

일회성 트레드밀 운동과 adenosine A₁ 수용체 차단이 해마의 c-fos 발현과 작업기억에 미치는 영향

Effects of acute treadmill exercise and adenosine A₁receptor blockade on hippocampal c-fos expression and working memory

이호철(한국체육대학교 시간강사), 이호성*(한국스포츠정책과학원 분석연구원)

Hyo-Cheol Lee *Korea National Sport University* · Ho-Sung Lee *Korea Institute of Sport Science*

요약

본 연구는 일회성 트레드밀 운동과 adenosine A₁ 수용체 차단이 해마의 c-fos 발현과 작업기억에 미치는 영향에 대해 알아보고자 하였다. 8주령의 C57/BL6 mice(n=120)를 adenosine A₁ 수용체 차단 집단(n=60)과 비차단 집단(n=60)으로 구분한 후 adenosine A₁ 수용체 차단 쥐는 adenosine A₁ receptor inhibitor (DPCPX, 1mg/kg)를 복강 주사하였다. adenosine A₁ 수용체 차단 쥐들은 (1) 통제집단(n=10), (2) 저강도 운동집단(n=10), (3) 저-중강도 운동집단(n=10), (4) 중강도 운동집단(n=10), (5) 고강도 운동집단 A(n=10), (6) 고강도 운동집단 B(n=10)으로 구분하였고, 비차단 쥐들도 같은 조건으로 여섯 집단(통제집단, 저강도 운동집단, 저-중강도 운동집단, 중강도 운동집단, 고강도 운동집단 A, 고강도 운동집단 B)으로 구분하였다. 일회성 트레드밀 운동은 집단별 운동처치에 따라 저강도(10m/min; 30min), 저-중강도(15m/min; 30min), 중강도(20m/min; 30min), 고강도 A(80% max; interval exercise), 고강도 B(all out; interval exercise)로 실시하였다. 작업기억은 Y-maze 행동검사를 통하여 확인하였다. 실험결과, 중강도 운동집단과 고강도 운동집단 A, 고강도 운동집단 B의 해마에서 c-fos 발현이 증가하였으며($p<.05$), 작업기억도 향상되는 것으로 나타났다($p<.05$). 그러나 adenosine A₁ 수용체를 차단한 중강도 운동집단과 고강도 운동집단 A, 고강도 운동집단 B의 작업기억은 유의한 변화가 나타나지 않았으나, 해마의 c-fos 발현은 증가하는 것으로 나타났다($p<.05$). 이상의 결과를 종합하면 중강도 이상의 일회성 트레드밀 운동은 해마의 c-fos 발현을 증가시키고 작업기억을 향상시킨다. 그러나 adenosine A₁ 수용체의 차단은 일회성 중강도 운동과 고강도 운동에 따른 작업기억의 향상을 억제하지만 해마의 c-fos 발현에는 영향을 미치지 못하는 것으로 확인하였다.

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of acute treadmill exercise and blockade of adenosine A₁ receptors(A1R) on c-fos expression and working memory in the hippocampus. C57/bl6 mice(8weeks aged, n=120) were used and divided into two groups; A1R-blocking (n=60), non-blocking (n=60). A1R blocking mice were injected with A1R inhibitor (DPCPX, 1mg/kg) intraperitoneally. The A1R-blocked rats were divided into (1) control group (n=10), (2) low-intensity exercise group (n=10), (3) low to moderate-intensity exercise group (n=10), (4) moderate-intensity exercise group (n=10), (5) high-intensity exercise group A (n=10), (6) high-intensity exercise group B (n=10). Non-blocking mice were also divided into six groups (control group, low-intensity exercise group, low to moderate-intensity exercise group, moderate-intensity exercise group, high-intensity exercise group A, high-intensity exercise group B) under the same conditions. Acute treadmill exercise was performed at low-intensity (10m/min; 30min), low to moderate-intensity (15m/min; 30min), moderate-intensity (20m/min; 30min), high-intensity A (80% max; interval exercise) and high intensity B (all out; interval exercise) according to the group exercise treatment. For working memory, the Y-maze behavioral test was performed. As a result, c-fos expression was increased in the hippocampus of moderate-intensity exercise, high-intensity exercise A, and high-intensity exercise B groups ($p<.05$), and working memory was also improved ($p<.05$). However, there was no significant change in working memory in the moderate-, and high-intensity exercise A, high-intensity exercise B groups in which the A1R was blocked, and c-fos expression in the hippocampus was increased ($p<.05$). Summarizing the above results, acute treadmill exercise of moderate intensity or higher increases hippocampal c-fos expression and working memory. However, it was confirmed that A1R blockade inhibited the improvement of working memory following acute moderate-intensity exercise and high-intensity exercise, but did not affect c-fos expression in the hippocampus.

