MK-801 처치와 지구성 훈련이 심근의 혈관생성 반응에 미치는 영향

홍영표¹, 여효성²

¹한국체육대학교 건강교육, ²계명대학교 스포츠과학부

Effect of MK-801 Treatment and Endurance Training on Angiogenic Response in Cardiac Muscle

Youngpyo Hong¹, Hyoseong Yeo²

¹Health Education, Korea National Sport University, Seoul; ²Department of Sport Science, Kyemyung University, Daegu, Korea

PURPOSE: The purpose of this study was to investigate the effects of regular endurance exercise on the changes of angiogenic biomarkers in myocardial tissues of the schizophrenia-induced rats.

METHODS: Twenty-one SD rats were randomly assigned to CON (n=7), MK (n=7) and MK+ET (n=7) groups. MK and MK+ET groups were treated with MK-801 for 2 weeks before endurance training. MK+ET group ran on a rodent treadmill at 22 m/min for 4 weeks (5 days/week, 30 min/day) after the treatment. Protein expressions of NMDA receptor and angiogenic factors (HIF-1 α , VEGF, Flk-1, Ang-1, -2) in myocardial tissue were analyzed by western blot.

RESULTS: Expression of NMDA receptor ($p=.004$), VEGF ($p=.016$), Flk-1 ($p=.001$), Ang-1 ($p=.001$), Ang-2 ($p=.015$) in MK group were significantly lower than in CON group. On contrary, MK+ET group showed no significant expression of NMDA receptor, VEGF and Flk-1 compared to CON group ($p>.05$). Ang-1 ($p=.001$) and Ang-2 ($p=.001$) expression of MK+ET group were significantly lower than those of CON group, whereas Ang-1 expression in MK+ET ($p=.024$) group was higher than that of MK group. In addition, Ang-2: Ang-1 ratio in MK ($p=.001$) group was significantly higher than in CON group, however there was no difference between CON and MK+ET group ($p>.05$).

CONCLUSIONS: These results suggest that the reduction of NMDA receptors by MK-801 may negatively affect the angiogenic responses in myocardial tissue and that regular endurance exercise may have the effect of improving them.

Key words: Schizophrenia, MK-801, NMDA, Angiogenesis, Endurance exercise

서론

정신분열(schizophrenia)은 기능 저하를 동반하는 만성적인 정신의학적 질병으로 항정신성 약물 치료 후에도 재발의 위험과 다양한 질병에 노출될 가능성이 높은 것으로 알려져 있다[1]. 정신분열 환자들은 일반인에 비해 2-3배 더 높은 조기 사망률을 나타내며[2], 기대수명이

20% 더 낮은 것으로 보고된 바 있다[3], 대부분 정신분열 환자의 사망률은 자살(suicide)보다 병리적 질환에 의한 것이며[4], 특히 심혈관 질환에 의한 사망률이 정신분열 환자에서 일반인에 비해 2배 높게 조사된 바 있다[5]. 심혈관질환 중에서도 허혈성 심장질환이 절반 이상을 차지하고[6] 정신분열 환자들은 관상동맥 질환 발병 위험이 1.2-3.6배[7-9], 급성 심장사 발생률이 3배 더 높은 것으로 보고된 바 있다[10]. 그

Corresponding author: Hyoseong Yeo Tel +82-010-9085-3411 E-mail but0918@naver.com

*이 논문 또는 저서는 2016년 대한민국 교육부와 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (NRF-2016S1A5B5A07915763).

Keywords 정신분열증, MK-01, NMDA, 혈관생성, 지구성운동

Received 30 May 2019 Revised 22 Apr 2019 Accepted 29 Apr 2019

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

러나 조기 사망에 대한 해결 방안이나 심혈관 질환 발병에 대한 신뢰할 만한 원인은 밝혀지지 않은 상황이다.

현재 정신분열 환자에 대한 심혈관 질환 발병 증가의 원인을 규명하여 제시한 연구결과는 찾아보기 힘들다. 일반적인 상황에서 심혈관 질환은 심근세포 손실[11] 등의 다양한 요인들에 의해 유발될 수 있으며 또한 혈관의 기능 이상이 세포로의 영양분 공급 저하를 유발함으로써 혈관 기능을 저하시키고 심혈관 질환을 유발할 가능성도 제안되고 있다. 심장의 관류와 혈액 공급은 모세혈관의 수준에 따라 결정되기 때문에[12] 모세혈관 밀도의 감소는 심장의 관류 저하를 야기할 것으로 간주되고 있으며, 대사 요구 증가에도 불구하고 산소와 영양분의 비효율적인 공급은 병리적 비대에서 나타나는 저산소, 심근세포 손실과 섬유화와 같은 상태를 야기할 수 있다[13]. 모세혈관과 심근 성장 간의 불균형은 생리적 비대로부터 심부전으로의 전환을 유발하는 핵심적인 원인으로 판단되고 있으며[14], 이에 따라 모세혈관의 적절한 수준을 유지하는 것이 심혈관 질환 발병을 감소시키는 중요한 요인으로 여겨진다. 그뿐만 아니라 심근 조직의 모세혈관을 생성하는 데 있어 핵심적인 지표인 vascular endothelial growth factor (VEGF)는 확장성 심근병증(dilated cardiomyopathy)과 심부전(heart failure) 환자에서 감소되는 것으로 보고된 바 있다[15].

