

외상성 뇌손상 실험동물 모델

건국대학교 의학전문대학원 재활의학교실

고 성 은

Animal Models of Traumatic Brain Injury

Seong-Eun Koh, M.D., Ph.D.

Department of Rehabilitation Medicine, Konkuk University Medical Center & School of Medicine, Konkuk University

Traumatic brain injury could be used to describe all injuries to the brain caused by external mechanical forces. It shows a variety of clinical manifestations from mild to severe forms and can result to death. Moderate to severe injuries can produce disabilities on physical, cognitive, behavioral, and emotional aspects. Animal models of traumatic brain injury have been developed to reproduce characteristics of human brain injury, to understand molecular and cellular pathophysiology and neurobehavioral outcomes following trauma and to find out the promising pharmacological drugs or rehabilitative skills to treat. This article reviewed the current experimental traumatic brain injury models, including weight drop, fluid percussion, and controlled cortical impact, and also the neurobehavioral assessments that are most commonly used to measure loss of function. (**Brain & NeuroRehabilitation 2011; 4: 12-20**)

Key Words: injury model, neurobehavioral assessment, traumatic brain injury

서 론

외상성 뇌손상은 두부에 가해지는 외부의 물리적 힘에 의한 손상으로 의식 저하나 변화를 유발하고, 이로 인한 인지 기능 혹은 육체적 기능의 손상을 나타낸다. 또한 행동 장애나 감정적 손상을 유발할 수도 있다. 이러한 손상이나 장애는 일시적일 수 있을 뿐만 아니라 영구적일 수도 있고, 신체 일부의 손상 혹은 전체 기능의 장애나 정신심리학적 문제를 야기할 수 있다.¹

일반적으로 외상성 뇌손상은 손상의 심한 정도에 따라 경도(mild), 중등도(moderate), 그리고 중증(severe) 외상성 뇌손상으로 분류하며, 회복 결과에 따라서는 회복(good recovery), 중등도 장애(moderate recovery), 심한 장애(severe disability), 지속적 식물 인간 상태(persistent vegetative state), 그리고 사망(death)으로 분류하기도 한다.² 외상성 뇌손상 환자에서 보이는 임상 증상의 정도는 매우 다양하게 나타나는데, 수상 후 수분에서 수시간 내 회복하여 후유증을 남기지 않는 상태에서부터 의식의 회복이 불가능하거나 운동 기능에 심각한 수준의 장애를 남

기기도 한다. 심한 중증도의 외상성 뇌손상의 경우, 일반적으로 회복이 느리며 인지 기능의 장애를 동반할 수 있다. 실험동물을 이용한 다른 질환 모델 연구에서와 마찬가지로 외상성 뇌손상 실험동물 모델에서도 손상 후 병리조직학적 변화 및 기능적 혹은 신경행동학적 결과도 반드시 함께 고려되어야 할 대상이다. 그러므로 실험 결과를 진단 및 치료에 적용하려면 많은 부분에서 사람에서 나타나는 임상증상 및 병리조직학적 변화를 재현할 수 있어야 한다. 그러나 현재까지 외상성 뇌손상 실험동물 모델에서 사람에서와 같은 다양한 임상증상을 발현시킬 수 있는 적절한 실험동물 모델 제작은 어렵다. 그렇지만 많은 연구자들이 영장류(non-human primates)를 포함하여 돼지, 개, 양, 토끼, 고양이, 그리고 특히 설치류(rodents)를 이용하여 사람에서와 유사한 외상성 뇌손상 실험동물 모델을 제작하고 연구에 매진해왔다. 본 논문에서는 이상의 동물 종(species) 중에서 특히 설치류 실험동물 모델 제작에 대해서 서술하기로 한다. 실험동물로 설치류를 사용하는 장점은 비교적 작은 동물 크기로 다루기 쉬우며, 가격이 적절하고, 대조군 연구가 광범위하게 되어 있다는 것이다.³

외상성 뇌손상의 분류

외상성 뇌손상의 병태생리는 전통적으로 일차적 손상

교신저자: 고성은, 서울시 광진구 화양동 4-12번지
 ☎ 143-729, 건국대학교병원 재활의학과
 Tel: 02-2030-5353, Fax: 02-2030-5349
 E-mail: kohse@kuh.ac.kr

과 이차적 손상으로 나뉘어진다. 일차적 손상은 뇌에 충격이 가해지는 순간에 일어나며, 직접적 충격뿐만 아니라 가속과 감속에 의한 전단력과 회전력에 의해 발생하게 된다. 이차적 손상은 손상 후 수분 내에서부터 몇 일이 지나서까지 진행되며 나타날 수 있는데, 일차적 손상에 의해 다양한 이차적 병태생리학적 변화가 일어날 수 있으며, 이에 따른 추가적 뇌손상이 발생할 수 있다. 폐쇄형 두부 손상은 주로 정적 부하(static loads)와 동적 부하(dynamic loads)가 관여하는 복잡한 과정과 연관되어 있다.⁴ 정적 부하는 두부에 느린 속도로 부하가 조금씩 증가되면서 손상을 일으키는데 임상에서 흔히 볼 수 있는 형태의 손상 기전은 아니다. 그러나 두부가 아주 커다란 무게에 눌리면서 점진적으로 손상을 받는 경우 가능하다. 이보다 흔하게 나타나는 손상 기전은 동적 부하에 따른 손상이다. 이는 빠른 가속(acceleration)과 감속(deceleration)의 결과로 나타나며 이에 노출된 시간의 장, 단에 따라 손상의 중등도가 결정된다.^{4,5} 동적 부하는 다시 두 가지로 분류할 수 있는데, 머리를 갑작스럽게 움직이거나 머리의 움직임이 갑작스럽게 멈출 때 발생하는 관성에 의한 충격 부하(impulsive loading)와 머리는 가만히 있었는데 빠른 속력의 둔탁한 물체로 머리를 맞거나 반대의 경우 발생하는 충돌 부하(impact loading)로 나눌 수 있다.⁴ 이상의 두 가지 기전 모두 뇌 신경 조직에 긴장감(strain)을 유발시키고 이러한 긴장감이 조직 형태를 회복시키는 힘을 능가하는 경우 손상이 나타난다. 그러므로 이러한 긴장감의 양이 외상성 뇌손상 후 결과에 영향을 미치는 생역학적 요소가 된다. 관통형 손상은 주로 전쟁이나 내전에서 발생하는 총상 등으로 유발되는데 손상의 중증도는 손상을 입은 뇌의 위치뿐만 아니라 사용되는 총알의 질량, 형태, 속도, 총상 방향 등에 의해서도 결정될 수 있다. 또한 일차적 손상은 뇌조직에 가해지는 직접적이고 순간적인 기계적 힘에 의한 손상으로 형태학적으로 국소적 손상과 미만성 손상으로 분류할 수 있

