

2006년 8월

석사학위논문

지속적인 알코올 섭취가 흰쥐
시상하부의 뇌실결핵 및 시각위핵에
분포하는 vasopressin과 oxytocin
함유 신경세포에 미치는 영향

조선대학교 대학원

의학과

천관영

지속적인 알코올 섭취가 흰쥐
시상하부의 뇌실결핵 및 시각위핵에
분포하는 vasopressin과 oxytocin
함유 신경세포에 미치는 영향

Effect of chronic alcohol intake on vasopressin and
oxytocin-containing neurons in the paraventricular and
supraoptic nucleus of the rat hypothalamus

2006 년 8 월 일

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

천 관 영

지속적인 알코올 섭취가 흰쥐
시상하부의 뇌실결핵 및 시각위핵에
분포하는 vasopressin과 oxytocin
함유 신경세포에 미치는 영향

지도교수 정윤영

이 논문을 의학 석사학위신청 논문으로 제출함

2006 4월 일

조선대학교 대학원

의학과

천관영

목 차

도 목 차

ABSTRACT

서	론	1				
실	험재	료 및	방	법	3	
결	과	5				
고	찰	7				
참	고	문	헌	10		
사	진	부	도	설	명	14
사	진	부	도	16		

도 목 차

- Fig. 1. Photomicrographs of vasopressin-containing neurons in paraventricular nucleus of hypothalamus. ————— 18
- Fig. 2. Photomicrographs of vasopressin-containing neurons in supraoptic nucleus of hypothalamus. ————— 19
- Fig. 3. Graphic representation of the total number of vasopressin-containing neurons estimated from the paraventricular and supraoptic nucleus of control and alcohol group. ————— 20
- Fig. 4. Photomicrographs of oxytocin-containing neurons in paraventricular and supraoptic nucleus of hypothalamus. ————— 21
- Fig. 5. Graphic representation of the total number of oxytocin-containing neurons estimated from the paraventricular and supraoptic nucleus of control and alcohol group ————— 22

ABSTRACT

Effect of chronic alcohol intake on vasopressin and oxytocin-containing neurons in the paraventricular and supraoptic nucleus of the rat hypothalamus

Cheon, Kwan-Young

Advisor: Prof. Chung, Yoon-Young, M.D., Ph.D.

Department of Medicine

Graduate School of Chosun University

Chronic alcohol intake can profoundly modify the neuronal activity and the morphologic structure of hypothalamic nucleus in the rat brain. The aim of the present study is to observe the effects of chronic alcohol intake on expression of vasopressin and oxytocin in the paraventricular and supraoptic nucleus in the rat hypothalamus. Experimental rats (n=14) were divided into control group and chronic alcohol group. Chronic alcohol group was induced via daily liquid alcohol intake for 28 weeks beginning at 10 weeks of age.

As a result, the number of vasopressin and oxytocin-containing neurons was decreased in the paraventricular and supraoptic nucleus in chronic alcohol group. Especially, the number of vasopressin-containing neurons of chronic alcohol group was significantly decreased in the paraventricular nucleus. Chronic alcohol intake produced significant variations in the volume of the cell body and its nucleus in neurons of the paraventricular and supraoptic nucleus. Particularly, the size of nucleus of vasopressin-containing neurons in chronic alcohol group was

larger than in control group.

These results show that chronic alcohol intake may affect the synthesis of vasopressin and oxytocin in the neurons of hypothalamic nuclei. Whereas, chronic alcohol intake induces an enlargement of the cell size of surviving neuron to compensate.

서 론

시상하부(hypothalamus)는 사이뇌의 앞쪽 끝부분에 위치하고 많은 핵들로 나뉘어져 있으며 자율신경계 및 내분비계통과 관련된 호르몬체계에 연결될 뿐만 아니라 체온, 식욕, 하루주기행동(circadian behavior), 수면, 성에 관련된 다양한 기능을 조절하는 아주 중요한 구조이다. 시상하부의 신경세포들은 주로 펩티드 호르몬을 분비한다(Sawcenko 등, 1984).

Vasopressin(VP)과 oxytocin(OXT)은 시상하부에서 분비되는 펩티드의 일종으로서, 주로 시상하부내의 시각위핵(supraoptic nucleus; SON)과 방실결핵(paraventricular nucleus; PVN), 시교차상핵(suprachiasmatic nucleus; SCN) 등의 신경핵에서 주로 합성된 후 시상하부-뇌하수체 연결로(hypothalamo-hypophyseal tract)인 정중용기와 깔대기를 거쳐 깔대기용기(infundibular process)로 내려와 뇌하수체 뒤엽까지 도달하여 신경계통 및 내분비계통과 관련된 두 가지 기능을 수행하게 된다(Hatton 등, 1990).

VP는 주로 작은 혈관벽의 평활근을 수축시킴으로써 혈압을 상승시키고 신장의 먼쪽곱슬세관(distal convoluted tubules)의 수분 재흡수를 촉진시킴으로서 항이뇨 호르몬 작용을 가지며, 신경전달물질로서의 VP는 습득, 기억, 감정, 행동 등의 신경성 기능과 다양한 자율신경과 연관된 기능을 조절한다(Kovacs 등, 1994; Landgraf 등, 1995; Young 등, 1998). 특히 SCN에서 생산된 VP는 PVN과 뒤안쪽핵에 투사하여 adenocorticotropin(ACTH)와 corticosterone 분비의 하루 주기(daily rhythm), 운동활성(locomotor activity)의 24시간 주기형식과 수분 섭취의 24시간의 일간리듬(circadian rhythm)에 영향을 미친다(Antoni 등, 1993; Aguilera 등, 1994).

