

모체 thyroxine 투여가 새끼 흰쥐 대뇌의 태아 알코올 효과에 미치는 영향

조선대학교 대학원 의학과, 의과대학 해부학교실*, 소아과학교실†

김 복 · 정윤영* · 박상기†

Effect of maternal thyroxine treatment on the offspring's brain development with fetal alcohol effects in the rats

Jin Fu, M.D., Yoon Young Chung, M.D.* and Sang Kee Park, M.D.†

Department of Medicine, Graduate School, Departments of Anatomy* and Pediatrics†, College of Medicine, Chosun University, Gwangju, Korea

Purpose : This study aimed to investigate whether exogenous thyroxine(T₄) treatment to alcohol-fed dams would ameliorate the detrimental effects of alcohol on the postnatal development of neuropeptide-Y(NPY)-containing neurons of the cerebral cortex and hippocampus of the offspring.

Methods : Time-pregnant rats were divided into three groups. An alcohol-fed group A received 35 calories of liquid alcohol diet daily from gestation day 6; control group B was fed a liquid diet in which dextrin replaced alcohol isocalorically; and alcohol+T₄ group C received 35 calories of liquid alcohol diet and exogenous thyroxine subcutaneously. The features of the growth and maturation of rat brain tissue were observed at 0, 7, 14, 21 and 28 postnatal days via immunohistochemistry.

Results : Group C showed prominent NPY immunoreactivity in the cerebral cortex compared to group A and B at P7. In group C, NPY-containing neurons were widely distributed in the all layers of cerebral cortex after P14. Also, numerical decreases of NPY-containing neuron were not found according to increasing age in group C. A decrease of NPY-containing neurons, however, was clearly observed in group A compared to group C at P28. In the hippocampus, similar patterns appeared in groups B and C after P7. Especially, in groups B and C, NPY-containing fibers formed plexus in the cerebral cortex and hippocampus at P14.

Conclusion : These results suggest that the increase of NPY synthesis caused by maternal administration of exogenous thyroxine may convalesce fetal alcohol effects, one of the effects of the dys-thyroid state following maternal alcohol abuse. (*Korean J Pediatr* 2006;49:677-685)

Key Words : Fetal alcohol effects, Thyroxine, Neuropeptide-Y(NPY)

서 론

지속적으로 음주하는 여성에서 태어난 영아는 성장과 형태발생에 변화를 보이는 태아 알코올 증후군(fetal alcohol syndrome)에 대한 감수성이 매우 높다¹⁾. 태아 알코올 증후군은 학습과 기억장애, 지능저하, 집중력장애, 정신발육지연을 보이며,

심한 경우 소두증과 같은 중추신경계의 이상을 나타낼 수 있다²⁾. 특히 배아발생(embryogenesis) 과정 중에 알코올에 노출되면 태아의 대뇌는 포도당과 산소 이용이 감소하여 대뇌 허혈 상태를 야기시켜 대뇌 대사 감소를 초래할 수 있으며 이러한 대사 변화는 중추신경계의 구조와 기능의 붕괴에 따른 이상을 유발한다^{3, 4)}.

현재 임부의 알코올 남용은 그 후손에게 정신발육지연을 일으키는 가장 흔한 원인으로 여겨지고 있다. 임부의 심한 알코올 중독으로 인한 다양한 출생결함을 나타내는 태아 알코올 증후군을 초래하지는 않더라도 임부의 음주 양이 중간정도 수준으로 지속적이며 영양실조가 동반되면 행동과 학습장애 등을 나타내는 태아 알코올 효과를 야기시킬 수 있다. 특히 태아의 뇌 발생에 예민한 결정적 기간(critical period) 동안 며칠씩 지속적으로

본 논문은 2005년 제55차 대한소아과학회 추계학술대회에서 구연 발표하였고 일본 동경에서 열린 2005년 제1차 아시아 소아연구학회(Asian Society for Pediatric Research) 학술대회에서 포스터 발표하였음.

접수 : 2006년 1월 13일, 승인 : 2006년 2월 15일
책임저자 : 박상기, 조선대학교 의과대학 소아과교실

Correspondence : Sang Kee Park, M.D.
Tel : 062)220-3043 Fax : 062)227-2904
E-mail : skpark@chosun.ac.kr

음주하는 경우 태아 알코올 효과를 나타내기 쉬운 것으로 알려져 있다⁵⁾.

또한 임신 중 알코올을 섭취한 어머니는 혈액 내 thyroxine량이 현저히 감소하여 자궁 내 상태를 갑상샘 기능저하 상태로 유도하고 이는 새끼들의 중추신경계에 이상을 유발한다⁶⁾. 임신 중 알코올에 노출되면 어머니뿐만 아니라 태어난 새끼의 혈액 내 thyroxine량이 모두 감소하는데 이는 갑상샘의 이상 발생에 기인한 것이라는 보고도 있다⁷⁾. 갑상샘 호르몬은 태아 발생 중 매우 중요한 역할을 하는데, 갑상샘 호르몬 결핍은 신경세포의 증식과 이동 장애, 수초형성 장애 및 연접형성 지연 등과 같은 중추신경계의 형태학적 변화를 초래하는 것으로 알려져 있다^{8,9)}. 갑상샘 호르몬은 특히 신경 영양물질과 그 수용체의 발현을 조절하는데 환쥐에 thyroxine을 투여하면 뇌의 여러 부위에서 신경 영양물질의 발현이 증가한다는 보고가 있다¹⁰⁾. 한편 신경 영양물질은 신경펩티드의 발현을 유도하여 신경그물형성 뿐만 아니라 신경전달물질의 조절 등에 관여한다는 보고가 있다¹¹⁾.

Neuropeptide Y(NPY)는 36개의 아미노산으로 구성된 신경펩티드이며 사람뿐만 아니라 여러 포유동물의 대뇌결절을 포함한 뇌의 여러 부위에 catecholamine, somatostatin 등과 함께 광범위하게 분포하고 있는 신경전달물질로 알려지고 있다^{12,13)}. 또한 NPY는 심혈관계 기능, 일간리듬, 음식섭취 등 자율신경 조절에 영향을 미치며 중추신경계의 성숙에도 필수적인 역할을 하는 대표적인 신경활성물질이다¹⁴⁾.

