

Pentylenetetrazol kindling에 의한 백서 해마의 c-fos mRNA 발현

고신대학교 의학부 신경파학교실
계명대학교 의과대학 미생물학교실*
계명대학교 의과대학 신경파학교실**

김광수·유경무·서성일*·이상도**

Expression of c-fos mRNA in the Hippocampus of Pentylenetetrazol Kindling Rat

Kwang Soo Kim, M.D., Kyung Mu Yoo, M.D., Seong Il Suh, M.D.*,
Sang Doe Yi, M.D.**

Department of Neurology, Kosin Medical College

Department of Microbiology, Keimyung University School of Medicine*

Department of Neurology, Keimyung University School of Medicine**

-Abstract-

Kindling, induced by repeated subconvulsive electrical or chemical stimulations, leads to progressive and permanent amplification of seizure activity, resulting in permanent brain changes. It is a good animal model of epilepsy and neural plasticity. *C-fos* has been proposed as the gene responsible for turning on molecular events for these permanent brain changes underlying epilepsy and neural plasticity. But the role of *c-fos* in the development of kindling is controversial. This study was undertaken to investigate the role of *c-fos* mRNA in the plastic changes underlying kindling.

Among 66 adult male Sprague-Dawley rats, 29 rats were kindled by repeated administrations of subconvulsive doses(15-25 mg/kg) of pentylenetetrazol(PTZ), 25 rats experienced convulsions induced by a single injection of convulsive dose(30-60 mg/kg) of PTZ, and 12 rats experienced convulsions by a single electroconvulsive shock(ECS). Twelve control rats received normal saline only. Animals were sacrificed at various seizure stages. *C-fos* mRNA levels in the hippocampus were quantified using slot-blot hybridization analysis.

In the experiment of PTZ kindling, *c-fos* mRNA expression 30 min after

convulsion was elevated about 2-4 times at stage 1, 2 and 5, but wasn't increased at stage 3 and 4, compared with controls. *C-fos* mRNA expression 60 min after convulsion was elevated about 2 times at stage 1 and 5, but wasn't increased at stage 2, 3 and 4. In the experiment of PTZ-induced seizures, *c-fos* mRNA expression 30 min after convulsion was elevated 2.5, 2.2 and 6 times at stage 1-2, 3-4, and 5, respectively. *C-fos* mRNA expression 60 min after convulsion was elevated 3.6 times at stage 3-4, but wasn't increased at stage 1-2 and 5. In the experiment of ECS-induced seizures, *c-fos* mRNA expression 30 min after mild convulsion was elevated 3.3 times, but wasn't increased in generalized tonic-clonic seizure. *C-fos* mRNA expression 60 min after convulsion wasn't increased at any stage of convulsion.

These results show that *c-fos* mRNA levels have no meaningful relationship with the stages of PTZ kindling, and PTZ or ECS-induced seizures, and that *c-fos* mRNA does not seem to play the crucial role in turning on a molecular program underlying kindling.

서 론

간질은 반작이 주증상인 만성 뇌질환이다. 간질에 관한 기초연구에 이용되는 동물모형은 급성 및 만성 모형으로 구분되어 있는데 급성 모형은 반작의 발달 및 유지에 관한 전기생리적 기전 등 반작 자체에 관한 연구에 이용되며 만성 모형은 반작을 만성적으로 일으킬 수 있는 구조적인 변화 등 간질질환에 관한 연구에 사용되어 진다(Engel, 1989). Kindling은 간질의 만성 모형을 만드는데 가장 널리 이용되는 방법이다. Kindling현상은 경련반작을 일으키는 억지 보다 낮은 강도의 전기적 자극을 뇌의 일정 부위에 일정한 시간 간격으로 반복 자극함으로써 점진적으로 간질양 후방전(afterdischarge : 이하 AD라 함)이 증가되어 결국에는 전신성 간대성 경련반작이 나타나는 현상이다(Goddard 등, 1969 ; McNamara 등, 1980). 전기적 kindling은 편도핵(amygdala) 및 내비피질(entorhinal cortex) 등의 변연 피질을 자극함으로써 잘 발달되며 전기적 kindling에 의한 동물모형은 인간의 측두엽간질의 동물모형으로 널리 이용된다(Racine, 1978 ; McNamara 등, 1985). 한편 전기적 kindling과 유사하게 불린성 약물, GABA拮抗제, cocaine,

lidocaine 및 흥분성 아미노산 등과 같은 화학경련제를 반작역치 이하의 농도로 국소적 혹은 전신적으로 반복 주사함으로써 경련반작의 점진적 발달을 관찰할 수 있는데 이를 화학적 혹은 악리적 kindling이라고 한다(Mason과 Cooper, 1972 ; Vosu와 Wise, 1975 ; Pinel과 Van Oot, 1976 ; Diehl 등, 1984). 화학경련제 중 pentylenetetrazol(이하 PTZ이라 함)은 작용기전이 명확하지는 않으나 γ -amino-butyric acid(GABA) 수용체-benzodiazepine 수용체-chloride 이온운반체 복합체에 결합하여 GABA 수용체 복합체에 길항작용을 할으로써 GABA의 억제작용을 제거하여 신경세포의 활성화를 증가시키는 것으로 알려져 있다(Squires 등, 1984). PTZ은 소발작, 대발작, 간대성 발작 및 간대성 경련성 반작 등 각종 전신성 발작을 일으키므로 전신성 경련반작의 연구에 널리 이용되고 있다. 이러한 PTZ를 반작 역치 이하로 일정한 시간 간격을 두고 반복 주사하면 kindling현상을 볼 수 있는데 이를 PTZ kindling이라고 하며 전신성 간질의 동물모형으로 이용되고 있다(Pinel과 Van Oot, 1976 ; Diehl 등, 1984 ; 이승환 등, 1994). 전기적 kindling의 동물모형을 통하여 밝혀진 해마 신경세포의 소실 및 치상회(dentate gyrus) 태상섬유(mossy fiber)의 시냅스 재구성이 PTZ kindling 모형에서도 관찰되며 측두엽 절제술을 시

