을 보인 제 2형 중 저자의 백서 파킨슨씨병 모형의 범주에 포함된 백서에서는 모두 tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사에서 적어도 80% 이상의 양성 신경세포의 소실이 관찰되었다(Fig. 4). 그러나 백서 파킨슨씨병 모형의 범주에 포함되지 못한 제 2형의 나머지 백서와 비정상적인 병변 동측으로 회전을 보인 제 3형의 백서에서는 tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사상 일부의 양성 신경세포의 소실이 관찰되었으며(Fig. 5), 좌우 양측으로 회전의 선호도가 없거나 무반응을 보인

제 4형의 경우는 전례에서 tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사상 도파민성 신경세포가 50% 이하의 적은 소실을 보였다

본 실험 백서 총 50마리의 tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사상 양성 신경세포의 소실율과 apomorphine 유발 회전운동 검사상 회전수와의 상관 관계는 회전수가 증가함에 따라 양성 신경세포의 소실율이 증가하는 양상을 보였으며 이는 $p < 0.01$ 이하에서 $r = 0.6635$ 로 통계학적 의의를 보였다(Fig. 6). 그러나 Fig. 6에서 관찰되듯이 흑질의 거의 전부가 tyrosine hydroxylase 양성 신경세포의 소실을 보인 경우에도 회전운동 검사상 30분간 90회 이하의 적은 회전수를 보이는 백서들

