

## 어린 시기(Early-life)의 반복된 경련과 해마부 GABA<sub>A</sub> 수용체의 변화

동국대학교 의과대학 소아과학교실

김 두 권

### Recurrent Early-Life Seizures and Changes in GABA<sub>A</sub> Receptors Expression in Hippocampus

Doo Kwun Kim, M.D.

Department of Pediatrics, Dongguk University College of Medicine, Gyeongju, Korea

The immature brain differs from the adult brain in its susceptibility to seizures, seizure characteristics, and responses to antiepileptic drugs. Gamma ( $\gamma$ )-aminobutyric acid(GABA) is the predominant inhibitory neurotransmitter in the adult brain. GABA exerts its main action through GABA<sub>A</sub> receptors, which are coupled to a ligand-gated chloride channel. The receptor protein is a pentameric structure composed of multiple subunits of different families and isoforms. The subunit combinations vary in different brain regions and cell types and determine the functional and pharmacological properties of the receptor. The molecular composition of GABA<sub>A</sub> receptors is developmentally regulated with associated changes in functional properties. In the developing brain, the delayed onset of functional GABAergic inhibition, and the overabundance of excitatory receptors make the immature brain quite susceptible to seizures. Recurrent seizures in early-life may contribute to seizure susceptibility and epileptogenesis, although the pattern of seizure-induced injury is age-related. The changes of GABA<sub>A</sub> receptors expression in tetanus toxin-induced seizure model in immature rat hippocampus are different from human temporal lobe epilepsy and experimental model in adult rat. These changes in the immature brain may reflect the induction of compensatory or homeostatic neuronal processes. (Korean J Pediatr 2004;47:596-603)

**Key Words** : Early-life, Seizure, GABA<sub>A</sub> receptors, Hippocampus

### 서 론

신생아기나 영·유아기와 같은 어린 시기(early-life)의 미성숙 뇌는 성인에 비하여 경련 감수성(seizure susceptibility)이 높고 경련의 특징과 항경련제에 대한 반응 등이 성인의 뇌와 차이가 있다. 특히 신생아는 출산 과정에 외상, 저산소성 허혈성 손상, 두개내 출혈, 감염 등으로 인하여 생후 1개월 동안이 경련 발생의 위험이 높은 시기이다. 그리고 신생아기에 선천성 뇌 기형, 선천성 대사 이상, 유전성 대사질환 등 많은 병적 과정이 존재할 수 있기 때문에 반복성 경련을 경험할 가능성이 매우 높다. 이러한 미성숙 뇌에서 발생한 경련은 발달과정에 있는 뇌에 영

향을 줄 수 있고 그 결과 후에 간질발생의 원인이 될 수도 있다.

Gamma ( $\gamma$ )-aminobutyric acid(GABA)는 중추신경계에서 경련을 억제하는 중요한 신경전달물질로서 주로 GABA<sub>A</sub> 수용체를 통하여 작용을 나타내기 때문에 GABA<sub>A</sub> 수용체의 기능에 장애가 발생할 경우 경련이 유발될 수 있다. 따라서 어린 시기의 미성숙 뇌가 발달과정에서 신경세포에 작용하는 수용체의 변화와 미성숙 뇌에서 경련의 감수성에 영향을 주는 요인 및 경련의 과정이나 경련 후 GABA<sub>A</sub> 수용체에 변화에 대하여 알아보는 것이 필요하다.

### 어린 시기의 미성숙 뇌는 성인의 성숙한 뇌와 다르다

미성숙 뇌는 성인의 뇌에 비하여 경련에 대한 감수성이 높게 나타나며 미성숙 뇌를 대상으로 한 동물실험에서도 성숙 뇌에 비하여 높은 경련 감수성을 나타낸다. 또한 출생 후 1년 내에 가장 높은 경련의 발생률을 나타내고 출생 후 10년 내에 대부분

접수 : 2004년 5월 21일, 승인 : 2004년 5월 24일  
 책임저자 : 김두권, 동국대학교 의과대학 소아과학교실  
 Correspondence : Doo Kwun Kim, M.D.  
 Tel : 054)770-8254 Fax : 054)741-2093  
 E-mail : pedepi@hotmail.com

의 간질이 발생한다. 항경련제에 대한 반응에도 차이가 나타나며 간질 중첩증의 경과 중에 초기 치료제로 사용되는 phenobarbital과 같은 약물은 성인에서는 강력한 항경련 효과를 보이지만 신생아에서는 경련억제 효과가 약하게 나타나는 약물저항을 관찰할 수 있고 뇌가 미숙할수록 변화도 다양하게 나타난다<sup>1)</sup>. 그리고 미성숙 뇌에서 경련에 의하여 유발된 해마부의 신경세포 손상이나 이끼섬유의 발아가 성인에 비하여 상대적으로 미약하지만 반복적인 어린 시기의 경련(early-life seizure)이 뇌의 활동-의존성 발달 진행(activity-dependent development process)을 방해할 수 있다. 특히 신경세포생성(neurogenesis), 신경세포 이주(migration), 시냅스(synapse)의 생성과 안정화, 수용체(receptor), 수송체(transporter), 이온 통로(ion channel) 등의 발현에 영향을 줄 수 있다<sup>2)</sup>.

**미성숙은 경련에 민감하다**

성숙한 뇌에서 글루탐산(glutamate)은 일차적 흥분성 신경전달물질이며 두 종류의 이온친화성 수용체(ionotropic receptor)와 대사친화성 수용체(metabotropic receptor)에 작용하고 이온친화성 글루탐산 수용체는 N-methyl-D-aspartate(NMDA), alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol propionic acid (AMPA), kainic acid(KA)의 3가지의 수용체가 있다. 반면 GABA는 중요한 억제성 신경전달물질이며 발달과정에서 억제성과 흥분성 신경전달물질의 수용체는 기능적으로 동시에 표현되지 않는다. 동물을 대상으로 한 실험모델에서 출생 초기에 중요한 발달창(developmental window)이 있는데 출생 후 2-3주에 해당하며 이 시기는 사람과 비교해 볼 때 해부학적, 생리학적, 생화학적 매개변수(parameter) 등이 만삭아에 해당된다. 이 시기에 시냅스 형성(synaptogenesis)이 일어나고 신경의 가소성(neuronal plasticity)이 성숙한 동물에 비하여 증가하며 시냅스의 밀도(synaptic density)가 지나치게 초과하여 증가된다. 특히 흥분성 시냅스가 과도하게 형성되어 발달의 초기에 국소 회로의 흥분성 시냅스의 과잉을 초래한다. 발달과정에서 신경세포가 활성화도에 의존하여 성숙되면서 결측삭(axon collateral)과 부수적인 시냅스는 퇴보한다.