행한 난치성 측두엽간질 환자의 측두엽에서도 관찰되므로 이러한 구조적 변화가 kindling 발달 및 간질발생에 공통적으로 중요한 역할을 하는 것으로 보인다(Cavazos와 Sutula, 1990 ; Sutula, 1990 ; 이상도 등, 1995). Kindling은 단기간의 반복 자극으로써 이와 같은 영구적인 형태적 변화를 초래하지만 이러한 변화의 발생기전은 아직 분명히 밝혀져 있지 않다. 그러나 kindling 자극 후에 *c-fos*를 비롯한 즉각조기유전자들(immediate early genes)의 발현 증가가 일관성 있게 관찰되므로 이를 즉각조기유전자로부터 만들어진 *c-fos* 단백 등의 전사인자(transcription factor)들이 각종 후기반응유전자(late effector genes)의 전사를 지속적으로 증가시켜 신경계의 영구적 변화를 초래할 것으로 추정되고 있다(Dragunow 등, 1989). *c-fos* 유전자는 다양한 세포의 자극에 의하여 세포가 어떤 유전계획으로부터 다른 유전계획으로 바뀔 수 있도록 하는 master switch로서 알려져 있으며(Marx, 1987), kindling의 발달에도 *c-fos* 등의 즉각조기유전자가 후기반응유전자들을 kindling 계획으로 변화시키는 데 중요한 역할을 할 것이라는 견해가 있다(Dragunow 등, 1989). Shin 등(1990)과 Simonato 등(1991)은 전기적 kindling 동물모형에서 kindling의 발달에 필수적인 자극요건인 AD 후에 *c-fos* mRNA가 해마에서 발현됨을 관찰하고 AD와 같이 짧게 지속되는 자극이 영구적으로 지속되는 kindling을 일으킬 수 있는 기전에 *c-fos* 등의 즉각조기유전자가 관여할 것으로 추론하였다. 그러나 *c-fos* mRNA는 다양한 실험적 자극 후에 비특이적으로 발현된다. 즉 말초신경자극(Hunt 등, 1987 ; Bullitt, 1989 ; Menetrey 등, 1989), 뇌외상(Dragunow와 Robertson, 1988c ; Kaczmarek 등, 1988), 간질발작(Morgan 등, 1987 ; Dragunow와 Robertson, 1988b ; Daval 등, 1989), 그리고 뇌하혈(Herrera와 Robertson, 1989 ; Jorgensen 등, 1989 ; Onodera 등, 1989) 후에 *c-fos* mRNA의 발현이 급속히 증가됨을 관찰할 수 있으며, 또한 생리적 자극 후에도 *c-fos* mRNA의 발현을 볼 수 있다(Rea, 1989 ; Aronin 등, 1990). 그러므로 *c-fos*는 kindling의 발달에 반드시 필요한 master switch와 같은 중요한 역할을 하지 않는다고 생각하는 견해도 있다(Teskey 등,

1991). 이상에서 보는 바와 같이 kindling의 발달 기전에 관한 *c-fos* 등의 즉각조기유전자의 역할에 대하여는 논란이 있으며 아직까지 분명하지 않다.

Kindling의 발달에 중요한 역할을 할 것으로 생각되는 해마신경세포의 소실 및 태상설유의 시냅스 재구성은 kindling이 진행됨에 따라서 점차 심화됨이 관찰된다(Sutula 등, 1988 ; Cavazos와 Sutula, 1990 ; 이상도 등, 1995). *C-fos* 유전자가 kindling의 발달과 함께 점차 진행되는 이와 같은 형태학적 변화를 일으키는데 master switch로서 중요한 역할을 한다면 PTZ kindling의 발달단계와 *c-fos* mRNA 발현 사이에 의미있는 상관관계가 관찰될 수 있을 것이다. 한편 최근 보고에서 간질 및 간질증후증에서 일어나는 해마신경세포의 소실이 계획된 세포사(programmed cell death, apoptosis)에 의한 것으로 간주되고 있으며(Pollard 등, 1994 a & b), 이러한 신경세포의 선택적인 손상의 기전에 *c-fos* 등의 즉각조기유전자에 의한 세포사유전자(cell death gene)의 활성화가 관여할 것이라는 견해들도 있다(Dragunow 등, 1993 ; Smeyne 등, 1993 ; Pennypacker 등, 1994 ; Ham 등, 1995 ; Schreiber와 Baudry, 1995). Schreiber 등(1992)의 실험에서 생후 13일 이내의 맥서에 kainic acid를 주면 발작은 일어나지만 *c-fos* mRNA의 발현이 없으며 세포소실에 의한 뇌손상도 없고, 성숙한 맥서에서는 발작과 함께 *c-fos* mRNA의 발현을 보이며 세포소실이 관찰되므로 세포사에 *c-fos* mRNA가 관여할 것으로 추론하였다. Kindling이 진행됨에 따라 해마신경세포의 소실이 점차 진행되므로 이러한 세포소실에 *c-fos*가 관여된다면 PTZ kindling의 발달단계에 따라 *c-fos* mRNA의 일관성 있는 증가가 관찰될 것이다.

그러므로 본 연구는 해마에서 kindling 발달단계에 따른 *c-fos* mRNA의 발현양상을 관찰함으로써 PTZ kindling에 의한 신경계 가소성(neural plasticity)과 *c-fos* mRNA 발현 사이의 상관관계를 알아보려고 하였다.

연구대상 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 국립화학연구소에서 분양 받은 체중 250-300 gm의 Sprague-Dawley종 수컷 백서 78마리로서 이를 중 실험군에 66마리 및 대조군에 12마리를 각각 사용하였다. 실험군 중 PTZ kindling 실험에 29마리, PTZ 유발발작 실험에 25마리 및 전기경련충격 (electroconvulsive shock : 이하 ECS라 함) 실험에 12마리를 각각 사용하였다. 실험군과 대조군의 백서들은 각기 polyethylene-carbonyl cage에 분리 수용하였으며, 실험 전후 동일한 조건으로 사육하였다.

2. 실험방법

1) PTZ kindling

실험군 중 29마리는 PTZ(Sigma Chemical Co., USA)을 0.9% 생리식염수에 녹여 10 mg/ml의 농도로 만든 다음 15-25 mg/kg을 2-3일 간격으로 복강내 주사하였고, 대조군 12마리는 동일량의 0.9% 생리식염수를 복강내 주사하였다. 주사후 30분 이상 동안 행동양상을 관찰 기록하였으며, 이승환 등(1994)의 방법에 따라 경련발작의 발달단계를 다음과 같이 분류하였다. 제 1 단계는 귀, 턱, 얼굴, 목 등에 경한 간대성 발작을 보이며, 제 2 단계는 머리와 상체의 간대성 반작을 보이거나 뚜렷한 근간대성 연축을 보이며, 제 3 단계는 머리와 상체의 강한 간대성 발작 또는 강한 근간대성 연축으로 상지를 끝추세우며, 제 4 단계는 발작과 함께 넘어진 후 전신의 간대성 반작을 보이며, 제 5 단계는 발작과 함께 넘어진 후 뒷다리의 긴장성 신전을 포함한 전신의 긴장성 간대성 발작을 보인다. 실험군 백서는 PTZ주사에 의한 5회의 각 단계별 발작을 보인 다음 각각 30 및 60분 경과 후에 단두하여 회생시켜 해마부위를 적출하여 cryotube에 넣어 액화질소통에 보관 후 분석하였다.

2) PTZ 유발발작

실험군 중 25마리는 PTZ를 0.9% 생리식염수에 녹여 10 mg/ml의 농도로 만든 다음 경련성 용량인 30-60 mg/kg을 일회 복강내 주사하였다. 주사후 30분 이상 동안 행동양상을 관찰 기록하였다. PTZ 주사에 의한 각 단계별 발작을 보인 다음 각각 30 및 60분 경과 후에 단두하여 회생시켜 해마부위를 적출하여 cryotube에 넣어 액화질소통에 보관 후

분석하였다.

