

토끼의 순막 고전적 조건화 동안 소뇌 중간핵과 배측하올리브부핵에서 동시에 기록한 신경다단위활동¹⁾

조선영*, 백은하*, 김현택*, 현성용**
*고려대학교 심리학과, **대구대학교 심리학과

토끼에게 순막 고전적 조건화를 시키면서 소뇌 중간핵(INT)과 배측하올리브부핵(DAO)에서 동시에 신경다단위활동을 기록하였다. 먼저 지연조건화(ISI 300msec)를 시킨 후, 동일한 조건자극(CS:소리 400msec)과 무조건자극(US:공기분사 100msec)을 사용하여 혼적조건화(ISI 700msec)를 시켰다. 행동자료와 신경활동자료를 각 시행에 제시된 자극과 행동반응을 근거로 네 범주로 나누어 분석하였다: CS만 제시된 시행인 CS시행, US만 제시된 US시행, 배쌍시행 중 조건반응(CR)을 수행한 CR시행, 배쌍시행 중 조건반응을 수행하지않은 noCR시행. 각 범주의 신경활동반응을 4msec-time bin histogram을 세운 뒤 Savitzky-Golay method로 smoothing curve를 구하고 multiple Gaussian functions을 이용하여 fitting curve를 얻어 행동반응과의 시간적 관계성을 분석하였다. INT와 DAO 모두에서 CR을 학습함에 따라 CS기에 학습과 관련된 신경활동이 발달하였다. 그러나 그러한 활동은 CR시행에서만 두드러지게 관찰되었으며, 특히 INT의 경우 noCR시행에서는 학습 관련 활동이 나타나지 않았다. 이러한 결과는 INT가 CR의 운동 수행에 직접적으로 관여함을 시사한다. DAO는 US-유발반응을 크게 나타내었으며, 학습이 진행되어도 크기가 변하지 않았다. DAO에서 CR과 연관된 신경반응이 발달함에 따라, DAO는 소뇌에서 출력되는 CR정보를 되먹임받아 US정보뿐만 아니라 CR정보를 또한 소뇌로 제공해 주는 것 같다.

연합학습의 기본적 형태인 고전적 조건화는 학습의 신경실체에 접근하는데 널리 사용되어온 학습양식으로서, 연구자들은 다양한 실험 대상물들을 상대로 그들이 보여주는 행동적 변화와 이와 관련된 신경 구조물들을 분석한다. 토끼의 순막 고전적 조건화는 Gormezano(1962)에 의해 처음 소개되어 그 후 많은 실험실에서 학습과 기억에 관한 신경생리적 기전을 연구하기 위한 모델 체계(model system)로 사용되어 왔다.

이 간단한 운동 학습에는 소뇌가 결정적으로 관여하는데, 소뇌 중간핵(cerebellar interpositus nucleus: INT)과 소뇌피질 단소엽의 신경활동은 조건화가 이루어짐에 따라 조건반응(conditioned response: CR)에 선행하여 CR을 예고해주는 식으로 발달해 간다(김현택, 류재욱, 김기석, 1991; McCormick, Clark, Lavond & Thompson, 1982; Berthier, & Moore, 1986). 특히 소뇌 중간핵은 손상 후에 CR의 습득이나 파지가 불가능함이 밝혀짐에 따라 순막조건화에 필수적인 구조물로 대두되었다(Lavond,

Hembree, & Thompson, 1985; Yeo, Hardiman, Glickstein, 1985). 이후 많은 손상연구와 자극연구, 약물주입연구들을 통하여 소뇌 중간핵이 순막조건화에 결정적인 가소성 구조물임이 지지되었다.

소뇌가 순막조건반응의 습득과 파지에 필수적으로 관여함이 밝혀지면서 소뇌의 입출력에 관련되는 뇌간 구조물에 관한 연구가 활발히 진행되어왔다. 그 결과 조건자극(conditioned stimulus : CS)정보는 복측와우핵에서 교핵을 거쳐 중소뇌각을 통해 대상 섬유를 타고 소뇌로 전달되며, 무조건 자극(unconditioned stimulus : US)정보는 삼차신경척수로 핵에서 배측하올리브부핵을 거쳐 하소뇌각을 통해 대상 섬유를 타고 소뇌로 들어감이 확인되었다(Steinmetz & Sengelaub, 1992; Gould, Sears, & Steinmetz, 1993). 이러한 신경해부학적 증거는 운동학습의 기억 흔적에 대한 Marr-Albus 모델에 그대로 적용되는 것으로서, 소뇌피질과 중간핵에서 CS정보와 US정보가 수렴되어 학습과 연관된 신경가소성이 발달함을 시사한다(김기석, 1990; Thompson, 1986).

그러나 소뇌에 운동 기억이 저장된다는 견해에 반대하는 일단의 연구자들은 소뇌로 투사하는 하울

1) 본 논문은 1995년도 학술진흥재단의 특별연구과제 학술조성 연구비에 의해 연구되었음.

리브의 기능에 주목하여, 등상섬유 입력이 소뇌피질에서 기억 저장을 위한 어떤 변화를 일으키는 것이 아니라 하울리브와 소뇌간의 상호연결 시스템(olivocerebellar system)에서 등상섬유 입력이 운동 조절에 중요하게 관련되어있다고 보았다(Linás & Welsh, 1993). 이들은 소뇌를 손상하였을 때 CR이 영향을 받는 것을 기억의 결함이라기보다는 수행상의 결함이라고 주장한다(Welsh & Harvy, 1989a). 실제로 소뇌 중간핵을 손상하면 소리 CS와 같이 반응을 유발하는 힘이 약한 낮은 강도의 공기분사 US를 사용하였을 때 CR 뿐만아니라 무조건 반응(unconditioned response: UR)도 영향을 받았으며, UR의 진폭이나 잠재기 또한 영향을 받았다(Bracha, Stewart, & Bloedel, 1993; Welsh & Harvy, 1989b). 이렇듯 소뇌 중간핵이 적절한 CR을 학습하거나 수행하는데 있어서 결정적인 역할을 담당함은 밝혀졌지만, 그에 대한 해석은 일치하지 않고 있다.

소뇌에서 처리된 학습관련 정보, 즉 CR정보는 소뇌의 원심성 섬유가 투사하는 적핵으로 전달되어 적핵연수로를 통해 순막반응의 최후공통로인 부의전 신경핵에 도달하여 순막 조건반응을 일으킨다(Marek, McMaster, Gomezano, & Harvey, 1984; Harvey, Lavond, & Thompson, 1983). 또한 소뇌의 원심성 섬유는 적핵을 통해, 혹은 직접 하울리브핵, 삼차신경 척수로핵 등 여러 뇌간 핵들로 투사하여 그 활동에 영향을 미친다(Angual, & Sotelo, 1989; Andersson, Garwicz, & Hesslow, 1988; Davis, & Dostrovsky, 1986). 따라서 소뇌에서 출력되는 CR 정보가 뇌간의 핵을 경유하여 다시 소뇌로 되먹임(feedback) 될 수 있다(Kennedy, 1990). 또한 소뇌의 CR 정보는 해마나 시상과 같은 상위 뇌구조물에서 학습과 관련된 신경활동이 발달하는 데에도 요구된다(류재욱, 조선영, 김현택, 1995; Sears, & Steinmetz, 1990; Sears, Logue, & Steinmetz, 1996).

