



- 송주민
- 대구대학교 재활과학대학 물리치료학과 신경과학교실

Localization of Amygdaloid Nucleus Innervating the Stomach Using Genetically Engineered PRV-BaBlu in Rat Brain

Ju-Min Song, PT, PhD

Laboratory of Neuroscience, Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Daegu University

Purpose: This study was carried out to investigate the spatiotemporal localization of the amygdaloid nucleus innervating the rat stomach using PRV-BaBlu, which has been known to be an excellent type of neurotracer with the ability to transpass the neuronalsynaptic cleft.

Methods: Ninety Sprague-Dawley rats (250~300 g) that were injected with PRV-BaBlu into the stomach were randomly divided into 3, 4 and 5 day groups (each group n=30). 2 μ l of PRV-BaBlu, a genetically modified strain of PRV-Bartha with the lac-Z gene, was injected into the rat stomach and immunostained with a mouse anti- β -galactosidase at 3, 4 and 5 days after the virus injection.

Results: The PRV-BaBlu infected the neurons in the amygdaloid nucleus, and the degree of viral infection in experimental animals showed a tendency to increase significantly with time ($p < 0.05$). The neurons between the left and right amygdaloid nucleus significantly differ ($p < 0.05$).

Conclusion: This showed that PRV-BaBlu was an excellent neurotracer for localizing the amygdaloid nucleus, and the amygdaloid nucleus has a sensory input and motor output on stomach movement, influencing emotional behavior.

Keywords: PRV-BaBlu, Amygdaloid nucleus, Stomach, Immunostain

논문접수일: 2011년 6월 30일

수정접수일: 2011년 7월 12일

게재승인일: 2011년 9월 26일

교신저자: 송주민, ptjmsong@empal.com

1. 서론

편도핵(amygdaloid nucleus)은 13개의 신경핵과 무수히 많은 작은 신경핵들로 구성되어 있으며 습득된 공포(fear) 행위의 기억과 발현의 중추로 작용한다.¹⁻³ 이를 입증하기 위한 연구로 편도핵, 해마가 포함된 관자엽(temporal lobe)의 일부를 절제할 경우 공포의 감소를 야기한 보고가 있었다.⁴ 편도핵은 공포에 대한 습득과 기억 및 행동반응을 형성하기 위해 시상, 해마 및 대뇌피질 등으로부터 감각의 입력을 받고, 공포에 대한 행동, 자율신경계 및 내분비 반응의 빠른 조율을 위해 중뇌와 뇌줄기의 신경핵들로 날신경섬유(efferent nerve fiber)를 투사시킨다.⁵

위는 소화기관의 일부이며 자율신경계의 지배하에 소화기능을 수행하는데 신경성 위 병변 등의 호발을 기반으로 추정하고 있다.⁶ 특히 공포, 불안 및 우울 등의 감정적 변화에 의해 위 기능이 항진 또는 억제되는 것으로 판단할 때 공포 행동의 중추인 편도핵이 소화 기능의 중재를 수행하는 것으로 보고되고 있다.² 그러나 편도핵이 위와 기능적 신경회로 연결에 대해서는 일부 알려져 있지만 명확한 형태학적 규명은 매우 미미한 실정이다.

중추신경계가 말초 장기를 지배하지만 말초의 환경 변화에 따라 중추신경계 또한 매우 예민하게 반응한다. 물리치료는 말

초에 적절한 자극을 가해 중추의 변화 유발을 통한 보행의 개선, 균형유지, 관절가동범위의 변화 통증의 감소 및 재발 방지 등이 주된 목적이다. 말초의 환경 변화에 따라 중추신경계의 변화를 관찰하기 위한 연구는 fMRI, CT, PET 및 삼차원 신경 섬유지도도를 나타내는 확산 텐서 신경섬유 영상(diffusion tensor image tractography, DTT)을 이용한 방법들이 다수 활용되고 있다. 그러나 위의 관찰 도구들은 물리치료 관련 연구에서 말초의 변화에 따른 중추신경계에서 세포수준의 변화를 육안적으로 관찰하기는 불가능하다. 말초 장기와 중추성 신경핵을 연결하는 기능적 신경회로망을 구축하기 위해서는 신경친화성이 있는 추적자를 이용하여 동정하는 것이 통상적 방법이다.⁷ 과거에는 신경로 추적을 위해 축삭돌기를 손상시켜서 이에 대한 변성과 재생을 이용하거나 축삭돌기와 세포체 사이의 물질이동의 원리를 이용하여 horseradish peroxidase (HRP) 같은 효소나, Evans blue와 같은 형광색소 및 cholera toxin 또는 lectin 등의 물질을 이용하였다.⁸ 하지만 이런 추적자들은 신경연접을 건너지 못하거나 연접을 건너간다고 하더라도, 이동에 따라 그 양이 현저히 감소하는 단점이 있어 말초장기를 지배하는 최하위 신경 핵만을 규명할 수밖에 없는 한계를 가지고 있다.⁹ 따라서 보다 상위의 신경 핵을 조사하려면 추적자를 하위 신경핵에 주입하는 과정을 계속 반복해야 되는데 이것은 주입 부위의 정확도가 떨어지므로 결과에 대한 신뢰도가 낮았다.

