論文

미세중력 환경에 노출된 백서 심근 조직의 병리학적 변화

김현수*, 김윤희**

Histopathological alterations of the rat myocardium under simulated microgravity

Hyun-Soo Kim*, Youn Wha Kim**

ABSTRACT

Spaceflight induces a number of cardiovascular physiological alterations. To study adaptations to microgravity on Earth, the tail-suspended, hindlimb-unloaded rat model has been used to simulate the effects of microgravity. Despite the extensive use of this model to infer physiological adaptations of many organs to microgravity, little information has been obtained on the effect of tail suspension(TS) on cardiac adaptations in the rat. This study was aimed to investigate the effects of simulated microgravity on the rat myocardium using the TS model. Twenty-four male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to 3 experimental groups(1, 7 and 14 days of TS) and a control group. A microscopic examination was performed to assess histopathological changes in the myocardial morphology. The hearts from the control group, the 1 day-TS rats and the 7 day-TS rats revealed no evident abnormalities in cardiomyocyte size and morphology. At day 14 of TS, in contrast, the ventricular cardiomyocytes appeared more separated from each other and were slightly smaller in size compared with those of the control group. Also seen were scattered areas exhibiting focal disorganization of muscle fibers and some degenerating cardiomyocytes, of which the nuclei had become pyknotic or disappeared. In this study, we demonstrated that the ventricular cardiomyocytes underwent degeneration and atrophy at the microscopic level during exposure to simulated microgravity in TS rats.

Key Words : Spaceflight(우주비행), Microgravity(미세중력), Tail suspension(꼬리현수), Rat(백서), Myocardium(심근)

1. 서 론

인간은 오랜 기간 동안 우주를 연구하려고 노력해 왔다. 시간이 지남에 따라 우주에 관한 정보를 얻는 방법이 발달되었고, 더 많은 정보를

얻을 수 있게 되었다. 지금도 우리나라를 비롯한 세계의 여러 나라들이 이 정보를 바탕으로 우주 탐사와 우주인 양성을 위해 노력하고 있다. 첨단 과학 기술의 발전이 선진국들의 수많은 우주 비행 임무를 성공으로 이끌었음에도 불구하고, 많은 연구자들은 우주 탐사 과정에서 기계의 작업으로는 불가능한, 인간만이 수행할 수 있는 다양하고 복잡한 활동이 필수 불가결하다는 사실을 깨닫게 되었다. 또한, 21세기에 접어들어 10여년이 지난 지금 일반인들의 우주여행이 점차 보편화되면서, 우주 탐사를 수행하는 우주인뿐만

2012년 08월 03일 접수 ~ 2012년 09월 12일 심사완료
논문심사일 (2012.08.06 1차), (2012.09.12, 2차)

* 공군 항공우주의료원 항공우주의학연구센터

** 경희대학교 의과대학 병리학교실

연락처, E-mail : kimyw@khu.ac.kr

서울특별시 동대문구 경희대로 26

아니라 우주여행을 목적으로 하는 일반인의 건강과 신체적 안전을 보장하고 우주 환경에서 발생할 수 있는 질병을 예방하는 것이 항공우주 의학을 연구함에 있어 무엇보다 중요한 목적으로 대두되었다.

실제 우주 환경에서의 실험 연구는 시공간적 제약, 기술적 문제, 금전적 한계 등으로 인해 활발하게 이루어지기는 어려운 것이 사실이며, 우리나라의 경우에도 마찬가지이다. 결과적으로 항공우주 의학 연구자들은 우주에서의 미세중력 환경을 지상에서 재현할 수 있는 실험 모델을 이용하여 우주 공간에서 일어나는 신체의 생리학적 변화를 예측하고 연구하기 시작하였다. 그 중 가장 보편적으로 사용되는 모델이 미국 항공우주국에서 개발한 꼬리현수(tail suspension) 혹은 하지 무부하(hindlimb unloading)라고 불리는 모의 미세중력 동물 실험 모델이다. 꼬리현수 모델은 미국 항공우주국의 연구원이었던 Morey-Holton에 의해 개발된 이후, 30여 년이 지나는 동안 1,000여 건이 넘는 연구에서 사용된 우주 환경에 대한 대표적인 실험 모델이다[1]. 이 모델은 쥐의 꼬리를 공중에 매달아 하지에 체중이 실리지 않게 함으로써 우주 여행 중 나타나는 하지의 근위축 및 골밀도 감소 효과를 유사하게 재현하며, 머리 쪽으로 향하는 체액의 이동과 혈류량의 변화를 유발한다고 알려져 있다. 특히, 체액과 혈량 변화의 결과로써 저혈량증, 말초혈관저항 감소, 정맥 정체, 기립성 저혈압, 유산소능력 저하 등이 나타날 수 있다고 보고되고 있으며, 이러한 현상이 미세중력 환경 노출에 따른 심혈관계의 생리학적 적응 반응일 것이라고 추측되고 있다.

