

# 전침자극과 운동치료가 허혈성 뇌졸중 백서모델의 신경계에 미치는 영향

유영대<sup>1</sup> · 김기도 · 천진성 · 김계엽\* · 정현우<sup>2</sup>

동신대학교 물리치료학과, 1: 원광대학교 광주한방병원, 2: 동신대학교 한의학과

## Effects of Electro-acupuncture and Therapeutic Exercise on Nervous system in the Ischemic Stroke Rats

Young Dae Yoo<sup>1</sup>, Gi Do kim, Jin Sung Chun, Gye Yeop Kim\*, Hyun Woo Jeong<sup>2</sup>

Department of Physical Therapy of Dongshin University, 1: Department of rehabilitation medicine, Wonkwang University Medical Center, 2: Department of Oriental Medicine of Dongshin University

This study was intended to examine the effects of electroacupuncture(EA) and therapeutic exercise on the improvement of exercise function, BDNF, and HSP70 protein expression in an ischemic stroke model induced by MCA occlusion. Experiments were conducted for 1, 3 days, 1, 8 weeks respectively. Group I was a group of EA and therapeutic exercise; Group II was a group of therapeutic exercise; Group III was a group of EA; Group IV was a sham group of EA; Group V was a control group; and Group VI was a sham group without ischemic stroke. In each group, neurologic motor behavior test, histologic observations, BDNF, and HSP70 expression were observed and analyzed. The following results were obtained. The results of behavior test suggest that 8 weeks after ischemic stroke was induced, Group I improved in degeneration and inflammation of muscle fiber and decreased in destruction of nerve cells and cerebral infarction, indicating a similar state of muscle fiber and brain to Group VI. In immunohistochemical observations, Group I showed increase in BDNF and decrease in HSP70. Based on these results, EA and therapeutic exercise may improve muscle atrophy and change in BDNF and HSP70 expression of ischemic stroke rats and contribute to the improvement of exercise function.

Key words : Electroacupuncture, Middle cerebral artery occlusion, BDNF, HSP70

### 서 론

과학의 발달과 경제발전으로 인하여 점차 고령화 사회로 진 행되면서 특히 노인성 질환 중 뇌졸중의 발생이 증가하고 있다<sup>1)</sup>. 뇌졸중은 뇌 순환 장애로 뇌혈관에 의해 공급되는 뇌의 해부학 적 부위의 기능 이상을 일으켜 나타나는 질환으로, 일시적 또는 영구적인 기능상실을 초래한다<sup>2)</sup>. 또한 운동 및 신경학적 기능장 애를 초래하여 가정과 사회로 복귀가 어렵고 이에 따르는 개인 적 사회적 비용의 손실이 높은 질환<sup>3)</sup>으로 재활의 중요성이 강조 되고 있다.

뇌손상 후 신경 화학적 변화는 세포사 반응 뿐만 아니라 내

인성 신경 보호 반응도 함께 일어나 신경 보호 효과를 나타나는 데, 이러한 중요한 역할을 하는 것이 신경영양인자 (neurotrophin)이며<sup>4)</sup>, 회복 과정에서 신경계 가소성을 유도하는 것 또한 신경영양인자이다<sup>5)</sup>.

이러한 신경영양인자 가운데 BDNF(brain-derived neurotrophic factor)는 돼지의 뇌에서 처음 추출되었으며<sup>6)</sup>, 계태 (embryonic chick)에서 신경능유래 (neural crest-derived)의 결절 신경절 (nodose ganglion)과 감각신경절 세포의 영양인자로서 작용하는 것으로 알려져 있다<sup>7,8)</sup>. 능동적 운동은 BDNF를 포함한 향신경인자의 발현을 증가시키며, 신경생성 (neurogenesis)을 자극하고, 뇌손상에 대한 저항성을 증가시키며, 신경재생과 뇌의 형성성에 도움을 주고, 학습과 정신적 활동이 증진된다고 보고 되었다<sup>9-12)</sup>.

전침은 프랑스의 의사인 Louis Berlioz가 1816년에 침 치료

\* 교신저자 : 김계엽, 전남 나주시 대호동 252 동신대학교 물리치료학과

· E-mail : kykim@dsu.ac.kr, · Tel : 061-330-3391

· 접수 : 2006/06/14 · 수정 : 2006/07/15 · 채택 : 2006/08/09

로 신경통을 치료하였다고 최초 발표한 이후 근래에 이르러 임상에 폭넓게 운용되고 있다<sup>13)</sup>. Han 등<sup>14)</sup>은 저빈도 전침자극 (2 Hz)은 중추신경계에서 naloxone에 의해 억제되는 δ수용체와 μ수용체에 반응하는 endomorphins, enkephalin, β-endorphin을 분비하고, 고빈도 전침자극 (100 Hz)은 척수에서 κ수용체에 반응하는 dynorphin을 분비한다고 보고하였다. 이에 spinal spasticity에는 100 Hz의 전침이 효과가 있으나 대뇌피질 (cerebral cortex)의 활성화에는 2 Hz의 전침 자극이 효과가 있을 것으로 제시되고 있다.