하지만 근래에 신경계 친화성 바이러스를 추적자로 이용하는 기법이 소개되어 중추신경계통내 신경로를 밝히는 연구에 이용되고 있다.¹⁰ 물리치료 관련 연구에서도 신경연접을 건널 수 있는 신경계 친화성 바이러스를 이용하면 다양한 실험 조건하에서 말초의 변화에 따른 중추신경핵을 세포수준에서 동정이 가능한 장점이 있으므로 근활성도의 변화에 따른 특정 근육 지배 중추신경핵의 변화를 추적할 수 있으며, 시상하부에서 척수로 투사되는 신경로 등도 동정이 가능하므로 통증 관련 연구에서 그 효용 가치가 매우 높다고 판단된다. 바이러스 추적자의 유용성은 동일 동물 내에서 특이적 전체 신경회로를 동정할 수 있다는 데 있다.^{11,12} 이동 중 급격한 희석 및 신경연접을 건널 수 있는 화학물질 또는 단백질 추적자와 달리 바이러스 추적자는 신경세포 내에서 증식하며 이동하기 때문에 이동 중 희석되지도 않고 신경연접을 건널 수 있다. 따라서 바이러스 추적자는 말초기관과 중추신경계의 연결 관계를 추적할 수 있는 매우 유용한 수단이다.¹³ 이들 바이러스는 신경연접을 건너서 이동할 수 있을 뿐만 아니라 이동 중에 증식에 의해 양적으로 오히려 증가하는 장점이 있어 매우 유용한 것으로 평가되고 있다.¹⁴ 많은 바이러스들이 신경세포를 감염시킬 수 있는데 picornaviridae, rhabdoviridae, togaviridae, retroviridae 등이 신경침습 능력이 있어 신경세포를 감염시킬 수 있다.¹⁵ 이 중에서도 돼지에 있어 신경계

에 친화성이 있는 알파 herpes 바이러스계인 pseudorabies 바이러스(PRV)의 Bartha-strain (PRV-Ba)은 vaccine 용으로 개발되어 실험동물에 대한 독성이 낮아서 실험실내에서 취급이 용이하다는 장점도 가지고 있어 최근에 중추신경계통내에서 신경의 연결에 대한 연구에 많이 사용하고 있다.¹¹ 최근에는 β -galactosidase의 유전자인 lacZ를 삽입하여 산출된 PRV-BaBlu가 개발되어 신경회로망 추적에 널리 활용되고 있다.¹³

현재까지 pseudorabies 바이러스를 이용하여 말초장기와 중추성 신경 핵의 연결을 관찰한 연구로는 근육, 폐, 식도, 횡격막, 난소 및 췌장 등을 이용한 보고 등이 있다.¹⁶⁻²⁰ 그러나 위를 지배하는 중추성 신경 핵인 편도핵의 동정에 관한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구는 신경계 친화성이 있으며 신경연접을 건널 수 있는 탁월한 신경로 추적자인 PRV-BaBlu 흰쥐 위의 근육층에 주입한 후 시간 경과에 따라 바이러스가 이동하는 현상을 추적하여 공포의 행동 습득과 기억을 주관하는 중추인 편도핵과 위의 기능적 신경회로망 구축을 규명하고자 수행되었다.

