

# 국소 허혈성 뇌손상 흰쥐 모델에서 경두개직류전기자극이 앞다리 운동감각 기능 증진에 미치는 효과

Effect of Improved Forelimb Sensorimotor Function on the Transcranial Direct Current Stimulation in a Focal Ischemic Brain Injury Rat Model

김기도\*, 심기철\*\*, 김경윤\*\*

한국국제대학교 물리치료학과\*, 동신대학교 보건의료대학 물리치료학과\*\*

Gi-Do Kim(kimprayer@gmail.com)\*, Ki-Cheol Sim(simsuper@daum.net)\*\*,  
Kyung-Yoon Kim(redbead7@daum.net)\*\*

## 요약

본 연구는 국소 허혈성 뇌손상 흰쥐 모델에서 tDCS의 자극 적용시간을 달리하였을 때, 앞다리 운동감각 기능변화와 신경영양인자(GAP-43)발현에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 뇌손상 모델은 Sprague-Dawley계 흰쥐 80마리를 'Longa' 방법을 이용하여 중대뇌동맥(middle cerebral artery)을 폐색하여 유발하였고, 실험군을 4개로 나누었다; 실험군 I 은 허혈성 뇌손상 유발군(n=20), 실험군 II는 허혈성 뇌손상 유발 후 tDCS(10분) 적용군(n=20), 실험군 III은 허혈성 뇌손상 유발 후 tDCS(20분) 적용군(n=20), 실험군 IV는 허혈성 뇌손상 유발 후 tDCS(30분) 적용군(n=20)으로 나누었다. 앞다리운동감각 기능검사를 위해 수정된 앞다리배치 검사와 단일 펠릿 닿기 검사를 실시하였으며, 신경가소성에 대한 면역조직화학적 검사로 운동감각 영역에서의 GAP-43 단백질 발현을 관찰하였다. 앞다리운동감각 검사는 14일에서 실험군 III ( $p<0.05$ )이 다른 군들에 비해 유의한 차이를 보였으며, 단일 펠릿 닿기 검사는 14일에서 실험군 III( $p<0.01$ )과 실험군 IV( $p<0.05$ )에서 유의한 차이를 보였다. 또한, 면역조직학적 검사는 14일에 실험군 III이 다른 군들에 비해 현저한 면역양성반응의 증가를 보였다. 따라서, 0.1 mA의 강도로 20분간 적용했을 때가 앞다리운동감각 기능과 신경가역성 인자 GAP-43 발현에 가장 좋은 조건임을 알 수 있었다.

■ 중심어 : 허혈성 뇌손상 | 경두개직류전기자극 | 앞다리운동감각기능 | GAP-43 |

## Abstract

This study was to investigate the effect of improve forelimb sensorimotor function and neurotrophic factor(GAP-43) expression when differing an application time of tDCS in ischemic brain injury rat model(pre, 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>). Focal ischemic brain injury was induced in 80 Sprague-Dawley rats through middle cerebral artery occlusion(MCAO) by 'Longa' method. And then experimental groups were randomly divided into four groups; Group I : MCAO induction, Group II: application of tDCS(10 min) after MCAO induction, Group III: application of tDCS(20 min) after MCAO induction, Group IV: application of tDCS(30 min) after MCAO induction. Modified limb placing test and single pellet reaching test were performed to test forelimb sensorimotor function. And the histological examination was also observed through the immunohistochemistic response of GAP-43(growth-associated protein-43) in the cerebral cortex. In modified limb placing test, group III( $p<0.05$ ) showed significantly improve than the other groups on 14<sup>th</sup> day. In single pellet reaching test, group III( $p<0.01$ ) and group IV ( $p<0.05$ ) significantly improved on 14<sup>th</sup> day. And in immunohistochemistic response of GAP-43, group III showed significantly positive response than the other groups on 14<sup>th</sup> day. These results suggest that the intensity(0.1 mA)/time(20 min) condition of tDCS application has a significant impact on the sensorimotor functional recovery in focal ischemic brain injury rat models.

■ keyword : Ischemic Brain Injury | tDCS | Forelimb Sensorimotor Function | GAP-43 |

## I. 서론

1900년대 중반 전기생리학적검사와 같은 객관적인 검사를 바탕으로 두피에 약한 직류전기를 흘려주어 뇌피질의 활성도를 변화시킬 수 있다는 결과가 발표되기 시작하였다[1][2]. 최근에는 비침습적으로 대뇌피질을 자극하여 손 기능의 호전을 유도하는 연구들이 이루어지고 있는데, 이러한 손기능의 호전은 손상된 피질척수로(corticospinal tract)와 피질연수로(corticobulbar tract)의 강화와 연관이 있을 것으로 알려져 있다[3].

