

---

# 운동훈련이 미만성 축삭손상을 일으킨 흰쥐의 해마에 미치는 영향

## Effect of Motor Training on Hippocampus after Diffuse Axonal Injury in the Rats

---

천송희  
대구대학교 물리치료학과

Song-Hee Cheon(1000shsh@daum.net)

---

### 요약

미만성 축삭손상(diffuse axonal injury)은 외상성 뇌손상의 일반적인 형태이며, 인지 장애의 주요 원인으로 생각되어 진다. 흔들린 아기 증후군(shaken baby syndrome)과 같이 뇌에 전단력이 심하게 가해졌을 때도 신체 장애 뿐만 아니라 인지 장애가 특징적으로 나타난다. 신체 활동은 건강 증진과 더불어 기억 및 학습과 관련된 해마의 기능 향상에도 영향을 미친다. 본 연구의 목적은 흰쥐를 대상으로 미만성 축삭손상을 일으킨 후 반복적인 운동 훈련을 통해 운동 수행력을 관찰하고 해마에서 GAP-43의 발현을 통해 축삭 재생의 변화를 관찰하는 것이었다. 실험동물은 운동 훈련을 적용시키는 실험군과 대조군으로 구분하였고, 각각의 군을 다시 1일, 7일 및 14일군으로 구분하였다. 그 결과, 운동 훈련을 적용시킨 실험군이 대조군보다 운동 수행력의 향상이 더 유의했으며, 해마에서 GAP-43의 발현도 같은 양상을 나타냈다. 이러한 차이는 7일군과 14일군보다 1일군과 7일군 사이에 더 크게 나타났다. 그러므로 미만성 축삭손상 후 운동 훈련은 운동 수행력의 향상에 영향을 미치며, 인지와 관련된 해마의 구조적 변화도 야기 시키는 것으로 생각된다.

■ 중심어 : | 미만성 축삭손상 | 외상성 뇌손상 | 운동훈련 | 해마 | GAP-43 |

### Abstract

Diffuse axonal injury(DAI) is a common form of traumatic brain injury and thought to be a major contributor to cognitive dysfunction. Physical activity has been shown to beneficial effects on physical health and influences in hippocampus which is an important location for memory and learning. The purpose of this study was to investigate the effect of motor training on motor performance and axonal regeneration in hippocampus through the immunoreactivity of GAP-43 after diffuse axonal injury in the rats. The experimental groups were applied motor training (beam-walking, rotarod, and Morris water maze) but control groups were not. The time performing the motor tasks and GAP-43 immunohistochemistry were used for the result of axonal recovery. There were meaningful differences between experimental groups and control groups on motor performance and GAP-43 immunohistochemistry. The control groups showed increasing tendency with the lapse of time, but experimental groups showed higher. Therefore, Motor training after DAI improve motor outcomes which are associated with dynamically altered immunoreactivity of GAP-43 in axonal injury regions, particularly hippocampus, and that is related with axonal regeneration.

■ keyword : | Diffuse Axonal Injury | GAP-43 | Hippocampus | TBI |

## I. 서론

외력에 의해 뇌 손상이 유발되는 외상성 뇌 손상은 손상의 양상과 분포에 따라 국소성 손상(focal injury)과 미만성 손상(diffuse injury)으로 구분할 수 있다[1]. 국소성 손상은 외력이 두개골과 뇌의 한 부분에 가해져 뇌좌상과 열상의 병리적 소견을 보이며 혈종을 동반하기도 한다[2]. 이와 달리 미만성 손상은 전체 두개에 충격이 가해져 미만성 뇌부종, 허혈성 뇌손상, 및 미만성 축삭 손상과 같은 유형의 손상이 일어날 수 있으며, 이는 충격이나 손상이 가해진 부위뿐만 아니라 이와 멀리 떨어진 뇌 부위에서도 관찰된다[3].

미만성 뇌 손상은 상황에 따라서 손상의 심각도와 부위가 다양하지만, 몇 가지 공통된 양상이 나타난다. 손상이 일어나는 순간 충격을 받은 지점의 피질이 손상되고 즉시 반대 극(pole)의 피질이 손상되며, 두개골 내면의 형태로 인해 전두엽 극과 측두엽 극의 침단부와 천막(tentorium) 주위가 쉽게 손상될 수 있다[4]. 또한 축삭 전단(shear)으로 인해 피질과 피질하 백색질, 해마에 미만성 축삭 손상이 일어난다[5]. 이 중 해마는 외부 자극에 대한 정보를 받아들여 기억과 학습에 관여하는 주된 영역이며, 뇌 손상 시 매우 취약한 곳이다[6].

미만성 축삭 손상이 일어나게 되면 외상성 뇌 손상에서 일반적으로 볼 수 있는 균형 장애, 협응 장애 및 체지 마비와 같은 운동 장애가 유발될 뿐만 아니라 해마의 손상으로 학습, 주의 집중 및 기억 장애와 같은 인지 장애도 유발된다. 특히 새로운 정보에 대한 기억과 정보처리 능력에 결함이 발생되고, 사망하기 전까지 혼수 상태에 빠지거나 중등도의 장애를 남길 수 있는 가장 큰 원인이 된다[7].

외력에 의해 뇌조직의 변형이 일어나면 축삭은 일련의 과정을 통해 손상이 유발된다. 먼저 마디 영역(nodal region)에 변화가 일어나는데, 신경세사(neurofilament)의 연결이 치밀해지고 비정상적인 미토콘드리아가 나타난다. 그 후 여러 축삭에 종창(swelling)이 유발되어 축삭의 정렬이 소실되며, 미토콘드리아와 미세소관(microtubule) 등과 같은 세포소기관들의 응집이 일어나고 축삭 내 수송이 차단된다. 점차 신경세사는 축삭

의 원위 분절로부터 떨어지게 되고, 결국 축삭이 완전 절단된다[8].

