

급성 허혈성 뇌졸중치료 패러다임의 전환

연세대학교 의과대학 신경과학교실, 뇌졸중 및 신경·혈관집중치료실, 뇌연구소

신수정·조경주·김현우·김경환

Breaking a Paradigm in Treatment of Acute Ischemic Stroke

Soo Jeong Shin, MD, Kyoung Joo Cho, MS, Hyun-Woo Kim, BSc and Gyung Whan Kim, MD

Department of Neurology, Stroke and Neurocritical Care Section, Yonsei University College of Medicine, Brain Research Institute, Seoul, Korea

Stroke is the second leading cause of death in Korea and responsible for serious long-term disability. Although rt-PA is an approved drug, only 1–3% of stroke patients are receiving the treatment because of its limited 3 hour time window. In this review, we will overview the basic molecular mechanism of acute ischemic stroke and current stroke treatment then discuss about current issue in Korea. Basic concept of stroke treatment is focused on saving the ischemic penumbra; area that is at risk of cell death but potentially salvageable. Apoptosis are believed to play critical roles in ischemic damage, especially in the penumbral zone. Apoptosis is an active form of cell death as a strategy to preserve genomic stability from DNA damage. If DNA damage is overwhelming the capacity of DNA repair, cells that harbor DNA damage are removed from the population by death. Execution of apoptosis is preceded rapidly by activation of complex signal pathways like caspase-dependent and caspase-independent pathways. By 'turning off' the death signal which is activated by massive DNA damage, initiation of apoptosis can be stopped and this concept can be a new therapeutic target of acute ischemic stroke. Reperfusion therapy and neuroprotective agent are two main streams for treatment of acute ischemic stroke. Although, many clinical trials have been done, rt-PA is the only FDA approved medical therapy for patients who can be treated within 3 hours of stroke onset. Emerging endovascular mechanical reperfusion device (clot retrieval device or MERCI) is approved by FDA and its results of recent clinical trials are promising. Neuroprotective agents were successful in animal models of ischemia, they have been unsuccessful in human trials. Clinical trials of NXY-059, one of promising neuroprotective agents, fail to widen the therapeutic window. So far, treatments of acute ischemic stroke have been based on epidemiological approach, not molecular pathophysiology. Introduction of neurocritical care, which will provide more professional, true meaning of treatment, is urgent. And paradigm of treatment of acute ischemic stroke should be focused on repairing damaged neuron by ischemia, not preventing further damage by reperfusion or neuroprotective agent.

J Neurocrit Care 2008;1:1-11

KEY WORDS: Stroke · MERCI · Neurocritical care.

급성 허혈성 뇌졸중의 임상적 중요성

뇌졸중은 악성 신생물에 이어 우리나라 사망원인 2위를 차지하는 질환으로 단일장기로는 1위를 차지한다.¹ 2006년 Truelsen 등이 유럽 각국의 뇌졸중 발생률 및 유병률을 각국의 이상적인 인구집단과 비교한 역학연구에 따르면

Address for correspondence: Gyung Whan Kim, MD
Department of Neurology, College of Medicine, Yonsei University,
134 Sinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea
Tel: +82-2-2228-1609, Fax: +82-2-393-0705
E-mail: gyungkim@yuhs.ac

우리나라의 경우 발생률, 유병률 모두 영국, 프랑스, 이탈리아보다 높게 나타났다. 질병관리본부, 건강보험심사평가원이 발표한 자료에 따르면 2004년 우리나라 뇌졸중의 발생률은 인구 10만 명 당 216건으로 발병률은 남녀 모두 나이가 증가함에 따라 증가하였고 남자가 여자보다 높았다.²

전세계적으로 뇌졸중이 사회경제에 미치는 영향이 커지고 있으며 이는 노년층으로 갈수록 두드러진다. 뇌졸중은 한번 발생하면 영구적인 장애를 가져오기 때문에 환자뿐만 아니라 가족, 나아가 사회전반에 걸쳐 정신적, 감정적인 문제뿐만 아니라 사회경제적인 문제를 낳는다.³ WHO의 발표

에 따르면 2020년에 이르면 뇌졸중은 관상동맥 질환과 함께 건강한 삶을 저해하는(loss of healthy life year) 가장 중요한 원인이 될 것이다.⁴ 통계청과 질병관리본부의 보고서를 이용하여 미래의 우리나라 뇌졸중 발생건수를 추정하면 2030년에는 35만 건으로 증가될 것으로 추정되며 이는 인구의 빠른 노령화에 의한 것으로 여겨진다.²

뇌졸중이 인성, 지능, 추리력, 감정, 집중력과 같이 삶을 살아가는데 있어 필수적인 기능을 관장하는 부위에 발생하지 않은 경우에는 큰 문제가 되지 않지만 그렇지 않은 경우 기본적인 삶을 영위하는데 어려움이 있고 따라서 다른 사람의 도움을 필요로 하며 이는 사회적인 문제로 이어진다.

미국의 뇌졸중 치료 지침인 American Heart Association(AHA) guideline에서는 multiple randomized clinical trial로 효과가 입증된 Class I, Level of Evidence A의 치료는 증상발생 3시간 이내의 환자에 적용되는 rt-PA뿐이다.⁵ 그러나 rt-PA의 짧은 time window와 50%정도의 재개통률(recanalization), 출혈 위험 등의 부작용에 의해 1~3%의 환자만이 rt-PA에 의한 재관류치료를 받는다.⁶ 재관류치료를 받지 못하는 대부분의 뇌졸중 환자의 치료를 위해 time window를 연장하기 위한 연구가 진행되었다.

급성 허혈성 뇌졸중의 치료는 두 가지의 큰 연구방향인 혈전용해제와 신경보호제(neuroprotective agent)를 사용한 동물실험 및 임상실험이 진행되었다. 지난 6년간 이 주제에 대하여 1,000편 이상의 동물실험 논문들이 발표되었고 400편 이상의 임상 연구결과들이 발표되었다. 그러나 이중 임상실험에 성공한 치료(translational therapy)는 단 한 건도 없다.^{7,8} 최근에 3상 1차 임상실험(SAINT I trial)에 성공하여 관심을 끌었던 NXY-059와 9시간까지 치료 효과를 늘릴 것으로 기대를 모았던 desmoteplase의 연이은 실패는 많은 이들에게 회의를 안겨주었다. 현재 공인된 치료법으로 인정받는 것은 3시간의 time-window를 갖는 rt-PA와 48시간내의 aspirin 두 가지뿐이다. 그러나 rt-PA는 짧은 time-window로 실제적으로 1~3%의 환자만이 치료가능하며 aspirin은 뇌졸중의 치료보다는 재발 예방의 개념에 더 가깝다.^{9,10} 이에 최근까지의 molecular biology의 개념에 중점을 뒀서 급성 허혈성 뇌졸중의 가능한 치료방법들을 고찰해 보고자 한다.

뇌졸중의 병태생리, 분자생물학적 접근

뇌졸중의 병태생리

뇌졸중으로 인한 신경학적 결함은 뇌혈류(cerebral blood flow: CBF)의 감소에 기인한다. 뇌혈류의 감소 정도에 따

라 신경세포(neuron)의 전기생리학적 변화가 일어나는데 뇌의 혈류공급이 50 ml/100 g/min 이하로 감소될 경우 시냅스에서 신경전달물질의 전달이 차단되고 신경세포의 기능을 하지 못하게 되며 20 ml/100 g/min 이하로 감소될 경우 이온의 항상성이 깨지게 된다.^{11,12}

뇌혈류의 차단은 혈류공급 정도에 따라 oligemia, penumbra, core로 나눌 수 있다(Fig. 1).

1) Oligemia는 허혈 손상을 받은 뇌조직의 가장 바깥쪽에 위치한 부분으로 측부(collateral) 순환에 의해 뇌의 에너지 요구량이 충족되고 신경세포는 정상적인 기능을 유지한다. 이 부분은 허혈 손상 이후에도 주로 “survive”할 것으로 예상되는 지역이다.

