

The Effects of Treadmill Exercise on Cognitive Performance, Brain Mitochondrial A β -42, Cytochrome c, SOD-1, 2 and Sirt-3 Protein Expression in Mutant (N141I) Presenilin-2 Transgenic Mice of Alzheimer's Disease

Jung-Hoon Koo, Hyun-Sub Eum, Eun-Bum Kang, In-Su Kwon, Dong-Cheol Yeom, Gil-Young An, Yoo-Sung Oh¹, Young-Soo Baik², In-Ho Cho and Joon-Yong Cho*

Exercise Biochemistry Laboratory, Korea National Sport University, Seoul 138-763, Korea

¹Department of Sport Information, Seoul City University, Seoul 130-743, Korea

²Department of Physical Education, Kun-Yang University, Nonsan, Chungnam 320-711, Korea

Received February 2, 2010 / Accepted March 11, 2010

The purpose of this study was to investigate the effects of treadmill exercise on A β -42, cytochrome c, SOD-1, 2 and Sirt-3 protein expressions in brain cytosol and mitochondria in mutant (N141I) presenilin-2 transgenic mice with Alzheimer's disease (AD). The mice were divided into four groups (Non-Tg-sedentary, n=5; Non-Tg treadmill exercise, n=5; Tg-sedentary, n=5; Tg treadmill exercise, n=5). To evaluate the neuroprotective effect of treadmill exercise, Non-Tg and Tg mice were subjected to exercise training on a treadmill for 12 wk, after which their brain cytosol and mitochondria were evaluated to determine whether any changes in the cognitive performance, A β -42 protein, cytochrome c protein, anti-oxidant enzymes (SOD-1, SOD-2) and Sirt-3 protein had occurred. The results indicated that treadmill exercise resulted in amelioration in cognitive deficits of Tg mice. In addition, the expressions of mitochondrial A β -42 and cytosolic cytochrome c protein were decreased in the brains of Tg mice after treadmill exercise, whereas antioxidant enzymes, SOD-1 and SOD-2 were significantly increased in response to treadmill exercise. Furthermore, treadmill exercise significantly increased the expression of Sirt-3 protein in Non-Tg and Tg mice. Taken together, these results suggest that treadmill exercise is a simple behavioral intervention which can sufficiently improve cognitive performance and inhibit A β -induced oxidative stress in AD.

Key words : Alzheimer's disease (AD), β -amyloid-42 (A β -42), anti-oxidant enzyme-1, 2 (SOD-1, 2), silent information regulator-3 (Sirt-3), presenilin-2 (PS-2), treadmill exercise

서 론

APP (amyloid precursor protein), PS-1 (presenilin-1)과 PS-2 (presenilin-2) 유전자들은 조기유발 알츠하이머질환 (early-onset Alzheimer's disease) 관련 유전자들로 정상적으로 뇌, 심장, 신장, 간, 소장, 근육 등과 같은 조직과 상피세포와 같은 말초조직에서 발현되나 이 유전자들이 돌연변이 혹은 과 발현될 경우 2가지 병리학적인 병변이 뇌의 대뇌피질과 해마에서 발생하는데 하나는 세포골격 단백질인 타우(tau) 단백질의 과인산화로 인한 신경세포 내 신경 섬유원 농축 (neurofibrillary tangle)이고 다른 하나는 세포외에 39~43개의 아미노산 잔기로 구성된 베타-아밀로이드(β -amyloid) 침적에 의한 노인성 반점(senile plaque)이다.

이러한 알츠하이머질환의 2가지 병리학적인 병변인 신경 섬유원 농축과 노인성 반점 침적에 의해 인지능력과 기억력이 감소되는 현상이 나타나며 특히 세포 독성물질인 베타-아밀로

이드(β -amyloid)중 A β -42 (β -amyloid-42)가 상대적으로 증가되어 조기유발 알츠하이머질환을 일으킨다[35]. 앞서 제시된 조기유발 알츠하이머질환과 관련된 3가지 유전자들 중 PS-1과 PS-2 유전자의 돌연변이가 조기유발 알츠하이머질환 사례의 약 50%이상을 차지한다[19].

21세기 초부터 분자, 세포 및 유전자 수준에서 사람과 동물을 대상으로 실시한 알츠하이머질환 관련 연구들은 알츠하이머질환이 뇌신경세포의 사멸, 플라크성 섬유소의 감소, 반응성 성상세포(reactive astrocyte)와 소교세포(microglia)의 증식 및 비정상적인 미토콘드리아 구조와 기능의 변화와 관련성이 높다고 제시하고 있으며 특히 신경세포외에 A β -42 단백질 침적이 알츠하이머질환의 주원인이라고 제시해 왔다[18,30,31]. 그러나 최근에 신경 섬유원 농축과 노인성 반점이 형성되기 전에 신경세포 내에 A β -42 단백질 침적이 먼저 발생한다고 하였으며 이러한 신경세포 내에 침적된 A β -42 단백질이 보다 더 강한 독성을 나타내며 신경세포 내 다양한 소기관들 중 미토콘드리아에 더 많이 침적되어 미토콘드리아의 기능 이상을 유발시킨다고 제시하여 또 다른 병리학적인 측면에서 알츠하이머질환의 예방과 치료기전에 관심을 가지게 되었다[8,17,22].

*Corresponding author

Tel : +82-2-410-6867, Fax : +82-2-418-1844

E-mail : chojy86@knsu.ac.kr

특히 다른 세포 소기관들에 비해 미토콘드리아에 침적된 Aβ-42 단백질은 전자전달계(respiratory chain complex I, III, and IV)와 TCA 회로 관련 효소들(pyruvate dehydro genase, isocitrate dehydrogenase, α-ketoglutarate dehydrogenase)의 활성을 억제시켜 에너지 항상성 장애를 유발하고 항산화 기능을 발휘하는 효소인 SOD-1 (Cu/Zn-superoxide dismutase)과 SOD-2 (manganese superoxide dismutase)의 활성저하와 반응 산소종(reactive oxygen species)의 생성을 증가시켜 신경 세포사멸을 유도한다[2,26,32,34]. 이러한 측면에서 신경세포 내· 외에 침적된 Aβ-42 단백질을 감소시키거나 억제하는 것이 알츠하이머질환의 주된 치료 방법으로 제시되고 있으나 주된 치료방법으로 현재까지는 대부분 약물에 의존하고 있다.

