

청각 피질의 전기 자극을 조건 자극으로 사용한 공포 기억 유도*

이 명 희 홍 은 화 최 준 식†

고려대학교 심리학과

연합기억형성에 따른 시냅스 가소성을 규명하기 위한 많은 연구들이 파블로프 공포 조건화를 사용하여 왔다. 특히 청각 자극에 의해 형성되는 공포 기억은 편도체 외측핵(lateral nucleus of the amygdala, LA)으로 투사하는 두 가지 입력 경로에서의 변화로 나타난다. 이 두 입력 경로는 각각 시상-편도체 경로(thalamo-amygdala pathway)와 피질-편도체 경로(cortico-amygdala pathway)이다. 본 연구실의 과거 연구는 시상의 청각핵(medial geniculate nucleus: MGm) 전기 자극을 조건 자극으로 사용하여 조건화를 유도하고 이에 따른 시상-편도체 경로의 시냅스 효율성 증가를 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 피질-편도체 경로의 가소성을 확인하기 위한 연구의 일환으로 이 경로의 전기 자극을 조건자극으로 사용한 공포 조건화가 행동적인 공포 반응을 유도할 수 있는지 여부를 확인하였다. 쥐(rat)를 이용하여 이차 청각 피질(secondary auditory cortex, Te3)의 뇌내 전기 자극을 조건 자극(electrical conditioned stimulus, eCS)으로, 발바닥 전기 자극을 무조건 자극(unconditioned stimulus, US)으로 사용하여 공포조건화(Conditioning)를 실시하였다. 조건화 다음날은 eCS만을 3회 제시하는 기억력 검사(Test)를 실시하여 조건화된 공포반응(conditioned response: CR)으로서 동결반응(freezing)을 측정하였다. 그 결과, eCS와 US를 짝지어 제시한 집단(Te3-paired 및 MGm-paired)이 두 자극을 무선적으로 제시한 집단(Te3-unpaired)보다 eCS에 대해 더 많은 동결반응을 보였다. 또한 피질-편도체 경로 자극을 짝지어 제시한 집단(Te3-paired)의 동결반응 수준은 시상-편도체 경로 자극을 동일한 횟수만큼 짝지어 제시한 집단(MGm-paired)과 비교해봤을 때, 유의미한 차이가 없었다. 이러한 조건반응은 3주 후 기억력 검사(Retest)에서도 유지되었다. 이 결과를 고려했을 때, eCS를 사용하는 경우 피질-편도체 경로의 가소성만으로도 공포기억의 저장 가능성이 가능하며 이러한 공포기억은 외부 감각 자극을 사용하여 조건화시킨 경우와 유사한 행동적 특성을 지닌다.

주제어 : 공포 조건화, 가소성, 피질-편도체 경로, 시상-편도체 경로

* 이 논문은 2013학년도 고려대학교 문과대학 특별연구비에 의하여 수행되었음.

† 교신저자: 최준식, 고려대학교 심리학과, (136-701) 서울특별시 성북구 안암로 145

E-mail : j-schoi@korea.ac.kr

학습 과정에 대한 신경학적 메커니즘을 밝히는 연구에서 공포조건화(fear conditioning)는 가장 많이 사용되는 파블로프 조건화 절차이다. 공포조건화 과정을 통해 소리나 빛과 같이 중립적인 조건자극(conditioned stimulus, CS)을 전기 충격 같은 공포반응을 일으키는 무조건 자극(unconditioned stimulus, US)과 여러 번 짝지어 제시하면, 실험동물은 CS에 대해 자율신경계 반응, 스트레스 호르몬 분비, 동결반응(freezing) 같은 조건화된 반응(conditioned response, CR)을 보이게 된다. 이 때, CS와 US는 시상 및 감각 피질을 거쳐 편도체 외측핵(lateral nucleus of the amygdala, LA)에 도달하게 되는데 외측핵에서 일어나는 변화가 두 종류의 정보가 연합되는 과정을 담당하는 것으로 알려져 있다(LeDoux, Farb, & Romanski, 1991; Romanski, Clugnet, Bordi, & LeDoux, 1993; 서동오, 이연경, 최준식, 2006). 조건 자극이 편도체에 도달하기까지의 과정 중, 특히 소리를 조건자극으로 사용한 경우를 살펴보면, 청각 정보는 귀를 통해 뇌관의 와우핵(cochlear nucleus) 및 하구(inferior colliculus)를 거친 뒤 시상(thalamus)까지 도달한다(LeDoux, Ruggiero, Forest, Stornetta, & Reis, 1987). 이렇게 시상까지 도달한 청각 정보가 편도체 외측핵에 도달하는 경로에는 크게 두 가지가 있는데, 그 중 하나는 시상의 내측 슬상핵 내측 영역(medial division of the medial geniculate nucleus, MGm)에서 시작하여 편도체 외측핵으로 투사하는 시상-편도체 경로(thalamo-amygdala pathway)이고, 또 다른 하나는 시상의 내측 슬상핵 복측 영역에서(ventral division of the medial geniculate nucleus, MGv)에서 시작해서 일차 청각피질

(primary auditory cortex, Te1)과 이차 청각피질(secondary auditory cortex, Te3)을 거쳐 편도체 외측핵으로 투사하는 시상-피질-편도체 경로(thalamo-cortico-amygdala pathway)이다(LeDoux, Farb & Ruggiero, 1990; Romanski & LeDoux, 1993). 이러한 결과들은 편도체로 투사하는 감각입력 간의 상호작용에 의해 공포기억이 저장됨을 시사한다.

