

전침자극과 경피신경전기자극이 흰쥐 좌골신경 압박손상 후 척수내 GAP-43 발현에 미치는 영향

이현민, 박은세, 김민희, 김석범¹, 김동현², 김진상³

대구대학교 대학원 재활과학과 물리치료전공, ¹제주한라대학 작업치료과, ²서라벌대학교 작업치료과, ³대구대학교 재활과학 대학 물리치료학과

The Effect of EA and TENS on GAP-43 Expression in Spinal Cord after Rat Sciatic Nerve Crush Injury

Hyun-Min Lee, PT, MS, Eun-Se Park, PT, Min-Hee Kim, PT, Souk-Boum Kim¹, PT, MS, Dong-Hyun Kim, PT, MS², Jin-Sang Kim, DVM, PhD³

Major in Physical Therapy, Department of Rehabilitation Science, Graduate school of Daegu University, ¹Department of Occupational Therapy, Cheju Halla College, ²Department of Occupational Therapy, Sorabol College, ³Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Daegu University

Purpose: The purpose of this study was to identify the effect of electroacupuncture(EA) and transcutaneous electric nerve stimulation(TENS) after sciatic nerve crush injury in rats. **Methods:** The EA for experimental group I (Exp I, n=15) and TENS for experimental group II (Exp II, n=15) was applied from post-injury day(PD) 1 to PD 14 after sciatic nerve injury using low frequency stimulator that gave electrical stimulation(15min/60Hz). In order to observe the effect of EA and TENS, this study examined GAP-43 expression in rat lumbar spinal cord at the PD 1, PD 7 and PD 14. In addition, the stride length(SL) and toe out angle(TOA) were measured at the PD 7 and PD 14. **Results:** Exp I and Exp II had higher GAP-43 immunoreactivity than control group(PD 1, 7, 14). The SL of Exp I and Exp II were significantly higher than control group(PD 7, 14). The TOA of Exp I and Exp II were significantly lower than control group(PD 7, 14). **Conclusion:** EA and TENS application increased motor nerve recovery and expression of GAP-43 immunoreactivity after sciatic nerve crush injury. Therefore effect of TENS and EA had similar effect on nerve regeneration and functional recovery. (*J Kor Soc Phys Ther* 2006;18(1):65-73)

Key Words: GAP-43, EA, TENS, Sciatic nerve injury

I. 서론

말초신경은 압박(crush), 압박(compression), 신장(stretching) 그리고 결출(avulsion)에 의해 손상 받기 쉽고(Raso 등, 2005), 이로 인해 손상된 부위의 운동, 감각 그리고 자율신경계 기능의 전체 또는 부분 상실을 초

래한다(Francisco 등, 2004). 손상 부위는 손상된 축삭의 재생 또는 주위의 손상되지 않은 축삭으로부터 곁가지(collateral branch) 형성에 의해 신경재지배(reinnervation) 될 수 있다(Mearow, 1998). 이러한 과정은 성장원추(growth cone)에 의해 조절되고 안내되며 이러한 과정에서 성장 관련 단백질인 GAP-43과 tubulin 및 actin과 같은 세포골격단백질이 발현된다(Bisby와 Tetzlaff, 1992).

GAP-43은 B50, F1, PP56, P57 또는 neuromodulin으로 불리는 인단백질(phosphoprotein)로, 신경세포 성

논문접수일: 2005년 12월 12일
수정접수일: 2006년 1월 11일
게재승인일: 2006년 1월 18일
교신저자: 이현민, 경남의령군 의령읍 무전리 220-1 선진병원 e-mail: coolriders@hanmail.net

장(neuronal growth), 가소성(plasticity) 그리고 연결 기능(synaptic function)과 관련이 있다(Lin 등, 1993). GAP-43은 신경원추의 필수 성분으로(Li 등, 1993), 축삭의 연장(axonal elongation)이 일어나는 동안 신경원의 세포체에서 축삭을 따라 순행성 수송을 통해 성장원추로 이동되며(Woolf 등, 1990), 이러한 합성과 수송은 축삭 재형성이 일어나는 동안 매우 빠른 속도로 일어난다(Li 등, 1993). 또한 protein kinase C에 의해 인산화(phosphorylation)와 탈인산화(dephosphorylation)된 GAP-43은 신경세포와 성장원추의 발생시에 높은 농도로 생산되고 축삭 연장과 연결 형성에 기여한다(Tejero-Diez 등, 2000; Woolf 등, 1990).

