

## 흰쥐의 좌골신경 압쇄손상후 운동이 근육재생에 미치는 효과

김철우<sup>1</sup>, 유기수<sup>2</sup>, 김강련<sup>3</sup>

강남의원<sup>1</sup>, 동아대학교 의과대학 해부학교실<sup>2</sup>, 고신대학교 의과대학 해부학교실<sup>3</sup>

### Effect of Exercise on Regeneration of Rat Muscle after Sciatic Nerve Crushing Injury

Cheol-Woo Kim<sup>1</sup>, Ki-Soo Yoo<sup>2</sup>, Kang-Ryune Kim<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kang Nam Clinic, Busan, Korea

<sup>2</sup>Department of Anatomy, Dong A University College of Medicine, Busan, Korea

<sup>3</sup>Department of Anatomy, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

#### Abstract

**Background** : The aim of this report is to show that treadmill running exercise under well-controlled conditions is to improve of regeneration in rat gastrocnemius muscles after sciatic nerve crushing injury.

**Material & Method** : Male Sprague-Dawley rats (1 month old) were submitted to bouts of exercise on a treadmill up a 10 degrees decline and speed is 24m/min for 60 min per day and gastrocnemius muscles were analysed at different exercise periods (5, 10, 15, and 20 days) by immunohistochemistry in comparison with injured non-exercised muscles. Rats were sacrificed at 9th (5 days exercise), 16th (10 days exercise), 23rd (15 days exercise), 30th day (20 days exercise) after sciatic nerve crushing injury. The regenerative processes were analysed by detection of routine immunoreactivity for the two intermediate filaments, desmin and vimentin. Desmin and vimentin are specific components of the cytoskeleton of striated muscle fibers and of mononuclear cells of mesenchymal origin including myoblasts, respectively.

**Results** : Desmin was revealed in processes of degeneration and regeneration and vimentin was revealed in regeneration process. Non-exercised rats had more desmin- and vimentin-positive myofibers than that of treadmill exercised rats at 9th, 16th, 23rd, and 30th day after sciatic nerve crushing injury. At 30th day, non-exercised rats had several desmin- and vimentin-positive myofibers, but exercised rats had numerous normal myofibers.

**Conclusion** : It is concluded that treadmill running exercise is able to improve regeneration processes in gastrocnemius muscles after sciatic nerve crushing injury.

**Key words** : sciatic nerve crushing injury, muscle regeneration, exercise, desmin, vimentin

#### 서 론

골격근은 손상을 받는 요인에 따라 근섬유의 변성, 위축 및 재생시의 조직화학적 변화가 다양한 것으로 알려져 있다.<sup>1,2)</sup>

골격근을 지배하는 신경을 절단하거나 압쇄손상을 주면 일차적으로 신경에 괴사가 일어나며 이어서 근섬유의 이차적인 변성이 일어난다.<sup>3)</sup>

근육의 재생과정은 근발생과정을 반복한다. 근육이

손상되면 근형질막과 기저막사이에 위치한 근위성세포(myosatellite cell)가 근모세포(myoblast)로 분화된다. 근모세포들은 융합되어 근관(myotube)을 형성하고 이어 성숙한 근섬유로 재생된다. 이 재생과정에서 중요한 역할을 하는 것이 근육의 세포골격을 이루는 중간세사(intermediate filament)라고 알려져 있다. 근세사가 만들어지기 전에 이미 중간세사가 존재해야 근발생 과정이 진행될 수 있기 때문이다.<sup>4,5)</sup>

골격근의 중간세사에는 여러 종류가 있다.<sup>6,7)</sup> 그 중 desmin은 Z선과 근형질막 밑에 위치하며 근절(sarcomere)끼리 부착시켜 Z선에 정렬시켜 주며 핵중간세사인 lamin B와 결합하여 근핵과 근형질막사이의 입체적 공간구조를 유지하는데 관여한다.<sup>8)</sup> 그러나 최근 연구보고들에

교신저자 : 김 강 련  
주소 : 602-702, 부산광역시 서구 압남동 34번지  
고신대학교 의과대학 해부학교실  
TEL : 051-990-6411  
E-mail : muskrkim@ns.kosinmed.or.kr

의하면 desmin은 성숙한 정상 근섬유에서 보다는 미성숙 근섬유에서 더욱 강하게 발현된다고 하며 근발생 조절유전자인 MyoD나 myogenin을 조절할 것이라는 주장도 있다.<sup>9,10)</sup> Vimentin은 성숙한 정상 근섬유에서는 면역조직학적 방법으로는 관찰되지 않으나 근발생시에는 매우 강하게 반응한다. 그러므로 출생후 근섬유에서 vimentin이 관찰된다는 것은 항상 근섬유가 재생과정이나 미성숙상태라는 것을 의미한다.<sup>11)</sup>

신경손상에 의해 탈신경된 근육에서 desmin과 vimentin의 발현에 대한 실험적 연구는 흔치 않으며 연구결과 또한 매우 다양하다. 탈신경된 근육과 정상근육사이에서 desmin과 vimentin의 반응성에 차이가 없었다는 보고가 있는가 하면, 신경손상으로 위축된 근섬유는 정상근섬유보다 desmin의 반응성이 더 높다고 보고한 경우도 있어 탈신경된 근섬유에서의 중간세사에 대한 출현 여부 및 시기는 아직도 의견이 분분한 실정이다.<sup>12-16)</sup>