따라서 본 연구는 모체 thyroxine 투여가 태아 알코올 효과에 미치는 영향을 알아보고자 임신 중 알코올을 남용한 모체에서 태어난 후손과 지속적인 음주를 하고 있는 동일한 상태의 모체에 thyroxine을 투여하여 태어난 후손의 대뇌결절 및 해마에서 NPY 함유 신경세포의 생후 성장과 발달 양상을 면역조직화학염색을 이용하여 비교 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물과 실험군

체중이 200-250 g의 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐 36 마리를 숫컷과 교배시켜 임신 6일부터 6마리씩 세 군과 18마리의 대리모군으로 분류하였다. A군은 30% 알코올을 매일 35칼로리 정도 섭취하게 한 알코올군으로, B군은 알코올 대신 dextrin이 첨가된 경장 영양제(Ensure[®] liquid, Japan)를 A군과 같은 칼로리로 매일 섭취하게 한 정상군으로, C군은 A군과 같은 양의 알코올을 섭취함과 동시에 매일 5 µg/kg의 L-thyroxine sodium salt(Sigma)를 NaCl 용액에 녹여 임신 어머니의 목 뒷부분에 피하 주사하여 알코올+T₄ 군으로 하였다. 이와 같은 식이와 처치는 임신 6일째부터 새끼들을 분만할 때까지 계속하였다. 대리모군은 흰쥐 사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 네 군의 임신 흰쥐는 각각의 cage에서 따로 사육하고 21℃의 실내온도와 12시간씩 명암조절을 해주었다.

본 실험에 사용한 T₄의 용량은 Nathaniel 등¹⁵⁾의 보고에 근거하여 임신 중인 어미와 태아의 갑상샘의 기능을 항진시키지 않고 알코올 노출에 의해 저하된 T₄ 양을 충분히 보충하기에 적당한 5 µg/kg/day을 사용하였다. A, B, C군의 어미들은 분만 6시간 후 새끼들과 분리시켜 마취하여 심장체혈을 하여 혈액 내 알코올 농도와 thyroxine량을 측정하였다.

A, B, C군에서 태어난 새끼들은 그 어미와 분리하여 대리모군의 대리모가 키우게 하였다. 한 어미에서 태어난 한 배의 새끼들은 다른 배의 새끼들과 섞이지 않도록 하였다. 본 실험에서는 각 실험군의 모체가 분만한 후 대리모를 사용하여 그 새끼들을 키우게 하였는데 그 이유는 우선 세 군의 모든 모체 혈액을 검사하여야 할 뿐만 아니라 Nathaniel 등¹⁵⁾이 보고한 바와 같이 A군과 C군의 어미는 알코올에 노출되어 oxytocin 분비가 억제되어 유즙 분비가 감소하며, 어미의 갑작스런 알코올 섭취 중단으로 인해 행동 변화를 초래할 가능성이 있고 세 군 모두에서 동일하게 모체와 새끼간의 밀접한 관계를 유지시키기 위해서였다.

2. 조직처리 및 표본제작

한 배의 새끼 1마리씩 총 6마리를 생후 0, 7, 14, 21, 28일(P0, P7, P14, P21, P28)에 희생시켰다. 생후 0일과 7일의 실험동물은 ether 흡입 마취시켰고, 나머지 연령의 실험동물은 pentobarbital sodium(60 mg/kg, 중의제약)을 복막 안에 주사하여 마취시킨 다음 가슴벽을 열고 좌심실에 관류용 도관을 삽입 후, heparin(250 unit/mL, 녹십자)을 함유한 생리식염수로 관류세척하고 0.1 M phosphate buffer(PB, pH 7.4)에 녹인 4% paraformaldehyde 용액이나 Zamboni 고정액으로 관류 고정한 다음 뇌를 적출하여 동일한 고정액에 담가 4℃에서 12시간 동안 후고정하였다. Free-floating 방법으로 면역조직화학염색을 시행하기 위해 고정된 뇌조직은 후고정한 다음에 30% sucrose에 넣고 24시간 이상 침적시킨 후 꺼내어 동결절편기를 이용해 35 µm 두께로 연속관상 동결절편을 제작하여 glycerol과 ethylene glycol 이 함유된 저장용액에 담가 4℃에 보관하였다.

3. 면역조직화학염색

저장용액에 보관한 조직절편을 매 5장마다 1장씩 취하여 0.1 M PB로 옮겨서 수차례 수세한 후 과산화수소(H₂O₂)로 처리하여 내인성 과산화효소의 활성을 억제하였으며 다시 0.1 M PB로 세척한 후 면역조직화학반응을 실시하였다.

면역염색의 첫 단계로 비특이적 반응을 줄이기 위하여 3% normal goat serum(Vector)을 실온에서 1시간 반응시켰다. 1차 항체는 rabbit anti-NPY(1:1,000, Incstar)를 사용하였으며, 4℃에서 24-48시간 동안 진동시키면서 반응시켰다. 2차 항체는 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vector)를 1:200으로 희석하여 실온에서 1시간 반응시켰으며 peroxidase가 표지된 avidin-biotin complex(ABC, Vector)를 1:100으로 희석하여 실온에서 1시간 가량 반응시킨 후, 3,3'-diaminobenzidine tetrahy-

drochloride(DAB, Sigma)를 0.1 M PB에 녹여 기질용액으로 사용하였는데 반응 직전에 H₂O₂를 0.003%가 되도록 첨가하였으며, 실온에서 5-10분간 반응시킨 후 현미경하에서 발색 정도를 확인하였다. 그 후 0.1 M PB로 2-3회 세척한 후 염색한 조직절편들을 젤라틴이 피막된 슬라이드에 부착하여 실온에서 12시간 이상 건조한 다음, 통상의 조직탈수과정을 거쳐 polymount(Polysceince)로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 혈중 알코올과 thyroxine 농도

A, B, C군 어미의 혈중 알코올과 thyroxine 농도는 Table 1

Table 1. Blood Ethanol and Thyroxine Levels in Maternal Rats

Blood	Alcohol group A (n=6)	Control group B (n=6)	Alcohol+T ₄ group C (n=6)
Alcohol(%)	0.016±0.005*	0	0.013±0.006*
Thyroxine(μg/dL)	2.02±0.27*	3.12±0.24	3.31±0.42

Values are means±standard deviation
*Indicates significant difference from the control group at the P<0.05 level determined by Kruskal-Wallis test

과 같았다. Kruskal-Wallis test로 세 군간의 알코올 농도와 thyroxine량을 비교한 결과 B군에 비해 A와 C군의 알코올 농도가 각각 유의하게 높았으며 A군의 thyroxine량이 B군에 비해 유의하게 낮았다(P<0.05).