2) Core는 허혈 손상의 중심에 있는 지역으로 이 지역의 신경세포는 혈액공급이 빠른 시간 내에 재개되지 않으면 항상성을 유지할 수 없게 되고 세포사망으로 이어진다. 혈액공급이 완전히 차단될 경우 수초 안에 신경세포의 전기적 활동이 중단되고 수분 내에 에너지 상태가 악화되며 이온펌프의 항상성이 깨지게 된다. 이러한 비가역적인 손상은 혈액공급이 중단된 후 5~10분내에 일어나게 된다.¹¹

3) Penumbra는 전통적으로 core 주변지역을 의미한다. 1970년대에 행하여진 뇌의 전기생리학적 관찰을 통해 penumbra가 정의되었는데 시냅스에서 신경전달물질의 전달은 차단되지만(뇌혈류 50 ml/100 g/min 이하) 이온의 항상성은 유지되는(뇌혈류 20 mg/100 g/min 이상) 지역을 말한다. 시냅스의 활동에 따른 신경학적 장애는 발생하나 세포의 모양은 유지되고 있는 상태로 뇌혈류가 다시 공급된다면 가역적일 수 있고 임상증상 또한 호전될 수 있다.^{11,13,14} 활성산소로부터 세포를 보호하는 SOD(superoxide dismutase)를 제거한 동물실험을 보면 허혈 손상 이후 4(A), 16

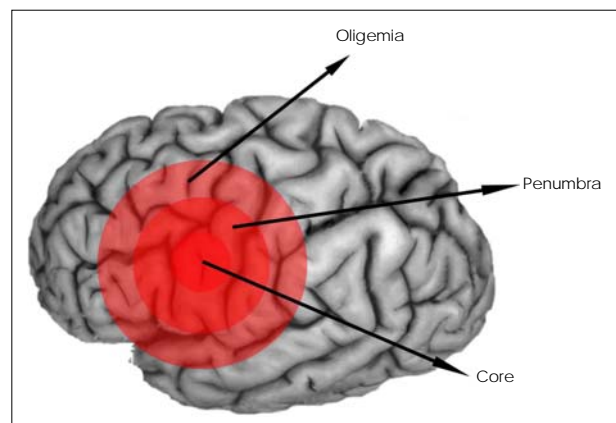


FIGURE 1. A schematic diagram showing the three hypoperfused tissue compartments of ischemia: center is the ischemic core; peripheral zone is the oligemia; and the region between core and oligemia is penumbra.

(B) 시간에 뇌를 관찰하였을 때 뇌경색의 크기가 증가함을 확인할 수 있다(Fig. 2). 이는 허혈 손상 이후 4시간에는 세포사망이 core에만 일어나고 penumbra는 보존되고 있으나(A) 시간이 경과할수록 penumbra(16시간) 지역까지 세포사망이 진행됨을 보여준다(B).¹⁵ PET을 이용한 연구를 보면 6시간까지는 penumbra의 90%가 유지되나 9시간이 경과하면 50% 정도가 남고 18시간이 되면 30% 정도가 남아있게 된다.¹⁶ 따라서 뇌졸중의 치료는 이러한 penumbra를 살리는 데 초점을 맞추었다.

Penumbra의 분자생물학적 접근

오랜 시간 동안 뇌혈류가 중단될 경우 신경세포는 에너지의 고갈로 세포괴사(necrosis)에 빠지게 되며 이는 주로 허혈의 중심(core)에서 관찰된다. 반면에 상대적으로 짧은 시간 동안 허혈 손상을 받은 경우에는 세포괴사에 이르지 않으나 세포자멸사(apoptosis)로 진행하는 유전자가 발현되고 DNA가 분해되게 된다.^{17,18} 이러한 형태의 지연성 세포사망(delayed cell death)은 주로 penumbra에서 나타난다. 이러한 분자생물학적 관점에서 보면 단순히 뇌혈관폐색 후 재관류만을 한다고 해서 허혈성 penumbra 지역이 뇌경색으로 빠지는 것을 막을 수 없다. 따라서 이러한 분자생물학적 기전은 기초의학자만의 개념이 아니라 임상에서 뇌졸중을 치료하는 모든 의사가 확실히 알아야 하는 기본 개념이다.

세포괴사와 세포자멸사는 형태학적으로 다른 특징을 갖는다. 세포괴사는 세포가 팽창, 파열되고 세포소기관들이 분해되며 세포질 내 단백질이 변성되며 염증반응을 유발한다. 이는 주로 다형핵백혈구에 의해 제거된다. 반대로 세포자멸사는 정상 세포(A)의 세포부피의 60%까지 줄어들며 핵이 응축된다(B) (Fig. 3). 세포자멸사는 대식세포(macrophage)와 미세아교세포(microglia)의 식세포작용(phagocytosis)에 의해 제거된다.¹⁹

분자생물학의 발달로 허혈 손상 이후 세포의 사망/생존에 관한 기전이 밝혀지고 있다. 동물실험을 통해 세포괴사의 과정에 glutamate가 관여함이 밝혀졌고 ‘excitotoxicity’의 개념이 도입되었다. Glutamate는 뇌와 척수에 작용하는 중요한 흥분성 신경전달물질로써 신경세포가 glutamate에 과다하게 노출될 경우 세포괴사에 빠지게 되는데 이러한 glutamate의 방출은 에너지의 고갈에 의하며 glutamate의 작용에 의해 ion channel의 항상성이 깨져서 Na⁺, Ca²⁺가 세포 내로 유입되면서 미토콘드리아의 failure가 오고 세포사망에 이르게 된다.^{20,21}

Penumbra에서의 세포사망은 ischemic core에서 시작된 ‘spreading depression’에 의해서도 일어난다. Corti-

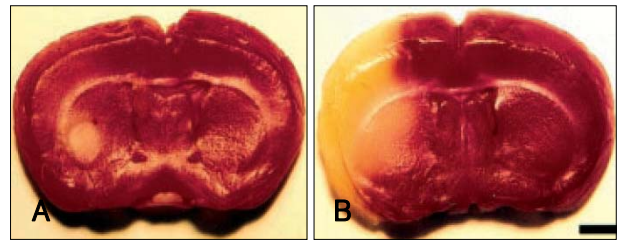


FIGURE 2. Comparison of cerebral infarction 4 or 16 hours after ischemia in Sod 2-/+ mice. A: 4 hours after ischemia. The ischemic core is apparent but ischemic penumbra is not visible, thus the penumbra is still viable. B: 16 hours after ischemia without any treatment, the core extends widely into cortical areas meaning that the penumbra has been recruited.

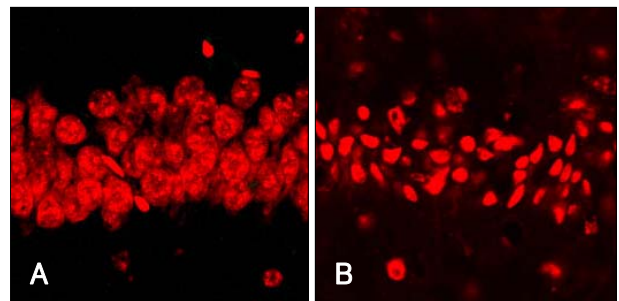


FIGURE 3. Comparison of morphologic features between normal cells (A) and apoptosis (B).

cal spreading depression(CSD)은 1944년 Leao에 의해 처음 제시된 개념으로 slow moving wave의 형태로 나타난다. 외상이나 저산소증 등에 의해 시작되어 뇌의 피질 전반에 걸쳐 전파되면서 세포를 탈분극시키고 시냅스의 활동 전위를 중단시킨다.²² 현재 사람에서 CSD가 일어난다는 증거는 아직 부족한 실정이다.

여러 동물실험을 통해 penumbra에서의 세포사망이 일련의 과정으로 일어나며 그 기전이 밝혀지고 있다. 이 과정에 관여하는 protease를 ‘caspase’라 한다. Caspase는 cysteine protease로 평소에는 비활성화 형태인 pro-caspase로 존재하며 활성화될 경우 다른 caspase를 포함한 기질(substrate)의 아스파르트산기를 자르며 이를 통해 다음 단계의 caspase를 활성화 시켜 일련의 cascade를 진행시킨다. Caspase는 두 개의 그룹으로 나눌 수 있는데 cascade 상위단계에서 시작에 관여하는 caspase 8, 9, 10(initiator)과 직접 세포기질을 분해하여 세포를 파괴시키는 caspase 3, 6, 7(executioner)로 나눌 수 있다. Caspase 1, 2, 4, 5, 11, 12는 initiator와 executioner의 기능을 동시에 갖는다.²³

이러한 caspase에 의해 일어나는 세포사망을 death receptor를 통해 일어나는 extrinsic pathway와 mitochondria를 통해 일어나는 intrinsic pathway로 나눴다(Fig. 4). Extrinsic pathway는 세포 밖에 존재하는 Fas 리간드가 세

