

급성기 허혈성 뇌손상 동물 모델에서 재활 치료의 득과 실

연세대학교 의과대학 재활의학교실 및 재활의학연구소,¹ 연세의료원 임상연구센터²

조성래¹ · 임선희² · 김효선²

Profit and Drawback of Rehabilitative Therapy in Animal Models of Acute Ischemic Brain Injury

Sung-Rae Cho, MD, PhD¹, Sun Hee Yim² and Hyo Sun Kim²

¹Department of Rehabilitation Medicine and Research Institute of Rehabilitation Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

²Clinical Research Center, Yonsei University Health System, Seoul, Korea

Neural stem/progenitor cells persist throughout the hippocampus and subventricular zone (SVZ) even in the adult brain. Rehabilitative therapy such as enriched environment (EE) and voluntary running exercise can induce neurogenesis in the neurogenic area. Neuronal recruitment into striatum, non-neurogenic region, from the SVZ might be also induced by EE in the living condition of huge cage, social interaction and objects such as toys, tunnels, nesting materials and running wheel. However, many researchers have shown different results on cell genesis and neurogenesis of the SVZ and striatum in the ischemic brain by EE and physical exercise. In addition, strenuous or forced rehabilitative training and early immobilization of sound upper extremity, constraint-induced therapy, can exacerbate ischemic brain damage during acute period. Therefore, it is necessary to find out appropriate time, duration and intensity of the rehabilitative therapy in order that the therapeutic strategy might be applicable for neural regeneration to various neurological diseases, i.e., ischemic stroke, cerebral palsy and other neurodegenerative diseases.

J Neurocrit Care 2008;1:27-30

KEY WORDS: Rehabilitation · Enriched environment · Neurogenesis · Ischemic brain · Acute period.

서 론

신경 줄기세포(stem cell) 및 전구세포(progenitor cell) 들은 태아기 뿐만 아니라 성체 포유류의 해마(hippocampus) 및 뇌실하 부위(subventricular zone)에도 존재하며, 최근 이들 세포로부터 신경 재생 및 가소성(plasticity)이 보고되고 있다.¹ 이와 같이 성체 뇌신경계의 특정 부위에서 일생 동안 새로운 신경세포 생성(neurogenesis)이 일어난다는 사실은 향후 이를 이용한 각종 치료를 통해 한번 손상 되면 재생이 불가능하거나 극히 제한되어 있다고 알고 있던 난치성 중추 신경계 질환을 치료할 수 있는 가능성을 제

Address for correspondence: Sung-Rae Cho, MD, PhD

Department of Rehabilitation Medicine and Research Institute of Rehabilitation Medicine, Yonsei University College of Medicine, 134 Sinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea

Tel: +82-2-2228-3715, Fax: +82-2-363-2795

E-mail: srcho918@yumc.yonsei.ac.kr

본 연구는 연세대학교 의과대학 교내연구비(신진교수) 수혜로 진행된 과제임.

시하였다. 특히 brain-derived neurotrophic factor(BDNF)와 같은 신경영양 인자는 이러한 신경생성 부위로부터 신경세포 생성을 더욱 유도하여 미약한 신경재생 능력을 활성화 시킬 수 있다.²⁻⁵

재활 치료 모델인 부유 환경(enriched environment)에 의해서도 주로 BDNF, nerve growth factor(NGF) 등과 같은 신경영양 인자 등이 발현되어 신경세포 생성 및 신경연접 가소성(synaptic plasticity)이 유도될 수 있는데,^{6,7} 동물 모델에서 자발적 달리기 운동(voluntary running exercise) 및 부유 환경을 통해 해마 부위 신경세포 생성이 유의하게 증가되었고,⁸⁻¹⁰ 심지어 노년기 설치류 모델에서도 부유 환경에 의해 해마 신경세포 생성이 5배 정도 증가되었다고 보고한 바에 의하면,^{11,12} 재활 치료 모델인 자발 운동 및 부유 환경은 내재성 신경 줄기/전구세포를 활성화시킬 수 있는 방법 중의 하나로 생각된다.