골격근은 신체의 움직임과 운동의 실행기관이기 때문에 골격근의 약화는 운동을 제한시키고, 운동의 제한은 근육의 약화를 심화시키는 악순환을 되풀이한다. 따라서 근육의 약화 방지 및 골격근의 능력 향상을 목적으로 운동을 실시한다. 근육을 강화시키는 운동의 유형은 크게 지구력운동과 웨이트 트레이닝으로 구분하며, 운동의 2가지 유형 중 유산소 운동 즉 지구력 운동은 골격근내 모세혈관 및 미토콘드리아의 밀도와 수를 증가시킬 뿐만 아니라 근섬유의 성장이나 전환을 유도한다.<sup>17)</sup> 지구력 트레이닝에 의해 성장과 재생이 유도되는 동안 골격근 섬유에서는 근섬유의 전구 세포인 근위성세포가 활성화된다. 즉, 근위성세포는 운동을 하는 동안 증식과 분화가 이루어져 근모세포 및 근관을 형성하고, 내재하고 있는 근섬유 속으로 융합됨으로서 근섬유의 성장 및 재생을 촉진하게 된다.<sup>18)</sup>

이에 이 연구에서는 흰쥐 좌골신경에 압케손상을 준 후 트레드밀 운동을 통해 중간세사단백의 발현변화를 밝히고 이에 따라 골격근의 재생을 증진시키는 효과를 갖는지 알아보기 위해 이 연구를 시도하였다.

## 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

실험동물은 항온 항습이 유지되고 12시간마다 밤낮이 교체되며 사료와 물을 자유로이 섭취할 수 있는 동일한

조건하에서 사육한 생후 1개월(150-180g)된 웅성 흰쥐(Sprague-Dawley) 26마리를 실험군(16마리)과 대조군(8마리) 그리고 정상군(2마리)으로 사용하였다.

### 2. 운동방법과 실험군

실험군 흰쥐들을 이중 트레드밀(dual treadmill, model DJ2-2429, 대종기기, 한국)을 이용하여 미리 1주일 동안 하루에 45분 씩 17-20m/분 속도로 적응 훈련을 시켰다. 각 실험군 별로 하루 60분 씩 주 5회 운동을 시켰으며, 트레드밀의 경사도는 10%, 속도는 24m/분이었다.

실험군은 좌골신경 압케손상 후 경과한 일수를 기준으로 9일군(5일간 운동군), 16일군(10일간 운동군), 23일군(15일간 운동군), 30일군(20일간 운동군)으로 분류하였고, 각 실험군마다 4마리 씩 운동시켰다. 각 실험군의 대조군으로 압케손상을 준 후 운동을 시키지 않은 흰쥐 2마리 씩을 사용하였다. 또한 압케손상과 운동을 시키지 않은 흰쥐 2마리를 정상군으로 사용하였다.

### 3. 압케손상방법 및 근육조직 절취

3.5% chloral hydrate(1ml/100g)로 복강내주사하여 동물을 마취시킨 뒤 오른쪽 둔부의 피부를 절개하여 좌골신경을 노출시켰다. 좌골절절 수준에서 좌골신경을 지혈갑자로 3분간 일정한 압력을 가해 압케손상을 주었다.

손상후 9, 16, 23, 30일째에 각 근육의 조직을 절취하였다. 근육조직은 흰쥐의 오른쪽 장딴지근(gastrocnemius muscle)을 이용하였고, 각 근육은 이는곳(origin)과 닿는 곳(insertion)의 중간부위를 선택하였다.

### 4. 조직표본제작

3.5% chloral hydrate(1ml/100g)를 복강 내 주사하여 흰쥐를 마취시킨 상태에서 근육들을 절취한 후 즉시 gum tragacanth를 이용하여 콜크로 된 받침대에 접착시켰다. 근육조직들을 액체질소(liquid nitrogen)로 미리 -160℃로 냉각한 isopentane에 넣어 약 10초간 동결고정하였다. 동결고정된 근육조직편을 동결절편기(cryocut, Reichert-Jung, Germany)를 사용하여 약 6 $\mu$ m 두께로 조직절편을 만들고, 이들 절편을 poly-L-lysine coated slide에 부착시켰다. 조직절편을 40℃의 조직 신전기(slide warmer)에서 40분 정도 충분히 건조시킨 다음 아세톤(4℃)으로 15분간 고정하였고, 이를 다시 조직 신전기에서 2시간 이상 건조시켰다.

### 5. 면역조직화학 염색

조직절편을 0.02M 인산염 완충액(phosphate buffered saline; PBS, pH. 7.4)에서 약 10분 동안 2회 세척한 후 조직 내 과산화효소의 활성을 차단하기 위해 0.3% 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)가 포함된 메틸알코올을 첨가시킨 용액에서 20분간 처리하고, PBS로 10분간 3회 세척한 다음 5% 정상 말혈청(normal horse serum)에 30분간 유치하였다. 그 후 조직절편들을 세척하지 않고 가볍게 털어 낸 다음 일차항체인 mouse anti-rat desmin antibody(희석비율 1:200, Serotec, UK) 및 mouse anti-rat vimentin antibody(희석비율 1:200, Serotec, UK)를 4°C에서 14-16시간 동안 각각 적용시켰다.