족삼리 (ST36)는 현재까지 가장 많이 연구된 경혈 중의 하나로 위장기능, 호흡기능, 혈액순환, 내분비계통, 뇌하수체-부신기능, 면역기능에 대한 조절작용이 있다. 선행 연구에 따르면 족삼리는 구심성 섬유 (afferent fiber)가 분포 특성상 비경혈보다 더 수초화되고, 더 크고, 더 많은 Aβ섬유를 가지고 있으며<sup>15)</sup>, 전침자극시 특이적으로 뇌 대사 활성을 보인 곳은 감정상태와 음식섭취의 조절기능을 가진 세로토닌성 뉴런 (serotonergic neuron)이 풍부한 내측솔기핵 (median raphe nucleus), 강력한 진통효과를 가진 수도관주위백질 (periaqueductal gray), 상하지의 떨림증세와 관련된 중재소뇌핵 (interposed cerebellar nucleus)이라고 하였다<sup>16)</sup>.

기존의 전침관련 연구들에서는 주로 전침의 진통기전에 관련된 연구를 위주로 진행되어 왔으며, 대뇌에서 신경세포의 증식과 사멸에 관여되는 신경영양인자인 BDNF와 HSP70 단백질 발현에 전침이 미치는 영향에 대한 연구들은 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 전침자극과 운동치료가 허혈성 뇌졸중 백서 모델에 있어 운동 기능회복에 어떠한 영향을 미치는지 알아봄으로써 허혈 후 회복기전의 규명을 통해 향후 허혈성 뇌졸중 질환 후 한방재활치료를 통한 신경계 회복 기전을 밝히는 근거를 제시하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

동물은 생후 8주령의 체중 250 ± 50 g 내외의 Sprague-Dawley계 백서 120마리를 각 군당 5마리씩 6군으로 분류하여 사용하였다. 사육실의 온도는 25 ± 1 °C, 습도 55 ± 10%를 유지하였고, 명암은 12시간 주기로 하였으며 고품사료와 물은 자유롭게 먹도록 하였다. 실험동물의 분류는 Table 1에서 보는 바와 같으며, 허혈성 뇌졸중 유발 후 자세반사검사를 통해 신경화적인 증상이 나타나는 개체만을 가지고 실험을 실시하였다.

Table 1. Classification of experimental groups

Group	Treatment
I (n=5)	MCAO* + Acupuncture treatment + Therapeutic exercise
II (n=5)	MCAO* + Therapeutic exercise
III (n=5)	MCAO* + Acupuncture treatment
IV (n=5)	MCAO* + Acupuncture treatment(sham)
V (n=5)	MCAO*
VI (n=5)	Sham operated

\*: Middle Cerebral Artery Occlusion

### 2. 허혈성 뇌졸중 백서모델 제작

Zea 등<sup>17)</sup>의 방법에 따라 근위부 뇌허혈 기법을 시행하였다. 마취가스(Isoflurane, Choong-wae, Korea)로 전신마취를 시킨 후 쥐의 우측 총경동맥을 노출 시키고, 내경동맥을 미세혈관용 클립(clip)을 이용하여 내경동맥과 총경동맥의 혈행을 완전히 차단하였다. 그 다음 내경동맥을 묶고 외경동맥 분지의 근위부를 결찰한 후 미세하게 절개를 하고 나일론 봉합사에 실리핀으로 코팅하여 만든 probe를 외경동맥에서부터 삽입하여 총경동맥과 내경동맥의 분지로 삽입한 후 피부를 봉합하고 상처부위를 소독하여 주었다.

### 3. 전침자극

자극 부위는 고휘균<sup>18)</sup>의 골도 분촌법에 의거하여 실험군 III은 인체의 족삼리(ST36)와 현종(G39)부위를 이용하였으며, 자침한 후 전침기의 음극(-)은 족삼리에 양극(+)은 현종부위에 각각 연결하였고, 실험군 IV는 전경골근 근육 부위에 각각 연결하였다. 전침자극은 주파수 2.0 Hz, 간헐파형(단속비율 5:5)을 사용하였으며 강도는 가시 수축이 일어난 시점으로 적용하였고 매일 1회씩 20분간 주 5회 실시하였다.

### 4. 실험방법

#### 1) 신경학적 운동행동 검사(Neurological motor behavioral test)

뇌허혈 유발 이후 신경학적 운동장애를 나타내는 정도를 다양한 행동 검사를 통해 뇌졸중 유발 후 실험동물에서 1일, 1주, 4주, 8주에 걸쳐 측정하였다. 검사는 각 항목 당 3회 반복 측정한다음 평균값을 기록하였다.

#### (1) 자세반사 검사(Postural reflex test)

Bederson 등<sup>19)</sup>의 검사를 따른 것으로 바닥에서 50 cm 위에 백서의 꼬리를 잡고 가만히 두었을 경우 백서의 행동을 0~3점으로 나누어 점수를 부여 하였다.

#### (2) 체지배치 검사(Limb placement test)

De Ryck 등<sup>20)</sup>의 검사를 따른 것으로 테이블에서 약 10 cm 위에 검사자가 부드럽게 백서를 잡고 있다가 테이블을 향해 내려놓았을 경우 백서의 행동을 0~3점으로 나누어 점수를 부여하였다.

#### (3) 막대걷기 검사(Beam walking test)

Goldstein과 Davis<sup>21)</sup>의 검사를 따른 것으로 운동의 통합과 협응성을 검사하기 위해 실시하였다. 바닥에서 450 mm높이의 30 mm 폭의 막대를 걸쳐 놓은 다음 막대 위를 걷게 하였을 경우 백서의 행동을 0~6점으로 나누어 점수를 부여하였다.