OXT는 주로 수유 중 젖분비, 분만 후 자궁 수축, 심장혈관과 체액항상성(body fluid homeostasis) 조절에 관여하는 것 이외에도 무통증(analgesia), 스트레스, 성적행동, 습득, 사회적행동 등에 많은 작용을 한다(Gimpl 등, 2001; Raggenbass 등, 2001).

PVN과 SON은 PV와 OXT 외에도 여러 가지 펩티드를 분비하고, 행동과 불수의 기능을 담당한다. SON의 세포구성은 큰세포부분으로만 구성된 것에 비해 PVN은 다양한 신경펩티드를 분비하는 작은세포부분도 함께 포함하고 있으며 (Ceccatelli 등, 1989, Pirnik 등, 2004), 정상적인 상태에서 PVN과 SON의 큰 세포부분은 주로 VP와 OXT를 합성하여 분비한다.

알코올은 시상하부에서 신경세포(neurons)의 단백질 합성과 신경세포활성을 조절하는 체계에 직접적인 영향을 미칠 뿐 아니라, 발달을 지연시키고 구조와 기능을 변화시킬 수 있다(Madeira 등, 1999; Zhou 등, 2001). 특히, 지속적인 알코올섭취(chronic alcohol intake)는 신경세포의 크기, 신경세포연접, 세포 소기관 등의 변화와 신경세포의 손실을 초래하여 형태학적 변화를 유도하며 (Cadete-Leite 등, 1989; Lescaudron 등, 1989), 지속적인 알코올 섭취에 의해 파괴되거나 변형된 구조는 더 이상 회복할 수 없게 된다(Silvia 등, 2002 a, b). 또한 시상하부에서 신경펩티드를 분비하는 신경세포들의 활성은 지속적인 알코올섭취에 의해 억제되고 세포 수도 감소하기 때문에 여러 가지 펩티드의 합성이 저해된다. 특히, VP와 OXT이 알코올에 의한 변화가 쉽게 나타나기 때문에 많이 연구되고 있다(Maderia 등, 1999).

알코올에 의해 다양한 기본생활주기가 파괴되고 하루주기행동(circadian behavior)의 주간리듬(diurnal rhythm)이 변화되는 것은 시상하부에서 분비되는 펩티드의 변화와 밀접한 관련이 있을 것으로 생각된다. 따라서 본 연구는 정상적인 흰쥐에 오랜 기간 동안 알코올을 섭취시킨 후 시상하부펩티드인 vasopressin과 oxytocin-함유 신경세포의 분포양상을 PVN과 SON에서 확인하고 변화양상을 관찰하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물과 실험군

약 8주령 (220-250mg)의 Sprague-Dawley을 각각 7마리씩 분류한 다음 알코올 군은 시중에서 판매되는 30 % 알코올을 약 6개월간 매일 물 대신 섭취하게 하였으며, 정상군은 물과 먹이를 자유롭게 섭취하게 하였다.

2. 조직처리

약 6 개월 후에 각각의 실험군의 흰쥐들은 pentobarbital sodium (60mg/kg)을 복막안에 주사하거나 에테르로 마취시켰다. 그 후 가슴안을 열고 원심실에 관류용 도관을 삽입한 후, heparin (250unit/ml)을 함유한 생리식염수로 관류 세척하고 0.1 M phosphate buffer (PB, pH 7.4)에 녹인 4 % paraformaldehyde 용액이나 Zamboni 고정액으로 관류 고정한 다음 뇌를 적출하여 동일한 고정액에 담가 4 °C에서 12시간동안 후고정을 하였다. Free-floating 방법으로 면역조직화학염색을 시행하기 위해 고정된 뇌 조직은 후고정한 다음에 30 % sucrose 에 넣고 24시간 이상 침적시킨 후 꺼내어 동결절편기를 이용해 35 μ m 두께의 연속관상 동결절편을 제작하여 저장용액에 담아 4 °C에 보관하였다.

3. 면역조직화학염색

저장액에 보관한 조직절편을 매 5장마다 1장씩을 취하여 0.1 M PB로 옮겨서 수차례 수세한 후 과산화수소 (H_2O_2)를 처리하여 내인성 과산화효소의 활성을 억제하였으며 다시 0.1 M PB로 세척한 후 면역조직화학반응을 실시하였다.