비침습적 대뇌피질을 자극하는 방법으로는 반복 경두개자기자극(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)과 경두개직류전기자극(transcranial direct current stimulation, tDCS)이 대표적이다[4]. tDCS는 운동 훈련 프로토콜이나 회복의 인식을 증가시키기 위한 자극으로 적용되기 때문에 다른 뇌 자극 방법들에 비해 훨씬 용이하며 실험설계를 하거나 평가를 위한 특별한 연구들에서 널리 사용되고 있다[4]. tDCS 적용 시 약간의 따끔거림, 두통, 피로감, 오심 등이 유발될 수 있으나 자극 후 곧 완화되어 큰 부작용은 없는 것으로 보고된다[5]. Liebetanz 등[6]은 tDCS적용시 뇌 흥분성의 가역적 변화는 극성 뿐 아니라 전류의 세기, 자극 기간 등 다양한 요소들에 의해 선택적으로 조절된다고 하였다. 뇌피질의 세포막을 효율적으로 조절하기 위해서는 전류의 강도와 자극 기간이 매우 중요한데[6], Nitsche 등[7]은 지속되는 자극 시간에 따라 motor evoked potential(MEP)에서 지속시간이 길수록 피질 활성도가 크다고 하였고, Nitsche와 Paulus[2]도 자극 시간이 짧을수록 충분한 효과를 나타내지 못했다고 보고하였다.

Priori[8]는 tDCS 적용시 전류의 강도, 전극의 크기, 자극 기간을 고려해야 하며, 그 이유는 활성화뿐 아니라 전극 아래 조직에서 일어나는 손상을 최소화하기 위해서도 중요하다고 하였다. 이에 자극 시간은 매우 중요한 요소 중 하나로 여겨진다.

한편, 손상된 뇌조직에서 시냅스 결합도(synaptic connectivity)의 재조직화 능력인 뇌신경 가소성은 뇌경색 환자의 운동기능 회복에 매우 중요하다[9]. 최근

뇌신경 가소성을 증가시킬 목적으로 뇌경색 동물 모델에서 대뇌피질의 직접 전기자극과 재활훈련을 병행 시 운동기능의 회복에 긍정적인 효과를 보이며 새로운 수상돌기 형성(dendritic formation)과 같은 시냅스 가소성(synaptic plasticity)의 강화에 의한다고 보고된다[10][11]. 이러한 가소성과 관련된 신경인자로는 NGF(nerve growth factor), BDNF(brain-derived neurotrophic factor), NT-4/5(neurotrophin-4/5) NT-3(neurotrophin-3) 등이 있는데[12], 그 중 GAP-43(Growth-associated protein-43)은 신경세포의 발생 및 재생과정의 축삭 말단에서 발현되는 신경계에서만 유일하게 발견되는 단백질로 신경손상 시, 신경세포의 가소성 정도에 매우 중요한 영향을 미치는 인자로 알려져 있다[13].

tDCS 적용시 직류자극의 특성뿐 아니라 뇌자극 시 자극의 강도나 자극 시간에 따라 신경의 과흥분과 뇌조직의 발열 등으로 인해 뇌조직의 손상이 유발될 수 있으므로 안정적인 적용을 위해서는 여러 가지 조건에서 이뤄지는 안정적 근거제시가 필요하며, 위험성을 최소화하고 뇌활성화를 극대화시키는 다양한 기초 연구들이 필요하다.

기초 연구의 일환으로 일부 동물실험을 통한 선행연구들이 제시되고 있으나 지금까지의 연구들은 대부분 자극의 형태가 비침습적이라기 보다는 뇌두개의 외과적 수술을 시행하여 뇌피질에 직접적인 전기자극의 형태를 띄는 실험들이 대부분이었으며[14][15], 자극의 변수들과 관련하여 신경가소성을 밝힐 수 있는 조직에서의 분자생물학적 근거제시가 전무하였다.

이에 본 연구에서는 국소 허혈성 뇌손상 흰쥐 모델에 두피를 통한 tDCS의 적용시간을 다르게 하였을 경우, 앞다리 운동감각의 운동학적 치료 효과를 알아보고, GAP-43의 발현 정도를 측정하여 기능 호전과 신경재생 정도의 연관성을 파악하여 tDCS의 효과를 알아보고자 하였다.

## II. 연구 방법

### 1. 실험동물

체중 약 250±50 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐(8주령, 웅성, 대한실험동물) 80마리를 사용하였다. 개체 선별을 위해 Bederson 등[16]의 방법으로 신경학적 검사를 실시하여 2등급 이상의 흰쥐를 사용하였다[표 1].

운동행동평가는 각 날짜별(국소 허혈성 뇌손상 유발 전, 유발 1, 7, 14일째)로 수정된 앞다리 배치검사와 단일 팻릿 닿기 검사를 실시하였고, 면역조직화학적 검사는 각 시간대에 5마리씩을 희생시켜 표본을 제작하여 검사하였다. 실험군 I은 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 Sham 대조군(n=20), 실험군 II는 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 tDCS(0.1 mA) 10분 적용군(n=20), 실험군 III은 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 tDCS(0.1 mA) 20분 적용군(n=20), 실험군 IV는 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 tDCS(0.1 mA) 30분 적용군(n=20)으로 나누었다. 사육실의 온도는 25±1℃, 습도 55±10%를 유지하였으며, 명암은 12시간 주기로 하였다.

