

---

# 저출력레이저와 전기자극에 의한 골격근 손상 흰쥐의 IL-1 $\beta$ , IGF-1, IGF-2 활성화

## Activation of IL-1 $\beta$ , IGF-1 and IGF-2 in Injured Rat Skeletal Muscle by Low Power He-Ne IR Laser and Electrical Stimulation

---

김종순, 노민희

부산가톨릭대학교 보건과학대학 물리치료학과

Jong-Soon Kim(ptjskim@cup.ac.kr), Min-Hee Rho(mhrho@cup.ac.kr)

---

### 요약

본 연구는 골격근 손상에 대한 물리치료 중재의 치료 효과를 근전도, 초음파 영상 그리고 IL-1 $\beta$ , IGF-1, IGF-2의 변화를 통해 알아보았다. 본 연구를 위해 실험동물을 정상군, 대조군, 레이저치료군, 신경근전기 자극군으로 무작위 배치하였다. 연구의 결과 근전도상 모든 실험동물에서 비정상적인 자발전위는 관찰되지 않았으며 근육의 최대 횡단 직경은 대조군에 비해 레이저치료군과 신경근전기 자극군이 유의하게 증가하였다. IL-1 $\beta$ 의 수준은 대조군에 비해 레이저치료군과 신경근전기 자극군에서 보다 많이 감소하였으며 IGF-1과 IGF-2는 대조군, 레이저치료군 그리고 신경근전기 자극군 모두 정상군에 비해 유의하게 높았으나 대조군과 레이저치료군 그리고 신경근전기 자극군 사이에 유의한 차이는 없었다.

■ 중심어 : | 골격근 손상 | 레이저치료 | 신경근전기 자극 |

### Abstract

In this study we investigated the effects of physical therapeutic intervention through electromyography, ultrasonographic imaging and changes of the IL-1 $\beta$ , IGF-1 and IGF-2 in skeletal muscle of rats injured experimentally. The twenty Sprague-Dawley male rats were randomly divided into the 4 groups: a normal, a control, a low power laser and a neuromuscular electrical stimulation group. Abnormal spontaneous activities had not been shown, both in normal and skeletal muscle injured rats. The maximum diameter of the calf muscle was significantly increased in the low power laser and neuromuscular electrical stimulation groups compared with control group. The level of the serum IL-1 $\beta$  was more decreased in the low power laser and neuromuscular electrical stimulation groups than that of control group. The activation level of the IGF-1 and the IGF-2 were significantly higher in the control, low power laser and neuromuscular electrical stimulation groups than that of normal group. However, there was no statistically significant difference among the control, low power laser and neuromuscular electrical stimulation groups.

■ keyword : | Injured Skeletal Muscle | Low Power Laser | Neuromuscular Electrical Stimulation |

---

\* 본 논문은 2007년도 부산가톨릭대학교 교내연구비에 의하여 연구되었습니다.

접수번호 : #080813-012

접수일자 : 2008년 08월 13일

심사완료일 : 2008년 10월 30일

교신저자 : 김종순, e-mail : ptjskim@cup.ac.kr

## I. 서론

골격근은 환경 내에서의 잠재적 위험에 쉽게 노출이 되고 이로 인해 빈번한 손상을 경험하게 되는데 골격근은 열상(laceration), 염좌(sprain) 그리고 압좌(crush)와 같은 기계적인 외상이나 독성물질에 의한 화학적 외상 그리고 고열로 인한 대사 장애 등을 원인으로 손상과 퇴행을 경험하게 된다. 골격근 손상 이후 초기에 이들 문제를 해결하지 못할 경우 근섬유가 자발적인 재생을 한다고는 하나 그 재생이 불충분하여 충분한 기능적 회복을 이루지는 못하기 때문에 골격근 손상을 당한 환자를 위한 근육 재생 강화를 위한 치료는 중요한 의미를 가지며[1] 이를 위해 임상가들은 골격근 손상의 치료에 여러 가지 치료 방법들을 사용한다.

근골격계 손상의 치료에 흔히 적용되는 물리치료 방법으로는 치료용 초음파, 레이저 치료, 맥동자기장(pulsed magnetic field) 치료, 미세전류(microcurrent) 치료, 냉·온 치료, 경피신경전기자극(transcutaneous electrical neuromuscular stimulation) 치료, 신경근전기자극(neuromuscular electrical stimulation) 치료, 운동치료, 도수치료 등이 있다. 이들 치료방법들 중 신경근전기자극 치료는 정상적인 신경지배를 받는 근육의 치료에 적용하는 비침습적 치료로서 정상근육 뿐 만 아니라 병리적인 원인에 의해 기능이 저하된 근육의 기능을 향상시키기 위해 저주파, 저 진폭의 전류를 사용하여 알파 운동신경을 자극하여 근골격계 손상 후 근육의 수축을 도모하는 치료이다[2]. 신경근전기자극 치료의 효과로는 통증의 해결[3], 부종감소[4], 근력과 근지구력의 증가[5], 근육 비대 및 위축의 방지[6], 근 단백질 감소 예방[7] 그리고 혈관신생 촉진 및 모세 혈관의 증가[8] 등이 보고되고 있다.