면역염색의 첫 단계로 비특이적 반응을 줄이기 위하여 3 % 염소혈청 (normal goat serum)을 실온에서 1시간 반응시켰다. 1차 항체는 rabbit anti-vasopressin (1:500, Biogenesis)과 rabbit anti-oxytocin을 사용하여 4 °C에서 24~48 시간 동안 진동시키면서 반응시켰다. 그 후 0.1 M PB로 10분씩 3회 수세 과정을 거쳤으며, 2차 항체는 biotinylated goat anti-rabbit IgG

(Vector, 1:200)를 실온에서 1 시간 반응시킨 후, 0.1 M PB로 10분씩 3회 수세하였다. 그리고 peroxidase가 표지된 avidin-biotin complex (ABC, Vector)를 1:100으로 희석하여 실온에서 1 시간 가량 반응시킨 후, 0.1 M PB로 10 분간 다시 3회 수세하고 나서 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB, Sigma)를 tris-buffered saline (TBS)에 녹여 기질용액으로 사용하였는데 반응 직전에 H₂O₂를 0.003 %가 되도록 첨가하였으며, 실온에서 5-10 분간 반응시킨 후 현미경하에서 발색 정도를 확인하였다. 그 후 TBS로 2~3회 세척한 후 염색한 조직절편들을 젤라틴이 피막된 슬라이드에 부착하여 실온에서 12 시간 이상 건조한 다음, 통상의 조직처리 과정을 거쳐 polymount (Polyscience)로 봉입하여 광학현미경으로 비교·관찰하였다.

4. 통계처리

통계처리는 비슷한 부위의 5개의 조직절편(400²μm)에서 관찰된 VP- 와 OXT- 함유 신경세포의 수를 각각 측정하여 평균화하고 두 군의 비교는 T-test를 이용하였다.

결 과

본 연구의 결과는 광학현미경을 이용하여 200배와 400배로 관찰하였고 VP-와 OXY-함유 신경세포는 시상하부의 PVN과 SON에서 집중적으로 관찰할 수 있었으며 그 외 SCN과 accessory nucleus에서도 적은 수의 양성세포들을 확인할 수 있었다. 관찰된 VP와 OXY 함유 신경세포는 세포 수와 세포체의 양상 등을 주로 비교, 관찰하였다.

1. VP-함유 신경세포의 분포와 양상

우선 정상군의 PVN에서 관찰된 VP 양성반응은 magnocellular neuron과 parvocellular neuron에 모두 나타났으나 VP-함유 신경세포의 세포체는 알코올군에 비해 미약하게 염색되었으며(Fig. 1-A, C), 알코올군의 VP-함유 신경세포는 정상군에 비해 그 세포체가 더 커지고 세포핵도 팽대되었다. 뚜렷하게 나타난 돌기를 가진 세포 또한 정상군에 비해 더 많이 나타났다.(Fig. 1-B, D). 그러나 PVN에서 관찰된 VP-함유 신경세포의 수를 세어서 정상군과 알코올군을 비교한 결과 알코올군의 VP-함유 신경세포의 수가 정상군에 비해 약 30% 정도 적게 나타났다(Fig. 3).

SON에서의 VP-함유 신경세포는 PVN에서 관찰된 것과는 약간 다르게 염색강도가 거의 비슷하게 나타났으며(Fig. 2-A,B), 세포체의 크기는 PVN에서 관찰된 것보다는 많은 차이는 나타나지 않았지만 정상군에 비해 알코올군에서 약간 더 크게 나타났다(Fig. 2-C, D). VP-함유 신경세포의 수를 비교한 결과는 알코올군에 비해 정상군이 좀 더 많은 세포수를 나타냈지만 PVN에서 관찰된 것만큼의 차이는 나타나지 않았다(Fig. 3).

2. OXT-함유 신경세포의 분포와 양상

관찰된 OXT-함유 신경세포의 염색강도는 VP-함유 신경세포보다 훨씬 강하게 염색되었다. PVN에서 OXT-함유 신경세포의 염색강도나 세포체 크기를 200배로

관찰했을 때는 정상군과 알코올군에서 큰 차이가 나타나지 않는 것처럼 보이지만, paraventricular lateral magnocell(PaLM) 핵군의 형태가 정상군과 다르게 가쪽에서 OXT 함유 신경세포들이 걸쳐되어 있음이 관찰되었다(Fig. 4-A, B). 400배로 관찰한 결과, 세포체 크기의 차이는 나타나지 않았지만 정상군이 알코올군에 비해 염색강도가 더 높게 나타났다(Fig. 4-C, D). 그리고 PVN에서 OXT-함유 신경세포의 수를 비교한 결과, 정상군이 알코올군에 비해 더 많이 분포되어 있음을 확인하였다(fig. 5). SON에서의 OXT-함유 신경세포의 변화는 정상군과 알코올군이 모두 비슷한 양상을 나타냈으며(Fig. 4-E, F), 숫자적으로도 큰 차이는 나타나지 않았다(Fig. 5).

