



2008년 2월

석사학위논문

노화흰쥐의 해마에서 Parvalbumin과 Calbindin-D28K의 면역반응세포에 관한 형태학적 연구

조선대학교 대학원 의학과 박 근 용

노화흰쥐의 해마에서 Parvalbumin과 Calbindin-D28K의 면역반응세포에 관한 형태학적 연구

Morphological Studies on the Parvalbumin and Calbindin-D28K Immunoreactive Neurons in the Hippocampus of the Aged Rats



노화흰쥐의 해마에서 Parvalbumin과 Calbindin-D28K의 면역반응세포에 관한 형태학적 연구

지도교수 김 종 중

이 논문을 의학석사학위 신청 논문으로 제출함.

2007년 10월 일

조선대학교 대학원

의 학 과

박 근 용

박근용의 석사학위논문을 인준함

- 위원장 조선대학교 교수 인
- 위 원 조선대학교 교수 인
- 위 원 조선대학교 교수 인

2007년 11월 일

조선대학교 대학원

도 목 차 ABSTRACT 서 론 ----- 1 실험재료 및 방법 ----- 4 과 ----- 6 결 찰 ----- 8 고 론 ----- 11 결 참 고 문 헌 ----- 12 Legends for Figures -----18 Figures ----- 19

목

차

도 목 차

Fig.	1.	Photomicrographs	of	Parvalbumin-immunoreactive neuro	ons	in
h	ippoca	ampus of the rats(>	× 100))		19
Fig.	2.	Photomicrographs ampus of the rats(>	of <200	Parvalbumin-immunoreactive neuro	ons 	in 20
Fig.	3.	Photomicrographs o	f Ca	albindin D28k-immunoreactive neur	ons	in
h	ppoca	ampus of the rats(>	× 100))		21
Fig.	4.	Photomicrographs o ampus of the rat(×	f Ca 200)	albindin D28k-immunoreactive neur	ons	in 22

ABSTRACT

Morphological Studies on the Parvalbumin and Calbindin-D28K Immunoreactive Neurons in the Hippocampus of the Aged Rats

Keun-Yong Park Advisor: Prof. Kim, Jong-Joong, Ph.D. Department of Medicine Graduate School of Chosun University

Aging of the Hippocampus has been characterized by degenerative changes of fiber connections and cell loss and involved memory impairment. Aging leads to alternation in activity of Parvalbumin(PV) and Calbindin-D28k(CB) expressing in the brain of the rats. Two of calcium binding proteins PV and CB are, widely expressed in the adult central nervous system(CNS). The aim of the present study is, therefore, to investigate possible changes in the number and morphology of PV and CB-immunoreactive neurons with aging in each area of the hippocampus of the aged rats.

The number and density of PV-immunoreactive neurons was decreased in the hippocampus in the aged group when compared with the young group. But, the number of PV-immunoreactive neurons in the CA3 subregion of the aged group was similar to that in the young group. The number of CB-immunoreactive neurons was not practically different in the young group when compared with the aged group. These results indicate the involvement of PV and CB-immunoreactive neurons in aging process of hippocampus, and aging process may affect the GABAergic interneurons in hippocampus.

서 론

해마(hippocampus)는 얕은 대뇌겉질판이 굽어져서 안쪽관자엽의 안쪽으로 말려 들어가는 핵심부위이며 해마본체(hippocampus proper), 치아이랑 (dentate gyrus), 해마밑동(subiculum)의 3부분이 뚜렷하게 구분되어 구성되 어 있으며 기억과 학습에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있다. 해마본체는 신경섬유와 작은 신경세포들로 구성된 가장 얕은층의 분자층 (Molecular layer), 피라밋 모양의 많은 큰 신경세포들로 구성된 피라밋층 (pyramidal layer), 가장 속에 위치한 뭇모양층(polymorphic layer)으로 구 성되어 있으며, 치아이랑은 둥글거나 달걀 모양의 신경세포들이 빽빽이 들어 차 있는 피라밋층이 과립층(granular layer)으로 바뀌어 있다.

