

고유감각과 전정감각 입력이 외상성 뇌손상 쥐의 BDNF 발현에 미치는 영향

송 주 민

울산과학대학 물리치료과

The Effect of Proprioceptive and Vestibular Sensory Input on Expression of BDNF after Traumatic Brain Injury in the Rat

Ju-Min Song, P.T., Ph.D.

Dept. of Physical Therapy Ulsan science college

1)

<Abstract>

Purpose : The purposes of this study were to test the effect of proprioceptive and vestibular sensory input on expression of BDNF after traumatic brain injury in the rat.

Subject : The control group was sacrificed at 24 hours after traumatic brain injury. The experimental group I was housed in standard cage for 7 days. The experimental group II was housed in standard cage after intervention to proprioceptive and vestibular sensory(balance training) for 7 days.

Method : Traumatic brain injury was induced by weight drop model and after operation they were housed in individual standard cages for 24 hours. After 7th day, rats were sacrificed and cryostat coronal sections were processed individually in goat polyclonal anti-BDNF antibody. The morphologic characteristics and the BDNF expression were investigated in injured hemisphere section and contralateral brain section from immunohistochemistry using light microscope.

Result : The results of this experiment were as follows:

1. In control group, cell bodies in lateral nucleus of cerebellum, superior vestibular nucleus, purkinje cell layer of cerebellum and pontine nucleus changed morphologically.

2. The expression of BDNF in contralateral hemisphere of group II were revealed.
3. On 7th day after operation, immunohistochemical response of BDNF in lateral nucleus, superior vestibular nucleus, purkinje cell layer and pontine nucleus appeared in group II.

Conclusion : The present results revealed that intervention to proprioceptive and vestibular sensory input is enhance expression of BDNF and it is useful in neuronal reorganization improvement after traumatic brain injury.

Key Words : PNF, Instable scapular, Combination of isotonic, PNF technique, Stabilize reversal

I. 서 론

교통사고, 낙상, 폭행, 스포츠 손상 등 외부 충격에 의해 주로 발생하는 외상성 뇌손상(traumatic brain injury)은 의식의 감소나 변화, 인지능력, 학습능력, 정서, 감각 입력, 운동 기능 등에서 장애를 초래한다(Finfer 와 Cohen, 2001; Kelly, 1999; Scott 등, 2004; Umplred, 1995). 특히, 운동 장애는 편마비나 사지마비, 균형 감소, 실조증 및 협응 장애, 비정상적인 감각 입력에 의해 나타날 수 있는 일시적이거나 지속적인 장애 또는 전체적 기능장애를 야기하는데(Bigler, 2001; O'Sullivan 과 Schmitz, 1994) 이중 운동 장애는 물리치료가 치료적 중재를 담당해야 할 가장 일반적인 증상이다(Gilman, 1994; Thach, 1998).

많은 연구자들이 실험 동물을 대상으로 외상성 뇌손상의 손상 기전과 손상 후 재생에 따른 세포의 형태학적 변화와 이러한 변화를 야기하는 생화학적 측면을 연구하였다(Abrous, 등, 1999; Allen 과 Chase, 2001; Bakaya, 1997; Banik 등, 1997; Connor 과 Dragunow, 1998; Csuka 등, 1999; Green 과 Simpkins, 2000; Tadeusz 와 Karoly, 2006; Kimura 등, 1996; Mautes 등, 1996). 손상된 신경이 형태학적 구조의 재생이 일어나기 위해서는 여러 단계의 신경화학적 변화가 일어나는데 이 과정에서 신경영양성 인자(neurotrophic factors)가 작용한다. 신경영양성 인자는 신경원의 발생, 성장에 관여하고 외상성 뇌손상을 포함한 뇌의 손상 시 회복을 야기하며, 다양한 감각 입력과 신체운동 및 강화된 환경 제공에 의해 발현된다고 한다(Connor 과 Dragunow, 1998; Stahel 등, 1998). 신경영양성 인자 중 BDNF (brain-derived neurotrophic

factor)는 다른 인자들보다 분포 부위가 넓어 신경 발달, 신경 손상 후 재생, 생활환경 및 운동에 대한 영향을 측정하는 지표로써 사용되었다(Cotman 과 Berchtold, 2002; Gagne 등, 1998; Grace S. G. 등, 2004; Kelly, 1999; Kimura 등, 1996; Legutko 등, 2001; Mattson 등, 2001; Schmidt-Kastner 등, 1996).

뇌손상 초기부터 감각 자극 적용의 중요성이 제시되어 다양한 치료 기법들이 뇌손상 환자에게 적용되고 있으며, 고유수용성 신경근 촉진법(proprioceptive neuromuscular facilitation; PNF)은 운동출력이 감각입력에 의존된다는 이론을 근거로 촉진과 억제 를 위해 고유감각 자극을 적용하고 있다(Tyler 와 Hutton 1986; Birgit 2004). 고유감각(proprioceptive sensory)은 공간에서 자세의 인식, 운동감각, 위치감각, 중량감각, 근수축 타이밍에 관여하며, 전정기관으로부터의 입력과 협조하여 자세와 운동을 조절한다. 전정감각(vestibular sensory)은 공간에서 신체의 움직임과 중력에 관한 감각 자극을 받아들이고 적절하게 처리되어 획득된 정보는 균형을 유지하고 근긴장을 정상화하는데 이용되며 눈의 움직임 조절에도 관여한다(Allum 등, 1998; Kandael 등, 2001). 이러한 고유감각과 전정감각은 시각적 공간 인지력, 환경변화에 대해 빠르고 정확하게 반응하는 근 긴장도, 지구력 및 관절의 유연성 등의 다양한 기능적 요인들과 연관되어 자세를 유지하거나 신체 이동 동안 균형을 유지하는데 중요하게 작용하며 외상성 뇌손상에 의해 이들 요인의 장애가 발생할 수 있다(Allum 등, 1998; Summway-Cook 과 Horack, 1986; Thao T 등, 2004). PNF 또는 일반적인 균형훈련을 적용한 실험에서 적절하게 자극되고 입력된 고유감각과 전정감각이 균형 수행력이

나 운동기능을 증진시킨다고 보고되었으며 이들 연구에서는 운동평가나 근전도를 이용하여 기능증진을 평가하였다(Granacher, Gollhofer 과 Strass, 2006; Phil, 2006). 뇌손상으로 손상된 운동기능의 개선은 신경재구조화가 선행되어야 하고 신경성장 인자가 개입되는데 이러한 과정을 관찰하기에는 환자를 대상으로 하는 실험에는 한계가 있다.