일차항체를 적용시킨 뒤 PBS로 10분씩 3회 세척하였고, 이어서 이차항체인 biotinylated horse anti-mouse IgG(Vector Lab, California, USA)를 실온에서 1시간 동안 적용시켰다. 그 후 조직절편들을 PBS로 10분씩 3회 수세한 다음 30분 전에 미리 만들어 실온에 방치해 놓은 ABC(avidin-biotin horseradish peroxidase complex)용액(Vector Lab, California, USA)을 실온에서 1시간 동안 적용시켰다. 이어서 이들 조직절편을 PBS로 10분씩 3회 세척한 후, 0.05M Tris-HCl buffer(Tris buffer, pH7.6)에 0.05% 3,3'-diaminobenzine tetrahydrochloride; DAB, Sigma Co, USA)와 0.01% 과산화수소가 혼합된 용액으로 처리하여 약 10분간 실온에서 발색시켰다. 조직절편의 정색상태를 현미경하에서 확인한 후 Tris buffer, PBS 및 증류수로 각각 10분간씩 차례로 세척한 다음, Harris' hematoxylin으로 대조염색을 하고, 통상적인 과정을 거쳐 Permount(Polysciences, Warrington, PA, USA)로 봉입하였다.

대조실험에서는 상기 면역염색과정 중 일차항체 적용 과정을 생략하거나 ABC 용액 적용과정을 생략하였고, 이 과정을 거친 표본에서는 어떤 면역반응성도 나타나지 않아 면역염색의 특이성을 확인하였다.

### 6. 검경

근육조직의 검경은 광학현미경(Axiophot, Zeiss, Germany)으로 시행하였고, 사진은 디지털 카메라(Axicam, Zeiss, Germany)로 촬영하였다.

## 결 과

### 1. 형태학적 변화

정상적인 장딴지근의 가로절단된 근섬유의 모서리는

각을 이루고 있었으나(Figs 1, 2) 신경손상으로 인해 위축된 근섬유는 둥근모양을 하고 있었다(Figs. 3-8). 위축된 근섬유 수는 실험군보다 대조군에서 더 많았고 직경도 더 작았다(Figs. 3-8). 위축된 근섬유들은 대부분 중심핵(central nucleus)을 갖고 있었다(Figs. 3-8). 30일군의 실험군 근섬유는 정상에 매우 가까운 형태를 취하고 있으나(Figs. 9B, 10B) 대조군은 근섬유에서는 각진 모양을 띠는 근섬유가 보이는 하나 정상에 도달하지는 못하였다(Figs 9A, 10A).

## 2. 조직화학적 변화

### 1) 정상군

정상적인 장딴지근의 가로단면 조직절편에서 보이는 desmin은 매우 약한 양성 반응을 나타냈다(Fig. 1). Vimentin에 대한 양성 반응은 근섬유에서는 없었으나 혈관이나 결합조직세포들에서는 관찰되었다(Fig. 2).



Fig. 1. Cross sectional muscle fibers of normal gastrocnemius muscle were immunoreacted for desmin. Muscle fibers showed their normal polygonal appearances. Immunoreaction of desmin was weak. Sarcolemma of myofibers were intact. Original magnification. x 250.

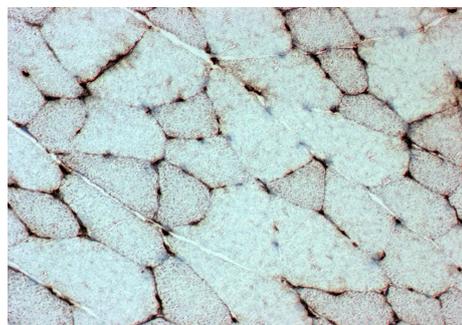


Fig. 2. Cross sectional muscle fibers of normal gastrocnemius muscle were immunoreacted for vimentin. Cross sectional muscle fibers showed their polygonal appearances. Immunoreaction of vimentin was absent. Some connective tissue cells and blood vessels were revealed by vimentin. Original magnification. x 250.

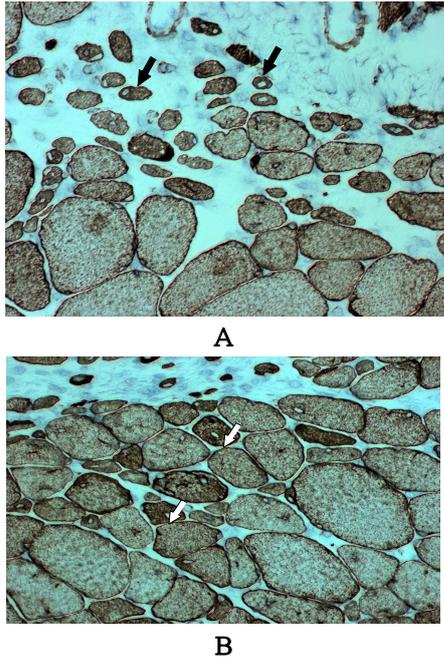


Fig. 3. Desmin-positive muscle fibers of 9 days after sciatic nerve crushing injury. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Strong stained atrophic muscle fibers with central nuclei (arrows) were appeared. (B) Muscle fibers of 5 days treadmill exercised skeletal muscle. Atrophic muscle fibers with central nuclei (arrows) were fewer and larger than control rat muscle fibers. Original magnification, x 250.

