

흰쥐의 전뇌허혈 후 재관류 시 운동치료에 의한 신경영양성인자 발현

대전 서구보건소 물리치료실

구 상 훈

대구대학교 대학원 재활과학과 물리치료전공

송 주 영 · 권 영 실 · 남 기 원 · 송 주 민 · 이 윤 섭

영동전문대학 물리치료과

최 진 호

대구대학교 재활과학대학 물리치료학과

김 진 상

The Effect of Therapeutic Exercise on Brain-Derived Neurotrophic Factor After Global Brain Ischemia in Rats

Gu, Sang-Hun, P.T., M.S.

Department of Physical Therapy, Tejeon Seogu Health Center

Song, Ju-Young, P.T., M.S., Kwon, Young-Shil, P.T., Ph.D., Nam, Ki-Won, P.T., M.S.,
Song, Ju-Min., P.T., M.S., Lee, Yun-Seob, P.T., M.S.

Major in Physical Therapy, Department of Rehabilitation Science, Graduate School, Taegu University

Choi, Jin-Ho, P.T., Ph.D.

Department of Physical Therapy, Yeongdong Junior College

Kim, Jin-Sang, D.V.M, Ph.D.

Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Taegu University

< Abstract >

This study was performed to investigate the effect of therapeutic exercise on brain-derived neurotrophic factor manifestation after global brain ischemia in rats. Nine rats with global ischemia were divided at random into two group. In the control group, three rats remained in cage. But, in the end, two rats were alive. In the therapeutic exercise group, six rats remained. The five rats of this gorup was swam for 30 minutes everyday for a week.

The brain-derived neurotrophic factor expression was identified from immunohistochemistry.

The results of this study were as follows :

1. In the control group, a little expression of brain-derived neurotrophic factor was observed at cortex and hippocampus layer, but cell body and axon was observed obscurely.
2. In the experimental group, a much expression of brain-derived neurotrophic factor was observed at cortex and hippocampus layer, and cell body and axon was observed clearly.

In the neurological examination (beam-walking test), experimental group was obtained higher 1.4 points than control group. BDNF expression was increased by swimming for 30 minutes everyday for a week.

Therefore, therapeutic exercise contribute to brain plasticity after brain ischemia.

I. 서론

인간의 뇌는 산소와 영양분의 지속적인 공급을 혈액 공급에 의존하고 있다. 전뇌허혈은 대뇌 전체의 혈류를 동시에 차단하는 방법으로 뇌허혈의 병태 생리 연구에 많이 쓰이는 동물 실험 모델로써 사람에게서는 흔하지는 않지만 심장정지와 소생 동안 일시적인 전뇌허혈이 발생한다. 지속적으로 뇌혈류를 차단할 경우 측부 순환(collateral circulation)이 없으므로 전뇌가 급성 뇌경색에 빠지게 되고 높은 치사율을 보이나(Kirino과 Sanok, 1984), 5-10분 정도의 일시적인 허혈 자극을 가하고 즉시 재관류 시키면 급성 뇌경색에 빠지는 않지만 3-4일 경과 후 해마, 기저핵 등의 특정부위에서 신경세포가 소실되는 지연성 신경세포사(delayed neuronal death) 현상이 관찰되는 것으로 알려져 있다(Kirino과 Sanok, 1984, Abe 등, 1995).

그 발생 기전은 분명하지 않지만 현재까지의 가설로는 칼슘을 매개로 하는 글루탐산염(glutamate) 흥분독성(excitotoxicity), 단백질합성장애, 열충격단백질(heat shock protein) 유전자 발현 장애, 지질대사 및 유리산소기에 의한 손상, 에너지 대사이상, apoptosis, 미토콘드리아 유전자 및 대사의 이상 등이 그것이다. 이중 허혈초기 세포 내로 유입된 칼슘이 일련의 생화학적 연쇄반응(biochemical cascade)을 일으키고 유리산소기 활성화나 미토콘드리아 기능장애를 유발해 서서히 신경세포의 손상을 일으킬 것이라는 가설은 상당히 설득력 있게 받아들여지고 있다.

이러한 전뇌허혈 이후 적절한 응급처치와 초기치료를 통하여 살아남은 사람들은 생존했다하더라도 감각, 운동, 자율기능, 언어기능 등에 장애가 올 수 있으며 신체적, 인지적, 심리 사회적 기능에 심각한 장애를 가져올 수 있다(O'Sullivan, 1994). 이러한 환자는 그들의 일반적인 역할로 되돌아가기 위해서 장애를 다루는 목적에 알맞게 여러 분야에 걸친 과정을 필요로 한다(McGrath과 Davis, 1992). 특히 물리치료 분야에서는 신체적 장애를 가진 사람들의 침상활동, 의자 혹은 변기 이동, 보행, 운동을 위한 적절한 근육활동 등을 향상시키고 특히 일상생활활동의 실행을 위한 여러 전략을 통하여 기능적인 개선을 강조하게 된다. 또한 물리치료를 근골격계와 방사통, 구축, 경직, 탈조건상태(deconditioning) 등을 다루고 주요한 평가 항목은 관절가동범위, 근력, 균형, 피로도, 보행, 기능적 상태의 측정을 강조한다

(Bruceh 등, 1996). 뇌손상 환자에게 대한 운동치료학의 방향은 고전적인 원리를 기반으로 하여 신경학적, 신경생리학적 접근방법을 이용한 촉진기법, 혹은 감각통합치료 등의 새로운 방법화 시대를 맞고 있다(배성수, 1999). 그 원리를 주창한 대표적인 학자들은 신경근 재교육을 발표한 Kabat와 Knott, 신경생리학적 기전을 이용한 Rood, 인간운동의 기원을 집필한 Fay, 반사자세 원리를 제창한 Bobath 부처 등이다. 이 원리들을 실제 임상에서 적용할 수 있도록 PNF, Bobath·Rood법 등이 고안되었다(구희서 외, 1995). 이들 접근법은 운동조절의 반사와 수직 계층적 이론으로부터 끌어내어진 가정에 기초를 두고 있다(Horak, 1991, Gordon 1987, Woollacott과 Shumway-Cook, 1990, Horak과 Shumway-Cook, 1990).