그러나 최근 약물 이외에 규칙적인 신체활동 혹은 운동이 뇌 기능 향상에 영향을 미치며 신경퇴행성질환인 알츠하이머질환의 예방과 치료에 있어서 긍정적인 효과가 있다고 보고되면서 운동에 대한 관심이 증가하고 있다. 운동과 알츠하이머질환 관련 선행연구들을 보면 규칙적인 트레드밀 운동은 알츠하이머질환의 주 병변인 Aβ-42 단백질의 감소를 가져와 세포 사멸의 억제와 인지기능의 개선을 보고하였다[10,36]. 또한 자발적인 휠 런닝을 수행한 형질전환 생쥐에서도 신경독소인 Aβ-42의 감소가 나타났으며 특히 기억을 관장하는 부위인 해마에서의 Aβ-42의 감소가 행동적 기능 이상을 완화시켰다고 제시하였다[1,38].

따라서 그동안 수행되어온 선행연구들이 신경세포 외 Aβ-42 단백질 침적에 의해 유발된 알츠하이머질환에 대한 운동 효과를 구명하는 것에 초점을 두었다면 이 연구에서는 신경세포 내 Aβ-42 단백질 침적에 의해 유발된 알츠하이머질환에 대한 운동 효과를 구명하는 것을 목적으로 NSE/hPS2m 알츠하이머질환 모델 생쥐를 활용하여 규칙적인 트레드밀 운동이 인지능력, 뇌조직의 미토콘드리아 내 Aβ-42 단백질, cytochrome c 단백질, 항산화 효소(SOD-1, SOD-2) 및 세포대사를 조절하고 수명연장을 유도하는 유전자로 알려진 Sirt-3 (silent information regulator-3) 단백질에 미치는 영향을 분석하는데 목적이 있다.

재료 및 방법

실험동물

이 연구의 실험동물은 식품의약품안전청 국립독성연구원 실험동물 자원실에서 생산된 NSE/hPS2m 알츠하이머질환 모델 생쥐[15](Tg, n=10)와 동일한 어미에서 출생한 비 형질전환 생쥐(Non-Tg, n=10)를 분양받은 후 K대학교 실험 동물실[온도 20±2°C, 습도 50%, 주간(08:00-20:00)에 점등, 야간(20:00-08:00)에 소등]에서 21개월 동안 사육한 후 사용하였다. 실험 기간 동안 미국영양학회에서 발표된 AIN-76A 실험동물용 식이방법에 따라 제조된 사료(Purina 쥐 사료-5057)를 제공하고

식이 량과 수분섭취는 제한 없이 공급하였다. 집단은 Non-Tg SED (n=5), Non-Tg EXE (n=5), Tg SED (n=5)과 Tg EXE (n=5)으로 구분하였다

수중미로검사(Water maze test)

NSE/hPS2m 알츠하이머질환 모델 생쥐(Tg)와 동일 연령의 non-Tg 생쥐를 대상으로 인지능력의 변화를 알아보기 위해 수중미로검사를 실시하였다. 수중미로검사는 창문과 공기가 잘 통하고 실험 테이블이 준비된 실험실에서 실시하였다. 장비로는 원형수조(지름 1.5 m × 높이 12 cm) 안에 표적(target)이 보이지 않도록 하기 위해 수조안에 물(22-25°C)을 받아 진지분유를 풀어 넣어 용해시킨 후 물표면 바로 1 cm 정도 떨어진 수조바닥에 표적(지름 12 cm)을 놓았다. 이들 실험동물들의 수영거리(escape distance), 수영속도(escape velocity), 수영시간(escape latency)과 수영유형(swimming pattern)을 수조 바로 위 천정에 설치 연결된 컴퓨터 프로그램인 SMART-CS 프로그램(Panlab, Barcelona, Spain)을 활용하여 실험처치전과 12주 실험처치 후 2회 측정·분석 하였다. 수중미로검사는 각 회씩 주 5일 동안 실시하였으며 매일 같은 위치에서 출발하여 3회씩 동물이 동일한 위치에 놓인 표적에 도달하도록 연습시킨 후 마지막 6일째 표적을 없앤 후 동일한 출발 위치에서 수영을 시작하여 2회 표적에 도달한 결과를 실험결과 값으로 활용하였는데 실험결과 값으로는 60초 이내에 생쥐가 숨겨진 표적을 찾을 경우에만 활용하였다. 각 검사 실시간에 최소한 5분간의 간격을 두었다.

운동방법

Tg와 Non-Tg를 대상으로 rodent 트레드밀(8 Lanes, Daemyung Scientific Co., Ltd., Korea)을 이용하여 1주간 사전 적응훈련(10 min/day, 3 m/min, 5 day/wk)을 마친 후 이들의 운동수행능력을 고려하여 [5]가 제시한 운동 프로그램을 수정하여 Table 1에서 보는바와 같이 본 운동으로 처음 2주 동안 3 m/min 속도로 30분으로 시작하고 점진적으로 운동 강도를 증가시켜 마지막 4주 동안에는 12 m/min 속도로 60분간 실시하였으며 운동기간은 주5일 12주간 수행하였다.

뇌 적출

12주간 트레드밀 운동 후 pentobarbital sodium (50 mg/

Table 1. Training program for 12 wk

Duration (wk)	Intensity (m/min)	Time (min)
Pre	3	10
1~2	3	30
3~4	4	55
5~6	5	60
7~8	10	60
9~12	12	60

kg)을 복강 내 주입시켜 마취 시킨 후, 뇌 조직(whole brain)을 적출하여 액화질소에 동결시키고 분석 시까지 -80°C 의 초저온 냉동기(Bio-Freezer, Forma Science, USA)에 냉동 보관하였다.

미토콘드리아와 세포질 분리

미토콘드리아 분리는 Mitochondria Extraction Kit (IMGGENEX Corporation, San Diego, CA, USA)을 이용하여 분리하였다. 분석방법은 뇌 조직 100 mg 당 1 ml의 homogenizing buffer를 넣어 잘게 균질화시킨 후, 4°C 에서 10분간 3,000 rpm으로 원심 분리하고 분리된 상층액을 다시 4°C 에서 30분간 12,000 rpm으로 원심 분리한 후, 상층액(cytosolic fraction)을 분리하고 남은 pellet을 1 ml의 suspension buffer를 넣어 잘 섞어 준 다음 다시 4°C 에서 10분간 12,000 rpm으로 원심 분리하였다. 이후 상층액을 제거 후 1회 더 suspension buffer 1 ml을 넣고 잘 섞어 준 후 다시 4°C 에서 10분간 12,000 rpm으로 원심 분리해서 상층액을 제거한 후 남은 pellet은 1 ml의 complete mitochondrial lysis buffer를 넣어 4°C 에서 30분간 녹인 후 분리된 mitochondrial extract를 4°C 에서 5분간 12,000 rpm으로 원심 분리하여 획득한 상층액(mitochondria fraction)을 분리하고 총 단백질량은 BSA (Bovine Serum Albumin) 570 nm를 이용하여 정량하였다[6].

