

순막조건화에서의 소뇌 피질의 기능

김현택 · 류재욱 · 김기석

고려대학교 심리학과

토끼 순막조건화에 관여하는 소뇌피질의 기능을 검토하고자 소뇌의 심부핵중 하나인 중간핵 그리고 소뇌피질 단소엽을 연구대상으로 선정하였다. 실험 1에서는 전통적 학습형태와 대조적 학습형태인 청각자극 무제시와 무조건자극의 배쌍이 조건반응을 일으키는지의 여부를 알아보았다. 이러한 배쌍에서도 토끼는 신속한 조건반응을 획득하였는데 이 결과는 소뇌피질의 학습형성기전에 대한 기존의 설명 즉 조건자극제시에 의한 대상섬유 활동 증가와 무조건자극제시에 의한 등상섬유 활동증가가 대상섬유활동을 전해 받는 과립세포의 축색인 평행섬유와 퍼킨지세포사이의 시냅스 변화를 일으켜서 조건반응을 나타나게 한다는 설명과는 부합되지 않는 것이다. 실험 2에서는 소뇌피질의 반응시간조절기능가설을 검증하기 위하여 조건자극의 기간을 전형적 조건화 지수의 2배인 800msec로 하였다. 그리하여 소뇌피질의 손상이 손상후 시행의 조건자극제시기간동안의 조건화된 순막반응에 어떤 변화를 초래하는지 관찰하기 용이하게 하였다. 피험동물은 손상후 조건반응에서 부분적 폐지만을 보였는데 이는 전반적인 조건반응진폭의 축소에서 기인한 것이 아니라 손상후 회기에서 조건반응 개시 시각의 큰 변산에서 기인한 결과임을 관찰하였다. 이것은 소뇌피질이 중간핵과 기능적 연관성을 가지며 조건반응출현의 시간조절역할을 한다는 가설을 지지해 주는 결과라 하겠다.

심리학자들과 신경과학자들은 기억의 실체, 즉 엔그램(engram)을 찾으려고 부단히 노력해 왔으며 이런 노력은 다양한 실험대상물(preparation)과 연구방법을 통하여 현재에도 계속되고 있다. 그런 연구자들 중에서 Thompson (1976)은 토끼의 순막조건화(nictitating membrane response:NMR)를 이용하여 포유류 뇌에서의 기본적인 기억의 흔적을 추적하고 있다. 그는 여러 실험을 통해 순막조건화에서 필수적인 가소성구조물은 소뇌중간핵(cerebeller interpositus nucleus)이라 하였다.

소뇌의 중간핵이 순막조건화에서의 결정적 가소성 구조물임을 주장하는 연구들(Lincoln, McCormick, & Thompson, 1982; McCormick,

Lavond, Clark, Ketter, Rising, & Thompson, 1981)이 발표되자 중간핵의 선행구조물인 소뇌피질 제6엽 즉 단소엽(simple lobule)이 순막조건화에 결정적 가소성구조물이며 중간핵은 그 출력핵임을 주장하는 일련의 실험결과가 발표되었다(Yeo, Hardiman, & Glickstein, 1986). 우선 Yeo등(1985a)은 이전 연구자들의 실험을 반복하여 중간핵을 손상시켜 조건반응(conditioned responses:CR)이 사라짐을 확인하였고 이어서 중간핵에 섬유를 보내는 선행구조물인 단소엽을 흡입 손상하여 역시 조건반응이 사라짐을 확인하였다(Yeo, Hardiman, & Glickstein, 1985b). 이 실험을 통해 피질가소성설을 주장하면서 그들은 그 근거로 단소엽의 입출력연구(Yeo et al,

1986)를 통하여 조건반응생성에 피질이 결정적 역할을 함을 주장하였다.

피질가소성을 주장하는 연구자들은 그 이전 연구자들(Colin, Manil, & Desclin, 1980; Eccles, Ito, & Szentagothai, 1967; Gilbert, 1974; Marr, 1969)이 소뇌에 대하여 연구하여 얻은 사실에 근거하여 퍼킨지세포(Purkinje cell) 시냅스의 전달효율변화를 학습의 신경적 근거로 간주한다. 이를 기술하면 순막조건화에서의 조건자극(conditioned stimulus:CS)정보는 태상섬유(mossy fiber)를 타고 올라가서 과립세포(granule cell)로 중계되고 이 과립세포의 축색인 평행섬유(parallel fiber)는 퍼킨지세포와 시냅스를 맺게 된다. 또 무조건자극(conditioned stimulus:US) 정보는 등상섬유(climbing fiber)를 타고 올라가서 퍼킨지세포와 시냅스를 맺게 된다. 전기생리학적 연구들에 의하면 태상섬유의 활동은 퍼킨지세포에 단순스파이크(simple spike)로 나타나고 등상섬유의 활동은 퍼킨지세포에 복합스파이크(complex spike)로 나타나는데 복합스파이크의 활동 뒤에는 단순스파이크가 잠시 사라지는 휴지(pause)현상이 있고 태상섬유와 등상섬유의 증가된 활동이 시간적으로 근접하여 반복해서 발생하면 평행섬유에서 퍼킨지세포로의 시냅스전달 효율감소라는 시냅스 가소성이 실현된다고 한다. Ito(1972)는 피질의 이런 회로가 소뇌가 운동조절학습을 하는 신경적 기전이 된다고 하였으며 장기간에 걸친 이런 시냅스전달 효율감소를 해마(hippocampus)등에서 관찰되는 바 학습의 신경적 기전이라 여겨지는 장기상승작용(long-term potentiation:LTP)에 대비하여 장기억제작용(long-term depression:LTD)이라 하였다(Ito, 1989).

LTP와 LTD는 기본적으로는 두 신호의 수렴에 의해 시냅스 강도가 변화한다는 점에서는 Hebb식 수렴을 그 기본으로 하고 있다 하겠다(Brown, Kairiss, & Keenan, 1990). Ito(1989)는 이 현상과 순막조건화를 연관시켜 설명하면서 태상섬유가 운반하는 CS와 등상섬유가 운반하는 US는 측부지를 통해서 소뇌심부핵에서 수렴하는데 학습이 진행되기 전에는 피질의 퍼킨

지세포가 이 심부핵을 억제하고 있으므로 CR이 나타나지 않는다고 한다. 한편, 학습이 진행되면 퍼킨지세포에 태상섬유활동과 등상섬유활동의 수렴에 의한 LTD가 일어나서 퍼킨지세포의 중간핵억제의 해체에 따라 CR이 나타나게 된다고 한다.

그런데 순막조건화에서 CS를 제시하면 태상섬유 활동의 결과인 단순스파이크가 나타나며, US를 제시하면 등상섬유 활동의 결과인 복합스파이크가 나타나는지, 그리고 학습됨에 따라 나타는 CR과 퍼킨지세포의 활동이 어떻게 연관되어 있는지에 대한 소뇌피질의 전기생리학적 기록 연구(Berthier, & Moore, 1986)는 CS-단순스파이크, US-복합스파이크의 관계가 그렇게 단순하게 성립되지 않음을 보여주고 있다. 즉, US에 대해서 대다수의 퍼킨지세포는 복합스파이크를 보이지 않으며, CR에 앞서서는 단순스파이크가 감소되는 퍼킨지세포뿐만 아니라 증가되는 퍼킨지세포도 있다고 보고한다. 또한 Krupa등(1990)도 퍼킨지세포는 US단독제시에 의해 단순, 복합스파이크를 모두 보인다고 보고한다. 이에 더해 소뇌피질에 대한 다른 연구(Arshavsky, Gelfond, Orlovsky, & Pavlova, 1978a)에서는 태상섬유와 시냅스를 맺는 과립세포에는 과립층의 심부에 있는 typeI과립세포와 과립층의 표층에 있는 typeII과립세포가 있음이 발견되었다. typeI과립세포는 대부분의 척수소뇌로에서 입력을 받으며 퍼킨지세포를 직접 흥분시켜서 소뇌출력을 생산하지만 typeII과립세포는 외측망상핵(lateral reticular nucleus:LRN)에서 입력을 받으며 퍼킨지세포를 흥분시키는 것이 아니라 골지세포(Golgi cell)를 흥분시켜 이 골지세포가 다른 과립세포를 억제함으로써 태상섬유를 통해 소뇌로 들어오는 정보 전달에 어떤 억제적 영향을 준다고 한다. 그리고 LRN에서 투사하는 태상섬유의측부지는 중간핵으로 다수투사한다고 한다.