2. NPY 함유 신경세포의 분포

1) 대뇌겉질

생후 0일에 B군에서는 주로 IV, V, VI 층에서 NPY 함유 신경세포들이 관찰되었으며 A군과 C군에서는 주로 V, VI 층에 국한되어 B군보다 적게 나타났고 C군이 A군보다는 세포 수가 좀 더 많이 관찰되었다(Fig. 1A-1C). 각 군에서 NPY 함유 신경세포의 형태를 확대하여 관찰한 결과, B와 C군에서는 뚜렷하고 긴 돌기를 가진 두극 또는 못극 신경세포들(multipolar neurons)이 관찰되었는데 B군에서 더 두드러졌다. A군에서는 짧고 두꺼운 돌기를 가진 미성숙 양상을 띤 NPY 함유 신경세포들만 관찰되었다(Fig. 1D-1F).

생후 7일에는 세 군에서 NPY 함유 신경세포 수가 모두 이전 연령보다 증가하였으며 C군에서는 B군과 유사하게 전 층에 걸쳐 산재되어 관찰되었으나 A군에서는 주로 IV, V, VI 층에서 관찰되었고 여전히 B군과 C군보다는 적게 관찰되었다(Fig. 2A-2C). 세포의 모양을 확대해 본 결과, C군에서는 A군과 B군에 비해 뚜렷하고 긴 돌기를 가진 크기가 큰 NPY 함유 신경세포들이 관찰되었으며 A군에서는 이전 연령과 비슷한 짧고 두꺼운

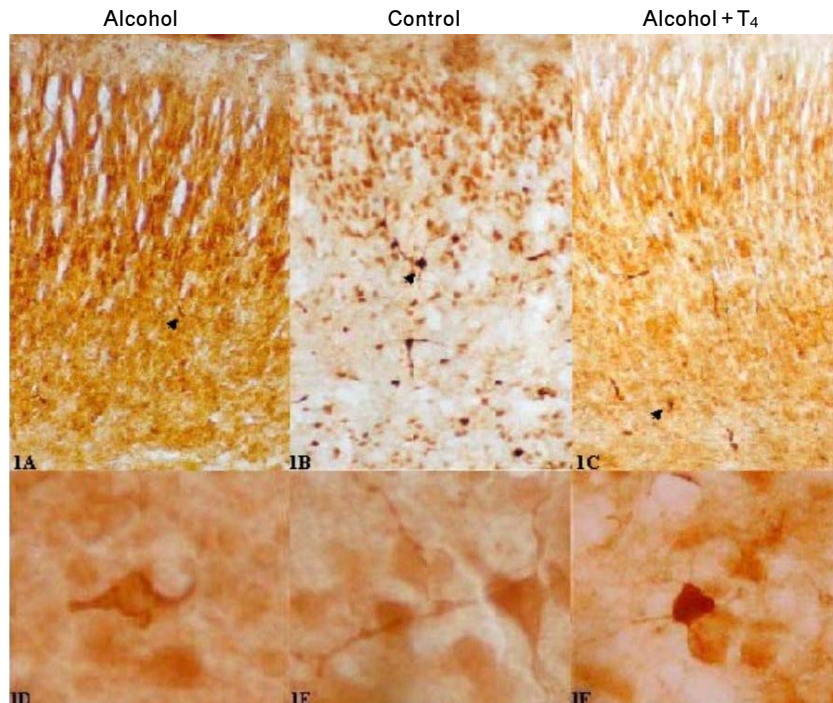


Fig. 1. NPY-containing neurons in the cerebral cortex at P0. Arrows in A-C were shown at higher magnification in D-F. The intensity of NPY immunoreactivity was most prominent in control group. In alcohol group, NPY-containing neuron exhibited immature neuronal feature with a round soma and thick primary process from the soma. 200×(A, B, C), 400×(D, E, F).

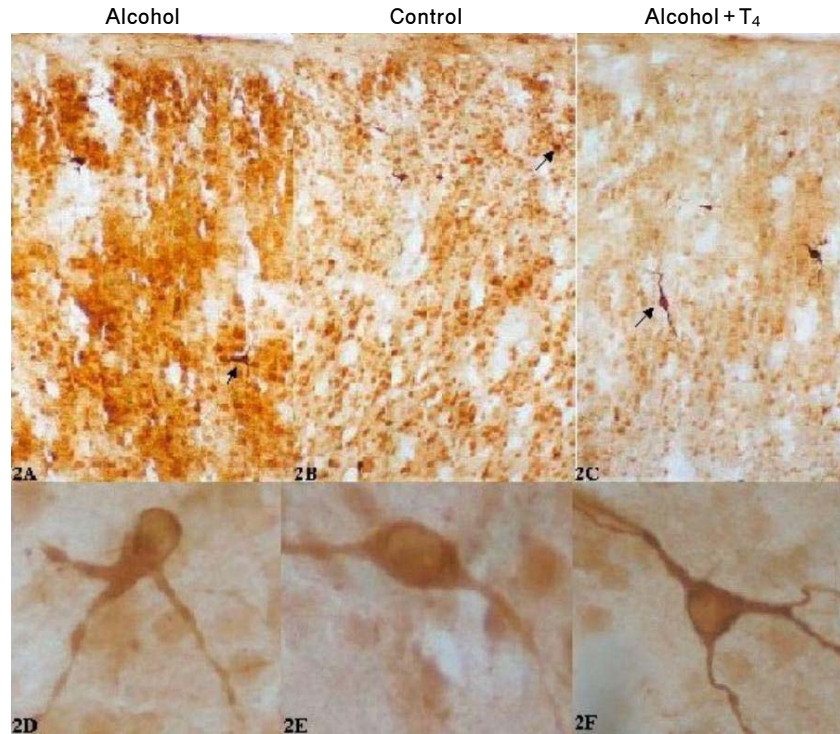


Fig. 2. NPY-containing neurons in the cerebral cortex at P7. Arrows in A-C were shown at higher magnification in D-F. In alcohol+T₄ group, NPY-containing neurons had larger, more irregularly shaped soma and intensely stained cytoplasm. In addition, their processes had increased in length, thickness and complexity. 200×(A, B, C), 400×(D, E, F).

