

비치명적 만성 저산소증에서 뇌의 신경 혈관계의 적응: Neurotrophic factor의 역할

김 강 련

고신대학교 의과대학 해부학교실, 의과학 연구소

Adaptation of neurovasculature on brain in chronic sublethal hypoxia; Roles of neurotrophic factor

Kang Ryune Kim

Department of Anatomy, Kosin University College of Medicine, and Medical Science Institute, Busan, Korea

Abstract

Hypoxia episodes of prenatal and perinatal brain are causes of significant long-term neurologic morbidity, mental retardation, seizures, and cerebral palsy, owing to the neuronal cell death, attributable to either necrosis or apoptosis. Also preterm birth is associated with significant neurological disability and chronic hypoxia. In chronic hypoxia, vascular growth factor (VEGF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) function in neurovasculature by prominent angiogenesis and block of neuronal apoptosis. BDNF, a family of neurotrophic factors has roles of neuroprotection and neural growth, axonal guidance, through the activation of tyrosine receptor kinases B (TrkB) receptor. Also BDNF rescues brain-derived endothelial cells from hypoxic damage, and induces angiogenesis in hypoxic cultured model. Moreover there are some possibilities of 'cross-talk of signaling' between BDNF and VEGF. These studies suggest that BDNF and VEGF are candidates for the pharmacological intervention in hypoxic neuronal injury.

Key words : Chronic sublethal hypoxia, Neuron, vascular endothelial growth factor (VEGF), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), Tyrosine receptor kinase B (TrkB)

서 론

저산소증은 주산기 (perinatal period)에서 신생아의 사망률을 증가시키는 중요한 요인 중의 하나이다.¹⁾ 저산소증은 인식능력 (cognitive function) 이상, 간질발작, 신경계 이상 등을 유발한다. 그 동안 많은 연구를 통해서 저산소증이 세포사 (cell death)를 유발하는 기전에 대해 많은 지식이 축적되어 있으나, 저산소증으로부터 세포

를 보호할 수 있는 방법은 아직 뚜렷하게 발견되지 않고 있다.²⁾

저산소증에 의한 손상의 기전은 복합적으로 이루어지며, 에너지고갈, 흥분성 아미노산 분비 (release of excitatory amino acids), 세포자사 (apoptosis)의 시작 등의 과정들이 포함된다.³⁾ 이러한 다양한 과정들은 성인에 있어 나타나는 허혈성 뇌손상과 유사한 형태를 보여 준다. 그러나 뇌손상의 정도는 나이에 따라 차이가 나며 특히 미성숙한 중추신경계에서의 손상은 성인의 그것에 비해 훨씬 심하게 나타난다. 그러한 결과는 미성숙한 중추신경계에서 일어나는 세포의 이동과 분화, 증식, 그리고 수초화 (myelination) 같은 발달 과정이 저산소증에 영

교신저자 : 김 강 련
주소: 602-703, 부산광역시 서구 압남동 34번지
고신대학교 의과대학 해부학교실
TEL. 051-990-6410 FAX. 051-
E-mail: muskrkim@ns.kosinmed.or.kr

· 본 연구는 고신대학교 의과대학 연구비 일부 지원에 의해 이루어진 것임

향을 받기가 쉽다는 것을 의미한다⁴⁾.

저산소증이 대뇌혈류(cerebral blood flow)를 변화시키고 뇌의 대사에 영향을 주기 때문에 위와 같이 미성숙 신경계가 더욱 민감하게 반응을 하게 된다⁵⁾.

조산과 저산소증(preterm birth and hypoxia)

조산(preterm birth)은 심각한 이상을 초래하는 것으로 알려져 있다. 그 동안 신생아를 다루는 여러 가지 의학 기술과 장비 등이 많은 발달을 하였으나, 조산아에 있어서의 정신지체(mental retardation), 인식 기능(cognitive function) 저하와 간질성 발작(epileptic seizures)등의 운동 장애(motor handicap) 등의 발생 빈도는 여전히 12-15%로 높은 상태이다⁶⁾. 조산아의 두 가지 중요한 문제는 뇌실내출혈(intraventricular hemorrhage) 및 만성 폐질환(chronic lung disease)으로 알려져 있다.⁷⁾ 위의 두 가지 후유증은 모두 만성저산소증과 관계 있다. 특히 체중이 1000g 이하의 조산아 중 40% 이상에서 뇌실내출혈이 나타나는 것으로 보고되고 있으며, 이러한 후유증은 저산소증에 의한 미세혈관재형성(microvascular remodeling)으로 인해 나타나는 것으로 알려져 있다.⁸⁾ 또한 뇌성마비(cerebral palsy)역시 주산기 만성 저산소증(perinatal chronic hypoxia)에 의해 나타나는 중요한 신경학적인 합병증으로 알려져 있다. 만성폐질환은 1000g 이하의 체중을 가진 조산아의 반수 정도에서 발견된다⁷⁾.

