
의학 석사학위 논문

스트레스에 의한
Long-term potentiation
(LTP)의 저하를 감소시키는
리듬의 효과

아주대학교 대학원

의학과

양재진

스트레스에 의한
Long-term potentiation
(LTP)의 저하를 감소시키는
리듬의 효과

지도교수 정 영 기

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함.


2005년 2월

아주대학교 대학원


의 학 과

양 재 진

양재진의 의학 석사학위 논문을 인준함.

심사위원장 정 영 기 인 

심사위원 노 재 성 

심사위원 정 민 환 

아주대학교 대학원

2004년 12월 22일

스트레스에 의한 long-term potentiation의 저하를 감소시키는 리튬의 효과

해마는 스트레스에 매우 취약하다고 알려진 기억 형성에 중요한 역할을 한다. 지금까지의 연구들은 예측할 수 없는 스트레스에의 노출이 해마에 의존적인 기억 형성에 유해하다는 것을 보여줬다. 최근 연구들은 신경세포의 자연사나 스트레스에 의한 구조적 변형의 예방 등 *in vivo*와 *in vitro* 실험에서 리튬의 신경 보호효과를 보여주었다. 또한 최근 한 연구는 리튬에 의한 LTP 항진을 보여주었고 몇몇 연구들은 만성 스트레스의 악영향을 리튬이 감소시킴을 보고하였다. 본 연구에서 저자는 리튬이 기억에 대한 스트레스의 악영향을 감소시키거나 예방할 수 있는지의 여부를 알아보았다.

쥐에게 한 시간 동안 immobilization 스트레스를 준 후 즉시 단두회생 하였고 뇌를 적출한 후 횡단 해마 슬라이스를 제작하였다 (transverse hippocampal slice; 400 μ m). 하나의 슬라이스에 자극단자와 기록단자를 위치시키고 적어도 10분 동안 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 theta-burst stimulation (TBS)을 이용하여 LTP를 유도하였다. 20분 동안 0.6mM 또는 1.0mM 농도의 리튬을 처리한 후 다른 슬라이스에서 적어도 10분 동안 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 TBS를 이용하여 LTP를 유도하였다. 각 슬라이스 마다 분당 synaptic responsiveness를 40분 동안 측정하여 기록하였다.

모든 군 (스트레스군 (M=112.37, SD=±11.51), 리튬 0.6mM군 (M=141.06, SD=±8.45), 리튬 1.0mM군 (M=146.96, SD=±18.58), 대조군 (M=187.58, SD=±12.22), 리튬 1.0mM 대조군 (M=190.77, SD=±14.00))에서 LTP는 유의하게 유도되었다. 리튬 0.6mM군에서 유도된 LTP의 크기의 평균은 스트레스군에서 유도된 LTP 크기의 평균과 통계적으로 유의한 차이를 보였고 ($p < 0.05$), 또한 리튬 1.0mM군에서 유도된 LTP의 크기의 평균도 스트레스군에서 유도된 LTP 크기의

평균과 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ($p < 0.05$). 하지만, 리튬 0.6mM군에서 유도된 LTP의 크기의 평균과 리튬 1.0mM군에서 유도된 LTP 크기의 평균은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

우리는 이 연구를 통해 리튬이 쥐의 해마에서 스트레스에 의한 LTP의 저하를 부분적으로 완화시킬 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 현재까지 알려진 리튬의 신경보호효과에 대한 보고들을 지지할 뿐만 아니라, 리튬이 스트레스에 의한 학습과 기억 등 인지기능의 손상의 치료에 효과적일 수 있음을 보여준다.

핵심어 : 리튬, 스트레스, long-term potentiation (LTP), 해마

차 례

국문요약	i
차례	ii
그림 차례	iii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	9
A. 실험재료	9
B. 실험방법	9
1. 스트레스	9
2. 해마 절편의 제작	9
3. 전기생리적 측정	10
4. 리튬 처리	11
5. 리튬이 baseline synaptic transmission에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험	11
6. 리튬이 LTP 자체에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험	12
C. 통계처리	12
III. 결과	13
IV. 고찰	19
V. 결론	22
참고문헌	24
영문요약	27

그림 차례

- Fig. 1. Lithium attenuates stress-induced suppression of
long-term potentiation (LTP) in the rat hippocampus. 15
- Fig. 2. The effect of lithium on baseline synaptic transmission. 18

I . 서 론

A. 스트레스

스트레스는 ‘유기체의 생리적, 심리적 항상성을 심각하게 방해하는 어떤 상태’라고 정의된다 (Kim과 Diamond, 2002). 이러한 스트레스에 의한 생리적 변화와 그 중요성은 Hans Selye에 의해 처음으로 밝혀졌다 (Selye HA, 1936). 현재까지 동물과 인간에서 일어나는 스트레스의 다양한 생리적 악영향이 연구되었고, 특히 신경과학분야의 여러 연구들은 스트레스를 유발하는 경험들이 뇌 기능의 특정한 측면에 부정적인 영향을 미칠 수 있음을 밝혀왔다. 스트레스에 대한 즉각적인 반응은 본래 유기체로 하여금 생존에 대한 실질적인 또는 가능한 위협에 효과적으로 대처할 수 있도록 하는 적응 기제이나, 통제할 수 없는 스트레스는 학습과 기억 능력의 저하, 노화와 관련된 인지 기능 저하의 악화, 해마 신경세포의 위축이나 피사에 대한 감수성 증가 등 뇌 기능에 심각한 악영향을 미칠 수 있다 (McEwen과 Sapolsky, 1995; Kim과 Yoon, 1998; de Kloet 등, 1999; McEwen, 2000).

B. 해마에 대한 스트레스의 영향

해마는 인간에서는 서술적 기억 (declarative memory)과 설치류에서는 공간 기억 (spatial memory)의 형성에 필수적이며, 또한 스트레스 호르몬인 corticosterone 수용체가 고농도로 존재하는 신경내분비 조절에 중요한 내측 측두엽 구조물이다. 해마의 잘 알려진 신경내분비적인 기능은 glucocorticoid와 관련된 시상하부-뇌하수체-부신 축 (HPA axis)에 대한 부정의 되먹임 (negative feedback)을 통해 스트레스 반응의 종결에 관여하는 것이다. 해마에는 I형인 mineralocorticoid 수용체 (MRs)와 II형인 glucocorticoid 수용체 (GRs)가 존재하고 신경 대사, 세포의 생존, 생리적 기능과 세포의 형태 등 해마에 대한 스트레스와 corticosterone의 악영향은 주로 낮은 친화성을 가진 glucocorticoid 수용체