3) 전기경련충격 (ECS)

실험군 중 12마리는 양극 및 음극 전극을 백서의 양측 귀에 각각 연결하고 ECT UNT-7801 (UGO BASILE, Italy) 기기를 사용하여 자극하였다. 6마리에서 전신성 긴장성 간대성 발작을 유도하기 위하여 85 mA 전류를 0.5 msec 백폭, 100 Hz 빈도로 1초 동안 자극하였으며, 나머지 6마리에서는 가벼운 발작 또는 놀라는 상태를 유도하기 위하여 40 mA 전류로 자극하였다. ECS에 의한 발작을 보인 다음 각각 30 및 60분 경과 후에 단두하여 회생시켜 해마부위를 적출하여 cryotube에 넣어 액화질소통에 보관 후 분석하였다.

4) RNA분리 및 Slot-blot hybridization

적출한 백서의 해마조직은 Chomczynski와 Sacchi(1987)의 방법을 다소 수정하여 다음과 같이 RNA를 분리하였다. 해마조직을 guanidium thiocyanate 완충액(4 M guanidium thiocyanate, 25 mM sodium citrate, 0.5% sarcosyl, 0.1 M 2-mercaptoethanol, 0.33% antifoam A emulsion(Sigma Chemical Co., USA), pH 7.0)내에서 homogenizer를 이용하여 분쇄한 다음 water-saturated phenol-chloroform-isoamyl alcohol mixture와 2 M sodium acetate(pH 5.2)를 넣고 4°C에서 20분간 10,000 rpm으로 원심분리한 후 상층액을 제취하였다. 여기에 ice-cold isopropanol을 등량 넣고 다시 30분간 원심분리하여 RNA를 침전시켰다. 침전된 RNA를 guanidium thiocyanate 완충액에 녹인 다음 2.5배의 ice-cold ethanol을 넣어 RNA를 재원심분리한 후 70% ethanol로 세척하고 SpeedVac(Savant Instrument Inc., USA)을 이용하여 말린 다음 DEPC(diethylpyrocarbonate)로 처리된 물에 녹여 spectrophotometer로 260 nM에서 RNA농도를 측정하고 -20°C에서 보관하면서 2주일내 사용하였다.

Slot-blot 분석은 RNA 표본을 formaldehyde로 변성시킨 후 8.0, 4.0, 2.0 μg의 3단계로 희석한 후 slot-blot vacuum minifold (Minifold I, Schleicher & Schuell, Germany)를 사용하여 nitrocellulose filter 위에 점착하여 공기건조시킨

후 80°C에서 90분간 가온하여 고정시키고 비닐봉지에 넣어 밀봉시킨 후 데시케이터에 보관하였다가 0.45 M NaCl, 45 mM sodium citrate, 50% formamide, 0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS), 5% Denhardt's solution (0.1% polyvinylpyrrolidine, 0.1% bovine serum albumine, 0.1% Ficoll), 및 5% salmon sperm DNA를 함유한 용액으로 42°C에서 12시간 동안 prehybridization하였다. RNA-probe hybridization은 probe를 γ -³²P-ATP(Amersham Inc., USA)로 5'-end labelling하여 특이활성도가 1× 108 cpm/ μ g 이상 되는 경우에 위의 용액에 첨가하여 실시하였다. 그런 다음 2X SSC(0.3 M NaCl 및 0.03 M sodium citrate, pH 6.8) 및 0.1% SDS 용액으로 실온에서 20분간 세척하고, 0.2X SSC 및 0.1% SDS가 들어있는 용액으로 65°C에서 10분간 그리고 0.1X SSC 및 0.1% SDS가 들어있는 용액으로 65°C에서 10분간 세척한 다음 -70°C에서 70-76시간 X-ray film에 노출시킨 후 현상하였다. mRNA 정량은 IBM computer에 연결된 densitometer(Hoefer GS-300 scanning densitometer, Hoefer Scientific Instruments

Co., USA)를 사용하여 측정되는 각 음영의 면적을 Gaussian integration방법으로 측정하였다.

본 실험에 사용한 probe는 미국 Oncogene Science 회사로부터 구입한 *c-fos* 및 GAPDH antisense oligonucleotides에 γ -³²P-ATP를 5'-end labelling하여 사용하였다.

3. 통계적 분석

대조군 및 실험군 각 단계에서 *c-fos* mRNA의 발현정도 사이에 차이가 있는지를 알아보기 위하여 Kruskal-Wallis test를 이용하였으며, 여기에서 통계학적으로 유의하게 나왔을 경우에 대조군과 각 실험군의 비교에서는 Bonferroni correction을 하여 검정하였다.

설 적

1. PTZ kindling 단계별 *c-fos* mRNA의 발현

PTZ kindling 실험군의 경련발작 각 단계 및 대조군의 해마에서 *c-fos* mRNA의 발현을 관찰할 수 있었다. PTZ kindling의 각 단계별 발작을 보인 때는 제 1 단계부터 제 5 단계까지 각각 6, 5, 8,

5 및 5마리였다. PTZ kindling의 각 단계별 평균 *c-fos* mRNA의 발현은 발작 30분 후에 적출한 해마에서 제 1 단계부터 제 5 단계 발작에서 대조군에 비하여 각각 2.9, 2.1, 1.4, 1.5 및 3.9배 증가하였으며, 발작 60분 후에 적출한 해마에서는 각각 2.2, 1.2, 0.6, 0.6 및 1.9배로 증가 또는 감소하였다. 발작 30분 후에 적출한 해마에서 *c-fos* mRNA의 발현은 제 1, 2, 5 단계에서 약 2-4배 증가하였고 제 3, 4 단계에서는 대조군과 비슷하였으며, 발작 60분 후에 적출한 해마에서 *c-fos* mRNA의 발현은 제 1, 5 단계에서 2-2.2배 증가하였고 제 3, 4 단계에서는 대조군에 비하여 감소하였다. 그러나 대조군 및 PTZ kindling

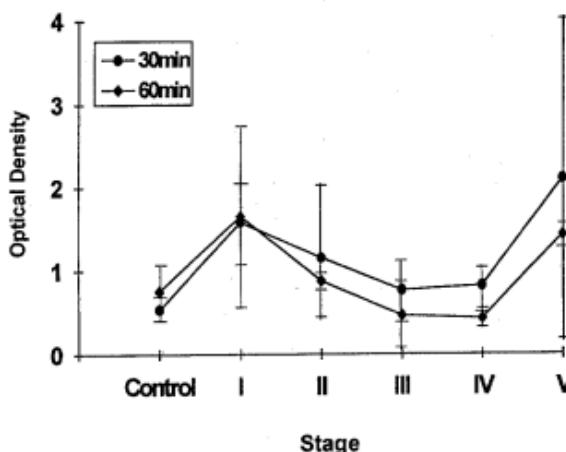


Fig. 1. Sequential change of *c-fos* mRNA expression in the hippocampus according to seizure stage 30 and 60 min after PTZ-kindling.