인체는 지상에서 직립 상태로 생활하는 가운데 가장 적합한 생체 항상성을 유지하도록 적응한다. 그러나 실제 우주 환경 혹은 모의 미세중력 환경에 노출되는 경우 머리에서 발쪽으로 향하던 정수압력차가 소실되기 때문에, 급격한 정수압 분포 변화에 적응하기 위해 인체는 각 기관의 기능을 변화시킨다. 이 때 발생하는 문제는, 미세중력 환경에 적응한 우주인의 신체가 지구로 귀환했을 때 지상에서 작용하는 중력으로 인해 해로운 영향을 받게 된다는 것이다. 우주 비행 중에 일어나는 심혈관계 기능의 중요한 변화 중 하나로 심박출량과 일회박출량의 감소 현상을 꼽을 수 있는데, 이는 저혈량증과 말초혈관저항 감소에 의해 심실로 들어오는 혈량이 감소하기 때문이라고 알려져 있다[2]. 그러나 최근 보고된 연구 결과에 따르면 혈량의 변화와 더불어 심근의 위축 또한 우주 비행에 따른 심장 기능 저하의 중

요한 원인 중 하나로 지목되고 있다[3]. 실제로 장기간의 미세중력 환경 노출에 의해 심근의 위축이 시작되어 근육량 감소로 진행되는 경우, 지구로 귀환했을 때 즉각적으로 대응할 수 있는 방법이 없기 때문에 저혈량증이나 말초혈관저항 감소보다 심장에 더 나쁜 영향을 미칠 수 있다는 연구 결과가 보고되고 있다. 게다가 임무 수행 후 귀환하여 중력에 노출된 후 심근의 위축이 회복되지 않는 경우에는 심부전과 같은 심각한 합병증에 이를 수도 있다.

꼬리현수 모델이 인체 또는 동물의 각 기관에서 일어나는 미세중력에 대한 생리학적 변화를 구하는데 많이 이용되고 있음에도 불구하고, 심혈관계의 적응 반응을 연구한 논문은 거의 보고된 것이 없는 실정이다. 또한 미세중력 환경 노출에 따른 심근의 형태학적 변화를 살펴 본 연구 논문은 현재까지 국내에 보고된 것이 없다. 본 연구에서는 모의 미세중력 환경에 노출된 백서의 심근 조직에서 일어나는 조직병리학적 형태 변화를 살펴보았다.

2. 본 론

2.1 실험 방법

2.1.1 꼬리현수 모델을 이용한 모의 미세중력 노출 실험

실험 기간 동안 모든 동물은 자유롭게 실험용 사료와 물을 섭취하였다. 20~25°C 환경에서 낮과 밤의 주기를 각각 12시간으로 맞추었고 병원균에 노출되지 않도록 관리하였다. 총 24마리의 수컷 Sprague-Dawley 백서(7~9주령, 체중 200~250 g)를 4개의 군으로 무작위 분류하였다. 3개의 실험군은 꼬리현수 기간에 따라 1일(n=6), 7일(n=6), 14일(n=6)로 분류하였고, 대조군(n=6)은 꼬리현수를 제외한 모든 조건을 실험군과 동일하게 적용하였다. 실험군 백서에게는 Morey-Holton가 개발한 꼬리현수방법을 적용하였다[1]. 간략한 절차는 다음과 같다. 꼬리현수장비를 장착하기 위해 실험동물을 고정 장치에 넣은 후 꼬리 시작 부분을 면도하고 테이프로 꼬리를 접착하였다. 꼬리 끝부분을 노출시켜 혈류가 적절히 공급되고 있는지 점검하였다. 우리(cage) 안에서 360° 범위의 자유로운 활동이 가능하도록 고리에 줄을 연결하여 우리 상단에 위치한 회전고리와 연결하였다.

우리의 바닥과 백서 몸통의 각도는 30°로 맞추어 하지가 땅에 닿지 않으면서 두부후굴 자세가 유지될 수 있게 하였다. 총 14일 간의 꼬리현수 기간 동안 백서의 신체 길이와 체중의 증가에 따른 연결 상태의 변화를 점검하여 각도가 일정하게 유지될 수 있도록 하였다. 움직임이 제한되는 꼬리현수 상태에서 발생하기 쉬운 소변 혹은 분변에 의한 열상이나 감염 등의 합병증을 예방하기 위해 수시로 위생 상태를 점검하였다. 첫 3일 간은 단기간(1~3시간/일) 꼬리현수를 통해 하지무부하 상태에 익숙해지도록 하였고, 이 기간은 실험 기간에 포함시키지 않았다. 각 백서의 섭식 및 배변활동을 점검하여 스트레스 정도를 판단하였다. 초기 체중의 10%를 넘는 과도한 체중 증가를 보이거나 심한 스트레스에 의해 활동의 변화를 보이는 백서는 실험에서 제외하기로 하였다.

