

만성스트레스 우울증 동물 모델에서 경두개자기자극이 해마 시냅스 가소성에 미치는 영향

김은주¹⁾ 김운령²⁾ 이연경¹⁾ 박은혜¹⁾ 박순권²⁾ 최준식¹⁾ 김현택¹⁾

1) 고려대학교 심리학과

2) 고려대 의대 해부학교실

경두개자기자극(repetitive transcranial magnetic stimulation: rTMS)은 최근 주요우울증 치료에 이용될 수 있는 가능성이 대두되고 있으나, 이 자극이 작용하는 세포 수준에서의 생리학적 기전은 아직 거의 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 rTMS의 작용기전을 세포 수준에서 알아보기 위해 rTMS가 동물의 전기생리학적 변화에 미치는 영향을 검사하였고, 이 효과를 우울증의 전통적 자극 기법인 전기경련충격(electroconvulsive shock: ECS)과 항우울제 중 하나인 fluoxetine과 비교하여 보았다. 수컷 Wistar 쥐를 우울증 동물 모델인 경미한 만성스트레스(chronic mild stress: CMS) 모델에 6주 동안 노출시켰고, 동물이 자당용액을 섭취하는 양을 측정하여 우울증의 행동적 증상인 무쾌감증(anhedonia)을 검사하였다. CMS에 노출된 동물과 비처치 집단 (NAIVE) 동물 사이에 자당용액 섭취량에서 통계적으로 유의한 차이가 나타났다. 무쾌감증을 확인한 후, CMS에 노출되었던 동물을 다음의 네 집단으로 나누어 2주 동안 CMS와 함께 처치하였다: rTMS처치집단 (rTMS), 모의 rTMS처치집단 (SHAM), ECS 처치집단(ECS), fluoxetine 처치집단(FLX). 2주간의 각 처치가 종결된 후 동물을 마취하여 관통로 치상핵 시냅스에서 장기상승작용(long term potentiation: LTP)을 in vivo로 유도하였고, 흥분성 시냅스후 장전위 (EPSP)를 기록하였다. NAIVE 집단에 비하여 SHAM 집단과 FLX 집단에서는 LTP가 거의 유도되지 않았다. 그러나, rTMS를 처치한 쥐에서는 LTP가 NAIVE 집단의 수준을 보여 LTP손상이 일어나지 않은 것을 확인하였다. rTMS 집단에서 LTP 손상이 일어나지 않은 것에 반해 ECS 집단에서는 LTP의 감소 경향이 있었으며 NAIVE 동물과 통계적으로 경미한 차이를 보였다. 이러한 결과는 rTMS가 CMS 처치에 의해 야기될 수 있는 시냅스 효율성의 손상을 보호함으로써 해마 뉴런의 정상적인 전기생리학적 현상을 손상시키지 않으며, rTMS의 항우울 효과는 이러한 시냅스 가소성의 보호 효과를 매개로 할 가능성이 있음을 시사한다.

주제어: 경두개자기자극(rTMS), 우울증, 만성스트레스(CMS), 장기상승작용(LTP), 전기경련충격(ECS)

* 이 논문은 2005년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (KRF-2005- 079-HS0012)

† 교신저자 : 김현택, 고려대학교 심리학과, (136-702) 서울시 성북구 안암동 5-1
E-mail : neurolab@korea.ac.kr

경두개자기자극(transcranial magnetic stimulation; TMS)은 우울증 등의 정신과 질환 처치에 사용되는 비침습적인 도구로 통증을 유발하지 않으면서 특이적으로 국소 부위를 자극할 수 있고, 비교적 쉽고 간단하게 환자에게 적용할 수 있는 처치 방법이다. 사람을 대상으로 수행된 최근 연구들에서는 반복적인 TMS(repetitive TMS; rTMS)가 우울증을 비롯한 기분 장애를 치료하는 데 효과를 거두고 있음을 보여주었다(Grunhaus et al., 2000; Pascual-Leone, Catala, & Pascual-Leone Pascual, 1996). rTMS를 반복적으로 처치하면 우울증 환자의 증상이 완화되며(George et al., 1995), 건강한 정상군 피험자의 기분을 변화시키고(Pascual-Leone, Catala, & Pascual-Leone Pascual, 1996), 다른 항우울 치료법과 함께 처치했을 때 치료의 효능을 증진시킨다(Conca, Koppi, Konig, Swoboda, & Krecke, 1996). rTMS의 항우울 효과는 전기경련충격(Electroconvulsive shock, ECS)이나 여러 항우울제와 같은 다른 전통적인 치료법과 비교하여 연구되고 있다. 한 연구에서는 rTMS가 정신병적 증상이 없는 주요우울증의 치료에서 ECS만큼 효과적이었다(Grunhaus et al., 2000). 흔히 처방되는 항우울제에 저항적인 우울증 환자들은 rTMS를 처치 받은 후 유의한 향상을 보였다(George et al., 1995). 더욱이, rTMS와 선택적 세로토닌 재흡수 억제제를 함께 처치했을 경우, 우울증을 치료하는 데 효과적인 것으로 밝혀졌다(Conca, Swoboda, Konig, Koppi, & Beraus, 1997). 이와 같이 rTMS는 전통적인 치료법과의 혼합을 통해서 혹은, rTMS 그 자체로써 항우울 효과를 보여 우울증의 주요한 대안적인 치료법으로 여겨지고 있다.