각 단계별 *c-fos* mRNA의 발현정도 사이에 통계학적인 차이는 없었다(Table 1 및 Fig. 1).

2. PTZ 유발발작에 의한 *c-fos* mRNA의 발현

경련성 용량의 PTZ를 복강 내에 일회 주사한 후 각 단계별 발작을 보인 때서는 제 1-2 단계가 7마리, 제 3-4 단계가 6마리 및 제 5 단계가 12마리였다. 발작 단계별 평균 *c-fos* mRNA의 발현은 발작 30분 후에 적출한 해마에서 대조군에 비하여 제 1-2 단계에서 2.5배, 제 3-4 단계에서 2.2배 및 제 5 단

계에서 6.1배 증가하였다. 발작 전 단계에서 약 2-6 배의 *c-fos* mRNA의 발현증가가 있었으며, 특히 제 5 단계 발작에서 현저히 증가하였다. 발작 60분 후에 적출한 해마에서 평균 *c-fos* mRNA의 발현은 제 1-2 단계에서 1.1배, 제 3-4 단계에서 3.6배 및 제 5 단계에서 1.6배 증가하였다. 발작 제 3-4 단계에서 평균 *c-fos* mRNA의 발현증가를 보았으나 실현동물간에 차이가 커 있으며, 제 5 단계 발작에서 *c-fos* mRNA의 발현은 발작 30분 후에 적출한 해마에서 외는 달리 현저한 증가가 없었다. Kruskal-

Table 1. Optical density of *c-fos* mRNA expression in the hippocampus according to seizure stage 30 and 60 min after pentylenetetrazol(PTZ)-kindling

Stage	Optical Density	
	30 min	60 min
Control	0.541±0.198 (n=6)	0.759±0.253 (n=6)
PTZ-kindling*		
I	1.586±0.514 (n=3)	1.658±1.050 (n=3)
II	1.153±0.769 (n=3)	0.879±0.088 (n=2)
III	0.766±0.433 (n=3)	0.466±0.422 (n=5)
IV	0.819±0.375 (n=3)	0.431±0.031 (n=2)
V	2.102±1.931 (n=3)	1.429±0.136 (n=2)

Values are given as Mean±SD.

* I : clonic movement of face and neck, II : clonic seizure of neck and forelimb, III : clonic seizure of forelimb and body with brief rearing, IV : generalized clonic seizure with rearing and falling, V : falling and generalized tonic-clonic seizure.

Table 2. Optical density of *c-fos* mRNA expression in the hippocampus according to seizure stage 30 and 60 min after pentylenetetrazol(PTZ)-induced seizure

Stage	Optical Density	
	30 min*	60 min
Control	0.541±0.198 (n=6)	0.759±0.253 (n=6)
PTZ-induced seizure		
I - II	1.372±0.262** (n=4)	0.823±0.502 (n=3)
III - IV	1.205±0.475 (n=4)	2.734±2.483 (n=2)
V	3.299±1.514** (n=6)	1.250±0.371 (n=6)

Values are given as Mean±SD.

* Significantly different ($p<0.01$) between control and each stage according to Kruskal-Wallis test.

** Significantly different ($p<0.05$) from control mean according to the Bonferroni correction.

Wallis test상 발작 30분 후에 적출한 해마에서 대조군 및 PTZ 유발발작 각 단계별 *c-fos* mRNA의 발현정도 사이에 통계학적으로 유의한 차이가 있었으며 ($p<0.01$), 제 1-2 및 5 단계에서 대조군에 비하여 *c-fos* mRNA의 유의한 발현증가가 있었다 ($p<0.05$) (Table 2 및 Fig. 2).

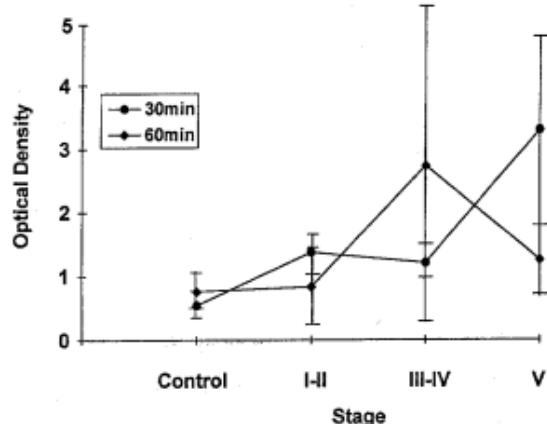


Fig. 2. Sequential change of *c-fos* mRNA expression in the hippocampus according to seizure stage 30 and 60 min after PTZ-induced seizure

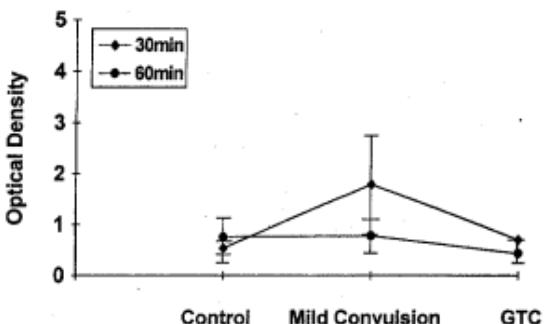


Fig. 3. Sequential change of *c-fos* mRNA expression in the hippocampus according to seizure severity 30 and 60 min after ECS-induced seizure. GTC : generalized tonic-clonic seizure.

3. ECS 유발발작에 의한 *c-fos* mRNA의 발현

ECS 유발발작에서 평균 *c-fos* mRNA의 발현은 발작 30분 후에 적출한 해마에서 대조군에 비하여 가벼운 발작 또는 놀라는 상태에서 3.3배 및 전신성 긴장성 간대성 발작에서 1.3배 증가하였으며, 발작 60분 후에 적출한 해마에서 *c-fos* mRNA의 발현은 가벼운 발작에서는 대조군과 차이가 없었으며, 전신성 긴장성 간대성 발작에서는 0.6배로 대조군의 *c-fos* mRNA 발현보다 감소하였다. 그러나 대조군 및 ECS 유발발작 각 단계별 *c-fos* mRNA의 발현정도 사이에 통계학적인 차이는 없었다 (Table 3 및 Fig. 3).

고찰

본 연구는 PTZ kindling 백서에서 kindling의 발달 단계와 해마에서의 *c-fos* mRNA 발현 정도 사이에 의미있는 상관관계를 보여 주지 못하였다. 이러한 결과는 *c-fos* 유전자가 kindling의 발달에 master switch와 같은 중요한 역할을 하지 않음을 시사한다.