이와 같이 복잡하게 연결된 여러 구조물들이 서로의 기능에 의존하면서 함께 순막조건화에 관여하고 있으므로 조건화에 따른 신경가소성 또한 다수의 구조물에서 동시에 병행하여, 혹은 분산되어 발달할 것이다. 그러나 이제까지와 같이 조건화를 진행하면서 단일 부위의 신경활동만을 기록하여 개개 영역의 활동을 분석하는 방식으로는 순막조건화에 관여하는 여러 구조물을 함께 조망하는 것이 불가능하다. 각각의 연구에서 사용한 학습 패러다임(paradigm)에 따라, 각각의 자극 패러미터(parameter)에 따라, 그리고 각각의 동물 개체에 따라 기록되

는 신경활동의 양상이 결정되므로, 다양한 실험에서 이루어진 여러 연구를 통하여 각 영역들의 활성성을 비교 분석하여서는 유용한 정보를 얻어내지 못한다. 실제로 이제까지는 개개 영역들의 신경가소성 연구에 중점을 두어 왔기 때문에, 학습 중에 여러 영역의 신경활동을 동시에 기록한 연구는 찾아보기 힘들다.

본 연구에서는 순막조건화동안 대표적인 신경가소성을 보이는 소뇌 중간핵과, US 정보를 소뇌로 전달하는 배측하울리브부핵의 신경활동을 동시에 기록하여 두 구조물의 활동과 기능을 함께 살펴보았다. 배측하울리브부핵(dorsal accessory inferior olive : DAO)은 US정보를 소뇌로 전달하는 중계핵으로서, 삼차신경을 통해 안면부의 체감각정보를 받아들여 소뇌피질과 소뇌 심부핵으로 등상섬유를 보내 정보를 전달한다. 이러한 DAO의 입력은 소뇌 중간핵과 단소엽을 포함한 소뇌피질에서 체성감각적 배열(somatotopic arrangement)을 나타낸다(Gibson, Robinson, Alam, & Houk, 1987).

DAO를 손상하고 학습된 반응의 소거효과를 관찰한 연구(McCormick, Steinmetz, & Thompson, 1985)나 DAO에 대한 전기자극을 US로 사용한 조건화 연구(Steinmetz, Lavond, & Thompson, 1989)에서 DAO가 US정보를 소뇌로 전달함이 입증되었으나, 그후 연구에서는 DAO를 포함한 하울리브를 손상하였을 때 CR이 소거되는 식이 아니라 즉각적으로 CR이 완전히 사라짐이 보고되었다(Yeo, Hardiman, & Glickstein, 1986). 이런 상반된 결과는 DAO가 단순히 US 통로라 할지라도 하울리브 손상에 따른 소뇌의 기능 변화로 설명될 수 있으나, DAO의 기능에 대한 의문을 남긴다.

본 연구에서는 US를 처리하는 DAO의 역할을 보다 명확하게 규명할 수 있도록 동일한 US에 대하여 그 정보가 만을 변화시키는 학습 패러다임을 사용하였다. 400msec의 소리자극 CS와 100msec의 각막 공기분사 US를 배쌍시켜 일정한 자극간 간격(interstimulus interval : ISI)으로 토기를 조건화시킨 후, ISI만을 변화시키면서 동일한 CS와 US로 재훈련시켰다. ISI가 변하게 되면 새로운 학습상황이 제시되는 것으로, 동물은 적절한 타이밍을 갖는 CR을 채습득해야 한다. 이때 동일한 US를 계속 사용하므로 자극의 속성은 전연 변하지 않은채 그 정보가만이 변하는 상황이다. 즉, 조건화가 진행되면서 감소되었던 US의 정보가 다시 증가하게 될 것이다. 이와 같은 조건화 절차에서 DAO와 소뇌중간핵의

다단위 신경활동을 동시에 기록하여 DAO의 기능과 소뇌와의 관련성을 살펴보았다.

또한 본 연구에서는 제시된 자극과 수행한 행동 반응을 근거로 신경활동 자료와 행동자료를 CS만 제시되는 CS시행, US만 제시되는 US시행, 배쌍시행 중 동물이 CR을 수행한 CR시행, 배쌍시행중 CR을 수행하지 않은 noCR시행, 네 범주로 나누어 분석하였다. 이렇게 분류하여 신경활동을 분석하면, 기존의 연구들에서 한 회기나 한 구획의 신경반응을 한꺼번에 분석할 때에는 관찰할 수 없었던 자극과 수행에 따른 각각의 특별한 반응 양상을 살펴볼 수가 있다. 조건화 동안 특정 부위의 신경활동을 기록하여 그 기능에 관한 정보를 얻어내기 위해서는, 조건화의 진행에 따른 변화 외에도 조건화에 제시되는 자극이나 동물이 수행하는 행동반응에 따른 변화를 면밀하게 분석하는 것이 필요하다.

방 법

피험동물

백색종 뉴질랜드 토끼로 시술시 체중이 1.8Kg - 2.3Kg인 수컷을 사용하였다. 실험기간 동안 토끼들은 자연주기로 개별장에 수용되었으며 물과 먹이는 자유롭게 먹을 수 있었다.

시 술

시술 12시간전에 피험 동물에게 물과 먹이를 박탈하였다. 시술시 먼저 진정제인 아세프로마진(acpromazine, 0.25mg/kg)과 부교감신경 차단제인 아트로핀(atropine, 1mg)을 피하 주사하고 케타민(ketamine, 50mg/kg)과 질라진(xylazine, 6mg/kg), 뷰토파놀(butophanol, 0.1mg/kg)을 혼합한 마취제로 토끼를 마취시켰다. 마취 후 시술 부위의 털을 면도하고 뇌정위(stereotaxic) 기구에 고정시켜 두개골의 정중열과 좌우 수평을 맞추고 전정(bregma)이 람다(lambda)보다 1.5mm 높게 맞추었다.

훈련시킬 눈과 동측 소뇌 중간핵(람다 전측 0.5mm, 좌측5mm, 복측13±1mm), 그리고 대측 DAO(람다 전측 0.3-1.0mm, 우측1mm, 복측22±2mm)에 기록용 전극을 심었다. 이를 위해 우선 치과용 드릴로 목표부위 상단 두개골에 2개의 구멍을 뚫고, 그 주변에 세개의 구멍을 더 뚫어 접지용 나사를 고정하여 접지용 선을 연결하였다. 기록용 전극은 00번의 곤충용핀(insect pin, #00)을 에폭시(epoxy)로 절연한 것으로 절연시 침단부위가 자연 노출된

상태로 그대로 사용하였다. 전극의 침단 임피던스는 200-400k Ω 이었다.

중간핵과 DAO의 최종 위치는 전극을 내리면서 후단 차동 증폭기에 연결된 오실로스코프상에 나타나는 신경활동을 관찰하면서 정하였다. DAO의 경우, 토끼의 각막을 젖은 솜으로 부드럽게 자극하거나 각막에 약한 바람을 가하여 그에 대한 신경 반응을 보이는 부위로 최종위치를 결정하였다. 시술 후 훈련까지 일주일의 회복기간을 주었다.