말초신경 손상 후 시행하는 물리치료는 저주파를 이용한 전기치료, 레이저치료, 초음파 치료와 구축방지와 근력유지를 위한 운동치료 등이 사용되어져 왔다(민경옥과 김순희, 1997). 최근 전기, 자기장과 초음파 같은 물리적 인자(physical agent)는 피부, 뼈, 근육, 건과 말초신경의 상처치유에 긍정적인 영향을 미친다고 알려져 있다(Mendonca, 2003; Polmeranz, 1984; Raso 등, 2005). 특히 전기자극은 통증치료(K?ke 등, 2004; Sluka와 Walsh, 2003)와 관절 부종 감소(Zhang 등, 2004), 손상된 조직의 치유(Houghton 등, 2003), 근재교육(Lake, 1992)과 혈류량의 증가(Lyons 등, 2002) 등 다양한 효과를 가지고 있다. 또한 Saletu 등(1975)에 의하면 이런 전기자극의 효과와 침의 장점을 결합시킨 전침은 사람을 대상으로 한 연구에서 통증 치료에 침만 적용했을 때 보다 전기가 더해졌을 때 100퍼센트 이상 효과적인 것으로 보고되었다. 전침자극도 일반 침자극과 동일하게 통증치료(Guo 등, 2004; Liu 등, 2004; Medeiros 등, 2003), 우울증(Lou 등, 1985), 약물중독(Zhang 등, 2000), 뇌졸중(Fink 등, 2004), 위장관 장애(Jin 등, 1996)와 불안장애(Ulett, 1996) 등의 질환에 이용되고 있다.

지금까지의 말초신경손상에 대한 전침자극과 경피신경전기자극에 대한 각각의 연구는 많이 있지만 두 가지 전기 자극을 비교한 연구는 부족한 실정이다. 본 연구에서는 흰쥐의 좌골신경을 압좌 손상 시킨 후 전침자극과 경피신경전기자극을 일정기간 동안 적용시킨 후 나타나는 효과를 척수 전장에서 신경재생의 지표로 이용되는 GAP-43 발현을 면역조직화학 반응을 통해 확인하고 운동신경 회복을 행동학적 측면에서 족적 분석(footprint analysis)을 통한 활보장(stride length)과 발의 외향각(toe out angle)을 통해 확인하고자 한다.

II. 연구방법

1. 실험동물

본 연구에서는 동일한 조건하에서 사육한 생후 8-10주, 체중 250-300g의 건강하고 성숙한 Sprague-Dawley계 흰쥐를 성별 구분 없이 45마리를 사용하였다. 실험 기간 중 물과 먹이는 무제한 공급하였고, 실험실 온도는 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 $65 \pm 5\%$ 로 유지하며, 일정한 조도와 광주기 및 암주기를 12시간으로 조절하여 흰쥐의 생활 주기에 맞추어 줌으로써 생활 습성을 일정하게 유지해 주었다.

실험동물은 대조군(n=15), 실험군 I (n=15), 실험군 II (n=15)으로 구분하였고 각 군당 5마리씩 1일군, 7일군, 14일군으로 배정하였다. 대조군은 좌골신경 압좌손상을 시킨 후 표준사육장에서 2주일 동안 사육하였다. 좌골신경 압좌손상 후 실험군 I 은 전침자극을 실험군 II 는 경피신경전기자극을 1일 1회 15분간 적용하였다.

2. 실험방법

1) 좌골신경 압좌손상 유발

실험동물의 전신마취를 유도하기 위하여 전신마취제인 럼퐁(Rompun, Bayer, Korea)을 복강내 주사(2ml/kg)하였다. 통증유발에 대한 회피반응의 유무를 통해 마취 여부를 확인한 후 실험동물을 수술대에 고정하고, 좌골신경의 압좌 손상 및 전침자극과 경피신경전기자극 적용을 위하여 오른쪽 대퇴부의 내측과 외측을 삭모하였다.

대전자부와 슬관절 사이에서 피부를 삭모 후 2cm 길이로 절개하고 좌골신경을 둘러싸고 있는 주위 근육들에서 좌골신경을 분리시킨 후 경골신경과 비골신경으로 분리하기 전의 부위를 직선 지혈겸자(haemostatic forceps, Crile, 15cm)를 이용하여 30초간 압박하였다. 압박시 압박이외의 자극으로부터의 손상을 방지하기 위하여 부드러운 플라스틱으로 겸자를 씌운 상태에서 70% 알콜로 소독 후 압박을 실시하였다. 겸자는 3단계로 힘을 가할 수 있도록 만들어져 있는 것을 사용하였으며, 신경손상을 동일한 힘으로 일정부위에서 줄 수 있도록 겸자의 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, 감염을 방지하기 위한 피부 소독을 실시하였다. 전기자극시까지 표준플라스틱 케이지(290×430×180mm)에 3마리씩 넣어 사육실에서 안정시켰다.