표 1. 손상정도의 신경학적 검사

정도	등급	상태
정상	0	관찰되는 결손이 없음
중간	1	앞다리의 굴곡이 나타남
심각	2	회전이 없고 편측밀기와 앞다리 굴곡에 대해 저항이 감소됨
	3	회전을 하고 2등급과 같은 행동이 나타남

2. 실험방법

2.1 국소 허혈성 뇌손상 유발

국소 허혈성 뇌손상 유발 모델을 제작하기 위해 70% N<sub>2</sub>O와 28.5% O<sub>2</sub>가스에 1.5% enflurane을 혼합한 마취기tm로 전신마취를 시킨 후 수술대에 고정하여 Longa 등[17]의 방법에 따라 중대뇌동맥(middle cerebral artery: MCA) 폐쇄 수술을 시행하였다. 흡입전신마취 후 직장온도계와 열 패드를 이용하여 체온을 일정하게 유지시켰다. 흰쥐의 목 정중부를 절개하고 좌측 총경동맥을 박리하여 총경동맥을 따라 근위부로 진행하여 외경동맥과 내경동맥을 분리한 후 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고 총경동맥 분지부에 monofilament nylon (4.0호) 실끝을 뭉뚝하게 하여 밀어 넣는 방법으로 중대

뇌동맥을 폐쇄한 후 봉합 및 소독을 하였다.

2.2 경두개직류전기자극(tDCS)

tDCS적용은 김상준[19]의 방법에 따라 0.1 mA 단위로 강도 조절이 가능한 직류전기자극기(Cybermedic Co., Korea)를 사용하였다. 양극 전극은 대뇌피질의 경두개(transcranial)부위에 붙이기 위해 plastic cup 모형에 고정시켜 적용하였고, 음극 전극은 전기의 단락 현상(shunting effect)을 막기 위해 몸통에 적용하였다[그림 1].

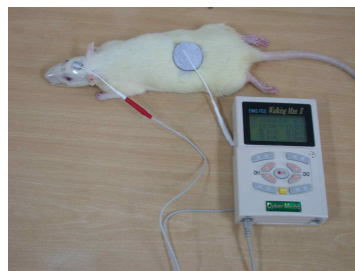


그림 1. 경두개직류전기자극기(tDCS)

피부와 전극사이에 전기 저항(resistance)을 줄이기 위해 삭모 후 젤(gel)을 사용하였다. 양극 전극은 직경 1 cm이며, plastic cup 모형 안에는 젤을 채웠다. 통전 시 강도는 0.1 mA로 하였고, 적용시간은 실험군 I(0분), 실험군 II(10분), 실험군 III(20분), 실험군 IV(30분)으로 1회 적용하였다[표 2].

표 2. tDCS의 자극 시간 설정

군	Application of tDCS	
	Intensity	Time
I (n=20)	0.1 mA	off
II (n=20)		10min
III (n=20)		20min
IV (n=20)		30min

2.3 신경학적 운동행동 평가

국소 허혈성 뇌손상 유발 전 단일 팻릿 닿기 과제 훈련 적용을 위하여 1주일간 하루 2회 실시하였고, 마지막 3일간의 자료를 뇌손상 유발 전자료로 이용하였다.

먹이 제한을 하여 정상 체중의 90%내외가 되도록 실험 기간동안 유지하였다.

### 2.3.1 수정된 앞다리배치 검사(modified limb placing test, MLPT)

Jeong 등[19]의 연구방법에 따라 3종류의 감각운동능력을 검사하였다. 전방 시야 체지 배치 검사(forward visual limb placing test)는 꼬리를 잡고 앞다리가 지면에서 10 cm 떨어지도록 하여 앞다리의 신진 정도를 점수화하였다. 양 앞다리가 신진되면 0점, 한쪽 앞다리가 비정상적으로 굴곡되면 1점으로 하였다. 두 번째는 고유수용체각각 검사로서 흰쥐를 테이블 모서리에 위치시켜 양 앞다리를 모서리 밖으로 늘어뜨려 움직임에 방해가 없도록 붙들었다. 앞다리에 대해 모서리 아래로 잡아당겼다 놓으면 모서리 위로 되돌아오는지 점수화하였다. 정상적 반응은 0점, 2초 이상 지연 또는 불완전한 위치회복은 1점, 무반응은 2점으로 하였다. 세 번째는 측면 시야 체지 배치 검사(lateral visual limb placing test)로서 테이블 모서리에 콧수염을 스쳐 동측 앞다리의 위치반응을 살폈다. 테이블에 앞다리를 정상적으로 위치시키면 0점, 반응이 지연 또는 불완전하면 1점, 무반응은 2점으로 하였다.

### 2.3.2 단일 펠릿 닿기 검사(single pellet reaching test, SPRT)

Whishaw 등[20]의 연구방법에 따라 앞다리의 근위 및 원위지절의 감각과 정교한 운동 기능을 검사하기 위해 실시하였다. 25 × 35 × 30 cm의 투명아크릴로 제작하였고, 정면 벽에는 폭 1 cm의 수직 틈 slit)을 바닥으로부터 높이 2 cm에서 시작하여 높이 15 cm까지 만들고, 벽 밖의 수직 틈 정면에 바닥으로부터 높이 3 cm, 폭 2 cm의 선반을 만들었다. 20개의 먹이 펠릿(Rodent Chow food pellets, Bioserve Inc., USA)(45 mg)당 앞다리가 도달하여 흘리지 않고 정확하게 입으로 가져가 먹은 먹이의 수에 대한 백분율로 하루에 3회씩 실시하여 평가하였다[그림 2].