동물연구에서도 rTMS 처치가 우울증의 증상을 경감시키는 데 도움을 주는 것을 보이고

있다. 예를 들어, rTMS는 강제수영검시(forced swim test; FST) 모델에서 장기간(7회-18회) rTMS를 처치한 경우, 행동적 절망의 지표인 부동성이 감소되는 것이 보고된 바가 있다(Kim et al., 2006; Zyss, Mamczarz, & Vetulani, 1999). 그러나, 이들 연구들에 사용된 FST 모델은 단기적으로 우울증 증상을 야기하기 때문에 장기적인 스트레스에 의해 유발되는 인간의 우울증상을 모사하는 데는 한계가 있다. 이러한 한계를 극복하기 위해 개발된 우울증 동물 모델 중에 경미한 강도의 반복적인 스트레스를 이용하는 경미한 만성 스트레스(chronic mild stress; CMS) 모델이 있다. CMS 모델은 인간이 일상에서 받는 스트레스와 이로 인한 우울증적 증상을 가장 잘 모사할 수 있는 모델로 알려져 있다(Willner, Towell, Sampson, Sophokleous, & Muscat, 1987). 이러한 우울증 동물모델에서 우울증을 유발하기 위해서 사용되는 다양한 스트레스는 뇌내 다양한 변화를 일으킬 수 있는데, 예를 들어 조건화된 공포 스트레스나 지속적인 심리사회적 스트레스 또는 구금 스트레스는 여러 뇌 영역에서 시냅스 가소성을 변화시키는 것으로 알려져 있다(Garcia, Vouimba, & Jaffard, 1997; Gerges, Stringer, & Alkadhi, 2001; Pavlides, Nivon, & McEwen, 2002). CMS 절차를 적용한 동물 또한 전형적으로 심한 물리적 그리고 정서적 스트레스를 받게 되고, 이는 신경세포의 정상적인 세포생리에 변화를 가져오게 될 것이며 시냅스 가소성의 변화를 반영하는 장기상승작용(long-term potentiation; LTP)을 방해할 가능성이 높다(Kessal et al., 2006).

한편, 단기 혹은 장기 rTMS 처치는 마취된 정상 쥐의 치상회에서 관통로로 가는 자극에 대한 반응성을 상승시킨다는 것이 보고된 바

가 있다(Levkovitz, Marx, Grisaru, & Segal, 1999). 또한 rTMS에 오랫동안 노출되면 신경보호 효과가 있는 뇌내 화학 물질로 알려진 뇌유발영양인자(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)가 증가할 수 있다(Muller, Toschi, Kresse, Post, & Keck, 2000). Kim 등 (2006)의 연구에서는 우울증 증상을 유발시키는 FST 모델을 이용하여 rTMS가 LTP에 미치는 신경보호 효과를 보여준 바가 있다. 따라서, CMS로 인해 뇌내에 미치게 될 부적 효과가 rTMS의 처치로 인해 상쇄될 수 있으며, 이러한 세포내 변화를 통해 rTMS의 항우울 작용에 기여하는 세포내 기제를 살펴볼 수 있을 것이다.

본 연구에서는 인간의 일상에서 일어나는 스트레스 상황을 가장 잘 모사할 수 있는 것으로 알려진 CMS 모델을 사용하여 rTMS의 항우울 작용기전을 알아보고자 했다. 즉, 동물이 CMS에 노출되었을 때 세포 수준의 가소성에 부적 영향을 미치는지와 이러한 동물에 rTMS가 신경보호 효과를 미치는지 알아보아 rTMS가 우울증적 증상이 있는 동물의 세포생리에 미치는 영향을 평가하고자 하였다. 이를 위해 CMS에 노출된 동물에서 rTMS 처치가 해마의 LTP에 미치는 영향을 측정하였다. 또한, 이러한 rTMS의 치료적 특성을 전통적인 우울증 치료법인 ECS와 fluoxetine 처치와 비교 연구하였다.

방 법

피험동물 연구에 사용된 동물은 수컷 Wistar 혈통의 흰쥐로 실험 시작 당시 245g-250g이었다(중앙실험동물). 동물은 주야를 인위적으로 반전시킨 사육실에서 사육되었다(밤 주기: 9:00-21:00). 사육실의 실온(22-24 °C)과 습도

(50%)는 일정하게 유지되었고 먹이와 물은 충분히 공급되었다. 실험 전 동물을 무선적으로 실험군인 CMS 집단(n=42)과 비처치 집단(NAIVE, n=20)으로 배정하였다. CMS 처치를 시작한지 6주 후, CMS 집단은 다시 모의 rTMS 처치 집단(SHAM, n=14), rTMS 처치 집단(rTMS, n=14), ECS 처치 집단(ECS, n=7), 그리고 fluoxetine 처치 집단(FLX, n=7)으로 배정하였으며 각 처치 방법은 아래에 제시하였다.

CMS 절차 CMS 처치는 Willner 등(1987)에 의해 개발된 절차에 약간의 수정을 가하여 실시하였다(Willner, Towell, Sampson, Sophokleous, & Muscat, 1987). CMS 집단에 속한 동물은 분리된 방에서 6주 동안 CMS에 노출되었다. 동물에게 가해진 스트레스 자극에는 물 또는 먹이 박탈, 물 박탈 후 빈 물병 제시, 먹이 박탈 후 먹이 제한(깔짚에 먹이 가루 흩뿌리기), 주야 주기의 역전, 축축한 깔짚(250ml의 물로 깔짚을 적시), 깜박이는 불빛(stroboscopic light, 30W), 고밀집 사육(3마리 사육/cage), 사육 상자 기울이기(45°), 그리고 주기적 소음 (85dB의 백색잡음 제시) 등이 포함되었다(그림 1). 동물은 언제 어떤 종류의 스트레스가 제시될지 예측할 수 없었다. 통제 집단의 동물은 분리된 다른 방에서 사육되었으며 스트레스 집단의 동물과는 접촉하지 않도록 하였으며, 자당 용액 검사 이전에 실시하는 물박탈 이외에는 물과 먹이를 자유롭게 공급받았다.

자당용액 섭취 검사 동물을 1% 자당 용액에 적응시키기 위하여 홈케이지에서 물을 제공하지 않은 채로 48시간 동안 자당용액에 노출시켰다. 48시간 자당 용액 노출 후, 하루 1시간씩 4일 동안 자당용액 섭취량을 검사하였다

time	Thu	Fri	Sat	Sun	Mon	Tue	Wed
01:00							
02:00							
03:00				WN(2h)			
04:00			WD (15h)				LOF (12h) WN (3h)
05:00	WD	[TH] (20h)			WD	SC (18h)	
06:00	FD			WN(1h)	FD (18h)		
07:00	(20h)						
08:00							WN (1h)
09:00							
10:00			EB (2h)	SS (4h)			
11:00							
12:00							
13:00							
14:00	SI (1h)		Tilt (7h)	SS (2h)	RF (4h)	SS (9h)	LON (12h) Tilt (8h)
15:00		SS (7h)					
16:00							
17:00							
18:00							
19:00	[TH] (20h)		WN (3h)	SS (2h)	SC (18h)		
20:00		WD (15h)		WD FD (18h)			WD FD (20h)
21:00						LOF (12h)	
22:00			WN(2h)			WN (3h)	
23:00							
24:00							

그림 1. CMS 절차 (EB: 빈 물병 제시 FD: 먹이박탈 LOF: 주야 주기 역전 불 끄기, LON: 주야 주기 역전 불 켜기, RF: 먹이 제한 SC: 축축한 깔짚 SI: 자당용액 검사SS: 깜박이는 불빛 제시, TH: 고밀집 사육, Tilt: 사육상자 기울이기(45°); WD: 물박탈WN: 주기적 백색잡음 제시).