연합기억 형성이 일어나는 과정은 헵(Hebb)의 법칙에 기반한 설명이 가장 많은 지지를 얻고 있다(Hebb, 1949). 헵의 법칙은 시냅스 전 신경 세포와 시냅스 후 신경세포가 시간적으로 가깝게 활성화되면 시냅스 후 신경 세포의 민감성이 증가함으로 인해 신호전달 효과가 증가한다는 법칙이다. 이 메커니즘을 조건자극 전달 과정에 적용해본다면, CS 정보가 두 종류의 청각 경로를 통해 편도체 외측핵으로 도달하게 될 때 동시에 편도체 신경세포가 US 정보에 의해 활성화되는 과정이 반복되면서 외측핵 신경세포의 민감성이 증가하게 될 것이다. 이 가설을 지지하는 몇 가지 실험 결과들이 있는데, 그 예로써 청각 조건 자극을 이용한 공포 조건화가 이루어진 후에 편도체 외측핵의 신경세포들이 CS에 대해 보이는 발화율이 증가하였고(Quirk, Repp, & LeDoux, 1995), 마취된 쥐에서 유발전위(evoked potential)가 증가되었다는 결과(Rogan, Staubli, & LeDoux, 1997) 등이 있다. 그러나 이러한 연구들은 편도체 외측핵에서 관찰된 시냅스의 변화가 사실은 공포조건화와 관련된 다른 회로 상에서 일어난 시냅스의 신호 반응으로부터 유도된 2차적인 결과일 수도 있다는 점을 배제하지 못한다. 따라서 편도체 외측핵에 투사하는 두

가지 청각 경로 중 어느 하나만을 선택적으로 사용하여 편도체 외측핵 신경세포에서의 시냅스 변화를 관찰 할 수 있다면, 더 확실하게 위의 가설을 지지할 수 있을 것이다. 이와 관련하여 본 실험실에서는 시상-편도체 경로의 전기 자극을 CS로 사용하여 조건화된 공포반응을 유도할 수 있다는 사실을 확인하였고 조건화 후에 시상-편도체 경로의 시냅스 효율성이 증가되었음을 보여줌으로써 이 경로의 시냅스 가소성이 공포조건화를 일으키는데 충분한 요건임을 보여준 바 있다(Kwon & Choi, 2009).

한편 시상-편도체 경로의 신경 가소성이 공포기억의 저장에 결정적인 역할을 한다는 사실을 지지하는 연구는 다수 존재하지만, 피질-편도체 경로에 대한 연구는 상대적으로 적다. 그 중 한 연구에서는 시상-편도체 경로와 피질-편도체 경로가 동일한 정도로 공포 기억의 형성과 저장에 관여한다는 증거를 제시한 바 있고(Romanski & Ledoux, 1992), 또 다른 연구에서는 조건화 학습 후 두 경로를 선택적으로 손상함으로써 공포기억의 저장 혹은 견고화(consolidation) 과정에서는 시상 경로보다 피질 경로가 오히려 더 중요할 수 있음을 보인 바 있다(Boatman & Kim, 2006). 이러한 증거들은 시상-피질-편도체 경로의 가소성만으로도 충분히 공포기억을 저장할 수 있는 경로를 제공할 가능성을 시사한다. 그러나 손상연구만으로 피질-편도체 시냅스의 가소성이 공포기억의 저장에 있어 담당하는 역할을 평가하기는 어렵다. 즉 소리자극에서 비롯되는 청각 정보는 시상과 피질을 포함한 여러 감각 경로를 거치므로 복합적인 시냅스가 관련되고 가소성

이 어느 단일한 시냅스가 아닌 여러 시냅스에 걸쳐 형성될 가능성을 배제할 수 없다. 따라서 본 연구에서는 외부 소리 자극이 아닌 편도체 외측핵으로 투사하는 고차 청각피질(secondary and tertiary auditory cortex: Te2/Te3)의 전기자극을 조건자극(electrical brain stimulation CS: eCS)으로 사용하여, 피질-편도체 경로의 독립적인 자극만으로도 공포 조건화가 가능한지의 여부를 확인하고자 하였다. 동시에 기존의 실험에서 확인된 시상-편도체 경로의 전기 자극을 eCS로 사용한 조건과도 비교함으로써 공포기억의 획득(acquisition)과 유지(maintenance)에 있어서 두 경로간의 차이가 있는지 여부를 검증하였다.

실험 방법

피험동물 총 53마리의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley rats, 270~320g; 주식회사 오리엔트 바이오, 경기도, 대한민국)를 개별적으로 사육되었고, 사육실 내의 밤/낮 주기는 12시간 단위로 변화되도록 설정하였고, 실온(22~24℃)과 습도(50%)는 일정하게 유지하였다. 물과 먹이는 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였으며, 모든 실험은 낮 주기에 행해졌다.

시술 쥐를 펜토바비탈 나트륨(sodium pentobarbital)으로 마취한 후(60mg/kg, i.p.), 입체정위기구(stereotaxic instrument, David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA)에 머리를 고정시키고, 고정된 동물의 두피를 절개하고 브레그마(bregma)와 람다(lambda)가 수평선상에 위치하도록 조정하였다. 수술용 드릴을 이용하

여 목표 부위에 해당하는 두개골 표면에 1~2mm 가량의 구멍을 천공하고 자극용 양극성 전극(bipolar stimulating electrode: 두께 125 μ m, MS-303, Plastics One, USA)을 서서히 내렸다. 전극의 최종 목표 부위는 Te3 자극 집단의 경우 우측 청각 피질 영역(5.6mm posterior to

bregma; 7.0mm lateral from bregma; 3.0-3.2mm ventral from dura)이었고, MGm 자극 집단의 경우는 우측 시상 영역(5.6mm posterior to bregma; 3.0mm lateral from bregma; 5.5mm ventral from dura)이었다(Paxinos & Watson, 1998). 전극을 목표 지점에 위치시킨 후, 주변

