

## 치매 동물 모델

건국대학교 의학전문대학원 재활의학교실

최동희 · 이종민

### Animal Models of Dementia

Dong-Hee Choi, Ph.D. and Jongmin Lee, M.D., Ph.D.

Department of Rehabilitation Medicine, Konkuk University School of Medicine

The discovery of new therapies for neurological disorders is especially predicated on the use of animal models both to identify new therapeutic targets and to carry out preclinical drug trials. Of primary concern to a neuroscience researcher is the selection of the most relevant animal model to achieve his or her research goals. Dementia is defined as the loss of mental processing ability, including communication, abstract thinking, judgment, and ultimately physical abilities. Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of progressive decline of cognitive function in aged humans, and is characterized by the presence of numerous senile plaques and neurofibrillary tangles accompanied by neuronal loss. Vascular cognitive impairment encompasses vascular dementia (VD) and is the second most common cause of dementing illness after AD. Some, but not all, of the neuropathological alterations and cognitive impairment in AD and VD can be reproduced genetically and pharmacologically in animals. We review the recent progress in the development of animal models of AD and VD. Experimental animal models of AD included cholinergic dysfunction-, Amyloid b-peptide-, neurofibrillary tangles-, and presenilin-related animal models. We focused on brief global ischaemic insults, chronic global hypoperfusion, and vasculopathies as experimental models of VD. Preclinical research based on animal models is pivotal to our knowledge of underlying molecular mechanisms and the drug discovery pipeline for dementia aiming at the development of therapeutic strategies alleviating or preventing this devastating disorder. (Brain & NeuroRehabilitation 2011; 4: 21-29)

**Key Words:** Alzheimer's disease, amyloid, hypoperfusion, dementia, vascular dementia

## 서 론

뇌신경 질환에 대한 새로운 치료법을 발견하기 위해 동물 모델을 이용하는 것은 새로운 치료 표적(therapeutic target)을 발견하고, 전임상 단계에서 약물 검사를 수행하기 위해 필수적인 요소이다. 신경과학자들의 제 1차적 관심은 연구 목표를 달성하는데 유용한 가장 적절한 동물 모델의 선택이다. 연구자들은 환자에게서 필수적으로 나타나지 않는 기전에 근거하지만, 질환의 기본적인 병적 특징을 가지는 모델과 모든 임상적 특징이 재연되지는 않지만, 알려진 병인 기전에 근거한 동물모델 사이에서의 선택에 직면하는 경우도 많다. 따라서, 연구자들은 병인, 증상, 치료, 생리학적 기초에 부합하는 동물모델의 개발에 도전

하고 있다.

치매란 의사소통, 추상적 사고, 판단 및 궁극적으로 신체적인 능력을 포함한 정신적 수행 능력의 손실로 정의된다. 치매는 또한 손상 받은 부분에 따라 전형적으로 행동과 성격의 변화가 나타나며, 병인과 상관없이 치매 증상은 사회 및 직업기능에 큰 방해요소가 된다. 정의에 의하면, 치매는 뇌세포의 손상과 손상에 수반된 뇌세포의 감소가 나타나는 뇌질환을 가진 사람들에게서 일반적으로 발견되는 일련의 증후군을 의미한다. 뇌세포의 감소는 노화의 한 과정이지만, 치매를 일으키는 질환은 더 빨리 뇌세포의 감소를 일으키며, 비정상적인 뇌기능을 야기한다.

알츠하이머병은 노령인구에서 인지기능의 점진적 감소의 가장 흔한 원인이며 신경세포 사멸을 동반한 다량의 노인성 판(senile plaque)과 신경원섬유매듭(neurofibrillary tangle, NFT) 농축이 존재한다는 특징이 있다.

알츠하이머병에 이어 치매의 두 번째 원인은 혈관성 치매를 포함하는 혈관성 인지장애(vascular cognitive impairment)이다.

교신저자: 이종민, 서울시 광진구 화양동 1번지  
 ☎ 147-701, 건국대학교 의학전문대학원 재활의학교실  
 Tel: 02-2030-5345, Fax: 02-2030-7899  
 E-mail: leej@kku.ac.kr

따라서 본 종설에서는 치매 연구를 위한 동물 모델 중 알츠하이머병과 혈관성 치매 모델을 정리하였으며, 알츠하이머병 동물모델은 기능장애 또는 신경병변 유발 물질의 주입을 통한 모델 및 유전자 변형 모델에 대하여 고찰하였다. 혈관성 치매 및 혈관성 인지 손상 모델은 일과성 전뇌허혈 모델, 만성적 저혈류 모델과 혈관병변에 의한 모델에 대하여 다루었다. 이러한 동물모델의 연구는 치매의 특징, 비정상적인 뇌세포의 시공간적 변화과정 및 뇌의 기능장애 기전을 정확히 알아내고, 다양한 새로운 치료 표적들과 새로운 치료법의 효과 검증에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

## 본 론

### 1) 알츠하이머병의 동물모델

알츠하이머 환자의 비정상적인 인지, 행동, 생화학적, 조직병리학적인 비정상 소견이 완전히 나타나는 동물 모델은 없는 상태이다. 그러나, 알츠하이머병의 신경병리와 인지장애를 부분적으로 재현시키는 것이 약리학 및 유전적 접근법으로 가능해졌다.

#### (1) 콜린성 기능 장애에 의한 동물모델(Cholinergic dysfunction-related animal models)

알츠하이머병 초기에 전뇌기저부(basal forebrain)의 콜린성 신경세포의 퇴화가 나타나며 이는 인지기능 저하와 관련이 있기 때문에 콜린성 병변 패러다임은 인지 기능에서 콜린성 체계(cholinergic system)의 역할을 연구하는데 이용되었다.<sup>1</sup>

콜린 활성을 감소시키기 위해, 외부독성물질 투여, 전기응고법, 해마술(fimbria)과 뇌궁(fornix)의 절단, 콜린성 독성물질인 AF64A의 처리 등을 포함한 많은 유형의 급성 조작(acute manipulation)이 응용되었다. 또한, 신경퇴행성 질환이 천천히 진행되도록 뇌실 내로 직접 퀴놀릭산을 지속적으로 주입시키는 만성 동물 모델이 개발되었다.<sup>2</sup>

내측중격핵(medial septal nucleus)의 병변은 알츠하이머병의 초기단계에서 나타나는 인지기능 장애와 가장 비슷한 행동적 장애를 일으킨다고 제안되고 있다.<sup>1</sup> 이러한 동물모델에서는 알츠하이머 환자의 뇌에서 발견되는 노인성 판(Senile Plaques), 신경원섬유매듭(NFT) 형성과 같은 신경병리학적 특성이 나타나지 않지만 콜린성 약물,<sup>3</sup> 뇌기능증진제(Nootropic Drugs, nootropics),<sup>4</sup> 글루타메이트 수용체의 길항제<sup>5</sup>와 신경 성장 인자 촉진제<sup>6</sup> 등의 치료제 평가에 폭넓게 사용되고 있다.