#### (4) 철사잡기 검사(Horizontal wire test)

Balduini 등<sup>22)</sup>의 연구를 따른 것으로, 폭 1cm 간격의 철사 위에서 꼬리를 잡고 앞발을 아래를 향해 내려 철사를 잡게 해주고 철사를 잡은 후 살짝 꼬리를 들어올렸을 경우 백서의 행동을 0~3점으로 나누어 점수를 부여하였다.

### 5. 뇌조직의 병리조직학적 관찰

단두대를 이용하여 두경부를 분리한 후 골절단기를 이용해 두개골을 제거하고 시신경, 후각신경 및 그 외 뇌신경들을 절단

한 다음 전체 뇌를 적출하였다. 다음 10% 중성포르말린에 24시간 이상 고정된 후 파라핀 포매하고 H & E(hematoxylin & eosin) 염색을 실시하였다. 뇌의 형태학적 관찰은 광학현미경을 이용하여 현미경에 장착된 CCD 카메라로 촬영한 후 뇌조직의 변성정도, 손상부위의 면적 및 좌·우 뇌세포들의 구조적인 변화를 관찰하였다.

6. 면역조직화학적 검사

1) 뇌조직의 BDNF 면역조직화학적 관찰

면역조직화화학염색을 위한 전 처리 과정으로 0.3%의 과산화수소 용액에 처리하였다. PBS로 여러 번 세척한 후 Novostain Super ABC Kit (Novocastra Lab., Benton Lane, UK)를 사용하여 20분간 반응하고 1:1000으로 희석한 anti-cfos 항체(F7799, Sigma, USA)와 anti-BDNF 항체(F7799, Chemicon, USA)로 4 °C에서 하룻밤 동안 처리한 후 anti-rabbit IgG과 0.1% Triton X-100으로 90분동안 반응하였다. PBS로 희석한ABC-Kit(Vector, USA)로 60분간 반응하였으며, 10분간 DAB로 염색을 실시하였다. 보존적 조직검사를 위해 Hematoxylin(MHS-32, Sigma, USA)으로 대조 염색을 실시하였다. BDNF의 발현 정도는 면역조직화화학법으로 처리한 조직절편을 광학현미경 하에서 다음과 같이 반정량적 방법(semiquantitative manner)으로 구분하여 Negative(-), Mild(+), Moderate(++), Severe(+++)로 평가하였다.

2) 뇌조직의 HSP70 면역조직화학적 관찰

10% normal horse serum(Vectastain)과 bovine serum albumin(Sigma, USA)이 포함된 PBS를 blocking solution으로 사용하여 1시간 동안 반응시킨 후 3회 세척한 다음 primary antibody를 처리하였다. HSP70 antibody(mouse monoclonal IgG, Santacruz, USA)를 PBS와 Triton X-100을 혼합한 용액에 1:200의 비율로 희석시켜 4°C에서 약 16시간 동안 반응시켰다. abidin-biotin immunoperoxidase의 방법(ABC Vectastain Kit)에 따라 한 시간씩 반응시켰다. NiCl<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O(Sigma, USA)를 혼합한 diaminobenzidine-tetrachloride (Sigma, USA)에서 발색시키고, 조직을 poly-L-lysine 코팅된 슬라이드에 붙인 후 2~3시간 건조시킨 후 탈수, 봉합하여 조직표본을 제작하였다. HSP70의 발현 정도는 면역조직화화학법으로 처리한 조직절편을 광학현미경 하에서 다음과 같이 반정량적 방법(semiquantitative manner)으로 구분하여 Negative(-), Mild(+), Moderate(++), Severe(+++)로 평가하였다.

7. Western blot analysis

Protein을 추출하기 위하여 각 조직에 150mM NaCl, 5mM EDTA, 50mM Tri-HCl (pH8.0), 1%-NP 40, 1mM aprotinin, 0.1mM leupeptin, 1mM pepstatin가 함유된 용액을 첨가하여 분쇄한 다음 14,000rpm에서 30분 동안 원심분리 하였다.

Protein은 전기영동을 통해 변성된 후 polyvinyl difluoride membrane에 전이되었다. membrane은 PBS에 5% skin milk가 첨가된 용액에서 반응하였다. 그 다음 antibody HSP70(mouse monoclonal IgG, Santacruz, USA)이 첨가된 용액에서 1시간 동

안 반응된 후 PBS에 0.1% tween-20이 함유된 용액에서 세척하였다. Membrane은 각각 goat anti-mouse 및 rabbit IgG conjugated secondary antibody가 첨가된 용액에서 1시간 동안 반응된 다음 film(Kodak, USA)에 노출하여 밴드 발현 양상을 관찰하였다.

8. 통계방법

본 연구에서는 윈도우용 SPSS 12.0을 이용하여 평균과 표준편차를 산출하였다. 운동기능회복의 변화를 보기위해 검사 각 항목은 Paired comparison t-test를 실시하였고, 각 군간의 유의성은 one-way ANOVA를 실시하였다. 사후검정은 Tukey방법으로 하였으며, 모든 통계학적 유의수준은 α=0.05로 설정하여 검정하였다.

연구결과

1. 운동기능회복의 변화

1) 자세반사 검사(Postural reflex test)

각 실험군의 자세반사 검사결과를 보면, 실험 1일 후 실험군 I, II, IV, V는 1.25점, 실험군 III는 1점이었으나 각 군 간의 큰 차이는 없었다. 실험 4주 후 실험군 V는 2.0점, 실험군 VI는 2.24점, 실험군 II, III는 2.25점을 나타내었으며, 실험군 I은 2.5점을 나타내어 가장 높은 점수를 나타내었다. 시간이 경과함에 따라 실험군 V에 비해 실험군 I, II, III, IV에서 정상에 가까운 자세반사를 보였으나 각 군간 유의한 차이는 없었다(Fig. 1).