발달창 시기 동안에 GABA와 글루탐산 수용체가 변화를 통하여 성숙단계로 이행하게 되는데 출생 2주에 글루탐산 수용체의 발현이 가장 증가한다. NMDA 수용체는 1주 말에 최고치에 도달하고 AMPA 수용체는 출생 10일 경에 최고치에 도달한 다음 점점 감소하여 3주경에 어른 수준에 도달한다. KA 수용체는 조금 늦게 시작하여 점점 증가되며 4주경에 어른 수준에 도달하게 된다. 반면 GABA<sub>A</sub> 수용체는 출생시에 이미 충분히 발현되어 있지만 GABA에 대한 반응이 성숙된 신경세포에서 나타나는 과분극(hyperpolarization) 상태와는 반대로 탈분극(depolarization) 반응을 매개하여 흥분성 신경전달 기능을 나타내고 이 흥분성은 첫 주 말까지 급격히 감소하게 되며, GABA의 억제성

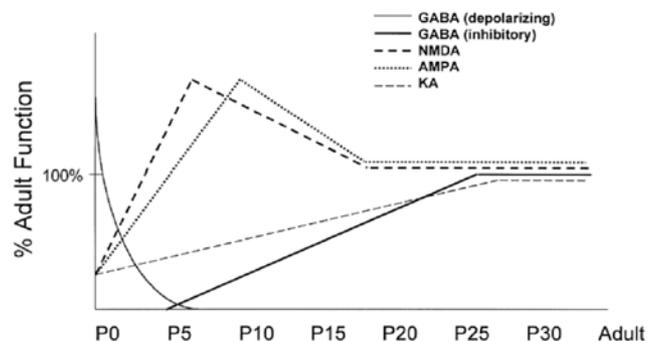
신경전달 기능은 첫 주 말부터 서서히 증가하여 4주 말경에 어른 수준에 이르게 되어 결국 출생 초기의 발달창 시기에는 시냅스의 흥분성이 억제성보다 우세하다(Fig. 1).

이와 같이 발달 초기에 GABA<sub>A</sub> 수용체가 흥분성 신경전달 작용을 나타내는 것은 출생 초기에 미성숙 신경세포 내의 높은 Cl<sup>-</sup> 농도에 기인하는데 이러한 현상은 부분적으로 K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> 공동전달체(cotransporter)인 KCC2의 발현이 지연되어 세포 내에 Cl<sup>-</sup> 농도가 증가되기 때문이다. GABA<sub>A</sub> 수용체가 활성화되어 GABA<sub>A</sub> 통로가 열리면 오히려 세포 내의 높은 Cl<sup>-</sup> 농도 때문에 Cl<sup>-</sup>가 세포 밖으로 나가고 탈분극 상태가 됨으로써 신생 신경세포에서는 성인에서 보이는 과분극과 달리 오히려 탈분극이 일어난다<sup>3)</sup>. 결과적으로 미성숙 뇌에서 GABA<sub>A</sub> 수용체의 탈분극은 NMDA 통로로부터 전압 의존성 Mg<sup>2+</sup>을 제거하기에 충분하고 그 후의 전압 의존성(voltage-dependent) Na<sup>+</sup>와 Ca<sup>2+</sup> 통로를 활성화시킨다.

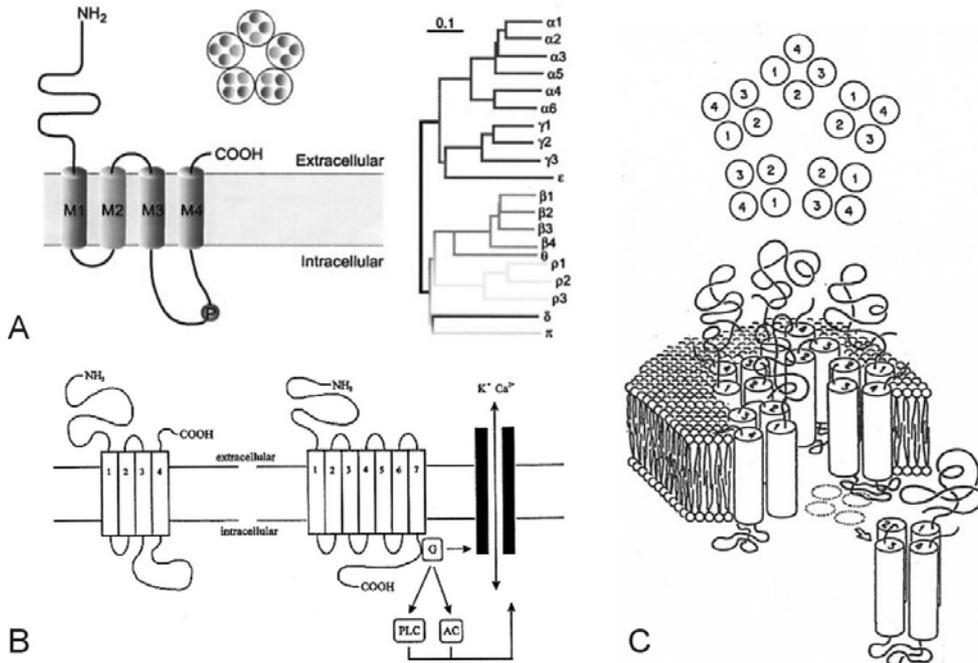
쥐를 대상으로한 연구에서 GABA의 탈분극 효과는 첫 주가 끝날 때 과분극 상태로 바뀌기 시작하기 때문에 신생아 경련을 치료하기 위해 사용되고 있는 phenobarbital과 benzodiazepine 계열의 약물들은 큰 효과는 없지만 GABA<sub>A</sub> 수용체가 흥분성과 억제성의 이중적인 기능을 나타내기 때문에 경련을 악화시키지는 않는다. 성숙한 뇌에서 AMPA 수용체는 글루탐산에 반응하여 수용체가 열리면서 Na<sup>+</sup>이 세포 내로 들어간다. 그러나 신생아기에서 AMPA 수용체는 존재하지만 기능을 나타내지는 않는다. 따라서 발달 초기에 GABA의 탈분극 효과와 후연접성 억제체의 지연된 성숙이 흥분성 수용체의 과잉과 맞물려서 미성숙 뇌가 경련하기 쉬운 특징을 나타내게 된다<sup>4)</sup>.