와 관련된 것으로 알려져 있다. 특히 해마의 기능 중 학습과 기억이 glucocorticoid 수용체의 활성화에 의한 스트레스의 악영향에 민감한 것으로 알려져 있다. 지난 20여 년 동안의 연구를 통해 스트레스와 스트레스 호르몬이 인간과 동물 모두에서 해마에 의존적인 기억 (서술적 기억; declarative(explicit) memory)을 손상시킨다는 사실이 밝혀졌다 (Sapolsky, 1992; de Kloet 등, 1999; McEwen, 2000; Diamond와 Park, 2000). 예를 들면, 외상 후 스트레스 증후군을 앓고 있는 환자들에서 해마의 위축과 해마에 의존적인 회상검사에서의 현저한 저하가 관찰되었고 (Utto 등, 1993)), 정상적인 사람들에게 스트레스 수준의 cortisol을 주입하였을 때 절차기억 (procedural memory)에는 아무 영향 없이 서술적 기억만이 선택적으로 손상되었으며 (Newcomer 등, 1994) 우울증과 hypercortisolaemia로 진단받은 사람들에서도 쿠싱증후군 (Cushing's syndrome)을 앓고 있는 환자들과 유사하게 서술적 기억의 손상 (Starkman 등, 1992)과 해마의 위축이 관찰되었고 (Sapolsky, 2000) 이러한 변화는 치료에 의해 cortisol치가 감소된 후 정상화 되었다 (Starkman 등, 1999)). 인간에서와 같은 결과가 쥐에서도 관찰되었다. 스트레스에 노출되거나 corticosterone을 주입한 쥐에서 spatial memory의 손상이 관찰되었고 (Luine 등, 1993; de Quervain 등, 1998), 최근 연구에서는 스트레스가 해마에 의존적인 대상인식 기억을 손상시킴이 밝혀졌다 (Clark RE 등, 2000, Baker와 Kim, 2002).

C. 스트레스와 스트레스 호르몬에 의한 LTP 저하

지난 30여 년 동안 기억의 가장 중요한 생리적인 모델은 long-term potentiation (LTP)이었다. 1973년 Bliss와 Lomo에 의해 토끼의 해마에서 처음으로 발견된 LTP는 오래 지속되고 활성화에 의존적인 (activity-dependent) synaptic transmission의 강도 변화로서, 기억 저장에 중요한 역할을 할 것이라고 추정되어 왔다 (Hebb, 1949). LTP는 반복에 의해 즉시 유도, 강화되고 특이성 (specificity)과 연합성 (associativity)을 가지며 (Bliss와 Collingridge, 1993; Martin 등, 2000), 학습과 기억에 관련된 구조물인 해마에서 현저하게 나타난다.

LTP가 정보 저장에 중요할 것이라는 Hebb의 가설로부터, 스트레스에 의한 해마에 의존적인 기억의 손상은 스트레스가 해마에서의 LTP 유도를 방해하기 때문이라고 예측할 수 있었을 것이다. 이러한 예측대로 수많은 *in vivo*와 *in vitro*의 전기생리학적인 연구들에서 스트레스와 스트레스 호르몬이 LTP를 손상시킨다는 것이 밝혀졌다. 스트레스에 의한 LTP 유도의 저하는 1987년 Thompson, Levine 등에 의해 처음으로 관찰되었다 (Foy 등, 1987). 이들은 예측할 수 없고 벗어날 수 없는 강박-전기충격 (restraint-tailshock) 스트레스를 준 쥐의 해마 절편 CA1 부위에서 LTP가 현저하게 저하됨을 보여주었다. 이후의 다른 연구들에서는 다른 형태의 심리적인 스트레스가 LTP와 primed-burst potentiation (PBP; LTP의 낮은 역치 형태)을 모두 저하시킴을 보여주었고 (Diamond 등, 1990; Xu 등, 1997; Diamond와 Park, 2000), 스트레스에 의한 LTP 저하가 쥐에서는 적어도 48시간 동안, 생쥐에서는 24시간 동안 지속됨을 밝혔으며 (Shors 등, 1997; Carcia 등, 1997), 스트레스가 해마의 dentate gyrus에서도 LTP를 저하시킴을 보여주었다 (Shors와 Dryver, 1994).

D. 스트레스에 의한 해마의 구조적 변형

McEwen 등은 만성적인 스트레스나 corticosterone의 주입이 수지상 돌기의 형태에 미치는 영향에 대한 연구를 시행하였고 3주 동안 매일 강박을 하거나 corticosterone을 주입하는 것이 CA3 신경세포의 수지상 돌기의 위축을 유발한다는 것을 보여주었다 (McEwen, 2000). 이후의 다른 연구들은 세포 형태에 대한 만성적인 스트레스의 영향이 dentate gyrus와 CA1 부위에서도 나타남을 보여주었다 (Sousa 등, 2000). 스트레스와 corticosterone에 의한 신경세포의 위축은 excitatory-amino-acid (EAA)의 신경전달을 감소시키는 약물 (phenytoin), 세포외 5-hydroxytryptamine (5-HT) 수치를 감소시키는 약물 (tianeptine), GABA 감수성을 향진시켜 전반적인 흥분성을 감소시키는 약물 (adinazolam) 등에 의해 차단될 수 있는데 (Brown 등, 1999), 이는 해마에서 발생하는 스트레스에 의한 수지상 돌기의 위축에 다양한 신경전달물질과 호르몬 시스템이 관여한다는 것을

보여주는 것이다. 해마에 대한 스트레스의 영향에 관여하는 중요한 인자들 중 하나는 NMDA (N-methyl-D-aspartate) 수용체이다. synaptic plasticity와 기억에 있어서 NMDA 수용체에 의한 Ca^{2+} 의 세포 내 유입, 그로 인한 세포 내 messenger cascades의 중요한 역할은 잘 알려져 있다 (Bliss와 Collingridge, 1993; Martin 등, 2000). 하지만 NMDA 수용체의 활성화는 해마에 대한 스트레스의 악영향에서도 중요한 역할을 한다. 해마의 피라미드 세포가 만성적으로 과 자극되면 같은 기전에 의해 소멸될 수 있음에도 불구하고 정보의 저장을 위해 NMDA 수용체를 지니고 있다는 것은 아이러니이다.

만성적인 강박 스트레스는 glutamate 수용체 subunit의 변화와 glial glutamate transporter 1 (GLT-1) 발현의 증가와 같은 다양한 분자 변화를 유발하고, synaptic glutamate의 증가를 통해 흥분독성 (excitotoxicity)을 유발할 수도 있다. 또한 흥분독성 수준으로 증가된 glutamate는 cAMP-response element binding (CREB)의 인산화를 일으킨다 (pCREB). 만성적인 강박 스트레스는 해마에서의 pCREB의 발현을 현저하게 증가시킨다. 이러한 pCREB의 발현은 신경세포의 생존과 연관이 있는데, 이는 protein kinase A (PKA), extracellular signal-related protein kinase, CaMK (Calcium-calmodulin kinase)를 통해 다양한 자극에 의해 유도되는 신경세포의 plasticity와 neurotrophin을 매개로 한다 (Finkbeiner, 2000; Bonni 등, 1999; Riccio 등, 1999). 일시적인 pCREB와 이차적인 CRE 매개의 유전자 전사는 배양된 세포에 glutamate를 노출시킨 후와 해마 신경세포에 허혈성 손상을 준 후에 나타나는데, 이러한 pCREB 발현의 증가는 metabolic stress에 대한 NMDA 수용체에 의존적인 방어 반응으로 해석될 수 있다. 만성적인 강박 스트레스에 의한 신경세포의 변형은, 신경세포의 변형에 관여하는 pCREB에 대한 비슷한 작용으로 EAA의 작용을 차단하거나 NMDA 수용체를 억제함으로써 예방할 수 있다 (Magarinos와 McEwen, 1995).