다.⁶ 국소적 손상은 뇌좌상(contusion)과 출혈에 의한 경막외 혈종(epidural hematoma), 경막하 혈종(subdural hematoma), 뇌실질 내 출혈(intraparenchymal hemorrhage)을 포함한다. 국소적 뇌좌상은 뇌손상의 심한 정도에 따라 뇌표면의 손상에서 점차 심부로 들어가며 점상 출혈의 형태를 띠게 된다. 주로 하부 전두부, 안와, 상부 측두부, 외측 및 하부 측두부 등에서 호발하며, 충격부위뿐만 아니라(coup injury)과 반대측에도 생길 수 있다(contrecoup injury). 뇌출혈은 주로 뇌내 혈관 손상에 의하며 경막외 출혈, 경막하 출혈, 뇌내 출혈 등이 발생한다. 미만성 손상으로는 뇌진탕(cerebral concussion)과 미만성 축삭 손상(diffuse axonal injury)이 있다. 뇌진탕은 정도의 뇌손상 시 나타나는 뇌 기능 이상으로 다른 두개강 내 병변이 관찰되는 경우는 드물다. 미만성 축삭 손상은 신경병리학적 소견에 의한 진단으로 뇌손상 시 발생하는 회전력에 의해 발생하며 대뇌백질의 시상 주변, 교량, 교뇌-중뇌 연결부, 상부 소뇌 연결부에서 주로 발생한다. 여기에는 다양한 크기의 국소 병변이나 축삭의 광범위한 미세 손상이 발생한다. 외상성 뇌손상은 신경세포와 뇌혈관 계통에 일차적인 손상을 초래하고, 이차적으로 허혈과 세포독성의 과정을 밟게 된다. 이차적 뇌손상은 손상 뇌세포 주변에 허혈과 부종이 발생하면서 손상 부위가 넓어지고, 여기에는 염증반응과 세포독성 기전이 관여하게 된다. 이차적 손상 기전에 대한 이해는 손상 후 치료 방법이나 약물 개발에 중요한 역할을 한다. 이상에서 설명한 국소적 손상, 미만성 손상, 일차적 손상 그리고 이차적 손상을 포함한 외상성 뇌손상의 분류 체계 및 연관 관계에 대한 이해를 돕기 위해 간단하게 정리된 표를 인용하였다(Table 1).⁷

모델 제작에 필요한 요건

모델은 어떠한 현상을 단순하게 혹은 간단하게 재현하

Table 1. Categories of Neuropathological Damage

	Focal	Diffuse
Primary	Focal cortical contusion Deep cerebral hemorrhage Extracerebral hemorrhage	Diffuse axonal injury Petechial white matter hemorrhage
Secondary	Delayed neuronal injury Microvascular injury Focal hypoxic-ischemic injury (HII) Herniation Regional & diffuse hypometabolism	Delayed neuronal injury Microvascular injury Diffuse hypoxic-ischemic injury Diffuse hypometabolism

Adapted from; Povlishock JT, Katz DI. Update of neuropathology and neurological recovery after traumatic brain injury. J Head Trauma Rehabil. 2005;20:76-94.

는 것으로 정의할 수 있다. 그러므로 외상성 실험동물 모델은 사람의 외상성 뇌손상에서 나타날 수 있는 임상적 증상을 신뢰성과 타당성을 지니도록 재현할 수 있어야 한다. 이에 대한 전제조건으로 원하는 손상 정도를 균일하게 얻기 위해서는 서로 다른 실험실 혹은 실험자간에 정량적으로 일정하게 재현 가능해야 한다. 이상적인 손상은 중증도의 연속선상에서 적용된 기계적인 힘의 세기가 커질수록 손상의 정도가 심해져야 한다.⁸ 최근 외상성 뇌손상 실험동물 모델 실험들의 대다수는 비손상 가식 모델(uninjured sham model)을 포함하는 표준화된 실험 방법을 따른다. 비손상 가식 모델은 손상의 직접적인 과정을 제외한 모든 실험 조건을 따르며 여기에는 실험동물의 마취, 수술 과정, 두부 고정, 그리고 생리학적 변수들을 동일하게 처리한다. 사람에서 발생할 수 있는 여러 가지 조건의 외상성 뇌손상의 임상 증상을 나타내기 위해서는 실험동물 모델 역시 다양한 중증도의 외상성 뇌손상을 재현할 수 있어야 한다. 이는 주로 모델 제작 기구의 기계적인 변수들을 조절함으로써 얻을 수 있고, 손상의 중증도, 외상성 뇌손상 후 반응, 그리고 외상성 뇌손상을 받은 실험동물의 회복간 관계에 대한 밀접한 영향들이 다양한 연구들을 통해 규명되어 있어야 한다.^{9,10} 결과적으로 외상성 뇌손상 실험동물 모델의 손상 중증도에 대한 분류는 사람에서의 분류와 마찬가지로 경도, 중등도, 중증 외상성 뇌손상으로 분류하며, 임상에서는 실험실에서처럼 외상에 관여하는 변수들의 정확한 조절이 불가능하므로 사람에서 중점이 되는 임상 증상이나 병리학적 소견을 기초로 실험동물 모델에서 그 주된 현상을 재현하는 것이다.