II. 연구방법

1. 연구대상

본 실험에서는 동일한 조건에서 사육된 생후 8주 된, 체중 250~300 g의 건강하고, 신경학적으로 이상이 없는 성숙한 Sprague-Dawley 계 수컷 흰쥐 90 마리를 사용하였다. 실험동물의 위에 PRV-BaBlu를 주입한 뒤 3일군, 4일군 및 5일군 나누어 각기 30 마리씩 무작위 배분하여 밤낮주기(12시간 light/12시간 night)가 조절되는 실험동물실에서 사육하였다. 실험기간 중 먹이와 물은 무제한 공급하였고, 실내온도는 22~25°C, 평균습도는 50%, 표준편차 2%로 최적의 상태를 유지하였다.²¹

2. 실험방법

1) Pseudorabies 바이러스 제작

신경연접을 건널 수 있는 탁월한 신경로 추적자인 pseudorabies 바이러스(PRV)의 유전자 조작된 PRV-BaBlu를 사용하였다. 이 바이러스는 PRV의 약독형인 Bartha 종에서 유래되었지만 면역조직화학적으로 검출할 수 있는 동일한 유전산물을 산출할 수 있도록 구성되었다. PRV-BaBlu는 PRV 계놈의 Us 구역 중 gC 자리에 lacZ 유전자를 삽입하여 산출되는데 β -galactosidase 발현은 이 바이러스에 감염된 신경원의 독특한 표시자로 나타났다.²²

2) Pseudorabies 바이러스 주입

Pseudorabies 바이러스내 lacZ 유전자를 삽입하여 변형된 BRV-BaBlu(2.5×10^8 pfu) 2 μ l를 Hamilton syringe를 이용하여 실험동물의 위의 근육층 내로 주입한 후 3, 4, 5일 후 PRV-BaBlu의 위 지배 신경로를 따른 이동을 광학현미경 하에서 시간 경과에 따라 면역조직화학염색에 갈색반응을 보인 신경세포들을 관찰하여 위와 편도핵의 기능적 연결신경회로망을 구축하였다.²²

3) 조직처리

실험동물들은 각 해당시간에 ketamine hydrochloride(한국바이엘) 50 mg/ml와 xylazine(한국바이엘) 20 mg/ml을 체중 10 g 당 0.15 ml 씩 섞어 복강 내 주사하여 마취시킨 뒤 심장을 통해 4% paraformaldehyde-lysine-periodate (PLP)로 관류고정을 시행하고 동일 고정액으로 후고정(4°C, overnight)을 시행하였다.²³ 이어 20% sucrose에 동결보호를 거친 후 30 μ m의 동결연속절편을 제작하여 -70°C에 보관하였다.

4) 면역조직화학염색

PRV-BaBlu에 대한 일차항체인 mouse anti- β -galactosidase (Vector, 미국)를 이용하여 면역조직화학염색을 수행하였다. 일차항체에 조직절편을 담가 실온에서 12시간 또는 24시간 동안 반응시켰는데 일차항체의 희석은 0.M PB에 1% normal goat serum과 0.3% TritonX-100이 혼합된 것을 사용하였다. 조직절편을 실온에서 10분간 3회 0.1M PB로 세척한 후 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vector, 미국)와 biotinylated goat anti-mouse IgG(Vector, 미국)에 실온에서 1시간 반응시켰다. 그 후 0.1M PB로 15분간 3회 세척한 뒤 ABC 용액에 실온에서 1시간 반응시키고, DAB에 과산화수소수를 0.005% 되게 첨가하여 갈색반응을 실시하였다. 면역조직화학염색이 끝

난 조직들은 통상적으로 탈수, 투명화 과정을 거친 뒤 슬라이드 위에 올려 permount로 봉입하여 광학현미경하에서 관찰하였다. 신경연접을 건널 수 있는 탁월한 추적자인 PRV-BaBlu를 위 근육층 내로 주입한 후 뇌 조직표본을 만들어 광학현미경하에서 PRV-BaBlu에 감염되어 갈색반응을 보인 편도핵내 신경세포들을 Image-Pro analyzer를 이용해 계산하였다. 위 근육층에 바이러스를 주입 후 뇌의 편도핵에서 역조직화학 염색에 갈색 반응을 보인 신경세포가 관찰된 것은 위와 편도핵이 기능적 신경회로망으로 상호 연결되어 있다는 것을 시사한다.²⁴

5) 통계처리

실험 결과는 SPSS-PC ver 17.0 windows를 이용하여 통계처리하였다. 시간 경과에 따라 뇌의 편도핵에서 면역 양성반응을 보인 신경세포 구의 변화는 일원배치 분산분석으로(one-way ANOVA), 좌·우 편도핵내 신경세포 수의 변화는 대응표본 t-검정을 실시하였으며, 통계적 유의수준은 .05로 하였다.