2) 전침자극과 경피신경전기자극 적용

전침자극과 경피신경전기자극은 손상된 좌골신경과 관련된 족삼리혈(ST 36, 슬관절아래 전경골근과 장지신근 사이)과 태충혈(Liv 3, 1·2중족골 접합부 앞) 부위에 적용하였다(兵頭正議와 北出利勝, 1991). 이때 적용부위는 비활성 자극은 족삼리혈 부위를 삭모하여 적용하였고, 활성전극은 태충혈 부위에 적용하였다. 치료는 압좌 손상 1일 후 시작하였고, 치료시간은 2주 동안 매일 15분간 실시하였다. 치료시 대조군 또한 치료시간 동안 마취를 시켜주어, 실험군과 최대한 동일한 조건을 주었다.

전침자극과 경피신경전기자극은 저주파 자극기(Rebirth-102, Saek Medical Co. Ltd., Korea)를 사용하였고, 본 실험에 사용하는 실험군들은 좌골신경 압좌 손상 1일후부터 실험군 I 은 족삼리혈과 태충혈 부위에 침(stainless steel, 0.25mm×30mm)을 꽂고, 실험군 II 는 족삼리혈과 태충혈 부위에 실리콘전극(5mm²)으로 실험군 I 과 실험군 II 60Hz, 1mA의 강도로 15분간 전기자극을 시행하였다.

3. 측정

1) 행동학적 검사

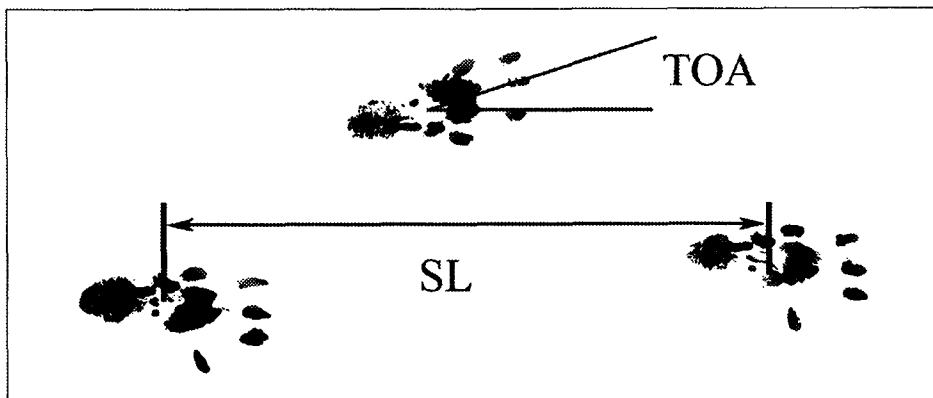


그림 1. 족적 분석
TOA(Toe Out Angle) : 발의 외향각
SL(Stride Length) : 활보장

2) 조직학적 검사

(1) 척수 표본의 분리

실험적 처치를 마친 흰쥐는 전신마취제인 럼폰(Rompun, Xylazine hydrochloride, 바이엘 코리아)을 복강주사(2ml/kg)하여 마취한 후, 흉강을 열고 cannula를 좌심실을 통하여 오른쪽대동맥에 삽입하고 관류수세기(MASTERFLEX, Cole-Palmer Instrument Co., 미국)를 이용하여 0.9% NaCl로 관류수세하고, 이어서 4%

전침자극과 경피신경전기자극 적용이 운동신경에 미치는 영향을 행동학적 측면에서 관찰하고자, 손상 후 7일, 14일 시점에서 대조군, 실험군 I 및 실험군 II의 실험동물을 대상으로 족적 분석을 하였다(구현모, 2005).

흰쥐의 족저면에 먹물을 문힌 후, 바닥에 흰색 종이 깔린 길이 80cm, 폭 7cm, 높이 10cm의 통로를 통해 견도록 함으로써 족적을 기록하였다. 통로의 진행방향 끝에는 암실을 제작하여 실험동물이 전방으로 진행할 수 있도록 유도하였다. 먼저 흰쥐가 통로의 방향을 익히도록 2회 견도록 한 이후에 각 실험동물 당 3회씩 반복하여 족적을 기록하였다. 이때 흰쥐가 일정한 보행에 영향을 줄 수 있는 외부 요소를 제거하였다.

실험동물로부터 기록한 족적의 분석을 위하여 활보장과 보행방향에 대한 발의 외향각을 측정하였다. 활보장은 양쪽 발바닥 중심점 사이의 거리를 나타내고, 발의 외향각은 발의 세 번째 발가락과 중족지절관절(metatarsophalangeal joint) 사이의 연결선이 보행 진행방향과 이루는 각도를 의미한다(그림 1).

paraformaldehyde을 이용하여 관류고정을 실시하고 척수를 적출 하였다. 적출한 흰쥐의 척수는 24시간 동안 4% paraformaldehyde으로 후고정을 실시하였고, 미세 절단기 사용시 빙결을 방지하기 위해서 25% sucrose에 하루 동안 4℃ 냉장보관 하였다.