비특이적인 세포 독성물질들의 면역표적이 신경세포 병변에 대한 새로운 연구법으로 제시되고 있다. 전뇌기저

부의 콜린성 신경세포들은 고밀도에서 낮은 친화력의 NGF 수용체(p75NGFR)를 가지고 있다. 이 p75NGFR의 단일 클론항체인 192IgG는 cytotoxin인 saporin과 결합하여, 전뇌기저부 콜린성 신경의 NGF 수용체에 대한 효율적이고 선택적인 면역독소(Immunotoxin)역할을 한다.<sup>7</sup>

192IgG saporin에 의하여 전뇌기저부의 콜린 아세틸전환효소(ChAT) 활성이 전뇌기저부의 신피질(neocortex)과 해마로 가는 투사로(projection)에서 현저한 감소를 보이며, 학습 및 기억을 평가하는 Morris 수중미로 검사(Morris water maze)에서 인지기능장애를 일으켰다.<sup>8</sup>

NGF-의존 콜린성 신경의 선택적인 병변은 또한 NGF 항체의 지속적인 뇌실내 주사 또는 직접적인 중격내 주입으로 만들 수 있다. NGF 항체의 직접적인 주입은 기억장애를 일으키고 해마에서 콜린 아세틸전환효소(ChAT) 활성과 아세틸콜린에스터라제(AChE)를 감소시켰다.<sup>9</sup> 이 동물 모델은 알츠하이머병의 진행을 늦추는 약물인 propentofylline (Phase III trial)의 효력을 평가하기 위해 사용되었으며, propentofylline은 기억장애와 해마에 있는 ChAT와 AChE의 활성 감소를 방지하였다.<sup>10</sup>

#### (2) 아밀로이드 베타 (A $\beta$ )펩타이드 관련 동물모델 (Amyloid $\beta$ -peptide-related animal models)

유전자 삽입(transgenic)과 유전자 비삽입(nontransgenic) 두 그룹으로 나눌 수 있다.

가) 유전자 비삽입 동물 모델(nontransgenic animal models): A $\beta$ 의 급성 주사(acute injection) 또는 지속적 주입(continuous infusion)에 의하여 신경퇴화와 학습 및 기억의 손상을 동반한 뇌기능 손상이 유도된다는 많은 보고가 있다.<sup>11,12</sup> A $\beta$  1-40에 의한 신경퇴화(Alz50에 면역반응하는 단백질의 유도, 신경세포 손실, 신경세포와 신경돌기의 퇴화) 동물모델은 Kowall 등<sup>13</sup>에 의해 처음으로 개발되었다. 유사하게도 알츠하이머 환자의 뇌에게 분리한 불용성 아밀로이드핵(amyloid core)을 동물에 주사한 경우 신경독성 효과를 나타낸다는 보고가 있었으며, 이후 동물 모델에서 원섬유성 아밀로이드 베타 단편(fibrillar A $\beta$  fragment)들의 신경독성이 여러 연구에서 보고되었다.<sup>14</sup> 또한, 원섬유성 아밀로이드 베타의 신경독성은 나이에 의존적이며 높은 종특이성을 나타내기도 한다.<sup>15</sup>

늙은 붉은털 원숭이(aged rhesus monkey)에 불용성의 원섬유 아밀로이드 베타를 플라크와 동일 농도로 미세주사 하였을 때 대뇌 피질부위에 신경세포 감소, 타우(tau) 인산화, 미세교세포의 증식이 현저하게 나타났다. 이는 명주원숭이(marmosets) 보다 붉은털 원숭이에서 더 큰 신경독성을 나타냈으며, 쥐 모델에서는 유의한 차이를 보이지 않았다.<sup>15</sup>

1991년 Flood<sup>16</sup>에 의하여 생쥐에서 학습과 기억에 대한 아밀로이드 베타 단편(fibrillar A $\beta$  fragment)의 효과 실험이 수행되었다. 그 결과 아밀로이드 베타를 구성하는 아미노산 중 18번째부터 20번째에 해당되는 발린-페닐알라닌-페닐알라닌(Val-Phe-Phe)이 기억 상실에 중요하다는 것을 확인하게 되었다. 이어서 많은 연구에서 아밀로이드 베타 1-40, 아밀로이드 베타 1-42, 아밀로이드 베타 25-35 단편들이 생쥐(mouse)와 쥐(rat)에서 학습과 기억 장애의 원인임을 보고하였다.<sup>17</sup>

생체 내에서 아밀로이드 베타의 신경독성 효과가 설치류나 포유류에서는 나타나지 않는다는 보고<sup>18</sup>도 있어 다소 논쟁의 여지가 있다.

믿을만하고 일관된 동물모델을 개발하기 위하여 아밀로이드 베타 1-40이 헤파린 설페이트 프로테오글리칸(heparin sulfate proteoglycan)과 함께 지속적으로 쥐 해마 부분에 주사하였다. 아밀로이드 베타 1-40과 헤파린 설페이트 프로테오글리칸(생쥐에서는 perlecan)을 투여한 모든 동물의 뇌조직에서 congo와 thioflavin S에 염색되는 원섬유성 아밀로이드(fibrillar amyloid)가 축적되어 있음을 보고하였다.<sup>19</sup>

아밀로이드 베타의 신경독성은 이보테닉산<sup>20</sup>이나 시스틴 단백질 가수분해 효소 억제제인 leupeptin<sup>21</sup>과 함께 투여한 경우 더 강한 독성을 나타낸다. 알츠하이머 환자 뇌에서 발견되는 신경병리학적 변화와 비슷하게 아밀로이드 베타의 미세주사에 의하여 미세교세포의 활성화,<sup>15</sup> 느리게 진행되는 알츠하이머병의 형성과 흡사한 모델을 만들기 위하여 삼투압펌프를 이용하여 오랜기간동안 지속적으로 뇌실 내로 아밀로이드 베타를 주사하는 방법이 개발되었으며, 매일 300 pmol의 아밀로이드 베타 1-40을 투여한 후 Morris 수중미로 검사에서 공간참고기억 형성(spatial reference memory formation)의 손상과 콜린 아세틸전환효소의 활성 감소를 나타냈다.<sup>11,12</sup> 해마와 대뇌피질 부위의 아밀로이드 베타의 축적이 삼투압 펌프를 이용한 투여 14일 후 면역조직염색으로 확인되었으며,<sup>6</sup> 2주간 투여를 중단한 후 해마 및 대뇌피질 부위의 ChAT의 활성의 감소와 GFAP 면역반응 증가는 지속적으로 관찰되었으나, 손상된 기억은 회복되었다.

