

DHEA 투여가 일측성 말초신경 손상에 의해 유발된 신경병증성 통증 쥐의 환측과 정상측 뒷다리근에 미치는 영향

최명애¹ · 안경주²

¹서울대학교 간호대학 교수 · 서울대학교 간호과학연구소, ²청주대학교 간호학과 전임강사

Effect of Dehydroepiandrosterone on Affected and Unaffected Hindlimb Muscles in Rats with Neuropathic Pain Induced by Unilateral Peripheral Nerve Injury

Choe, Myoung-Ae¹ · An, Gyeong Ju²

¹Professor, College of Nursing · The Research Institute of Nursing Science, Seoul National University, Seoul

²Full-time Instructor, Department of Nursing, Cheongju University, Cheongju, Korea

Purpose: The purpose of this study was to examine the effect of DHEA (Dehydroepiandrosterone) on muscle weight and Type I and II fiber cross-sectional area of affected and unaffected hindlimb muscles in rats with neuropathic pain induced by unilateral peripheral nerve injury. **Methods:** Neuropathic pain was induced by ligation and cutting of the left L5 spinal nerve. Adult male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to one of two groups: The DHEA group (n=10) had DHEA injections daily for 14 days, and the Vehicle group (n=10) had vehicle injections daily for 14 days. Withdrawal threshold, body weight, food intake and activity were measured every day. At 15 days all rats were anesthetized and soleus, plantaris and gastrocnemius muscles were dissected from the both hindlimbs. Body weight, food intake, activity, muscle weight and Type I, II fiber cross-sectional area of the dissected muscles were measured. **Results:** The DHEA group showed significant increases ($p<.05$), as compared to the vehicle group for muscle weight of the unaffected plantaris, and in Type II fiber cross-sectional area of the gastrocnemius muscle. The DHEA group demonstrated a higher pain threshold than the vehicle group whereas total diet intake and activity score were not significantly different between the two groups. **Conclusion:** DHEA administration for 14 days attenuates unaffected plantaris and gastrocnemius muscle atrophy.

Key words: Pain, Dehydroepiandrosterone, Muscular atrophy, Muscle weight, Muscle fiber

서론

1. 연구의 필요성

말초신경계 질환으로 척수 신경근(spinal nerve root)이나 배근 신경절(dorsal root ganglion), 말초신경에 손상이 있을 때

신경병증성 통증이 유발된다(Backonja, 2003). 인슐린의존성 당뇨병 환자의 11.6%, 인슐린비의존성 당뇨병 환자의 32.1%가 당뇨병성 신경병증을 앓고 있으며(Schmader, 2002; Ziegler, Gries, Spuler, & Lessmann, 1992), 대상포진(herpes zoster infection) 환자의 9-24%가 신경통으로 진행된다(Schmader, 2002). 이 외에도 AIDS 환자의 30-50%가 신경병증성 통증을

주요어 : 신경병증성 통증, Dehydroepiandrosterone, 뒷다리근, 근위축

*본 논문은 2007년도 정부(과학기술부)의 지원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구임(R01-2007-000-10573-0).

*This work was supported by the Korea Science and Engineering Foundation (KOSEF) grant funded by the Korea government (R01-2007-000-10573-0).

Address reprint requests to : Choe, Myoung-Ae

College of Nursing, Seoul National University, 28 Yeongseong-dong, Jongno-gu, Seoul 110-744, Korea
Tel: 82-2-740-8824 Fax: 82-2-766-1852 E-mail: machoe@snu.ac.kr

투고일 : 2009년 4월 10일 심사회의일 : 2009년 4월 10일 게재확정일 : 2009년 7월 23일

호소하고(Luciano, Pardo, & McArthur, 2003; Schmader, 2002), 말기 암환자의 과반수에서 극심한 신경병증성 통증이 보고되고 있는데, 이는 방사선치료 혹은 화학치료에 의해 유발된다(Vielhaber & Portenoy, 2002).

말초신경이 손상된 경우 자발성통증을 포함하여 여러 형태의 기계적 혹은 열적 유해자극을 가했을 때 정상에 비해 통증을 강하게 느끼는 통각과민(hyperalgesia)과, 비유해자극인 낮은 강도의 기계적 혹은 열적 자극에 대해서도 통각으로 인식되는 이질통(allodynia) 등 통각과민 현상을 흔히 볼 수 있다(Sato & Perl, 1991).

신경병증성 통증 모델 쥐에서 신경병증성 통증환자들에서 나타나는 증상과 유사한 행동학적 증후를 관찰할 수 있다. 외부에서 자극이 없을 때도 가끔 신경손상을 받은 쪽의 다리를 들고 핏내는 행동을 보이며 이러한 행동은 경미한 촉각자극에 의해 더욱 심해져 때로는 소리를 지르거나 다리를 움츠리고 방어 자세를 취하기도 한다(Leem et al., 2000).

이와 같이 많은 환자들이 신경병증성 통증을 경험하고 있으나 통증이 만성적이기 때문에 장기간 부동이 유발되고 이로 인해 심한 경우 정상적인 사회생활도 하기 어렵게 된다(Lee & Choe, 1996).

Choe, Kim, An, Lee와 Choi (2008)의 연구에서 말초신경 손상 후 7일간의 신경병증성 통증에 의해 근위축이 유발되었으며 이러한 근위축은 신경손상뿐 아니라 통증으로 인한 활동저하와 영양섭취감소가 유의한 영향을 준 것으로 나타났다. Choe 등(2008)의 연구에 의하면 말초신경 손상으로 유발된 통증과 탈신경에 의한 활동저하와 영양섭취 저하로 근위축이 발생한다는 과학적 근거를 제시하고 있으므로 임상 현장에서 신경병증성 통증환자의 근위축 발생에 관심을 가지고 이를 예방해야 된다고 주장한 바 있다. 그러나 의료현장에서 신경병증성 통증으로 인해 초래되는 근위축에 대해서는 거의 관심 밖의 일로 간주되고 이를 경감시키려는 노력도 없어 이에 대한 선행연구가 거의 없는 실정이다. 임상 현장에서 신경병증성 통증 환자의 골격근 위축문제에 관심을 갖게 될 때는 근위축이 상당히 진행되고 있는 상태이므로 회복시간이 연장되어 입원기간이 길어지며, 퇴원 후 기능적 능력의 장애로 정상생활로 복귀하는 시기가 늦어진다.