레이저치료는 손상된 조직의 재생과 치유 촉진, 통증 경감 등의 효과를 가지는 것으로 알려져 있는데[2] 레이저 조사의 효과 기전을 살펴보면 레이저 조사 후 에너지는 미토콘드리아(mitochondria)와 세포막에 흡수되고 이렇게 흡수된 에너지의 대부분은 ATP에 저장되는데 이후 이 에너지들은 DNA, RNA, 단백질 그리고 세포의 재생과 회복에 관여하는 효소를 합성하는데 사

용되고 이를 통해 통증과 염증을 감소시켜 조직의 회복과 조직들이 정상적인 생리적 처리 과정을 회복하도록 한다[9][10]. 레이저치료에 대한 효과 보고는 골격근 재생[11][12], 말초신경 재생의 촉진[13], 통증 감소[14], 위성 세포(satellite cell)의 증식[15], 상처 치유 촉진[16] 등이 보고되어 오고 있다.

골격근 손상 후 손상이 큰 경우는 대부분 이학적 검사로 진단이 가능하나 외상이 경미한 경우 이학적 검사만으로는 진단이 어려우며, 특히 근육의 손상 정도와 범위의 평가에는 많은 제한이 있으며[17] 치료 후 근육의 회복정도를 판단하기에도 이학적 검사만으로는 충분하지 못하다. 이때 사용되는 방법들이 조직 손상 후 염증의 정도 변화와 조직의 성장과 발달 정도를 나타내는 생화학적 지표들을 분석하는 방법이다.

이러한 생화학적 지표에는 먼저 염증의 정도를 반영하는 혈액 내 면역 단백질 사이토카인(cytokine)을 들 수 있다. 사이토카인은 조직의 염증 반응을 유발하고 유지하는 중요한 인자 가운데 하나로 사이토카인은 림프구, 내피세포와 간엽세포에서 주로 생성된다[18]. 정상 골격근 세포는 소량의 인터루킨-6(interleukin-6; IL-6)과 형질전환성장인자- $\beta$ (Transforming growth factor- $\beta$ ; TGF- $\beta$ )를 분비하며, 인터페론- $\gamma$ (Interferon- $\gamma$ ; IFN- $\gamma$ )나 종양괴사인자- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ ; TNF- $\alpha$ )로 자극하면 훨씬 많은 양의 사이토카인을 분비한다[19]. 조직 손상 후 대식세포 활성화로 분비되는 물질 중 사이토카인 계열의 대표적 물질이 TNF와 IL이다. 여러 IL중 IL-1은 중요한 염증성 사이토카인으로 IL-1 $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 두 개의 작용제(agonist)가 있다. IL-1은 염증이거나 감염이 있을 때 생산되고 IL-1이 과도하게 존재할 경우 여러 기관들에서 감염성 질환이나 자가면역질환이 발생할 수 있다[20]. 근육 손상의 경우, 보다 다양하고 많은 양의 사이토카인이 분비되는데 근육 손상 환자로부터 얻은 근육 조직에는 IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , 그리고 IFN- $\gamma$  등의 사이토카인이 근육에 산재해 있는 염증세포나 혈관의 내피세포, 근육세포 자체에서 발현되거나 분비된다[21][22]. 따라서 이러한 결과는 근육 세포가 염증 반응에 적극적으로 관여하고 있다는 사실

을 의미하며 IL-1 $\beta$ 의 증가는 골격근 손상의 지표가 된다[23].

한편, 골격근 재생의 지표로 많이 사용되는 생화학 요소로는 인슐린유사성장인자(insulin-like growth factor; IGF)가 있다. IGF는 골격근의 재생과정에 중추적인 역할을 하는 것으로 알려져 있는데 IGF는 골격근에서 아미노산(amino acid)과 글루코스(glucose) 섭취와 같은 동화작용 효과를 가지고 있어 단백질의 감소를 막아주는 역할을 하는 것으로 알려져 있다[24]. 따라서 IGF 감소는 근육량 감소로 이어지는데 혈중 IGF의 약 25%를 차지하는 근육 IGF는 성장호르몬(growth hormone), 테스토스테론(testosterone), 인슐린(insulin) 그리고 비타민 D와 같은 호르몬과 근육 운동에 의해 상향조절(up-regulation)되고 스테로이드와 사이토카인에 의해 생성이 저하된다. 다른 성장인자들과는 달리 IGF는 in vivo와 in vitro 실험에서 근육 세포의 뚜렷한 비대를 발생시킨다고 보고되어[25] 근육세포의 증식과 분화를 조절하는 것으로 여겨지고 있는데 IGF는 단계적으로 작용하여 먼저 근모세포(myoblast)를 복제한 다음 이후 근육 분화를 촉진시킨다[26]. 그러므로 근육 조직 내 IGF의 발현 증가는 골격근의 재생을 의미한다.