두 가지 단편인 아밀로이드 베타 1-40과 아밀로이드 1-42의 뇌실 내 투여 후 공간 참고기억과 작업기억(working memory)을 Morris 수중미로 검사를 통하여 평가한 결과 아밀로이드 베타 1-42를 투여한 쥐는 대조군과 아밀로이드 베타 40-1 투여군에 비하여 유의한 기억 장애가 나타났으며, 공간 참고기억 및 작업 기억이 아밀로이드 베타 1-42 처리에 의해 손상됨이 확인되었다.<sup>12</sup>

#### 나) 아밀로이드 베타 펩타이드에 의한 유전자 삽입 동물 모델(Amyloid $\beta$ -peptide related transgenic animal models):

노인성반과 아밀로이드 베타에 의한 신경병리학적 특성을 가진 알츠하이머 동물 모델을 제작하기 위하여  $\beta$ -Amyloid precursor protein (APP), Ab, APP의 C 말단 조각, 유전적 돌연변이를 가진 APP등의 다양한 유형의 유전자 변형 생쥐가 만들어졌다.

인간의 APP751 유전자가 과발현되는 유전자 변형 생쥐는 아밀로이드 베타가 넓게 축적되면서 초기 알츠하이머병과 비슷한 조직병리학적 특성과 비정상적인 타우(tau) 단백질의 면역반응을 보이며, 연령 의존적으로 Morris 수중미로 검사와 Y 미로 검사에서 공간적 학습능력이 감소된다.<sup>17</sup>

광범위하게 알츠하이머와 비슷한 신경병리를 보이는 유전자 변형 동물 모델 중 가족력에 의한 유전적 알츠하이머병(familial AD) 돌연변이인 인간의 APP 소유전자(human APP minigene)인 APP V717F 유전자를 발현하는 PDAPP 생쥐가 첫번째로 생산되었다.<sup>22</sup> PDAPP 동물은 높은 수준의 세포의 thioflavin S에 염색되는 아밀로이드 베타 축적, 신경반 형성, 시냅스의 손실, 별아교세포증(astrocytosis)과 미세아교세포증을 보인다. 이 동물의 아밀로이드 베타 축적은 호중성 백혈구의 변화를 일으키나 확실한 신경세포의 사멸은 보이지 않는다.<sup>18</sup> 아밀로이드 베타가 축적된 상태에서 ApoE 유전자의 역할을 조사하기 위하여 PDAPP 동물과 ApoE 유전자가 제거된 동물을 서로 교배하였다. ApoE 유전자가 없는 경우 APP의 발현과 아밀로이드 베타 형성은 변화되지 않았으나, 아밀로이드 베타의 축적이 현저하게 감소되는 결과를 얻었으므로써, 아밀로이드의 축적에 ApoE의 영향이 있는 것으로 생각되었다.<sup>19</sup>

인간 APP 695가 발현되는 유전자변형 쥐[(Tg2576 - 조기 발현형 가족성 알츠하이머병(early-onset familial Alzheimer's Disease)을 가진 스웨덴 가족에서 발견된 이중 돌연변이(K670N/M671L)를 포함한 쥐]는 Morris 수중미로 검사에서 연령에 의존적인 공간 학습 능력 감소와 Y 미로 검사에서 자발적 변경 행동이 감소되었고, 아밀로이드 베타의 증가, 아밀로이드 판의 생성을 보였다.<sup>20</sup> Tg2576 쥐 뇌의 아밀로이드 축적은 해마내 CA1 부위의 신경세포 감소는 보이지 않지만 synaptophysin의 단백질 발현 감소, 신경 시냅스 형성, 세포골격 형성, 대사에 관련된 단백질들의 유전자 발현의 감소와 연관된다.<sup>23</sup> 아밀로이드 베타 형성과 관련된 미세교세포의 활성화는 APPsw 돌연변이를 가진 유전자 변형 쥐에서 또한 나타난다.<sup>24</sup> 산화성 손상 표식자인 CuZn superoxide dismutase와 hemoxxygenase-1

단백질 발현의 정도가 노인성 유전자 변형 동물에서 증가되어 있으며 이는 생체 내에서 아밀로이드 베타의 신경독성과 산화성 손상 사이에 상호 연관성이 있음을 의미한다.<sup>25</sup>

스웨덴 돌연변이를 가진 “APP23” 유전자 변형 쥐는 전적으로 신경돌기 변화를 동반하는 콩고 레드 친화성반과 콜린성 섬유의 위축을 나타낸다. 이는 아밀로이드 베타의 축적이 콜린성 퇴화의 원인이 됨을 시사한다. 가장 중요한 것은 노인성반이 알츠하이머병에서 조기 타우의 병리학적 이상을 나타내는 과인산화된 타우 단백질이 Alz50 항체에 반응한다는 것이다.<sup>26</sup>

PDAPP와 Tg2576 쥐와 상반되게 APP23 유전자 변형 쥐는 CA1 부위에서 피라미드 신경세포의 감소를 보이며 노인성반은 반대로 증가되어 있다.<sup>27</sup>

### (3) 신경원섬유매듭(Neurofibrillary tangles, NFT)에 의한 동물 모델(Neurofibrillary tangles-related animal models)

NFT와 흡사한 신경병리를 보이는 알츠하이머병 동물 모델의 구축은 약리학 또는 유전자 변형 기술을 사용하여 시도되어 왔다. NFT는 과인산화된 타우 단백질을 이루는 쌍으로 된 나선형 세사(filament)와 곧은 세사로 구성되어 있다. 과인산화된 타우는 생체 밖에서 유효한 인산화 효소의 활성화 또는 탈인산화 효소의 억제에 의하여 일어날 수 있다.<sup>28</sup> 1/2A 탈인산화 효소 억제제인 오키다익산(okadaic acid)을 동물의 뇌실에 장기간 주사하였을 때 쌍으로 된 나선형 모양의 과인산화 타우 단백질의 생성, APP 발현과 아밀로이드 베타의 축적이 나타났으며, 이는 현저한 기억 장애와 연관되었다.<sup>29</sup>