대다수 외상성 뇌손상 실험동물 모델은 비교적 체구가 작은 동물을 대상으로 사람의 외상성 뇌손상 시 나타나는 병리조직학적 소견과 신경행동학적 후유증을 재현하기 위한 시도이다. 현재까지 많은 연구들을 통해 설치류를 이용한 외상성 뇌손상 실험들을 통해 병태생리학적 기전, 조직학적 변화, 이와 연관된 신경행동학적 결과 등이 잘 알려져 있다. 그러나 대다수 연구에 사용되는 설치류 뇌의 크기와 구조가 사람의 뇌와 다르므로 사람의 뇌 손상에서 유발되는 손상의 생리학 및 병태생리학적 기전이 다를 수 있음을 미리 밝혀둔다. 설치류보다 크기가 큰 동물(예를 들면, 돼지, 원숭이와 같은 영장류 등)에서는 외상성 뇌손상 후 신경행동학적 변화에 대한 연구가 부족한 실정이다. 이는 행동 연구 영역에서 중요한 선택의 문제를 내재한다. 연구에 드는 비용과 실험동물 다루기의 용이성 또한 중요한 선택의 문제를 좌우할 수 있다. 다시 말하면, 정량적으로 표준화된 이전 연구들의 존재 유무, 비용의 고저 그리고 실험에 대한 용이성들이 대다수 연구자들이 실험동물

을 설치류로 선택하는 중요한 요소들이 되는 것이다.³

외상성 뇌손상 실험동물 모델

1) 자유 낙하 모델(Weight drop model)

자유 낙하 모델은 외상성 뇌손상 실험동물 초기 모델로 중력에 의한 물체의 자유 낙하를 통해 뇌손상을 유발시킨다. 이 모델을 사용한 연구 대부분은 손상 양상이 일정하도록 실험동물 두부를 고정한 후 충격을 가한다. 손상의 중증도는 물체를 떨어뜨리는 높이나 물체의 질량을 조절함으로써 비교적 쉽게 조절할 수 있다. 두개골 천공을 시행하지 않는 경우 실험 준비에 필요한 시간과 외상성 뇌손상을 유발하는 시간이 상대적으로 짧기 때문에 빠르고 편하며 쉬운 방법으로 인식되어 있다. 단점은 손상 정도가 심해질수록 두개골 골절의 빈도가 높아지며 반동 손상(rebound injury) 가능성이 높아진다. 자유 낙하 모델은 뇌좌상이나 국소적 뇌병변이 없는 정도의 뇌진탕 모델(concussive-like TBI model)을 만들 수 있다. 병리조직학적 병변 위치로는 뇌피질하 백질에 미만성 축삭 손상이 있으며, 그 외 뇌간 손상, 뇌부종, 충격 부위 국소적 뇌세포 소실 등이 발생할 수 있다.¹¹ 두개강 천자가 없는 자유 낙하모델에서는 사람에서 발생하는 뇌손상의 임상 양상을 재현하는 것은 용이하나, 항상성 유지가 어려운 경우가 있으며, 이차적인 반동 손상 가능성이 높다. 그리고 아직까지는 자유 낙하 실험동물 모델에서 장기적인 행동 장애에 관한 연구가 부족한 실정이다.

(1) Marmarou 자유 낙하 모델: 폐쇄성 뇌손상 모델¹¹

자유 낙하 모델은 손상 방식에 따라 크게 두 가지로 대변될 수 있다. 첫째는 폐쇄성 뇌손상(closed head injury)을 주로 유발시키는 Marmarou 자유 낙하 모델로 고정된 혹은 자유롭게 움직이는 두부에 물체를 낙하시켜 두부 전체에 충격을 주는 형태의 실험동물 모델이다. 1945년 Denny-Brown과 Russell이 두부를 고정하지 않은 영장류에 처음 사용함으로써 시작되었고 뇌진탕을 유발하였다. 대략적인 제작 방법은 다음과 같다. 일정한 무게의 추를 자유 낙하시키고, 이를 통과할 수 있는 투명한 아크릴판과 이를 지지하는 지지대, 실험동물을 올려놓게 되는 아크릴 판 및 일정한 저항계수를 가지는 발포제로 구성되어 있다. 중량과 높이를 조절함으로써 충격량을 조절할 수 있게끔 고안된 장치이다. 이 모델에서 문제가 되는 것은 충격 시 두개골 골절 발생인데, 이는 손상 양상을 일정하게 유지하는데 문제를 유발한다. 이 때문에 최근의 모델에서는 실험동물의 두개골 골절을 예방하기 위하여 헬멧을 씌우거나 직경 10 mm, 두께 3 mm 스테인레스강 금속판을 실험동물 두

개골에서 관상봉합과 삼각봉합 사이의 정중부에 조직접착제로 단단하게 부착시킨다.¹¹

병리조직학적으로 광범위한 뇌부종이 나타나고, 중증도 손상 모델에서는 향후 인지기능 저하도 관찰된다. 예를 들면, 중등도 자유 낙하 모델 (무게 75 g/낙하 높이 2 m)에서는 급성기 신경학적 증상을 유발하고, 체중 감소, 일시적 저혈압, 그리고 18.2%의 치사율을 보이며, 중증 자유 낙하 모델 (무게 100 g/낙하 높이 2 m)에서는 기도 삽관 처치가 없는 경우 38%의 치사율을 보이며 광범위한 뇌부종을 보고하였다.¹² 그리고 자유 낙하의 무게가 150 g에 이르는 초강력 손상의 경우 뚜렷한 운동기능 손상과 지속적인 인지기능 저하를 관찰할 수 있었다.¹³

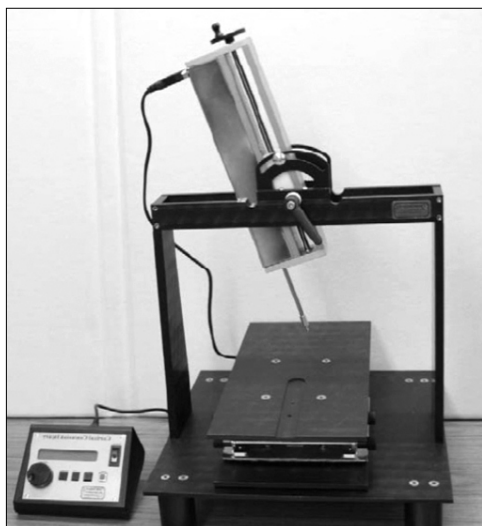


Fig. 1. Electrical cortical contusion impactor device.

(2) Feeny 자유 낙하 모델: 개방형 뇌손상 모델¹⁴

Feeney 자유 낙하 모델 역시 물체를 낙하시킴으로 직접적인 국소적 뇌손상을 유발하는 형태의 고전적인 모델의 하나이다. 이때 튜브를 통해 물체를 낙하시키고, 노출된 경막 위에 금속판을 두어 투과 손상(penetration injury)을 방지한다.¹⁴ 이 모델은 1911년 Allen이 척수손상에 적용한 모델을 변형시킨 것으로 역시 자유 낙하 물체의 무게 혹은 떨어지는 높이를 조절함으로써 쉽게 손상의 중증도를 조절할 수 있다. 이 모델은 2주 이상 지속되는 뇌좌상을 유발하고 점차 확대되는 뇌 공동 현상을 관찰할 수 있다.