돌기를 가진 신경세포들만 관찰되었다(Fig. 2D-2F).

생후 14일에는 세 군에서 모두 이전 연령보다 NPY 함유 신경세포 수가 현저히 증가하였고 전 층에 걸쳐 분포되었는데 B와 C군에서 A군에 비해 더 두드러졌다. C군에서는 B군과 유사하게 전 층에 걸쳐 다수의 NPY 함유 신경세포들이 관찰되었다(Fig. 3A-3C). 또한 B군과 C군은 서로 유사하여 강한 양성 반응을 보이는 신경세포들이 관찰되었으며 신경세포의 돌기에서 결가지 형성이 뚜렷하고 서로 연결되었으나 A군에서는 세포체의 크기는 B, C군과 비슷하였으나 돌기들의 결가지 형성이나 가지의 연결이 뚜렷하게 관찰되지 않았다(Fig. 3D-3F).

생후 21일에 세 군 중 C군의 NPY 함유 신경세포 분포 양상이 가장 두드러지게 관찰되었다(Fig. 4A-4C). C군에서는 긴 돌기를 가진 못극 신경세포들이 주로 관찰되었지만 A군에서는 뚜렷하고 긴 돌기를 가진 NPY 함유 신경세포들이 나타나지 않았다(Fig. 4D-4F).

생후 28일에 A군은 이전 연령이나 다른 군에 비해 NPY 함유 신경세포 수가 현저히 감소하였으며 B군과 C군은 이전 연령과 유사하였고 C군이 가장 두드러진 양성 반응을 보였다(Fig. 5A-5C). B군과 C군에서는 긴 돌기를 가진 세포들이 다수 관찰되었으나 A군에서는 이전 연령과 유사하였다(Fig. 5D-5F).

2) 해마

생후 0일에는 NPY 함유 신경세포가 세 군 모두에서 나타나

지 않았다.

생후 7일에는 A군에서는 NPY 함유 신경세포가 치아이랑(dentate gyrus)에서 소수 출현하였고 C군에서는 B군과 유사하게 해마의 CA1-3 및 치아이랑에서 NPY 함유 신경세포들이 관찰되었는데 C군이 B군에 비해 더 뚜렷한 양상을 보였으며 치아이랑에서 가장 두드러진 양성 소견을 나타냈다(Fig. 6A-6C). 세포의 형태를 확대해 본 결과, A와 B군에 비해 C군에서는 뚜렷하고 긴 돌기를 가지며 크기가 큰 NPY 함유 신경세포들을 다수 관찰할 수 있었는데 주로 치아이랑에서 관찰되었다. B군에서는 뚜렷한 돌기를 가진 못극 신경세포들이 다수 관찰되었으나 A군에서는 짧고 굵은 돌기를 가진 미성숙한 NPY 함유 신경세포들이 주로 관찰되었다(Fig. 6D-6F).

생후 14일에는 A군에서는 이전 연령과 마찬가지로 치아이랑에서 소수의 NPY 함유 신경세포가 관찰되었으며, B, C군도 이전의 연령과 분포 양상은 비슷하였으나 C군에서 CA1 뿐만 아니라 CA2, 3에서도 NPY 함유 신경세포의 분포가 뚜렷하였다(Fig. 7A-7C). 또한 C군에서는 B군과 유사하게 NPY 함유 신경세포체에서 여러 갈래의 돌기들이 나와 나뭇가지 모양의 결가지들을 내어 이웃한 신경세포 돌기들과 연결을 하고 있어 신경얼기를 형성하고 있음을 관찰할 수 있었다. A군에서도 간혹 B, C군과 유사한 긴 돌기를 가진 NPY 함유 신경세포들이 관찰되었으나 돌기들의 결가지와 신경얼기 형성은 관찰되지 않았다

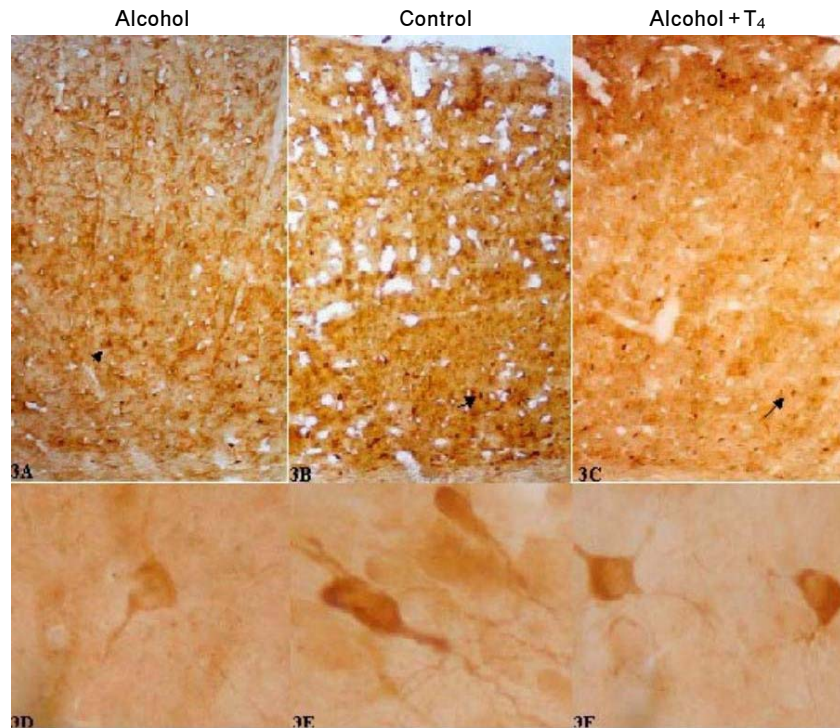


Fig. 3. NPY-containing neurons in the cerebral cortex at P14. Arrows in A-C were shown at higher magnification in D-F. The number of NPY-containing neuron increased in alcohol+T₄ group compared to alcohol group. In control and alcohol+T₄ group, NPY-containing fibers formed plexus. 100×(A, B, C), 400×(D, E, F).