(기저선 검사). 자당용액 섭취 검사를 위해 24 시간 동안 물과 먹이를 박탈시켰고, 그 후 1 시간 동안 1% 자당 용액을 동물에게 제시하였다. 자당 용액 섭취량은 자당 용액을 담은 병의 섭취 전 용량과 섭취 후 용량의 차이로 계산하였다. 4일 간의 기저선 검사 후 CMS 절차를 시작하였고, CMS 처치 기간 동안 일주일 에 한 번씩 동일한 시간에(14:00-15:00) 자당용

액 섭취량을 관찰하였다.

rTMS 처치 rTMS는 Neopulse stimulator (Neotonus Inc., Marietta, USA)와 코어형 코일을 사용하여 가하였다. 자극은 기계 최대 자력의 100%의 강도를 10Hz로 제시하였고 이는 코일 표면에서 약 1.4T의 자기장을 발생시킨다. 자극은 하루에 총 1000개의 펄스(20 회)가 가해

졌다. 각 train은 50개의 펄스(5초)로 구성되었고, 각 train 사이에는 25초의 휴지기간이 있었으며 총 처치 시간은 10분이었다. 동물은 하루 한번씩 2주 동안 자극을 받았다. 자극을 받는 동안, 동물의 머리를 코일에 직접 노출시키기 위해 머리 위에 구멍이 뚫린 플라스틱 튜브에 동물을 가볍게 구금시켰다. 각 처치가 시작되기 전 3일간 매일 10분씩 구금튜브에 동물을 미리 적응시켰다. 코일의 중앙이 동물의 두개골 정수리 위에 위치하도록 하였으며, 코일의 손잡이는 쥐의 척수와 평행이 되도록 놓았다. 실험동물이 바뀔 때마다 남아있는 냄새를 제거하기 위해서 에탄올로 튜브를 닦아 주었다. SHAM 집단의 동물은 rTMS 집단 동물과 같이 가볍게 구금을 하였으나, 자극에는 노출시키지 않고 자극 기간 동안 제공되는 소리에만 노출시켰다.

ECS 처치 ECS는 S48 stimulator(Grass Instruments, Quincy, MA)를 이용하여 귀클립 전극을 통해 동물에게 제시하였다(150 V, 1 s, 50 Hz, 사각 펄스). 제시된 자극은 강직-강대성 발작을 일으켰으며, 이는 8-10초간 지속되었다. ECS는 2주 동안 격일로 동물에게 처치하였다. 피험동물은 척추골절을 막기 위해 수건으로 가볍게 싸서 자극을 받도록 하였다.

약물 Fluoxetine(명인제약)은 0.9% 식염수에 3mg/ml 농도로 용해하여 10mg/kg 용량으로 동물에게 피하주사 하였다(De Vry, Maurel, Schreiber, de Beun, & Jentzsch, 1999).

뇌시술 및 LTP 유도과 기록 각 집단을 모의 rTMS, rTMS, ECS, 그리고 fluoxetine으로 2주간 처치한 후 각 처치 집단과 NAIVE 집단에서

LTP 유도를 위한 뇌시술을 실시하였다. LTP 유도를 위한 실험에는 수시간이 소요되기 때문에 처치 효과의 소멸을 최대한 줄이기 위해 각 집단에서 일부의 동물만을 무선적으로 선택하여 처치 후 7일 안에 LTP를 유도하였다. 동물을 pentobarbital sodium(60mg/kg, 복강주사)으로 마취시키고, 입체뇌수술장치에 동물의 뇌를 고정시켰다. 에폭시로 절연된 양극성 스테인리스 스틸 전극(지름 200 μ m)을 관통로(브레그마에서 후측으로 7.5mm, 외측으로 4.0mm, 그리고 복측으로 3.5-5.9mm)에 위치시켰다. 양전극의 노출된 끝부분은 500 μ m 떨어져 있었다. 기록전극(에폭시로 절연된 텅스텐 전극, 지름 125 μ m, 저항 1-3M Ω)은 해마 치상회 과립세포층(브레그마에서 후측으로 3.5mm, 외측으로 2.0mm, 그리고 복측으로 3.5-4.9mm)을 표적으로 하여 관통로 자극에 의해 유발되는 시냅스 후 장전위(field excitatory postsynaptic potential, fEPSP)가 최대가 되는 지점에 위치시켰다. 해마 치상회에서 유발전위를 기록하기 위해 관통로에 위치시킨 양전극을 통해 1 msec 길이의 테스트 자극을 15초에 한번씩 제공하였다. 자극의 강도는 최대 유발전위의 50%가 나타나는 수준으로 결정하였다. 유발전위는 10000배 증폭시켜 1Hz-10kHz 사이에서 필터링을 하였고, 분석을 위해 10kHz로 자료를 받아 컴퓨터에 저장하였다. 관통로 자극에 대한 유발전위를 치상회에서 받아 10분간 기저선 반응으로 기록하였다. 기저선 기록에서 사용되었던 자극과 같은 강도의 자극을 고주파로 제공하는 연발자극(tetanus)을 제시하여 LTP를 유도하였다. 연발 자극의 파라미터는 선행연구에서 해마 LTP 유도를 위해 사용된 것과 같은 것을 사용하였다 (Do, Martinez, Martinez, & Derrick, 2002). 고주파의 연발자극을 제시하고 10분 후

부터 50분 후까지 15초에 한 번씩 유발전위를 측정하여 기록하였다. 상승된 정도를 fEPSP 변화의 백분율로 계산하고 4회의 반응을 평균하여 나타내었으며, 연발자극을 제시하기 전의 기저선 반응과 비교하였다. fEPSP 기울기는 fEPSP 전위의 초기상승곡선의 기울기로 나타내었다. LTP의 총량은 고주파 자극 제시 전후의 fEPSP 기울기의 증가율로 계산하였다.

실험 절차 본 연구에서는 CMS를 사용하여 동물에게 우울증 증상을 유발시키고, rTMS, ECS, 그리고 fluoxetine을 처치하여 rTMS가 해마 LTP에 미치는 영향을 ECS와 fluoxetine의 영향과 비교하고자 하였다. 전체적인 실험 절차를 그림 2에 제시하였다. 6주 간의 CMS 노출 이후, 우울증 증상이 유발된 동물을 SHAM, rTMS, ECS, 그리고 FLX 집단으로 배정하여 2주간 CMS와 함께 처치하였다. 2주 동안의 처치 후, LTP 유도 실험을 실시하였다.