SDS-PAGE

10% separating gel (3DW, 30% acrylamide: bisacrylamide, 1.5 M tris pH 8.8, 10% SDS, TEMED, 10% ammonium persulfate)과 5% stacking gel (3DW, 30% acrylamide: bisacrylamide, 1M tris pH 6.8, 10% SDS, TEMED, 10% ammonium persulfate)을 만들어 사용하였다. 원심분리(12,000 rpm, 20 min)한 상층액과 2X Sample loading buffer (60 mM tris pH 6.8, 25% glycerol, 2% SDS, 14.4 mM 2-mercaptoethanol, 0.1% Bromophenol blue)를 1:1 비율로 잘 혼합한 후 100°C 에서 10분간 끓여 단백질을 변성시킨 후 10분간 얼음에 놓은 후 다시 12,000 rpm으로 10분간 4°C 에서 원심 분리하고 스탠다드 마커(Pagerular Prestained Protein Ladder #SM0671-Fermentas)와 함께 각 표본을 Mini-Protein II dual-slab apparatus (Bio-Rad, CA, USA)에 준비된 stacking gel well에 총 단백질량이 30 μg 이 되도록 분주하고 90 volt에서 90분 정도 샘플이 바닥에 닿을 때까지 전기영동 하였다.

Western blot analysis

Transfer buffer (190 mM glycine, 50 mM Tris-base, 0.05% SDS, 20% methanol)에 적신 Polyvinylidene difluoride (PVDF)에 Whatman 3M paper를 차례로 겹쳐 Mini trans-blot cell (Bio-Rad, CA, USA)에 장치한 후 60 volt로 60분 전사하고 Membrane으로 증착이 끝나면 rocker platform 위에서 1시간

동안 membrane을 3% skim milk 용액(TBS-T: 10 mM Tris-base pH 8.0, 150 mM NaCl, 0.05% Tween-20)으로 Blocking 시킨 후에 1차 항체인 anti-A β -42 (Cell signaling, #2454, USA), anti-cytochrome c (Santacruz, SC-8385, CA, USA)와 anti-Sirt-3 (Santacruz, SC-49744, CA, USA)는 1:1,000으로 anti-SOD-1 (Santacruz, SC-11407, CA, USA), anti-SOD-2 (Santacruz, SC-30080, CA, USA)는 1:5,000으로 blocking (3% skim milk)용액에 각각 희석하고 5시간 동안 흔들어 주고 난 후 TBS-T 용액으로 10분간 4차례 세척한 후 2차 항체(horseradish peroxidase-conjugated rabbit anti-goat, 81-1620 Zymed, CA, USA; horseradish peroxidase-conjugated goat-anti-rabbit, 65-6120 Zymed, CA, USA)를 Blocking 용액으로 1:5,000으로 희석시켜 1시간 동안 흔들어 주고 난 후 TBS-T 용액으로 10분씩 4차례 세척 후 마지막 단계로 WB LR solution (Western Blotting Luminol Reagent SC-2048, Santacruz Biotechnology, USA)에 membrane을 넣고 1분간 발색하고 얻어진 membrane을 이미지 분석 시스템(Molecular Imager ChemiDoc XRS System, Bio-Rad, USA)을 이용하여 스캔한 후 Quantity One 1-D Analysis Software (Bio-Rad, USA)를 이용하여 단백질량을 산출하였다.

자료처리방법

이 연구에서 얻어진 모든 자료는 윈도우용 11.0 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 기술 통계치(mean \pm SD)를 산출하였으며 집단(non-Tg, Tg)간과 운동여부(sedentary, treadmill exercise)간에 인지능력과 A β -42, cytochrome c, SOD-1, SOD-2와 Sirt-3 단백질 발현량에 차이가 있는지를 검증하기 위하여 이원변량분석(Two-way ANOVA)을 실시하였으며 집단 간 유의한 차이가 있을 경우 LSD (least significant difference)를 이용하여 사후 검증을 실시하였다. 이때 가설 유의 기준은 $\alpha = 0.05$ 수준으로 하였다.

결 과

인지능력의 변화

Fig. 1에서 보는 바와 같이, 수영거리는 집단 간과 운동여부 간에 상호작용 효과가 $p < 0.001$ 수준에서 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과 Non-Tg SED과 Tg SED 간에는 $p < 0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타난 반면 Non-Tg SED과 Non-Tg EXE 간에는 차이가 없는 것으로 나타났다. Non-Tg EXE과 Tg SED 간에는 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 마지막으로 Tg SED과 Tg EXE 간에도 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. Fig. 1에서 보는 바와 같이, 수영속도의 경우 집단 간과 운동여부 간에 상호작용 효과가 $p < 0.001$ 수준에서 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과 Non-Tg EXE과 Tg SED 간에 $p < 0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났

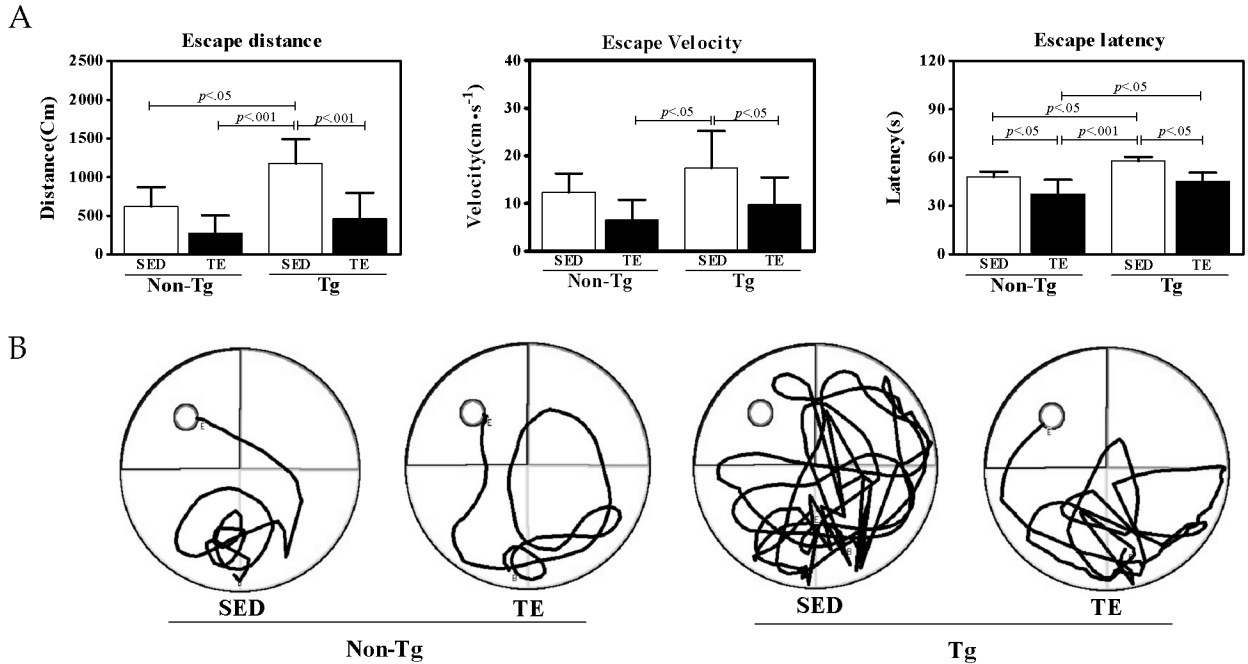


Fig. 1. Water maze tests. Patterns of escape distance, escape velocity, escape latency (A) and swimming pattern (B) cross to the former platform location in the water maze after 12 wk of treadmill exercise. Tg mice showed a significantly different trends toward distance, velocity and escape latency upon treadmill exercise. Swimming patterns show a significant difference between treadmill exercised and sedentary control mice on the crossing of former platform location. Values are expressed mean±SD of 5 animals/groups.