그러나 오키다익산을 사용하여 알츠하이머병과 유사한 신경병리를 유발시키는 쥐모델에는 몇 가지 의문점이 존재한다. 유전자 삽입 쥐에서 NFT를 생성시키기 위해 또 다른 방법이 시도되었다. 인간 타우가 4번 반복된 유전자를 과발현 시킨 유전자 삽입 쥐는 세포체 수상돌기 부위에 과인산화된 타우가 존재하는 것을 보였다. 그러나, 이 유전자 삽입 쥐에서는 NFT와 같은 변화는 없었다.<sup>30</sup> 세린/트레오닌(serine/threonine) 인산화 효소를 과발현시킨 유전자 삽입 쥐는 교세포 활성화와 점진적인 신경세포 퇴화가 나타났으나 신경섬유의 변화는 보이지 않았으며, GSK-3 $\beta$  유전자 삽입 쥐 또한 NFT가 생성되지 않았다.<sup>31</sup>

### (4) Presenilin 관련 유전자 이식에 의한 동물 모델

인간의 돌연변이 PS1이 과발현된 유전자 삽입 쥐는 정상 PS1이 과발현된 쥐보다 아밀로이드 베타 42(43)가 선택적으로 증가되어 있다.<sup>32</sup> 또한, 돌연변이 PS2 유전자에 의한 유전자 삽입 쥐에서도 아밀로이드 베타 42(43)의 생성수준

이 정상 PS2 유전자 삽입 쥐 보다 높다.<sup>33</sup> PS1 유전변이 주입(knock-in) 쥐들은 알츠하이머병과 관련된 인간의 PS1 유전변이를 암호하는(encoding) 축삭을 생성한다. 인간의 PS1 유전변이는 정상 PS1은 만들지 못하고 유전변이 PS1만 생산하게 되는데 PS1 유전변이는 유전자내의 상동 엑손이 바뀐 것임을 알 수 있다. 마우스 A $\beta$ 42의 축적은 PS1 유전자 주입 쥐에서 유전자량 의존적으로 증가됨을 보였다. PS1 돌연변이가 APP 생산에 있어서 중요한 효과를 가진다는 결과들이 확인되었지만, PS1 유전자 조작 마우스는 아밀로이드 플라그 형성이나 신경세포의 손실을 보이지 않았다.<sup>32</sup> 신경퇴화는 아밀로이드 플라그 형성없이 유전적 알츠하이머병 연관 PS1 돌연변이를 가진 늙은 유전자 조작 생쥐(aged mutant transgenic mice)에서 유의하게 가속화 되는 것이 보고되었다. 신경세포 내 아밀로이드 베타 42가 늙은 돌연변이 유전자변형 쥐에서 유의하게 축적되었다.<sup>34</sup>

유전적 알츠하이머병 연관 인간 PS1의 변형(A246E)과 스웨덴 가족 알츠하이머병의 친족과 연관된 돌연변이를 가진 키메라 쥐/인간 APP<sup>sw</sup>를 함께 발현시킨 유전자 삽입 쥐가 각각의 한가지 유전자 변형만 가진 쥐보다 초기에 더 많은 양의 아밀로이드가 축적이 됨이 알려졌다.<sup>35</sup> 알츠하이머병과 비슷한 병리적 현상이 아밀로이드 베타 42(43)가 많이 증가되지 않는 PS1 돌연변이(M146L)에 이중 돌연변이(K670N/M671L)를 가진 인간의 APP695 유전자가 발현되는 Tg2576 쥐에 함께 삽입되었을 때 크게 증가되었다.<sup>36</sup> 이중(double) 유전자 삽입 쥐는 원섬유성 아밀로이드 베타가 많이 생산되고 단독 유전자 삽입 쥐인 Tg2576보다 매우 초기에 대뇌피질과 해마부위에서 축적된다. 이러한 원섬유성 아밀로이드 베타가 초기에 축적되는 것은 이중(double) 유전자 삽입 쥐의 뇌에서 41%가 증가되었다. 이중이나 단독 유전자 변형 Tg2576 쥐들은 많은 양의 아밀로이드 베타 축적이 확실히 나타나기 전에 Y-미로 검사를 통한 공간기억이 감소됨을 보였다. 이는 행동이상이 플라크 형성 전에 일어날 수 있다는 가능성을 내포한다.<sup>36</sup>

## 2) 혈관성 치매 및 혈관성 인지 손상 모델

### (1) 일과성 전뇌허혈(Transient global ischaemia)

전뇌 대뇌 허혈의 짧은 기간이 영구적인 세포손상과 인지 결손을 일으킨다. 쥐에서 양측경동맥과 양측 척추동맥(4개의 혈관 폐색, 4-VO)을 수술용 클램프로 잠시 고정하게 되면(보통 10~20분) 해마의 CA1 세포의 급성적 사멸에 따른 학습 및 기억의 손상을 보이며, 1~2일 후 대뇌와 시상에서 희소돌기아교세포의 사멸이 일어난다.<sup>37</sup> 20분

동안의 4-VO는 방사선 8-미로 검사(radial 8-arm maze task)에서 공간작업 기억의 완전한 손상을 가져오며 CA1 신경세포 감소가 확실히 나타난다.<sup>38</sup> 저빌(gerbil)의 경우 후교통동맥이 없거나 있어도 미약하게 생성되어 있어 윌리스크리의 역할이 효과적이지 않다. 그러므로, 일과성 양측 경동맥의 폐색에 의하여 전뇌허혈이 유도될 수 있다(일반적으로 5분간). 병변은 CA1 신경세포와 축색돌기의 감소와 성상교세포의 활성을 보이는 해마에서 우세하게 나타난다. 수초의 팽창과 수초 단백질(myelin basic protein, MBP)의 퇴화와 같은 백색질 병변이 일과성 양측 경동맥의 폐색 유도 후 15일째에 축색돌기의 손상이 없이 선조체와 내섬유막에서 나타나며, 만성적 작업기억(working memory)의 장애를 보이고 모리스 수조미로 검사에서 공간기억의 장애를 보인다.<sup>39</sup> 그 후 일과성 양측경동맥 폐색(20~30분)이 후교통동맥이 발달된 C57BL6 쥐에서 수행되었다.<sup>40</sup> 5분 동안의 폐색에 의하여 해마의 장기강화작용(long-term potentiation)을 감소되었고 그보다 더 오랜 시간인 20분간의 폐색에 의하여 광대한 해마의 CA1 세포 사멸이 나타났다.<sup>41</sup> 뇌경색 3일에서 7일 사이에 희소돌기아교세포의 사멸과 수초 단백질 소멸이 뇌량과 미상백색질 다발에서 관찰되었다.<sup>40</sup>