그러나 II STEP 이후 뇌손상 환자의 물리치료는 운동발달, 운동행동, 운동학습과 운동조절, 생리학, 신경생물학적 상호작용을 포함하여 접근하고 있다(Spake, 1991, Finklestein 등, 1988, 1990). 또한, Finklestein 등(1988, 1990)이 뇌졸중 이후 basic growth factor 등의 성장인자의 발현을 처음 보고한 이래 뇌 허혈 이후 신경성장인자(nerve growth factor), Brain-derived neurotrophic factor(BDNF), neurotrophins에 대한 mRNA 유도 등이 보고됨으로써(Taked 등, 1993, Shu 등, 1993) 허혈 이후 세포내 반응이 세포사를 이끄는 것뿐만 아니라 신경보호적 반응도 함께 일어나고 있음이 밝혀졌다.

손상 이후 세포생존은 손상의 종류와 정도, 손상세포의 생후 연령, 손상부위 등이 중요한 인자로 작용하며 허혈과 관련된 일차적 자극은 조직내의 유전자 발현을 포함하는 조직내의 분자적이고 세포적인 일련의 연속적인 변화를 시작한다. 그 결과 세포가 기능부전을 가지거나, 죽거나 또는 살아남게 된다. 손상 후 신경 화학적 변화는 "세포사" 반응과 더불어서 내인성의 "신경보호" 반응도 함께 일어나는데 신경보호반응기전에 관련된 인자들은 신경영양성 인자들을 들 수 있으며 대표적인 것들로 BDNF, NGF, NT-3, NT-4/5와 같은 것이 있으며(McAllister 등, 1999), 이들 신경양성인자들로 인해 신경연접이 강화된다(Levin 등, 1995).

그중 특히 BDNF는 해마, 피질, 선조체, 척수 등의 대부분의 신경원에 폭넓게 분포하고 있다(Ernfors 등, 1990, Nawa 등 1995). BDNF는 nerve growth factor (NGF), neurotrophin-3(NT-3),

neurotrophin-4/5(NT-4/5)등을 포함하는 신경영양성 인자의 한 구성원이다(Lewin과 Barde, 1996). BDNF는 신경영양성인자의 생물학적 기능을 발휘하도록 하는 tyrosin kinase receptor(Trk)B로 알려진 Low-affinity p75 수용체에 결합하고 활성화한다(Barbacid, 1994, Bothwell, 1995).

BDNF는 신경원의 생존과 선택적인 분화를 증진시킨다(Davies, 1994, Lewin과 Barde, 1996). 예를 들어 BDNF는 *in vitro*와 *in vivo* 모두에서 somatostatin, substance P, neuropeptide Y와 cholecystokinin과 같은 특별한 neuropeptides의 발현을 자극하기 때문에 GABA-containing neurons을 위한 peptidergic differentiation으로써 활동한다(Nawa등 1993, 1994, Croll등, 1994). peptidergic differentiation factor로써 BDNF는 calcium-binding proteins의 발현을 조절하는 것으로 보고되었다. 그래서 BDNF는 배양된 해마와 피질 신경원에서 calbindin 발현을 자극한다(Lp등, 1993, Widmer과 Hefli, 1994).

신경영양성인자의 mRNA 양은 호르몬의 영향이 첨가된 신경적 활동에 의해서 조절된다. 상향조절(up-regulation)은 발생기 동안의 유행과 상대적으로 다른 N-methyl-D-aspartate(NMDA)와 non-NMDA 수용체를 경유한 glutamate에 의해서 영향을 받는다(Zafra 등 1991). 또한 muscarinic 수용체를 경유한 acetylcholine에 의해서 영향을 받는다. 하향조절은 GABA_A 수용체를 경유한 gamma-aminobutyric acid(GABA)에 의해서 조절된다(Zafra등 1991). 신경영양성인자의 합성에서 특히 BDNF의 경우 시각적 입력과 같은 생리학적 자극에 의해서 조절된다. 특별히 tetrodotoxin의 동공내 주입과 암흑 속에서 사육에 의한 시각피질에 대한 감각입력의 차단은 BDNF mRNA의 급속한 하향조절을 일으킨다. 이것은 시각입력이 시각계에서 BDNF의 발달 조절을 위해서 필수적이라는 것을 가리킨다.

BDNF 합성은 생리학적 자극에 의한 활동 의존 방법에 의해 조절되고 그것의 생물학적 영향인 TrkB에 의해서 조절된다. 최근의 연구는 BDNF가 연접전달의 급성기 효능을 가질 수 있고 신경원 감소성의 조절에도 관여한다(McAllister 등, 1999). 뇌에서의 다양한 손상은 피질과 해마 신경원에서의 BDNF mRNA와 단백질 레벨에 관한 변화를 야기한다(Lindvall 등, 1994, Kokaia 등, 1996). 손상에 의한 BDNF의 합성증가는

보호적 반응인 중화적인 세포 죽음(counteracting cell death)으로 볼 수 있다. BDNF의 뇌실내 투약은 전뇌 허혈(global forebrain ischemia) 후 CA1 피라미드 신경원의 손상을 개선하였고(Beck 등, 1994), 중뇌동맥 폐쇄 후 경색 크기를 감소시켰다(Schabitz 등, 1997). 그러므로, BDNF는 많은 신경원의 기능과 생존을 지원하며(Altar 등, 1992, Ghosh 등, 1994), 자유기 손상으로부터 신경원을 보호한다(Spina 등 1992).

또한 신체적 운동은 신경유도체에 영향을 주게되며, Nepper등은 신체적운동이 뇌의 특별한 부위에서 BDNF 유전자 발현을 증가시킨다고 보고하였다.

이러한 관점에서 뇌허혈 손상 후 운동치료의 적용 효과를 분자생물학적 관점에서 객관화되고 과학적인 방법으로 해석하는 것이 절실하게 요구된다. 본 실험은 동물 모형인 흰쥐를 대상으로 실험적인 전뇌허혈을 가한 후 치료적 중재 이후 신경학적 회복과 그 회복의 기전에 기초가 되는 가소성을 뒷받침하는 신경영양성 인자 중 BDNF 발현을 비교하여 운동치료의 효과를 규명하고자 한다.