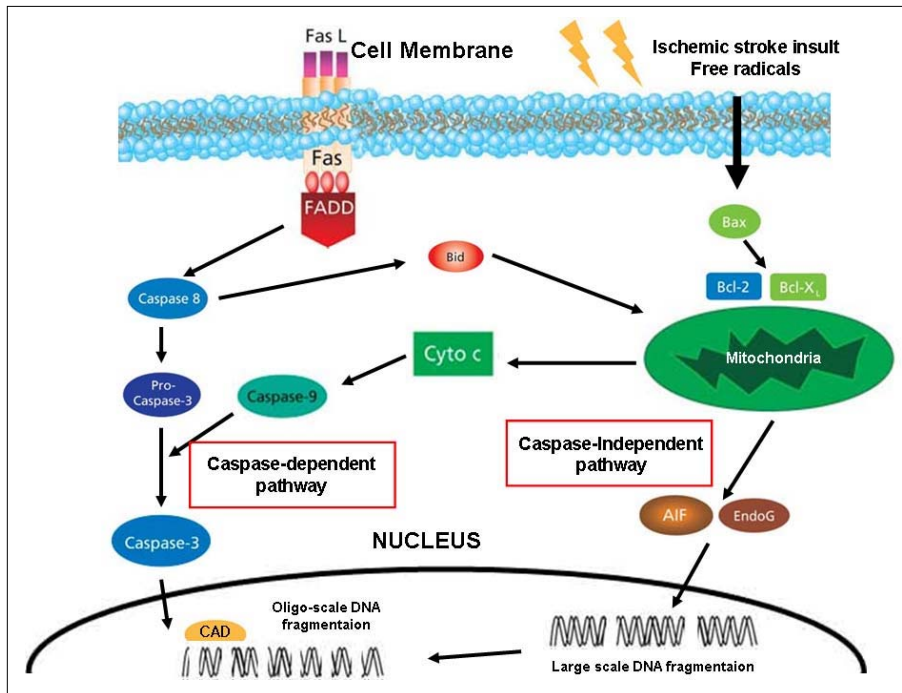


FIGURE 4. Schematic diagram of the caspase-dependent and caspase-independent cell death signaling pathways in the penumbra following ischemia. Cell death signaling produces DNA fragmentation leading to apoptosis.

포막의 Fas 수용체에 결합함으로써 수용체가 활성화되어 시작된다.²⁴ 활성화된 수용체는 Fas-associated death domain (FADD)와 caspase 8을 활성화시키고 이는 caspase 3의 활성화로 이어진다.²⁵ 미토콘드리아를 통한 intrinsic pathway는 Bax가 미토콘드리아 membrane으로 전좌(translocation)되어 시작된다. 미토콘드리아 내의 cytochrome c를 세포질 내로 방출시키며 방출된 cytochrome c는 apoptosis protease-activating factor-1 (Apaf-1), dATP, pro-caspase 9와 결합하여 caspase 9를 활성화시키고 이는 caspase 3를 활성화시킨다.^{15,26-31} Caspase 3와 세포사망의 관련성은 많은 동물모델에서 뇌경색 이후 caspase 3가 활성화되고 caspase 3의 활성을 억제할 경우 뇌경색의 크기가 감소하였다고 보고하고 있다.³²⁻³⁴ Extrinsic/intrinsic pathway에 의해 활성화된 caspase 3는 DNA-repairing enzyme poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)를 포함하여 여러 가지 중요한 기질을 자르며 이는 DNA에 손상을 줘서 세포자멸사에 이른다.^{35,36}

Intrinsic pathway의 활성화는 extrinsic pathway에 의해서도 일어난다. Extrinsic pathway에 관여하는 caspase 8은 Bcl-2 family 중 하나인 Bid를 자르고, 잘려진 Bid는 미토콘드리아로 들어가 cytochrome c를 방출시킨다.³⁷ Bid와 세포사망의 관련성은 Bid가 결핍된 쥐에서 뇌경색의 부피가 확연히 감소한 실험결과로 입증되고 있으며, 이와 비슷한 다양한 연구보고들은 뇌경색의 penumbra에서 cell-death receptor에 의한 미토콘드리아 pathway가 활성화

됨을 의미한다.³⁸

직접적인 세포자멸사의 pathway에 있는 caspase들 외에도 간접적으로 caspase에 의한 세포자멸사 과정에 참여하는 molecule들이 있다. 대표적으로 inhibitor of apoptosis (IAP) family의 X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP)는 세포사망으로의 진행을 차단하는 역할을 하는데 caspase 3, 7과 같은 caspase cascade의 마지막 단계를 억제하고 caspase 9/Apaf-1복합체와 결합하여 세포사망을 막는 역할을 한다.^{39,40} 이러한 XIAP는 미토콘드리아에서 방출되는 second mitochondrial activator of caspase/direct IAP binding protein with low pI (Smac/DIABLO)에 의해 억제되며 세포자멸사로 이르게 된다.^{41,42}

Caspase를 차단함으로써 세포자멸사를 막을 수 있다는 개념하에 caspase inhibitor를 이용한 동물실험이 시행되었고 임상적으로도 시도되었다. 그러나 결과적으로 caspase의 억제는 세포자멸사를 막지 못하였으며^{35,43-45} caspase와 독립적으로 세포자멸사를 일으키는 pathway가 알려지기 시작하였다. 그 중 대표적인 것으로 apoptosis-inducing factor (AIF)가 있다.

AIF는 미토콘드리아에 위치하는 단백질로 세포자멸사의 마지막 단계에 관여한다. 세포자멸사 과정에서 세포질로 유리된 AIF는 핵으로 들어가 염색질을 응축시키고 large-scale DNA fragmentation이 나타나게 하고 미토콘드리아에서 cytochrome c를 유리시켜 세포사망에 이르게 한다.⁴⁶⁻⁴⁹ 이러한 AIF의 활동은 caspase와 무관하게 일어

나며 이를 caspase-independent pathway라 한다.^{50,51}

AIF가 미토콘드리아에서 핵으로 이동하는데 poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1)가 관여함이 실험을 통해 보여졌다.⁵² PARP-1은 DNA를 repair하고 단백질을 변화시키는 효소로 핵 내에 풍부하게 존재한다.⁵³ 정상적인 환경에서 DNA에 손상이 오면 PARP-1은 ADP-ribose polymer를 만들며 세포 항상성의 유지와 genomic stability에 중요한 역할을 한다. 그러나 허혈 손상 등에 의해 DNA damage가 광범위하게 발생한 경우 PARP-1은 과활성되며 이로 인해 세포 내 NAD⁺, ATP의 고갈을 일으키고 세포괴사를 유발한다.⁵⁴ 이러한 작용 외에도 앞에서 언급했듯이 PARP-1은 AIF를 통한 세포자멸사에도 관여한다. PARP-1이 활성화되면 핵에서 미토콘드리아로 신호를 보내 AIF를 유리시켜 세포자멸사를 유발하며 이는 PARP-1의 활성화 이후 수시간 후에 관찰된다.⁵⁵

PARP-1 외에도 DNA repair enzyme이 세포자멸사에 관여함을 실험을 통해 알 수 있다. Ku70는 DNA repair enzyme으로 세포자멸사의 과정에서 caspase 3와 관련될 것으로 여겨지고 있다.³⁰ 쥐에서 Ku70가 급격히 감소될 경우 뇌병변 부위의 세포에서는 DNA가 'ladder pattern'으로 나타나며 이를 통해 전형적인 세포자멸사가 일어난다고 보고되고 있다(Fig. 5).¹⁷

DNA는 핵 내에 위치하며 세포에 있어서 가장 중요한 물질이다. 세포는 내부/외부에서 가해지는 damage에 대해 DNA내 유전정보를 보존하고자 끊임없이 노력한다. DNA

는 histone을 감싸면서 chromatin이라는 단단한 구조를 이룬다. Histone은 DNA를 보호하는데 중요한 역할을 하며 구조적 특성으로 인해 DNA는 외부의 손상으로부터 보호된다. 정상적인 환경에서는 DNA가 손상될 경우 repair enzyme 등에 의한 DNA repair mechanism에 의해 손상된 DNA를 복구한다. 그러나 산화독성(oxidative stress), 발암물질, 전리방사선 등과 같이 병적인 환경에 놓이면 DNA damage는 repair 한계를 넘게 되고 이럴 경우 세포는 세포자멸사를 택한다.⁵⁶⁻⁵⁸ 세포가 세포자멸사를 택하는 이유는 세포자멸사가 에너지의 고갈을 유발하지 않으면서 식세포작용을 통해 죽은 세포를 재활용하는 효율적인 세포사망 과정이기 때문이다. 세포자멸사의 반대개념의 세포사망은 세포소기관들의 파괴와 PARP-1의 과활성으로 에너지의 고갈을 유발하며 세포와 세포, 세포와 기질 사이의 신호전달이 왜곡되는 등 개체에게 악영향을 끼친다.⁵⁷ 세포는 DNA의 repair가 불가능할 경우 genomic stability를 유지하기 위해 이러한 효율적인 세포사망인 세포자멸사를 택한다.