## (2) 만성 전뇌 저혈류 동물모델(Chronic global hypoperfusion)

**가) 양측 경동맥 폐색 쥐(rat)모델(Rat bilateral carotid artery occlusion):** 흰쥐의 양측 총경동맥의 수술적 결찰(ligation)이 오랜 기간 저혈류 상태를 유도하고 4개의 경동맥 폐색보다 손상 정도가 적다. 양측 경동맥 폐색 7일 후 손상된 학습 및 기억이 Morris 수조 미로 검사에서 뚜렷하게 나타났다. 방사성 미로와 Y 미로 검사에서 양측 경동맥 폐색 8주 후부터 대뇌 혈류는 정상화 된 후에도 회복 학습 및 기억의 손상이 나타났다.<sup>24</sup> 인지변화는 백색질의 조직병리학적 변화에 의해 나타나며, 해마와의 연관성은 적다.<sup>42</sup> 4주부터 별아교세포 밀도 증가와 CA1 부위의 세포 손실을 포함하는 해마의 변화양상이 관찰되었다.<sup>40</sup> 백색질의 조직병리학적 소견은 탈수초, 수초 연관 단백질의 감소, 미세교세포의 활성 등이다.<sup>43</sup> 모세혈관벽의 섬유증과 두께의 증가와 같은 혈관성 병변은 폐색 후 12개월이 넘어야 나타나며<sup>42</sup> 백색질 병변과 행동장애는 콜린성 치료와 포스포다이에스테라제 억제제인 cilostazol에 의해 호전되었다.<sup>44</sup> 이러한 모델에서 문제점은 시신경에도 경색 손상을 일으킨다는 것이다.<sup>24</sup> 더 심각한 만성 저관류는 두 경동맥과 하나의 척추동맥 결찰에 의해 또는 하나의 총경동맥과 반대편 척추동맥을 결찰하고 다른 두 개의 동맥을 7일 후에 결찰함으로써 만성적인 네 개의 동맥을 폐

색시켜 얻을 수 있다. 이러한 동물들은 다양한 인지기능 평가(Morris 수조미로, hole-board test, PAT)에서 손상된 수행능력을 보였으며 운동능력(locomotor activity)도 많은 감소를 보였다.

**나) 만성적 양측 총경동맥 협착 저빌(gerbil) 모델(Chronic bilateral carotid stenosis - gerbil):** 저빌에서 두 개의 총경동맥의 수술적 협착을 와이어 코일을 이용하여 일으킨다. 이 모델은 수술 6주 후 수동회피반응 실험에서 기억의 결손을 보였다. 조직학적 소견에서는 구분되는 두 가지 손상을 보이는데, 하나는 1주일 후 해마, 기저핵과 대뇌피질 부위에서 신경아교증을 동반하는 신경세포 사멸이 국소적으로 관찰된다는 것이다. 이렇게 구별되는 세포사멸 부위(necrotic foci)가 흑색질과 백색질에서도 보인다. 두번째 소견은, 저관류 8주 후부터 좀 더 광범위한 백색질 손상이 보인다.<sup>45</sup> 백색질 손상은 조직의 희박화와 허혈적 변화는 없는 신경아교증의 특징을 보이며, 수초 관련 단백질과 신경돌기가 현저한 감소를 보인다.<sup>45</sup>

**다) 만성적 양측 총경동맥 협착 생쥐모델(Chronic bilateral carotid stenosis - mouse):** 만성 경동맥 협착증을 가진 생쥐모델이 최근에 구축되었다.<sup>46</sup> 만성 저관류 후 30일된 동물이 방사성 8 미로 시험에서 작업기억 수행에 손상을 보였으며 Barnes미로 수행에서도 기억능력 감퇴를 보였다.<sup>46</sup> 이 동물들은 신경학적 검사상 정상이었으며 조직병리학적 소견에서 미세교세포와 별아교세포의 증식이 만성 저관류 3일만에 나타났으며, 뇌량부위에서 백색질의 공포화(vacuolation)는 14일부터 나타났다.<sup>47</sup> 시각로와 해마에서 미약한 손상을 보이면서 백색질에서 수초 관련 단백질의 감소와 세포사멸이 나타난다. 저빌에서 보인 국소적인 세포괴사 부위에 대한 보고는 없는 상태이다. 만성적으로 저관류된 생쥐에서 해마의 저대사증이 양전자 방사단층 촬영 검사에서 나타나며 8개월 후 조직학적으로 해마의 위축이 보였다.<sup>46</sup> 이보다 더 심한 협착을 보인 생쥐의 경우 운동기능의 이상이 관찰되었다.<sup>46</sup>

**라) 단측 총경동맥 결찰 마우스 모델(Mouse unilateral common carotid occlusion):** 심하지 않고 적절한 대뇌 저관류 모델을 만들기 위하여 C57BL6 마우스에 우측 총경동맥의 수술적 폐색이 시도되었다. 수술 직후, 수술하지 않은 대뇌반구의 뇌혈류는 변화를 보이지 않고, 수술한 대뇌반구의 뇌혈류가 50~70%로 감소되었으며, 4주만에 거의 80%의 뇌혈류 회복을 보였다. 4주 때에 T미로 검사와 운동 검사에서는 정상을 보였으나, 새로운 물체 인식(novel object recognition)검사서 대조군에 비해 현저한 손상을 나타냈다.<sup>48</sup> 7일째 해마부위의 신경세포 사멸은 보이지 않았으나 면역조직화 염색에서는 뇌량부위 신경

축삭의 감소를 나타내는 신경미세섬유의 밀도 감소와 미세교세포의 증가를 보였다. 이러한 변화는 미상핵(caudate) 백색 다발부위에서는 관찰되지 않았다.<sup>48</sup>

### (3) 혈관성 병변 (Vasculopathy)에 의한 모델(Models based on vasculopathy)

가) CADASIL Notch3 유전자 삽입 생쥐(CADASIL Notch3 transgenic mice): CADASIL 연관된 Notch3 돌연변이에서 대뇌의 혈관성 병변은 거의 보이지 않는데, 이는 형질전환에 의한 발현이 뇌에서 약하게 발현되기 때문이다.<sup>49</sup> 최근, CADASIL R169C 점돌연변이를 가진 Notch3가 발현되는 생쥐가 보고되었다.<sup>50</sup> 18~20개월 연령의 늙은 생쥐에서 뇌량, 선조체, 내섬유막과 해마 내의 백색질 부위에 현저한 병변을 보였다. 병변은 신피질에서는 보이지는 않았으며, CADASIL의 대표적 표지인 과립상 오스뮴친화성 축적(granular osmiophilic deposits)이 연령이 5개월이 되면서부터 혈관 근세포에서 나타나며 12개월부터 별아교세포증 현상이 나타났다. 뇌혈관장벽의 변화는 없이 휴지기 뇌혈류(resting CBF)가 감소되고(10%), 자동조절 뇌혈류(auto regulatory CBF)는 증가되었다(40%). 이러한 변화는 12개월부터 나타났으나 아직 인지기능이나 신경학적 영상조건에 대한 보고는 없다.

