

운동기술훈련이 태아알코올증후군 흰쥐 모델의 소뇌 발달과 운동기능에 미치는 영향

구현모
영산대학교 물리치료학과

Abstract

The Effect of Motor Skill Training on Motor Function and Cerebellar Development After Alcohol Exposure in Neonatal Rats

Hyun-mo Koo, Ph.D., P.T.

Dept. of Physical Therapy, Youngsan University

The purpose of this study was to test that motor skill training enhance motor function and cerebellar development. Using an animal model of fetal alcohol syndrome—which equates peak blood alcohol concentrations across developmental period-critical periods for the effect of alcohol on body and cerebellar weigh was examined. The effect of motor skill training on motor function and cerebellar developmet of rat exposed alcohol on postnatal days 4 through 10 were studied. Newborn rats were assigned to one of two groups: (1) Control group (CG), via artificial rearing to milk formula and (2) experimental groups (EG), via 4.5g/kg/day of ethanol in a milk solution. After completion of the treatments, the pups were fostered back to lactating dams, and wearing they were raised in standard caged until they were post-natal 48 days. Rats from experimental group of postnatal treatment then spent 10 days in one of two groups: Experimental group II (EGII) was had got motor skill training (training traverse a set of 6 elevated obstacles) for 4 weeks. Experimental group I (EGI) was not trained. Before sacrificing, the rat got examined two behavioral test, body weigh and cerebellar weigh, then coronal sections were processed. The section was investigated the Purkije cell in the cerebellum using light microscope. The results of this study were as follows. 1. In body weight test, the outcome of alcohol groups were significantly lower than the normal group. 2. In cerebellar weight test, the outcome of EG I were significantly lower than CG and EGII. 3. In motor behavioral test, the outcome of EG I was significantly lower than NG and EG II. 4. In Purkinje cells counting test, the outcome of EG I was significantly lower than the NG and EG II. These result suggest that improved motor function induced by motor skill training after postnatal exposure is associated with dynamically altered expression of Purkinje cells and that is related with cerebellar function. Also, these data can potentially serve as a model for therapeutic intervention

Key Words: Fetal alcohol syndrome; Motor skill training; Purkinje cell.

I. 서론

자궁내 태아의 발달 과정에서 알코올에 대한 노출은 심각한 뇌기능의 손상을 초래할 수 있다. 많은 실험적

동물 모델에서 알코올에 대한 노출이 다양한 뇌 영역의 신경세포 소실을 초래하여 움직임, 균형, 보행의 이상 및 학습과 기억 장애와 같은 중추신경계 장애를 나타내는 것으로 보고되었다(O'Leary-Moore 등, 2006). 태아

통신저자: 구현모 hmkoo@ysu.ac.kr

“본 논문은 영산대학교 교내연구비 지원에 의하여 연구되었음”

알코올중후군(fetal alcohol syndrome)으로 알려진 이러한 다양한 임상적 증상들은 임신기간 동안의 만성적인 알코올 섭취의 결과로 나타날 수 있고, 성인기까지 지속되는 특징을 보인다(Sowell 등, 2002).

자궁내 태아의 알코올 노출에 따른 위험인자들은 알코올 노출의 패턴, 특정한 태내 발달 시기와의 관련성, 노출된 알코올의 용량 등으로서 신생아의 장애 발생과 특성에 다양한 영향을 미치게 된다(Livy 등, 2003; O'Leary-Moore 등, 2006). 태아알코올중후군에서는 성장 지연, 장기의 비정상 등과 함께 대뇌피질의 회색질과 백색질 및 소뇌, 피질하구조물(subcortical structure)의 부피 감소와 같은 신경계의 형태학적·기능적 이상이 동반된다(Cardenas 등, 2007; Sandra 등, 2000). 태아알코올중후군을 가진 아동을 대상으로 실시한 MRI 연구에서는 대뇌 피질의 백색질 형성저하증에 의한 두정엽의 크기 감소가 현저하게 나타나는 것으로 보고되었고(Archibald 등, 2001), 특히 소뇌의 부피 감소와 함께 소뇌별레의 전엽 부위가 큰 영향을 받는 것으로 나타났다(Sowell 등, 1996). 또한, 신생 설치류를 이용한 알코올 투여 실험 모델에서는 소뇌 조롱박세포와 과립세포가 현저하게 감소되는 것으로 나타나 신경계의 발달에 심각한 영향을 미치는 것을 확인할 수 있다(Light 등, 2002). 이와 관련된 원인 기전으로서 세포 이주의 결손(Miller, 1993)과 세포 자멸사(Ikonomidou 등, 2000)에 대한 영향, 신경영양성인자의 변화(Light 등, 2001) 등이 제시되어 왔다.

