

흰쥐 좌골신경손상 후 전기 자극이 대뇌피질에서의 MAP2 발현에 미치는 영향

대구대학교 대학원 재활과학과 물리치료 전공

안 은 영*

대구대학교 재활과학대학 물리치료학과

김 진 상

The Effect of Electrical Stimulation on MAP2 Expression in the Cerebral Cortex following Sciatic Nerve Crush Injury in Rat

Ahn, Eun-young, P.T. , M.S

Major in Physical Therapy, Dept. of Rehabilitation Science, Graduate School, Daegu University

Kim, Jin-sang, D.V.M. , Ph.D.

Dept. of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Daegu University

<Abstract>

The purpose of this study was to investigate the effect of electrical stimulation(EST) on MAP2(Microtubule Associated Protein 2) expression in cerebral cortex following sciatic nerve crush injury in rats. Twelve Sprague-Dawley adult female rats, six for control and six for experimental, were anesthetized and their sciatic nerves were crushed. The electrical stimulation (EST) was applicated with 3Hz for 10 minuties in a day for muscles innervated sciatic nerve. The MAP2 expression in cerebral cortex was identified from immunohistochemistry against MAP2.

*교신저자: 대구 남구 대명동 2288번지, 대구대학교 대학원 물리치료전공 e-mail: ahney10@hanmail.net

The result of this study were as follow :

- 1) In control group, MAP2 immunoreactive neurons were observed but there no significant increase for 3 days.
- 2) MAP2 immunoreactive neurons were increased markably in experimental group than control group.
- 3) MAP2 immunoreactive neurons were increased markably after applicating with EST in sciatic nerve crush injury induced group from 2nd day.

This study showed that the application of EST for muscles after sciatic nerve crushed injury made MAP2 immunoreactive neurons in the cerebral cortex increased. Therefore, the electrical stimulation on the peripheral site, denervated muscle, may facilitate MAP2 expression in the cerebral cortex.

Key word : MAP2, electrical stimulation, sciatic nerve crush injury.

Ⅰ. 서 론

말초신경은 손상시 탈신경 부위의 운동신경, 감각신경, 자율신경 조절이 감소된다. 이는 손상 신경의 재생, 말단부로부터 축삭의 재 성장 및 말초신경의 기능적 연결로 인한 재확립을 통하여 회복되며, 신경조직의 분열상태와 치유과정에 따라 달라진다(Navarro 등, 1994 ; Ossowska 등, 1996). 그러나 말초신경은 수술과 적절한 치료를 하더라도 근육 기능 상실, 감각 장애 및 통증성 신경병 등으로 인하여 손상 이전의 완전한 기능적 회복은 어렵다(Evans 등, 1999; Fu와 Gordon, 1997; Meyer 등, 1997).

말초신경은 내계(intrinsic system)와 외계(extrinsic system)의 잘 발달된 혈관구조를 가지고 있어 경한 손상 시에는 미세혈류에 큰 장애를 초래하지 않으나 심한 손상 시에는 신경의 미세혈류 장애를 초래하여 신경의 영양공급을 차단함으로써 전달기능의 장애 및 지배근육에 영향을 미쳐 운동마비 및 감각 상실을 가져오며(McCarthy 등, 1990), 시간경과에 따라 척수신경절 및 척수내의 신경세포에도 손상을 유발하게 된다. 말초신경의 손상으로 신경이 정상적으로 근육을 지배하지 못하여 근육 변성이 일어나는 탈신경근 위축(denervated muscle atrophy)이 발생하게 되는데, 이는 근육 내 단백질 합성의 감소 및 단백질 분해의 증가로 인한다(이재형과 이경로, 1990). 이러한 신경 손상의 재생 및 탈신경근 위축의 지연 및 치료의 주된 방법은 운동과 전기자극이다(대한정형외과학회, 1990).

전기자극은 물리치료에서 말초 및 중추신경계 손상 후

신경재생 및 기능회복에 효과적임은 널리 알려져 있다. 고압전기자극이나 저주파 전기자극은 근력 유지 및 증가를 목적으로 사용되고 있으며, 이 중에서 특히, 저주파 전기자극치료(EST)는 역학적 자극을 가하여 탈신경근의 구조적, 기능적 변화를 막기 위한 목적으로 임상에서 주로 사용되고 있다(이재형, 1995). 탈신경근에 강한 강도로 반복적인 전기자극을 가하여 인위적인 근수축을 유발시킴으로써 근섬유 직경과 지체 둘레가 증가되고 근무게 감소율이 지연되어 근위축의 예방 및 지연에 효과적이다(이재형과 이경로, 1990). Snow와 Wilson(1990)은 전기자극은 말초의 신경지배를 확장시키거나 기능은 없으나 이미 존재하는 신경망을 활성화하며, 기능이 없는 신경말단을 활성화한다고 하였으며, Bao 등(1993)은 전기자극이 신경전달물질에 대한 수용체를 조절함으로써 기능적으로 신경가소성을 초래하여 신경손상을 회복시킨다고 보고하였다. 이재성 등(1997)은 척수 손상 후 말초신경의 전기자극은 운동신경 섬유를 통해 근수축력을 증가시키고, 근 피로지수를 감소시킴으로써 근위축을 방지하며, 감각신경섬유를 통하여 척수에서 c-fos 면역반응세포를 증가시켜서 신경가소성을 촉진시킨다고 하였다.

MAPs(Microtubule-associated proteins)는 축삭과 수상돌기의 초기 성장과정에 필수적이며 신경 성장 및 재생의 신경 가소성에 있어 중요한 작용을 하는 단백질로서, 이들 단백질 중 포유류의 중추 신경계 내에서 가장 풍부한 것이 MAP2이다(Dayhoff 등, 1994; Diaz-Nido 등, 1990; Johnson과 Jope, 1992; Olmsted, 1986; Wiche, 1989). 또한 MAP2는 수상돌기체에서 신경 형

성역할을 하는 세포 골격계 단백질로서 초기 신경손상 재생의 지표로 알려져 있다(Malinak과 Silverstein, 1996; McRae 등, 1995).