DNA의 손상이 세포자멸사로 이어지는 몇몇 특징적 site가 밝혀졌는데 DNA에 O⁶-methylguanine, base에 N-알킬화, bulky DNA adduct, DNA cross-link, DNA double-strand break 등이 일어날 경우 세포자멸사를 유발한다. 이중 DNA double-strand break (DBS)은 세포에 치명적으로 check-point에 있는 ATM, ATR에 의해 발견되며 이들은 CHK1, CHK2(check point kinase), p53으로 신호를 보내며 P53은 FAS, PUMA, BAX와 같은 pro-apoptotic gene을 활성화 시킨다.^{59,60}

DNA가 oxidative stress에 의해 damage를 입을 경우 base excision repair (BER)를 통해 복구된다. BER은 손상 받은 DNA의 base를 제거하여 AP site를 만들고 이 site는 DNA polymerase에 의해 복구되는 과정을 거친다.⁶¹ 이러한 AP site가 증가할 경우 DNA가 잘리고 세포자멸사가 진행된다. 여기서 우리는 AP site가 형성된 것을 복원시켜 주면 세포자멸사를 막을 수 있지 않을까 하는 의문을 갖게 되었다. Apurinic/aprimidinic endonuclease/Redox factor-1 (APE/Ref-1)는 DNA repair enzyme으로 oxidative stress, ROS 등과 같은 해로운 자극에 의해 발생하는 DNA apurinic/aprimidinic (AP) site를 repair한다.^{62,63} 동물실험에서 허혈 손상의 정도에 따라 APE/Ref-1의 발현이 달라지는데 손상이 극심하지 않을 경우 APE/Ref-1는 증가하며 허혈 손상에 대해 보호적인 역할을 하지만⁶³⁻⁶⁵ 손상이 극심할 경우 APE/Ref-1은 감소하며 이는 DNA fragmentation으로 이어진다.⁶⁶⁻⁶⁸ 우리 연구에서는 허혈 손상 이후 APE/Ref-1의 감소가 세포사망과 연관되어 있

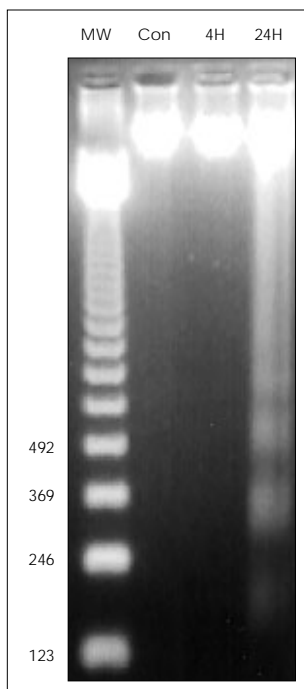


FIGURE 5. DNA laddering was observed as bands 24 hours after ischemia, which suggests DNA fragmentation and apoptosis is underway. MN: molecular weight, con: control.

음에 기인하여 허혈 손상 후 APE/Ref-1를 보충하였다. 허혈 손상을 가한 후 1, 4, 8시간에 쥐 뇌에 APE small peptide를 직접 투여하고 뇌경색의 범위를 관찰하였다. 그 결과 4시간까지는 APE에 의해 세포 사멸이 감소하고(Fig. 6) 뇌경색의 범위가 확연히 줄었음을 관찰할 수 있었다(Fig. 7). 또한 AP site와 single stranded DNA(ssDNA), DNA fragmentation도 줄어들었다. 이는 APE peptide에 의한 AP site repair로 뇌경색이 감소함을 직접적으로 증명하며 APE가 세포사멸사의 시작에 관여하는 AP site를 repair함으로써 세포사멸사의 진행을 막고 뇌졸중을 근본적으로 치료할 수 있는 가능성을 제시하고 있다.

재관류치료(Reperfusion Therapy)

Reperfusion therapy의 time window

재관류를 통해 penumbra의 core로의 진행을 막는 것이 재관류치료의 핵심이다. core를 살리는 것은 어려운 문제이며 잘못하면 뇌출혈 등의 심각한 결과를 낳을 수 있다.

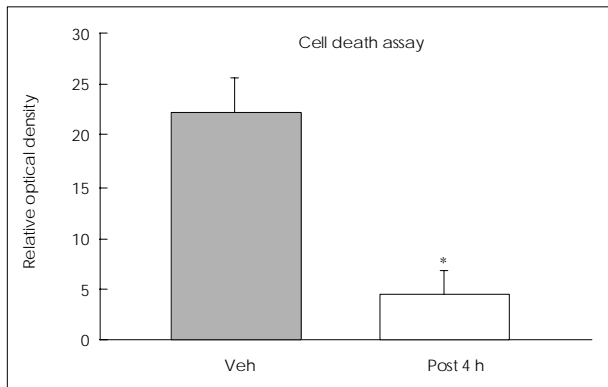


FIGURE 6. After administration of APE/Ref-1 4 hours after ischemia/reperfusion, cell death assay was done 24 hrs after I/R. The result showed decreased cell death, suggesting repairing APE small peptide can rescue cell from cell death.

또 상대적으로 혈액공급이 좋은 oligemia는 재관류의 관심의 대상이 아니다. Penumbra라고 해서 모두 같은 단계에 있는 것은 아니며 측부 순환이 잘 안되면 core로의 진행이 빠르고 또 증상발생 이후 시간이 지날수록 더 많은 지역이 core로 진행되며 개개인에 따라서도 다른 양상을 보인다.

뇌경색의 시간에 따른 치료는 분자생물학적 기전에 의한 병태생리에 기초한다. 급성 허혈성 뇌경색에서 rt-PA를 투여할 경우 3시간 이내에 투여해야만 임상 양상의 호전을 기대할 수 있고 3시간을 경과할 경우 그 효과에 대해서는 일관된 결과를 얻기 어렵다.⁶⁹ ‘일과성 뇌허혈 발작’(TIA)에서는 뇌경색 후 몇 분간은 모든 뇌조직이 penumbra 단계에 있다가 우연한 기회에 의해 뇌혈류가 재개통 되어 증상이 완전히 회복되는 과정을 겪는다. 일과성 뇌허혈 발작이 있던 환자들을 분석해보면 증상의 완전한 회복은 2시간 이내에 나타나게 된다.⁷⁰ 따라서 뇌경색 발생 이후 시간이 경과할수록 뇌에서 일어나는 분자생물학적 기전에 기초한 병태생리를 알아야만 환자의 치료에 접근할 수 있다. 최근 영상기술의 발전으로 재관류를 통해 도움을 얻을 수 있는 환자군을 선별하는데 많은 도움이 되고 있다.

3시간 이내의 치료방법

뇌경색 발생 3시간 이내의 치료방법에 대해서는 NINDS 연구에서 rt-PA의 효과에 대해 밝힌 바가 있다.⁷¹ 1.5시간 이내에 rt-PA를 투여한 실험군에서 가장 좋은 결과를 보였으며 3시간까지는 뇌출혈 등의 합병증에 비해 이득이 더 많은 것으로 나타났다. rt-PA는 뇌출혈의 발생을 10배정도(실험군 6%, 대조군 0.6%) 증가시켰으나 이는 대부분 뇌경색의 정도가 심한 환자군에서 발생하였으며 이러한 환자들은 뇌출혈을 제외하고서라도 좋은 결과를 기대하기 어렵다. rt-PA를 사용한 대표적 임상실험인 NINDS, ECASS, ATLANTIS의 pooled analysis를 보면 증상 발

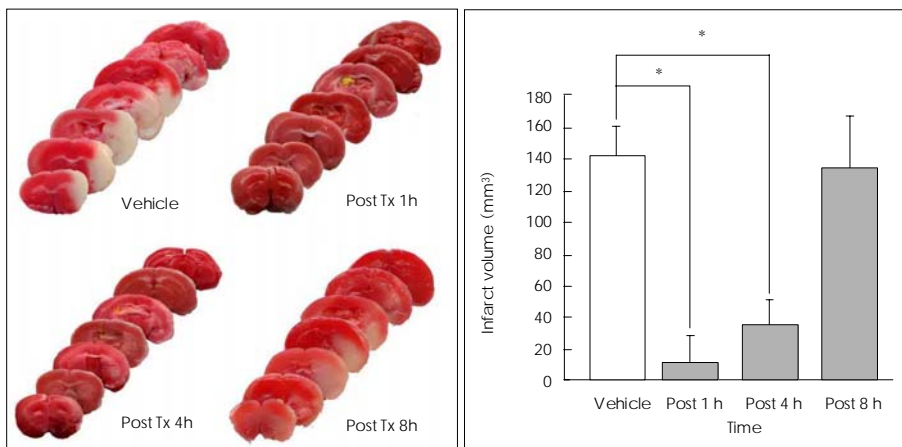


FIGURE 7. Comparison of infarction sizes after administrating APE small peptide. The volume of infarction is significantly decreased by APE small peptide given 1, 4 hours after ischemia but not 8 hours.