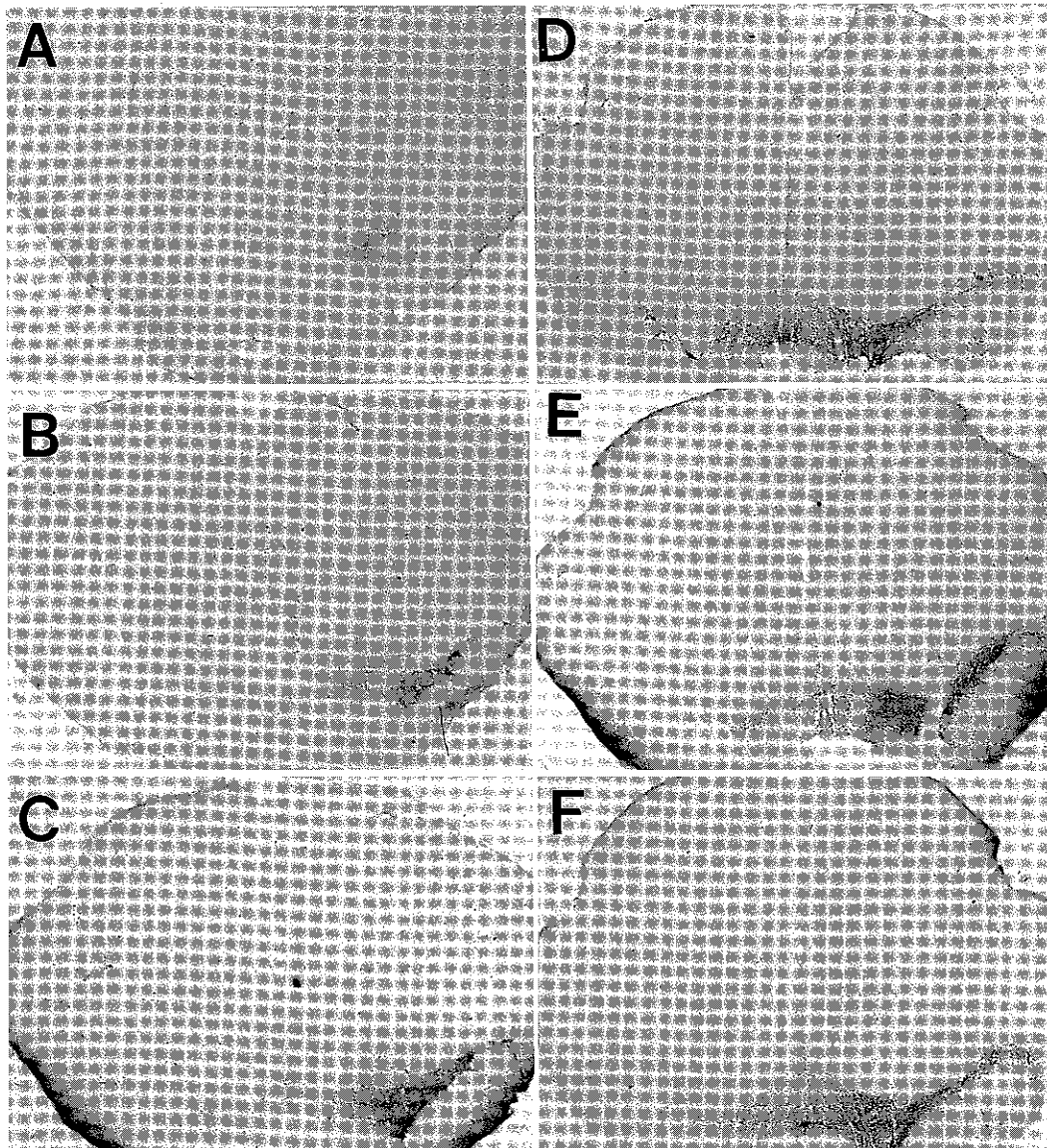


Fig. 2. Photomicrograph of TH immunohistochemically stained SN of rat in group 1. Note sparing of VTA despite near total loss of TH staining neurons in the SN on lesioned side(X10).

이 존재함을 알 수 있었다.

고 찰

백서의 흑질 선조체 경로에 일측성 병변을 만들고 dopamine 수용체 작용물질인 apomorphine을 주사하면 도파민의 신경계거성 초과민중(denervation supersensitivity)에 의하여 백서의 병변 반대측 회전이 유발되며, 이것은 회전운동측정기(rotometer)를 이용하여 정량적으로 측정이 가능한 것으로 알려져 왔다¹⁾²⁾²⁵⁾²⁶⁾. 이러한 회전 유발 검사는 선조체의 도파민 결핍과 밀접한 관계가 있기 때문에 파킨슨씨병에 대한 도파민 신경조직의 뇌이식 모형으

로 뇌조직 이식의 연구에 널리 이용되어 왔다⁵⁾¹⁶⁾¹⁹⁾²⁵⁾²⁶⁾.

6-Hydroxydopamine을 이용한 백서 파킨슨씨병 모형은 원숭이를 이용한 영장류 모형보다 경제적이며 손쉽게 이용할 수 있는 장점이 있으나 흑질과 복측 피개부에서 도파민성 신경세포의 심한 파괴가 일어나 인간이나 영장류 파킨슨씨병 모형처럼 행와핵(nucleus accumbens)과 복측 피개부에 존재하는 도파민성 신경세포가 없기 때문에, 인간이나 영장류의 파킨슨씨병 모형처럼 선조체로의 도파민성 신경섬유의 재치배 등에 의한 증상의 호전을 기대할 수가 없었다⁴⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹⁵⁾. 따라서 흑질과 복측피개부의 일부가 보존된 부분적 손상 모형을 만들어 기존의 백서 파킨슨씨병 모형과 달리 조직병리학적으로 좀더 인간 또는 영장류의 파킨슨