나) MR5-/- 유전자 삽입 생쥐(MR5(-/-) transgenic mice): 무스카린성 아세틸콜린 수용체인 M5의 유전자가 제거된 생쥐는 대뇌동맥에 지속적인 혈관수축을 나타낸다.<sup>51</sup> 피질, 해마, 기저핵과 시상부위에서 뇌혈류가 감소되며, 정상쥐에 비해 MR5-/- 마우스는 Y 미로검사를 이용한 인지기능 행동검사, 새로운 물체 인식(novel object recognition)과 사회적 상호성 측정에서 손상을 보였다.<sup>51</sup> 조직병리학적으로 MR5-/- 마우스는 피질 신경세포들의 신경돌기 가지 감소, 피질과 해마 부위에 존재하는 성상세포의 종창(swelling)이 나타났다. 글루타민산염의 수용체 매개에 의한 학습이 전기생리학적 측정법인 paired pulse facilitation과 long-term potentiation 측정에서 손상되어 있는 결과를 얻었다. 이러한 결과는 수컷 쥐와 자궁을 제거한 암컷 쥐에서 나타났으며 정상 암컷 쥐에서는 변화를 보이지 않았다. 이것은 에스트로겐의 활성이 보호효과를 나타내는 것으로 해석된다.<sup>51,52</sup>

## 결 론

지난 20년간 알츠하이머병의 병태생리학적 기전과 알츠하이머병과 관련된 유전자에 대한 연구가 많이 진행되어 왔으며, 이와 병행하여 알츠하이머병에 대한 여러가지 유전자 비삽입 및 유전자 삽입 동물모델들이 개발되어왔

다. 그러나 이러한 동물모델에서는 인지기능 장애를 동반하는 아밀로이드 베타와 플라크의 축적은 나타나지만 신경원섬유매듭과 같은 신경병리학적 변화는 발견되지 않는다. 새로운 약물의 개발 및 유효성 평가를 위해서는 동물모델이 필요하며 신약의 작용 기전에 따라 적절한 동물 모델을 선택하게 된다.

알츠하이머 환자에서 발견되는 아밀로이드증과 매우 유사하게 아밀로이드가 축적되는 동물모델이 개발되었는데, 이모델은 유전적 알츠하이머병과 연관된 돌연변이를 가지면서 아밀로이드 전구체 단백질을 과발현 시킨 유전자 변형 동물모델이다. 이 동물 모델 유형은 뇌에서 아밀로이드 합성, 신경섬유 생성 및 축적을 억제하는 약물의 효과를 평가하는데 가장 적합한 모델로 생각된다. 또한 아밀로이드 베타의 급성 또는 만성적 주입에 의해 유도되는 아밀로이드증의 동물 모델은 비록, 베타와 감마 세크리테이즈 억제제의 효과를 평가할 수는 없지만, 아밀로이드 베타 섬유의 생성, 축적을 억제하는 항아밀로이드 화합물에 대한 연구에 유용하다.

이와 같이 현재 알츠하이머병에 대하여 현재 사용하고 있는 유전자 삽입과 유전자 비삽입 동물모델은 알츠하이머병의 병리 기전을 밝히고 새로운 치료법의 효과를 평가하는데 도움이 된다.

혈관성 치매 동물 모델은 인지기능의 손상과 관련된 특이적인 혈관성 변화들을 밝히기 위해 개발되었으며 혈관 보호약물 및 치료약물의 평가를 위해 사용되기도 한다. 임상적으로 혈관성 치매는 다양한 병태생리학적 변화가 나타나는데 비해 동물모델은 병태생리학적으로 비교적 동질성을 가지며 식이, 환경, 발병 시기 등을 조절할 수 있다. 그러나 혈관성 인지기능 장애이라는 정의를 감안할 때, 일과성 전뇌허혈 모델, 만성적 저혈류 모델 및 혈관 병변에 의한 모델 모두 임상양상을 반영하는 혈관성 인지기능 손상 동물모델로는 한계가 있으며 앞으로 보다 더 적절한 동물모델의 개발이 필요하다.

## 참 고 문 헌

- 1) McDonald MP, Overmier JB. Present imperfect: a critical review of animal models of the mnemonic impairments in alzheimer's disease. *Neurosci Biobehav Rev.* 1998;22:99-120
- 2) Yamada K, Nabeshima T, Kameyama T. Impairment of active avoidance response in rats with continuous infusion of quinolinic acid into the lateral ventricle. *J Pharmacobiodyn.* 1991;14:351-355
- 3) Itoh A, Nitta A, Katono Y, Usui M, Naruhashi K, Iida R, Hasegawa T, Nabeshima T. Effects of metrifonate on memory impairment and cholinergic dysfunction in rats. *Eur J*