고 찰

본 연구에서 지속적인 알코올 섭취는 시상하부펩티드인 VP와 OXT를 함유하는 신경세포들이 PVN에서 감소되었고 살아있는 신경세포의 세포체 부피가 증가한 것으로 보아 대사활성이 활발해짐을 확인하였으며, 이러한 변화는 다른 보고들과도 상응한다(Silva 등, 2002; Madeira 등, 1993 a). 그리고 정상군과 알코올군의 차이점은 OXT의 발현보다는 VP의 발현이 큰세포부분에서 두드러지게 나타났으며 다른 보고와 같이 SON에서도 유사한 결과를 관찰할 수 있었다. PVN의 PaLM 부위에서 큰세포부분의 손상을 가짐에도 불구하고 알코올군에서는 세포체들의 부피가 팽대되었다. 본 실험에서 관찰한 VP 함유신경세포는 알코올에 의해 뚜렷한 신경세포체의 부피의 증가를 나타냈으며 그 세포들의 팽대된 핵도 동시에 관찰되었다. VP 함유신경세포보다는 OXT 함유신경세포에서 증가율이 다소 작게 나타났다. 이는 큰세포부분의 세포체 크기와 그들의 핵소체, 핵, 단백질 합성을 하는 세포소기관의 부피가 동시에 증가되기 때문이며, 이러한 현상은 정상적인 성장, 탈수, 삼투현상의 불균형에 따른 호르몬 수요량이 증가된 경우에 관찰되는 것과 일치한다(Medeira 등, 1993 b; Zhang 등, 2001).

이러한 신경세포의 비후현상은 위에 언급한 것처럼 단백질 합성을 수반하는 세포소기관의 팽대를 의미하며 펩티드의 증가된 양을 합성한다고 보고되고 있다(Medeira 등, 1993 b; Ruela 등, 1994). Silva 등(2002 b)은 지속적인 알코올 처리를 한 결과, VP 와 OXT mRNA 수준이 증가됨을 보고하였으며 본 연구에서 관찰된 결과는 위와 같은 가능성을 지지한다.

일반적으로 알코올에 의한 신경펩티드에 대한 연구는 다량의 연구보고에도 불구하고 정보의 일치성과 정확성에서 많은 차이가 난다. 또한 알코올의 작용은 시상하부에서 신경세포의 단백질 합성과 신경세포활성을 조절하는 체계를 방해하고(Madeira 등, 1999; Zhou 등, 2001), 신경세포의 크기, 신경세포연접, 세포소기관 등의 변화와 신경세포의 손실을 초래하여 형태학적 변화를 유도하는(Cadete-Leite 등, 1989; Lescaudron 등, 1989)등과 같은 몇 가지 특징적인

효과를 나타냈지만 현재에는 일부의 반론이 제기되기도 하였다. 이는 알코올에 대한 연구는 연구자들에 의한 실험조건의 단일화가 이루어지지 않고 있기 때문이다. 예를 들면, 알코올의 투여방법, 기간, 실험동물들에 따른 차이는 결과의 차이를 크게 만들므로 실험에 대한 기본적 조건이 형성되어야 한다고 판단된다.

시상하부의 PVN과 SON은 VP와 OXT와 같은 여러 가지 펩티드를 분비하고, 행동과 불수의기능을 담당한다. SON은 magnocellular neuron으로만 구성된 것에 비해 PVN은 다양한 신경펩티드를 분비하는 parvocellular neuron도 함께 포함하고 있다(Ceccatelli 등, 1989, Pirnik 등, 2004). PVN과 SON의 큰세포부분이 정상적인 상태에서는 VP와 OT를 합성하여 분비하고 큰세포부분 중 VP함유신경세포는 체액과 전해질의 항상성 유지에 주로 관여하며 OXT함유신경세포는 분만, 젖분비와 스트레스 반응에 관여한다.

그리고 OXT의 활성은 만삭이거나 수유중인 암컷 쥐에서 그 활성이 두드러지게 나타나기 때문에 OXT 분비의 조절은 주로 암컷에서만 한정되어 설명되어졌다. 그러나 수컷에서의 OXT 신경세포의 연구는 암컷에서 설명되어지지 않는 기초적인 특성과 여러 생리적 조건에서 OXT의 광범위한 활성을 완벽하게 설명하기 위한 필수적인 과정이다(Wang 등 2005).

시상하부펩티드를 합성하는 신경세포의 활성에 대한 알코올의 효과는 투여기간이나 신경전달물질이나 신경호르몬으로서의 기능적 특성과 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다.

신경전달물질로서의 시상하부펩티드는 급성으로 알코올에 노출된 경우에는 뚜렷한 변화가 나타나지 않고(Rivier 등, 1996; Ogilvie 등, 1997) 오히려 활성화된다. 그러나 오랜 기간 동안 알코올에 노출된 경우는 여러가지 영향을 받게 된다. 단기간 알코올섭취 후에 나타나는 펩티드 합성의 감소(Gulya 등, 1991; Gulya 등, 1993)는 장기간 알코올섭취에서는 더 확실히 나타난다(Madeira 등, 1993a; Ruela 등, 1994). 게다가 알코올로 인한 펩티드 합성과 발현의 변화는 알코올 금단 후에 복구되지 않는 것으로 보고되었다(Madeira

등, 1997).