자료 분석 체중과 자당섭취 분석에는 반복측정이 포함된 이원변량분석이 사용되었고, 필요시 Bonferroni 수정을 가하여 사후검증을 실시하였다. LTP 분석에는 각 집단의 LTP 총량을 비교하기 위하여 이원변량분석이 사용되었고 LSD 방법으로 사후검증을 실시하였다.

결 과

체중과 자당섭취량 변화 6주 간의 CMS 절차를 실시하면서, 모든 집단의 동물의 체중을 측정하였고, 기저선 측정치와 CMS 기간 동안의 체중 변화량을 반복측정 변량분석으로 분석한 결과를 그림 3의 가)에 제시하였다. NAIVE 동물과 CMS 동물 모두에서 몸무게가 증가하였으나 [F(1, 57)=2548.388, $p < .001$], CMS 동물이 NAIVE 동물에 비하여 체중이 감소하였다 [F(1, 57) = 32.901, $p < .001$]. 이는 회기×처치 상호작용 효과에서 더 명확하게 볼 수 있었으며 [F(1, 57)=262.499, $p < .001$], Bonferroni 수정을 가한 다중평균 비교결과 CMS 처치 기간 동안 (week 1-6) CMS 동물의 체중이 NAIVE 동물에 비하여 감소한 것을 볼 수 있었다($p < .001$). 그림 3의 나)에는 자당섭취량 결과를 제시하였다. 반복측정변량분석 결과, 회기×처치 상호작용 효과가 유의한 것으로 나타났고 [F(1, 57) = 18.664, $p < .001$], Bonferroni 수정을 가한 다중평균비교를 실시한 결과, 6주 간의 CMS 처치 기간 동안 (week 1-6)의 CMS 동물이 섭취한 자당용액의 양이 NAIVE 동물보다 적었음을 알 수 있었다($p < .001$). 6주 동안의 CMS 처치 이후 체중과 자당용액 섭취량이 감소한 것으로 보아, 우울증적 증상이 유발되었다고 판단할 수 있었다.

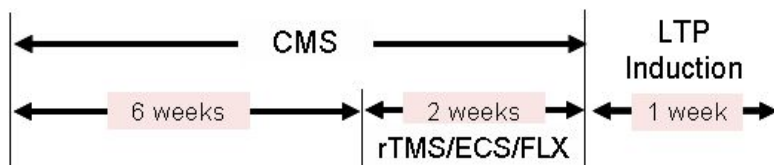


그림 2. 실험절차

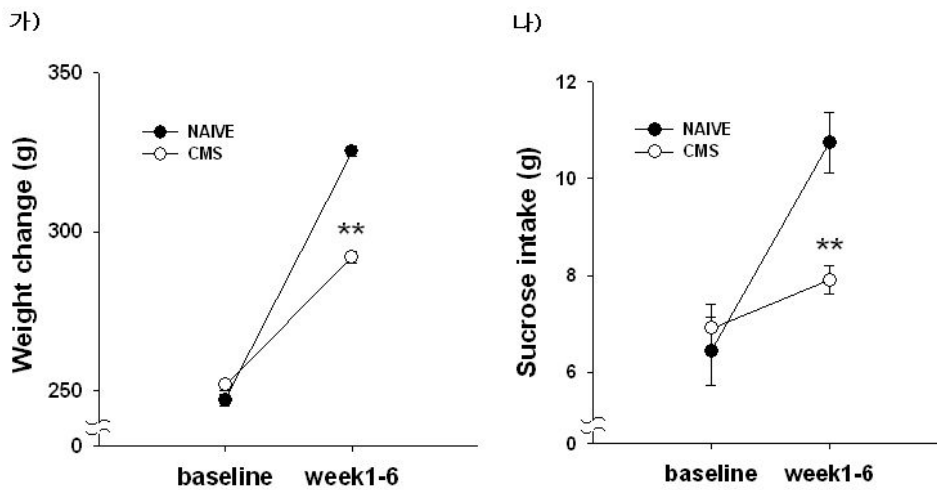


그림 3. CMS 처치 동안의 체중과 자당섭취량 변화 (각각 가), 나)). ** $p < .001$

LTP 유도 2주 간의 처치 후, 뇌 시술을 위해 동물을 마취시킨 뒤 LTP를 유발시키고, 저선 및 LTP 유도 후 반응을 측정하여 기록하

였다(그림 4). fEPSP 증가에 있어서 네 집단 간에 통계적으로 유의한 집단 효과가 있었다 [$F(4, 17) = 3.065, p < .05$]. LSD 사후검증 결과,

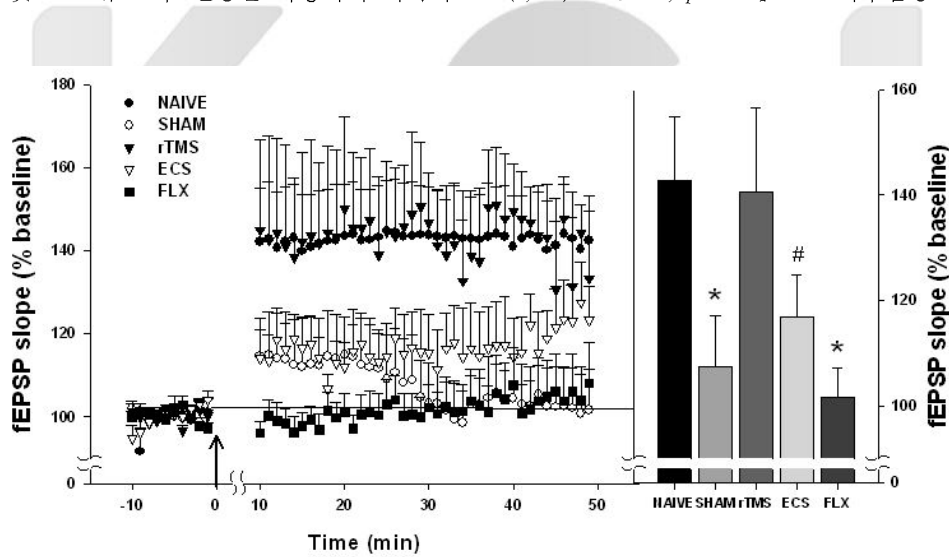


그림 4. 해마 LTP 유도 왼쪽 그래프는 LTP 유도 후 rTMS(n=3), SHAM(n=4), ECS(n=4), FLX 집단(n=4)과 NAIVE 집단(n=6) 동물에서 보인 fEPSP의 패턴을 보여준다 오른쪽 그래프는 LTP를 유도시키고 50분 후까지 보인 각 집단의 모든 반응값의 평균을 보여주는 그래프이다. 화살표는 연발자극 제시 시점이다.