생부터 혈전용해제의 사용은 빠르면 빠를수록 그 결과가 좋으나 3시간까지는 부작용과 비교하였을 때 뚜렷한 효과가 있는 것으로 나타났다.⁷²

정맥을 통한 혈전용해제 투여의 한계

혈전용해제는 혈관을 막고 있는 혈전 전체에 작용하기보다는 그 표면에 작용하는데 그친다. 혈전의 크기는 다양하며 때로는 몇 센티미터가 되는 경우도 있으며 이러한 큰 혈전은 대부분 혈관 proximal쪽에 위치하게 된다. 따라서 proximal에 위치한 혈전의 경우 정맥을 통한 혈전용해제로 재개통을 기대하기는 어렵다. 실제로 TCD를 이용하여 rt-PA 사용 후 재관류 정도를 본 연구에서는 distal MCA에서는 44.2%, proximal MCA는 30%, terminal internal carotid artery 5.9%로 proximal에서 낮은 재개통률을 보인다.⁷³ 또한 큰혈관에 폐색(occlusion)이 있는 경우 혈전용해제를 사용해 재개통이 되더라도 몇 시간 후 다시 폐색되는 경우가 많다. 중대뇌동맥 폐색이 있는 환자에게 IV rt-PA를 투여하였을 경우 48%에서만 부분적으로 재개통이 이루어졌으며 34%의 환자에서는 조기에 재폐색이 되었고 2/3의 환자에서는 재폐색에 따른 임상증상의 악화가 동반되었다.⁷⁴ 그러나 재폐색이 되었다 하더라도 재관류를 시행한 군에서 그렇지 않은 군보다 나은 결과를 보였다.

혈전이 proximal에 위치할수록 환자는 더 심각한 증상을 경험하며 혈전용해제의 사용으로도 재개통률이 낮으며 재폐색 또한 높게 나타난다. rt-PA의 짧은 time-window와 치료 성공률을 높이기 위해 근본적인 치료방법이 필요하다.

보조적 치료

초음파(TCD)의 에너지를 이용해 혈전용해제의 효과를 증폭시킬 수 있다. 초음파 에너지는 혈전용해제와 plasminogen의 혈전 내로의 침투를 증강시키고 fibrin 구조를 변화시키며 rt-PA와 fibrin의 결합을 돕는다. CLOTBUST 연구에서 3시간 안에 rt-PA를 투여 받은 환자 중 초음파 치료를 지속적으로 받은 군에서 그렇지 않은 군보다 높은 호전률을 보였다.⁷⁵ 또, 미세공기방울(microbubble)을 병합하여 사용할 경우 좀더 좋은 결과를 보였다.⁷⁶ 현재 400명의 환자를 대상으로 하는 3상연구(TRUST)가 진행 중이다.

뇌졸중 발생 3~9시간 이후의 치료

Intra-arterial(IA)을 통한 혈전용해술

뇌혈관촬영술을 통해 뇌혈류를 막은 혈전을 직접 눈으로 확인하고 혈전에 근접하여 국소적으로 혈전용해제를 투여

하는 방법은 정맥을 통한 혈전용해제의 투여보다 매력적인 치료법이다. 이러한 치료법은 독일에서 처음 시도되었다.⁷⁷ Basilar artery occlusion 환자를 대상으로 IA urokinase를 투여하였으며 그 결과 44%의 환자에서 재개통된 소견을 보였다.

MCA occlusion 환자를 대상으로 한 PROACT II 연구에서는 증상발생 6시간 이내의 환자에게 IA로 pro-urokinase를 투여하였고 연구에 참가한 모든 환자에 대해 IV heparin을 투여하였다.⁷⁸ IA군은 대조군에 비해 높은 재개통률을 보였으며(IA군 66% vs 대조군 18%, $P<0.001$) 3개월 후 측정된 mRS도 좋은 결과를 보였으며(IA군 40% vs 대조군 25%, $P=0.04$) 사망률도 IA군 25%, 대조군 27%로 나타났다($P<0.001$). 그러나 대조군에 비해 뇌출혈이 더 빈번하게 나타났으며(IA군 10% vs 대조군 2%, $P=0.06$) 이 결과로 인해 urokinase는 FDA의 승인은 받지 못하였다.

PROACT의 긍정적인 연구 결과를 바탕으로 다른 치료가 불가능한 환자를 대상으로 IA를 통한 접근이 실험적으로 진행되고 있다. Urokinase뿐만 아니라 rt-PA, reteplase를 이용한 연구들이 진행되고 있으며 urokinase가 가장 많이 사용되고 있다.⁷⁹ 몇몇 연구에서는 IA를 통한 혈전용해제의 투여가 IV를 통한 투여보다 효과적이라고 보고되고 있지만 그 효과는 아직 제한적이다.⁸⁰ 2007년까지 30개의 임상실험 결과가 보고되었으며 여기에는 1,000명이 넘는 환자가 참여하였다. 그러나 아직까지는 어떤 IA 치료도 명확한 효과가 입증되지는 않았다.⁷⁹ 2007년에 발표된 AHA guideline에서는 동맥을 통한 혈전용해술은 증상발생 6시간 이내의 MCA 폐색이 있는 major stroke 환자에 대해서 치료의 한 방법으로 제시하고 있으며, 환자가 IV rt-PA의 적응증이 된다면 rtPA에 우선하여 사용해서는 안된다고 권고하고 있다.⁵

IV rt-PA 실패 후 IA를 통한 rt-PA의 투여

앞에서 언급했듯이 정맥을 통한 rt-PA의 투여는 distal occlusion에 대해서는 높은 재개통률을 보이지만 proximal vessel의 폐색일 경우 실패율이 높고 재폐색의 가능성도 높다.^{73,74} 이런 높은 실패율로 인해 IV rt-PA에 실패한 환자에 대해 추가적인 치료로 IA를 통한 혈전용해제 투여가 시도되고 있다.

Emergency management of stroke(EMS) Bridging study에서는 3시간 이내의 환자에서 IV/IA rt-PA군과 placebo/IA rt-PA군을 비교하였다. 이 연구에서는 두 군간의 long term outcome에는 차이가 없었으며 오히려 IV/IA군에서 사망률이 더 높게 나타났다.⁸¹ Interventional Man-

agement of Stroke (IMS) I study에서는 저용량(0.6 mg/kg) IV rt-PA를 투여 후 혈관촬영술을 시행하여 폐색이 관찰되면 IA로 rt-PA를 투여하였고 이를 NINDS trial의 결과와 비교하였다. IV/IA 군에서 좀더 나은 outcome을 보였으며 사망률 또한 낮게 나타났다.⁸² IMS II study에서도 기존의 연구와 유사한 결과를 보였다.⁸³

그러나 앞에서 언급하였듯이 IA urokinase는 높은 출혈률로 인하여 FDA의 공인을 받지 못한 상태이고 EMS study 결과에서는 오히려 사망률이 높은 것으로 나타났다. 또한 2007 AHA guideline에서는 혈전용해제의 병용투여는 아직까지 명확한 근거가 없는 실정이며 임상실험에 한해서만 적용할 것을 권고하고 있다.⁵ 따라서 우리나라의 일부 대학병원에서 IV rt-PA 실패 후 IA urokinase를 표준화진료지침(critical pathway)으로 모든 환자에 적용하고 있는데 이는 명백한 오류이다. 이는 미국에서 FDA허가를 받지 못했을 뿐만 아니라 우리나라의 경우도 urokinase는 정맥 내 주입만이 식품의약품안전청 허가사항이라⁸⁴ urokinase의 동맥 내 적용과 더군다나 IV TPA 후 IA urokinase의 표준화진료지침으로의 자동적용은 허가사항에 없는 임의 비급여치료로 우려되는 실정이다.

MERC1

약물을 이용하여 색전을 녹이는 방법 이외에 기구를 사용하여 물리적인 방법으로 색전을 제거하는 방법이 연구되어왔다.