조건화장치

조건화 동안 순막반응과 신경다단위활동을 측정하기 위해 토끼를 고정장치에 구금시키고 머리에 투구를 씌운다. 투구에는 순막의 직선운동을 전압 변화로 바꾸어 주는 미세토크전위차계(minitorque potentiometer)와 공기분사기의 노즐이 부착되어 있다. 미리 순막에 봉합해 둔 명주실고리를 전위차계의 막대에 연결하여 순막의 움직임을 측정하였는데, 토끼가 순막을 움직이면 막대가 움직여 전위차계축의 회전운동을 야기시키고, 이 회전운동은 전위차계 내부의 전압 변화를 유발한다.(0.03V/mm). 전압 변화값을 A/D변환기(PCL-711 PC-multilab card)를 통해 디지털 값으로 바꾸어 초당 256회로 표집되어 IBM 호환기종 컴퓨터에 입력시켰다. 입력된 전압 변화 값을 다시 순막 이동거리로 환산하여 0.48mm이상의 순막 움직임을 반응으로 간주하였다. 매 시행마다 반응 여부, 반응 크기, 반응개시 잠재기, 조건반응과 무조건반응의 최대진폭과 최대진폭잠재기를 실시간적(on line)으로 계산하여 표집하였다.

조건화는 65dB의 백색잡음을 함께 제시하면서 외부소음을 차단시키는 전자기장 차폐실에서 행해졌다. 소리 CS는 1KHz 정현파 85dB을 4인치 스피커 세대를 통해 제시하였으며, 공기분사 US는 압축 펌프로 압축공기를 만들어서 압축탱크에 저장하였다가 개구경이 직경 1mm인 노즐을 통해 200g/cm²의 압력으로 토끼 각막에 분사하였다. 이때 토끼의 눈꺼풀은 열린 채로 고정되어 있으므로 순막이 움직이게 된다. 조건자극과 무조건자극 제시는 IBM 컴퓨터에 연결된 인터페이스장치를 통해 자동으로 통제되도록 프로그램하였다.

조건화 절차

토끼들은 우선 한 회기에 해당하는 시간동안 전자파 차폐실에서 실험 상황과 동일한 장치를 하여

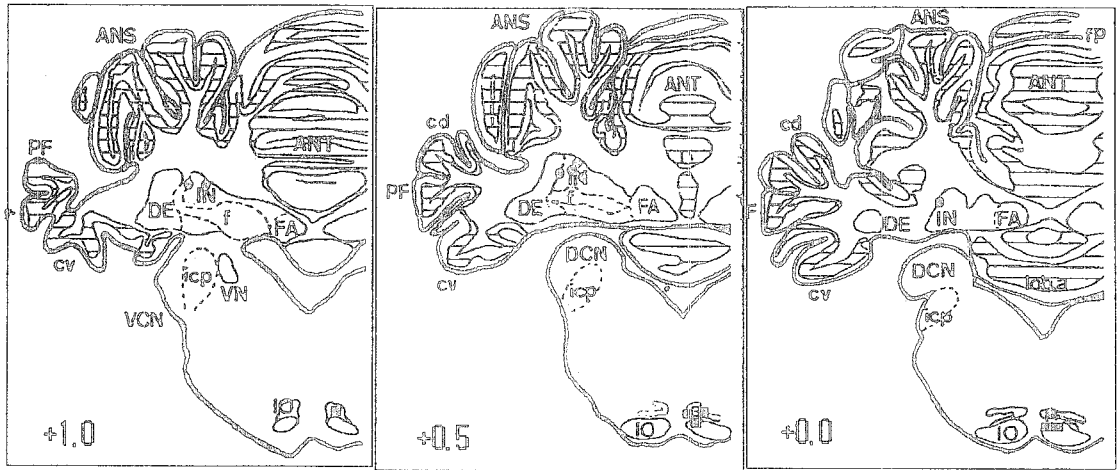


그림 1. 소뇌중간핵(○)과 배측하올리브부핵(□)의 기록 지점(그림 안의 수치는 Lambda 전측 거리 mm)

백색 잠음하에서 순응기간을 갖는다. 그후 400msec의 소리 CS와 100msec의 공기분사 US가 배쌍되어 제시되는 조건화 훈련이 진행되었다. 먼저 CS 개시부터 US 개시까지의 시간인 자극간 간격(inter-stimulus interval: ISI)을 300msec로 하여 지연조건화를 훈련시키고 학습 준거에 이르면 ISI를 700msec로 바꾸어 동일한 CS와 US로 혼적조건화를 시켰다.

한회기는 60시행으로 한구획에 10시행씩 6구획으로 이루어진다. 각 구획의 8번째 시행은 CS만 제시되며 각 구획의 9번째는 US만 제시되는 준거시행이다. US-단독 준거시행은 DAO의 신경활동 분석에 특히 유용한데, US만 제시되는 시행에서는 어느 신경 구조물에서도 조건화에 관련된 정보처리가 이루어지지 않은채 DAO의 반응을 관찰할 수 있기 때문에 배쌍시행에서 조건화에 영향을 받는 DAO의 활동과 비교가 가능할 것이다.

신경반응 기록장치

시술시 목표부위에 삽입한 기록용 미세전극들(microelectrodes)이 연결된 소켓을 2대의 headstage miniature증폭기(자체 제작)와 연결하여 신경활동을 일차 증폭시켰다. 이어 각각 전단 차동증폭기(자체 제작)와 후단 차동 증폭기(자체 제작)를 거치면서, 전단 차동증폭기에 내장된 대역폭 통과 여파기(bandpass filter)를 300Hz-3kHz로, 후단 차동증폭기의 대역폭 통과 여파기를 1kHz-3kHz로 설정하여 그 사이의 전기적 신호만을 받아들였다. 여파된 신호를 2대의 디지털 전압비교기(window discriminator,

자체 제작)로 보내 각각 오실로스코프(Goldstar, OS-3040) 상에서 관찰하면서 정상시의 활동이 100msec당 15-20개의 신경충동이 계수되도록 상한, 하한 범위를 설정하여 그 범위내의 신경충동 개수를 셈하였다. 이 자료를 초당 4096회로 표집하여 IBM 호환기종 컴퓨터에 입력시킨다. 입력된 자료를 매 시행마다 raster로 제시하며, 시행이 거듭될수록 4msec당 발화 횟수를 누적시켜 한회기의 신경활동 양상을 4msec time bin 히스토그램으로 표현하였다.

신경활동 자료분석

본 연구에서는 각 시행에 제시된 자극과 각 시행에서 동물이 수행한 행동반응을 근거로 하여 한 회기의 신경활동 자료와 행동자료를 다음과 같은 네 범주로 나누어 분석하였다. CS만 제시되는 CS시행, US만 제시되는 US시행, CS와 US가 모두 제시되는 배쌍시행 중 동물이 CR을 수행한 CR시행, 배쌍시행중 CR을 수행하지 않은 noCR시행으로 각 회기의 자료를 분류하였다. 따라서 각 회기의 자료는 6시행의 CS시행, 6시행의 US시행, 동물의 수행에 따라 시행수가 결정되는 CR시행과 noCR시행으로 나누어진다.