자발 운동과 부유 환경을 통해 공간 기억력 및 학습 능

력이 향상되는 기전은 서로간에 차이가 있는데, 자발적 신체 운동에서는 vascular endothelial growth factor (VEGF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), fibroblast growth factor-2 (FGF-2), BDNF 등에 의해 혈관 생성, 세포 증식 및 신경세포 생성이 유도되며,^{13,14} 부유 환경에서는 세포 증식 보다는 신경영양 인자에 의한 신경세포 분화, 신경연접 가소성 증가, 세포사(apoptosis) 억제 및 신생 세포의 생존력 증가 등이 주 기전으로 보고되고 있다.¹⁵⁻¹⁷

그러나 자발 운동 및 부유 환경을 포함하는 재활은 급성기 뇌졸중 환자에게 조기 치료를 통해 보편적으로 효과가 있다고 생각되는 바와는 달리, 실제 손상된 뇌 조직 및 세포에 대한 영향이 현재까지도 확실하지 않은 상태이므로, 신경집중치료 시기인 급성기 허혈성 뇌손상 동물 모델에서 재활 치료의 득과 실을 알아보려고 한다.

재활 치료 모델인 부유 환경

부유 환경이란 대형 쥐 사육장(예: 86×76 cm)에 사회적 상호 작용(social interaction)을 위해 여러 마리의 집단(예: 12~13마리)을 다양한 장난감, 나무조각, 터널, 둥우리(nest) 등을 배치하고 위치를 자주 변화시키며, 자발적 달리기 운동을 위해 수레바퀴를 설치한 후 사육하는 환경이다(Fig. 1).⁸ 이와 같은 부유 환경은 다양한 뇌 부위에 시각,



FIGURE 1. Environmental enrichment group was housed in the living condition of huge cage, social interaction and objects such as toys, tunnels, wooden objects, nesting materials and running wheel.

청각 및 체성 감각, 인지 및 운동기능 자극을 공급하므로, 재활의학 임상 영역에서 물리치료, 작업치료, 인지치료 등을 대변하는 재활 치료에 대한 동물 모델이다.

기존의 보고에 의하면 부유 환경을 통해 파킨슨 병, 헌팅턴 병, 루게릭 병, 알츠하이머 병 등의 각종 신경퇴행성 질환과 허혈성 뇌손상과 같은 뇌혈관 질환 이외에도 간질, 다운 증후군과 같은 각종 중추신경계 질환 동물 모델에서 뇌 신경계 가소성 및 기능 회복에 큰 효과를 유도할 수 있다.¹⁸

한편 연구자에 따라 부유 환경 사육장 내에 수레바퀴를 설치하지 않고, 일반적인 사육통(예: 30×18 cm)보다는 약간 큰 사육통(예: 48×26 cm)에서 수레바퀴 1~2개를 설치하여 자발적으로 달리기 운동을 시행하도록 유도한 자발 운동군을 따로 구분하여, 서로 다른 기전으로 가소성이 있음을 밝히는 연구를 진행한 경우도 있다.⁸

정상 성체 뇌에서 재활 치료의 효과

정상 성체 쥐 대상군이 부유 환경에서 양육된 경우, 대뇌 피질의 두께 및 무게가 증가하고,^{19,20} 신경연접 가소성이 증대되어 신경연접 생성과 synaptophysin, postsynaptic density-95 등과 같은 신경연접 관련 단백질이 과표현되며,^{21,22} 수상돌기(dendrites)의 수, 분지, 길이 등이 증가된다.²³⁻²⁵ 또한 각종 신경영양 인자 및 성장 인자와 혈관 생성 인자 등이 과표현되고, 해마 부위 혈관 생성, 세포 증식과 신경세포 생성 및 생존력이 증가되어 공간 기억력 및 학습 능력이 향상되고 여러 행동 기능이 향상되는 소견이 보고되고 있다.^{14,27} 한편 최근 연구에서 해마 부위 신경세포 생성이 공간 기억력의 향상에 반드시 필요한 것은 아니라는 보고도 있으므로, 이에 대한 추가적인 실험이 필요할 실정이다.²⁸

강제 운동(forced exercise)에서는 treadmill을 통한 경도(예: 4~10 m/min) 및 중등도(예: 10~16 m/min)의 운동이 해마 부위 신경세포 생성을 증가시키고, 공간적 기억 능력을 향상시켰다.^{29,30} 그러나 심한 스트레스를 유발하는 힘든(strenuous) 운동(예: 17~27 m/min)은 오히려 세포사를 증가시키며 기능적 효과를 보이지 않아, 적절한 강도의 운동이 매우 중요함을 알 수 있다.^{31,32}

허혈성 뇌손상 모델에서 재활 치료의 영향

허혈성 뇌손상 동물 실험군이 부유 환경에서 양육된 경우 뇌경색 부피의 감소,³³ 수상돌기의 밀도 증가,³⁴ BDNF 및 NGF 등의 신경영양 인자의 과표현,^{35,36} 성장교세포와