II. 연구방법

1. 실험동물

본 연구에 이용된 실험동물은 생후 8-10주, 체중 250-300g의 건강하고 신경학적으로 이상이 없는 성숙된 자성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였다. 실험 기간 중 물과 먹이는 제한 없이 공급하였고, 실험실 온도는 21±1℃를 유지하며 1일 12시간의 광주기와 12시간의 암주기를 적용하였다.

2. 실험방법

1) 실험전 처치

염산케타민(Ketamine HCl, 유한양행)과 럼퐁(Rompun, 바이엘코리아)을 1:1 비율로 섞어 제조한 전신 마취제를 복강주사(0.5ml)하여 흰쥐를 마취하였다. 직장은도계와 전기 열 패드를 사용하여 체온을 37℃내외로 유지하였다. 실험동물을 앙와위로 고정시킨 후 흉곽 상부의 목 부위의 털을 제거한 후 정중선을 따라 약 2cm의 길이로 절개하였다. 흉쇄유돌근을 벗겨서 총경동

맥 주위의 결체조직 및 미주신경을 분리하여 양측 총경 동맥을 동맥류용 클립으로 동시에 10분간 결찰해 전뇌 허혈을 유발시킨 후 재관류시켰다.

2) 운동치료

총 20마리의 흰쥐를 전뇌허혈 후 1주일간 케이지 안에 2마리씩 넣어 먹이와 물을 제한 없이 공급하여 안정을 취하게 한 후 무작위로 선택하여 실험군으로 6마리, 대조군으로 3마리를 추출하였다. 대조군에게는 먹이와 물을 제한 없이 공급하였고 어떠한 운동자극도 제공하지 않았다. 실험군은 높이 1m, 지름 80cm의 플라스틱으로 만들어진 둥근 실험용 통 안에서 하루 30분간, 1주일동안 수영을 실시하였다. 물의 깊이는 40cm 높이 까지 물을 담아서 쥐가 임의로 멈추어 서있거나 실험통에서 탈출을 방지하였으며, 물의 온도는 자동온도 조절장치를 갖춘 열 코일을 사용하여 40℃±1로 유지하였다. 또한 수영 후 급격한 체온 저하를 방지하기 위하여 열히터 및 온풍기를 사용하여 체온을 유지하도록 하였다.

3. 측정

1) 사망수 및 치사율

양은총경동맥을 결찰하여 전뇌허혈 한 실험쥐 20마리 중 전뇌허혈 후 1주 동안 사망한 총 흰쥐의 마리 수를 전뇌허혈 한 총 흰쥐의 마리 수로 나누어서 100을 곱해준 백분율로 나타냈었다.

$$\text{치사율(\%)} = \frac{\text{사망한 총 마리 수}}{\text{전뇌허혈 한 총 마리 수}} \times 100$$

2) 막대 걷기 검사(beam-walking test)

뇌허혈 유발이후 신경학적 운동장애를 나타내는 정도를 막대 걷기 검사를 뇌허혈 후 1주일과 2주일 경과 후 각각 측정하였다. 막대 걷기 검사는 Goldstine(1990)의 검사를 수정한 것으로 운동의 통합과 협응성을 검사하기 위해 실시하였다. 바닥에서 450mm 높이의 의자 두 개를 1600mm 길이의 공간을 두고 마주보게 놓고 길이 1810mm, 폭 30mm의 막대를 걸쳐놓는다. 점수는 올려놓자마자 떨어지면 0점, 막대를 건너갈 수는 없지만 그 위에 앉아 있으면 1점, 걷다가 떨어지면 2점, 막대를 건너지만 70%이상 미끄러지면서 건너면 3점, 50%이상

미끄러지면서 건너면 4점, 조금만 미끄러지면서 건너면 5점, 전혀 미끄러지지 않으면서 건너면 6점으로 하였다.

3) 조직학적 검사

대조군 실험군 모두를 염산케타민과 립핀으로 마취시킨 후 심장 관류를 통해 8% paraformaldehyde로 전고정을 실시하였다. 그 이후 단독하여 골절단기를 이용하여 두개골을 제거하고 시신경, 후각신경 및 그 외의 뇌신경들을 절단한 후 전체 뇌를 적출 하였다. 적출된 뇌는 절편으로 자르기 전까지 8% paraformaldehyde로 후 고정하였다. 극저온 냉동기를 이용하여 영하 35℃ 냉동상태에서 초박절편기를 사용하여 전두엽에서부터 관상면으로 30µm 절편을 만들어 6-cell에 나누어 보관하였다.

4) 면역조직학적 염색

한 cell 안에 담겨진 30µm 절편을 1:250으로 희석한 rabbit polyclonal antibody BDNF(Santa Cruze-20, USA)에서 24시간 일차 배양한 후 절편을 0.01M PB로 10분씩 3회 수세한 후 이차로 anti-rabbit IgG과 0.1% Triton X-100으로 90분동안 배양한다. 다시 절편을 0.01M PB로 10분씩 3회 수세한 후 삼차로 PBST로 희석한 ABC-kit(Vector, USA)로 60분간 배양한 후 0.01M PB로 수세과정을 거치고 10분간 DAB로 염색을 실시한다. 0.01M PB로 10분씩 3회, DW로 10분씩 3회 수세한 후 조직을 슬라이드 위에 올린다. 최종적 보존적 조직검사를 위해 toluidin blue로 3분간 염색한 후 흐르는 물에서 수세하고 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% I, 100% II 에탄올, 100% xylen I, 100% xylen II의 과정을 10분씩 거쳐 탈수하였다. 그 후 모든 슬라이드에 permanent mounting media를 이용하여 cover glass에 올렸다.

검사결과는 현미경 하에서 단위면적 당 반응성이 아주 높으면 +++, 높은 편이면++, 반응성이 나타나면+, 거의 나타나지 않으면-, 전혀 나타나지 않으면-로 표시하였다.