류재욱등(1989)은 중간핵에 측부지를 보내면서 typeII 과립세포에 투사한다고 보고된 LRN에의 전기자극을 CS로 사용하여 명확한 조건반응을 얻었다. 또한 같은 방법으로 조건화를 시킨 후 소뇌피질을 파괴하여 학습의 파지를 관찰한

연구(Knowlton, Lavond, & Thompson)는 피질의 손상이 조건반응을 붕괴시키지 못함을 보고하였다. 또한 CS와 US대신 US와 US를 배쌍시킨 실험(Schreurs, & Alkon, 1990)에서는 전통적 CS없이도 alpha조건반응이 아닌 정상적 조건반응이 명확히 얻어졌는데 이는 CS-대상섭유 활동증가, US-등상섭유활동증가의 도식에 해당되지 않는 학습형태인 것이다.

피질에 있어서 이렇게 상반된 결과를 보고한 실험들외에 단소엽의 보다 자세한 기능을 암시해주는 실험들이 있다. 긴 자극간 간격(inters-timulus interval:ISI)을 사용한 실험(Perrett, Ruiz, & Mauk, 1990)은 피질이 CR의 단순한 생성보다는 CR이 적절한 시간성(timing)을 가지고 나타나도록 하는 기능을 함을 나타내어 주고 있다. 또 피질에 대한 대상섭유입력의 원천이 되는 교핵과 등상섭유입력의 원천이 되는 하올리브를 전기자극한 실험(Gould, Sears, & Steinmetz, 1990)은 두 전기자극에 의해 피질의 퍼킨지세포는 계속 흥분하나 소뇌심부핵인 중간핵과 시상핵은 처음에는 흥분하였다가 곧 뒤이어 억제됨을 보고하고 중간핵에서의 뒷부분의 억제가 피질의 흥분에서 기인한 것이라 하였다. 이러한 보고들은 Ito(1989)가 제안한 CR생성에 있어서의 소뇌피질과 중간핵의 기능적 협응성과 일맥상통한 면이 있다 하겠다. 하지만 피질의 정확한 역할에 대한 설명은 현재까지 미해결인체 남아있어야 할 것이다.

실 험 1

조건화란 사건들간의 관계성을 학습하는 것이다 라는 정의(Rescorla, 1988)는 순막조건화에 있어서도 예외가 아닐 것이다. 순막조건화에 관여하는 신경회로에서 소뇌피질회로의 전술한 복잡성 및 피질과 핵의 기능적 연관성 등을 고려하면 소뇌는 단순히 대상섭유활동과 등상섭유활동이 한 종류의 가소성구조물에 대해서만 수렴하는 그런 신경기계는 아니며 또한 대상섭유활동증가와 등상섭유 활동증가의 시간적 중첩과 그것이 일으키는 퍼킨지세포의 장기억제만이 조건반응

생성의 유일한 조건은 아닐 것이다. 그같은 맥락에서 실험 1에서는 전형적인 청각자극제시와는 반대로 청각자극무제시를 조건자극으로 설정하고(이하 이것을 \overline{CS} 로 표기하기로 한다) 이것과 US를 짝지워서 제시하여 조건반응이 형성되는지를 실험하려 한다. 즉 대상섭유의 활동을 일으킨다는 청각자극을 시행간 간격(intertrial interval:ITI)동안에는 계속 제시하다가 정상적으로 CS가 제시되는 기간동안은 반대로 청각자극을 제시하지 않고 그런 \overline{CS} 와 등상섭유활동을 일으킨다는 US를 배쌍학습 시키는 것인데, 이는 전형적인 조건화에서 청각자극 CS가 일으키는 대상섭유활동과는 반대양상의 활동이 등상섭유활동과 함께 퍼킨지세포에 영향을 미치는 경우이다. 이에 더해서 소뇌중간핵 다단위활동(multiple unit activity : MUA)을 기록하고 또 나중에 중간핵을 손상시켜 이런 종류의 학습에서 중간핵의 역할을 검사하려 한다.

방 법

피험동물

체중이 1.7-2.5kg의 뉴질랜드 백색종 스투기 9마리에서 자료를 얻었다. 실험기간동안 피험동물은 개별장에 수용시켰고 먹이와 물을 충분히 공급하였다.

실험장치

실험기간동안 토끼를 구금하기 위해서 아크릴로 만든 토끼고정장치를 사용하였다. 순막의 움직임은 미세토크전위차계(minitorque potentiometer)로 측정하였다. 전위차계를 토끼의 머리에 씌운 고정대에 부착시키고 전위차계의 축에 직각으로 강철막대를 연결하였으며 그 끝에 미세 갈고리가 달린 명주실을 달아매었다. 학습시에는 그 갈고리를 토끼의 순막에 만든 고리에 걸어서 순막의 직선적 움직임이 전위차계축의 원운동을 일으키도록 하였다. 그리고 전위차계 양단자에는 정전압(constant voltage) +5V와 -5V를 공급하고 중간단자와 접지 사이에서 축의 원운동에 의해 변화하는 전압분할값을 얻었다. 이 전압변

화는 순막 1mm의 움직임이 0.04V로 나타나는데 A/D변환기로 공급되어 초당 256회의 율로 표집되었다. 디지털값으로 변환된 전압변화를 IBM AT호환기종에 입력하여 반응개시시간, 조건반응의 최대진폭, 무조건 반응의 최대진폭, 조건반응 율등을 계산하였다. 훈련시 뇌의 전기적 활동을 동시에 기록할 수 있도록 조건화절차는 전자기장 차폐실(shield room)에서 실시하였다. 조건자극은 1kHz 정현파 80dB의 청각자극의 철회이며 4인치 스피커로 토끼와 약 50cm거리에서 제시하였고 무조건 자극은 토끼각막에 대한 공기분사(airpuff)이다. 공기분사는 소형 압축펌프를 사용하여 압축공기를 만들어 소형 압축탱크에 저장하였다가 무조건자극 제시시간동안만 solenoid를 열어서 개구경이 직경 1mm인 노즐을 통해 100g/cm²의 압력으로 토끼의 각막에 분사하였다. 조건자극과 무조건자극의 제시는 IBM AT호환기종의 출력포트와 연결한 인터페이스장치를 통하여 통제하였다. 그리고 외부소음 차폐용 백색잡음은

제시하지 않았다.

자료수집, 기기통제, 자료분석의 프로그램은 이두현과 김기석(1986)에서 사용하던 것인데 Turbo C로 개정한 것을 사용하였다. 이상과 같은 조건화 장치 및 기록장치의 배치도는 그림 1과 같다.