Key words : acute exercise, adenosine A₁ receptor, c-fos, working memory

*hosung44@naver.com

I. 서론

아데노신(adenosine)의 탈아미노화 과정을 통해 생성되는 이노신(inosine)은 아데노신 수용체를 통하여 활성화 것으로(Welihinda, Kaur, Greene, Zhai, Amento, 2016), 뇌에서 생성된 이노신은 신경계의 활성화에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(Dachir et al., 2014). Ruhul과 Dhir(2018)는 노화 뇌에서의 이노신 증가는 해마(hippocampus) CA 1(cornu ammonis 1) 영역(region)에서 신경세포의 비가역적 응축을 감소시키고 학습과 기억을 개선시킨다고 보고하였으며, 이노신은 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease)으로 인한 인지기능 장애와 뇌조직 손상을 보호할 수 있는 잠재적인 치료 대안으로 제안된 바 있다(Teixeira et al., 2020). 이러한 이노신의 기능은 adenosine 수용체를 통하여 작용하는 것으로(Welihinda, Kaur, Greene, Zhai, Amento, 2016), adenosine A₁ 수용체(adenosine A₁ receptor; A1R)의 경우 뇌에 널리 분포하여 신경 보호(Cunha, 2005) 및 퇴행 관련 기능을 수행하며(Stockwell, Chen, Niazi, Nosib, Cayabyab, 2016), 해마에서는 공간의 부호화(coding) 학습 페러다임 형성(O' Keefe & Nadel, 1978)과 단기 기억력 증가에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(Normile & Barraco, 1991). 결국, 이노신이 신경계에 미치는 생리적인 효과는 adenosine A₁ 수용체 통하여 수행되는 것으로, 운동을 통한 뇌기능 변화에 adenosine A₁ 수용체의 역할이 중요할 것으로 판단된다.

초기 발현 유전자(immediately early gene)인 c-fos는 DNA activator protein-1과 결합하여 후기 유전자의 발현을 조절하며(Curran & Morgan, 1995), 운동과 학습, 스트레스 등의 다양한 신경 자극에 의해 발현이 변화한다(이삼준, 2016; Hughes & Dragunow, 1995; Lee et al., 2003). 해마에서 c-fos 발현은 신경세포의 활성화와 기억 저장에 영향을 미치는 것으로(Vann, Brown, Erichsen, Aggleton, 2000), Guzowski, Setlow, Wanger, McGaugh (2001)은 학습 후 해마의 c-fos 발현 증가는 장기 기억 강화를 향상시킨다고 보고하였으며, 이희혁(2010)은 손상된 뇌 영역의 c-fos 발현 증가는 기억력 향상에 영향을 미친다고 제안한 바 있다. 따라서 일회성 트레드밀 운동에 따른 해마의 c-fos 발현과 작업 기억의 변화를 통하여 일회성 운동이 뇌기능 변화에 미치는 영향을 확인할 수 있으며 이와 더불어 adenosine A₁ 수용체 차단과 c-fos 발현과의 상관성을 함께 살펴봄으로써 일회성 운동이 뇌기능 개선에 미치는 경로(pathway)를 일부 파악할 수 있을 것으로 사료된다.

운동은 기억력과 공간지각능력, 학습력 등 인지기능을 향상시키는 인자로(Patten et al., 2013; Wang et al., 2015; De la Rosa et al., 2019), 장기간의 규칙적인 운동은 뇌 기능을 향상에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다(Mandolesi et al., 2018; Jia, Liang, Xu & Wang, 2019; Ingold, Tulliani, Chan & Liu, 2020). 실제로, Jiang 등(2015)은 쥐를 대상으로 장기간의 트레이닝을 실시한 결과, 학습능력과 기억력이 유의하게 향상되었다고 보고하였으며 이효철(2017)은 12주간의 규칙적인 달리기 운동이 노화 쥐 해마의 신경세포 생성을 증가시키고 단기 기억력을 개선시킨다고 보고하였다. 이외에도 질환이나 손상, 비만과 같은 병리적인 상황에서도 장기

간의 운동 효과는 뇌 기능 개선과 치료에 효과적인 것으로 밝혀졌다(김동현, 방현수, 2016; 윤진환, 지현석, 황부근, 2019; Laurin, Verreault, Lindsay, MacPherson, Rockwood, 2001; Abbot et al., 2004). 그러나 현재까지 일회성 운동이 뇌 해마의 생리적 변화와 기능에 미치는 영향에 대해서는 많은 연구들이 수행되지 않았으며 일회성 운동 강도에 따른 효과 차이도 명확하게 밝혀지지 않았다.

따라서 본 연구에서는 일회성 트레드밀 운동이 쥐 해마의 c-fos 발현과 작업 기억에 미치는 영향에 대해 알아보고 나아가 adenosine A₁ 수용체의 차단이 일회성 운동 효과에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

II. 연구방법

1. 연구대상

본 연구에서 사용한 실험동물은 8주령의 수컷(weight 24.1±1.3g) C57/BL6 mice(Sankyo Lab Service, Tokyo, Japan)로, 총 120마리를 실험동물 사육실에서 사육하였다. 실험동물의 식이와 물은 충분히 공급하였으며 습도와 온도, 명암을 일정하게 조절(습도: 55±3%, 온도: 22±1°C, 밤낮주기: 12시간 light/dark cycle) 하여 사육하였다. 모든 실험동물은 2주간의 환경 적응 후 실험에 착수하였다.

2. 실험절차

실험동물은 2주간의 환경 적응 후 크게 2개의 집단(비차단 집단, n=60, A1R 차단 집단, n=60)으로 구분하였다. A1R 차단 집단은 아데노신 A₁ 수용체를 특정적으로 차단하는 8-cyclopentyl-1, 3-dipropylxanthine(DPCPX) 1mg/kg을 복강 주입하였다(Lee, Gallos, Nasr, Emala., 2004). 이후 운동 처치에 따라 두 집단 모두 대조 집단(n=10), 저강도 운동집단(n=10), 저-중강도 운동집단(n=10), 중강