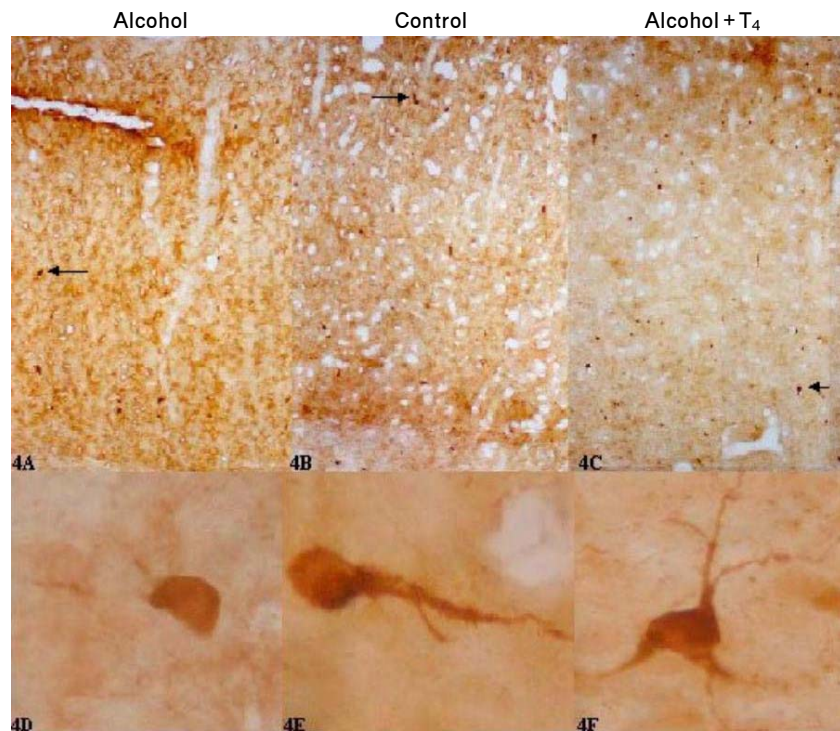


Fig. 4. NPY-containing neurons in the cerebral cortex at P21. Arrows in A-C were shown at higher magnification in D-F. In alcohol+T₄ group, many of NPY-containing neurons were multipolar in shape and their processes had increased in complexity. 100×(A, B, C), 400×(D, E, F).

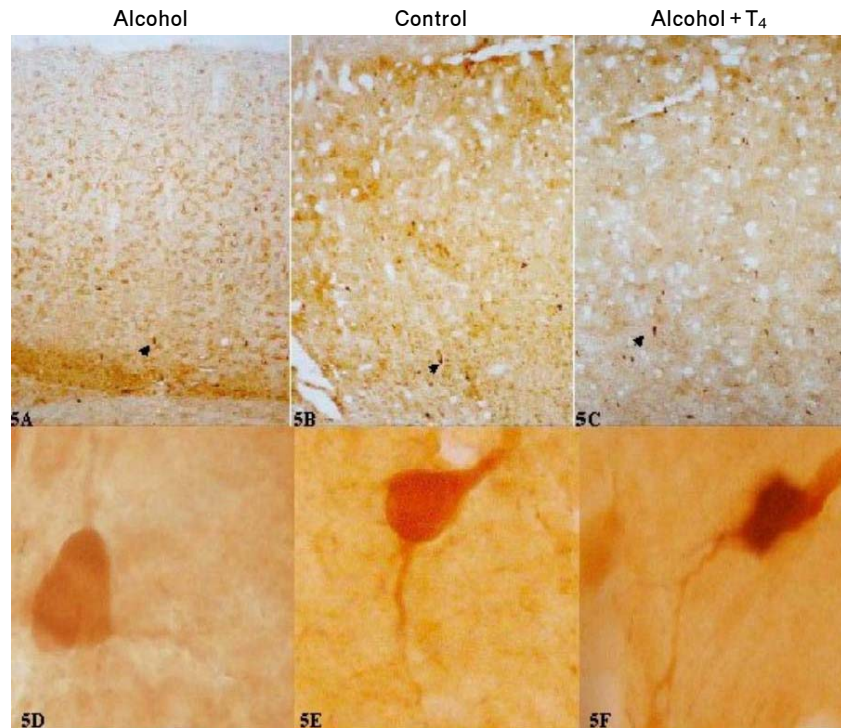


Fig. 5. NPY-containing neurons in the cerebral cortex at P28. Arrows in A-C were shown at higher magnification in D-F. The number of NPY-containing neurons markedly decreased in alcohol group. Also, their morphological character was not significantly changed at this age. 100×(A, B, C), 400×(D, E, F).

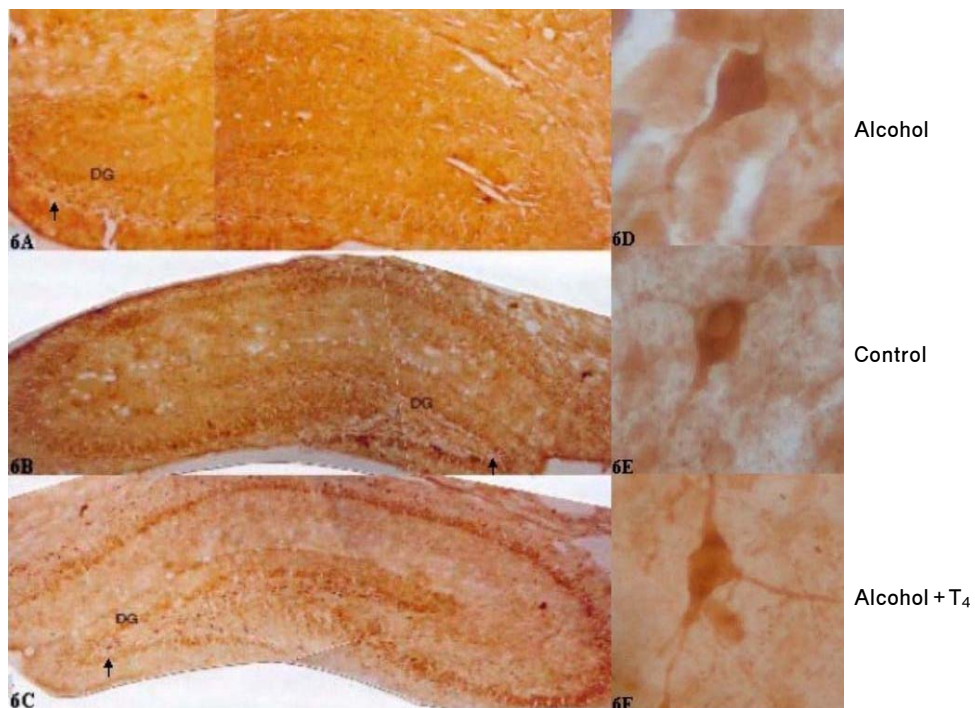


Fig. 6. NPY-containing neurons in the hippocampus at P7. Arrows in A-C were shown at higher magnification in D-F. NPY immunoreactivity was remarkable in dentate gyrus in all groups. The intensity of NPY immunoreactivity was stronger in alcohol+T₄ group as compared to control group. In alcohol group, NPY-containing neuron exhibited immature neuronal feature. 100×(A, B, C), 400×(D, E, F).

