

말초신경질환의 진단검사로서 피부 생검의 유용성

건국대학교 의학전문대학원 신경과학교실

오 지 영

Usefulness of Skin Biopsy as a Diagnostic Tool of Peripheral Neuropathy

Jeeyoung Oh, M.D.

Department of Neurology, Konkuk University School of Medicine, Seoul, Korea

Analysis of intraepidermal nerve fibers using skin biopsy is a recently developed technique, providing diagnostic information on small fiber neuropathies. The specimens are obtained by 3 mm punch biopsy, which is safe and minimally invasive. Immunohistochemical staining by Protein gene product (PGP) 9.5 demonstrate not only intraepidermal nerve fibers but dermal structures, such as sweat gland and erector papillae. Up to now, many studies agree that intraepidermal nerve fiber density is dramatically reduced in various sensory neuropathies. The utility of density measure was confirmed with high sensitivity in the diagnosis of sensory neuropathy, comparable to sural nerve biopsy or quantitative sensory testing. Besides quantitative methods, morphological changes like axonal swelling and fragmentation can be used as predegenerative markers. This article reviews the technique of skin biopsy and clinical and experimental usefulness of skin biopsy in diagnosing and monitoring peripheral neuropathies.

Key Words: Skin biopsy, Intraepidermal nerve fiber, Peripheral neuropathy

서 론

통증이나 작열감을 주로 호소하지만 신경전도검사가 정상 이어서 임상적으로 Aδ- 혹은 C-신경섬유를 주로 침범한 신경병증으로 판단되는 환자들을 진료하면서 곤란했던 경험은 임상 의로서 드물지 않을 것이다. 말초신경질환의 진단에 필수적이라 할 수 있는 신경전도검사는 직경이 굵은 유수신경 섬유 의 기능을 평가하는 도구로서 무수신경섬유의 기능은 평가할 수 없다는 제한점을 안고 있다. 따라서 이를 극복하기 위해 정량적감각검사 등 대체 혹은 보조적인 검사 기법들

이 개발되었으나, 이들 또한 환자의 주관적인 상태에 영향을 받는다는 단점을 안고 있다.¹

최근 조명을 받고 있는 피부 생검을 이용해 표피신경섬유를 검사하는 방법은 최말단의 무수신경섬유를 평가할 수 있는 객관적인 검사로 그 유용성을 인정받고 있다.^{2,3} 2005년에는 미국과 유럽을 중심으로 검사 지침서가 발표되어⁴ 이제 말초신경질환의 중요한 진단 도구로 자리를 잡고 있으며 피부뿐만 아니라 내장기관까지도 검사 대상이 되기도 하지만,⁵ 아직 국내에서는 생소한 분야이기도 하다.

저자는 최근까지 보고된 표피신경섬유검사에 관한 논문들을 검토하고, 경험을 바탕으로 표피신경섬유검사 술기와 그 임상적 의의에 대해 기술하고자 한다.

표피신경의 해부학적 구조

피부는 가장 바깥쪽의 표피(epidermis)와 그 안쪽의 진피(dermis)로 구성되어 있다. 표피는 다시 각질세포로 이루어

Address for correspondence;
Jeeyoung Oh, M.D.
Department of Neurology,
Konkuk University School of Medicine
4-12 Hwayang-dong, Kwangjin-gu, Seoul, 143-729, Korea
Tel: +82-2-2030-5151 Fax: +82-2-2030-7469
E-mail: serein@kuh.ac.kr

진 네 개의 층으로 나뉘고 안쪽에서 점차 바깥쪽으로 분화되면서 주기적으로 떨어져 나간다. 진피와 표피는 기저막을 중심으로 나뉘어 광학현미경으로도 구분이 가능한데, 진피에는 여러 혈관 구조물이나 땀샘, 털소포(hair follicle)와 일차 감각수용기가 분포되어 있다.⁶

표피에 존재하는 구조로 1868년 Langerhans가 처음 표피를 뚫고 주행하는 신경섬유를 발견하여 이차원적인 도식도로 그렸지만 이후 관찰에 성공한 사람이 없어 그 존재는 의문으로 남겨져 있었다. 1950년대 Arthur 등이 methylene blue로 표피신경을 염색하는 데 성공하면서 그 존재가 다시 부각되었지만,⁷ 염색술기가 어렵고 일부에서는 전자현미경으로도 쉽게 발견되지 않는 점 등으로 미루어, 표피에는 신경말단이 존재하지 않는다고 생각하게 되었다.⁶ 그러나 ubiquitin C-말단 가수분해효소인 PGP (protein gene product) 9.5가 중추 및 말초신경, 특히 축삭기에 풍부히 존재하는 범축삭기 표지자임이 알려지면서,⁸ 이를 이용한 면역조직화학염색을 통해 표피신경을 일정한 양상으로 염색할 수 있게 되었다.⁹

여러 연구를 통해 밝혀진 표피신경은 몸감각(somatic sense)을 담당하는 Aδ와 C-신경섬유 말단으로 팔다리 말단부보다는 몸통과 팔다리 몸쪽에 밀집해 있다. 형태학적으로는 진피와 표피 경계부를 따라 주행하는 신경섬유얼기에서부터 수직으로 갈라져 나와 표피 최상층까지 뻗게 된다 (Fig. 1).

검사 술기

1. 조직 채취

Lidocaine을 피부 표면에 가깝게 주입하여 물질 모양으로 부풀린 다음 직경 3 mm의 펀치를 이용해 주사 부위를 피해

피부조직을 얻는다. 상처 부위를 봉합할 필요는 없으며, 거즈로 압박해 지혈된 것을 확인한 다음 항생제 연고를 도포하고 일회용 소독밴드를 붙인다. 대개 일주일 정도면 새로운 피부조직이 차오르고 시간이 지나면서 눈에 잘 띄지 않는 상처로 남는다. 1,000여 건 이상을 검사한 실험실들에서도 생검으로 인한 부작용은 없었다고 보고하였고,¹⁰ 저자도 당뇨병 환자나 아스피린을 복용 중인 환자에게도 생검을 하였으나 출혈이나 상처부위가 회복되지 않는 등의 문제는 없었다.