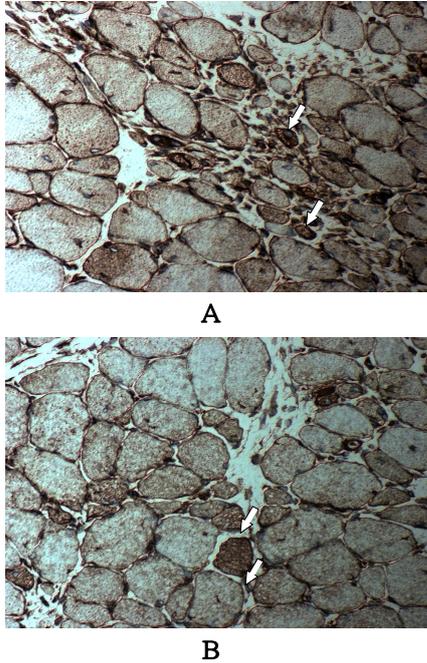


Fig. 4. Vimentin-positive muscle fibers of 9 days after sciatic nerve crushing injury. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Small atrophic myofibers of this section were strong stained with vimentin (arrows). (B) Muscle fibers of 5 days treadmill exercised rat. Several large atrophic myofibers were prominent immunoreacted for vimentin (arrows). Original magnification, x 250.

## 2) 9일군

좌골신경 압괴손상 후 9일군(5일간 운동)에서 대조군의 근섬유는 심하게 괴사되었고 조직구들이 많이 관찰되었으며 위축된 근섬유는 중심핵을 갖고 있었다(Figs. 3A, 4A). 실험군은 대조군에 비해 위축된 근섬유가 적게 관찰되었고, 조직구들도 적었다(Figs. 3B, 4B). 대조군의 위축된 근섬유에서는 진하게 염색된 부위가 관찰되었다(Fig. 3A). 실험군에서는 재생이 진행되고 있는 vimentin 양성 반응의 근섬유가 관찰되었다(Fig. 4B). 대조군에서는 desmin에 양성 반응을 보이는 근섬유들이 다수 출현하였으며(Fig. 3A), 실험군에서도 관찰되었으나 대조군에 비해 적었다(Fig. 3B). 대조군의 위축된 근섬유는 vimentin에 강한 양성 반응을 보였고 대부분 중심핵을 가지고 있었다(Fig. 4A). 실험군의 근섬유들은 대조군에 비해 vimentin에 양성 반응성이 약했으나 일부의 비교적 큰 위축된 근섬유들은 현저한 양성 반응을 보였다(Fig. 4B).

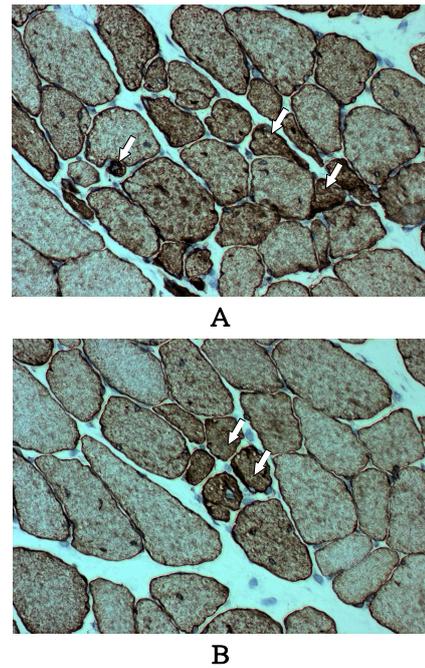


Fig. 5. Desmin-positive muscle fibers of 16 days after sciatic nerve crushing injury. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Many strong immunoreactive myofibers were observed (arrows). (B) Muscle fibers of 10 days treadmill exercised rat. Several myofibers were strong immunoreacted for desmin (arrows). Original magnification, x 250.

## 3) 16일군

압괴손상 후 16일군(10일간 운동)에서 대조군의 근섬유에서도 재생이 진행되고 있는 근섬유들이 관찰되기 시작하였다(Figs. 5A, 6A). 대조군에서는 9일군보다 desmin

에 양성 반응을 보이는 근섬유들이 줄어들었으나 많은 근섬유에서는 강하게 염색된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 5A). 실험군에서는 일부 근섬유에서만 강하게 desmin 양성 반응을 보였다(Fig. 5B). Vimentin에 양성 반응을 보이는 근섬유가 대조군에 비해 실험군에서는 소수가 관찰되었다(Fig. 6A, 6B). 대조군의 근섬유들은 많은 수 vimentin에 강하게 염색된 것이 관찰되었고(Fig. 6A), 실험군에서는 몇몇 근섬유들만이 vimentin에 강하게 염색된 것을 관찰할 수 있었다(Fig 6B).

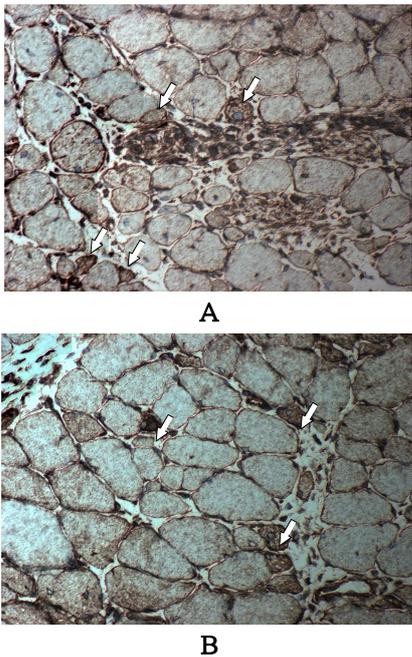


Fig. 6. Vimentin-positive muscle fibers of 16 days after sciatic nerve crushing injury. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. There were many strong immunoreactive myofibers (arrows). (B) Muscle fibers of 10 days treadmill exercised rat. There were several small strong immunoreactive myofibers (arrows). Original magnification, x 250.