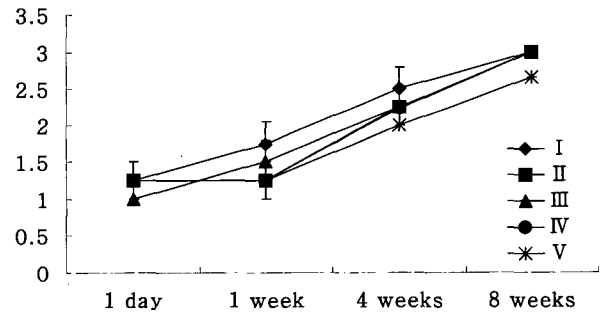


Fig. 1. The change of postural reflex test in each group.

2) 체지배치 검사(Limb placement test)

각 실험군의 체지배치 검사결과를 보면, 실험 1일 후 실험군 I은 0.5점, 실험군 II, III, V는 0.75점, 실험군 IV는 1점을 각각 나타내었으며 각 군 간의 큰 차이는 없었다. 실험 4주 후 실험군 V는 2.15점으로 가장 낮은 점수를 보였고, 실험군 II, IV는 2.25점, 실험군 I, III는 2.5점을 나타내어 시간이 경과함에 따라 실험군 V에 비해 실험군 I, II, III, IV에서 좀 더 정상에 가까운 체지배치를 보였으나 각 군간 유의한 차이는 없었다(Fig. 2).

3) 막대걷기 검사(Beam walking test)

각 실험군의 막대걷기 검사결과를 보면, 실험 4주 후에는 실

험군 V는 4.75점, 실험군 III, IV는 5.5점, 실험군 I, II는 5.75점을 나타내어 시간이 경과함에 따라 실험군 V에 비해 실험군 I, II, III, IV에서 좀 더 정상에 가까운 행동 양상을 보였으나 각 군간 유의한 차이는 없었다. 실험 8주 후 검사 결과 실험군 V를 제외한 각 실험군에서 모두 거의 정상에 가까운 행동 양상을 보였다(Fig. 3).

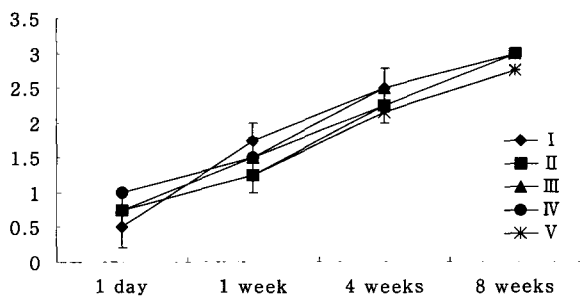


Fig. 2. The change of limb placement test in each group.

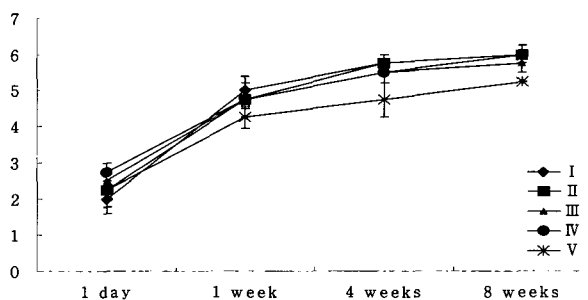


Fig. 3. The change of beam walking test in each group.

4) 철사잡기 검사(Horizontal Wire Test)

각 실험군의 철사잡기 검사결과를 보면, 실험 4주 후 실험군 V는 2.0점으로 가장 낮은 점수를 보였고, 실험군 II, III은 2.5점, 실험군 IV는 2.45점, 실험군 I은 2.75점을 나타내어 시간이 경과함에 따라 실험군 V에 비해 실험군 I, II, III, IV에서 좀 더 정상에 가까운 행동 양상을 보였다. 실험 8주 후 검사 결과 V를 제외한 각 실험군에서 모두 거의 정상에 가까운 행동 양상을 보였으나 각 군간 유의한 차이는 없었다(Fig. 4).

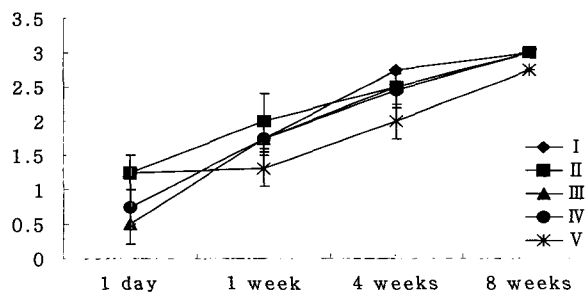


Fig. 4. The change of horizontal wire test in each group.

2. 뇌조직의 병리조직학적 변화

뇌조직의 H & E 염색결과 허혈성 뇌졸중 유발 8주 후 실험군 V는 실험군 VI에 비해 뇌조직의 신경세포 파괴와 감소, 연화

반응 등을 관찰할 수 있었으며 실험군 I, II, III, IV는 실험군 V에 비해 뇌조직의 변성과 연화반응이 호전되었음을 관찰할 수 있었다. 특히 실험군 I에서는 실험군 V에 비해 신경세포의 변성과 파괴가 호전되어 실험군 VI과 비슷한 뇌조직의 형태를 관찰할 수 있었다(Fig. 5).