뇌의 노화는 형태학적, 생화학적, 기능적 변화를 초래하는데 형태학적으로 는 신경세포가 손실되는 반면 미세아교세포와 별아교세포는 증가하는 현상을 보이며, 생화학적 변화는 글루타메이트 수용체의 손실과 GABA와 아세틸콜린 과 도파민등과 같은 신경전달물질의 대사산물이 감소하며, 기능적으로는 기 억력 손실이 가장 크며 원래의 신경활성도 감소하게 되어 Alzheimer's disease, 인지도 결핍, 심각한 양질의 삶을 상실하게 되고 치매증상까지 유 발되는 것으로 알려지고 있다(Christina 등, 2008, Driscoll 등, 2006, Nolte, 2002).

한편 칼슘은 신체의 거의 모든 조직에 분포하고 있으며 동물의 뼈와 이의 주성분이며 이온조절 기능에 관여하며 모든 근육수축에 있어서 전해질로 작 용하며 혈액응고의 단계에도 관여한다. 그리고 신경세포에서는 대부분 결합 한 형태로 존재하며 극히 소량만이 축삭질 안에 유리되어 있고 나머지는 이 온화 된 형태로 존재한다. 이와 같이 낮은 이온화 된 칼슘의 농도 변화가 생

- 1 -

리적 현상을 유발하는 중요한 유발제로서 골격근을 자극하고 수축시키며, 내 분비샘과 신경조직의 자극과 세포밖유출(exocytosis)을 담당하며 신경세포내 에서 자극과 흥분을 유발시키는 일을 수행 할 뿐만 아니라 신경연접에서 신 경전달물질을 방출하며 문자를 학습하고 기억하는 일에도 관여 하는 것으로 알려지고 있다(Campbell, 1993, Celio, 1990).

Parvalbumin(PV)과 Calbindin -D28K(CB)와 같은 일부 여러 단백질들은 칼 슘과 매우 높은 친화력을 가지고 결합하는 것으로 알려져 있으며 이들을 vitamin-D 의존성 칼슘결합단백질이라 한다(Celio, 1990). 그리고 PV와 CB 는 여러 동물의 중추신경계통에서 면역조직화학적 실험 기법을 이용하여 관 찰한 결과 집단의 형태로 출현함을 관찰할 수 있었으며 이를 가족집단의 칼 슘결합단백질이라 명명하였다(Alonso 등, 1995, Kubota 와 Jones, 1993, Pikel과 Heras, 1996, Seroogy 등, 1989, Van Brederode 등 , 1991). 중추신 경계통에서 PV와 CB의 기능에 대해서는 아직까지 명료하게 밝혀지지 않았으 나 최근 이들 물질은 신경세포 내에서 칼슘의 항상성을 조절하여 다양한 세 포 작용의 과정에서 일시적인 칼슘의 완충작용을 하는 것으로 알려져 있으며 고농도의 칼슘이 신경세포에 축적하여 손상을 받기 쉬운 신경세포를 보호할 뿐만 아니라, 파킨슨병 같은 신경퇴행성질병에서 특수 신경세포 집단을 보호 하는 것으로 보고되고 있다(German등, 1997, Magloczky 등, 1997, Tunon 등, 1992).

칼슘결합단백질은 Wasserman과 Taylor(1966)에 의하여 닭의 소장 점막에서 최초로 분리된 이래 흰쥐의 중추신경계통(Braak 등, 1991, Celio, 1990, Kosaka 등, 1989, Miettinen 등, 1996), 사람을 비롯한 여러 척추동물들의 (Alonso 등, 1995, Kiyama 등, 1990, Nag와 Wadhwa, 1996) 중추 신경계통에 서도 광범위하게 분포하고 있다고 보고되고 있다.

