

Carrageenan에 의한 근통유발이 백서의 하지근과 인대에 미치는 영향

이건휘 · 이견목^{1*} · 황병천¹ · 최정선¹ · 김양중¹ · 윤주영¹

원광대학교 공과대학 기계공학부, 1: 원광대학교 한의학전문대학원 제3의학과

Effect of Carrageenan-Induced Pain on Lower Limb Muscle and Ligament of Rat

Gun Hye Lee, Geon Mok Lee^{1*}, Byung Chun Hwang¹, Jeong Son Choi, Yang Jung Kim, Ju Young Yun

Department of Mechanical Engineering, 1: Department of 3rd Medicine, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

The purpose of this study os to investigative the effect of Carrageenan-Induced Pain on lower limb muscle and ligament of rat. To evaluate pain mechanism in muscle and ligament, pain was induced by the injection of 2% 0.1 ml carrageenan into the left lower limb muscle of rats after rats were anesthetized with 3% enflurane. Rats were killed on 72 hours after pain induction under the anesthesia. anterior rectus femoris muscle and its ligament were removed from rat hind limb. Morphological changes of them were performed by the observation of light and electron microscopes. In the light microscopic findings, the muscle cells were polyheadral and situated with each other without small gap in control group. nucleus of cell was seen along the cell margin, and muscle cell groups were divided by regular narrow gap in cross section. In the pain-induced group, muscle cell groups were divided each other by the irregular gap, and some of groups formed larger than other cell groups by the fusion. Intercellular gap of most cell groups were increased compared with control groups. And also, perimysium of muscle cell groups was swollen in cross section. In control group, muscle cells contacted each other closely and each cell was divided by perimysium. The intracellular gaps were not seen between myofibrills, and also striations were well defined between muscle cells in longitudinal section. In pain-induced group, muscle cells were divided by the small intracellular gaps. And also, muscle cell showed many a short cross or longitudinal intercellular gaps in longitudinal section. In light microscopic findings of control group, tendon was composed with many tendon fibers contacted each other closely without gap. The free margin of tendon was fused, and also the tendon fibers did not invaded between muscles. In pain-induced group, tendon was divided small groups by intertendinous gap, and also the margin of tendon divided by small groups. In the free margin, tendon invaded into muscle cells, and also fibroblasts between tendon fibers were long and lance-shaped. From these results, it is suggested that pain induction by carrageenan injured rat skeletal muscle and ligament by the morphological changes.

Key words : carrageenan, muscle and ligament, pain

서 론

통증은 여러 경로를 통하여 전달된다. 열성 감각항진은 C형 신경섬유에 의하여, 촉각성 이질통의 경우는 Aβ형의 신경섬유에 의하여 전달된다고 한다¹⁾. 이러한 통증의 유발원인으로는 골절

과 같은 외상에 의해 근육, 건, 신경 등이 손상된 경우를 비롯하여 관절염이나 염증성 병변, 세균감염에 의해 유발되거나 또는 통증을 유발하는 약물에 의해서도 유발되는 것과 같이 발병 원인은 수없이 많다²⁻⁴⁾.

골격근은 인대에 의해 뼈에 단단히 부착하고 있어 뼈의 수동적인 운동을 능동적으로 할 수 있도록 도와주는 기관의 하나로^{5,6)} 골격근의 손상은 근육의 손상뿐만 아니라 골격근의 기시부(origin)와 정지부(insertion)를 구성하고 있는 인대에도 영향을 주어 통증과 함께 인대의 고유한 운동기능을 상실케 한다⁷⁻⁹⁾. 일

* 교신저자 : 이견목, 경기 군포시 산본동 1126-1 원광대학교 산본한방병원

· E-mail : geonmok@wonkwang.ac.kr, · Tel : 031-390-2676

· 접수 : 2005/07/25 · 수정 : 2005/08/23 · 채택 : 2005/09/26

단 인대가 열상이나 손상을 입게 되면 심한 통증을 유발하게 되며 회복에도 많은 시간을 요할 뿐만 아니라 회복이 된 후에도 예전처럼 강한 운동이나 운동량에도 많은 제한을 받게 된다^{10,11}.

최근 의학의 발달로 인하여 난치성질환에 대해 치료적 기술이 축적된 결과 사람의 수명이 상당히 연장되면서 노인인구의 급증으로 고령화시대를 맞이하게 되었다^{12,13}. 그 결과 골절이나 관절염, 골다공증과 같은 주로 노인인에게 빈번히 나타나는 질환이 날로 증가하면서 이에 따른 통증이나 염증 및 병변의 치료에 대한 국민의 관심이 높아지게 되었다¹⁴⁻¹⁶. 따라서 위와 같은 질환의 치료적 목적을 위한 과정 중 특히, 통증이나 염증에 필요한 모델제작의 필요성으로 뼈와 밀접한 관련이 있는 골격근에 대한 중요성이 부각되기 시작하였다^{5,17,18}. Carrageenan은 골격근에 통증을 유발하기 때문에 통증모델에 많이 사용되고 있으며 동물실험에서 부종을 유발을 비롯하여 열자극에 대해 통각반응을 유발한다고 알려져 있다¹⁹. 그 밖에 관절연골이나 장골의 골단판의 두께감소 및 세포수의 감소 등을 유발한다고 한다²⁰. 그러나 carrageenan에 의한 통증이 골격근과 인대에 미치는 영향에 대한 연구는 되어 있지 않다^{12,17,19-21}.