근육단백질 합성을 촉진하는 것으로 잘 알려져있는 DHEA는 다양한 연구 대상에게 적용되어 효과를 규명해오고 있으나 말초신경병증성 통증 모델에서는 적용된 적이 없다. 말초신경 손상 후 신경병증성 통증에 의해 근위축이 초래된다는 사실이 최근 Choe 등(2008)에 의해 밝혀진 후 아직 구체적인 중재가

적용된 연구가 거의 없는 상황에서 DHEA 적용을 고려해볼 수 있다. 특히 인간과 달리 설치류에서는 DHEA를 합성하는 효소인 P450c17이 부신에서 분비되지 않기 때문에(Kibaly, Meyer, Patte-Mensah, & Mensah-Nyagan, 2008) 순수한 DHEA 투여의 효과를 규명하기에 적합하다.

이에 본 연구에서는 14일간의 DHEA투여가 일측성 말초신경 손상에 의해 유발된 신경병증성 통증 쥐의 환측과 정상측 뒷다리근에 미치는 영향을 규명하고자 한다.

2. 연구 목적

본 연구의 목적은 DHEA 투여가 일측성 말초신경 손상에 의해 유발된 신경병증성 통증이 환측과 정상측 뒷다리근에 미치는 영향을 규명하여 신경병증성 통증으로 인한 근위축의 위험이 예견되는 상황에서 근위축을 경감시키는 방안을 개발하기 위한 것으로 구체적인 목적은 다음과 같다.

첫째, DHEA가 일측성 말초신경 손상에 의해 유발된 쥐의 환측과 정상측 뒷다리근의 근육무게에 미치는 영향을 규명한다.

둘째, DHEA가 일측성 말초신경 손상에 의해 유발된 쥐의 환측과 정상측 뒷다리근의 Type I, II 근섬유 횡단면적에 미치는 영향을 규명한다.

연구 방법

1. 연구 설계

본 연구는 S대학교 실험동물 윤리위원회의 승인을 받은 후 규정에 따라 진행되었다. 순수실험연구로 수행되었으며 실험 동물은 무작위로 두 군에 배정하였다. 두 군 모두 좌측 제5요수 신경을 결찰한 후 절단하여 신경병증성 통증을 유발시켰으며, 그 후 DHEA군은 14일간 DHEA를 투여한 군이고 Vehicle군은 vehicle인 medium chain triglycerides (MCT)-oil만을 14일간 투여한 군이다. 두 군 모두 실험시작일로부터 15일째에 가자미근, 족척근, 비복근을 절제하였다.

2. 연구 대상

체중 200-220 g의 male Sprague-Dawley rat (Koatech, Pyeongtaek, Korea)을 DHEA군과 Vehicle군으로 나누어 각 군당 10마리를 실험대상으로 하여 총 20마리가 연구 대상이 되었다.

두 군을 동일한 환경에 수용하였고(온도: $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도: 45–55%) 12시간은 밝고 12시간은 어둡게 하였으며 동물의 고행사료(Samyang Co., Cheonan, Korea)와 물은 마음대로 먹을 수 있게 하였다.

3. 실험 방법

1) 신경병증성 통증 유발

신경병증성 통증을 유발하기 위해 Kim과 Chung (1992)의 방법을 이용하여 신경병증성 통증 모델을 제작하였다. 쥐에게 pentobarbital sodium을 50 mg/kg의 용량으로 복강내주사로 마취시킨 후 복외위로 고정하였다. 요천추(lumbosacral) 부위의 왼쪽 피부를 정중면으로 절개하고 그 안의 요추부위 근육도 척추로부터 왼쪽 약 0.5 cm 간격을 두고 정중면으로 절개한 뒤 근육을 왼쪽 아래로 젖히고 안의 근육들을 긁어내어 좌측 제 6번 요추의 횡돌기를 노출시켰다. 그 다음 현미경 하에서 횡돌기를 조심스럽게 제거하고 좌측 제 4, 5요수신경 일부를 노출한 후 두 신경을 1 cc 주사기 2개를 이용하여 분리한 뒤 제 5요수신경을 수술용 견사실(6-0)을 이용해 2 mm 간격을 두고 양쪽을 단단하게 결찰한 후 그 사이 부위를 미세가위로 절단하였다. 수술이 끝난 후 근육과 피부를 봉합하였다.

2) DHEA 투여

Ethanol 5 mL와 MCT oil 45 mL를 1:9의 비율로 혼합한 용액에 DHEA (Sigma, St. Louis, MO, USA) 1.25 g을 용해시켜 주사액으로 만든 후 0.34 mmol/kg의 용량으로 1회/일, 14일간 DHEA군에게 복강내주사하였다. 이러한 방법은 선행 연구(An & Choe, 2002)를 통해 근위축 경감 효과가 입증된 방법이다.

3) Vehicle 투여

Vehicle군에게 Ethanol 5 mL와 MCT oil 45 mL를 1:9의 비율로 혼합한 용액을 0.34 mmol/kg의 용량으로 1회/일, 14일간 복강내주사하였다.

4. 측정 방법

1) 통증 역치 검사

좌측 제 5요수신경 손상 후 통증반응 유발 여부는 통증 행동 검사(Chaplan, Bach, Pogrel, Chung, & Yaksh, 1994)를 통하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14일에 검사하였다. 쥐를 금속철망(망

간격, 0.5×0.5 cm) 위쪽에 올리고 투명한 아크릴상자(8×8×24 cm)로 덮은 뒤, 환경 변화에 따르는 스트레스를 피하도록 30분 동안 적응시킨 후 von Frey 필라멘트(압력 범주 0.41–15.1 g)가 부착된 자극기를 이용하여 철망 사이로 필라멘트를 환측 발바닥에 가해주면서 발의 통증 회피반응이 나타나는 무게를 기록하였다. 회피반응을 일으키는 최저 강도를 회피반응 역치(paw withdrawal threshold, PWT)라고 정의하며 회피반응 역치는 상하 검증법(up-down testing paradigm) (Dixon, 1980)으로 측정하였다.