따라서 저자는 학습과 기억능력에 중추적인 역할을 수행하는 노화된 흰쥐

- 2 -

의 해마에서 면역조직화학적 방법을 이용하여 칼슘결합단백질인 PV와 CB의 양성반응신경세포의 형태학적 변화를 관찰하고자 본 실험을 시도 하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물

총 12마리의 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 사용하였으며, 대조군은 연령 이 3개월인 4마리의 젊은 쥐(250~280gm)를 사용하였고 실험군(노화흰쥐)은 연령이 24개월(320~350gm)이 된 8마리의 노화된 흰쥐를 사용하였다.

2. 조직처리

각 군들의 흰쥐들은 pentobarbital sodium (60mg/kg)을 복막안에 주사하거 나 에테르로 마취시켰다. 그 후 가슴안을 열고 왼심실에 관류용 도관을 삽입 한 후, heparin (250unit/mℓ)을 함유한 생리식염수로 관류세척하고 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 ℃에서 12시간동안 후고정을 하였다. Free-floating 방법으로 면역조직화 학염색을 시행하기 위해 고정된 뇌 조직은 후고정한 다음에 30 % sucrose 에 넣고 24시간 이상 침적시킨 후 꺼내어 동결절편기를 이용해 35 µm 두께의 연 속관상 동결절편을 제작하여 저장용액에 담아 4 ℃에 보관하였다.

3. 면역조직화학염색

저장액에 보관한 조직절편을 매 5장마다 1장씩을 취하여 0.1 M PB로 옮겨 서 수차례 수세한 후 과산화수소(H₂O₂)를 처리하여 내인성 과산화효소의 활성 을 억제하였으며 다시 0.1 M PB로 세척한 후 면역조직화학반응을 실시하였 다.

면역염색의 첫 단계로 비특이적 반응을 줄이기 위하여 3 % 염소혈청

- 4 -

(normal horse serum)을 실온에서 1시간 반응시켰다. 1차 항체는 mouse anti-parvalbumin (1:1,000, Sigma)과 mouse anti-calbindin D28k (1:1000, Sigma)를 사용하여 4 ℃에서 24~48 시간 동안 진동시키면서 반응시켰다. 그 후 0.1 M PB로 10분씩 3회 수세 과정을 거쳤으며, 2차 항체는 biotinylated horse anti-mouse 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 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 기 질용액으로 사용하였는데 반응 직전에 H₂0₂를 0.003 %가 되도록 첨가하였으 며, 실온에서 5-10 분간 반응시킨 후 현미경하에서 발색 정도를 확인하였다. 그 후 TBS로 2~3회 세척한 후 염색한 조직절편들을 젤라틴이 피막된 슬라이 드에 부착하여 실온에서 12 시간 이상 건조한 다음, 통상의 조직처리 과정을 거쳐 polymount (Polyscience)로 봉입하여 광학현미경으로 비교·관찰하였다. 결 과

우선 해마는 크게 CA1, CA2, CA3, 그리고 치아이랑(dendate gyrus)으로 나 눠서 관찰하였으며 CA1, CA2, CA3는 외측뇌실 쪽에서부터 뇌실막(ependyma), 백색층(alveus), 지향층(stratum oriens, SO), 피리미드층(stratum pyramidalis, SP), 방사층(stratum radiatum, SR), 소강층(stratum laconosum, SL), 분자층(stratum moleculae, SM)의 7층으로 구분하며 치아이 랑은 분자층, 과립세포층, 뭇모양층의 3층으로 구분하여 관찰하였다.