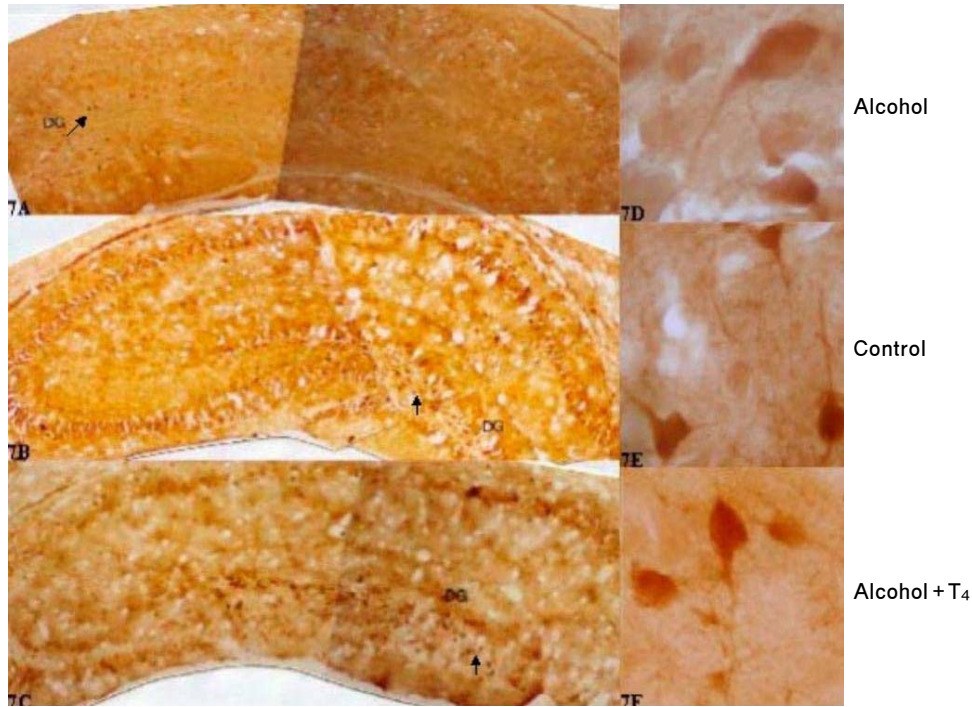


Fig. 7. NPY-containing neurons in the hippocampus at P14. Arrows in A-C were shown at higher magnification in D-F. In alcohol+T₄ group, NPY immunoreactivity was prominently appeared in CA2 and CA3 as compared to control group. In control and alcohol+T₄ group, NPY-containing fibers and terminals formed a rich network. 100×(A, B, C), 400×(D, E, F).

(Fig. 7D-7F).

생후 21일과 28일은 생후 14일과 큰 차이는 없었으나 A군과 B군에서는 이전의 연령과 비교해 NPY 함유 신경세포 수가 약간 감소하는 양상을 나타냈으나 C군에서는 이전의 연령과 비교해 세포 수와 크기에 큰 변화가 없었다.

고 찰

미국에서는 알코올과 관련하여 매년 십만 명 이상이 사망하고 음주를 예방하는 차원에서 매년 천억 정도의 예산이 소요되고 있어 알코올 남용이 주요한 건강문제로 대두되고 있다¹⁶⁾. 또한 알코올 남용은 인지력과 기억력에 영향을 미쳐 Wernicke-Korsakoff 증후군으로 알려진 신경학적 질환과 연관이 있다는 보고가 있다¹⁷⁾. 알코올 남용과 신경학적 질환과의 관련성이 보고되기 이전부터 알코올 중독과 티아민(thiamine) 결핍이 여러 가지 건강 문제를 유발할 수 있다는 것은 잘 알려진 사실이다. 최근 임부의 알코올 남용이 증가하고 있어 태아 알코올 증후군에 대한 관심이 높아지고 있으며 이미 태아 알코올 증후군 환자에서 소녀의 형성부전은 흔히 동반되는 기형으로 밝혀졌다¹⁸⁾.

Heaton 등¹⁹⁾은 발달 중인 흰쥐 중추신경계에서 출생 전 모체의 임신기간 중에 알코올을 투여 받은 경우와 출생 초기에 알코올을 흡입한 경우 신경 영양인자들의 발현에 약간의 차이가 있음을 보고하였다. 또한 갑상샘 호르몬이 중추신경계의 발달에 중

요한 역할을 할 것이라는 보고⁸⁾가 있는 후 알코올로 인한 갑상샘 기능저하와 관련하여 발생하는 붕괴에 의한 이상에 대한 연구가 보고되었다⁹⁾. 알코올에 노출된 후 태어난 흰쥐 소녀 조롱박세포의 성장과 분화는 정상적으로 태어난 경우에 비해 지연되며^{20, 21)}, 알코올과 thyroxine을 동시에 투여한 어미에서 태어난 흰쥐 소녀 조롱박세포를 전자현미경으로 관찰하였더니 알코올을 투여한 어미에서 태어난 경우에 비해 세포내 소기관이 더 발달하여 단백질 합성이 증가한다는 보고¹⁵⁾ 등이 있었다.