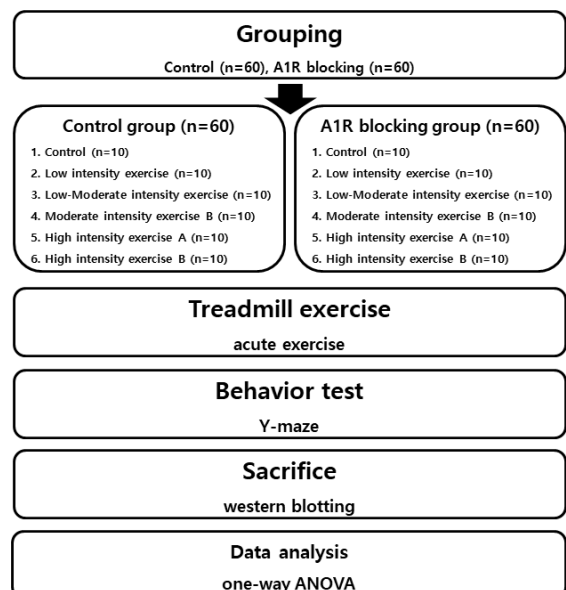


그림 1. 실험절차

도 운동집단(n=10), 고강도 운동집단 A(n=10), 고강도 운동집단 B(n=10)으로 총 12개의 집단으로 구분하였다. 운동을 실시할 쥐들은 트레드밀에 적응하기 위하여 3일간 10m/min의 속도로 10분간 트레드밀 달리기를 실시하였다. 일회성 운동을 마친 후 Y-maze 검사를 실시하였으며, 모든 처치를 마친 쥐는 희생하여 분석하였다. 전체적인 실험절차는 <그림 1>과 같다.

3. 트레드밀 운동

일회성 운동이 해마의 c-fos 발현과 작업기억에 미치는 영향을 확인하기 위해 집단별 강도가 다른 트레드밀 운동을 실시하였다. 운동을 실시하는 모든 운동집단의 쥐들은 본 운동에 앞서 하루 10분씩, 10/min의 속도로 3일간 트레드밀 운동을 실시하여 운동 적응기간을 가졌다. 저강도 운동은 10m/min의 속도로 30분간 트레드밀 운동을 실시하였으며, 저-중강도 운동과 중강도 운동은 30분씩 각각 15m/min와 20m/min의 속도로 운동을 실시하였다. 고강도 운동집단 A는 20m/min 속도로 1분간 달리기와 10초 휴식을 1세트로 총 3세트의 인터벌 운동을 실시한 후 속도를 증가시켜 23m/min의 속도로 1분 달리기와 10초 휴식 인터벌 세트를 총 3회 실시하였다. 고강도 운동 집단 B는 고강도 운동집단 A와 같은 방법으로 인터벌 운동을 실시하였고 3회의 인터벌 세트 이후 속도를 3m/min씩 증가하는 인터벌 세트를 탈진할 때까지 실시하였다. 운동 프로그램은 <그림 2>와 같다.

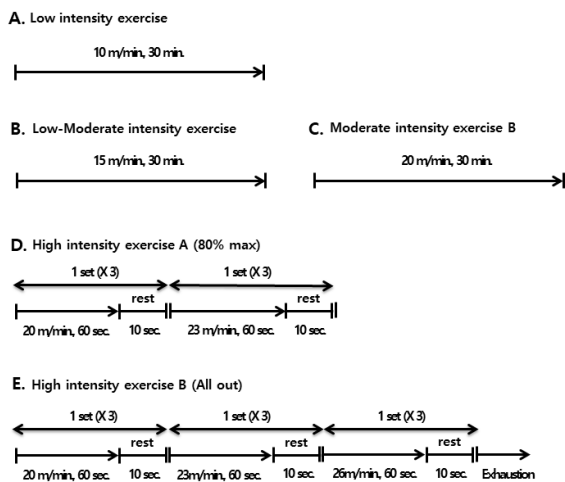


그림 2. 운동 프로그램. (A) Low intensity exercise (10 m/min, 30min), (B) Low-Moderate intensity exercise (15 m/min, 30min), (C) Moderate intensity exercise (20 m/min, 30min), (D) High intensity exercise A (80% max; 20 m/min, 60sec. - Rest, 10sec × 3, 23 m/min, 60sec., 10sec × 3), (E) High intensity exercise B (all out; interval training)

4. Y-maze 검사

쥐들의 작업기억 수준을 확인하기 위하여 Y-maze 검사를 실시하였다. 세 개의 흰색 불투명 플라스틱 가지(arm)가 동일한 각도 (120°)로 연결된 Y자형 미로(길이 25cm, 높이 14cm, 너비 5cm)에

서 검사를 실시하였다. 미로의 중앙에서 출발한 쥐는 A, B, C 영역으로 지정된 가치를 8분간 자유롭게 탐색하였고 이때 움직임을 기록하였다. 실제 변경(actual alternation)은 A → B → C 또는 C → B → A와 같이 3개의 가치를 연속으로 통과한 경우를 말하며, 각 가치에 실험동물의 꼬리까지 들어갔을 때의 횟수와, 각 가치를 차례대로 들어간 경우를 측정해 1점씩 부여하였다. 변경 행동력(alternation behavior)은 세 가지 모두에 겹치지 않게 들어간 것으로 정의하였으며, 작업기억이 좋을수록 자발적 변경 행동력(spontaneous alteration)은 높게 측정된다. 변경 행동력을 계산하는 공식은 다음과 같다.