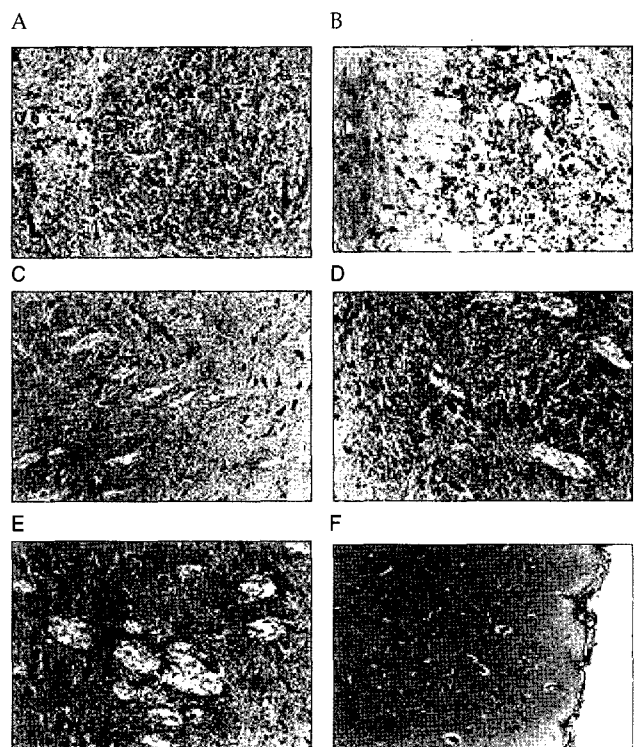


Fig. 5. Histological changes of rat brain of each group(8 weeks, H & E stain, × 100). A: MCAO + Acupuncture treatment + Therapeutic exercise B: MCAO + Therapeutic exercise C: MCAO + Acupuncture treatment D: MCAO + Acupuncture treatment(sham) E: MCAO F: Sham operated

3. 면역조직화학적 검사

1) 뇌조직의 BDNF 면역조직화학적 변화

허혈성 뇌졸중 유발 1주 후 뇌조직에서 발현되는 BDNF를 반정량적으로 평가한 결과 실험군 I은 (+++), 실험군 II는 (++), 실험군 III은 (++), 실험군 IV는 (++), 실험군 V는 (+), 실험군 VI은 (-)로 관찰 되었으며, 실험군 VI에 비해 각 실험군들에서 BDNF 발현이 현저히 증가함을 관찰할 수 있었다. 실험군 I, II, III, IV에서는 실험군 V에 비해 BDNF 발현이 증가하였음을 관찰할 수 있었으며, 실험군 I은 실험군 II, III, IV에 비해 가장 많은 발현을 보였다(Fig. 6 & Table 2).

Table 2. The observation of BDNF immunoreactive neurons in cerebrum.

Group	BDNF immunoreactive neurons
I	+++
II	++
III	++
IV	++
V	+
VI	-

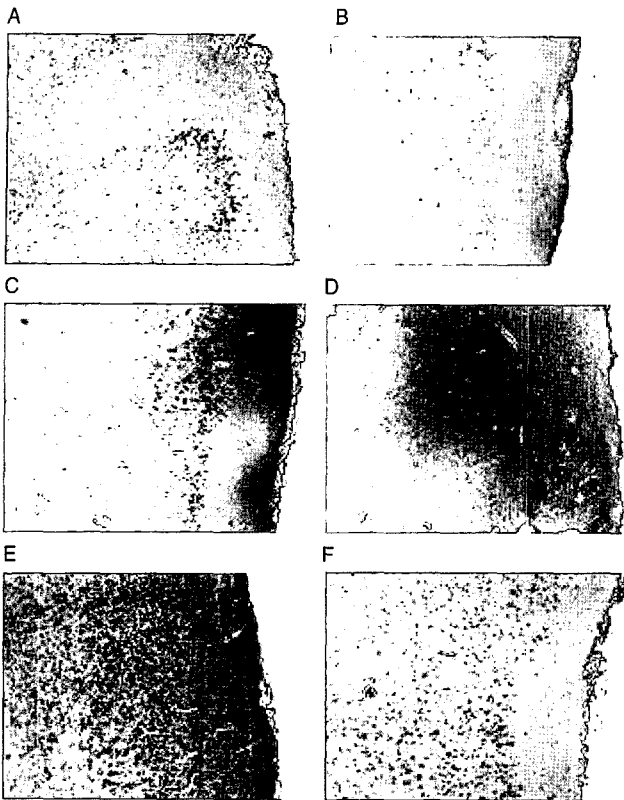


Fig. 6. BDNF immunohistochemistry changes of each group(7 days, × 100). A: MCAO + Acupuncture treatment + Therapeutic exercise B: MCAO + Therapeutic exercise C: MCAO + Acupuncture treatment D: MCAO + Acupuncture treatment(sham) E: MCAO F: Sham operated

2) 뇌조직의 HSP70 면역조직화학적 변화

허혈성 뇌졸중 유발 1주 후 뇌조직에서 발현되는 HSP70을 반정량적으로 평가한 결과 실험군 III은 (++) , 실험군 IV는 (++) , 실험군 V는 (+++) , 실험군 VI은 (-)로 관찰되었으며, 실험군 VI에 비해 각 실험군들에서 HSP70 발현이 현저히 증가함을 관찰할 수 있었다. 실험군 III, IV에서는 실험군 V에 비해 HSP70 발현이 감소하였음을 관찰할 수 있었다(Fig. 7 & Table 3).