**4) 23일군**

압케손상 후 23일군(15일간 운동)에서 대조군은 많은 근섬유에서 desmin에 양성 반응을 보이고 있으나(Fig. 7A) 실험군에서는 양성 반응을 보이는 근섬유가 현저히 감소되었고 비교적 큰 직경의 근섬유들에서는 정상적인 양성 반응을 보였다. 작은 근섬유들에서는 desmin에 많은 양성 반응을 보였다(Fig. 7B). 대조군에서는 일부 손상된 부위에서 vimentin 양성 반응을 보였으며 크고 작은 근섬유에서 강하게 염색된 것이 관찰되었으며 많은 곳에서 중심핵이 관찰되었다(Fig. 8A). 실험군의 근섬유에서는 vimentin에 염색되지 않은 근섬유가 많았고 분리된 근섬유도 관찰되었다(Fig. 8B).

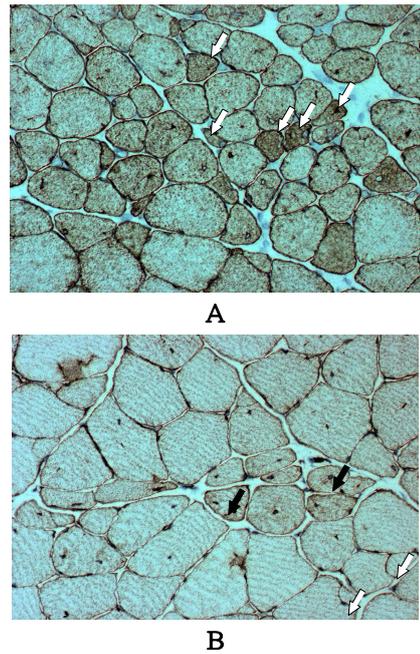


Fig. 7. Desmin-positive muscle fibers of 23 days after sciatic nerve crushing injury. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Most small myofibers were immunoreactive for desmin (arrows). (B) Muscle fibers of 15 days treadmill exercised skeletal muscle. Large myofibers had the normal immunoreactivity. Smaller myofibers with central nuclei are more immunoreactive for desmin (black arrows). Myofibers were weak immunoreactive for vimentin and had some splitted fibers (white arrows). Original magnification, x 250.

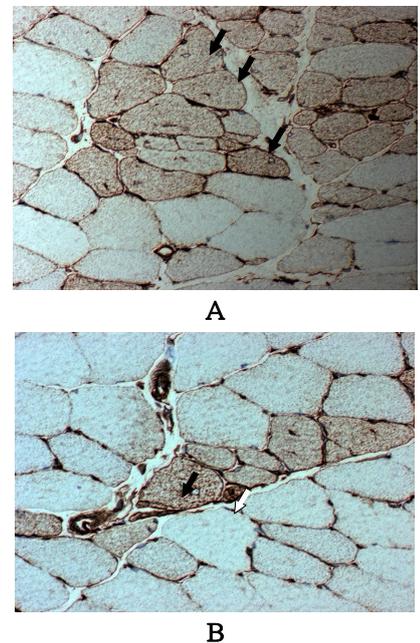


Fig. 8. Vimentin-positive muscle fibers of 23 days after sciatic nerve crushing injury. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Many vimentin-positive myofibers were visible (arrows). (B) Muscle fibers of 15 days treadmill exercised rat. Several strong immunoreactive large myofiber (black arrow) and small myofiber were appeared (white arrow). Original magnification, x 250.

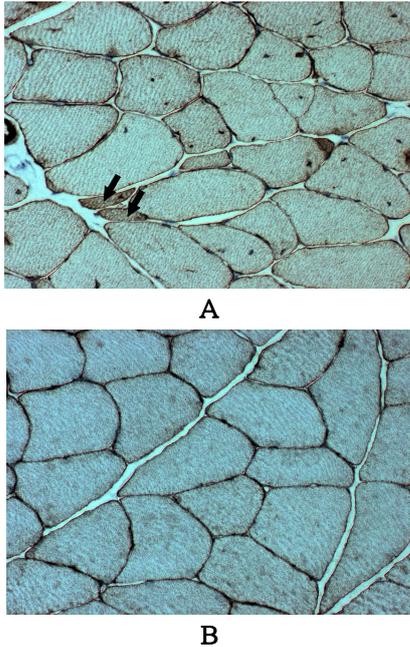


Fig. 9. Desmin-positive muscle fibers of 30 days after sciatic nerve crushing injury. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Small strong desmin immunoreactive myofibers were observed (arrows). (B) Muscle fibers of 20 days treadmill exercised rate. Almost myofibers were appeared of normal shapes and were normal immunoreactive for desmin. Original magnification, x 250.

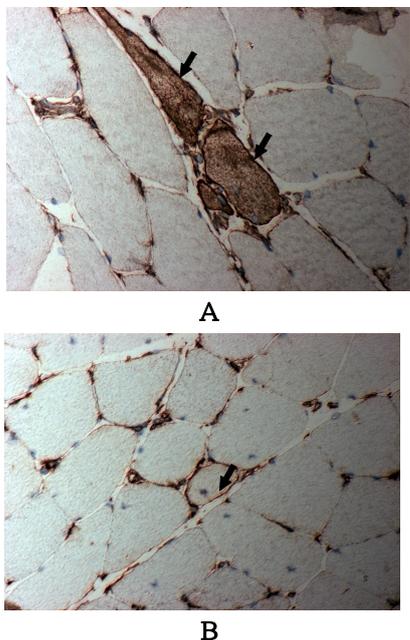


Fig. 10. Vimentin-positive muscle fibers of 30 days after sciatic nerve crushing injury. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Large vimentin immunoreactive muscle fibers (arrows) were visible. (B) Muscle fibers of 20 days treadmill exercised rat. Most myofibers show normal polygonal appearance and were not immunoreacted with vimentin. A small myofiber with central nuclei was observed (arrow). Original magnification, x 250.