$$\text{자발적 변경 행동력(\%)} = (\text{실제 변경} / \text{총 변경}) \times 100$$

5. Western blot

쥐의 해마로부터 단백질을 추출하기 위해 해마 조직에 20mM Tris-HCT pH 8.0 1% NP-40, 150mM EDTA, 10% glycerol, 0.1% beta-mercapto ethanol, 0.5mM DTT를 넣고 분쇄하였다. 그 후 4°C에서 12,000rpm으로 10분간 원심분리한 후 상층액의 단백질을 분리하였다. 이후 Bradford법으로 spectrophotometer(Molecular Device Co., USA)를 이용하여 단백질을 정량하였다. 단백질 전기영동은 sodium dodecyl sulfate polyacrylamid gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 시행하였다. 단백질에 sample buffer (0.125M Tris pH 6.8, 2% SDS, 25% glycerol, bromphenol blue, 2-mercaptoethanol)를 섞어 100°C에서 진탕한 후 sample buffer에 녹인 단백질(40μg)을 12%와 15%의 gradient gel에서 전기영동 하였다. 전기영동 시 minigel 전기영동장치(SE 600 Hofer Sci. Ins. USA)를 이용하고 90V의 전압을 가하여 2시간 동안 진행하였다. 전기영동 후 gel을 Coomassie brilliant blue R-250으로 1시간동안 염색시키고 탈염색액(10% acetic acid & 10% methanol)으로 탈색시켜 gel상에서 밴드를 확인하였다. 단백질 transfer 장치(Hoefer Semiphor, Phacia Bio., USA)를 이용하여 120mA에서 2시간 동안 gel의 단백을 0.45μm의 polyvinylidene difluorid (PVDF) 막(Millipore Co., USA)으로 옮겼다. 이 PVDF 막을 일차항체의 비특이적 결합을 차단하기 위하여 Tris buffer saline (TBS)에 3% bovine serum albumin을 녹인 blocking buffer에 넣어 1시간 동안 반응시켰다. 여기에 rabbit 용 일차항체인 c-fos (1:500, Santa Cruz Biotechnology)를 4°C에서 하루 동안 반응시킨 후 0.05% Tween 20-TBS (TBST)를 이용하여 3회 세척하였다. 이 후 이차항체인 goat rabbit IgG conjugated AP (Santa Cruz Biotech, Delaware, USA)를 1:2,000으로 희석하여 1시간 동안 반응시켰다. TBST로 2회 세척 후 alkaline phosphates 용액(0.1M Tris, 0.1M NaCl, 0.01M MgCl2)에 세척하고 여기에 NBT와 BCIP를 넣어 발색시켰다. 밴드의 밀도를 측정하기 위해 imageJ pixel 분석을 실시하였다(NIH Image software).

6. 자료처리

본 연구를 통하여 얻어진 결과는 SPSS/Window Ver. 25.0 프로그램을 이용하여 평균(M)과 표준편차(SD)를 산출하였으며, 집단 간에 유의차 검증을 위하여 One-way ANOVA 분석을 실시하였다. 유의성이 확인될 경우 Tukey를 이용한 사후검증을 실시하였다. 유의수준은 (α)=.05로 설정하였다.

III. 연구결과

1. 작업기억의 변화

일회성 트레드밀 운동과 adenosine A₁ 수용체 차단에 따른 쥐의 작업기억의 변화를 확인하기 위하여 Y-maze 검사를 실시하였다. 실험 결과, 중강도 운동집단과 고강도 운동집단 A, 고강도 운동집단 B의 자발적 변경 행동력이 유의하게 증가하는 것으로 나타났다($p<.05$). 그러나 adenosine A₁ 수용체를 차단한 모든 운동집단에서 자발적 변경 행동력의 변화가 나타나지 않았다(그림 3).

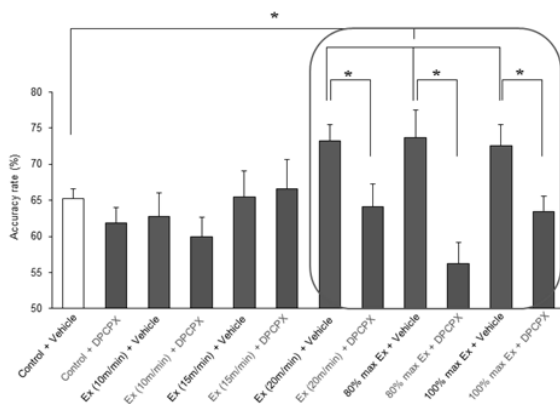


그림 3. 작업기억의 변화. Control, control group; Control + DPCPX, control DPCPX injection group; Ex (10m/min), Low treadmill exercise group; Ex (10m/min) + DPCPX, Low treadmill exercise and DPCPX injection group; Ex (15m/min), Low-moderate treadmill exercise group; Ex (15m/min) + DPCPX, Low-moderate treadmill exercise and DPCPX injection group; Ex (20m/min), moderate treadmill exercise group; Ex (20m/min) + DPCPX, moderate treadmill exercise and DPCPX injection group; 80% max Ex, intense treadmill exercise group A; 80% max Ex + DPCPX, intense treadmill exercise and DPCPX injection group A; 100% max Ex, intense treadmill exercise group B; 100% max Ex + DPCPX, intense treadmill exercise and DPCPX injection group B. Data are presented as the means±standard error of the mean. * $p<.05$ compared to the control group.

2. c-fos 발현 변화

일회성 트레드밀 운동과 adenosine A₁ 수용체 차단에 따른 쥐 해마의 c-fos 발현 변화는 <그림 4>와 같다. 비차단 집단 중 중강도 운동집단과 고강도 운동집단 A, 고강도 운동집단 B의 해마에서 c-fos 발현이 유의하게 증가하는 것으로 나타났으며($p<.05$),

adenosine A₁ 수용체를 차단한 집단에서도 중강도 운동집단과 고강도 운동집단 A, 고강도 운동집단 B의 해마에서 c-fos 발현이 유의하게 증가하는 것으로 나타났($p<.05$).