알코올에 의한 신경계의 변화를 연구하기 위한 다양한 실험 모델들이 있으나, 특히 흰쥐의 소뇌는 발달 과정에서 알코올에 의한 세포적, 분자적, 해부학적 결손을 효과적으로 평가할 수 있는 실험 모델로 많이 이용되어 왔다. 일반적으로 소뇌는 움직임의 계획, 동작에 대한 감각정보의 평가, 인지 기능 등과 관련된 뇌영역으로서 알려져 있고, 알코올에 의한 영향으로 인해 다른 부위와 구별되는 운동학습 관련 증상들이 동반되어 나타나게 된다. 소뇌에서 매우 중요한 역할을 수행하는 조롱박세포(purkinje cell)는 오름섬유(climbing fiber)와 이끼섬유(mossy fiber)를 통해 외부로부터 자극을 전달받아 심부 소뇌핵으로 정보를 전달하며, 이 과정에서 소뇌국소회로를 형성하는 신경세포인 과립세포(granule cell), 바구니세포(basket cell), 별세포(stellate cell)가 조롱박세포와 연결을 이루고 골지세포(Golgi cell)는 과립세포와 연결을 이뤄 되먹임 회로를 형성하여 조롱박세포에 대한 조절작용을 수행하는 것으로 알려져 있다

(이계주, 2001). 이러한 조롱박세포(purkinje cell)는 발달 과정에서 알코올에 의한 세포 소실에 매우 취약하고 행동학적 장애와도 밀접한 관련성이 있는 것으로 보고되었다(Goodlett 과 Lundahl, 1996). 조롱박세포는 소뇌피질에 존재하는 유일한 원심성 신경원으로서 복합운동기술이 발달함에 따라서 평행섬유(parallel fiber)와의 연결이 증가되고, 이는 운동학습과도 관련된다(Lee 등, 2007). 이러한 소뇌-의존성 운동학습 모델은 소뇌로 입력된 감각 정보에 의해서 과립세포(granule cell)가 활성화되어 운동 출력을 담당하는 조롱박세포에 영향을 미치게 되는 구조로 설명할 수 있고, 이 모델에서는 평행섬유(parallel fiber)와 오름섬유(climbing fiber)의 동시적 활성화에 의해서 평행섬유와 조롱박세포의 연결부에서 장기적 억제(long term depression)가 이루어지게 된다(Patric & Wade, 2008; Thompson 등, 1997). 즉, 신경연접의 효율성이 증가되어 운동학습이 유발된다고 볼 수 있다.

운동학습에 있어서 뇌는 반복적인 연습을 통해서 새로운 움직임과 기술을 습득하게 되는데, 특히 소뇌가 학습과 관련된 기능을 수행한다는 사실은 다양한 임상적 및 실험적 증거들로 증명되어왔다(Laura 등, 2007; Thompson 등, 1997). 이와 관련된 연구들에서 다양한 운동 훈련을 통한 소뇌 신경연접의 증가 및 신경회로망의 재구성이 전자현미경적 분석 등을 통해 밝혀지고 있다(Anderson 등, 1996; Kleim 등, 1998; Klintsova 등, 1997, 2002). 또한 운동학습을 통해 소뇌 피질의 연결 형성이 촉진되어 운동수행력의 장애가 개선되는 것으로 알려지고 있으므로(이계주, 2001; Klintsova 등, 2002), 운동학습을 통한 소뇌 발달의 중요성이 더욱 강조되고 있다(Sanes, 2003).

따라서 본 연구에서는 태아알코올중후군 모델을 이용하여 운동기술학습 훈련이 체중 및 소뇌의 무게, 조롱박세포의 수적 변화, 운동기능 수행력에 미치는 영향을 관찰함으로써, 운동기술학습 훈련을 통한 치료적 중재가 소뇌 및 운동기능의 발달에 미치는 영향을 조직학적 및 운동행동학적 측면에서 규명하고자 하였고, 이를 통해 태아알코올중후군 아동들에 대한 치료적 중재의 이론적 근거를 제시하고자 하였다.

II. 연구방법

1. 실험동물

본 연구에서는 체중 250~300 g, 생후 8~10주의

Sprague-Dawley계 모성 흰쥐 6마리로부터 태어난 음성 신생 흰쥐 24마리를 무작위 추출한 후 실험에 이용하였다. 실험동물들은 출생 후 실험적 처치 및 운동훈련을 적용하지 않고 정상적인 발달과정을 거치도록 한 대조군, 생후 4~10일 사이에 알코올을 주입한 후 생후 20일부터 4주간 운동훈련을 실시한 실험군 II, 실험군 II와 동일한 방법으로 알코올을 적용한 후 운동훈련을 적용하지 않은 실험군 I으로 구분하였고 각 군당 8마리씩 무작위 배정하여 실험을 진행하였다. 실험 기간 중 알코올을 주입하는 시간을 제외하고는 모성흰쥐와 함께 사육하여 스트레스를 최소화하였고, 실험군 I에 속한 실험동물들은 실험군 II의 운동기술훈련 적용 시간 동안에 모성 흰쥐로부터 분리하여 실험결과에 미치는 영향을 최소화하였다.

2. 알코올투여 및 운동훈련의 적용

가. 알코올투여

본 연구에서는 신생 흰쥐에게 생후 4~10일까지 7일간 알코올을 투여하여 태아알코올증후군을 유발하는 실험모델을 이용하였다. 생후 4일 시점부터 대조군을 제외한 실험군 I 및 실험군 II에 속한 신생흰쥐를 대상으로 경구적으로 알코올을 투여하였다. 알코올 주입방법은 Klintsova 등(2002)과 Hsiao 등(2002)의 연구에서 사용한 방법을 수정하여 11%(v/v)의 에탄올이 포함된 우유 유동식(4.9 g/kg/day)을 2시간 간격으로 경구용 존데를 이용하여 하루 2회 주입하였다.