일부 실험실에서는 흡입기를 이용해 피부에 작은 물집을 만든 다음 표피만 선택적으로 채취하는 방법을 사용하기도 한다.¹¹ 이 방법은 출혈이나 상처가 거의 없다는 장점이 있는 하나 표피신경섬유의 형태나 진피 내 구조물들을 관찰할 수 없다는 단점이 더 크기 때문에 보편적으로 사용하지는 않는다.

피부 생검의 장점은 기존의 신경생리검사로써는 검사가 어려운 부위, 즉 등이나 복부 등 환자가 증상을 호소하는 부위는 어디든 검사가 가능하다는 것이다. 따라서 피부조직은 환자가 증상을 호소하는 부위를 선택하되, 만일 여러신경병증이 의심된다면 길이-의존성 양상을 보이는지 확인하기 위해서 팔다리 말단부와 몸쪽을 함께 검사하는 것이 좋다. 일반적으로는 바깥 복사뼈에서 10 cm 위와 정강뼈거친면(tibial tuberosity) 20 cm 아래 부위를 선택하며, 무릎 위 10 cm 부위를 추가로 검사하기도 한다.

피부조직은 24시간 동안 2% PLP (paraformaldehyde/lysine/periodate)용액에 고정된 후 50 μm의 두께로 냉동 절편한다. 포르말린을 고정액으로 사용하면 표피신경이 조각나 보이기 때문에 사용하지 않는 것이 좋다. 두 개 이상의 항체를 이용해 동일초점현미경(confocal microscopy)으로 관찰해야 하는 경우는 이보다 두꺼운 80~100 μm로 절편해야 한다.

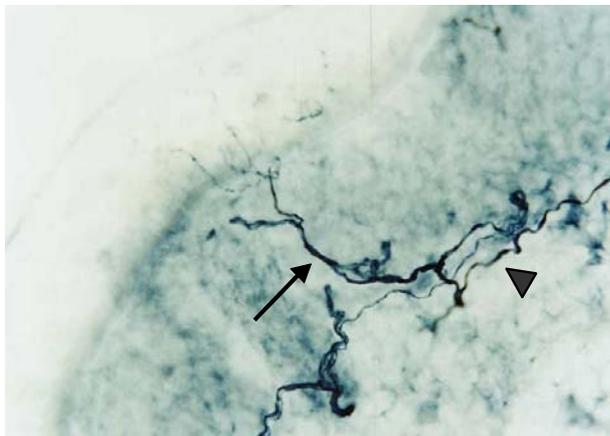


Figure 1. Example of intraepidermal nerve fiber. Epidermal nerve fibers arise from subepidermal neural plexus (arrow head) underlying dermal-epidermal junction. Vertically extended intraepidermal nerve fiber is seen with various pattern of branching in the epidermis over striatum corneum (arrow) (×400).

2. 면역염색 과정

면역염색은 96칸 조직 평판 안에 시약을 준비해 놓고 피부 절편을 순서에 따라 각 칸으로 옮겨가며 실시한다. 따라서 조직이 마르지 않은 상태에서 손상을 최소화하면서 절편을 빨리 옮기는 것이 비결이 될 수 있다. 우선 조직을 0.25% potassium permanganate와 5% oxalic acid에 차례로 처리하여 시야에 방해가 될 수 있는 표피의 각질세포와 멜라닌세포를 제거한다. 다음 4% 염소 혈청에 4시간 동안 반응시키고 일차 항체인 PGP 9.5 (Chemicon, USA)가 혼합된 TBST에 하룻밤 동안 배양한다. 다음날 이차 항체로 염소 혈청을 매개로 한 항 토끼 항체에 조직을 1시간 동안 배양하고, 이어 아비딘-비오틴 복합체(Vector, USA)에 1시간 동안 반응시킨 다음 SG 색원체(Vector, USA)로 적당히 발색하고 슬라이드로 옮겨 eosin으로 염색한다. 대조 염색을 하면 표피와 진피 경계부가 선명히 구분되기 때문에 표피신경을 셀 때 도움이 된다.

3. 표피신경섬유의 밀도 측정

표피신경검사에서 가장 중요한 지표로 이용되는 신경섬유 밀도는 400배 광학현미경을 통해 mm 당 관찰되는 표피신경섬유의 개수로 표시한다. 조직 절편의 길이를 측정하는 방법은 두 가지 중 선택할 수 있다. 하나는 컴퓨터를 이용하는 방법이며, 다른 하나는 조직 절편 중 가운데 부분의 길이가 직경 3 mm에 가장 근접하기 때문에 이 절편을 이용해 전체 신경섬유 개수를 센 다음 3으로 나누는 방법이다. 두 가지 방법을 비교한 결과 밀도 측정에는 큰 차이가 없는 것으로 보고되었다.¹²

이보다 더 중요한 사항은 표피신경의 개수를 어떻게 산출하느냐에 관한 것으로 기저막을 통과하는 부분의 신경섬유가 기준이 된다. 즉 하나의 신경섬유가 기저막을 통과해 표피에서 분지하게 되면 신경섬유 개수는 하나로 계산하고, 기저막 수준에서 분지하면 분지된 개수만큼을 계산하게 된다. 표피밑 신경얼기와 연결되어 있지 않고 표피에서만 관찰되는 신경섬유는 측정에서 제외하는 것이 원칙이다. 이런 약속된 방법으로 표피신경섬유를 세게 되면 동일한 검사자 내에서 또 서로 다른 검사자 간에 생길 수 있는 측정 오차가 현저히 줄게 된다.¹³