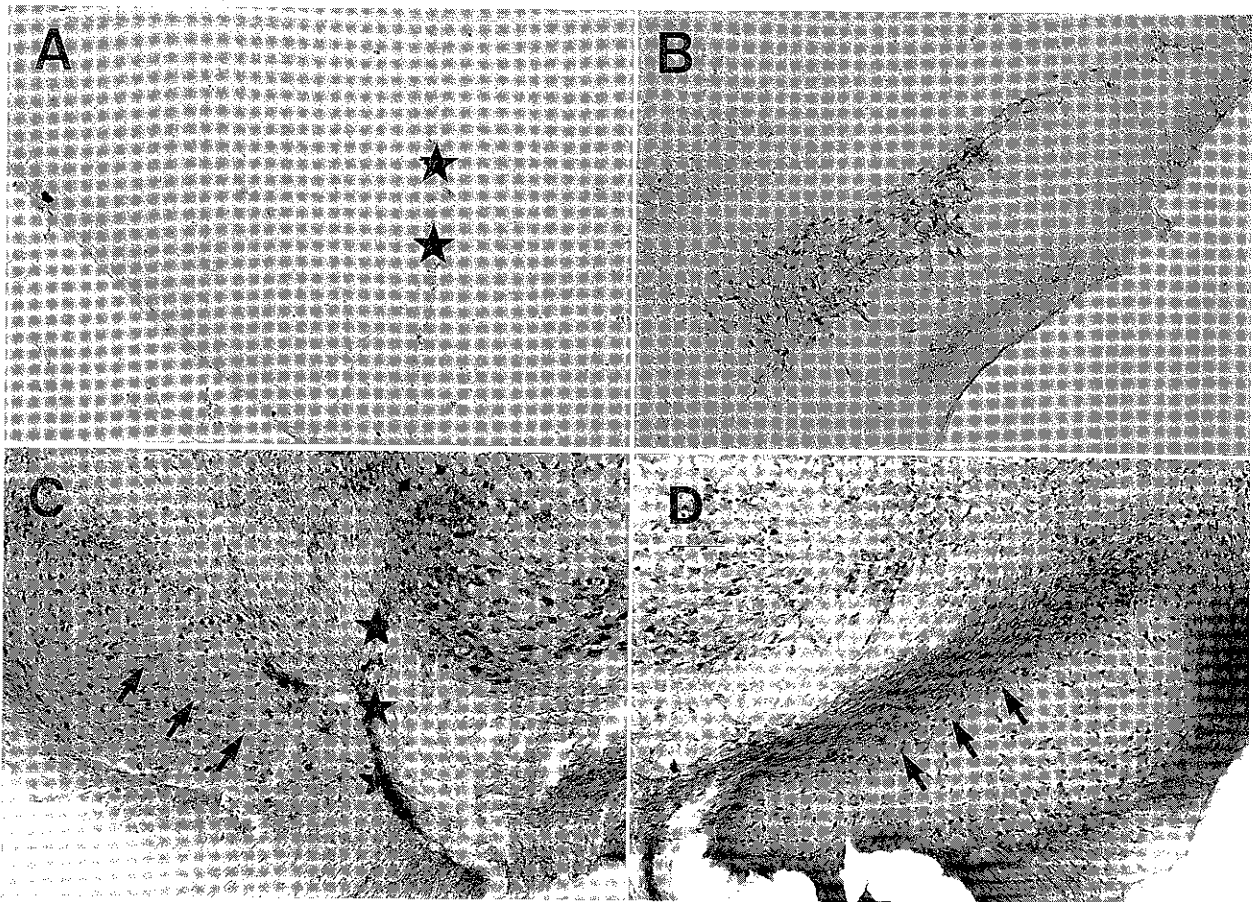


Fig. 3. Photomicrograph of TH immunohistochemically stained SN and Nissle stain of rat in group 1. A,B : photomicrograph of TH immunohistochemically stained SN. C,D : photomicrograph of Nissle stain. Black stars indicate needle tract of apomorphine injection and black arrows indicate SNpc(X40).

씨병에 가까운 모형을 만들려는 시도들이 많은 연구자들에 의해 이루어져 왔다. 1989년 Perese 등¹⁸⁾은 8 μ g의 6-hydroxydopamine을 복측 피개부의 외측과 흑질에 각각 4 μ g씩 나누어 주사함으로써 복측피개부의 도파민성 신경세포를 보존시킨 파킨슨씨병 모형을 만들 수 있다고 하였고, 1991년 Carman 등⁷⁾은 흑질의 내, 외측에 6 μ g 내지 8 μ g의 6-hydroxydopamine을 주사함으로써 병변 부위의 흑질에 정상 부위와 비교하여 약 12%의 도파민성 신경세포를 보존할 수 있다고 하였다. 또한 그들은 이 부분적 손상 모형에서 apomorphine 유발 회전운동 검사의 회전수와 남아있는 도파민성 신경세포수간에 밀접한 상관 관계가 있다고 하였다.

저자는 apomorphine(0.25mg/kg)을 피하로 주사하여 15분간의 적응기를 지나 30분간 최소 90회 이상의 회전을 보인 것을 백서 파킨슨씨병의 모형의 선정 기준으로 하였는데, 이는 정상 백서는 분당 3회 이하의 회전을 보일 수 있다는 연구 결과²⁰⁾에 근거를 두었다. 문헌상 apomorphine 유발 회전운동 검사에 의한 백서 파킨슨씨병 모형의 선정기준은 다양하여 Carman 등⁷⁾의

연구에 의하면 apomorphine(0.1mg/kg)을 피하로 주사 후 분당 7회 이상 회전을 하는 백서가 분당 7회 이하의 회전을 보이는 경우보다 6-hydroxydopamine의 주사로 손상된 흑질 부위에 더 심한 손상이 있음을 보고하였고, Perese 등¹⁸⁾은 저자와 동일한 용량의 apomorphine(0.25mg/kg)을 피하 주사하여 역시 저자와 동일한 기준인 분당 3회 이상 회전 운동을 보이는 경우를 파킨슨씨병의 모형이 완성된 것으로 간주하였다. 이외에도 Heim 등¹⁹⁾은 0.1mg/kg을 피하주사하여 1시간동안 최소 120회의 병변 반대측의 회전을 보인 경우를 파킨슨씨병의 모형이 완성된 것으로 간주하였다. 이외에도 apomorphine의 용량 역시 apomorphine 유발 회전운동 검사에 중요한 요건이다. 이상과 같이 앞의 여러저자들의 경우처럼 아직도 apomorphine 유발 회전운동 검사의 방법에는 일정한 기준이 없다. 저자들은 Marshall 및 Ungerstedt¹⁷⁾의 연구 결과를 참조하여 선조체의 탈진경지배에 따른 최대 효과를 볼수 있으며 과용량에 따른 정상 선조체의 영향을 최소화할 수 있는 apomorphine의 용량인 0.25mg/kg를 투여하였다.