시술

시술 24시간전에 피험동물의 물과 먹이를 박탈하였다. 시술 당일에는 클로르프로마진(chlorpromazine, 4mg/kg)을 피하주사하고 또 30분 후에 아트로핀(atropine, 1mg)을 피하주사하였다. 그리고 30분 후에 펜토탈 나트륨(pentotal sodium, 60mg/kg)을 귀의 정맥에 주사하여 마취시켰다. 마취된 토끼를 스테레오택식(stereotaxic) 기구에 고정시킨 후 두피를 시상 방향으로 절개하고 두개골을 노출시켜 정중열과 좌우수평을 마춘 후 전정(bregma)이 람다(lambda)보다 1.5mm높게 맞추었다. 그리고 소뇌중간핵에 손상용

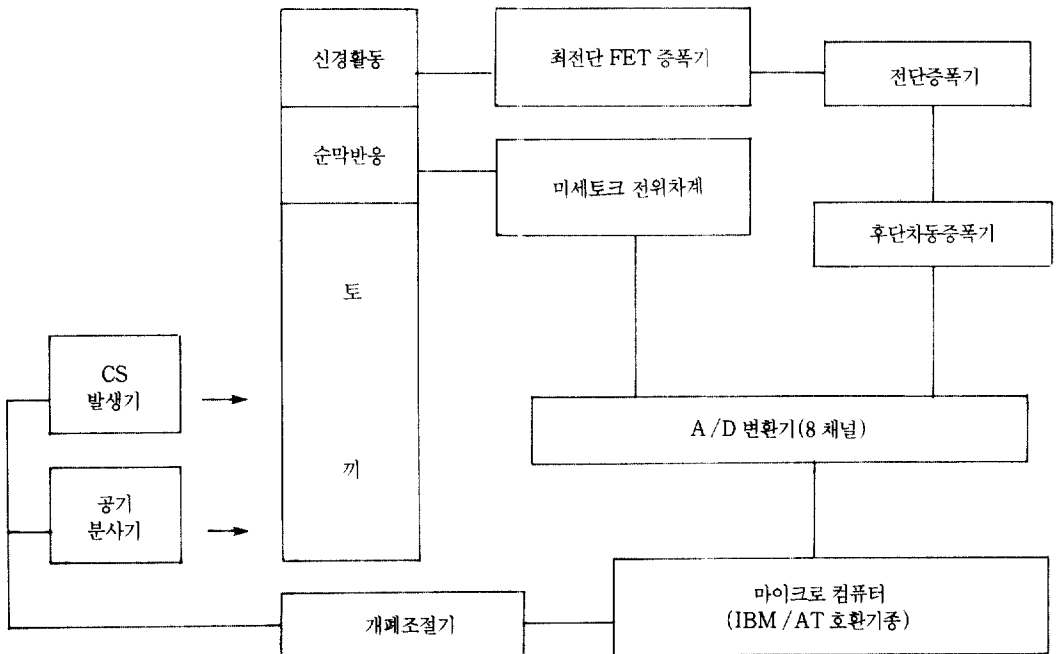


그림 1. 실험장치의 배치도

전극을 1개 심었다. 손상용 전극은 역시 00번의 끈충용 핀을 예폭사로 두겹게 절연한 것인데 침단부위를 800-1000 μ m 노출시켰다. 전극의 위치는 정전류 자극기를 사용하여 자극을 주어서 손막의 움직임이 최대화 되는 곳에 고정시켰다.

학습절차

실험집단은 처음부터 \overline{CS} -US 배쌍훈련을 받은 집단으로서 순응기간을 거친 후 손상용 전극을 통한 신경활동의 임시적 기록을 하면서 5회기 동안 학습을 시켰다. 그 후 중간핵을 양극성 직류 전류 2mA를 40초동안 흘려서 손상시켰다. 손상 후 학습을 2회기 더 실시하였다. 순응기간에는 토끼를 고정장치에 넣어서 학습처럼 장치한 후 백색잡음없이 한 회기에 해당하는 시간동안 전자기장차폐실에 두었다. 조건화는 전자기장차폐실에서 한 마리씩 시켰다.

전자기장 차폐실의 실내조명은 없었으며 한 회기는 100시행이었고 시행간 간격은 30-50초 범위내에서 무선적으로 주었다. 시행간 간격동안에는 1kHz 정현파 80dB을 계속 들려 주다가 보통 학습의 경우에는 조건자극을 제시하는 기간동안은 도리어 청각자극을 제시하지 않았다. 그러므로 청각자극 무제시가 조건자극이 되는 것이다. 이런 800msec의 청각자극무제시의 후반 100msec 동안 각막 공기분사 무조건자극을 가하였다(그림 2).

전이 통제집단은 \overline{CS} -US 배쌍학습 후 평균 조건반응율이 88%이상을 유지한 4마리를 선택하였다. 이 동물들은 높은 조건반응율을 유지하고 있으므로 본 실험의 \overline{CS} -US 배쌍 조건에서 다시 훈련시켜서 이전 훈련 조건에서 본 실험의

자극쌍조건에로의 전이효과를 관찰하고자 하였다. 전이통제집단 동물은 순응회기없이 5회기훈련을 받았으며 이후 중간핵손상처치는 받지 않았다. 나머지 절차는 실험집단과 동일하다.

조직검사

학습이 끝난 동물은 전이통제집단의 경우 표지 손상을 위해 중간핵에 양극성직류전류를 2mA 1분간 흘렸다. 그리고 두집단 모두에게는 chloral hydrate(0.2g/cc)를 과량주사하여 깊이 마취시킨 뒤 심장의 상대동맥을 통해 0.9% 생리식염수와 10% 포르말린용액을 주입해 환류시켰다.

결과 및 논의

조직검사결과

각 피험동물의 뇌절편의 손상부위는 확대인화한 절편사진과 또 염색한 절편의 현미경 관찰을 통해 조사하였고, 스테레오택식도감과 대조하여 확인하였다(그림 3).

행동반응의 분석결과

실험집단 피험동물은 5회기동안 학습시켰으며 이후 중간핵을 전해질손상 시킨 후 2회기간 더 학습시켰다. 전이통제집단은 5회기동안 학습만 시켰다. 전회기에 걸친 실험집단과 전이통제집단의 평균조건반응율이 그림 4에 제시되어 있다.

통계적 분석결과 집단간 학습율에는 차이가 없었고 회기별로는 유의한 차이가 있었다 [$F(4,28) = 34.36, p < .01$]. 또한 집단과 회기의 상호작용은 없었다 [$F(4,28) = 1.39, NS$]. 실험집단의 경우 학습최종회기의 조건반응율과 손상후 2회기의

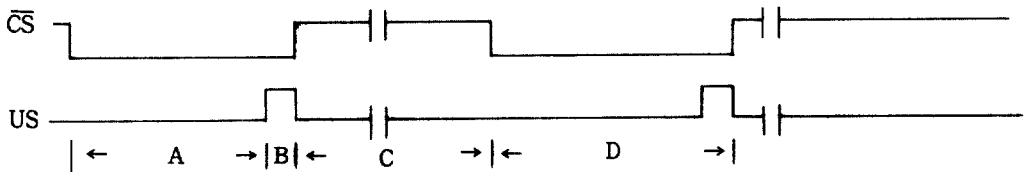


그림 2. \overline{CS} 와 US 배쌍의 형태. A : 자극간 간격 700msec, B : 무조건자극 제시 100msec, C : 시행간 간격 30~50초, D : \overline{CS} 800msec