### 5) 30일군

압괴손상 후 30일군(20일간 운동)의 대조군에서는 형태적으로 정상에 가까운 근섬유도 일부 관찰되었으나 실험군에 비해 재생중인 근섬유가 많았다(Figs 9A, 10A). 실험군은 대부분의 근섬유들이 정상 근섬유로 회복되고 있었다(Figs 9B, 10B). 대조군에서는 desmin에 강하게 염색된 직경이 작은 근섬유들이 관찰되었다(Fig. 9A). 실험군의 근섬유는 대부분 정상형태로 보여졌고 desmin에 정상군과 같은 양성 반응을 보였다(Fig. 9B). 대조군에서는 큰 근섬유들만이 vimentin 양성 반응을 보였고(Fig. 10A), 실험군에서는 많은 수의 근섬유에서 정상형태가 보였고 vimentin에 양성 반응을 보이지 않았지만 일부 중심핵을 갖는 작은 근섬유들이 관찰되었다(Fig. 10B).

### 고 찰

근육은 말초신경의 손상으로 인해 근육병증이 쉽게 일어나는 조직이며 운동장애가 빈번히 유발되기 때문에 근육병증 환자의 사회복귀를 도와주는 재활의학 및 물리치료분야에서 이에 관련된 연구에 지속적인 관심이 필요하다.<sup>19-21)</sup>

근육은 신경병증, 직접적인 외상, 혈관결찰, 화학적 요소나 기생충 감염 등 손상요인에 따라 다소 다를 수 있지만 일반적으로 근섬유(myofiber)의 근형질이 부풀어 오른 뒤 총괄적인 괴사가 일어나는 변성과정을 거치게 된다.<sup>22)</sup> 신경이 압괴손상되면 근섬유들은 일반적으로 손상 2일 후 작은 분절로 나뉘게 되며 이것들은 식작용(phagocytosis)에 의해 2주간 걸쳐 지속적으로 제거된다.<sup>23)</sup> 이 실험에서도 근육의 변성 과정이 손상 후 대조군에서는 16일째까지 진행되는 것이 관찰되었다. 특히, 손상 후 9일째에서는 대조군의 근섬유가 심하게 괴사된 상태였고 일부 부위에서는 조직구들을 포함한 것이 많이 관찰되었다. 이런 현상은 근육이 압괴되었거나 단순 절단되었을 때도 나타나는데 손상 후 2일째에 백혈구나 단핵구가 증가되기 때문이다.<sup>3)</sup>

근육의 재생은 태아에서의 근발생 과정을 반복하지만 이를 위해서는 근섬유를 둘러싸는 기저막이 완전하고 혈관 및 근위성세포가 존재할 때 가능하다. 이런 조건이 갖추어진 상황에서 근육의 재생은 근위성세포가 활동을 개시함으로써 시작된다. 정상 근발생시 desmin은 근관 및 근세사가 형성되기 전에 일찍 발현되는 것으로 보아 근

발생 과정에 있어서 매우 중요한 조절인자로 추측되고 있다.<sup>24,25)</sup> 그러므로 desmin 양성 면역반응을 보이는 근섬유들이 다수 출현한 것으로 보아 근위성세포가 활동을 시작하고 있다는 것이 입증되었다. 일부 근섬유들에서는 핵응축 현상을 나타냈으며 2개 이상의 핵을 갖고 있는 경우도 있어 한편으로는 지속적인 변성이 일어나고 있음을 알 수 있었다.

재생되는 시기는 근모세포시기(myoblastic stage)로 구분된다.<sup>26,27)</sup> 괴사가 일어난 부위를 따라 근형질막에 근접한 부위에서 단핵성의 근모세포(myoblast)들이 증식한다. 대부분의 경우는 정상적인 근형질막과 근위성세포가 관찰되기도 하지만 곧 근섬유와는 분리되어 고립되어진다. 또한, 어떤 경우에는 온전한 근핵이 손상된 근섬유에서 관찰되기도 한다. 활동적인 근위성세포는 크고 둥글며 진한 근핵을 갖는다. 이전의 근섬유에서 분리된 후 근형질막과 기저막사이에 위치하게 된다. 이들 세포들에게서는 가끔 유사분열이 관찰되며 이들은 단핵성 근모세포로 빠르게 증식된다. 재생 초기에 근형질이 호염기성인 것은 근모세포질내에 풍부한 RNA 때문이다.<sup>26-28)</sup> 이 실험에서 근육 손상 후 16일째 대조군에서 근섬유들은 계속적으로 위축되거나 괴사되고 있었고 조직구들도 다수 관찰되어 지속적인 변성이 일어나고 있었으나 vimentin에 강한 양성 반응을 보이는 세포들 중 세포가 집단을 이루고 있는 경우도 있어 재생도 동시에 나는 것을 확인할 수 있었다.