으며 Tg SED과 Tg EXE 간에도 $p < 0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. Fig. 1에서 보는 바와, 수영시간은 집단 간과 운동여부 간에 상호작용 효과가 $p < 0.001$ 수준에서 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과 Non-Tg SED과 Tg SED 간에 $p < 0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며 Non-Tg SED과 Non-Tg EXE 간에도 $p < 0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 또한 Non-Tg EXE은 Tg SED과 $p < 0.001$ 수준에서, Tg EXE과는 $p < 0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 마지막으로 Tg SED과 Tg EXE 간에도 $p < 0.05$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다.

A β -42 발현 수준의 차이

Fig. 2A에서 보는 바와 같이 A β -42 단백질의 경우, 집단 간과 운동여부 간에 상호작용효과가 $p < 0.001$ 수준에서 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과, Non-Tg SED과 Tg SED 간에 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며 Non-Tg EXE과 Tg SED 간에 각각 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 또한 Tg SED과 Tg EXE 간에 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다.

Cytochrome-c 발현 수준의 차이

Fig. 2B에서 보는 바와 같이 cytochrome c 단백질의 경우, 집단 간과 운동여부 간에 상호작용효과가 각각 $p < 0.001$ 수

준에서 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과, Non-Tg SED과 Non-Tg EXE 간에 $p < 0.001$ 수준에서 있는 것으로 나타났으며 Non-Tg SED과 Tg SED 간에도 $p < 0.001$ 수준에서 있는 것으로 나타났다. Non-Tg EXE과 Tg SED 간에도 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며 Non-Tg EXE과 Tg EXE 간에도 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 마지막으로 Tg SED과 Tg EXE 간에도 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다.

SOD-1과 SOD-2 발현 수준의 차이

Fig. 2C에서 보는 바와 같이, SOD-1 단백질의 경우 집단 간과 운동여부 간에 상호작용효과가 각각 $p < 0.001$ 수준에서 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과, SOD-1의 경우 Non-Tg SED과 Non-Tg EXE 간에 $p < 0.001$ 수준에서 있는 것으로 나타났으며 Non-Tg SED과 Tg SED 간에도 $p < 0.001$ 수준에서 있는 것으로 나타났다. Non-Tg EXE과 Tg SED 간에도 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났으며 Non-Tg EXE과 Tg EXE 간에도 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 마지막으로 Tg SED과 Tg EXE 간에도 $p < 0.001$ 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다.

Fig. 2D에서 보는 바와 같이, SOD-2 단백질의 경우 SOD-2의 경우, 집단 간과 운동여부 간에 상호작용 효과가 각각 $p < 0.001$ 수준에서 있는 것으로 나타나 Non-Tg SED과 Non-Tg EXE

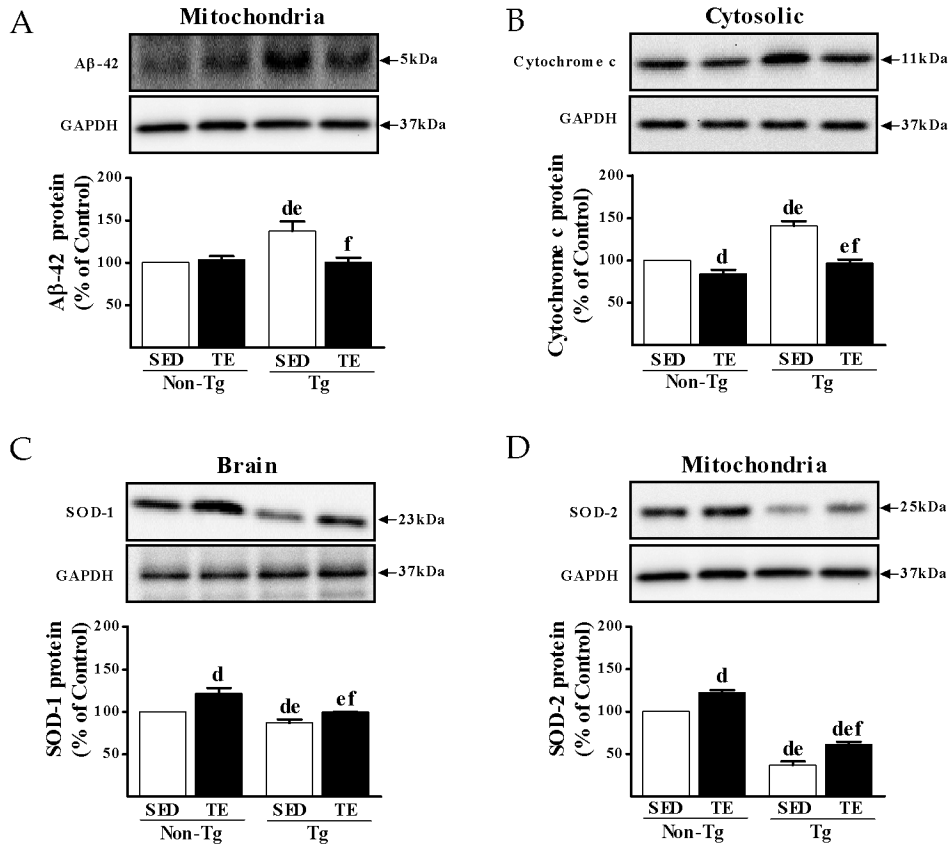


Fig. 2. The effect of 12 wk treadmill exercise on Aβ-42, cytochrome c, SOD-1 and SOD-2 proteins in the brain cytosol and mitochondria of Tg mice. Treadmill-exercised Tg mice show significant reductions in level of Aβ-42, cytochrome c, SOD-1 and SOD-2 proteins. Level of Aβ-42, cytochrome c, SOD-1 and SOD-2 proteins in the brain cytosol and mitochondria were analyzed by western blots. ^a*p*<0.05, ^d*p*<0.001 vs. sedentary non-Tg; ^b*p*<0.05, ^e*p*<0.001 vs. treadmill-exercised non-Tg; ^c*p*<0.05, ^f*p*<0.001 vs. sedentary Tg mice. Values are expressed mean±SD of 5 animals/groups.