Mechanical embolus removal in cerebral embolism (MERC1) retriever는 색전을 제거하는 기구로 주로 큰 혈관을 막고 있는 색전에 동맥을 통해 접근하여 색전을 당겨내는 기구로 rt-PA를 사용할 수 없는 환자에 대해 효과적일 것으로 주목받고 있다. 첫 MERC1 trial에서는 증상 발생 8시간 이내의 환자 중 기저동맥, MCA, 내경동맥 끝에 폐색이 있는 환자를 대상으로 임상실험을 실시하였다.⁸⁵ 이 trial에서는 48%의 재개통률을 보였으며 IA를 통한 혈전용해제와 동반하여 사용할 경우 60%의 재개통률을 보였다. 또 시술 90일 후 재개통에 성공한 환자군에서 그렇지 않은 군보다 뚜렷한 임상양상의 호전을 보여(RR= 4.4) FDA의 승인을 받았다. Multi MERC1 trail에서는 8시간 이내의 큰혈관폐색 환자를 대상으로 시행되었다. 기존의 임상실험보다 높은 57.3%의 재개통률을 보였으며 IA tPA 등의 부가적인 요법을 병행하였을 경우 69.5%의 재개통률을 보였다. 또 이번 임상실험에서는 IV rt-PA를 사용한 환자도 포함되었는데 IV-rt-PA를 사용하지 않은 환자와 비교하였을 때 합병증 발생에 차이가 없어 IV rt-

PA를 사용한 환자에서도 안전성을 입증하였다. 증후성 뇌출혈은 9.8%의 환자에서 나타났으며 시술로 인한 심각한 합병증은 5.5%의 환자에서 발생하였다.⁸⁶

이 치료법은 혈전용해제를 이용한 치료 방법 외에 물리적인 방법을 사용하여 8시간까지 치료시간을 넓혔다는 데 의의가 있으며 FDA의 공인을 받은 치료법으로 관심을 끌고 있다. 우리나라에는 아직까지는 사용되지 않고 있으나 미국 FDA공인을 받은 MERC1의 도입은 조속히 이루어져야 할 것으로 사료된다. 이는 앞에서 언급했듯이 우리나라 일부 대학병원에서 무리하게 시도되는 IV rt-PA실패 후 IA urokinase 치료의 대체 치료법으로 사용될 수 있으며 이의도입에 neurocritical care 학회의 역할이 강조된다.

신경보호제

재관류치료 이외에 급성 허혈성 뇌졸중의 치료로 신경보호제가 있다. 앞에서 언급한 대로 뇌졸중의 치료는 허혈성 penumbra가 경색으로 진행되는 것을 방지한다는 개념으로 연구되었다. 하지만 분자생물학적인 관점에서 보면 허혈성 penumbra 지역에서도 이미 세포자멸사는 진행되고 있기 때문에 근본적으로 효과를 기대하기는 힘들다.

3상 1차 임상실험(SAINT I trial)에 성공한 free-radical scavenger인 NXY-059는 최근 가장 주목을 받았던 신경보호제로 2차 임상실험(SAINT-II)을 시행하였으나 2007년 임상실험에 실패하였다고 발표하였다.⁸⁷ SAINT I에서 보였던 3개월 후 mRS의 호전이 SAINT II에서는 관찰되지 않았으며 다른 지표도 대조군과의 차이를 보이지 못하였고 임상실험은 중단되었다.

Desmoteplase는 plasminogen activator로 time-window를 9시간까지 늘려줄 것으로 기대를 모았다. 2차례의 2상 임상실험(DIAS) 결과 desmoteplase는 9시간까지 효과가 있는 것으로 보고되었다.⁸⁸ 그러나 3상 임상실험에서 높은 사망률과 뇌출혈을 보였고 임상실험은 조기 중단되었다.

씨티콜린(citicholine)은 인지질의 전구체로써 신경세포의 세포막을 이루는 지질의 합성에 관여한다. 씨티콜린을 투여한 4개의 임상실험의 pooled analysis를 보면 NIHSS 점수 8점 이상의 환자에서 증상발생 24시간 이내에 투여한 경우 3개월 NIHSS, mRS, Rankin scale에서 유의한 결과를 보였으며(global recovery 치료군 25.2%, 대조군 20.2%) 다른 부작용은 관찰되지 않았다. 현재 다른 3상 임상실험(ICTUS)이 진행 중이다.⁸ 씨티콜린은 경구투여가 가능하고 증상발생 24시간까지 효과가 있다는 점에서 주목할만하다.

새로운 Paradigm의 필요성

지금까지 급성 뇌졸중 치료에서 수많은 동물실험들이 있어왔고 좋은 결과들을 보였으나 실질적인 임상분야에서 뇌졸중을 치료하는 데는 모두 실패하였다.^{7,8} 미국 같은 효율적인 체제로 운영되는 뇌졸중치료시스템에서조차 3시간 내 혈전용해제 치료제 투여율이 3% 미만인 상황이고^{6,89} 최근 보고 또한 그 많은 홍보와 교육을 통해서도 이러한 급성기 뇌졸중환자의 혈전용해제 투여율은 별 증가된 소견을 보이지 않는다는 절망적인 결과를 보여주고 있다.⁸⁹ 이는 지금까지의 기존 패러다임으로 급성뇌졸중치료를 접근하는 데에 한계가 있음을 보여주고 있으며 이는 새로운 패러다임의 필요성을 말해주고 있다.

고전적인 의미의 치료란 손상 받은 장기나 신체의 일부를 정상적인 상태로 돌리는데 목적이 있다. 물론 최근에는 예방의학적인 면이 강조가 되면서 앞에서 언급한 재판류치료나 신경보호제가 넓은 의미의 치료범위에 들어가기는 하나 진정한 의미의 치료 범위에 들어가지 않는다. 지금의 3시간 내 뇌혈전용해제 치료만 하더라도 뇌경색이 생기지 않게 예방하는 것이 목적이지만 뇌허혈이 생겨 손상 받은 신경세포들을 치료하는 기술은 아니다. 따라서 손상 받은 신경세포를 치료하는 진정한 의미의 치료기술의 개발에 지금부터라도 나서야 한다. 다행히 현재 많은 과학자들의 노력에 따라 허혈성 penumbra지역에서의 분자생물학적 기전이 많이 밝혀져 있어 진정한 의미의 치료가능성을 예상하고 있다.

1990년도 중반에 뇌혈전용해제가 개발되기 전까지는 급성기 뇌졸중치료는 미비하였으며 뇌졸중의 분자생물학적인 기전도 2000년 이후 최근에서야 확립되었다.⁸ 따라서 기존의 뇌졸중치료를 담당하는 의사들은 주로 예방적 차원의 접근법과 임상적 진단과 역학적 관점에 초점을 맞췄으며 진정한 의미의 뇌졸중 치료방법에 대해서는 무지한 상태였다.

과거 영상기술이 발달하지 않았을 때는 뇌졸중의 진단이 중요하였으나 영상기술이 발달한 현재는 뇌졸중의 진단을 내리는 훈련보다는 적극적인 치료기술의 훈련이 필요한 상황이 되었다. 이에 미국에서는 새로운 대안으로 진단 및 역학적 개념이 주가 아닌 치료중심의 neurocritical care분야가 대두되었고 현재 급성기 뇌졸중분야의 치료를 neurocritical care를 훈련 받은 의사들이 담당하고 고전적 의미의 뇌졸중전공자들은 역학에 치중하는 체제로 바뀌고 있는 추세이다. 또한 최근 뇌졸중치료의 추세는 뇌졸중이라는 하나의 병명으로 개념화해서 치료하는 데는 앞에서 언급한 대로 여러 한계가 있음이 증명되어 뇌졸중 환자 한 명 당 개별화된 치료(personalized treatment)에 중점을 두는

치료개념이 대두되고 있다. 이는 우리나라 일부 대학병원의 급성기 뇌졸중의 표준화 진료지침 (critical pathway)의 운영과는 대조적이다. 표준화 진료지침은 뇌졸중의 protocol 혹은 매뉴얼과는 또 다른 개념으로 환자의 최선의 치료를 위한 개념이 아니라 저운영비용을 목적으로 보험을 운영하는 입장에서 개발된 개념이다. 따라서 현재 일부 병원에서 근거중심의료(evidence based medicine)에도 반하는 급성기 뇌졸중의 표준화진료지침 운영은 다시 한번 재고가 필요하다고 생각된다. 또한 최근 우리나라에서 유행처럼 설치하고 있는 뇌졸중 집중치료실은 집중치료에 대한 전문지식이 전혀 없이 고전적인 뇌졸중치료개념을 갖고 있는 의료진에 운영되고 있는 현실이다.⁹⁰ 이에 보다 전문적인 급성기 뇌졸중치료를 할 수 있는 neurocritical care 분야의 양성과 교육이 필요하며 또한 단순한 예방적 치료와 역학적 접근이 아니라 손상된 뇌세포를 회복 혹은 복구시키는 진정한 의미의 급성기 뇌졸중 치료로의 패러다임의 전환이 필요하다.