전술되어진 내용에 근거하여, 본 연구에서는 실험적 외상성 뇌손상 흰쥐를 대상으로 고유감각과 이와 밀접하게 연관된 전정감각의 자극과 입력을 위해 설계된 균형훈련을 적용하여, 손상된 신경의 형태학적 구조의 재생을 야기하는 신경영양성 인자(neurotrophic factors)인 BDNF의 발현을 관찰함으로써 이들 감각의 자극과 입력이 신경학적 연결에서 어떠한 기전으로 운동기능회복을 일으키는지를 관찰하려한다.

II. 연구 방법

1. 실험동물

실험적 외상성 뇌손상을 일으키기 위해 생후 7~8주, 체중 200~250g의 건강하고 신경학적으로 이상이 없는 성숙된 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 이용하였다. 실험 기간 동안 물과 먹이는 제한 없이 공급하였고, 실험실 온도는 $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 를 유지하였으며, 1일 12시간의 광주기와 12시간의 암주기를 적용하였다. 일반적으로 실험용 쥐 사육에 이용되는 29cm×43cm×18cm크기의 사육장에 먹이와 물병을 둘 수 있는 스테인리스 뚜껑을 장착한 표준 사육장에서 3~4마리씩 사육하였다.

소뇌에 외상성 뇌손상 유발을 위한 수술 시행 24시간 후 운동 행동학적인 검사를 통해 소뇌 손상으로 인한 운동 장애를 확인한 후 뇌를 적출한 균을 BDNF 면역 반응성 비교를 위한 대조군으로 배치하였다. 두부를 실험적 뇌손상 유발 후 봉합하여 표준 사육장에서 아무런 처치 없이 사육한 균을 실험 I군으로 배치하였고, 실험 II군은 전정관 훈련, 막대 균형 훈련 및 1cm 간격의 수직 철망 오르내리기 훈련으로 구성된 균형 훈련을 적용시킨 후 표준 사육장에서 사육한 균으로 I군은 7마리, II군은 7마리를 배치하였다.

실험에 사용된 쥐는 2cm×5cm×80cm의 막대를 지면에서 높이 30cm에 올려놓고 막대 위에 쥐를 올려놓았을 때 20초 이상 균형을 유지할 수 없거나 같은 자리에서 뒷다리를 축으로 돌아서 보행이 불가능한 쥐는 실험에서 제외하였다. 또한 수술 전의 신경학적 운동 행동 검사 점수와 수술 후의 신경학적 운동행동검사점수가 비슷한 쥐도 실험에서 제외시키고 균 배치하였다.

2. 실험 방법

1) 실험적 외상성 뇌손상 유발

실험적 외상성 뇌손상을 유발하기 위해 Allen과 Chase(2001)의 연구에서 사용된 Weight drop model을 변형하여 실시하였다. 유산 케타민(Ketamine HCL, 유한 양행)과 롬퐀(Rompun, 바이엘 코리아)을 1:1로 섞어 제조한 전신 마취제를 복강 주사(0.4~0.6ml)하여 흰쥐를 마취한 후 stereotaxic frame에 고정하였다. 후두부를 면도 후 정중선에서 절개하고 치과용 드릴을 사용하여 소뇌피질의 left lateral/paravermal region(rostral border: bregma 10.0mm; medial border ; lateral 2.5mm)에 직경 5mm의 구멍을 뚫은 후 직경 13mm의 plexiglas guide tube를 통해 12cm 높이에서 20g의 쇠공을 떨어뜨려 plexiglas guide tube에 내장된 직경 4mm의 팁이 소뇌 표면에서 4mm까지 들어가도록 설계된 장치를 사용하여 외상성 뇌손상을 일으켰다. 뇌 손상 후 절개부를 봉합하고 가나마이신(중외제약) 0.03mg/100mg을 주사하였고 마취에서 깬 후 급성기 회복을 위해 24시간 개별 사육장에서 안정을 취한 후 일반 사육장과 환경 강화 사육장에 넣고 물과 먹이를 자율적으로 먹을 수 있도록 하였다.

2) 균형 훈련의 적용

균형 훈련은 전정관을 이용한 훈련과 막대 위의 균형 훈련 그리고 수직 철망 훈련으로 구성되었다.

전정관에서의 훈련은 White와 공동연구자(2002)의 연구에서 사용된 tilting plane apparatus를 수정하여 적용하였다. 61cm×24cm×20cm의 나무상자에 유리를 깔고 유리 위에 쥐를 올려놓고 전·후·좌·우 및 대각선 방향으로 기울여 주는데, 쥐가 미

끄러져 내려오기 직전까지 상자를 기울였다. 막대 위에서 균형 훈련은 지면에서 1m 높이에 설치된 2cm×5cm×80cm의 막대 위에 쥐를 올려 균형을 유지하고 있거나 걷게 하는 훈련이다. 수직 철망 훈련은 나무틀에 폭 1cm 간격의 철망을 80cm×100cm 크기로 조립하여 철망을 수직으로 세운 뒤, 쥐의 머리가 지면을 향하도록 위치시킨 후 쥐가 스스로 철망 위에서 균형을 잡으면서 걸어 올라가거나 내려가게 하는 훈련이다. 각각의 훈련 사이에는 적어도 20분 이상의 휴식 시간을 주었고 각 훈련은 5분씩 적용하였으며 수술 24시간 후부터 7일 동안 적용하였다.

3. 조직학적 검사

대조군은 수술 후 24시간에 그리고 실험군은 수술 후 7일에 신경학적 운동 행동 검사를 실시한 후 염산케타민과 럼폰으로 전신 마취 후 심장 관류를 통해 4% paraformaldehyde로 전고정을 실시한 후 단두하여 뇌를 적출하였다. 절편으로 자르기 전 4% paraformaldehyde로 후고정을 시켰다. 극저온 냉동기를 이용하여 조직을 -30℃로 급속 냉동시킨 다음 미세 박절기를 이용하여 30 μ m 두께로 관상 절편을 제작하였다.