신경원의 손상 후 축삭 재생이 일어나기 위해서는 NGF(nerve growth factor), BDNF(brain-derived neurotrophic factor), NT-3(neurotrophin-3), NT4/5, NT-6 등의 신경 영양성 인자(neurotrophic factor), 이러한 인자들의 합성을 유도하는 전사 인자(transcription factor)[9], 신경전달물질(neurotransmitter)[10] 및 GAP-43 (growth-associated protein 43)[11]등의 활성을 필요로 한다. 특히 GAP-43은 성장원추(growth cone)와 연결된 신경 말단(presynaptic nerve terminal)에 풍부한 물질이며, 중추 신경계에서 신경원이 발달하거나 재생 될 때 발현되는 단백질로서 축삭을 재생하고 새로운 연결(synaps)을 형성하는데 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다[2].

축삭 손상 후 축삭의 말단에서 가지치기와 성장이 활성화되고, 새로운 연결형성(synaptogenesis)이 시작되면 GAP-43의 발현 정도는 급격히 증가되며, 축삭 목표점까지 성장하여 연결형성이 완성되면 대부분의 신경원에서 GAP-43의 발현이 빠르게 감소한다[12]. 따라서 GAP-43은 축삭의 재생 상태를 나타내는 일차 표식자로 여겨진다.

이러한 신경원의 기능적, 화학적, 그리고 구조적 변화를 일으키는 능력인 중추 신경원의 가소성이 환경 강화[13], 재훈련[14], 및 학습[15]과 같은 행동적 강화와 운동 훈련으로 활성화되어 뇌 구조 변화와 신경재생, 성장 인자의 조절에 영향을 미칠 수 있다고 보고되었다[16]. 이러한 변화는 기억, 학습은 물론 손상 후 회복에도 결정적인 역할을 하며 이는 특히 축삭의 재생과 밀접한 관계가 있다.

본 연구는 흰쥐를 대상으로 뇌에 미만성 축삭 손상을 일으킨 후 손상 전과 손상 후에 일정 기간 동안 반복적인 운동 훈련을 적용시킨 뒤 시간 경과에 따른 운동 수행 변화를 확인하고, 미만성 축삭 손상 시 주로 손상되는 해마에서 GAP-43의 면역조직화학 반응을 관찰함으로써 운동 훈련이 기억과 인지 에 미치는 영향을 살펴보고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

실험에 사용된 동물은 생후 8~10주, 체중 250~300g의 건강한 Sprague-Dawley 계 웅성 흰쥐를 사용하였다. 실험 기간 동안 물과 먹이는 제한 없이 공급하였고, 사육장 온도는  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 습도는  $60\pm 5\%$ 를 유지하였으며, 1일 12시간의 광주기와 12시간의 암주기를 적용하였다.

미만성 척삭 손상을 실험적으로 일으킨 후 급성기를 보낸 흰쥐를 무작위로 실험군( $n=15$ )과 대조군( $n=15$ )으로 구분하였고, 각 군은 다시 손상 후 1일군( $n=5$ ), 7일군( $n=5$ ) 및 14일군( $n=5$ )으로 구분하였다. 대조군은 뇌 손상 유발 후 아무런 운동 훈련을 적용하지 않았고, 실험군은 운동 훈련으로 막대 걷기(*beam working*), rotarod 및 모리스 수중 미로(*Morris water maze*) 훈련을 1일 1회 적용하였다. 각각의 훈련 간에는 충분한 휴식 시간을 주었다.

실험에 사용된 흰쥐는 미만성 척삭 손상을 유발하기 전 4일간 각각의 운동 적응 훈련을 적용시켰다.

### 2. 미만성 척삭 손상 유발

미만성 척삭 손상을 유발하기 위해 Marmarou 등[17]의 연구에서 사용된 방법을 이용하였다. 염산케타민(*Ketamin HCl*, 유한양행)과 럽폰(*Rompun*, 바이엘코리아)을 1:1의 비율로 혼합한 전신 마취제를 복강주사(0.4 ml)하여 마취한 후, 탄력성이 있는 foam bed 위에 흰쥐의 전신을 올려놓았다. 두부를 삭모하고 피부를 절개하여 두개골을 노출시키고 lamda와 bregma 사이에 직경 10 mm, 두께 3 mm의 stainless steel disc를 고정하였다. Plexiglas tube를 흰쥐의 두부에 있는 stainless steel disc에 수직으로 고정하고, 450 g의 추를 1 m의 높이에서 관을 통해 자유 낙하시켜 미만성 척삭 손상을 유발하였다.

### 3. 운동 훈련

#### 3.1 막대 걷기(*Beam-Walking*)

Goldstein과 David [18]의 방법을 수정한 것으로, 높이 30cm의 나무 상자를 마주 보게 배치하고 폭 3cm, 길

이 120cm의 나무 막대를 올려놓았다. 막대의 한 쪽 끝은 실험동물의 유인을 위해서  $20\times 16\times 20\text{cm}$ 의 어두운 상자를 배치하고 막대의 반대 끝에서 상자를 향해 건너갈 수 있도록 소리자극(*avoidance stimulus*)을 적용하였다. 각각의 실험군은 1일 1회 10분씩 적용하였다.

#### 3.2 Rotarod

Rota-Rod(IITC MODEL 720/730 ROTO ROD, CA)를 이용하여 5 rpm의 고정된 속도로 설정하고, 회전하는 둥근 rod 위에 흰쥐를 올려놓고 유지하는 훈련을 적용하였다. 각각의 실험군은 1일 1회 10분씩 적용하였다.