**GABA 수용체의 구조**

GABA 수용체는 GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> 및 GABA<sub>C</sub> 수용체로 구분할 수 있으며 GABA의 생리적인 작용은 대부분 GABA<sub>A</sub> 수용체를 통해서 나타난다(Fig. 2A-2C). GABA가 후연접막(post-synaptic membrane)에 있는 GABA<sub>A</sub> 수용체에 작용하면 Cl<sup>-</sup>이



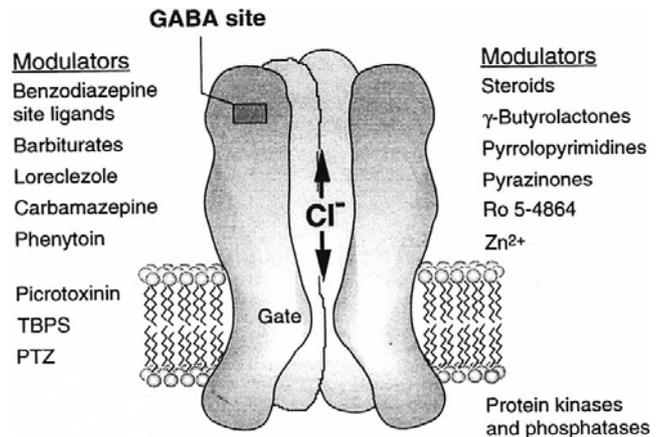
**Fig. 1.** Schematic depiction of the maturational changes in glutamate and  $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA) ionotropic receptor expression and function in the developing rat forebrain<sup>1)</sup>.



**Fig. 2.** (A) Topological organization of GABA<sub>A</sub> Receptors(modified from reference 6). (B) Schematic representation of individual subunits of GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>C</sub>(left), and GABA<sub>B</sub> receptor (right)(modified from Enz R and Cutting GR, 1998). (C) Model of GABA<sub>A</sub> receptor-chloride ion channel protein complex(modified from Macdonald RL and Olsen, 1994). G:G protein, PLC: phospholipase C, AC:adenylyclase.

은 통로가 열리고 Cl<sup>-</sup> 이온이 세포 내로 유입되면 전기적으로 과분극 상태가 되어 흥분성이 억제된다.

GABA<sub>A</sub> 수용체는 대단히 복잡한 리간드-관문(ligand-gated) 이온 통로로서 α1-6, β1-4, γ1-3, ρ1-3, δ, ε, π 및 φ 등으로 알려진 8종류의 아단위(subunit)로 구성되어 있고 서로 다른 아단위들 간의 조합은 다른 기능을 나타낸다<sup>5)</sup>. 기본적으로 GABA<sub>A</sub> 수용체는 α, β, γ 아단위로 구성되어 있고, γ 아단위는 δ, ε, π 아단위로 대체될 수 있으며 β 아단위는 φ 아단위와 대체될 수 있다. ρ 아단위는 망막세포에 존재하며 동일 아단위 내에서 동질 또는 이질의 ρ 아단위끼리 복합체를 구성할 수 있고 GABA<sub>A</sub> 수용체를 구성하는 다른 아단위들과 결합하지 않아서 GABA<sub>C</sub> 수용체로 분류되고 있다. 한편 GABA<sub>B</sub> 수용체는 GABA<sub>A</sub> 수용체와는 다르게 Ca<sup>2+</sup>이나 K<sup>+</sup> 이온 통로로 작용하며 G-단백질에 의하여 조절된다. GABA<sub>A</sub> 수용체의 분자구조는 275 kDa의 이종오합체 당단백질(heteropentameric glycoprotein)의 분자 구조로 되어 있으며 가장 흔한 조합은 두개의 α, 두개의 β, 한개의 γ 아단위로 구성된다. GABA<sub>A</sub> 수용체 전류(current)는 barbiturate, benzodiazepine, neurosteroid, bicuculline, picrotoxin, zinc 등의 알로스테릭 조절자(allosteric modulator)에 의하여 조절되며(Fig. 3) 아단위의 구성에 따라 조절자(modulator)의 감수성이 달라진다. 예를 들면 benzodiazepine α1, α2, α3, α5, β 및 γ2 아단위가 있을 때 감수성이 증가하고, 아연(Zn)은 α1±γ(α1 and/or γ), α4, α5 및



**Fig. 3.** Schematic illustration of a GABA<sub>A</sub> receptor listing various allosteric modulator. TBPS(t-butylbicycloporthionate) and PTZ(pentylene tetrazole)(modified form Mohler H, et al. 1995).

α6 아단위가 있을 때, 그리고 loreclezole은 β2, β3 아단위가 있을 때 감수성이 증가하게 된다.

세포막 외부에 긴 N-말단(terminal)과 짧은 C-말단, 4개의 M1-4로 형성되는 막영역(transmembrane domain)들로 구성되고 M3과 M4 영역 사이에 세포 내 인산화부위(phosphorylation site)가 존재하며 M2 영역은 수용체 통로(receptor gate)와 선택성(selectivity)에 중요한 역할을 한다<sup>6)</sup>(Fig. 2A-2C).