간에 *p*<0.001 수준에서 있는 것으로 나타났으며 Non-Tg SED과 Tg SED 간에도 *p*<0.001 수준에서 있는 것으로 나타났다. Non-Tg SED과 Tg EXE 간에 *p*<0.001 수준에서 있는 것으로 나타났으며 Non-Tg EXE과 Tg SED 간에도 *p*<0.001 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 마지막으로 Tg SED과 Tg EXE 간에도 *p*<0.001 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다.

SIRT-3 발현 수준의 차이

Fig. 3A에서 보는 바와 같이 Sirt-3 단백질의 경우 집단 간과 운동여부 간에 상호작용효과가 *p*<0.001 수준에서 있는 것으로 나타나 사후 검증한 결과, 집단 간과 운동여부 간에 상호작용효과가 각각 *p*<0.001 수준에서 있는 것으로 나타나 Non-Tg SED과 Non-Tg EXE 간에 *p*<0.001 수준에서 있는 것으로 나타났으며 Non-Tg SED과 Tg SED 간에도 *p*<0.001 수준에서 있는 것으로 나타났다. Non-Th SED과 Tg EXE 간에 *p*<0.001 수준에서 있는 것으로 나타났으며 Non-Tg EXE과 Tg SED 간에도 *p*<0.001 수준에서 차이가 있는 것으로 나타났다. 마지막으로 Tg SED과 Tg EXE 간에도 *p*<0.001 수준에서 차이가 있는 것으

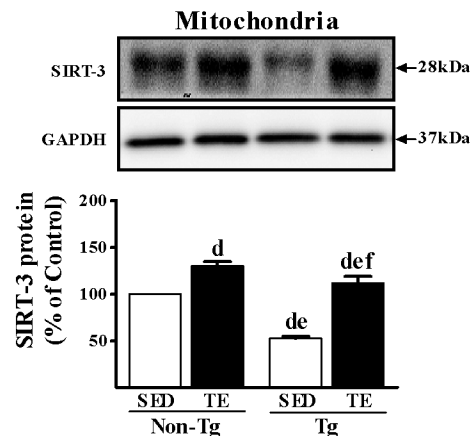


Fig. 3. The effect of 12 wk treadmill exercise on Sirt-3 protein in the brain mitochondria of Tg mice. Treadmill-exercised Non-Tg and Tg mice show a significant up-regulation of Sirt-3 protein. Level of Sirt-3 protein in the brain mitochondria was analyzed by western blots. ^a*p*<0.05, ^d*p*<0.001 vs. sedentary non-Tg; ^b*p*<0.05, ^e*p*<0.001 vs. treadmill-exercised non-Tg; ^c*p*<0.05, ^f*p*<0.001 vs. sedentary Tg mice. Values are expressed mean±SD of 5 animals/groups.

로 나타났다.

고 찰

알츠하이머 질환은 점진적으로 실인증, 실어증 및 실행증이 나타나는 신경퇴행성질환으로 최근까지도 많은 연구들이 치료방법을 제시하기 위해 지속적으로 수행되어 왔으나 그 기전 구명 및 치료 효과를 거두지 못한 상태이다. 현재 알츠하이머질환을 유발시키는 원인들 중 대표적인 원인으로 뇌(대뇌피질 혹은 해마)부위에 세포독성물질인 베타 아밀로이드(β -amyloid; A β)의 침적을 들고 있으며 특히 상대적으로 A β -42 (β -amyloid-42)단백질 침적의 증가를 들고 있다. 이러한 뇌 부위에 A β -42 단백질 침적은 인지능력 저하와 함께 신경세포인 뉴런의 소실과 신경세포의 사멸을 일으킨다[14,35].

이 연구에서도 12주간의 규칙적인 트레드밀 운동이 NSE/hPS2m (Tg) 알츠하이머질환 모델 생쥐의 인지능력에 미치는 영향을 수증미로검사를 실시하여 분석한 결과 Tg EXE이 Tg SED에 비해 현저하게 인지능력이 향상되었음을 확인하였다. 이러한 결과는 알츠하이머질환 모델 생쥐(PS1, PS2, TgCRND8, APPsw)를 대상으로 지구성 운동을 수행시킨 결과 인지능력이 향상되었다고 보고한 선행연구들[1,10,11,36,38]의 결과와 일치하는 것으로 나타났다.

이와 같이 지구성 운동을 통한 알츠하이머질환 모델 생쥐의 인지능력의 향상은 운동수행에 의해 뇌세포에 혈액을 통한 산소와 영양물질의 공급이 잘 이루어지고, 노폐물 및 탄산가스 제거율이 높아지며 새로운 뇌신경세포 생성, 신경전달물질의 증가 및 신경증식인자인 NGF (nerve growth factor)와 BDNF (brain derived neurotrophic factor) 증가에 기인한 것으로 볼 수 있으며 특히, A β -42 단백질의 감소와 직접적인 관련이 있는 것으로 볼 수 있다[23,37]. 즉 지구성 운동에 의해 γ -secretase 활성이 감소되거나 혹은 A β 분해율과 제거율이 증가되어 해마와 대뇌피질에 A β 단백질 침적이 감소되어 나타난 결과로 볼 수 있다[1,14].

최근에는 세포독성물질인 A β -42가 신경세포외에 침적되어 산화적 스트레스를 유발할 뿐만 아니라 신경세포 내 미토콘드리아에도 침적되어 전자전달계의 장애를 초래하고 반응 산소종의 생성을 증가시켜 세포사멸을 촉진시키기 때문에 알츠하이머질환과 밀접한 관련이 있다고 제시되고 있다[13,22,34]. 이와 같이 미토콘드리아 내에 침적된 A β -42 단백질은 시토크롬 c 산화제(cytochrome c oxidase)활성을 저하시켜 반응 산소종의 생성을 증가시키고 미토콘드리아 내 β -amyloid binding alcohol dehydrogenase (ABAD)와 결합하여 세포 독성을 일으킨다[9,13,22].

이 연구에서도 Tg SED의 경우 Non-Tg SED에 비해 미토콘드리아 A β -42 단백질 발현량이 현저하게 높은 것으로 나타나

미토콘드리아 내에 A β -42 단백질의 침적이 전자전달계의 장애, 반응 산소종 생성 증가 및 세포사멸을 촉진시키고 알츠하이머질환과 밀접한 관련이 있다고 제시한 선행연구들[13,22,34]의 결과와 일치하는 것으로 나타났으며 A β -42 단백질 발현량이 Non-Tg SED에 비해 Tg SED에서 높은 것처럼 시토크롬 c(cytochrome-c) 단백질의 발현량도 동일한 경향을 보였다. 그러나 12주간 규칙적인 트레드밀 운동을 수행한 Tg의 경우 Tg SED에 비해 현저하게 미토콘드리아 A β -42 단백질과 세포질 내 시토크롬 c 단백질의 발현량이 감소한 것으로 나타났다.