2) 활동 측정

두 사람의 관찰자가 매일 오전 10시에 철망 사육상자 속의 음식과 물을 제거한 후 5분간 별다른 자극을 가하지 않고 쥐가 보여주는 활동을 각각 독립적으로 관찰하여 활동성(activity)은 1점, 몸치장활동(grooming)은 2점, 비활동성(inactivity)은 3점을 부여하여 5분간 관찰한 점수를 종합하였다(Kim, 2005).

관찰하는 기간 동안 쥐가 왕성하게 움직이며, 쥐장을 물어뜯던가, 계속적인 이행행동을 한다던가, 또는 앞발을 들고 일어서는 행동을 주로 할 때는 활동성으로 판정하였고, 털을 핥는다던가(licking), 세수한다던가(washing), 또는 긁적거리는(scratching) 행동을 주로 할 때는 몸치장활동으로 판정하였으며, 한 곳에 가만히 앉아 있다든지 잠자는 듯한 모습을 주로 보일 때는 비활동성으로 판정하였다. 두 명의 관찰자가 15초마다 쥐의 행동을 20번 관찰하여 5분간 점수를 기록용지에 기록하였다. 두 관찰자 중 경험이 많은 측정자의 활동점수를 이용하여 14일간의 총점을 구하고 평균을 산출하였다. 두 관찰자 간의 신뢰도(inter-rater reliability)는 Cohen's kappa .92로 나타났다.

3) 사료 섭취량 측정

체중측정 후 전날 제공한 사료무게와 섭취하고 남은 사료무게를 측정하고, 제공한 사료무게에서 섭취하고 남은 사료무게를 빼서 일일 식이섭취량을 산출하였다.

4) 체중 측정

쥐의 체중은 매일 활동측정 후에 rat digital balance (Daejong Instrument Co., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다.

5) 근육 절제 및 무게 측정

실험 마지막 날에 pentobarbital sodium을 50–70 mg/kg의 용량으로 복강내주사로 투여하여 마취시킨 후, 환측인 좌측 뒷다리와 정상측인 우측 뒷다리에서 가자미근, 족척근 및 비복

근을 절제하여 microbalance (Mettler PE160, Columbus, OH, USA)에서 무게를 측정하였다.

6) Type I, II 근섬유의 횡단면적 측정

Choe 등(2004)의 연구에서 제시된 방법에 따라 근섬유 형태를 Type I과 Type II로 구분하기 위해 myosin-ATPase (adenosinotriphosphatase) 조직화학법을 실시하였다. 이 근육 표본을 광학현미경(BH-2, Olympus, Tokyo, Japan)으로 보아 어둡게 보이는 근섬유는 Type I, 밝게 보이는 근섬유는 Type II로 분류하였다. 근섬유의 단면적은 microscopic image analyzer (LECO 2001 Image Analysis System)를 이용하여 100 배의 배율하에 최소한 50개의 근섬유를 측정하여 Type I, II 근섬유의 유형별 횡단면적을 산출하였다.

5. 자료 수집 방법

연구 기간은 2008년 1월부터 12월까지였으며, 실험에 이용된 쥐들은 동물실에 반입된 후 7일간 실험실 환경에 적응하는 기간을 두었다. 실험기간 중 매일 체중과 사료섭취량을 측정하였고, 실험 15일째에 체중을 측정한 후 근육을 절제하였다. 동물실에서 쥐실험기간은 15일이었으나 절제된 각 근육을 액화 질소로 냉동처리한 후 근섬유 염색을 시행하고 Type I, II 근섬유로 분류하여 횡단면적을 측정한 후 자료 분석하는 과정에 11개월이 소요되었다.

6. 자료 분석 방법

SPSS 14.0 프로그램을 이용하여 각 군의 실험시작 시와 근육절제 직전의 체중, 사료섭취량, 근육무게, 근섬유 횡단면적

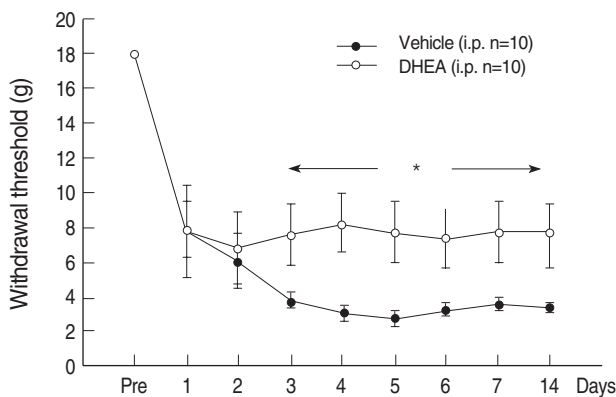


Figure 1. Time course of changes in withdrawal threshold. **p*<.05; Pre=pre-op.

은 평균과 표준편차로 나타내었고 두 군 간의 차이는 t-test를 이용하여 분석하였다. 모든 통계적 유의 수준은 *p*<.05에서 채택하였다.

연구 결과

1. 통증 역치

Figure 1에 나타난 통증역치 검사결과, 실험 3일째 날부터 신경병증성 통증유발 후 DHEA를 투여한 쥐에서 통증역치가 유의하게 높은 것으로 나타난 반면 신경병증성 통증유발 후 Vehicle을 투여한 쥐에서 통증역치가 낮게 나타났다.

2. 체중

Vehicle군과 DHEA군의 실험 시작 시 체중(preweight)과 근육절제 직전의 체중(postweight)은 Table 1에서 보는 바와 같이, 실험 시작 시의 체중은 두 군 간에 유의한 차이가 없었다. DHEA군과 Vehicle군의 근육절제 직전 체중도 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

3. 총 사료섭취량

두 군의 총 사료섭취량은 Table 1에 제시된 바와 같다.