III. 결과

위에 PRV-BaBlu를 주입한 결과 위를 지배하는 뇌 내의 신경회로는 대뇌피질을 최고 상위 중추로 해서 시상하부의 뇌실옆핵을 거쳐 미주신경등쪽운동핵으로 이어지는 신경축을 구성할 수 있으며 뇌의 편도핵내에서 면역양성반응세포가 관찰되었는데 이때 양성 반응을 보인 세포는 대체로 타원형 내지 다각형의 무극 신경원이었다(Figure 1). 위에 주입된 PRV-BaBlu는 편도핵에서 증식되었음이 면역조직화학적 염색방법에 의해 확인되어 위와 편도핵을 연결하는 신경회로망이 구축되었다. PRV-BaBlu 주입 후 편도핵에서 시간대별로 감염된 신경세포를 Image-Pro analyzer를 이용해 계수한 바 PRV-BaBlu 함유 신경세포는 감염

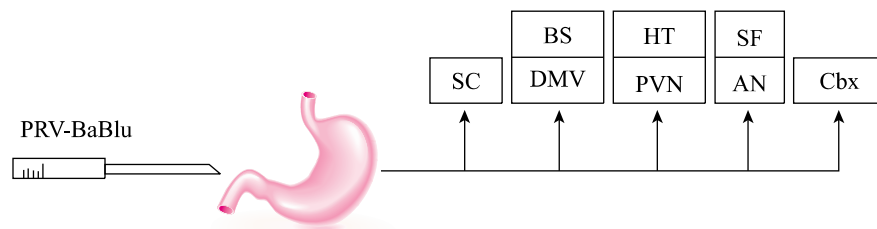


Figure 1. Schematic representation of central nuclei innervating rat stomach.

SC: Spinal cord
 BS: Brain stem
 DMV: Dorsal motor nucleus of vagus nerve
 HT: Hypothalamus
 PVN: Paraventricular nucleus
 SF: Subfrontal cortex
 AN: Amygdaloid nucleus
 Cbx: Cerebral cortex

3일에 좌측의 편도핵이 10.97±3.65개이었고, 우측의 편도핵이 19.69±7.84개이었다. 감염 4일에 좌측의 편도핵이 42.58±14.72개이었고, 우측의 편도핵이 138.62±31.28개이었다. 감염 5일에 좌측의 편도핵이 149.547±44.75개이었고, 우측의 편도핵이 186.08±48.26개이었다. 좌측과 우측의 편도핵이 모두 시간 경과에 따라 PRV-BaBlu에 감염된 신경세포의 수가 증가하는 양상을 보였으며 일원배치분산분석을 실시한바 통계학적 유의성이 관찰되었다(p<0.05)(Table 1, Figure 2, 3). 또한 각 시간대별 좌·우 편도핵내 PRV-BaBlu에 감염된 신경세포들간 변화에 대해 대응표본 t-검정을 실시한 바 3일(p<0.05), 4일(p<0.02) 및 5일(p<0.05)에서 통계학적 유의성이 관찰되었다(Figure 2).

Table 1. Comparison of PRV-BaBlu infected neurons in amygdaloid nucleus in rat (Mean±SD)

	3 day (n=30)	4 day (n=30)	5 day (n=30)	F	P
LAN	10.97±3.65	42.58±14.72	149.54±44.75	94.35	0.04*
RAN	19.69±7.84	138.62±31.28	186.08±48.26	106.25	0.02*

* p<0.05
LAN: Left amygdaloid nucleus
RAN: Right amygdaloid nucleus

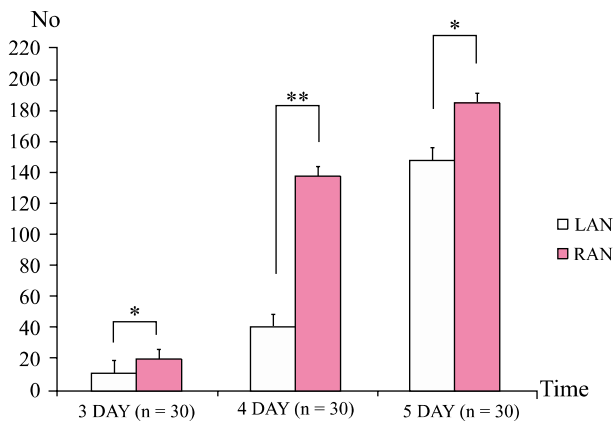


Figure 2. Changes of PRV-BaBlu infected neurons in amygdaloid nucleus in rat. PRV-BaBlu infected neurons in left right amygdaloid nucleus were significant statistically at 3, 4, 5 day