신경호르몬으로서 시상하부펩티드에서, 수분대사에 관여하는 큰세포부분의 신경세포는 급성 알코올섭취와 장기간 알코올섭취 후에 증진되나 단기간 알코올섭취에서는 확연히 감소된다. 이러한 신경퇴행적인 변화는 일시적인 신경세포 손실을 보상하기 위해 살아있는 세포가 활성화되는데 장기간 알코올섭취 후에 그 양상이 뚜렷하게 관찰된다고 보고되었다(Madeira 등, 1993a, Ruela 등 1994). 이러한 현상은 탈수현상에 의한 결과와 비슷한 것으로 보아 알코올 섭취는 수분섭취를 방해하는 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합해보면, 지속적인 알코올섭취에 의해 VP와 OXT함유 신경세포의 수가 감소하였고 특히, VP함유 신경세포가 OXT함유 신경세포에서보다 세포감소율이 높았다. 또한 관찰한 VP함유 신경세포는 알코올에 의해 뚜렷한 신경세포체의 부피의 증가를 나타냈으며 그 세포들의 팽대된 핵도 동시에 관찰되었다. OXT함유 신경세포에서는 큰 차이는 없었지만 비후된 세포핵을 관찰할 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 지속적인 알코올섭취로 인해 VP와 OXT함유 신경세포들의 수가 감소되었으나 살아있는 신경세포의 세포체 부피가 증가한 것으로 보아 이 세포들의 대사활성이 활발해져 알코올로 인해 손실된 신경세포에 보상작용이 어느정도 이루어질 것으로 생각된다.

Reference

- Aguilera G, "Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress." *Front. Neuroendocrinol.* **15**:321-350, 1994.
- Antoni FA, "Vasopressinergic control of pituitary adrenocorticotropin secretion comes of age." *Front. Neuroendocrinol.* **14**:76-122, 1993.
- Cadete-Leite A, Tavares MA, Pacheco MM, Volk B, Paula-Barbosa MM, "Hippocampal mossy fiber synapses after chronic alcohol consumption and withdrawal." *Alcohol* **6**:303-310, 1989.
- Ceccatelli S, Eriksson M, Hokfelt T, "Distribution and coexistence of corticotropin-releasing factor-, neurotensin-, enkephalin-, cholecystokinin-, galanin-, and vasoactive intestinal polypeptide/peptide histidine isoleucine-likepeptides in the parvicellular part of the paraventricular nucleus." *Neuroendocrinology* **49**:309-323, 1989.
- Gulya K, Dave JR, Hoffman PL, "Chronic ethanol ingestion decreases vasopressin mRNA in hypothalamic and extrahypothalamic nuclei of mouse brain." *Brain Res.* **557**:129-135, 1991.
- Gulya K, Orpana AK, Sikela JM, Hoffman PL, "Prodynorphin and vasopressin mRNA levels are differentially affected by chronic ethanol ingestion in the mouse." *Mol. Brain Res.* **20**:1-8, 1993.
- Gimpl G, Fahrenholz F, "The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation." *Physiol. Rev.* **81**:629-683, 2001.
- Hatton GI, "Emerging concepts of structure-function dynamics in adult brain: the hypothalamo-neuronhypophysial system." *Prog. Neurobiology* **34**:437-503, 1990.
- Kovacs GL, de Wied D, "Peptidergic modulation of learning and memory processes." *Pharmacol. Rev.* **46**:269-291, 1994.

- Landgraf R, "Intracerebrally vasopressin and oxytocin: Measurement, mechanisms and behavioural consequences." *J. Neuroendocrinol.* **7**:243-253, 1995.
- Lescaudron L, Jaffard R, Verna A, "Modifications in number and morphology of dendritic spines resulting from chronic ethanol consumption and withdrawal: A golgi study in the mouse anterior and posterior hippocampus." *Exp. Neurol.* **106**:156-163, 1989.
- Madeira MD and Paula-Barbosa MM, "Effects of alcohol on the synthesis and expression of hypothalamic peptides." *Brain Res. Bulletin.* **48**:3-22, 1999.
- Madeira MD, Andrade JP, Lieberman AR, Almeida OFX, Sousa N, Paula-Barbosa MM, "Chronic alcohol consumption and withdrawal do not induce cell death in the suprachiasmatic nucleus, but lead to irreversible depression of peptide immunoreactivity and mRNA." *J. Neuroscience* **17**:302-1319, 1997.
- Madeira MD, Sousa N, Lieberman AR, Paula-Barbosa MM, "Effects of chronic alcohol consumption and of dehydration on the supraoptic nucleus of adult male and female rats." *Neuroscience* **56**:657-672, 1993a.
- Madeira MD, Sousa N, Cadete-Leite A, Lieberman AR, Paula-Barbosa MM, "The supraoptic nucleus of the adult rat hypothalamus displays marked sexual dimorphism which is dependent on body weight." *Neuroscience* **52**:497-513, 1993b.
- Ogilvie KM, Lee S, Rivier C, "Role of arginine vasopressin and corticotropin-releasing factor in mediating alcohol-induced adrenocorticotropin and vasopressin secretion in male rats bearing lesions of the paraventricular nuclei." *Brain Res.* **744**:83-95, 1997.