**GABA의 대사과정**

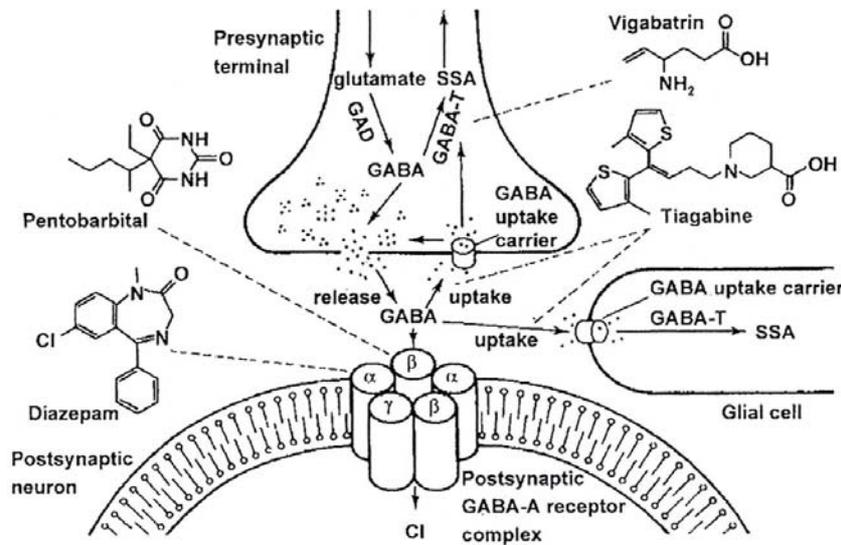
GABA는 GABA성 전연접 축삭말단(GABAergic presynaptic axon terminal)에서 글루탐산(glutamic acid)이 글루탐산 탈카르복실라제(glutamic acid decarboxylase, GAD)에 의하여 탈카르복실화(decarboxylation)됨으로써 생성된다. 축삭말단(axon terminal)에서 연접틈새(synaptic cleft)로 유리된 GABA는 다시 주위의 GABA 수송체(transporter, GAT)에 의하여 성상세포(astrocyte)나 축삭말단으로 재흡수된다. 성상세포로 흡수된 GABA는 GABA- $\alpha$ -oxoglutarate transaminase(GABA-T)에 의하여 succinic semialdehyde(SSA)로 전환되고 이것은 다시 글루탐산이 됨으로써 GABA 단락(shunt)을 형성한다. 그러나 성상세포에는 GAD가 없어서 글루탐산으로부터 GABA를 만들 수 없기 때문에 글루탐산은 글루타민 합성효소(glutamine synthetase)에 의하여 글루타민으로 전환된 다음 특수한 수송체에 의하여 축삭말단으로 전이되고 그 후에 글루탐산으로 전환된 후 GAD에 의하여 GABA가 형성되는데 이 과정은 시간이 소요되기 때문에 느리게 이용된다. 반면 GAT에 의하여 축삭말단으로 흡수된 GABA는 GABA 단락 과정을 거쳐 성상세포에서 일어나는 똑같은 과정을 거쳐서 생성되거나 연접소포 안으로 바로 재사용됨으로써 빠르게 이용될 수 있어서 계속적으로 GABA를 공급할 수 있게 된다.

Phenobarbital이나 diazepam과 같은 약물은 GABA 수송체와 복합체를 형성하는 barbiturate와 benzodiazepine(BDZ) 수송체를 통해서 작용을 나타내게 되는데 barbiturate는 Cl 통로를

더 오래 열려있게 하며, BZD는 GABA가 GABA 수송체에 잘 부착하도록 Cl 통로의 열리는 빈도를 증가시킴으로써 GABA 수송체의 기능을 촉진시킨다. 또한 vigabatrin(VGB)은 GABA-T를 비가역적으로 억제함으로써 GABA의 분해를 억제하고, tiagabine(TGB)는 GABA의 재흡수를 차단시킴으로써 연접틈새 내의 GABA의 농도를 증가시킨다<sup>7)</sup>(Fig. 4).

**해마부에서 GABA<sub>A</sub> 수용체의 분포**

GABA는 주로 세포체(cell body)들과 연접을 형성하는 짧은 축삭의 중간뉴런(short-axon interneuron)에 존재하며 GABA<sub>A</sub> 수용체 아단위들은 세포의 종류나 뇌의 영역에 따라서 다르게 분포하고 아단위의 구성에 있어서 많은 차이를 보인다. 해마부의 영역에 따라서도 차이를 보이는데 치아이랑(dentate gyrus)의 분자층(molecular layer)에는 주로  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 4$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 3$ ,  $\gamma 2$ ,  $\delta$  아단위들이 분포한다. 해마부의 제1암문각(cornu ammonis, CA1)에서 제3암문각(CA3)까지의 strata radiatum과 strata oriens에서는 주로  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 5$ ,  $\beta 3$ ,  $\gamma 2$  아단위들이 많이 분포하며  $\alpha 4$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\gamma 3$ ,  $\delta$  아단위들의 분포는 적고  $\alpha 4$ 와  $\delta$  아단위는 CA3보다 CA1에 더 많이 분포하고 있다. 해마부의 지역 회로(local circuit)와 치아이랑의 문(hilus) 내의 신경세포에서는 주로  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\gamma 2$ ,  $\delta$  아단위가 분포하고  $\alpha 3$ 과  $\gamma 1$ 은 전체적으로 약하게 발현된다. 특징적으로 해마부에서  $\alpha 6$  아단위의 발현이 희박하며 주로 소뇌의 과립세포에 분포한다. 따라서 해마부의 소영역에 따라서 생리적인 기능과 약리적인 기능이 다를 수 있다는 것을 나타내고 있다<sup>8)</sup>.