*p<0.05
**p<0.01
LAN: Left amygdaloidal nucleus
RAN: Right amygdaloidal nucleus

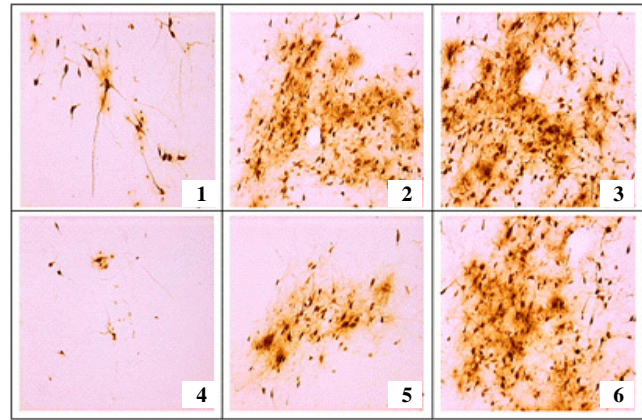


Figure 3. Photographs of PRV-BaBlu infected neurons in amygdaloid nucleus(x100).

1: Right amygdaloid nucleus at 3 day
2: Right amygdaloid nucleus at 4 day
3: Right amygdaloid nucleus at 5 day
4: Left amygdaloid nucleus at 3 day
5: Left amygdaloid nucleus at 4 day
6: Left amygdaloid nucleus at 5 day

IV. 고찰

자율신경계 중 부교감신경인 미주신경의 일차신경핵은 미주신경등쪽운동핵(dorsal motor nucleus of vagus nerve)으로 뇌줄기에 신경핵이 위치하며 여기서 절후신경섬유(postganglionic nerve fiber)가 되어 위에 분포하는데, 위의 소화 기능 발현을 위해서는 뇌의 여러 신경핵들의 중개핵으로서 관여하고 있다.²⁵ 본 연구는 위와 공포 행동의 기억과 발현의 중추인 편도핵을 연결하는 신경회로망을 신경친화성이 있어 신경연접을 건널 수 있는 신경로 추적자인 PRV-BaBlu를 이용해 동정하여 공포, 불안 우울 등의 감정 변화와 위 기능의 변화의 형태학적 근거를 규명하고자 실시되었다. PRV-BaBlu는 기능적으로 연결이 형성되어 있는 신경로를 따라서 이동하고, 세포밖 공간과 세포와 세포의 유합을 통해 전파되지 않기 때문에 위와 편도핵의 연결을 추적하기에 매우 유용한 도구였다. 이런 기능은 pseudorabies 바이러스가 신경친화성이 있어 말초 장기와 중추성 신경핵의 연결의 동정에 탁월했다는 기존의 연구들과 유사한 결과였다.²⁶⁻²⁹ 간혹 비특이적 신경회로망이 구축되기도 하는데 이는 PRV-BaBlu의 기능적 신경연접을 건널 수 있는 역행성 추적자로서 오류가 있는 것이 아니라 기능적 신경계에 침습이 있기 전 말초 장기에 바이러스를 주입할 때 새어 나와 비특이적 감염을 초래하기 때문인 것으로 알려지고 있다.^{30,31} 본 연구에서도 위에 PRV-BaBlu를 주입할 때 뇌줄기의 다른 신경핵을 감염시킨 바 있는데 이는 PRV-BaBlu가 위의 주위로 새어 나와 척수에 분포하는 신경을 따라 이동하여 감염시킨 결과로 사료