REFERENCES

1. KNSO. Statistical survey of death causes in 2007. Seoul, Korea. Korea National Statistical Office. 2007.
2. Bae HJ. Epidemiology of stroke: 2006 update. *Korean J Stroke* 2006; 9:5-10.
3. Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Anderson CS. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. *Lancet Neurol* 2003;2:43-53.
4. WHO. The world health report 2000: health systems-improving performance. 2000.
5. Adams HP Jr, del Zoppo G, Alberts MJ, Bhatt DL, Brass L, Furlan A, et al. Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the american heart association/american stroke association stroke council, clinical cardiology council, cardiovascular radiology and intervention council, and the atherosclerotic peripheral vascular disease and quality of care outcomes in research interdisciplinary working groups: the american academy of neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for neurologists. *Stroke* 2007;38:1655-711.
6. Molina CA, Saver JL. Extending reperfusion therapy for acute ischemic stroke: emerging pharmacological, mechanical, and imaging strategies. *Stroke* 2005;36:2311-20.
7. Legos JJ, Tuma RF, Barone FC. Pharmacological interventions for stroke: failures and future. *Expert Opin Investig Drugs* 2002;11:603-14.
8. Ginsberg MD. Neuroprotection for ischemic stroke: past, present and future. *Neuropharmacology* 2008.
9. van der Worp HB, van Gijn J. Acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 2007;357:572-9.
10. Lees KR. Does neuroprotection improve stroke outcome? *Lancet* 1998;351:1447-8.
11. Astrup J, Siesjo BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia-the ischemic penumbra. *Stroke* 1981;12:723-5.
12. Heiss WD, Rosner G. Functional recovery of cortical neurons as related to degree and duration of ischemia. *Ann Neurol* 1983;14:294-301.
13. Muir KW, Buchan A, von Kummer R, Rother J, Baron JC. Imaging of acute stroke. *Lancet Neurol* 2006;5:755-68.

14. Furlan M, Marchal G, Viader F, Derlon JM, Baron JC. Spontaneous neurological recovery after stroke and the fate of the ischemic penumbra. *Ann Neurol* 1996;40:216-26.
15. Kim GW, Kondo T, Noshita N, Chan PH. Manganese superoxide dismutase deficiency exacerbates cerebral infarction after focal cerebral ischemia/reperfusion in mice: implications for the production and role of superoxide radicals. *Stroke* 2002;33:809-15.
16. Baron JC. Mapping the ischaemic penumbra with pet: implications for acute stroke treatment. *Cerebrovasc Dis* 1999;9:193-201.
17. Kim GW, Noshita N, Sugawara T, Chan PH. Early decrease in dna repair proteins, ku70 and ku86, and subsequent DNA fragmentation after transient focal cerebral ischemia in mice. *Stroke* 2001;32:1401-7.
18. Kim GW, Sugawara T, Chan PH. Involvement of oxidative stress and caspase-3 in cortical infarction after photothrombotic ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;20:1690-701.
19. Gerschenson LE, Rotello RJ. Apoptosis: a different type of cell death. *FASEB J* 1992;6:2450-5.
20. Choi DW. Excitotoxic cell death. *J Neurobiol* 1992;23:1261-76.
21. Phan TG, Wright PM, Markus R, Howells DW, Davis SM, Donnan GA. Salvaging the ischaemic penumbra: more than just reperfusion? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002;29:1-10.
22. Takano T, Tian GF, Peng W, Lou N, Lovatt D, Hansen AJ, et al. Cortical spreading depression causes and coincides with tissue hypoxia. *Nat Neurosci* 2007;10:754-62.
23. Graham SH, Chen J. Programmed cell death in cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;21:99-109.
24. Martin-Villalba A, Herr I, Jeremias I, Hahne M, Brandt R, Vogel J, et al. Cd95 ligand (fas-l/apo-11) and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand mediate ischemia-induced apoptosis in neurons. *J Neurosci* 1999;19:3809-17.
25. Jin K, Graham SH, Mao X, Nagayama T, Simon RP, Greenberg DA. Fas (cd95) may mediate delayed cell death in hippocampal ca1 sector after global cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001; 21:1411-21.
26. Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:231-41.
27. Gottlieb RA. Role of mitochondria in apoptosis. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2000;10:231-9.
28. Brenner C, Kroemer G. Apoptosis. Mitochondria--the death signal integrators. *Science* 2000;289:1150-1.
29. Kim GW, Gasche Y, Grzeschik S, Copin JC, Maier CM, Chan PH. Neurodegeneration in striatum induced by the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid: role of matrix metalloproteinase-9 in early blood-brain barrier disruption? *J Neurosci* 2003;23:8733-42.
30. Kim GW, Copin JC, Kawase M, Chen SF, Sato S, Gobel GT, et al. Excitotoxicity is required for induction of oxidative stress and apoptosis in mouse striatum by the mitochondrial toxin, 3-nitropropionic acid. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;20:119-29.
31. Lee BI, Chan PH, Kim GW. Metalloporphyrin-based superoxide dismutase mimic attenuates the nuclear translocation of apoptosis-inducing factor and the subsequent DNA fragmentation after permanent focal cerebral ischemia in mice. *Stroke* 2005;36:2712-7.
32. Rosell A, Cuadrado E, Alvarez-Sabin J, Hernandez-Guillamon M, Delgado P, Penalba A, et al. Caspase-3 is related to infarct growth after human ischemic stroke. *Neurosci Lett* 2008;430:1-6.
33. Velier JJ, Ellison JA, Kikly KK, Spera PA, Barone FC, Feuerstein GZ. Caspase-8 and caspase-3 are expressed by different populations of cortical neurons undergoing delayed cell death after focal stroke in the rat. *J Neurosci* 1999;19:5932-41.
34. Manabat C, Han BH, Wendland M, Derugin N, Fox CK, Choi J, et al. Reperfusion differentially induces caspase-3 activation in ischemic core and penumbra after stroke in immature brain. *Stroke* 2003;34: 207-13.
35. Krupinski J, Lopez E, Marti E, Ferrer I. Expression of caspases and their substrates in the rat model of focal cerebral ischemia. *Neurobiol Dis* 2000;7:332-42.
36. Chan PH. Mitochondria and neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia. *Neurochem Res* 2004;29:1943-9.
37. Ferrer I, Planas AM. Signaling of cell death and cell survival following focal cerebral ischemia: life and death struggle in the penumbra. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003;62:329-39.
38. Sugawara T, Fujimura M, Noshita N, Kim GW, Saito A, Hayashi T, et al. Neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia. *NeuroRx* 2004;1:17-25.
39. Deveraux QL, Reed JC. Iap family proteins--suppressors of apoptosis. *Genes Dev* 1999;13:239-52.
40. Srinivasula SM, Hegde R, Saleh A, Datta P, Shiozaki E, Chai J, et al. A conserved xiap-interaction motif in caspase-9 and smac/diablo regulates caspase activity and apoptosis. *Nature* 2001;410:112-6.
41. Saito A, Hayashi T, Okuno S, Ferrand-Drake M, Chan PH. Interaction between xiap and smac/diablo in the mouse brain after transient focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23:1010-9.
42. Siegelin MD, Kossatz LS, Winckler J, Rami A. Regulation of xiap and smac/diablo in the rat hippocampus following transient forebrain ischemia. *Neurochem Int* 2005;46:41-51.
43. Sugawara T, Noshita N, Lewen A, Gasche Y, Ferrand-Drake M, Fujimura M, et al. Overexpression of copper/zinc superoxide dismutase in transgenic rats protects vulnerable neurons against ischemic damage by blocking the mitochondrial pathway of caspase activation. *J Neurosci* 2002;22:209-17.
44. Loetscher H, Niederhauser O, Kemp J, Gill R. Is caspase-3 inhibition a valid therapeutic strategy in cerebral ischemia? *Drug Discov Today* 2001;6:671-80.
45. Zhan RZ, Wu C, Fujihara H, Taga K, Qi S, Naito M, Shimoji K. Both caspase-dependent and caspase-independent pathways may be involved in hippocampal ca1 neuronal death because of loss of cytochrome c from mitochondria in a rat forebrain ischemia model. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;21:529-40.
46. Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, Marzo I, Snow BE, Brothers GM, et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature* 1999;397:441-6.
47. Lorenzo HK, Susin SA, Penninger J, Kroemer G. Apoptosis inducing factor (aif): a phylogenetically old, caspase-independent effector of cell death. *Cell Death Differ* 1999;6:516-24.
48. Daugas E, Susin SA, Zamzami N, Ferri KF, Irinopoulou T, Larochette N, et al. Mitochondrio-nuclear translocation of aif in apoptosis and necrosis. *FASEB J* 2000;14:729-39.
49. Susin SA, Daugas E, Ravagnan L, Samejima K, Zamzami N, Loeffler M, et al. Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis. *J Exp Med* 2000;192:571-80.
50. Cregan SP, Fortin A, MacLaurin JG, Callaghan SM, Cecconi F, Yu SW, et al. Apoptosis-inducing factor is involved in the regulation of caspase-independent neuronal cell death. *J Cell Biol* 2002;158:507-17.
51. Cande C, Cohen I, Daugas E, Ravagnan L, Larochette N, Zamzami N, et al. Apoptosis-inducing factor (aif): a novel caspase-independent death effector released from mitochondria. *Biochimie* 2002;84: 215-222
52. Cipriani G, Rapizzi E, Vannacci A, Rizzuto R, Moroni F, Chiarugi A. Nuclear poly (adp-ribose) polymerase-1 rapidly triggers mitochondrial dysfunction. *J Biol Chem* 2005;280:17227-34.
53. Smith S. The world according to parp. *Trends Biochem Sci* 2001; 26:174-9.
54. Hong SJ, Dawson TM, Dawson VL. Nuclear and mitochondrial conversations in cell death: parp-1 and aif signaling. *Trends Pharmacol Sci* 2004;25:259-64.
55. Zhang Y, Zhang X, Park TS, Gidday JM. Cerebral endothelial cell apoptosis after ischemia-reperfusion: role of parp activation and aif translocation. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;25:868-77.
56. Zhou BB, Elledge SJ. The DNA damage response: putting check-