#### 3.3 모리스 수중 미로(*Morris water maze*)

직경 100 cm, 높이 60 cm의 수조 내에 40 cm 높이로 물을 채우고 임의로 선택된 한 사분면에 투명 아크릴판으로 만든 도피대를 설치하였다. 이 도피대는 수면에서 1 cm 아래에 고정하였다. 사분원 중 임의의 지점에서 쥐를 떨어뜨려 입수시키고 입수된 시점에서 도피대에 오르도록 훈련시켰다. 도피대에 올라가면 15초 동안 시행 간격이 주어지고 4개의 각 사분면에서 한번 씩 1회 적용하였다.

### 4. 운동 수행력 검사

운동 수행 변화를 비교하기 위해 미만성 척삭 손상을 유발하기 전 적응 훈련을 마친 후 검사를 실시하였고, 손상 후 급성기를 지나고 1일, 7일, 14일에 각각의 운동 수행력을 검사하였다. 모든 검사는 3회 실시한 후 마지막 값을 기록하였다.

#### 4.1 막대 걷기 검사(*Beam-Walking test*)

막대 걷기 검사는 전정 감각의 통합, 전정운동(*vestibulomotor*) 기능, 및 정교한 운동 협응을 평가하기 위해 사용되었다[18]. 높이 30cm의 나무 상자를 마주 보게 배치하고 폭 3 cm, 길이 120 cm의 나무 막대를 올려놓았다. 막대의 한 쪽 끝은  $20\times 16\times 20\text{cm}$ 의 어두운 상자를 배치하고 막대의 반대 끝에서 상자를 향해 건너갈 수 있도록 소리자극(*avoidance stimulus*)을 적용하여 막대를 완전히 건너는데 걸리는 시간(sec)을 측정하

였다.

#### 4.2 Rotarod 검사(Rotarod test)

Rota-Rod는 중등도 뇌 손상을 일으킨 쥐의 운동 결손과 균형 유지를 평가하기 위해 사용되었다[19]. 5 rpm 속도로 회전하는 rod 위에 흰쥐를 올려놓고 낙하하기까지 걸린 시간(sec)을 측정하였다.

#### 4.3 모리스 수중 미로 검사(Morris water maze test)

모리스 수중 미로는 공간 학습(spatial learning)과 기억, 인지 능력을 평가하기 위해 적용되었다[20].

직경 100 cm, 높이 60 cm의 수조 내에 40 cm 높이로 물을 채우고 임의로 선택된 한 사분면에 투명 아크릴판으로 만든 도피대를 설치하였다. 이 도피대는 수면에서 1 cm 아래에 고정되었다. 사분원 중 임의의 지점에서 쥐를 떨어뜨려 입수시키고 입수된 지점에서 도피대에 오르는데 소요된 시간(sec)을 측정하였다.

### 5. 면역조직화학법

실험적 처치를 마친 흰쥐는 염산케타민(Ketamin HCl, 유한양행)과 롬퐁(Rompun, 바이엘코리아)을 1:1의 비율로 혼합한 전신 마취제를 복강주사(0.4 ml)하여 마취한 후 심장관류(0.9% NaCl)를 통해 4% paraformaldehyde로 전고정을 실시한 후 뇌를 적출하였다. 적출한 흰쥐의 뇌는 24시간 동안 4% paraformaldehyde로 후고정을 실한 후 극저온 냉동기로  $-30^{\circ}\text{C}$ 로 냉동시키고 미세박절기(microtome, BRIGHT5040)를 이용하여  $30\ \mu\text{m}$  두께의 조직 절편을 제작하였다. 제작된 절편은 0.01M PB(phosphate buffer)에 처리하였다.

0.01M PB에 처리된 절편은 1차 항체인 rabbit polyclonal antibody GAP-43(Chemicon International, USA)을 1 : 500으로 희석하여  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 처리하였다. 0.01M PB에 10분 씩 3회 수세한 다음, 2차 항체로 anti-rabbit IgG(Vector, USA)에 90분간 처리하고 0.01 M PB로 10분 씩 3회 수세하였다. 3차 항체는 ABC-kit(Vector, USA)로 60분간 처리하였다. 0.01 M

PB로 10분 씩 3회 수세하고 여과된 DAB(3'5'-diaminobenzidine)에 10분간 처리한 후 0.01 M PB에 10분 씩 3회 수세하고 증류수에 같은 방법으로 수세하였다. Crecyl violet acetate를 이용하여 대조염색(counterstaining)을 실시한 후 탈수(dehydration)와 청명과정을 거쳐 영구보존을 위해 PMM(permanent mounting media)을 이용하여 cover glass로 봉입하였다.

### 6. 분석 방법

각 집단 내의 시간에 따른 운동 수행 변화를 비교하기 위해 일원배치 분산분석(One-way ANOVA)을 실시하였고, 사후분석으로는 Duncan의 다중범위검정을 실시하였다. 집단 간의 운동 수행력을 비교하기 위하여 독립표본 t-test를 실시하였고 유의수준은 0.05로 하였다.

면역조직화학적 관찰은 광학현미경(OLYMPUS BX50, Japan)에 장착된 CCD 카메라(Toshiba, Japan)와 개인용 컴퓨터를 연결시켜 Image-proplus ver 4.0 for windows(media cybernetics, USA)를 사용하여 GAP-43의 면역반응을 관찰하여 발현된 세포 수를 정량적으로 분석하여 각 군간의 차이를 독립 표본 t-test로 검정하였다( $p < .05$ ).