본 연구는 carrageenan에 의한 근통증유발이 백서의 하지근과 인대에 미치는 영향을 조사하기 위하여 백서의 전대퇴직근에 carrageenan을 처리한 다음 근육과 인대(patellar ligament)에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

본 실험에 사용한 동물은 건강상태가 양호한 Sprague-Dawley 계통의 백서(200-350 g)를 사용하였다. 광주기는 10/14시간 주기로 광주기를 조절하여 주었으며 물과 먹이는 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다.

2) 시약 제조

본 실험에 사용한 carrageenan(Sigma Co.)은 실험당일 멸균된 phosphate buffered saline(PBS)에 녹여 100 g, 10 g, 1 g의 저장액을 만들어 냉암소에 잘 보관하였으며 실험 당일 필요한 농도로 희석 후 사용하였다.

2. 실험방법

1) 통증유발

백서를 3 마리씩 2 조로 하여 대조군과 실험군으로 나눈 후 통증유발을 위하여 3% enflurane으로 마취시킨 다음 왼쪽하지의 전대퇴직근에 2% 0.1 ml의 carrageenan을 주입하였으며 대조군으로는 동량의 saline을 주입하였다. 본 실험시행 전 예비실험으로서 약물에 의한 통증유발 정도를 알아보기 위하여 백서의 왼쪽 발바닥 피부에 2% 50 μ l carrageenan을 주입한 후 1일부터 5일까지 염증반응과 꼬리치기검사에 의한 행동반응을 측정 조사하였다. 염증반응은 발바닥의 부종의 두께를 측정하였으며 꼬리치기검사는 꼬리를 53 $^{\circ}$ 로 가열된 증류수에 넣고 꼬리치기를

시작하는 시간까지를 측정하였으며 제한시간은 15초로 하였고 5분 간격으로 3회 측정 후 평균값을 구하였다. 그 결과 3 일째 가장 높은 염증 및 회피반응을 나타낸 것을 확인하였으며 동시에 약물의 독성검정을 위하여서는 동일근육에 동일농도를 처리한 결과 무독성인 것을 확인하였다.

2) 조직채취

본 실험에 사용한 전대퇴직근과 인대의 조직절개를 위하여 동물을 희생시킨 후 근육의 경우 근육의 기시부와 정지부에서 각각 인대와 근육이 이어지는 부분인 근복만을 모두 절개하여 사용하였으며 인대는 정지부에서 근육이 인대로 이어지는 부위에서부터 슬개인대로 형성되기 전까지의 인대를 절개하여 사용하였다.

3) 조직표본 제작

절편한 근육과 인대는 즉시 10% neutral buffered formalin(NBF)에 4 $^{\circ}$ C에서 4 시간 동안 고정하였다. 고정이 완료된 후 흐르는 물에 수세하였으며 알콜농도 순으로 탈수하였다. 탈수 후 paraffin으로 포매한 다음 절편기(microtome)를 사용하여 조직을 4~5 μ m 두께로 박절하였다. 박절된 조직은 hamatoxylin-eosin(H-E)염색의 경우 통상적인 방법에 의하여 염색하였으며 phospho-tungstic acid hamatoxylin(PTAH) 염색은 특수염색방법에 의하여 시행하였다. 즉, H-E 염색은 탈파라핀 과정을 거친 후 일반적인 방법에 따라 투명, 봉입하여 관찰하였으며, PTAH 염색의 경우 H-E 염색방법과는 달리 탈파라핀 과정을 거친 후 조직절편을 수돗물에 수세하였다. 수세완료 후 1% sodium sulfate와 1% potassium permanganate 수용액에 처리한 다음 PTAH용액에 1~24시간 동안 처리하여 투명, 봉입과정을 거쳐 광학현미경으로 관찰하였다.

4) 광학현미경적 관찰

광학현미경의 관찰을 위하여 염색제작 된 표본을 40~200 배로 관찰하였으며 사진제작시 부착된 사진기로 직접 촬영하였다.

결 과

1. 하지근육에 대한 통증유발의 영향

1) 근육의 직경에 대한 영향

Carrageenan에 의한 관절염유도군에서는 전대퇴직근의 직경이 대조군인 100% (9.0 \pm 0.4 mm)에 비하여 118.9% (10.7 \pm 0.6 mm)로 유의하게 증가하였다(p<0.05)(Table 1).