2.1.2 조직병리학적 분석

꼬리현수 종료 후 sodium pentobarbital(45 mg/kg)을 복강 내로 주입하여 백서를 마취시킨 뒤 흉부 정중선을 따라 절개하여 심장을 채취하였다. 실험군 및 대조군 백서로부터 얻은 심장 조직을 즉시 10% 포르말린에 고정하여 72시간 동안 유지하였다. 이후 육안적 병리 검사를 시행하고 조직 절편을 제작하였다. 각 절편은 일반적인 조직 병리 검사에 적용되는 블록 제작 과정과 파라핀 포매 과정을 거쳤다. 조직 제작용 미세 절편기로 4 μ m 두께의 조직 절편을 얻은 뒤 hematoxylin-eosin 염색을 통해 현미경적 병리 검사를 시행하였다.

2.2 실험 결과 및 고찰

실험군과 대조군으로 사용한 모든 백서에서 유의한 체중의 증가나 스트레스로 인한 활동의 변화는 관찰되지 않았다. 육안 병리 검사에서는 실험군과 대조군 간에 심장의 크기나 무게의 유의한 차이가 관찰되지 않았고, 심실벽의 두께나 심방의 크기도 두 군 간에 유의한 차이가 없었다. 모든 백서에서 심내막과 심낭막의 병리학적 변화는 관찰되지 않았고, 심실벽 단면에서 육안적으로 뚜렷한 섬유성 반흔이나 색조의 변화는 관찰되지 않았다.

대조군에서 채취한 심근의 조직 병리 검사에서는 병리학적 이상 소견을 발견할 수 없었다(Figure 1A). 실험군 중 꼬리현수 기간이 1일

(Figure 1B)과 7일(Figure 1C)인 백서에서도 대조군과 비교하여 심근세포의 크기나 형태의 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 반면 꼬리현수 기간이 14일인 백서에서 채취한 심근에서는 심실근세포의 크기가 약간 감소하면서 각 세포 간의 간격이 넓어진 소견을 관찰할 수 있었다(Figure 1D). 또한 국소적으로 근섬유의 분포가 불규칙해지는 소견이 종종 관찰되었다. 소수의 심근세포들이 변성되어 세포 내 공포를 가지고 있었고, 핵은 농축되거나 소실되어 있었다(Figure 1E). 모든 백서에서 심근세포의 괴사, 보상적 심비대, 염증세포의 침윤이나 간질 섬유화 등은 관찰되지 않았다.

Figure 1. Representative photomicrograph of cardiac muscle fibers in TS rats. The hearts derived from the control rats(A), 1 day-TS rats(B) and 7 day-TS rats(C) displayed no evidence of abnormality. At day 14 of TS(D), in contrast, the ventricular cardiomyocytes appeared more separated from each other and were decreased in size. In some areas(E), foci of myofibril disorganization were also observed. (Hematoxylin-eosin stain; $\times 400$)

심근은 부하 조건의 다양한 변화에 적절하게 적응할 수 있다. 과도한 신체 훈련과 같은 생리적인 현상 혹은 고혈압이나 심장 판막 질환과 같은 병리학적 상태에서는 혈량의 증가나 혈압의 상승에 대한 적응 반응으로써 심근의 양이 증가하게 되는데, 이는 주로 좌심실 비대의 형태를 보인다. 좌심실로의 과도한 혈량 부하가 장기간 지속되는 경우에는 심장 확장능의 증가와 비대칭적인 심근 비대가 일어난다. 반대로 일정 기간 동안 침상 안정을 통해 심근 부하를 감소시켰을 경우에는 좌심실근의 양이 유의하게 감소하여 심장 확장능의 감소와 비대칭적인 심근 위축이 일어난다[4]. 이는 좌심실의 심근세포가 심장의 작

업량에 민감하게 반응한다는 것을 시사하며, 심근 부하 변화에 대한 생리적인 적응에 의한 결과이다.