이에 본 연구에서는, 말초신경 손상치료에 대한 대부분의 연구들이 EST 자극에 의한 탈신경근 내에서의 변화를 주로 관찰하였고, 근육 자극에 의한 말초신경 재생에 있어 대뇌피질과의 연관성을 살펴본 논문은 거의 없었으므로, 신경 재생에 중요한 역할을 하는 MAP2의 발현을 통하여 말초신경 손상시 그 신경의 지배를 받는 근육에 EST 자극이 손상된 말초신경의 재생 및 대뇌피질에 어떠한 영향을 미치는지에 대해서 알아보고자 한다.

II. 연구방법

본 연구는 좌골 신경 손상 후 좌골신경 지배신경에 전기자극치료가 대뇌피질의 MAP2 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여 다음과 같은 연구 방법으로 진행하였다.

1. 실험동물

본 연구에서는 동일한 조건 하에서 사육한 체중 200~250gm 내외의 성숙한 Sprague-Dawley 계통의 암컷 흰쥐 12마리를 사용하였다. 실험동물은 좌골신경 압박손상만 일으킨 대조군(6마리; 1일군, 2일군, 3일군)과 압박손상 후 전기자극치료를 적용한 실험군(6마리; 1일군, 2일군, 3일군)으로 무작위로 나누어 실시하였다. 사육실 온도는 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 50~60%, 명암은 12시간 주기로 조절하고 식이와 물은 자유급식 하였다.

2. 실험방법

1) 좌골신경 압박손상 유발 방법

흰쥐를 Ketamine hydrochloride(Ketalar, Yuhan Co., Korea, 50mg/ml)과 Xylazine hydrochloride(Rompun, Bayer, Germany, 20mg/ml)를 1:1 비율로 혼합하여 체중 1kg 당 2 ml를 복강 내에 주사하여 전신 마취시킨 후, 모든 실험동물의 왼쪽 좌골신경에 압박손상을 일으키기 위해서, 대전자부와 슬관절 사이에서 피부를 삭도한 후 2~2.5cm 길이로 절개하고 좌골신경을 둘러싸고 있는 주위 근육들에서 좌골신경을 분리시킨 후 경골신경과 비골신경으로 분리하기 전의 부위를 직선 지혈 겸

자(haemostatic forceps, Crile, 15cm)를 이용하여 30초간 압박하였다. 압박 시 압박이외의 자극으로부터의 손상을 방지하기 위하여 부드러운 플라스틱으로 겹자를 씌운 상태에서 70% 알코올로 소독 후 압박을 실시하였다. 겹자는 3단계로 힘을 가할 수 있도록 만들어져 있는 것을 사용하였으며, 신경손상을 동일한 힘으로 일정부위에서 줄 수 있도록 겹자의 끝에서 5mm 위쪽에 선을 표시한 후 매번 같은 부위에서 신경을 압박하였고 가장 강한 3단계의 힘으로 손상을 유발하였다. 압박 후 동물실험용 봉합사를 이용하여 상처를 봉합한 후, 전기자극치료의 양성전극이 위치 할 하척수의 후면을 삭도하였다.

2) 전기자극치료(EST) 적용방법

전기자극치료 기기는 Audio Treater EF-120(OG Giken, Japan)를 사용하였으며, 자극부위를 삭도하여 비활성전극은 하척수의 후면에 부착하였고 활성전극은 쥐의 극소 부위를 사용할 수 있도록 직경 2mm 정도의 전극을 만들어 좌골신경이 지배하는 전경골근과 비복근을 전기 자극하였다. 주파수는 3Hz로 하였고, 전류강도는 약강축을 감지할 수 있을 정도로 하여, 10분간 하루 1회씩 실시하였다. 치료 시 대조군 또한 치료시간 동안 마취를 시켜주어 실험군과 최대한 동일한 조건을 주었다.

실험군의 조직은 전기자극치료 적용 30분 후 0.9% NaCl을 이용하여 심장관류하였고, 8% paraformaldehyde (pH 7.2-7.4)를 다시 심장 관류하여 조직 전 고정을 하였고, 뇌를 적출하여 면역조직화학검사를 위해 다시 8% paraformaldehyde에 두시간 동안 후 고정 하였으며, 수크로스(25% sucrose)에 하루 동안 4 $^{\circ}\text{C}$ 냉장보관 하였다. 대조군은 전기자극치료를 적용하지 않았고 위와 동일한 과정을 거쳐 조직을 적출 한 뒤 보관하였다.

3) 조직절편제작

수크로스에 하루 동안 보관했던 뇌를 극저온 냉동기(Frigomobil, Leica, Germany)를 이용하여 영하 40 $^{\circ}\text{C}$ 로 냉동하였고 미세절단기(LEICA SM2000R, Leica, Germany)를 이용하여 30 μm 로 잘라 0.01M phosphate buffer(PB)에 처리하였다.

4) 면역조직화학법

0.01M PB에 처리된 조직을 1:1000으로 희석된 1차 항체(rabbit MAP2(anti-MAP2polyclonal antibody, Chemicon, America) 500 μl 에 처리하여 24시간 동안

4℃ 냉장보관하였다. 0.01M PB에 10분 3회 수세를 실시하고, 2차 항체인 anti-IgG(Vector, USA)에 넣어 실온 90분 처리한 후, 다시 0.01M PB로 10분 3회 수세를 실시하였다. 3차로 phosphate buffer saline Triton X-100(PBST)로 희석한 avidine-biotin peroxidase complex(ABC)kit(Vector, USA)으로 실온에서 30분간 처리하였다. 0.01M PB를 이용하여 10분간 3회 수세한 후 발색과정을 위하여 기질액인 DAB(3' 3'-diaminobenzidine, sigma,U.S.A)에 10분간 처리하였다. 0.01M PB로 10분씩 3회, 3차 정류수로 10분씩 3회 수세한 후 조직을 슬라이드에 올렸다. 대조염색을 위해 toluidin blue를 이용하여 3분간 염색한 후 흐르는 물에 수세하고, 일반적인 탈수과정(70%, 80%, 90%, 95%, 100% etanol I & II, xylene 100% I & II)을 각각 10분씩 거친 다음 광학현미경적 관찰을 위해 봉입하였다.