나. 운동훈련의 적용

본 실험에서는 권도윤(2001)과 Kleim 등(1998)의 연구에서 사용된 운동학습 모델을 수정하여 운동학습력과 균형 및 협응력을 증진시킬 수 있도록 운동기술훈련을 적용하였다. 훈련 시작 이전 3일 동안 적응기간을 거치도록 하여 스트레스를 최소화하였고, 적응기 첫날은 손으로 집착하여 훈련에 적응할 수 있도록 하였으며 적응기 2~3일에는 각 과제에 5분 정도씩 노출하여 운동기술훈련에 익숙해 질 수 있도록 하였다. 훈련은 쉬운 과제에서 어려운 과제의 순으로 구성하였고, 하루에 1회씩 실시하였다. 실험동물이 훈련의 진행 과정에서 한

장소에 10초 이상 정지하지 못하도록 적절한 소리 자극을 적용하여 훈련의 효율성을 유지하였다.

본 연구에 이용된 운동기술훈련은 다양한 환경과 감각 입력에 제공될 수 있도록 막대 걷기, 밧줄 오르기, 사다리 오르기, 금속체인 오르기, 평행봉 건너기, 격자판 통과하기의 6가지 과제들로 구성하였다.

3. 결과의 측정

가. 소녀의 무게 및 체중 변화

대조군, 실험군 I 및 실험군 II를 대상으로 일반적 인 성장지표인 체중 및 소녀의 무게를 측정하였다. 체중은 알코올을 투여하기 전·후 시점인 생후 4일과 생후 10일, 그리고 운동기술훈련을 실시하기 시작한 날과 훈련이 끝난 4주 후 시점에서 각각 측정하였고, 소녀의 무게는 생후 48일에 실험동물로부터 소녀를 적출하여 측정하였다.

나. 소녀 조롱박세포에 대한 조직학적검사

실험동물들로부터 소녀조직을 채취하고 표본을 제작하기 위해 Ketamine HCl과 Rompun®을 1:2의 비율로 혼합한 마취용액을 복강주사(3 ml/kg)하여 마취를 유도하였다. 통증에 대한 회피반응의 유무를 통해 마취 여부를 확인한 후 .9% NaCl 용액 및 4% paraformaldehyde 용액을 전신 관류하여 혈액제거 및 조직 전고정을 실시한 후 소녀를 분리하였다. 분리한 소녀조직은 4% paraformaldehyde 용액(4°C)에 24시간 동안 보관하여 후고정을 실시하였다. 후고정이 끝난 조직은 30% sucrose 용액에서 24시간동안 침전시킨 후, 에탄올을 이용한 탈수 과정 및 Xylene을 이용한 청명과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하고, 미세절단기¹⁾를 이용하여 5 µm 두께로 절단한 후 슬라이드를 제작하였다. 소녀 조직의 조롱박세포를 관찰하기 위해 소녀 절편에 Cresyl violet 염색을 실시한 후, 봉입제²⁾를 이용하여 최종 봉입하였다. 이 후 광학현미경³⁾을 이용하여 단위 면적당 소녀 조롱박 세포의 수를 정량적으로 분석하였다.

1) Model SM2000R, Leica, Germany.

2) Clarion, Biomedica, U.S.A.

3) Model BX50, Olympus, Japan.

다. 운동행동학적검사

1) 밧줄 오르기 검사(Rope climbing test)

본 연구에서는 체지 움직임 협응력을 검사하기 위해 Klintsova 등(1997)의 연구에서 실시한 방법을 수정하여 적용하였다. 직경이 2.5 cm, 1.9 cm, 1.25 cm의 밧줄을 지면 위 1 m에 수직으로 배치 한 후 2.5 cm의 밧줄의 전반까지 오르도록 전 훈련을 실시한 후 검사를 실시하였다. 밧줄을 오르는 실험동물을 검사자가 관찰하여 점수를 주었다. 검사자의 도움이나 강화가 없이 완벽하게 수행하면 5점, 오르기 시작하는 시점에서 약간의 강화가 주어지면 4점, 강한 강화가 주어지면서, 강화가 중단되었을 때 내려오기를 시도하면 3점, 오르는 동안 계속해서 강화가 주어지면 2점, 오르지 못하거나 밧줄을 잡고 있거나 미끄러지는 경우 1점을 주었다.

2) 공간적 모리스 수중미로 검사(Spatial Morris water maze test)

인지, 기억 및 학습능력을 검사하기 위해 Lacosta 등(1999)이 실시한 검사 방법을 수정하여 사용하였다. 직경 90 cm × 50 cm × 30 cm의 사각풀을 이용하여 지면으로부터 약 15cm까지 물을 채워 직사각형의 한쪽면의 수면 1cm 아래에 직경 11cm의 경사대를 보이지 않게 설치하였다. 물의 온도를 22°C로 유지하고, 의자 및 검사자의 존재로서 공간적인 단서를 제공하였다. 검사를 실시하기 전 3회의 전훈련을 실시한 후 경사대의 위치를 변경하여 3회 검사를 실시하였다. 실험동물이 물에 침수된 시간으로부터 경사대 위를 오르는데 걸리는 시간을 측정하고 최대 허용시간은 60초로 제한하였다.