Table 1. The diameter of rat anterior rectus femoral muscle treated with or without carrageenan

Treatment	Diameter(mm)	Diameter (% of control)
control	9.0 \pm 0.4	100
Carrageenan	10.7 \pm 0.6	118.9*

Muscular pain was induced by the injection of 0.1 μ l carrageenan into articular cavity of knee joint. Rats were killed 48 hours after the injection of carrageenan, and the diameter of anterior rectus femoral muscle was calculated by vernier calliper. The values are the mean \pm SD for 5 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisks. *p<0.05

2) 근육의 둘레에 대한 영향

Carrageenan에 의한 관절염유도군에서는 전대퇴직근의 둘레가 대조군인 100% (32.0 \pm 1.8 mm)에 비하여 118.1% (37.8 \pm 2.7 mm)

로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$) (Table 2).

Table 2. The circle of rat anterior rectus femoral muscle treated with or without carrageenan

Treatment	Circle(mm)	Circle (% of control)
control	32.0±1.8	100
Carrageenan	37.8±2.7	118.1 *

Muscular pain was induced by the injection of 0.1 μl carrageenan into articular cavity of knee joint. Rats were killed 48 hours after the injection of carrageenan, and the circle of anterior rectus femoral muscle was calculated by vernier calipers. The values are the mean±SD for 6 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisks. * $p < 0.05$

3) 광학현미경적 관찰

(1) 대조군의 횡단면

다각형모양의 근세포들이 세포간격 없이 수개씩 모여 하나의 세포군을 형성하고 있었으며 또한 수개의 근세포들로 형성된 세포군들은 비교적 좁으면서도 일정한 간격을 유지하면서 질서정연하게 배열되어 있었다. 또한 세포와 세포사이에는 세포핵들이 질서정연하게 배열하고 있어 세포와 세포간의 경계를 확실하게 구분하고 있었다(Fig. 1).

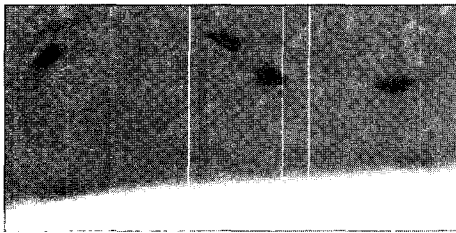


Fig. 1. Transverse section of light micrograph on rat anterior rectus femoral muscle of control group. Muscle cells were polyhedral and nuclei of them were seen along the cell margin. × 100

(2) 실험군의 횡단면

대조군에 비하여 근세포간의 경계가 불분명해지면서 다각형모양을 한 세포간의 구분이 어려워졌으며 세포와 세포사이에 짧고 가느다란 간극이 다수 나타남으로서 세포가 손상됨이 관찰되었다. 또한 일부 세포군에서는 서로 융합함으로써 대조군에서 다각형모양인 세포군에 비하여 세포군의 모양이 다각형에서 원형모양으로 변한 것이 관찰되었으며 그 결과 세포군이 대조군에 비하여 더욱 크게 형성되었다. 동시에 세포군과 세포군간의 간격이 대조군에서처럼 일정 간격이 없어지고 대신 일정하지 않은 간격이 형성됨으로서 규칙성이 소실되었다. 또한 근세포들을 싸고 있던 근외막(perimysium)은 팽창되어 손상된 것이 관찰되었다(Fig. 2).



Fig. 2. Transverse section of light micrograph on rat anterior rectus femoral muscle of experimental group. Some of muscle cell groups were fused and became larger than other one. And also, the perimysium of muscle bundle was swollen. × 100

(3) 대조군의 종단면

근세포와 근세포간 사이는 조그마한 간격도 없이 근내막에 의하여 서로 긴밀히 밀착되어 있었으며 근외막에 의해서 근세포가 수개 연결됨으로서 근세포삭을 형성하고 있었다. 또한 근세포내 근원섬유는 질서정연하게 빈 공간 없이 밀접하게 배열되어 있었으며 근원섬유내에 명대와 암대가 뚜렷이 나타남으로서 횡문을 관찰할 수 있었다. 특히, 근내막부위, 즉 근세포와 근세포의 경계 부위에 핵이 위치하고 있는 것도 관찰되었다(Fig. 3).



Fig. 3. Longitudinal section of light micrograph on rat anterior rectus femoral muscle of control group. Muscle cells were attached each other closely by the endomysium, and cross striations in myofibrils of muscle cells were seen regularly. × 200

(4) 실험군의 종단면

대조군에 비하여 근세포군과 근세포간의 간격이 다소 좁은 간격으로 떨어져 있었으나 근원섬유들은 대개 근세포내에 규칙적으로 배열되어 있었으며 횡문도 잘 관찰되었다. 그러나 일부 근세포내의 근원섬유 사이에 종으로 짧은 간극이 부분적으로 나타남으로서 근원섬유들이 다소 분리되어 있는 것이 관찰되었다. 또한 근세포의 경계를 이루고 있는 근내막에 세포핵도 관찰되었다(Fig. 4).