이러한 결과는 앞서 언급했듯이 운동수행에 의해 뇌 세포에 산소와 영양물질 공급이 잘 이루어지거나 아니면 노폐물과 탄산가스 제거율이 높아져 나타난 현상으로 볼 수 있으며 특히 지구성 운동에 의해 γ -secretase 활성 감소와 A β 분해 및 제거율이 효율적으로 조절되어 해마나 대뇌피질에서 A β 침적의 감소와 항산화 기능(SOD-1, SOD-2, CAT)의 향상으로 인한 산화적 스트레스의 감소에 의해 나타난 것으로 볼 수 있다[10,11,24,36,38]. 그러나 어떠한 기전으로 A β -42 단백질이 미토콘드리아 내로 전좌(translocation)되어 산화적 스트레스로 인한 세포사멸을 촉진하는지는와 규칙적인 운동이 어떤 경로를 통해 미토콘드리아 내 A β -42 단백질을 감소시키고 이에 따른 세포질 내 시토크롬 c 단백질의 감소를 유발하는지는 보다 많은 연구를 통해 구명해야 한다.

항산화 효소인 SOD (superoxide dismutase)는 미토콘드리아 대사과정에서 생성되는 부산물인 반응 산소종을 정상적인 조건에서는 과산화수소(H_2O_2)와 물로 환원시키며 활성도가 높은 상태이나 정상적인 조건이 아닌 알츠하이머질환 혹은 파킨슨 질환 일 경우에는 현저하게 감소되며 반응 산소종 수준도 높은 상태이다[3,7,25]. 특히 세포핵과 세포질에 존재하는 SOD-1 (Cu/Zn-SOD)도 감소하지만 미토콘드리아에 존재하는 SOD-2 (Mn-SOD)가 현저하게 감소된다고 제시되고 있다[2].

이 연구에서도 Tg SED은 Non-Tg SED에 비해 세포질에 존재하는 SOD-1과 미토콘드리아에 존재하는 SOD-2가 현저하게 감소되어있는 것으로 나타났는데 이러한 항산화 효소의 감소는 미토콘드리아 내에 A β -42 단백질 침적에 따른 산화적 스트레스의 증가에 기인한다고 제시한 선행연구들[2,20]의 결과와 일치하는 것으로 나타났다. 반면 12주간 규칙적인 트레드밀 운동을 수행한 Tg 집단의 경우 Tg SED에 비해 SOD-1와 SOD-2 단백질 발현량이 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 앞서 제시한 것처럼 규칙적인 트레드밀 운동수행에 의한 A β -42 단백질의 감소와 함께 뇌 세포에 산소와 영양물질 공급이 잘 이루어지거나 아니면 노폐물과 탄산가스 제거율의 향상상이 높아져 나타난 현상으로 볼 수 있다[11,38]. 특히 미토콘드리아 전자전달계의 장애, 반응 산소종 생성 증가 및 세포사멸을 촉진시키는 미토콘드리아 내 A β -42 단백질 감소에 의해 나타난 결과로 볼 수 있다. 이러한 결과는 선행연구들[11, 36]

의 결과가 뒷받침해 주고 있다.

이와 같이 규칙적인 트레드밀 운동은 알츠하이머질환으로 인해 저하된 항산화 기능(SOD-1와 SOD-2 증가)을 향상시켜 A β -42 침적으로 인해 발생하는 세포독성에 대한 저항력을 향상시키는 효율적인 방법임을 확인할 수 있다.

세포핵, 세포질, 및 미토콘드리아에 존재하며 NAD⁺ 의존성 히스톤 디아세틸레이션(NAD⁺-dependent histone deacetylation)을 통해 여러 전사인자들(transcription factors)을 조절하여 수명연장을 조절하는 것으로 알려져 있는 Sirtuin (silent information regulator) 단백질은 7개의 동위형이 존재한다 [4,12]. 이중 미토콘드리아에 존재하는 Sirt-3는 뇌, 심장과 지방세포에서 발현되며 미토콘드리아 생합성에 중요한 PGC-1 α 를 증가시키거나 반응 산소종의 생성을 감소시키는 것으로 보고되고 있다[21,27,33].

최근 Sirtuins (Sirts)과 알츠하이머질환과의 관련성에 관한 연구가 많은 관심을 받고 있으며 특히 Sirts는 γ -secretase 활성을 억제하여 A β 의 생성을 감소시킨다고[28,29]하여 알츠하이머질환의 치료 표적으로서 관심을 가지게 되었다. 그러나 운동과 뇌 Sirts 단백질 변화에 관한 연구들은 부족한 실정이며 특히 알츠하이머질환 상태에서 운동이 뇌 Sirts 단백질의 변화에 미치는 영향에 대한 연구는 상당히 부족한 실정이다.

따라서 이 연구에서는 12주간의 규칙적인 트레드밀 운동이 NSE/hPS2m 알츠하이머질환 모델 생쥐 뇌에서 Sirtuins 단백질 중 미토콘드리아 내에 존재하는 Sirt-3 단백질 발현량에 미치는 영향을 분석하였다. 그 결과 Tg SED이 Non-Tg SED에 비해 뇌 미토콘드리아 Sirt-3 단백질 발현량이 현저하게 낮은 것으로 나타나 앞서 제시했듯이 미토콘드리아 Sirt-3 단백질 기능 중 하나인 미토콘드리아 생합성 능력이 알츠하이머질환 상태에서는 상당히 감소되었음을 예측할 수 있으며 특히 이 연구에서 Tg SED의 미토콘드리아 Sirt-3 단백질 감소는 A β 의 생성을 촉진한다는 것을 확인할 수 있었다.

또한 이 연구에서 γ -secretase 활성도는 직접 측정하지는 않았지만 NSE/hPS2m 알츠하이머질환 모델 생쥐의 미토콘드리아 내 A β -42 단백질 발현량의 증가는 상대적으로 Sirt-3 단백질의 감소와 관련이 있음을 확인할 수 있다. 이러한 결과는 선행연구[28]의 결과를 뒷받침하는 결과라 할 수 있다. 반면 트레드밀 운동을 수행한 Non-Tg와 Tg 집단인 경우 Sirt-3 발현량이 현저하게 증가한 것으로 나타났는데 이러한 결과는 A β -42 단백질 감소 및 SOD-1, SOD-2 단백질 증가가 밀접한 관련이 있음을 확인하였다. 그러나 운동수행에 의해 어떻게 미토콘드리아 내 Sirt-3 단백질의 증가가 미토콘드리아 내 A β -42 단백질 감소와 관련이 있는지에 관해서는 보다 많은 후속 연구가 수행되어야 한다.