(1) 면역 조직화학적 반응

BDNF의 면역 조직화학적 발현 양상을 관찰하기 위하여 30 μ m 두께의 절편에 면역조직화화법을 실시하였다. 먼저 일차 항체를 1:500으로 희석한 500 μ l mouse polyclonal anti BDNF(Santa Cruse, USA)에 0.003% Triton X-100와 0.02% normal donkey serum을 혼합한 뒤 염색조에 담아 조직을 부유시켜 실온에서 24시간 동안 반응시켰다. 일차 항체 적용 후 절편을 0.01M PB(phosphate buffer)로 10분씩 3회 수세한 후 이차 항체로 anti-mouse IgG (Vector Lab., USA)과 0.03% Triton X-100, 0.02% normal donkey serum을 혼합한 용액에 90분 동안 실온에서 반응시켰다. 다시 0.01M PB로 3회의 수세 과정을 거친 후 삼차 과정으로 PBST(phosphate buffer saline Triton X-100)로 희석한 ABC-kit (Avidine-biotin peroxidase complex) (Vector Lab., USA)로 60분간 반응시킨 후 0.01M

PB로 3회 수세과정을 거치고, 기질액인 DAB(3,3'-Diaminobenzidine)로 10분간 발색 처리하였다. 0.01M PB로 10분씩 3회, 증류수로 10분씩 3회 수세한 후 조직을 젤라틴이 씌워진 슬라이드 위에 올렸다.

(2) 슬라이드 제작

절편을 젤라틴으로 처리한 슬라이드에 부착시켜 cresyl violet으로 염색한 후 70%, 80%, 90%, 95%에 각각 20번의 dipping 후에 100% I, 100% II에 탄올에 각각 1분과 2분씩 담귀 놓은 후 100% xylen I, 100% xylen II에 각각 10분씩 거쳐 투명화한 이후 보존적 조직 검사를 위해 permanent mounting media를 이용하여 봉입하였다.

4. 자료처리 및 분석

면역조직학적 처리과정을 거친 절편들은 형태학적 관찰을 위해 CCD카메라(Toshiba, Japan)가 장착된 광학현미경(Olympus BX, Japan)을 사용하였고, CCD카메라와 컴퓨터로 연결시켜 자료를 전송하며, 디지털화된 자료는 Image-pro plus ver 4.0 for window(Media Cybernetics, USA)로 촬영과 영상 분석을 시행하였다. 반응을 나타낸 세포 수를 검사하기 위해 영상분석을 실시하여 단위면적당(0.3072mm²) 반응을 나타낸 세포 수를 세었다.

각 실험군 별로 얻어진 BDNF 면역 조직 양성 반응 세포수는 실험 I, II군 간의 BDNF 발현 정도에 차이가 있는지를 관찰하기 위해 SPSS(Ver.10.0)을 이용하여 t-test를 실시하여 분석하였으며 유의수준 $\alpha = 0.05$ 로 하였다.

III. 결 과

1. 외측핵(lateral nucleus)에서의 BDNF의 발현

소뇌피질의 left lateral/paravermal region(rostral border: bregma 10.0mm; medial border; lateral 2.5mm)에 외상성 뇌손상을 일으킨 후 24시간 후에 희생한 대조군의 경우, 외측핵의 세포체에 형태 변화가 관찰되었으며, 소뇌와 교의 신경원에서 BDNF의

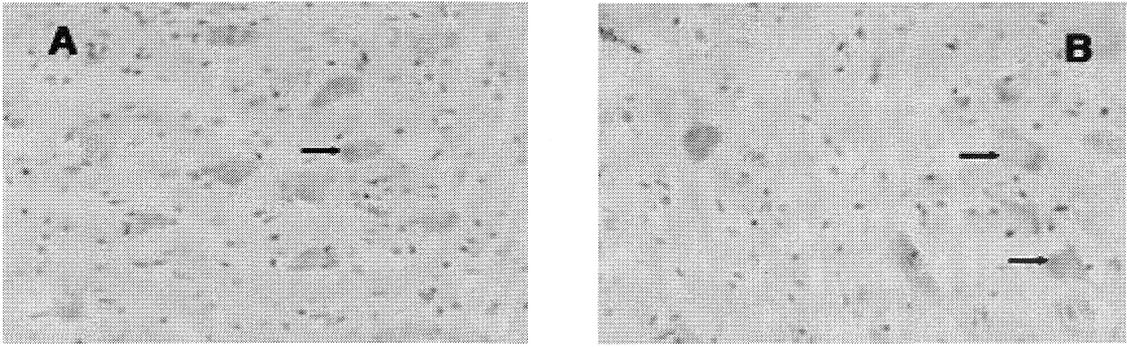


Fig 1. Expression of BDNF at lateral nucleus areas in Control group I(A) and Experimental group II(B). BDNF labeling was predominantly distributed in lateral nucleus of proprioceptive sensory input group(B, arrows). (×200)

발현이 나타나지 않았다. 외상성 소뇌 손상 유발 수술 후 표준 사육장에서 사육한 I군은 손상측의 외측핵 영역에서 BDNF 면역화학적 반응성의 결과 단위 면적당 6.42 ± 1.71 개가 발현되었다. 외과적 수술 1일 후부터 균형 훈련을 적용한 II군은 단위 면적 당 12.28 ± 1.79 개가 발현되었다(Fig. 1). BDNF 발현 정도 역시 I군과 II군에서 차이를 보였다(table 1). 외측핵에서 I군, II군 간에 BDNF 발현 세포수에 대한 t-test를 실시한 결과 유의한 차이가 있었다 ($p < .05$, Table 2).

2. 푸르킨에 세포층(purkinje cell layer)에서의 세포형태와 BDNF의 발현

푸르킨에 세포층에서의 BDNF에 대한 면역화학적 반응의 결과에서 대조군은 BDNF의 발현이 나타나지 않았고, 세포 형태의 변화가 관찰되었다. 외과적 수술 후 표준 사육장에서 사육한 I군의 손상측 푸르킨에 세포층에서 BDNF 면역화학적 반응성의 결과 단위 면적 당 3.57 ± 0.97 개가 발현되었다. 외과적 수술 1일 후부터 균형 훈련을 적용한 II군은 단위 면적당 6.14 ± 1.34 개가 발현되었으며 세포체가

Table 1. The expression of BDNF in each group

	control group	group I	group II
Lateral nucleus	-	+	++
Purkinje cell	-	+	++
Superior vestibular nucleus	-	+	++
Pontine nucleus	-	+	++

group I : inactive, group II : balance training

Table 2. Comparison of BDNF expression Between Group I and Group II.