Kindling의 발달에는 새로운 단백의 합성을 위한 유전자 발현이 필요하며, kindling 상태가 반영구적으로 지속되기 때문에 이러한 유전자 발현의 장기적인 변화가 요구된다 (Jonec과 Wasterlain, 1979 ; Cain 등, 1980). 즉 Kindling된 해마에서 glutamate의 방출과 NMDA에 대한 수용체의 감수성이 장기간 형성되어 있으므로 (Geula 등, 1988 ; Morrisett 등, 1989) 이

Table 3. Optical density of c-fos mRNA expression in the hippocampus according to seizure severity 30 and 60 min after electroconvulsive shock (ECS)-induced seizure

Stage	Optical density	
	30 min	60 min
Control	0.541±0.198 (n=6)	0.759±0.253 (n=6)
ECS-induced seizure		
Mild convulsion	1.793±0.994 (n=3)	0.783±0.320 (n=3)
GTC	0.702±0.012 (n=3)	0.435±0.206 (n=3)

Values are given as Mean±SD. GTC : generalized tonic-clonic seizure.

리한 변화에 관여하는 유전자 발현이 장기간 항진되어 있을 것으로 생각되며, 이 밖에 이온통로, 신경 전달물질, 효소 및 수용체단백 등의 합성에 관여하는 각종 유전자 발현의 장기적인 변화가 kindling된 동물의 뇌조직에서 관찰되어질 것으로 기대된다. Kindling은 단시간의 반복된 자극에 의하여 이와 같이 다양한 유전자들의 장기적인 발현 변화를 통하여 시냅스의 재구성 등 각종 형태학적인 변화를 가져온다. 그러므로 단시간의 자극에 의하여 신속히 발현하여 각종 후기반응유전자의 발현에 관여하는 것으로 알려진 c-fos 등의 즉각조기유전자가 kindling 발달에 중요한 역할을 할 것으로 생각되어져 왔다. Shin 등(1990)과 Simonato 등(1991)은 맥서의 자신경속(angular bundle)에 kindling 자극을 준 후 해마에서 기록한 AD와 AD 후에 측정한 해마에서의 c-fos mRNA 발현 사이에 의미 있는 관계를 발견하고 c-fos가 kindling 발달에 중요한 역할을 할 것으로 추론하였다. 그러나 Shin 등(1990)의 실험에서 30초 이하의 AD 후에는 c-fos mRNA의 발현이 증가되지 않은 점은 오히려 c-fos가 kindling 발달에 중요한 역할을 하지 못함을 시사하는 소견이라 하겠다. 왜냐하면 30초 이하의 AD도 kindling의 발달에 기여하기 때문이다(Racine, 1972). 또한 이들의 실험에서 반복 자극에 의하여 제 5 단계로 kindling된 동물이나 kindling 자극을 처음 받은 동물이나 AD의 기간이 같으면 c-fos mRNA 발현량이 동일하다는 결과는 본 연구의 결과와는 차이가 있다. 또한 Teskey 등(1991)의 전기적 kindling 실험에서 c-fos mRNA 발현과 AD가 서로 상관성이 없었으므로 전기적 kindling에서는 c-fos mRNA 발현이 kindling의

발달에 중요한 역할을 하지 않을 것으로 사료된다. 그리고 Shin 등(1990)과 Teskey 등(1991)은 반복 자극에 의하여 제 5 단계로 kindling된 후 자극이 없는 휴식기 동안 해마에서의 c-fos mRNA의 기저치가 대조군과 동일함을 보여 이 또한 kindling의 발달 및 유지에 c-fos mRNA의 발현이 중요한 역할을 하지 않음을 시사하는 소견으로 생각된다. 한편 Shin 등(1990)은 반복 자극에 의한 kindling의 발달단계에 관계없이 AD의 기간이 30초 이상만 되면 c-fos mRNA의 발현이 동일하다고 하였으나, Teskey 등(1991)은 반복 자극으로 kindling 발달 단계가 높을 수록 c-fos mRNA 발현이 다소 증가된다고 하였으며, Cole 등(1990)은 반복 자극 후에는 다소 감소된다고 하여 반복 자극에 의한 c-fos mRNA 발현은 일관된 경향을 보이지 않았다. 이는 본 연구의 결과와 유사하다.

본 연구에서 PTZ kindling 각 단계별 c-fos mRNA의 발현은 같은 kindling 단계 내에서도 개체마다 차이가 많았다. Kindling 단계별 평균 c-fos mRNA의 발현은 제 1 단계 발작에서 대조군에 비하여 2-3배 증가되었다가 제 2, 3, 4 단계로 가면서 감소하였으며 제 5 단계에서 다시 2-4배 증가하는 양상을 보였다. 이러한 결과는 Teskey 등(1991)이 전기적인 kindling의 모든 발달단계에서 c-fos mRNA의 발현 증가를 보고한 것과 차이가 있었으며, Winston 등(1990)이 매일 일회적 ECS 자극을 반복함으로써 ECS 자극 6일째 c-fos mRNA의 발현이 첫번째 ECS 자극 시 유도된 c-fos mRNA 발현의 약 50%로 감소하였으며 ECS 자극 8-10일째에는 c-fos mRNA의 발현 유도가 없었다는 실험결과와는 부분적으로 일치하는 소견이다. 반

복 자극에 의하여 *c-fos* mRNA의 발현이 감소되는 것은 신경계의 장기적응반응에 의한 결과로 볼 수 있다. 반복적인 자극에 의한 신경세포의 *c-fos* mRNA 발현에 관한 장기적응반응의 기전은 발작시 유도되는 *c-fos* 단백 관련 항원 (Fos-related antigens)이 *c-fos* mRNA의 장기적인 조절에 관여하거나, *c-fos* 단백의 전사활동에 의하여 조절되는 유전자 산물이 *c-fos* mRNA의 발현을 되먹임 (feed-back)으로 억제하거나, 혹은 만성 자극이 *c-fos* mRNA의 발현을 조절하는 수용체와 연관된 제2 전령 및 이온통로의 기능상태를 변화시킴으로써 *c-fos* mRNA의 발현유도를 억제할 것으로 추측할 수 있다. 본 연구에서 PTZ kindling 발달 제 2, 3, 4 단계에서 *c-fos* mRNA의 발현이 감소한 이유로 이상과 같은 만성적인 신경세포의 자극에 의한 *c-fos* mRNA 발현의 하향조절 (down-regulation) 이외에 전기적 kindling 자극과는 달리 PTZ kindling 자극에서는 장시간의 PTZ 작용시간으로 인하여 단시간 지속하는 자극에는 흥분되지 않는 다양한 억제성 경로 (inhibitory pathway)의 활성화로 인할 수도 있겠다. 본 연구에서 PTZ kindling 제 2, 3, 4 단계로 올라가면서 *c-fos* mRNA의 발현이 감소하다가 제 5 단계에서 다시 *c-fos* mRNA의 발현증가가 유도된 기전은 제 5 단계 발작에서 경험성 운동발작의 강도 및 지속시간의 현저한 증가로 인한 과흥분 때문이거나, 이상도 등 (1995)의 실험에서 보여준 바와 같이 태상섬유의 시냅스 재구성이 PTZ kindling의 발달단계 초기에는 관찰되지 않다가 제 4 단계 이후부터 관찰되어 점차 증가하였다는 결과에서 유추해 볼 때 제 5 단계에서 태상섬유의 시냅스 재구성이 활발히 이루어져서 재발성 흥분성 회로를 형성하므로 인하여 과흥분 상태로 변화되어 흥분과 억제의 평형상태가 깨어짐으로 억제성 회로에 의한 *c-fos* mRNA 발현의 억제가 상실되었기 때문으로 생각된다. 한편 kindling 자극의 빈도가 증가함에 따라 kindling 발달단계도 높아지고 신경계의 가소적인 변화도 증가되므로 즉각조기유전자의 발현이 kindling에 의한 신경계의 가소적인 변화에 중요한 역할을 한다면 kindling의 발달단계가 높아질 수록 즉각조기유전자의 발현도 비례하여 증가될 것이다. 그러나 본 연구에서는 kindling 발달단계와 즉각조기유전자인 *c-fos* mRNA의 발현