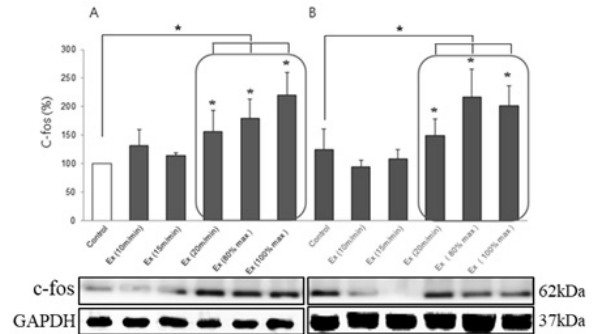


그림 4. c-fos 발현 변화. A) non-blocking (B) A1R blocking. Control, control group; Control + DPCPX, control DPCPX injection group; Ex (10m/min), Low treadmill exercise group; Ex (10m/min) + DPCPX, Low treadmill exercise and DPCPX injection group; Ex (15m/min), Low-moderate treadmill exercise group; Ex (15m/min) + DPCPX, Low-moderate treadmill exercise and DPCPX injection group; Ex (20m/min), moderate treadmill exercise group; Ex (20m/min) + DPCPX, moderate treadmill exercise and DPCPX injection group; 80% max Ex, intense treadmill exercise group A; 80% max Ex + DPCPX, intense treadmill exercise and DPCPX injection group A; 100% max Ex, intense treadmill exercise group B; 100% max Ex + DPCPX, intense treadmill exercise and DPCPX injection group B. Data are presented as the means±standard error of the mean. * $p<.05$ compared to the control group.

IV. 논의

본 연구는 일회성 트레드밀 운동과 adenosine A₁ 수용체 차단이 쥐의 작업기억과 해마의 c-fos 발현에 미치는 영향을 알아보기 위해 실시하였다. 저강도(10m/min, 30min), 저-중강도(15m/min; 30min), 중강도(20m/min; 30min), 고강도 A (80% max), 고강도 B(all out)의 일회성 트레드밀 달리기 운동을 실시하였으며, adenosine A₁ 수용체 차단이 작업기억과 c-fos 발현에 미치는 영향을 확인하기 위하여 adenosine A₁ 수용체 차단제인 DPCPX를 주입하였다. 연구결과, 비차단 중강도 운동과 고강도 운동 A, 고강도 운동 B 집단에서 해마의 c-fos 발현이 증가하였고 작업기억도 향상되는 것으로 나타났다. 그러나 adenosine A₁ 수용체를 차단한 운동집단의 c-fos 발현은 증가하였으나 작업기억의 변화는 나타나지 않았다.

동적인 운동은 국소적인 뇌혈류 흐름(cerebral blood flow; CBF)을 증가시키고(Ide & Secher, 2000), 시냅스의 구조와 신경생성을 자극하여 인지기능을 향상시킨다(Cotman & Engesser-Cesar, 2002; Cotman & Berchtold, 2002). 또한 운동강도의 증가에 따라 뇌 활성 크기가 변화한다(Williamson, McColl, Mathews, Ginsburg, Mitchell, 1999). 또한 탈진 상태에 가까운 수준에서 운동이 수행될 때 최대자극을 받을 수 있으며, 운동명령의 증가는 운동 실행에 관련한 뇌 영역의 대사를 증가시키고(Kayser, 2003) 전체 뇌 대사를 향상시킨다(Williamson, McColl, Mathews, Ginsburg, Mitchell,

1999; Ide & Secher, 2000). 고강도 운동은 adenosine monophosphate (AMP)로부터 adenosine을 동반 생산하여 대사물 이용 가능성에 대한 대사물 수요의 비율을 증가시키며(Dworak, Diel, Voss, Hollmann, Strüder, 2007), 고강도 운동을 통하여 증가한 AMP는 뉴클레오타이드 가수분해효소에 의해 adenosine으로 전환되고 adenosine은 아데노신 탈아미노효소에 의해 이노신으로 전환된다. adenosine으로부터 파생된 이노신은 신경세포 생성과 인지기능 향상에 영향을 미치며 신경세포의 생화학적 기전에 직접적으로 작용해 축삭돌기 성장(Benowitz, Goldberg, Irwin, 1999; Irwin, Li, O'Toole, Benowitz, 2006)과 신경세포의 재생 및 기능을 촉진시킨다(Chen, Stockwell, Cayabyab, 2016). 본 연구에서는 저-중강도로 트레드밀 달리기 운동을 실시한 집단과 80% max 및 all out 트레드밀 운동을 실시한 집단의 작업기억이 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 adenosine 수용체 A₁ 을 차단한 운동 집단에서는 작업기억의 증가가 나타나지 않았다. 이는 adenosine A₁ 수용체의 기능이 제한되어 나타난 결과로, Ohno와 Watanabe(1996)는 해마의 adenosine A₁ 수용체 차단은 신경세포의 기능을 제한함으로써 작업기억을 저하시킨다고 보고하였으며, Von Lubitz, Paul, Bartus, Jacobson(1993)는 길항제로 인한 adenosine A₁ 수용체의 차단은 공간 학습능력과 기억력을 감소시킨다고 보고하였다. 즉, adenosine A₁ 수용체의 차단이 이노신과 adenosine A₁ 수용체의 생리적인 활성을 억제하고 adenosine 수용체의 생화학적 신호전달을 제한함으로써 일회성 운동에 따른 작업기억의 향상이 제한된 것으로 판단된다.