5) 형태학적 및 면역조직화학적 관찰

형태학적 관찰에는 광학현미경(Olympus Bx 50, Japan)을 이용하였고, 현미경에 장착된 CCD 카메라(Toshiba, Japan)와 컴퓨터를 연결시켜 자료를 전송하였으며, 디지털화된 자료는 윈도우용 Image-pro plus ver 4.0 (Media Cybernetics, U.S.A)를 이용하여 촬영과 영상분석을 시행하였다.

6) 결과처리

형태학적 소견에서 육안적 소견은 광학현미경 하에서 단위면적 당 반응성을 기준으로 도식화시켰고, 면역조직화학적 소견의 통계처리는 뇌조직에 발현된 MAP2의 수를 SPSS WIN 10.0을 이용하여 일원배치분산분석으로 처리하였다. 유의수준 $p < 0.05$ 로 하였다.

III. 연구결과

1. 육안적 소견

MAP2를 항원으로 하는 면역조직화학적 방법으로 염색한 면역양성반응 신경원 세포체는 rat brain map을 기준으로 하여 주로 bregma -2.12mm~-3.3mm 부위의 frontal cortex의 area 1과 2, 그리고 retrosplenial agranular cortex에 발현됨이 관찰되었다. 실험군(Fig

1; A, B, C)의 경우 MAP2 단백질을 항원으로 하는 면역조직화학적 방법으로 염색한 표본에서 2일과 3일에서 많이 발현되었고, 대조군(Fig 1; D, E, F)의 경우는 시간경과에 따라 거의 변화가 없었다.

2. 면역조직화학적 소견

1) 대조군에서 MAP2의 면역양성 반응 신경원의 변화

좌골신경 압박손상 후 대뇌피질에서 MAP2 면역양성 반응을 보인 신경원 세포수를 1일, 2일, 3일군으로 하여 측정된 결과 각각 41.00 ± 7.44 , 46.25 ± 5.38 , 46.5 ± 7.14 로 나타났다. 이들 시간경과에 따른 발현 세포수의 평균에는 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$)(Fig. 2).

2) EST 적용군에서 MAP2 면역양성반응 신경원의 변화

좌골신경 압박손상 후 좌골신경 지배근육에 EST를 적용한 실험군의 대뇌피질에서 MAP2 면역양성반응을 보인 신경원 세포수를 1일, 2일, 3일군으로 나누어 측정된 결과 각각 55 ± 17.32 , 180.75 ± 23.52 , 170 ± 21.90 로 나타났다. 이들 시간경과에 따른 발현 세포수의 평균에는 1일과 2일에서 유의한 차이가 나타났다($p < 0.05$)(Fig. 2).

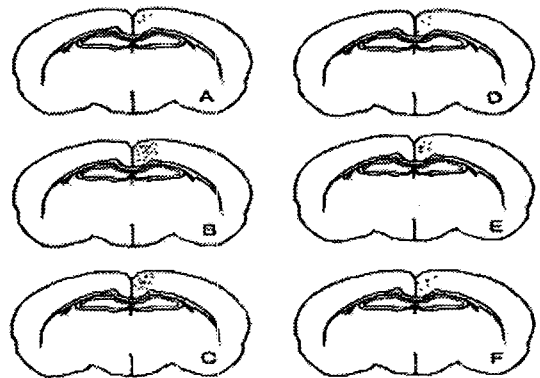


Fig.1. Each schema includes labelled neurons in one 30 micrometer section. As time passed, MAP2 immunoreactive neurons in experimental group(A, B, C) were gradually increased in cerebral cortex.

A=1st day after EST application
B=2nd day after EST application
C=3rd day after EST application
D=1st day after sciatic nerve crushed injury
E=2nd day after sciatic nerve crushed injury
F=3rd day after sciatic nerve crushed injury

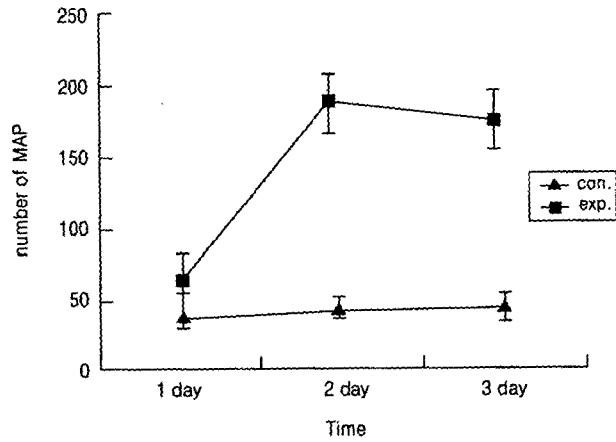
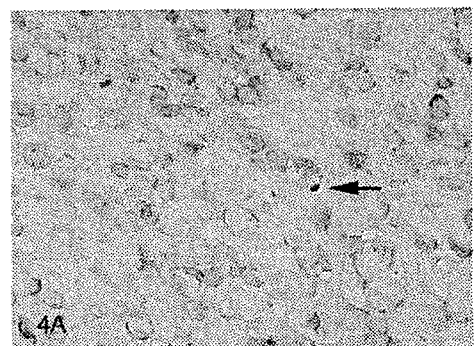
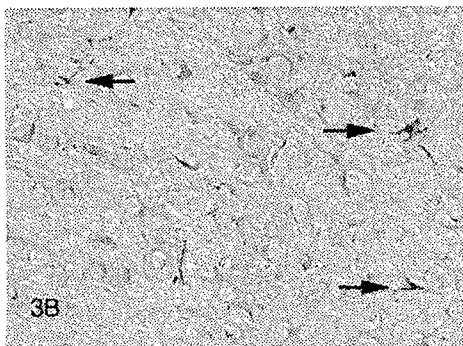
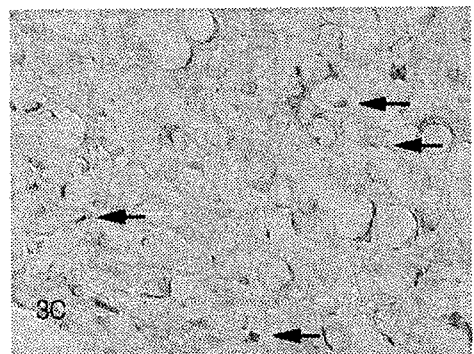
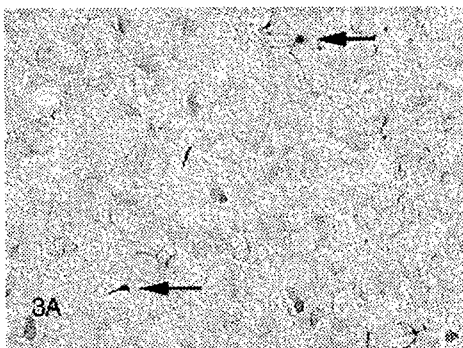