III. 연구결과

1. 사망 수 및 치사율

총 20마리의 전뇌허혈한 흰쥐 중 7일 이내에 11마리

가 사망하였으며 7일 이후에 실험군에서 1마리, 대조군에서 1마리가 추가로 사망하였다. 전뇌허혈 후 총 사망

한 흰쥐의 수는 11마리가 사망하였다. 치사율은 표1과 같다.

표 1. 흰쥐의 전뇌허혈 후 치사율

	사망한 마리수	치사율
7일 이내	11	55%
14일 이내	2	10%
14일까지 합계		65%

$$\text{치사율(\%)} = \frac{\text{사망한 총 마리수}}{\text{전뇌허혈한 총마리수}} \times 100$$

2. 막대 걷기 검사(beam-walking test)

막대 걷기 검사는 전뇌허혈 후 1주일 경과 후 대조군은 3.2점, 실험군은 3.1점, 2주일 경과 후 대조군은 4.5

점, 실험군은 5.9점을 보였으며 이것을 그림1로 나타내었다. 따라서 운동치료를 제공받은 실험군에서 더 높은 운동협응과 균형반응을 나타낸 것으로 볼 수 있다.

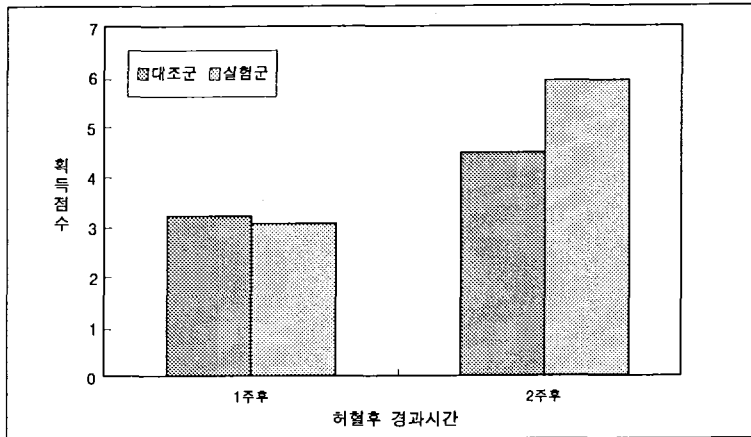


그림 1. 막대걷기 검사

대조군 : 전뇌허혈 후 치료적 자극을 제공하지 않은 그룹군

실험군 : 전뇌허혈 후 운동치료를 제공받은 그룹군

1주, 2주후 : 전뇌허혈 후 경과 기간

3. 면역조직화학반응 검사

대조군과 실험군에 대한 면역반응에 대한 BDNF 발현 빈도는 표2와 같이 나타났으며 면역조직화학반응에 대한 결과는 그림2와 같다. 이는 운동치료를 받은 그룹군에서 더욱 높은 BDNF 발현 빈도를 보였다. 대조군에서는 BDNF 발현이 거의 나타나지 않았다. 그러므로

대조군 보다 운동치료를 받은 실험군이 신경의 손상을 방지하고, 축삭의 성장을 유도하며 최종적으로 기능적 회복율이 높다고 볼 수 있다.

또한 전뇌허혈 후 BDNF에 대한 면역반응에 대한 분포도는 표3과 같이 나타났다. 이 결과로 BDNF는 해마 및 피질 4-5층에 넓게 분포하였다.

표 2. 전뇌허혈 후 운동치료를 통한 BDNF 발현 분포도 비교

발현부위	대조군	실험군(운동치료군)
hippocampus	-	+++
cerebral cortex IV-V	-	+++

표 3. 전뇌허혈 후 뇌내의 BDNF 발현 분포도

발현부위	발현빈도
hippocampus	+++
cerebral cortex IV-V	+++

+++ : 단위면적 당 반응성이 아주 높음.