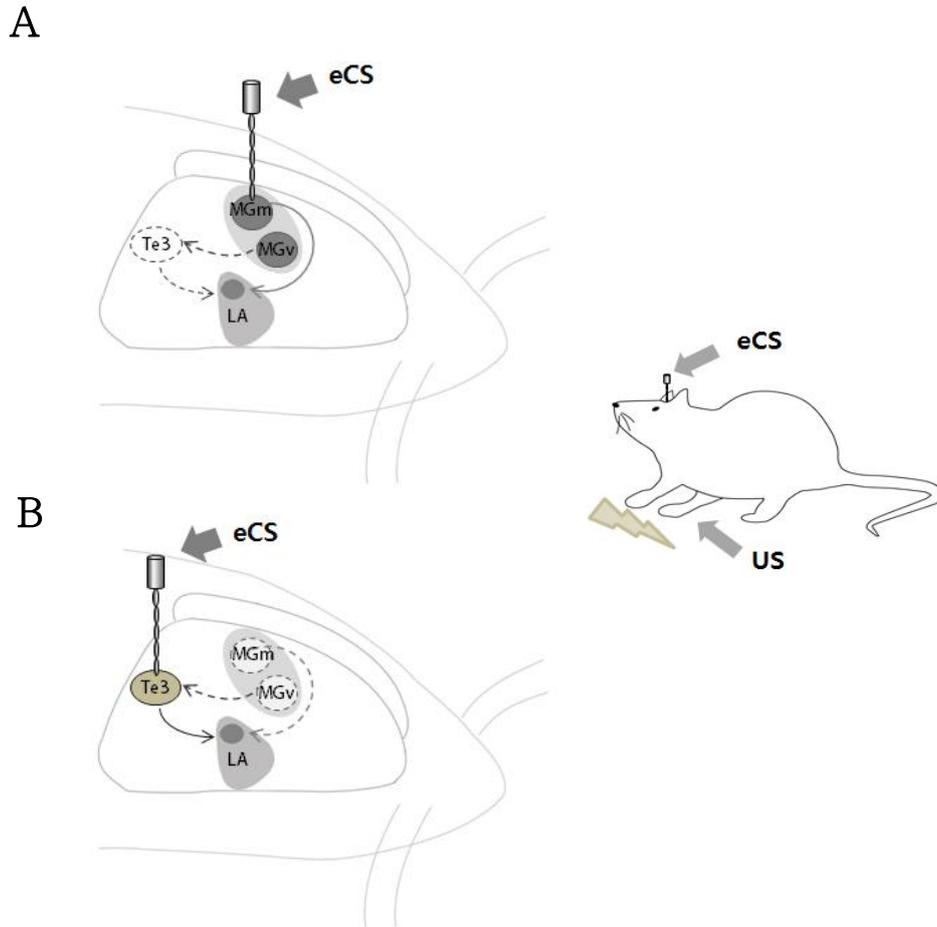


그림 1. 뇌내 전기자극과 발바닥 전기자극 제시를 통한 조건화 절차

A. 시상-편도체 경로 자극집단(thalamo-amygdala pathway); B. 피질-편도체 경로 자극집단 (cortico-amygdala pathway). eCS: electrical conditioned stimulation; US: unconditioned stimulus; MGm: medial division of the medial geniculate nucleus; MGv: ventral division of the medial geniculate nucleus; Te3: secondary auditory cortex; LA: lateral nucleus of the amygdala.

의 두개골에 4개 이상의 나사와 치과용 시멘트로 고정시켰다. 시술 후 피험 동물은 7일 간의 회복기간을 거쳤다(그림 1 참조).

공포조건화 실험 장비 모든 행동 실험은 투명 아크릴 상자(30cm × 34cm × 42cm)에서 수행되었으며, 이 투명 아크릴 상자는 비디오 카메라와 환풍기가 구비되어있는 방음 상자(58cm × 58cm × 68cm) 안에 위치하였다. 또한 조건화 및 기억력 검사 시기에 환경을 변화시켜(환경 A 또는 B), 맥락(context)에 대한 동결 반응이 eCS에 대한 쥐의 동결반응에 혼입되는 것을 방지하였다. 실험 환경 A에서는 푸른색 조명을 켜고, 깔짚(Aspen Shavings, 주식회사 오리엔트 바이오, 경기도, 대한민국)을 바닥에 깔았다. 실험 환경 B에서는 붉은색 조명을 켜고, 바닥에 16개의 금속 막대로 구성되어 있는 그리드(grid floor)를 설치했다. 각 회기마다 실험이 끝난 후, 70% 알코올로 청소를 하여 냄새를 제거하였다.

전기 자극 CS로 소리나 빛을 사용하는 다른 실험과는 달리, 이 실험에서는 양극성 전극을 통해 전달된 뇌내 전기 자극이 CS(eCS)로 사용되었다(Kwon et al., 2009). 실험 집단(paired)의 경우 eCS는 0.1ms의 모노펄스(monopulse)를 100Hz의 주파수를 사용하여 100ms 동안의 연발자극(train)으로 제시하였고, 이 연발자극은 1900ms의 간격을 두고 29s 동안 15회 제시되었다. eCS 및 US의 제시 및 타이밍은 컴퓨터 프로그램(LabView; National Instruments)에 의해 통제되었고 eCS의 양상은 pulse generator(MASTER-9; A.M.P.I., Israel)에 의해 조작되어 constant current uni(CCU, ISO-Flex, A.M.P.I., Israel)를 거쳐 동물에게 전달되었다. US는 그리드(grid floor)를 통해 전달된 발바닥 전기 충격으로, scrambled shocker(Coulbourn Instruments, Whitehall, PA, USA)에서 발생시켜 0.7mA의 강도로 800ms동안 제시되었다(그림 2 참조). 통제집단(unpaired)의 경우, 같은 eCS와 US를 사용하되 두 자극간의 시간적 근접성을 배제하

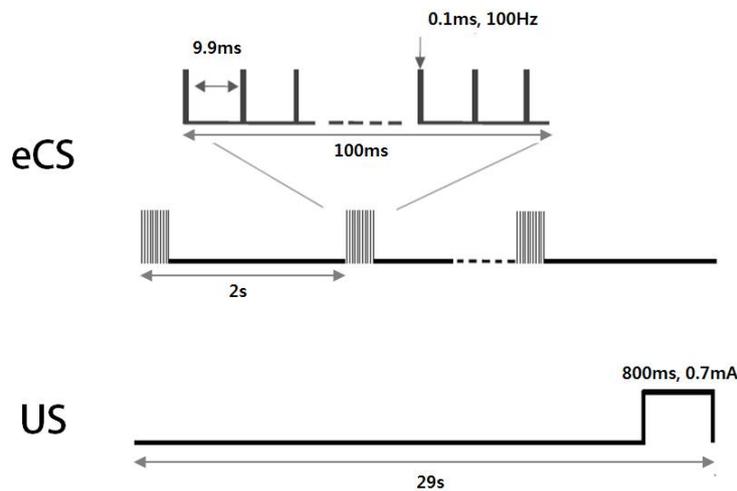


그림 2. 공포조건화에 사용된 eCS의 구성 및 US와의 시간적 배열을 나타내는 모식도

였다.