표피신경의 밀도와 형태 변화

1. 표피신경의 밀도

초기에는 정상인들을 대상으로 한 연구가 주가 되었기 때문에 표피신경섬유의 밀도에 영향을 미칠 수 있는 인자들이

자연히 보고되었다. 성별, 신장, 체중 혹은 인종은 모두 표피신경섬유 밀도와 상관 관계가 없는 것으로 보고되었다. 연령에 따라서는 약간의 차이를 보여, McArthur는 저연령군에서만 밀도가 높고, 이들을 제외한 연령군에서는 나이와 상관없이 일정한 분포를 보이는 것으로 보고했다.¹⁴ 그러나, 다른 연구에서는 대퇴부는 연령에 따른 차이가 없는 반면 발목 부위에서는 연령이 증가할 수록 밀도가 감소하는 경향을 보여 길이-의존성의 감소 양상을 보인다고도 하였다.¹⁵

한편 적어도 50명 이상의 정상인을 대상으로 한 참고치를 보고한 실험실은 네 곳으로 그 결과는 서로 근접해 있어서, 발목 부위는 mm 당 평균 12.4~15.0개로, 대퇴부는 평균 21.1~22.8개로 발표된 바 있다.^{15,16,17,18} 또, 공통적으로 대퇴부보다 팔다리 말단부의 표피신경섬유밀도가 감소된 양상을 보이기 때문에 감각신경전도검사와 마찬가지로 길이-의존성의 말초신경 병변과 신경세포 병변을 감별할 수 있다고 하였다.¹⁹

표피신경은 최말단 신경섬유이기 때문에 대사성 혹은 외상성 신경 손상에서 가장 먼저 변화를 보일 것으로 예상되는데, 신경 절단 후 나타나는 표피신경을 순차적으로 관찰한 연구에 따르면 축돌기 절단 다음날부터 진피와 표피의 신경 축돌기들이 분할되고 3일째에는 거의 모든 축돌기가 소실된다고 하여²⁰ 매우 이른 시기부터 구조적인 변화가 시작됨을 알 수 있다. 이와는 반대로 capsaicin으로 인위적으로 표피신경을 손상시킨 다음 재생 과정을 추적한 결과도 있는데, capsaicin 도포 후에는 거의 모든 표피신경이 소실되며, 당뇨병 환자는 정상인보다 신경재생 속도가 느린 양상을 보였다.²¹ 이렇듯 표피신경섬유 밀도를 측정함으로써 증상이 없는 초기 말초신경병증을 진단할 수 있을 뿐 아니라 신경재생 여부를 직접 육안으로 확인할 수도 있다. 각 질환군에서 보고된 연구 결과는 아래에 정리하였으므로 생략한다.

2. 표피신경의 형태 변화

말초신경병증 환자의 표피신경을 관찰하면서 드물지 않게 접하는 소견은 축돌기 부종(axonal swelling)이다(Fig. 2). 이것이 표피신경 소실 이전에 선행하는 변화인지, 아니면 이와는 독립적으로 나타나는 것인지에 대해서는 아직 의견이 분분하다. 그러나, 대부분의 연구에서는 표피신경섬유의 밀도가 감소하기 전에 축돌기 부종을 보이는 섬유의 출현빈도가 높아지는 소견을 보여²² 이런 변화가 신경퇴행의 전 단계를 의미하는 것으로 추측할 수 있다. Griffin 등도 전자현미경을 이용하여 축돌기 부종이 사립체(mitochondria)와 신경 미세섬유(neurofilament)들이 비정상적으로 축적되어 만들어지는 것을 관찰하고, 이는 신경퇴행에 선행해서 축돌기 운

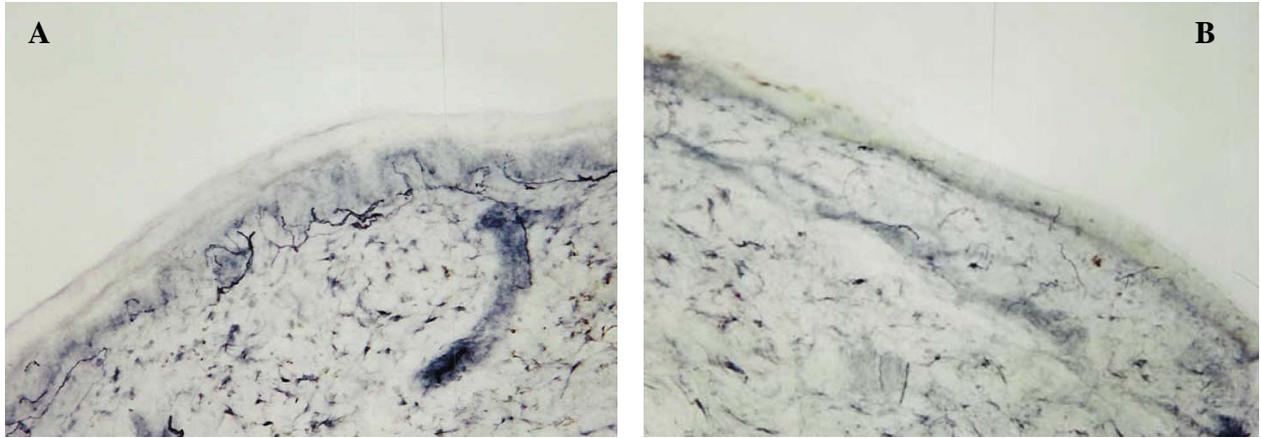


Figure 2. Intraepidermal nerve fibers in normal subject (A) and in the patient with diabetes mellitus (B). Intraepidermal nerve fiber density is strikingly reduced, and remaining fibers are fragmented in the diabetic patient ($\times 100$).