성공점수(Success score)는 다음과 같이 환산하였다.

$$\text{성공 점수}(\%) = \frac{\text{흘리지 않고 먹은 펠릿 수}}{20} \times 100$$



그림 2. 단일 펠릿 닿기 검사

## 2.4 조직학적 검사(Histological examination)

### 2.4.1 조직절편 제작

실험군은 국소 허혈성 뇌손상 유발 전, 유발 1, 7, 14 일째에 럼퐁(Rompun, 바이엘코리아)을 복강주사(0.6 mg/kg)하여 마취한 후, 4% 중성 파라포름알데하이드(paraformaldehyde)으로 심장관류로 전고정하였다. 그 후 두개골을 제거하고 뇌신경들을 절단한 후에 뇌를 적출하여 10% 중성 파라포름알데하이드에 24시간 후고정하고, 파라핀 포매하여 180 μm 간격을 두고 두께 5 μm 로 박절하였다. Paxinos와 Watson[21]의 도보를 참고하여, Bregma 후방 2 mm 부위(Bregma -2) 인접조직을 선별하였다. 박절한 뇌 절편은 GAP-43 단백질 면역조직화학염색을 실시하였다[그림 3].

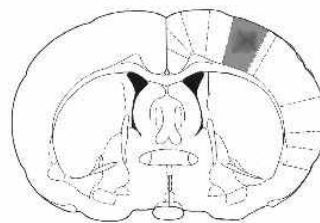


그림 3. 운동감각 피질 영역(Bregma -2)

### 2.4.2 면역조직화학염색법

박절한 조직절편은 0.01 M phosphate buffered

saline(PBS)로 여러 번 세척한 후 남아 있는 고정액 성분을 제거하기 위하여 1% sodium borohydride로 1시간 처리하였다. 면역조직화학염색의 전처리과정으로 .3%의 과산화수소(hydrogen peroxide)용액에 30분간 incubation한 후 PBS에 담가 씻어내었다. GAP-43 단백항체(ab47510, abcam, UK)를 각각 1:500의 비율로 희석하여 조직에 도포하고 4 °C overnight로 incubation한 후 PBS로 세척하였다. PBS로 씻은 후 quick kit(DAKOLSAB® kit, DAKO Co., Carpinteria, CA, USA)의 biotinylated anti-rabbit/anti-mouse immunoglobulins를 도포하여 30분간 incubation하였다. PBS로 세척한 후 streptavidin peroxidase를 도포한 후 10분간 incubation하였다. PBS로 씻어낸 후 DAB(3,3'-diaminobenzidine, DAKO Co., Carpinteria, CA, USA)용액을 도포하여 발색시켰다. 그 후 Mayer's hematoxyline(Sigma, MHS-32, USA)으로 대조염색(counterstaining)을 실시하였으며, 흐르는 물에 5분간 수세하고 슬라이드 표본을 건조시킨 후 통상의 탈수 및 청명화 과정을 거쳐 봉입을 실시하였다.

2.4.3 조직학적 분석

조직학적 분석은 광학현미경(Olympus BX50, Japan)에 장착된 CCD 카메라(Foculus, Germany)와 개인용 컴퓨터를 연결시켜 Image-proplus ver 4.0 for windows(media cybernetics, USA)를 사용하여 반정량적 방법(semiquantitative manner)으로 구분하여 negative(-), mild(+), moderate(++), severe(+++)로 평가하였다.

3. 통계방법

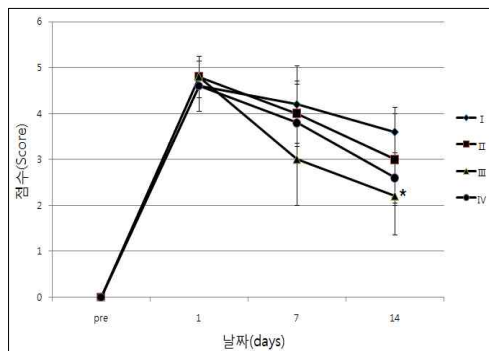
본 연구의 통계학적 분석은 SPSS 12.0 ver. for window®을 사용하였다. 각 실험 결과 값은 평균 및 표준편차로 나타내었으며, tDCS 적용시간에 따른 각 실험군 간의 시간경과에 따른 차이를 비교하기 위하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)를 실시하였다. 사후검정은 Tukey's multiple range test를 실시하였다. 분석 시 유의수준은  $\alpha=0.05$ 로 설정하여 검정하였다.