한편 정신분열 환자의 경우 혈액, 뇌척수액, 그리고 사후(post-mortem) 뇌에서 다양한 증거들을 통해 VEGF를 포함한 혈관생성(angiogenesis) 관련 지표인 hypoxia-inducible factor (HIF), insulin growth factor-1 (IGF-1), basic fibroblast growth factor (bFGF)의 발현 이상이 관찰되어 왔다[16-18]. 정신분열증 환자 뇌의 배측면 전두엽 피질(dorsolateral prefrontal cortex)에서 VEGF mRNA 발현이 저하되는 것이 관찰되었고[16] 이것은 국부적인 혈류의 이상을 유도하는 병리적 혈관생성(pathologic angiogenesis)을 나타낸다[19]. 그러나 정신분열증 환자가 심혈관 질환에 의해 조기 사망함에도 불구하고 현재까지 정신분열을 가진 개체의 심장 조직에서 혈관생성 지표의 변화를 관찰한 연구는 미흡한 상황이다.

정신분열증 환자에 대한 치료 방법은 극히 제한적인 것으로 여겨지고 있으나[20], 일반적으로 지구성 운동이 인지 기능[21,22]뿐만 아니라 유산소성 기능[23]을 개선하는 것으로 알려져 있다. Swain et al. [24]의 연구에서는 운동(30일 이내)이 특히 뇌의 운동피질(motor cortex)에서 모세혈관(혈관신생 지표)의 빠른 성장을 유도함으로써 혈류가 증가되는 결과와 함께 운동이 뇌의 혈관기능을 개선시킬 가능성을 보고한 바 있다. 또한 최근에는 정신분열 환자를 대상으로 지구성 운동 수행 후 심폐기능의 개선을 보고한 연구결과가 제시된 바 있다[25]. 그러나 정신분열증 환자의 심근 조직에서 지구성 운동을 통한 혈관신생 지표들의 발현 정도를 관찰한 연구는 찾아보기 힘들다.

종합하면 정신분열증이 심혈관 질환 발병을 증가시킴으로써 조기

사망을 일으키는 것으로 보이나 명확한 원인이 제시되지 않고 있으며, 특히 심혈관 질환 발병에 영향을 미치는 혈관기능 측면에서의 접근이 요구될 것으로 보인다. 또한 운동은 혈관생성 과정을 통해 혈관기능의 개선을 유도하는 효과적인 방법이 될 수 있으나 현재까지 정신분열과 운동을 대상으로 심근 조직의 혈관생성 지표들의 증감을 제시한 연구는 매우 미흡한 상황이다. Mk-801은 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체의 길항제 중 하나로 정신분열 증상을 유도하기 위해 사용되는 약물이다[26]. 뇌의 해마에서 글루타메이트(glutamate) 수용체인 NMDA의 활성화는 칼슘(Ca^{2+})의 세포 내 유입을 조절함으로써 신경전달과 학습에 관여하며[27], mk-801은 NMDA 채널의 펜시클리딘(phencyclidine) 부위에 결합하여 칼슘의 세포 내 유입을 억제하고 흥분성 손상을 유도함으로써[28] 궁극적으로 정신분열과 매우 유사한 상태를 유발한다[29]. 심장 조직에서도 mk-801과 NMDA 수용체 간의 관련성[30] 및 NMDA와 혈관생성지표인 VEGF와의 상호작용[31]을 제시한 연구결과가 보고된 바 있으므로 mk-801 처치를 통해 정신분열을 유도하고 심근에서 혈관생성지표들의 변화를 관찰하고 운동의 효과를 확인하는 것은 정신분열 환자에 대한 의미 있는 생리적 정보를 제시할 수 있을 것으로 보인다.

따라서 이 연구는 실험용 흰쥐를 대상으로 mk-801을 처치함으로써 정신분열증을 유발하고 규칙적인 지구성 운동훈련을 수행하여 심근 조직에서 나타나는 혈관생성 지표인 HIF-1 α , VEGF, fetal liver kinase-1 (Flk-1), Angiopoietin-1 (Ang-1), Angiopoietin-2 (Ang-2)의 변화를 관찰하고자 수행되었다.

연구 방법

1. 연구 대상

이 연구에서 사용된 실험동물은 총 21마리의 흰쥐(Sprague-Dawley rat, 4주령)이며, 연구 목적에 따라 대조집단(control, CON), MK-801 처치집단(mk-801 treatment, MK), MK-801 처치+지구성 훈련집단(mk-801 treatment+exercise training, MK+ET)으로 구분하였다. 집단 당 7마리씩 배정하였다. 실험종료 시까지 탄수화물 67.5%, 지방 11.7%, 단백질 20.8%가 포함된 고형 사료를 자유식이하였으며 적절한 사육 환경(온도 $22 \pm 2^{\circ}C$, 습도 50-60%, 조명 12/12시간)을 조성하여 유지하였다. 실험동물에 대한 기본특성은 Table 1에 제시하였다.