2) 피질 충격 모델(controlled cortical impact injury)^{15,16}

피질 충격 모델은 간단한 충격기(impactor)를 이용한 기계적인 에너지로 뇌에 충격을 주어 뇌손상을 일으킨다 (Fig. 1, 2). 이는 두부 충격으로 가장 흔하게 발생하는 지주막하 출혈과 뇌좌상에 대한 재현이 비교적 용이한 모델이다. 모델 제작은 정위 고정 기구에 두개골을 고정시킨 후, 충격을 주고자 하는 부위에 개두술을 실시하며, 경막은 보존한다. 경막 위에 물체의 자유 낙하 대신 압축 공기나 전기적 장치를 이용하여 충격기로 경막을 뚫는 충격을 발생시켜 뇌손상을 유발한다. 피질 충격 모델은 자유 낙하 모델의 또 다른 변형으로 충격기 속도(impactor velocity)와 투과 깊이(depth of penetration)를 좀 더 정확하게 조절할 수 있으며, 이를 이용하여 손상의 중증도를 결정한다. 충격을 받은 피질은 뇌좌상이 점차 진행되고, 수상 2주 이내 최고 크기의 뇌 공동화가 이루어진다. 충격기의 투과 속도와 깊이는 동일 양상의 뇌손상을 유발하기 위해 정확하게

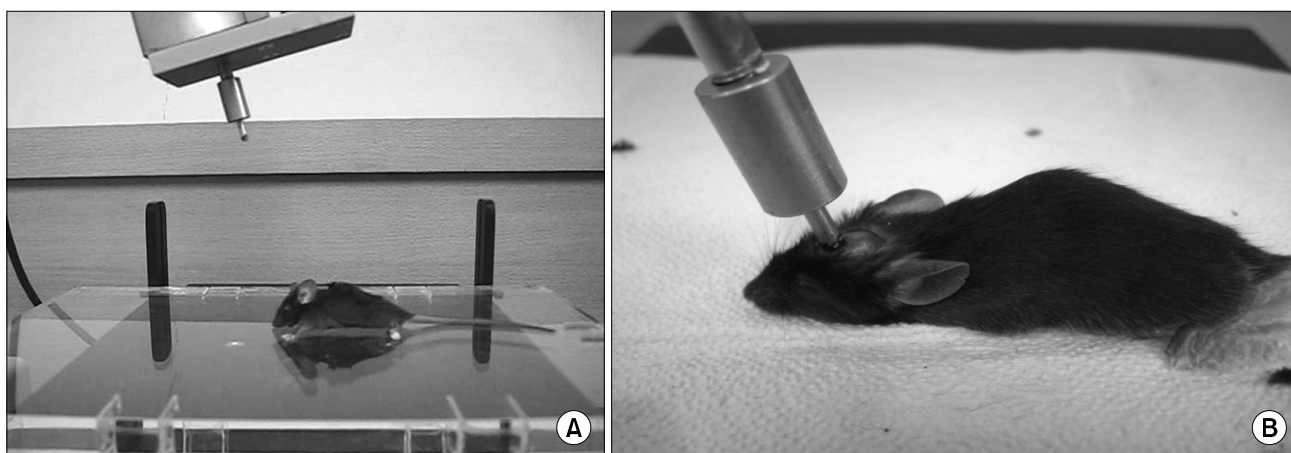


Fig. 2. Controlled cortical impact injury. (A) The starting position of impactor. (B) The moment of impact on the exposed dura of C57BL/6 mouse.

조절되는 것이다. 이 모델은 족제비(ferret)에서 처음 시도되었으며,¹⁵ 이후 순차적으로 쥐(rat), 생쥐(mouse), 그리고 양(sheep)에 사용되었다. 충격 부위는 뇌의 중앙부나 측부 피질에 모두 적용 가능하다. 단점은 뇌간 손상이 적어 사망률이 적으며, 장점은 손상의 변수들(time, velocity, and depth of impactor)을 쉽게 조절하여 손상의 중증도를 조절할 수 있다는데 있다. 또한 자유 낙하 모델과 비교할 때 반동 손상 가능성이 없다는 장점이 있다. 피질 충격 모델은 주로 국소적 뇌손상을 유발하며 뇌실질 내 출혈, 경막 외, 경막 하 혹은 지주막 하 출혈 등을 포함한 다양한 뇌손상의 양상을 유발한다. 병리조직학적 소견에는 손상 부위 신경세포 소실, 회, 백질의 광범위한 손상, 뇌실 확장 등이 있으며, 뇌피질 뿐만 아니라 해마, 시상, 시상하부 손상도 관찰된다. 특히 손상 부위 이하 해마에서는 CA3 부위와 치상회(dentate gyrus) 손상이 뚜렷하게 관찰된다.¹⁶ 손상 후 신경행동학적 평가에서는 대운동 기능 및 소운동 협동 기능의 일시적인 장애를 관찰할 수 있고 인지 기능 이상도 관찰된다. 피질 충격 모델에서는 비록 사망률이 낮지만, 주로 국소적 손상을 유발하는 모델이고, 손상 부위를 비교적 쉽게 구별할 수 있으며, 사람에서의 외상성 뇌손상을 재현하는 좋은 모델의 하나로 평가받고 있다. 또한 이상의 이유들로 새로운 치료적 접근을 시도하고 평가하는데 유용한 모델로 여겨지고 있다.

3) 유체 타진 모델(fluid percussion model)

대뇌 반구 중심 혹은 측면 손상 유체 타진 모델(midline or lateral fluid percussion model)은 경막 외강(epidural space)으로 유체를 주입시킴으로써 광범위하고 직접적인 뇌손상을 유발하는 방법이다(Fig. 3).^{17,18} 손상의 중증도는 두개골 천공 부위로 유입된 유체의 양을 조절해서 유체



Fig. 3. Fluid percussion injury device developed by custom design and fabrication of virginia commonwealth university medical center.