접은흰쥐에서 PV-면역반응 신경세포들은 CA1부터 CA3까지 sp층을 따라 전 체적으로 관찰되었고 DG의 뭇모양층에서 PV-면역반응 신경세포가 다수 관찰 되었으나(Fig. 1-A) 노화 흰쥐에서 PV-면역반응 신경세포는 CA3를 제외한 모 든 부위에서 현저하게 감소되었다(Fig. 1-B). 젊은흰쥐에서 PV-면역반응 신 경세포는 SP층의 피라미달 세포들에서 잘 나타났으며 염색된 신경세포섬유들 이 SR부위로 뻗어나가는 것이 잘 관찰되었고, SO부위에서도 PV-면역반응 신 경세포가 관찰되었으며 신경세포섬유들은 SP층으로 연결되고 있음을 관찰할 수 있었다(Fig. 2-A, C, E). 그리고 치아이랑의 뭇모양층에서도 PV-면역반응 신경세포가 다수 관찰되었다(Fig. 2-G). 반면, 노화 흰쥐에서 SO층은 PV-면 역반응 신경세포들이 거의 관찰되지 않았으며, SP에서는 젊은 흰쥐보다 매우 적은 수의 PV-면역반응 신경세포가 관찰되었고 피라미달 세포의 신경세포섬 유들은 또한 매우 약하게 염색되었음을 관찰할 수 있었다(Fig. 2-B). 그리고 CA2와 치아이랑의 뭇모양층에서도 PV-면역반응 신경세포가 현저하게 감소되 었음을 관찰되었다(Fig. 2-D, H). 그러나 CA3에서는 젊은 흰쥐와 노화 흰쥐 모두에서 비슷한 양상을 관찰할 수 있었다(Fig. 2-E, F).

젊은 흰쥐에서는 CA1부터 CA2까지 sp층에서 CB-면역반응 신경세포들이 관

찰되었으며 PV-면역반응 신경세포들은 sp층을 따라 드물게 나타난 반면 염색 된 CB-면역반응 피라미드세포들은 일렬로 정렬되어 세포층을 형성하였고 CA3 와 치아이랑에서는 소수의 CB-면역반응 신경세포들만이 나타났다(Fig. 3-A). 그리고 노화 흰쥐에서의 CB-면역반응 신경세포는 CA1에서 젊은 흰쥐보다 약 간 감소되었으나 CA2, CA3, 치아이랑에서는 염색강도만 약간 적게 나타날 뿐 CB-면역반응 신경세포의 양상은 크게 차이가 나타나지 않았다(Fig. 3-B).

젊은 흰쥐의 CA1에서 관찰은 sp층의 CB-면역반응 피라미달 세포들이 잘 관 찰되었고 so부위는 CB-면역반응 신경세포가 관찰되지 않았으며, 노화 흰쥐에 서 CA1의 sp에서는 젊은 흰쥐보다 약간 적은 수의 CB-면역반응 신경세포들이 관찰되었다(Fig. 4-A, B). 그러나 CA2, CA3와 DG에서는 젊은 흰쥐와 노화 흰 쥐 모두에서 비슷한 양상이 관찰되었다(Fig. 4-C~H).

이상의 결과들을 종합해보면, 해마에서 PV-면역반응 신경세포들의 수와 염 색강도는 노화 흰쥐에서 감소하였으나, 해마의 CA3층은 젊은 흰쥐와 비슷한 양상이 나타났으며 CB-면역반응 신경세포의 수는 노화 흰쥐의 CA1에서만 약 간의 감소된 양상을 관찰할 수 있었고 다른 부위는 젊은 흰쥐와 거의 비슷한 양상이 관찰되었다. 따라서 해마의 노화 과정에서 PV-면역반응 신경세포와 CB-면역반응 신경세포들의 양상이 부분적으로 많은 변화가 있음을 관찰할 수 있었다.

- 7 -

고 찰

본 연구에서 일반적으로 흰쥐 해마 PV-면역반응 신경세포와 CB-면역반응 신경세포의 크기와 형태는 비슷하였으나 분포 양상은 약간 차이가 있었으며 두 양성반응 신경세포의 분포양상은 상호 보상적이었으며 PV-면역반응 신경 세포가 CB-면역반응 신경세포보다 더 많이 출현하였으며 두 양성반응 신경세 포들은 대부분 홑극, 양극, 뭇극 및 수평형이었으며 이는 여러 연구자들의 결과와 비슷하였다(kosaka 등, 1989; Celio, 1990; Brinon 등, 1992; Alonso 등, 1995).