area	group	Mean ± S.D	t
lateral nucleus	I (n=7)	6.42 ± 1.71 12.28 ± 1.79	-6.228*
	II (n=7)		
purkinje cell layer	I (n=7)	3.57 ± 0.97 6.14 ± 1.34	-4.094*
	II (n=7)		
superior vestibular nucleus	I (n=7)	8.14 ± 2.26 17.14 ± 2.26	-7.425*
	II (n=7)		
pontin nucleus	I (n=7)	3.14 ± 1.06 6.00 ± 1.41	-4.264*
	II (n=7)		

*: $p < 0.05$

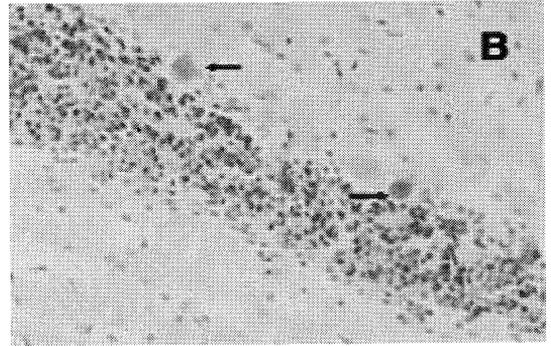
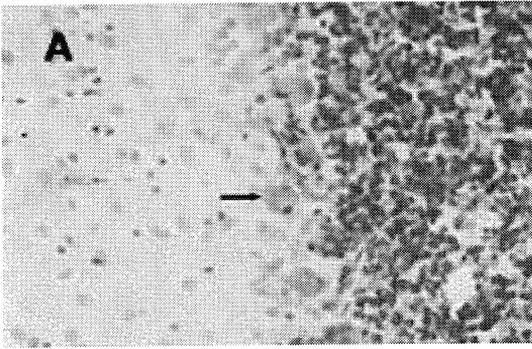


Fig 2. Expression of BDNF at cerebellar purkinje cells in Control group I(A) and Experimental group II(B). Sensory intervention-dependent BDNF upregulation was significantly observed in experimental group II purkinje cells (B, arrows). ($\times 200$)

뚜렷하게 관찰되다(Fig. 2). BDNF 발현 정도 역시 I군과 II군에서 차이를 보였다(table 1). I군, II군 간에 푸르킨에 세포층에서 BDNF 발현 세포수에 대한 t-test를 실시한 결과 유의한 차이가 있었다 ($p < .05$, Table 2).

정핵에서 대조군과 I군, II군 간에 BDNF 발현 세포수에 t-test를 실시한 결과 유의한 차이가 있었다 ($p < .05$, Table 2)

3. 상전정핵(superior vestibular nucleus)에서의 세포 형태와 BDNF의 발현

4. 교뇌핵(pontine nucleus)에서의 세포 형태와 BDNF의 발현

상전정핵에서의 BDNF에 대한 면역화학적 반응의 결과에서 대조군은 신경원에서 BDNF의 발현이 나타나지 않았고 세포체의 형태 변화가 관찰되었다. 소뇌 손상 유발 수술 후 표준 사육장에서 사육한 I군의 BDNF 면역화학적 반응성의 결과 단위 면적당 8.14 ± 2.26 가 발현되었고, 외과적 수술 1일 후부터 균형 훈련을 적용한 II군은 단위 면적당 17.14 ± 2.26 개가 발현되었다(Fig 3). BDNF 발현 정도 역시 I군과 II군에서 차이를 보였다(table 1). 상전

교뇌핵에서의 BDNF에 대한 면역화학적 반응의 결과에서 대조군은 교뇌핵의 신경원에서 BDNF의 발현이 나타나지 않았고 세포 형태의 변화가 관찰되었다. 외과적 수술 후 표준 사육장에서 사육한 I군의 BDNF 면역화학적 반응성의 결과 단위 면적당 3.14 ± 1.77 개가 발현되었고, 외과적 수술 1일 후부터 균형 수행력 증진 훈련을 적용한 II군은 단위 면적당 6.00 ± 1.41 개가 발현되었다(Fig. 4). BDNF 발현 정도 역시 I군과 II군에서 차이를 보였다(table 1). 교뇌핵에서 대조군과 I군, II군 간에 BDNF 발현 세포수에 대한 t-test를 실시한 결과 유의한 차

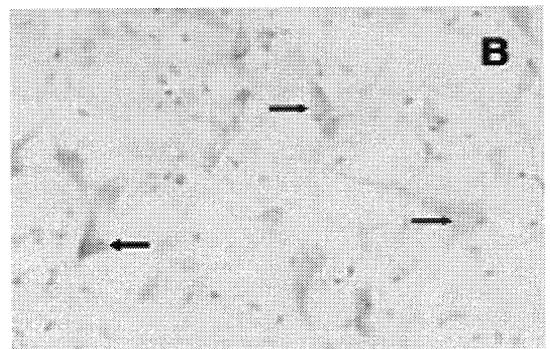
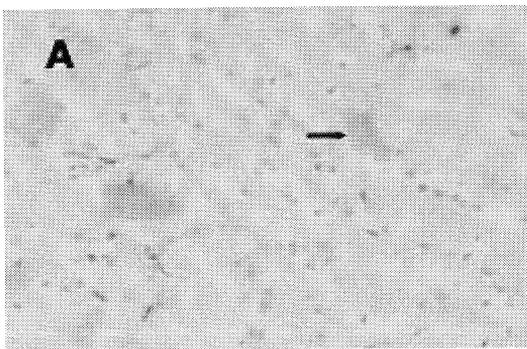


Fig 3. Expression of BDNF at superior vestibular nucleus in Control group I(A) and Experimental group II(B). Experimental group II-rats, that were exercised for 7 days, shows a significant correlation between sensory intervention and BDNF expression(B, arrows). ($\times 200$)

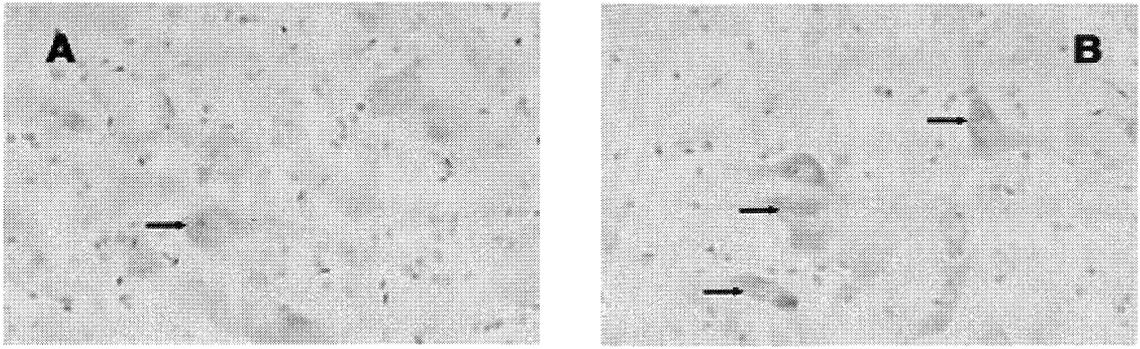


Fig 4. Expression of BDNF at pontin nucleus in Control group I(A) and Experimental group II(B). Sensory intervention resulted in qualitative increase of BDNF expression(B, arrows). ($\times 200$)