Fig. 4. Longitudinal section of light micrograph on rat anterior rectus femoral muscle of experimental group. Muscle cells were detached each other by the gaps and some of short cleft within muscle cells were seen. × 100



Fig. 5. Longitudinal section of light micrograph on rat anterior rectus femoral muscle of experimental group. Muscle cells were detached each other by the gaps and many a transverse or longitudinal cleft was seen in muscle cells. × 100

한편, 더욱 손상을 받은 근세포에서는 더욱 넓은 간극에 의해서 근세포들이, 넓게 떨어져 있는 것이 관찰되었으며 일부 근세포군에서는 근내막이 다소 팽창되어 손상되어 있는 것이 관찰되었다. 또한 대부분의 근세포내의 근원섬유사이에는 짧은 다수

의 간극이 종과 횡으로 나타나 근세포를 이루고 있는 근원섬유들을 분리하고 있는 것이 관찰되었으며 특히 대조군에 비하여 근원섬유와 근원섬유간 세로의 간극에 의하여 횡문의 간격 더욱 넓게 벌어져 있었다(Fig. 5).

2. 인대에 대한 통증유발의 영향

1) 인대의 직경에 대한 영향

Carrageenan에 의한 관절염 유도군에서는 슬개인대의 직경이 대조군인 100% (3.3±0.4 mm)에 비하여 142.4% (4.7±0.8 mm)로 유의하게 증가하였다(p<0.05)(Table 3).

Table 3. The diameter of rat ligament of anterior rectus femoral muscle treated with or without carrageenan

Treatment	Diameter(mm)	Diameter (% of control)
control	1.3±0.05	100
Carrageenan	2.2±0.13	169.2**

Muscular pain was induced by the injection of 0.1 ml carrageenan into articular cavity of knee joint. Rats were killed 48 hours after the injection of carrageenan, and the diameter of ligament of anterior rectus femoral muscle was calculated by vernier caliper. The values are the mean±SD for 3 experiments. Significant differences from the control are marked with asterisks. **p<0.01

2) 광학현미경적 관찰

(1) 대조군

인대가 분할됨이 없이 종으로 길게 늘어져 있었으며 곳곳에 근육과 인대가 접하고 있는 것도 관찰되었다. 동시에 두 구조물간의 경계부위는 비교적 질서정연하게 배열되어 있었다. 또한, 인대 내에는 수많은 섬유가 뻗뻗하게 배열되어 있었으며 인대의 자유연에는 분할됨이 없이 하나로 연결되어 있었다(Fig. 6).

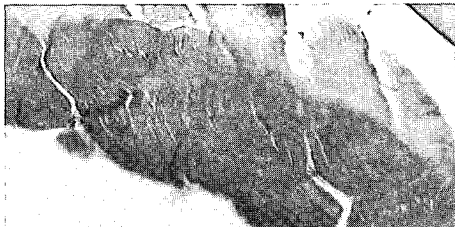


Fig. 6. Light micrograph of rat lower limb ligament of control. Fibers of ligament are dense and free margin of ligament was not divided. × 100

(2) 실험군

대조군에 비하여 인대 내에 짧은 횡간극이 다수 나타나 인대를 이루고 있는 섬유들이 약간 분리되어 있거나 파상모양으로 배열되어 있는 것이 관찰되었으며 그 결과 대조군에 비하여 인대의 밀도가 다소 감소되는 경향을 보였다. 특히 인대 내에 수개의 횡으로 된 가늘고 다소 길다란 간극이 나타나 인대를 수개의 군으로 나누고 있었으며 인대의 자유연은 작은 간극에 의하여 인대들이 몇 개의 소구능로 구분되어 있는 것이 관찰되었다. 한편, 근세포와 인접한 경계부위는 인대섬유의 일부가 근세포와 근세포의 사이로 들어와 그 결과 근세포들이 인대에 유착되어 있는 것도 관찰되었다(Fig. 7). 한편, 실험군에서는 인대섬유의 결을 따라 섬유모세포들이 창끝 모양을 하고 몇 개씩 위치하고 있는 것이 관찰되었다(Fig. 8).

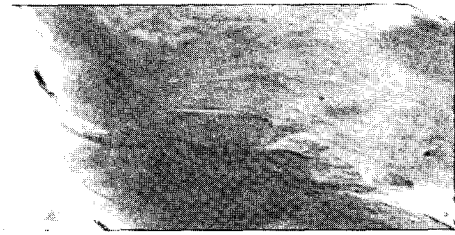


Fig. 7. Light micrograph of rat lower limb ligament of experimental group. Ligament is divided some group by short gap and the fibers of ligament penetrates between muscle cells in merged area. × 100

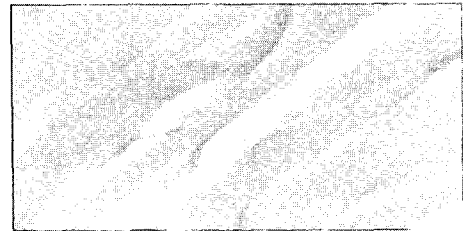


Fig. 8. Light micrograph of rat lower limb ligament of experimental group. Fibroblasts within fibers of ligament were seen and they resembled lance in appearance. × 200