Table 1. Characteristics of animals

	CON	MK	MK+EX
Body weight (g)	417.57 $\pm$ 31.08	464.57 $\pm$ 24.67	453.00 $\pm$ 14.94
Heart weight (g)	1.64 $\pm$ 0.40	1.57 $\pm$ 0.30	1.46 $\pm$ 0.14
Heart weight/ Body weight (%)	0.35 $\pm$ 0.08	0.34 $\pm$ 0.07	0.32 $\pm$ 0.03

2. 실험 절차

실험 개시 후 종료 시까지 매주 모든 실험동물의 체중 및 식이량의 변화를 관찰하여 이상 증세를 보일 시 분석에서 배제하였다. 훈련 개시 전 MK 집단과 MK+ET 집단은 2주간 MK-801 처치를 실시하였고 MK+ET 집단은 MK-801 처치 후 총 4주간의 지구성 훈련을 실시하였다. 전반적인 실험절차는 Fig. 1에 제시하였다.

1) MK-801 처치 방법

총 2주간의 기간 동안 MK 집단과 MK+ET 집단의 실험동물을 대상으로 mk-801 0.2 mg/kg을 saline 2 mL/kg에 희석하여 복강 내 투여하였다. CON 집단의 경우에도 복강 내 주입에 의한 스트레스를 동일하게 적용하기 위해 같은 기간 동안 saline 2 mL/kg을 투여하였다. mk-801 처치는 mk-801 처치 후 NMDA 수용체가 현저히 감소된 선행연구 방법을 따라 수행되었다[32].

2) 지구성 훈련 방법

Mk-801 처치를 마친 MK+ET 집단은 실험동물용 트레드밀(DJ2-242, Dual Treadmill, Daejeon, Korea)을 이용하여 총 4주간 주 5회, 하루 30분씩 지구성 훈련을 수행하였다. 사전 적응을 위해 1주간 3 m/min의 속도로 10분씩 운동 후 본 훈련을 실시하였다. 본 훈련 시 속도는 점진적으로 22 m/min의 속도까지 증가시켰다[33].

3. 분석 방법

1) 실험동물 해부 및 표본 추출

실험동물의 심근 조직은 Fig. 1의 실험설계를 바탕으로 추출하였다. 지구성 훈련이 종료된 후 48시간 시점에 각 집단(CON, MK, MK+ ET)의 복강 내에 마취제(xylazine 8 mg/kg+ketamine 40 mg/kg)를 주입시켜 마취시켰다. 심장의 좌심실 표본을 얻어 액화 질소(-180°C)에 급속 냉동시킨 후 분석이 이루어질 때까지 -70°C에서 보관하였다.

2) 단백질 분석

NMDAR1, HIF-1 α , VEGF, Flk-1, Ang-1, Ang-2 단백질의 분석을 위해 western blotting 방법을 사용하였다. 먼저, 좌심실 조직을 30 mg 단위로 동일하게 절편 후 lysis buffer (25 mM Tris-Cl [pH 7.5], 250 mM NaCl, 5 mM EDTA, 1% NP-40, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride [PMSF], 5 mM dithiothreitol [DTT])를 300 μ L를 첨가하여 4°C에서 30분간 배양하였다. 그 후 14,000 rpm으로 30분간 원심분리한 후 얻어진 상층액에서 단백질 농도를 분석하여 정량하였다. 정량 후 상층액을 다른 e-tube에 옮겨 2X SDS loading buffer (60 mM tris pH 6.8, 25% glycerol, 2% SDS, 14.4 mM 2-mercaptoethanol, 0.1% Bromophenol Blue)를 혼합한 후에 100°C에 10분 가열하고 얼음에서 10분 배양 후 다시 14,000 rpm으로 10분간 원심분리(4°C)하여 사용하였다. 준비된 샘플은 스탠다드 마커(SDS-PAGE Molecular Weight Standards, BioRad)와 함께 준비된 10% separating gel (30% acrylamide, 1.5 M tris pH 8.8, 10% SDS, 10% Ammonium persulfate, TEMED)과 5% stacking gel (30% acrylamide, 1 M tris pH 6.8, 10% SDS, 10% Ammonium persulfate, TEMED)의 각 well에 분주하였으며, 80 V에서 샘플이 바닥에 닿을 때까지 2시간 정도 전기영동을 수행하였다. Nitrocellulose membrane (Bio-rad, USA)과 Transfer buffer (190 mM glycine, 50 mM Tris-base, 0.05% SDS, 20% methanol)로 적신 3M paper (Whatman)를 차례로 겹쳐 Mini trans-blot cell (Bio-Rad, CA, USA)에 장치한 후 60 V로 2시간 동안 전사하여 membrane으로의 증착을 종료한 후, 5% BSA 용액(10 mM Tris-base, HCl-pH7.6, 0.5 M NaCl, 0.05% Tween20)으로 90분 동안 blocking 과정을 실시하였다. Blocking 종료 후, anti-NMDAR1 (Ab-890, EnoGene Biotech, NY), anti-HIF-1 α (sc-13515, Santa Cruz biotechnology, CA), anti-VEGF (sc-7269, Santa Cruz biotechnology, CA), anti-Flk-1 (sc-6251, Santa Cruz biotechnology, CA), anti-Angiopoietin-1 (sc-6320, Santa Cruz biotechnology, CA), anti-Angiopoietin-2 (sc-7015, Santa Cruz biotechnology, CA), anti-b-actin (sc-47778, Santa Cruz biotechnology, CA)

Fig. 1. Experimental design.