행동 실험 절차 모든 쥐는 실험 조작에 익숙해지기 위해 실험 전 3일간 매일 10분간의 핸들링의 과정을 거쳤다. 실험 1일차(Day 1)에, 각 쥐마다의 정향 반응(orientation response)을 살펴 eCS로 사용할 전기 자극 강도를 결정(Calibration)하였다(Kwon et al, 2009). 이 때 자극 강도는 30 μ A 에서부터 시작하여 최초의 뚜렷한 정향반응을 보일 때까지 점차적으로 강도를 올렸다. 정향반응을 보이는 자극 강도의 80%를 쥐의 개별 강도로 정하여 실험하는 동안 eCS로 사용하였다. 실험 2일차(Day 2)에, 각 쥐의 eCS에 대한 기본적인 동결반응 수준을 측정(Baseline)하기 위해 eCS만 3회 제시하였다. 실험 3일차(Day 3), 공포조건화(Conditioning)에서는 실험동물을 세 집단으로 나누어 실험 집단(MGm-paired 및 Te3-paired)에는 eCS와 US를 총 6회 짝지어 제시하고, 통제 집단(Te3-unpaired)에도 똑같이 eCS 3회, US 3회를 제시하되, eCS와 US의 타이밍은 무작위적으로 결정되었고 다만 두 자극 간의 간격은 최소 60

초로 유지하였다. 실험 4일차(Day 4)에는 eCS만을 단독으로 3회 제시하는 기억력 검사(Test)를 실시하였다. 위의 실험 과정을 마친 실험 집단의 쥐들 중 일부(MGm-paired: n=14; Te3-paired: n=13)에 대해서 3주 후(Day 25), 한 번 더 추가로 기억력 검사(Retest)를 실시하였다(그림 3 참조). 이 때 통제집단의 경우 이미 동결반응을 보이지 않는다는 사실이 기억력 검사에서 확인되었으므로 3주 후 검사에서는 제외하였다. 모든 기억력 검사 시행 시 eCS에 대한 공포 반응만을 선택적으로 측정하기 위해 검사 시행에서 환경에 대한 동결반응이 완전히 사라진 후에 첫 번째 eCS를 제시하였다. 모든 실험에서 동물의 움직임은 비디오카메라를 통해 녹화하였으며, 동물의 움직임은 동결반응을 중심으로 분석하였다. 동결반응은 동물이 숨 쉬는 것을 제외한 움직임이 없는 상태로 정의하였고, 초시계를 이용하여 측정하였다.

조직 검사 절차 행동 실험 완료 후, 모든 동물은 펜토바비탈 나트륨(sodium pentobarbital)을 충분히 투여해 마취하였다(80mg/kg, i.p.). 환류

Day1	Day2	Day3	Day4	Day25
				
Calibration 30~200 μ A	Baseline CS \times 3	Conditioning (eCS+ US) \times 6	Test eCS \times 3	Retest eCS \times 3

그림 3. 행동 실험 절차

Calibration(자극 강도 결정); Baseline(기본 동결반응 측정); Conditioning(공포조건화); Test(기억력 검사); Retest(3주 후 기억력 검사).

는 처음에 0.9% 나트륨 용액(saline)을 투여하다가, 나중에 10% 포르말린 용액(formaldehyde)으로 바꾸어 투여하였다. 환류가 끝나면, 뇌는 10% 포르말린 알데하이드에 30% 설탕(sucrose)을 첨가해서 만든 용액에 담근 후, 4°C 온도에 보관하여 굳히는 과정을 거쳤다. 굳히는 과정까지 마치면 조직을 55 μ m 두께로 관상단면(coronal section)으로 잘랐다(Leica SM 2000R, Leica Microsystems, Nussloch, Germany). 잘려진 조직은 젤라틴으로 코팅된 유리 슬라이

드(gelatin-coated slides)에 올려 Cresyl Violet (Sigma-Aldrich Korea, 경기도, 대한민국)으로 염색하였다. 염색된 조직은 Permount(Fisher scientific, USA) 용액을 사용하여 커버 슬라이드를 고정시키고 커버 슬라이드로 그 위를 덮었다. 염색된 조직은 광학현미경을 통해 관찰하였다. 목표로 한 영역에 정확하게 전극이 삽입된 쥐의 자료만 결과 분석에 사용하였다(그림 4 참조).