파동에 걸리는 힘에 의해 조절된다. 현재 유체 타진 장치(fluid percussion device)는 외상성 뇌손상 실험동물 모델 제작에 광범위하게 사용되고 있는 실정이다. 그렇지만 손상의 중요한 요소인 유체 파동 정도에 대한 직접적인 평가가 어려워, 이를 평가하기 위해서는 간접적인 유체 파동의 변수들을 사용할 수 밖에 없는 제한점이 있다. 유체를 주입시키는 위치에 따라 중심선 손상 모델(midline FP model)과 측면 손상 모델(lateral FP model)로 나눌 수 있는데, 중심선 손상 모델은 중증 손상 시 뇌간 손상을 유발한다. 뇌간 손상의 정도를 약간 줄이기 위한 목적으로 유체 주입의 위치를 중앙에서 측면을 약간 변화시켜 시상동 인접부 손상 모델(parasagittal FP model)이 사용되기도 한다. 측면 손상 모델은 중등도 손상에서는 경막 하 출혈, 뇌좌상, 그리고 광범위 축삭 손상까지도 유발할 수 있다. 수상 당시 손상 부위의 뇌좌상을 시작으로 뇌 공동화가 시작되는데 연구에 의하면 수상 후 1년 이상까지 진행된다는 보고가 있다.¹⁹ 시상 및 해마에서의 신경세포 및 교세포 손상도 관찰되고 이 또한 뇌피질 세포 괴사와 더불어 수상 후 1년 이상 지속될 수 있다. 초기 손상은 한쪽 대뇌 반구에 국한되지만 양측 대뇌 반구 모두 손상 범위 안에 포함될 수 있으며 광범위한 백질 손상을 동반할 수 있다.²⁰ 의식 소실과 함께 혈액뇌장벽(blood brain barrier) 손상, 이온 항상성(ionic homeostasis) 붕괴, 뇌 대사(cerebral metabolism) 변화, 뇌혈류 장애 소견 역시 측면 손상 모델에서 비교적 일정하게 관찰되는 소견으로 손상 초기에는 뇌혈류가 급격하게 증가하였다가 손상 30분 이내에 기저 수준의 40~50% 수준으로 저하되며 이후 수시간 지속되기도 한다.²¹ 이러한 뇌혈류 장애는 뇌 혈당 대사의 비정상적인 결과를 초래할 수 있다. 이러한 손상의 결과로 다양한 신경행동학적 이상 소견들도 관찰할 수 있는데, 인지기능 저하뿐만 아니라 forelimb/hindlimb reflex, lateral pulsion, beam walk, sticky paper, rotating pole 등에서의 운동기능 검사를 통해 뚜렷한 운동기능 장애를 평가할 수 있다. 측면 손상 유체 타진 모델은 설치류 실험동물 모델 중 가장 임상적으로 적합한 실험동물 모델의 하나로 이미 장기적인 신경행동학적, 병태생리학적, 조직학적 결과가 보고되어 있다.²²

4) 시신경 신전 손상 모델(optic nerve stretch injury model)²³⁻²⁵

사람의 외상성 뇌손상에서 공간 점유 병소 없이 나타나는 광범위한 미만성 뇌백질 손상을 미만성 축삭 손상이라고 일컫는다.²⁶ 시신경 신전 손상 모델은 1980년대 후반 개발되었는데 순수한 뇌백질 병변 손상의 병리학적 변화

를 연구하기 위한 목적으로 이루어졌다. 시신경은 중추신경계의 일부로 뇌회질 손상 없이 신경 손상을 유발시킬 수 있는 유일한 부위로 평가받는다. 이 모델은 가속/감속 손상 시 직접적인 충격이 일어나지 않는 심부 뇌백질에 일시적인 부하가 걸리는데 대한 축삭의 초기 반응을 이해하기 위해 고안되었다. 안구에 줄을 매달아(sling) 시신경에 일시적인 (19~21 ms) 부하(200~250 g)를 걸어 제작한다. 그러나 조작 방법이 어려워 초기에는 기니 피그(guinea pig)에 사용되었으며,²⁴ 2003년 Saatman²⁵에 의해서 생쥐에 적용되었다.

외상성 뇌손상 실험 동물 모델에서 신경행동학적 평가 방법

1) 신경행동학적 평가

이제까지 많은 실험동물을 통한 연구들을 통해 외상성 뇌손상 후 세포병리학 수준에서 손상 기전과 외상 후 장애에 대한 이해의 폭이 넓어졌지만 아직까지 사람의 외상성 뇌손상에서는 손상 후 신경보호적 면에서 치료가 불가능하다.²⁷ 이러한 실험 결과와 실제 임상에서 나타나는 간극은 전임상 실험을 통한 신경행동학적 장애의 체계적인 이해를 통해 좁힐 수 있을 것으로 여겨진다. 외상성 뇌손상 실험동물 모델을 이용한 연구의 중요한 목적은 외상 후 나타나는 신경행동학적 장애를 유발하는 세포병리학적 기전을 이해하고 그 연관성을 해독하는 것이다. 병리조직학적 소견과 신경행동학적 장애의 연관성을 이해함으로써 향후 성공적인 약물치료 및 포괄적 재활의학적 치료 프로그램을 개발하고 적용하는 것이 결국 실험동물 모델을 이용한 연구의 궁극적인 목표가 되는 것이다.²⁸ 그러나 사람에서는 운동 및 인지 기능에 관여하는 해부학적 경로가 매우 복잡하고 상대적으로 작은 실험동물에서 관찰된 결과를 사람에게 적용하는데 한계가 있는 것 또한 사실이다. 이러한 어려움에도 불구하고 임상적 상황 재현을 위해서 상대적으로 신뢰도가 높고 재현 가능성이 높으며 비교적 쉬운 신경행동학적 평가방법을 선별하고 적용하는 것은 외상성 뇌손상 분야 연구 발전에 큰 도움이 된다. 실험동물로 생쥐(mice)를 고르느냐 혹은 쥐(rats)를 선택하느냐 하는 문제도 중요하다. 왜냐하면 각 종에 따라 신경행동학적 평가에서 각각의 장, 단점이 존재하기 때문이다. 생쥐에서 시행하는 많은 신경행동학적 검사 방법들이 쥐에서의 그것들을 적용해왔으며, 가장 중요한 차이점은 생쥐에 사용시 크기를 줄여서 사용했다는 것이다. 생쥐에서 크기가 작아질수록 신경행동학적 검사 방법은 조금 더 어려워질 수 있다. 그리고 특정 생쥐 혹은 쥐 등 실험동물의 종에

따라 신경행동학적 특성들을 이해하고 익히는 것이 매우 중요하다. 이는 신경행동학적 검사 방법에서 평가하는 운동 능력, 학습, 기억, 주의력, 스트레스에 대한 반응, 약물 처치에 대한 반응들이 다르게 나타날 수 있음을 의미하며,^{29,30} 가장 중요한 것은 중추신경계 손상 시 나타나는 변화들을 이해하는 것이다.³¹ 이외 유전자 조작을 통한 유전자 이식 생쥐 혹은 쥐(transgenic mice or rats)를 이용하는 경우 바탕이 되는 종의 신경행동학적 특성을 이해하고 유전자 조작 후 발생할 수 있는 변화에 대해서도 신경을 써야 한다. 외상성 뇌손상 전 임상 연구의 경우에는 실험동물의 성별에 따른 영향도 고려해야 한다.³² 왜냐하면 사람에서는 외상성 뇌손상의 경우 남자에서 발생빈도가 높으므로 수컷 실험동물을 사용하거나 난소가 제거된 암컷 실험동물을 사용하는 것이 일반적이다.