E. 스트레스의 영향에 관여하는 신경조절물질 (neurochemical mediators)

스트레스는 HPA 축과 자율신경계를 통해 corticosterone과 같은

glucocorticoids, adrenaline과 같은 catecholamine, 그리고 opiates의 분비를 포함한 신경화학적 반응들을 활성화시킨다. 따라서 예측 불가능한 스트레스에 의한 LTP의 손상은 다양한 신경조절물질들 간의 상호작용에 의해 영향을 받게 된다. 그들 중 LTP와 기억에 가장 큰 영향을 미치는 신경조절물질은 corticosterone이다. 해마의 plasticity에 대한 corticosterone의 영향은 매우 복잡하다. 몇몇 연구들을 통해 adrenalectomy를 통해 corticosterone의 농도가 매우 낮을 때와 스트레스를 받거나 외부 주입에 의해 corticosterone의 농도가 매우 높을 때 모두 LTP의 손상과 연관이 되어있고, 적절한 농도의 corticosterone이 존재할 때 최대의 LTP가 발생하는 등 corticosterone의 농도와 LTP의 크기 사이에는 biphasic한 상관관계가 존재한다는 것을 알게 되었다 (Bennett 등, 1991; Diamond 등, 1992). 그 후의 연구들은 corticosterone과 LTP 사이의 역-U자 모양의 관계에 대한 기전의 기초를 입증하였다. corticosterone이 낮은 농도일 때 일어나는 MRs의 활성화는 LTP 크기의 증가를 보이는 반면, corticosterone이 높은 농도일 때 일어나는 GRs의 활성화는 LTP를 감소시키는 대신 LTD (long-term depression)를 향진시킨다 (Pavlidis 등, 1995). 즉, 스트레스를 받는 동안 고농도의 corticosterone이 GRs를 활성화 시키고 활성화된 GRs가 해마의 plasticity를 억제하게 되므로 GRs가 해마에 대한 corticosterone의 악영향에 중요한 역할을 한다.

corticosterone은 또한 세포 내의 Ca^{2+} 농도를 증가시키고 Ca^{2+} -gated K^+ channels를 활성화시키며 (Kerr 등, 1989; Joels 등, 2001), Ca^{2+} 의 세포 내 유입을 향진시키는 channels를 부호화하고 있는 유전자의 발현을 증진시킨다 (Nair 등, 1998). 최근 연구는 스트레스 수준의 corticosterone이 초기에는 MR을 매개로 해마의 세포 흥분성을 향진시키지만 그 후 GR을 매개로 세포 활성도를 억압하게 된다는 것을 보여주었는데 (Joels 등, 2001), 이러한 기전으로 LTP의 발생이 억제될 수 있을 것이다.

하지만 corticosterone의 농도의 증가 자체만으로는 해마의 LTP 손상에 대한 충분한 설명이 되지 않는다. 예를 들어 adrenalectomy의 결과로 corticosterone이 고갈된 쥐에서도 스트레스에 의한 LTP 억제가 나타나고

(Shors 등, 1990), dexamethasone을 투여하여 corticosterone의 분비를 억제한 정상 동물에서도 스트레스에 의한 LTP 손상은 여전히 나타난다 (Foy 등, 1990). 또한 최근 연구에서는 amygdala의 손상 (Kim 등, 2001), 스트레스 수준의 corticosterone을 외부에서 주입한 경우, 성적으로 흥분한 수컷 쥐 (Diamond 등, 2002) 등 corticosterone의 농도가 증가했음에도 불구하고 해마에 악영향을 미치지 않는 3가지 다른 경우를 제시하였다. 즉, 공포가 동반되지 않거나 amygdala가 온전하지 않은 상태에서 corticosterone의 농도가 증가하는 것은 해마의 처리능력에 손상을 일으키기에 충분하지 않다. 해마 기능에 대한 스트레스의 영향에서 glucocorticoid 외의 다른 신경조절물질들에 대한 연구들이 있었다. 첫 번째는 opioid 길항제인 naltrexone이 학습과 LTP 모두에 대한 스트레스의 영향을 차단한다는 것으로 이는 스트레스에 의한 opioid peptides가 synaptic plasticity에 대한 스트레스의 영향을 조절하는데 관련이 있다는 것을 보여주는 것이었다 (Maier SF, 1990; Shors TJ 등, 1990). 두 번째는 5-HT 시스템이 해마에 대한 스트레스의 영향을 조절하는데 관련이 있다는 것이다. 스트레스가 해마 내의 5-HT 수준을 증가시키고 외부에서 주입한 5-HT가 자유롭게 활동하는 쥐에서의 in vivo와 in vitro 실험에서 CA1 부위의 LTP를 억제할 수 있다는 것은 5-HT가 기억 형성에 관여하는 synaptic plasticity를 억제할 수 있다는 것을 보여주는 것이다 (Joseph MH 등, 1983; Corradetti R 등, 1992; Staubli U와 Xu FB, 1995). 세 번째는 NMDA 수용체의 길항제가 학습, LTP, 그리고 GR 매개의 LTP 손상 등 스트레스의 영향을 차단할 수 있다는 것이다 (Shors TJ와 Servatius RJ, 1995; Kim JJ 등, 1996; Coussens CM 등, 1997). 이러한 결과들을 볼 때 해마의 plasticity에 대한 스트레스의 영향에는 glucocorticoid 뿐 아니라 여러 다른 신경조절물질도 중요한 역할을 하며 관여한다는 것을 알 수 있다.

F. 스트레스에 의한 해마의 구조적 변형을 예방하는 리튬의 효과

최근 Wood 등은 glutamate 흥분독성 (excitotoxicity) 등 다양한 상태에서 신경보호효과를 나타내는 (Dixon과 Hokin, 1998; Nonaka와 Chuang, 1998) 리튬

을 장기간 처리하였을 때, 해마의 CA3 부위에서 만성적인 스트레스에 의해 발생하는 수지상 돌기의 구조적인 변형을 예방할 수 있음을 보여주었다 (Wood 등, 2004). 장기간의 리튬 처리는 스트레스에 의한 GLT-1 mRNA 발현의 변화를 유발한다. 만성적인 스트레스에 의한 GLT-1 단백질 발현의 증가는 스트레스 동안 관찰된 glutamate의 세포 외 농도의 증가가 GLT-1 발현의 보상적 증가를 유도한다는 것을 보여준다. 이러한 스트레스에 의한 GLT-1 발현의 증가를 방지하는 리튬의 능력은 운반체 활성화의 변화를 포함하여 glutamate 활성화를 안정화시키는 능력 때문으로 생각된다. 리튬은 스트레스에 의한 신경세포의 변형뿐만 아니라 CA3 부위와 dentate gyrus에서의 GLT-1 mRNA 발현과 pCREB 발현의 증가를 방지하는데 이러한 리튬의 보호 효과의 일차적인 작용 부위는 CA3-DG feedback loop로 생각된다 (Wood 등, 2004).