## III. 결 과

### 1. 운동 수행력 검사

막대 걷기 검사, Rotarod 검사 및 모리스 수중 미로 검사 모두 손상 전보다 손상 후 1일에서 운동 수행력이 현저하게 감소되었다. 그러나 시간이 경과함에 따라 수행력이 증가되었으며, 손상 후 1일군과 7일군 간의 차이가 7일군과 14일군 간의 차이보다 크게 나타났고 실험군이 대조군보다 현저하게 증가되는 것으로 나타났다( $p < .05$ )[표 1]-[표 4][그림 1].

표 1. 막대 걷기 검사 결과의 일원배치 분산분석

대조군			
	평균제곱	F	유의확률
집단-간	615.600	21.487	.00
집단-내	28.650		
실험군			
	평균제곱	F	유의확률
집단-간	492.183	35.473	.00
집단-내	13.875		

표 2. Rotarod 검사 결과의 일원배치 분산분석

대조군			
	평균제곱	F	유의확률
집단-간	339.933	135.973	.00
집단-내	2.500		
실험군			
	평균제곱	F	유의확률
집단-간	275.383	48.526	.00
집단-내	5.675		

표 3. 모리스 수중 미로 검사 결과의 일원배치 분산분석

대조군			
	평균제곱	F	유의확률
집단-간	1582.733	28.582	.00
집단-내	55.375		
실험군			
	평균제곱	F	유의확률
집단-간	1776.183	118.215	.00
집단-내	15.025		

표 4. 운동 수행력 검사 결과

	막대걷기검사		Rotarod 검사		모리스수중미로검사	
	대조군	실험군	대조군	실험군	대조군	실험군
손상전	4.80±0.84 <sup>a</sup>	4.80±1.10 <sup>a</sup>	19.40±2.30 <sup>a</sup>	19.40±1.14 <sup>a</sup>	6.00±1.00 <sup>a</sup>	6.00±1.22 <sup>a</sup>
1일군	28.80±5.97 <sup>b</sup>	27.40±5.94 <sup>b</sup>	2.20±1.30 <sup>b</sup>	2.20±0.84 <sup>b</sup>	46.60±8.82 <sup>b</sup>	47.00±6.20 <sup>b</sup>
7일군	27.00±6.93 <sup>b</sup>	11.80±4.20 <sup>c</sup>	2.60±1.52 <sup>b</sup>	7.20±1.92 <sup>c</sup>	40.00±7.78 <sup>b</sup>	16.60±3.65 <sup>c</sup>
14일군	24.20±5.50 <sup>b</sup>	8.60±1.14 <sup>d</sup>	4.20±0.84 <sup>b</sup>	13.00±4.12 <sup>d</sup>	30.20±9.07 <sup>b</sup>	8.60±2.61 <sup>d</sup>

각 수치는 평균±표준오차로 나타냄. 각각의 다른 위치자는 Duncan의 다중범위검정에 의해 통계적으로 유의한 차이를 나타냄.(p<.05)

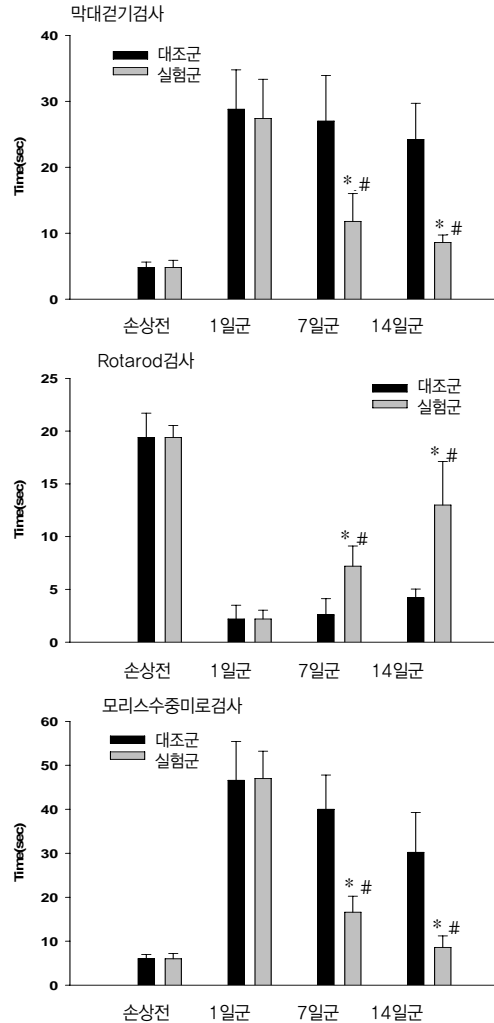


그림 1. 운동 수행력 검사 결과  
\* : p<.05 vs. 1일군, # : p<.05 vs. 대조군

2. Gap-43의 면역반응성 비교

미만성 축삭 손상을 유발시킨 후, 해마 CA1과 CA2 영역의 GAP-43 발현이 손상 전보다 현저히 감소된 것을 관찰할 수 있었다. 시간이 경과함에 따라서 실험군과 대조군 모든 영역의 발현 양상이 1일군과 비교하여 증가하였으나, 대조군보다 실험군에서의 증가가 유의하게 나타났다( $p < .05$ ). 또한 CA1과 CA2 영역 모두 대조군보다 실험군에서 발현정도가 증가하였으나 통계학적 유의성은 CA1 영역에서만 나타났다( $p < .05$ ) [그림 2]-[그림 4].