결론적으로 12주간의 트레드밀 운동은 NSE/hPS-2m 알츠하이머질환 모델 생쥐의 인지능력 향상뿐만 아니라 뇌 미토콘드리아 내 A β -42 침적으로 인해 발생하는 산화적 스트레스로

인한 세포사멸을 억제하는데 효과가 있는 것으로 나타났으며 특히 세포대사를 조절하여 수명을 연장시키는데 중요한 역할을 하는 Sirtuins 중 미토콘드리아 내 Sirt-3 단백질을 증가시키는 것으로 나타나 트레드밀 운동이 알츠하이머 질환 상태에서 미토콘드리아 기능(SOD-2, Sirt-3 증가)을 향상시킬 수 있는 효율적인 방법이라는 것을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2008년 한국연구재단 기초연구지원 G00036 (I02282)에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

References

- Adlard, P. A., V. M. Perreau, V. Pop, and C. W. Cotman. 2005. Voluntary exercise decreases amyloid load in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* **25**, 4217-4221.
- Anantharaman, M., J. Tangpong, J. N. Keller, M. P. Murphy, W. R. M arkesbery, K. K. Kinningham, and D. K. St Clair. 2006. Beta-amyloid mediated nitration of manganese superoxide dismutase: implication for oxidative stress in a APPNLH/NLH X PS-1P264L/P264L double knock-in mouse model of Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* **168**, 1608-1718.
- Behl, C., J. B. Davis, R. Lesley, and D. Schubert. 1994. Hydrogen peroxide mediates amyloid beta protein toxicity. *Cell* **77**, 817-827.
- Blander, G. and L. Guarente. 2004. The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu. Rev. Biochem.* **73**, 417-435.
- Books, G. A. and T. P. White. 1978. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J. Appl. Physiol.* **45**, 1009-1015.
- Bradford, L. W. 1976. Problems of ethics and behavior in the forensic sciences. *J. Forensic. Sci.* **21**, 763-768.
- Bush, A. I., C. S Satwood, L. E. Goldstein, X. Huang, and J. Rogers. 2000. Could Abeta and AbetaPP be antioxidants? *Journal of Alzheimers Disease* **2**, 83-84.
- Casley, C. S., L. Canevari, J. M. Land, J. B. Clark, and M. A. Sharpe. 2002. Beta-amyloid inhibits integrated mitochondrial respiration and key enzyme activities. *J. Neurochem.* **80**, 91-100.
- Chen, J. X. and S. D. Yan. 2007. Pathogenic role of mitochondrial [correction of mitochondrial] amyloid-beta peptide. *Expert Rev. Neurother.* **7**, 1517-25.
- Cho, J. Y., D. Y. Hwang, T. S. Kang, D. H. Shin, J. H. Hwang, C. H. Lim, S. H. Lee, H. J. Lim, S. H. Min, S. J. Seo, Y. S. Song, K. T. Nam, K. S. Lee, J. S. Cho, and Y. K. Kim. 2003. Use of NSE/PS2m-transgenic mice in the study of the protective effect of exercise on Alzheimer's disease. *J. Sports Sci.* **21**, 943-951.
- Cho, J. Y., H. S. Um, E. B. Kang, I. H. Cho, C. H. Kim, J. S. Cho, and D. Y. Hwang. 2010. The combination of ex-