이렇게 나누어진 신경활동 자료를 분석과 비교를 가능하게 하기 위하여 표준점수로 바꾸어 주었다. 각 범주의 10시행 평균 신경활동 점수를 이용하여, 정상시의 신경활동으로 간주할 수 있는 CS 제시 이전 180msec 동안의 활동을 기준으로 CS 제시 이후 600msec 동안의 활동을 60msec씩 세분화

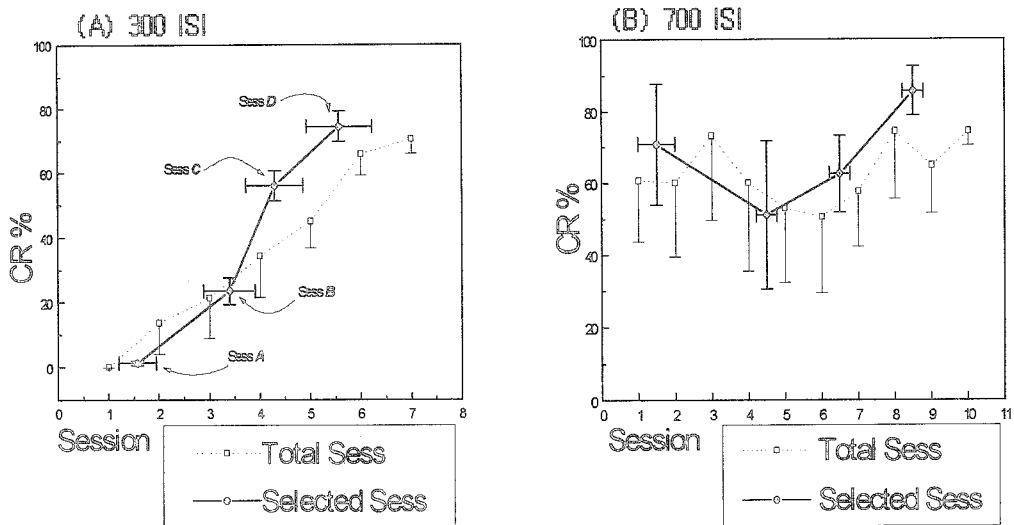


그림 2. 학습률에 따라 선택한 네 회기의 분포

여 각 하위구간의 신경활동을 표준점수로 환산하였다. 즉, CS 제시후 각 60msec의 신경활동 점수의 표준점수를 구하려면, 그 점수에서 해당 범주의 CS 제시전 60msec당 평균 신경활동 점수를 뺀 후 전체 회기에서 구한 CS제시전 60msec 점수의 표준편차로 나누면 된다. 그러면 CS제시 이후 다단위신경활동의 변화양상을 각 범주별로 수치로 확인할 수 있다. 이 점수로 통계 분석을 행하였다.

조직 검사

학습절차가 모두 끝난 뒤 각 기록전극을 통해 2mA의 양극성 직류전류를 10초간 흘려서 전극이 위치하였던 부위를 표지손상하고, 0.9% 생리식염수와 10% 포르말린 용액을 차례로 주입하여 환류하였다. 환류 후 뇌를 적출하여 10% 포르말린 용액에 일주일 이상 담가두었다가 절편을 내기 24시간 전에 10% 자당용액에 넣어두었다. 냉동절편기(Leitz Kryostat 17 20)를 이용하여 25 μ m 두께로 절편을 내면서 기록부위를 확인하였다. 절편중 일부를 슬라이드글라스로 옮겨 크레실 바이올렛으로 염색하여 사진을 찍고 현미경 관찰을 하였다.

연구 결과

조직검사 결과

동물의 기록 부위를 뇌절편 사진과 현미경 관찰

을 통해 뇌도감을 참조하여 확인하였다. 그 결과 소뇌 중간핵과 배측하올리브부핵의 전극위치가 모두 정확하게 위치한 7마리의 자료만을 분석하였다. 동물의 기록전극의 위치를 그림 1에 도시하였다.

행동반응 결과

동물들은 먼저 300msec ISI의 지연조건화 훈련을 받았다. 각 동물이 두 회기를 연속해서 CR을 80%이상 보이는 학습준거에 다다른면 700msec ISI의 혼적조건화로 훈련을 전이하였다. 각 동물마다 학습 속도가 달라 학습 준거에 이르는 시행수에 차이가 있다. 그렇기 때문에, 동물들의 행동자료는 물론이고 신경활동자료를 회기별로 일률적으로 비교하는 것은 편차를 크게 만들고 정교한 분석이 되지 못한다. 따라서 본 연구에서는 개별 동물들의 학습률에 따라 일정 수준의 CR을 학습한 회기를 선정하여 학습률별 비교를 시도하였다. 즉, 300msec ISI에서 동물마다 CR을 학습하기 이전 단계인 회기A, 약 20%의 CR을 보이는 학습 초기 단계인 회기B, 약 60%의 CR을 보이는 학습 중반 단계인 회기C, 80% 이상의 CR을 보이는 학습 완료단계인 회기D를 선정하여 비교 분석하였다. 그림 2A에 동물의 회기별 학습곡선과 학습률별 학습곡선을 함께 도시하였다. 그림에서 보듯이 학습률에 따라 회기를 선정하자 전형적인 S자 학습곡선이 두드러졌다. 700msec ISI에서도 대표적인 네 회기를 선정하여

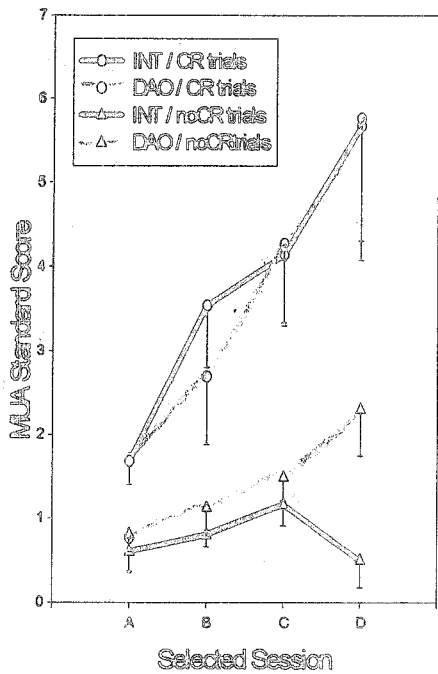


그림 3. CR시행과 noCR시행의 CS-5기 신경활동 표준점수

자료를 분석하였다(그림 2B).

300msec ISI의 지연 조건화에서 동물들은 7회기 이내에 적응적 CR을 보이며 학습 준거에 이르렀다. 그후 700msec ISI 흔적 조건화로 훈련을 전이시키자, 초기에는 이전에 습득한 짧은 잠재기의 CR을 보였으나 점차 새로운 ISI에 맞추어 CR 개시잠재기와 최대CR 잠재기가 늘어났다.

신경반응 결과

조건화가 진행되는 동안 소뇌 중간핵(INT)과 배측하올리브부핵(DAO) 모두에서 학습과 관련된 신경반응이 발달하였다. 즉, 처음에는 US에만 반응을 하지만 조건화 훈련이 이루어짐에 따라 CS 제시후 CR에 선행하여 CR을 예고하는 식의 신경활동을 보였다.