고 찰

신경 손상에 의한 통증은 감각신경을 손상시키며 자발통, 이질통(allodynia) 및 통각과민등과 같은 다양한 형태의 통증을 유발하지만 이의 기전에 대해서는 아직도 확실히 밝혀져 있지 않다^{1,21}. 통증에 대한 감각은 세포내 K⁺이 유리되고 bradykinin, prostaglandin, substance P 등이 분비되어²²⁻²⁴, 통각수용체를 계속 자극하여 급성 통증을 유발한다. 통증에 의해 활성화된 C형 섬유의 침해성 자극은 척수의 시냅스 부위에 여러 신경전달물질을 분비케 하는데 이중 중요한 것으로는 아미노산으로는 glutamate^{9,10,13}, 펩타이드로는 substance P가 주가 된다²³. 이 같은 중추감작의 효과는 척수후각세포의 NMDA 수용체에 작용하여 통증의 반복을 유발하게 된다^{24,28-30}. 특히 통증은 염증과도 밀접한 관련이 있어 염증매개물질인 TNF-α나 interleukin-1과 같은 cytokine이나 chemokine과 같은 인자에 의하여 C형 섬유의 손상이 야기되며^{31,32}, 이는 중추감작을 통하여 통증을 유발하게 됨은 잘 알려져 있다^{1,22,21,28}. 예를 들면 관절염의 경우 염증성 매개물질을 통하여 통각수용체를 자극함으로써 지속적인 만성통증을 유발하고 나아가서 자유로운 운동을 방해 한다³¹. 따라서 통증연구에는 관절염모델이 많이 이용되어 왔는데^{33,34} 이는 염증과 통증의 기전이 상호 밀접히 연관되어 있다는 것을 의미하고 있다^{1,2,4,16}. 실험적인 근통증을 유발하기 위해서 carrageenan과 같은 약물처리나 과도한 기계적 자극과 같은 다양한 방법들이 사용되고 있다^{12,19}. 본 실험에서는 관절염유발이 백서의 근육과 인대에 미치는 영향을 조사하기 위하여 백서에 하지근에 통증을 유발한 후 이의 영향을 전대퇴직근(anterior rectus femoral muscle)과 이의 인대(patellar ligament)를 대상으로 조사하였다. 본 실험에서 근통증이 유발된 실험군에서는 근세포간의 경계가 없어지면서 개개의 세포를 구분할 수 없었으며 수개의 세포들로 형성된 근세포군은 대조군에 비하여 불규칙한 간격으로 세포공간이 서

로 떨어져 있었다. 동시에 일부 세포군에서는 세포군간의 간격이 없어지면서 상호 융합하여 보다 큰 세포군을 형성하고 있는 것이 관찰되었으며 세포내에 짧은 간극이 다소 나타남으로서 근세포가 손상을 받은 것이 관찰되었다. 그 밖에도 일부 세포군에서는 이를 싸고 있는 근외막이 팽창되어 손상된 것이 관찰되었다. 이 같은 근세포의 변화는 유발된 통증에 의하여 근세포가 손상되었음을 의미하며^{1,19,15)}, 이는 근세포를 이루고 있는 근원섬유가 손상됨으로서 근육의 신축과 응축에 영향을 미치며 나아가서 근육의 정상적인 기능이 소실됨으로서 근의 퇴화를 유발하였을 것으로 생각된다^{5,13,35)}. 이러한 이유의 하나는 골격근의 수축과 이완은 근원섬유를 이루고 있는 액틴근세사(actin myofibril)와 마이오신근세사(myosin myofibril)의 활주운동과 깊은 관련이 있는데^{11,13)}, 이러한 운동은 근세포내 근형질세망과 칼슘에 의하여 조절되어 진다고 알려져 있다^{11,36)}. 본 실험의 종질편된 근육의 대조군에서는 근세포들이 근내막에 의하여 간격 없이 밀접하게 결합되어 있었으며 근원섬유들이 근세포내에 간극 없이 뺨뺨이 차 있는 것이 관찰되었다. 또한 질서 있게 배열된 근원섬유에 명대와 암대가 교차된 횡문이 질서 있게 위치하고 있는 것이 관찰되었다. 한편, 근통증 유발군에서는 대조군에 비하여 근세포와 근세포간이 간격이 다소 넓게 떨어져 있었으며 근세포내에 종과 횡으로 된 짧은 간극이 다수 나타남으로서 근세포가 손상되었음을 알 수 있었다. 특히, 근원섬유내에 횡으로 된 간극으로 인하여 횡문의 간격이 대조군에 비하여 다소 확장되어 분단된 양상을 나타냈다. 이러한 실험결과는 근통증이 유발된 경우 근세포의 구조에 퇴행적 변화를 나타낸다는 것을 말해주고 있으며^{12,15)}, 특히 근세포내의 나타난 다수의 간극은 근원섬유의 손상으로 근세포의 탄력과 기능에 영향을 미치며 근세사의 활주운동에도 영향을 주어 결국 근육의 굴신기능에 손상을 초래한 것으로 생각된다^{13,37)}. 본 실험에서 위와 같은 근세포의 손상현상은 근통증유발이 세포내 칼슘채널과의 상호작용에 기인하였을 가능성이 높다^{18,36,38)}. 즉, 백서의 하지골격근의 근통증의 유발은 세포내 통증을 유발하는 자극으로 인하여 근육내 신경섬유의 탈분극을 초래케 하고^{13,19,21)}, 이는 중추신경계의 감작을 통하여 glutamate와 같은 흥분성 아미노산을 분비케 유도한다^{25,27)}. 유도된 흥분성 아미노산은 NMDA 수용체를 과활성시켜^{24,29,39)}, 세포내의 칼슘증가를 촉진시키는데^{27,30,36)}, 이 과정에서 NMDA 수용체의 과활성에 의한 세포내의 칼슘증가는 근세포내의 근형질세망을 손상시켜 정상적인 칼슘의 흡수가 일어나는 것을 방해함으로써 근육의 이완보다 수축이 더 많이 이루어진 결과를 근거로 할 때^{5,20,36)} 본 실험에 있어서 종과 횡의 짧은 간극과 횡문의 확장과 같은 현상은 아마도 근세포의 수축이나 액틴과 마이오신과 같은 근세사의 수축에 기인한 손상현상일 가능성이 클 것으로 생각된다^{5,13,35)}. 한편, 근세포의 전자현미경적 관찰에 있어서 대조군에서는 핵(nucleus)을 비롯하여 다수의 사립체(mitochondria), 조면내형질세망(rough endoplasmic reticulum)과 다수의 리보솜(ribosome)이 관찰된 반면 통증을 유발한 실험군에서는 조면내형질막의 조(cisterna)의 확장과 농소체(dense body), 공포(vacuole)가 관찰됨으로서 세포의 퇴행성 변화가 관찰되었다^{10,11)}. 본 실험 결과는 통