저산소증과 혈관재형성

만성 저산소증은 뇌에서 혈관재형성을 유발하는 것으로 알려져 있다. 그리고 그 기전과 영향에 관해 최근 많은 연구가 이루어지고 있다. 이러한 혈관재형성은 만성 저산소증에 관한 일종의 적응을 위한 뇌의 반응으로 간주하고 있다.^{6,9)} 만성 저산소 환경에서 오랫동안 키운 쥐를 이용한 실험에서 혈관재형성이 현저하게 나타났으며, 이러한 혈관재형성은 혈관내피세포성장인자(vascular endothelial growth factor, 이하 VEGF)가 관여하는 것으로 보고하였다.¹⁰⁻¹²⁾ VEGF는 강력한endothelial cell mitogen으로 Flk1이나 Flt1과 같은 수용체의 활성화를

통하여 발생 중인 뇌에서 혈관형성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. VEGF는 혈관내피 세포에 국한되어 생산되는 것으로 알려져 있었으나 최근의 연구에서 VEGF는 저산소증에 반응하여 macrophage, pericyte, 혈관평활근 세포 등에서도 생산되는 것으로 보고되고 있다.^{13,14)} 그러나 아직까지 만성 저산소증과 성상교세포(astrocyte)의 VEGF 생산, 그리고 혈관형성과 연관관계와 그 기전에 대해서는 아직 많은 부분 밝혀지지 못했으나 VEGF가 만성저산소증 환경 하에서 뇌의 적응을 위한 유발인자인 것은 분명하다.

저산소증과 세포흥분성독성(excitotoxicity)

저산소증에 의한 뇌손상은 일련의 흥분성 세포독성에 의해 일어나는 것으로 보고되었으며, 여기에 관여하는 세포독성 기전으로는 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체의 활성화에 의한 세포사멸, nitric oxide와 free radical-induced injury, iron toxicity등으로 알려져 있다.⁵⁾ 특히 glutamate excitotoxicity는 저산소증으로 인해 나타나는 뇌세포 손상의 가장 중요한 요인 중의 하나로 보고되고 있다.¹⁵⁾

Ikonomidou 등¹⁶⁾은 성숙된 뇌세포 보다 미성숙한 뇌세포가 만성 저산소 환경에 더욱 민감하게 반응하여 쉽게 손상되는 원인은 흥분성 아미노산(excitatory amino acids)의 분비가 증가함에 있다고 보고하였다. Bittgau 등¹⁷⁾은 미성숙한 뇌에서의 glutamate receptor의 분포와 저산소증에 의한 뇌손상의 부위가 일치한다고 주장하였다. 즉, 저산소증에 의해 유도된 excitatory amino acid, 특히 glutamate에 의해 그 수용체가 과도한 반응을 일으키게 되기 때문에 신경세포의 손상이 쉽게 일어나는 것이다. 특히Glutamate receptor의 일종인 NMDA receptor와 저산소증에 의한 뇌세포 손상과의 연관관계에 대해서는 잘 알려져 있는데 NMDA receptor에 의한 흥분성세포독성은 신경세포의 apoptosis를 유도하여 결국은 뇌세포 손상을 초래하게 된다고 보고하였다.¹⁸⁾

실례로 신생아에 있어 저산소증으로 인한 뇌손상을 치료하기 위한 방법으로 약물을 이용하는 방법과 비약물적인 방법 등이 다양하게 이용되고 있는데, 그 중 NMDA receptor에 길항작용을 하는 약물을 이용하여 뇌

신경세포의 사멸을 지연시킬 수 있다는 연구 결과가 발표되었으며,¹⁹⁻²¹⁾ 이러한 결과는 저산소증에 의한 뇌손상이 NMDA receptor와 연관관계가 있음을 증명하는 것이다.

저산소증에 있어 BDNF(brain derived neurotrophic factor)의 신경세포방어.