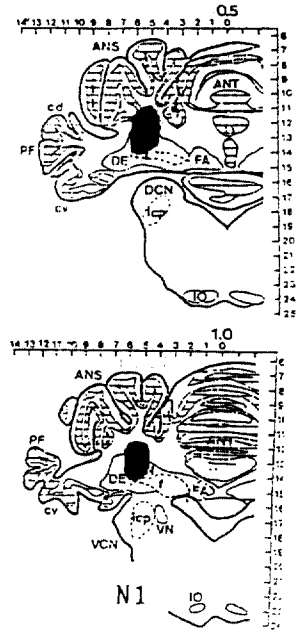
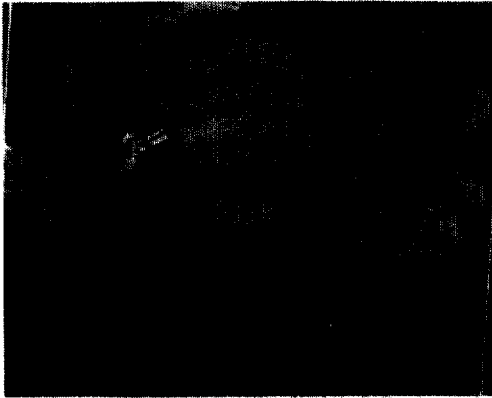


그림 3. 실험집단의 중간핵 손상의 위치. 람다(lambda)에서 전측으로의 좌표. IN : 중간핵, DN : 치상핵, DGN : 배측 와우핵, FA : 실정핵, PF : 방편엽, ANT : 전엽, iCP : 하소뇌각, ANS : 고리소엽, IO : 하올리브

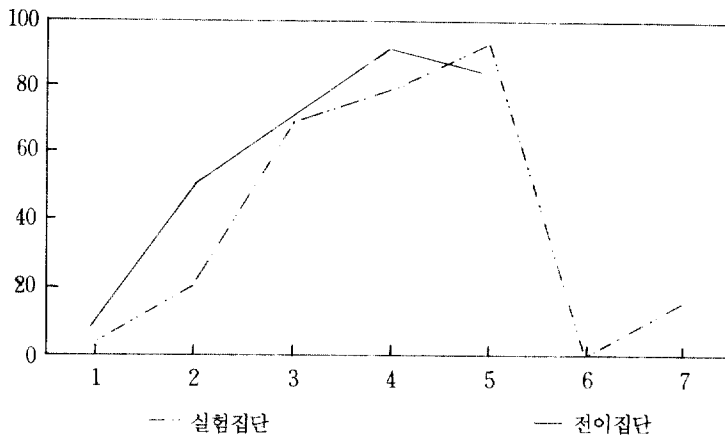


그림 4. 실험집단과 전이통제집단의 습득시의 조건반응률과 실험집단의 중간핵 파괴후의 조건반응률

조건반응율의 평균간의 비교를 하였는데 손상 전후의 조건반응율에 유의한 차이를 보였다 [$t=10.56, p<.01$].

본 실험에서는 \overline{CS} 와 US를 배쌍한 실험집단이 조건반응을 획득하는지의 여부를 살펴보았다. 또한 이러한 형태의 학습이 전형적인 CS와 US 배쌍학습과 어떠한 관계를 가지고 있는지를 알아보기 위해서 전이통제집단을 설정하고 CS와 US 배쌍학습을 하여 조건반응을 80% 이상을 보이는 피험동물들 \overline{CS} -US 배쌍조건으로 이행하여 학습시켜서 이후의 조건반응획득율을 관찰하여 전이가 일어나는지 유무를 알아보았다.

실험집단과 전이통제집단은 공히 정상적 학습 곡선을 보이면서 학습 4회기에 이미 80% 이상의 조건반응율을 획득하였다. 이는 전형적인 CS와 US 배쌍실험에서 가장 학습이 잘된다고 알려진 지수로 훈련시킨 학습율과 유사한 것이다. 이 결과를 참조하여 본 실험의 자극쌍 조건은 전형적 학습에서의 흔적조건화(trace conditioning)나 역조건화(backward conditioning)와는 상관이 없음을 알 수 있었는데 이는 뒤에서 논의하겠다.

그리고 본 실험에서 얻은 조건반응이 어떤 신경적 기전에 의해 매개되었는지는 추후의 연구를 필요로 하지만 조건반응율이 준기에 도달한 후 실험집단의 중간핵을 파괴한 결과 손상 후 첫 시행에서 모든 피험동물의 조건반응이 완전히 없어진 것은 이 학습에도 소뇌가 결정적 역할을 함을 보여준 것이다.

실 험 2

실험 2에서는 소뇌피질단소엽의 시간성기능을 검토하기 위해 Perrett 등(1990)처럼 긴 CS를 사용한다. ISI가 700msec인 지연조건화를 시킨 후 손상용 전극 4개로 단소엽을 조합적으로 전해 질손상하여 CR의 존속여부와 변형성여부를 관찰하여 소뇌피질의 역할을 검사하겠다. 또한 동일한 ISI로써 실험 1에서 한 것처럼 \overline{CS} -US 배쌍을 하여 학습을 시킨 후 위와 같이 단소엽을 전해 질손상시켜 그런 종류의 학습에서 소뇌피질단소엽의 역할을 검사하고 그 결과를 소뇌의 신경회

로망에 근거하여 논하려 한다.

방 법

피험동물

체중이 1.7-2.5kg의 뉴질랜드 백색종 스투끼 9마리에서 자료를 얻었다. 실험기간동안 피험동물은 개별장에 수용시켰고 먹이와 물을 충분히 공급하였다.

실험장치

실험 1과 동일하다.

시술

시술예비절차는 실험 1과 동일하며 소뇌피질 중 단소엽에 손상용 전극을 4개 심었다. 손상용 전극은 00번의 곤충용 핀을 에폭시로 두껍게 절연한 것인데 첨단부위를 800-1000 μ m 노출시켰다. 전극의 위치는 스테레오택식도감파 문양호등(1989)을 참조하여 정하였는데 램다 전극 1.0mm에서 외측 5.0mm와 7.0mm에 삽입한 2개의 전극은 복측으로 9.0mm 내렸고 램다 후측 0.5mm에서 외측으로 4.0mm와 6.0mm에 삽입한 2개의 전극은 복측으로 8.0mm 내렸다.

4개의 손상용 전극은 4핀 소켓의 각 단자에 연결시켰으며 그 소켓은 두개골에 박은 3개의 나사를 지지대로 하여 치과용 시멘트로 두개골위에 단단히 고정시켰다. 시멘트가 굳은 후 소켓이 노출되도록 하면서 두피를 봉합하고 가나마이신(25mg/kg)을 근육주사하였다. 시술 후 학습까지는 5-7일의 회복 기간을 주었다.

학습

집단 1의 4마리는 실험 1과 동일한 방식으로 훈련시켰다. 즉 청각자극 800msec동안의 없음과 함께 나중 100msec 동안의 각막공기분사 무조건 자극을 제시하는 \overline{CS} -US 배쌍훈련을 시켰다. 집단 2의 5마리는 지연조건화를 시켰는데 조건 자극은 800msec, 80dB의 정현파 청각자극이며 무조건자극은 조건자극제시간 후반 100msec동안의 각막공기분사(100g/cm²)이다. 자극간 간격은

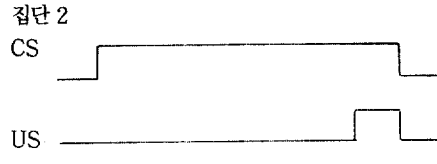
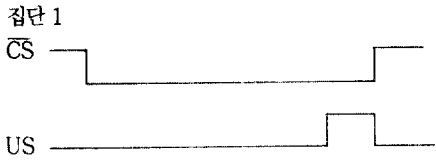