앞에서 언급하였듯이 이전 연구들에서처럼 한 회기나 한 구획의 신경반응을 한꺼번에 관찰하면, CR을 학습함에 따라 INT와 DAO에서 CR에 선행

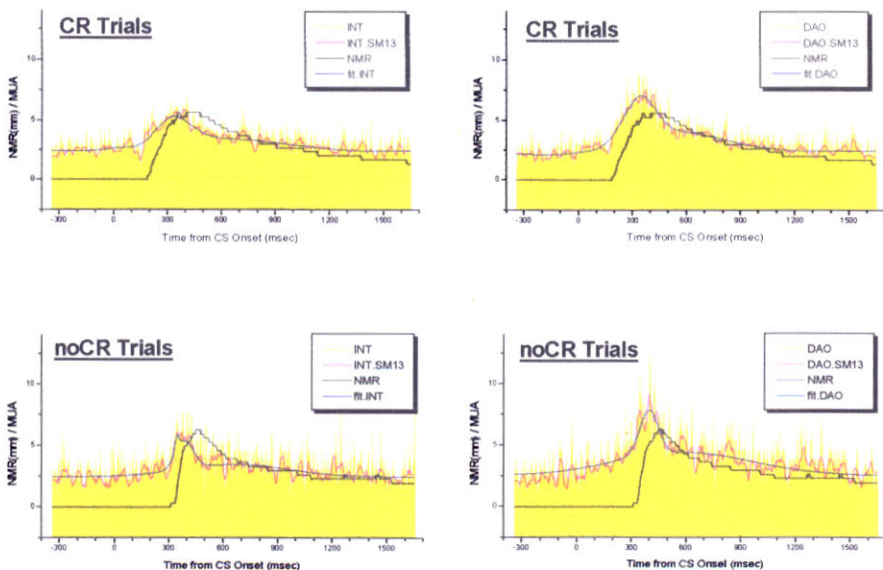


그림 4. 대표적인 행동반응과 신경반응.(0msec에서 300sec가 ISI

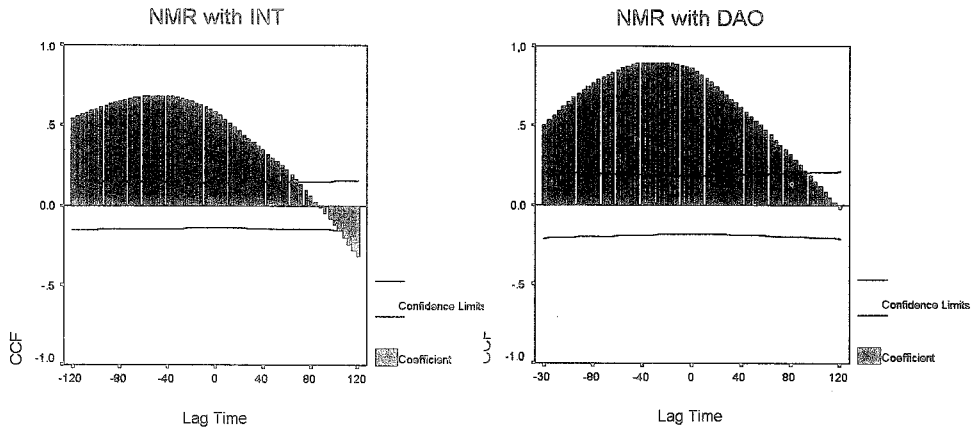


그림 5. 행동반응과 신경반응 간의 교차상관

하여 신경활동이 전반적으로 나타나는 것 외에는 밝힐 수 없다. 이제까지 INT에서 보고된 학습관련 신경활동은 그러한 식으로 관찰된 것이다. 본 연구에서 네 범주로 나누어 신경활동을 분석한 결과, 각각의 자극과 수행에 따른 양상을 파악할 수 있었다.

INT와 DAO에서 CR시행과 noCR시행 동안 기록된 CS-5기의 신경활동 표준점수를 그림 3에 도시하였다. ISI 300msec 중 마지막 60msec 동안인 CS-5기는 CR과 관련된 신경활동이 가장 크게 기록되는 대표적인 기간이다. 그림에서 보듯이 INT와 DAO는 둘다 CR시행과 noCR시행에서 판이하게 다른 반응을 보였다($F(1,22)=18.63, p<.0001$). CR을 수행한 배쌍 시행에서는 회기가 거듭됨에 따라 CS기에 행동적 CR에 앞서 CR을 예고해주는 신경반응이 점차로 발달하였으나, CR을 수행하지 않은 noCR시행에서는 그렇지 않았다($F(3,66)=17.07, p<.0001$). 특히 INT의 경우에는 noCR시행에서 회기에 따른 변화가 관찰되지 않았다. DAO는 noCR시행에서도 회기에 따라 신경반응이 증가하였으나 ($F(3,18)=4.75, p<.05$), CR시행에서의 증가와는 크기가 차이가 있었다($F(1,12)=7.30, p<.05$). CS시행에서도 CR을 습득함에 따라서 INT와 DAO의 신경반응이 행동반응에 선행하여 CS-5기에서 유의미하게 증가하였다($F(3,15)=14.73, p<.0001$; $F(3,18)=11.71, p<.0001$).

DAO는 배쌍시행인 CR시행과 noCR시행, 무배쌍 시행인 US시행 모두에서 US 자극에 대하여 큰 반응을 보였다. CR시행과 noCR시행, US시행 간에

통계적으로 반응의 차이는 없었으며, 학습이 진행됨에 따라 변화가 없었다. INT의 US 유발 반응역시 시행간, 회기간에 유의미한 차이가 없었다.

그림 4에 대표적인 한 마리 동물에게서 기록된 CR시행과 noCR시행의 INT와 DAO의 신경반응을 행동 반응과 비교하여 각각 도시하였다. 각 그림에서 맨 아래에서 시작하는 실선이 순막 반응(NMR)을 나타낸 것이고, 그 위에 그려진 흐린 영역이 신경반응의 원자료이다. 신경반응의 히스토그램은 그림에서 보듯이 변산이 매우 심하다. 이는 자발적인 신경활동을 반영하는 자연스러운 현상이지만, 추후의 분석을 위해서 일정 영역 당 표준점수 환산과 같은 수학적인 처치를 요구한다. 본 연구자들은 이러한 변산이 심한 자료로부터 신경활동 개시 잠재기나 최대 잠재기 등을 추정하고 행동 반응과의 시간적 관련성을 분석하기 위하여 추가적인 처치를 가하였다. 신경활동 원자료에 대하여 Savitzky-Golay method를 이용하여 smoothing curve를 구하였고 multiple Gaussian functions를 이용하여 fitting curve를 구하였다. 그림에서 신경활동 영역 위에 겹쳐 그려진 선들 중 흐린 선이 smoothing curve이고 진한 선이 fitting curve이다.

smoothing curve 자료를 이용하여 각 신경활동과 행동반응 간의 교차상관을 구하여 신경활동의 잠재기를 추정하였다(그림 5). 그 결과 학습이 완료된 회기D에서 CR시행 INT의 신경반응은 행동반응에 비해 평균 $52.6(\pm 18.4\text{표준편차})\text{msec}$ 선행하였으며, DAO의 신경반응은 $37.3(\pm 20.0)\text{msec}$ 앞서 나타남을 알 수 있었다.