횐쥐 해마에서 PV-면역반응 세포와 CB-면역반응 세포의 신경섬유를 관찰할 수 있었는데 이는 Celio(1990)가 쥐의 후각망울에서, 그리고 사람의 후각을 이용한 Ohm 등(1990, 1991)의 연구 보고와 일치하였으며, 해마는 후각망울의 구조와 조직학적 차이가 있어서 그 분포양상은 차이가 있을 것으로 사료되어 차후 더 자세한 연구가 수행되어야 한다고 판단된다. 젊은 흰쥐의 CA1에서 SP층의 피라미달 세포들이 잘 관찰되었고 신경세포섬유들이 SR부위로 뻗어나 가는 것이 잘 관찰되었으며 SO부위에서도 PV-면역반응 신경세포가 관찰되었 으며 신경세포섬유들은 SP층으로 연결되고 있음을 관찰할 수 있었다. 치아이 랑 뭇모양층에서 PV-면역반응 신경세포가 다수 관찰되었다. 반면, 노화 흰쥐 에서 SO층에서는 PV-면역반응 신경세포가 다수 관찰되었다. 반면, 노화 흰쥐 에서 SO층에서는 PV-면역반응 신경세포가 다수 관찰되었다. 한면, SP에서 는 젊은 흰쥐보다 매우 적은 수의 PV-면역반응 신경세포가 관찰되었고 피라 미달 세포의 신경세포섬유들은 또한 매우 약하게 염색되었음을 관찰할 수 있 었다. 그리고 CA2와 치아이랑의 뭇모양층에서도 PV-면역반응 신경세포가 현 저하게 감소되었음을 관찰되었다. 그러나 CA3에서는 젊은 흰쥐와 노화 흰쥐

- 8 -

등(1992)과 Celio(1990)의 보고와 일치하였다.

젊은 흰쥐에서는 CA1부터 CA2까지 SP층에서 CB-면역반응 신경세포들이 관 찰되었으며 PV-면역반응 신경세포들은 SP층을 따라 드물게 출현한 반면 짙게 염색된 CB-면역반응 신경세포들은 피라미드층에서 일렬로 정렬되어 세포층을 형성하였다. 그리고 CA3와 치아이랑에서는 소수의 CB-면역반응 신경세포들만 이 관찰되었습니다. 노화 흰쥐에서의 CB-면역반응 신경세포는 CA1에서 젊은 흰쥐보다 약간 감소되었으나 CA2, CA3, 치아이랑에서는 염색강도만 약간 적 게 반응 하였을 뿐 CB-면역반응 신경세포의 양상은 크게 차이가 나지 않았다 (FIG. 2).

이는 Seroogy 등(1989), Brinon 등(1992)과는 일치하였으나, Garciasegura 등(1989)은 이층 사이의 경계면에서 얕은 층 짧은 축삭세포를 관찰할 수는 있었으나 바깥층 술세포는 관찰할 수 없다고 주장하여 약간의 차이가 있음을 알 수 있었다.

해마의 가장 내층의 PV-면역반응 신경세포와 CB-면역반응 신경세포는 상당 히 크고 염주모양을 하고 있는 전형적인 양성반응 신경세포를 관찰할 수 있 었는데 이는 여러 연구자들의 결과와 비슷하였다. Ohm 등(1991)은 사람의 해 마에서 PV-면역반응 신경세포와 CB-면역반응 신경세포가 여러 가지 유형이 었으며 나뭇가지 모양의 가지돌기들이 염주모양을 하고 있다고 보고하였는 데 이는 본 연구의 결과와 일치하였다.

또한 본 연구에서 흰쥐의 해마 여러 층에 나타난 PV-면역반응 신경세포와 CB-면역반응 신경세포의 크기는 15~20정도였는데, 이는 고슴도치를 이용한 Brinon 등(1992)은 제1형은 18~20µm, 정도였다고 보고하였고, 흰쥐를 이용한 Kosaca 등(1994)은 13~15µm, 정도였다고 보고하였는데, 이와 같이 여러 연구 자들의 결과 보고가 일치하지 않은 것은 실험기법과 실험동물의 차이라고 사 료된다. 앞으로 해마 조직을 이중염색을 실시하여 PV-면역반응 신경세포와 CB-면역반응 신경세포를 동일한 절편에서 동시에 구별해서 관찰하면 한 세포 안에서 공존의 형태로 출현하는 양상을 광학현미경 및 전자현미경, 그리고 공초점 형광현미경으로 관찰할 수 있을 것으로 판단된다.