c-fos는 신경계의 활성 정도를 파악할 수 있는 표지자로(Bellchambers, Chieng, Keay, Christie, 1998), 해마에서 c-fos 발현은 장기기억의 형성과(Grimm et al., 1997), 공간기억력 향상에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(He, Yamada & Nabeshima, 2002; Vann, Brown, Erichsen, Aggleton, 2000). 또한 c-fos는 신체 활동 및 여러 생리적 자극을 통해 뇌의 다양한 영역에서 발현하는 것으로, 특히 운동은 c-fos 발현을 유의하게 증가시키는 요인으로 보고되고 있다. 실제로 Lee 등(2003)은 쥐를 대상으로 28일간의 트레드밀 운동을 실시한 결과 해마의 c-fos 발현이 증가하였다고 보고하였으며, 이성호(2010)의 연구에서도 7일간의 수영운동이 쥐 해마의 c-fos 발현을 증가시켰다고 보고하였다. 본 연구에서도 중강도 운동(20m/min)과 고강도 운동(80% max, all out)에서 해마의 c-fos 발현이 증가하는 것으로 나타났으며, 같은 운동 강도의 adenosine A₁ 수용체 차단 집단도 c-fos 발현이 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 해마의 c-fos 발현에 adenosine A₁ 수용체의 차단이 독립적인 영향을 미치지 못한 것으로 시사된다. 실제로 여러 adenosine 수용체 중 adenosine A_{2B} 수용체와 adenosine A₃ 수용체의 경우 adenosine A₁ 수용체와 마찬가지로 extracellular signal-regulated kinase-1, -2 (ERK1/2) signaling을 활성화시켜 c-fos 발현을 자극하는 인자로 보고되고 있으며, adenosine A_{2A} 수용체 또한 변연계의 c-fos 발현에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있다(Pinna, Wardas, Cristalli, Morelli, 1997). 따라서 adenosine

A₁ 수용체의 차단만으로 해마의 c-fos 발현을 억제할 수 없는 것으로 판단되며 일회성 운동에 따른 해마의 c-fos 발현에 adenosine A₁ 수용체의 차단이 독립적인 영향을 미치지 못하는 것으로 판단된다.

V. 결론 및 제언

본 연구는 일회성 트레드밀 운동과 adenosine A₁ 수용체 차단이 쥐의 작업기억과 해마의 c-fos 발현에 미치는 영향에 대해 살펴본 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

첫째, 일회성 중강도 운동(20m/min, 30min)과 고강도 운동 A(80%max), 고강도 운동 B(all out)은 쥐의 작업기억을 유의하게 향상시켰다($p<.05$). 그러나 adenosine A₁ 수용체를 차단한 일회성 운동(중강도, 고강도 A, 고강도 B)의 경우 작업기억의 증가가 나타나지 않았다.

둘째, 일회성 중강도 운동 집단과 고강도 운동 A 집단, 고강도 운동 B 집단의 해마에서 c-fos 발현이 증가하는 것으로 나타났으며($p<.05$), adenosine A₁ 수용체를 차단한 운동집단(중강도, 고강도 A, 고강도 B)의 해마에서도 c-fos 발현이 증가하는 것으로 나타났다($p<.05$).

이상의 결과를 종합하면 일회성 운동 중 중강도 이상의 운동은 작업기억을 향상시키지만 adenosine A₁ 수용체의 차단은 일회성 운동에 따른 작업기억의 향상을 제한하는 것으로 확인하였다. 또한 일회성 중강도 이상의 운동은 해마의 c-fos 발현을 증가시키고, adenosine A₁ 수용체 차단은 일회성 운동에 따른 c-fos 발현 변화에 영향을 미치지 못하는 것으로 확인하였다. 따라서 일회성 운동에 따른 해마의 c-fos 발현에 adenosine A₁ 수용체의 차단이 독립적인 영향을 미치지 못하는 것으로 사료되며 adenosine A₁ 수용체의 차단만으로 c-fos 발현 기전을 확인하는 것은 불가능한 것으로 판단된다. 추후, 운동을 통한 c-fos 발현과 adenosine 수용체와의 관련성을 확인하기 위해 adenosine A₁ 수용체 뿐만 아니라 adenosine A_{2A} 수용체를 포함한 다른 adenosine 수용체와 c-fos 발현과의 상하관련성을 함께 살펴볼 필요가 있으며 이와 함께 운동을 통한 해마의 이노신 발현이 c-fos 활성 신호경로에 미치는 영향을 확인하는 후속연구도 실시되어야 할 것이다.

참고문헌

- 김동현, 방현수. (2016). 허혈성 뇌손상 모델 당뇨쥐의 복합운동프로그램의 효과. **대한지역사회작업치료학회지**, 6(1), 41-48.
- 윤진환, 지현석, 황부근. (2019). 강도별 유산소 운동이 비만 쥐 뇌 조직의 신경 가소성 관련 단백질 발현에 미치는 영향. **한국생물환경학회지**, 26(6), 859-867.
- 이삼준. (2016). 임신 전 운동이 새끼 쥐의 해마 치상회에서 초기 발현 유전자에 미치는 영향. **한국스포츠학회지**, 14(4),