Neurotrophin family는 5가지의 성장인자로서 구성된다. 가장 먼저 발견된 nerve growth factor (NGF)를 비롯하여, brain derived growth factor, neurotrophin-3, 4, 6 등이 포함된다. 이들은 tyrosine receptor kinases인 trk receptor family와 결합하여 작용한다. Trk receptor family에는 trkA, trkB, trkC등이 있으며 각각의 receptor는 다양한 neurotrophins과 결합하게 된다. 그 중 trkB는 BDNF와 결합하게 된다. 그 외에 neurotrophin과 결합하는 것으로 알려진 receptor로는 p75를 들 수 있는데, 이 receptor는 모든 neurotrophic factor와 결합하여 작용하는 것으로 알려져 있으며, 그 결합의 강도는 trk receptor family에 비해 아주 약한 것으로 알려져 있다. 그러나 p75는 neurotrophic factor와 결합하여 신경세포의 생존을 유도할 뿐만 아니라, neurotrophic factor의 전구물질인 pro-neurotrophin과 결합하여 신경세포의 apoptosis를 유발하는 것으로 알려져 있다²²⁾.

Neurotrophic factor의 일종인 BDNF는 발달 중인 중추 신경계나 말초 신경계에서 신경세포의 발달, 성장, 분화 등을 증진시키는 것으로 알려져 있으며, 손상된 신경세포의 재생에도 관여한다. BDNF는 신경 교세포(glia cell)에서 주로 분비하는 것으로 알고 있으나 최근의 연구에서는 혈관내피세포도 분비하는 것으로 보고되고 있다.

저산소증환경에서 BDNF는 신경세포를 방어하는 역할을 하는 것으로 보고 있다. 저산소증 동물모델에서 BDNF를 뇌실강내 주입 (intra-ventricular injection)한 결과 뇌 조직에서 광범위하게 분포하고 있는 trkB의 phosphorylation이 현저하게 증가하였으며, BDNF를 주입하지 않은 대조실험군에 비해 신경손상의 정도가 현저히 낮았다는 것을 발견하였다. 결국 BDNF와 trkB의 결합에 의해 caspase 3의 활성화를 억제함으로써 apoptosis로부터 신경세포들을 구출하는 것으로 생각하

고 있다. 그 신호전달체계는 AKT pathway 보다는 ERK pathway를 통하는 것으로 추정된다.

또한 만성저산소증은 astrocyte나 brain endothelial cell에서의 BDNF의 생산과 분비를 현저히 증가시킨다. 이러한 보고들과 실험 결과들은 BDNF가 저산소증에 의한 뇌세포의 apoptosis를 막아주는 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

BDNF는 excitotoxicity를 막아준다.

Chronic hypoxia에 의해 발생하는 excitotoxicity와 neurotrophic factor와의 관계는 최근에 들어 다양한 연구가 이루어지고 있다. 많은 연구자들은 neurotrophic factor의 신경세포 방어기능 (neuroprotective function)이 저산소증에 의해 나타나는 excitotoxicity에도 작용하여, 그것을 감소시킴으로 신경세포의 손상을 줄일 것이라고 생각하고 있다²³⁾.

배양된 소뇌의 과립신경세포(granule cell)에 BDNF를 투여한 결과 glutamate receptor의 일종인 NMDA receptor 2의 발현을 감소시키는 것으로 보고되었다.^{23,24)} 또한 1차 배양된 대뇌피질 신경세포에NGF나 BDNF를 투여했을 때 소뇌의 신경세포와 마찬가지로 신경세포의 손상이 감소하였다²⁵⁾. 이러한 연구들은 BDNF가 excitotoxicity로부터 신경세포 손상을 억제할 수 있음을 제시하는 것이다.

저산소증에서 BDNF가 뇌에서 혈관형성(angiogenesis)를 유도한다.

그 동안 저산소증에서 뇌의 혈관형성을 증가시키는 것은 VEGF등의 cytokine의 작용으로 알려져 왔다. 그러나 최근 BDNF가 혈관내피세포나 혈관 평활근 근육세포에서도 합성, 분비된다는 사실이 보고 되었다²⁶⁾. 또한 BDNF가 심장근내(intracardiac)혈관의 내피세포를 보호하여 혈관을 안정화 시키는 작용도 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 실험 결과들은 BDNF가 혈관내피세포에도 어떤 영향을 미치는 것으로 가정할 수 있다. 또한 발생 중인 심장에 BDNF를 투여한 결과 모세혈관이 증가하였고, 배양된 심장의 혈관내피 세포를 BDNF가 투여된 배