증유발은 근세포의 세포소기관의 손상을 초래하여 근세포의 퇴화를 유발하였으며^{1,12,18,24)}, 특히, 근육의 수축과 이완에 영향을 미치는 내형질세망의 손상은 세포내의 칼슘의 흡수와 방출기전에 영향을 주어 그 결과 정상적인 근육의 활주운동과 굴신기능을 방해함으로써 근세포에 퇴행성 변화를 초래한 것으로 생각된다^{5,11,13,36)}.

한편, 통증유발이 인대에 미치는 영향을 조사하기 위하여 백서의 전대퇴직근에 통증을 유발한 후 이의 인대에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 근통증을 유발한 실험군에서는 인대를 이루고 있는 섬유내에 짧은 간극이 나타나 이것이 인대를 몇 개의 군으로 분리하였으며 동시에 일부 인대와 근세포간의 연결부위에서도 대조군에 비하여 근세포 사이에 인대섬유가 침입함으로써 근세포의 분리와 인대섬유의 신장현상을 관찰할 수 있었다. 본 실험의 이러한 결과는 근통증으로 인하여 인대가 손상을 입었음을 알 수 있었으며^{1,12,20)}, 이는 인대를 구성하고 있는 섬유에 손상을 주었음을 말해주고 있다¹³⁾. 또한 손상된 인대 섬유내에 창끝 모양의 섬유모세포가 나타났는데, 섬유모세포는 활성화 된 경우 세포양단이 뭉뚝한 모양에서 창끝과 같은 모양으로 변화된다는 사실에 비추어 볼 때^{20,36,40)}, 본 실험에서는 외부의 손상에 대한 자아방어의 측면에서 이를 회복하려는 현상의 하나일 것으로 생각 된다^{7,9,20)}. 한편, 인대의 손상은 인대의 두께나 직경변화를 비롯하여, 인대를 이루고 있는 콜라겐섬유의 팽창, 인대세포내 수분함량변화, amino sugar의 양적변화와 같은 현상을 초래한다고 보고 된 바 있다^{10,36)}. 본 실험의 전자현미경적 관찰에서 대조군에 비하여 실험군에서 인대섬유의 밀도감소를 보인 것은 근통증에 의하여 인대가 손상을 받았다는 것을 증명한다고 하겠다^{1,12,13)}. 그러나 통증유발에 의한 골격근과 인대의 손상에 대한 자세한 기전규명을 밝히기 위해서는 근통증과 밀접한 관련이 있는 NMDA 수용체나 non-NMDA 수용체를 비롯하여 cytokine, chemokine, 세포내 신호전달체계와 같은 측면에서 더욱 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결 론

이 연구는 근통증유발이 골격근과 인대에 미치는 영향을 조사하기 위하여 2% 0.1 ml carrageenan을 백서의 하지근에 처리하여 통증을 유발한 후 통증의 유발이 전대퇴직근과 이의 인대에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

근육의 횡질편에 대한 광학현미경적 관찰에 있어서 대조군에서는 다각형인 근세포들이 간격 없이 서로 밀접하게 연결되어 있었으며, 세포핵이 세포가장자리를 따라서 규칙적으로 위치하고 있었다. 근세포군들도 비교적 일정한 좁은 간격으로 규칙적으로 배열되어 있었다. 통증이 유발된 실험군에서는 근세포간의 경계가 없어져 세포간 구별이 어려웠으며 근세포군에 다수의 짧은 간극이 형성되어 근세포의 손상을 초래하였고 일정하지 않은 간격에 의해서 근세포군이 불규칙하게 분리되어 있었다. 일부 근세포군에서는 대조군에 비하여 뭉글게 되는 양상을 나타냈으며 세포군들이 융합됨으로서 세포군의 크기가 커진 양상을 보였으며 동시에