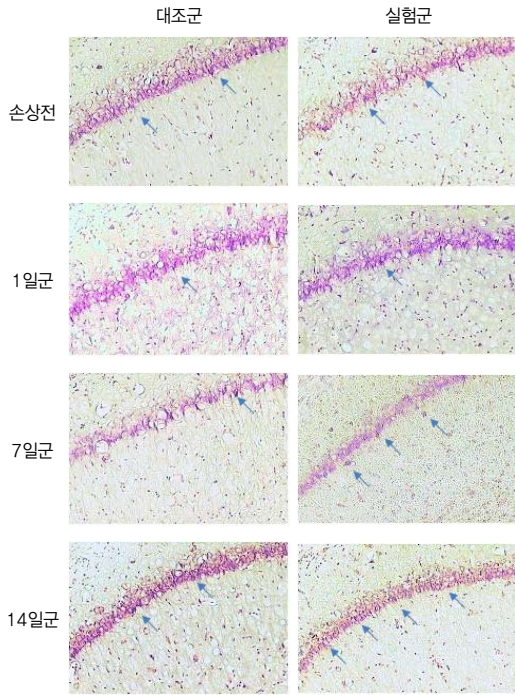


그림 2. 해마의 CA1 영역에서의 GAP-43 발현 양상

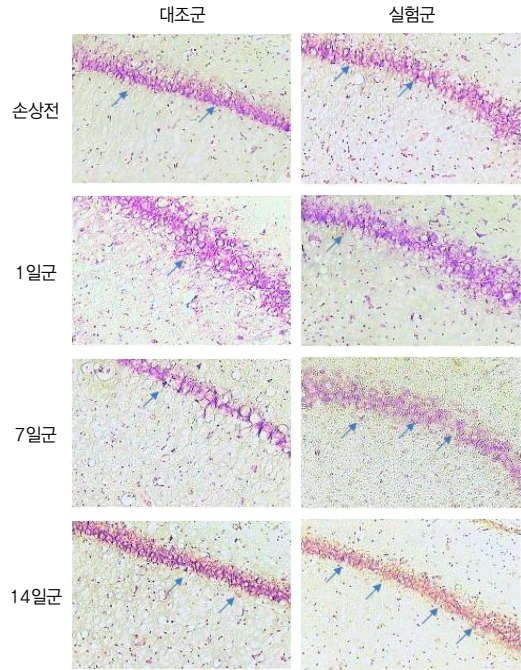


그림 3. 해마의 CA2 영역에서의 GAP-43 발현 양상

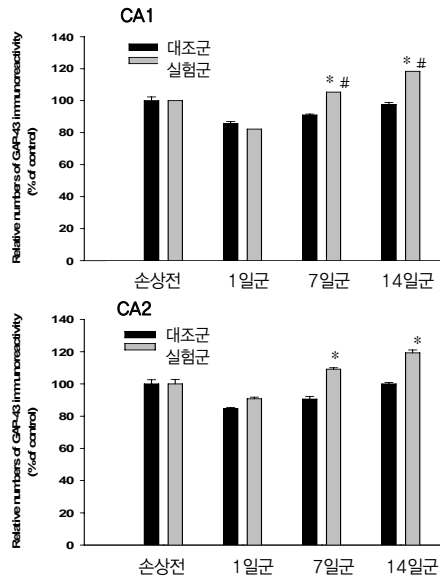


그림 4. 해마의 CA1과 CA2 영역에서의 GAP-43 발현 양상

\* :  $p < .05$  vs. 1일군, # :  $p < .05$  vs. 대조군

#### IV. 고 찰

미만성 축삭 손상은 외상성 뇌 손상이 유발되었을 때 손상 정도에 중요한 영향을 미치는 요인으로서[21], 심각한 국소 손상이 발생하지 않아도 뇌 전반에 손상을 일으킬 수 있다. 이러한 손상은 모든 중증 뇌 손상 환자의 50%를 차지하고 뇌 손상에 의한 사망 원인의 30%를 차지하는 것으로 알려져 있으며[22], 뇌 손상이 일어난 시점에서 의식 장애가 있거나 기간에 상관없이 의식 소실이 발생하면 미만성 축삭 손상이 유발된 것으로 여겨진다[23]. 이것은 생명뿐만 아니라 회복 후에도 신경학적인 장애를 야기 시키는 중요한 원인이 된다. 미만성 축삭 손상의 병리학적 기전과 치료적 중재의 순차적인 발전을 위해 여러 가지 동물 실험 모델들이 연구되었는데, 이러한 연구의 일차적인 목표는 임상에서 가장 흔히 볼 수 있는 중증도의 미만성 축삭 손상을 유발시킬 수 있는 실험 모델을 발전시키는 것이었다[24]. 초기 연구에서 적용된 실험 모델들은 국소성 뇌손상을 유발시키기에는 충분하였으나 미만성 손상을 일으키기에는 어려움이 있었다. 그 후 Marmarou[17]는 심각한 국소성 뇌 손상 없이 미만성 손상을 유발시키는 부하 낙하 모델(weight drop model)을 보고하였다. 이 모델은 흰쥐의 두개골을 노출시킨 후 lamda와 bregma 사이에 3 mm 두께의 stainless steel disc를 고정하고 관을 통해 450 g의 추를 2 m와 1 m의 높이에서 흰쥐의 두부로 낙하시키는 방법으로, 본 연구에서는 실험동물인 흰쥐의 사망률을 최소화하고 두개골 골절을 유발시키지 않는 중증도의 손상을 유발시키기 위해 1 m의 높이에서 추를 낙하시켜 미만성 축삭 손상을 유발하였다.