Fig. 2. The changes of the average numbers of MAP2 immunoreactive neurons in cerebral cortex. *p<0.05



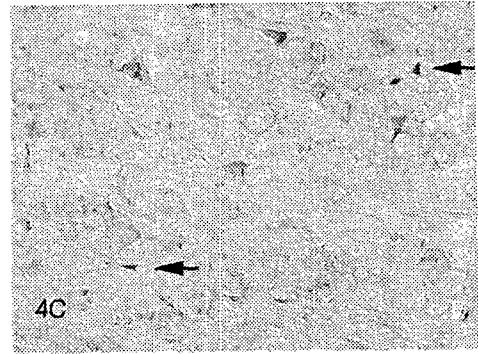
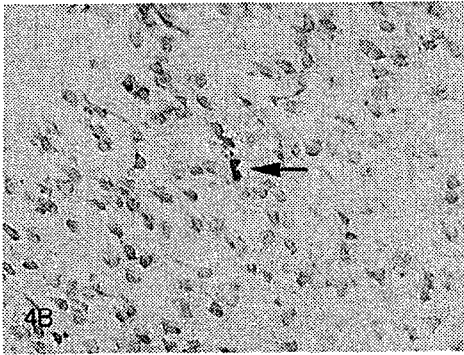


Fig. 3. The picture of MAP2 immunoreactive positive neurons in sciatic crushed injury-induced rat cerebral cortex after EST application(×200).

MAP2 immunoreactive positive neurons are progressively increased from the first to third days. Especially, MAP2 immunoreactive positive neurons was increased in two days.

- A:** 1day after application EST on sciatic crushed injury group.
- B:** 2days after application EST on sciatic crushed injury group.
- C:** 3days after application EST on sciatic crushed injury group.

Fig. 4. MAP2 immunoreactive positive neurons in sciatic crushed injury-induced rat cerebral cortex(×200).

- A:** 1day after sciatic crushed injury induced.
- B:** 2days after sciatic crushed injury induced.
- C:** 3days after sciatic crushed injury induced.

Ⅳ. 고 찰

현대 산업의 발달로 인하여 산업재해 및 교통사고의 증가로 말초신경의 손상이 점차 증가하고 있으며, 이의 적절한 치료를 위한 손상 신경의 재생에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다(Happel과 Kline, 1991). 말초신경의 손상은 대부분 외상성으로 골절, 근육 및 건의 손상과 함께 발생하며 드물게는 비 외상성으로 대사성 질환, 악성종양, 화학, 국소 저혈중, 화학물질의 자극 등으로도 발생할 수 있다. 말초신경의 손상으로 인한 근육의 마비, 감각의 소실로 야기되는 개인의 불구와 사회적 손실의 막대함을 고려할 때 치료와 사회 복귀등에 많은 관심이 필요하다(정문상 등, 1990). 신경은 손상 받은 후 우선 슈반세포가 2-3일내에 대식세포에 의해 점차적으로 탐식되어 분해된다. 그리하여 기저막으로 둘러싸인 빈 관상형의 구조물을 통해 축삭이 근위부로부터 자라 들어오며 그 후

슈반세포가 역시 근위부로부터 축삭을 따라 이주해 온다고 한다(Ide 등, 1983 ; Ide와 Kato, 1990). 또한 손상 1-3일 후 슈반 세포의 세포질 돌기가 기저막으로 자라 슈반세포의 세포주를 형성하고 진행되면서 재생 축삭은 곧 개개의 신경섬유로 분리되어 1주가 되면 축삭의 유수화가 진행된다고 하였다(Osawa 등, 1990). 말초신경 손상시 신경재생에 있어 슈반세포는 기능 회복 과정에 필수적인 요소로 신경섬유는 수 일 내지 수 주일간은 자생력으로 자라나지만, 지속적인 유용한 성장을 위해서는 신경영양성 인자가 제공되어야 한다. 이러한 신경손상의 회복 및 기능 증진에 필요한 여러 신경영양성 인자 및 성장인자들에 대해 많이 보고되고 있다(Aebischer 등, 1989; Gispén 등, 1991; Rich 등, 1989). 말초신경 혹은 척수 후근의 절단 및 말초신경의 손상은 신경말단의 손상, 척수 신경절과 척수의 신경세포 손상과 함께 신경세포에서 자극의 전달 및 신경섬유의 재생에 관련된 인자

와 신경교세포 관련 인자들의 발현에 많은 영향을 미친다. Kajander과 Xu(1995)는 만성적인 신경 결찰 손상이 동측의 척수에서 substance-P와 calcitonin gene related peptide(CGRP)의 유전자 발현을 감소시킨다고 하였으며, Woolf 등(1990), Schreyer와 Skene(1991)은 척수신경 손상 시에 척수 신경절 및 후각에서 신경섬유의 성장에 관련된 growth associated protein-43(GAP-43)이 증가되며 이러한 단백질의 증가는 신경섬유의 재생 능력을 반영한다고 보고하였다.