된다. 이를 해결하기 위해 PRV-BaBlu 주입 시 가급적 적은 양을 장시간 주입하여 신경로의 비특이적 감염을 예방할 수 있었다. 그러나 위 지배 중추성 신경핵과 중개핵은 동물마다 다양한 차이가 있다고 알려지고 있어 향후 흰쥐를 제외한 다른 실험동물을 대상으로 위와 편도핵을 연결하는 기능적 신경회로망을 구축하여 비교 관찰할 필요가 있다.³² 또한 편도핵이 공포, 불안, 우울 등의 변연계 관련 감정 변화의 중추이므로³³ 공포 환경 조성 후 편도핵의 변화를 관찰하여 편도핵이 위의 신경성 병변에 반응하는 연구도 의미 있다고 사료된다. 편도핵이 위와 기능적으로 연결되어 있기는 하나 편도핵이 날신경섬유를 내어 직접 위를 지배하는 것이 아니고 뇌줄기의 미주신경등쪽운동핵에 영향을 주거나 받는 것으로 보고되는 바 편도핵 또는 미주신경등쪽핵에 바이러스를 주입하여 확인할 수 없었던 것이 본 연구의 제한점이었고, 관련 신경전달물질과 바이러스의 이중동정(double localization)과 기능적 자기공명영상(fMRI)을 이용한 공포 환경에서의 편도핵의 변화와 위의 소화 기능의 변화의 상관관계를 규명하는 것이 향후 과제로 남아 있다.

본 연구에서 위에 PRV-BaBlu를 주입한 경우 뇌의 편도핵에서 양성반응을 보인 세포들을 확인할 수 있었는데 이것은 PRV-BaBlu가 어떤 형태로든 서로 연결되어 있는 신경세포 사이만을 이동할 뿐 인접한 신경세포로는 감염되지 않는다는 특성이 있다는 보고¹⁴에 비추어 볼 때 바이러스에 양성반응을 보인 신경세포는 서로 연관성이 있는 것을 의미한다. 또한 현재까지 흰쥐의 위의 운동은 자율신경의 지배를 받고 있으며 부교감신경인 미주신경을 지배하는 최하위의 신경핵은 미주신경등쪽운동핵으로 알려져 있는데²⁵ 본 실험에서도 미주신경등쪽운동핵에서 바이러스에 양성반응을 보인 세포가 확인되어 이전의 보고와 일치하였다.

이와 같이 몇몇 주요 신경핵에 대한 결과와 PRV-BaBlu가 주로 역방향성으로 이동한다는 특성을 종합해 보면 위를 지배하는 뇌내의 신경회로는 대뇌피질을 최고 상위 중추로 해서 시상하부의 뇌실옆핵(paraventricular nucleus)을 거쳐 미주신경등쪽운동핵으로 이어지는 신경축을 구성할 수 있으며 편도핵은 이 신경회로망의 중개핵으로서 공포 환경에 의한 위 기능의 변화와 연관이 있을 것으로 추정된다. 신경연접을 건널 수 있는 신경계 친화성 바이러스를 물리치료 관련 연구에서도 이용하면 다양한 실험 조건하에서 말초의 변화에 따른 중추신경핵을 세포수준에서 동정이 가능한 장점이 있으므로 근활성도의 변화에 따른 특정 근육 지배 중추신경핵의 변화를 추적할 수 있으며, 시상하부에서 척수로 투사되는 신경로 등도 동정이 가능하므로 통증 관련 연구에서 그 효용 가치가 매우 높다고 판단된다. 또한 치료적 중재들의 효과 검증 및 다양한 방법들의 효과를 비교 분석할 수 있으므로 유용한 도구로 활용될 수 있을 것으로

여겨진다.

본 연구에서 좌측과 우측의 편도핵이 모두 시간 경과에 따라 PRV-BaBlu에 감염된 신경세포의 수가 증가하는 양상을 보였으며 일원배치분산분석을 실시한바 통계학적 유의성이 관찰되었고, 또한 각 시간대별 좌·우 편도핵내 PRV-BaBlu에 감염된 신경세포들 간 변화에 대해 대응표본 t-검정을 실시한 바 3일, 4일, 5일에서 통계학적 유의성이 관찰되었는데, 이는 시간 경과에 따라 편도핵 내 PRV-BaBlu에 양성반응을 보이는 신경세포의 수 및 좌·우 편도핵내 신경세포 수의 변화가 의미있음을 시사한다. 감정변화에 따라 위의 소화기능 변화에 관여하는 좌·우 편도핵 내 PRV-BaBlu에 감염된 신경세포 수와 감염속도의 차이는 위는 단일 기관이고 편도핵은 두 부분으로 나뉘어져 있는 구조적 차이에 기인하였다고 사료되지만, 이를 분석한 기존의 연구 보고를 확인할 수 없었으며, 위에 바이러스의 주입 부위를 다양화해서 좌·우 편도핵이 위의 각기 다른 부위의 지배 여부를 확인해 보는 것이 대안이라 여겨진다.