2) 평가 방법과 평가 시기

실험동물 종(種, species), 주(株, strain), 성별, 제작 모델이 결정되면 어떤 신경행동학적 평가 방법을 사용할 것이며 평가시기를 언제로 할지 여부를 고려해야 한다. 특히 평가 시기의 결정은 아주 중요한 요소가 될 수 있는데, 이는 실험동물 모델에서나 임상에서 모두 자연 회복의 단계를 고려해야 하고 만약 평가시기가 늦을 경우 신경행동학적 장애가 소실될 수도 있기 때문이다.^{33,34} 반대로 평가 시기가 너무 빠를 경우 뇌손상 이외 수술 후 회복과 관련한 복합적인 요소들이 작용할 수 있다. 그러므로 손상 후 급성기와 만성기에 적절하게 평가 시기를 배분하여 몇 단계에 걸쳐 평가를 수행하는 것이 필요하다.

3) 운동 기능 평가(motor function tests)

운동 기능은 잘 알려진 대로 뇌피질 신경세포에서 시작하여 근육까지 포괄하는 복잡한 신경근육계 연결망을 통해 활동이 이루어진다. 여기에는 연합 피질(association cortex), 감각운동 피질(sensorimotor cortex), 피질하 핵(subcortical nuclei), 소뇌(cerebellum), 뇌간(brainstem) 등의 구조물이 서로 연결망을 이루고 신경신호를 송출하고 받아 들인 후, 척수를 통해 신호를 전달하고 운동을 관장한다. 신경 수준에서는 전정운동 기능(vestibulomotor function)이 융합되고, 피질척수 신경세포(corticospinal neurons), 흑질선조체 신경세포(nigrostriatal neurons), 중격의지핵(nucleus accumbens), 기저핵(basal ganglia), 시상(thalamus) 등의 구조물들이 관여한다. 외상성 뇌손상 후 나타나는 운동기능 장애는 이상의 경로 어디에서든 나타나는 문제로 유발될 가능성이 있다. 가장 이상적인 운동기능 평가 방법은 뇌손상의 중증도와 운동기능 상실 정도를 정확하

게 반영할 수 있는 방법이나, 아주 순수하게 운동기능 장애만을 평가할 수 있는 방법은 거의 없다. 외상성 뇌손상 후 운동 기능 장애는 복잡한 운동 경로와 감각운동 통합 기능의 복합 손상에 의한 것이므로 현재 사용되는 운동기능 평가 방법들의 대부분은 감각운동 통합 기능에 대한 평가라고 일컫는 것이 정확한 표현이다. 종류에는 wire grip, beam balance, beam walk, rotarod, grid walk, spontaneous forelimb use, sticky paper method 등이 있다.³⁵

4) 근력 및 반사(strength & reflex tests)

근력이나 반사를 평가하는 방법들에는 다음과 같은 방법들이 사용되는데, forelimb and hind limb flexion, resistance to lateral pulsion, the ability to balance on an inclined plane, forelimb placing, activity monitoring, grip strength, bracing/rigidity, tongue protrusion, akinesia tests, Von Frey hairs, righting reflex 등이 포함된다.³⁵ 각 평가 방법들은 보통 0점에서 4점까지 점수를 매겨 손상의 중증도를 기록한다. 단계적인 점수 채점에 어려움을 느끼는 경우 Neurological Severity Scale (NSS)를 사용하기도 하는데 항목들에 대한 실무율(all or none) 평가가 상대적으로 용이하다.³⁶

5) 전정운동계 평가(vestibulomotor tests)

전정운동계 평가는 섬세 운동 협동 기능(fine motor coordination)을 평가하여, 외상성 뇌손상 후 나타나는 기능적 회복을 균형 잡기, 협동 기능, 그리고 보행의 전체적인 측면에서 관찰할 수 있도록 고안되었다. 반사적으로 유발되는 행동과는 달리 여기에 사용되는 평가방법들은 모델 제작 전에 일정 기간 복잡한 훈련 과정이 필요하다. 실험동물들은 수술 전 훈련 과정들을 통해 평가 환경에 익숙해지고 주어진 과제를 학습하게 되는 것이다. 그러나 평가 방법에 학습이 관여하는 경우, 그 평가 방법은 더 이상 순수하게 운동 기능만을 평가하는 것이 아니다. 이 경우 기능 회복에서 운동 기능과 인지 기능이 기여하는 바를 정확하게 구분해 내기는 어렵다. 그러므로 평가 결과의 해석에 있어 인지 기능 호전이 운동 기능 호전으로 가려질 수 있으며, 반대로 운동 기능 호전이 인지 기능 호전을 은폐할 수 있음을 반드시 염두에 두어야 한다. 가장 간단한 방법으로는 activity monitoring이나 grid walking tests를 통해 기본적인 보행을 평가하는 방법이다. 이외에 beam balance test, beam walk task, rotarod test, rotating pole, spontaneous forelimb use task, adhesive tape removal test 등이 있다.³⁷⁻⁴¹

6) 인지 기능 평가(cognitive function tests)