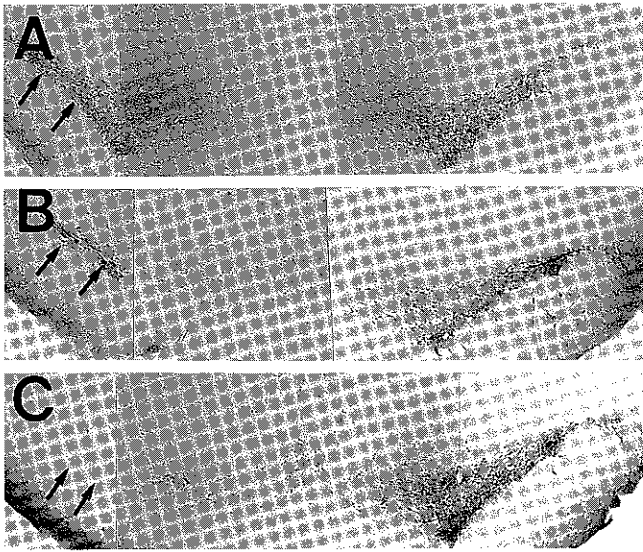


Fig. 4. A : Photomicrograph of TH immunohistochemically stained SN of normal rat($\times 10$). B : photomicrograph of TH immunohistochemically stained SN of rat with more than 90 turns/30 min in group 2($\times 10$). There is a more than 80% loss of TH staining neurons in SNpc on lesioned side. C : photomicrograph of TH immunohistochemically stained SN of rat in group 1($\times 10$).

백서 파킨슨씨병 모형의 회전운동 측정시 저자는 회전반응을 단순히 일측성 회전에 따라 분류하지 않고 뒷발을 축으로 짧은 원을 형성하는 축회전과 넓은 원을 형성하는 광회전으로 분류하였는데, 일반적으로 축회전을 보인 제 1형의 백서의 경우 apomorphine 유발 회전운동 검사시 회전수가 179.7 ± 23.3 회로 광회전을 보인 제 2형의 111.3 ± 13.2 회 보다 많았고 제 1형과 2형의 회전수간에는 통계학적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.01$). 또한 백서의 파킨슨씨병 모형의 완성을 역시 제 1형은 85%로 제 2형의 66.7%보다 높았고 이 두군의 파킨슨씨병 완성을도 통계학적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.01$). 1980년 Pycock²⁰⁾의 백서의 회전운동에 대한 연구결과를 보면, 그는 축회전이란 뒷발을 중심으로 축을 이루는 회전을 의미하며 apomorphine에 의한 회전운동은 대부분 축회전이며 amphetamine에 의한 회전은 대부분 광회전이라고 하였다. 그러나 저자의 연구에 의하면, apomorphine에 의한 회전운동은 축회전과 광회전의 두가지를 모두 포함하고 있으며 대부분의 연구 논문에서는 이것에 대한 분류나 언급이 없었다⁵⁾¹⁶⁾¹⁹⁾²³⁾²⁶⁾. 저자의 연구 결과 또다른 새로운 결과는 제 1형의 3마리는 비록 백서 파킨슨씨병의 범주에 포함되지 못했지만, 이 3마리를 포함한 제 1형의 모든 백서들이 병변 부위 흑질에서 95%이상의 tyrosine hydroxylase 양성 염색 신경세포의 소실을 보였다는 점이다. 이는 회전 양상이 축회전인 경우가 광회전과는 달리 회전수와 상관없이 흑질의 도파민성 신경세포의 소실과 밀접한 관계가 있다는 것을 의미한다고 볼 수 있으며, apomorphine 유발 회전운동 검사를 통한 백서 파킨

슨씨병 모형의 평가시 단순히 회전수 뿐만 아니라 회전의 양상도 고려해야할 중요한 인자임을 암시한다고 할 수 있다.