을 1:1,000의 비율로 희석하여 1차 항체를 4°C에서 overnight하였다. 1차 항체를 걷어내고 1X TBS-T 용액으로 10분씩 3차례 세척한 후 2차 항체를 1:5,000 농도로 희석하여 90분 동안 처리한 후 다시 세척하였다. WB LR solution에 membrane을 넣고 발색시킨 후 이미지 분석 시스템 (Molecular Imager ChemiDoc XRS System, Bio-Rad, USA)에 의해 얻어진 밴드를 통해 최종적으로 단백질량을 분석하여 결과에 사용하였다.

4. 자료 처리

자료분석을 위해 SPSS/PC+Version 18.0 프로그램을 사용하였다. 각 집단(CON, MK, MK+ET)에 따른 심근의 단백질 농도를 비교분석하기 위해 일원변량분석(One-way ANOVA) 방법을 적용하였으며, 사후검증은 Tukey 방법을 사용하였다. 통계적 검증 수준은 $p = .05$ 로 설정하였다.

연구결과

1. MK-801 처리와 지구성 훈련 후 NMDA receptor 발현의 차이

NMDA 수용체의 단백질 발현은 집단 간 차이를 나타냈다($F = 6.908$, $p = .006$). CON 집단에 비해 MK 집단의 NMDA 수용체는 유의하게 낮은 반면($p = .004$, -42.7%), MK+ET 집단은 차이를 보이지 않았다($p = .150$)(Fig. 2).

2. MK-801 처리와 지구성 훈련 후 HIF-1 α 발현의 차이

HIF-1 α 단백질 발현은 집단 간 차이를 보이지 않았다($F = 1.096$, $p = .356$). CON 집단에 비해 MK 집단의 HIF-1 α 단백질 발현은 낮은 경향($p = .034$, -16.9%)을 보였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았으며, MK+ET 집단과도 차이가 없었다($p = .897$)(Fig. 3).

Fig. 2. Differences of NMDA receptor protein expression between groups after MK-801 treatment and endurance training.

Fig. 4. Differences of VEGF protein expression between groups after MK-801 treatment and endurance training.

Fig. 3. Differences of HIF-1 α protein expression between groups after MK-801 treatment and endurance training.

Fig. 5. Differences of Flk-1 protein expression between groups after MK-801 treatment and endurance training.

3. MK-801 처치와 지구성 훈련 후 VEGF 발현의 차이

VEGF 단백질 발현은 집단 간 차이를 나타냈다($F=7.121, p=.005$). CON 집단에 비해 MK 집단의 VEGF 단백질 발현은 유의하게 낮게 나타났다($p=.016, -24.4\%$), MK+ET 집단과는 차이가 없었다($p=.949$). 한편, MK 집단과 MK+ET 집단 간 VEGF 단백질 발현은 유의한 차이를 나타냈다($p=.008, +35.4\%$)(Fig. 4).

4. MK-801 처치와 지구성 훈련 후 Flk-1 발현의 차이

Flk-1 단백질 발현은 집단 간 차이를 나타냈다($F=10.419, p=.001$). CON 집단에 비해 MK 집단의 Flk-1 단백질 발현은 유의하게 낮게 나타났다($p=.001, -21.1\%$), MK+ET 집단과는 차이가 없었다($p=.065$)(Fig. 5).

5. MK-801 처치와 지구성 훈련 후 Ang-1 발현의 차이

Ang-1 단백질 발현은 집단 간 차이를 나타냈다($F=53.398, p=.001$). CON 집단에 비해 MK 집단의 Ang-1 단백질 발현은 유의하게 낮게 나

Fig. 6. Differences of Ang-1 protein expression between groups after MK-801 treatment and endurance training.

Fig. 7. Differences of Ang-2 protein expression between groups after MK-801 treatment and endurance training.

타났으며($p=.001, -56.9\%$), MK+ET 집단에서도 낮게 나타났다($p=.001, -40.4\%$). 또한, MK 집단과 MK+ET 집단 간에도 Ang-1 단백질 발현의 유의한 차이가 나타났다($p=.024, 38.4\%$)(Fig. 6).

6. MK-801 처치와 지구성 훈련 후 Ang-2 발현의 차이

Ang-2 단백질 발현은 집단 간 차이를 나타냈다($F=14.926, p=.001$). CON 집단에 비해 MK 집단의 Ang-2 단백질 발현은 유의하게 낮게 나타났다($p=.015, -19.2\%$), MK+ET 집단에서도 낮게 나타났다($p=.001, -33.2\%$). 반면 MK 집단과 MK+ET 집단 간에는 Ang-2 단백질 발현의 차이가 없었다($p=.081$)(Fig. 7).

7. MK-801 처치와 지구성 훈련 후 Ang-2:Ang-1 ratio의 차이

Ang-2:Ang-1 ratio는 집단 간 차이를 나타냈다($F=21.304, p=.001$). CON 집단에 비해 MK 집단의 Ang-2:Ang-1 ratio는 유의하게 높게 나타났다($p=.001, 92.2\%$), MK+ET 집단과는 차이를 보이지 않았다($p=.745$). 또한, MK 집단과 MK+ET 집단 간에도 Ang-2:Ang-1 ratio의 유의한 차이가 관찰되었다($p=.001, -42.1\%$)(Fig. 8).