- 이성호. (2010). 흰쥐 해마에서 수영운동이 c-fos, c-jun 발현에 미치는 영향. **한국컨텐츠학회논문지**, 11(1), 245-253.
- 이효철 (2017). 트레드밀 운동이 노화 흰쥐 해마의 성상세포 활성화와 BrdU-/NeuN-positive cells 및 인지기능 변화에 미치는 영향. **한국체육대학교 미간행 박사학위논문**, 한국체육대학교 대학원.
- 이희혁. (2010). 트레드밀 운동이 외상성 뇌손상 흰쥐 해마에서 c-Fos 발현과 기억력에 미치는 영향. **한국생활환경학회지**, 17(6), 702-711.
- Abbott, R. D., White, L. R., Ross, G. W., Masaki, K. H., Curb, J. D., Petrovitch, H. (2004). Walking and dementia in physically capable elderly men. *JAMA*, 292(12), 1447-1453.
- Bellchambers, C. E., Chieng, B., Keay, K. M., and Christie, M. J. (1998). Swim-stress but not opioid withdrawal increases expression of c-fos immunoreactivity in rat periaqueductal gray neurons which project to the rostral ventromedial medulla. *Neuroscience*, 83(2), 517-524.
- Benowitz, L. I., Goldberg, D. E., Irwin, N. (1999). Inosine stimulates axon growth in vitro and in the adult CNS. *Prog Brain Res.*, 137, 389-399.
- Chen, Z., Stockwell, J., Cayabyab, F. S. (2016). Adenosine A1 receptor-mediated endocytosis of AMPA receptors contributes to impairments in long-term potentiation (LTP) in the middle-aged rat hippocampus. *Neurochem. Res.*, 41(5), 1085-1097.
- Cotman, C. W., & Berchtold, N. C. (2002). Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci.*, 25(6), 295-301.
- Cotman, C. W., & Engesser-Cesar, C. (2002). Exercise enhances and protects brain function. *Exerc Sport Sci Rev.*, 30(2), 75-79.
- Cunha R. A. (2005). Neuroprotection by adenosine in the brain: From A1 receptor activation to A2A receptor blockade. *Purinergic Signal.*, 1(2), 111-134. doi: 10.1007/s11302-005-0649-1.
- Curran, T. & Morgan, J. I. (1995). Fos: An immediate-early transcription factor in neurons. *Journal of Neurobiology*, 28(3), 403-412.
- Dachir, S., Shabashov, D., Trembovler, V., Alexandrovich, A. G., Benowitz, L. I., Shohami, E. (2014). Inosine improves functional recovery after experimental traumatic brain injury. *Brain Res.* 1555, 78-88. doi: 10.1016/j.brainres.2014.01.044.
- De la Rosa, A., Solana, E., Corpas, R., Bartrés-Faz, D., Pallàs, M., Vina, J., Sanfeliu, C., Gomez, M. C. (2019). Long-term exercise training improves memory in middle-aged men and modulates peripheral levels of BDNF and Cathepsin B. *Sci Rep.*, 9(1), doi: 10.1038/s41598-019-40040-8.
- Dworak, M., Diel, P., Voss, S., Hollmann, W., Strüder, H.K. (2007). Intense exercise increases adenosine concentrations in rat brain: implications for a homeostatic sleep drive. *Neuroscience*, 150(4), 789-795.
- Grimm, R., Schicknick, H., Riede, I., Gundelfinger, E. D., Herdegen, T., Züschratter, W., Tischmeyer, W. (1997). Suppression of c-fos induction in rat brain impairs retention of a brightness discrimination reaction. *Learn Mem.*, 3(5), 402-413.
- Guzowski, J. F., Setlow, B., Wanger, E. K. and McGaugh, J. L. (2001). Experience-Dependent Gene Expression in the Rat Hippocampus after Spatial Learning: A Comparison of the Immediate-Early Genes Arc, c-fos, and zif268. *J Neurosci.*, 21(14), 5089-5098.
- He, J., Yamada, K. & Nabeshima, T. (2002). A Role of Fos Expression in the CA3 Region of the Hippocampus in Spatial Memory Formation in Rats. *Neuropsychopharmacology*, 26, 259-268.
- Hughes, P. & Dragunow, M. (1995). Induction of immediate-early genes and the control of neurotransmitter-regulated gene expression within the nervous system. *Pharmacol Rev.*, 47(1), 133-178.
- Ide, K. & Secher, N. H. (2000). Cerebral blood flow and metabolism during exercise. *Prog Neurobiol.*, 61(4), 397-414.
- Ingold, M., Tulliani, N., Chan, C. H. C. & Liu, K. P. Y. (2020). Cognitive function of older adults engaging in physical activity. *BMC Geriatrics*, 20(1), 229. doi: 10.1186/s12877-020-01620-w.
- Irwin, N., Li, Y. M., O'Toole, J. E., Benowitz, L. I. (2006) Mst3b, a purine-sensitive Ste20-like protein kinase, regulates axon outgrowth. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 103(48), 18320-18325.
- Jee, Y. S., KO, I. G., Sung, Y. H., Lee, J. W., Kim, Y. S., Kim, S. E., Kim, B. K., Seo, J. H., Shin, M. S., Lee, H. H., Cho, H. J., Kim, C. J. (2008). Effects of treadmill exercise on memory and c-Fos expression in the hippocampus of the rats with intracerebroventricular injection of streptozotocin. *Neurosci Lett.*, 443(3), 188-192. doi: 10.1016/j.neulet.2008.07.078.
- Jia, R. X., Liang, J. H., Xu, Y. & Wang, Y. Q. (2019). Effects of physical activity and exercise on the cognitive function of patients with Alzheimer disease: a meta-analysis. *BMC Geriatrics*, 19(1), 181. doi: 10.1186/s12877-019-1175-2.
- Jiang, X., Chai, G. S., Wang, Z. H., Hu, Y., Li, X. G., Ma, Z. W., Wang, Q., Wang J. Z., & Liu, G. P. (2015). Spatial training