백서 파킨슨씨병 모형의 선정에 있어 apomorphine 유발 회전운동시 또하나의 중요한 요건은 회전운동측정기이다. 회전운동측정기로는 육안으로 측정하거나 광학적, 기계적 회전운동측정기 및 비디오영상 측정기(video image analyzing system) 등이 흔히 이용된다¹⁴⁾²²⁾²⁶⁾²⁸⁾. 저자들은 육안으로 측정하는 방법을 사용하였는데, 육안으로 측정하는 방법은 직접 관찰에 따른 노력 등의 불편함은 있으나 회전운동의 양상을 정확히 관찰 측정할 수 있는 장점이 있다²⁰⁾. 회전운동측정기의 또 다른 중요한 점은 회전운동측정기의 바닥은 일반적으로 반구형²⁶⁾²⁸⁾ 혹은 전구형¹⁴⁾으로 되어 있어 그 자체가 백서의 회전운동을 자극 내지 유발시킬 수 있다는 점이다⁹⁾. 그러나 Pycock²⁰⁾은 일반적으로 과민한 동물에게는 반구형 측정기라도 큰 영향이 없다고 하였다. 저자들은 위에서 열거한 문제점을 제거하기위하여 바닥이 편평한 회전운동측정기를 이용하였다. 본 실험에서 저자는 Carman 등⁷⁾이나 Perese 등¹⁸⁾과 같이 기존의 apomorphine 용량인 8 μ g보다 적은 용량인 6 μ g을 사용하였는데, 기존의 8 μ g과 큰 차이가 없이 백서 파킨슨씨병 모형의 성공율은 제 1형의 85%와 제 2형의 66.7%를 합쳐 총 58%의 성공율을 보였다.

저자의 연구 결과에서 일반적으로 apomorphine에 의하여 유발되는 회전운동과 다른 제 3형 즉 병변 동측으로 회전하는 백서가 3마리 관찰되었는데, tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 소견상 한마리는 75%, 다른 두마리는 50%이하의 적은 도파민성 신경세포의 소실을 보였다. 이러한 일반적인 예측과는 다른 apomorphine에 의한 비정상적인 회전운동의 양상은 아직 정확히 설명되고 있지 않지만 이에 대한 가설들이 Gardner 등¹²⁾, Vaccarino 및 Franklin²⁷⁾, Robinson 및 Becker²¹⁾, Shapiro 등²⁴⁾, Shapiro 등²³⁾과 Schwarting 등²²⁾에 의하여 제기되고 있다. 1987년 Shapiro 등²³⁾은 선조체의 도파민과 회전운동과의 관계가 단순히 도파민이 백서를 반대측으로 회전시키는 것이 아니라, 도파민이 백서의 회전을 촉진 혹은 억제시키는 2가지 군(two-population model)이 따로 존재한다고 하였다. 즉 그들은 도파민성 신경섬유의 지배가 높은 선조체라도 한군(contra > ipsi rat)은 도파민성 신경지배가 적은 쪽으로 회전하고, 다른 한군(ipsi < contra rat)은 도파민성 신경지배가 많은 쪽으로 회전운동을 한다고 주장하였다. 1983년 Robinson 및 Becker²¹⁾는 좌우측의 흑질 선조체간에 한곳이 우성이 되어 도파민의 양이 많은 우성의 선조체에 6-hydroxydopamine으로 병변은 만들면 이것이 단지 부분적인 도파민의 감소를 일으킬 수 있어서 amphetamine 유발 회전운동 검사에서 파킨슨씨병 모형이 일반적으로 예측하던 병변 동측의 회전과는 다른 병변 반대측으로 회전을 보일 수 있다고 하였다. 그러나 이와는 달리 1991년 Schwarting