미만성 축삭 손상은 뇌 전반에 걸친 축삭의 형태학적 변화로서, 이는 가속/감속력이 두부에 가해짐으로써 유발된다. 이러한 손상은 외상성 뇌 손상과 같이 두부에 직접적인 충격으로 발생할 수 있으나 흔들린 아기 증후군(shaken baby syndrome)과 같이 두부에 직접적인 충격 없이 반복적인 흔들림(shaking)만으로도 가속/감속력이 발생하여 뇌 전반에 걸친 축삭 손상이 유발될 수도 있다[25]. Smith 등[26]은 돼지의 두부를 관상면(coronal plane)상에서 반복적인 움직임을 일으켜 뇌 전

반에 걸친 축삭 손상의 병리적인 과정을 보고하였으며, Smith 등[27]은 흔들린 아기 증후군의 병리적인 기전을 연구하기 위해 생후 6일된 흰쥐를 대상으로 3일 동안 1일 1회 두부를 흔들어 뇌 손상을 유발시킨 후 뇌 신경원의 변성에 대해 보고하였다.

본 연구는 흰쥐를 대상으로 뇌에 미만성 축삭 손상을 일으킨 후 반복적인 운동 훈련의 적용이 시간 경과에 따른 운동 수행과 축삭 재생에 미치는 영향에 대해 알아보았다. 이를 위해 먼저 미만성 축삭 손상이 유발된 흰쥐에게 운동 훈련을 7일과 14일 동안 적용하여 각각의 운동 수행력의 변화를 관찰하였다. 그 결과 손상 전에 비해 손상 후 1일군에서 운동 수행력이 급격히 감소한 것으로 나타났고, 손상 후 7일과 14일군은 운동 훈련을 적용시킨 실험군이 운동 훈련을 적용시키지 않은 대조군 보다 시간 경과에 따른 운동 수행력이 유의하게 증가하였다.

Van Meeteren 등[28]은 운동 훈련이 기능적인 회복을 강화시킨다고 보고하였으며, 또한 Kami 등[29]은 운동과제를 단기간에 집중적으로 훈련할 경우 운동 수행속도와 정확성이 증가하며 그 결과 뇌의 운동신경망에도 변화를 가져온다고 보고하였다. 본 연구에서는 운동 훈련으로 막대 걷기, rotarod 및 모리스 수중 미로를 적용하였는데, 이는 운동 협응력, 균형 및 학습을 위한 과제들로서 중추신경계 손상을 일으킨 흰쥐의 운동과 인지 능력을 평가하기 위해 일반적으로 적용된다. 본 연구에서는 막대 걷기, rotarod 및 모리스 수중 미로를 매일 훈련시켰으며 손상 후 1일, 7일 및 14일에 각 과제를 수행하는데 걸린 시간을 기록하여 운동 수행력을 검사하였다. 운동 수행력을 검사하는 동안 각 실험동물의 운동 행동 양상을 검사하지는 않았지만 운동 훈련을 적용시킨 실험군이 대조군보다 수행 속도가 현저히 증가한 것으로 나타났으며, 이는 운동 수행력이 증가한 것으로 여겨진다.

Cotman과 Berchtold [16]은 운동과 같은 행동적 중재(behavioral intervention)가 세포적, 분자적 및 계통적 수준에서 뇌의 구조를 변화시켜 뇌의 건강과 가소성을 강화시킨다고 보고하였다. 흰쥐를 대상으로 뇌에 유압 손상(fluid percussion injury)을 일으킨 후 시간에 따른

운동 수행력을 비교한 Hulsebosch 등[30]의 실험에서는 운동 기능의 회복이 GAP-43의 발현 양상과 밀접한 관계가 있으며, 이는 신경원의 재생을 나타낸다고 보고하였다. 본 연구에서는 운동 훈련을 적용시키지 않은 대조군에서 손상 후 7일과 14일에 운동 수행력이 증가한 것으로 보였으나 손상 후 1일군과 손상 후 7일군 그리고 손상 후 7일군과 손상 후 14일군 간에는 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 그러나 실험군은 운동 훈련을 적용시킨 후 운동 수행력이 7일과 14일에 유의하게 증가하였으며, GAP-43의 발현 양상을 관찰한 모든 영역(hipocampus CA1, CA2, CA3)에서 실험군이 대조군 보다, 14일군이 7일군 보다 높게 나타났다.

GAP-43은 신경원이 재생될 때 일차적으로 발현되는 인산단백질(phosphoprotein)이며, 신경연접형성(synaptogenesis)이 완성되면 뇌의 대부분의 영역에서 급격히 감소된다[11]. 따라서 이 단백질은 신경원의 성장뿐만 아니라 연접 가소성과 신경전달물질의 유리를 조절하는데 중요한 역할을 한다[31]. 특히, GAP-43은 중추신경계에서 신경원이 손상된 후에 많이 발현되는데, 이는 손상된 축삭에서 다른 가지로 가지치기를 하거나 손상으로 축삭이 제 기능을 못하여 이를 대신하기 위해 다른 축삭이 가지치기를 함으로써 축삭이 재생되기 때문이다[32].

Li 등[33]은 흰쥐를 대상으로 척수를 압박 손상시킨 후 시간에 따른 GAP-43의 발현 양상을 관찰한 결과, 손상 정도에 상관없이 GAP-43의 발현이 증가한다고 보고하였으며, Hulsebosch 등[30]은 외상성 뇌 손상을 일으킨 흰쥐의 대뇌에서 GAP-43의 증가를 보고하였다. 본 연구에서는 손상 후 1일에서 손상 전보다 GAP-43의 발현 양상이 감소하긴 하였으나 손상 후 7일과 14일에는 증가하였다. 특히 운동 훈련을 적용시키지 않은 대조군에서도 손상 후 발현이 증가하여 선행 연구들과 같은 결과를 나타내었으나, 운동 훈련을 적용시킨 실험군의 발현이 대조군보다는 더욱 증가한 것으로 나타났다.