DHEA군과 Vehicle군의 총 사료섭취량은 각각 232.52±16.05 g, 243.87±24.70 g으로 두 군 간의 차이가 유의하지 않은 것으로 나타났다.

4. 활동량

14일간의 총 활동점수는 DHEA군은 44.71±3.61 (Mean 3.19 ±0.25), Vehicle군의 경우 47.01±5.60 (Mean 3.35±0.40)로 나타났으며 두 군 간에 유의한 차이가 없었다(Table 2).

Table 1. Body Weight and Total Diet Intake of DHEA and Vehicle Rats

Group	Preweight (g)	Postweight (g)	Total diet intake (g)
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
DHEA (n=10)	232.81 ± 4.13	276.15 ± 13.35	232.52 ± 16.05
Vehicle (n=10)	233.21 ± 3.47	275.27 ± 13.55	243.87 ± 24.70
t(<i>p</i>)	0.334 (.740)	0.213 (.832)	1.809 (.078)

DHEA=dehydroepiandrosterone; n=number of animals.

5. 근육무게

두 군의 근육 무게를 비교한 결과가 Table 3에 제시되어 있다. 14일간의 DHEA 투여 효과를 확인하기 위해 DHEA군과 Vehicle군의 근육무게를 비교한 결과, DHEA군의 정상측 족척근 무게 308.40 ± 25.98 mg은 Vehicle군의 290.34 ± 22.17 mg에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났으며($t=2.459, p=.018$), 그 외의 근육은 두 군 간에 유의한 차이가 없었다.

DHEA군의 좌우 근육무게를 비교한 결과, 정상측 가자미근 근육무게 129.04 ± 12.56 mg은 환측 가자미근 근육무게 71.78 ± 27.02 mg에 비해 유의하게 컸다($t=7.977, p=.001$). 정상측 족척근 근육무게 308.40 ± 25.98 mg은 환측 족척근 근육무게 223.73 ± 67.32 mg에 비해 유의하게 컸고($t=4.491, p=.001$), 정상측 비복근 근육무게 $1,510.91 \pm 118.72$ mg은 환측 비복근 근육무게 893.21 ± 251.73 mg에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났다($t=9.543, p=.001$).

Vehicle군의 좌우 근육무게를 비교한 결과, 정상측 가자미근 근육무게 134.20 ± 13.13 mg이 환측 가자미근 근육무게 67.76 ± 23.87 mg에 비해 유의하게 컸다($t=11.717, p=.001$). 정상측 족척근 근육무게 290.34 ± 22.17 mg은 환측 족척근 근육무게 232.50 ± 65.22 mg에 비해 유의하게 컸으며($t=4.956, p=.001$), 정상측 비복근 근육무게 $1,571.80 \pm 118.05$ mg도 환측 비복근 근육무게 934.20 ± 234.24 mg에 비해 유의하게 큰 것으로 나

타났다($t=11.741, p=.001$).

6. Type I, II 근섬유 횡단면적

Figure 2에 두 군의 정상측과 환측 가자미근, 족척근 및 비복근의 횡단면적이 두 군의 근섬유 횡단면적은 Table 4에서 보는 바와 같다. DHEA군과 Vehicle군의 정상측 비복근 Type II 근섬유 횡단면적을 비교한 결과, DHEA군의 $9,791.2 \pm 1,576.9 \mu\text{m}^2$

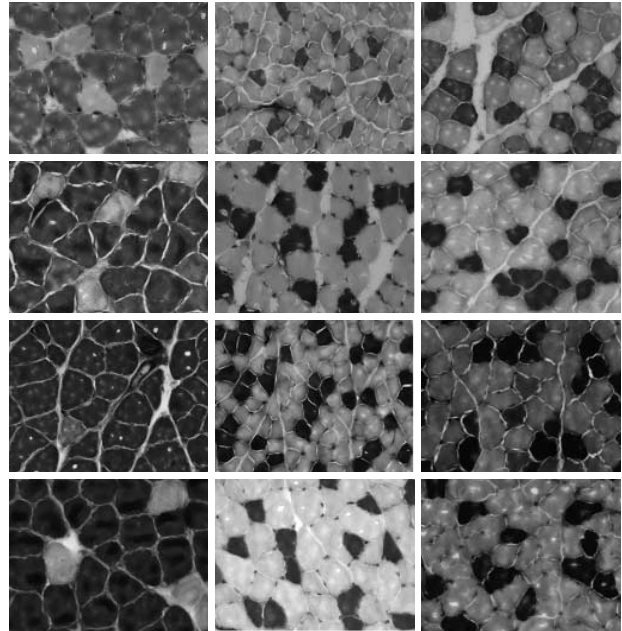


Figure 2. Cross-section of the hindlimb muscles in DHEA and vehicle rats. The first line is affected soleus (left), plantaris (middle) and gastrocnemius muscle (right) in DHEA rats. The second line is unaffected soleus (left), plantaris (middle) and gastrocnemius muscle (right) in DHEA rats. The third line is affected soleus (left), plantaris (middle) and gastrocnemius muscle (right) in Vehicle rats. The fourth line is unaffected soleus (left), plantaris (middle) and gastrocnemius muscle (right) in Vehicle rats. Dark=Type I muscle fiber, light=Type II muscle fiber (Myosin ATPase staining, 100x).

Table 2. Total Activity Score of DHEA and Vehicle Rats

Group	Total activity score	
	Mean \pm SD	
DHEA (n=10)	44.71 \pm 3.61	
Vehicle (n=10)	47.01 \pm 5.60	
t (p)	1.064 (.301)	

DHEA=dehydroepiandrosterone; n=number of animals.