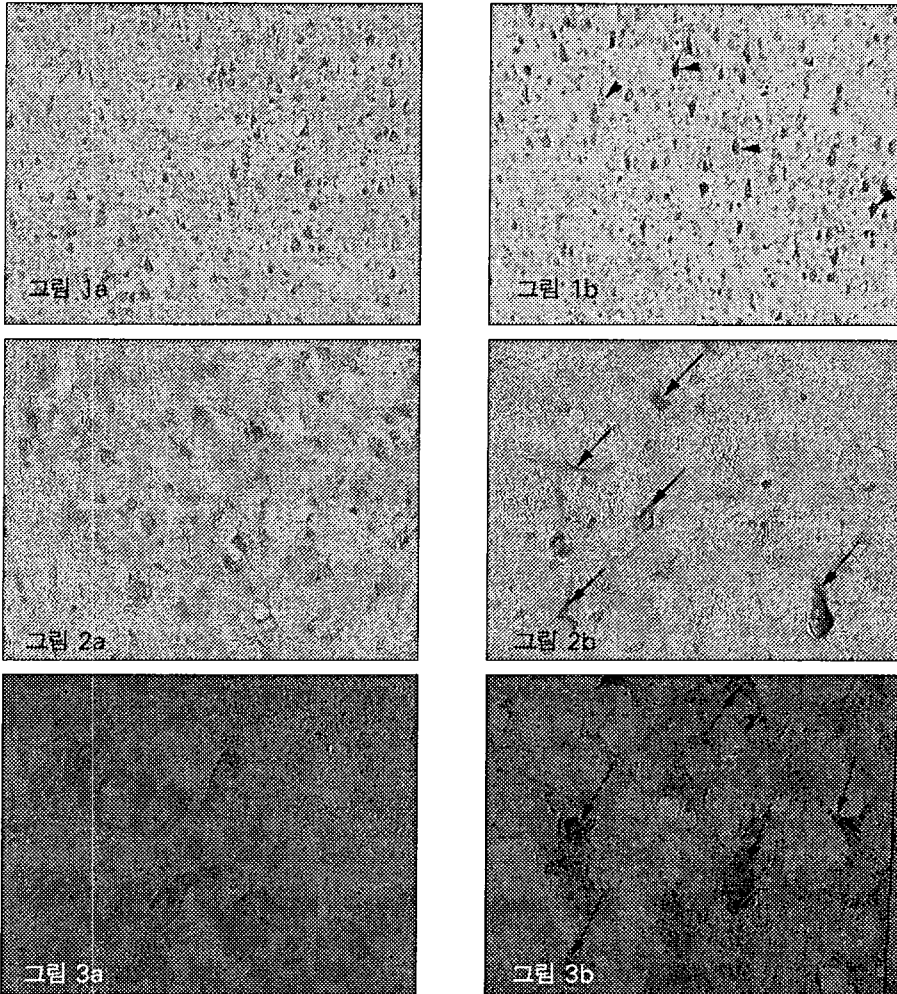


그림 2. 전뇌허혈 후 BDNF 발현 비교

- 가. 대조군 세포체 관찰(×100) 대뇌 피질 부위
- 나. 운동치료군 세포체 관찰(×100) 대뇌피질 부위 Arrow : 큰피라미트 세포(Betz cell)
- 다. 대조군 BDNF 발현(×200) 대뇌 피질 부위
- 라. 운동치료군 BDNF 발현(×200) 대뇌 피질 부위 Arrow : BDNF가 발현된 세포
- 마. 해마에서 BDNF 발현(대조군(×400)) 해마 부위
- 바. 해마에서 BDNF 발현(운동치료군(×400)) 해마 부위 Arrow : BDNF가 발현된 세포

IV. 고찰

물리치료와 작업치료는 중추신경계의 병변에 기인하는 운동장애로 고생하는 환자에게서 중요한 치료적 접근법이다. 일반적으로 운동치료는 비록 그와 같은 방법에 관한 신경생리학적 메커니즘이 이해되지 않을 지라도 효과적인 것으로 고려되어진다. 운동 재활은 증가된 근긴장도 감소, 근활동의 촉진, 실제 환경에서 운동 실행을 개선시키는데 목적을 두고 있다. 생리학적이고 신경해부학적 기초는 피질손상 후 기능적 운동 회복에서 초기의 연구자들은 소실된 피질기능은 손상부위에 이웃한 피질이 역할을 맡는다는 것을 제안하였다(Glees와 Cole, 1950). 다른 연구자들은 동일한 혹은 반대편 대뇌반구 혹은 피질 하 조직에 있는 피질운동 부위가 회복에 역할을 할 것이라고 제안하였다(La Velle, 1973, 1984). Weiller는 뇌의 잠재적인 거대한 가소성과 운동 센터 내의 병변 후 재배열에 관한 (개인적으로 다양한) 패턴을 강조하였다. 이들 변화는 동측과 반대측의 운동 영역 내에서 미리 존재하는 신경 네트워크의 기여를 반영하는 활동 증가와 감소와 운동활동 동안 변경된 활동 패턴을 포함한다. Rossini 등은 뇌졸중 환자에서 손상된 손의 기능적 회복과 관련된 해부학적이고 기능적인 부위를 묘사하기 위해서 fMRI(functional magnetic resonance imaging), MEG(magnetoencephalography)와 TMS(transcranial magnetic stimulation)를 이용한 뇌지도 등을 사용하였다. 특별히, 운동의 반복적 실행은 운동학습과 회복을 위한 중요한 필수조건이라는 것을 확인했다.

신경영양성 인자(neurotrophic factor)는 성장인자로서 신경계의 발달 및 유지를 위한 필수적 조절인자다. 이들 물질은 특히 신경의 생존, 축삭 성장, 시냅스 가소성 등의 조절자 역할을 담당하는 물질로서 뇌졸중이나 척수손상 동물모델 실험을 통해 이들 물질은 신경의 손상을 방지하고 축삭의 성장을 유도하며 최종적으로 기능적 회복을 돕는 역할을 담당하는 것으로 확인되었다.

최근의 연구결과 신경영양성 인자물질들이 운동학습이나 신체활동 등을 통해 활동 의존적으로 중추신경계 내에서 그 발현이 증가되는 것으로 확인되었다. 이들 물질은 특히 손상된 신경계 질환의 보상적 의미뿐만 아니라 질환의 진행을 방지하는 역할이 밝혀졌다.

신경영양성 인자의 종류 물질은 NGF(Levi-Montalcini 와 Hamburger, 1953), BDNF(Barde 등, 1982), NT-3(Rosenthal 등, 1990), NT-

4/5(Berkmeier 등 1991), NT-6(Gotz 등 1994)가 확인되었다.

1900년대 중반까지 신경계에서 성장인자의 역할은 신경계 발달 단계시 신경의 생존을 조절하는 제한적 역할만 존재한다는 학설이 지배적이었으나 성체 중추신경계에 이들 물질이 존재하고 특히 신경손상 시 신경세포사를 방지하며(Kromer, 1987), 신경계 시냅스의 기능을 조절하는 역할을 담당하는 것으로 확인되었다(Thoenen, 1995; Bothwell, 1995).

최근에는 신경계 수복과 관련된 임상 치료적 측면의 다양한 연구가 진행 중이다. 그중 BDNF는 돼지 추출물 연구를 통해 확인되었으며(Barde 등 1982) 120 여개의 아미노산 단백으로 구성된 물질로 최종확인 되었다(Leibrock 등, 1989). BDNF mRNA와 그 단백은 보다 광범위한 부위에서 확인되며 특히 해마에서 풍부하게 발현되고(Wetmore 등 1990), 이러한 발현양상은 신경활성에 의해 조절되는 것으로 보고되었다(Thoenen 등, 1991). 이는 세포막에 존재하는 수용체와 결합하여 그 기능을 담당한다. 세포막에 존재하는 수용체는 Trk(tyrosine kinase)와 p75의 두 종류가 있다. Trk 수용체에는 TrkA, TrkB, TrkC의 세 종류가 있으며 TrkA는 NGF와 결합하여(Kaplan 등, 1991) 주로 교감신경 및 감각신경과 뇌내 조직의 아주 적은 신경에서 확인되었다. 그리고 TrkB와 TrkC는 대다수의 신경세포 안에서 발견되며 TrkB는 BDNF와 NT-4/5와 결합하고(Klein 등, 1991), TrkC는 NT-3와 결합활성을 나타낸다(Lamballe 등 1991).