그림 5. 집단 1과 집단 2의 배쌍형태

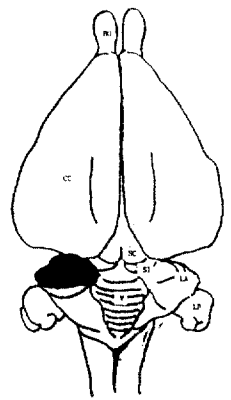
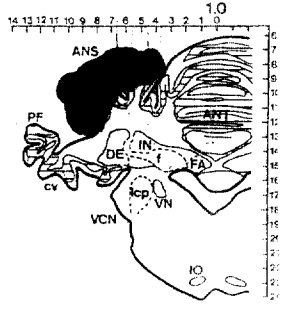
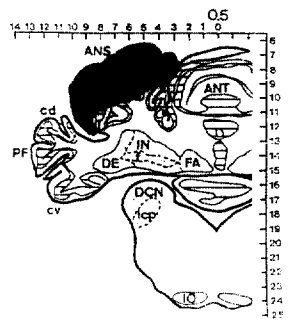


그림 6. 집단 1과 집단 2의 단소엽 손상부위의 위치. 집단 1은 \overline{CS} -US 배쌍집단, 집단 2는 CS-US 배쌍집단. IN : 중간핵, DN : 치상핵, DCN : 배측 와우핵, FA : 실정핵, PF : 방편엽, ANT : 전엽, ICP : 하소뇌각, ANS : 고리소엽, IO : 하울리브. 아래그림은 배측에서 본 단소엽의 손상부위이다. BO : 후구, LA : 고리엽, CC : 대뇌 피질, LP : 방편엽, SC : 상소구, SI : 하소구, V : 충부

700msec이고 시행간 간격은 30-50초사이에서 무선적으로 변화게 하였다(그림 5). 훈련기간동안 배경백색잡음은 집단 1, 2 공히 없었다.

두 집단 모두 순응회기동안에는 토끼를 고정장치에 넣어서 학습시처럼 장치한 후, 백색잡음없이 한 회기에 해당하는 시간동안 전자기장차폐실에 두었다. 조건화회기동안에는 전자기장차폐실에서 한 마리씩 훈련시켰는데 5회기 훈련시켰으며 그 후 소뇌피질 단소엽에 심은 4개의 전극을 2개씩 조합하여 6번의 전해질손상을 시켰다. 손상은 양극성 직류전류 2mA를 각 전극쌍당 1분간씩 주어서 실시하였다. 손상후 두 집단 공히 2회기씩의 훈련을 실시하였다.

조직검사

학습이 끝난 동물은 환류하여 뇌를 적출하고 뇌의 배측에서 직접 소뇌피질 단소엽 손상부위를 확인하고 사진을 찍었으며 또한 실험 1과 동일한 절차를 거쳐 관상 절편을 얻어서는 단소엽의 손상정도도 확인하였다.

결과 및 논의

조직검사결과

각 피험동물의 뇌절편의 손상부위는 확대인화

한 절편사진과 또 염색한 절편의 현미경 관찰을 통해 조사하였고 스테레오택식도감과 대조하여 확인하였다(그림 6).

행동반응의 분석결과

전회기에 걸친 집단 1과 집단 2의 평균조건반응율을 그림 7에 제시하였다. 통계적 분석은 학습 5회기와 손상 후 2회기에 대해 일원반복측정을 행하였다. 분석결과 습득시행에서는 집단간 차이는 없었으나 $[F(1,7)=0.98, NS]$, 회기간에 조건반응율에 있어서 차이가 있었고 $[F(4,28)=36.63, p<.01]$ 집단과 회기간의 상호작용은 없었다 $[F(4,28)=0.99, NS]$. 손상전 최종회기와 손상 후 2회기에서는 회기간에 유의한 차이가 있었다 $[F(2,14)=5.74, p<.05]$. 이는 피질 손상후 조건반응의 부분적 붕괴에서 기인한 것이다.

본 실험에서는 CS와 US를 배쌍한 집단 1의 학습율이 CS와 US를 전형적으로 배쌍한 집단 2의 학습율과 어떤 차이가 있는지를 알아보았다. 집단 1과 집단 2를 5회기씩 학습시킨 결과 두 집단의 학습율에는 유의미한 차이가 없었다. 집단 1과 집단 2의 학습율에 차이가 없다는 것은 자극의 철회도 자극의 제시와 동일하게 생명체에게 자극의 변화라는 점에서 유의미한 정보가될 수 있음을 시사하는 것이다. 또한 이런 결과를 실험 1의

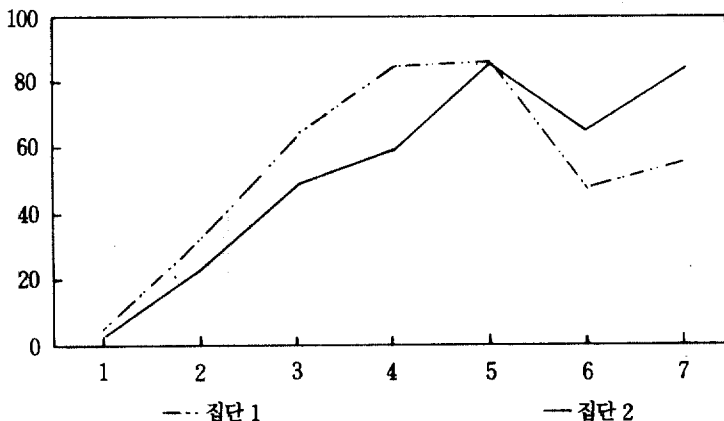


그림 7. 집단 1과 집단 2의 습득시 조건반응률과 피질손상후의 조건반응률

중간핵 손상 결과와 함께 생각하면 소뇌내에서 이런 정보의 변화를 처리하는 신경적 기전이 존재함을 시사한다. 그러나 이런 기전이 전형적인 두 자극의 연합을 담당하는 신경구조물에 함께 혼재해 있는 것인지 또는 별개의 장소와 회로로서 존재하는지를 알 수가 없다. 그래서 집단 1과 집단 2의 학습이 준거에 도달한 후 이전 연구에서 순막조건화에 관여하는 중요한 피질 부위라고 알려진 피질 제 6엽을 전해질 손상을 시켰는데 중간핵과는 달리 피질의 손상은 두 집단 모두에서 조건 반응을 완전히 폐지시키지는 못하였다. 이는 Harvey 등(1990)의 피질손상결과와 일치하는 것으로서 피질이 조건반응을 생성하는 유일한 가소성구조물은 아님을 입증하는 것이라 하겠다.

전체 논의

순막조건화에 관여하는 신경회로를 구체화하고 그 회로에 포함되는 각 구조물의 기능을 밝히려는 노력으로 소뇌가 중요함이 알려졌고(Lincoln et al, 1982; McCormick et al., 1981) 이후 소뇌로의 조건자극의 입력경로(Steinmetz, Rosen, Chapman, Lavond, & Thompson, 1986; Solomon, Lewis, & LoTurco, 1986)와 무조건자극의 입력경로(윤영화·김기석, 1989; McCormick, Steinmetz, & Thompson, 1985; Yeo et al, 1986)가 확인되었다. 또한 순막조건 반응의 뇌간 출력로상의 구조물에 대한 연구(Berthier, & Moore, 1983; Cegavske, Patterson, & Thompson, 1979; Haley, Yeo, Welsh, & Romano, 1983; Rosenfield, Dovydaitis, & Moore, 1985)로 적핵과 외전신경핵 및 부외전신경핵이 순막조건반응의 출력을 매개함이 알려졌다. 소뇌안의 심부핵인 중간핵을 손상한 연구(Clark, McCormick, Lavond, Baxtery, Gray, & Thompson, 1982; Lavond, Hembree, & Thompson, 1985)결과는 이 조건화에서 중간핵이 결정적인 가소성구조물일 가능성을 제시하였다. 그런데 Yeo등(1985b)은 중간핵의 선행구조물인 소뇌피질 단소엽을 손상한 결과 조건화된 순막반응이 완전히 사라짐을 보고하

면서 가소성구조물로 단소엽을 제시하였다. 소뇌안에서의 중간핵과 소뇌피질에 대한 이후 연구들은 소뇌피질가소성설을 지지하는 결과(문양호·김기석, 1989; Shinkman, Swain, & Thompson, 1989; Yeo, & Hardiman, 1988)와 중간핵가소성설을 지지하는 결과(Lavond, kanzawa, & Esquenaz, 1990; Zhang, Clark, & Lavond, 1990)등이 혼재해 있다.