이상의 결과들을 종합해보면, hippocampus에서 PV-면역반응 신경세포들의 수와 염색강도는 노화 흰쥐에서 감소하였으나, hippocampus의 CA3는 젊은 흰 쥐와 비슷한 양상이 나타나며, CB-면역반응 신경세포의 수는 노화 흰쥐의 CA1에서만 약간의 감소만이 관찰되었고 다른 부위는 젊은 흰쥐와 거의 비슷 한 양상이 관찰되었다. 이러한 결과는 노화과정 중의 hippocampus에서 PV와 CB 함유 신경세포들의 분포 양상이 젊은 흰쥐와 비교해 부위별로 많은 차이 가 있음을 확인하였으며, 이는 hippocampus의 GABA성 사이신경세포 (interneuron)의 분포와도 연관이 있을 것으로 예상된다. 또한 PV와 CB와 같 은 칼슘결합단백질 분포의 감소로 인하여 노화과정 중에 발생되고 기억력상 실 등 여러 가지 기능적 변화를 초래할 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

이상의 결과들을 종합해보면, 해마에서 PV-면역반응 신경세포들의 수와 염 색강도는 노화 흰쥐에서 감소하였으나, 해마의 CA3층은 젊은 흰쥐와 비슷한 양상이 나타났으며 CB-면역반응 신경세포의 수는 노화 흰쥐의 CA1에서만 약 간의 감소된 양상을 관찰할 수 있었고 다른 부위는 젊은 흰쥐와 거의 비슷한 양상이 관찰되었다. 이러한 결과로 해마의 노화 과정에서 PV-면역반응 신경 세포와 CB-면역반응 신경세포들의 양상이 부분적으로 많은 변화가 있는 것을 관찰할 수 있었으며 노화과정은 PV와 CB의 칼슘결합단백질에 상당한 변화를 초래하여 기억력 상실에 변화를 줄 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- Alonse JR, Arevalo R, Carcia-ojeda E, Porteros A, Brinon JG, Aijon J: NADPH- Diaphorase active and calbindin D-28k-immunoreactive neurons and fibers in the olfactory bulb of the hedgehog, J Comp Neurol 351:307-327, 1995.
- Baimbridge KG, Miller JJ: Immunohistochemical localization of calicum-binding protein in the cerebellum, hippocampal formation and olfactory bulb of the rat, Brain Res 245:223-229, 1982.
- Bozena B, Janusz M : Expression of calbindin-D28k and parvalbumin during development of rat's basolateral amygdaloid complex, Int J Development Neuroscience 18:501-513, 2000.
- Braak E, Strotkamp B, Braak H : Parvalbumin-immunoreactive structures in the hippocampus of the human adult, Cell Tissue Res 264:33-48, 1991.
- Brinon JG, Alonse JR, Arevalo R, Garcia-Ojeda E, Lara J, Aijon J: Calbinin D-28k- positive neurons in the rat olfactory bulb, An immunohistochemical study, Cell Tissue Res 269:289-297, 1992.

Campell AK : Intracellular calcium, 4th ed John Wiley, Chichester, pp,

- 12 -

26-30, 1983.