라. 결과처리 및 분석방법

각 검사의 결과는 기술통계학적 분석을 통해 각 집단에서의 측정값을 평균 및 표준편차를 기술하였으며, 각 집단 간의 차이를 살펴보기 위해 일원배치분산분석을 실시하였다. 통계처리는 SPSS win 10.0을 이용하였고, 유의수준은 .05로 하였다. 그리고 사후검정을 위해 Duncan의 다중범위검정을 이용하였다.

III. 결과

1. 실험동물의 체중 및 소뇌 무게 변화

대조군과 실험군 I 및 실험군 II를 대상으로 생후 48일 시점에서 체중과 소뇌의 무게를 측정하여 체중에 대한 비율로 나타낸 결과는 표 1과 같다. 체중과 소뇌 무게 그리고 소뇌의 무게와 체중에 대한 비율에 있어서 운동기술훈련의 적용에 따른 통계학적 유의성을 검정하기 위하여 일원배치 분산분석을 실시한 결과 체중(F=40.86, p<.05), 소뇌무게(F=38.02, p<.05), 그리고 체중에 대한 소뇌무게의 비율(F=.193, p<.05) 모두에서 통계학적으로 유의한 변화가 관찰되었다(F=.193, p<.05). 그리고 Duncan의 다중범위검정을 이용한 사후검정을 실시한 결과, 체중의 경우 대조군과 실험군 I 및 실험군 II 사이에서는 유의한 차이가 나타났으나, 실험군 I과 실험군 II 사이에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 소뇌무게와 소뇌 무게와 체중의 비율을 나타내는 지수는 대조군과 실험군 I 및 실험군 II 사이에서는 유의한 차이가 나타났고, 실험군 I과 실험군 II 사이에서도 유의한 차이가 나타났다.

2. 소뇌 조직 조롱박세포의 분포 양상

조롱박세포의 형태학적 관찰에 통한 대조군과 실험군 I 및 실험군 II의 단위면적당 조롱박세포의 수를 관찰할 결과는 표 2와 같다. 조롱박세포의 수는 대조군 115.5±4.63개/mm², 실험군 I 66.33±2.85개/mm², 실험군 II 70.00±2.39개/mm²로 나타나 알코올에 노출되지 않은 대조군에 비해 알코올에 노출된 실험군 I과 실험군 II의 조롱박세포의 수가 적었다. 이 세 집단 간의 차이를 알아보기 위하여 일원배치분산분석을 실시한 결과 유의수준이 .00(F=63.524, p<.05)으로 나타나 집단 간에 유의한 차이를 보였다. Duncan의 사후검정에서 대조군과 실험군 I 및 실험군 II 간에 각각 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다(표2)(그림1).

표 1. 각 집단의 체중 및 소뇌 무게의 변화

	체중(g)	소뇌무게(mg)	소뇌무게/체중
대조군	179.83±10.81 ^a	204±113.2	1.13±2.94
실험군 I	154.10±17.26	152±84.9	.98±0.57
실험군 II	157.50±16.92	170±113.2	1.08±1.41

^a평균±표준편차.

3. 운동행동학적 검사

가. 밧줄오르기 검사

실험동물들의 체지 움직임의 협응력을 검사하기 위해 실시한 밧줄오르기 검사의 결과는 표 3과 같다. 일원배치분산분석을 이용하여 세 집단 간의 유의성을 검정한 결과, 직경이 2.5 cm일 때 유의수준이 .00($F=33.409$, $p<.05$), 직경이 1.9 cm일 때 유의수준이 .00($F=18.971$, $p<.05$)로 나타났다. 또한 직경이 1.25 cm에서 유의수준이 .00($F=33.8$, $p<.05$)으로 나타나 모두 통계학적으로 유의한 차이를 나타냈다. 세 집단 내의 각각의 유의성을 살펴보기 위하여 Duncan의 다중범위 검정을 이용하여 사후검정을 실시한 결과 밧줄의 직경이 2.5 cm에서는 대조군과 실험군 I 및 실험군 II 간에 유의한 차이를

표 2. 단위면적당 소뇌조롱박 세포의 수

	대조군	실험군 I	실험군 II
세포수	115.5±13.1 ^a	66.33±8.06	70.00±6.76

^a평균±표준편차.

표 3. 밧줄오르기 검사

단위: 점수

	2.5 cm	1.9 cm	1.25 cm
대조군	3.33±.59 ^a	3.66±.59	4.33±.59
실험군 I	1.16±.45	1.50±.62	1.50±.62
실험군 II	1.50±.62	1.83±.48	3.00±.71

^a평균±표준편차.

표 4. 공간적 모리스 수중미로 검사

단위: 초

	대조군	실험군 I	실험군 II
시간	7.83±2.85 ^a	24.16±4.27	12.33±2.88

^a평균±표준편차.