**Fig. 4.** Gamma-aminobutyric acid (GABA)ergic synapse. GABA is synthesized in the presynaptic terminal. After release it causes the GABA<sub>A</sub> receptor on the postsynaptic neuron to increase inward chloride conductance. Synaptic GABA is taken back up into the presynaptic terminal and into glial cells. SSA: succinic semialdehyde, GAD: glutamic acid decarboxylase(from reference 7).

### 뇌의 발달과정에서 GABA<sub>A</sub> 수용체의 발현의 변화

GABA<sub>A</sub> 수용체는 성인의 뇌에서 중요한 억제성 신경전달물질로서 수용체의 발현과 기능이 발달과정에서 조절되며 신경세포의 활동-의존성 조절(activity-dependent regulation) 기전에 의하여 변화될 수 있다. 태아기에서 이미 GABA<sub>A</sub> 수용체가 발현이 되지만 생후 첫째 주에는 GABA<sub>A</sub> 수용체가 활성화될 때 세포막이 성숙한 뇌의 GABA성 연결에서 나타나는 과분극(hyperpolarization) 상태를 나타내는 것이 아니라 오히려 탈분극(depolarization) 상태를 나타내게 되어 결과적으로 흥분성 수용체 기능을 나타내게 된다. 또한 GABA<sub>A</sub> 수용체의 아단위 구성도 성숙한 뇌와 다르게 발현이 되어 발달과정에서 수용체의 아단위에 많은 변화가 일어남을 알 수가 있다.

Brooks-Kayal 등에 의하면 생후 1-3주 사이에  $\alpha 1$ ,  $\alpha 4$ ,  $\gamma 2$  및,  $\beta 1$  아단위는 미성숙 뇌에서 성숙 뇌에 비하여 2배 정도 낮게 발현이 되는 반면에  $\alpha 5$  아단위는 미성숙 뇌에서 10배 정도 높게 발현되며 이러한 변화에 의하여 GABA<sub>A</sub> 수용체의 아연(zinc)에 의한 차단이 두 배 이상 증가되고 Type I benzodiazepine 수용체의 조절자(modulator)인 zolpidine의 효과가 3배 이상 감소된다. 이러한 변화는 GABA<sub>A</sub> 수용체의 발현과 기능이 발달단계에서 나타나는 변화와 연관이 있다<sup>9)</sup>. GABA<sub>A</sub> 수용체의 아단위의 분자 조성(molecular composition)은 기능적 특성에 의하여 발달단계에 따라서 조절된다. 예를 들면  $\alpha 1$  아단위의 발현은 출생시에는 매우 낮지만 점점 발달과정에서 증가되며 성숙 뇌에서 보이는 benzodiazepine에 대하여 보다 빠른 동역학(kinetics)을 나타내고 이런 변화에 의하여 미성숙 뇌의 benzodiazepine에 대한 약리 작용이 성숙 뇌에 비하여 비효율적으로 나타날 수 있다.

### 간질에서 GABA의 역할

성인에서 GABA는 중추신경계의 중요한 억제성 신경전달물질로서 GABA 수용체를 통하여 작용을 나타내며 GABA가 신경전달물질의 20-50% 정도를 차지한다. 간질의 기전과 치료에 대한 GABA의 실험적, 임상적인 연구를 통하여 간질과 간질발생에 있어서 GABA의 역할에 대하여 많이 알려져 있다. 많은 자료들을 모두 열거할 수는 없지만 요약하면 간질의 유전적 모델과 동물실험 모델에서 GABA 억제성 기능에 문제가 발견되며 GABA의 촉진제나 GABA 매개성 억제를 강화시키는 benzodiazepine이나 barbiturate 계통의 약물들은 경련을 억제하는 반면 GABA의 길항제나 GABA의 합성을 억제하는 약물들은 경련을 유발한다. 그리고 vigabatrin과 같은 약물은 GABA의 대사를 억제함으로써 연결틈새에서 GABA의 농도를 증가시키고 tiagabine은 GABA의 재흡수를 억제함으로써 효과적으로 경련을 억제시킨다. 또한 간질환자의 뇌 조직을 이용한 연구에서

GABA 매개성 억제성의 감소, GABA를 합성하는 GAD의 효소활성 감소, 뇌척수액과 뇌조직에서 GABA의 감소, GABA<sub>A</sub> 수용체와 benzodiazepine 결합부에 결합력 감소 등의 사실들을 통하여 간질에서 GABA가 관여한다는 것을 입증하고 있다<sup>10)</sup>.

### 성숙 뇌에서 발생한 간질에서 GABA<sub>A</sub> 수용체의 발현 변화

현재까지 20개 정도의 GABA<sub>A</sub> 수용체 아단위들이 밝혀져 있고 그 아단위의 조성에 따라서 수용체의 기능이 변할 수도 있다. 간질 증첩증의 초기치료제로서 diazepam, lorazepam, midazolam 등의 benzodiazepine 계통의 약물이 사용되는데, 사람과 실험동물의 간질 증첩증 치료 중에 이 약물들의 경련억제 효과가 약하게 나타나는 약물저항을 관찰할 수 있다. 이런 현상이 GABA<sub>A</sub> 수용체의 기능에 급속한 변화로 생각되며 이때 전기생리적으로 benzodiazepine에 대한 해마부의 치상과립세포(dentate granular cell)의 GABA<sub>A</sub> 수용체의 전류가 감소하고  $\gamma 2$  아단위를 제거하거나 다른 아단위로 대체함으로써 유사한 결과를 나타낼 수 있다<sup>11)</sup>. 또한 사람의 측두엽 간질 환자의 뇌조직과 KA나 pilocarpine에 의하여 유발된 측두엽 간질 모델에서 GABA<sub>A</sub> 수용체의 아단위 발현의 변화를 관찰할 수 있다.