- Pirnik Z, Mravec B, Kiss A, "Fos protein expression in mouse hypothalamic paraventricular and supraoptic nucleus upon osmotic stimulus: colocalization with vasopressin, oxytocin, and tyrosine hydroxylase." *Neurochemistry international* **45**:597-607, 2004.
- Ragenbass M, "Vasopressin- and oxytocin-induced activity in the central nervous system : electrophysiological studies using in-vitro systems." *Prog. Neurobiol.* **64**:307-326, 2001.
- Rivier C, Lee S, "Acute alcohol administration stimulates the activity of hypothalamic neurons that express corticotropin-releasing factor and vasopressin ." *Brain Res.* **726**:1-10, 1996.
- Ruela C, Sousa N, Madeira MD, Paula-Barbosa MM, "Stereological study of the structural changes induced by chronic alcohol consumption and dehydration in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamus." *J. Neurocytol.* **23**:410-412, 1994.
- Sawchenko PE, Swanson LW, Vale WW, "Co-expression of corticotropin releasing factor and vasopressin immunoreactivity in parvocellular neurosecretory neurons of the adrenalectomized rat." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**:1883-1887, 1984.
- Silvia SM, Madeira MD, Ruela C, Paula-Barbosa MM, "Prolonged alcohol intake leads to irreversible loss of vasopressin and oxytocin neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus." *Brain Res.* **925**:76-88, 2002a.
- Silvia SM, Paula-Barbosa MM, Madeira MD, "Prolonged alcohol intake leads to irreversible depression of corticotropin-releasing hormone and vasopressin immunoreactivity and mRNA levels in the parvocellular neurons of the paraventricular nucleus." *Brain Res.* **954**:82-93, 2002b.

- Wang YF, Hatton GI, "Burst firing of oxytocin neurons in male rat hypothalamic slices." *Brain Res.* **1032**:36-43, 2005.
- Young LJ, Wang Z, Insel TR, "Neuroendocrine basis of monogamy." *Trends Neurosci.* **21**:71-75, 1998.
- Zhang B, Glasgow E, Murase T, Verbalis JG, Gainer H, "Chronic hyposmolality induces a selective decrease in magnocellular neurons soma and nuclear size in the rat hypothalamic supraoptic nucleus." *J. Neuroendocrinology* **13**:29-38, 2001.
- Zhou FC, Sari Y, Zhang JK, Goodlett CR, Li TK, "Prenatal alcohol exposure retards the migration and development of serotonin neurons in fetal C57BL mice." *Brain Res. Del.* **126**:147-155, 2001.

사진부도 설명

Figure 1. Photomicrographs of vasopressin-containing neurons in paraventricular nucleus of hypothalamus. Control group(A, C); alcohol group(B, D). LM; Lateral magnocell, DC; Dorsomedial cap, PM; Medialparvocell. The size of neuronal cell body is larger in chronic alcohol-intake group than in the control group. The density of immunoreactivity neurons is stronger in the Chronic alcohol-intake group than in the control group. scale bars=50 μ m.

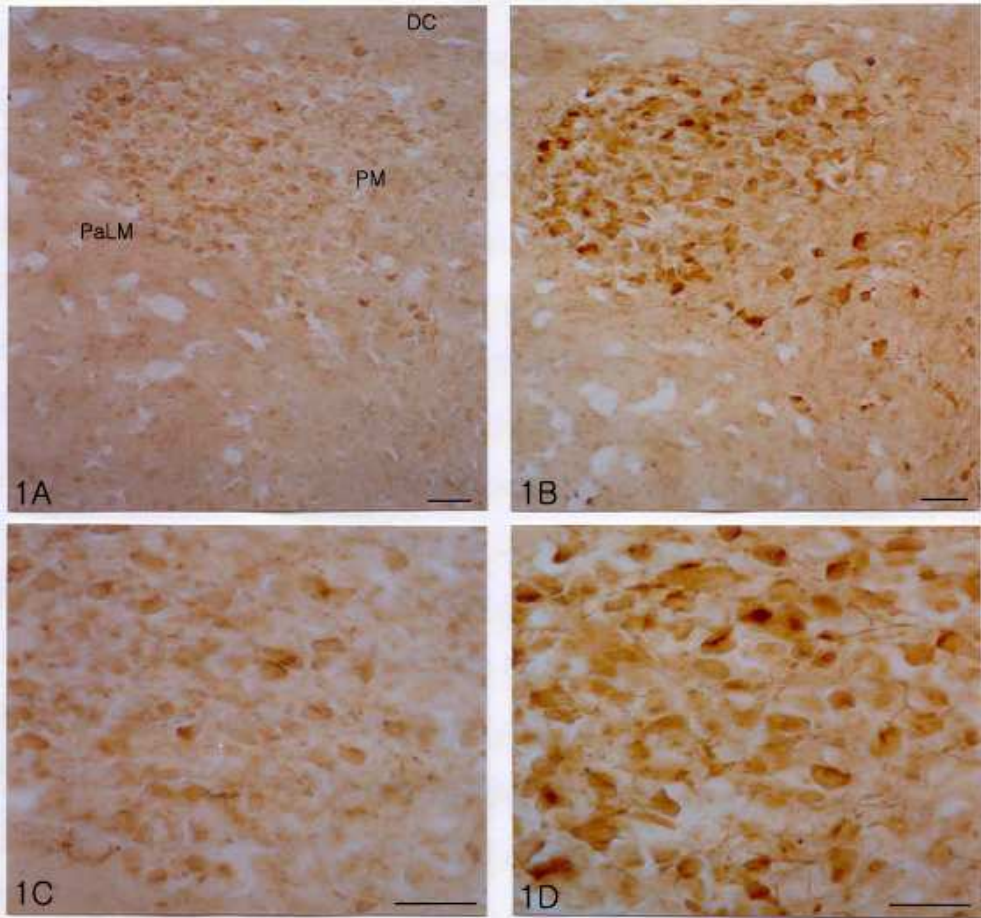
Figure 2. Photomicrographs of vasopressin-containing neurons in supraoptic nucleus of hypothalamus. Control group(A, C); alcohol group(B, D). The size of neuronal cell bodies is larger in the chronic alcohol-intake group than in the control group. scale bars=50 μ m.