사이에 의미있는 상관관계를 관찰할 수 없으므로 PTZ kindling 후에 보이는 *c-fos* mRNA의 발현 증가는 신경세포의 비특이적인 활성화에 의한 것일 뿐이며 kindling 발달기전에 반드시 필요한 master switch와 같은 중요한 역할을 하지는 않을 것으로 생각된다.

경련성 용량의 PTZ 투여 (single injection)에 의한 발작은 투여 3분 이내에 나타나서 30분까지 지속되며 해마에서 *c-fos* mRNA 발현은 PTZ 투여 15분 후부터 치상화에서 증가하여 30-60분에 최고치에 이를 다음 2-4시간 후에 기저치로 감소한다 (Morgan 등, 1987; Saffen 등, 1988; Sonnenberg 등, 1989). 그러나 PTZ 투여 후 각 실험 동물마다 관찰되는 *c-fos* mRNA의 발현은 각 실험 동물간에 차이가 많다고 하였다 (Saffen 등, 1988). 본 연구에서 PTZ 유발발작에 의한 발작 단계별 *c-fos* mRNA의 발현 양상은 각 단계별 반작 30분 후에 적출한 해마에서는 제 1-2 단계에서는 대조군에 비하여 유의하게 증가하였고, 제 3-4 단계에서는 대조군 보다는 증가하였으나 제 1-2 단계에 비하여 약간 감소되었으며, 제 5 단계에서는 대조군 및 제 1-2 단계 보다 현저한 증가를 보였다. 이는 PTZ 투여에 의한 발작이 *c-fos* mRNA의 발현을 증가시켰을 것으로 생각되며 제 5 단계 발작에서 현저한 증가를 보인 것은 *c-fos* mRNA 발현정도가 발작의 강도와 관계 있다는 것을 시사한다. 발작 60분 후에 적출한 해마에서 평균 *c-fos* mRNA의 발현은 제 3-4 단계에서 증가를 보였으나 실험동물간에 차이가 있으며, 제 1-2 및 5 단계에서는 대조군과 비슷한 발현을 보였다. 발작 60분 후 제 1-2 및 5 단계에서 *c-fos* mRNA의 발현이 대조군과 비슷하였던 이유는 명확히 설명할 수 없으나, 각 실험동물마다 *c-fos* mRNA 발현의 경시적 변화에 차이가 있으므로 발작 후 신속히 증가하였던 *c-fos* mRNA 발현이 검사 당시 이미 기저치로 감소한 후이거나, PTZ의 작용 시간이 길기 때문에 오랫 동안의 반복적인 자극을 통해 반복적인 *c-fos* mRNA 발현을 유도하고 이로 인해 *c-fos* 단백을 합성하므로 이렇게 합성된 *c-fos* 단백이 *c-fos* mRNA의 발현을 억제하였을 것으로 생각할 수 있다.

ECS에 의한 *c-fos* mRNA 발현은 ECS자극 30분 후에 기저치의 약 2배로 발현이 증가되어 최고치

에 이르며 2시간 후에는 기저치로 감소된다는 실험 결과가 있으며 (Zawia와 Bondy, 1990), 이는 Morgan 등(1987)의 PTZ 유발발작에 의한 시간별 *c-fos* mRNA의 발현 양상과 비슷하다. Daval 등 (1989)은 발작을 일으키지 않을 정도의 강도로 ECS한 후에 측정한 *c-fos* mRNA의 발현은 자극을 주지 않은 대조군과 비슷한 정도임을 관찰하고 ECS 후에 유도되는 *c-fos* mRNA의 발현은 ECS에 의해 유발된 발작 자체에 의한 것이라고 하였다. 그러나 본 연구에서 ECS자극에 의한 *c-fos* mRNA의 발현 유도는 가벼운 반작이나 놀라는 상태를 보인 30분 후에 약 3배의 발현증가를 보였으나 전신성 긴장성 간대성 발작 30 및 60분 후에는 대조군과 비슷하였다. 이러한 결과는 *c-fos* mRNA 발현이 발작의 강도와는 유의한 상관관계가 없음을 시사한다. 그리고 ECS에 의한 *c-fos* mRNA의 발현 양상 (Zawia와 Bondy, 1990)이 PTZ에 의한 발현 양상 (Morgan 등, 1987)과 비슷하다고 하는 보고가 있지만 ECS와 같은 순간적인 자극은 비교적 오랜 기간동안 반복적인 발작을 유발하는 PTZ자극과는 다르므로 *c-fos* mRNA 발현 양상에서도 차이를 보일 것으로 생각된다.

본 연구에서와 같이 PTZ 혹은 kainic acid 등의 경련제 및 ECS에 의한 발작 활동은 뇌의 신경질 및 변연계 등에서 *c-fos* mRNA 및 *c-fos* 단백의 신속하고 일시적인 발현 증가를 보인다 (Morgan 등, 1987 ; Dragunow와 Robertson, 1987, 1988a ; Le Gal La Salle, 1988 ; Daval 등, 1989 ; Popovici 등, 1990 ; Teskey 등, 1991). 그러나 뇌 해혈, 뇌외상, 탈수, 정신적인 스트레스, 생리적 자극, caffeine, morphine, beta-adrenergic agonists 및 estrogens 약물부여 등 다양한 자극이 *c-fos* mRNA의 발현을 유도함이 관찰된다. 그러므로 *c-fos* mRNA는 신경세포를 활성화시키는 어떠한 자극에 의해서도 발현이 증가된다고 할 수 있다. 이러한 결과는 *c-fos* mRNA의 발현이 비특이적인 현상을 시사하는 소견이라 하겠다.