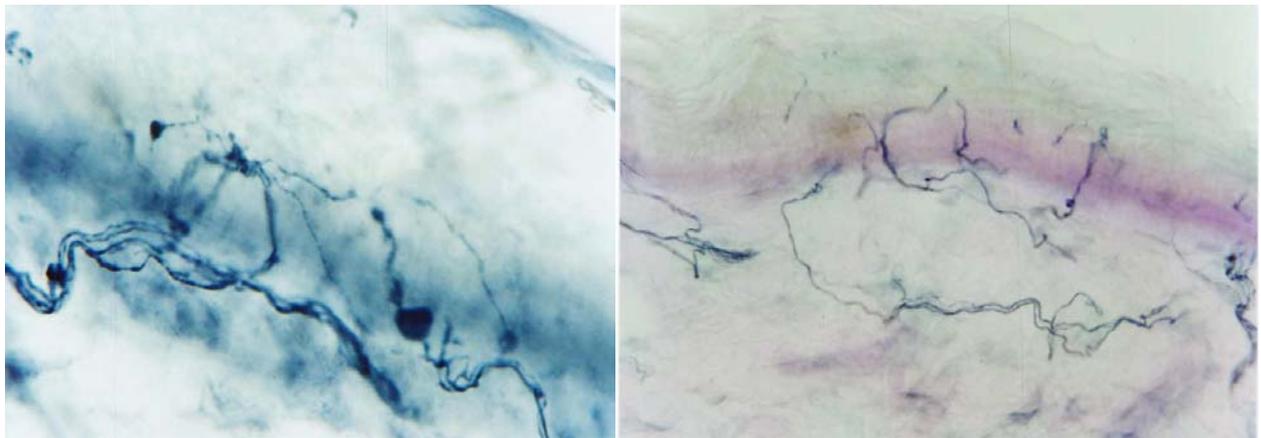


Figure 3. Various morphological changes seen in the peripheral neuropathy. Axonal swelling (left) and unwinded subepidermal neural plexus bundles with fragmented intraepidermal nerve fibers (right) ($\times 1,000$).

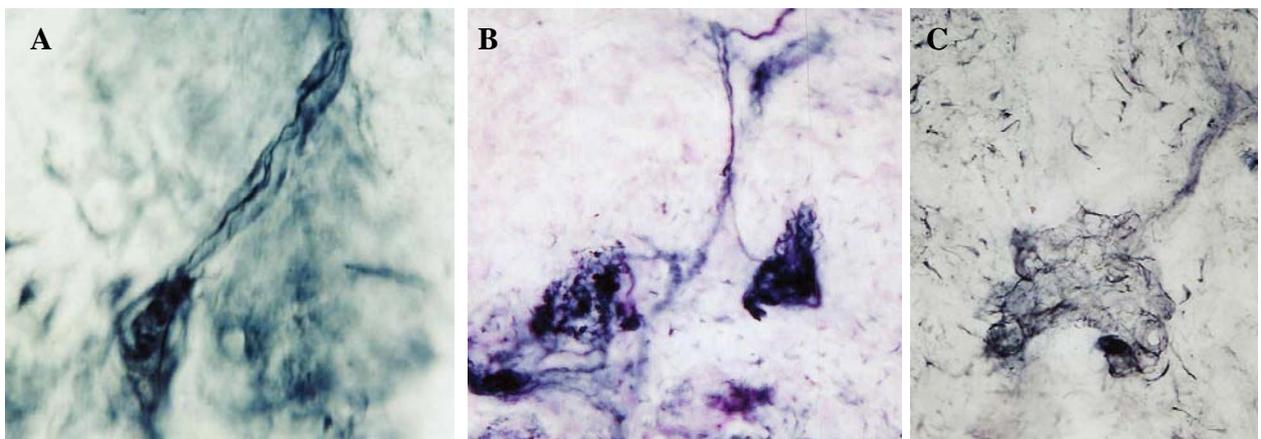


Figure 4. Dermal structures stained with PGP 9.5. Nerves innervated to erector papillae (A) and sweat glands (B, C) are often identified. Compared with the dense criss-crossed nerve fibers encircling the secreting tubule seen in normal sweat gland (B), specimen obtained from diabetic patient demonstrates sparse innervation to sweat gland (C) ($\times 400$).

반(axonal transport)이 손상된 부위에 나타나는 변화일 가능성이 높다고 하였다.²⁰

이 외에도 표피신경의 분지가 많아지거나 진피 신경섬유 열기가 끊어지는 등의 변화가 말초신경병증 환자들에서 발견되었지만,^{23,24} 이들의 의미에 대해서는 아직 밝혀진 바가 없다.

3. 기타 구조물들의 변화

진피에서는 땀샘이나 유두세움근(erector papillae)을 지배하는 신경섬유들을 관찰할 수 있으며, 이는 자율신경병증이 의심되거나 이를 동반한 말초신경병증의 확인에 도움을 줄 수 있다. 즉, 땀분비 이상이 땀샘 자체의 문제인지 아니면 땀샘의 신경지배에 문제가 있어서인지 구분할 수 있게 된다.

간접면역염색 기법이 발달하면서 콜라겐, 수초단백, 혈관 내피세포, 신경미세섬유 등에 대한 다양한 항체를 이용해 진피 구조물들을 더 선명하게 구분해 낼 수 있게 되었다.^{5,25} 아직은 극소수의 실험실에서만 가능하지만 이런 다양한 시도에 힘입어 말초신경병증에 수반되는 여러 혈관이나 분비샘들의 변화들이 확인되고 그 의미가 밝혀질 것이다.