이가 있었다($p < .05$, Table 2)

IV. 고 찰

Allen과 Chase(2001)의 연구에서 사용된 부하 낙하 모델(weight drop model)을 변형하여 흰쥐를 대상으로 외상성 뇌손상을 일으킨 후, 외상성 뇌손상의 회복에 고유감각과 전정감각 입력을 위해 고안된 균형 훈련이 BDNF 발현에 미치는 영향을 알아보기 위해 연구하였다. 소뇌는 외상성 뇌손상을 받기 쉬운 부위이며, 소뇌 손상 시 현저하게 고유감각과 전정감각 손상이 유발되었고 이로 인해 균형과 보행, 신체 이동 등에 기능장애가 유발되므로(Fukuda 등, 1996; Mautes 등, 1996) 본 연구에서는 외상성 뇌손상을 소뇌에 실험적으로 일으켰다. 주된 결과는 수술 후 균형 훈련을 적용한 II군이 표준 사육장에서 별도의 중재를 받지 않은 I군보다 BDNF 발현 정도가 높았고 발현세포수도 많았다.

수술 24시간 후에 운동 행동학적 검사를 실시한 결과, 소뇌손상 특유의 징후인 진전, 실조, 불안정한 보행과 균형감소등의 소뇌 손상을 확인한 후, 지면에서 30cm 높이에 설치된 2cm \times 2cm \times 150cm의 나무막대 위에 흰 쥐를 올려놓았을 때 20초 이상 균형을 유지하고 지면에서 보행이 가능한 쥐를 선별하여 신경학적 운동행동검사하여 각 군 간에 통계학적 유의성이 없는 운동기능 손상 정도가 비슷한 개체를 군 배치하였다.

실험을 디자인함에 있어 7일간의 고유감각과 전정감각 입력을 위한 중재를 적용한 것은 BDNF가 손상 초기에 많이 발현된다는 점과 연구 방법에 차

이는 있었지만 선행된 논문들의 결과에 의하면 복합운동을 적용한 경우, 6일 전후에서부터 운동기능의 완만한 증가가 나타났다는 보고를 근거로 하여 설계하였다(Allen 등, 2000; Anna 등, 2002).

반복되는 단순한 운동은 혈관신생(angiogenesis)은 일으키지만 신경연접재생(synaptogenesis)은 일어나지 않는다는 선행논문의 보고에 의해 고유감각과 전정감각을 다양하게 자극하여 입력할 수 있도록 수직 철망 훈련, 전정판 훈련 및 막대 균형 훈련의 복합적인 균형 훈련을 구성을 하였다(Anna 등, 2002; Churchill 등, 2002; Kleim 등, 2002).

I군은 중재를 받지 않았지만, II군이 고유감각과 전정감각 입력을 위한 균형훈련을 받는 동안 실험자가 꼬리를 잡고 이동하는 등의 핸들링에 의한 스트레스를 I군에서도 동일하게 적용해 주기 위해 하루 약 15분 정도의 핸들링을 제공하였다.

외상성 소뇌 손상 24시간 후에 희생한 대조군의 조직사진을 보면 소뇌뿐만 아니라 교뇌의 신경세포에서도 세포형태 변화가 일어났으며 BDNF의 발현은 나타나지 않았다.

외상성 소뇌 손상 반구 측, 손상측 소뇌와 반대측의 소뇌 신경원을 비교한 결과 반대쪽에서도 세포 수와 발현정도에 차이는 있었지만 BDNF의 발현이 관찰되었다. 이는 diaschisis로 설명할 수 있고, diaschisis란 뇌의 한 영역에서 일어난 손상으로 인해 뇌의 다른 원거리에 있는 영역에 손상이 유발되고 이로 인한 기능장애를 초래하는 것을 말하며, 이는 반대로 특정 영역에서의 뇌손상으로 인해 신경가소성으로 재생이 일어나는 것과 동시에 다른 원거리 손상 부위에서 신경 재생이 일어날 수

있다는 것을 의미한다. 성장 인자, 연접 단백질, 특정 물질의 유전자 발현이 손상 측뿐만 아니라 반대 측의 반구에서도 관찰이 보고되었다(Joyal et al., 2001; Risedal 등, 2002; Zappoli, R. 등, 2002).

소뇌의 심부핵을 선택적으로 손상시키거나 소뇌 심부핵 영역을 손상시킨 후, 모리스 수중 미로 (morris water maze)를 사용하여 소뇌 심부핵 영역의 손상이 시각적인 실마리의 유무에 따른 공간 감각입력에 따른 운동 학습과 자세 감각 입력에 따른 운동 학습에 미치는 영향과 운동 협응과 공간 정위(orientation)에 관한 영향을 관찰함으로써 심부핵의 기능을 관찰하는 실험들이 수행되었다(Joyal 등, 2001; Joyal 등, 1996). 선택적인 외측핵 손상과 전반적인 심부핵의 손상을 유발한 경우, 균형과 평형의 기능 손상이 관찰되었고 공간에서의 시각적인 실마리 없이 목표지점을 찾아가는 능력도 감소되었다. 본 연구에서는 II군의 외측핵에서 BDNF의 발현이 관찰되었다(Fig. 1). 이러한 BDNF의 발현은 외측핵의 기능 회복을 의미할 수 있으며, 특히 수상돌기의 증가는 푸르킨에 세포와 척수소뇌로, 올리브소뇌로, 외측망상핵으로부터 감각 입력 정보를 받아들이는 신경연접의 재생으로 사료되고, 이러한 정보를 시상과 적핵으로 보내줌으로써 균형수행력이 증진된다고 사료된다.