- Pharmacol.* 1997;322:11-19
- 4) Kinoshita H, Kameyama T, Hasegawa T, Nabeshima T. Effects of vinconate on spatial learning impairments induced by medial septal lesion in rats. *Life Sci.* 1992;51:267-273
  - 5) Misztal M, Frankiewicz T, Parsons CG, Danysz W. Learning deficits induced by chronic intraventricular infusion of quinolinic acid--protection by mk-801 and memantine. *Eur J Pharmacol.* 1996;296:1-8
  - 6) Nabeshima T, Nitta A, Fuji K, Kameyama T, Hasegawa T. Oral administration of ngf synthesis stimulators recovers reduced brain ngf content in aged rats and cognitive dysfunction in basal-forebrain-lesioned rats. *Gerontology.* 1994;40 Suppl 2:46-56
  - 7) Bigl V, Schliebs R. Simulation of cortical cholinergic deficits--a novel experimental approach to study pathogenetic aspects of alzheimer's disease. *J Neural Transm Suppl.* 1998;54:237-247
  - 8) Waite JJ, Chen AD, Wardlow ML, Wiley RG, Lappi DA, Thal LJ. 192 immunoglobulin g-saporin produces graded behavioral and biochemical changes accompanying the loss of cholinergic neurons of the basal forebrain and cerebellar purkinje cells. *Neuroscience.* 1995;65:463-476
  - 9) Nitta A, Murase K, Furukawa Y, Hayashi K, Hasegawa T, Nabeshima T. Memory impairment and neural dysfunction after continuous infusion of anti-nerve growth factor antibody into the septum in adult rats. *Neuroscience.* 1993;57:495-499
  - 10) Nitta A, Ogihara Y, Onishi J, Hasegawa T, Furukawa S, Nabeshima T. Propentofylline prevents neuronal dysfunction induced by infusion of anti-nerve growth factor antibody into the rat septum. *Eur J Pharmacol.* 1996;307:1-6
  - 11) Nabesima TA, Itoh A. Toxicity of  $\beta$ -amyloid protein: Neurochemical, histological and behavioral changes. In: Iqbal K, Winblad B, Nishimura T, Takeda M, Wisniewski HM, eds. *Alzheimer's Disease: Biology, Diagnosis and Therapeutics.* Chichester: Wiley; 1997:623-630
  - 12) Yamada K, Ren X, Nabeshima T. Perspectives of pharmacotherapy in alzheimer's disease. *Jpn J Pharmacol.* 1999;80: 9-14
  - 13) Kowall NW, Beal MF, Busciglio J, Duffy LK, Yankner BA. An in vivo model for the neurodegenerative effects of beta amyloid and protection by substance p. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88:7247-7251
  - 14) Harkany T, O'Mahony S, Kelly JP, Soos K, Toro I, Penke B, Luiten PG, Nyakas C, Gulya K, Leonard BE. Beta-amyloid (phe(so3h)24)25-35 in rat nucleus basalis induces behavioral dysfunctions, impairs learning and memory and disrupts cortical cholinergic innervation. *Behav Brain Res.* 1998;90: 133-145
  - 15) Geula C, Wu CK, Saroff D, Lorenzo A, Yuan M, Yankner BA. Aging renders the brain vulnerable to amyloid beta-protein neurotoxicity. *Nat Med.* 1998;4:827-831
  - 16) Flood JF, Morley JE, Roberts E. Amnesic effects in mice of four synthetic peptides homologous to amyloid beta protein from patients with alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88:3363-3366
  - 17) Moran PM, Higgins LS, Cordell B, Moser PC. Age-related learning deficits in transgenic mice expressing the 751-amino acid isoform of human beta-amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92:5341-5345
  - 18) Irizarry MC, Soriano F, McNamara M, Page KJ, Schenk D, Games D, Hyman BT. Abeta deposition is associated with neuropil changes, but not with overt neuronal loss in the human amyloid precursor protein v717f (pdapp) transgenic mouse. *J Neurosci.* 1997;17:7053-7059
  - 19) Bales KR, Verina T, Dodel RC, Du Y, Altstiel L, Bender M, Hyslop P, Johnstone EM, Little SP, Cummins DJ, Piccardo P, Ghetti B, Paul SM. Lack of apolipoprotein e dramatically reduces amyloid beta-peptide deposition. *Nat Genet.* 1997; 17:263-264
  - 20) Morimoto K, Yoshimi K, Tonohiro T, Yamada N, Oda T, Kaneko I. Co-injection of beta-amyloid with ibotenic acid induces synergistic loss of rat hippocampal neurons. *Neuroscience.* 1998;84:479-487
  - 21) Nitta A, Fukuta T, Hasegawa T, Nabeshima T. Continuous infusion of beta-amyloid protein into the rat cerebral ventricle induces learning impairment and neuronal and morphological degeneration. *Jpn J Pharmacol.* 1997;73:51-57
  - 22) Games D, Adams D, Alessandrini R, Barbour R, Berthelette P, Blackwell C, Carr T, Clemens J, Donaldson T, Gillespie F, Guido T, Hagopian S, Johnson-Wood K, Khan K, Lee M, Leibowitz P, Lieberburg I, Little S, Masliah E, McConlogue L, Montoya-Zavala M, Mucke L, Paganini L, Penniman E, Power M, Schenk D, Seubert P, Snyder B, Soriano F, Tan H, Vitale J, Wadsworth S, Wolozin B, Zhao, J. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing v717f b-amyloid precursor protein. *Nature.* 1995;373:523-527
  - 23) Irizarry MC, McNamara M, Fedorchak K, Hsiao K, Hyman BT. Appsw transgenic mice develop age-related a beta deposits and neuropil abnormalities, but no neuronal loss in ca1. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1997;56:965-973
  - 24) Frautschy SA, Yang F, Irizarry M, Hyman B, Saido TC, Hsiao K, Cole GM. Microglial response to amyloid plaques in appsw transgenic mice. *Am J Pathol.* 1998;152:307-317
  - 25) Pappolla MA, Chyan YJ, Omar RA, Hsiao K, Perry G, Smith MA, Bozner P. Evidence of oxidative stress and in vivo neurotoxicity of beta-amyloid in a transgenic mouse model of alzheimer's disease: A chronic oxidative paradigm for testing antioxidant therapies in vivo. *Am J Pathol.* 1998; 152:871-877
  - 26) Sturchler-Pierrat C, Abramowski D, Duke M, Wiederhold KH, Mistl C, Rothacher S, Ledermann B, Burki K, Frey P, Paganetti PA, Waridel C, Calhoun ME, Jucker M, Probst A, Staufenbiel M, Sommer B. Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with alzheimer disease-like pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:13287-13292
  - 27) Calhoun ME, Wiederhold KH, Abramowski D, Phinney AL, Probst A, Sturchler-Pierrat C, Staufenbiel M, Sommer B, Jucker M. Neuron loss in app transgenic mice. *Nature.* 1998;395:755-756
  - 28) Wang JZ, Gong CX, Zaidi T, Grundke-Iqbal I, Iqbal K.