보였으나 실험군 I 과 실험군 II 사이에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 사후검정을 통하여 개별 집단 간의 유의성을 살펴본 결과 간격이 1.25 cm일 때는 대조군과 실험군 I 및 실험군 II 간에 유의한 차이를 보였을 뿐만 아니라, 실험군 I 과 실험군 II 사이에서도 유의한 차이를 보여 운동기술훈련의 적용으로 운동수행력이 향상되었음을 나타냈다.

나. 공간적 모리스 수중미로 검사

인지, 기억 및 학습능력을 검사하기 위해 공간적 모리스 수중미로 검사를 실시한 결과 대조군은 7.83±1.01 초, 실험군 I 은 24.16±1.51초, 실험군 II는 12.33±1.02 초로 나타나 기억 및 학습능력이 실험군 I 에 비해 실험군 II가 높게 나타났다(표 4). 세 집단 간의 유의성을 검정한 결과 유의수준이 .00($F=48.89$, $p<.05$)으로 나타나 기억 및 학습능력에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. Duncan의 사후검정을 통하여 각 집단 간의 유의성을 살펴본 결과 대조군과 실험군 I 및 실험군 II 간에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났을 뿐만 아니라 실험군 I 에 비해 실험군 II 간에도 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

IV. 고찰

본 연구는 생후 4일령의 신생원쥐에게 알코올성 소뇌 손상을 유발시킨 후 성장기 동안의 운동기술훈련의 적용이 소뇌의 발달과 운동행동학적 변화에 미치는 효과를 살펴보고자 실험을 실시하였다. 이를 위해 소뇌 손상이 유발된 원쥐들에게 운동기술훈련의 습득을 위한 운동훈련을 4주간 적용한 후 일반적인 성장지표로 이용

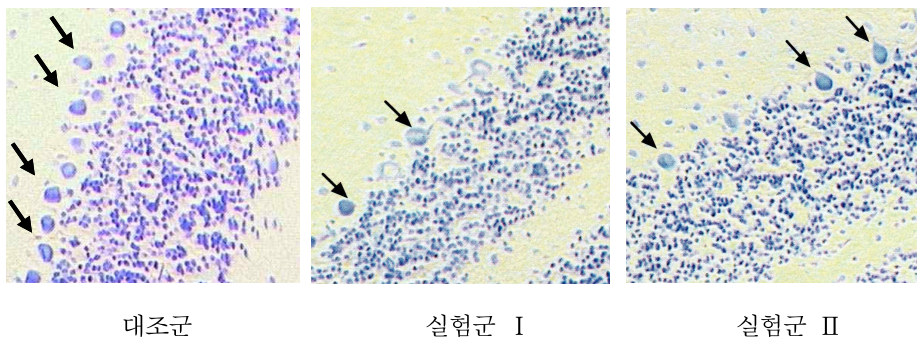


그림 1. 소뇌 조롱박 세포의 분포 양상.

될 수 있는 체중 및 소녀의 무게를 측정 후 소녀 조롱박 세포의 형태학적 소견을 살펴보고, 운동행동학적 수행력을 평가하였다.

먼저 본 연구에서는 신생흰쥐를 대상으로 알코올성 소뇌손상 모델을 만들기 위해서 생후 4~10일의 7일간 11%의 에탄올이 포함된 우유 유동식(4.9 g/kg/day)을 경구 투여하여 동일한 조건의 알코올성 손상을 유도한 후 다음의 실험 절차를 진행하였다. 이와 관련된 신생기 초기의 알코올 독성에 관한 선행 연구를 살펴보면, Goodlett과 Lundahl(1996)이 흰쥐를 이용하여 생후 4~9일, 생후 4~6일 및 생후 7~9일 시점에서 알코올에 노출시켜 알코올 노출의 시기와 기간에 따른 소뇌 손상의 정도를 비교하여 본 결과 생후 4~9일 사이에 알코올에 노출된 신생흰쥐들에서 다른 시기에 비해 조롱박 세포의 감소가 두드러지게 나타났으며 평행봉 과제 수행력도 유의하게 감소하였음을 보고한 바 있다. 그리고 Bonthius와 West(1990)는 생후 4~9일 동안 매일 하루에 4회 및 2회에 걸쳐 4.5 g/kg 용량의 알코올을 투여시킨 저용량 집단과 6.6 g/kg의 알코올을 투여한 고용량 집단을 비교한 결과, 매일 저용량의 알코올을 투여시킨 흰쥐가 고용량의 알코올을 투여한 흰쥐보다 뇌중량이 더욱 감소되고 뇌신경세포의 손상이 더욱 심각하였다고 보고한 바 있다.

본 연구에서 일반적인 신체 발달의 지표로서 이용될 수 있는 체중을 측정한 결과 알코올을 투여한 실험군 I과 실험군 II는 대조군에 비해 발달에 따른 체중의 증가가 유의하게 저하된 것으로 나타났는데, 이러한 결과는 알코올의 영향에서 기인된 전반적 신체 발달의 지연으로 이해할 수 있다. 또한 대조군에 비해 실험군 I과 실험군 II에서는 소녀의 무게가 감소되었을 뿐만 아니라, 체중에 대한 소녀의 무게 비율이 대조군의 1.13에 비해서 실험군 I은 .98, 실험군 II는 1.08로 나타나 체중에 대한 소녀의 무게 비율이 작은 것으로 나타났다. 이 수치는 생후 4일에서 9일 사이에 10.2%의 에탄올을 실험동물에게 투여하여 체중에 대한 소녀의 무게 비율을 연구한 Goodlett과 Lundahl(1996)의 연구에서 보고된 .91에 비해 높은 수치를 보였으나, 이러한 차이는 본 연구에서 1일 4.9 g/kg의 양을 투여한 반면 선행연구에서는 6.5 g/kg의 고용량을 투여하여 나타난 결과로 사료된다.