위와 같이 Trk 신경영양성 인자와 결합한 Trk 수용체는 ligand/receptor 복합체를 형성하며 결합된 복합체는 신경세포 축삭 내 미세소관(microtubule)을 따라 역행성 물질수송 단계를 거쳐 신경세포의 대사 생리에 영향을 미친다.

p75는 각각의 신경성장 인자와 결합할 수 있고(Barker와 Murphy, 1992), 그 주된 역할은 신경영양성인자와 Trk 수용체의 상호작용을 조절하여 직접적으로 세포의 기능에 영향을 미치고(Majdan 등, 1997; Yeo 등, 1997) 또, 인지질 sphingomyelin 대사를 조절하며(Dobrowsky 등, 1994), 발생기 동안 세포고사(apoptosis)를 촉진(Rabizadeh 등, 1993; Yeo 등, 1997)하는 것으로 보고되었다.

이들 신경영양성 인자들 중 NGF 항체 투여는 척수신경절 감각신경의 손상 현상이 확인되었으며(Johnson

등, 1993), 성체 중추신경에서 기저 전뇌의 콜린성 신경은 NGF에 매우 민감한 신경조직으로 신경세포의 유지와 생존을 위해서는 NGF의 발현이 꼭 필요하고(Thoenen 등, 1987; Whittemore와 Seiger, 1987), NGF의 투여는 역행성 신경퇴행과 같은 고사성 세포사(apoptosis cell death) 또한 방지하고(Wilcox와 Applegate, 1995) entorhinal cortex를 절단한 이후 동측 치상회(dentate gyrus)의 바깥 분자층에서 NGF의 면역반응이 증가하였다(Conner 등, 1994). 또한 NGF는 동물 실험에서 기억과 같은 인지기능에 유의한 영향을 미친다(Fischer 등, 1987).

광범위한 중추신경내에서 관찰되는 BDNF는 신경의 기능과 생존을 위한 필수적인 물질로 in vivo에서 외인성 BDNF 투여 실험에서 발달기 동안 일어나는 정상적인 세포사까지 방지하는 것으로 확인되었고(Oppenheim 등 1992), 중추신경내 도파민성 신경, 세로토닌성 신경, GABA 신경에 적절한 작용을 담당하며(Drago 등, 1994; Lindfors 등 1995; Studer 등, 1996), 특히 운동신경의 생존능력을 촉진할 수 있는 것으로 보고되었다(Ikeda 등, 1995; Yan 등 1992).

또한 BDNF는 세포고사와 밀접한 관련이 있는 흥분성 신경전달 물질인 glutamate 유도성 신경세포 손상 또한 방지하는 것으로 보고되었다(Shimohama 등, 1993). BDNF 발현 감소는 알츠하이머 질환과 밀접한 관련되어있고(Phillips 등, 1991), 파킨슨 질환과 같은 운동신경 질환에서도 도파민성 신경의 생존력을 증가시킬 수 있는 것으로 보고되었다(Gall 등, 1992). 본 연구에서도 쥐의 대뇌의 전뇌허혈 후 운동치료를 통한 BDNF의 증가가 운동치료를 받은 그룹에서 유의하게 증가하여 나타내었다. 또한 신경학적 검사인 막대걷기 검사에서 운동치료 적용군에서 더욱 높은 점수를 얻었다. 이는 운동치료가 전뇌허혈 후 신경가소성을 증진시켰다는 것을 알 수 있다. 그러나, 본 연구에서는 신경영양성인자 중 BDNF의 발현만 관찰하여 연구의 제한점을 나타내었으며, 운동의 방법, 운동의 강도, 적용시기, 지속기간 등에 관하여 더욱 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 연구에서는 12시간의 압주기와 광주기를 각각 적용하여 사육한 8-10주된 성숙된 자성 Sprague-Dawley

계통 흰쥐에게 먹이와 물을 제한 없이 공급하여 양총경 동맥을 10분간 동시 결찰하여 전뇌허혈 후 중추신경계 손상을 가진 흰쥐에게 신체적 운동방법인 수영을 제공하였다. 신경학적 검사인 막대걷기검사에서 대조군에서 보다 운동치료군에서 1.4점 높은 향상을 보였다. 또한, BDNF 발현에서도 대조군에서는 단위 면적 당 반응성이 거의 나타나지 않았으나 운동치료군에서는 단위면적 당 반응성이 아주 높게 나타났다. 이는 신체적 운동이 해마와 대뇌피질 IV-V에서 BDNF의 발현을 증가시켰다. 운동으로 증가된 BDNF는 신경세포의 성장과 기능 생존을 지원하여 손상과 퇴행에 대한 뇌의 저항을 증가시킨다.

이러한 결과로 미루어 운동치료가 뇌의 가소성에 영향을 미쳐 신경영양인자의 발현률을 증가시켜 결과적으로 신체적 기능향상을 가졌다고 볼 수 있을 것이다.

〈참 고 문 헌〉

- 구회서의 12인 : 운동치료학 서울, 대학서림, 1999.
- 배성수 : 신경생리학적 운동치료 접근법. 제1회 신경생리학적 운동치료 접근법의 재조명 학술 심포지움. 대구대학교 재활과학대학원 물리치료전공, pp2-10, 1999.
- Abe K., Aoki M., Kawagoe J., et al : Stroke. 26, 1478-1489, 1995.
- Alderson R.F., Alterman A.L., Barde YA. et al : Neuron, 5, 297-306, 1990.
- Alta C.A., DiStefano PS. : Neurotrophin trafficking by anterograde transport. Trends Neurosci, 21, 433-437, 1992.
- Barbacid M. : The Trk family of neurotrophin receptors. J. Neurobiol., 25, 1386-1403, 1994.
- Barde YA., Edgar D., Thoenen H. : Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. EMBO., 1, 549-553, 1982.
- Beck T., Lindholm D., Castren E., et al : Brain-derived neurotrophic factor protects against ischemic cell damage in rat hippocampus. J. Cereb. Blood. Flow. Metab., 14, 689-692, 1994.
- Berkmeier LR., Winslow JW., Kaplan DR. :

Neurotrophin-5: A novel neurotrophic factor that activates trk and trkB. *Neuron*, 7, 857-866, 91.