외상성 뇌손상 후 인지 기능 저하는 손상의 중증도와 밀접한 연관성이 있다. 이러한 연관성은 외상성 뇌손상 실험동물 모델에서도 관찰된다. 중등도 이상 손상의 회복 예측에서 외상 후 기억상실(post-traumatic amnesia)은 영향을 끼칠 수 있는 중요한 요소 중 하나이다. 뇌손상 후 전향적 혹은 후향적 기억상실 증상이 사람에서 나타날 수 있는데, 말을 못하는 실험동물에서는 이러한 현상을 관찰함으로써 학습과 기억에 관한 문제를 유추하고 평가할 수 있다.³ 실험동물에서 인지 기능은 어떤 특정한 행동 과제(예를 들면, 특별하게 고안된 미로나 상자)를 완수하는지 여부를 관찰하는 방법으로 간접적인 평가가 가능하다. 미로에서 출구를 찾거나 안전한 곳을 찾아가는 과정은 인지 지도를 작성하고 정보를 저장함으로써 가능하다. 외상성 뇌손상 실험동물에서는 시공간 기억력이 형성되고 반추되는 과정에 이상을 유발할 수 있다. 이 중 콜린성 신경세포가 관여하는 중격해마 경로(septohippocampal pathway)의 손상은 기억 장애를 보이는 실험동물에서 주로 영향을 받는 신경망 회로 중 하나이다.⁴² 이 외에도 뇌교중뇌 망상체(pontomesencephalic reticular formation)과 측배부 피개 영역(laterodorsal tegmental gray region)에서 시작하여 시상과 뇌간에 분지하는 추정 인지 경로(putative cognitive pathway)가 존재한다.⁴³ 그러나 특정 기억 과제 수행력이 정상 수준에 도달하기 전에 콜린성 지표가 회복되는 경우가 존재하므로 콜린성 신경망 회로의 손상만으로 시공간 기억 장애를 설명하는 것은 불충분하다.⁴⁴ 그럼에도 불구하고 현재까지 많은 외상성 뇌손상 실험에서 인지 기능 회복에 관한 치료적 접근은 콜린성 신경망을 주된 목표로 삼아왔다.⁴⁵ 외상성 뇌손상 실험동물에서 인지 기능 장애를 평가하는 주된 방법으로는 Morris water maze, Radial arm maze, Lashley III, Passive avoidance, 그리고 Gustatory neophobia task 등이 있다.⁴⁶⁻⁵⁰

결 론

현재까지 외상성 뇌손상에 대한 연구들은 다방면에서 이루어져 왔다. 비록 아직까지는 환자들의 완전한 회복에 이르지 못했지만 병태생리학적 연구들을 기반으로 한 다양한 치료 방법들이 제시되거나 시도되었고 지금도 많은 것들이 연구 중에 있다. 사람에서 나타나는 외상성 뇌손상의 다양한 증상들 및 회복 과정에서의 이상 소견들을 완벽하게 재현할 수 있는 실험동물 모델은 아직까지 없는 상태이다. 그렇다면 “앞으로 새로운 외상성 실험동물 모델을

제작하고 제시하여야 하는 것일까?” 하는 질문에 대한 대답은 매우 조심스럽지만 “아니다”라고 많은 연구자들이 답을 한다. 앞서서 소개한 외상성 뇌손상 실험동물 모델들은 임상적 증상 재현에 매우 가깝게 진행된 모델들이며 이들을 통해 외상성 뇌손상의 병태생리학적 기전, 치료 방법 등에 관한 많은 훌륭한 연구들이 이루어져 왔다. 그렇지만 실험동물 제작 방법들간 임상 증상 재현 정도, 손상의 중증도, 그리고 치료 성적 평가에 체계적인 비교가 부족하며, 앞으로 이를 보완하기 위한 체계적인 연구가 필요한 실정이다.

참 고 문 헌

- Whyte J, Ponsford J, Watanabe T, Hart T. Traumatic brain injury. In: Gans BM, Walsh NE, Robinson LR, eds. *DeLisa's Physical Medicine & Rehabilitation: principles and practice*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011:575-623
- Maccicchi SN, Reid DB, Barth JT. Disability following head injury. *Curr Opin Neurol*. 1993;6:773-777
- Povlishock JT, Hayes RL, Michel ME, McIntosh TK. Workshop on animal models of traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 1994;11:723-732
- Graham DI, Gennarelli TA, McIntosh TK. Cellular and molecular consequences of TBI. In: Graham DI, Lantos PL, eds. *Greenfield's neuropathology*. New York: Hodder Arnold Publication; 2002:823-898
- Stalhammar D. Experimental models of head injury. *Acta Neurochir (Suppl)*. 1986;36:33-46
- Morales DM, Marklund N, Lebold D, Thompson HJ, Pitkanen A, Maxwell WL, Longhi L, Laurer H, Maegele M, Neugebauer E, Graham DI, Stocchetti N, McIntosh TK. Experimental models of traumatic brain injury: do we really need to build a better mousetrap? *Neuroscience*. 2005;136:971-989.
- Povlishock JT, Katz DI. Update of neuropathology and neurological recovery after traumatic brain injury. *J Head Trauma Rehabil*. 2005;20:76-94
- Graham DI, McIntosh TK, Maxwell WL, Nicoll JA. Recent advances in neurotrauma. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2000;59:641-651
- Gennarelli TA. Animal models of human head injury. *J Neurotrauma*. 1994;11:357-368
- McIntosh TK, Saatman KE, Raghupathi R, Graham DI, Smith DH, Lee VM, Trojanowski JQ. The Dorothy Russell Memorial Lecture. The molecular and cellular sequelae of experimental traumatic brain injury: pathogenetic mechanisms. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1998;24:251-267
- Marmarou A, Foda MA, van den Brink W, Campbell J, Kita H, Demetriadou K. A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg*. 1994;80:291-300
- Adelson PD, Robichaud P, Hamilton RL, Kochanek PM. A model of diffuse traumatic brain injury in the immature rat. *J Neurosurg*. 1996;85:877-884
- Adelson PD, Dixon CE, Kochanek PM. Long-term dysfunction following diffuse traumatic brain injury in the immature rat. *J Neurotrauma*. 2000;17:273-282
- Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, Murray HM, Dail WG. Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions in the rat. *Brain Res*. 1981;211:67-77
- Lighthall JW. Controlled cortical impact: a new experimental brain injury model. *J Neurotrauma*. 1988;5:1-15
- Pullella R, Raber J, Pfankuch T, Ferriero DM, Claus CP, Koh SE, Yamauchi T, Rola R, Fike JR, Noble-Haeusslein LJ. Traumatic injury to the immature brain results in progressive neuronal loss, hyperactivity and delayed cognitive impairments. *Dev Neurosci*. 2006;28:396-409
- Lindgren S, Rinder L. Experimental studies in head injury. I. Some factors influencing results of model experiments. *Biophysik*. 1965;2:320-329
- Stalhammar DA. The mechanisms of brain injuries. In: Vinken PJ, Bruyn GW, Klawans HL, Braakman R, eds. *Head Injury Handbook of Clinical Neurology, Vol. 57*. Amsterdam: Elsevier Science; 1990:17-41
- Smith DH, Chen XH, Pierce JE, Wolf JA, Trojanowski JQ, Graham DI, McIntosh TK. Progressive atrophy and neuron death for one year following brain trauma in the rat. *J Neurotrauma*. 1997;14:715-727
- Saatman KE, Graham DI, McIntosh TK. The neuronal cytoskeleton is at risk after mild and moderate brain injury. *J Neurotrauma*. 1998;15:1047-1058
- Muir JK, Boerschel M, Ellis EF. Continuous monitoring of posttraumatic cerebral blood flow using laser-Doppler flowmetry. *J Neurotrauma*. 1992;9:355-362
- Thompson HJ, Lifshitz J, Marklund N, Grady MS, Graham DI, Hovda DA, McIntosh TK. Lateral fluid percussion brain injury: a 15-year review and evaluation. *J Neurotrauma*. 2005;22:42-75
- Maxwell WL, Graham DI. Loss of axonal microtubules and neurofilaments after stretch-injury to guinea pig optic nerve fibers. *J Neurotrauma*. 1997;14:603-614
- Gennarelli TA, Thibault LE, Tipperman R, Tomei G, Sergot R, Brown M, Maxwell WL, Graham DI, Adams JH, Irvine A, Gennarelli LM, Duhaime AC, Boock R, Greenberg J. Axonal injury in the optic nerve: a model simulating diffuse axonal injury in the brain. *J Neurosurg*. 1989;71:244-253
- Saatman KE, Abai B, Grosvenor A, Vorwerk CK, Smith DH, Meaney DF. Traumatic axonal injury results in biphasic calpain activation and retrograde transport impairment in mice. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2003;23:34-42
- Adams JH, Doyle D, Ford I, Gennarelli TA, Graham DI, McLellan DR. Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis and grading. *Histopathology*. 1989;15:49-59
- Laurer HL, McIntosh TK. Experimental models of brain trauma. *Curr Opin Neurol*. 1999;12:715-721
- Consensus conference. Rehabilitation of persons with traumatic brain injury. NIH Consensus Developmental Panel