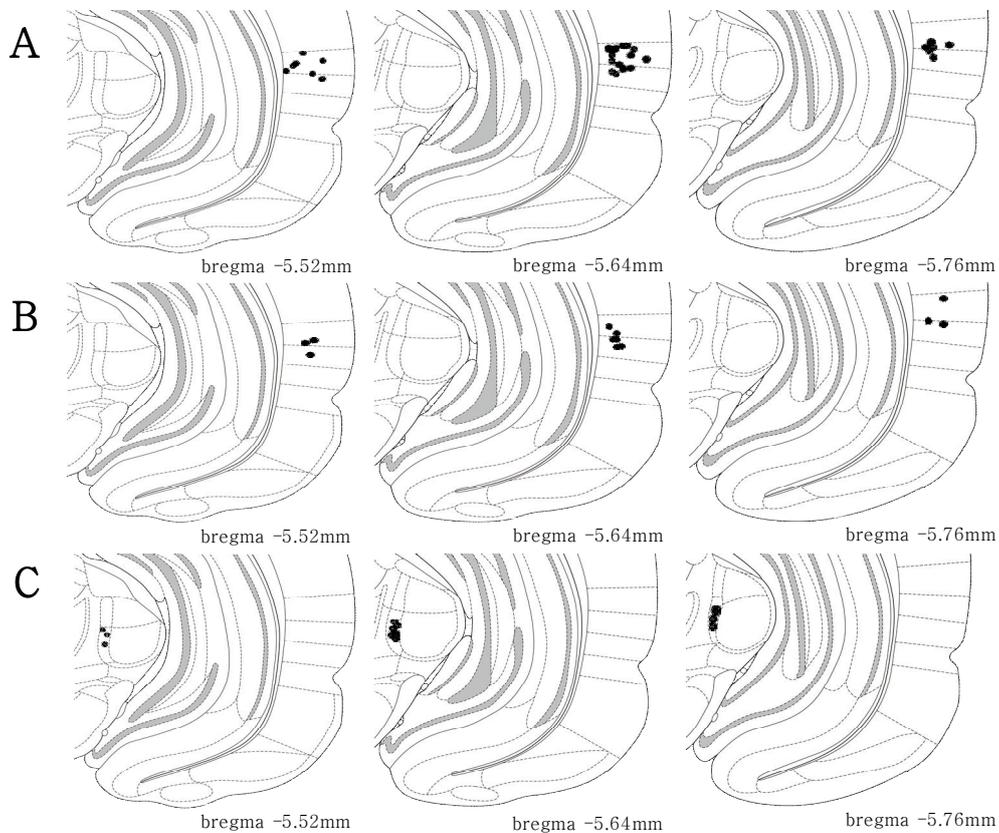


그림 4. 전극의 위치를 보여주는 뇌 절편 모식도

검은 점은 자극전극 끝의 위치를 보여주고 각 그림 하단의 숫자는 bregma로부터의 거리(posterior)를 나타낸다. A. Te3-paired group(이차 청각피질 자극 짝지은 집단); B. Te3-unpaired group(이차 청각피질 자극 무선적 집단); C. MGm-paired group(시상 내측 슬상핵 자극 짝지은 집단).

실험 결과

동결반응 자료 실험 절차에 따른 실험집단 (Te3-paired, MGm-paired)과 통제집단(Te3-unpaired)의 동결 반응 수준을 측정한 결과는 그림 5에 요약되어 있다.

기본 동결반응 측정(Baseline)부터 기억력 검사(Test) 때까지 각 절차마다 Te3-paired와 Te3-unpaired, 그리고 MGm-paired 세 집단 간의 반복적인 변량분석을 실시하였다. 그리고 3주 후 기억력 검사(Retest)에서는 Te3-paired와 MGm-paired 두 집단 간의 반복적인 변량분석을 재실시하였다.

기본 동결반응 측정에서 동결반응 수준에

대한 집단 간 주 효과는 유의미하였다($F(2,50) = 4.285; p < 0.05$). 쉐페(Scheffe) 사후검증을 시행한 결과, Te3-unpaired와 MGm-paired 집단 간($p < 0.05$)에 유의미한 차이가 존재하였다. MGm-paired 집단은 시술한 영역인 MGm이 통증과 관련한 PIN(posterior intralaminar nucleus)영역과 가까워서 기본 freezing level이 높은 것으로 추측된다(Shi & Davis, 1999). MGm-paired 집단 14마리 중 5마리가 3번 시행 중 1~2번 높은 freezing level을 보였다. 집단 내 시행 횟수별 동결반응 수준을 분석한 결과, 시행 횟수별 동결반응 수준에 대한 주 효과는 유의미하지 않았다($F(2,100) = 0.637; p = 0.53$). 동결반응에 대한 집단과 시행 횟수의 상호작용효과

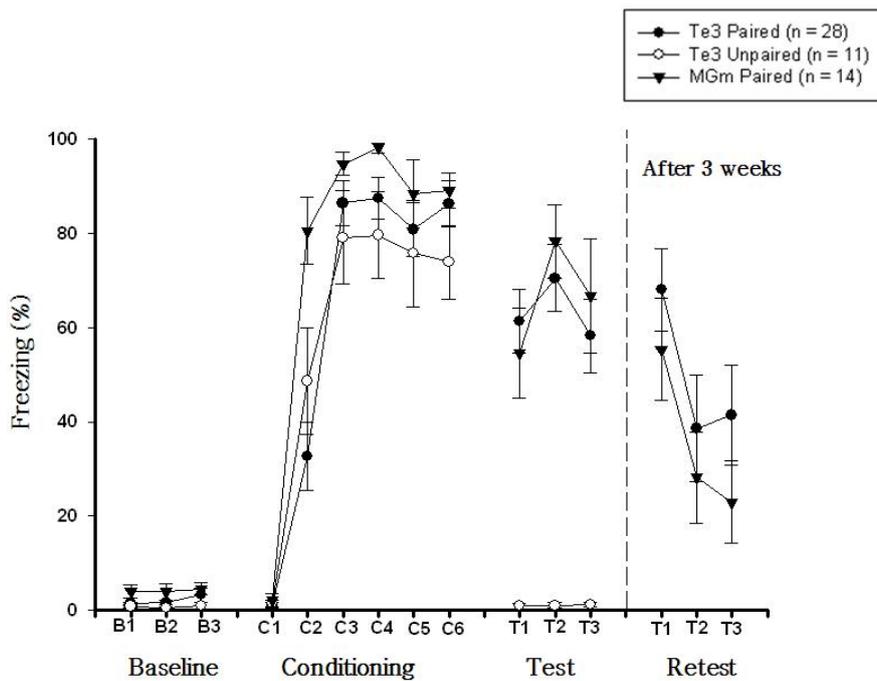


그림 5. 동결반응 측정을 통한 각 집단별 공포 조건화 결과

Freezing(동결반응); Baseline(기본 동결반응 측정); Conditioning(공포 조건화); Test(기억력 검사); Retest(3주 후 기억력 검사).

는 유의미하지 않았다($F(4,100) = 0.230$; $p = 0.92$).