- points in perspective. *Nature* 2000;408:433-9.
57. Rich T, Allen RL, Wyllie AH. Defying death after DNA damage. *Nature* 2000;407:777-83.
 58. Chopp M, Chan PH, Hsu CY, Cheung ME, Jacobs TP. DNA damage and repair in central nervous system injury: national institute of neurological disorders and stroke workshop summary. *Stroke* 1996; 27:363-9.
 59. Bartek J, Lukas J. DNA damage checkpoints: from initiation to recovery or adaptation. *Curr Opin Cell Biol* 2007;19:238-45.
 60. Roos WP, Kaina B. DNA damage-induced cell death by apoptosis. *Trends Mol Med* 2006;12:440-50.
 61. Tell G, Damante G, Caldwell D, Kelley MR. The intracellular localization of ap1/ref-1: more than a passive phenomenon? *Antioxid Redox Signal* 2005;7:367-84.
 62. Bennett RA, Wilson DM 3rd, Wong D, Demple B. Interaction of human apurinic endonuclease and DNA polymerase beta in the base excision repair pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:7166-9.
 63. Ramana CV, Boldogh I, Izumi T, Mitra S. Activation of apurinic/aprimidinic endonuclease in human cells by reactive oxygen species and its correlation with their adaptive response to genotoxicity of free radicals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:5061-6.
 64. Grosch S, Kaina B. Transcriptional activation of apurinic/aprimidinic endonuclease (ape, ref-1) by oxidative stress requires creb. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;261:859-63.
 65. Li W, Luo Y, Zhang F, Signore AP, Gobbel GT, Simon RP, et al. Ischemic preconditioning in the rat brain enhances the repair of endogenous oxidative DNA damage by activating the base-excision repair pathway. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006;26:181-98.
 66. Morita-Fujimura Y, Fujimura M, Kawase M, Chan PH. Early decrease in apurinic/aprimidinic endonuclease is followed by DNA fragmentation after cold injury-induced brain trauma in mice. *Neuroscience* 1999;93:1465-73.
 67. Fujimura M, Morita-Fujimura Y, Kawase M, Chan PH. Early decrease of apurinic/aprimidinic endonuclease expression after transient focal cerebral ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19:495-501.
 68. Robertson KA, Hill DP, Xu Y, Liu L, Van Epps S, Hockenbery DM, et al. Down-regulation of apurinic/aprimidinic endonuclease expression is associated with the induction of apoptosis in differentiating myeloid leukemia cells. *Cell Growth Differ* 1997;8:443-9.
 69. Clark WM, Wissman S, Albers GW, Jhamandas JH, Madden KP, Hamilton S. Recombinant tissue-type plasminogen activator (alteplase) for ischemic stroke 3 to 5 hours after symptom onset. The atlantis study: a randomized controlled trial. Alteplase thrombolysis for acute noninterventional therapy in ischemic stroke. *JAMA* 1999; 282:2019-26.
 70. Ay H, Koroshetz WJ, Benner T, Vangel MG, Wu O, Schwamm LH, et al. Transient ischemic attack with infarction: a unique syndrome? *Ann Neurol* 2005;57:679-86.
 71. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. The national institute of neurological disorders and stroke rt-pa stroke study group. *N Engl J Med* 1995;333:1581-1587
 72. Hacke W, Donnan G, Fieschi C, Kaste M, von Kummer R, Broderick JP, et al. Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of atlantis, ecass, and ninds rt-pa stroke trials. *Lancet* 2004; 363:768-74.
 73. Saqqur M, Uchino K, Demchuk AM, Molina CA, Garami Z, Calleja S, et al. Site of arterial occlusion identified by transcranial doppler predicts the response to intravenous thrombolysis for stroke. *Stroke* 2007;38:948-54.
 74. Alexandrov AV, Grotta JC. Arterial reocclusion in stroke patients treated with intravenous tissue plasminogen activator. *Neurology* 2002; 59:862-7.
 75. Alexandrov AV, Molina CA, Grotta JC, Garami Z, Ford SR, Alvarez-Sabin J, et al. Ultrasound-enhanced systemic thrombolysis for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 2004;351:2170-8.
 76. Molina CA, Ribo M, Rubiera M, Montaner J, Santamarina E, Delgado-Mederos R, et al. Microbubble administration accelerates clot lysis during continuous 2-mhz ultrasound monitoring in stroke patients treated with intravenous tissue plasminogen activator. *Stroke* 2006;37:425-9.
 77. Hacke W, Zeumer H, Ferbert A, Bruckmann H, del Zoppo GJ. Intra-arterial thrombolytic therapy improves outcome in patients with acute vertebrobasilar occlusive disease. *Stroke* 1988;19:1216-22.
 78. Furlan A, Higashida R, Wechsler L, Gent M, Rowley H, Kase C, et al. Intra-arterial prourokinase for acute ischemic stroke. The proact ii study: a randomized controlled trial. Prolyse in acute cerebral thromboembolism. *JAMA* 1999;282:2003-11.
 79. Mandava P, Kent TA. Intra-arterial therapies for acute ischemic stroke. *Neurology* 2007;68:2132-9.
 80. Ducrocq X, Bracard S, Taillandier L, Anxionnat R, Lacour JC, Guillemin F, et al. Comparison of intravenous and intra-arterial urokinase thrombolysis for acute ischaemic stroke. *J Neuroradiol* 2005; 32:26-32.
 81. Lewandowski CA, Frankel M, Tomsick TA, Broderick J, Frey J, Clark W, et al. Combined intravenous and intra-arterial r-tpa versus intra-arterial therapy of acute ischemic stroke: emergency management of stroke (ems) bridging trial. *Stroke* 1999;30:2598-605.
 82. Combined intravenous and intra-arterial recanalization for acute ischemic stroke: the interventional management of stroke study. *Stroke* 2004;35:904-11.
 83. The interventional management of stroke (ims) ii study. *Stroke* 2007; 38:2127-35.
 84. Administration KFD. Product information.
 85. Smith WS, Sung G, Starkman S, Saver JL, Kidwell CS, Gobin YP, et al. Safety and efficacy of mechanical embolectomy in acute ischemic stroke: results of the merci trial. *Stroke* 2005;36:1432-8.
 86. Smith WS, Sung G, Saver J, Budzik R, Duckwiler G, Liebeskind DS, et al. Mechanical thrombectomy for acute ischemic stroke: final results of the multi merci trial. *Stroke* 2008;39:1205-12.
 87. Savitz SI, Fisher M. Nxy-059 for the treatment of stroke. *N Engl J Med* 2007;357:2198; author reply 2198-9.
 88. Dafer RM, Biller J. Desmoteplase in the treatment of acute ischemic stroke. *Expert Rev Neurother* 2007;7:333-7.
 89. Kleindorfer DO, Broderick JP, Khoury J, Flaherty ML, Woo D, Alwell K, et al. Emergency department arrival times after acute ischemic stroke during the 1990s. *Neurocrit Care* 2007;7:31-5. Kim SH, Park CH, Han SW, Lee BI, Heo JH, Team YS. Clinical usefulness of stroke unit: the comparison of in-hospital treatment outcomes between stroke unit and general ward cares. *Korean J Stroke* 2004;6:145-50.
 90. Kim SH, Park CH, Han SW, Lee BI, Heo JH, Younsei Stroke Team. Clinical usefulness of stroke unit: The comparison of in-hospital treatment outcomes between stroke unit and general ward cares. *Korean J Stroke* 2004;6:145-50.