운동 훈련과 같은 행동적 강화는 중추 신경계의 가소성을 활성화 시켜 뇌 구조의 변화에 영향을 미친다. 이러한 변화는 축삭 재생으로 시작되어 손상 후 회복 정

도에 결정적인 역할을 한다. Oladehin과 Waters [34]는 트레드밀 운동과 수영을 적용시켜 해마와 편도에서의 c-fos 발현 증가를 통해 신경계 가소성 향상을 보고하였고, Trejo 등[35]은 트레드밀 운동이 쥐의 해마 치상회에서 insulin-like growth factor I(IGF-I)를 증가시켜 신경 재생을 향상시킨다고 보고하였다. 따라서 중추 신경계 손상 후 다양한 운동 훈련을 지속적으로 제공한다면 축삭 재생과 운동 기능 회복을 보다 활성화시킬 것으로 생각된다.

## V. 결론

본 연구는 미만성 축삭 손상 흰쥐에게 지속적인 운동 훈련을 적용하여 운동 수행력과 손상된 축삭의 재생에 관여하는 GAP-43의 발현을 관찰하였다. 그 결과, 미만성 축삭 손상 후 반복적인 운동 훈련으로 막대걷기, rotarod 및 모리스 수중 미로를 적용하여 운동 수행력이 증가되었고, 축삭의 재생에 중요한 역할을 하는 GAP-43의 발현이 시간 경과에 따라 증가된 것으로 나타났다. 중추 신경계 손상 후 다양한 운동 훈련을 지속적으로 제공한다면 축삭 재생과 운동 기능 회복을 보다 활성화시킬 것으로 생각되며, 이러한 연구를 기초로 하여 실제 중추신경계 손상환자에게 적용할 수 있는 운동 치료 프로그램 개발에 대한 연구도 지속적으로 이루어져야 할 것이다.

## 참고 문헌

- [1] J. T. Povlishock, R. L. Hayes, and M. E. Michel, "Workshop on animal models of traumatic brain injury," *J Neurotrauma*, Vol.11, No.6, pp.723-732, 1994.
- [2] T. A. Gennarelli, "Animate models of human head injury," *J Neurotraum*, Vol.11, No.4, pp.357-368, 1994.
- [3] W. L. Maxwell, J. T. Povlishock, and D. L.



- Graham, "A mechanistic analysis of nondisruptive axonal injury: a review," *J Neurotrauma*, Vol.14, No.7, pp.419-440, 1997.
- [4] G. A. Ryan, A. J. McLean, A. T. Vilenius, C. N. Kloeden, D. A. Simpson, P. C. Blumbergs, and G. Scott, "Brain injury patterns in fatally injured pedestrians," *J Trauma*, Vol.36, No.4, pp.469-476, 1994.
- [5] D. I. Katz and M. P. Alexander, "Traumatic brain injury: predicting course of recovery and outcome for patients admitted to rehabilitation," *Arch Neurol*, Vol.51, No.7, pp.661-670, 1994.
- [6] C. L. Coe, M. Kramer, B. Czéh, E. Gould, A. J. Reeves, C. Kirschbaum, and E. Fuchs, "Prenatal stress diminishes neurogenesis in the dentate gyrus of juvenile rhesus monkeys," *Biol Psychiatry*, Vol.54, No.10, pp.1025-1034, 2003.
- [7] E. D. Bigler, "The lesions in traumatic brain injury: implications for clinical neuropsychology," *Achieves of Clinical Neuropsychology*, Vol.16, No.2, pp.95-131, 2001.
- [8] E. H. Pettus, C. W. Christman, M. L. Giebel, and J. T. Povlishock, "Traumatically induced altered membrane permeability: its relationship to traumatically induced reactive axonal change," *J Neurotrauma*, Vol.11, No.5, pp.507-522, 1994.
- [9] W. Wu, "Potential roles of gene expression change in adult rat spinal motoneurons following axonal injury, a comparison among c-jun, low-affinity nerve growth factor receptor(LNGFR) and nitric oxide synthase(NOS)," *Exp Neurol*, Vol.141, No.2 pp.190-200, 1996.
- [10] B. B. Johansson, "Brain plasticity and stroke rehabilitation," *Stroke*, Vol.31, No.1, pp.223-230, 2000.
- [11] L. I. Benowitz and A. Routtenberg, "GAP-43: an intrinsic determinant of neuronal development and plasticity," *Trends Neurosci*, Vol.20, No.2, pp.84-91, 1997.
- [12] H. Yamanouchi, M. Mizuguchi, A. Oka, S. Takashima, L. E. Becker, M. Eguchi, and Y. Nakazato, "Enhanced GAP-43 gene expression in cortical dysplasia," *Neuroreport*, Vol.11, No.9, pp.1815-1819, 2000.
- [13] H. van Praag, T. Shubert, C. Zhao, and F. H. Gage, "Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice," *J Neurosci*, Vol.25, No.38, pp.8680-8685, 2005.
- [14] J. L. Tillerson, A. D. Cohen, J. Philhower, G. W. Miller, M. J. Zigmond, and T. Schallert, "Forced limb-use effects on the behavioral and neurochemical effects of 6-hydroxydopamine," *J Neurosci*, Vol.21, No.12, pp.4427-4435, 2001.
- [15] Y. Geinisman, "Structural synaptic modifications associated with hippocampal LTP and behavioral learning," *Cereb Cortex*, Vol.10, No.10, pp.952-962, 2000.
- [16] C. W. Cotman and N. C. Berchtold, "Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity," *Trends Neurosci*, Vol.25, No.6, pp.295-301, 2002.
- [17] A. Marmarou, M. A. Foda, W. van den Brink, J. Campbell, H. Kita, and K. Demetriadou, "A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics," *J Neurosurg*, Vol.80, No.2, pp.291-300, 1994.
- [18] L. B. Goldstein and J. N. Davis, "Beam-Walking in rats: Studies towards developing an animal model of functional recovery after brain injury," *J Neurosci Methods*, Vol.31, No.2, pp.101-107, 1990.
- [19] R. J. Hamm, B. R. Pike, D. M. O'Dell, B. G. Lyeth, and L. W. Jenkins, "The rotarod test: An evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury,"