표피신경검사의 신뢰도

어떤 새로운 검사법이 말초신경병증의 진단 도구로서 가치가 있다고 인정받기 위해서는 신경병의 진행 정도를 반영할 수 있도록 검사의 민감도가 높아야 하며 다른 검증된 검사 도구를 이용한 결과와 연관성이 있고 또 재현성이 있어야 할 것이다.

표피신경섬유의 밀도는 검사자 간 혹은 동일 검사자 내에서 신뢰도가 높고 한 환자에서 적어도 2개 이상의 검체를 측정하여 평균할수록 검사자 간의 변이도가 감소한다. 숙련된 검사실에서 검사한 경우 검사자 간의 측정 오차는 신경전도 검사와 비교하여 정강신경의 복합활동전위진폭이나 정중신경의 감각신경전달속도보다 적은 것으로 보고되었다.²⁶

말초신경병증에서 장딴지신경의 감각활동전위 진폭과 표피신경섬유의 밀도는 비례하는 양상을 보이고 장딴지신경 조직검사와 표피신경섬유검사도 상당수 일치율을 보이지만, 진단의 민감도는 더 높아 증상이 뚜렷하지 않거나 없는 단계의 초기 진단이나 세섬유신경병증의 진단에 매우 유용하게 사용할 수 있다.^{27,28}

정량적 땀분비기능검사는 자율신경기능을, 표피신경섬유 검사는 몸감각기능을 평가하는 도구이기 때문에 엄밀한 의미에서 두 검사의 민감도나 특이도를 비교하는 것은 적절하지 않다. 이런 이유로 대상을 엄격히 선별하지 않은 경우

상반된 결과를 보이게 된다.^{29,30} 그러나 Guillain-Barré 증후군 환자에서 표피신경섬유 소실이 현저할수록 자율신경이상 증상을 초래할 위험이 큰 것으로 미루어,³¹ 통상의 세섬유신경병증에서는 표피신경섬유검사로 자율신경병증의 유무나 중증도를 짐작할 수 있을 것으로 생각한다.

여러 말초신경질환에서 표피신경 연구

1. 당뇨병말초신경병증

아마도 당뇨병말초신경병증만큼 표피신경검사에 많은 연구 대상이 된 질환도 없을 것이다. 사실 PGP 9.5를 사용하기 전, 당뇨병 환자들의 피부조직을 전자현미경으로 관찰하여 표피신경 밀도가 유의하게 감소되어 있고 남아있는 축돌기에서 부종과 공포형성 등 형태 변화가 일어난 것을 보고한 논문은 있었다.³² 이는 이후 보고된 PGP 9.5를 이용한 표피신경 연구 결과들과 일치하는 소견이기도 하다.

가장 많은 형태인 면쪽 여러 신경병증을 대상으로 한 연구들에서 표피신경섬유는 당뇨병 유병기간이 길수록, 혹은 신경병증의 증상이 심할수록 감소하는 경향을 보였다.^{23,33,34} 예상대로 신경전도검사와 비교해 신경병증 증상을 더 민감히 반영하며, 정량감각검사와 비교한 경우 결과는 연구마다 약간의 차이는 있지만 온각, 냉각, 진동각 중 온각 역치는 표피신경의 밀도와 상관 관계를 보이는 것으로 나타났다.³⁴ 또 이런 변화는 길이-의존 양상을 보여, 다리 말단부에서 밀도 저하가 더 뚜렷하였다.

당뇨병 환자뿐 아니라 당불내성 환자에서도 통증을 수반하는 신경병증이 발현될 수 있으며, 역으로 원인을 알 수 없는 감각신경병증 환자의 상당수가 당불내성으로 진단되기도 한다.^{35,36} 당불내성 환자들을 대상으로 한 연구에서 이들은 모두 신경전도검사나 정량감각검사의 이상 여부와 관계없이 표피신경섬유의 밀도가 의미있게 감소되었다.^{37,38} 이는 당불내성과 연관된 신경병증이 주로 세섬유를 침범하는 감각신경병증이라는 임상적 결과를 뒷받침하는 결과이기도 하다.

2. 세섬유감각신경병증

"화끈거린다", "아프다", "따갑다" 등의 이상 감각만을 호소하지만 특별한 객관적 진단방법이 여의치 않았던 질환인 세섬유감각신경병증을 대상으로 한 표피신경섬유 연구 결과들을 보면 상당히 희망적이다. 거의 모든 환자에서 표피신경섬유가 감소되거나 형태 변화를 보였고, 이런 변화는 환자가 호소하는 증상의 정도와 일부 비례하였다.^{39,40,41,42} 당뇨병말초신경병증과 유사하게 이 질환군 역시 길이-의존 양상으로 섬유밀도가 감소되었고 정량감각검사와 비교하면 온각 역치

를 제외하고 진동각이나 냉각 역치와는 상관 관계가 없었다.⁴¹ 또 정량적 땀분비기능검사와 비교한 연구에서도 표피 신경섬유 밀도가 신경병증을 더 민감하게 반영하는 지표로 나타났다.²⁹ 피검자들의 특징이 조금씩 다르기는 하나 세섬유감각신경병증을 진단하는 데 표피신경섬유검사의 민감도는 76%에서 많게는 90%에 이른다.^{43,44}

객관적 진단을 가능하게 했다는 점 외에 표피신경섬유검사가 가지는 의의는, 예전에는 증상에 의존해 하나의 증후군으로 생각했던 특별 세섬유감각신경병증이 사실은 각기 다른 병리기전을 가지는 독립된 질환들의 모임임을 제시했다는 것이다. Holland 등은 특별 세섬유감각신경병증 환자들을 길이-의존 양상의 표피신경섬유 감소를 보이며 만성으로 진행되는 군과 먼쪽과 몸쪽 모두에서 섬유밀도가 현저히 감소되어 있어 신경세포병증(neuronopathy) 양상을 보이는 군으로 분류하고, 이를 바탕으로 각 군에 대한 치료 반응의 차이 등 임상 연구가 필요하다고 하였다.⁴²

3. 자율신경병증

표피신경섬유는 몸감각신경이기 때문에 자율신경만을 선택적으로 침범하는 질환에서는 진단적인 가치가 떨어지게 된다. 그러나 다수의 자율신경병증은 감각 이상을 동반하는 경우가 많고, 피부 생검에서 표피신경섬유뿐 아니라 땀샘도 관찰할 수 있기 때문에 그 효용성은 무시할 수 없다.