본 연구에서 사용된 pseudorabies 바이러스는 역행성 신경로 추적자로 알파 herpes 바이러스 계에 속하는 DNA 바이러스이며 야생형인 PRV-Becker와 약독형인 PRV-Bartha 종으로 대별된다.¹¹ 최근 PRV-Bartha 종 계놈의 Us 구역 중 gC 자리에 lacZ 유전자를 삽입하여 유전자 변형시킨 PRV-BaBlu 종은 면역조직화화적으로 검출할 수 있는 동일한 유전산물을 산출할 수 있도록 구성되었는데 β -galactosidase 발현은 이 바이러스에 감염된 신경원의 독특한 표지자로 나타났다.¹⁶ Pseudorabies 바이러스의 독성과 신경세포 침습의 정도는 바이러스 계놈의 Us 구역 내 gI, gE, Us9 및 Us2 등의 존재 여부에 따라 달라 바이러스 외피의 특정 당단백질들의 제거 여부에 따라 기능적 추적자의 침습시간과 감염정도에 다른 신경회로망 동정 뿐만 아니라 바이러스 독성에 의한 실험결과의 상이성 등이 고려되어야 할 것을 시사한다.¹⁴ 이를 위해 gG 유전자에 lacZ 유전자가 삽입되어 PRV-Bartha 종보다 더 약독화된 PRV-BaBlu의 신경세포내 부착, 융합 및 침입 등의 일련의 과정에 대한 세분화된 연구가 진행되어야 하며 이러한 기능적 신경회로망의 확인을 바탕으로 공포 환경에서 위 기능의 변화의 조절에 관여하는 신경전달물질의 발현과 상관성을 조사할 수 있어 궁극적으로 감정변화에 따른 편도핵의 위 소화 기능의 조절기전이 규명될 것이다.