실험 1은 기존 소뇌피질가소성설을 주장하는 연구자들이 지지하고 있는 바 대상섬유활동과 등상섬유활동의 시간적 중첩이 일으키는 장기억제 작용이 피질가소성을 생성시키는 기전이라는 견해를 검토하기 위한 것이다. Shreurs 등(1990)은 CS와 US의 배쌍이 아니라 US와 US를 배쌍하여서 조건반응을 얻었음을 보고한다. 이는 CS-대상섬유 활동증가, US-등상섬유 활동증가의 도식에 부합되지 않는 경우이다. 이와 맥락을 같이 하는 전기생리학적 보고가 있는데 Berthier등(1986)과 Krupa등(1990)은 조건자극에 의해서는 대상섬유활동만 일어나고 무조건자극에 의해서는 등상섬유활동만 일어나는 것이 아니라 두 활동이 혼재하고 있다 하였으며 또한 조건반응이 확립된 이후에 조건자극에 의해 활동이 감소하는 퍼킨지세포뿐만 아니라 활동이 증가하는 퍼킨지세포도 있다고 하였다. 이에 더해 Arshavsky 등(1987)은 대상섬유 중에는 퍼킨지세포와는 무관하며 다른 대상섬유에게 억제적 영향을 일으키는 것도 있다고 하였는데 이는 외측망상핵에서 기시한 대상섬유라 하였다. 류재욱 등(1989)과 Knowlton등은 이 외측망상핵에 조건자극으로 전기자극을 가하여 명확한 조건반응을 얻었다. 이는 대상섬유활동 증가와 등상섬유활동 증가의 퍼킨지세포에 대한 중첩이 퍼킨지세포시냅스에 변화를 야기시켜 CR이 생성되게 한다는 기존 설명에는 부합되지 않는 실험결과로서 소뇌가 단순한 두 자극의 제시에 대한 연합 이상의 기능을 할 수 있음을 시사하는 것이다. 그래서 본 연구는 \overline{CS} 와 US를 배쌍 훈련시켰는데 전형적 CS와 US 배쌍훈련처럼 신속한 학습을 보였다.

먼저 본 실험의 자극쌍 조건이 청각자극이 제시되다가 800msec동안 그 자극이 없음과 무조건 자극이 배쌍되므로 이런 특성이 혼적조건화에서 청각자극 CS가 잠시 제시되고 뒤이어 공백인 자극간 간격이 뒤따르다가 무조건 자극이 제시되는 경우와 유사하다고 해석할 수 있겠다. 하지만 자극간 간격이 700msec인 혼적조건화의 경우는 대단히 느린 학습증가율을 보여서 준거에 도달하는 시행수가 지연조건화의 수배에 달하며 최대조건 반응율도 75-55%밖에 되지 않는다(Graves & Solomon, 1985; Solomon & Vander Schaaf, 1986; Woodruff-Pak, Lavond, & Thompson, 1985). 이들을 본 실험의 학습율과 비교하면 본 실험의 자극쌍 조건이 혼적조건화의 특성을 띠고 있지 않음을 알수 있다. 더우기 혼적조건화가 가능한 기전을 설명함에 있어 잠깐 제시되었던 조건자극의 신경적 활동지속이 무조건자극과

연합되는 것으로 설명하는데 이 설명을 본 실험의 자극쌍에 도입하면 \overline{CS} 동안도 신경활동이 지속되는 것이 된다. 그러면 결국 학습 전체기간에 걸쳐 청각자극에 의한 신경활동이 계속 일어나는 것이 되고 여기에 무조건자극이 무선적으로 제시되는 경우가 되므로 학습이 일어나지 않을 것이라고 추론할 수 있는데(Saladin & Tait, 1986; Saladin, Ten Have, Saper, Labinsky, & Tait, 1989) 이는 본 실험의 결과와는 맞지 않는 것이다. 다음으로 본 실험의 자극쌍조건이 무조건자극이 종료되면서 즉시 청각자극이 개시되는 형태이므로 이를 일종의 역조건화로 해석할 수도 있겠다. 하지만 역조건화가 가능하나의 문제조차도 현재 의견의 일치를 보고 있지 못하므로(Dolan, Shishmi, & Wagner, 1985; Heth & Rescorla, 1973; Tait & Saladin, 1986) 이 역시 본 실험의 결과를 설명해 줄 수 없다. 또한 전

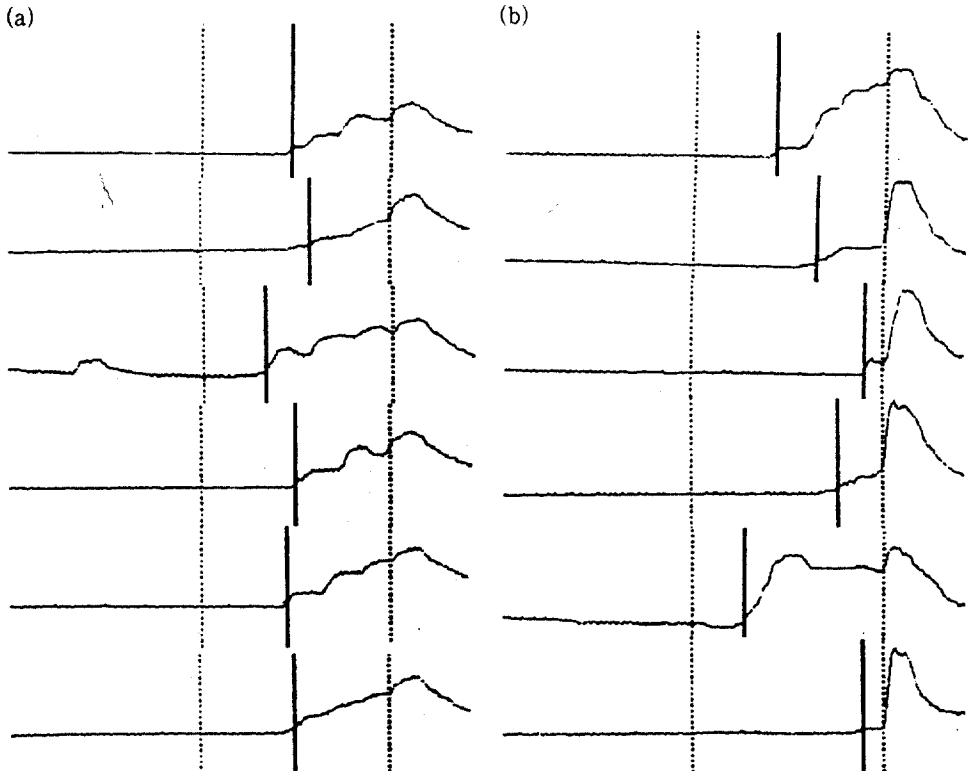


그림 8. 피질손상전회기(a)와 피질손상후회기(b)의 회기중반부 연속 6시행에서의 개별반응 개시시각비교

형적 CS와 US로 훈련받은 피험동물은 \overline{CS} 와 US 배쌍으로 이행시켰을 때 전이효과가 관찰되지 않았다. 이런 결과는 이 학습에 관여하는 신경적 근저가 전형적 학습에 관여하는 신경회로와 별개의 것일 수 있음을 시사하는 것이다. 그러나 실험집단의 중간핵을 파괴하였을 때 조건반응이 폐지된 것은 이런 종류의 학습도 소뇌가 매개함을 증명해 주는 것이라 하겠다.