먼쪽 세섬유신경병증, 신경병증성 기립빈맥증후군(neuropathic postural tachycardia syndrome; POTS)과 특별 자율신경병증 환자들을 비교하면, 먼쪽 세섬유신경병증 환자들은 이미 기술한 대로 표피신경섬유 이상과 말단부 땀분비기능 이상을 모두 보여 몸감각과 자율신경을 담당하는 C-섬유가 모두 침범된 소견을 보인다. 반면, POTS 환자들은 말단부에서, 특별 자율신경병증 환자들은 전신에서 땀분비가 감소되어 있지만 표피신경섬유는 모두 정상 소견을 보여 자율신경성 C-섬유만을 선택적으로 침범하는 양상을 보인다.⁴⁵ 따라서 비슷한 자율신경 이상 증상을 보이는 환자라도 피부 생검과 발한기능검사를 함께 함으로써 그 원인을 감별할 수 있다는 것이다.

4. 기타 질환

기존의 도구로는 검사가 어려운 부위나 증상이 작은 부위에 국한되어 있는 경우에도 검사가 가능하기 때문에 표피신경섬유검사는 몸통 병변을 확인하는 데 유용하다. 대표적인 경우가 당뇨병에 의한 몸통 신경병증과 대상포진후 신경통으로 양 군에서 모두 병변 쪽에 유의하게 신경섬유 밀도가 감소된 소견을 보이며 특히 이질통을 호소하는 부위에서 더 현

저하였다.^{46,47,48} 이를 토대로 피부 생검이 신경통과 연관통을 감별하거나 드물게 피부 병변을 동반하지 않는 대상포진을 진단하는 데 도움을 줄 것으로 생각된다.

하지불안증후군 환자를 대상으로 한 연구도 있는데, 임상적 혹은 전기진단검사나 피부 생검을 통해 말초신경병증이 동반된 것으로 확인된 환자들을 우수신경섬유가 주로 침범된 경우와 세섬유가 주로 침범된 군으로 구분하였다. 후자의 경우는 특별 하지불안증후군으로 오인되기 쉽지만 그 병리기전으로 인해 도파민 대항제보다는 신경병증성 통증을 조절하는 약물에 더 치료 효과가 있을 것이라는 주장이 나오기도 했다.⁴⁹

탈수초신경병증으로 분류된 질환을 대상으로도 표피신경섬유를 조사하여 Charcot-Marie-Tooth병이나 부단백질과 연관된 말초신경병증에서도 표피신경섬유에 변화가 동반됨을 밝혔지만, 이것이 가지는 임상적 혹은 병리기전과 관련된 의미에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것 같다.^{50,51}

또 관심을 끄는 분야는 중추성 통증 혹은 교감신경 매개성 통증이다. 최근 한 연구에서 부분복합통증후군 환자들을 대상으로 면역형광염색을 한 결과 표피신경섬유가 감소됨은 물론 땀샘과 혈관 및 털소포에서 모두 광범위한 탈신경이 일어남이 확인되었다.⁵² 이것이 일차적인 통증의 원인인지 아니면 중추 감각화에 의한 이차적인 변화인지는 감별할 수 없으나, 피부 생검을 이용한 연구가 이런 수수께끼 같은 통증 증후군의 병리기전이나 치료 효과를 감시하는 데 유용할 것이라는 견해에는 이견이 없을 것이다.

EFNS guideline

1. 조직 채취

3 mm 펀치 생검을 이용해서 증상 부위의 피부조직을 채취한다. 여러 신경병증의 진단을 목적으로 할 때에는 다리의 먼쪽 조직을 얻되, 몸쪽과 먼쪽 조직을 함께 얻어 길이-의존 양상을 보이는지 확인하는 것도 유용하다.

2. 검사 방법과 표피신경의 밀도 계산

채취한 피부조직은 4℃ 고정액에 24시간 동안 고정한 다음 50 μm 두께로 냉동절편한다. 고정액은 2% paraformaldehyde-lysine-periodate (2% PLP)나 Zamboni's (2% paraformaldehyde, picric acid) 용액을 사용하며, PGP 9.5를 이용해 면역염색한다.

표피신경의 개수는 400배의 시야에서 세어야 하며, 진피와 표피 경계를 뚫고 상행하는 신경섬유만 포함시킨다. 적어도 3개의 절편을 세어 평균한다. 전체 조직의 길이는 컴퓨터

프로그램을 이용하거나(level A recommendation) 전체 개수를 3으로 나누는 방법(level B recommendation)으로 계산한다.

3. 결과 판독

정립된 실험실에서 술기를 익힌 후에 검사를 하는 것이 바람직하며, 연령이나 검사 부위 등을 고려한 참고치와 대조하여야 한다. 검사 술기와 판독 방법에 대한 정도 관리도 정기적으로 이루어져야 한다.