- Dephosphorylation of alzheimer paired helical filaments by protein phosphatase-2a and -2b. *J Biol Chem.* 1995;270: 4854-4860
- 29) Arendt T, Holzer M, Fruth R, Bruckner MK, Gartner U. Paired helical filament-like phosphorylation of tau, deposition of beta/a4-amyloid and memory impairment in rat induced by chronic inhibition of phosphatase 1 and 2a. *Neuroscience.* 1995;69:691-698
- 30) Gotz J, Probst A, Spillantini MG, Schafer T, Jakes R, Burki K, Goedert M. Somatodendritic localization and hyperphosphorylation of tau protein in transgenic mice expressing the longest human brain tau isoform. *EMBO J.* 1995;14: 1304-1313
- 31) Brownlees J, Irving NG, Brion JP, Gibb BJ, Wagner U, Woodgett J, Miller CC. Tau phosphorylation in transgenic mice expressing glycogen synthase kinase-3beta transgenes. *Neuroreport.* 1997;8:3251-3255
- 32) Citron M, Westaway D, Xia W, Carlson G, Diehl T, Levesque G, Johnson-Wood K, Lee M, Seubert P, Davis A, Kholodenko D, Motter R, Sherrington R, Perry B, Yao H, Strome R, Lieberburg I, Rommens J, Kim S, Schenk D, Fraser P, St George Hyslop P, Selkoe DJ. Mutant presenilins of alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nat Med.* 1997;3:67-72
- 33) Oyama F, Sawamura N, Kobayashi K, Morishima-Kawashima M, Kuramochi T, Ito M, Tomita T, Maruyama K, Saido TC, Iwatsubo T, Capell A, Walter J, Grunberg J, Ueyama Y, Haass C, Ihara Y. Mutant presenilin 2 transgenic mouse: effect on an age-dependent increase of amyloid beta-protein 42 in the brain. *J Neurochem.* 1998;71:313-322
- 34) Chui DH, Tanahashi H, Ozawa K, Ikeda S, Checler F, Ueda O, Suzuki H, Araki W, Inoue H, Shirotani K, Takahashi K, Gallyas F, Tabira T. Transgenic mice with alzheimer presenilin 1 mutations show accelerated neurodegeneration without amyloid plaque formation. *Nat Med.* 1999;5:560-564
- 35) Borchelt DR, Ratovitski T, van Lare J, Lee MK, Gonzales V, Jenkins NA, Copeland NG, Price DL, Sisodia SS. Accelerated amyloid deposition in the brains of transgenic mice coexpressing mutant presenilin 1 and amyloid precursor proteins. *Neuron.* 1997;19:939-945
- 36) Holcomb LA, Gordon MN, Jantzen P, Hsiao K, Duff K, Morgan D. Behavioral changes in transgenic mice expressing both amyloid precursor protein and presenilin-1 mutations: Lack of association with amyloid deposits. *Behav Genet.* 1999;29:177-185
- 37) Zhang W, Johnson BR, Suri DE, Martinez J, Bjornsson TD. Immunohistochemical demonstration of tissue transglutaminase in amyloid plaques. *Acta Neuropathol.* 1998;96: 395-400
- 38) Cras P, van Harskamp F, Hendriks I, Ceuterick C, van Duijn CM, Stefanko SZ, Hofman A, Kros JM, Van Broeckhoven C, Martin JJ. Presenile alzheimer dementia characterized by amyloid angiopathy and large amyloid core type senile plaques in the app 692ala-->gly mutation. *Acta Neuropathol.* 1998;96:253-260
- 39) Funato H, Yoshimura M, Yamazaki T, Saido TC, Ito Y, Yokofujita J, Okeda R, Ihara Y. Astrocytes containing amyloid beta-protein (abeta)-positive granules are associated with abeta40-positive diffuse plaques in the aged human brain. *Am J Pathol.* 1998;152:983-992
- 40) Beauchemin D, Kisilevsky R. A method based on icp-ms for the analysis of alzheimer's amyloid plaques. *Anal Chem.* 1998;70:1026-1029
- 41) McBride PA, Wilson MI, Eikelenboom P, Tunstall A, Bruce ME. Heparan sulfate proteoglycan is associated with amyloid plaques and neuroanatomically targeted prp pathology throughout the incubation period of scrapie-infected mice. *Exp Neurol.* 1998;149:447-454
- 42) Moechars D, Gilis M, Kuiperi C, Laenen I, Van Leuven F. Aggressive behaviour in transgenic mice expressing app is alleviated by serotonergic drugs. *Neuroreport.* 1998;9:3561-3564
- 43) Nichols A, Martinou I, Maundrell K, Martinou JC. The p75 neurotrophin receptor: effects on neuron survival in vitro and interaction with death domain-containing adaptor proteins. *Apoptosis.* 1998;3:289-294
- 44) Trojanowski JQ, Goedert M, Iwatsubo T, Lee VM. Fatal attractions: abnormal protein aggregation and neuron death in parkinson's disease and lewy body dementia. *Cell Death Differ.* 1998;5:832-837
- 45) Kurumatani T, Kudo T, Ikura Y, Takeda M. White matter changes in the gerbil brain under chronic cerebral hypoperfusion. *Stroke.* 1998;29:1058-1062
- 46) Nishio K, Ihara M, Yamasaki N, Kalaria RN, Maki T, Fujita Y, Ito H, Oishi N, Fukuyama H, Miyakawa T, Takahashi R, Tomimoto H. A mouse model characterizing features of vascular dementia with hippocampal atrophy. *Stroke.* 2010; 41:1278-1284
- 47) Shibata M, Yamasaki N, Miyakawa T, Kalaria RN, Fujita Y, Ohtani R, Ihara M, Takahashi R, Tomimoto H. Selective impairment of working memory in a mouse model of chronic cerebral hypoperfusion. *Stroke.* 2007;38:2826-2832
- 48) Yoshizaki K, Adachi K, Kataoka S, Watanabe A, Tabira T, Takahashi K, Wakita H. Chronic cerebral hypoperfusion induced by right unilateral common carotid artery occlusion causes delayed white matter lesions and cognitive impairment in adult mice. *Exp Neurol.* 2008;210:585-591
- 49) Hainsworth AH, Markus HS. Do in vivo experimental models reflect human cerebral small vessel disease? A systematic review. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2008;28: 1877-1891
- 50) Joutel A, Monet-Lepretre M, Gosele C, Baron-Menguy C, Hammes A, Schmidt S, Lemaire-Carrette B, Domenga V, Schedl A, Lacombe P, Hubner N. Cerebrovascular dysfunction and microcirculation rarefaction precede white matter lesions in a mouse genetic model of cerebral ischemic small vessel disease. *J Clin Invest.* 2010;120:433-445
- 51) Kitamura N, Araya R, Kudoh M, Kishida H, Kimura T, Murayama M, Takashima A, Sakamaki Y, Hashikawa T, Ito



- S, Ohtsuki S, Terasaki T, Wess J, Yamada M. Beneficial effects of estrogen in a mouse model of cerebrovascular insufficiency. *PLoS One*. 2009;4:e5159
- 52) Araya R, Noguchi T, Yuhki M, Kitamura N, Higuchi M, Saido TC, Seki K, Itohara S, Kawano M, Tanemura K, Takashima A, Yamada K, Kondoh Y, Kanno I, Wess J, Yamada M. Loss of m5 muscarinic acetylcholine receptors leads to cerebrovascular and neuronal abnormalities and cognitive deficits in mice. *Neurobiol Dis*. 2006;24:334-344