양액에서 배양한 결과 trkB 수용체의 활성화를 통해 혈관내피세포의 생존율이 증가하였음을 알게 되었다²⁷⁾. 이러한 결과들은 BDNF가 신경세포뿐만 아니라 혈관내피세포에 있어서도 생존과 관련된 기능이 있음을 제시한다. Kim 등²⁸⁾은 BDNF가 RBE4 cell (brain-derived endothelial cell)의 생존율을 증가시키고 혈관형성을 유도한다는 것이 보고되었다. 이때 BDNF는 그 수용체인 trkB를 활성화시키고 AKT를 인산화 (phosphorylation)하는 AKT pathway를 통하여 caspase 3의 활성화를 억제시킴으로써, RBE4 cell의 생존을 유도하게 된다고 하였다. 또한 RBE4 cell을 3차원 배양하여, 저산소증에서의 기능을 확인한 결과 BDNF를 투여한 세포들은 저산소증 하에서도 혈관형성이 활발하게 일어났다고 보고하였다. 이러한 결과들은 BDNF가 저산소증에서 신경세포의 생존을 유도할 뿐만 아니라 대뇌의 혈관내피세포의 생존과 혈관형성을 증가시킴으로써 신경조직이 저산소증에 적응할 수 있도록 유도한다는 것을 설명한다.

결론

최근의 저산소증, 특히 신생아의 저산소증에서 신경 손상의 기전을 밝히고 그 치료법을 개발하는 분야에 많은 관심이 모아지고 있으며, 또한 그 기술이 발전하고 많은 지식이 쌓여온 것이 사실이다. 이러한 노력들은 BDNF와 VEGF 같은 cytokine들의 신경조직에서의 역할에 초점이 맞추어져 왔다. VEGF가 저산소증에서 혈관재형성에 관여한다는 것과 최근에 밝혀진 신경세포방어 기능은 VEGF가 저산소증의 치료에 있어 가능성을 열어 준 것으로 큰 의미가 있다. BDNF 역시 신경세포 방어 기능 외에도 혈관내피세포의 생존과 혈관형성에 작용을 하는 것은 저산소증에서 약물에 의한 치료법의 개발에 또 하나의 방향을 제시해 준다.

VEGF의 경우 강력한 신경세포에 대한 방어 기능과 혈관재형성 기능이 현저함에도 불구하고 저산소증의 저산소증 초기에 신경조직의 부종 등의 부작용을 유발한다. 그러나 최근의 연구에서 BDNF와 VEGF의 상호 작용(cross-talk)이 존재하는 것으로 나타났다 이는 BDNF가 VEGF와의 상호작용에 의해 부작용을 감소시키며, 신경세포방어를 증폭시킬 수 있는 것으로 생각된다.

그러므로 BDNF의 신경세포 방어기전과 VEGF와의 상호 작용에 관한 많은 연구가 이루어지면 저산소증의 후유증을 감소시킬 수 있는 방법을 연구하는 데 많은 진전이 있을 것이다.

참고 문헌

1. Vannucci RC: Experimental biology of cerebral hypoxia-ischemia: relation to perinatal brain damage. *Pediatr Res* 27:317-26, 1990
2. Bernaudin M, Tang Y, Reilly M, Petit E, Sharp FR: Brain genomic response following hypoxia and re-oxygenation in the neonatal rat. Identification of genes that might contribute to hypoxia-induced ischemic tolerance. *J Biol Chem* 277:39728-38, 2002
3. Vannucci RC, Christensen MA, Stein DT: Regional cerebral glucose utilization in the immature rat: effect of hypoxia-ischemia. *Pediatr Res* 26:208-14, 1989
4. Yager JY, Thornhill JA: The effect of age on susceptibility to hypoxic-ischemic brain damage. *Neurosci Biobehav Rev* 21: 167-74, 1997
5. Vexler ZS, Ferriero DM: Molecular and biochemical mechanisms of perinatal brain injury. *Semin Neonatol* 6:99-108, 2001
6. Hack M, Friedman H, Fanaroff AA: Outcomes of extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 98:931-7, 1996
7. Bregman J. and E. E. Farrell. Neurodevelopmental outcome in infants with bronchopulmonary dysplasia. *Clin Perinatol* 19(3): 673-94, 1992.
8. Harik SI, Behm RA, LaManna JC: Hypoxia increases glucose transport at blood-brain barrier in rats. *J Appl Physiol* 77:896-901, 1994
9. LaManna, J. C., L. M. Vendel, et al. Brain adaptation to chronic hypobaric hypoxia in rats. *J Appl Physiol* 72(6): 2238-43, 1992.
10. Chow J, Ogunshola O, Fan SY, Li Y, Ment LR, Madri JA: Astrocyte-derived VEGF mediates survival and tube stabilization of hypoxic brain microvascular endothelial cells in vitro. *Brain Res Dev Brain Res* 130:123-32, 2001
11. Ment LR, Stewart WB, Fronc R, Seashore C, Mahooti S, Scaramuzzino D, Madri JA: Vascular endothelial growth factor mediates reactive angiogenesis in the postnatal developing brain. *Brain Res Dev Brain Res* 100: 52-61, 1997.
12. Ogunshola OO, Stewart WB, Mihalcik V, Solli T, Madri JA, Ment LR: Neuronal VEGF expression correlates with angiogenesis in postnatal developing rat brain. *Brain Res Dev Brain Res* 119:139-53, 2000
13. Minchenko A, Bauer T, Salceda S, Caro J: Hypoxic stimulation of vascular endothelial growth factor expression in vitro and in vivo. *Lab Invest* 71:374-9, 1994
14. Pe'er J, Shweiki D, Itin A, Hemo I, Gnessin HK, Keshet E:

- Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal cells is a common factor in neovascularizing ocular diseases. *Lab Invest* 72:638-45, 1995.
15. McDonald JW, Johnston MV: Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. *Brain Res Brain Res Rev* 15: 41-70, 1990
 16. Ikonomidou C, Mosinger JL, Salles KS, Labruyer J, Olney JW: Sensitivity of the developing rat brain to hypobaric/ischemic damage parallels sensitivity to N-methyl-aspartate neurotoxicity. *J Neurosci* 9: 2809-18, 1989
 17. Bittigau P, Sifringer M, Pohl D, Stadthaus D, Ishimaru M, Shimizu H, Ikeda M, Lang D, Speer A, Olney JW, Ikonomidou C: Apoptotic neurodegeneration following trauma is markedly enhanced in the immature brain. *Ann Neurol* 45:724-35, 1999
 18. Ishimaru MJ, Ikonomidou C, Tenkova TI, Der TC, Dikranian K, Sesma MA, Olney JW: Distinguishing excitotoxic from apoptotic neurodegeneration in the developing rat brain. *J Comp Neurol* 408:461-76, 1999
 19. McDonald JW, Silverstein FS, Johnston MV: MK-801 pretreatment enhances N-methyl-D-aspartate-mediated brain injury and increases brain N-methyl-D-aspartate recognition site binding in rats. *Neuroscience* 38: 103-13, 1990
 20. McDonald JW, Silverstein FS, Johnston MV: Magnesium reduces N-methyl-D-aspartate(NMDA)-mediated brain injury in perinatal rats. *Neurosci Lett* 109:234-8, 1990
 21. McDonald JW, Silverstein FS, Cardona D, Hudson C, Chen RJ, Johnston MV: Systemic administration of MK-801 pretreatment al. Systemic administration of MK-801 protects against N-methyl-D-aspartate- and quisqualate-mediated neurotoxicity in perinatal rats. *Neuroscience* 36: 589-99, 1990
 22. Lee R, Kermani P, Teng KK, Hempstead BL: Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* 294: 1945-8, 2001
 23. Brandoli C, Sanna A, De Bernaldi MA, Folesa P, Brooker G, Mocchetti I: Brain-derived neurotrophic factor and basic fibroblast growth factor downregulate NMDA receptor function in cerebellar granule cells. *J Neurosci* 18:7953-61, 1998
 24. El Idrissi A, Trenkner E: Growth factors and taurine protect against excitotoxicity by stabilizing calcium homeostasis and energy metabolism. *J Neurosci* 19:9459-68, 1999
 25. Kume T, Nishikawa H, Tomioka H, Katsuki H, Akaike A, Kaneko S, Maeda T, Kihara T, Shimohama S: p75-mediated neuroprotection by NGF against glutamate cytotoxicity in cortical cultures. *Brain Res* 852:279-89, 2000
 26. Nakahashi T, Fujimura H, Altar CA, Li J, Kambayashi J, Tandon NN, Sun B: Vascular endothelial cells synthesize and secrete brain-derived neurotrophic factor. *FEBS Lett* 470:113-7, 2000
 27. Donovan MJ, Lin Mi, Wiegand P, Ringstedt T, Kraemer R, Hahn R, Wang S, Ibanez CF, Rhee S, Hempstead BL: Brain derived neurotrophic factor is an endothelial cell survival factor required for intramyocardial vessel stabilization. *Development* 127:4531-40, 2000
 28. Kim H, Li Q, Hempstead BL, Madri JA : Paracrine and autocrine functions in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) in brain-derived endothelial cells. *J Biol Chem* 279:33538-33546, 2004