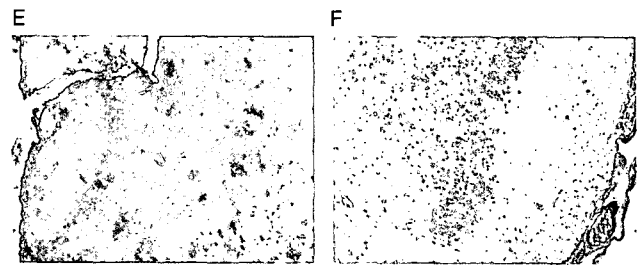


Fig. 7. HSP70 immunohistochemistry changes of each group(7 days, × 100). A: MCAO + Acupuncture treatment + Therapeutic exercise B: MCAO + Therapeutic exercise C: MCAO + Acupuncture treatment D: MCAO + Acupuncture treatment(sham) E: MCAO F: Sham operated

Table 3. The observation of HSP70 immunoreactive neurons in cerebrum.

Group	HSP70 immunoreactive neurons
I	+
II	++
III	++
IV	++
V	+++
VI	-

4. 뇌조직의 HSP70 면역조직화학적 발현변화

뇌조직의 HSP70 western blotting 검사 결과 허혈성 뇌졸중 유발 1주 후 실험군 V에서 실험군 VI에 비해 HSP70 발현이 현저히 증가함을 관찰할 수 있었으며, 실험군 I, II, III, IV에서는 실험군 V에 비해 HSP70 발현이 감소하였음을 관찰할 수 있었으며, 실험군 I은 실험군 II, III, IV에 비해 가장 적은 발현을 보였다(Fig. 8).

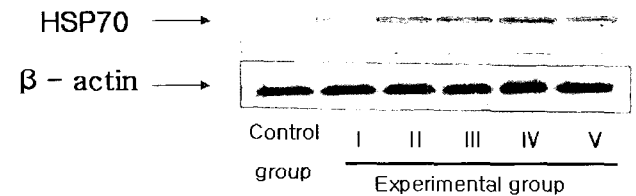


Fig. 8. HSP70 western blot analysis(7 days).

고찰

뇌허혈(cerebral ischemia)은 신경세포를 손상시켜 신경학적 결손을 초래하여 신체마비, 인식장애, 시각 또는 언어장애 등 심각한 문제를 일으키는 질환으로<sup>23)</sup>, 뇌허혈로 인한 뇌졸중 환자들은 뇌졸중으로 인해 근력 및 지구력의 감소, 체지방량의 증가 등의 이차적 합병증을 가지게 된다<sup>24)</sup>.

BDNF는 NGF, NT-3, NT-4등과 함께 신경계에 존재하는 성장인자로 신경계의 발생, 성장, 신경 가소성에 관여하는 것으로 인식되어 왔으며, 최근의 연구에서 BDNF가 급성기 연접전달에 영향을 주고 신경 가소성의 조절에도 관여한다고 보고 되었다<sup>25)</sup>.

신체활동은 인간의 삶에서 중요한 요소로서 신경영양물질 유전자의 발현을 증가시켰으며<sup>26)</sup>, BDNF는 많은 종류의 신경세포의 생존과 뇌 기능과 관련성 있는데, Neuper 등<sup>27)</sup>은 흰쥐를 대상으로 수영운동을 시킨 후 BDNF와 신경성장인자의 mRNA 발

현이 증가되었다고 보고하였다. 이외에도 Widenfalk 등<sup>26)</sup>은 운동효과에 대한 연구에서 잘 달리는 쥐를 대상으로 달리기를 제한시킨 후 BDNF의 mRNA 발현이 감소하였다고 하였다.

본 연구에서 허혈성 뇌졸중 유발 1주 후 뇌 조직에서 발현되는 BDNF를 반정량적으로 평가한 결과 일반대조군에 비해 각 실험군에서 BDNF 발현이 현저히 증가했음을 관찰하였고, 특히 전침자극과 운동치료군에서 가장 많은 발현되었으나 전침자극군과 운동치료군 간의 큰 차이는 보이지 않았다.

이는 전침자극과 운동치료가 대뇌 신경세포의 활성도를 변화시키고 BDNF를 포함한 여러 신경영양인자와 신경연접 가소성을 촉진하는 여러 유전자를 활성화시킴으로써 기능적 호전에 기여한다는 가설<sup>8)</sup>에 대한 간접적 증거라 할 수 있다.

신경학적 운동행동검사 결과에서 허혈성 뇌졸중 유발 1주와 4주 후에 전침자극과 운동치료군에서 전반적으로 좀 더 나은 결과를 얻었고, 뇌 조직의 병리조직학적 관찰에서도 전침자극과 운동치료군에서 정상에 가까운 소견이 관찰되었다. 이처럼 전침자극과 운동치료가 허혈성 뇌졸중 이후 운동 기능과 신경계의 형태학적인 측면 및 대뇌에서의 신경영양 인자의 발현에 큰 영향을 미치는 것으로 보아 신경계 가소성을 설명하는데 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

Craig 등<sup>29)</sup>의 연구에서 HSP70은 ATP 의존성 대사를 통해 단백질의 변성을 억제하고 허혈에 대한 자가 방어 기전으로써의 분자 샤페론의 역할을 한다고 보고되고 있으며, 또한 쥐에서 허혈의 상태, 즉 국소적인가 전반적인가에 따라 유전자의 발현부위가 차이가 있다고 Kinouchi 등<sup>30)</sup>이 발표하였는데 예를 들어 국소적 허혈 유발 후 유전자의 발현부위는 허혈 부위에 인접해 발현되며 허혈의 정도가 심하면 발현 부위가 증가한다고 하였다.