Schwarzer<sup>12)</sup>, Brooks-Kayal<sup>13)</sup>, Fritchey<sup>14)</sup> 등은 성취(adult rat)를 대상으로 경련을 유발한 다음 GABA<sub>A</sub> 수용체 아단위들의 면역세포화학적 변화를 관찰하였는데 모델에 따른 약간의 차이는 있었지만 공통적으로 해마부 CA1과 CA3의 추체세포층에서 신경세포변성에 의하여 전반적인 아단위들의 면역반응력이 감소되었고 치아이랑의 과립세포층에서는 정상적으로 낮은 발현을 보이는  $\alpha 3$ ,  $\alpha 5$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  아단위들이 보상적으로 발현이 증가되었다. Loup 등<sup>15)</sup>은 사람의 측두엽 간질 환자의 뇌조직을 이용하여  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$ , 및  $\gamma 2$  아단위들의 면역반응력을 관찰한 결과 해마부 CA1과 CA3의 추체세포층에서 전반적인 세포소실과 함께  $\alpha 1$  아단위의 면역반응력이 전반적으로 감소하였고, 치아이랑의 과립세포층에서는  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  아단위들의 면역반응력이 증가하였다.

따라서 성숙 뇌를 대상으로 한 동물실험과 사람의 측두엽 간질의 뇌조직을 대상으로 한 연구에서 공통적으로 해마부 CA1과 CA3의 추체세포층에서 전반적인 세포소실과 함께  $\alpha 1$  아단위의 면역반응력이 감소함으로써 경련의 과정에서 GABA<sub>A</sub> 수용체 아단위들의 조성에 기능적 변화가 나타난다는 것을 알 수 있다.

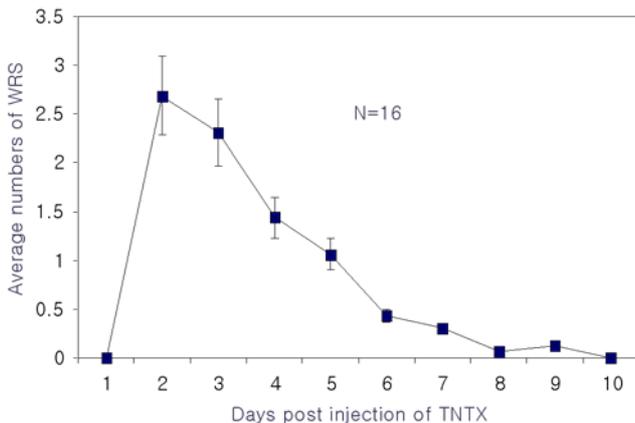
### 어린쥐에서 반복적인 경련을 유발한 후 성취가 되었을 때 해마부 GABA<sub>A</sub> 수용체의 발현 변화

사람에 있어서 생후 1개월 동안이 경련 발생의 위험이 높은 시기이다. 또한 신생아에서 경련을 유발할 수 있는 많은 병적 과정이 존재할 수 있다. 특히 GABA의 탈분극 효과와 억제성 신경

진달물질의 지연된 성숙 및 흥분성 수용체의 과잉으로 인하여 미성숙 뇌가 경련하기 쉬운 특징을 나타내게 된다. 그러나 미성숙 뇌의 신경세포는 성숙 뇌의 신경세포보다 신경세포 손상과 세포 손실이 상대적으로 훨씬 적다. 또한 미성숙 뇌의 신경세포는 성숙 뇌보다 글루탐산의 독성 효과에 저항함으로써 더 잘 생존한다. 이런 상대적인 저항은 활성 시냅스의 밀도가 낮고 에너지 소모가 적으며, 상대적으로 세포사로 이끄는 생화학적 연속단계(cascades)가 미숙하기 때문으로 생각된다. 신생 동물은 또한 성숙 동물보다 지속된 경련 후에 세포 손실이 적다. 지속성 경련 이후에 이끼섬유(mossy fiber)의 발아(sprouting)는 미성숙 동물에서 비슷한 시간동안 경련을 한 성숙된 동물보다 적게 나타난다<sup>16)</sup>. 따라서 GABA<sub>A</sub> 수용체의 변화도 성숙 뇌에서 보이는 것과는 다를 것으로 생각된다.

파상풍 독소는 신경세포에 작용하는 강력한 경련유발 물질로서 *Clostridium tetani*에 의하여 생성된다. 작용기전은 GABA를 포함하고 있는 연접세포(synaptic vesicle)를 전연접막(presynaptic membrane)에 부착시키는 결합 단백질(docking protein)인 synaptobrevin의 작용을 억제함으로써 GABA가 연접틈새로 유리되는 것을 억제하여 경련을 유발하는 것으로 알려져 있다<sup>17)</sup>.

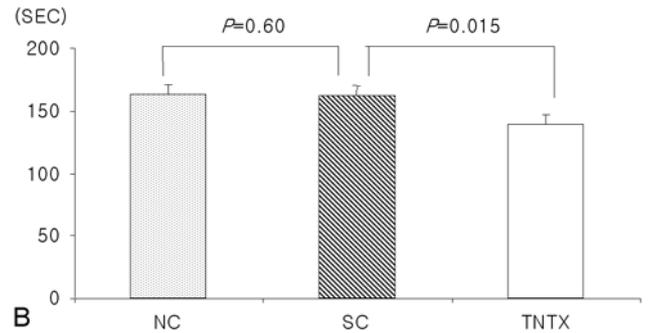
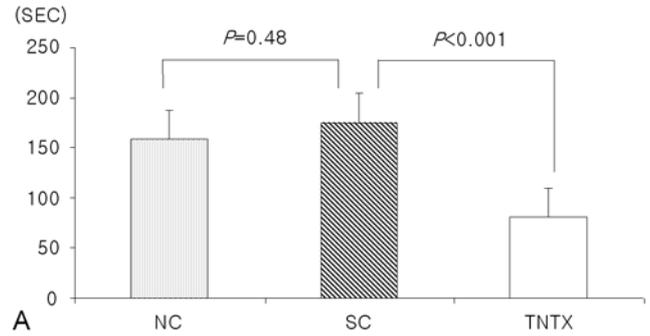
출생 후 10일된 흰쥐를 이용하여 2 ng 정도의 파상풍 독소를 해마부의 CA3 영역으로 주입하고 난 후 24시간 후부터 하루에 1시간씩 10일 동안 평균 8.4±2.7회 정도의 반복적인 경련을 관찰할 수 있었다(Fig. 5). 경련 지속시간은 약 1분 정도이고 경련의 양상은 머리 꺼덕거림과 근간대성 경련을 시작으로 하여 거칠게 뛰어다니다는 경련(wild running seizure)을 하다가 끝날 무렵에 사지에 대칭성 혹은 비대칭성의 강직, 간대, 또는 강직-간대 발작을 하고 난 후 끝나며 대개는 발작 후 수면상태를 동반한다. 파상풍 독소에 의하여 유발된 경련의 특징은 단 한번의 주입으로 반복성 경련을 유발할 수 있고 경련이 끝난 후 급성 혹은 만성 뇌세포 손상이 관찰되지 않으며 해마부의 형태에도 변화가 나타나지 않기 때문에 소아에서 임상적으로 경험하는 경련과 유