본 연구에서 조롱박세포의 수를 관찰한 결과 실험군 I은 대조군의 57%에 불과하였고, 운동기술훈련을 적용한 실험군 II는 대조군의 60% 수준으로 나타나 대조

군에 비해 알코올을 주입한 실험군 I과 실험군 II에서는 조롱박 세포의 수가 유의하게 감소한 것을 확인함으로써, 중추신경계 발달기 동안의 알코올노출이 조롱박 세포의 증식에 유해한 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 신생기 초기, 즉 생후 4일부터 9일 사이에 알코올에 노출된 신생흰쥐의 소뇌조롱박세포와 신경영양성 인자들의 변화를 연구한 Klintsova 등(1998)의 연구에 의해 신생기 초기의 알코올노출의 효과가 보고된 바 있다. 특히 Goodlett과 Lundahl(1996)은 생후 4~9일 사이에 알코올에 노출된 흰쥐들은 알코올에 노출되지 않은 대조군들에 비해 조롱박세포가 68% 수준에 불과한 것으로 보고하였다. 또한 알코올 노출의 기간에 따른 변화를 살펴본 결과 생후 4~6일 사이에 알코올에 노출된 흰쥐들은 조롱박세포가 대조군의 86% 정도로 감소되나, 생후 7~9일 사이의 동일한 기간 동안 알코올에 노출된 흰쥐들은 조롱박세포의 수가 대조군의 98%에 이르는 것으로 보고하여 생후 4~9일 사이의 초기 알코올노출이 소녀 조롱박세포의 발달에 악영향을 미친다고 설명하였다. 그러나 Harvey와 Napper(1988)는 초기 신생기 동안의 알코올 노출의 시기와 기간은 조롱박세포의 감소 정도에 영향을 주지만, 조롱박세포의 감소가 알코올에 의한 운동 수행력의 결손에 필수적인 영향인자는 아니라고 설명하였고, 본 연구에서도 알코올성 소뇌 손상 흰쥐에서 운동기술훈련의 적용에 따른 운동기능 수행력의 향상과 조롱박세포의 수 사이에서는 통계학적 유의성은 나타나지 않았다. 이는 조롱박세포의 분화시기와 관련되어 나타나는 현상으로서, 소녀의 조롱박세포는 출생 초기에 급격한 분열을 통해 성장하게 되는데 이 시기의 알코올 노출은 조롱박세포의 급격한 감소를 야기하지만, 출생초기 이후의 발달기 동안에 주어진 운동기술훈련에 의해서는 세포 수의 유의한 변화가 나타나지 않는 것으로 이해할 수 있다. 조롱박 세포는 초기에는 여러 세포가 한 층을 이루다가 출생 후 4일 시점에서 한줄로 정렬되고, 핵의 크기가 생후 14일까지 점차적으로 증가하며 외측 과립세포가 증식을 시작하기 전까지는 매우 느리게 성장하다가 과립세포가 바깥과립세포층에서 조롱박세포층을 지나 내측 과립세포층으로 이동하는 생후 4~20일 사이에 급격히 분화하기 시작하여 생후 20~25일에 이르면 가시돌기가 연결막에 도달하는 것으로 알려져 있다(이계주, 2001; Altman, 1972). 이와 같은 조롱박세포 가시돌기의 발달은 이 세포에 신경연접을 형성하는 과립세포, 골지세포, 바구니세포 및 오름

섬유의 발달과도 밀접한 관련성이 있으며, 이는 축삭 사이의 기능적인 신경연접에 있어 중요한 역할을 수행한다(김성민, 1998; Harvey와 Napper, 1988).