* = NAIVE 집단과의 차이: * $p < .05$; # = NAIVE 집단과의 차이: # $.05 < p < .1$.

SHAM 집단과 FLX 집단이 NAIVE 집단에 비하여 fEPSP가 유의하게 감소하였으며($p < .05$), 이는 두 집단에서 LTP 유도가 억제된 것을 나타낸다. ECS 집단 또한 NAIVE 집단에 비하여 fEPSP의 크기가 감소하는 경향을 보였다($p = .075$). 그러나, rTMS 집단에서 LTP가 유도된 크기는 NAIVE 집단의 수준과 유사한 수준을 보이며 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

논 의

본 연구에서는 rTMS가 항우울 작용을 할 때 이에 관여하는 세포 내 기전을 알아보기 위해 우울증 증상을 유발하는 것으로 알려진 CMS에 노출된 동물의 해마 LTP에 미치는 rTMS의 영향을 알아보았다.

먼저, 그림 3의 가)와 나)에서 볼 수 있듯이 6주 간 동물을 CMS에 노출 시킨 후 스트레스를 받은 동물이 비처치 동물에 비하여 체중과 자당섭취량이 유의하게 감소하였다. CMS 절차에 의한 이러한 체중 감소와 자당섭취량의 감소는 선행 연구에서 보고된 바가 있다 (Duncko, Kiss, Skultetyova, Rusnak, & Jezova, 2001; Monleon et al., 1995; Papp, Moryl, & Willner, 1996; Willner, Moreau, Nielsen, Papp, & Sluzewska, 1996). 체중 감소 및 자당섭취량의 감소로 보아, 본 실험에서 사용된 스트레스 절차가 우울증적 증상을 유도한 것으로 볼 수 있다. CMS로 인한 자당섭취량 감소는 CMS 처치기간 이후에도 몇 주간 지속되는 것으로 알려져 있다 (Willner, Towell, Sampson, Sophokleous, & Muscat, 1987).

모든 처치가 끝난 후, 각 집단에서 해마 LTP를 유도하였다. 그 결과, 그림 4에서 보듯이 스트레스 처치 후 SHAM 집단과 FLX 집단

에서는 LTP 유도 수준이 비처치 동물에 비하여 손상을 보였으나, rTMS 집단은 fEPSP와 NAIVE 집단과 유사한 수준으로 증가하여 50분간 지속되었다. ECS 집단 역시 fEPSP가 NAIVE 집단에 비하여 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 rTMS의 전기생리학적 기제가 해마의 가소성 회복과 관련이 있다는 선행 연구(Kim et al., 2006)를 지지하며, ECS와는 그 세포기제가 다를 수 있다는 가능성을 시사한다.

본 연구에서 사용하였던 연발자극은 NAIVE 집단에서 fEPSP를 효과적으로 증가시켰으며, 이는 해마 LTP에 대한 선행 연구의 결과와 일치한다 (Bliss & Lomo, 1973). SHAM 집단에서 LTP가 유도가 손상된 것을 보아, 6주간의 CMS 노출은 동물의 해마에 LTP를 방해하는 효과를 가져다주었다는 것을 알 수 있다. 이러한 결과는 또한, 다양한 스트레스 조건이 해마의 가소성에 미치는 영향을 살펴보았던 선행 연구들의 결과와 일치하는 것이다. Shors 등 (1989)은 셔틀 상자에서 피할 수 없는 전기충격을 주었을 때 쥐의 해마 조직에서 LTP가 손상된 것을 보고하였다 (Shors, Seib, Levine, & Thompson, 1989). 또한, 구급 스트레스와 꼬리 전기충격을 함께 동물에게 가했을 때 해마 LTP가 유의하게 감소하였다 (Foy, Stanton, Levine, & Thompson, 1987; Kim, Foy, & Thompson, 1996). 다양한 물리적, 심리사회적 스트레스가 동물에게 우울증 유사 증상을 야기한다는 것을 고려할 때 (Anisman & Zacharko, 1982), 본 연구에서 사용된 우울증 동물 모델이 LTP를 유발시키는 데 필요한 해마 기능을 방해했다고 볼 수 있다.

본 연구에서 주요한 발견은 rTMS처치가 CMS로 인해 야기될 수 있는 LTP 손상을 보호

하는 효과를 보여 연발자극 제시 후 비처치 동물과 같은 정도의 fEPSP를 유도했다는 사실이다. 본 연구에서 사용된 CMS 모델에서 rTMS의 효과에 대한 직접적인 증거를 제시하는 것은 어려우나, rTMS가 스트레스에 의해 유발된 해마 가소성의 손상의 회복을 설명할 수 있는 다음의 두 가지 기제가 가능하다. 먼저 첫 번째 가능성은, rTMS가 BDNF의 합성을 통해 해마 LTP의 손상을 보호했다는 것이다. 정상 동물에 rTMS를 장기간 처치하면, CA3와 과립세포층을 포함하는 해마영역에서 BDNF가 유의하게 증가된다는 결과가 보고된 바 있다 (Muller, Toschi, Kresse, Post, & Keck, 2000). BDNF는 LTP 유도에 기여하는 물질로 알려져 있기 때문에 (Kovalchuk, Hanse, Kafitz, & Konnerth, 2002), rTMS가 BDNF의 합성을 증가시켜 스트레스를 받은 동물에서 손상된 해마 가소성을 회복시켰을 가능성이 있는 것이다. BDNF가 새로 생성되는 신경세포의 생존 및 증식에 기여하는 것은 일반적으로 받아들여지고 있기 때문에 (Barnabe-Heider & Miller, 2003), rTMS가 해마 신경세포발생에 의해 매개되는 것으로 볼 수도 있다. 그러나, Czeh 등(2002)이 보고한 바에 의하면, 만성 심리사회적 스트레스 모델에서 rTMS를 장기간 처치했을 경우, 성체의 해마 신경세포발생에 정적 효과가 나타나지 않았다(Czeh et al., 2002). 시냅스 가소성의 다양한 단계에서 BDNF가 여러가지 역할을 하며(Lu, 2003) 우울증의 동물 모델에서 다양한 역할을 하는 것을 고려할 때(Shirayama, Chen, Nakagawa, Russell, & Duman, 2002), 본 연구에서 발견된 rTMS의 항우울 효과는 BDNF의 방출을 포함하나(Santarelli et al., 2003), 이는 반드시 해마 신경세포발생을 의미하는 것은 아닐 수 있다. 따라서, 우울증을 유발할 수 있

는 사건 이후의 해마 LTP 회복에 있어서 BDNF의 관련성에 대한 정확한 기제를 밝히기 위한 추후 연구가 필요하다.