공포조건화(Conditioning)에서 동결반응 수준에 대한 집단 간 주 효과는 유의미하였다 ($F(2,50) = 4.161$; $p < 0.05$). Scheffe(Scheffe) 사후 검증을 시행한 결과, Te3-paired와 MGm-paired 집단 간($p < 0.05$)에 유의미한 차이가 존재하였다. 집단 내 시행 횟수별 동결반응 수준을 분석한 결과, 시행 횟수별 동결반응 수준에 대한 주 효과는 유의미하였다($F(5,250) = 109.496$; $p < 0.01$). 동결반응에 대한 집단과 시행 횟수의 상호작용효과는 유의미하였다($F(10,250) = 3.273$; $p < 0.01$).

기억력 검사(Test)에서 동결반응 수준에 대한 집단 간 주 효과는 유의미하였다($F(2,50) = 25.467$; $p < 0.01$). Scheffe(Scheffe) 사후검증을 시행한 결과, Te3-paired와 Te3-unpaired 집단 간($p < 0.01$), MGm-paired와 Te3-unpaired 집단 간($p < 0.01$)에 유의미한 차이가 존재하였다. 집단 내 시행 횟수별 동결반응 수준을 분석한 결과, 시행 횟수별 동결반응 수준에 대한 주 효과는 유의미하지 않았다($F(2,100) = 2.103$; $p = 0.13$). 동결반응에 대한 집단과 시행 횟수의 상호작용효과는 유의미하지 않았다($F(4,100) = 0.849$; $p = 0.50$). 이 결과는 통제집단(Te3-unpaired)이 실험집단(Te3-paired, MGm-paired)에 비해 공포 학습의 결과가 미미함을 나타낸다.

3주 후 기억력 검사(Retest)에서 동결반응 수준에 대한 집단 간 주 효과는 유의미하지 않았다($F(1,25) = 1.476$; $p = 0.24$). 즉 장기적인 공포 기억의 유지에 있어서 집단 간 차이는 존재하지 않았다. 집단 내 시행 횟수별 동결반응 수준을 분석한 결과, 시행 횟수별 동결

반응 수준에 대한 주 효과는 유의미하였다 ($F(2,50) = 10.472$; $p < 0.01$). 동결반응에 대한 집단과 시행 횟수의 상호작용효과는 유의미하지 않았다($F(2,50) = 0.160$; $p = 0.853$).

이와 같은 결과를 모두 종합해봤을 때, 피질-편도체 경로(cortico-amygdala pathway)는 청각 공포 조건화 반응의 유도 및 유지에 있어서 충분한 요건이라고 생각된다. 또한 이를 통하여 피질-편도체 경로(cortico-amygdala pathway)와 시상-편도체 경로(thalamo-amygdala pathway)의 전기 자극을 조건 자극으로 사용한 공포 조건화에서 장기적인 편도체 회로 가소성을 일으킨 것으로 추정해볼 수 있다.

종합 논의

본 연구에서는 조건자극으로 청각피질의 전기 자극을 이용하여 공포조건화를 실시한 결과, 피질-편도체 경로(cortico-amygdala pathway)를 통한 청각 자극의 전달이 공포 기억을 유도하는데 충분함을 보여주었다. 또한 이전 연구에서 확인된 바와 같이 시상-편도체 경로(thalamo-amygdala pathway)를 통한 자극 역시 공포조건화 학습에 있어 충분조건임을 재확인하였다. 두 실험집단(Te3-paired, MGm-paired) 간의 3주 후 공포반응 비교 결과는 뇌내 경로 자극(electrical brain stimulation)으로 유도된 변화가 일시적인 것이 아니며 피질경로 자극을 통해 형성된 공포 기억이 시상 경로 자극을 통해 형성된 공포 기억에 비해 유지되는 특성이 다르지 않음을 보여주었다. 결과적으로 청각 공포 기억 형성에 관여하는 두 뇌내 경로, 즉 시상-편도체 및 피질-편도체 경로 중 하나만으

로도 학습이 일어나는데 충분함을 확인하였다. 또한 eCS와 US가 무선적으로 제시된 통제집단 (Te3-unpaired)의 경우 낮은 동결 반응(CR)이 관찰된 것으로 보아 실험집단의 공포반응이 단순히 eCS에 대해 민감화된반응이 아닌 US와의 연합적 연결에 의해 형성된 자극 특정한 기억에 의한 것임을 보여 주었다. 또한, MGm-paired집단이 eCS에 대해 보이는 동결반응이 실제로 Te3-paired집단에 비해 기본 동결반응 측정(Baseline) 및 공포조건화(Conditioning) 시기부터 높음에도 불구하고 기억력 검사(Test) 및 3주 후 기억력 검사(Retest)에서는 다른 집단과 유사한 수준을 나타내는 것을 보아 뇌내 전기 자극이 단순히 무조건적인 공포반응을 일으키는 것은 아닐 것으로 짐작된다. 이 결과는 공포기억의 형성이 감각자극이 편도체 외측핵으로 전달되는 경로 상에서 일어나며 시상에서 직접적으로 투사하는 경로와 피질을 거치는 경로 모두가 이러한 공포기억의 저장에 참여한다는 기존 연구를 지지한다(Blair, Schafe, Bauer, Rodrigues, LeDoux, 2001; Rogan & LeDoux, 1997; Romanski et al., 1992; Boatman et al., 2006).