Bothwell M. : Functional interactions of neurotrophins and neurotrophin receptors. *Annu. Rev.*, 18, 223-253, 1995.

Braker PA., Murphy RA. : The nerve growth factor receptor : a multicomponent system that mediates the actions of the neurotrophin family of protein. *Mol. Cell*, 110, 1-15, 1992.

Bruceh H., Dobkin. : *Neurologic Rehabilitation*. F.A. Davis Company, Philadelphia., 1996.

Conner JM., Fass-Homes B., Varon S. : Changes in nerve growth factor immunoreactivity following entorhinal cortex lesions: possible molecular mechanism regulating cholinergic sprouting. *J. Comp. Neurol.*, 345, 409-418, 1994.

Croll. SD., Wiegand SJ., Anderson KD., et al : Regulation of neuropeptides in adult rat forebrain by the neurotrophins BDNF and NGF. *Eur. J. Neurosci.*, 6, 1343-1353, 1994.

Davies. AM. : The role of neurotrophins in developing nervous systems. *J. Neurobiol.*, 25, 1334-1348, 1994.

Dobrowsky RT., Werner MH., Chao MV. : Activation of the sphingomyelin cycle through the low-affinity neurotrophin receptor. *Science*, 265, 1596-1599, 1994.

Drago, J. Kilpatrick TJ., Koblar SA. : Growth factors: potential therapeutic applications in neurology. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatric*, 57, 1445-1450, 1994.

Ernfors P., Wetmore C., Olson L. et al : Identification of cells in rat brain and peripheral tissues expressing mRNA for members of the nerve growth factor family. *Neuron*, 5, 511-526, 1990.

Finklestein SP., Apostolides DJ., Caday CG. et al : Increased basic fibroblast growth factor(bFGF) immunoreactivity at the site of focal brain wounds. *Brain, Res.*, 460, 253-259, 1988.

Finklestein SP., Caday CG., Kano M., et al : Growth Factor expression after stroke. *stroke*, 21,(suppl III), III-122-III124, 1990.

Fischer W., Wictorin K., Bjorklund A. : Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. *Nature*, 329, 65-68, 1987.

Gall CM., Gold SJ., Isackson PJ. : Brain-derived neurotrophic facotr and neurotrophin-3 mRNAs are expressed in ventral midbrain regions containing dopaminergic neurons. *Mol. Cell. neurosci.*, 3, 56-63, 1992.

Ghosh A., Carnahan J. Greenberg ME. : Requirement for BDNF in activity-dependent survival of cortical neurons. *Science*, 263, 1618-1623, 1994.

Goldstein LB., Davis JN. : Post-lesion Practice and amphetamine - facilitated recovery of beam-walking in the rat. *Restor. Neurol. Neurosci.*, 1, 311-314. in Ohlsson A-L, Johansson, BB.,(1995) *Emviromental influences Functional Ourcom of cerebral Infarction in Rats*, *Stroke*, 264, 644-649, 1990.

Gordon J. Assumptions underlying physical therapy intervention : theoretical and historical perspectives. In Carr, JH., Shepherd, R., Gordon, J. : *Movement Science : foundations for physical therapy rehabilitation*. Rockville, MD : Aspen systems, 1987.

Gotz R., Koster R., Winkler C. : Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth factor family. *Nature*, 372, 266-269, 1994.

Horak FB. : Assumptions underlying motor control for neurologic rehabilitation. In contemporary management of motor control problems. *Proceedings of the II Step conference*. Alexandria, VA, APTA, 11-27, 1991.

Horak F., Shumway-Cook A. : Clinical Implication of posture control research. In: P

- Duncan, Balance. Alexandria, VA. APTA., 105-111, 1990.
- Hsu CY., An G., Liu JS. et al : Expression of immediate early gene and growth factor mRNA in a focal cerebral ischemia model in the rat. *Stroke*, 24(supp I), 1-78-1-81, 1993.
- Ikeda K., Klinksz B., Greene T. : Effects of brain-derived neurotrophic factor on motor dysfunction in wobbler mouse motor neuron disease. *Ann. Neurol.*, 37, 505-511, 1995.
- Ip NY., Li Y., Yancopoulos GD. et al : Cultured hippocampal neurons show responses to BDNF, NT-3, and NT-4, but not NGF. *J. Neurosci.*, 13, 3394-3405, 1993.
- Jones KR., Farina SL., Backu SC. et al : Targeted disruption of the BDNF gene perturbs brain and sensory neuron development but not motor neuron development. *cell*, 76, 989-999, 1994.
- Johnson EM., Osborne PA., Rydel RE. : Characterization of the autoimmune nerve growth factor deprivation in the developing guinea pig. *Neuroscience*, 8, 631-642, 1983.
- Kaplan DR., Martin ZD. Parada LF. : Tyrosine phosphorylation and tyrosine kinase activity of the trk proto-oncogene product induced by NGF. *Nature*, 350, 158-160, 1991.
- Kirino T., Sano K. : Fine structural nature of delayed neuronal death following ischemia in the gerbil hippocampus. *Acta. Neuropathol.*, 62, 209-218, 1984.
- Klein R., Jing SQ., Nanduri E. : The trk proto-oncogene encodes a receptor for nerve growth factor. *Cell*, 65, 189-197, 1991.
- Kokaia Z., Nawa H., Uchino H. et al : Regional brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein levels following transient forebrain ischemia in the rat. *Mol. Brain. Res.*, 38, 139-144, 1996.
- Kromer LF. : Nerve growth factor treatment after brain injury prevents neuronal death. *Science*, 235, 214-216, 1987.
- Lamballe F., Klein R., Barbacid M. : The trk family of oncogene and neurotrophin receptors. *Princess Takamtsu Symp.* 22, 153-170, 1991.
- Leibrock J., Lottspeich F., Hohn M. : Molecular cloning and expression of brain derived neurotrophic factor. *Nature*, 341, 149-152, 1989.
- Levi-Montalcini R., Hamburger Y. : A diffusible agent of mouse sarcoma, producing hyperplasia of sympathetic ganglia and hyperneurotization of viscera in the chick embryo. *J. Exp. Zool*, 123, 133-288, 1953.
- Levine ES., Dreyfus CF., Black IB. et al : Differential effects of NGF and BDNF on voltage-gated calcium currents in embryonic basal forebrain neurons. *J. Neurosci*, 15, 3084-3091, 1995.
- Lewin GR., Barde YA. : Physiology of the neurotrophins. *Annu. Rev. Neurosci.*, 19, 289-317, 1996.
- Lindfors N., Brodin E., Metsis M. : Spatiotemporal selective effects on brain-derived neurotrophic factor and trkB messenger RNA in rat hippocampus electroconvulsive shock. *Neuroscience*, 65, 661-670, 1995.
- Lindvall O., Kokaia Z., Bengzon J. et al : Neurotrophins and brain insults. *Trends. Neurosci.* 17, 490-496, 1994.
- Majdan M., Lachance C., Gloster A. : Transgenic mice expressing the intracellular domain of the p75 neurotrophin receptor undergo neuronal apoptosis. *J. Neurosci.*, 17, 6988-6998, 1997.
- McAllister AK., Katz LC., Lo DC. : Neurotrophin regulation of cortical dendritic growth requires activity. *Neuron*, 17, 1057-1064, 1996.
- McAllister AK., Katz LC., Lo DC. : Neurotrophins and synaptic plasticity. *Annu. Rev. Neurosci.*, 22, 29-318, 1999.
- McGrath J., Davis A. : Rehabilitation : Where are we going and how do we get there? *Clin.*