본 연구에서는 임신 중 음주로 태아 알코올 효과를 유발시킨 어린 쥐의 뇌와 지속적으로 음주를 하고 있는 임신 흰쥐에 thyroxine을 매일 투여하여 태어난 어린 쥐의 뇌에서 NPY 함유 신경세포의 생후 성장과 발달 양상을 서로 비교하였고 또한 영양상태가 양호한 어미에서 태어난 경우와도 비교하였다. 혈액 내 thyroxine 농도에 관해 Nathaniel 등¹⁵⁾은 thyroxine 투여군의 농도가 정상군과 알코올군의 평균치였으며 thyroxine 투여군의 thyroxine량은 알코올 군과는 유의한 차이가 있었으나 정상 군과는 유의한 차이는 없다고 보고하였다. 본 연구에서도 모체 혈액 내 thyroxine량이 알코올+T₄ 군에서 알코올군에 비해 유의하게 높게 나타난 것은 Nathaniel 등¹⁵⁾의 보고와 유사하였으나 알코올+T₄ 군에서 정상군보다 약간 높게 나타난 것으로 미루어 보아 같은 양의 thyroxine을 투여 받았더라도 개체마다 혈액 내 thyroxine 농도에 차이가 있을 것이라 생각되며 thyroxine량과 투여시기를 서로 다르게 시행하여 비교해 보는 것도 필요할 것

으로 생각된다.

본 연구 결과, 알코올군은 정상군이나 알코올+T₄ 군에 비해 모든 연령에서 NPY 함유 신경세포 돌기의 결가지 형성이 미약하였고 신경얼기 형성이 뚜렷하지 않았으며 생후 28일에는 NPY 함유 신경세포 수가 현저히 감소하는 양상을 나타냈다. 이와 같은 결과는 출생 전 알코올 섭취가 출생 후 속후각결질(entorhinal cortex)에서의 NPY 함유 신경세포의 감소를 일으킨다고 한 Angelucci 등²²⁾의 보고와 유사하였으며 모체 알코올 남용이 속후각결질, 해마 및 치아이랑을 포함한 변연계의 신경세포 발달 이상뿐만 아니라 대뇌결질의 NPY 함유 신경세포의 발달에도 영향을 미칠 수 있다는 것을 암시하였다. MacLennan 등²³⁾은 만성적인 알코올 남용으로 인해 흰쥐 해마에서 신경영양물질이 감소하며 유전자 전사의 이상으로 인해 신경세포 변성 및 신경영양인자의 기능 이상을 초래할 수 있을 것이라고 보고하였다. 신경 영양인자와 그 수용체는 기억의 생성 및 유지와 학습과정 등 고도의 지적 기능 유지에 중요하며 정신분열증과 같은 신경정신병 등에서는 신경연접의 감소가 연접의 기능적인 자극 전도에도 영향을 미쳐 결국 학습 장애와 같은 지적 기능 이상이 유발된다는 보고가 있었다²⁴⁻²⁶⁾. 본 연구에서도 NPY 함유 신경세포 돌기들의 발달이 알코올군에서는 매우 감소되어 있음으로서 태아 알코올 효과는 대뇌결질과 해마 신경세포의 연접 감소 등을 야기시켜 신경전달 기전의 변화를 유발할 것이라고 추측할 수 있었다.

본 연구에서는 특히 생후 14일에 대뇌결질 및 해마 모두에서 알코올+T₄ 군의 NPY 함유 신경세포 분포 및 신경얼기 형성이 두드러진다는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과와 함께 생후 일시적인 갑상샘 기능항진이 brain-derived neurotrophic factor (BDNF) 단백질이나 그 수용체의 mRNA 발현을 생후 10-12일에 증가시킨다는 보고^{27, 28)} 등으로 미루어 보아 출생 전 모체 thyroxine 투여가 출생 후 그 후손의 BDNF와 같은 신경영양물질의 분비뿐만 아니라 NPY와 같은 신경펩티드의 합성에도 영향을 미치며 이는 생후 일시적인 thyroxine 투여 효과와 유사하다는 것을 알 수 있었다. 특히 흰쥐 뇌 발달 과정 중 매우 중요한 시기인 생후 10일경의 신경활성물질들의 발현에 thyroxine 이 중요한 영향을 미칠 것으로 생각된다. 또한 모체 thyroxine 투여가 알코올에 의한 NPY 함유 신경세포 변성을 억제하여 NPY 함유 신경세포 성장의 형태학적 성숙을 유지할 뿐만 아니라 생후 연접의 발달을 유도하는 등 가변성에도 영향을 미칠 수 있을 것으로 보인다.

이상의 결과로 보아 임신 중 알코올 남용을 하는 모체에 지속적인 thyroxine 처치가 출생한 후손들의 뇌에 분포하는 NPY 함유 신경세포의 발달을 정상군과 유사하게 촉진시킬 수 있을 것으로 생각되며 모체 thyroxine 투여가 특히 출생 초기의 NPY 합성에 영향을 미쳐 임신 중 알코올 남용으로 인한 갑상샘 호르몬 부족으로 발생하는 태아 알코올 효과를 개선시킬 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

목 적 : 임신 기간 중 지속적으로 알코올을 섭취하는 모체에 thyroxine을 투여하여 알코올의 유해한 영향으로 인한 대뇌의 태아 알코올 효과를 개선시킬 수 있는지를 알아보고자 했다.

방 법 : 실험동물은 매일 35칼로리 정도의 알코올을 섭취한 알코올군, 알코올 대신 dextrin이 첨가된 유동액을 섭취한 정상군, 알코올군과 같은 양의 알코올을 매일 섭취하고 thyroxine을 매일 5 µg/kg 피하 주사한 알코올+T₄ 군으로 분류하였다. 임신한 흰쥐 모체가 분만이 끝나면 각 군에서 태어난 새끼들은 그 어미와 분리하여 사료와 물을 자유롭게 섭취하는 대리모에게 키우게 하였다. 한 배의 새끼 1마리씩 총 4마리를 생후 0, 7, 14, 21, 28일에 희생시켜 면역조직화학염색을 시행하여 대뇌결질 및 해마에서 생후 연령에 따른 NPY 함유 신경세포의 발달과 성숙 양상을 관찰하였다.

결 과 : 대뇌결질에서는 알코올+T₄ 군에서 생후 7일에 NPY 함유 신경세포들이 알코올군과 정상군보다 더 뚜렷한 양성반응을 나타내기 시작하였으며, 생후 14일 이후부터는 대뇌결질의 전 층에 걸쳐 광범위하게 NPY 함유 신경세포들이 관찰되었고 연령 증가에 따른 세포의 감소가 나타나지 않았으나 알코올군은 NPY 함유 신경세포가 생후 28일에 다른 군에 비해 현저히 감소하는 양상을 나타냈다. 해마에서는 알코올+T₄ 군에서 생후 7일부터 정상군과 유사한 분포 양상을 나타냈으며 알코올군은 뚜렷한 차이를 보였다. 특히 생후 14일에 대뇌결질 및 해마 모두에서 알코올+T₄ 군의 NPY 함유 신경세포 분포 및 신경얼기 형성이 두드러졌다.