Table 3. Muscle Weight of DHEA and Vehicle Rats

Group	Soleus (mg)			Plantaris (mg)			Gastrocnemius (mg)		
	Left	Right	t (p)	Left	Right	t (p)	Left	Right	t (p)
	Mean \pm SD			Mean \pm SD			Mean \pm SD		
DHEA (n=10)	71.78 \pm 27.02	129.04 \pm 12.56	7.977 (.001)	223.73 \pm 67.32	308.40 \pm 25.98	4.491 (.001)	893.21 \pm 251.73	1,510.91 \pm 118.72	9.543 (.001)
Vehicle (n=10)	67.75 \pm 23.87	134.2 \pm 13.13	11.717 (.001)	232.50 \pm 65.22	290.34 \pm 22.17	4.956 (.001)	934.20 \pm 234.24	1,571.80 \pm 118.05	11.741 (.001)
t (p)	0.515 (.609)	1.314 (.196)		0.432 (.668)	2.459 (.018)		0.550 (.585)	1.682 (.100)	

DHEA=dehydroepiandrosterone; n=number of animals.

Table 4. Cross-Sectional Area of the Hindlimb Muscles in DHEA and Vehicle Rats

			DHEA (n=10)	Vehicle (n=10)	t (p)
			Mean ± SD	Mean ± SD	
Soleus (μm^2)	Type I	Left	2,973.8 ± 1,993.8	2,435.3 ± 1,293.7	0.629 (.540)
		Right	4,970.9 ± 1,269.6	5,024.6 ± 1,472.8	0.071 (.944)
		t (p)	1.686 (.153)	3.193 (.015)	
	Type II	Left	2,904.9 ± 1,268.6	2,397.1 ± 1,457.2	0.714 (.488)
		Right	6,036.2 ± 1,584.0	4,257.5 ± 2,123.1	1.718 (.111)
		t (p)	4.835 (.005)	1.703 (.132)	
Plantaris (μm^2)	Type I	Left	2,726.8 ± 1,083.8	3,247.0 ± 488.4	1.227 (.241)
		Right	3,078.2 ± 571.2	3,715.9 ± 973.4	1.516 (.154)
		t (p)	0.781 (.465)	1.538 (.168)	
	Type II	Left	2,901.9 ± 1,853.9	3,481.3 ± 737.0	0.817 (.429)
		Right	4,915.6 ± 1,159.6	4,456.7 ± 953.2	0.842 (.415)
		t (p)	2.725 (.034)	2.353 (.051)	
Gastrocnemius (μm^2)	Type I	Left	5,997.1 ± 2,502.4	4,903.6 ± 1,093.5	1.124 (.281)
		Right	7,052.0 ± 1,005.9	7,315.0 ± 1,494.5	0.393 (.700)
		t (p)	1.117 (.307)	3.684 (.008)	
	Type II	Left	6,913.1 ± 2,794.8	5,760.5 ± 1,766.1	0.969 (.350)
		Right	9,791.2 ± 1,576.9	7,579.2 ± 1,063.2	3.225 (.007)
		t (p)	2.211 (.069)	2.006 (.085)	

DHEA=dehydroepiandrosterone; n=number of animals.

은 Vehicle군의 7,579.2 ± 1,063.2 μm^2 에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났다($t=3.225$, $p=.007$). 그 외의 근육에서는 Type I, II 근섬유 횡단면적의 차이가 두 군 간에 유의하지 않았다.

DHEA군의 좌우 근섬유 횡단면적을 근육별로 비교한 결과, 가자미근의 Type I 근섬유 횡단면적은 환측과 정상측 간에 유의한 차이가 없었으나, 정상측 Type II 근섬유 횡단면적 6,036.2 ± 1,584.0 μm^2 은 환측 Type II 근섬유 횡단면적 2,904.9 ± 1,268.6 μm^2 에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났다($t=4.835$, $p=.005$). 족척근의 Type I 근섬유 횡단면적은 환측과 정상측 간에 유의한 차이가 없었으나, 정상측 Type II 근섬유 횡단면적 4,915.6 ± 1,159.6 μm^2 은 환측 Type II 근섬유 횡단면적 2,901.9 ± 1,853.9 μm^2 에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났다($t=2.725$, $p=.034$). 비복근의 경우에는 Type I, II 근섬유 횡단면적에서 환측과 정상측 간에 유의한 차이가 나타나지 않았다.

Vehicle군의 좌우 근섬유 횡단면적을 근육별로 비교한 결과, 가자미근의 정상측 Type I 근섬유 횡단면적 5,024.6 ± 1,472.8 μm^2 이 환측 Type I 근섬유 횡단면적 2,435.3 ± 1,293.7 μm^2 에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났으나($t=3.193$, $p=.015$), 가자미근의 Type II 근섬유 횡단면적은 환측과 정상측 간에 유의한 차이가 없었다. 족척근은 환측과 정상측 간 Type I, II 근섬유 횡단면적에 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 비복근의 경우에는 정상측 Type I 근섬유 횡단면적 7,315.0 ± 1,494.5 μm^2 은 환측 Type I 근섬유 횡단면적 4,903.6 ± 1,093.5 μm^2 에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났으나($t=3.684$, $p=.008$), 비복근

의 Type II 근섬유 횡단면적은 환측과 정상측 간에 유의한 차이가 없었다.

논 의

본 연구 결과, DHEA군은 Vehicle군에 비해 정상측 족척근 근육무게, 정상측 비복근 Type II 근섬유 횡단면적이 유의하게 큰 것으로 나타났다. 이는 14일간의 DHEA 투여로 정상측에서 Type II 근섬유로 주로 구성된 족척근과 비복근에 근육 합성 효과가 있었음을 제시한다. 이러한 결과는 DHEA 투여가 근육단백질 합성 효과가 있으며 그 중에서도 특히 Type II 근섬유에 유의한 효과가 있었다는 선행연구 결과(An & Choe, 2002; Brown et al., 1999)와 일치한다. DHEA는 부신에서 분비되는 호르몬 중 가장 많이 형성되는 스테로이드 호르몬으로서 IGF-I (Insulin-like growth factor-I)의 활성을 자극하여 근육 단백질 합성을 증진시키거나, 테스토스테론으로의 전환을 통해 근육 단백질 동화작용을 한다.