MAPs는 섬사 형태의 단백질로 미세소관 사이에 교차구조를 이루고 있으며, 탈 인산화와 재조합의 반복적인 주기를 통해 미세소관의 조합을 촉진하고, 미세소관을 서로 엮어 안정화 시키는 역할을 하는 단백질이다. MAPs는 신경의 형태유전학적으로 미세소관의 조직화와 활동을 조절한다고 알려져 있다(Hirokawa, 1991 ; 1994). MAPs는 중추신경계와 말초신경계 모두에서 볼 수 있는데, 신경계 MAPs 중 가장 많은 것이 MAP1B와 MAP2이다. MAP1B는 주로 신경 성장의 초기에 발현되는 반면에 MAP2는 신경성장의 초기와 후기 모두에서 나타난다(Tucker, 1990). 이 중 MAP2는 열에 안정적인(heat-stable) 단백질로서, 포유류의 중추 신경계 내에서 가장 풍부하며(Olmsted, 1986; Wiche, 1989), 신경 성장 및 신경 가소성에 중요한 작용을 하는 단백질이다(Dayhoff 등, 1994; Diaz-Nido 등, 1990; Johnson과 Jope, 1992). MAP2의 형태는 크게 고분자량 MAP2 (High-molecular weight MAP2, HMWMAP2)와 저분자량 MAP2 (Low-molecular weight MAP2, LMWMAP2)로 나뉘며, 이는 분자량에 따라 각각 MAP2A, MAP2B와 MAP2C, MAP2D로 분류된다(Kindler 등, 1990; Lewies 등, 1988). MAP2는 신경계에 주로 존재하며, 또한 비 신경계 조직인 골격근, 고환, 상피조직에도 약간씩 볼 수 있다(Loveland 등, 1996; Valdivia 등, 1982; Wiche 등, 1984). 특히, HMWMAP2는 신경 세포체와 수상돌기에 대부분 위치하고 있으며(Chung 등, 1996; Fletcher 등, 1994; Scheetz와 Dubin, 1994), LMWMAP2는 신경구획 대부분에서 볼 수 있다(Albala, 1995; Meichsner 등, 1993; Tucker 등, 1988). MAP2는 인단백질로서, 인산화 상태에 의해 미세소관과 다른 세포구조물간의 상호작용을 조절하는데, MAP2의 인산화는 미세소관의 분해 및 미세소관에서의 MAP2의 분리로 일어나며, 반대로 MAP2의 탈 인산화는 미세소관과 액틴의 엮음을 촉진시

키게 된다(Desai과 Mitchison, 1997; Jameson과 Caplow, 1981; Maccioni과 Cambiazo, 1995). MAP2 kinases가 세포로의 핵산 전달이 일어나면, MAP2의 고인산화가 미세소관 분열을 촉진시키고, 형태적 변화를 일으킨다(Drewes 등, 1997). 또한, MAP2의 인산화 증가로 인하여 수상분지가 일어나게 된다(Diez-Guerra와 Avila, 1995; 1993). MAP2의 탈 인산화시 단백질 kinases의 억제제를 가하게 되면, 수상분지는 감소하게 된다(Audesirk 등, 1997). Riederer와 Barakat-Walter(1992)는 병아리의 척수 후근 신경절에서 MAPs의 발현을 관찰한 결과 이 중 MAP2는 주로 축삭의 중심부와 근위 신경절에서 볼 수 있었다 하였으며, Bigot와 Hunt (1991)는 MAP2가 신경 세포체와 수상돌기내의 신경 세망과 밀접한 연관이 있으며, 이는 MAP2의 미세소관과의 결합으로 인하여 신경 세포 골격의 안정성이 유지된다고 보고하였다. Svensson과 Aldskogius(1992)는 흰쥐의 일측 설하신경 절제시 MAP2의 발현 양상을 손상 후 4일에서 6주간 관찰한 결과, 손상부의 신경핵 주위와 신경망에서 MAP2의 현저한 감소를 보였으며, 이러한 감소는 신경 절제로 인한 수상돌기의 퇴축으로 인한 것이라고 보고하였다. Zhang 등(2000)은 손상 시 시간경과에 따른 MAP2의 발현을 보았는데, 척수 손상 1-6시간 이내에 MAP2는 급격히 감소되는 반면에 신경세망 단백질은 손상 후 1주일동안은 큰 변화가 없었으므로, 척수 손상에 따른 세포 골격계의 분열은 MAP2의 감소에 이어서 신경세망 단백질의 감소가 일어난다고 하였다. Craig와 Banker(1994)는 배양된 해마신경의 정상적 성장은 배양 첫 이틀 동안에 축삭과 수상돌기 성장에 필요한 세포골격계의 활동이 일어나는데, 축삭 성장의 초기 단계에서는 LMWMAP2의 인산화가 증가하고 성장 후기에는 HMWMAP2의 인산화가 일어나며, 축삭과 수상돌기의 성숙단계에서는 MAP2의 인산화가 점차적으로 감소된다고 하였다. Diez-Guerra와 Avila(1993)는 해마 신경원에서 배양 첫 3일 동안 MAP2의 인산화가 현저히 증가하고 수상돌기가 형성되었다고 보고하였다. 본 연구에서는 좌골신경 압축손상 후 3일간 MAP2의 발현을 관찰한 결과 면역양성반응 신경원의 발현을 관찰할 수 있었으며, 이는 Craig와 Banker(1994)의 보고와 같이 신경성장 초기에 세포골격계의 활동으로 MAP2의 인산화 작용으로 인한 것으로 생각할 수 있다.