(2) 척수 표본의 제작

대조군과 실험군 I 및 실험군 II로부터 분리한 요수 팽

이현민 외 5인 : 전침자극과 경피신경전기자극이 흰쥐 좌골신경 압좌손상 후 척수내 GAP-43 발현에 미치는 영향

대부의 척수 조직은 급속냉동기(Frigomobil, Leica, 독일)를 이용하여 -30℃로 냉동시킨 상태에서, 미세절단기(Model SM2000R, Leica, 독일)를 사용하여 30 μ m 두께로 횡단 절단(transverse section)하였다. 절단된 척수 표본은 10mM phosphate buffer solution에 침수시켜 4℃로 냉장 보관한 후 24시간 이후에 실험에 이용하였다.

3) 면역조직화학법(Immunohistochemistry)

좌골신경 압좌손상 후 전침자극과 경피신경전기자극의 영향과 함께, 이를 지배하는 척수분절과의 상호관련성을 관찰하기 위하여 요수 분절(L4-6)의 전각부(anterior horn)에서 GAP-43 면역반응성을 관찰하였다.

이를 위하여 다음과 같은 표본제작 과정을 거쳤다. 10mM PB에 냉장 보관한 척수 표본에 대하여 rabbit polyclonal antibody GAP-43(Chemicon International, 미국)를 1 : 200 농도로 실온에서 24시간동안 처리하였다. 일차항체 처리 후, biotinylated anti-rabbit IgG(Vector Lab, 미국)를 1 : 25의 농도로 각각 90분간 처리하고, 이후에 Vectastatin Elite ABC Reagent(Vector Lab, USA)를 이용하여 3차 항체를 1시간 동안 처리하였다. 항체 처리과정 사이에서는 10mM PB를 이용하여 10분씩 3회 수세하였다. 항체 처리가 종료된 척수표본에 대하여 0.3% DAB(3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride)를 처리하여 발색 반응을 유도하고 증류수로 10분씩 3회 수세한 후, Cresyl violet acetate(Sigma, 미국)를 이용하여 3분간 대조염색을 시행하였다. 대조염색을 시행한 척수 표본을 5분간 흐르는 물에

수세한 후, 탈수와 청명의 과정을 거친 후 마지막으로 PMM(permanent mounting media)인 clarion(Biomedica, 미국)을 이용하여 cover glass로 봉입하였다.

4. 결과 처리 및 분석

각 집단 내의 시간에 따른 활보장파 발의 외향각 변화를 비교하기 위해, 통계처리는 SPSS win 10.0을 이용하여 일원배치 분산분석(One-way ANOVA)을 실시하였다. 본 연구의 통계학적 유의수준은 $\alpha=.05$ 로 하였다.

면역조직화학적 관찰은 광학현미경(BX50, Olympus, 일본)에 장착된 CCD 카메라(IK-642K, Toshiba, 일본)와 개인용 컴퓨터를 연결시켜 Image-Pro Plus win 4.0 β 프로그램을 사용하여 GAP-43의 면역반응을 관찰하였다.

III. 결과

1. GAP-43 면역반응성 비교

대조군, 실험군 I, 실험군 II의 실험 표본에서 전침자극과 경피신경전기자극이 요수 신경조직에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 손상 후 1일, 7일, 14일에 분리한 요수 표본에 대하여 면역조직화학법을 적용하여 조직학적 소견을 비교 관찰하였다(표 1.).

표 1. 각 그룹간 GAP-43 면역반응성 비교

시간(일) \ 군	대조군	실험군 I	실험군 II
1	-	-	-
7	+	++	++
14	++	+++	+++

- : 음성반응, + : 약한 양성반응, ++ : 중간 양성반응, +++ : 강한 양성반응

1) 손상 후 1일 대조군과 실험군
손상을 일으키고 1일이 경과된 후에 GAP-43의 면역

반응을 관찰한 결과, 요수의 전각에서 실험군 I, 실험군 II와 대조군 모두에서 음성반응(?)을 보였다(그림 2.).



그림 . 좌골신경 압박손상 1일 후 GAP-43 발현

2A. 대조군의 GAP-43 면역반응(×40); 2B. 실험군 I에서의 GAP-43 면역반응(×40);
2C. 실험군 II에서의 GAP-43 면역반응(×40)

2) 손상 후 7일 대조군과 실험군

손상을 일으키고 7일이 경과된 후에 GAP-43의 면역 반응을 관찰한 결과, 요수의 전각에서 대조군은 약한 양

성반응을(+), 실험군 I 과 실험군 II에서는 중간 양성 반응을(++)을 보였다(그림 3).