두번째 가능한 기제는 해마에서 rTMS가 회복시키는 효과를 나타낸 것이 스트레스 반응에서 필수적인 코르티코스테론 방출의 억제에 의한 것이다. 꼬리 전기충격이나 과도한 수중 미로 훈련 등과 같이 우울증 증상을 유발할 수 있는 스트레스 절차는 높은 수준의 코르티코스테론을 방출시키기에 충분하다는 보고가 있다(Kim, Lee, Han, & Packard, 2001; Yang, Huang, & Hsu, 2004). CMS 절차 역시 우울증적 행동 변화 이외에도 코르티코스테론 수준을 상승시키는 결과를 가져온다(Konkle et al., 2003). 이러한 스트레스에 의한 코르티코스테론의 증가는 해마에 신경세포 손실을 가져오게 한다(Watanabe, Gould, & McEwen, 1992), 해마 신경세포의 고유한 속성에 영향을 미쳐 해마 신경세포의 흥분성을 감소시키며 (Joels & de Kloet, 1989), 이는 해마 LTP의 손상을 가져오게 된다(Kim, Foy, & Thompson, 1996). Keck 등(2000)은 또 다른 우울증 동물 모델인 강제수영검사에서 강제로 수영을 시킨 동물에서 고농도의 코르티코스테론이 방출된 것과 이러한 높은 수준의 코르티코스테론이 장기간의 rTMS 처치로 감소한 것을 보고하였다 (Keck et al., 2000). 이러한 것을 토대로, rTMS가 CMS로 기인한 높은 수준의 코르티코스테론을 억제함으로써 손상된 해마 LTP를 역전시켰을 가능성이 있다. 그러나, 이러한 가설을 확인하기 위해서는 우울증 증상 유발 동물에 rTMS를 처치하여 코르티코스테론과 LTP의 변화가 동반되는지에 대한 추후 연구가 필요하다.

한편, ECS를 처치받은 집단에서는 fEPSP의 증가율이 116%선에 머물러 NAIVE 집단이 보

이는 수준 (142%)보다 저하되는 경향을 보였다($p = .075$). 이는 ECS 자극이 해마 LTP를 일시적으로 방해하며 (Hesse & Teyler, 1976), 반복적인 ECS 자극을 받은 쥐의 조직에서 LTP 유도가 손상된 것을 보여 주었던 선행연구 (Anwyl, Walshe, & Rowan, 1987)와 일치하는 결과이다. 또한 임상장면에서 ECT를 우울증 치료법으로 사용하였을 때 인지적인 결함이나 기억력 손상이 치료효과와 동반된다는 연구결과와도 일맥상통한다(Krueger, Sackeim, & Gamzu, 1992; Squire, 1977).

또한, 사람의 우울증 증상을 치료하는 데 흔히 처방되는 항우울제인 fluoxetine을 처치 받은 동물은 SHAM 집단에서 보인 CMS로 인한 LTP의 손상이 그대로 유지된 것을 볼 수 있었다.

이러한 결과는 우울증 동물모델에서 fluoxetine을 처치했던 선행 연구결과와 다르지 않다. 예를 들어, FST 모델에서 7일간 fluoxetine을 처치했을 때 해마 LTP의 유도가 손상되었으며(Kim et al., 2006), CMS 모델에 노출된 동물에게 fluoxetine 처치를 가하였을 때 처치기간이 3-4주 이상 되어야 행동적 효과가 나타났다는 일치되는 연구 결과들이 있다 (Edgar, Cremaschi, Sterin-Borda, & Genaro, 2002; Muscat, Papp, & Willner, 1992). 또한 FST 모델에서 3-4일 동안 fluoxetine을 처치한 동물의 경우 부동성이 감소하지 않았으나, 14-24일간 처치한 경우에만 부동성에 정적 효과가 나타났다는 보고가 있다 (Cryan, Page, & Lucki, 2005; Dulawa, Holick, Gunderson, & Hen, 2004). 임상 장면에서도 3-4주 이상의 처치가 가해졌을 때에만 우울증 환자에게서 항우울 효과를 관찰할 수 있음이 알려져 있다(Fabre et al., 2004). 반면, rTMS의 경우 2주 처치만으로도 CMS가

시냅스 가소성에 미칠 수 있는 손상효과를 역전시키기에 충분하였으므로 rTMS를 우울증 치료에 효과적으로 사용할 수 있는 가능성이 지지된다.

그러나, 해마의 시냅스 가소성 회복은 우울증상의 회복을 매개하는 여러 세포수준에서의 기제 중 하나일 가능성이 있는 것이며, 해마 LTP 회복이 우울증상 호전의 유일하거나 가장 설명력이 높은 기제라고 확신하기는 어렵다. 따라서, rTMS 이외의 조작을 사용하여 해마 LTP 회복을 유도했을 때 우울증상의 완화에 효과가 있는지를 살펴보는 추후 연구가 필요하다.

결론적으로, 본 연구를 통하여 지속적인 rTMS 처치가 CMS로 인한 해마 LTP 손상효과를 보호할 수 있는 역할을 할 수 있음을 알 수 있으며, rTMS의 항우울 효과를 매개하는 세포생리학적 기제 중의 하나가 해마 LTP의 손상을 보호하는 작용일 가능성이 있음을 시사한다. 또한, 이러한 세포 수준의 보호효과는 전통적인 자극요법인 ECS에서 보이는 LTP 손상 효과와는 대조되는 현상으로 자극 요법이 동반할 수 있는 인지기능의 결함이나 기억 손상과 같은 부작용을 최소화할 수 있는 가능성이 있으므로 ECS의 대안적인 치료 시술법으로서 rTMS의 유용성을 제시할 수 있다.