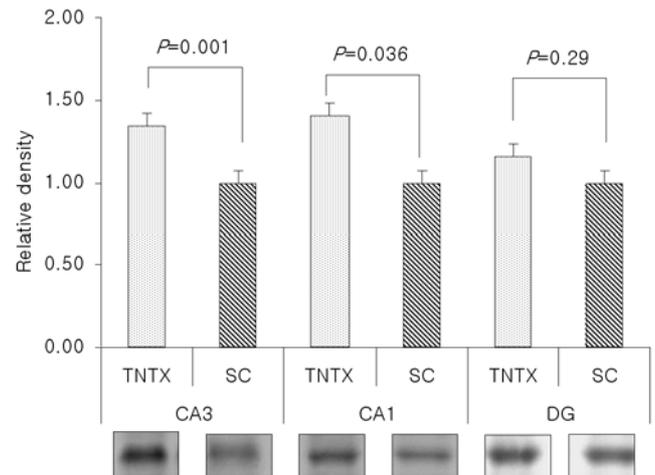
**Fig. 5.** Average wild running seizures(WRS) during the 10 hrs of observation(one hour/1 day for 10 days); 8.4±.73. Seizure frequency peaks within 24-48 hrs.

사한 점이 많기 때문에 발달과정에 있는 뇌를 대상으로 경련이 뇌에 미치는 효과를 연구하는 모델로 이용된다<sup>18)</sup>.

저자는 출생 후 10일된 흰쥐를 이용하여 해마부에 파상풍 독소를 주입하고 난 후 경련을 관찰하고 성취가 되었을 때(생후 50일) 해마부의 CA1, CA3과 치아이랑(dentate gyrus)에서 GABA<sub>A</sub> 수용체의 α1, β2/3, 및 γ2 아단위들의 변화를 관찰



**Fig. 6.** When rats were tested on day 50(B), they had a small(15%) but significant decrease in the time to onset of seizures when compared to littermate controls. However, when another group of rats was tested on day 22(A), a marked increase in seizure susceptibility was observed.



**Fig. 7.** GABA<sub>A</sub> receptor alpha 1 subunit is increased in tetanus toxin(TNTX) treated hippocampal CA3 and CA1 region at the age of 50 days.

**Table 1.** Distribution of GABA<sub>A</sub> Receptor Subunits in the Hippocampal Formation of Rat<sup>8)</sup>

	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 3$	$\alpha 4$	$\alpha 5$	$\beta 1$	$\beta 2$	$\beta 3$	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3$	$\delta$
Dentate gyrus												
Granule cell layer	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	+
Subgranular zone	+	+	+	-	-	-	+					
Molecular layer	+++	+++	+	+++	+	++	+	+++	±	+++	+	+++
Deep hilus(fibres)	++	+	-	-	-	+	+	-	-	++	+	+
Hilar interneurons	+++	-	-	-	-	-	++	-	-	+++	-	+
Hippocampus proper												
CA1												
Pyramidal cell layer	-	-	+	-	-	+	±	-	+	+	-	-
Interneurons	++	-	-	-	-	-	++	-	-	+++	-	+
Stratum lac. molec.	+++	++	-	-	+++	++	+	++	+	+++	-	-
Stratum radiatum	+++	+	+	+	+++	++	+	++	-	+++	+	+
Stratum oriens	+++	+	++	++	+++	++	+	++	-	++	+	+
CA2												
Pyramidal cell layer	-	-	-	-	-	-	±	-	+	+	-	-
Interneurons	+++	-	-	-	-	-	++	-	-	+++	-	+
Stratum radiatum	++	++	+	-	+++	+++	-	+	-	+++	+	-
Stratum oriens	++	++	+		+++	+++	-	+	-	++	+	-
CA3												
Pyramidal cell layer	-	-	-	-	±	+	±	-	+	+	-	+
Interneurons	+++	-	-	-	-	-	++	-	-	+++	-	++
Stratum radiatum	+++	+++	+	-	+++	++	-	++	-	+++	++	-
Stratum oriens	+++	+++	+	-	+++	++	-	++	-	++	+	-

+++ : very strong, ++ : strong, + : weak, - : no immunoreactivity

한 결과 모든 영역에서  $\beta 2/3$ , 및  $\gamma 2$  아단위들의 변화는 관찰할 수 없었지만 치아이랑을 제외한 CA1, CA3 영역에서  $\alpha 1$  아단위의 단백질 발현이 증가하는 것을 관찰하였다(Fig. 6). 또한 생후 22일과 50일에 휘발성의 중추신경 자극제인 flurothyl을 이용하여 경련을 유발한 다음 경련의 역치를 관찰한 결과 대조군에 비하여 경련의 역치가 현저히 감소되었으며 시간이 경과함에 따라 22일보다 50일 후에 경련의 역치가 증가하는 것을 발견하였다(Fig. 7).

따라서 어린 시기에 경련을 경험한 미성숙 뇌에서 GABA<sub>A</sub> 수용체 아단위 발현의 변화가 성숙한 뇌와 차이가 있으며 시간이 경과함에 따라서 경련의 감수성이 점점 감소되고 적어도 하나 이상의 GABA<sub>A</sub> 수용체 아단위 발현의 증가를 통한 보상적인 변화가 일어나는 것으로 생각된다.