G. LTP 자체를 항진시키는 리튬의 효과

최근 시행된 한 연구는 리튬이 쥐의 dentate gyrus에서 해마에서의 신경발생 (neurogenesis)과는 독립적으로 LTP를 항진시킴을 보여주었다 (Yu 등, 2003; Son 등, 2003). 리튬은 뇌에서 다양한 신호 체계에 영향을 미친다. bcl-2를 증가시키고 (Kempermann 등, 1997; Chen 등, 1999; Manji 등 1999), G proteins의 mRNA 수준을 증가시키며 (Li 등, 1991), cyclic AMP의 수준을 증가시키고 (Masana 등 1992), CREB의 인산화를 증가시키며 (Ozaki와 Chuang, 1997), in vitro 대뇌 절편에서 inositol 1,4,5-triphosphate (IP3)의 축적을 증가시킨다 (Dixon 등, 1994). 또한 BDNF (brain-derived neurotrophic factor)의 발현 (Fukumoto 등, 1994)과 medium으로의 glutamate 분비 (Dixon 등, 1994)를 증가시키고 GSK 3 (glycogen synthase kinase)의 억제를 증가시킨다 (Grimes와 Jope, 2001). 이 연구는 리튬에 의해 유도되어 새로 생성된 신경세포들이 항진된 LTP에 기여했을 수 있다고 보고했는데, 이는 운동에 의한 neurogenesis의 증가가 해마의 LTP를 증가시킨다는 과거 연구에서 운동이 trophic factors와 angiogenesis를 통해 neurogenesis와 synaptic plasticity에 간접적으로 영향을 줄

수 있다는 보고 (van Praag 등, 1999)와 신체적 활동이 쥐의 해마에서 BDNF 전사의 발현을 가능하게 한다는 보고 (Russo-Neustadt 등, 2000)와 일맥상통한다. 이 연구의 저자들은 새롭게 생성된 신경세포가 새로운 기능의 circuit을 형성하고 LPT에 필수적인 key molecules의 upregulation을 유도한다고 주장하였다.

H. 연구의 목적

설치류에서 만성적인 스트레스에 의해 유발되는 공간기억의 손상을 장기간의 리튬 처리로 완화시킬 수 있다는 연구결과가 보고 되었는데 (Vasconcellos 등, 2003), 단기간의 스트레스에 의해서도 LTP 손상이 나타나나 (Xiong 등, 2004) 단기간의 스트레스에 대한 리튬의 치료 효과에 대한 연구는 별로 없는 실정이다. 저자는 단기간의 스트레스에 의한 LTP 손상을 리튬이 완화시킬 수 있다는 가설 하에 본 연구를 시행하였다.

II. 재료 및 방법

A. 실험재료

성에 따른 stress에 대한 반응의 차이와 glucocorticoid의 농도의 차이에 따른 편견을 통제하기 위해 같은 종의 수컷 쥐들 (male Sprague Dawley rats)만을 사용하였다. 환경적 요인에 의한 stress를 통제하기 위해 쥐들은 실험 전까지 자유롭게 (ad libitum) 음식과 물을 섭취하면서 빛과 온도가 조절되는 (빛은 오전 8시부터 오후 8시까지 제공됨) 우리에서 지냈으며, 실험 당시에 태어난 지 6~7주가 되었고 무게가 150~200g인 쥐들만을 실험에 사용하였다.

Bipolar stimulating electrode는 teflon이 코팅된 stainless steel (bare 0.003 inch, coated 0.0045 inch)을 두 가닥으로 꼬아서 만들었다. Recording electrode는 glass capillaries를 micropipette puller (Sutter instrument co. P-97)로 가늘게 뽑아낸 후 2M NaCl을 가득 채워서 만들었다 (electrode resistance 1~5M Ω).

B. 실험방법

1. 스트레스

쥐를 아크릴 원통 (길이: 15cm, 반지름: 2cm)에 넣고 원통의 양끝을 생쥐 우리 (mouse cage)의 벽면에 위치시켜 쥐가 움직이지 못하도록 하여 1시간 동안 immobilization 시키는 방법으로 스트레스를 주었다. 투명한 아크릴 원통을 통해 쥐의 움직임 여부를 관찰하였다.

2. 해마 절편의 제작

혈중 corticosterone의 농도에 의한 간섭을 피하기 위해 혈중 corticosterone의 농도가 가장 낮은 오전 9시에서 10시 사이에 절단기를 이용하여 쥐를 단두 희생 하였다. 단두 후 신속히 뇌를 적출하였고, 적출된 뇌를 인공뇌척수액 (artificial CSF, aCSF)로 옮긴 후 스파툴라를 이용하여 뇌에서 해마를 분리하였다. 분리된 해마로부터 McGilwain tissue chopper를 이용하여 400 μ m 두께의 횡단

해마 절편들 (transverse hippocampal slices)을 준비하였다. 해마 절편은 여분으로 쥐 한 마리 당 6개씩을 준비하였다.

준비된 절편을 ice-cold (4°C), 95% O₂ and 5% CO₂ gas의 aCSF (NaCl (124.0), KCl (3.0), KH₂PO₄ (1.2), CaCl₂ (3.4), MgSO₄ (2.5), NaHCO₃ (26.0), D-Glucose (10.0), L-Ascorbate (2.0); 단위는 mM)에서 1시간 동안 냉각하여 회복시킨 후 작은 붓을 이용하여 interface-type recording chamber로 옮겼다. 이 해마 절편들은 aCSF가 지속적으로 공급되고 1~2ml의 부피가 유지되는 원형의 그물망 위에 놓여졌다.

절편들은 스트레스를 준 후 전기생리적 측정 시 리튬을 처리하지 않은 군 (스트레스군, n=20), 스트레스를 준 후 전기생리적 측정 시 각각 리튬 0.6mM, 리튬 1.0mM을 처리한 군 (리튬 0.6mM군, n=10; 리튬 1.0mM군, n=10), 스트레스를 주지 않고 전기생리적 측정을 한 군 (대조군, n=7), 스트레스를 주지 않고 전기생리적 측정 시 리튬 1.0mM을 처리한 군 (리튬 1.0mM 대조군, n=7), 이렇게 총 다섯 개의 군으로 나누었다.

3. 전기생리적 측정

Field potential은 CA1 부위의 stratum radiatum에서 측정하였는데, recording electrode를 양쪽의 stimulating electrode들 사이의 중앙에 위치시켰다. 즉 Schaffer collateral-commissural fiber를 양쪽에서 번갈아 자극하면서 (10sec interval) 측정하는 형태를 취하였다. 또한 이러한 electrode 들의 위치는 dendritic population EPSP (excitatory postsynaptic potential)가 가장 크게 나오는 부위를 고려하여 최종적으로 선택하였다. Pulsemaster (WPI)에 의해 생성된 electrical pulse는 stimulus isolator (WPI)를 통해 자극강도 (200~800 μ A)가 조절되어 stimulating electrode에 전달되며, recording electrode를 통해 들어온 electrical output들은 Amplifier (WPI)를 통해 필터링 (10~1000Hz)과 증폭(1000배)이 되어 audio monitor (GRASS), oscilloscope, 그리고 computer에 전달되었다. 실험 전 기간 동안 chamber 위의 해마 절편들은 항온기 (Medical System

Corp.)에 의해 35°C로 유지되었고, 95% O₂와 5% CO₂의 혼합가스가 녹아있는 aCSF가 공급되어졌다. 적어도 10분 동안 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 theta burst stimulation (TBS)을 이용하여 LTP를 유도하였고 유도된 LTP를 매 분당 반응성을 확인하면서 40분 동안 관찰하였다.