요 약

전신성 간질의 모형인 pentylenetetrazol (PTZ) kindling 동물모형에서 PTZ kindling에 의한 신

경계 가소성과 *c-fos* mRNA 발현사이의 상관관계를 알아보기 위하여 백서의 해마에서 PTZ kindling의 발달단계에 따른 *c-fos* mRNA의 발현 양상을 관찰하였다. Sprague-Dawley종 백서를 대상으로 29마리는 15-25 mg/kg의 PTZ를 2-3일 간격으로 복강내 주사하여 PTZ kindling을 형성하였고, 25마리는 30-60 mg/kg의 PTZ를 일회 복강내 주사하여 PTZ 발작을 유발하였으며, 12마리는 양측 귀에 연결된 전극을 통하여 electroconvulsive shock (ECS) 자극을 가하여 발작을 유발하였다. 발작 양상을 관찰하여 각 단계별 발작을 보이는 경우 30 및 60분 경과후에 단두하여 회생시킨 다음 뇌를 적출하였다. 대조군 12마리는 0.9% 생리식염수를 복강내에 주사하였으며 주사하고 나서 30 및 60분 후에 실험군과 같은 방법으로 뇌를 적출하였다. 적출한 뇌의 해마조직에서 RNA를 분리하여 slot-blot hybridization 방법으로 *c-fos* mRNA를 정량하였다.

PTZ kindling에서 *c-fos* mRNA의 발현유도는 발작 30분 후에 대조군에 비하여 제 1, 2 및 5 단계 발작에서 약 2-4배 증가되었으며 제 3, 4 단계 발작에서는 대조군과 비슷하였고, 발작 60분 후에 *c-fos* mRNA의 발현은 제 1, 5 단계 발작에서 약 2배 증가되었으며 제 2, 3 및 4 단계 발작에서는 대조군과 비슷하였다. PTZ 유발발작에 의한 단계별 *c-fos* mRNA의 발현은 발작 30분 후에 제 1-2 단계에서 대조군에 비하여 2.5배, 제 3-4 단계에서 2.2배 및 제 5 단계에서 약 6배 각각 증가되었다. 발작 60분 후에는 제 3-4 단계에서 3.6배 증가되었고 제 1-2 및 5 단계에서는 대조군과 비슷하였다. ECS 유발발작에서 *c-fos* mRNA의 발현은 가벼운 반작 및 놀라는 상태 30분 후에 대조군에 비하여 3.3배 증가되었으나 전신성 긴장성 간대성 발작에서는 대조군과 비슷하였다. 발작 60분 후에는 가벼운 반작 및 전신성 긴장성 간대성 발작 모두에서 *c-fos* mRNA의 발현 증기가 없었다. 이러한 결과는 PTZ kindling, PTZ 혹은 ECS 유발발작과 *c-fos* mRNA의 발현 사이에 의미있는 상관관계가 없다는 것을 시사한다. 그러므로 PTZ kindling 후에 보이는 *c-fos* mRNA의 발현증가는 신경세포의 비특이적인 활성화일 뿐이며 kindling의 발달기전에 반드시 필요한 master switch와 같은 중요한 역할을 하지는 않는

다고 할 수 있다.

REFERENCES

- 이상도, 이태희, 박영준 (1995) : 백서에서 pentylenetetrazol kindling에 의한 치상회 태상성유의 시남스 재구성. 대한신경과학회지 13(2) : 239-248
- 이승관, 이상도, 박영준 (1994) : 백서에서 pentylenetetrazol 주사후 kindling의 발달단계 및 지속성. 대한신경과학회지 12(3) : 375-381
- Aronin N, Sagar SM, Sharp FR, Schwartz WJ (1990) : Light regulates expression of a Fos-related protein in rat suprachiasmatic nuclei. *Proc Natl Acad Sci USA* 87(15) : 5959-5962
- Bullitt E (1989) : Induction of c-fos-like protein within the lumbar spinal cord and thalamus of the rat following peripheral stimulation. *Brain Res* 493(2) : 391-397
- Cain DP, Corcoran ME, Staines WA (1980) : Effects of protein synthesis inhibition on kindling in the mouse. *Exp Neurol* 68(3) : 409-419
- Cavazos JE, Sutula TP (1990) : Progressive neuronal loss induced by kindling : a possible mechanism for mossy fiber synaptic reorganization and hippocampal sclerosis. *Brain Res* 527(1) : 1-6
- Chomczynski P, Sacchi N (1987) : Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162(1) : 156-159
- Cole AJ, Abu-Shakra S, Saffen DW, Baraban JM, Worley PF (1990) : Rapid rise in transcription factor mRNAs in rat brain after electroshock-induced seizures. *J Neurochem* 55(6) : 1920-1927
- Daval JL, Nakajima T, Gleiter CH, Post RM, Marangos PJ (1989) : Mouse brain c-fos mRNA distribution following a single electroconvulsive shock. *J Neurochem* 52(6) : 1954-1957
- Diehl RG, Smialowski A, Gotwo T (1984) : Development and persistence of kindled seizure after repeated injections of pentylenetetrazol in rats and guinea pigs. *Epilepsia* 25(4) : 506-510
- Dragunow M, Currie RW, Faull RLM, Robertson HA, Jansen K (1989) : Immediate-early genes, kindling and long-term potentiation. *Neurosci Biobehav Rev* 13(4) : 301-313
- Dragunow M, Robertson HA (1987) : Kindling stimulation induces c-fos protein(s) in granule cells of the rat dentate gyrus. *Nature* 329(6138) : 441-442
- Dragunow M, Robertson HA (1988a) : Localization and induction of c-fos protein-like immunoreactive material in the nuclei of adult mammalian neurons. *Brain Res* 440(2) : 252-260
- Dragunow M, Robertson HA (1988b) : Seizure-inducible c-fos protein(s) in mammalian neurons. *Trends Pharmacol Sci* 9(1) : 5-6
- Dragunow M, Robertson HA (1988c) : Brain injury induces c-fos protein(s) in nerve and glial-like cells in adult mammalian brain. *Brain Res* 455(2) : 295-299
- Dragunow M, Young D, Hughes P, MacGibbon G, Lawlor P, Singleton K, Sirimanne E, Beilharz E, Gluckman P (1993) : Is c-Jun involved in nerve cell death following status epilepticus and hypoxic-ischemic brain injury? *Mol Brain Res* 18(4) : 347-352
- Engel Jr J (1989) : *Seizures and epilepsy*, Philadelphia, F. A. Davis Co., pp 71-111
- Geula C, Jarvie PA, Thomas C, Logan TC, John T, Slevin JT (1988) : Long-term enhancement of K⁺-evoked release of L-glutamate in entorhinal kindled rats. *Brain Res* 442(2) : 368-372
- Goddard GV, McIntyre DC, Leech CK (1969) : A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation.