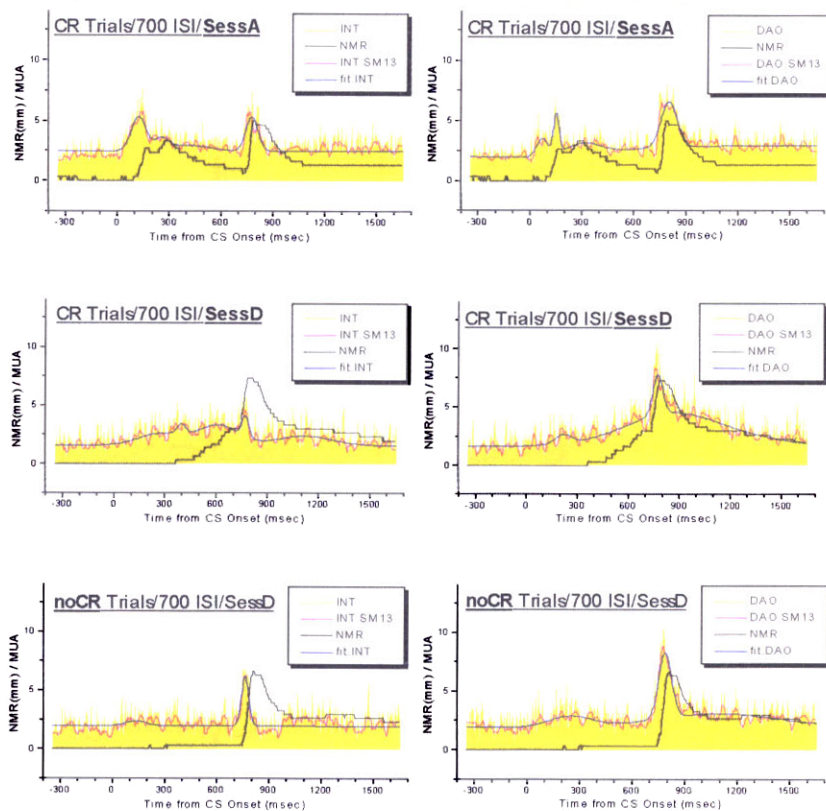


그림 6. 700msec 혼적조건화 첫 회기의 CR시행과 noCR시행 그리고 마지막 회기의 CR시행

700msec ISI로 훈련을 전이시키자 초반에는 300msec ISI에서 습득한 신경반응을 CS 초기에 나타내었다. 훈련이 진행됨에 따라 적응적 CR을 학습하면서, INT와 DAO의 신경반응 또한 CS 후반에 증가하여 CR을 선행하여 모방하는 전형적인 양상을 나타내었다. 700msec 조건화에서 선정된 네 회기 동안 CR시행의 INT 신경반응과 마지막 회기의 noCR 시행의 INT 신경반응을 행동반응과 함께 그림 6에 도시하였다. 300msec ISI 훈련에서와 마찬가지로 INT의 경우 noCR시행에서는 학습과 관련된 신경반응이 관찰되지 않았다

논 의

INT와 DAO의 신경활동을 동시에 기록하여, 그 자료를 제시된 자극과 동물이 수행한 반응에 따라 네 범주로 분류해서 분석한 본 연구의 결과를 요약하면 다음과 같다. (1) INT와 DAO 모두에서 CR을 학습함에 따라 CR에 선행하여 CR을 예고하는 식

의 학습과 관련된 신경활동이 관찰되었다. 그러나 그러한 학습관련 신경활동은 주로 CR시행에 국한되어 나타났다. (2) INT의 경우 CR시행에서는 회기가 거듭될수록 CS기에 신경활동이 크게 증가하였으나, noCR시행에서는 CS기에 신경반응이 커지지 않았다. DAO의 CS기 신경활동은 noCR시행에서도 다소 증가하였으나 CR시행에 비해서는 극히 미약한 것이었다. (3) CR시행에서 행동반응에 선행하여 나타나는 INT의 학습관련 신경활동은 DAO의 학습관련 신경활동보다 앞서 나타났다.

소뇌 중간핵은 순막 고전적 조건화에 있어서 필수적으로 요구되는 구조물로, 이 부위의 신경활동은 조건화의 지표로 여겨진다. 여러 연구들에서 조건화동안 INT의 신경활동을 기록하여 CR에 선행하여 CR의 모양과 시간성을 예고하는 식으로 나타나는 신경반응을 학습과 관련된 신경활동으로 보았다(McCormick et al., 1982; Chapman, Steinmetz, Sears, & Thompson, 1990). 이러한 신경활동은 INT 손상 실험 결과와 함께 순막조건화에서 INT의 역

활을 확고히 지지해 주고 있다. 그러나 그러한 활동은 한 회기 전반에 걸쳐 신경활동을 누적한 것이거나(McCormick et al., 1982) 한 구획의 신경활동을 누적한 것이다(Chapman et al., 1990).

본 연구에서도 전체 회기의 자료를 한꺼번에 누적하면 그와 같은 활동이 관찰된다. 그러나 동물이 CR을 수행한 시행들과 CR을 수행하지 않은 시행들을 나누어서 신경반응을 관찰해보면, 각 범주에서 다른 양상의 활동이 나타났다. 조건화가 이루어지면서 CR시행에서는 학습과 관련된 INT 신경반응이 CS기에 점차 사라졌으나, CR을 수행하지 않은 배쌍시행인 noCR시행에서는 그렇지 않았다.

학습 후 CS기에 나타나는 INT의 반응은 조건 반응을 학습함에 따르는 기억 흔적이라고 가정된다(Thompson, 1987). 본 연구에서 CR시행에 나타나는 INT의 신경반응은 이를 지지해준다. 그러나 noCR시행에서의 INT반응은 그외의 해석을 가능하게 한다. CR을 수행하지 않은 시행에서 INT의 반응이 나타나지 않는 것은 달리 말해서 INT가 반응을 하지 않을 때에는 CR이 수행되지 않는다는 것이다. 이는 INT가 CR의 수행에 직접적으로 관여함을 의미한다. 즉, 소뇌로부터 운동 수행 명령이 뇌간의 하위 영역으로 전달되어야 CR이 출력된다고 볼 수 있다. 따라서 INT에 CR에 대한 고정적이고 영구적인 기억이 저장된다고보다는, 각각의 시행에 있어서 이전 구조물에서 처리된 입력 정보와 INT에서 처리된 정보에 따라 CR관련 활동이 출력된다고 보아야 할 것이다. 그 신호가 미흡하면 CR이 출력되지 않게 된다.

본 연구에서 300msec ISI 지연 조건화와 700msec ISI 흔적 조건화를 사용하여 훈련을 시키면서 DAO의 신경활동을 기록한 결과, DAO에서 CS기에 학습과 관련된 전형적인 신경반응이 관찰되었다. DAO는 학습 초기에는 CS에 대해 반응하지 않다가 학습이 진행되어갈수록 CS기 후반에 CR에 선행하여 신경활동이 증가하였다. CR시행에서는 매우 크게 증가하였으며, INT와 달리 noCR시행에서도 어느정도 반응이 증가하였다. DAO 신경활동의 증가는 INT 증가에 뒤이어 나타났다.

McCormick, Lavond, Thompson(1983)은 순막조건화동안 뇌간의 여러핵에서 신경반응을 기록한 연구에서 하올리브에서 'M'유형 활동을 관찰한 바 있다. 순막조건화를 담당하는 신경 실체에 대하여 비교적 고정적인 입장을 지니기 이전에 실시한 기록 연구에서 그들은 학습된 행동반응의 개시와 밀접하

게 연관되어 US 개시 이전에 시작되는 활동을 'M'유형 활동이라 명명하며, 공기분사에 의해 유발되는 'A'유형 활동 및 소리자극에 의해 유발되는 'T'유형 활동과 구분하였다. 하올리브에서는 매우 큰 'M'유형 활동이 기록되어 학습된 행동에 대한 모델을 보여주었다. 이들은 뇌간의 몇몇 핵에서 기록되는 이러한 유형의 활동이 학습된 행동반응의 수행을 조절하는 구조물인 소뇌와의 직접적인 연결에서 비롯된다고 보았다.