본 연구에서도 허혈성 뇌졸중 유발 1주 후 뇌조직에서 HSP70 발현량을 검사해본 결과 일반대조군에 비해 각 실험군에서 HSP70 발현이 현저히 증가했음을 관찰하였고, 전침자극과 운동치료군에서 가장 적은 발현 양상을 보였으나 전침자극군과 운동치료군 간의 차이는 보이지 않았다. 이는 대뇌 국소허혈에 의해 뇌 조직에서 HSP70의 발현이 유도된다는 연구와 일치하였고<sup>31-33)</sup>, 자극을 받았을 때 민감하게 반응하여 상당한 양의 증가를 보이고 회복시기에는 가장 먼저 감소한다<sup>34)</sup>는 보고와 부합하였으나 동물과 인간의 허혈성 뇌졸중 유발 원인, 손상부위와 정도, 특정부위에 대한 중재적 시간의 차이, 그리고 전침자극 부위와 운동치료 접근 방법이 일치하지 않은 점과 형태학적인 증거로 광학현미경 상의 세포체 형태비교만 관찰한 점 등은 본 연구의 제한점이라 할 수 있다.

이상의 연구 결과로 전침자극이 뇌조직의 형태학적 회복, BDNF 발현 및 HSP70 발현에 변화를 가져와 신경계 가소성 및 운동기능 향상에 영향을 미친다는 것을 밝힘으로써 향후 인간의 뇌혈관 질환에 전침자극과 운동치료를 적용하는데 임상적 기초가 될 것으로 사료된다.

## 결 론

본 연구는 실험적으로 중대뇌동맥을 폐쇄시켜 유발된 허혈

성 뇌졸중 모델에서 전침자극과 운동치료가 신경계에 미치는 영향을 알아보기 위해 신경학적 운동행동검사, 뇌의 병리조직학적 검사, BDNF의 면역조직화학적변화, HSP70의 면역조직화학적변화 및 단백질발현변화를 관찰·분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

신경학적 운동행동 검사에서 허혈성 뇌졸중 유발 1일 후에는 각 실험군 간의 큰 차이를 보이지 않았으나, 허혈성 뇌졸중 유발 1주와 4주 후에는 전반적으로 실험군 I에서 가장 좋은 점수를 나타내었으며, 허혈성 뇌졸중 유발 8주후에는 실험군 V와 비교하여 각 실험군에서 좀 더 나은 점수를 나타냈으나 각 군간 유의한 차이는 없었다.

뇌의 병리조직학적 검사결과 허혈성 뇌졸중 유발 8주후 실험군 VI을 제외한 모든 군에서 뇌조직의 신경세포 파괴와 감소, 연화반응 등이 관찰되었으며, 특히 실험군 V에서 가장 심하게 관찰되었다. 실험군 I에서는 신경세포의 변성과 파괴가 호전되어 VI군과 비슷한 뇌조직의 형태가 관찰되었다.

BDNF의 면역조직화학적 검사결과 허혈성 뇌졸중 유발 1주 후 실험군 VI과 비교하여 각 실험군들에서 BDNF 발현이 현저히 증가함을 관찰할 수 있었으며, 특히 실험군 I은 실험군 II, III, IV에 비해 가장 많은 발현을 관찰할 수 있었다.

HSP70의 면역조직화학적 검사결과 허혈성 뇌졸중 유발 1주 후 실험군 VI과 비교하여 각 실험군에서 HSP70의 발현이 관찰되었으며, 특히 실험군 V에서 현저한 HSP70의 발현을 관찰할 수 있었다. 또한 실험군 I은 실험군 II, III, IV에 비해 HSP70 발현이 감소함을 관찰할 수 있었다.

HSP70의 단백질발현 검사결과 허혈성 뇌졸중 유발 1주 후 실험군 VI과 비교하여 각 실험군에서 HSP70의 발현이 관찰되었으며, 특히 실험군 V에서 현저한 발현 증가를 관찰할 수 있었다. 또한 실험군 I은 실험군 II, III, IV들에 비해 HSP70 발현이 감소하였다.

## 감사의 글

본 연구는 산업자원부 지정 동신대학교 산업융가속기이용 생물연구센터의 지원에 의한 것입니다.