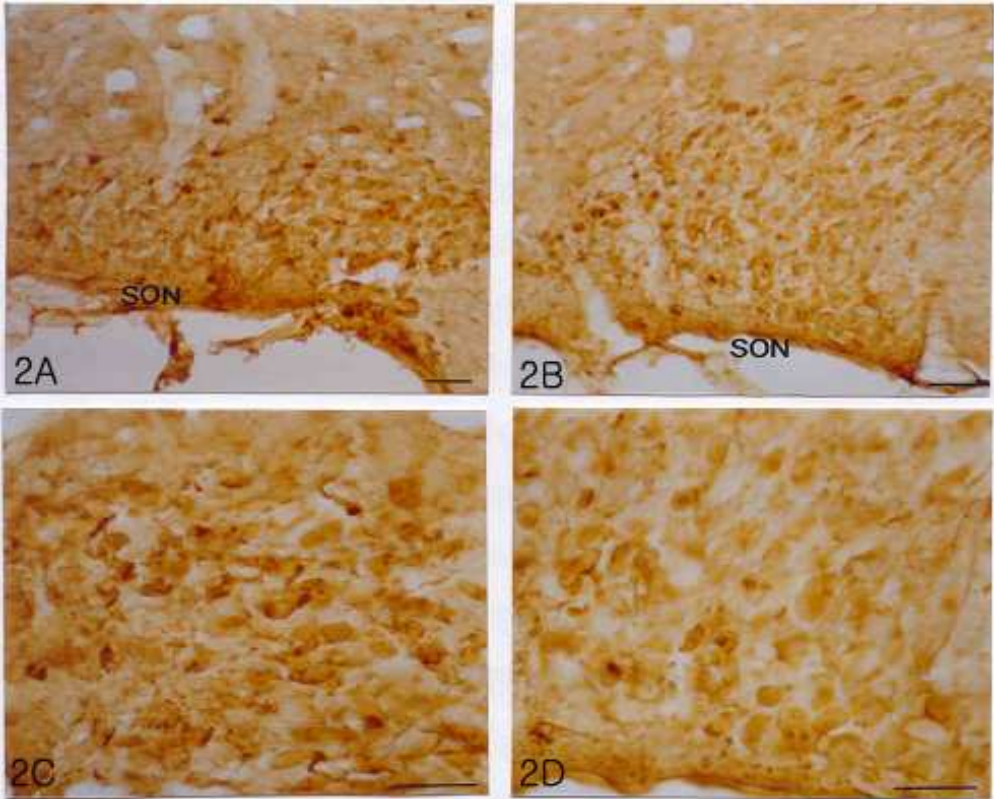
Figure 3. Graphic representation of the total number of vasopressin-containing neurons estimated from the paraventricular and supraoptic nucleus of control and alcohol group. The total number of vasopressin-containing neurons in the PaLM is significantly smaller in the chronic alcohol-intaked rat than in the control rat. No prominent difference of oxytocin-containing neurons of supraoptic nucleus between two groups. T-test: *P <0.05, **P \leq 0.005 compared with control rats.

Figure 4. Photomicrographs of oxytocin-containing neurons in paraventricular and supraoptic nucleus of hypothalamus. Control group(A, C, E); alcohol group(B, D, H). LM; Lateral magnocell, DC; Dorsomedial cap, PM; Medialparvocell, SON; Supraoptic nucleus. Neuronal size of oxytocin-containing neurons is similar to in the chronic alcohol-intake group and control group. The number of

oxytocin-containing neurons were prominent decreased in chronic alcohol-intake group. No significant difference of oxytocin-containing neurons of supraoptic nucleus between two groups.

Figure 5. Graphic representation of the total number of oxytocin-containing neurons estimated from the paraventricular and supraoptic nucleus of control and alcohol group. The total number of oxytocin-containing neurons in PALM is significant smaller in the chronic alcohol-intake group than in the control group. T-test : *P <0.05 compared with control rats.