III. 결과

1. 신경학적 운동행동 평가

1.1 수정된 앞다리 배치 검사(modified limb placing test, MLPT)

tDCS 적용시간에 따른 수정된 앞다리 배치 검사의 일원배치분산분석 결과, 허혈성 뇌손상 유발 전, 유발 1, 7일에는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나 ( $p>0.05$ ) 유발 14일에서 통계학적으로 유의한 차이를 나타냈다( $p<0.05$ ). 또한 측정시기에 따른 실험군 간의 사후검정을 실시한 결과, 유발 14일에서 실험군 I 과 실험군III에서 통계학적으로 유의한 차이를 보였다 ( $p<0.05$ )[그림 4][표 3].



\*;  $p<0.05$

그림 4. 시간에 따른 수정된 앞다리 배치 변화

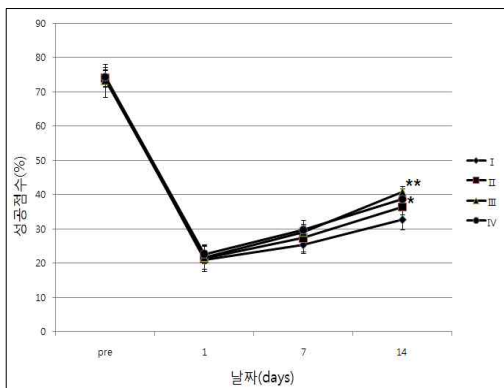
표 3. 날짜 경과에 따른 각 군 MLPT의 one-way ANOVA

날짜	소스	제곱합	자유도	평균 제곱	F	유의 확률
실험전	집단간	.000	3	.000		
	집단내	.000	16	.000		
	합계	.000	19			
1일	집단간	.200	3	.067	.267	.848
	집단내	4.000	16	.250		
	합계	4.200	19			
7일	집단간	4.150	3	1.383	1.908	.169
	집단내	11.600	16	.725		
	합계	15.750	19			
14일	집단간	5.350	3	1.783	3.101	.05*
	집단내	9.200	16	.575		
	합계	14.550	19			

\*;  $p<0.05$

2.1 단일 펠릿 닿기 검사(single pellet reaching test, SPRT)

tDCS 적용시간에 따른 단일 펠릿 닿기 검사의 일원 배치분산분석 결과, 허혈성 뇌손상 유발 전, 1, 7일에는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나(p>0.05) 유발 14일에서 통계학적으로 유의한 차이를 나타냈다(p<0.001). 또한 측정시기에 따른 실험군 간의 사후검정을 실시한 결과, 유발 14일에서 실험군 I 과 실험군III (p<0.01), 실험군IV(p<0.05)으로 통계학적으로 유의한 차이를 보였다[그림 5][표 4].



\*: p<0.05, \*\*: p<0.01

그림 5. 시간에 따른 단일 펠릿 닿기 변화

표 4. 날짜 경과에 따른 각 군 SPRT의 one-way ANOVA

날짜	소스	제곱합	자유도	평균 제곱	F	유의 확률
실험전	집단간	3.334	3	1.111	.108	.954
	집단내	163.928	16	10.245		
	합계	167.262	19			
1일	집단간	7.789	3	2.596	.252	.859
	집단내	164.622	16	10.289		
	합계	172.411	19			
7일	집단간	56.379	3	18.793	2.167	.132
	집단내	138.788	16	8.674		
	합계	195.167	19			
14일	집단간	177.088	3	59.029	8.955	.001***
	집단내	105.465	16	6.592		
	합계	282.553	19			

\*\*\*: p<0.001

3. 뇌조직의 GAP-43 면역조직화학 반응

tDCS 적용시간에 따른 앞다리 운동감각의 운동학적 치료 효과를 알아보기 위하여 GAP-43 단백질 발현을 면역조직화학적 염색을 통하여 관찰한 결과, 실험군 I 은 14일에 일부 발현이 되었고, 실험군 II는 7일에 발현이 되다가 14일에도 비슷하게 발현되었다. 실험군 III은 7일에서부터 발현이 현저하게 증가하여 14일에는 더욱 증가하였고, 실험군 IV는 7일에 일부 발현이 되어 14일에 증가된 발현을 보였다[표 5][그림 7].

표 5. 날짜 경과에 따른 GAP-43의 반정량적 평가

군	평가날짜		
	1일	7일	14일
실험군 I	-	-	+
실험군 II	-	+	+
실험군 III	-	++	+++
실험군 IV	-	+	++

-: negative, +: mild, ++: moderate, +++: severe

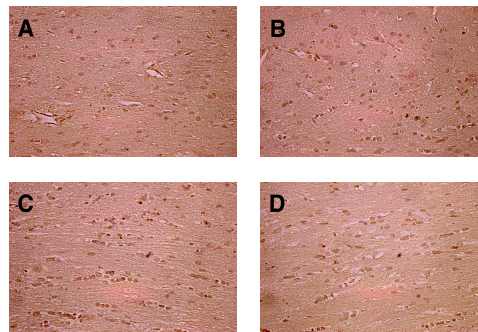


그림 6. 뇌손상 후 14일째에 대뇌피질에서의 GAP-43 발현 정도(A: 대조군, B: 10분 적용군, C: 20분 적용군, D: 30분 적용군, X200)