그러나 환측인 좌측 뒷다리근은 DHEA군과 Vehicle 간에 유의한 차이가 나타나지 않았다. 환측은 직접적인 신경손상의 영향을 받은 부분이기 때문에 정상측보다 근육무게가 현저히 감소되어 있는 부분으로 DHEA 투여가 신경손상을 직접적으로 받은 쪽에 영향을 주지 않은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 DHEA가 신경보호 작용이 강하다는 여러 선행연구결과(Gudmez et al., 2002; Wojtal, Trojnar, & Czuczwar, 2006)와

일치하지 않는 결과이다. DHEA는 신경세포 손상 후 칼슘이온의 세포 내 유입을 막아주어 미토콘드리아의 기능을 보호함으로써 신경세포 손상을 억제한다는 보고(Kaasik, Safiulina, Kalda, & Zharkovsky, 2003)를 토대로, 본 연구에서 신경손상된 환측에 DHEA가 영향을 주었으리라 생각할 수 있으나 유의한 결과가 나타나지 않았다. 따라서 DHEA 투여기간이나 용량을 증가시켜 추가 연구를 수행할 필요가 있다고 생각한다.

DHEA군과 Vehicle군에서 가자미근, 족척근, 비복근 근육 무게가 환측에 정상측에 비해 유의하게 감소된 것으로 나타난 결과는 본 연구에서 사용된 신경병증성 통증 모델이 좌측 제5요수 신경을 손상시켰기 때문에 동측성 신경손상으로 동측 근위축이 현저히 발생했음을 보여준다. 좌골신경을 형성하는 제5요수 신경 손상은 뒷다리근에 부분 탈신경(partial denervation)을 유발한다(Chapman, Suzuki, & Dickenson, 1998). 가자미근, 비복근 및 족척근은 족저근(plantar flexor muscle)으로 좌골신경에서 분지한 경골신경(tibial nerve)의 지배를 받으므로 좌측 제5요수신경 손상에 의해 영향을 받은 것으로 생각된다. 즉, 말초신경 손상에 의한 신경병증성 통증으로 근위축까지 초래되었음을 제시한다.

본 연구의 DHEA군과 Vehicle군은 Choe 등(2008)의 연구에서 규명된 것처럼 환측 근육은 신경손상의 영향을 직접적으로 받았으며 정상측 근육인 경우 신경손상보다는 통증으로 인한 활동감소와 영양섭취 저하로 초래된 근위축이 발생한다는 사실을 규명하 바 있다. 따라서 본 연구에서 DHEA 투여가 정상측 근육에 효과적인 것으로 나타난 결과는 직접 말초신경 손상을 받은 근육보다는 간접적인 영향을 받은 근육에 DHEA 투여가 효과가 있음을 유추할 수 있다.

이는 좌골신경 손상 후 척수에서 생산되는 DHEA 농도가 저하되며 이러한 DHEA는 체성감각 전달을 통합하여 통증 조절의 작용을 한다는 Mensah-Nyagan 등(2008)의 최신 연구결과를 근거로 볼 때, 본 연구에서 투여된 DHEA는 제5요수신경 손상으로 인한 신경병증성 통증을 경감시키는 진통 작용을 하였으며 본 연구에서 DHEA군의 통증역치가 Vehicle군에 비해 유의하게 상승된 것으로 생각할 수 있다. DHEA가 신경병증성 통증 역치를 증가시킨다는 결과는 일반적으로 신경병증성 통증이 진통제로 잘 조절되지 않는다고 알려져 있기 때문에(Kibaly et al., 2008) 향후 더욱 활발한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 그러나 통증이 감소되면 활동량이 증가하고 사료섭취량도 증가할 것으로 가정하였으나 본 연구 결과, 총 활동량과 총 사료섭취량이 두 군 간에 차이가 없어 DHEA군에서 통증 감소로 인한 활동이나 섭취량 증가가 나타나지 않았다.

DHEA군과 Vehicle군 간에 체중의 차이와 총 사료섭취량이 유의한 차이가 없는 것으로 나타난 결과는, 본 연구에서 두 군 모두 신경병증성 통증이 유발된 쥐이기 때문에 Choe 등(2008)의 연구에서 규명되었듯이 통증이 식욕부진을 유발하고(Morley & Kraenzle, 1994), 식욕상실을 초래하여(Long & Greco, 2000) 영양섭취를 저하시키므로 본 연구에서 14일간 평균 총 사료섭취량이 Vehicle군 243.87 g, DHEA 232.52 g으로 나타나 Choe 등(2008)의 연구에서 나타난 대조군의 7일간 총 사료섭취량 152.4 g에 비해 사료섭취량이 적음을 알 수 있다. 선행연구(An & Choe, 2002; Brown et al., 1999)에 의하면 DHEA는 식욕에 영향을 주지 않거나 혹은 저하시키는 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서도 DHEA군은 식욕에 변화가 없었기 때문에 Vehicle군과 비슷한 사료섭취량을 보였다고 생각한다.

또한 활동량에서도 DHEA군과 Vehicle군 간에 유의한 차이가 나타나지 않았다. 이는 Choe 등(2008)의 말초신경 손상 모델에서 나타난 바와 같이 본 연구에서 두 군 모두 말초신경 손상에 의한 신경병증성 통증 모델이기 때문에 신경손상 후 통증으로 활동량이 감소된 것으로 볼 수 있다. 그러나 본 연구에서 DHEA군의 통증 역치가 높아져서 통증 정도가 경감되면 활동량이 증가할 것으로 생각되나 실제 활동량은 증가하지 않았다. 이러한 상황은 DHEA군의 통증 정도가 호전되었더라도 다시 활동을 활발히 할 수 있을 때까지 기간이 많이 필요한 것으로 유추할 수 있다. 따라서 본 연구에서 DHEA군이 통증 역치가 높아져 통증이 경감됨으로써 활동량이 증가되는지와 근위축 경감과의 관계는 좀 더 연구 기간을 연장하여 연구해볼 필요가 있다고 생각한다.