- J Neurotrauma, Vol.11, No.2, pp.187-196, 1994.
- [20] D. Champagne, J. Dupuy, J. Rochford, and J. Poirier, "Apolipoprotein E knockout mice display procedural deficits in the morris water maze: analysis of learning strategies in three versions of the task," *Neuroscience*, Vol.114, No.3, pp.641-654, 2002.
- [21] Y. Chen, S. Constantini, V. Trembovler, M. Weinstock, and E. Shohami, "An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits," *J Neurotrauma*, Vol.13, No.10, pp.557-568, 1996.
- [22] C. W. Christman, M. S. Grady, S. A. Walker, K. L. Holloway, and J. T. Povlishock, "Ultrastructure studies of diffuse axonal injury in humans," *J Neurotrauma*, Vol.11, No.2, pp.173-186, 1994.
- [23] L. D. Lehmkuhl, K. M. Hall, N. Mann, and W. A. Gordon, "Factors that influence costs and length of stay of persons with traumatic brain injury in acute care and inpatient rehabilitation," *J Head Trauma Rehabil*, Vol.8, No.2, pp.88-100, 1993.
- [24] I. Cernak, R. Vink, D. N. Zapple, M. I. Cruz, F. Ahmed, T. Chang, S. T. Fricke, and A. I. Faden, "The pathobiology of moderate diffuse traumatic brain injury as identified using a new experimental model of injury in rats," *Neurobiol Dis*, Vol.17, No.1, pp.29-43, 2004.
- [25] J. M. Meythaler, J. D. Peduzzi, E. Eleftheriou, and T. A. Novack, "Current Concepts: Diffuse Axonal Injury-Associated Traumatic Brain Injury," *Arch Phys Med Rehabil*, Vol.82, No.10, pp.1461-1471, 2001.
- [26] D. H. Smith, X. H. Chen, B. N. Xu, T. K. McIntosh, T. A. Gennarelli, and D. F. Meaney, "Characterization of diffuse axonal pathology and selective hippocampal damage following inertial brain trauma in the pig," *J Neuropathol Exp Neurol*, Vol.56, No.7, pp.822-834, 1997.
- [27] S. L. Smith, P. K. Andrus, D. D. Gleason, and E. D. Hall, "Infant rat model of the shaken baby syndrome: preliminary characterization and evidence for the role of free radicals in cortical hemorrhaging and progressive neuronal degeneration," *J Neurotrauma*, Vol.15, No.9, pp.693-705, 1998.
- [28] N. L. van Meeteren, J. H. Brakkee, F. P. Hamers, P. J. Helden, and W. H. Gispen, "Exercise training improves functional recovery and motor nerve conduction velocity after sciatic nerve crush lesion in the rat," *Arch Phys Med Rehabil*, Vol.78, No.1, pp.70-77, 1997.
- [29] A. Kami, G. Meyer, P. Jezzard, M. M. Adams, R. Turner, and L. G. Ungerleider, "Functional MRI evidence for adult motor cortex plasticity during motor skill learning," *Nature*, Vol.377, No.6545, pp.155-158, 1995.
- [30] C. E. Hulsebosch, D. S. Dewitt, L. W. Jenkins, and D. S. Prough, "Traumatic brain injury in rats results in increased expression of Gap-43 that correlates with behavioral recovery," *Neurosci Lett*, Vol.255, No.2, pp.83-86, 1998.
- [31] S. M. Strittmatter, C. Fankhauser, P. L. Huang, H. Mashimo, and M. C. Fishman, "Neuronal pathfinding is abnormal in mice lacking the neuronal growth cone protein GAP-43," *Cell*, Vol.80, No.3, pp.445-452, 1995.
- [32] D. R. Kaplan and F. D. Miller, "Neurotrophin signal transduction in the nerve system," *Curr Opin Neurobiol*, Vol.10, No.3, pp.381-391, 2000.
- [33] G. L. Li, M. Farooque, A. Holtz, and Y. Olsson, "Increased expression of growth-associated protein 43 immunoreactivity in axons following compression trauma to rat spinal cord," *Acta*

Neuropathol, Vol.92, No.1, pp.19-26, 1996.

[34] A. Oladehin and R. S. Waters, "Location and distribution of Fos protein expression in rat hippocampus following acute moderate aerobic exercise," Exp brain Res, Vol.137, No.1, pp.26-35, 2001.

[35] J. L. Trejo, E. Carro, and I. Torres-Aleman, "Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus," J Neurosci, Vol.21, No.5, pp.1628-1634, 2001.

#### 저 자 소 개

천 송 희(Song-Hee Cheon)

정회원



- 2001년 2월 : 대구대학교 물리치료학과(이학사)
- 2005년 2월 : 대구대학교 대학원 물리치료전공(이학석사)
- 2009년 2월 : 대구대학교 대학원 물리치료전공(이학박사예정)
- 2006년 3월 ~ 현재 : 대구대학교 물리치료학과 겸임 교수

<관심분야> : 신경과학, 기능해부학, 의지·보조기학