IV. 고찰

뇌의 기능측정이나 회복과 관련하여 뇌의 가역성 및 기능증진을 위한 여러 방법이 제시되고 있고, 그에 따라 뇌를 효과적으로 자극할 수 있는 방법에 대한 연구들이 중요하게 다루어지고 있다. 뇌 자극 방법 중 하나

인 tDCS는 rTMS에 비해 적용이 용이하며 아직까지 정확한 프로토콜이 정해져 있지 않은 실정이며[22], 지금까지 적용방법에 대한 연구가 진행되고 있으며 tDCS 적용에 따른 뇌 활성화가 대뇌피질 기능 조절에 대해 재평가되고 있다[1][2][8].

tDCS 적용시 여러 가지 조건이 필요하며 직류자극의 특성 뿐 아니라 뇌 자극 시 자극의 강도가 강하거나 자극으로 인한 신경의 과흥분과 뇌조직의 발열 등으로 뇌 조직에 손상을 유발할 수도 있어 많은 연구들이 필요한 실정이다.

tDCS의 적용은 뇌피질의 세포막을 효율적으로 조절하기 위해 전류의 강도와 자극 기간이 매우 중요하며 [6], Priori[8]는 전류의 강도, 전극의 크기, 자극 기간을 고려해야 한다고 하였으나 지금까지 발표된 비침습적 전기자극과 운동능력의 향상에 관한 연구들로는 정상인을 대상으로 한 연구에서 비우성수의 일차운동영역에 1 mA의 양극직류전류를 20분간 가한 후 Jensen-Taylor 손기능 검사에서 의미 있는 향상을 보고하였고 [22], 뇌질환 환자를 대상으로 한 연구로 Hummel 등 [24]은 6명의 만성기 뇌졸중 환자를 대상으로 일차운동영역에 1 mA강도의 양극직류자극을 20분간 실시하여 Jensen-Taylor 손기능 검사가 의미 있게 향상되었다고 발표하는 등 임상적 수준에서 단순비교 정도에 그치고 있는 실정이다.

이와 같이 1-2 mA의 약한 직류를 두피를 통하여 흘려주었을 때 대뇌피질의 활성도가 증가됨을 지금까지의 연구들에 의하면 세포막에서 전하의 변화로 인한 탈분극의 유도과 NMDA 수용체와 관련된 LTP(long term potentiation)등을 효과 기전으로 생각하고 있다[6][25]. 그러나 그 효과에 대한 기전과 적용방식에 대해서는 아직 많은 연구를 필요로 하고 있다[26].

본 연구는 국소 허혈성 뇌손상 흰쥐 모델을 대상으로 일정 강도(0.1 mA)하에 tDCS의 적용시간(10, 20, 30분)을 달리하여 앞다리 감각운동성 기능회복 및 GAP-43 단백질 발현 변화를 평가하여 tDCS의 임상적 효용성을 위한 기초자료로 제공하고자 실시하였다.

먼저, 신경학적 운동행동 평가를 위해 시각, 촉각 그리고 고유수용감각(proprioceptive)에 반응하는 앞다리

의 감각운동 통합 평가가 가능한 수정된 앞다리 배치 검사(MLPT)를 실시하였다. Placing deficit은 피질척수로의 손상과 감각 기능의 장애 특히, 고유수용감각 결합으로 발생되며[27], 앞다리의 지속적 및 반복적 훈련과 앞다리로 먹이를 잡는데(grasping) 있어 약간의 결합들까지 구별지을 수 있는 섬세한 감각운동 기능평가로 단일 펠릿 닿기 검사(SPRT)를 실시하였다.

운동행동학적 평가의 주된 결과는 MLPT에서 뇌손상 유발 후 1, 7일에는 네군 모두 유의한 차이를 보이지 않았으나 유발 후 14일에서 아무런 자극을 하지 않은 실험군 I에 비해 20분간 tDCS를 적용한 실험군 III에서 유의한 차이를 나타냈다( $p < 0.05$ ). 또한 SPRT에서도 뇌손상 유발 후 1, 7일에는 네군 모두 유의한 차이를 보이지 않았으나 유발 후 14일에서 실험군 I에 비해 20분간 tDCS를 적용한 실험군 III( $p < 0.01$ )과 30분간 tDCS를 적용한 실험군 IV( $p < 0.05$ )에서 유의한 차이를 나타냈다. 급성기(1일과 7일)에 0.1 mA강도로 10, 20, 30분간의 tDCS 적용이 운동행동학적으로 효과를 나타내지 않았음을 의미하며, 아급성기(14일)에 0.1 mA강도로 20분(실험군 III)과 30분(실험군 IV)에서 운동행동학적인 유의한 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이는 tDCS 적용이 앞다리의 감각운동 통합에 긍정적인 영향을 주었음을 의미한다.