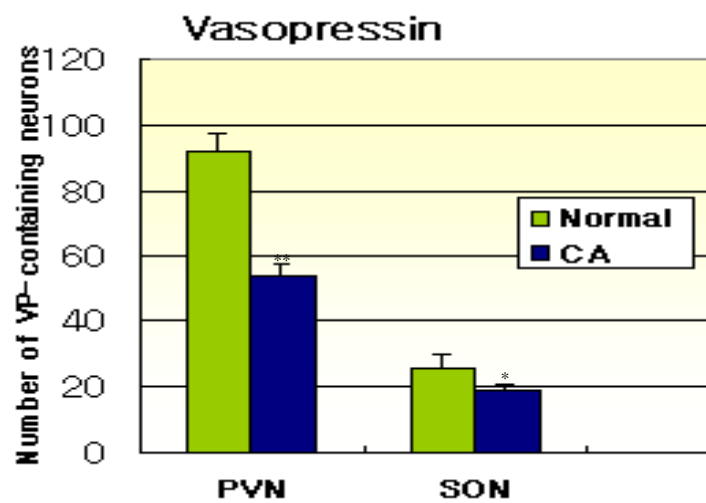
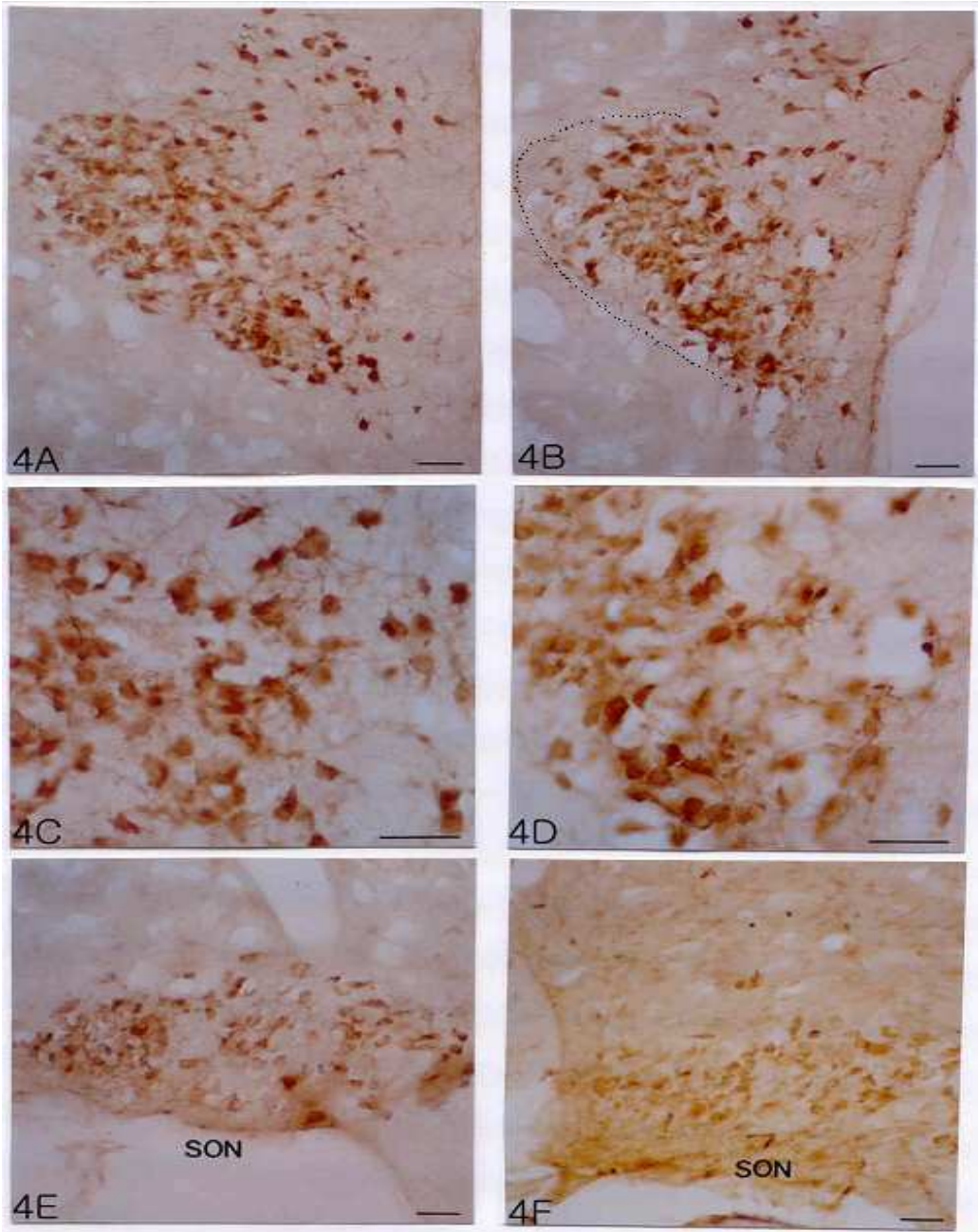


Figure. 3



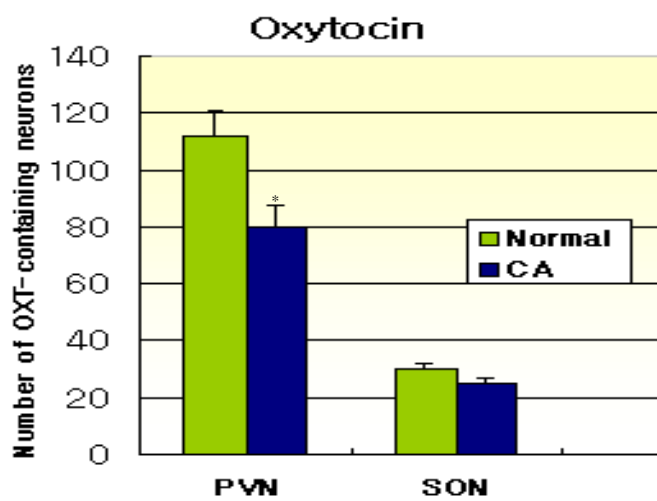


Figure. 5