C57BL/6 백서에서 꼬리현수가 심혈관계의 기능에 미치는 영향을 연구한 이영복 등[5]은 양측 경동맥 폐색에 의해 항진된 심근 수축력과 동맥압 반응이 2주 간의 꼬리현수에 의해 현저히 감소했다고 보고하였다. 이는 미세중력 환경이 심장 기능의 변화에 영향을 미칠 수 있다는 점을 시사한다. 미세중력 환경에서 일어나는 심장 기능 변화에 대한 연구는 인간과 백서를 대상으로 수차례 보고된 데 반해, 심근의 형태학적 분석은 국내에서 보고된 적이 없다. 이전의 기능적 연구 결과를 바탕으로, 본 연구에서는 미세중력이 심장의 형태 변화에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 저자들은 14일 간 꼬리현수를 적용한 백서에서 심실근세포의 크기 감소, 변성에 따른 핵농축과 세포질 내 공포 형성, 세포 간 간격의 증가, 근섬유 주행의 불규칙성 등을 관찰할 수 있었다. 비록 육안적으로 명백하게 관찰된 심근의 위축은 없었지만, 본 연구의 결과는 단기간의 우주 비행 후 채취한 설치류의 심근조직에서 세포 크기의 감소를 관찰한 외국의 기존 연구 결과와 일치하며[6], 모의 미세중력 환경에서 감소한 심근 부하에 대한 생리학적 적응반응의 하나로써 심근세포와 근섬유에서 현미경적 수준의 퇴행적 형태 변화가 일어날 수 있음을 시사한다. 반면에 Ray 등[7]은 7일 간의 실제 우주 비행과 28일 간의 꼬리현수를 적용한 백서의 심장에서 의미있는 근육량 변화가 일어나지 않았다고 보고하였다. 또한 미세중력이 심근 수축력의 평가 기준인 좌심실 수축기 최대압력 증가폭에 아무런 영향을 미치지 않는다는 점을 언급하면서, 단기간 혹은 장기간의 미세중력 환경 노출이 심근 위축과 같은 크기의 변화나 심장 기능의 저하를 일으키지 않는다고 주장하였다. 인간과 동물을 대상으로 한 실제 우주 비행 관련 연구의 빈도가 낮은 상황에서 미세중력을 재현하는 지상 모델을 이용한 연구가 활발하게 수행되고는 있지만, 미세중력이 심장 기능이나 형태의 변화에 미치는 영향은 아직까지 정립되지 않은 실정이다. 추후 연구에서는 본 연구결과와 재현성을 증명하고, 미세중력 환경 노출이 심근세포 크기의 감소를 일으키는 정확한 병리학적 기전을 분석할 필요가 있다.

3. 결 론

본 연구에서는 대표적인 모의 미세중력 동물 실험 모델인 꼬리현수 모델을 이용하여 미세중력 환경에 노출된 백서의 심실근세포가 현미경적 수준의 변성과 위축 과정을 겪는다는 것을 관찰하였다. 저자들은 이러한 형태학적 변화가 미세중력이 심장에 미친 영향, 즉 심근 부하의 감소에 따른 생리학적 적응 반응 중 하나일 수 있다고 추측하였다. 추후 연구에서는 미세중력 노출이 어떠한 기전으로 심근세포의 위축을 일으키는지에 대해 분석하고, 심근의 위축과 그에 따른 합병증을 예방하기 위한 방안을 마련할 필요가 있을 것으로 사료된다.

후 기

본 논문에 수록된 주장과 의견을 포함한 모든 내용은 저자 개인의 견해이며, 대한민국 공군의 공식 견해가 아님을 밝혀 둔다.

참고문헌

- [1] Morey-Holton, E. R., Globus, R. K., "Hindlimb unloading rodent model: technical aspects", *Journal of Applied Physiology*, Vol. 92, 2002, pp. 1367~1377.
- [2] Charles, J. B., Lathers, C. M., "Cardiovascular adaptation to spaceflight", *Journal of Clinical Pharmacology*, Vol. 31, 1991, pp. 1010~1023.
- [3] Levine, B. D., Zuckerman, J. H., Pawelczyk, J. A., "Cardiac atrophy after bed-rest deconditioning: a nonneural mechanism for orthostatic intolerance", *Circulation*, Vol. 96, 1997, pp. 517~525.
- [4] Perhonen, M. A., Franco, F., Lane, L. D., Buckey, J. C., Blomqvist, C. G., Zerwekh, J. E., "Cardiac atrophy after bed rest and spaceflight", *Journal of Applied Physiology*, Vol. 91, 2001, pp. 645~653.
- [5] 이영복, 박종택, 임현교, 최재찬, 김순열, 조준현, 이광호, "생쥐에서 하지무부하가 심혈관계 기능에 미치는 영향", *대한마취과학회지*, 제53권, 2007, 222~228.
- [6] Goldstein, M. A., Edwards, R. J., Schroeter, J. P., "Cardiac morphology after conditions of

microgravity during COSMOS 2044", Journal of Applied Physiology, Vol. 73, 1992, pp. 94S~100S.

[7] Ray, C. A., Vasques, M., Miller, T. A., Wilkerson, M. K., Delp, M. D., "Effect of short-term microgravity and long-term hindlimb unloading on rat cardiac mass and function", Journal of Applied Physiology, Vol. 91, 2001, pp. 1207~1213.