실험 2는 \overline{CS} 와 US 배쌍학습집단을 집단 1로 하고 CS와 US배쌍학습집단을 집단 2로 하여서 두 집단간의 학습율을 비교하고 소뇌피질단소엽의 손상에 의해 두 집단의 조건반응이 어떠한 영향을 받는지를 검사하였다. 두 집단의 조건화 정도에 차이가 없음을 집단 1의 조건화형태가 흔적 조건화 또는 역해조건화와 상관이 없음을 다시 한번 입증해 주었다. 단소엽의 손상에 의해서 두 집단 공히 중간핵 손상과는 달리 조건반응이 전폐되지 않고 상당히 남아있음을 관찰하였다. 이 단소엽의 손상에 의해 두 집단 모두에서 관찰된 CR에서의 현저한 변화는 조건반응 개시시각의 큰 변산이었다. 이는 피질이 반응의 시간성 조절에 관여할 수 있음을 나타낸 것이며 피질이 유일한 가소성구조물은 아니며 중간핵 등과 기능적 연관을 맺고 있음을 시사하는 것이라 하겠다(그림 8).

본 실험의 결과에 의할 것 같으면 중간핵과 피질은 뇌간의 핵과의 연결 및 기능적 의존성을 고려해서 순막조건화에서의 역할을 평가하여야 할 것 같다. 이는 이 조건화의 신경적 근저를 이해함에 있어서 유일한 가소성의 장소를 한정짓는 접근법보다는 중간핵과 피질 그리고 뇌간의 하울리브를 포함하는 회로망내에서의 상호기능적 연관성을 찾는 접근법이 필요하다는 것이다. 한편 소뇌는 단순한 기본적인 두 자극의 연합학습이상인 관계성학습을 할 수 있음이 증명됐다. 그러므로 순막조건화의 신경적 기전을 더욱 상세히 이해하기 위해서는 소뇌피질내의 뉴런들이 구성하는 신경망과 그 기능에 대한 더욱 정교한 연구가 계속되어야 하겠다. 이를 위해서는 단단위 기록법 및 복수개의 구조물에 대한 동시적 기록법 등 더욱 다양한 연구기법이 적용되어야 하리라고 생각한다.

참고문헌

- 류재욱·김기석(1989). 외측망상핵의 전기자극을 조건자극으로 사용한 순막반응의 고전적 조건화. *한국심리학회지*, 8(1), 44-45.
- 문양호·김기석(1989). Kainic acid를 사용한 소뇌피질 단소엽의 손상이 고전적 순막조건화에 미치는 효과. *한국심리학회지:생물 및 생리*, 1, 1-9.
- 윤영화·김기석(1989). 하울리브 손상에 의한 순막반응의 소거효과. *한국심리학회지:생물 및 생리*, 1, 40-49.
- 이두현·김기석(1986). 순막반응에서 배경변화가 잠재적 억제에 미치는 영향. *행동과학연구*, 8, 33-43.
- Arshavsky, Y. I., Gelfand, I. M., Orlovsky, G. N., & Pavlova, G. A(1978). Message conveyed by spinocerebellar pathways during scratching in the cat. I. Activity of neurons of the lateral reticular nucleus. *Brain Research*, 151, 479-491.
- Berthier, N. E., & Moore, J. W.(1983). The nictitating membrane response: an electrophysiological study of the abducens nerve and nucleus and the accessory abducens nucleus in rabbit. *Brain Research*, 258, 201-210.
- Berthier, N. E., & Moore, J. W.(1986). Cerebellar purkinje cell activity related to the classically conditioned nictitating membrane response. *Experimental Brain Research*, 63, 341-350.
- Brown, T. H., Kairiss, E. W., & Keenan, C. L.(1990). HEBBIAN SYNAPSE: Biophysical mechanisms and algorithms. *Annual Review of Neuroscience*, 13, 475-511.
- Cegavske, C. F., Patterson, M. M., & Thompson, R.F.(1979). Neuronal unit

- activity in the abducens nucleus during classical conditioning of the nictitating membrane response in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93 (4), 595–609.
- Clark, G. A., McCormick, D. A., Lavond, D. G., Baxtery, K., Gray, W., & Thompson, R.F.(1982). Effects of electrolytic lesions of the cerebellar nuclei on conditioned behavioral and hippocampal neuronal response. *Society for Neuroscience Abstracts*, 8, 22.
- Colin, F., Manil, J., & Desclin, J. C.(1980). The olivocerebellar system. I. Delayed and slow inhibitory effects: an overlooked salient feature of cerebellar climbing fibers. *Brain Research*, 187, 3–27.
- Dolan, J. C., Shishimi, A., & Wagner, A. R.(1985). The effects of signaling the US in backward conditioning: A shift from excitatory to inhibitory learning. *Animal Learning & Behavior*, 13(3), 209–214.
- Eccles, J. C., Ito, M., & Szentagothai, J. (1967). *The Cerebellum as a Neural machine*. Springer, Berlin/Heidelberg/New York.
- Gilbert, P. F. C.(1974). A theory of memory that explains the function and structure of the cerebellum. *Brain Research*, 70, 1–18.
- Gilbert, P. F. C., & Thach, W. T.(1977). Purkinje cell activity during motor learning. *Brain research*, 128, 309–328.
- Gould, T. J., Sears, L. L., & Steinmetz, J. E.(1990). Rabbit cerebellar activity evoked by pontine nuclei or inferior olive stimulation—potential regions of CS–US convergence during eyelid conditioning. *Society for Neuroscience Abstracts*, 16, 314.18.
- Graves, C. A., & Solomon, P. R.(1985). Age-related disruption of trace but not delay classical conditioning of the rabbit's nictitating membrane response. *Behavioral Neuroscience*, 99(1), 88–96.
- Haley, D. A., Lavond, D. G., & Thompson, R.F.(1983). Effects of contralateral red nuclear lesions on retention of the classically conditioned nictitating/eyelid response. *Society for neuroscience abstracts*, 8, 643.
- Harvey, J. A., Yeo, C. H., Welsh, J. P., & Romano, A.G.(1990). Recoverable and non-recoverable deficits in conditioned responses (CRs) after cerebellar cortical lesions. *Society For Neuroscience Abstracts*, 16, 115.2.
- Heth, C. D., & Rescorla, R. A.(1973). Simultaneous and backward fear conditioning in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 82, 3, 434–443.
- Ito, M.(1972). Neural design of the cerebellar motor control system. *Brain Research*, 40, 81–84.
- Ito, M.(1989). Long-term depression. *Annual Review of Neuroscience*, 12, 85–102.
- Knowlton, B. J., Lavond, D. G., & Thompson, R. F. The effect of lesions of cerebellar cortex on retention of the classically conditioned eyeblink response when stimulation of the lateral reticular nucleus is used as the conditioned stimulus. Unpublished.
- Krupa, D. J., Tracy, J., Weiss, C., & Thompson, R. F.(1990). Single unit responses from the cerebellar cortex of naive rabbits. *Society for Neuroscience Abstracts*, 16, 314.16.
- Lavond, D. G., Hembree, T. L., &