참고문헌

- Anisman, H., & Zacharko, R. M. (1982). Stimulus change influences escape performance: deficits induced by uncontrollable stress and by haloperidol. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 17(2), 263-269.
- Anwyl, R., Walshe, J., & Rowan, M. (1987).

- Electroconvulsive treatment reduces long-term potentiation in rat hippocampus. *Brain Research*, 435(1-2), 377-379.
- Barnabe-Heider, F., & Miller, F. D. (2003). Endogenously produced neurotrophins regulate survival and differentiation of cortical progenitors via distinct signaling pathways. *The Journal of Neuroscience*, 23(12), 5149-5160.
- Bliss, T. V., & Lomo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2), 331-356.
- Conca, A., Koppi, S., Konig, P., Swoboda, E., & Krecke, N. (1996). Transcranial magnetic stimulation: a novel antidepressive strategy? *Neuropsychobiology*, 34(4), 204-207.
- Conca, A., Swoboda, E., Konig, P., Koppi, S., & Beraus, W. (1997). Is TMS a clinical predictor of outcome? *Biological Psychiatry*, 41, 107.
- Cryan, J. F., Page, M. E., & Lucki, I. (2005). Differential behavioral effects of the antidepressants reboxetine, fluoxetine, and moclobemide in a modified forced swim test following chronic treatment. *Psychopharmacology (Berl)*, 182(3), 335-344.
- Czeh, B., Welt, T., Fischer, A. K., Erhardt, A., Schmitt, W., Muller, M. B., et al. (2002). Chronic psychosocial stress and concomitant repetitive transcranial magnetic stimulation: effects on stress hormone levels and adult hippocampal neurogenesis. *Biological Psychiatry*, 52(11), 1057-1065.
- De Vry, J., Maurel, S., Schreiber, R., de Beun, R., & Jentsch, K. R. (1999). Comparison of hypericum extracts with imipramine and fluoxetine in animal models of depression and alcoholism. *European Neuropsychopharmacology*, 9(6), 461-468.
- Do, V. H., Martinez, C. O., Martinez, J. L., Jr., & Derrick, B. E. (2002). Long-term potentiation in direct perforant path projections to the hippocampal CA3 region in vivo. *Journal of Neurophysiology*, 87(2), 669-678.
- Dulawa, S. C., Holick, K. A., Gundersen, B., & Hen, R. (2004). Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression. *Neuropsychopharmacology*, 29(7), 1321-1330.
- Duncko, R., Kiss, A., Skultetyova, I., Rusnak, M., & Jezova, D. (2001). Corticotropin-releasing hormone mRNA levels in response to chronic mild stress rise in male but not in female rats while tyrosine hydroxylase mRNA levels decrease in both sexes. *Psychoneuroendocrinology*, 26(1), 77-89.
- Edgar, V. A., Cremaschi, G. A., Sterin-Borda, L., & Genaro, A. M. (2002). Altered expression of autonomic neurotransmitter receptors and proliferative responses in lymphocytes from a chronic mild stress model of depression: effects of fluoxetine. *Brain, Behavior, and Immunity*, 16(4), 333-350.
- Fabre, I., Galinowski, A., Oppenheim, C., Gallarda, T., Meder, J. F., De Montigny, C., et al. (2004). Antidepressant efficacy and cognitive effects of repetitive transcranial magnetic stimulation in vascular depression: an open

- trial. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 19(9), 833-842.
- Foy, M. R., Stanton, M. E., Levine, S., & Thompson, R. F. (1987). Behavioral stress impairs long-term potentiation in rodent hippocampus. *Behavioral and Neural Biology*, 48(1), 138-149.
- Garcia, R., Vouimba, R. M., & Jaffard, R. (1997). Contextual conditioned fear blocks the induction but not the maintenance of lateral septal LTP in behaving mice. *Journal of Neurophysiology*, 78(1), 76-81.
- George, M. S., Wassermann, E. M., Williams, W. A., Callahan, A., Ketter, T. A., Basser, P., et al. (1995). Daily repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) improves mood in depression. *Neuroreport*, 6(14), 1853-1856.
- Gerges, N. Z., Stringer, J. L., & Alkadhi, K. A. (2001). Combination of hypothyroidism and stress abolishes early LTP in the CA1 but not dentate gyrus of hippocampus of adult rats. *Brain Research*, 922(2), 250-260.
- Grunhaus, L., Dannon, P. N., Schreiber, S., Dolberg, O. H., Amiaz, R., Ziv, R., et al. (2000). Repetitive transcranial magnetic stimulation is as effective as electroconvulsive therapy in the treatment of nondelusional major depressive disorder: an open study. *Biological Psychiatry*, 47 (4), 314-324.
- Hesse, G. W., & Teyler, T. J. (1976). Reversible loss of hippocampal long term potentiation following electroconvulsive seizures. *Nature*, 264(5586), 562-564.
- Joels, M., & de Kloet, E. R. (1989). Effects of glucocorticoids and norepinephrine on the excitability in the hippocampus. *Science*, 245 (4925), 1502-1505.
- Keck, M. E., Engelmann, M., Muller, M. B., Henniger, M. S., Hermann, B., Rupprecht, R., et al. (2000). Repetitive transcranial magnetic stimulation induces active coping strategies and attenuates the neuroendocrine stress response in rats. *Journal of Psychiatric Research*, 34(4-5), 265-276.
- Kessal, K., Deschaux, O., Chessel, A., Xu, L., Moreau, J. L., & Garcia, R. (2006). Fluoxetine reverses stress-induced fimbria-prefrontal long-term potentiation facilitation. *Neuroreport*, 17 (3), 319-322.
- Kim, E. J., Kim, W. R., Chi, S. E., Lee, K. H., Park, E. H., Chae, J. H., et al. (2006). Repetitive transcranial magnetic stimulation protects hippocampal plasticity in an animal model of depression. *Neuroscience Letters*, 405 (1-2), 79-83.
- Kim, J. J., Foy, M. R., & Thompson, R. F. (1996). Behavioral stress modifies hippocampal plasticity through N-methyl-D-aspartate receptor activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93 (10), 4750-4753.
- Kim, J. J., Lee, H. J., Han, J. S., & Packard, M. G. (2001). Amygdala is critical for stress-induced modulation of hippocampal long-term potentiation and learning. *The Journal of Neuroscience*, 21 (14), 5222-5228.
- Konkle, A. T., Baker, S. L., Kentner, A. C., Barbagallo, L. S., Merali, Z., & Bielajew, C. (2003). Evaluation of the effects of chronic mild stressors on hedonic and physiological responses: sex and strain compared. *Brain*