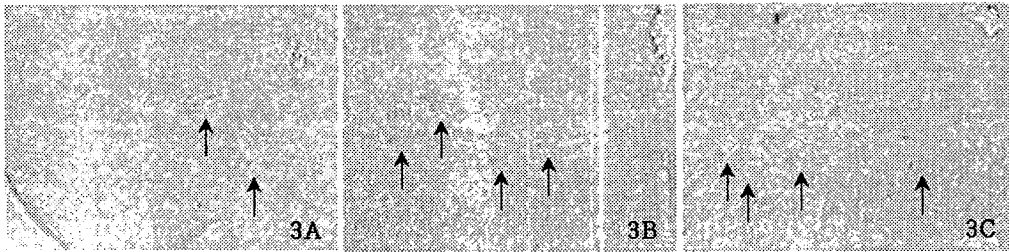


그림 3. 좌골신경 압박손상 7일 후 GAP-43 발현

3A. 대조군의 GAP-43 면역반응(×40); 3B. 실험군 I에서의 GAP-43 면역반응(×40);
3C. 실험군 II에서의 GAP-43 면역반응(×40); 화살표는 GAP-43의 면역반응을 나타낸다.

3) 손상 후 14일 대조군과 실험군

손상을 일으키고 14일이 경과된 후에 GAP-43의 면역 반응을 관찰한 결과, 요수의 전각에서 대조군은 중간

양성반응을(++), 실험군 I 과 실험군 II에서는 강한 양성 반응을(+++)을 보였다(그림 4).

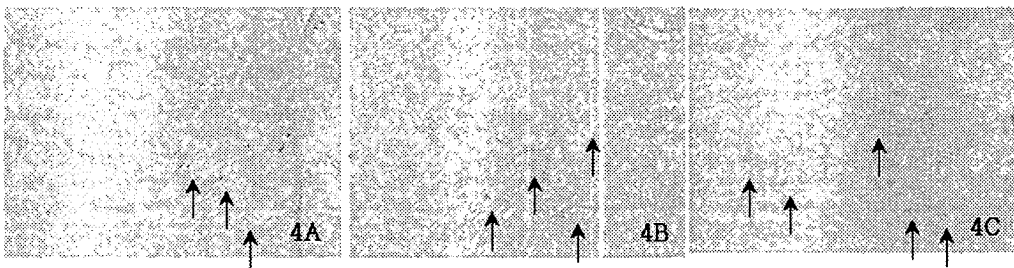


그림 4. 좌골신경 압박손상 7일 후 GAP-43 발현

4A. 대조군의 GAP-43 면역반응(×40); 4B. 실험군 I에서의 GAP-43 면역반응(×40);
4C. 실험군 II에서의 GAP-43 면역반응(×40); 화살표는 GAP-43의 면역반응을 나타낸다.

2. 행동학적 검사

전침자극과 경피신경전기자극이 운동신경에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 손상 후 7일, 14일 시점에서 대조군과 실험군 I 과 실험군 II의 실험동물을 대상으로 족적 분석을 통하여 얻은 활보장과 발의 외향각에 대하여 일원배치분산분석을 실시하였다.

1) 활보장

각 그룹에서 측정된 활보장의 길이를 분석한 결과 실험군 I 과 실험군 II 모두 손상 후 7일, 14일 시점에서 대조군과는 유의한 차이가 있었지만(p<.05), 실험군간에는 차이가 없었다(표 2).

이현민 외 5인 : 전침자극과 경피신경전기자극이 흰쥐 좌골신경 압좌손상 후 척수내 GAP-43 발현에 미치는 영향

표 2. 각 군별 활보장 길이(mm)

시간(일) \ 군	대조군	실험군 I	실험군 II
7	96.71±11.22 ^a	117.6±17.36 ^b	117.67±13.25 ^b
14	119.5±4.51 ^a	132±10.68 ^b	134±12.28 ^b

각 값은 각 그룹의 평균±표준편차를 나타낸다. Duncan's multiple range test에 의해 동일한 위첨자를 가진 각 군 간에는 유의성이 없음을 나타낸다.

각 그룹에서 측정된 발의 외향각을 분석한 결과 실험군 I 과 실험군 II 모두 손상 후 7일, 14일 시점에서 대조군과는 유의한 차이가 있었지만(p<.05), 실험군간에는 차이가 없었다(표 3).

2) 발의 외향각

표 3. 각 군별 외향각(°)

시간(일) \ 군	대조군	실험군 I	실험군 II
7	18.43±4.32 ^a	14±4.69 ^b	11.83±2.79 ^b
14	15.5±3.94 ^a	10±1.67 ^b	9.6±1.67 ^b

각 값은 각 그룹의 평균±표준편차를 나타낸다. Duncan's multiple range test에 의해 동일한 위첨자를 가진 각 군 간에는 유의성이 없음을 나타낸다.

(Shin 등, 2003; Van der zee, 1989).