- Rehabil., 6, 225-235, 1992.
- Nawa H., Carnahan J., Gall C. : BDNF protein measured by a novel enzyme immunoassay in normal brain and after seizure: partial disagreement with mRNA levels. *Eur. J. Neurosci.*, 7, 1527-1535, 1995.
- Neeper SA., Gomez-Pinilla F., Choi J. et al : Exercise and brain neurotrophins. *Nature*, 373, 6510, 1995.
- Osuullivan SB., Schmitz TJ. : Physical rehabilitation : Assessment and Treatment, 3ed, Philadelphia, F.A Davis Company, 1994.
- Oppenheim DW., Qin-Wei Y., Philadelphia Preventte D. : Brain-derived neurotrophic factor rescues developing avian motor neurons from cell death. *Nature.*, 360, 755-757, 1992.
- Phillips HS., Hains JM., Philadelphia Armanini M. : BDNF mRNA is decreased in the hippocampus of individuals with Alzheimers disease. *Neuron*, 7, 695-702, 1991.
- Rabizadeh S., Oh J., Zhong LT. : Induction of the apoptosis by the low-affinity NGF receptor. *Science*, 261, 345-348, 1993.
- Rosenthal A., Goeddel DV., Nguyen T. : Primary structure and biological activity of a novel human neurotrophic factor. *Neuron*, 4, 767-773, 1990.
- Schabitz WR., Schwab S., Spranger M. et al : Intraventricular brain-derived neurotrophic factor reduces infarct size after focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.*, 17, 500-506, 1997.
- Shimohama S., Tamura Y., Akake A. : Brain-derived neurotrophic factor pretreatment exerts a partially protective effect against glutamate-induced neurotoxicity in cultured rat cortical neurons. *Neurosci. Lett.*, 164, 55-58, 1993.
- Spake E. : Opening Remarko : From Past to Present: Contemporary Management of Motor Control: Foundation for Physical Therapy, APTA's Neurology Section and Section on Pediatrics, 1991.
- Spina M.B., Squinto SP., Miller J. et al : Brain-derived neurotrophic factor protects dopamine neurons against 6-hydroxydopamine and N-methyl-4-phenylpyridinium ion toxicity : involvement of the glutathione system. *Neurochem.*, 59, 99-106, 1992.
- Studer L., Spenger C., Seiler RW. : Effect of brain-derived neurotrophic factor on neuronal structure of dopaminergic neurons on dissociated cultures of human fetal mesencephalon. *Exp. Brain. Res.*, 108, 328-338, 1996.
- Takeda A., Onodera H., Suggimoto A. et al : Coordinated Expression of messenger RNA for nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophins-3 in the rat hippocampus following transient forebrain ischemia. *Neuroscience*, 55, 23-31, 1993.
- Thoenen H., Bandtlow C., Heumann R. : The physiological function of nerve growth factor in the central nervous system: comparison with the periphery. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 109, 145-178, 1987.
- Thoenen H. : Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science*, 270, 593-598, 1985.
- Thoenen H., Zafra F., Hengerer B. : The synthesis of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in hippocampal and cortical neurons is regulated by specific transmitter systems. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 640, 86-89, 1991.
- Weiller C. : Imaging recovery from stroke. *Exp. Brain. Res.*, 123, 13-17, 1998.
- Wetmore C., Ernfors P., Persson H. : Localisation of brain-derived neurotrophic factor mRNA to neurons in the brain by in situ hybridisation. *Exp. Neurol.*, 109, 141-152, 1990.
- Whittemore SR., Seiger A. : Expression, localisation and functional signification of b-nerve growth factor in the central nervous system. *Brain. Res. Rev.*, 359, 573-585, 1987.

- Wilcox BJ., Applegate MD., Portera-Cailliau C. :
Nerve growth factor prevents apoptotic cell
death in injured central cholinergic neurons. *J.
Comp. Neurol.*, 359, 573-585, 1995.
- Woollacott M., Shumway-Cook A. : Changes in
posture control across the life span : a
systems approach. *Phys. Ther.*, 70, 799-807,
1990.
- Yan Q., Elliott J., Snider WD. : Brain-derived
neurotrophic factor rescues spinal motor
neurons from azotomy-induced cell death.
Nature, 360, 753-755, 1992.
- Yeo TT., Shua-Couzens J., Butcher LL. : Absence
of p75 NTR causes increased basal forebrain
cholinergic neuron size, choline
acetyltransferase activity, and target
innervation. *J. Neurosci.*, 17, 7594-7605,
1997.