복합 운동 기술 학습과 환경 강화가 소뇌피질에서 푸르킨에 세포에 대한 평행섬유(parallel fiber)의 신경연접의 수를 증가시킨다고 보고되었는데, 특히 소뇌의 유일한 출력섬유인 푸르킨에 섬유와 평행 섬유(parallel fiber)와의 신경연접의 증가가 보고되었다(Anna 등, 2002; Giaquinta 등, 1998; Kleim 등, 1998; Klintsova 등, 2000). 평행섬유는 과립모양 세포의 축삭에 의해 형성되어 푸르킨에 세포의 수상돌기와 직각으로 만나 이 부분의 수상돌기 가지(dendritic spine)와 시냅스를 이룬다(이원택과 박경아, 1996). 본 연구에서도 II군의 푸르킨에 세포에서 BDNF의 발현이 관찰되었다(Fig. 2). 이러한 BDNF의 발현은 푸르킨에 세포의 기능 회복을 의미할 수 있고, 증가된 수상돌기는 푸르킨에 세포의 연접 재형성을 의미하고 선행된 연구들에서처럼 평행 섬유와의 연접의 증가를 의미하는 것으로 사료된다.

대뇌 피질에 액체유압으로 뇌손상을 일으킨 Matthew

(1998)등의 연구에서 대뇌 피질의 손상은 물론 기대치 않은 소뇌 심부핵의 손상과 소뇌의 신경로에 변성이 관찰되었다. 연구자들은 이러한 변성이 교뇌핵에서의 anterograde transsynaptic mechanism이나 시상으로부터의 retrograde transsynaptic extension으로 인한 변성이 아니라 대뇌 피질에 손상을 주기 위해 충격을 가할 때, 그 충격이 전이되어 소뇌가 부딪힘으로써 축삭의 손상과 축삭 원형질의 파열 누출에 의한 변성이라고 설명하였다. 본 연구에서도 직접적인 손상을 가하지는 않았지만 소뇌와 신경학적 연결을 하고 있는 교뇌의 핵인 상전정핵과 교뇌핵의 신경원에서 BDNF의 발현이 관찰되었다(Fig. 3). 상전정핵은 일차 전정 섬유(primary vestibular fiber)와 소뇌의 타래결절엽(flocculonodular lobe)에서 구심섬유를 받으며, 원심섬유는 동측의 활차신경핵(trochlear nucleus) 및 양쪽의 동안신경핵(oculomotor nucleus)과 내측모대(MLF)을 통해 연결되어 있다(Barmack 등, 2003). 교뇌핵은 대뇌피질에서 구심섬유를 받아 소뇌피질로 전달해주는 일종의 중계핵(relay nuclei)으로 원심섬유 대부분이 반대쪽으로 교차하여 소뇌피질로 들어가 결절(nodulus)을 제외한 소뇌피질의 거의 대부분에 분포한 후, 다시 시상을 통해 대뇌피질로 연결되어 대뇌피질-교뇌핵-소뇌-시상-대뇌피질 회로를 형성한다. 이 회로는 어떤 복합 운동을 수행할 때, 대뇌가 소뇌에 저장되어 있는 현재 근육과 관절의 상태에 대한 정보를 요구하면 이를 소뇌에서 대뇌피질로 보내주는 기능을 한다고 생각되고 있다. 이러한 정보를 받은 대뇌피질은 운동에 대한 계획(motor plan)을 하고, 계획에 따라 피라미드로(pyramidal tract)를 통해 운동을 시작하게 되고, 운동이 시작되면 소뇌에서는 운동을 하고 있는 근육에서 돌아오는 되먹임 정보(feedback information)를 척수소뇌를 통해 받아 계속 계획된 대로 진행할 수 있도록 교정해 주는 역할을 한다고 한다(이원택과 박경아, 1996; Ghilardi 등, 2000; Solowska 등, 2002). 이러한 기능을 하는 상전정핵과 교뇌핵에서 역시 II군에서 BDNF의 발현이 관찰되었다(Fig. 3, 4). 상전정핵과 교뇌핵에서의 BDNF의 발현은 고유 감각과 전정감각 입력을 위한 균형 훈련 적용으로 감각 자극과 입력의 증가로 신경재생에 영향을 주었으리라 사료되고, 특히 교뇌핵에서의 발현은 감각

입력에 따른 대뇌피질-교뇌핵-소뇌-시상-대뇌피질 회로의 사용으로 인해 재생이 촉진되었을 것이라고 사료된다.

본 연구에서 상전정핵과 교뇌핵에서의 BDNF의 발현은 stereotaxic plate에 쥐를 고정하고 쇄공을 낙하시키는 과정에서 고정된 두개골 내에서 소뇌에 충격이 가해지고 이 충격에 의해 뇌 기저의 두개골에 교뇌가 부딪힘으로써 교뇌에 손상이 유발되었고, 균형 훈련이 손상의 회복을 더 증진시켜 BDNF가 합성되었다고 가정할 수 있다. 이는 손상 24시간 후의 상전정핵과 교뇌핵을 관찰한 결과 세포 형태의 변화가 나타나 있었다는 점(Fig. 3, 4)과 운동피질에 뇌손상을 유발한 연구에서 인접 신경원에서 축삭 변성은 약 48시간 이후부터 또는 3~4일 전후에서 관찰되었다는 선행연구의 연구 결과에 의해 손상 24시간 후 anterograde transsynaptic mechanism이나 retrograde transsynaptic extension으로 인한 세포체의 변성이라고는 보기 어렵고 소뇌 손상 시 가해진 충격이 교뇌로 전이되고 이러한 손상에서 신경가소성에 의한 회복으로 BDNF가 발현된 것으로 추정된다(Allen 등, 2000; Matthew 등, 1998). 이는 Kleim 등(1998)의 연구에서 서술된 '특정 행동 요구에 의해 소뇌가 변화될 수 있다'는 말과 의미가 상통한다고 생각된다.

자세와 보행은 두 가지 레벨에서 조직화되는데 첫 번째는 고유감각입력과 전정감각의 입력에 근거하여 어떤 근육이 먼저 수축할 것인지에 대한 시간과 연속성에 대한 조직화이고, 두 번째는 고유감각과 전정감각 등의 다중감각입력에 근거하여 다른 과제에 적용할 수 있는 운동을 위한 조직화이다(Allum 등, 1998). 그러므로 손상된 뇌에 주어진 이들 감각 입력은 손상된 뇌를 자극하고 활성화시켜 신경재생에 관여할 것이다.