전기자극과 신경재생에 관한 연구에서 Al-Majed 등(2000)과 Brushart 등(2002)은 대퇴신경 절단후 외과수술한 대퇴신경을 저빈도로 한 시간 전기자극하여 수술한 부위를 가로지르는 증가된 축삭 증식에서 전기자극에 의해 상향조절된 BDNF와 trkB를 보고하였다. Kobayashi 등(1997)은 적색척수 신경세포의 말초신경 이식에서 BDNF가 Ta1-tubulin과 GAP-43 mRNA를 증가시킨다고 하였다. 또한 Kato 등(2003)은 좌골신경 압좌손상 후 신경회복과정에서 GAP-43의 발현으로 말초신경 염증 감소가 촉진된다고 보고하였으며, Woolf 등(1990)과 Schreyer(1991)는 척수신경 손상시 GAP-43이 증가되어 축삭의 성장과 재생 그리고 연결형성을 증가시킨다고 하였다. 본 연구에서도 손상된 신경과 관련 있는 척수레벨에서 선행연구에서와 같이 손상 후 1일 시점에서는 실험군과 대조군 모두 면역반응을 확인할 수 없었으며, 실험군 I 과 실험군 II는 손상 후 7일, 14일 시점에서 대조군에 비해 강한 GAP-43 면역반응이 관찰되었지만, 실험군내에서 면역반응의 차이를 구분할 수 없었다. GAP-43 면역반응으로 전침자극과 경피신경전기자극 적용이 말초신경 손상 후 신경재생과 관련됨을 추정할 수 있었다.

IV. 고찰

축삭 손상은 운동신경과 근섬유 사이의 접촉을 가로막아서 성장관련 유전자(growth associated gene) 중 특히 GAP-43, c-jun 같은 조기발현 유전자, BDNF (brain derived neurotrophic factor)와 trkB 같은 신경영양성 인자와 수용기 그리고 tubulin과 actin 같은 세포골격 단백질을 상향조절하고, 신경미세섬유와 신경전달물질 효소를 하향조절 시키는 등 많은 변동을 초래한다(Bisby와 Tetzlaff, 1992; Fu와 Gordon 1997; Herdegen 등, 1997). 축삭 재생동안, 신경 증식율은 tubulin의 축삭운반과 관련되는데(Wujek과 Lasek, 1983), tubulin의 상향조절과 동시에 신경미세섬유의 급격한 하향조절은 neurofilament/tubulin 비율을 감소시키고, 더욱 빠른 tubulin 이동과 축삭 연장을 허용한다(Hoffman 등, 1985). GAP-43의 발현은 축삭 성장과 밀접하게 관련되어 GAP-43의 증가는 자동적으로 신경세포 발아를 증가시킨다(Aigner 등, 1995). GAP-43의 발현은 신경세포 발아(nerve sprouts)와 관계있고 발현 정도는 손상된 말초 신경의 신경재생 표식자(indicator)로 사용된다

신경손상 후 운동신경 회복의 평가를 위해 족적을 분석한 보행 패턴(rat's walking pattern)에서, 실험군 I 과 실험군 II는 대조군에 비해서 활보장의 길이가 증가하였

고, 입각기에 보행의 진행 방향에서 발의 외향각이 감소되는 양상을 관찰할 수 있었지만 실험군 I 과 실험군 II는 유의한 차이를 보이지 않았다. 활보장의 길이는 기저면의 넓이에 관계하는 안전성의 중요한 요소이고, 전형적인 좌골신경 손상 쥐에서는 발의 외회전이 동반된 보행이 나타난다. 활보장의 증가와 발의 외향각 감소는 전침자극과 경피전기신경자극에 의하여 손상된 말초신경의 기능회복에 영향을 미치는 것을 시사한다(Varej?o, 2003).

본 연구는 흰쥐를 대상으로 좌골신경 압좌손상 후 전침자극과 경피신경전기자극 적용 후 시간 경과에 따른 신경재생과 운동기능회복에 미치는 영향에 대해 알아보았다. 이를 위해 먼저 좌골신경 압좌손상이 유발된 흰쥐에게 전침자극과 경피신경전기자극을 1일, 7일, 14일 동안 적용하여 운동신경 회복 평가로 족적 분석을 통한 활보장과 발의 외향각으로 운동신경 회복을 평가하였다. 그 결과 활보장과 발의 외향각 모두 김석범 등(2001)의 연구에서와 같이 손상 후 1일 시점에서는 좌골신경 압좌손상으로 인해 보행시 발등을 이용하여 끄는 보행(antalgic gait)을 하므로 족적을 얻을 수 가 없었고, 손상 후 7, 14일 시점에서 실험군 I 및 실험군 II에서 실험군보다 활보장의 길이는 증가하였고 발의 외향각은 감소하였다. 실험군 I 과 실험군 II는 GAP-43 면역반응에서 비슷한 양상을 보였고, 활보장의 길이와 발의 외향각에서도 유의한 차이가 나타나지 않아 신경재생과 기능적 회복에 있어 전침자극과 경피신경전기자극의 효과는 비슷한 것으로 나타났으며, 두 가지 자극이 모두 신경재생과 기능회복을 증가시키는 것을 보여주고 있다.