신경원 세포 비율의 정상화,³⁷ 뇌실하 부위 세포 증식 결핍의 회복과 신경 줄기세포의 증가³⁸ 등의 효과가 있으며, 궁극적으로 운동 및 인지 기능을 회복시키거나, 뇌손상 후 발생하는 기능 결핍을 감소시키는 소견을 보였다.³⁹

허혈성 뇌손상을 받은 경우에 부유 환경 및 운동에 의한 효과가 보편적으로 알려져 있는 해마 부위와는 달리, 뇌실하 부위 신경세포 생성과 선조체 내로의 이주(migration)는 연구자에 따라 보고가 다른데, Komitova 등⁴⁰은 부유 환경 하에서 뇌실하 부위 세포 증식과 이주하는 신경세포가 증가되었으나, 자발적 달리기 운동은 이들 세포를 감소시켰다고 보고한 반면, Nygren 등⁴¹은 오히려 부유 환경이 뇌실하 부위 및 선조체 내 신경세포 생성을 모두 감소시켰다고 하였다. 따라서 허혈성 뇌손상 후 뇌실하 부위 및 선조체 내의 신경세포 생성 정도를 보다 정확히 규명하기 위한 세포 수준(cellular level)에서의 조직학적 평가가 필요하다고 생각된다.

급성기 허혈성 뇌손상 모델에서 재활 치료

신경집중치료 시기인 급성기에 재활 치료를 적용한 동물 실험을 살펴보면, 중뇌동맥 결찰로 유발된 뇌경색 동물 모델이 수상 24시간 후 부유 환경 하에서 자발적으로 다양한 활동에 접하게 되었을 때, 뇌 조직의 손실 없이 기능 회복을 호전시켰다.^{42,43} 그러나 Risedal 등⁴⁴은 허혈성 뇌손상 쥐 모델에서 수상 후 24시간 이내의 급성기에 부유 환경 하에서 부가적으로 조기 재활 훈련을 시행하였을 때, 초기 운동 기능의 회복을 보임에도 불구하고 대뇌 피질의 조직 손실이 더 증가하였고, 시상 부위 위축도 악화되었다고 보고 하였으며, 뇌경색 주변 부위 과흥분성 및 glutamate 방출 증가 등의 가능성을 제시하였다. 또한 뇌손상 직후 급성기에 마비측 상지 사용을 촉진시키기 위해 건측의 상지를 고정(immobilization) 시키는 제한 유도 치료(constraint-induced therapy) 모델을 적용시킨 동물 모델인 경우, 오히려 대뇌 피질 손상을 증폭시키고 상지 기능을 악화시킬 수 있다는 연구 보고 들도 있다.⁴⁵⁻⁴⁷

이러한 결과는 glutamate 및 catecholamines 방출의 과도한 증가와 NMDA 수용체 연관 흥분성 증가, 효율적인 GABA성 억제 기능 감소 등의 흥분성과 억제성 신경연접 기능 사이의 불균형에 의한 것으로 생각된다. 이와 같은 뇌경색 주변 부위 과흥분성은 쥐 동물 모델에서 최소한 5~7일 정도 지속되며,^{44,48} 심지어 28일에 최대점에 도달하고 6개월 간 지속된다는 보고도 있으므로,⁴⁹ 무조건적인 급성기 조기 재활 훈련은 재고해 보아야 한다고 생각된다.

결론

상기 여러 연구 결과, 자발 운동 및 부유 환경에 의한 성체 뇌의 해마 부위 신경세포 생성이 보고되고 있지만, 이러한 재활 환경은 유전적 및 약물학적 요인보다 관심을 많이 받고 있지 못한 실정이다. 또한 세포 수준에서 살펴보았을 때, 재활 치료에 의한 뇌실하 부위 세포 증식 및 신경세포 생성 소견과 선조체 내로의 이주는 현재까지도 연구자마다 보고가 다르며, 허혈성 뇌손상 후 급성기에 과도한 강도로 재활 치료를 시행한 경우 오히려 뇌 조직의 손실이 증가하고 기능 회복이 저하될 수 있으므로, 질환별 및 부위별로 보다 정확한 조직학적 평가와 재활 치료의 적절한 시기 및 강도를 판단할 수 있는 인자 발굴이 반드시 필요하다고 생각된다.