- on rehabilitation of persons with traumatic brain injury. *JAMA*. 1999;282:974-983
- 29) Kacew S, Dixit R, Ruben Z. Diet and rat strain as factors in nervous system function and influence of confounders. *Biomed Environ Sci*. 1998;11:203-217
- 30) Voikar V, Koks S, Vasar E, Rauvala H. Strain and gender differences in the behavior of mouse lines commonly used in transgenic studies. *Physiol Behav*. 2001;72:271-281
- 31) Steward O, Schauwecker PE, Guth L, Zhang Z, Fujiki M, Inman D, Wrathall J, Kempermann G, Gage FH, Saatman KE, Raghupathi R, McIntosh T. Genetic approaches to neurotrauma research: opportunities and pitfalls of murine models. *Exp Neurol*. 1999;15:19-42
- 32) Roof RL, Stein DG. Gender differences in Morris water maze performance depend on task parameters. *Physiol Behav*. 1999;68:81-86
- 33) Boyeson MG, Jones JL, Harmon RL. Sparing of motor function after cortical injury: a new perspective on underlying mechanisms. *Arch Neurol*. 1994;51:405-414
- 34) Skelton RW. Modeling recovery of cognitive function after traumatic brain injury: spatial navigation in the Morris water maze after complete or partial transections of the perforant path in rats. *Behav Brain Res*. 1998;96:13-35
- 35) Kokiko ON, Hamm RJ. A review of pharmacological treatments used in experimental models of traumatic brain injury. *Brain Inj*. 2007;21:259-274
- 36) Shohami E, Novikov M, Bass R. Long-term effect of HU-211, a novel non-competitive NMDA antagonist, on motor and memory functions after closed head injury in the rat. *Brain Res*. 1995;674:55-62
- 37) Dixon CE, Lyeth BG, Povlishock JT, Findling R, Hamm R, Marmarou A, Young HF, Hayes RL. A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat: neurological, physiological, and histopathological characteristics. *J Neurosurg*. 1987;67:110-119
- 38) Hamm RJ, Pike BR, O'Dell DM, Lyeth BG, Jenkins LW. The rotarod test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 1994;11:187-196
- 39) Baskin YK, Dietrich WD, Green EJ. Two effective behavioral tasks for evaluating sensorimotor dysfunction following traumatic brain injury in mice. *J Neurosci Meth*. 2003;129:87-93
- 40) Mattiasson GJ, Philips MF, Tomasevic G, Johansson BB, Wieloch T, McIntosh TK. The rotating pole test: evaluation of its effectiveness in assessing functional motor deficits following experimental brain injury in rat. *J Neurosci Meth*. 2000;95:75-82
- 41) Hernandez TD, Schallert T. Seizures and recovery from experimental brain damage. *Exp Neurol*. 1988;102:318-324
- 42) Eccles JC. Mechanisms of long-term memory. *J Physiol (Paris)*. 1986;81:312-317
- 43) Kobayashi Y, Isa T. Sensory-motor gating and cognitive control by the brainstem cholinergic system. *Neural Netw*. 2002;15:731-741
- 44) Leonard JR, Maris DO, Grady MS. Fluid percussion injury causes loss of forebrain choline acetyltransferase and nerve growth factor receptor immunoreactive cells in the rat. *J Neurotrauma*. 1994;11:379-392
- 45) Pike BR, Hamm RJ. Activating the posttraumatic cholinergic system for the treatment of cognitive impairment following traumatic brain injury. *Pharmacol Biochem Behav*. 1997;57:785-791
- 46) Sanders MJ, Dietrich WD, Green EJ. Cognitive function following traumatic brain injury: effects of injury severity and recovery period in a parasagittal fluid-percussive injury model. *J Neurotrauma*. 1999;16:915-925
- 47) Lyeth BG, Jenkins LW, Hamm RJ, Dixon CE, Phillips LL, Clifton GL, Young HF, Hayes RL. Prolonged memory impairment in the absence of hippocampal cell death following traumatic brain injury in the rat. *Brain Res*. 1990;526:249-258
- 48) Piot-Grosjean O, Wahl F, Gobbo O, Stutzmann JM. Assessment of sensorimotor and cognitive deficits induced by a moderate traumatic injury in the right parietal cortex of the rat. *Neurobiol Dis*. 2001;8:1082-1093
- 49) Yamaguchi T, Ozawa Y, Suzuki M, Yamamoto M, Nakamura T, Yamaura A. Indeloxazine hydrochloride improves impairment of passive avoidance performance after fluid percussion brain injury in rats. *Neuropharmacology*. 1996;35:329-336
- 50) Hamm RJ, Lyeth BG, Jenkins LW, O'Dell DM, Pike BR. Selective cognitive impairment following traumatic brain injury in rats. *Behav Brain Res*. 1993;59:169-173