논 의

이 연구는 흰쥐를 대상으로 심근 조직의 혈관생성 지표에 대한 mk-801 처치의 효과와 규칙적인 지구성 훈련의 효과를 종합적으로 관찰함으로써 정신분열을 가진 개체의 심혈관 질환 발병의 잠재적 원인과 개선방법에 대한 기초자료를 제공하고자 수행되었으며, 연구의 주요 결과는 다음과 같다. 먼저 mk-801 처치에 의해 심근 조직의 NMDA 수용체 단백질 농도가 현저히 저하되었으나 지구성 훈련을 수행한 경우 통제집단과 차이를 보이지 않아 지구성 운동을 통한 회복의 가능성이 제시되었다. 혈관생성 지표인 VEGF와 그 수용체인 FLK-1의 농도는 mk-801 처치 후 각각 -24.4%, -21.1% 유의하게 낮았으며 운동을 수행한 경우 통제집단과 차이를 보이지 않음으로써, NMDA 수용체와 유사한 경향을 보이며 감소된 혈관생성 반응이 규칙적인 지구성 훈련에 의해

Fig. 8. Differences of Ang-2:Ang-1 ratio between groups after MK-801 treatment and endurance training.

개선되는 효과를 나타내었다. Ang-1과 Ang-2는 mk-801 처치뿐 아니라 규칙적인 운동 후에도 통제집단에 비해 낮은 농도를 보이며 상이한 결과를 나타냈으나, mk-801 처치에 의해 증가된 Ang-2:Ang-1 ratio의 경우 지구성 운동에 의해 완화되는 긍정적인 효과를 보였다. 따라서 mk-801 처치를 통해 정신분열을 유도한 쥐 심근의 감소된 NDMA 수용체 농도는 혈관생성 지표들의 감소를 수반하며 규칙적인 지구성 훈련은 이를 개선하는 효과를 가지는 것으로 사료된다.

정신분열 발병의 대표적인 원인은 도파민(dopamine)과 글루타메이트 간의 불균형 또는 글루타메이트 수용체의 기능 이상과 같은 도파민의 기능 이상이다[34,35]. 글루타메이트 수용체의 아형 중 하나인 NMDA 수용체의 비정상적인 발현은 정신분열 증상에 기여하는 것으로 제안되어 오고 있다[36]. Mk-801은 NMDA 아형의 길항제이며 중추 신경계로 순조롭게 통과되어[29] 심혈관계 기능에 있어 NMDA 수용체의 역할을 평가하는 데 사용되어 왔다[30]. 이에 따라 이 연구에서는 흰쥐에 mk-801을 처치하여 NMDA 수용체의 농도를 감소시킴으로써 정신분열과 매우 유사한 상태로의 전환을 시도하였으며, 처치 후 심근의 NMDA 수용체 농도는 현저히 감소되었다. 반면 4주간의 규칙적인 지구성 운동은 감소된 심근의 NMDA 수용체의 농도를 개선시키는 효과를 보였으며, 이 연구와 유사하게 반복적인 트레드밀 달리기 운동을 수행시킨 연구에서도 뇌 해마의 NMDA 농도가 mk-801 처치 후 감소되었으나 운동 후 개선되는 효과를 나타낸 바 있다[37]. 따라서 mk-801 처치와 운동에 의한 NMDA 농도의 변화는 뇌 조직뿐 아니라 심근 조직에서도 같은 경향을 가지는 것으로 사료된다. 또한 한 선행연구에서는 mk-801 처치 후 NMDA 수용체의 변화와 함께 고혈압(hypertension)과 빈맥(tachycardia)과 같은 심혈관계의 이상 증상을 나타냈으며 이러한 효과는 뇌 내에서의 활동으로부터 시작된다고 제안한 바 있다[30].

최근, NMDA 수용체와 관련된 신경전달 반응이 혈관내피성장인자 인 VEGF의 증가와 상호 관련성을 가진다는 흥미로운 연구결과가 보고된 바 있다[31]. VEGF는 혈관 기능을 조절하는 대표적인 지표로서 잘 알려져 있을 뿐만 아니라 심근 조직뿐 아니라 뇌에서 발현되어 신경보호 효과를 가지며 신경병리학적 질환 측면에서 효과적인 치료 방법을 규명하기 위해 연구되어 왔다[38,39]. 이 연구에서 심근 조직의 VEGF 단백질 발현은 NMDA수용체와 유사한 양상으로 나타나 mk-801 처치 시 현저히 감소된 반면에 지구성 훈련을 수행한 경우 통제집단과 유사한 수준을 보였다. 또한 이러한 결과는 VEGF의 수용체인 Flk-1 단백질 농도의 변화와 일치하게 나타났으며 HIF-1 α 단백질도 유사한 경향을 보였다. 이러한 결과들은 뇌를 대상으로 정신분열을 유도한 선행연구의 결과와 일치함으로써[24], 심장에서도 NMDA 수용체가 혈관생성 관련 지표들에 영향을 미칠 가능성 또는 정신분열증의 경우 혈관생성 능력이 저하될 가능성을 암시하며 이는 곧 심혈관 기능의 저하로 이어질 것으로 사료된다.