Author Contributions

Research design: Song JM

Acquisition of data: Song JM

Analysis and interpretation of data: Song JM

Drafting of the manuscript: Song JM

Research supervision: Song JM

참고문헌

1. Lamprecht R, Margulies DS, Farb CR, et al. Myosin light chain kinase regulates synaptic plasticity and fear learning in the lateral amygdala. *Neuroscience*. 2006;139(3):821-9.
2. Cheng DT, Knight DC, Smith CN et al. Functional MRI of human amygdala activity during pavlovian fear conditioning: Stimulus processing versus response expression. *Behav Neurosci*. 2003;117(1):3-10.
3. Pe´rez de la MM, Jacobsen KH, Crespo-Ramı´rez M, et al. Wiring and volume transmission in rat amygdala. Implications for fear and anxiety. *Neurochem. Res*. 2008; 33(8):1618-33.
4. Rosen JB, Donley MP. Animal studies of amygdala function in fear and uncertainty: Relevance to human research. *Biol Psychol*. 2006;73(1):49-60.
5. Rinaman L, Roesch MR, Card JP. Retrograde transsynaptic pseudorabies virus infection of central autonomic circuits in neonatal rats. *Brain Res Dev Brain Res*. 1999;114(2): 207-16.
6. La Fleur SE, Klasbeek A, Wortel J et al. Polysynaptic neural pathways between the hypothalamus, including the supra-chiasmatic nucleus, and the liver. *Brain Res*. 2000;871(1): 50-6.
7. Ugolini G. Rabies Virus as a Transneuronal Tracer of Neuronal Connections. *Adv Virus Res*. 2011;79:165-202.
8. Gerendai I, Toth LE, Kocsis K, et al. Transneuronal labelling of nerve cells in the CNS of female rat from the mammary gland by viral tracing technique. *Neuroscience*. 2001;108(1): 103-18.
9. Schramm LP, Strack AM, Platt KB et al. Peripheral and central pathways regulating the kidney: A study using pseudorabies virus. *Brain Res*. 1993;616(1-2):251-62.
10. Kalsbeek A, Fliers E, Franke AN et al. Functional connections between the supra-chiasmatic nucleus and the thyroid gland as revealed by lesioning and viral tracing techniques in the rat. *Endocrinology*. 2000;141(10):3832-41.
11. Vizzard MA, Brisson M, de Groat WC. Transneuronal labeling of neurons in the adult rat central nervous system following inoculation of pseudorabies virus into the colon. *Cell Tissue Res*. 2000;299(1):9-26.
12. Niedringhaus M, Jackson PG, Pearson R. Brainstem sites controlling the lower esophageal sphincter and crural diaphragm in the ferret: A neuroanatomical study. *Auton Neurosci*. 2008;144(1-2):50-60.
13. Vizzard MA, Erickson VL, Card JP et al. Transneuronal labeling of neurons in the adult rat brainstem and spinal cord after injection of pseudorabies virus into the urethra. *J Comp Neurol*. 1995;355(4):629-40.
14. Sly DJ, Colvill, McKinley MJ, Oldfield BJ. et al. Identification of neural projections from the forebrain to the kidney, using the virus pseudorabies. *J Auton Nerv Syst*. 1999;77(2-3): 73-82.
15. Gerendai I, Toth LE, Kocsis K, et al. Identification of CNS neurons involved in the innervation of the epididymis: A viral transneuronal tracing study. *Auton Neurosci*. 2001; 92(1-2):1-10.
16. Dobbins EG, Feldman JL. Differential innervation of protruder and retractor muscles of the tongue in rat. *J Comp Neurol*. 1995;357(3):376-94.
17. Fontn JJ, Diec CT, Velloff CR. Bilateral distribution of vagal motor and sensory nerve fibers in the rat's lungs and airways. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000; 279(2):R713-28.
18. Dobbins EG, Feldman JL. Brainstem network controlling descending drive to phrenic motoneurons in rat. *J Comp Neurol*. 1994;347(1):64-86.
19. Gerendai I, Kocsis K, Halasz B. Supraspinal connections of the ovary: Structural and functional aspects. *Microsc Res Tech*. 2002;59(6):474-83.
20. Loewy AD, Haxhiu MA. CNS cell groups projecting to pancreatic parasympathetic preganglionic neurons. *Brain Res*. 1993;620(2):323-30.
21. Lee JH, Park CE, Park RJ. Electrical Stimulation Induces the Collagen Deposition/TGF-β1 mRNA Expression in Skin Wound of Rat. *Kor Soc Phys Ther*. 22(3):87-92.
22. Xu C, Giuliano F, Yaici ED, et al. Identification of lumbar spinal neurons controlling simultaneously the prostate and the bulbospongiosus muscles in the rat. *Neuroscience*. 2006;138(2):561-73.
23. Lee HM, Chae YW. Influence of Microcurrent Therapy in Interleukin-1 Expression in Rheumatoid Arthritis Rats. *J Kor Soc Phys Ther*. 2009;21(2):103-8.
24. Cho MS. The Effect of Electroacupuncture on NeuN Expression in Spinal Cord in Sciatic Nerve Injured Rat.

- J Kor Soc Phys Ther. 2011;23(2):45-52.
25. Oldfield BJ, Giles ME, Watson A et al. The neurochemical characterisation of hypothalamic pathways projecting polysynaptically to brown adipose tissue in the rat. *Neuroscience*. 2002;110(3):515-26.
 26. Larsen PJ, Enquist LW, Card JP. Characterization of the multisynaptic neuronal control of the rat pineal gland using viral transneuronal tracing. *Eur J Neurosci*. 1998;10(1):128-45.
 27. Daele V, Agassandian FK, Cassell MD. Amygdala connections with jaw, tongue and laryngo-pharyngeal premotor neurons. *Neuroscience*. 2011;177:93-113.
 28. Ugolini G. Advances in viral transneuronal tracing. *J Neurosci Methods*. 2010;194(1):2-20
 29. Callaway EM. Transneuronal circuit tracing with neurotropic viruses. *Curr Opin in Neurobiol*. 2008;18(6):617-23.
 30. Rotto Percelay DM, Wheeler JG, Osorio FA et al. Transneuronal labeling of spinal interneurons and sympathetic preganglionic neurons after pseudorabies virus injections in the rat medial gastrocnemius muscle. *Brain Res*. 1992;574(1-2):291-306.
 31. Dénes Á, Boldogkői Z, Hornyák Á. Attenuated pseudorabies virus-evoked rapid innate immune response in the rat brain. *J Neuroimmunol*. 2006;180(1-2):88-103.
 32. Orr R, Marson L. Identification of CNS neurons innervating the rat prostate: A transneuronal tracing study using pseudorabies virus. *J Auton Nerv Syst*. 1998;72(1):4-15.
 33. Malkani S, Wallace KJ, Donley MP et al. An egr-1 (zif268) antisense oligodeoxynucleotide infused into the amygdala disrupts fear conditioning. *Learn Mem*. 2004; 11(5):617-24.