말초신경 손상에 대한 물리치료는, 신경손상으로 인한

구축 및 위축 예방을 목적으로 흔히 전기치료와 운동치료, 보조기 등을 적용하고 있다(민경옥과 김순희, 1997). 전기치료는 현재 임상에서 널리 쓰이고 있는 물리치료의 한 분야로서, 종래의 전통적 전기치료는 직류전류와 저전압 저주파 전류를 이용하여 주로 신경 및 탈신경 근육을 자극하여 근수축을 유발시키는 전기자극치료였으나 요즘은 저전압 저주파 전류뿐 아니라 고전압 전류, 중주파 전류, 미세전류 등 여러 가지 전류를 폭넓게 이용하고 있으며 신경을 자극하는 것과 근육을 자극하는 것을 구별하여 사용되고 있다(이재형, 1995). 역학적 자극을 목적으로 하는 저주파 치료는 말초신경이 이환된 탈신경근을 자극하는 것으로, Joplin 등(1987)은 저주파 전기자극이 가토의 골격근의 유전자 전사 및 전이에 영향을 미쳐 핵산 및 단백질 합성을 증가시켰다고 보고하였으며, Borgens 등(1990)은 기니피그에서 일측 척수손상 후 전기자극을 손상 부위에 가함으로써 반사기능이 촉진되었다고 하였다. Fehlings와 Tator(1992)들은 흰쥐에서 척수의 압박손상 후 전기자극에 의해 체성 감각유발전위의 회복이 촉진되고, 손상된 축삭수가 감소됨을 보고하였다. 또한 Park 등(1992)은 흰쥐 후지 체간 현수에서 좌골신경에 저주파 전기자극을 가함으로써 근위축이 예방되었다고 하였으며, 심대무 등(1995)은 척수손상 후 좌골신경에 전기자극을 가했을 때 하지의 운동기능 회복을 촉진시킬 수 있다 하였다. 또한 전기자극에 의한 중추효과로 Basmajian과 Luca(1988)는 감각신경과 운동신경이 혼합된 말초신경을 전기 자극 할 때 척수의 감각 및 운동뉴런을 지속적으로 흥분시킨다 하였고, Jęstinija와 Urban(1994)은 전기자극이 시냅스에서 신경전달물질의 분비를 증가시켜 척수의 운동 및 감각 뉴런들에서 흥분성 후 시냅스 전위가 증가하는 신경 가소성을 유발하여 신호전달을 촉진시킨다고 보고하였다. Follesa 등(1994)은 전기자극이 척수의 감각 및 운동 뉴런들의 흥분에 의하여 신경성장인자 및 섬유아세포 성장인자등 신경재생을 촉진시키는 물질들의 합성을 증가시킨다고 하였으며, Koshinaga 등(1993)은 척수손상이나 말초신경 손상 뒤 손상부에서 증가된 신경 성장인자와 함께 손상된 뉴런들의 재생을 촉진시킨다고 보고하였다.

따라서 본 연구의 결과에서 말초신경 손상 후 신경 지배근의 전기자극치료시 대뇌피질에서 신경재생 및 신경가소성에 중요한 작용을 하는 MAP2의 발현이 증가함을 확인할 수 있었고, 이상의 연구와 같이 전기자극치료는 대뇌피질에서의 손상회복과 관련된 물질을 발현시킴으로

써 신경재생을 촉진시키는 것으로 추정된다.

V. 결 론

좌골신경 압박손상을 일으킨 흰쥐의 대뇌피질에서 시간경과에 따른 MAP2의 발현정도를 면역조직화학법으로 관찰·분석하여 전기자극치료의 효과에 관하여 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. 좌골신경 압박손상을 일으킨 실험적 대조군의 경우, 3일 동안 매일의 변화를 관찰한 결과, MAP2 면역양성반응 신경원 세포의 발현을 관찰 할 수 있었지만, 3일 동안 발현 세포수의 유의한 증가는 없었다.

2. 좌골신경 압박손상을 일으킨 후 전기자극치료를 실시한 군에서 대조군에 비하여 MAP2 면역양성반응 신경원 세포수가 증가하였다.

3. 좌골신경 압박손상을 일으킨 후 전기자극치료를 실시한 군은 적용2일째 MAP2 면역양성반응 신경원의 수가 유의하게 증가하였다 ($p<0.05$).

그러므로 좌골신경 압박손상 후 좌골신경 지배 근육에 대한 전기자극치료는 대뇌피질에서 MAP2 면역양성반응 신경원 수를 증가시키며, 이러한 증가는 말초부위에 대한 전기자극치료가 대뇌피질에서의 MAP2 발현에 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다.

< 참 고 문 헌 >

- 대한정형외과학회 : 정형외과학, 제4판, 서울: 최신의학사, 1986.
- 민경옥, 김순희 : 질환별 물리치료 II, 서울: 대학서림, 1997.
- 심대무, 최정기, 차상도, 박병림 : 흰쥐에서 척수손상 후 후지의 운동기능회복을 위한 좌골신경의 전기자극효과. 대한척수의과학회지, (2)2, 151-160, 1995.
- 이영희, 박노옥, 심재욱, 최재혁 : 흰쥐의 좌골신경 손상 시 비복근 탈신경전위의 Power Spectrum Analysis를 이용한 정량분석, 대한재활의학회지, 23(2), 202-209, 1999.
- 이재성, 이문영, 김민선, 박동식, 최석준, 박병림: 흰쥐에