결 론

피부 생검을 이용한 표피신경섬유검사는 비교적 최근 개발된 검사로서, 기존의 도구로는 진단이 어려웠던 세섬유신경병증을 확인하고 중증도를 정량화할 수 있으며 형태 변화까지도 관찰할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 또 장판지신경 조직검사와는 달리 소침습적인 술기로 증상을 호소하는 부위를 모두 검사할 수 있고, 반복적인 검사가 가능하면서도 부작용이 거의 없다는 것은 진단뿐 아니라 질병의 진행 과정이나 약물 투여 후 효과를 감시하는 면에서도 매우 매력적이라고 할 수 있다. 가장 큰 단점은 아직 상업화되어 있지 않은 검사이기 때문에 일부 실험실에서만 검사가 가능하다는 것과 말초신경병의 원인에 대한 단서는 제공하지 못한다는 점이다.

우리나라에서도 여건이 가능한 실험실에서 다양한 질환군을 대상으로 연구를 한다면, 임상 진단을 확인하거나 여러 중추 혹은 말초신경병증에 수반되는 이상 감각과 통증의 기전에 대한 실마리를 찾을 수 있는 기회를 얻을 수 있을 것으로 기대한다.

REFERENCE

1. Yamitsky D. Quantitative sensory testing. *Muscle Nerve* 1997; 20:198-204.
2. Lauria G, Devigili G. Skin biopsy as a diagnostic tool in peripheral neuropathy. *Nat Rev Clin Pract Neurol* 2007;3: 546-557.
3. Griffin JW, McArthur JC, Polydefkis M. Assessment of cutaneous innervation by skin biopsies. *Curr Opin Neurol* 2001;14:655-659.
4. Lauria G, Cornblath R, Johansson O, McArthur JC, Mellgren SI, Nolano M, et al. EFNS guidelines on the use of skin biopsy in the diagnosis of peripheral neuropathy. *Eur J Neurol* 2005;12:747-758.
5. Kennedy WR. Opportunities afforded by the study of unmyelinated nerves in skin and other organs. *Muscle Nerve* 2004;29:756-767.
6. Winkelmann RK. Cutaneous sensory nerves. *Sem Dermatol* 1988;7:236-368.
7. Arthur RP, Shelley WB. The innervation of human epidermis. *J Invest Dermatol* 1959;32:397-411.
8. Wang L, Hilliges M, Jernberg T, Wiegleb-Edstrom D, Jahanson O. Protein gene product 9.5-immunoreactive nerve fibers and cells in human skin. *Cell Tissue Res* 1990;261:25-33.
9. Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G. The innervation of human epidermis. *J Neurol Sci* 1993;115:184-190.
10. Sommer C, Lauria G. Skin biopsy in the management of peripheral neuropathy. *Lancet Neurol* 2007;6:632-642.
11. Kennedy WR, Nolano M, Wendelschafer-Crabb G, Johnson TL, Tamura E. A skin blister method to study epidermal nerves in peripheral nerve disease. *Muscle Nerve* 1999;22:360-371.
12. Chien HF, Tseng TJ, Lim WM, Yang CC, Chang YC, Chen RC, et al. Quantitative pathology of cutaneous nerve terminal degeneration in the human skin. *Acta Neuropathol* 2001;102: 455-461.
13. Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G, Polydefkis M, McArthur J. pathology and quantitation of cutaneous nerves. In: Dyck PJ, Thomas PK eds. *Peripheral neuropathy*, 4th ed. Saunders, Philadelphia, 2005:869-896.
14. Lauria G, Holland N, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW, McArthur JC. Epidermal innervation: changes with aging, topographic location, and in sensory neuropathy. *J Neurol Sci* 1999;164:172-178.
15. Umaoathi T, Tan WL, Tan CVK, Chan YH. Determinants of epidermal nerve fiber density in normal individuals. *Muscle Nerve* 2006;33:742-746.
16. McArthur JC, Stocks EA, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW. Epidermal nerve fiber density: normative reference range and diagnostic efficiency. *Arch Neurol* 1998;55:1513-1520.
17. Goransson LG, Mellgren SI, Lindal S, Omdal R. The effect of age and gender on epidermal nerve fiber density. *Neurology* 2004;62:774-777.
18. Pan CL, Lin YH, Lim WM, Tai TY, Hsieh ST. Degeneration of nociceptive nerve terminals in human peripheral neuropathy. *Neuroreport* 2001;12:787-792.
19. Lauria G, Sghirlanzoni A, Lombardi R, Pareyson D. Epidermal nerve fiber density in sensory ganglionopathies: clinical and neurophysiological correlations. *Muscle Nerve* 2001;24:1034-1039.
20. Ebenezer GJ, McArthur JC, Thomas D, Murinson B, Hauer P, Polydefkis M, et al. Denervation of skin in neuropathies: the sequence of axonal and Schwann cell changes in skin biopsies. *Brain* 2007;130:2703-2714.
21. Polydefkis M, Hauer P, Sheth S, Sirdofsky M, Griffin JW, McArthur JC. The time course of epidermal nerve fiber regeneration: studies in normal controls and people with diabetes, with and without neuropathy. *Brain* 2004;127:1606-1615.