한편, 일반적으로 규칙적인 운동은 고혈압이나 관상동맥질환과 같은 심혈관 질환을 예방하고 치료하는 효과적인 중재방법으로서 심혈관 질환 관련 사망률을 35% 감소시키는 것으로 알려져 있다[40]. 또한 정신분열에 있어도 운동은 인지 기능을 향상시키고 심장 대사질환의 위험성을 낮추며 궁극적으로 삶의 질 향상을 도모할 수 있다[23,41,42]. 이 연구에서는 규칙적인 지구성 훈련을 통해 NMDA 수용체 단백질 농도를 처치 전과 유사한 수준으로 회복시켰으며, 이러한 결과는 혈관생성 지표인 VEGF, Flk-1과 유사한 양상으로 나타남으로써 지구성 훈련이 NMDA 수용체 농도 회복과 함께 저하된 혈관생성 반응을 완화시키거나 개선할 가능성을 제안한다. 이 연구의 결과와 직접적인 비교는 불가하나 심부전증(myocardial infraction)을 가진 mice를 대상으로 총 3일 동안 하루 1시간의 반복적인 운동훈련을 수행시킨 연구에서 심근 조직의 VEGF와 Flk-1 단백질과 mRNA 발현이 모두 증가됨으로써 운동에 의한 VEGF 발현 증가가 심부전증을 완화시키고 혈관생성을 개선시킬 것으로 보고한 바 있다[43]. 또한 노화된 개체를 대상으로 8주간 수영운동을 수행한 연구에서는 심장의 VEGF와 Flk-1 단백질 발현 그리고 모세혈관 밀도가 젊은 개체에 비해 낮았으나, 운동을 수행할 경우 VEGF mRNA와 단백질은 운동하지 않은 노화 개체 심장보다 높게 나타났으며 Flk-1과 모세혈관 밀도는 젊은 개체와 유사한 수준으로 나타나 혈관기능이 저하된 개체에 대한 운동훈련의 효율성을 검증한 바 있다[44].

추가적으로 이 연구에서 Ang-1 단백질 발현은 mk-801 처치에 의해 유의하게 낮게 나타났으나 운동에 의해 일부 회복된 결과를 보였으며 Ang-2의 경우에도 mk-801 처치와 운동에 의해 낮게 나타났다. Ang-1은 내피세포의 증식을 향상시키고 혈관 경색 영역(infarction area)의 혈관 재생장 속도를 증가시키는 주요 혈관생성 지표이며[45], 혈관 내피와 구조를 안정화시킨다[46]. 반대로, Ang-2는 Ang-1의 길항제로서 작용하여 Ang-2가 Ang-1보다 높은 경우 모세혈관의 불안정성이 촉진되어 혈관신생 개시 반응을 유도하는 것으로 알려져 왔다[47]. 그러나 과도한 Ang-2의 수준은 내피를 손상시키고 염증반응[48]을 일으키거나 죽상동맥경화증 진전[49]과 관련되는 것으로 보고된 바 있으며, 높은 Ang-2:Ang-1 ratio는 급성 폐 손상 환자의 사망률과 매우 높은 상관성을 가지는 것으로 제시된 바 있다[50]. 따라서 이 연구 결과에서 비록 Ang-2 단백질이 운동에 의해 감소된 결과를 보였으나, Ang-2:Ang-1 ratio의 경우 mk-801 처치 시 현저히 높은 수준을 보인 반면 지구성 훈련을 통해 낮아짐으로써 운동의 효과를 나타낸 것으로 판단된다.

종합하면, mk-801 처치를 통한 심근 조직의 NMDA 수용체 단백질 발현의 감소는 혈관생성 지표들의 감소를 수반하였으며 반대로 지구성 훈련을 수행할 경우 이를 개선시키는 효과를 가지는 것으로 사료된다. 비록 이 연구에서 심근의 NMDA 수용체와 혈관생성 지표들의 증감이 매우 유사한 양상을 보이며 잠재적인 기전에 대한 가능성을 제시

하였으나, 추후 보다 많은 개체 수를 확보하여 심도 있는 연구를 통해 이들 간의 관련성에 대해 보다 구체적인 정보가 제시되어야 할 것이다. 이 연구의 결과를 바탕으로 정신분열 환자의 적절한 지구성 운동 수행은 심장의 혈관 생성 반응을 개선함으로써 심혈관 질환을 예방하는 데 효율적인 치료방법이 될 것으로 사료되기 때문에 정신분열 환자에 대한 적절한 운동 권고사항이 제시되어야 할 것으로 보인다.

결론

이 연구는 심근의 혈관생성 지표에 대한 mk-801 처치의 효과와 규칙적인 지구성 훈련의 효과를 종합적으로 관찰하고자 수행되었다. mk-801 처치에 의해 심근 조직에서 NMDA 수용체 단백질 발현을 현저히 감소시켰으며 이는 혈관생성 지표인 VEGF와 수용체인 Flk-1 단백질 발현과 유사한 양상을 나타냈다. 반면 지구성 훈련은 NMDA 수용체와 VEGF, Flk-1 단백질 농도를 통제집단과 유사한 수준으로 회복시키는 효과를 나타냈다. Ang-2:Ang-1 ratio의 경우 mk-801 처치 시 높았으나 지구성 훈련에 의해 감소되는 효과를 가지는 것으로 보인다. 이 연구는 정신분열 개체를 대상으로 심근에서 나타나는 혈관생성 반응을 살펴본 초기 연구로서 정신분열을 대상으로 하는 연구분야와 운동 재활 분야에 기초자료로 제공될 것이다.