- 서 척수손상 후 기능회복에 관여하는 전기자극의 작용기전. 대한재활의학회지, 21(2), 281-289, 1997.
- 이재형 : 전기치료학, 제 1판, 서울 : 대학서림, 1995.
- 이재형, 이경로 : 전기자극이 흰쥐 탈신경 근육의 위축에 미치는 영향. 대한물리치료학회지, 2(1), 47-63, 1990.
- 정문상, 원중희, 윤강섭, 여봉구, 정성수 : 말초신경 손상의 임상적 고찰. 대한정형외과학회지, 25(2), 347-352, 1990.
- 한태륜, 김상규, 김진호 : 외상성 말초신경손상에 대한 임상적 고찰. 대한재활의학회지, 12(1), 64-71, 1988.
- Aebischer P, Saslessoittis AN, Winn SR : Basic fibroblast growth factors released from synthetic guidance channels facilitates peripheral nerve regeneration across iong nerve gaps. Journal of Neuroscience Research, 23, 282-289, 1989.
- Albala JS, Kress Y, Liu WK, Weidenheim K, Yen SH, Shafit ZB: Human microtubule-associated protein - 2c localizes to dendritis and axons in fetal spinal motor neurons. Journal of Neurochemistry, 64, 2480-2490, 1995.
- Audesirk G, Cabell L, Kern M: Modulation of neurite branching by protein phosporylation in cultured rat hippocampal neurons. Developmental Brain Research, 102, 247-260, 1997.
- Bao J, Reier PJ, Munson JB. Enhancement of c-fos expression in neurons of the rat spinal cord after partial denervation : Evidence for functional plasticity. Experimental Neurology, 122, 189-195, 1993.
- Basmajian JV & de Luca CJ. Muscles alive : Their functions revelead by electromyography. Baltimore Williams & Wilkins, 125-135, 1988.
- Bigot D & Hunt SP. The effect of quisqualate and nocodazole on the organization of MAP2 and neurofilaments in spinal cord neurons in vivo. Neuroscience Letters, 131(1), 21-26, 1991.
- Borgens RB, Blight AR, McGinnis ME. Functional recovery after spinal cord hemisection in guinea pigs the effects of applied electric fields. J Comp Neurol. 296, 634-653, 1990.
- Chung, WJ, Kindler S, Seidenbecher C, Garner CC. MAP2a, an alternatively spliced variant of microtubule-associated protein 2. Journal of Neurochemistry, 66, 1273-1281, 1996.
- Craig A, Banker G. Neuronal polarity. Annual Review of Neuroscience, 17, 267-310, 1994.
- Dayhoff J, Hameroff S, Lahoz-Beltra, R, Swenberg C. Cytoskeletal involvement in neuronal learning: a review. European Biophysical Journal, 23, 79-93, 1994.
- Desai A, Mitchison TJ Microtubule polymerization dynamics. Annual Review of Cell Developmental Biology, 13, 83-117, 1997.
- Diaz-Nido, J, Hernandez M, Avila J Microtubule proteins in neuronal cells. CRC Press Broca Raton FL USA, 193-259, 1990.
- Diez-Guerra J, Avila J. Rapid dephosphorylationof microtubule-association protein 2 rat brain hippocampus after pentylenetetrazole-induced seizures. European Journal of Biochemistry, 215, 181-187, 1993.
- Diez-Guerra J, Avila J An increase in phosphorylation of microtubule-association protein 2 accompanies dendrite extension during the differentiation of cultured hippocampus nerons. European Journal of Biochemistry, 227, 68-77, 1995.
- Evans GRD, Brandt K, Widmer MS, Lu L, Meszlenyi RK, Gupta PK, Milkos AG, Hodges J, Williams J, Gulek A, Nabawi A, Lohman R, Patrick CW. In vitro evaluation of polyporus conduits for peripheral nerve regeneration. Biomaterials, 20, 1109-1115.
- Fehlings MG, Tator CH. (1992). The effect of direct current field polarity on recovery after acute experimental spinal cord injury. Brain Research, 579, 32-42, 1999.
- Fletcher TL, De Camili P, Banker G. Synaptogenesis in hipocampal cultures: evidence indicating that axons and dendrites