## 참고문헌

1. 송경화, 박형숙. 운동 요법이 뇌졸중 환자의 일상생활동작과 우울에 미치는 효과, 재활간호학과, 4(2):146-154, 2001.
2. Garrison, S., Rolak, L., Dodaro, R. Rehabilitation of the stroke patient, rehabilitation medicine principles and practice, Philadelphia, JB Lippincott, 29:565-569, 1977.
3. Glanz, M., Klawansky, S., Stason, W., et al. Functional electrostimulation in poststroke rehabilitation: A meta-analysis of the randomized controlled trials, Arch Phys Med Rehabil, 77(6):549-553, 1996.
4. Connor, B., Dragunow, M. The role of neuronal growth factors in neurodegenerative disorders of the human brain,

- Brain Res Reviews, 27(1):1-39, 1998.
5. Levine, E., Dreyfus, C., Black, I., et al. Differential effects of NGF and BDNF on voltage-gated calcium currents in embryonic basal forebrain neurons, *J Neurosci*, 15:3084-3091, 1995.
  6. Barde, Y., Edgar, D., Thoenen, H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain, *EMBO J*, 1(5):549-553, 1982.
  7. Davies, A., Thoenen, H., Barde, Y. The response of chick sensory neurons to brain-derived neurotrophic factor, *J Neurosci*, 6:1897-1904, 1986.
  8. Lindsay, R., Thoenen, H., Barde, Y. Placode and neural crest-derived sensory neurons are responsive at early developmental stages to brain-derived neurotrophic factor, *Dev Biol*, 112:319-328, 1985.
  9. Cotman, C., Berchtold, N. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity, *Trends Neurosci*, 25(6):295-301, 2002.
  10. Morimoto, R., Tissieres, A., Georgopolis, C. The biology of heat shock proteins and molecular chaperones, Gold Spring Harbor, NY: Laboratory Press, 1994.
  11. Bienz, M., Pelham, H. Mechanisms of heat-shock gene activation in higher eukaryotes, *Adv Genet*, 24:31-72, 1987.
  12. Bond, U., Schlesinger, M. Heat-shock proteins and development, *Adv Genet*, 24:1-29, 1987.
  13. 김재규 외. 電鍼치료의 이론과 임상, 서원당, 서울, pp 14-17, 1993.
  14. Han, Z., Jiang, Y., Wan, Y., et al. Endomorphin-1 mediates 2 Hz but not 100 Hz electroacupuncture analgesia in the rat, *Neurosci Lett*, 274(2):75-78, 1999.
  15. Guo, W. Characteristics afferent fiber innervation on acupuncture points zusanli, *Am J Physiol*, 245:606-612, 1983.
  16. Magavi, S., Leavitt, B., Macklis, J. Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice, *Nature*, 405:951-955, 2000.
  17. Zea, L., Weinstein, P., Carlson, S. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rat, *Stroke*, 20(1):84-91, 1989.
  18. 고흥균. 흰쥐에서의 골도분촌에 의한 상응혈위, 대한침구학회지, 16(3):115-122, 1999.
  19. Bederson, J., Pitts, L., Tsuji, M., et al. Rat middle cerebral artery occlusion; evaluation of the model and development of a neurologic examination, *Stroke*, 17:472-476, 1986.
  20. De Ryck, M., Van Reempts, J., Borgers, M., et al. Photochemical stroke model: flunarizine prevent sensorymotor deficits after neocortical infarcts in rats, *Stroke*, 20:1383-1390, 1989.
  21. Goldstein, L., Davis, J. Post-lesion practice and amphetamine-facilitated recovery of beam-walking in the rats, *Restor Neurol Neurosci*, 1:311-314, 1990.
  22. Balduini, W., De Angelis, Mazzoni, E., et al. Long-lasting behavioral alteration following a hypoxic/ischemic brain injury in neonatal rats, *Brain Res*, 895:318-325, 2000.
  23. O'Dwyer, N., Ada, L., Neilson, P. Spasticity and muscle contracture following stroke, *Brain*, 119:1737-1749, 1996.
  24. Bourbonnais, D., Noven, S. Weakness in patients with hemiparesis, *Am J Occup Ther*, 12:313-319, 1989.
  25. McAllister, A., Katz, L., Lo, D. Neurotrophins and synaptic plasticity, *Annu Rev Neurosci*, 22:295-318, 1999.
  26. Neeper, S., Gomez-Pinilla, F., Choi, J., et al. Exercise and brain neurotrophins, *Nature*, 397:109, 1995.
  27. Neeper, S., Gomez-Pinilla, F., Choi, J., et al. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain, *Brain Res*, 726(1-2):49-56, 1996.
  28. Widenfalk, J., Olson, L., Thoren, P. Deprived of habitual running, rats downregulate BDNF and TrkB messages in the brain, *Neurosci Res*, 34(3):125-132, 1999.
  29. Criag, E., Gambill, B., Nelson, R. Heat shock protein: molecular chaperone of protein biogenesis, *Microbiol Rev*, 57:402-414, 1993.
  30. Kinouchi, H., Sharp, F., Hill, M., et al. Induction of 70-kDa heat shock protein and hsp70 mRNA following transient focal cerebral ischemia in the rat, *J Cereb Blood Flow Metab*, 13:105-115, 1993.
  31. Fredduzzi, S., Mariucci, G., Tantucci, M., et al. Generalized induction of 72-kDa heat-shock protein after transient focal ischemia in rat brain, *Exp Brain Res*, 136:19-24, 2001.
  32. Kinouchi, H., Sharp, F., Hill, M., et al. Induction of 70-kDa heat shock protein and hsp70 mRNA following transient focal cerebral ischemia in the rat, *J Cereb Blood Flow Metab*, 13:105-115, 1993.
  33. Soriano, M., Plans, A., Rodriguez-Farre, E., et al. Early 72-kDa heat shock protein induction in microglial cells following focal ischemia in the rat brain, *Neurosci Letters*, 182:205-207, 1994.
  34. Welch, W., Garrels, J., Thomas, G., et al. Biochemical characterization of the mammalian stress proteins and identification of two stress proteins as glucose and Ca<sup>2+</sup> inophore-regulated protein, *J Biol Chem*, 258:7102-7111, 1983.