- ercise training and α -lipoic acid treatment has therapeutic effects on the pathogenic phenotypes of Alzheimer's disease in NSE/APPSw-transgenic mice. *Int. J. Mol. Med.* **25**, 337-346.
12. Frye, R. A. 2000. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **273**, 793-808.
 13. Hansson Petersen, C. A., N. Alikhani, H. Behbahani, B. Wiehager, P. F. Pavlov, I. Alafuzoff, V. Leinonen, A. Ito, B. Winblad, E. Glaser, and M. Ankarcróna. 2008. The amyloid beta-peptide is imported into mitochondria via the TOM import machinery and localized to mitochondrial cristae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 13145-13150.
 14. Hardy, J. A. and G. A. Higgins. 1992. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* **256**, 184-195.
 15. Hwang, D. Y., K. R. Chae, T. S. Kang, J. H. Hwang, C. H. Lim, H. K. Kang, J. S. Goo, M. R. Lee, H. J. Lim, S. H. Min, J. Y. Cho, J. T. Hong, C. W. Song, S. G. Paik, J. S. Cho, and Y. K. Kim. 2002. Alterations in behavior, amyloid beta-42, caspase-3, and Cox-2 in mutant PS2 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB. J.* **16**, 805-813.
 16. Kienlen-Campard, P., S. Miolet, B. Tasiaux, and J. N. Octave. 2002. Intracellular amyloid-beta (1-42), but not extracellular soluble amyloid-beta peptides, induces neuronal apoptosis. *J. Biol. Chem.* **277**, 15666-15670.
 17. Knobloch, M., U. Konietzko, D. C. Krebs, and R. M. Nitsch. 2007. Intracellular Abeta and cognitive deficits precede beta-amyloid deposition in transgenic arcAbeta mice. *Neurobiol. Aging*. **28**, 1297-1306.
 18. LaFerla, F. M., K. N. Green, and S. Oddo. 2007. Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **8**, 499-509.
 19. Lee, V. M. and J. Q. Trojanowski. 1992. The disordered neuronal cytoskeleton in Alzheimer's disease. *Curr. Opin. Neurobiol.* **2**, 653-656.
 20. Li, F., N. Y. Calingasan, F. Yu, W. M. Mauck, M. Toidze, C. G. Almeida, R. H. Takahashi, G. A. Carlson, M. Flint Beal, M. T. Lin, and G. K. Gouras. Increased plaque burden in brains of APP mutant MnSOD heterozygous knockout mice. *J. Neurochem.* **89**, 1308-1312.
 21. Lombard, D. B., F. W. Alt, H. L. Cheng, J. Bunkenborg, R. S. Streeper, R. Mostoslavsky, J. Kim, G. Yancopoulos, D. Valenzuela, and Aet. Murphy. 2007. Mammalian Sir2 homolog SIRT3 regulates global mitochondrial lysine acetylation. *Mol. Cell Biol.* **27**, 8807-8814.
 22. Lustbader, J. W., M. Cirilli, C. Lin, H. W. Xu, K. Takuma, N. Wang, C. Caspersen, X. Chen, S. Pollak, M. Chaney, F. Trinchese, S. Liu, F. Gunn-Moore, L. F. Lue, D. G. Walker, P. Kuppasamy, Z. L. Zewier, O. Arancio, D. Stern, S. S. Yan, and Wu, H. 2004. ABAD directly links Abeta to mitochondrial toxicity in Alzheimer's disease. *Science* **304**, 448-452.
 23. Neeper, S. A., F. Gómez-Pinilla, J. Choi, and C. W. Cotman. 1996. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res.* **726**, 49-56.
 24. Nichol, K. E., W. W. Poon, A. I. Parachikova, D. H. Cribbs, C. G. Glabe, and C. W. Cotman. 2008. Exercise alters the immune profile in Tg2576 Alzheimer mice toward a response coincident with improved cognitive performance and decreased mice. *J. Neuroinflammation.* **9**, 5-13.
 25. Noor, R., S. Mittal, and J. Iqbal. 2002. Superoxide dismutase-applications and relevance to human diseases. *Med. Sci. Monit.* **8**, 210-5.
 26. Ohsawa, I., K. Nishimaki, C. Yasuda, K. Kamino, and S. Ohta. 2003. Deficiency in a mitochondrial aldehyde dehydrogenase increases vulnerability to oxidative stress in PC12 cells. *J. Neurochem.* **84**, 1110-1117.
 27. Onyango, P., I. Celic, J. M. McCaffery, J. D. Boeke, and A. P. Feinberg. 2002. SIRT3, a human SIR2 homologue, is an NAD-dependent deacetylase localized to mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 13653-13658.
 28. Qin, W., M. Chachich, M. Lane, G. Roth, M. Bryant, R. de Cabo, M. A. Ottinger, J. Mattison, D. Ingram, S. Gandy, and G. M. Pasinetti. 2006. Calorie restriction attenuates Alzheimer's disease type brain amyloidosis in Squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *J. Alzheimers.* **10**, 417-422.
 29. Qin, W., T. Yang, L. Ho, Z. Zhao, J. Wang, L. Chen, W. Zhao, M. Thiyagarajan, D. MacGrogan, J. T. Rodgers, P. Puigserver, J. Sadoshima, H. Deng, S. Pedrini, S. Gandy, A. A. Sauve, and G. M. Pasinetti. 2006. Neuronal SIRT1 activation as a novel mechanism underlying the prevention of Alzheimer disease amyloid neuropathology by calorie restriction. *J. Biol. Chem.* **281**, 21745-21754.
 30. Reddy, P. H. 2006. Amyloid precursor protein-mediated free radicals and oxidative damage: implications for the development and progression of Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* **96**, 1-13.
 31. Reddy, P. H. 2007. Mitochondrial dysfunction in aging and Alzheimer's disease: strategies to protect neurons. *Antioxid Redox. Signal.* **9**, 1647-1658.
 32. Schuessel, K., S. Schäfer, T. A. Bayer, C. Czech, L. Pradier, F. Müller-Spahn, W. E. Müller, and A. Eckert. 2005. Impaired Cu/Zn-SOD activity contributes to increased oxidative damage in APP transgenic mice. *Neurobiol. Dis.* **18**, 89-99.
 33. Shi, T., F. Wang, E. Stieren, and Q. Tong. 2005. SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes. *J. Biol. Chem.* **280**, 13560 - 13567.
 34. Takuma, K., J. Yao, J. Huang, H. Xu, Z. Chen, J. Luddy, A. C. Trillat, D. M. Stern, O. Arancio, and S. S. Yan. 2005. ABAD enhances Abeta-induced cell stress via mitochondrial dysfunction. *FASEB. J.* **19**, 597 - 598.
 35. Tanzi, R. E., D. M. Kovacs, T. W. Kim, R. D. Moir, S. Y. Guenette, W. Wasco. 1996. The gene defects responsible for familial Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis.* **3** 159-68.
 36. Um, H. S., E. B. Kang, Y. H. Leem, I. H. Cho, C. H. Yang, K. R. Chae, D. Y. Hwang, and J. Y. Cho. 2008. Exercise training acts as a therapeutic strategy for reduction of the pathogenic phenotypes for Alzheimer's disease in an NSE/APPSw-transgenic model. *Int. J. Mol. Med.* **22**, 529-539.

37. Van Praag, H., P. M. Qu, R. C. Elliott, H. Wu, C. F. Dreyfus, and I. B. Black. 1998. Unilateral hippocampal lesions in newborn and adult rats: effects on spatial memory and BDNF gene expression. *Behav. Brain Res.* **92**, 21-30.

38. Yuede, C. M., S. D. Zimmerman, H. Dong, M. J. Kling, A.

W. Bero, D. M. Holtzman, B. F. Timson, and J. G. Csernansky. 2009. Effects of voluntary and forced exercise on plaque deposition, hippocampal volume, and behavior in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis.* **35**, 426-432.

초록 : 트레드밀 운동이 mutant (N141I) presenilin-2 유전자를 이식한 알츠하이머질환 모델 생쥐 뇌의 Aβ-42, cytochrome c, SOD-1, 2와 Sirt-3 단백질 발현에 미치는 영향

구정훈 · 엄현섭 · 강은범 · 권인수 · 염동철 · 안길영 · 오유성¹ · 백영수² · 조인호 · 조준용*

(한국체육대학교 운동생화학실, ¹서울시립대학교 생활체육정보학과, ²건양대학교 운동처방학과)

본 연구의 목적은 PS-2 (N141I) 알츠하이머 형질전환 모델 생쥐를 대상으로 트레드밀 운동이 뇌의 세포질과 미토콘드리아의 Aβ-42, cytochrome c, SOD-1, 2 and Sirt-3 단백질 발현에 미치는 효과를 알아보는 데 있다. 우선 알츠하이머 형질전환 생쥐를 Non-Tg-sedentary (n=5), Non-Tg-treadmill exercise (n=5) 집단과 Tg-sedentary (n=5), Tg-treadmill exercise (n=5) 집단으로 구분하고 트레드밀 운동을 통한 신경보호 효과를 검증하기 위해 Tg와 Non-Tg집단에 12주간 트레드밀 운동을 수행한 후 인지능력을 살펴보고 뇌의 세포질과 미토콘드리아의 Aβ-42, cytochrome c, anti-oxidant enzymes (SOD-1, SOD-2)와 Sirt-3 단백질을 분석하였다. 먼저 트레드밀운동은 Tg 집단에서 인지능력의 개선을 나타냈으며 미토콘드리아의 Aβ-42와 세포질의 cytochrome c 단백질의 감소와 항산화 효소인 SOD-1, SOD-2를 유의하게 증가시켰다. 게다가 트레드밀 운동은 모든 집단에서 Sirt-3 단백질의 발현을 증가시켰다. 따라서 트레드밀 운동은 인지능력의 향상과 세포 내 스트레스를 유발하는 Aβ-42를 억제시켜 알츠하이머 질환을 개선시킬 수 있는 효과적인 방법이라고 생각된다.