지금까지 신경손상에 의해 탈신경된 근육에서 desmin과 vimentin의 발현에 대한 실험적 연구는 그리 흔치 않지만 일부 연구자들에 의해 보고된 바 있다. Bornemann과 Schmalbruch<sup>11)</sup>는 흰쥐의 좌골신경을 절단손상시킨 후 1주에서 52주까지 관찰한 결과 desmin이나 vimentin이 나타나지 않았다고 하였으나 Goebel<sup>7)</sup>은 성인과 어린이의 탈신경된 위축된 근섬유에서 desmin이 나타난다고 보고하였다. 이와 같이 탈신경된 근섬유에서의 desmin의 출현 여부는 의견이 분분하지만 이 연구에서는 desmin뿐만 아니라 vimentin도 발현됨이 확인되었다(Figs. 3, 4).

단핵 근모세포(mononuclear myoblast)가 융합하여 근관(myotube)을 형성하는 동안 손상된 근섬유의 끝에서는 근형질삭(sarcoplasmic bud)이 마치 위쪽같이 나와 다른 손상 부위와 연결되어 근모세포가 위쪽의 표면을 덮게 된다. 띠모양의 근모세포는 다핵성이며 근형질에 싸여 있게 된다. 근핵 주위에서 근원섬유가 관찰된다. 다른 근섬유와 연결되면 더 이상 유사분열이 일어나지 않는

다.<sup>1-3)</sup> 근관(myotube)이 성숙한 근섬유로 전환되는 동안 근핵은 주변부로 이동하고 근세사(myofilament)는 두텁고 길어져 근원섬유(myofibril)가 된다. 근원섬유가 증가되는 기전은 발생단계에서의 근발생 과정과 흡사하다고 믿어진다. 각각의 근섬유는 결합조직이 지지하고 있는데 만약 이 결합조직이 손상이 되었다면 섬유모세포들이 증식되어 상처를 형성한다.<sup>1-3,29)</sup>

Kapoukranidou 등<sup>30)</sup>은 28일된 흰쥐의 좌골신경에 압제 손상을 주면 2일 이내에 척수의 운동신경세포의 72% 정도가 사망하는 것을 확인하였고, Herbison 등<sup>31)</sup>은 성숙한 흰쥐의 좌골신경에 압제손상을 준 후 신경전달속도를 측정 한 결과 3주부터 회복되기 시작하여 6주에는 정상 80% 정도까지 회복되었다고 보고하였다. Dubowitz<sup>32)</sup>는 실험동물에서 근육에 재신경지배가 일어날 때 거대근섬유(giant fiber)등과 같은 비정상적인 근섬유가 관찰된다고 하였다.

이 실험에서 vimentin 양성 반응을 보이는 무수히 많은 근섬유들이 나타난 것으로 미루어 보아 새로운 근원섬유가 생산되고 있음을 시사해 주었다. 신경 손상 후 16일째 실험군에서는 대조군에 비해 재생이 조금 더 진행된 근섬유들이 많이 관찰되었다. 근섬유들은 크기도 작았고 여러 개의 중심핵을 갖고 있었다. Vimentin 양성 반응을 보이는 근섬유들은 소수만 관찰되었다. Vimentin은 근모세포나 어린 근관 등에서 관찰되며 성숙 근섬유에서는 없어진다<sup>31)</sup>라고 하였으므로, 이 시기에도 지속적인 재생이 일어나고 있다는 증거라고 할 수 있다. 신경 손상 후 23일째 실험군에서 근섬유들은 둥글지만 회복양상을 보였고 어느 근섬유는 거의 정상으로 회복되어 있었다(그림 8B). Desmin에 양성 반응을 보이는 근섬유들은 거의 없는 반면 vimentin 양성 반응을 보이고 있었는데 이것은 desmin이 vimentin보다 일찍 사라지는 것을 의미한다. 근육 손상 후 30일째에서는 실험군 대부분의 근섬유들이 정상 근섬유로 회복되고 있었다. Desmin에 반응한 근섬유는 거의 없었고 이런 근섬유는 횡단면에서 각을 갖고 있어 정상 근섬유임을 입증해 주고 있었다. 그러나 일부 대조군의 근섬유들은 vimentin 양성 반응을 보이고 있었으며 이런 경우의 근섬유는 회복 단계인 것을 시사해 주었다.

그러므로 신경손상후 운동을 시킨 실험군과 운동을 시키지 않은 대조군에서 desmin과 vimentin 중간세사단백이 발현의 차이를 나타낸다는 이 연구의 결과는 근골격계통의 질환에서 근육의 변성과 재생을 진단하는데 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

## 결 론

중간세사단백 중 desmin은 신경병적인 근섬유의 변성 및 재생과정 모두에서 발현되며 vimentin은 재생과정에 서만 발현되었다.

압궤손상 후 9일, 6일, 23일, 30일에서 운동을 시킨 흰 쥐들이 운동을 시키지 않은 것들 보다 desmin과 vimentin의 면역 반응성이 높았고, 운동을 한 흰쥐의 근섬유들은 손상 후 30일째에 거의 정상으로 회복되었으나 운동을 안 한 흰쥐는 그렇지 못했다.

그러므로 압궤손상 후 트레드밀 달리기 운동이 흰쥐의 근육재생에 효과가 있다고 생각된다.