본 연구를 통해 전침자극과 경피신경전기자극을 적용한 실험군에서 대조군에 비하여 신경재생의 지표로 이용되는 GAP-43 발현의 증가, 운동신경의 회복을 평가하는 족적 분석을 통한 활보장의 증가와 발의 외향각 감소를 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 미루어 보아 전침자극과 경피신경전기자극이 말초신경 손상시 신경재생과 기능회복을 증가시키는 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구에서는 흰쥐를 대상으로 좌골신경 압좌 손상 모델에서 전침자극과 경피신경전기자극을 적용하여 행동학적 검사와 면역조직화학법을 시행하였고, 그 결과는 다음과 같았다.

1. 좌골신경 압좌 손상 후 1일 시점에서, 실험군 I, 실험군 II와 대조군 모두 GAP-43 음성 반응을 보였다.

2. 좌골신경 압좌 손상 후 7일, 14일 시점에서, 실험군 I 과 실험군 II는 대조군보다 강한 GAP-43 면역 반응을 보였다. 실험군에서 대조군보다 활보장의 길이가 유의하게 증가하고($p<.05$) 발의 외향각이 유의하게 감소하였다($p<.05$). 실험군 I 과 실험군 II는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

이러한 결과를 종합하면, 좌골신경 압좌 손상 후 전침자극과 경피신경전기자극 적용으로 운동신경의 회복이 증가되고, GAP-43 발현이 증가된 것은 말초신경계 손상모델에서 신경 재생에 효과가 있는 것으로 사료되며 전침자극과 경피신경전기자극의 효과가 서로 비슷함을 알 수 있었다.

참고문헌

- 구현모. 전기자극이 체중부하를 제거한 신생흰쥐의 골격근 및 척수 조직의 발달에 미치는 영향. 대구대학교 대학원, 박사학위 논문. 2005.
- 김석범, 김동현, 남기원 등. 흰쥐 좌골신경 압좌손상 후 척수분절의 저장도 레이저 조사가 운동기능 회복에 미치는 영향. 대한물리치료학회지. 2001;13(3):569-78.
- 민경옥, 김순희. 질환별 물리치료(II). 서울, 대학서림. 1997:28-80.
- 兵頭正議, 北出利勝. SSP 療法. 서울, 현문사. 1991:148-54.
- Aigner L, Caroni P. Absence of persistent spreading, branching, and adhesion in GAP-43 depleted growth cones. J Cell Biol. 1995;128:647-60.
- Al-Majed AA, Neumann CM, Brushart TM et al. Brief electrical stimulation promotes the speed and accuracy of motor axonal regeneration. J Neurosci. 2000;20:2602-8.
- Brushart TM, Hoffman PN, Royall RM et al. Electrical stimulation promotes motoneuron regeneration without increasing its speed or conditioning the neuron. J Neurosci. 2002;22:6631-8.
- Bisby MA, Tetzlaff W. Changes in cytoskeletal protein synthesis following axon injury and during axon regeneration. Mol Neurobiol. 1992;6:107-23.
- Tejero-Diez P, Rodriguez-Sanchez P, Martin-Cofreces NB et al. bFGF stimulates GAP-43 phosphorylation at ser41 and modifies its intracellular localization in cultured hippocampal