4. 리튬처리

1개의 해마 절편에서 LTP를 유도하여 40분 동안 관찰한 후 주사기용 펌프 (Stoelting perfusion pump)를 이용하여 해마 절편들에 20분 동안 lithium (1.0mM, n=10; 0.6mM, n=10)을 처리하였는데, 리튬은 stock crystal을 실험 직전에 aCSF에 녹여 농도를 맞추었다. stimulating electrode와 recording electrode를 위와 같은 방법으로 다른 해마 절편의 CA1 부위에 위치시켰고 적어도 10분 이상 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 theta burst stimulation (TBS)을 이용하여 LTP를 유도하였으며 유도된 LTP를 매 분당 반응성을 확인하면서 40분 동안 관찰하였다. 일단 LTP가 유도되면 같은 쥐에서 얻은 나머지 절편들은 모두 버렸고, 다음날 다른 쥐에서 얻은 절편들로 실험을 계속하였다.

5. 리튬이 baseline synaptic transmission에 미치는 영향을 알아보기 위한

실험

a. 스트레스군에서

위와 동일한 방법으로 stress를 준 쥐의 해마 절편에서 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 주사기용 펌프를 이용하여 20분 동안 1.0mM의 리튬을 처리하여 리튬이 baseline synaptic transmission에 미치는 영향을 관찰하였다. 이후 다시 10분 동안 aCSF로 superimposed 시켜 baseline synaptic transmission의 변화를 관찰하였다. (n=6)

b. 대조군에서

위와 동일한 방법으로 스트레스를 주지 않은 쥐의 해마 절편에서 baseline

synaptic transmission을 관찰한 후 주사기용 펌프를 이용하여 20분 동안 1.0mM의 리튬을 처리하여 리튬이 baseline synaptic transmission에 미치는 영향을 관찰하였다. 이후 다시 10분 동안 aCSF로 superimposed 시켜 baseline synaptic transmission의 변화를 관찰하였다. (n=6)

6. 리튬이 LTP 자체에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험

스트레스를 주지 않은 쥐의 해마 절편에서 위와 동일한 방법으로 10분 동안 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 TBS를 이용하여 LTP를 유도하였다. (n=10) 이후 주사기용 펌프를 이용하여 20분 동안 1.0mM의 리튬을 처리한 후 다른 해마 절편에서 10분 동안 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 TBS를 이용하여 LTP를 유도하였다. (n=10)

C. 통계처리

모든 자료는 computer에 저장되었고, 이 저장된 자료들을 NAC사의 NACshow 프로그램을 이용하여 분석하였다. 각 군에서 유도된 LTP의 유의성을 알아보기 위해 각 군의 baseline (M=100.00)과 각 군에서 유도된 LTP 크기의 평균을 비교하여 paired t-test를 시행하였다. 각 군에서 유도된 LTP 크기의 평균간의 차이를 알아보기 위해 one-way ANOVA를 시행하였고, post hoc test로는 Scheffe와 LSD를 시행하였다.

Ⅲ. 결 과

모든 군에서 유도된 LTP 크기의 평균 (스트레스군 (M=11237, SD=±1151), 리튬 0.6mM군 (M=141.06, SD=±8.45), 리튬 1.0mM군 (M=146.96, SD=±18.58), 대조군 (M=187.58, SD=±12.22), 리튬 1.0mM 대조군 (M=190.77, SD=±14.00))이 각 군의 baseline과 비교할 때 통계적으로 유의한 결과를 보여, 모든 군에서 LTP가 유의하게 유도되었음을 알 수 있었다 ($p<0.01$).

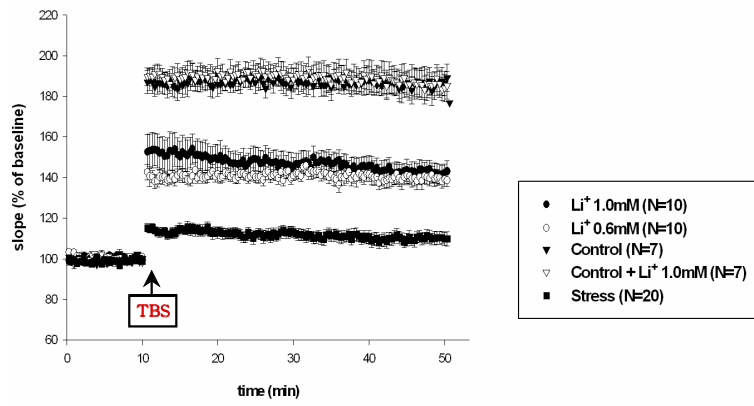
각 군에서 유도된 LTP 크기의 평균 간의 차이를 비교한 결과, 스트레스군에서 유도된 LTP의 크기의 평균은 리튬 0.6mM군, 리튬 1.0mM군, 대조군, 그리고 리튬 1.0mM 대조군에서 유도된 LTP 크기의 평균들과 통계적으로 유의한 차이를 보여 스트레스에 의해 해마 LTP가 유의하게 저하되었음을 알 수 있었다 ($p<0.05$).

리튬 0.6mM군에서 유도된 LTP의 크기의 평균은 리튬 1.0mM군을 제외한 모든 군들에서 유도된 LTP 크기의 평균들과 통계적으로 유의한 차이를 보였으며 ($p<0.05$), 리튬 1.0mM군에서 유도된 LTP의 크기의 평균은 리튬 0.6mM군을 제외한 모든 군들에서 유도된 LTP 크기의 평균들과 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ($p<0.05$). 즉, 리튬 0.6mM군에서 유도된 LTP의 크기의 평균과 리튬 1.0mM군에서 유도된 LTP 크기의 평균이 모두 스트레스군에서 유도된 LTP 크기의 평균과 통계적으로 유의한 차이를 보여 리튬이 0.6mM의 농도와 1.0mM의 농도에서 스트레스에 의한 해마 LTP의 저하를 유의하게 감소시킬 수 있음을 알 수 있었다. 하지만 리튬 0.6mM군에서 유도된 LTP의 크기의 평균과 리튬 1.0mM군에서 유도된 LTP 크기의 평균이 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않아, 리튬이 0.6mM과 1.0mM의 농도 차이에서는 스트레스에 의한 해마 LTP의 저하를 유의하게 감소시키는 효과에 차이가 없음을 알 수 있었다.