CONFLICT OF INTEREST

이 논문 작성에 있어서 어떠한 조직으로부터 재정을 포함한 일체의 지원을 받지 않았으며, 논문에 영향을 미칠 수 있는 어떠한 관계도 없음을 밝힌다.

REFERENCES

1. Harvey PD, Green MF, Keefe RS, Velligan DI. Cognitive functioning in schizophrenia: a consensus statement on its role in the definition and evaluation of effective treatments for the illness. *J Clin Psychiatry*. 2004;65(3):361-72.
2. von Hausswolff-Juhlin Y, Bjartveit M, Lindstrom E, Jones P. Schizophrenia and physical health problems. *Acta Psychiatr Scand Suppl*. 2009;(438):15-21.
3. Saha S, Chant D, McGrath J. A systematic review of mortality in schizophrenia: is the differential mortality gap worsening over time? *Arch Gen Psychiatry*. 2007;64(10):1123-31.
4. Laursen TM, Munk-Olsen T, Vestergaard M. Life expectancy and cardiovascular mortality in persons with schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*. 2012;25:83-8.
5. Brown S, Inskip H, Barraclough B. Causes of the excess mortality of schizophrenia. *Br J Psychiatry*. 2000;177:212-7.
6. Olfson M, Gerhard T, Huang C, Crystal S, Stroup TS. Premature mortality among adults with schizophrenia in the United States. *JAMA Psychiatry*. 2015;72(12):1172-81.
7. Goff DC, Sullivan LM, McEvoy JP, Meyer JM, Nasrallah HA, et al. A comparison of ten-year cardiac risk estimates in schizophrenia patients from the CATIE study and matched controls. *Schizophr Res*. 2005;80(1):45-53.
8. Gale CR, Batty GD, Osborn DP, Tynelius P, Rasmussen F. Mental disorders across the adult life course and future coronary heart disease: evidence for general susceptibility. *Circulation*. 2014;129(2):186-93.
9. Hennekens CH, Hennekens AR, Hollar D, Casey DE. Schizophrenia and increased risks of cardiovascular disease. *Am Heart J*. 2005;150(6):1115-21.
10. Manu P, Kane JM, Correll CU. Sudden deaths in psychiatric patients. *J Clin Psychiatry*. 2011;72(7):936-41.
11. Gill C, Mestrlil R, Samali A. Losing heart: the role of apoptosis in heart disease--a novel therapeutic target? *FASEB J*. 2002;16(2):135-46.
12. Kaul S, Jayaweera AR. Myocardial capillaries and coronary flow reserve. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:1399-401.
13. Hein S, Arnon E, Kostin S, Schonburg M, Elsasser A, et al. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart: structural deterioration and compensatory mechanisms. *Circulation*. 2003;107:984-91.
14. Shiojima I, Sato K, Izumiya Y, Schiekofer S, Ito M, et al. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *J Clin Invest*. 2005;115:2108-18.
15. Abraham D, Hofbauer R, Schafer R, Blumer R, Paulus P, et al. Selective downregulation of VEGF-A(165), VEGF-R(1), and decreased capillary density in patients with dilative but not ischemic cardiomyopathy. *Circ Res*. 2000;87:644-7.
16. Fulzele S, Pillai A. Decreased VEGF mRNA expression in the dorso-lateral prefrontal cortex of schizophrenia subjects. *Schizophr Res*. 2009;115(2-3):372-3.
17. Murphy BP, Pang TY, Hannan AJ, Proffitt TM, McConchie M, et al. Vascular endothelial growth factor and brain-derived neurotrophic factor in quetiapine treated first-episode psychosis. *Schizophr Res Treatment*. 2014;2014:719395.
18. Palomino A, González-Pinto A, Martínez-Cengotitabengoa M, Ruiz