골격근 손상의 치료를 위해 물리치료 영역에서 레이저치료와 신경근전기자극이 많이 사용되고는 있으나 이들의 효과를 사이토카인이나 IGF와 같은 생화학적 지표의 변화 관점에서 분석한 연구는 매우 부족한 실정이다. 따라서 골격근 손상의 치료 효과를 이들 생화학 요소의 변화 관점에서 분석하는 연구는 의미 있는 연구가 될 것으로 사료된다. 따라서 본 연구의 목적은 레이저치료와 신경근전기자극이 골격근 손상의 회복에 의미 있는 작용을 하는지 여부를 혈청 IL-1 $\beta$  농도 변화와 근육조직 내 IGF-1과 IGF-2의 활성 정도로 분석하고 아울러 근전도 분석과 초음파영상 분석을 통해 알아보려 한다.

## II. 연구방법

### 1. 연구 설계 및 대상

본 연구는 부산 소재 C대학교 동물 실험실에서 체중

이 약 200 $\pm$ 20 g인 7~8주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 20마리를 사용하여 실시하였다. 실험 환경은 온도 22 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C, 습도 50~60%를 유지하고 자동 타이머를 부착하여 1일 12시간의 광주기와 12시간의 암주기를 적용하였으며 물과 사료를 제한 없이 충분히 공급하고 실험 동물은 골격근 손상을 유발하지 않은 정상군(negative control) 5마리, 골격근 손상을 유발 한 후 아무런 치료적 중재도 제공하지 않은 대조군(positive control) 5마리, 저출력 He-Ne IR 레이저 치료를 실시한 레이저치료군 5마리 그리고 전기자극 치료를 실시한 신경근전기자극군 5마리로 무작위 배치하였다.

### 2. 골격근 손상의 유발

골격근 손상의 유발을 위해 본 연구의 저자들은 선행 연구들을 참고하여[27][28] Freund's Complete Adjuvant(FCA)(Sigma, U.S.A.) 용액을 이용하였으며 실험동물 제작을 위해 본 연구에서는 무작위 배치된 흰쥐에게 FCA 용액을 생리식염수에 1:1로 희석하여 오른쪽 후지 하퇴 삼두근에 0.1 ml 1차 피하 주사하였으며 3일 후 다시 오른쪽 후지 발바닥에 0.1 ml를 2차 피하 주사하여 골격근 손상을 유발하였다.

### 3. 레이저 조사

본 연구에서는 골격근 손상의 치료에 He-Ne 레이저를 조사하여 그 효과를 보고한 선행 연구들[29][30]을 근거로 5마리의 레이저치료군에 He-Ne 레이저(파장 632.8 nm, 출력 20 mW (6 J/cm $^2$ ))와 IR(파장 830 Hz, 출력 20 mW $\times$ 4)이 동시에 장착된 저출력 레이저(LASOTRONIC MED 1000, Lasotonic AG, Switzerland)를 이용하여 레이저 조사를 실시하였다. 실험동물은 치료 적용시 움직이지 못하도록 고정 틀에 고정된 후 FCA 주사 부위인 발목 관절에서 슬와부 쪽 1.5 cm 상방 하퇴 삼두근의 근복부에 수직으로 15 cm 거리에서 각각 5분 동안 10일간 매일 점조하였다.

### 4. 신경근전기자극

본 연구에서는 실험적 근육통을 유발한 흰쥐에 전기

자극을 가하여 효과를 보고한 선행 연구[31]를 참고하여 신경근전기자극기(ES-160, ITO, Japan)를 이용, 신경근전기자극을 실시하였다. 신경근전기자극시 실험동물이 움직이지 못하도록 고정 틀에 고정된 후 FCA 주사 부위인 발목 관절에서 슬와부 쪽 1 cm 및 1.5 cm 상방 하퇴 삼두근 근극부에 침 전극을 피하 자입하여 100 Hz, 15  $\mu$ s로 15분 동안 10일간 매일 전기자극하였다.