결 론 : 임신 중 알코올 남용을 하는 모체에 지속적인 T₄ 투여는 그 후손들의 뇌에 분포하는 NPY 함유 신경세포의 발달을 정상 군과 유사하게 촉진시킬 수 있을 것으로 생각되며 모체 T₄ 투여가 특히 출생 초기의 NPY 합성에 영향을 미쳐 태아 알코올 효과를 개선시킬 수 있을 것으로 생각된다.

References

- 1) Jones KL, Smith DW. Recognition of fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 1973;2:999-1001.
- 2) Abel EL, Hannigan JH. Maternal risk factors in fetal alcohol syndrome: provocative and permissive influences. *Neurotoxicol Teratol* 1995;17:445-62.
- 3) Richardson BS, Patrick JE, Bousquet J, Homan J, Brien JF. Cerebral metabolism in fetal lamb after maternal infusion of ethanol. *Am J Physiol* 1985;249:R505-9.
- 4) Abel EL. Alcohol-induced changes in blood gases, glucose, and lactate in pregnant and nonpregnant rats. *Alcohol* 1996; 13:281-5.
- 5) Hankin JR. FAS prevention strategies. *Alcohol Health Res World* 1994;18:62-9.
- 6) Nathaniel EJ, Nathaniel DR, Mohamed SA, Nahnybida L,

- Nathaniel L. Growth patterns of rat body, brain and cerebellum in fetal alcohol syndrome. *Exp Neurol* 1986;93:610-20.
- 7) Hannigan JH, Bellisario RL. Lower serum thyroxine levels in rats following prenatal exposure to ethanol. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14:456-60.
 - 8) Rami A, Patel AJ, Rabie A. Thyroid hormone and development of rat hippocampus : morphological alterations in granule and pyramidal cells. *Neuroscience* 1986;19:1217-26.
 - 9) Rami A, Rabie A. Delayed synaptogenesis in the dentate gyrus of the thyroid-deficient developing rat. *Dev Neurosci* 1990;12:398-405.
 - 10) Giordano T, Pan JB, Casuto D, Watanabe S, Arneric SP. Thyroid hormone regulation of NGF, NT-3 and BDNF RNA in the adult rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 1992;16:239-45.
 - 11) Bessho Y, Nakanishi S, Nawa H. Glutamate receptor agonists enhance the expression of BDNF mRNA in cultured cerebellar granule cells. *Brain Res Mol Brain Res* 1993;18:201-8.
 - 12) Allen JM, McGregor GP, Woodhams PL, Polak JM, Bloom SR. Ontogeny of a novel peptide, neuropeptide Y(NPY) in rat brain. *Brain Research* 1984;303:197-200.
 - 13) de Quidt ME, Emson PC. Distribution of neuropeptide Y-like immunoreactivity in the rat central nervous system-II. Immunohistochemical analysis. *Neuroscience* 1986;18:545-618.
 - 14) Gray TS, Morley JE. Neuropeptide Y. Anatomical distribution and possible function mammalian nervous system. *Life Sci* 1986;38:389-401.
 - 15) Nathaniel EJH, Hassard T, Burton L, Novak C. Effect of exogenous thyroxine on the development of the purkinje cell in fetal alcohol effects in the rat. *Exp Mol Pathol* 1999;93:601-9.
 - 16) Rice DP. The economic cost of alcohol abuse and dependence. *Alcohol Health Res World* 1993;17:10-1.
 - 17) Langlais PJ. Alcohol related thiamine deficiency : Impact on cognitive and memory functioning. *Alcohol Health Res World* 1995;19:113-21.
 - 18) Clarren SK. Recognition of fetal alcohol syndrome. *JAMA* 1981;245:2436-9.
 - 19) Heaton MB, Mitchell JJ, Paiva M, Walker DW. Ethanol-induced alterations in the expression of neurotrophic factors in the developing rat central nervous system. *Brain Res Dev Brain Res* 2000;121:97-107.
 - 20) Mohamed SA, Nathaniel EJ, Nathaniel DR, Snell L. Altered Purkinje cell maturation in rats exposed prenatally to ethanol-I. cytology. *Exp Neurol* 1987;97:35-52.
 - 21) Mohamed SA, Nathaniel EJH, Nathaniel DR, Snell L. Altered Purkinje cell maturation in rats exposed prenatally to ethanol-II. synaptology. *Exp Neurol* 1987b;97:53-69.
 - 22) Angelucci F, Fiore M, Cozzari C, Aloe L. Prenatal ethanol effects on NGF level, NPY and ChAT immunoreactivity in Mouse entorhinal cortex : A preliminary study. *Neurotoxicol Teratol* 1999;4:415-25.
 - 23) MacLennan AJ, Lee N, Walker DW. Chronic ethanol administration decreases brain-derived neurotrophic factor gene expression in the rat hippocampus. *Neurosci Lett* 1995;197:105-8.
 - 24) Linnarsson S, Bjorklund A, Emfors P. Learning deficit in BDNF mutant mice. *Eur J Neurosci* 1997;9:2581-7.
 - 25) Minichiello L, Korte M, Wolfner D, Kuhn R, Unsicker K, Cestari V, et al. Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron* 1999;24:401-14.
 - 26) Iritani S, Niizato K, Nawa H, Ikeda K, Emson PC. Immunohistochemical study of brain-derived neurotrophic factor and its receptor, TrkB, in the hippocampal formation of schizophrenic brains. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003;27:801-7.
 - 27) Luesse HG, Roskoden T, Linke R, Otten U, Heese K, Schwegler H. Modulation of mRNA expression of the neurotrophins of the nerve growth factor family and their receptors in the septum and hippocampus of rats after transient postnatal thyroxine treatment. I. Expression of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3, and neurotrophin-4 mRNA. *Exp Brain Res* 1998;119:1-8.
 - 28) Roskoden T, Heese K, Otten U, Schwegler H. Modulation of mRNA expression of the neurotrophins of the nerve growth factor family and their receptors in the septum and hippocampus of rats after transient postnatal thyroxine treatment. II. Effects on p75 and trk receptor expression. *Exp Brain Res* 1999;127:307-13.