근외막이 팽창되어 있는 것도 관찰되었다. 근육의 종질편에 대한 광학현미경적 관찰에 있어서, 대조군에서 근세포들이 근내막에 의하여 서로 밀접하게 부착되어 있었으며 근원섬유내 횡문이 규칙적으로 배열되어 있는 것이 관찰되었다. 또한, 근세포간의 근내막에서 세포핵도 관찰되었다. 근통증유발 실험군에서는 근세포들은 세포내 좁은 간격에 의해 서로 분리되어 있었으며 세포내 종과 횡으로 된 짧은 간극이 나타났다. 또한 근원섬유내횡으로 된 간극은 횡문의 확장을 초래하였다. 인대의 광학현미경적 관찰에 있어서 대조군에서는 인대내에 섬유가 치밀하게 배열되어 있었으며 자유연은 분리되지 않고 연결되어 있었다. 인대와 근세포의 경계부위는 인대섬유에 의해 침입되어 있지 않았다. 통증이 유발된 실험군에서는 인대내 작은 간격에 의하여 인대가 몇 개의 군으로 나뉘어져 있었으며 인대의 자유연도 간극에 의하여 나뉘어져 있었다. 동시에 근육과 인대의 경계부위에서는 대조군에 비하여 인대가 근세포의 사이로 들어가 신장되어 있는 것이 관찰되었다.

이상의 실험 결과로부터 carrageenan에 의한 통증의 유발은 백서의 하지근과 인대에 퇴행성 변화를 보임으로서 백서의 근육과 인대에 손상을 초래한 것으로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 2003학년도 원광대학교 교내연구비의 지원에 의해 연구되었음.

참고문헌

1. Yoon, M.H., Yaksh, T.L. The effect of intrathecal gabapentin on pain behavior and hemodynamic on the formalin test in the rat. *Anesth Analg* 89, 434-439, 1999.
2. Beutler, B. TNF, immunity and inflammatory disease : lessons of the past decade. *J Invest Med* 43, 227-235, 1995.
3. Scott, D.L., Shipley, M., Dawson, A., Edwards, S., Symmons, D.P., Woolf, A.D. The clinical management of rheumatoid arthritis and osteoarthritis : strategies for improving clinical effectiveness. *Br Rheumatol* 37, 46-54, 1998.
4. Ward, P.A. et al. Oxygen radicals, inflammation and tissue injury. *Free Radic Biol* 5, 403-408, 1988.
5. Carvalho, A.J., McKee, N.H., Green, H.J. Metabolic and contractile responses of fast and twitch rat skeletal muscles to ischemia and reperfusion. *Plast Reconstr Surg* 99, 163-171, 1997.
6. Azhar, G., Gao, W., Liu, L., Wei, J.Y. Ischemia-reperfusion in the adult mouse heart influence of age. *Exp Gerontol* 34, 699-714, 1999.
7. Birdsell, D.C., Tustanoff, E.R., Lindsay, W.K. Collagen production in regenerating tendon. *Plast Reconstr Surg* 37, 504-511, 1966.
8. Frank, C., Schachar, N., Dittrich, D. Natural history of healing in the repaired medial collateral ligament. *J Orthop Res* 1, 179-188, 1983.
9. Bora, F.W. jr, Lane, D.M., Prockop, P.J. Inhibitions of collagen biosynthesis as a means of controlling scar formation in tendon injury. *J Bone Joint Surg[Am]* 54, 21-59, 1972.
10. Maynard, J.A., Pedrini, V.A., Pedrini-Mille, A., Romanus, B., Ohlerking, F. Morphological and biochemical effects of sodium morrhuate on tendon. *J Orthop Res* 3, 236-248, 1985.
11. Laros, G.S., Cooper, R.R. Electron microscopic visualization of proteinpolysaccharides. *Clin Orthop* 84, 179-192, 1972.
12. Hansra, P., Moran, E.L., Fornasier, V.L., Bogoch, E.R. Carrageenan-induced arthritis in the rat. *Inflammation PP* 141-155, 2000.
13. Amstrong, R.B., Phelps, R.O. Muscle fiber type composition of the rat hindlimb. *Am J Anat* 171, 259-272, 1984.
14. Campbell, S.M. Rheumatoid arthritis : Current strategies. *Hosp Med* 34, 29-32, 1988.
15. Holloszy, J.O., Chen, M., Cartee, G.D., Young, J.C. Skeletal muscle atrophy in old rats : differential changes in the three fiber types. *Mech Aging* 60, 199-213, 1991.
16. Michael, J., Elliott, Maini, R.N. New directions for biological therapy in rheumatoid arthritis. *Int Arch Allergy Immunol* 104, 112-125, 1994.
17. Carvalho, A.J., Hollett, P., McKee, N.H. Recovery of synergistic skeletal muscle function following ischemia. *J Surg Res* 59, 527-533, 1995.
18. Pang, C.Y., Forrest, C.R., Mounsey, R. Pharmacologic intervention in ischemia-induced reperfusion injury in the skeletal muscle. *Microsurgery* 14, 176-182, 1993.
19. Diring, D.M., Isakson, P.C., Yaksh, T.L. Effect of COX-1 and COX-2 inhibition on induction and maintenance of carrageenan-evoked thermal hyperalgesia in rats. *JPET* 285, 1031-1038, 1998.
20. Amiel, D., Frank, C., Harwood, F., Fronek, J., Akeson, W. Tendons and ligaments : a morphological and biochemical comparison. *J orthop Res* 1, 257-265, 1984.
21. Millian, M.J. The introduction of pain: An integrative review. *Prog Neurobiol* 57, 157-164, 1999.
22. Malmberg, A.B., Yaksh, T.L. Cyclooxygenase inhibition and the spinal release of prostaglandin E2 and amino acids evoked by paw formalin injection : a microdialysis study in anesthetized rats. *J Neurosci* 15, 2768-2776, 1995.
23. Lang, C.W., Hope, P.J. Evidence for localized release of substance P within rat spinal cord evoked by physiological and electrical stimuli. *Neuropeptide* 26, 413-419, 1994.
24. Sorkin, L.S. IT ketorolac blocks NMDA-evoked spinal release of prostaglandin E2(PGE2) and thromboxane B2(TBXN2).