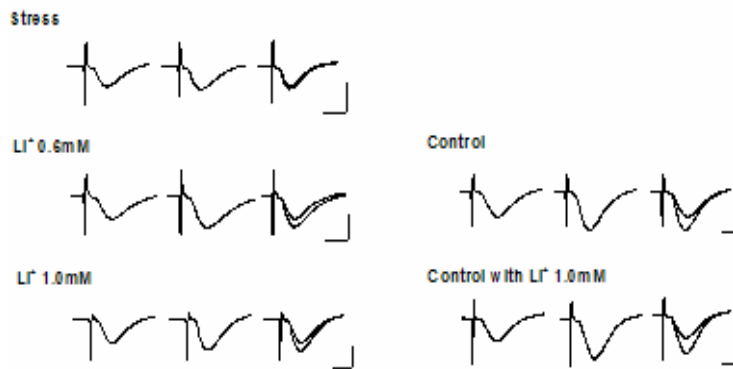
대조군에서 유도된 LTP 크기의 평균은 리튬 1.0mM 대조군을 제외한 모든 군들에서 유도된 LTP 크기의 평균과 통계적으로 유의한 차이를 보였고

($p < 0.05$), 리튬 1.0mM 대조군에서 유도된 LTP 크기의 평균은 대조군을 제외한 모든 군들에서 유도된 LTP 크기의 평균과 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ($p < 0.05$). 즉, 대조군에서 유도된 LTP 크기의 평균이 리튬 0.6mM군과 리튬 1.0mM군에서 유도된 LTP 크기의 평균과 유의한 차이를 보여, 리튬이 0.6mM과 1.0mM의 농도에서 스트레스에 의한 해마 LTP의 저하를 감소시키기는 하나 스트레스의 악영향을 완전히 차단하거나 되돌릴 수 없다는 것을 알 수 있었다. 또한 대조군에서 유도된 LTP 크기의 평균과 리튬 1.0mM 대조군에서 유도된 LTP 크기의 평균이 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않아 리튬 1.0mM군에서 나타난 LTP 크기의 증가가 리튬이 1.0mM의 농도에서 LTP 자체를 향진시키는 효과에 의한 것이 아니라 리튬이 1.0mM의 농도에서 스트레스에 의한 LTP 저하를 감소시키는 효과에 의한 것임을 알 수 있었다 (Fig. 1).

A



B



C

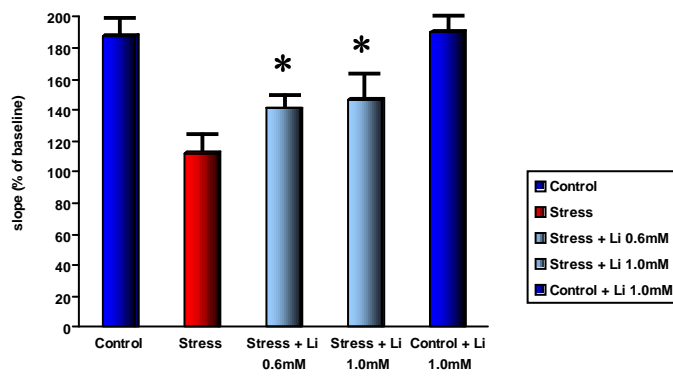
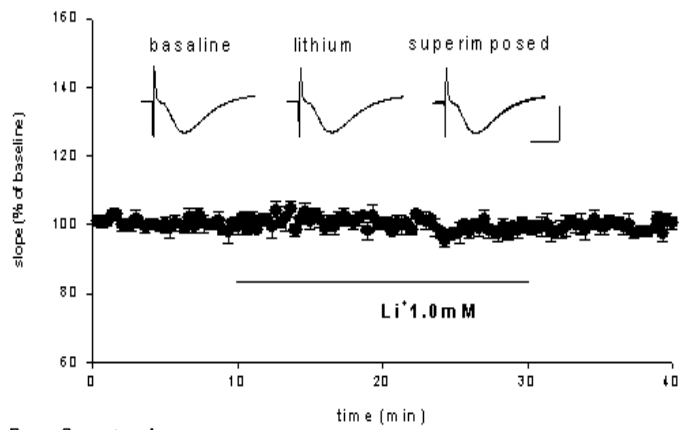


Fig. 1. Lithium attenuates stress-induced suppression of long-term potentiation (LTP) in the rat hippocampus. LTP was induced in the stressed group (M=112.37%, SD=±11.51), in the 0.6mM Li-treated group (M=141.06%, SD=±8.45), and in the 1.0mM Li-treated group (M=146.96%, SD=±18.58). Between the stressed group and the 0.6mM Li-treated group, means of LTP magnitudes were significantly different (*; p<0.05). Means of LTP magnitudes were also significantly different between the stressed group and 1.0mM Li-treated group (*; p<0.05). But, there were no significant differences between the means of LTP magnitudes in the 0.6mM and 1.0mM Li-treated group.

또한 baseline과 baseline에 리튬 1.0mM을 처리한 후, 그리고 다시 superimposed 시킨 후의 baseline 크기를 비교한 결과 스트레스를 준 군과 스트레스를 주지 않은 군 모두에서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않아 리튬이 1.0mM의 농도에서는 normal synaptic transmission에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다 (Fig. 2).

A Stress



B Control

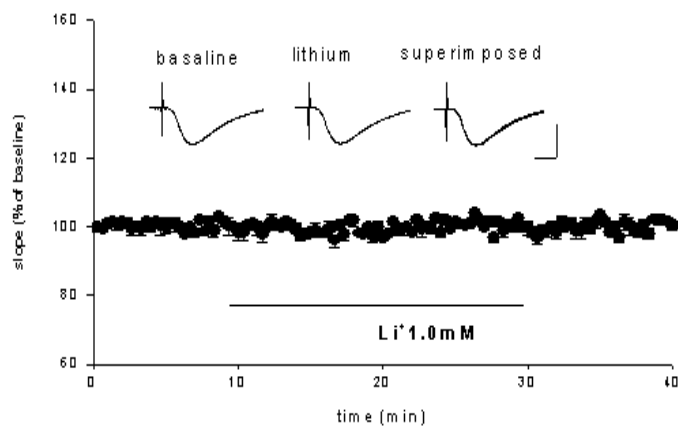


Fig. 2. The effect of lithium on baseline synaptic transmission. Lithium did not affect baseline synaptic transmission (N=12, stressed group=6, control group=6).

IV. 고 찰

본 연구에서 우리는 쥐의 해마에서 리튬이 스트레스에 의한 LTP 저하를 유의하게 감소시킬 수 있다는 것을 보여주었다. 리튬이 사람에서 양극성 기분 장애의 치료에 사용될 때 혈중 치료농도는 0.8~1.2mM로 알려져 있다. 또한 사람에서 리튬의 뇌와 혈청 내의 농도비는 0.5~0.9 : 1로 알려져 있다 (Constance 등, 2002). 본 연구에서 리튬은 쥐의 해마에서 0.6mM과 1.0mM의 농도에서 스트레스에 의한 LTP 저하를 유의하게 감소시켰는데, 이를 혈청 내의 농도로 환산하면 약 0.5~2.0mM로 리튬이 치료 농도에 근접한 농도에서 스트레스의 영향을 억제할 수 있음을 알 수 있다. 우리는 0.3mM 농도의 리튬으로도 같은 방법으로 실험을 하였으나 통계적으로 유의하게 스트레스의 LTP 저하를 감소시키지 않았다 (n=5). 리튬 0.6mM군과 리튬 1.0mM군 모두 통계적으로 유의하게 스트레스의 영향을 억제하였으나 리튬 0.6mM군과 리튬 1.0mM군 사이에는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 리튬 0.6mM군과 리튬 1.0mM군 모두 스트레스를 주지 않은 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 이를 통해 우리는 리튬이 치료 농도에 근접한 농도에서 농도와는 독립적으로 스트레스의 영향을 억제할 수 있으나 스트레스의 영향을 완전히 차단하거나 되돌릴 수는 없다는 것과 리튬이 낮은 농도 (0.3mM)에서는 스트레스의 영향을 억제할 수 없다는 것을 알 수 있었다.