22. Lauria G, Morbin M, Lomnardi R, Borgna M, Mazzoleni G, Sghirlanzoni A, et al. Axonal swelling predict the degeneration of epidermal nerve fibers in painful neuropathies. *Neurology* 2003;61:631-636.
23. Oh JY, Park KD, Kim JE, Choi YJ, Choi KG. Assessment of intraepidermal nerve fiber using skin biopsy in diabetic polyneuropathy. *J Korean Neurol Assoc* 2003;21:628-633.
24. Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G, Johnon T. Quantitation of epidermal nerves in diabetic neuropathy. *Neurology* 1996; 47:1042-1048.
25. Lauria G, Borgna M, Morbin M, Lombardi R, Mazzoleni G, Schirlanzoni A, et al. Tubule and neurofilament immunoreactivity in human hairy skin: markers for intraepidermal nerve fibers. *Muscle Nerve* 2004;30:310-316.
26. Smith AG, Howard JR, Kroll R, Ramachandran P, Hauer P, Singleton JR, et al. The reliability of skin biopsy with measurement of intraepidermal nerve fiber density. *J Neurol Sci* 2005;228:65-69.
27. Herrmann DN, Griffin JW, Hauer P, Cornblath DR, McArthur JC. Epidermal nerve fiber density and sural nerve morphometry in peripheral neuropathies. *Neurology* 1999;53:1634-1640.
28. Loseth S, Lindal S, Stalberg E, Mellgren SI. Intraepidermal nerve fiber density, quantitative sensory testing and nerve conduction studies in a patient material with symptoms and signs of sensory polyneuropathy. *Eur J Neurol* 2006;13:105-111.
29. Periquet MI, Novak V, Colins MP, Nagaraja HN, Erdem S, et al. Painful sensory neuropathy: prospective evaluation using skin biopsy. *Neurology* 1999;53:1641-1647.
30. Novak V, Freimer ML, Kissel JT, Sahenk A, Periquet IM, Nash SM, et al. Autonomic impairment in painful neuropathy. *Neurology* 2001;56:861-868.
31. Pan CL, Tseng TJ, Lin YH, Chiang MC, Lin WM, Hsieh ST. Cutaneous innervation in Guillain-Barre syndrome: pathology and clinical correlations. *Brain* 2003;126:386-397.
32. Yasuda H, Kikkawa R, Haranaka I, Kobayashi N, Taniguchi Y, Shigetani Y. Skin biopsy as a beneficial procedure for morphological evaluation of diabetic neuropathy. *Acta Pathol Jpn* 1985;35:1-8.
33. Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G. Utility of skin biopsy in diabetic neuropathy. *Semin Neurol* 1996;16:163-171.
34. Shun CT, Chang YC, Wu HP, Hsieh SC, Lin WM, Lin YH, et al. Skin denervation in type 2 diabetes: correlations with diabetic duration and functional impairment. *Brain* 2004;127: 1593-1605.
35. Novella SP, Inzucchi SE, Goldstein JM. The frequency of undiagnosed diabetes and impaired glucose tolerance in patients with idiopathic sensory neuropathy. *Muscle Nerve* 2001;24:1229-1231.
36. Singleton JR, Smith AG, Bromberg MB. Glucose tolerance testing in the evaluation of idiopathic neuropathy. *Ann Neurol* 1998;44:477.
37. Smith AG, Ramachandran P, Tripp S, Singleton JR. Epidermal nerve innervation in impaired glucose tolerance and diabetes-associated neuropathy. *Neurology* 2001;57:1701-1704.
38. Summer CJ, Sheth S, Griffin JW, Cornblath DR, Polydefkis M. The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance. *Neurology* 2003;60:108-111.
39. Gibbons CH, Griffin JW, Polydefkis M, Bonyhay I, Brown A, Hauer PE, et al. The utility of skin biopsy for prediction of progression in suspected small fiber neuropathy. *Neurology* 2006;66:256-258.
40. Wakamoto H, Hirai A, Manabe K, Hayashi M. Idiopathic small fiber sensory neuropathy in childhood: a diagnosis based on objective findings on punch skin biopsy specimens. *J Pediatr* 199;135:257-260.
41. Holland NR, Stocks A, Hauer PE, Cornblath DR, Griffin JW, McArthur JC. Intraepidermal nerve fiber density in patients with painful sensory neuropathy. *Neurology* 1997;48:708-711.
42. Holland NR, Crawford TO, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW, McArthur JC. Small fiber sensory neuropathies: clinical course and neuropathy of idiopathic cases. *Ann Neurol* 1998; 44:47-59.
43. Koskinen M, Hietaharju A, Kylaniemi M, Peltola K, Rantal I, Udd B, et al. A quantitative method for the assessment of intraepidermal nerve fibers in small fiber neuropathy. *J Neurol* 2005;252:789-794.
44. Moravcova E, Bednarik J, Dastyk M, Toyka KV, Sommer C. Diagnostic validity of skin biopsy, utilizing intra- and subepidermal nerve fiber densities in painful sensory neuropathies. *J Neurol* 2006;253:109.
45. Singer W, Spies JM, McArthur J, Low J, Griffin JW, Nickander KK, et al. Prospective evaluation of somatic and autonomic small fibers in selected autonomic neuropathies. *Neurology* 2004;62:612-618.
46. Lauria G, McArthur JC, Hauer PE, Griffin JW, Cornblath DR. Neuropathological alteration in diabetic truncal neuropathy: evaluation by skin biopsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;65:762-766.
47. Oaklander AL. The density of remaining nerve ending in human skin with and without postherpetic neuralgia after shingles. *Pain* 2001;92:139-145.
48. Rowbotham MC, Fields HL. The relationship of pain, allodynia and thermal sensation in post-herpetic neuralgia. *Brain* 1996;119:347-354.
49. Polydefkis M, Allen RP, Hauer P, Earley CJ, Griffin JW, McArthur JC. Subclinical sensory neuropathy in late-onset restless legs syndrome. *Neurology* 2000;55:1115-1121.
50. Jonsson V, Jensen TS, Friis ML, Schroder HD, Stigsby B, Struck J, et al. Immunoglobulin deposits in peripheral nerve endings detected by skin biopsy in patients with IgM M proteins and neuropathy. *Neurology* 1987;37:303-306.
51. Li J, Bai Y, Ghandour K, Qin P, Grandis M, Trostinskaia A, et al. Skin biopsies in myelin-related neuropathies: bring molecular pathology to the bedside. *Brain* 2005;128:1168-1177.
52. Albrecht PJ, Hines S, Eisenberg E, Pud D, Finlay DR, Connolly MK, et al. Pathologic alterations of cutaneous innervation and vasculature in affected limbs from patients with complex regional pain syndrome. *Pain* 2006;120:244-266.