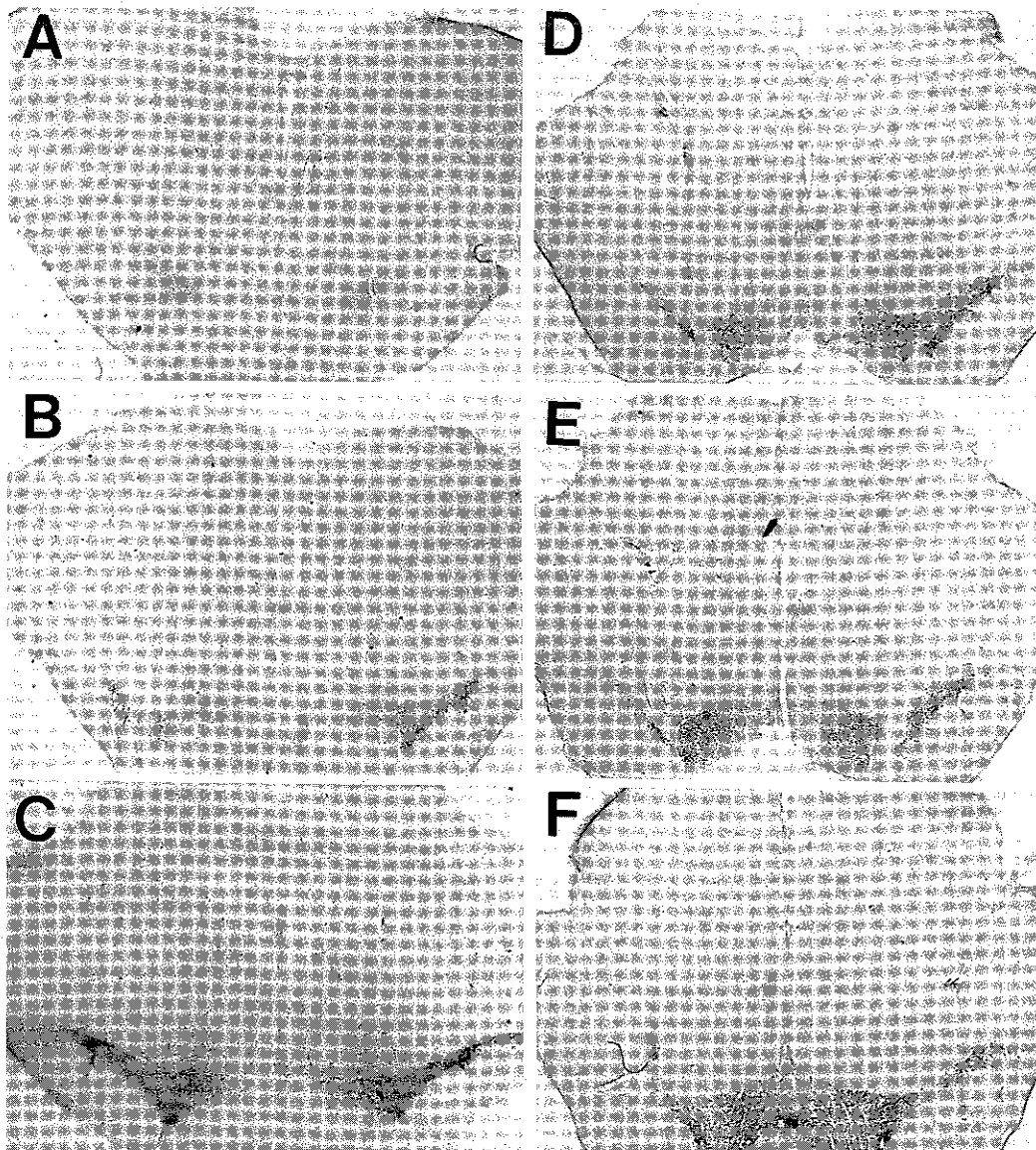


Fig. 5. Photomicrograph of TH immunohistochemically stained SN of rat in group 3(X10). There is a less than 80% loss of TH staining neurons in SN on lesioned side.

등²²⁾은 6-hydroxydopamine으로 유발시킨 백서 파킨슨씨병 모형은 apomorphine 유발 회전운동 검사에서 도파민성 신경세포의 손상 정도에 따라 3가지 유형의 회전운동을 보여 첫번째로 자발적인 병변 동측 회전을 보이며 apomorphine(0.05mg/kg) 주사 후 병변 반대측의 회전을 보이는 유형이 있고, 두번째로 자발적인 병변 동측 회전은 보이나 apomorphine 주사 후 병변 반대측의 회전이 유발되지 않는 유형이 있으며, 세번째 유형으로 자발적인 병변 동측 회전과 apomorphine 유발 회전운동을 모두 보이지 않는 경우가 있다고 하였다. 또한 그들은 이러한 3가지 유형 중 첫번째 유형에서는 99% 이상 거의 전부, 두번째 유형에서는 적어도 93% 이상, 세번째 유형에서는 74% 정도의 도파민 결핍이 병변 부위에서 관찰되었다고 하였다. 이와 같이 저자들에 따라

서 아직도 백서 파킨슨씨병 모형의 apomorphine에 의한 회전운동에 대한 설명이 다양하며 정확한 이해가 부족한 상황이다.