Son 등의 연구 (2003)에서는 리튬이 LTP 유도 자체를 항진시킨다고 보고하였으나 본 연구에서는 스트레스를 주지 않은 대조군에서 유도된 LTP 크기의 평균과 대조군에 리튬 1.0mM을 처리한 리튬 1.0mM 대조군에서 유도된 LTP 크기의 평균이 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않아 리튬이 LTP 유도 자체를 항진시키지는 않는다는 것을 보여주었다. 이런 결과의 차이는 아마도 리튬의 처리 기간과 처리방법의 차이 때문으로 생각된다. Son 등의 연구에서 리튬의 혈청 내 농도는 단기처리 (2일 동안)일 때 $1.2 \pm 0.08\text{mM}$, 장기처리 (28일 동안)일 때 $0.97 \pm 0.20\text{mM}$ 로 1.0mM과 비슷하고 이를 뇌 내의 농도로 환산하면 약 0.5~

0.9mM로 리튬의 농도에서는 본 실험과 큰 차이가 없으나 리튬의 처리기간이 2일, 28일로 본 연구에서의 20분보다 매우 길다. 또한 본 연구에서 해마 절편에 직접 흘려보내 리튬을 처리한 것과는 달리 Son 등은 리튬을 살아있는 쥐의 복강에 주사하였다. 이러한 리튬의 처리방법의 차이 또한 결과의 차이를 유발시킬 수 있을 것이다. 그리고 본 연구에서는 리튬이 1.0mM의 농도에서 normal synaptic transmission에도 영향을 미치지 않는다는 것을 보여주었다.

LTP를 조절하는 리튬의 기전을 설명하기 위해서는 생각해야 할 것들이 있다. 먼저 어떤 신호체계가 neurogenesis와 직접적으로 연관이 있는가이다. 이전 연구들에서는 새롭게 생성된 어린 신경세포에서 pCREB와 BrdU의 공존이 존재하거나 (Bender 등, 2001) 존재하지 않는다 (Nakagawa 등, 2002)는 것을 보여주었다. 앞서 말했듯이 Ozaki와 Chuang (1997)은 28일 동안의 장기적인 리튬 처리가 쥐의 뇌에서 CREB에 의해 매개되는 전사 (transcription)를 증가시킨다는 것을 보여주었고 Shieh와 Ghosh (1999)는 CRE가 쥐의 뇌에서 BDNF mRNA의 전사에 있어서 key element임을 보여주었다. 또한 mature granular cells로부터의 neurotrophins의 분비는 immature granular cells에서의 CREB의 phosphorylation을 유도한다는 보고도 있다 (Bender 등, 2001). 반면에 리튬은 GSK 3의 활성화를 직접적으로 억제함으로써 CREB를 활성화 시킨다 (Grimes와 Jope, 2001). Son 등 (2003)은 리튬에 의해 pCREB, BDNF, 그리고 bcl-2의 발현이 증가함을 보여주었는데 이는 리튬을 처리한 쥐의 해마에서 pCREB, BDNF, bcl-2가 매우 가깝게 연결된 신호체계임을 보여주는 것으로 생각된다. 또한 치료농도의 리튬이 IP3의 축적을 유의하게 증가시키지 않음을 보고하였는데, 이는 과거 연구들에서는 10~25mM 정도의 고농도의 리튬을 처리하였기 때문이라고 생각된다. 즉, 치료농도에서 단기간의 리튬 처리는 생리적으로 타당한 IP3의 축적에 의한 neurogenesis와는 독립적으로 LTP 향진에 기여하는 것으로 생각된다. 그리고 리튬이 LTP 향진에 기여하는 세포 내 기전은 리튬이 normal synaptic transmission에는 영향을 미치지 않는다는 본 연구결과와 리튬이 세포 내의 칼슘이온 농도를 증가시킴으로써 세포의 자연사를 방지한다는 Kang 등의 연구결과

(Kang 등, 2003)를 참조할 때 칼슘 이온의 세포 내 유입보다는 세포 내의 칼슘 이온 농도와 더 관련이 있는 것으로 생각된다.

또한 스트레스에 의한 LTP 손상의 기전으로 LTP saturation model (Landfield와 Deadwyler, 1998)을 생각해 볼 수 있다. 스트레스가 해마에서 basal synaptic transmission의 수준을 증가시킴으로써 LTP의 유도를 막는다는 것이다. LTP는 saturation이 될 수 있기 때문에 만일 스트레스가 해마에서 LTP나 LTP와 유사한 변화를 일으킨다면 그 후에 일어나야 할 LTP가 억제될 것이다. 즉, 먼저 유도된 LTP는 LTD의 유도와 같은 synaptic transmission을 유발할 것이다. 따라서 만일 스트레스가 해마에서 LTP나 LTP와 유사한 변화를 일으킨다면, LTD의 향진이 일어날 것이다. (Kim 등, 1996).

본 연구는 해마 절편에 리튬을 직접 처리하는 *in vitro* 실험으로 스트레스를 1회의 단기간으로 주었고 처리한 리튬의 농도가 다양하지 못하고 제한적인데 이러한 점들이 본 연구의 제한점으로 생각된다. 향후 이 실험의 결과에 정확성을 기하기 위해 자유롭게 활동하는 쥐의 해마에 직접 전극을 위치시켜 LTP 등의 synaptic plasticity를 측정하는 *in vivo* 실험이 진행되어야 할 것으로 생각된다. 또한 이전 연구들과 다른 결과를 보인 부분들에 대한 보완으로 리튬 처리 기간과 스트레스 기간을 다양화하고 사료에 리튬을 섞거나 직접 복강 주사를 하는 등 리튬 처리 방법을 다양화한 실험이 진행되어야 할 것이다. 그리고 리튬의 농도를 저농도부터 고농도까지 더 다양화하여 스트레스에 의한 영향을 억제 또는 감소시키는 효과가 나타나는 리튬의 농도를 정확히 평가하는 과정이 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 저자는 스트레스에 의한 해마 LTP의 저하 또는 차단과 같은, 스트레스의 기억에 대한 악영향을 리튬이 예방하거나 감소시킬 수 있다는 가설을 세웠고 이를 검증하기 위해서 연구를 시행하였다.