한편, 운동행동학적 변화와 관련하여 신경세포의 발생과 재생에 관여하여 가소성 정도에 매우 중요한 영향을 끼치는 GAP-43 단백질의 발현 정도를 관찰하였다. 뇌 손상 유발 후 아무런 자극을 하지 않은 실험군 I은 14일째에서야 일부 발현이 되었고, 5분간 tDCS를 적용한 실험군 II는 7일째와 14일째에 비슷하게 발현되었다. 그러나 20분간 tDCS를 적용한 실험군 III은 7일에서부터 현저하게 발현이 증가되어 14일째에는 더욱 증가하였고, 20분간 tDCS를 적용한 실험군 IV는 7일에 일부 발현이 증가되지만 14일에는 실험군 III만큼 증가된 발현을 보이지는 않았다. 이는 아급성기에서의 tDCS 적용이 신경세포의 발생과 재생에 긍정적인 자극이 되었음을 의미한다. 이상으로 보아 뇌손상 후 14일째에 0.1 mA강도로 20분(실험군 III)과 30분(실험군 IV)에서 운동행동학적인 유의한 효과를 보인 결과와



GAP-43 단백질 발현의 연관성이 매우 높음을 면역조직화학적 방법으로 확인할 수 있었다.

지금까지의 모든 결과들을 종합해 보면, 본 연구는 기존에 자극 지속시간이 길수록 피질 활성도가 크다고 보고한 연구결과[7]와 다른 결과이며, 오히려 자극 시간, 강도, 전극의 크기의 고려가 조직 손상의 최소화에 중요함을 보고한 Priori[8]의 의견과 같은 결과를 나타냈다. 즉 본 연구에서는 0.1 mA의 강도로 20분간 적용했을 때가 앞다리운동감각 기능과 신경가역성 인자 GAP-43 발현에 가장 좋은 조건임을 확인할 수 있었다.

## V. 결론

본 연구에서는 국소 허혈성 뇌손상 흰쥐 모델을 대상으로 두피에 비침습적 경두개직류전기자극을 0.1 mA의 강도하에 20분간 적용했을 때가 앞다리운동감각 기능과 신경가역성 인자 GAP-43의 발현에 가장 좋은 조건임을 확인할 수 있었다. 짧은 전기자극이나 장시간의 전기자극은 오히려 뇌활성화에 미치지 못하는 문제가 나타났다. 따라서 본 연구의 결과는 임상에서 재활치료 시 tDCS의 다양한 조건들을 고려해야 함을 시사하는 기초자료가 될 것으로 생각한다.

## 참 고 문 헌

- [1] A. Priori, A. Berardelli, S. Rona, N. Accornero, and M. Manfredi, "Polarization of the human motor cortex through the scalp," *Neuroreport*, Vol.13, No.9, pp.2257-2260, 1988.
- [2] M. A. Nitsche and W. Paulus, "Excitability changes induced in human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation," *J Physiol*, Vol.527, No.3, pp.633-639, 2000.
- [3] C. Fraser, M. Power, S. Hamdy, J. Rothwell, D. Hobday, I. Hollander, P. Tyrell, A. Hobson, S. Williams, and D. Thompson, "Driving plasticity in human adult motor cortex is associated with improved motor function after brain injury," *Neuron*, Vol.34, No.5, pp.831-840, 2002.
- [4] B. R. Webster, P. A. Celnik, and L. G. Cohen, "Noninvasive brain stimulation in stroke rehabilitation," *NeuroRx*, Vol.3, No.4, pp.474-481, 2006.
- [5] C. Poreisz, K. Boros, A. Antal, and W. Paulus, "Safety aspects of transcranial direct current stimulation concerning healthy subjects and patients," *Brain Res Bull*, Vol.72, No.4-6, pp.208-214, 2007.
- [6] D. Liebetanz, M. A. Nitsche, F. Tergau, and W. Paulus, "Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC-stimulation-induced after-effects of human motor cortex excitability," *Brain*, Vol.125, No.10, pp.2238-2247, 2002.
- [7] M. A. Nitsche, S. Doemkes, T. Karakose, A. Antal, D. Liebetanz, N. Lang, F. Tergau, and W. Paulus, "Shaping the effects of transcranial direct current stimulation of the human motor cortex," *J Neurophysiol*, Vol.97, No.4, pp.3109-3117, 2007.
- [8] A. Prior, "Brain polarization in humans: a reappraisal of an old tool for prolonged non-invasive modulation of brain excitability," *Clin Neurophysiol*, Vol.114, No.4, pp.589-595, 2003.
- [9] R. J. Nudo, E. J. Plautz, and S. B. Frost, "Role of adaptive plasticity in recovery of function after damage to motor cortex," *Muscle Nerve*, Vol.24, No.8, pp.1000-1019, 2001.
- [10] D. L. Adkins-Muir and T. A. Jones, "Cortical electrical stimulation combined with rehabilitative training: enhanced functional recovery and dendritic plasticity following focal cortical ischemia in rats," *Neurol Res*, Vol.25,