신경손상으로 인한 신경병증성 통증에서 통증 과민성을 유발하는 원인으로 신경 손상에 따른 다양한 염증성 매개물질 증가가 주목되고 있다(Taiwo & Levine, 1990). 이러한 염증성 매개물질은 prostaglandin을 비롯하여 bradykinin, serotonin, interleukin 등이 언급되고 있다. 탈신경(denervation)된 가자미근에서 prostaglandin E2의 농도가 319% 증가하고 단백질 합성률은 변화가 없었지만 단백질 분해율은 증가되어 근위축이 유발되었으며(Turinsky, 1986), 통증으로 인해 근육 횡단면적이 10% 감소하고 근육 소모가 일어나며 특히 Type II 근세포의 위축이 두드러지고(Demoulin, Crielaard, & Vanderthommen, 2007) COX-2 pathway가 근섬유 성장을 조절한다는(Bon-desen, Mills, & Pavlath, 2006) 사실을 토대로 볼 때, 통증 유발물질인 prostaglandin 증가로 근육단백질 분해가 증가될 수 있음을 알 수 있다. 본 연구에서 prostaglandin 농도를 측정하지 않았지만 본 연구모델인 신경병증성 통증 유발 쥐에서 통증

유발물질인 prostaglandin이 증가되어 있다는 Taiwo와 Levine (1990)의 보고에 의해 본 연구에서도 prostaglandin이 증가되어 있으리라 예측할 수 있으므로 본 연구결과에서 통증 감소로 근섬유 성장 억제가 호전되었으리라 생각한다. 하지만 통증 유발물질인 prostadlandin이 단백질 분해를 촉진시킨다고 볼 수 있으나, 단백질 분해에 영향을 주는 prostadlandin의 작용에 대해서는 아직 논란이 많으므로(Hasselgren, Zamir, James, & Fischer, 1990) 이 부분은 좀 더 많은 지속적인 연구가 필요하기 때문에 본 연구 결과 해석에 신중을 기해야 할 것으로 생각한다.

O'Leary와 Hood (2008)는 신경지배 손상이 일어나면 세포의 cytochrome-C oxidase의 활동이 감소되어 미토콘드리아가 감소하며, 항산화단백인 MnSOD가 저하되기 때문에 골격근의 세포자멸사 감수성(apoptotic susceptibility)이 증가된다고 주장하였다. 즉 신경 손상이 발생되면 해당 골격근의 세포자멸사가 발생할 위험이 높아진다. 최근 연구에 의하면 DHEA가 항세포자멸효과(anti-apoptotic effect)가 있음을 보고한 바 있다(Charalampopoulos, Margioris, & Gravanis, 2008). DHEA는 세포 내 cAMP를 증가시키고 인산화 과정을 활성화시키며 세포자멸사를 막는 작용을 한다는 것이다. 본 연구에서 말초신경 손상 후 유발된 근위축을 DHEA 투여로 경감시킨 기전은 세포 수준의 in vitro 실험을 수행하지 않아 과학적으로 기전을 규명할 수 없었지만 최신 연구 결과를 토대로 생각해볼 때 DHEA의 새로 밝혀진 항세포자멸사작용도 영향을 주었을 것이라 생각한다.

즉 DHEA는 여러 가지의 신호전달체계를 이용하는 neurosteroid로 통증을 경감시키고 항세포자멸사 작용을 촉진하여 근육단백질 합성에 영향을 준 것으로 가정할 수 있으나, 향후 세포 수준에서의 후속 연구가 이루어져야 본 연구 결과에서 나타난 생체 연구기전을 과학적으로 설명할 수 있을 것으로 본다.

또한 신경손상의 영향을 받은 환측의 근위축을 경감시키기 위한 후속연구가 이루어져야 할 것이다. Trifiletti (1992)는 산화질소합성효소 억제제(NO synthetase inhibitor)가 신경보호 효과가 있음을 보고하였고 이 산화질소합성효소 억제제는 유해자극뿐 아니라 비유해자극에 대한 항진된 반응을 억제한다고 알려져 있다(Leem et al., 2000). 따라서 이러한 결과에 비추어 말초신경병증 모델 쥐에 산화질소합성효소 억제제를 투여하여 말초신경 손상을 줄이고 통증을 줄여 활동을 증가시키며 식이섭취를 증가시켜 근위축이 경감될 수 있을 것으로 가정할 수 있으므로 산화질소합성효소 억제제를 투여하는 추후 연구가 필요함을 제안한다.

본 연구 결과는 신경병증성 통증으로 유발되는 근위축을 예방할 수 있음을 제시하고 있으므로 만성적인 신경병증성 통증으로 근위축이 유발되어 일상생활 활동에 제한을 받는 대상자들에게 DHEA를 투여하여 근위축을 예방함으로써 신체적 기능을 증진시킬 수 있을 것이다.

결론

14일간의 DHEA 투여가 일측성 말초신경 손상에 의해 유발된 신경병증성 통증으로 인한 환측 근위축에는 영향을 주지 못하였으나 정상측에서 족척근 근육무게와 비복근 Type II 횡단면적을 증가시켜 정상측 족척근과 비복근의 근위축을 경감시킬 수 있음을 제시하였다.

산화질소합성효소 억제제를 투여하여 말초신경 손상을 줄이고 통증을 줄여 환측 근위축의 경감 효과가 있는가를 규명하는 추후연구를 제안한다.