- de Azua S, Alberich S, et al. Relationship between negative symptoms and plasma levels of insulin-like growth factor 1 in first-episode schizophrenia and bipolar disorder patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013;44:29-33.
19. Bellani M, Peruzzo D, Isola M, Rambaldelli G, Perlini C, et al. Cerebellar and lobar blood flow in schizophrenia: a perfusion weighted imaging study. *Psychiatry Res*. 2011;193(1):46-52.
20. Green MF, Nuechterlein KH, Gold JM, Barch DM, Cohen J, et al. Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: the NIMH-MATRICES conference to select cognitive domains and test criteria. *Biol Psychiatry*. 2004;56(5):301-7.
21. Kimhy D, Vakhrusheva J, Bartels MN, Armstrong HF, Ballon JS, et al. The impact of aerobic exercise on brain-derived neurotrophic factor and neurocognition in individuals with schizophrenia: a single-blind, randomized clinical trial. *Schizophr Bull*. 2015;41(4):859-68.
22. Kimhy D, Vakhrusheva J, Bartels MN, Armstrong HF, Ballon JS, et al. Aerobic fitness and body mass index in individuals with schizophrenia: Implications for neurocognition and daily functioning. *Psychiatry Res*. 2014;220(3):784-91.
23. Vancampfort D, Rosenbaum S, Probst M, Soundy A, Mitchell AJ, et al. Promotion of cardiorespiratory fitness in schizophrenia: a clinical overview and meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand*. 2015;132(2):131-43.
24. Swain RA, Harris AB, Wiener EC, Dutka MV, Morris HD, et al. Prolonged exercise induces angiogenesis and increases cerebral blood volume in primary motor cortex of the rat. *Neuroscience*. 2003;117(4):1037-46.
25. Yoon S, Ryu JK, Kim CH, Chang JG, Lee HB, et al. Preliminary effectiveness and sustainability of group aerobic exercise program in patients with schizophrenia. *J Nerv Ment Dis*. 2016;204(9):644-50.
26. Yu J, Qi D, Xing M, Li R, Jiang K, et al. MK-801 induces schizophrenic behaviors through downregulating Wnt signaling pathways in male mice. *Brain Res*. 2011;1385:281-92.
27. Li F, Tsien JZ. Memory and the NMDA receptors. *N Engl J Med*. 2009;361(3):302-3.
28. Snyder MA, Gao WJ. NMDA hypofunction as a convergence point for progression and symptoms of schizophrenia. *Front Cell Neurosci*. 2013;7:31.
29. Lim AL, Taylor DA, Malone DT. Consequences of early life MK-801 administration: long-term behavioural effects and relevance to schizophrenia research. *Behav Brain Res*. 2012;227(1):276-86.
30. Lewis SJ, Barres C, Jacob HJ, Ohta H, Brody MJ. Cardiovascular effects of the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 in conscious rats. *Hypertension*. 1989;13(6 Pt 2):759-65.
31. De Rossi P, Harde E, Dupuis JP, Martin L, Chounlamountri N, et al. A critical role for VEGF and VEGFR2 in NMDA receptor synaptic function and fear-related behavior. *Mol Psychiatry*. 2016;21(12):1768-80.
32. Li JT, Su YA, Guo CM, Feng Y, Yang Y, et al. Persisting cognitive deficits induced by low-dose, subchronic treatment with MK-801 in adolescent rats. *Eur J Pharmacol*. 2011;652(1-3):65-72.
33. Lou SJ, Liu JY, Chang H, Chen PJ. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. *Brain Res*. 2008;1210:48-55.
34. Carlsson M, Carlsson A. Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia-implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trends Neurosci*. 1990;13(7):272-6.
35. Carlsson A, Waters N, Carlsson ML. Neurotransmitter interactions in schizophrenia-therapeutic implications. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1999;249(4):37-43.
36. Coyle JT. Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis. *Cell Mol Neurobiol*. 2006;26(4-6):365-84.
37. Park JK, Lee SJ, Kim TW. Treadmill exercise enhances NMDA receptor expression in schizophrenia mice. *J Exerc Rehabil*. 2014;10(1):15-21.
38. Lee BH, Kim YK. Increased plasma VEGF levels in major depressive or manic episodes in patients with mood disorders. *J Affect Disord*. 2012;136(1-2):181-4.
39. Takebayashi M, Hashimoto R, Hisaoka K, Tsuchioka M, Kunugi H. Plasma levels of vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor 2 in patients with major depressive disorders. *J Neural Transm (Vienna)*. 2010;117(9):1119-22.
40. Siddiqui NI, Nessa A, Hossain MA. Regular physical exercise: way to healthy life. *Mymensingh Med J*. 2010;19:154-8.
41. Firth J, Cotter J, Elliott R, French P, Yung AR. A systematic review and metaanalysis of exercise interventions in schizophrenia patients. *Psychol Med*. 2015;45(7):1343-61.
42. Rosenbaum S, Tiedemann A, Sherrington C, Curtis J, Ward PB. Physical activity interventions for people with mental illness: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Psychiatry*. 2014;75(9):964-74.
43. Wu G, Rana JS, Wykrzykowska J, Du Z, Ke Q, et al. Exercise-induced

- expression of VEGF and salvation of myocardium in the early stage of myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;296(2): H389-95.
44. Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Miyauchi T. Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291(3): H1290-8.
45. Rosano JM, Cheheltani R, Wang B, Vora H, Kiani MF, et al. Targeted delivery of VEGF after a myocardial infarction reduces collagen deposition and improves cardiac function. *Cardiovasc Eng Technol*. 2012; 3:237-47.
46. Sawano A, Iwai S, Sakurai Y, Ito M, Shitara K, et al. Flt-1, vascular endothelial growth factor receptor 1, is a novel cell surface marker for the lineage of monocyte-macrophages in humans. *Blood*. 2001;97(3): 785-91.
47. Gale NW, Yancopoulos GD. Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes Dev*. 1999;13(9):1055-66.
48. Jones N, Dumont DJ. Tek/Tie2 signaling: new and old partners. *Cancer Met Rev*. 2000;19:13-7.
49. Merenmies J, Parada LF, Henkemeyer M. Receptor tyrosine kinase signaling in vascular development. *Cell Growth Diff*. 1997;8:3-10.
50. Ong T, McClintock DE, Kallet RH, Ware LB, Matthay MA, et al. Ratio of angiopoietin-2 to angiopoietin-1 as a predictor of mortality in acute lung injury patients. *Crit Care Med*. 2010;38(9):1845-51.