저자의 연구 결과에서 apomorphine 유발 회전운동 검사상 병변 반대측으로의 축회전을 보인 제 1형과 광회전을 보인 제 2형중 파킨슨씨병 모형의 범주에 포함되었던 백서들에서는 적어도 80% 이상의 tyrosine hydroxylase 양성 염색 신경세포의 소실을 관찰할 수 있었고, 제 3형의 두 마리에서는 50%정도의 적은 tyrosine hydroxylase 양성 염색 신경세포의 소실을 관찰할 수 있어서 Schwarting 등²²⁾의 결과와 일부 유사한 점이 있다. 그러나 축회전을 보인 제 1형중 3마리는 분당 3회 이하의 적은 수의 회전을 보여서 파킨슨씨병의 모형의 범주에 포함되지 못하였으나 tyrosine hydroxylase 면역조직화학적 염색 검사상

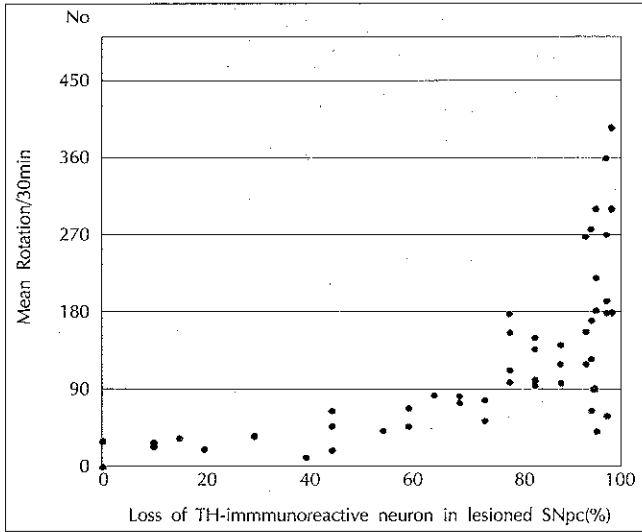


Fig. 6. The relationship between loss of TH-immunoreactive neurons in SNpc on lesioned side and mean number of apomorphine-induced rotations. The loss of TH-immunoreactive neurons in SNpc on lesioned side was positively correlated with mean number of apomorphine-induced rotations.

95%이상의 양성 염색 신경세포의 소실을 보였고, 파킨슨병의 범주에 포함되지 못한 제 2형의 6마리와 제 3형의 1마리도 75% 정도의 tyrosine hydroxylase 양성 염색 신경세포의 소실을 보였던 점에서 본 연구 결과는 Schwarting 등²²⁾의 결과와 차이점을 보였다. 따라서 백서 파킨슨병 모형의 회전운동은 단순히 도파민 결핍의 양만이 아닌 Robinson 및 Becker²¹⁾나 Shapiro 등²³⁾이 주장하는 것과 같은 또 다른 기전이 있을 수 있을 것으로 사료되며 향후 이에 대한 연구가 뒤따라야 될 것으로 생각된다.

결론

이상의 결과를 통하여 저자는 6-hydroxydopamine을 이용한 흑질의 선택적인 파괴와 복측 피개부가 보존된 부분적 손상 백서 파킨슨병 모형을 apomorphine 유발 회전운동 검사를 통하여 평가할 경우 단순한 회전수 뿐만 아니라 회전의 양상도 백서 파킨슨병 모형의 완성 유무에 고려해야 할 중요한 인자임을 알 수 있었다. 그러나 apomorphine 유발 회전운동 검사상 병변 동측으로 회전하는 백서가 관찰되었는데, 향후 이와같은 비정상적인 회전 양상의 기전에 대한 연구가 뒤따라야 될 것으로 사료된다.

- 논문접수일 : 1995년 10월 19일
- 심사완료일 : 1995년 3월 18일

References

1) Agid F, Javoy F, Glowinski J : *Hyperactivity of remaining do-*

paminergic neurons after partial destruction of the nigrostriatal dopaminergic system in the rat. Nature(London) 245 : 150-151, 1973

2) Anden NE, Dahlström A, Fuxe K, et al : *Functional role of the nigro-neostriatal dopamine neurons. Acta Pharmacol Tox* 24 : 263-274, 1966

3) Annett LE, Dunnett SB, Martel FL, et al : *A functional assessment of embryonic dopaminergic grafts in the marmoset. Prog Brain Res* 82 : 535-542, 1990

4) Bankiewicz KS, Plunkett RJ, Jacobowitz DM, et al : *Fetal non-dopaminergic neural implants in parkinsonian primates. J Neurosurg* 74 : 97-104, 1991