### 결론

미성숙 뇌에서 경련에 의한 뇌 손상은 조직학적으로 성인의 뇌에서 관찰되는 것과 많은 차이를 보이며 어린 시기에 발생한 경련은 발달과정에 있는 뇌에 영향을 줄 수 있고 그 결과 후에 간질발생의 원인이 될 수도 있다. Gamma( $\gamma$ )-aminobutyric acid(GABA)는 중추신경계에서 경련을 억제하는 중요한 신경전달물질로서 주로 GABA<sub>A</sub> 수용체를 통하여 작용을 나타내기 때문에 GABA<sub>A</sub> 수용체의 기능에 장애가 발생할 경우 경련이 유발

될 수 있다. GABA<sub>A</sub> 수용체 아단위들은 세포의 종류나 뇌의 영역에 따라서 다르게 분포하고 아단위의 조성에 있어서 많은 차이를 보이며 수용체의 발현과 기능이 발달과정에서 조절된다.

파상풍 독소를 이용한 어린 시기의 미성숙 뇌에 반복적인 경련을 유발할 수 있으며 파상풍 독소에 의하여 반복적인 경련을 경험한 어린 쥐가 성장하여 성취가 되었을 때 GABA<sub>A</sub> 수용체의 변화가 나타나며 이러한 변화는 사람의 측두엽 간질이나 성취를 대상으로 한 경련 모델에서 보이는 변화와 많은 차이를 보인다.

따라서 어린 시기에 경련을 경험한 미성숙 뇌에서 GABA<sub>A</sub> 수용체 아단위 발현의 변화가 성숙한 뇌와 차이가 있으며 미성숙 뇌에서 시간이 경과함에 따라서 경련의 감수성이 점점 감소되고 적어도 하나 이상의 GABA<sub>A</sub> 수용체 아단위 발현의 증가를 통한 보상적인 변화가 일어나는 것으로 생각되며 소아와 성인 사이에 뇌의 GABA<sub>A</sub> 수용체 발현의 변화를 이해하는 것이 중요하다.

### References

- 1) Holmes GL. Epilepsy in the developing brain: lessons from the laboratory and clinic. *Epilepsia* 1997;38:12-30.
- 2) Sanchez RM, Jensen FE. Maturation aspects of epilepsy mechanisms and consequences for the immature brain. *Epilepsia* 2001;42:577-85.
- 3) Rivera C, Voipio J, Payne JA, Ruusuvuori E, Lahtinen H, Lamsa K, et al. The K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature*

- 1999;21:251-5.
- 4) Jensen FE. Acute and chronic effects of seizures in the developing brain : experimental models. *Epilepsia* 1999;40 Suppl 1:51-8.
  - 5) Sieghart W, Fuchs K, Tretter V, Ebert V, Jechlinger M, Höger H, et al. Structure and subunit composition of GABA<sub>A</sub> receptors. *Neurochem Int* 1999;34:379-85.
  - 6) Cherubini E, Conti F. Generating diversity at GABAergic synapses. *Trends Neurosci* 2001;24:155-62.
  - 7) Suzdak PD, Jansen JA. A review of the preclinical pharmacology of tiagabine : a potent and selective anticonvulsant GABA uptake inhibitor. *Epilepsia* 1995;36:612-26.
  - 8) Sperk G, Schwarzer C, Tsunashima K, Fuchs K, Sieghart W. GABA<sub>A</sub> receptor subunits in the rat hippocampus I : Immunocytochemical distribution of 13 subunits. *Neuroscience* 1997;80:987-1000.
  - 9) Brooks-Kayal AR, Shumate MD, Jin H, Rikhter TY, Kelly ME, Coulter DA. Gamma-aminobutyric acid(A) receptor subunit expression predicts functional changes in hippocampal dentate granule cells during postnatal development. *J Neurochem* 2001;77:1266-78.
  - 10) Treiman DM. GABAergic mechanisms in epilepsy. *Epilepsia* 2001;42 Suppl:8-12.
  - 11) Kapur J, Macdonald RL. Rapid seizure-induced reduction of benzodiazepine and Zn<sup>2+</sup> sensitivity of hippocampal dentate granule cell GABAA receptors. *J Neurosci* 1997;17:7532-40.
  - 12) Schwarzer C, Tsunashima K, Wanzenböck C, Fuchs K, Sieghart W, Sperk G. GABA<sub>A</sub> receptor subunits in the rat hippocampus II : altered distribution in kainic acid-induced temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 1997;80:1001-17.
  - 13) Brooks-Kayal AR, Shumate MD, Jin H, Rikhter TY, Coulter DA. Selective changes in single cell GABAA receptor subunit expression and function in temporal lobe epilepsy. *Nat Med* 1998;4:1166-72.
  - 14) Fritschy JM, Kiener T, Bouillere V, Loup F. GABAergic neurons and GABA<sub>A</sub>-receptors in temporal lobe epilepsy. *Neurochem Int* 1999;34:435-45.
  - 15) Loup F, Wieser H, Yonekawa Y, Aguzzi A, Fritschy J. Selective alterations in GABA<sub>A</sub> receptor subtypes in human temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 2000;20:5401-19.
  - 16) Sperber EF, Haas KZ, Stanton PK, Moshé SL. Resistance of the immature hippocampus to seizure-induced synaptic reorganization. *Brain Res Dev Brain Res* 1991;60:88-93.
  - 17) Schiavo G, Benfenati F, Poulain B, Rossetto O, Polverino de Lauro P, DasGupta BR, et al. Tetanus and botulinum-B neurotoxins block neurotransmitter release by proteolytic cleavage of synaptobrevin. *Nature* 1992;359:832-5.
  - 18) Lee CL, Hrachovy RA, Smith KL, Frost JD Jr, Swann JW. Tetanus toxin-induced seizures in infant rats and their effects on hippocampal excitability in adulthood. *Brain Res* 1995;17:97-109.