본 연구에서 고유감각과 전정감각 입력은 손상된 소뇌에서 신경영양성 인자인 BDNF의 발현 발현을 증가시켰고, 이렇게 발현된 신경영양성 인자에 의해 신경가소성이 야기되어 운동을 조절하고 학습하는 기능을 더욱 향상시켜 운동 수행력의 증진이 나타난다고 사료된다. 고유수용성 신경근 촉진법과 같이 실제 다양한 감각입력을 적용한 치료 기법의 효과를 연구한 실험에서 기능적 평가나, 근전도 등을 이용하여 긍정적인 결과가 보고되었는데(Ferber 등,

2002; Granacher, Gollhofer 과 Strass, 2006; Kuniyoshi 와 Tatsuya, 2002; Phil, 2006), 동물 실험을 통한 본 논문의 결과는 신경화학적 관찰로써 선행된 연구들의 결과를 객관적으로 지지할 수 있을 것이다.

VI. 결 론

고유감각과 전정감각 입력이 외상성 뇌손상 쥐의 BDNF 발현에 미치는 영향을 관찰하기 위해 부하 낙하 모델(weight drop model)로 흰쥐의 소뇌에 외상성 뇌손상을 일으켰다. 고유감각과 전정감각 입력을 위한 중재인 균형 훈련은 막대균형 훈련, 수직 철망 훈련, 경사판 훈련으로 구성되었다. 실험 동물은 뇌손상 24시간 후 희생한 대조군, 표준 사육장에서 중재를 받지 않은 I군, 감각 입력 중재인 균형 훈련을 받고 표준사육장에서 생활한 II군으로 군 배치를 하였다. 수술 24시간 후 그리고 7일간의 중재 후의 세포 형태와 BDNF의 발현 양상을 관찰한 결과는 다음과 같았다.

1. 수술 24시간 후 희생된 대조군의 조직 사진에서 외측핵, 상전정핵, 푸르킨예 세포, 교뇌핵의 신경원에서 세포의 형태 변화가 관찰되었다.
2. 수술 7일 후, II군의 조직에서 손상 반대측에서 BDNF의 발현이 관찰되었다.
3. 수술 7일 후, II군의 외측핵과 푸르킨예 세포, 상전정핵, 교뇌핵에서 BDNF가 발현되었다.

위의 결과는 고유감각과 전정감각 입력이 신경영양성 인자의 발현을 증가시키고, 이렇게 발현된 신경영양성 인자에 의해 신경가소성이 야기되어 신경이 재조직화되고 이로 인해 운동을 조절하고 학습하는 기능을 더욱 향상시켜 운동 기능의 증진이 나타난다고 사료된다.

참 고 문 헌

이원택, 박경아. *의학신경해부학*, 연세대학교 해부학 교실, 1995.
 Abrous, D.N. et al. Effects of mild traumatic brain injury on immunoreactivity for the

- inducible transcription factors c-Fos, c-Jun, JunB, and Krox-24 in cerebral regions associated with conditioned fear responding, *Brain Research*, 826(2); 181-192, 1999.
- Allen, G.V., Gerami, D. & Esser, M.J. Conditioning effects of repetitive mild neurotrauma on motor function in an animal model of focal brain injury, *Neuroscience*, 99(1);93-105. 2000.
- Allen, G.V. & Chase, T. Induction of heat shock proteins and motor function deficits after focal cerebellar injury, *Neuroscience*, 102(3);603-614, 2001.
- Allum, J.H.J. et al. Proprioceptive control of posture: a review of new concepts, *Gait & Posture*, 8(3);214-242. 1998.
- Anna Y. et al. Therapeutic effects of complex motor training on motor performance deficits induced by neonatal binge-like alcohol exposure in rats: ; II. A quantitative stereological study of synaptic plasticity in female rat cerebellum, *Brain Research*, 937(1-2);83-93, 2002.
- Bakaya, M.K. The biphasic opening of the blood brain barrier in the cortex and hippocampus after traumatic brain injury in rats, *Neuroscience Letters*, 226(1);33-36, 1997.
- Banik, N.L. et al. Increased calpain content and progressive degradation of neurofilament protein in spinal cord injury, *Brain Research*, 752(1-2);301-306, 1997.
- Barmack, N.H. Central vestibular system: vestibular nuclei and posterior cerebellum, *Brain Research Bulletin*, In Press, Uncorrected Proof, Available online 6 March. 1-31, 2003.
- Bigler, E.D. The lesion(s) in traumatic brain injury: implications for clinical neuropsychology, *Archives of Clinical Neuropsychology*, 16(2);95-131, 2001.
- Birgit S., Julie H. and Lisa S. A comparison of a self-stretch incorporating proprioceptive neuromuscular facilitation components and a therapist-applied PNF-technique on hamstring flexibility. *Physiotherapy*, 90(3);151-157, 2004.
- Cartlidge, N.E.F. & Shaw D.A. *Head Injury*, London, WB Saunders. 1981.
- Churchill, J.D. et al. Roberto Galvez, Stanley Colcombe, Rodney A. Swain, Arthur F. Kramer and William T. Greenough Exercise, experience and the aging brain, *Neurobiology of Aging*, 23(5);941-955, 2002.
- Connor, B. & Dragunow, M. The role of neuronal growth factors in neurodegenerative disorders of the human brain, *Brain Research Reviews*, 27(1); 1-39, 1998.
- Cotman, C. W. & Berchtold, N. C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity, *Trends in Neurosciences*, 25(6);1 June, 295-301, 2002.
- Csuka, E. et al. IL-10 levels in cerebrospinal fluid and serum of patients with severe traumatic brain injury: relationship to IL-6, TNF-, TGF-1 and blood brain barrier function, *Journal of Neuroimmunology*, 101(2);211-221, 1999.
- Ferber R. et al. Gravelle Effect of PNF stretch techniques on knee flexor muscle EMG activity in older adults. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 12(5); 391-397, 2002.
- Finfer, S.R. & Cohen, J. Severe traumatic brain injury, *Resuscitation*, 48(1), January, 77-90, 2001.
- Fritzsche, B. Special issue on "functional anatomy of ear connections", *Brain Research Bulletin*, In Press, Uncorrected Proof, Available online 11 March, 1-2, 2003.
- Gagne, J. et al. AMPA receptor properties in adult rat hippocampus following environmental enrichment. *Brain Res.* 799;16-25, 1998.
- Ghilardi, M. et al. Patterns of regional brain activation associated with different forms of motor learning, *Brain Research*, 871(1);14,