REFERENCES

- An, G. J., & Choe, M. A. (2002). Effect of DHEA on type I and II muscles in a focal cerebral ischemia model rat. *Journal of Korean Biological Nursing Science*, 4(2), 19-42.
- Backonja, M. M. (2003). Defining neuropathic pain. *Anesthesia & Analgesia*, 97, 785-790.
- Bondesen, B. A., Mills, S. T., & Pavlath, G. K. (2006). The COX-2 pathway regulates growth of atrophied muscle via multiple mechanisms. *American Journal of Physiology & Cell Physiology*, 290, C1651-C1659.
- Brown, G. A., Vukovich, M. D., Sharp, R. L., Reifnath, T. A., Parsons, K. A., & King, D. S. (1999). Effect of oral DHEA on serum testosterone and adaptations to resistance training in young men. *Journal of Applied Physiology*, 87, 2274-2283.
- Chaplan, S. R., Bach, F. W., Pogrel, J. W., Chung, J. M., & Yaksh, T. L. (1994). Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *Journal of Neuroscience Methods*, 53, 55-63.
- Chapman, V., Suzuki, R., & Dickenson, A. H. (1998). Electrophysiological characterization of spinal neuronal response properties in anesthetized rats after ligation of spinal nerves L5-L6. *Journal of Physiology*, 507(Pt 3), 881-894.
- Charalampopoulos, I., Margioris, A. N., & Gravanis, A. (2008). Neurosteroid dehydroepiandrosterone exerts anti-apoptotic effects by membrane-mediated, integrated genomic and non-genomic pro-survival signaling pathways. *Journal of Neurochemistry*, 107, 1457-1469.
- Choe, M. A., An, G. J., Lee, Y. K., Im, J. H., Choi-Kwon, S., & Heitkemper, M. (2004). Effect of inactivity and undernutrition after

- acute ischemic stroke in a rat hindlimb muscle model. *Nursing Research*, 53, 283-292.
- Choe, M. A., Kim, K. H., An, G. J., Lee, K. S., & Choi, J. A. (2008). Hindlimb muscle atrophy of rat induced by neuropathic pain. *Journal of Korean Biological Nursing Science*, 10, 88-95.
- Demoulin, C., Crielaard, J., & Vanderthommen, M. (2007). Spinal muscle evaluation in healthy individuals and low-back-pain patients: A literature review. *Joint Bone Spine*, 74, 9-13.
- Dixon, W. J. (1980). Efficient analysis of experimental observations. *Annual Review of Pharmacology & Toxicology*, 22, 441-462.
- Gudemez, E., Ozer, K., Cunningham, B., Sieminow, K., Browne, E., & Siemionow, M. (2002). Dehydroepiandrosterone as an enhancer of functional recovery following crush injury to rat sciatic nerve. *Microsurgery*, 22, 234-241.
- Hasselgren, P. O., Zamir, O., James, J. H., & Fischer, J. E. (1990). Prostaglandin E2 does not regulate total or myofibrillar protein breakdown in incubated skeletal muscle from normal or septic rats. *Biochemistry Journal*, 270, 45-50.
- Kaasik, A., Safiulina, D., Kalda, A., & Zharkovsky, A. (2003). Dehydroepiandrosterone with other neurosteroids preserve neuronal mitochondria from calcium overload. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 87, 97-103.
- Kibaly, C., Meyer, L., Patte-Mensah, C., & Mensah-Nyagan, A. G. (2008). Biochemical and functional evidence for the control of pain mechanism by dehydroepiandrosterone endogenously synthesized in the spinal cord. *The FASEB Journal*, 22, 93-104.
- Kim, J. Y. (2005). *Effects of short-term undernutrition on type I and II muscles in rat*. Unpublished master's thesis, Seoul National University, Seoul.
- Kim, S. H., & Chung, J. M. (1992). An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 50, 355-363.
- Lee, E. O., & Choe, M. A. (1996). *Pain-theory and intervention*. Seoul: Sin-kwang Publishing Company.
- Leem, J. W., Gwak, Y. S., Chung, S. S., Lee, K. R., Yoon, D. M., & Nam, D. S. (2000). Effects of NO Synthase inhibitor on responsiveness of dorsal horn neurons in neuropathic pain animal model. *Journal of the Korean Pain Society*, 13, 19-30.
- Long, J. P., & Greco, S. C. (2000). The effect of propofol administered intravenously on appetite stimulation in dogs. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, 39(6), 43-46.
- Luciano, C. A., Pardo, C. A., & McArthur, J. C. (2003). Recent developments in the HIV neuropathies. *Current Opinion of Neurology*, 16, 403-409.
- Mensah-Nyagan, A. G., Kibaly, C., Schaeffer, V., Venard, L., Meyer, L., & Patte-Mensah, C. (2008). Endogenous steroid production in the spinal cord and potential involvement in neuropathic pain modulation. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 109, 286-293.
- Morley, J. E., & Kraenzle, D. (1994). Causes of weight loss in a community nursing home. *Journal of American Geriatric Society*, 42, 583-585.
- O'Leary, M. F., & Hood, D. A. (2008). Effect of prior chronic contractile activity on mitochondrial function and apoptotic protein expression in denervated muscle. *Journal of Applied Physiology*, 105, 114-120.
- Sato, J., & Perl, E. R. (1991). Adrenergic excitation of cutaneous pain receptors induced by peripheral nerve injury. *Science*, 25, 1608-1610.
- Schmader, K. E. (2002). Epidemiology and impact on quality of life of postherpetic neuralgia and painful diabetic neuropathy. *Clinical Journal of Pain*, 18, 350-354.
- Taiwo, Y. O., & Levine, J. D. (1990). Effects of cyclooxygenase products of arachidonic acid metabolism on cutaneous nociceptive threshold in the rat. *Brain Research*, 537, 372-374.
- Trifiletti, R. R. (1992). Neuroprotective effects of NG-nitro-L-arginine in focal stroke in the 7-day old rat. *European Journal of Pharmacology*, 218, 197-198.
- Turinsky, J. (1986). Phospholipids, prostaglandin E2, and proteolysis in denervated muscle. *American Journal of Physiology*, 251, 165-173.
- Vielhaber, A., & Portenoy, R. K. (2002). Advances in cancer pain management. *Hematology Oncology Clinics of North America*, 16, 527-541.
- Wojtal, K., Trojnar, M. K., & Czuczwar, S. J. (2006). Endogenous neuroprotective factors: Neurosteroids. *Pharmacological Reports*, 58, 335-340.
- Ziegler, D., Gries, F. A., Spuler, M., & Lessmann, F. (1992). Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy multicenter study group. The epidemiology of diabetic neuropathy. *Journal of Diabetes Complications*, 6, 48-57.