쥐를 1시간 동안 아크릴원통에 집어넣고 움직이지 못하게 하는 immobilization 방법으로 스트레스를 준 후 쥐를 단두 희생하여 뇌를 적출하고 해마를 분리하였다. 400 μ m의 해마 절편을 제작하여 산소가 충분히 녹아있는 4°C aCSF에서 회복시킨 후 recording chamber로 옮겼다. CA1 부위에 recording electrode와 stimulating electrode를 위치시켰고 적어도 10분 동안 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 TBS를 이용하여 LTP를 유도하였고 유도된 LTP를 40분 동안 관찰하였다. 20분 동안 lithium (1.0mM, n=10; 0.6mM, n=10)을 처리한 후 stimulating electrode와 recording electrode를 다른 해마 절편의 CA1 부위에 위치시켰고 적어도 10분 이상 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 TBS를 이용하여 LTP를 유도하였으며 유도된 LTP를 40분 동안 관찰하였다. 리튬이 baseline synaptic transmission에 미치는 영향을 알아보기 위해 stress를 준 쥐와 주지 않은 쥐의 해마 절편에서 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 20분 동안 1.0mM의 리튬을 처리하여 리튬이 baseline synaptic transmission에 미치는 영향을 관찰하였다. 이후 다시 10분 동안 aCSF로 superimposed 시켜 baseline synaptic transmission의 변화를 관찰하였다. (n=6; n=6) 또한 리튬이 LTP 자체에 미치는 영향을 알아보기 위해 스트레스를 주지 않은 쥐의 해마 절편에서 10분 동안 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 TBS를 이용하여 LTP를 유도하였고 (n=10), 이후 20분 동안 1.0mM의 리튬을 처리한 후 다른 해마 절편에서 10분 동안 baseline synaptic transmission을 관찰한 후 TBS를 이용하여 LTP를 유도하였다. (n=10) 각 군에서 유도된 LTP의 유의성을 알아보기 위해 paired t-test를 시행하였고 각 군에서 유도된 LTP

크기의 평균 간의 차이를 알아보기 위해 one-way ANOVA를 시행하였고, post hoc test로는 Scheffe와 LSD를 시행하였다.

모든 군에서 LTP는 유의하게 유도되었다 ($p < 0.01$). 각 군에서 유도된 LTP 크기의 평균 간의 차이를 비교한 결과, 스트레스군에서 스트레스에 의해 해마 LTP가 유의하게 저하되었음을 알 수 있었고 ($p < 0.05$), 리튬 0.6mM군과 리튬 1.0mM군이 모두 스트레스군과 통계적으로 유의한 차이를 보여 리튬이 0.6mM의 농도와 1.0mM의 농도에서 스트레스에 의한 해마 LTP의 저하를 유의하게 감소시킬 수 있음을 알 수 있었다. 하지만 리튬 0.6mM군과 리튬 1.0mM군은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않아, 리튬이 0.6mM과 1.0mM의 농도 차이에서는 스트레스에 의한 해마 LTP의 저하를 유의하게 감소시키는 효과에 차이가 없음을 알 수 있었다. 대조군이 리튬 0.6mM군, 리튬 1.0mM군과 유의한 차이를 보여, 리튬이 0.6mM과 1.0mM의 농도에서 스트레스에 의한 해마 LTP의 저하를 부분적으로 완화시킬 수 있다는 것을 알 수 있었다. 또한 대조군과 리튬 1.0mM 대조군이 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않아 리튬 1.0mM군에서 나타난 LTP 크기의 증가가 리튬이 1.0mM의 농도에서 LTP 자체를 항진시키는 효과에 의한 것이 아니라 리튬이 1.0mM의 농도에서 스트레스에 의한 LTP 저하를 감소시키는 효과에 의한 것임을 알 수 있었다. 그리고 baseline과 baseline에 리튬 1.0mM을 처리하여 비교한 결과, 스트레스를 준 군과 스트레스를 주지 않은 군 모두에서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않아 리튬이 1.0mM의 농도에서는 normal synaptic transmission에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

본 연구를 통해 우리는 리튬이 치료 농도에 근접한 농도 (0.6mM, 1.0mM)에서 스트레스에 의한 LTP 저하를 부분적으로 완화시킬 수 있다는 것과 리튬이 LTP 유도 자체를 항진시키거나 baseline synaptic transmission에는 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 향후 in vivo 실험, 리튬 처리 기간과 스트레스 기간의 다양화, 리튬 처리 방법의 다양화, 그리고 리튬의 농도를 다양화한 실험이 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Alfarez DN, Wiegert O, Joels M, Krugers HJ: Corticosterone and stress reduce synaptic potentiation in mouse hippocampal slices with mild stimulation. *Neurosci* 115(4):1119-1126, 2002
2. Baker KB, Kim JJ: Effects of stress and hippocampal NMDA receptor antagonism on recognition memory in rats. *Learn Mem* 9:58-65, 2002
3. de Kloet ER, Oitz MS, Joels M: Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends Neurosci* 22:422-426, 1999
4. Diamond DM, Bennett MC, Fleshner M, Rose GM: Inverted-U relationship between the level of peripheral corticosterone and the magnitude of hippocampal primed burst potentiation. *Hippocampus* 2:421-430, 1992
5. Diamond DM, Park CR, Plus MJ, Rose GM: In *Neuronal Mechanisms of Memory Formation* (ed. Holscher C), New York, Cambridge Univ. Press, 2001
6. Diamond DM, Park CR: Predator exposure produces retrograde amnesia and blocks synaptic plasticity. Progress toward understanding how the hippocampus is affected by stress. *Ann NY Acad Sci* 911:453-455, 2000
7. Kang HJ, Noh JS, Bae YS, Gwag BJ: Calcium-dependent apoptosis by lithium ion: essential role of phosphoinositide 3-kinase and phospholipase C γ . *Mol Pharmacol* 64:228-234, 2003
8. Kim JJ, Foy MR, Thompson RF: Behavioral stress modifies hippocampal plasticity through NMDA receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*

93:4750-4753, 1996

9. Kim JJ, Diamond DM: The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nat Rev Neurosci* 3:453-462, 2002
10. Kim JJ, Yoon KS: Stress: metaplastic effects in the hippocampus. *Trends Neurosci* 21:505-509, 1998
11. Malenka RC, Bear MF: LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5-21, 2004
12. McEwen BS: Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev Neurosci* 22:105-122, 1999
13. McEwen BS: Effects of adverse experiences for brain structure and function. *Biol Psychiatry* 48:721-731, 2000
14. McEwen BS, Sapolsky RM: Stress and cognitive function. *Curr Opin Neurobiol* 5:205-216, 1995
15. Sapolsky RM: Stress, the aging brain, and the Mechanisms of Neuron Death. Cambridge, Massachusetts, MIT press, 1992
16. Selye H: A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 138:32, 1936
17. Son H, Yu IT, Hwang SJ, Kim JS, Lee SH, Lee YS, Kang BK: Lithium enhances long-term potentiation independently of hippocampal neurogenesis in the rat dentate gyrus. *J Neurochem* 85:872-881, 2003
18. Vasconcellos APS, Tabajara AS, et al: Effect of chronic stress on spatial memory in rats is attenuated by lithium treatment. *Physiol Behav* 79:143-149,

2003

19. Wood GE, Young LT, Reagan LP, Hen B, McEwen BS: Stress-induced structural remodeling in hippocampus: prevention by lithium treatment. *PNAS* 101(11):3973-3978, 2004
20. Xiong W, Wei H, Xiang X, Cao J, Dong Z, Wang Y, Xu T, Xu L: The effect of acute stress on LTP and LTD induction in the hippocampal CA1 region of anesthetized rats at three different ages. *Brain Res* 1005:187-192, 2004
21. Yu IT, Kim JS, Lee SH, Lee YS, Son H: Chronic lithium enhances hippocampal long-term potentiation, but not neurogenesis, in the rat dentate gyrus. *Biochem Biophys Res Commun* 303:1193-1198, 2003