- 127-145, 2000.
- Giaquinta, G. et al. Spinocerebellar Purkinje cells and rat forelimb postures: a direction-dependent activity, *Neuroscience Letters*, 245(2), 3 April. 81-84, 1998.
- Gilman, S. Cerebellar control of movement. *Ann. Neurol*, 35:3-4, 1994.
- Grace S. G. et al. The upregulation of plasticity-related proteins following TBI is disrupted with acute voluntary exercise. *Brain Research*, 1016(2), 6 August, 154-162, 2004.
- Granacher U., Gollhofer A. and Strass D. StrassTraining induced adaptations in characteristics of postural reflexes in elderly men. *Gait & Posture*, In press, Corrected Proof, Available online 2, 2006.
- Green, P.S. & Simpkins, J.W. Neuroprotective effects of estrogens: potential mechanisms of action, *International Journal of Developmental Neuroscience*, 18(4-5), 1 July, 347-358, 2000.
- Jannett, B. & Teasdale, G. *Management of head injuries*, FA Davis, 1981.
- Joyal, C. C., Strazielle, C. & Lalonde, R. Effects of dentate nucleus lesions on spatial and postural sensorimotor learning in rats, *Behavioural Brain Research*, 122(2), 1 October, 131-137, 2001.
- Kandael, E.R., Schwartz, J.H. & Jessel, T.M. *Principles of Neural Science*, 4th, Mac Grew-Hill Company, 2000.
- Kato, N., Nemoto, K., Arino, H. & Fujikawa, K. Influence of peripheral inflammation on growth-associated phosphoprotein (GAP-43) expression in dorsal root ganglia and on nerve recovery after crush injury, *Neuroscience Research*, 45(3):297-303, 2003.
- Kelly, J.P. Traumatic brain injury and concussion in sports. *JAMA*. 282(10): 989-991, 1999.
- Kimura, J. et al. Immunohistochemical localization of brain-derived neurotrophic factor in adult rat brain, *Neuroscience*, 74(4):24, 1209-1226, 1996.
- Kleim, J.A., Cooper, N.R. & VandenBerg, P.M. Exercise induces angiogenesis but does not alter movement representations within rat motor cortex, *Brain Research*, 934(1):26, 1-6, 2002.
- Kleim, J.A. et al. Selective Synaptic Plasticity within the Cerebellar Cortex Following Complex Motor Skill Learning, *Neurobiology of Learning and Memory*, 69(3):274-289, 1998.
- Klintsova, A.Y., Goodlett, C.R. & Greenough, W.T. Therapeutic motor training ameliorates cerebellar effects of postnatal binge alcohol, *Neurotoxicology and Teratology*, 22(1):125-132, 2000.
- Kuniyoshi S. and Tatsuya K. Effects of proprioceptive neuromuscular facilitation on the initiation of voluntary movement and motor evoked potentials in upper limb muscles. *Human Movement Science*, 21(1): 101-11, 2002.
- Legutko, B., Li X. & Skolnick P. Regulation of BDNF expression in primary neuron culture by LY392098, a novel AMPA receptor potentiator, *Neuropharmacology*, 40(8):1019-1027, 2001.
- Mattson, M. P. et al. Suppression of brain aging and neurodegenerative disorders by dietary restriction and environmental enrichment: molecular mechanisms, *Mechanisms of Ageing and Development*, 122(7):757-778, 2001.
- Matthews, M.A. et al. Focal brain injury and its effects on cerebral mantle, neurons, and fiber tracks, *Brain Research*, 794(1):25, 1-18, 1998.
- Mautess, A.E.M., Fukuda, K. & Noble, L.J. Cellular response in the cerebellum after midline traumatic brain injury in the rat. *Neurosci. Lett*, 214, 95-98. 1996.
- O'Sullivan, S. B., & Schmitz, T.J. *Physical Rehabilitation. Assessment and Treatment*, FA DAVIS Company, 1994.

- Phil P. Sensorimotor training: A “global” approach for balancetraining *Journal of Bodywork and Movement Therapies*, 10(1); 77-84, 2006.
- Risedal, A. et al. Environmental influences on functional outcome after a cortical infarct in the rat, *Brain Research Bulletin*, 58(3);315-321, 2002.
- Schmidt-Kastner, R., Wetmore, C. & Olson, L. Comparative study of brain-derived neurotrophic factor messenger RNA and protein at the cellular level suggests multiple roles in hippocampus, stratum and cortex. *Neuroscience*, 74, 161-183, 1996.
- Scott T. F et al. Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28(4);365-378, 2004.
- Shumway-Cook, A. & Horak, F.B. Assessing the influence of sensory interaction on balance. *Phys Ther*, 66(10);1548-1550, 1986.
- Solowska, J.M., Mazurek, A., Weinberger. L. & Baird, D.H. Pontocerebellar Axon Guidance: Neuropilin-1- and Semaphorin 3A-Sensitivity Gradients across Basilar Pontine Nuclei and Semaphorin 3A Variation across Cerebellum, *Molecular and Cellular Neuroscience*, 21 (2);266-284, 2002.
- Stahel, P.F. The role of the complement system in traumatic brain injury, *Brain Research Reviews*, 27(3);243-256, 1998.
- Susan A.O. and David J. M. Electromyographic assessment of the activity of the masticatory using the agonist contract - antagonist relax technique (AC) and contract-relax technique (CR). *Manual Therapy*, 11 (2);136-145, 2006.
- Tadeusz W. and Karoly N. Mechanisms of neural plasticity following brain injury. *Current Opinion in Neurobiology*, In Press, Corrected Proof, Available online 18, 2006.
- Thach, W.T. A role for the cerebellum in learning movement ordination. *Neurobiol. Learn*, 70:177-188, 1998.
- Thao T et al. Relationship between strength, balance, and swallowing deficits and outcome after traumatic brain injury: A multicenter analysis. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 85(8);1291-1297, 2004.
- Tyler A.E. and Hutton R.S. Was Sherrington right about co-contractions. *Brain Res* 370, 171-175, 1986.
- Umpplred, D.A. *Neurological Rehabilitation*. 3rd, Mosby-Yeat Book, Inc. 1995.
- White, A.M. et al. Differential effects of ethanol on motor coordination in adolescent and adult rats, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(3);673-677, 2002.
- Zappoli, R. et al. Frontal and parieto-temporal cortical ablations and diaschisis-like effects on auditory neurocognitive potentials evocable from apparently intact ipsilateral association areas in humans: five case reports, *International Journal of Psychophysiology*, 44(2);117-142, 2002.