그 후 충분히 학습을 마친 동물의 하올리브를 손상하고 행동반응에 미치는 영향을 살펴본 연구들(McCormick et al., 1985; Yeoc et al., 1986)에서 여러 가지 결과가 혼재하면서, US를 소뇌로 전달하는 하올리브의 기능 이외에 하올리브와 소뇌간의 상호연결을 통한 소뇌 조절 기능이 부각되었다. 이러한 견해는 최근 신경계의 동적 특성에 관한 접근(한승기, 1997)으로, 신경활동의 단순한 발화여부나 발화 정도와 같은 비율 영역(frequency domain)에 대한 분석 뿐만 아니라 시간적 발화패턴 등의 시간 영역(time domain)을 고려하여 신경계의 동기화 특성을 분석하는 여러 연구들에 의해 지지된다(Sugihara, Lang, & Linás, 1995; De Zeeuw et al., 1996).

Linás(1993)에 따르면 하올리브는 전기적 결합 진동자(electro-tonically coupled oscillator)의 특성을 지님으로써 등상섬유와 측부지를 통해 소뇌에 리드미컬한 활동을 제공해주는 박자잡이(pacemaker) 역할을 한다. 소뇌피질 퍼킨지세포의 이러한 동기적인 발화는 소뇌 심부핵으로 강한 억제성 시냅스후 전위를 발생시키고, 그 결과 소뇌심부핵은 하올리브로 억제성 되먹임을 보내게 된다. 이러한 억제성 되먹임이 동적으로 하올리브의 결합정도를 조절하게 되고 특정 시간대에 활성화되는 하올리브 박자잡이 뉴런집단을 다시 결정해 주는 것이다.

하올리브의 리드미컬한 활동과 고도로 숙련된 운동간의 관련성이 밝혀지면서(Welsh, Lang, Sugihara, & Linás, 1995), 이들은 이와 같이 운동을 실행하는 동안 계속적으로 변화하는 하올리브-소뇌 시스템이 운동을 조정하며, 움직이는 자체에 의하여 변화하는 하올리브의 운동 표상이 운동 기억이라고 제안하였다. 본 연구자들도 여러 채널에서 동시에 기록한 다단위 신경활동 자료에 대하여 이제까지의 표준점수 및 잠재기 분석과 같은 비율적 분석 이외에 신경활동 간의 동기화나 발화패턴의 주기성등의 시간적 분석을 행하여 각 구조물들의 동적 특성을 연구할 계획이다.

한편, Sears와 Steinmetz(1991)는 배측하올리브부핵의 문내측영역(rmDAO)에서 조건화동안 US에 의해 유발되는 신경활동이 조건화가 진행되면서 비배쌍 시행에 비해 배쌍 시행에서 점차 감소하는 양상을 보임을 보고하였다. 이들은 조건화에 따른 rmDAO의 활동 감소를 Rescola-Wagner 모델에 입각하여 rmDAO가 CS-US간의 연합 강도를 결정하는 요인인 US에 대한 기대정도를 부호화 하는 것이라고 하였다. 그러나 본 연구에서는 그러한 활동 변화가 관찰되지 않았다. 몇 가지 점에서 이러한 차이를 고려해 볼 수 있겠다. 우선 Sears등이 사용한 전극의 임피던스는 1-2M Ω 으로 우리가 사용한 전극(200-300k Ω)에 비해 높은 것으로, 그들이 기록한 부위에서는 공기분사 자극에 대하여 한두개 정도의 스파이크 반응 만이 측정되었다. 또한 그런 반응을 보이는 부위는 DAO에서 극히 한정된 부분이었다. 본 연구에서 시행이 거듭될수록 CS기에 학습관련 신경활동이 나타나고 US에 대한 반응이 지속되는 양상을 보인 부위는 DAO 전반에 걸쳐 있으며 대부분의 기록 부위에서 유사한 유형의 안정적인 반응을 보였다. DAO는 첫회기부터 US에 대하여 100msec 이상 지속되는 강한 반응을 보였고 후속 회기에서 US에 대한 반응이 줄어들지 않았다. 700msec 혼적 조건화로 훈련을 전이하여 동일한 US에 대한 기대가를 변화시킨 경우에도 DAO의 US에 대한 반응은 증가하지 않았다.

본 연구에서 DAO의 신경활동이 학습관련 활동을 보임에 따라, DAO가 단순히 US정보를 소뇌로 전달하는 이외에도 조건화와 관련되어 어떤 기능을 담당하며 그 기능은 순막 고전적 조건화에 결정적인 구조물인 소뇌와 밀접히 관련되어 있음이 시사된다. 소뇌 중간핵은 상소뇌각을 거쳐 직접 하올리브로 투사하며(Anguat et al., 1989) 적핵이나 삼차 신경척수교핵을 거쳐 간접적으로 하올리브에 영향을 미칠 수 있다(Davis et al., 1986). 소뇌에서 출력되는 CR정보를 되먹임받아 변화하는 DAO의 활동은 다시 소뇌로 전달되어 조건화에 기여하게 될 것이다.

DAO의 학습 관련 활동은 INT와는 달리 CR시행 뿐만 아니라 noCR시행에서도 관찰되었다. 이는 DAO의 활동이 각각의 시행별로 INT의 영향을 받아 일어나는 것이 아니라 DAO 자체에 가소성이 생김을 시사한다. noCR시행에서도 DAO는 CR에 대한 처리를 개시하지만 INT에서 CR신호가 출력되지 않으면 CR의 행동적 수행과 DAO의 후속 처

리가 영향을 받을 수 있다.

소뇌 중간핵과 배측하올리브부핵에서 순막 조건화동안 동시에 신경다단위활동을 기록하여 CR시행과 noCR시행, CS시행, US시행으로 나누어 신경활동 자료를 분석한 본 연구에서 INT는 CR을 수행한 시행에서만 학습 관련 신경활동을 보였으며, DAO는 CR시행 뿐 만 아니라 그보다는 작은 활동이었지만 noCR시행에서도 학습관련 활동을 나타내었다. US에 대한 DAO의 반응은 각 시행간에 차이가 없었고 학습이 진행됨에 따른 변화도 없었다. 이러한 결과는 INT가 CR수행에 직접적으로 관여하며 DAO 또한 조건화에 따른 신경가소성을 지니는 뇌간 구조물임을 보여준다. 조건화가 진행되면서 보다 상위 구조물인 소뇌에서 처리된 학습 관련 정보가 하위 구조물인 뇌간으로 전이되어 반응을 자동화시키고 반응의 효율성을 극대화 시키는 것 같다.