- Anesthesiology 79, A908-913, 1993.
25. Pellegrini-Giampietro, D.E., Cherici, G., Alesiani, M., Carrla, V., Moroni, F. Excitatory amino acid release from rat hippocampal slices as a consequence of free-radical formation, *J. Neurochem.* 51, 1960-1963, 1988.
 26. Dougherty, P.M., Sluka, K.A., Sorkin, L.S., Westlund, K.N., Willis, W.D. Enhanced responses of spinothalamic tract neurons to excitatory amino acids parallel the generation of acute arthritis in the monkey. *Brain Res Rev* 17, 1-13, 1992.
 27. Cho, S.W., Cho, E.H., Choi, S.Y. Activation of two types of brain glutamate dehydrogenase isoproteins by gabapentin. *FEBS Lett* 426, 6-200, 1998.
 28. Kemp, J.A., Lesson, P.D. The glycine site of NMDA receptor-five years on. *Trend Pharmacol* 14, 20-25, 1993.
 29. Haley, J.E., Sullivan, A.F., Dickenson, A.H. Evidence for spinal N-methyl-D-aspartate receptor involvement in prolonged chemical noiception in the rat. *Brain Res* 518, 218-226, 1990.
 30. Mayer, M.L., Westbrook, G.L. Permeation and block of N-methyl -D-aspartic acidreceptor channels by divalent cations in mouse cultured central neurons, *J Physiol* 394, 501-527, 1987.
 31. Sharief, M.K., Thompson, E.J. In vitro relationship of tumor necrosis factor- α to blood-brain barrier damage in patients with active multiple sclerosis. *J Neuroimmunology* 38, 27-33, 1992.
 32. Hohman, F.M., Hinton, D.R., Johnson, K., Merrill, J.E. Tumor necrosis factor identified in multiple sclerosis brain. *J Experimental Medicine* 170, 607-612, 1989.
 33. Neugebauer, V., Schaible, H.G. Evidence for a central component in the sensitization of spinal neurons with joint input during development of acute arthritis in cat's knee. *J Neurophysiol* 64, 299-311, 1990.
 34. Pincus, T., Marcum, S.B., Callahan, L.F. Longterm drug therapy for rheumatoid arthritis in seven rheumatology private practices. II second line drugs and prednisone. *J Rheumatol* 19, 1885-1894, 1992.
 35. Gardner, V.O., Caiozzo, V.J., Long, S.T., Stoffel, J., McMaster, W.C., Prietto, C.A. Contractile properties of slow and muscle following tourniquet ischemia. *Am J Sports Med* 12, 417-423, 1984.
 36. Bryans, J.S., Davies, N., Gee, N.S., Dissanayake, V.U., Ratacliffe, G.S., Horwell, D.C., et al. Identification of novel ligands for the gabapentin binding site on the alpha 2 delta subunit of a calcium channel and their evaluation as anticonvulsant agents. *J Med Chem* 41, 1838-1845, 1998.
 38. Dirks, A., Leeuwenburgh, C. Apoptosis in skeletal muscle with aging. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 282, 519-527, 2002.
 37. Hintz, C.S., Lowry, C.V., Kaiser, K.K., McKee, D., Lowry, O.H. Enzyme levels in individual rat muscle fiber. *Am J Physiol* 239, C58-65, 1980.
 39. Garthwaite, J., Charles, S.L., Chess-Williams, R. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intracellular messenger in the brain. *Nature* 336, 358-362, 1988.
 40. Clayton, M.L., Weir, G.J. Experimental investigation of ligaments healing. *Am J Surg* 89, 373-378, 1959.