- Carolina F, Marina B, Roberto S, Marina PS, Luis P, Alfonso F : Postnatal development of calbindin and parvalbumin immunoreactivity in the thalamus of the rat, Development Brain Research 58:243-249, 1991.
- Celio BR : Calbindin D-28k and parvalbumin in the rat nervous system, Neuroscience 35:375-475, 1990.
- Cha CI, Lee YI, Lee EY, Park KH, Baik SH : Age-related changes of VIP, NPY and somatostatin-immunoreactive neurons in the cerebral cortex of aged rats, Brain Research 753:253-244, 1997.
- Christina TST, Elizabeth H, Bruce AM, Norton WM, Carl WC : Region specific neuron loss in the aged canine hippocampus is reduced by enrichment, Neurobiology of Aging 20:39-50, 2008.
- Driscoll I, Howard SR, Stone JC, Monfils MH, Tomanek B, Brooks WM, Sutherland RJ : The aging hippocampus: A multi-lever analysis in the rat, Neuroscience 139:1173-1185, 2006.
- Fong-Qi L, Farida S, Rajesh M, Barbara E, David E : Expression of Brain-Derived neurotrophic factor and its cognate receptor, TrkB, in the rat suprachiasmatic nucleus, Experimental neurology

- 13 -

151:184-193, 1998.

- Garcia-Segura LM, Baetens D, Roth J, Norman AW, Orei L : Immunohistochemical mapping of calcium-binding protein immunonoreactivity in the rat central nervous system, Brain Res 296:75-86, 1984.
- Song GY, Kang JS, Myung CS : Region-specific reduction of $G\beta_4$ expression and induction of the phosphorylation of PKB/Akt and ERK 1/2 by aging in rat brain, Pharma Res 56:295-302, 2007.
- Jing B, Vikram S, Nicholas N, Changiz G : Age-related changes in calbindin-D 28k, calretinin, and parvalbumin-immunoreactive neurons in the human cerebral cortex, Exp neurology 182:220-231, 2003.
- Juan FLT, Juan CDR, Blanca R, David BV, Consuelo SM, Diego R, Antonia G, Javier V : Postnatal development of the al containing GABA_A receptor subunit in rat hippocampus, Development Brain Res 148:129-141, 2004.
- Kiyama H, Seto-Oshima a, Emson PC : Calbindin D-28k as a marker for the degerneration of the striatonigral pathway in Huntington's disease, Brain Res 525:209-214, 1990.
- Kosaka T, Heizmann CW, Barnstable CJ : Monoclonal antibody VCI. I

- 14 -

selectively stains a population of GABAergic neuron contatining the calcium-binding protein parvalbumin in the rat cerebral cortex, Exp Brain Res 78:43-50, 1989.

- Kosaka T, Heizman CW, Kosaka T : Calcium-binding protein parvalbumin-immunoreactive neurons in the rat olfactory bulb, 1. Distribution and structural features in adult rat, Exp Brain Res 99:191-204, 1994.
- Lauren LH, Talley JL, Karyn MF : Age-dependent effects of env면역반응 onmental enrichment on spatial reference memory in male mice, Behaviora Brain Res 185:43-48, 2007.
- Marilyn JD, Charles JC, Deborah LW : Aging regulates 5-HT_{1B} receptors and serotonin reuptake sites in the SCN, Brain Res 856:213-219, 2000.
- Nag TC, Wadhwa S : Calbinding and parvalbumin immunoreactivity in the developing and adult human retina, Dev Brain Res 93:23-32, 1996.
- Noete H : The Human Brain. An introduction to its functional anatomy, 5th ed philadelpia, Mosby, PP. 559-569, 2002.
- Ohm TG, Muller H, Braak E : Calbindin D-28k-like immunorective structures in the olfactory bulb and anterior olfactory nucleus of

the human adult : Distribution and cell typology-partial complementarity with parvalbumin, Neuroscience 42:823-840, 1991.