운동기술훈련은 조롱박세포의 가지돌기 가지치기와 신경연접전 소포를 증가시키고, 신경연접의 형성을 촉진하여 기억 및 학습능력을 향상시킬 수 있다. 최근 운동기술훈련(motor skill training)이나 복합운동훈련(complex motor training)을 통해 신경세포와 신경연접의 가소성이 촉발되어 새로운 신경연접이 형성되고 신경연접 종말의 성장을 도와 신경연접간의 접촉수를 증가시킨다는 보고들이 제시되어(Sanes, 2003), 운동학습이나 운동훈련의 중요성이 더욱 부각되고 있다. 따라서 본 연구에서는 중추신경계의 발달시기인 신생기 초기에 알코올을 이용하여 소뇌손상을 유발시킨 흰쥐들에게 운동학습을 유도하기 위한 운동기술훈련을 적용시킨 후, 그 효과를 확인하고자 하였다. 본 연구에서는 권도운(2001)과 Kleim 등(1998)의 연구에서 사용된 운동학습 모델을 수정하여 훈련과제들은 구성하여 적용하였고, 운동기술훈련이 운동 수행력에 미치는 효과를 살펴보기 위하여 다양한 운동기능검사를 실시하였다. 먼저 체지 배치의 정확성과 움직임의 협응성을 평가하기 위해 실시한 밧줄오르기 검사와 운동학습력을 평가하기 위한 공간적 모리스수중미로 검사에서 대조군과 실험군 I 및 실험군 II 사이에서 유의한 차이를 보여 운동기술훈련을 통한 운동 수행력의 변화를 확인할 수 있었다. 이러한 운동 수행력의 향상은 소뇌를 포함한 신경계의 회복에 따른 결과로 볼 수 있으며, 이는 정상 성숙흰쥐를 대상으로 하여 다양한 막대와 사다리, 체인 및 시소 등으로 이루어진 장애물들을 이용한 30일간의 운동기술학습(motor-skill learning)을 통해서 소뇌 조롱박세포의 신경연접 수가 80% 이상 증가하였음을 보고한 Anderson 등(1996)의 연구와 정상 흰쥐를 대상으로 수중미로를 이용한 공간학습을 실시하여 신경연접의 변화와 관련된 지표인 synaptophysin mRNA가 증가하는 양상을 관찰한 김성수(2002)의 연구, 외상성 소뇌손상 흰쥐 모델을 이용하여 조롱박세포의 뇌기인성장인자(BDNF)의 발현과 수상돌기의 증가를 보고한 송주민(2003)의 연구를 통해서도 뒷받침된다. 또한, Kleim 등(1998)은 곡예, 밧줄타기, 나무 블록 등으로 구성된 10개의 서로 다른 장애물을 통과하는 운동기술훈련을 적용하여 흰쥐 조롱박세포의 총 신경연접숫자가 증가하고 별세포(stellate cell) 가지돌기의 수가 유의하게 증가하였음을 보고하여

다양한 세포 수준의 변화들이 소뇌 발달에 기여하는 것을 알 수 있다.

이러한 선행 연구들을 통해서 제시된 바와 같이 본 연구에서도 다양한 형태의 운동기술훈련들이 정상 및 손상 신경계에서 가소성 특성에 따른 세포 수준의 변화들을 유발하여 기능적 운동 수행력의 향상에 기여함을 확인할 수 있었다.

V. 결론

본 연구에서는 신생기 동안의 알코올 노출이 체중 및 소뇌의 무게 및 소뇌 조롱박세포의 발달에 미치는 영향을 확인하고, 운동기술훈련이 알코올성 소뇌손상의 기능 회복에 미치는 영향을 확인하기 위하여 대조군, 실험군 I, 실험군 II로 구분하고 연구를 진행하였고, 그 결과는 다음과 같다.

1. 대조군, 실험군 I 및 실험군 II의 체중, 소뇌무게, 소뇌무게와 체중의 비율을 관찰한 결과 유의한 통계학적 차이가 나타났다.
2. 소뇌 조롱박세포의 수를 측정한 결과, 대조군에 비해 실험군 I과 실험군 II에서 유의한 세포 수의 감소가 관찰되었고, 실험군 I과 알코올실험군 사이에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다.
3. 밧줄오르기와 공간적 모리스수중미로 검사를 이용한 운동행동학적 검사에서 검사의 난이도가 높을수록 대조군, 실험군 I 및 실험군 II 사이에서 유의한 차이가 나타났다.

결론적으로, 신생기 동안의 알코올 노출은 체중 및 소뇌의 발달에 심각한 악영향을 초래하고, 이를 개선하기 위한 운동기술훈련이 운동기능 수행력의 향상에 기여하는 것으로 나타났다. 이는 태아알코올중후군 아동에 대한 치료적 중재를 위한 이론적 토대로서 의미를 가진다고 사료되고, 추가적으로 운동기능 수행력 향상의 기전 및 운동훈련 프로토콜과 관련된 후속 연구들이 지속적으로 이루어져야 할 것이다.