신경연접 감소성 뿐만 아니라 내재성 신경 줄기/전구세포를 활성화 시킬 수 있는 재활 환경을 통해 해마 및 뇌실하 부위와 아직 불분명하지만 비 신경생성 부위인 선조체 내 신경세포 생성 유도는 향후 특정 허혈성 뇌졸중, 뇌성마비 및 신경퇴행성 질환과 같은 각종 중추신경계 질환의 신경 재생 치료에 기능 회복의 주 기전으로 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Goldman SA. Adult neurogenesis: from canaries to the clinic. *J Neurobiol* 1998;36:267-86.
2. Ahmed S, Reynolds BA, Weiss S. BDNF enhances the differentiation but not the survival of CNS stem cell-derived neuronal precursors. *J Neurosci* 1995;15:5765-78.
3. Kirschenbaum B, Goldman SA. Brain-derived neurotrophic factor promotes the survival of neurons arising from the adult rat forebrain subependymal zone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:210-4.
4. Lindholm D, Carroll P, Tzimagiorgis G, Thoenen H. Autocrine-paracrine regulation of hippocampal neuron survival by IGF-1 and the neurotrophins BDNF, NT-3 and NT-4. *Eur J Neurosci* 1996;8:1452-60.
5. Cho SR, Benraiss A, Chmielnicki E, Samdani A, Economides A, Goldman SA. Induction of neostriatal neurogenesis slows disease progression in a transgenic murine model of Huntington disease. *J Clin Invest* 2007;117:2889-902.
6. Ickes B, Pham T, Sanders L, Albeck D, Mohammed A, Granholm A. Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Exp Neurol* 2000;164:45-52.
7. Torasdotter M, Metsis M, Henriksson B, Winblad B, Mohammed A. Environmental enrichment results in higher levels of nerve growth factor mRNA in the rat visual cortex and hippocampus. *Behav Brain Res* 1998;93:83-90.
8. Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* 1999;2:266-70.
9. Praag H, Christie B, Sejnowski T, Gage FH. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:13427-31.
10. Kempermann G, Kuhn H, Gage FH. More hippocampal neurons in