- become competent to form synapses at different stages of neuronal development. *Journal of Neurotrauma*, 15, 349-363, 1994.
- Follesa P, Gale K & Mocchetti I.. Regional & temporal pattern of nerve growth factor and basic fibroblast growth factor mRNA in rat brain following electroconvulsive shock. *Experimental Neurology*, 127, 37-44, 1994.
- Fu SY, Gordon T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Molecular Neurobiology*, 114, 67-116, 1997.
- Gispens WH, Sporel-Oezakat E, Duckes HJ, Edwards PM.. The Ca²⁺ antagonist nimodipine and recovery of function following peripheral nerve damage in rat. *Neuroscience Research Communicants*, 8, 175-184, 1991.
- Hapel LT, Kline DG. Nerve lesions in continuity. *Operative Nerve Repair and Reconstruction*, JB Lippincott Company, Philadelphia, U.S.A., 1991.
- Hirokawa N. Molecular architecture & dynamics of the neuronal cytoskeleton. In *The Neuronal Cytoskeleton*. R.D. Burgoyne editor Wiley Liss New York, 5-74, 1991.
- Hirokawa N. Microtubule organization and dynamics dependent on microtubule-associated proteins. *Current Opinion in Cell Biology*, 6, 74-81, 1994.
- Ide C, Tohyama K, Yokota R, Nitayori T & Onodera S. Schwann cell basal lamina and nerve regeneration. *Brain Research*, 288, 61-75, 1983.
- Ide C, Katto S. *Peripheral nerve Regeneration*. *Neuroscience Research*, 288, 61-75, 1990.
- Jameson L, Caplow M. Modification of microtubule-associated proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 78, 3413-3417, 1981.
- Jeftinija S and Urban L. Repetitive stimulation induced potentiation of excitatory transmission in the rat dorsal horn: An In Vitro Study. *Journal of Neurophysiology*, 71, 216-228, 1993.
- Jonson GV, Joje RS. The role of microtubule-associated protein 2 (MAP2) in neuronal growth, plasticity, and degeneration. *Journal of Neuroscience Research*, 33, 505-512, 1992.
- Joplin RE, Franchi LL and Salmons S. Changes in the size and synthetic activity of nuclear populations in chronically stimulated rabbit skeletal muscle. *Journal of Anatomy*, 155, 39-50, 1987.
- Kajander KC and Xu J. Quantitative evaluation of calcitonin gene-related peptide and substance P levels in rat spinal cord following peripheral nerve injury. *Neuroscience Letter*, 186, 184-188, 1995.
- Kindler S, Schulz B, Goedert M, Garner CC. Molecular structure of microtubule-associated protein 2b and 2c from rat brain. *Journal of Biological Chemistry*, 265, 19679-19684, 1990.
- Koshinaga M, Sanon HR & Whittemore SR. Altered acidic and basic fibroblast growth factor expression following spinal cord injury. *Experimental Neurology*, 120, 32-48, 1993.
- Lewies SA, Wang DH, Cowan NJ. Microtubule binding motif with tau protein. *Science*, 242, 936-939, 1988.
- Loveland KL, Hayes TM, Meinhard TA, Zlatic KS, Parvinen, Maccioni RB, Cambiazo V. Role of microtubule-associated protein in control of microtubule assembly. *Physiological Review*, 75, 835-864, 1995.
- Malinak C, Solverstein FS. Hypoxia-ischemic injury acutely disrupts microtubule-associated protein 2 immunostaining in neonatal rat brain. *Biological Neonate*, 69, 257-267, 1996.
- McCarthy JD, Terizis JK & Smith KL. Repair and grafting of the peripheral nerve. *Plastic surgery (1)* Philadelphia W.B. Saunders, 675-680, 1990.
- McRae A, Giland E, Hagberg H. Microglia activation after neonatal hypoxic-ischemia. *Developmental Brain Research*, 84, 245-252, 1995.
- Meichsner M, Doll T, Reddy D, Weisshaar B,

- Matus A. The low molecular weight form of microtubule-associated protein 2 is transported into both axons and dendrites. *Neuroscience*, 54, 873-880, 1993.
- Meyer RS, Abrams RA, Botte MJ, Davey JP, Bodin-Foeler SC. Functional recovery following neurotomy of sciatic nerve by epineurial repair compared with tunnelization. *Journal of Orthopedic Research*, 15, 664-669, 1997.
- Navarro X, Verdu E, Buti M. Comparison of regenerative and reinnervating capabilities of different functional types of nerve fibers. *Experimental Neurology*, 129, 217-224, 1994.
- Olmsted, J.B. Microtubule-associated proteins. *Annual Review of Cell Biology*, 2, 421-457, 1986.
- Oaswa T, Tohyama K and Ide C. Allogenic nerve grafts in the rat, with special reference to the role of Schwann cell basal lamina in nerve regeneration. *Journal of Neurocytology*, 19, 833-849, 1990.
- Ossowska K, Lorenc-Koci E, Schulze G, Wolfarth S. The influence of dizocilpine on the reserpine-enhanced electromyographic stretch reflex in rat. *Neuroscience Letter*, 203, 73-76, 1996.
- Park BR, Cho JS, Kim MS, Chun SW. Effects of intermittent sciatic nerve stimulation on the soleus and medial gastrocnemius muscle atrophy in hindlimb suspended rats. *Korean Journal Physiology*, 26, 159-166, 1992.
- Rich K M , Alexander T D , Pryor J C , Lerner M A, Hollowell J P. Nerve growth factor enhances regeneration through silicon chambers. *Experimental Neurology*, 105, 162-170, 1989.
- Scheez AJ, Dubin MW. Cytochemical polarity in lateral geniculate interneurons. *Brain Research*, 639, 181-192, 1994.
- Schreyer DJ & Skene JH. Fate of GAP-43 in ascending spinal axons of DRG neurons after peripheral nerve injury : delayed accumulation and correlation with regenerative potential. *Journal of Neuroscience*, 11, 38-51, 1991.
- Snow PJ, Wilson P. Blind axonal endings and plasticity in the mammalian CNS. *News Physiological Science*, 5, 215-219, 1990.
- Svensson M, Aldskogius H. The effect of axon injury on microtubule-associated proteins MAP2, 3, 5 in the hypoglossal nucleus of the adult rat. *Journal of Neurocytology*, 21(3), 222-231, 1992.
- Tucker RP, Matus AI. Microtubule-associated proteins characteristic of embryonic brain are found in adult mammalian retina. *Developmental Biology*, 130, 423-434, 1988.
- Tucker RP. The roles of microtubule-associated proteins in brain morphogenesis : a review. *Brain Research Review*, 15, 101-120, 1990.
- Valdivia MM, Avila J, Coll J, Colaco C, Sandoval IV. Quantitation and characterization of MAP2 in porcine tissue and its isolation from porcine (PK15) and human cell lines. *Biochemistry Biophysics Research Communications*, 105, 1241-1249, 1992.
- Wiche G. High-Mr microtubule-associated proteins: properties and functions. *Journal of Biochemistry*, 259, 1-12, 1989.
- Woolf CJ, Reynolds ML, Molander C, O'Brien C, Lindsay RM & Benowitz LI. The growth-associated protein GAP-43 appears in dorsal root ganglion cells and in the dorsal horn of the rat spinal cord following peripheral nerve injury. *Neuroscience*, 34, 465-478, 1990.
- Wiche G, Briones E, Koszka C, Artlieb U, Krepler R. Widespread occurrence of polypeptides related to neurotubule-associated proteins (MAP-1 and MAP-2) in non-neuronal cells and tissues. *EMBO Journal*, 3, 991-998, 1984.
- Zhang SX, Underwood M, Landfield A, Hunang FF, Gison S, Geddes JW. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 59(4), 287-296, 2000.