- No.8, pp.780-788, 2003.
- [11] J. A. Kleim, R. Bruneau, P. VandenBerg, E. MacDonald, R. Mulrooney, and D. Pocock, "Motor cortex stimulation enhances motor recovery and reduces peri-infarct dysfunction following ischemic insult," *Neurol Res*, Vol.25, No.8, pp.789-793, 2003.
- [12] A. K. McAllister, L. C. Katz, and D. C. Lo, "Neurotrophins and synaptic plasticity," *Annu Rev Neurosci*, Vol.22, pp.295-318, 1999.
- [13] L. I. Benowitz and A. Routtenberg, "An intrinsic determinant of neuronal development and plasticity," *Trends Neurosci*, Vol.20, No.2, pp.84-91, 1997.
- [14] D. Liebetanz, F. Klinker, D. Hering, R. Koch, M.A. Nitsche, H. Potschka, W. Loscher, W. Paulus, and F. Tergau, "Anticonvulsant effect of transcranial direct-current stimulation(tDCS) in the rat cortical ramp model of focal epilepsy," *Epilepsia*, Vol.47, No.7, pp.1216-1224, 2006.
- [15] D. Liebetanz, R. Koch, S. Mayenfels, F. Konig, W. Paulus, and M. A. Nitsche, "Safety limits of cathodal transcranial direct current stimulation in rats," *Clin Neurophys*, Vol.120, No.6, pp.1161-1167, 2009.
- [16] J. B. Bederson, L. H. Pitts, M. Tsuji, M. C. Nishimura, R. L. Davis, and H. Bartkowski, "Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination," *Stroke*, Vol.17, No.3, pp.472-476, 1986.
- [17] E. Z. Longa, P. R. Weinstein, S. Carlson, and R. Cummins, "Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats," *Stroke*, Vol.20, No.1, pp.84-91, 1989.
- [18] 김상준, 뇌졸중 백서에서 반복적 경두개 직류 전기 자극에 의한 운동 기능 회복 기전, 서울대학교 대학원 박사학위논문, 2009.
- [19] S. W. Jeong, K. Chu, K. H. Jung, S. U. Kim, M. Kim, and J. K. Roh, "Human neural stem cell transplantation promotes functional recovery in rats with experimental intracerebral hemorrhage," *Stroke*, Vol.34, No.9, pp.2258-2263, 2003.
- [20] I. Q. Wishaw, W. T. O'Connor, and S. B. Dunnett, "The contributions of motor cortex, nigrostriatal dopamine and caudate-putamen to skilled forelimb use in the rat," *Brain*, Vol.109, No.5, pp.805-843, 1986.
- [21] G. Paxinos, and C. Watson, *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego, Academic Press Inc., pp.13-38, 2005.
- [22] Y. H. Kwon, M. H. Ko, S. H. Ahn, Y. H. Kim, J. C. Song, C. H. Lee, M. C. Chang, and S. H. Jang, "Primary motor cortex activation by transcranial direct current stimulation in the human brain," *Neurosci Lett*, Vol.435, No.1, pp.56-59, 2008.
- [23] P. S. Boggio, L. O. Castro, E. A. Savagim, R. Braitte, V. C. Cruz, R. R. Rocha, S. P. Rigonatti, M. T. Silva, and F. Fregni, "Enhancement of non-dominant hand motor function by anodal transcranial direct current stimulation," *Neurosci Lett*, Vol.404, No.1-2, pp.232-236, 2006.
- [24] F. Hummel, P. Celnik, P. Giraux, A. Floel, W. H. Wu, C. Gerloff, and L. G. Cohen, "Effects of non-invasive cortical stimulation on skilled motor function in chronic stroke," *Brain*, Vol.128, No.3, pp.490-499, 2005.
- [25] N. Lang, H. R. Siebner, N. S. Ward, L. Lee, M. A. Nitsche, W. Paulus, J. C. Rothwell, R. N. Lemon, and R. S. Frackowiak, "How does transcranial DC stimulation of the primary motor cortex alter regional neuronal activity in the human brain?," *Eur J Neurosci*, Vol.22, No.2, pp.495-504, 2005.
- [26] 고명환, E. M. Wassermann, 서정환, 김연희, 피

질기저핵변성 환자에서 경두개 직류전류 자극 후  
실행증 및 손기능 호전, 대한재활의학회지,  
Vol.31, No.3, pp.278-282, 2007.

[27] T. M. Barth, T. A. Jones, and T. Schallert,  
"Functional subdivisions of the rat somatic  
sensorimotor cortex," Behav Brain Res, Vol.39,  
No.1, pp.73-95, 1990.

### 저 자 소 개

김 기 도(Gi-Do Kim)

정회원



- 2006년 2월 : 동신대학교 물리치  
료학과(이학석사)
- 2010년 2월 : 동신대학교 물리치  
료학과(이학박사)
- 2011년 2월 ~ 현재 : 한국국제  
대학교 물리치료학과 교수

<관심분야> : 성인신경계물리치료, 신경과학

심 기 철(Ki-Chol Sim)

정회원



- 2008년 2월 : 동신대학교 물리치  
료학과(이학석사)
- 2010년 2월 : 동신대학교 물리치  
료학과(이학박사)

<관심분야> : 신경해부생리학, 신경과학

김 경 윤(Kyung-Yoon Kim)

정회원



- 2004년 2월 : 동신대학교 물리치  
료학과(물리치료학석사)
- 2007년 2월 : 동신대학교 물리치  
료학과(이학박사)
- 2006년 3월 ~ 현재 : 동신대학  
교 물리치료학과 교수

<관심분야> : 신경과학, 운동치료학