시상-편도체 경로가 공포 기억 저장에 결정적인 역할을 한다는 증거가 다수 존재하는데 비해 상대적으로 적기는 하지만 피질-편도체 경로의 중요성을 지지하는 증거들도 존재한다. 공포조건화 후에 선택적인 손상을 일으켰을 때 피질-편도체 경로가 시상-편도체 경로보다 조건화된 공포 반응의 파지(retention)에 오히려 더 결정적인 역할을 한다는 결과(Boatman et al., 2006)가 존재한다. 또한 조건화된 공포 기억의 소거(extinction)에 청각피질이 필수적이라

는 증거도 제시된 바 있다(Song, Boatman, Jung & Kim, 2010). 또한 공포 조건화에 의한 놀람반응의 증가를 조건반응으로 측정한 연구 (fear-potentiated startle paradigm)에서 조건화 후에 장기적 강화(LTP, Long-term potentiation)가 방해된 효과를 관찰한 사실은 피질-편도체 경로의 시냅스가 공포기억을 획득(acquisition)하고 표현(expression)하는 동안 변화(modified)됨을 시사한다(Tsvetkov, Carlezon, Benes, Kandel, Bolshakov, 2002). 이러한 증거들을 통해 청각 피질도 공포기억을 저장하는데 있어 중요한 영역이라고 추론할 수 있다. 본 결과와 더불어, 본 실험실에서 행해진 일련의 연구들 (Kwon et al., 2009)은 뇌내 전기 자극을 사용하여 공포조건화를 일으킬 경우 시상-편도체 경로와 피질-편도체 경로 사이에 가소성의 질적인 차이는 없으며 동등한 기능을 제공할 가능성을 제시한다(Romanski et al., 1992). 공포학습이 개체의 생존에 미치는 중요성을 고려할 때 본 실험의 결과는 중복되는 이중의 경로를 통해 공포기억이 저장될 가능성을 지지하며 이는 다른 필수적인 학습 회로에서도 찾아볼 수 있다. 예를 들어 토끼 눈꺼풀 조건화의 경우에도 소뇌의 피질(cerebellar cortex)과 심부핵(cerebellar deep nucleus) 모두에 시냅스 가소성이 형성된다는 증거들이 존재한다(Thompson, 2005).

그렇다면 과연 시상-편도체 경로와 피질-편도체 경로의 차이는 무엇인가? 피질-편도체 경로가 시상-편도체 경로만큼 공포 조건화에 있어 주요한 회로인지의 여부에 대해 의문을 제기한 연구들이 존재한다. 인간을 대상으로 한 연구에 따르면 공포조건화 기간 동안 편도체

영역의 활동성 변화가 관찰되었으나, 피질영역은 그렇지 않았다(Morris, Ohman & Dolan, 1999). 단위신경세포 기록법(single-unit recording)을 이용한 연구에 따르면, 시상-편도체 경로에 비해 피질-편도체 경로에서 상대적으로 더 느린 정보 처리 속도가 관찰되며 이는 피질의 청각회로에서 더 많은 정보처리가 일어날 가능성을 시사한다(Quirk, Armony & LeDoux, 1997). 피질-편도체 경로는 시상-편도체 경로와 중복되는 기능이 아니라 다른 양상의 정보처리를 담당할 것이라는 의견이 있다. 즉, 시상에서 청각 피질을 경유하는 경로는 소리 자극의 복잡한 측면을 처리 혹은 저장하는데 필수적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이차 청각 피질을 손상(lesion)시킬 경우, 소리의 종류에 상관없이 정서적 기억들이 방해되며, 최근 기억보다는 오래된 기억이 영향을 받았음을 보여주는 연구들이 있다(Sacco & Sacchetti, 2010). 청각 피질의 신속한 재조직화(reorganization)가 생존에 유의미한 자극속성을 처리하는데 필수적이라는 의견을 지지하는 연구자들은 청각피질에 저장되어 있는 특정 기억은 직접적으로 행동을 유발시키기 보다는 불확실한 미래에 대한 적응행동에 있어 유연한 기능(flexible function)을 담당하는 방식으로 행동에 영향을 미친다는 증거들을 보여주고 있다(Weinberger, 2004). 그 예로서 기니아 피그(guinea pigs)를 이용한 연구에서 공포 조건화 이후에 청각피질에서 조건자극으로 사용된 자극의 주파수를 중심으로 뉴런들의 수용영역(receptive field)이 조정되었고 이러한 수용영역의 가소성은 장기적으로 유지되는 속성을 보였다(Weinberger, Javid & Lapan, 1993). 흥

미롭게도 본 실험에서도 MGm-paired 집단과 Te3-paired 집단의 공포반응이 1차적인 기억력 검사에서는 전혀 차이가 나지 않았으나 2차적인 기억력 검사에서는 약간의 차이가 나타나기 시작한 것으로 보아 청각 피질이 검사 시행의 반복제시에 따른 소거(extinction)관여할 가능성이 존재한다(Song et al., 2010). 그러나 청각피질을 필요로 하는 자극의 복잡성이 정확히 어떤 정도를 의미하는지는 아직 명확하지 않으며 추후 많은 연구를 필요로 하는 분야이다(Armony, Servan-Schreiber, Romanski, Cohen, & LeDoux, 1997).

위의 결과와는 별도로, 추가적으로 실시된 실험에서 시상의 내측 슬상체 복측 영역(MGv) 자극을 CS로 사용하여 조건화를 수행하였다. 그러나 MGv 자극의 경우 조건화 후에도 CR이 거의 관찰되지 않았다. 청각 피질로의 투사가 거의 대부분 MGv에서 유래함에도 불구하고 MGv의 단순 자극만으로는 조건화가 어려웠다는 사실은 복잡한 감각 자극의 속성이 피질 내의 회로 뿐 아니라 시상과 청각 피질간의 상호작용을 포함하는 복합 시냅스 경로에 의해 처리될 가능성을 시사한다. 이러한 증거들은 피질-편도체 경로가 공포학습에 있어서 시상-편도체 경로와 차별화된 정보를 처리할 가능성을 지지한다.

참고문헌

서동오, 이연경, 최준식 (2006). “공포의 생성과 소멸: 파블로프 공포 조건화의 뇌회로를 중심으로”, 한국심리학회지: 실험, 18, 1-19.