- neurons. *Mol Cell Neurosci*. 2000;16:766-80.
- Fink M, Rollnik JD, Bijak, M et al. Needle acupuncture in chronic poststroke leg spasticity. *Arch Phys Med Rehabil*. 2004;85(4):667-72.
- Francisco JR, Antoni VC, Xavier N. Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. *Drug Discovery Today: Disease Model*. 2004;1(2):177-84.
- Fu SY, Gordon T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol Neurobiol*. 1997;14(1-2):67-116.
- Guo ZL, Moazzami AR, Longhurst JC. Electro-acupuncture induces c-Fos expression in the rostral ventrolateral medulla and periaqueductal gray in cats: relation to opioid containing neurons. *Brain Res*. 2004;1030(1):103-15.
- Herdegen T, Skene P, Bahr M. The c-Jun transcription factor-bipotential mediator of neuronal death, survival and regeneration. *Trends Neurosci*. 1997;20(5):227-31.
- Hoffman PN, Thompson GW, Griffin JW et al. Changes in neurofilament transport coincide temporally with alterations in the caliber of axons in regenerating motor fibers. *J Cell Biol*. 1985;101(4):1332-40.
- Houghton PE., Kincaid CB, Lovell M et al. Effect of electrical stimulation on chronic leg ulcer size and appearance. *Phys Ther*. 2003;83(1):17-28.
- Jin H, Zhou L, Lee KY et al. Inhibition of acid secretion by electrical acupuncture is mediated via beta-endorphin and somatostatin. *Am J Physiol*. 1996;271(3-1):524-30.
- Kato N, Nemoto K, Arino H, Fujikawa K. Influence of peripheral inflammation on growth-associated phosphoprotein(GAP-43) expression on dorsal root ganglia and on nerve recovery after crush injury. *Neurosci Res*. 2003;45(3):297-303.
- Kobayashi NR, Fan DP, Giehl KM et al. BDNF and NT-4/5 prevent atrophy of rat rubrospinal neurons after cervical axotomy, stimulate GAP-43 and Talpha1-Tubulin mRNA expression, and promote axonal regeneration. *J Neurosci*. 1997;17(24):9583-95.
- Köke AJ, Schouten JS, Lamerichs-Geelen MJ et al. Pain reducing effect of three types of transcutaneous electrical nerve stimulation in patients with chronic pain: a randomized crossover trial. *Pain*. 2004;108(1-2):36-42.
- Lake DA. Neuromuscular electrical stimulation. An overview and its application in the treatment of sports injuries. *Sports Med*. 1992;13(5):320-36.
- Li JY, Kling-Petersen A, Dahlström A. GAP 43-like immunoreactivity in normal adult rat sciatic nerve, spinal cord, and motoneurons: axonal transport and effect of spinal cord transection. *Neuroscience*. 1993;57(3):759-76.
- Lin PX, Fields RD, v Agoston D. Effects of electrical stimulation on GAP-43 expression in mouse sensory neurons. *Brain Res Dev Brain Res*. 1993;76(1):95-103.
- Liu JH, Li J, Yan J et al. Expression of c-fos in the nucleus of the solitary tract following electro-acupuncture at facial acupoints and gastric distension in rats. *Neurosci Lett*. 2004;366(2):215-9.
- Lou HC, Jia YK, Li Z. Electro-acupuncture vs. amitriptyline in the treatment of depressive states. *J Tradit Chin Med*. 1985;5(1):3-8.
- Lyons GM, Leane GE, Grace PA. The effect of electrical stimulation of the calf muscle and compression stocking on venous blood flow velocity. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2002;23(6):564-6.
- Mearow KM. The effects of NGF and sensory nerve stimulation on collateral sprouting and gene expression in adult sensory neurons. *Exp Neurol*. 1998;151(1):14-25.
- de Medeiros MA, Canteras NS, Suchecki D. Analgesia and c-fos expression in the periaqueductal gray induced by electroacupuncture at Zusanli point in rats. *Brain Res*. 2003;973(2):196-204.
- Mendonca AC, Barbieri CH, Mazzer N. Directly applied low intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Methods*. 2003;129(2):183-90.
- Pomeranz B, Mullen M, Markus H. Effect of applied electrical fields on sprouting of intact saphenous nerve in adult rat. *Brain Res*. 1984;303(2):331-6.
- Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N et al. Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of peripheral nerves? *J Neurosci Methods*. 2005;142(2):185-92.

- Saletu B, Saletu M, Brown M et al. Hypno-analgesia and acupuncture analgesia: a neurophysiological reality? *Neuropsychobiology*. 1975;1(4):218-42.
- 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. *J neurosci*. 1991;1(12):3738-51.
- Shin DH, Lee E, Hyun JK et al. Growth-associated protein-43 is elevated in injured rat sciatic nerve after low power laser irradiation. *Neurosci Lett*. 2003;344(2):71-4.
- Sluka KA, Walsh D. Transcutaneous electrical nerve stimulation: basic science mechanism and clinical effectiveness. *J Pain*. 2003;4(3):109-21.
- Tejero-Diez P, Rodriguez-Sanchez P, Martin-Cofreces NB et al. bFGF stimulates GAP-43 phosphorylation at ser41 and modifies its intracellular localization in cultured hippocampal neurons. *Mol Cell Neurosci*. 2000;16:766-80.
- Ulett GA. Conditioned healing with electroacupuncture. *Altern Ther Health Med*. 1996;2(5):56-60.
- Van der Zee CE, Nielanders HB, Vos JP et al. Expression of growth-associated protein B-50(GAP43) in dorsal root ganglia and sciatic nerve during regenerative sprouting. *J Neurosci*. 1989;9(10):3505-12.
- Varejão AS, Cabrita AM, Guena SG et al. Toe out angle: a functional index for the evaluation of sciatic nerve recovery in the rat model. *Exp Neurol*. 2003;183(2):695-9.
- Woolf CJ, Reynolds ML, Molander C et al. 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*. 1990;34(2):465-78.
- Wujek JR, Lasek RJ. Correlation of axonal regeneration and slow component B in two branches of single axon. *J Neurosci*. 1983;3(2):243-251.
- Zhang B, Luo F, Liu C. Treatment of 121 heroin addicts with Han's acupoint nerve stimulator. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 2000;20(8):593-5.
- Zhang SP, Zhang JS, Ken JL. Non-opioid-dependent anti-inflammatory effects of low frequency electroacupuncture. *Brain Res Bull*. 2004;62(4):327-34.