- Research*, 992(2), 227-238.
- Kovalchuk, Y., Hanse, E., Kafitz, K. W., & Konnerth, A. (2002). Postsynaptic Induction of BDNF-Mediated Long-Term Potentiation. *Science*, 295 (5560), 1729-1734.
- Krueger, R. B., Sackeim, H. A., & Gamzu, E. R. (1992). Pharmacological treatment of the cognitive side effects of ECT: a review. *Psychopharmacology Bulletin*, 28 (4), 409-424.
- Levkovitz, Y., Marx, J., Grisar, N., & Segal, M. (1999). Long-term effects of transcranial magnetic stimulation on hippocampal reactivity to afferent stimulation. *The Journal of Neuroscience*, 19(8), 3198-3203.
- Lu, B. (2003). BDNF and activity-dependent synaptic modulation. *Learning & Memory*, 10(2), 86-98.
- Monleon, S., D'Aquila, P., Parra, A., Simon, V. M., Brain, P. F., & Willner, P. (1995). Attenuation of sucrose consumption in mice by chronic mild stress and its restoration by imipramine. *Psychopharmacology (Berl)*, 117(4), 453-457.
- Muller, M. B., Toschi, N., Kresse, A. E., Post, A., & Keck, M. E. (2000). Long-term repetitive transcranial magnetic stimulation increases the expression of brain-derived neurotrophic factor and cholecystokinin mRNA, but not neuropeptide tyrosine mRNA in specific areas of rat brain. *Neuropsychopharmacology*, 23(2), 205-215.
- Muscat, R., Papp, M., & Willner, P. (1992). Reversal of stress-induced anhedonia by the atypical antidepressants, fluoxetine and maprotiline. *Psychopharmacology (Berl)*, 109(4), 433-438.
- Nahas, Z., Teneback, C. C., Kozel, A., Speer, A. M., DeBrux, C., Molloy, M., et al. (2001). Brain effects of TMS delivered over prefrontal cortex in depressed adults: role of stimulation frequency and coil-cortex distance. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 13(4), 459-470.
- Papp, M., Moryl, E., & Willner, P. (1996). Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression. *European Journal of Pharmacology*, 296(2), 129-136.
- Pascual-Leone, A., Catala, M. D., & Pascual-Leone Pascual, A. (1996). Lateralized effect of rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the prefrontal cortex on mood. *Neurology*, 46(2), 499-502.
- Pavlidis, C., Nivon, L. G., & McEwen, B. S. (2002). Effects of chronic stress on hippocampal long-term potentiation. *Hippocampus*, 12(2), 245-257.
- Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., Surget, A., Battaglia, F., Dulawa, S., et al. (2003). Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*, 301 (5634), 805-809.
- Shirayama, Y., Chen, A. C., Nakagawa, S., Russell, D. S., & Duman, R. S. (2002). Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *The Journal of Neuroscience*, 22(8), 3251-3261.
- Shors, T. J., Seib, T. B., Levine, S., & Thompson, R. F. (1989). Inescapable versus escapable shock modulates long-term potentiation in

- the rat hippocampus. *Science*, 244(4901), 224-226.
- Squire, L. R. (1977). ECT and memory loss. *The American Journal of Psychiatry*, 134(9), 997-1001.
- Watanabe, Y., Gould, E., & McEwen, B. S. (1992). Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Research*, 588(2), 341-345.
- Willner, P., Moreau, J. L., Nielsen, C. K., Papp, M., & Sluzewska, A. (1996). Decreased hedonic responsiveness following chronic mild stress is not secondary to loss of body weight. *Physiology & Behavior*, 60(1), 129-134.
- Willner, P., Towell, A., Sampson, D., Sophokleous, S., & Muscat, R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology(Berl)*, 93(3), 358-364.
- Yang, C. H., Huang, C. C., & Hsu, K. S. (2004). Behavioral stress modifies hippocampal synaptic plasticity through corticosterone-induced sustained extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase activation. *The Journal of Neuroscience*, 24(49), 11029-11034.
- Zyss, T., Mamczarz, J., & Vetulani, J. (1999). The influence of rapid-rate transcranial magnetic stimulation (rTMS) parameters on rTMS effects in Porsolt's forced swimming test. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2(1), 31-34.

1 차원고접수 : 2006. 11. 23.

최종게재결정 : 2006. 12. 21.

Effects of rTMS on the hippocampal plasticity in the chronic mild stress model of depression

Eun Joo Kim¹⁾ Woon Ryoung Kim²⁾ Yeon Kyung Lee¹⁾ Eun Hye Park¹⁾
Soon Kwon Park²⁾ June-Seek Choi¹⁾ Hyun Taek Kim¹⁾

1) Department of psychology Korea University

2) Department of Anatomy Korea university College of Medicine

Despite its therapeutic success in treating major depression, little is known about the mechanism by which repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) alters physiological responses of neurons. To elucidate cellular processes underlying rTMS, we compared the effect of rTMS on hippocampal long-term potentiation (LTP) with those of electroconvulsive shock (ECS) and fluoxetine. Male Wistar rats were subjected to chronic mild stress (CMS) regimen, an animal model of depression, for six weeks. Anhedonia, a behavioral symptom of depression, was tested by measuring sucrose consumptions. There was a significant difference in sucrose intake between nave and CMS-exposed animals. The rats were then treated with one of the three conditions: rTMS (rTMS), sham rTMS (SHAM), ECS (ECS), or fluoxetine (FLX) for two weeks. Following two weeks of treatments with rTMS, sham rTMS, ECS, or fluoxetine, they were anesthetized and LTP was induced *in vivo* in the perforant path-dentate gyrus synapses. Field excitatory postsynaptic potentials (fEPSP) were monitored for 50 min after the LTP induction. LTP induction was impaired in CMS (sham rTMS) and FLX group compared to the nave control group. The potentiated fEPSP of the ECS group was marginally different from that of NAVE group, showing a trend toward impaired LTP. On the other hand, LTP was recovered to the level of nave animals in rats treated with rTMS. These results suggest that rTMS has a rescuing effect on electrophysiological properties of the hippocampal neurons by reversing the impaired synaptic efficacy caused by the CMS procedure and that the antidepressant effect of rTMS might be mediated by its protective action on the synaptic plasticity.

Keywords : repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS), depression, chronic mild stress (CMS), long-term potentiation (LTP), electroconvulsive shock (ECS)