- adult mice living in an enriched environment. *Nature* 1997;386:493-5.
11. Kempermann G, Gast D, Gage FH. Neuroplasticity in old age: sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment. *Ann Neurol* 2002;52:135-43.
 12. Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci* 2005;25:8680-5.
 13. Berchtold N, Cotman C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 2002;25:295-301.
 14. Olson A, Eadie B, Ernst C, Christie B. Environmental enrichment and voluntary exercise massively increase neurogenesis in the adult hippocampus via dissociable pathways. *Hippocampus* 2006;16:250-60.
 15. Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J. Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature* 2004;429:184-7.
 16. Farmer J, Zhao X, Praag H, Wodtke K, Gage FH, Christie B. Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience* 2004;124:71-9.
 17. Young D, Lawlor P, Leone P, Dragunow M, During M. Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. *Nat Med* 1999;5:448-53.
 18. Nithianantharajah J, Hannan A. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2006;7:697-709.
 19. Bennett E, Rosenzweig M, Diamond M. Rat brain: effects of environmental enrichment on wet and dry weights. *Science* 1969;63:825-6.
 20. Diamond M, Ingham C, Johnson R, Bennett E, Rosenzweig M. Effects of environment on morphology of rat cerebral cortex and hippocampus. *J Neurobiol* 1976;7:75-85.
 21. Frick K, Fernandez S. Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice. *Neurobiol Aging* 2003;24:615-26.
 22. Nithianantharajah J, Levis H, Murphy M. Environmental enrichment results in cortical and subcortical changes in levels of synaptophysin and PSD-95 proteins. *Neurobiol Learn Mem* 2004;81:200-10.
 23. Greenough W, Volkmar F. Pattern of dendritic branching in occipital cortex of rats reared in complex environments. *Exp Neurol* 1973;40:491-504.
 24. Greenough W, Hwang H, Gorman C. Evidence for active synapse formation or altered postsynaptic metabolism in visual cortex of rats reared in complex environments. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:4549-52.
 25. Connor J, Wang E, Diamond M. Increased length of terminal dendritic segments in old adult rats' somatosensory cortex: an environmentally induced response. *Exp Neurol* 1982;78:466-70.
 26. Moser M, Trommald M, Egeland T, Andersen P. Spatial training in a complex environment and isolation alter the spine distribution differently in rat CA1 pyramidal cells. *J Comp Neurol* 1997;380:373-81.
 27. Schrijver N, Bahr N, Weiss I, Wurbel H. Dissociable effects of isolation rearing and environmental enrichment on exploration, spatial learning and HPA activity in adult rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2002;73:209-24.
 28. Meshi D, Drew M, Saxe M, Ansorge M, David D, Santarelli L, et al. Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nature Neurosci* 2006;9:729-31.
 29. Albeck D, Sano K, Prewitt G, Dalton L. Mild forced treadmill exercise enhances spatial learning in the aged rat. *Behav Brain Res* 2006;168:345-8.
 30. Kim SH, Kim HB, Jang MH, Lim BV, Kim YJ, Kim YP, et al. Treadmill exercise increases cell proliferation without altering of apoptosis in dentate gyrus of Sprague-Dawley rats. *Life Sci* 2002;71:1331-40.
 31. Moraska A, Deak T, Spencer R, Roth D, Fleshner M. Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;279:R1321-9.
 32. Barnes C, Forster M, Fleshner M, Ahanotu E, Laudenslager M, Mazzo R et al. Exercise does not modify spatial memory, brain autoimmunity, or antibody response in aged F-344 rats. *Neurobiol Aging* 1991;12:47-53.
 33. Dahlqvist P, Ronnback A, Bergstrom S, Soderstrom I, Olsson T. Environmental enrichment reverses learning impairment in the Morris water maze after focal cerebral ischemia in rats. *Eur J Neurosci* 2004;19:2288-98.
 34. Johansson B, Belichenko P. Neuronal plasticity and dendritic spines: effect of environmental enrichment on intact and postischemic rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002;22:89-96.
 35. Gobbo O, O'Mara S. Impact of enriched environment housing on brain-derived neurotrophic factor and on cognitive performance after a transient global ischemia. *Behav Brain Res* 2004;152:231-41.
 36. Dahlqvist P, Zhao L, Johansson I, Mattsson B, Johansson B, Seckl J et al. Environmental enrichment alters nerve growth factor-induced gene A and glucocorticoid receptor messenger RNA expression after middle cerebral artery occlusion in rats. *Neuroscience* 1999;93:527-35.
 37. Komitova M, Perfilieva E, Mattsson B, Eriksson P, Johansson B. Effects of cortical ischemia and postischemic environmental enrichment on hippocampal cell genesis and differentiation in the adult rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002;22:852-60.
 38. Komitova M, Mattsson B, Johansson B, Eriksson P. Enriched environment increases neural stem/progenitor cell proliferation and neurogenesis in the subventricular zone of stroke-lesioned adult rats. *Stroke* 2005;36:1278-82.
 39. Ohlsson A, Johansson B. Environment influences functional outcome of cerebral infarction in rats. *Stroke* 1995;26:644-9.
 40. Komitova M, Zhao L, Gido G, Johansson B, Eriksson P. Postischemic exercise attenuates whereas enriched environment has certain enhancing effects on lesion-induced subventricular zone activation in the adult rats. *Eur J Neurosci* 2005;21:2397-405.
 41. Nygren J, Wieloch T, Pesic J, Brundin P, Deierborg T. Enriched environment attenuates cell genesis in subventricular zone after focal ischemia in mice and decreases migration of newborn cells to the striatum. *Stroke* 2006;37:2824-9.
 42. Johansson B, Ohlsson A. Environment, social interaction and physical activity as determinants of functional outcome after cerebral infarction in the rat. *Exp Neurol* 1996;139:322-7.
 43. Grabowski M, Sorensen JS, Mattsson B, Zimmer J, Johansson B. Influence of an enriched environment and cortical grafting on functional outcome in brain infarcts of adult rats. *Exp Neurol* 1995;133:96-102.
 44. Risedal A, Zeng J, Johansson B. Early training may exacerbate brain damage after focal brain ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999;19:997-1003.
 45. Kozlowski D, James D, Schallert T. Use-dependent exaggeration of neuronal injury after unilateral sensorimotor cortex lesions. *J Neurosci* 1996;16:4776-86.
 46. Schallert T. Sensorimotor impairment and recovery of function in brain-damaged rats: reappearance of symptoms during old age. *Behav Neurosci* 1983;97:159-164.
 47. Humm J, Kozlowski D, James D, Gotts J, Schallert T. Use-dependent exacerbation of brain damage occurs during an early post-lesion vulnerable period. *Brain Res* 1998;783:286-92.
 48. Nudo R, Wise B, SiFuentes F, Milliken G. Neural substrates for the effects of rehabilitative training on motor recovery after ischemic infarct. *Science* 1996;272:1791-4.
 49. Qu M, Mittmann T, Luhmann H, Schleicher A. Long-term changes of ionotropic glutamate and GABA receptors after unilateral permanent focal cerebral ischemia in the mouse brain. *Neuroscience* 1998;85:29-43.