- Pickel VM, Heras A : Ultrastructural localization of calbindin D-28k and GABA in the matrix compartment of the rat caudate-putamen nuclei, Neuroscience 71:167-178, 1996.
- Yoon SP, Chung YY, Chang IY, Kim JJ, Moon JS, Kim HS : Postnatal development of parvalbumin and calbindin D-28k immunoreactivities in the canine hippocampus, J of Chemical neuroanatomy 19:143-154, 2000.
- Schneider SP, Macribes F : Laminar distribution of adult interneurons in the main olfactory bulb of the adult hamster, Brain Res Bull 3:73-82, 1978.
- Seroogy K, Hokfelt T, Buchan A, Brown JC, Terenius L, Norman AW, Goldsten M : Somatostatin-like immunoreactivity in rat main olfactory bulb: extent of coexistence with neuropetide Y-, tyrosine hydroxylase-and vitamin D-dependent calcium binding protein-like immunoreactivities, Brain Res 496:389-396, 1989.
- Tunon T, Insausti R, Ferrer I, Sobreviela T, Soriano E : Parvalbumin and calbindin D-28k in the human entorhinal cortex. An immunohistochemical study, Brain Res 589:24-32, 1992.

- 16 -

- Van Brederode JFM, Helliesen MK, Herdrickson AE : Distrbution of the calcium-binding proteins parvalbumin and calbindin D-28k in the sensorimotor cortex of the rat, Neuroscience 44: 157-171, 1991.
- Chung YH, Joo KM, Lee YJ, Shin DH, Cha CI : Postnatal development and age-related changes in the distribution of nitric oxide synthase-immunoreactive in the visual system of rats, Neuroscience Letters 360:1-4, 2004.
- Wasternman RH, Taylor AN : Vitamin D3-induced calcium-binding protein in the chick intestinal mucosa, Science 152:791-793, 1966.

Legends for Figures

- Figure 1. Photomicrographs of Parvalbumin-immunoreactive neurons in hippocampus of the rats(×100). Young group(A); Aged group(B). CA1, CA2,CA3, hippocampal subareas DG, dentate gyrus m, molecular layer; g, granule cell layer of dentate gyrus h, hilus so, stratum oriens, sp. Stratum pyramidale sr, stratum radiatum.
- Figure 2. Photomicrographs of Parvalbumin-immunoreactive neurons in hippocampus of the rats(×200). Young group(A, C, E, G); Aged group(B, D, F, H). CA1(A, B), CA2(C, D), CA3(E, F), DG(G, H), so, stratum oriens, sp. Stratum pyramidale sr, stratum radiatum, dentate gyrus m, molecular layer; g, granule cell layer of dentate gyrus h, hilus.
- Figure 3. Photomicrographs of Calbindin D28k-immunoreactive neurons in hippocampus of the rats(×100). Young group(A); Aged group(B). CA1, CA2,CA3, hippocampal subareas DG, dentate gyrus m, molecular layer; g, granule cell layer of dentate gyrus h, hilus so, stratum oriens, sp. Stratum pyramidale sr, stratum radiatum.
- Figure 4. Photomicrographs of Calbindin D28k-immunoreactive neurons in hippocampus of the rats(×200). Young group(A, C, E, G); Aged group(B, D, F, H). CA1(A, B), CA2(C, D), CA3(E, F), DG(G, H), dentate gyrus m, molecular layer; g, granule cell layer of dentate gyrus h, hilus so, stratum oriens, sp. Stratum pyramidale sr, stratum radiatum.









저작물 이용 허락서

학 과	의학과 힉	· 번	200	67157	과	정	석사				
성 명	한글: 박근용 한문 : 박근용 영문 : Keun-Yong Park										
주 소	전남 목포시 상동 577-1 동서재활의학과의원										
연락처	(062) 230 - 6288		E-MAIL	mokpotree@hanmail.net							
논문	(한글) 노화횐쥐의 해마에서 Parvalbumin과 Calbindin-D28K의 면역반응세포에 관한 형태학적 연구										
제목	(영어) Morphological Studies on the Parvalbumin and Calbindin-D28K										
	Immunoreactive Neurons in the Hippocampus of the Aged Rats										

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저 작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

- 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
- 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함.
 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.

3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.

- 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
- 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
- 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는
 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
- 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송・출력을 허락함.

동의여부 : 동의(0) 반대()

2008 년 2 월

저작자: 박 근 용 (인)

조선대학교 총장 귀하