- Exp Neurol* 25(3) : 295-330
- Ham J, Babij C, Whitfield J, Pfarr CM, Lallemand D, Yaniv M, Rubin LL (1995) : A *c-jun* dominant negative mutant protects sympathetic neurons against programmed cell death. *Neuron* 14(5) : 927-939
- Herrera DG, Robertson HA (1989) : Unilateral induction of *c-fos* protein in cortex following cortical devascularization. *Brain Res* 503(2) : 205-213
- Hunt SP, Pini A, Evan G (1987) : Induction of *c-fos-like* protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature* 328 (6131) : 632-634
- Jonec V, Wasterlain CG (1979) : Effect of inhibitors of protein synthesis on the development of kindled seizures in rats. *Exp Neurol* 66(3) : 524-532
- Jorgensen MB, Deckert J, Wright DC, Gehlert DR (1989) : Delayed *c-fos* proto-oncogene expression in the rat hippocampus induced by transient global cerebral ischemia : an *in situ* hybridization study. *Brain Res* 484(1-2) : 393-398
- Kaczmarek L, Siedlecki JA, Danysz W (1988) : Proto-oncogene *c-fos* induction in rat hippocampus. *Brain Res* 427(2) : 183-186
- Le Gal La Salle G (1988) : Long-lasting and sequential increase of *c-fos* oncoprotein expression in kainic acid-induced status epilepticus. *Neurosci Lett* 88(2) : 127-130
- Marx JL (1987) : The *fos* genes as "master switch". *Science* 237(4817) : 854-856
- Mason CR, Cooper RM (1972) : A permanent change in convulsive threshold in normal and brain damaged rats with repeated small doses of pentylenetetrazol. *Epilepsia* 13(5) : 663-674
- McNamara JO, Bonhaus DW, Shin C, Crain BJ, Gellman RL, Giacchino JL (1985) : The kindling model of epilepsy : a critical review. *CRC Crit Rev Clin Neurobiol* 1(4) : 341-391
- McNamara JO, Byrne MC, Dasheiff RM, Fitz JG (1980) : The kindling model of epilepsy : a review. *Prog Neurobiol* 15(2) : 139-159
- Menetrey D, Gannon A, Levine JD, Basbaum AI (1989) : Expression of *c-fos* protein in interneurons and projection neurons of the rat spinal cord in response to noxious somatic, articular and visceral stimulation. *J Comp Neurol* 285(2) : 177-195
- Morgan JI, Cohen DR, Hempstead JL, Curran T (1987) : Mapping patterns of *c-fos* expression in the central nervous system after seizure. *Science* 237(4811) : 192-197
- Morrisett RA, Chow C, Nadler JV, McNamara JO (1989) : Biochemical evidence for enhanced sensitivity to *N-methyl-D-aspartate* in the hippocampal formation of kindled rats. *Brain Res* 496(1-2) : 25-28
- Onderda H, Kogure K, Ono Y, Igarashi K, Kiyo Y, Nagaoka A (1989) : Proto-oncogene *c-fos* is transiently induced in the rat cerebral cortex after forebrain ischemia. *Neurosci Lett* 98(1) : 101-104
- Pennypacker KR, Thai L, Hong JS, McMillian MK (1994) : Prolonged expression of AP-1 transcription factors in the rat hippocampus after systemic kainate treatment. *J Neurosci* 14(7) : 3998-4006
- Pinel JPJ, Van Oot PH (1976) : Generality of the kindling phenomenon : some clinical implication. *Can J Neurol Sci* 2(4) : 467-475
- Pollard H, Cantagrel S, Charriaut-Marlangue C, Moreau J, Ben-Ari Y (1994a) : Apoptosis associated DNA fragmentation in epileptic brain damage. *Neuroreport* 5(9) : 1053-1055
- Pollard H, Charriaut-Marlangue C, Cantagrel S, Represa A, Robain O, Moreau J, Ben-Ari Y (1994b) : Kainate-induced apoptotic cell death in hippocampal neurons. *Neuroscience* 63(1) : 7-18
- Popovici Th, Represa A, Crepel V, Barbin G, Beaudoin M, Ben-Ari Y (1990) : Effects of

- kainic acid-induced seizures and ischemia on c-fos-like proteins in rat brain. *Brain Res* 536(1-2) : 183-194
- Racine RJ (1972) : Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizures. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 32(3) : 281-294
- Racine R (1978) : Kindling : The first decade. *Neurosurgery* 3(2) : 234-252
- Rea MA (1989) : Light increases Fos-related protein immunoreactivity in the rat supra-chiasmatic nuclei. *Brain Res Bull* 23(6) : 577-581
- Saffen DW, Cole AJ, Worley PF, Christy BA, Ryder K, Baraban JM (1988) : Convulsant-induced increase in transcription factor messenger RNAs in rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 85(20) : 7795-7799
- Schreiber SS, Baudry M (1995) : Selective neuronal vulnerability in the hippocampus - a role for gene expression? *Trends Neurosci* 18(10) : 446-451
- Schreiber SS, Tocco G, Najm I, Finch CE, Johnson SA, Baudry M (1992) : Absence of c-fos induction in neonatal rat brain after seizures. *Neurosci Lett* 136(1) : 31-35
- Shin C, McNamara JO, Morgan JI, Curran T, Cohen DR (1990) : Induction of c-fos mRNA expression by afterdischarge in the hippocampus of naive and kindled rats. *J Neurochem* 55(3) : 1050-1055
- Simonato M, Hosford DA, Labiner DM, Shin C, Mansbach HH, McNamara JO (1991) : Differential expression of immediate early genes in the hippocampus in the kindling model of epilepsy. *Mol Brain Res* 11(2) : 115-124
- Smeayne RJ, Vendrell M, Hayward M, Baker SJ, Miao GG, Schilling K, Robertson LM, Curran T, Morgan JI (1993) : Continuous c-fos expression precedes programmed cell death in vivo. *Nature* 363(6425) : 166-169
- Sonnenberg JL, Rauscher III FJ, Morgan JI, Curran T (1989) : Regulation of proenkephalin by Fos and Jun. *Science* 246(4937) : 1622-1625
- Squires RF, Laederup E, Cranbey JN, Skolnick P, Paul SM (1984) : Convulsant potencies of tetrazoles are highly correlated with actions on GABA/benzodiazepine/picrotoxin receptor complexes in brain. *Life Sci* 35(14) : 1439-1445
- Sutula TP (1990) : Experimental models of temporal lobe epilepsy : new insights from the study of kindling and synaptic reorganization. *Epilepsia* 31(Suppl 3) : S45-S54
- Sutula T, He XX, Cavazos J, Scott G (1988) : Synaptic reorganization in the hippocampus induced by abnormal functional activity. *Science* 239(4844) : 1147-1150
- Teskey GC, Atkinson BG, Cain DP (1991) : Expression of the proto-oncogene c-fos following electrical kindling in the rat. *Mol Brain Res* 11(1) : 1-10
- Vosu H, Wise RA (1975) : Cholinergic seizure kindling in the rat : Comparison of caudate, amygdala and hippocampus. *Behav Biol* 13(4) : 491-495
- Winston SM, Hayward MD, Nestler EJ, Duman RS (1990) : Chronic electroconvulsive seizures down-regulate expression of the immediate-early genes c-fos and c-jun in rat cerebral cortex. *J Neurochem* 54(6) : 1920-1925
- Zawia NH, Bondy SC (1990) : Electrically stimulated rapid gene expression in the brain : ornithine decarboxylase and c-fos. *Mol Brain Res* 7(3) : 243-247