- preserves associative memory capacity with augmentation of dendrite ramification and spine generation in Tg2576 mice. *Scientific Reports*, 5, 9488, DOI: 10.1038/srep09488.
- Kayser, B. (2003). Exercise starts and ends in the brain. *European Journal of Applied Physiology*, 90(3-4), 411-419.
- Laurin, D., Verreault, R., Lindsay, J., MacPherson, K., Rockwood, K., (2001). Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Arch Neurol.*, 58(3), 498-504.
- Lee, T. H., Jang, M. H., Shin, M. C., Lim, B. V., Kim, Y. P., Kim, H., Choi, H. H., Lee, K. S., Kim, E. H. and Kim, C. J. (2003). Dependence of rat hippocampal c-Fos expression on intensity and duration of exercise. *Life Sci.*, 72(12), 1421-1436.
- Lee, H. T., Gallos, G., Nasr, S. H., Emala, C. W. (2004). A1 adenosine receptor activation inhibits inflammation, necrosis, and apoptosis after renal ischemia-reperfusion injury in mice. *J Am Soc Nephrol.*, 15(1), 102-111.
- Lee, M. H., Kim, H., Lim, B. V., Chang, H. K., Lee, T. H., Jang, M. H., Shin, M. C., Lee, J. S., Shin, M. S., Kim, C. J. (2003). Naloxone potentiates treadmill running-induced increase in c-Fos expression in rat hippocampus, *Life Science*, 73(24), 3139-3147.
- Mandolesi, L., Polverino, A., Montuori, S., Foti, F., Ferraioli, G., Sorrentino, P. & Sorrentino, G. (2018). Effects of Physical Exercise on Cognitive Functioning and Wellbeing: Biological and Psychological Benefits. *Front Psychol.* 9, 509. doi: 10.3389/fpsyg.2018.00509.
- Normile, H. J. & Barraco, R. A. (1991). N6-Cyclopentyladenosine impairs passive avoidance retention by selective action at A1 receptors. *Brain Res Bull.*, 27(1), 101-104.
- Ohno, M. & Watanabe, S. (1996). Working memory failure by stimulation of hippocampal adenosine A1 receptors in rats. *Neuroreport*. 7(18), 3013-3016.
- O'Keefe, J., Nadel, L. (1978). The Hippocampus as a Cognitive Map. Oxford University Press; Oxford.
- Patten, A. R., Sickmann, H., Hryciw, B. N., Kucharsky, T., Parton, R., Kernick, A., Christie, B. R. (2013). Long-term exercise is needed to enhance synaptic plasticity in the hippocampus. *Learn Mem.*, 20(11), 642-647. doi: 10.1101/lm.030635.113.
- Pinna, A., Wardas, J., Cristalli, G., Morelli, M. (1997): Adenosine A2A receptor agonists increase Fos-like immunoreactivity in mesolimbic areas. *Brain Res.*, 759, 41-49.
- Ruhal, P. & Dhingra, D. (2018). Inosine improves cognitive function and decreases aging-induced oxidative stress and neuroinflammation in aged female rats. *Inflammopharmacology*, 26, 1317-1329.
- Stockwell, J. Chen, Z. Niazi, M. Nosib, S. Cayabyab, F.S. (2016). Protein phosphatase role in adenosine A1 receptor-induced AMPA receptor trafficking and rat hippocampal neuronal damage in hypoxia/reperfusion injury. *Neuropharmacology*, 102, 254-265.
- Teixeira, F. C., Gutierrez, J. M., Soares, M. S. P., de Mattos, B. da S., Spohr, L., Couto, C. A. T., Bona, N. P., Assmann, C. E., Morsch, V. M., Cruz, I. B. M., Stefanello, F. M., Spanevello, R. M. (2020). Inosine protects against impairment of memory induced by experimental model of Alzheimer disease: a nucleoside with multitarget brain actions. *Psychopharmacology (Berl)*, 237(3), 811-823. doi: 10.1007/s00213-019-05419-5.
- Vann, S. D., Brown, M. W., Erichsen, J. T., Aggleton, J. P. (2000). Fos Imaging Reveals Differential Patterns of Hippocampal and Parahippocampal Subfield Activation in Rats in Response to Different Spatial Memory Tests. *J Neurosci.*, 20(7): 2711-2718.
- Von Lubitz, D. K., Paul, I. A., Bartus, R. T. & Jacobson, K. A. (1993). Effects of chronic administration of adenosine A1 receptor agonist and antagonist on spatial learning and memory. *Eur J Pharmacol* 249, 271-280
- Wang, S., Chen, L., Zhang, L., Huang, C., Xiu, Y., Wang, F., Zhou, C., Luo, Y., Xiao, Q. and Tang, Y. (2015). Effects of Long-Term Exercise on Spatial Learning, Memory Ability, and Cortical Capillaries in Aged Rats. *Med Sci Monit.*, 21, 945-954.
- Welihinda, A. A., Kaur, M., Greene, K., Zhai, Y., Amento, E. P. (2016). The adenosine metabolite inosine is a functional agonist of the adenosine A2A receptor with a unique signaling bias. *Cell Signal.*, 28(6), 552-60. doi: 10.1016/j.cellsig.2016.02.010.
- Williamson, J. W., McColl, R., Mathews, D., Ginsburg, M., Mitchell, J. H. (1999) Activation of the insular cortex is affected by the intensity of exercise. *J Appl Physiol* 87:1213-12
- Vann, S. D., Brown, M. W., Erichsen, J. T. and Aggleton, J. P. (2000). Fos imaging reveals differential patterns of hippocampal and parahippocampal subfield activation in rats in response to different spatial memory tests. *Journal of Neuroscience*, 20(7) 2711-2718.