- Thompson, R. F.(1985). Effect of kainic acid lesions of the cerebellar interpositus nucleus on eyelid conditioning in the rabbit. *Brain Research*, 326, 179-182.
- Lavond, D. G., Kanzawa, A. S., Esquenazi, V., Clark, R. E., & Zhang, A. A. (1990). Effects of cooling interpositus during acquisition of classical conditioning. *Society for Neuroscience Abstracts*, 16, 115.15.
- Lincoln, J. S., McCormick, D. A., & Thompson, R. F.(1982). Ipsilateral cerebellar lesions prevent learning of the classically conditioned nictitating membrane/eyelid response. *Brain Research*. 242, 190-193.
- Marr, D.(1969). A theory of cerebellar cortex. *Journal of Physiology*, 202, 437-470.
- McCormick, D. A., Lavond, D. G., Clark, G. A., Ketter, R. E., Rising, C. E., & Thompson, R. F.(1981). The engram found? Role at the cerebellar in classical conditioning of nictitating membrane and eyelid response. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 18, 103-105.
- McCormick, D. A., Steinmetz, J. E., & Thompson, R. F.(1985). Lesions of the inferior olivary complex cause extinction of the classically conditioned eyeblink response. *Brain Research*. 359, 120-130.
- Perrett, S. P., Ruiz, B. P., & Mauk, M. (1990). Cerebellar cortex lesions disrupt the timing of conditioned eyelid response. *Society for Neuroscience Abstracts*, 16, 115.1.
- Rescorla, R. A.(1988). Pavlovian conditioning: It's not what you think it is. *American Psychologist*, 43(3), 151-160.
- Rosenfield, M. E., Dovydaitis, A., & Moore, J. W.(1985). Brachium Conjunctivum and Rubrobulbar tract: Brain stem projections of red nucleus essential for the conditioned nictitating membrane response. *Physiology and Behavior*, 34, 751-759.
- Saladin, M. E., & Tait, R. W.(1986). US preexposures retard excitatory and facilitate inhibitory conditioning of the rabbit's nictitating membrane response. *Animal Learning and Behavior*, 14(2), 121-132.
- Saladin, M. E., Ten Have, W. N., Saper, Z. L., Labinsky, J. S., & Tait, R. W. (1989). Retardation of rabbit nictitating membrane conditioning following US preexposures depends on the distribution and number of US presentation. *Animal Learning and Behavior*, 17(2), 179-180.
- Schreurs, B. G., & Alkon, D. L.(1990). US-US conditioning of the rabbit's nictitating membrane response: Emergence of a conditioned response without alpha conditioning. *Psychobiology*, 18(3), 312-320.
- Shinkman, P. G., Swain, R. A., & Thompson, R. F.(1989). Classical conditioning in rabbits with intracerebellar electrical stimulation as the US. *Society for Neuroscience Abstracts*. 258, 4.
- Solomon, P. R., Lewis, J. L., & LoTurco, J. J.(1986). The role of the middle cerebellar peduncle in acquisition and retention of the rabbit's classically conditioned nictitating membrane response. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 24(1), 75-78.
- Solomon, P. R., & Moore, J. W.(1975). Latent inhibition and stimulus generalization of the classically conditioned

- nictitating membrane response in rabbits (*oryctolagus cuniculus*) following dorsal hippocampus ablation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 89(10), 1192–1103.
- Solomon, P. R., & Vander Schaaf, E. R. (1986). Hippocampus and trace conditioning of the rabbit's classically conditioned nictitating membrane response. *Behavioral Neuroscience*, 100, 729–744.
- Steinmetz, J. E., Rosen, D. J., Chapman, P. F., Lavond, D. G., & Thompson, R. F. (1986). Classical conditioning of the rabbit eyelid response with a mossy-fiber stimulation CS: I. Pontine nuclei and middle cerebellar peduncle stimulation. *Behavioral Neuroscience*, 100(6), 878–887.
- Tait, R. W., & Saladin, M. E. (1986). Concurrent development of excitatory and inhibitory associations during backward conditioning. *Animal Learning and Behavior*, 14(2), 133–137.
- Thompson, R. F. (1976). The search for the engram. *American Psychologist*, 31, 209–227.
- Woodruff-Pak, D. S., Lavond, D. G., & Thompson, R. F. (1985). Trace conditioning: Abolished by cerebellar nuclear lesions but not lateral cerebellar cortex aspirations. *Brain Research*, 348, 249–260.
- Yeo, C. H., & Hardiman, M. T. (1988). Loss of Conditioned response following cerebellar cortical lesion is not a performance deficit. *Society for Neuroscience Abstracts*, 4, 12.
- Yeo, C. H., Hardiman, M. J., & Glickstein, M. (1985a). Classical conditioning of the nictitating membrane response of the rabbit. I. Lesions of the cerebellar nuclei. *Experimental Brain Research*, 60, 87–98.
- Yeo, C. H., Hardiman, M. J., & Glickstein, M. (1985b). Classical conditioning of the nictitating membrane response of the rabbit. II. Lesions of the cerebellar cortex. *Experimental Brain Research*, 60, 99–113.
- Yeo, C. H., Hardiman, M. J., & Glickstein, M. (1985c). Classical conditioning of the nictitating membrane response of the rabbit. III. Connections of cerebellar lobule HVI. *Experimental Brain Research*, 60, 114–126.
- Yeo, C. H., Hardiman, M. J., & Glickstein, M. (1986). Classical conditioning of the nictitating membrane response of the rabbit. IV. Lesions of the inferior olive. *Experimental Brain Research*, 63, 81–92.
- Zhang, A. A., Clark, R. E., & Lavond, D. G. (1990). Cooling cerebellar HVI lobule does not abolish conditioned responses. *Society for Neuroscience Abstracts*, 16, 16.

Function of Cerebellar Lobule HVI in the Classical Conditioning of the Rabbit's Nictitating Membrane Response

Hyun-Taek Kim, Jae-Wook Ryou and Ki-Suk Kim

Korea University

The cerebellar lobule HVI was investigated in terms of plastic structure mediating the classical conditioning of the rabbit's nictitating membrane response(NMR). In experiment 1, animals were received tone stimulus(80dB, 1kHz, sine wave, without white noise) continually during the intertrial interval(ITI). The tone stimulus was turned off during the CS period. This withdrawal of tone stimulus was adopted as \overline{CS} . Animals received the \overline{CS} and corneal airpuff US pairings in delay conditioning paradigm rapidly reached criterion like animals received CS-US pairings. Moreover, the electrolytic lesions of the interpositus nucleus selectively disrupted the CR aquired by \overline{CS} -US pairings. The result suggests that this type of conditioning is mediated by the cerebellum as well and the cerebellum can associate the changes of stimuli itself. In addition, there was no transfer effect between \overline{CS} -US and CS-US learning. The findings are discussed in terms of the convergence of the climbing and the mossy fibers on the Purkinje cells and the associative functions of the cerebellar neural network. In experiment 2, the long ISI was adopted(800msec CS duration, delay conditioning paradigm) in order to investigate the timing regulation function of the cerebellar cortex on motor learning. After the NMR conditioning(\overline{CS} -US, group1 and CS-US, group2) reached the criterion, the cerebellar lobule HVI was electrolytically lesioned with four electrodes. The result showed that the CR was reduced about 50% in both groups and the effects were due to the disruption of timing regulation of the CR onset. Results indicated that the cerebellar lobule HVI is essential for the timing regulation of the CR onset. However, to understand the detailed neural mechanism of the conditioning of NMR, it was suggested that neural network approach including several structures resided in the cerebellum and in the brain stem(specially inferior olive) is more desirable than finding only one essential structure approach.