## 참고문헌

- 1) Carlson BM : The regeneration of skeletal muscle : A review. *Am J Ana* 137:119-150, 1973
- 2) Grounds MD: Towards understanding skeletal muscle regeneration. *Pathol Res Pract* 187:1-22, 1991
- 3) Kakulas BA, Adams RD : Disease of muscle : Pathological foundations of clinical myology, 4th ed, Philadelphia, Harper & Row, 1985, 131-163
- 4) Grounds M, Partridge TA, Sloper JC : The contribution of exogenous cells to regenerating skeletal muscle: an isoenzyme study of muscle allografts in mice. *J Pathol* 132:325-341, 1980
- 5) Best TM, Hunter KD : Muscle injury and repair. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 11:251-266, 2000
- 6) Capetanaki Y, Milner DJ : Desmin cytoskeleton in muscle integrity and function. *Subcell Biochem* 31:463-495, 1998
- 7) Goebel HH : Desmin-related neuromuscular disorders. *Muscle Nerve* 18:1306-1320, 1995
- 8) Lazarides E : Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space. *Nature* 283:249-256, 1980
- 9) Gallanti A, Prella A, Moggio M, Ciscato P, Checcarelli N, Sciacco M, Comini A, Scarlato G : Desmin and vimentin as markers of regeneration in muscle diseases. *Acta Neuropathol(Berl)* 85:88-92, 1992
- 10) Li H, Choudhary SK, Milner DJ, Munir MI, Kuisk IR, Capetanaki Y : Inhibition of desmin expression blocks myoblast fusion and interferes with the myogenic regulators MyoD and myogenin. *J Cell Biol* 124:827-841, 1994
- 11) Bornemann A, Schmalbruch H : Desmin and vimentin in regenerating muscles. *Muscle Nerve* 15:14-20, 1992
- 12) Larocque AA, Politoff AL, Peters A : The visualization of myosatellite cells in normal and denervated muscle: a new light microscopic staining technique. *Anat Rec* 196:373-385, 1980
- 13) Helliwel TR, Gunhan O, Edward RH : Lectin binding and desmin expression during necrosis, regeneration, and neurogenic atrophy of human skeletal muscle. *J Pathol*

- 159:43-51, 1989
- 14) Sarnat HB : Myotubular myopathy : arrest of morphogenesis of myofibres associated with persistence of fetal vimentin and desmin. Four cases compared with fetal and neonatal muscle. *Can J Neurol Sci* 17:109-123, 1990
- 15) Misra AK, Menon NK, Mishra SK : Abnormal distribution of desmin and vimentin in myofibers in adult onset myotubular myopathy. *Muscle Nerve* 15:1246-1252, 1992
- 16) Tews DS, Goebel HH, Schneider I, Gunkel A, Stennert E, Neiss WF : Expression profile of stress proteins, intermediate filaments, and adhesion molecules in experimentally denervated and reinnervated rat facial muscle. *Exp Neurol* 146:125-134, 1997
- 17) Satin B, Gollnick PD : Skeletal muscle adaptability: significance for metabolism and performance. *Handbook of Physiology. Am Physiol Soc*, 1983, 555-631
- 18) Kadi F, Hagg G, Hakansson R, Holmner S, Butler-Browne GS, Thornell LE: Structural changes in male trapezius muscle work-related myalgia. *Acta Nueropathol(Berl)* 95:352-360, 1998
- 19) van Meeteren NL, Brakkee JH, Helders PJ, Gispen WH : The effect of exercise training on functional recovery after sciatic nerve crush in the rat. *J Peripher Nerv Syst* 3:277-82, 1998
- 20) White CM, Pritchard J, Turner-Strokes L : Exercise for people with peripheral neuropathy. *Cocharane Database Syst Rev* CD003904, 2004
- 21) Carter GT : Rehabilitation management of peripheral neuropathy. *Semin Neurol* 25:229-37, 2005
- 22) Grounds MD : The proliferation and fusion of myoblasts in vivo. *Adv Exp Med Bio* 280:101-104, 1990
- 23) Hughes JT : Pathology of muscle, WB Saunders, Philadelphia, 1974, 57-60
- 24) Samat HB : Myotubular myopathy : arrest of morphogenesis of myofibers associated with persistence of fetal and neonatal muscle. *Can J Neurol Sci* 17:109-123, 1990
- 25) Lescaudron L, Li Z, Paulin D, Fontaine -Perus J : Desmin-lacZ transgene, a marker of regenerating skeletal muscle. *Neuromuscu Disord* 3:419-422, 1993
- 26) Robertson TA, Papadimitriou JM, Grounds MD : Fusion of myogenic cell to the newly sealed region of damaged myofibers in skeletal muscle regeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol* 19:350-358, 1993
- 27) Maley MA, Davies MJ, Grounds MD : Extracellular matrix, growth factors, genetics: their influence on cell proliferation and myotube formation in primary cultures of adult mouse skeletal muscle. *Exp Cell Res* 219:169-179, 1995
- 28) Bomemann A, Maier F, Kuschel R : Satellite cells as players and targets in normal and diseased muscle. *Neuropediatrics* 30:167-175, 1999
- 29) Carlson BM : The functional morphology of regenerating and transplanted mammalian muscle. *J Physiol(Lond)* 231:57-58, 1973
- 30) Kapoukranidou D, Gougoulas N, Hatzisotiriou A, Fardi D, Albani M, Kalpisi I : Assessment motorneuron death during development following neonatal nerve crush and Mg(2+) treatment. *Med Sci Monit* 11:BR373-379, 2005
- 31) Herbison GJ, Jaweed MM, Scott CM, Ditunno JF Jr : Muscle

- weight and protein content of rat skeletal muscle following sciatic nerve crush. Arch Phys Med Rehabil 55:241-246, 1974
- 32) Dubowitz V : Pathology of experimentally re-innervated skeletal muscle. J Neurol Neurosurg Psychiatry 30:99-110, 1967