- Armony, J. L., Servan-Schreiber, D., Romanski, L. M., Cohen, J. D., & LeDoux, J. E. (1997). Stimulus generalization of fear responses: effects of auditory cortex lesions in a computational model and in rats. *Cereb Cortex*, 7: 157-165.
- Blair HT, Schafe GE, Bauer EP, Rodrigues SM, LeDoux JE (2001). Synaptic plasticity in the lateral amygdala: a cellular hypothesis of fear conditioning. *Learn Mem*, 8: 229-242.
- Boatman, J. A., & Kim, J. J. (2006). A thalamo-cortico-amygdala pathway mediates auditory fear conditioning in the intact brain. *European Journal of Neurosci*, 24: 894-900.
- Hebb DO. (1949) The organization of behavior. *New York:Wiley*
- Kwon, J. T. & Choi, J. S. (2009). Cornering the Fear Engram: Long-Term Synaptic Changes in the Lateral Nucleus of the Amygdala after Fear Conditioning. *J Neurosci*, 29: 9700-9703.
- LeDoux, J. E., Farb, C. R., & Romanski, L. M. (1991). Overlapping projections to the amygdala and striatum from auditory processing areas of the thalamus and cortex. *Neurosci Lett*, 134: 139-144.
- LeDoux, J. E., Farb, C., & Ruggiero, D. A. (1990). Topographic organization of neurons in the acoustic thalamus that project to the amygdala. *J Neurosci*, 10: 1043-1054.
- Ledoux, J. E., Ruggiero, D. A., Forest, R., Stornetta, R., & Reis, D. J. (1987). Topographic organization of convergent projections to the thalamus from the inferior colliculus and spinal cord in the rat. *J Comp Neurol*, 264: 123-146.
- Morris, J. S., Ohman, A., & Dolan, R. J. (1999). A subcortical pathway to the right amygdala mediating “unseen” fear. *Proc Natl Acad Sci*, 96: 1680-1685.
- Paxinos, G. & Watson, C. (1998). The rat brain in stereotaxic coordinates. *San Diego: Academic*.
- Quirk, G. J., Armony, J. L., & LeDoux, J. E. (1997). Fear conditioning enhances different temporal components of tone-evoked spike trains in auditory cortex and lateral amygdala. *Neuron*, 19: 613-624.
- Quirk, G. J., Reppas, C., & LeDoux, J. E. (1995). Fear conditioning enhances short-latency auditory responses of lateral amygdala neurons: parallel recordings in the freely behaving rat. *Neuron*, 15: 1029-1039.
- Rogan, M. T., Staubli, U. V., & LeDoux, J. E. (1997). Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature*, 390: 604-607.
- Romanski, L. M., Clugnet, M. C., Bordi, F., & LeDoux, J. E. (1993). Somatosensory and auditory convergence in the lateral nucleus of the amygdala. *Behav Neurosci*, 107: 444-450.
- Romanski, L. M. & LeDoux, J. E. (1992). Equipotentiality of thalamo-amygdala and thalamo-cortico-amygdala circuits in auditory fear conditioning. *J Neurosci*, 12: 4501-4509.
- Romanski, L. M. & LeDoux, J. E. (1993). Information cascade from primary auditory cortex to the amygdala: corticocortical and

- corticoamygdaloid projections of temporal cortex in the rat. *Cereb Cortex*, 3: 515-532.
- Sacco, T. & Sacchetti, B. (2010). Role of secondary sensory cortices in emotional memory storage and retrieval in rats. *Science*, 329: 649-656.
- Shi, C. & Davis, M. (1999). Pain pathways involved in fear conditioning measured with fear-potentiated startle: lesion studies. *J Neurosci*, 19: 420-430.
- Song, E. Y., Boatman, J. A., Jung, M. W. & Kim, J. J. (2010). Auditory cortex is important in the extinction of two different tone-based conditioned fear memories in rats. *Frontiers in Behav Neurosci*, 4: 24.
- Thompson, R. F. (2005). In search of memory traces. *Annu. Rev. Psychol*, 56: 1-23.
- Tsvetkov, E., Carlezon Jr, W. A., Benes, F. M., Kandel, E. R., Bolshakov, V. Y. (2002). Fear conditioning occludes LTP-induced presynaptic enhancement of synaptic transmission in the cortical pathway to the lateral amygdala. *Neuron*, Vol. 34, 289-300.
- Weinberger, N. M., Javid, R. & Lapan B. (1993). Long-term retention of learning-induced receptive-field plasticity in the auditory cortex. *PNAS*, 90: 2394-2398.
- Weinberger, N. M. (2004). Specific long-term memory traces in primary auditory cortex. *Nat Rev Neurosci*, 5: 279-290.
- 1 차원고접수 : 2013. 12. 05
수정원고접수 : 2013. 12. 25
최종게재결정 : 2013. 12. 26

Conditioned fear response induced by electrical brain stimulation of the auditory cortex as a conditioned stimulus

Myeong Hoe Lee Eun-Hwa Hong June-Seek Choi

Department of Psychology, Korea University

Auditory fear memory is represented as long-lasting changes in the two input pathways into the lateral nucleus of the amygdala (LA): thalamo-amygdala and thalamo-cortico-amygdala pathways. Previously in our laboratory, we have shown that plasticity in the thalamo-amygdala pathway is critical for fear memory formation when electrical stimulation of the medial division of the medial geniculate nucleus of the thalamus (MGm) was used as the conditioned stimulus (CS). This short-circuit approach with the electrical brain stimulation as the CS (eCS) allowed us to test the efficacy of a particular pathway of interest without involving other sensory pathways. In the current study, we tested whether synaptic plasticity in the cortical pathway could support fear memory formation in rats by pairing the electrical stimulation of the secondary auditory cortex (Te3) with the footshock unconditioned stimulus (US). Following six paired presentations of the eCS and US, rats in the Te3-paired group showed significant level of freezing in the eCS-only test session, compared to a group that received unpaired presentations of the eCS and US. In addition, we also included MGm-paired group that received paired presentation of the MGm stimulation and US. The level of freezing to the eCS in the test session was comparable between Te3- and MGm-paired group. To examine the long-term maintenance of conditioned fear memory, freezing was measured 3 weeks after the acquisition session with the eCS. Both MGm-paired and Te3-paired groups showed considerable level of freezing and there was no significant difference between the two groups. In conclusion, both thalamic and cortical input pathways into the amygdala effectively support fear conditioning when brain stimulation was used as the CS, suggesting that learning-induced changes in either the thalamo-amygdala or the cortico-amygdala synapse might be sufficient for storing fear memory.

Key words : fear conditioning, plasticity, cortico-amygdala pathway, thalamo-amygdala pathway