참고문헌

- 김기석(1990). 순막조건반응의 고전적 조건화와 그 신경회로. *한국심리학회지:일반*, 9(1), 1-15.
- 김현택, 류재욱, 김기석(1991). 순막조건화에서 소뇌피질의 기능. *한국심리학회지:생물 및 생리*, 3, 134-149.
- 류재욱, 조선영, 김현택(1995). 고전적으로 조건화된 해마 신경다단위활동의 적핵상후 변화. *한국심리학회지:생물 및 생리*, 7, 78-91.
- 한승기(1997). 생물학적 신경회로망과 비선형 동력학. *JCEANF '97 : 인공지능, 신경망 및 퍼지시스템 종합학술대회*, 17-33.
- Andersson, G., Garwicz, M., & Hesslow, G.(1988). Evidence for a GABA-mediated cerebellar inhibition of the inferior olive in the cat. *Brain Research*, 472, 450-456.
- Anguat, P., & Sotelo, C.(1989). Synaptology of the Morphological Correlates of bilateral synchrony in the rat cerebellar cortex. *Journal of Neuroscience*, 16(10), 3412-3426.
- Berthier, N. E., & Moore, J. W.(1986). Cerebellar purkinje cell activity related to the classical conditioned nictitating membrane response. *Experimental Brain Research*, 63, 341-350.
- Bracha, V., Stewart, S. L., & Bloedel, J. R.(1993). The temporal inactivation of the red nucleus affects performance of both conditioned and unconditioned nictitating membrane responses in the rabbit. *Experimental Brain Research*, 94, 225-236.
- Chapman, P. F., Steinmetz, J. E., Sears, L. L., and Thompson, R. F.(1990). Effects of lidocaine injection

- in the interpositus nucleus and red nucleus on conditioned behavioral and neuronal responses. *Brain Research*, 537, 149-156.
- Davis, K. D., & Dostrovsky, J. O.(1986). Modulatory influences of red nucleus stimulation on somatosensory responses of cat trigeminal subnucleus oralis neurons. *Experimental Neurology*, 91, 80-101.
- De Zeeuw, C. I., Lang, E. J., Sugihara, I., Ruigrok, T. J. H., Eisenman, L. M., & Linás, R.(1996). Morphological Correlates of bilateral synchrony in the rat cerebellar cortex. *Journal of Neuroscience*, 16(10), 3412-3426.
- Gibson, A. R., Robinson, F. R., Alam, J. & Houk, J. C.(1987). Somatotopic alignment between climbing fiber input and nuclear output of the cat intermediate cerebellum. *Journal of Comparative Neurology*, 260, 362-377.
- Gomezano, L., Schneiderman, N., Deaux, E. G., & Fuentes, I.(1962). Nictitating membrane: Classical conditioning and excitation in the albino rabbit. *Science*, 138, 33-34.
- Gould, T. J., Sears, L. L., & Steinmetz, J. E.(1993). Possible CS and US pathways for rabbit classical conditioning. I. Electrophysiological evidence for projections from the pontine nuclei and inferior olive to cerebellar cortex and nuclei. *Behavioral Neural Biology*, 60, 172-185.
- Harvey, 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.
- Kennedy, P. R.(1990). Corticospinal, rubrospinal and rubro-olivary projection: a unifying hypothesis. *TINS*, 13, 474-479.
- 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.
- Linás, R. & Welsh, J. P.(1993). On the cerebellum and motor learning. *Current Opinion in Neurobiology*, 3, 958-965.
- Marek, G. J., McMaster, S. E., Gomezano, I., & Harvey, J. A.(1984). The role of the accessory abducens nucleus in the rabbit nictitating membrane response. *Brain Research*, 299, 215-229.
- McCormick, D. A., Clark, G. A., Lavond D. G., & Thompson, R. F.(1982). Initial localization of the memory trace for basic form of learning. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.*, 79, 2731-2735.
- McCormick, D. A., Lavond, D. G., & Thompson, R. F.(1983). Neuronal responses of the rabbit brainstem during performance of the classically conditioned nictitating membrane(NM)/eyelid response. *Brain Research*, 271, 73-88.
- 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.
- Sears, L. L. & Steinmetz, J. E.(1990). Acquisition of classically conditioned-related activity in the hippocampus is affected by lesions of the cerebellar interpositus nucleus. *Behavioral Neuroscience*, vol. 104, no.5, 681-692.
- Sears, L. L., Logue, S. F., & Steinmetz, J. E.(1996). Involvement of the ventrolateral thalamic nucleus in rabbit eyeblink conditioning. *Behavioral Brain Research*, 74, 105-117.
- Steinmetz, J. E., Lavond, D. G. & Thompson, R. F.(1989). Classical conditioning of rabbits using pontine nucleus stimulation as a conditioned stimulus and inferior olive stimulation as an unconditioned stimulus. *Synapse*, 3, 225-233.
- Steinmetz, J.E., & Sengelaub, D. R.(1992). Possible conditioned stimulus pathway for classical eyelid conditioning in rabbits. *Behavioral Neural Biology*, 57, 103-115.
- Sugihara, I., Lang, E. J. & Linás, R.(1995). Serotonin modulation of inferior olive oscillations and synchronicity; A multiple-electrode study in the rat cerebellum. *European Journal of Neuroscience*, 7, 521-534.
- Thompson, R. F.(1986). The neurobiology of learning and memory. *Science*, 233, 941-947
- Weisz, D. J., Clark, G. A., & Thompson, R. F.(1984). Increased responsivity of dentate granule cells during nictitating membrane response conditioning in rabbit. *Behavioural Brain Research*, 12, 145-154.
- Welsh, J. P., Lang, E. J., Sugihara, I., & Linás, R.(1995) Dynamic organization of motor control within the olivocerebellar system. *Nature*, 374, 453-457.
- Welsh, J. P., and Harvey, J. A.(1989a). Cerebellar lesions and the nictitating membrane reflex: performance deficits of the conditioned and unconditioned response. *Journal of Neuroscience*, 9, 299-311.
- Welsh, J. P., and Harvey, J. A.(1989b). Modulation of conditioned and unconditioned reflexes. *Experimental Brain Research Series*, 17, 374-379.
- Yeo, C. H., Hardiman, M. J., & Glickstein, M.(1985). 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.(1986). Classical conditioning of the nictitating membrane response of the rabbit:IV. Lesions of the inferior olive. *Experimental Brain Research*, 63, 81-92.

The Multiple Unit Activities of Cerebellar Interpositus Nucleus and Dorsal Accessory Inferior Olive Recorded Simultaneously During Classical Conditioning of Rabbit's Nictitating Membrane Response

S. Y. Cho*, E. H. Bæeg*, H. T. Kim*, and S. Y. Hyun**

*Dept. of Psychology, Korea Univ., 136-701, Seoul, Korea,

**Dept. of Psychology, Taegu Univ., 713-714, Taegu, Korea

We recorded multiple-unit activities(MUAs) in the cerebellar interpositus nucleus(INT) and the dorsal accessory inferior olive(DAO) simultaneously to investigate dynamic functional cooperation of cerebellum and brain stem structures. MUAs were monitored during delay conditioning(ISI=300msec) following trace conditioning(ISI=700msec). Behavioral and neuronal data were divided into four categories based on the stimuli presented and the response performed in each trials :CS(Conditioned Stimulus)-only trials, US(unconditioned stimulus)-only trials, CR(conditioned response)-paired trials, and noCR-paired trials. We made the smoothing curve by Savitzky-Golay method and the fitting curve by multiple Gaussian functions from 4 msec time bin histogram of neuronal activities to compare and analyze time correlation. In both sites, conditioning-related activities were developed in CR-trials but not in noCR-trials. These activities are preceding behavioral CR with different time lead. Rather than an increase, CS period-activities of INT in noCR trials are reduced after CR acquisition. INT may participate directly in motor command for CR. DAO showed large US-evoked activity, which remained unchanged during training. The presence of CR-related DAO activity suggests that DAO may receive CR-related feedback information from cerebellum and provide CR-related information to cerebellum. Conditioning-related neuronal activities established in DAO were lasting continuously. These activities suggest that lower level of brain structures involve actively in producing CR.