인용문헌

- 권도윤. 흰쥐 소뇌에서 cDNA microarray를 이용한 운동학습관련 유전자 발굴. 고려대학교 대학원, 박사학위논문, 2001.
- 김성민. 출생후 흰쥐 소뇌 발달단계에 따라 발현의 변화를 보이는 새로운 유전자(PKRCb1)의 발굴 및 발현양상 규명. 고려대학교 대학원, 박사학위논문, 1998.
- 김성수. 공간기억학습이 흰쥐 해마의 신경연접소포 단백질 유전자 변화에 미치는 영향 연구. 고려대학교 대학원, 석사학위논문, 2002.
- 송주민. 외상성 소뇌 손상 흰쥐에서 환경강화가 운동기능과 BDNF 발현에 미치는 영향. 대구대학교 대학원, 박사학위논문, 2003.
- 이계주. 운동학습 후 소뇌 평행섬유와 조롱박세포 가시돌기 신경연접의 선택적 감소성. 고려대학교 의과대학원, 석사학위논문, 2002.
- Altman J. Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. II. Phases in the maturation of Purkinje cells and of the molecular layer. *J Comp Neurol.* 1972;145(14):399-463.
- Anderson BJ, Alcantara AA, Greenough WT. Motor-skill learning: changes in synaptic organization of the rat cerebellar cortex. *Neurobiol Learn Mem.* 1996;66(2):221-229.
- Archibald SL, Fennema-Notestine C, Gamst A, et al. Brain dysmorphology in individuals with severe prenatal alcohol exposure. *Dev Med Child Neurol.* 2001;43(3):148-154.
- Bonthius DJ, West JR. Alcohol-induced neuronal loss in developing rats: increased brain damage with binge exposure. *Alcohol Clin Exp Res.* 1990;14(1):107-118.
- Cardenas VA, Studholme C, Gazdzinsk S, et al. Deformation-based morphometry of brain changes in alcohol dependence and abstinence. *Neuroimage.* 2007;34(3):879-887.
- Goodlett CR, Lundahl KR. Temporal determinants of neonatal alcohol-induced cerebellar damage and motor performance deficits. *Pharmacol Biochem Behav.* 1996;55(4):531-540.
- Harvey RJ, Napper RM. Quantitative study of granule and Purkinje cells in the cerebellar cortex of the rat. *J Comp Neurol.* 1988;274(2):151-157.
- Hsiao SH, Parrish AR, Nahm SS, et al. Effects of early postnatal ethanol intubation on GABAergic synaptic proteins. *Dev Brain Res.* 2002;138(2):177-185.
- Ikonomidou C, Bittigau P, Ishimaru MJ, et al. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. *Science.* 2000;287(5455):1056-1060.
- Kelly SJ, Day N, Streissguth AP. Effects of prenatal alcohol exposure on social behavior in humans and other species. *Neurotoxicol Teratol.* 2000;22(12):143-149.
- Kleim JLA, Swain RA, Armstrong KA, et al. Selective synaptic plasticity within the cerebellar cortex following complex motor skill learning. *Neurobiol Learn Mem.* 1998;69(3):274-289.
- Klintsova AY, Matthews JT, Goodlett CR, et al. Therapeutic motor training increases parallel fiber synapse number per Purkinje neuron in cerebellar cortex of rats given postnatal binge alcohol exposure: preliminary report. *Alcohol Clin Exp Res.* 1997;21(7):1257-1263.
- Klintsova AY, Scamra C, Hoffman M, et al. Therapeutic effects of complex motor training on motor performance deficits induced by neonatal binge-like alcohol exposure in rats: II. A quantitative stereological study of synaptic plasticity in female rat cerebellum. *Brain Res.* 2002;937(1-2):83-93.
- Lacosta S, Merali Z, Anisman H. Influence of acute and repeated interleukin-2 administration on spatial learning, locomotor activity, exploratory behaviors and anxiety. *Behav Neurosci.* 1999;113(5):1030-1041.
- Lee KJ, Jung JG, Arie T, et al. Morphological changes in dendritic spines of Purkinje cells associated with motor learning. *Neurobiol Learn Mem.* 2007;88(4):445-450.
- Light KE, Belcher SM, Pierce DR. Time course and manner of Purkinje neuron death following a single ethanol exposure on postnatal day 4 in the developing rat. *Neuroscience.* 2002;114(2):327-337.
- Light KE, Ge Y, Belcher SM. Early postnatal etha-

- nol exposure selectively decreases BDNF and truncated TrkB-T2 receptor mRNA expression in the rat cerebellum. *Brain Res Mol Brain Res.* 2001(1):93:46-55.
- Livy DJ, Miller EK, Maier SE, et al. Fetal alcohol exposure and temporal vulnerability: effects of binge-like alcohol exposure on the developing rat hippocampus. *Neurotoxicol Teratol.* 2003;25(4):447-458.
- Mandolesi L, Leggio MG, Spirito F, et al. Is the cerebellum involved in the visuo-locomotor associative learning? *Behav Brain Res.* 2007;184(1):47-56.
- Miller MW. Migration of cortical neurons is altered by gestational exposure to ethanol. *Alcohol Clin Exp Res.* 1993;17(2):304-314.
- O'Leary-Moore SK, McMechan AP, Mathison SN, et al. Reversal learning after prenatal or early postnatal alcohol exposure in juvenile and adult rats. *Alcohol.* 2006;38(2):99-110.
- Safo P, Regehr WG. Timing dependence of the induction of cerebellar LTD. *Neuropharmacology,* 2008;54(1):213-218.
- Sanes JN. Neocortical mechanisms in motor learning. *Curr Opin Neurobiol.* 2003;13(2):225-231.
- Sowell ER, Jernigan TL, Mattson SN, et al. Abnormal development of the cerebellar vermis in children prenatally exposed to alcohol: size reduction in lobules I-V. *Alcohol Clin Exp Res.* 1996;20(1):31-34.
- Sowell ER, Thompson PM, Mattson SN, et al. Regional brain shape abnormalities persist into adolescence after heavy prenatal alcohol exposure. *Cereb Cortex* 2002;12(8):856-865.
- Thompson RF, Bao S, Chen L, et al. Associative learning. *Int Rev Neurobiol.* 1997;41:151-189.
-
- | | |
|---------|-----------|
| 논문접수일 | 2009년 월 일 |
| 논문게재승인일 | 2009년 월 일 |