5) Björklund A, Stenevi U : *Reconstruction of the nigrostriatal pathway by intracerebral nigral transplants. Brain Res* 177 : 555-560, 1979

6) Burns RS, Chiu CC, Markey SP, et al : *A primate model of parkinsonism : selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1, 2,3,6-tetrahydropyridine. Proc Natl Acad Sci* 80 : 4500-4546, 1983

7) Carman LS, Gage FH, Shults CW : *Partial lesion of the substantia nigra : Relation between extent of lesion and rotation behavior. Brain Res* 553 : 275-283, 1991

8) Chang JW, Chung SS : *Effects of fetal nondopaminergic cortical tissue transplantation in the rat parkinsonian model. J Kor Neurosurg Soc* 23 : 487-498, 1994

9) Cohn ML, Cohn M, Taylor FH : *Thyrotropin releasing factor (TRH) regulation of rotation in the non-lesioned rat. Brain Res* 96 : 134-137, 1975

10) Date I, Notter MFD, Felten SY, et al : *MPTP-treated young mice but not aging mice show partial recovery of the nigrostriatal dopaminergic system by stereotaxic injection of acidic fibroblast growth factor(aFGF). Brain Res* 526 : 156-160, 1990

11) Doucet G, Murata Y, Brundin P, et al : *Host afferents into intrastriatal transplants of fetal ventral mesencephalon. Exp Neurol* 106 : 11-19, 1989

12) Gardner EL, Zukin RS, Makman MH : *Modulation of opiate receptor binding in striatum and amygdala by selective mesencephalic lesions. Brain Res* 194 : 232-239, 1980

13) Heim RC, Willingham G, Freed WJ : *A comparison of solid intraventricular and dissociated intraparenchymal fetal substantia nigra grafts in rat model of Parkinson's disease : impaired graft survival is associated with high baseline rotational behavior. Exp Neurol* 122 : 5-15, 1993

14) Jerussi TP, Glick SD : *Amphetamine-induced rotation in normal rats and interaction with unilateral caudate lesions. Neuropharmacology* 13 : 283-286, 1974

15) Kaakkola S, Teräväinen H : *Animal models of parkinsonism. Pharmacol & Toxicol* 67 : 95-100, 1990

16) Lindvall O, Björklund A : *Transplantation strategies in the treatment of Parkinson's disease : Experimental basis and clinical trials. Acta Neurol Scand* 126 : 197-210, 1989

17) Marshall JF, Ungerstedt U : *Supersensitivity to apomorphine following destruction of the ascending dopamine neurons : quan-*

- tification using the rotational model. *European J Pharmacol* 41 : 361-367, 1977
- 18) Perese DA, Ulman J, Viola J, et al : A 6-hydroxydopamine-induced selective parkinsonian rat model. *Brain Res* 494 : 285-293, 1989
- 19) Perlow MJ, Freed WJ, Hoffer BJ, et al : Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Science* 204 : 643-647, 1979
- 20) Pycocck CJ : Turning behavior in animal. *Neuroscience* 5 : 461-514, 1980
- 21) Robinson TE, Becker JB : The rotational behavior model : Asymmetry in the effects of unilateral 6-OHDA lesions of the substantia nigra in rats. *Brain Res* 264 : 127-131, 1983
- 22) Schwarting RKW, Bonatz AE, Carey RJ, et al : Relationships between indices of behavioral asymmetries and neurochemical changes following mesencephalic 6-hydroxydopamine injections. *Brain Res* 554 : 46-55, 1991
- 23) Shapiro RM, Glick SD, Camarota NA : A two-population model of rat rotational behavior : Effects of unilateral nigrostriatal 6-hydroxydopamine on striatal neurochemistry and amphetamine-induced rotation. *Brain Res* 426 : 323-331, 1987
- 24) Shapiro RM, Glick SD, Hough LB : Striatal dopamine uptake asymmetries and rotational behavior in unlesioned rats : revising the model? *Psychopharmacology* 89 : 25-30, 1986
- 25) Ungerstedt U : Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol Scand Suppl* 367 : 69-93, 1971
- 26) Ungerstedt U, Arbuthnott GW : Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res* 24 : 485-493, 1970
- 27) Vaccarino FJ, Franklin KBJ : Dopamine mediates ipsi- and contraversive circling elicited from the substantia nigra. *Pharmacol Biochem Behav* 17 : 431-434, 1982
- 28) Waddington JL, Crow TJ : ethodological problems in the measurement of drug-induced rotational behavior : continuous recording reveals time-course differences undetected by previous techniques. *Psychopharmacology* 58 : 153-155, 1978