## 5. 근전도 분석

근전도 검사는 근전도 기기(Keypoint, Dantec, Denmark)를 이용하여 주파수 여파범위는 20 Hz~10 kHz, 지속시간은 5~10 m/div, 민감도는 50  $\mu$ V/div로 조정한다. 다음 물리치료 중재 전·후 골격근 손상 부위의 결절(nodule)이 촉진되는 부위에 길이 25 mm, 직경 0.3 mm의 동심형 침전극을 자입하고 접지전극은 동측 둔부에 부착하여 기록하였다. 검사 중 실험동물의 움직임으로 인한 근전도 전위의 교란을 방지하기 위하여 실험동물 후지의 털을 완전히 제거한 후 실험동물을 고정 틀에 고정하였다. 실험동물의 두부는 차폐 천으로 고정하였고 연구 보조자가 하퇴삼두근을 제외한 나머지 부위를 고정하도록 하여 실험동물의 움직임을 최소화 하였으며 침전극 자입 후 실험동물의 움직임이 없을 때를 기준으로 비정상적인 자발전위(spontaneous activities)를 관찰하였다.

## 6. 초음파 영상의 획득

본 연구에서는 골격근 손상 확인과 물리치료 중재 효과를 알아보기 위하여 초음파 영상을 분석하였다. 초음파 영상 장비(LOGIQ3 EXPERT, GE, U.S.A.)의 7.5 MHz 선상 탐촉자를 사용하여 초음파 영상의 획득을 위해 실험동물 후지의 털을 완전히 제거한 후 실험동물의 후지를 고정 틀에 고정하여 검사 중 움직이지 못하도록 한 후 손상 유무의 육안 관찰과 하퇴삼두근의 크기를 측정하였다.

## 7. IL-1 $\beta$ 의 분석

모든 중재가 끝난 후, 혈청 IL-1 $\beta$ 의 농도를 측정하기

위하여 효소면역측정법(enzyme immunoassay)을 실시하였다. 시약은 Quantikine Murine kit(R&D System, U.S.A.)를 이용하였으며 항 IL-1 $\beta$  항체가 고정된 플레이트의 각 well에 50  $\mu$ l의 측정 희석액을 첨가하고, 50  $\mu$ l의 표준용액과 대조용액 그리고 검체시료를 각각 첨가하였다. 이후 플레이트를 가법계 1분 동안 혼합한 후, 실온에서 2시간 동안 방치한 다음, 각 well의 성분을 제거하고 세척액으로 5번 세척한 후 각 well에 100  $\mu$ l의 IL-1 $\beta$  Conjugate를 가한 다음 2시간 동안 실온에서 다시 방치하였다. 각 well을 다시 씻어낸 다음, 100  $\mu$ l의 기질용액(substrate solution)을 첨가하고 실온에서 30분 동안 방치한 후에 100  $\mu$ l의 정지용액(stop solution)을 첨가한 후, Biotrack II Plate Reader(Amersham Biosciences, U.K.)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 8. IGF 분석을 위한 RNA 분리와 RT-PCR

모든 중재가 끝난 후, 정상군과 대조군 그리고 각 실험군들의 하퇴삼두근을 채취하여, residual genomic DNA를 제거하기 위해 RNase free-DNase I이 처리된 RNeasy kit를 이용하여 전체 RNA를 분리하였다. 전체 RNA(3  $\mu$ g)는 RT-PCR 분석을 위해 200 unit의 Moloney murine leukemia virus-reverse transcriptase, Retrotranscript kit reagents를 이용한 cDNA 합성반응에 사용되었다. 제조회사의 프로토콜에 따라, RNA는 70°C에서 10분 동안 5  $\mu$ l의 oligo(dT) primer와 함께 반응시켰다. 반응이 끝난 즉시 RNA를 얼음으로 옮긴 후, Superscript II mixture를 첨가하고, 20 unit의 RNasin을 넣은 다음, 42°C에서 1시간 동안 합성을 진행하였다. cDNA 2  $\mu$ l와 recombinant Taq polymerase 0.25 unit/sample를 이용하여 50  $\mu$ l의 PCR 혼합물을 만들었으며, 10mM dNTP mixture 1  $\mu$ l/sample를 PCR 반응에 사용하였다. PCR은 IGF-1과 IGF-2 그리고 GAPDH에 대해 실시하였고 각각의 primer 구성과 염기서열, 증폭된 PCR 생성물 크기 그리고 Genebank의 수납번호는 표 1과 같다. IGF-1, IGF-2 그리고 GAPDH에 대한 PCR 조건은 다음과 같다 : 94°C에서 30초 동안 denaturing, 60°C에서 1분간 annealing, 그리

표 1. RT-PCR에 사용된 Sequence-specific primers

유전자	염기서열(5'-3')	Genebank accession No.	증폭된 유전자 길이(bp)
IGF-1	F: CAGTTCGTGTGTGGACCAAG	NM001082479	151
	R: TCAGCGGAGCACAGTACATC		
IGF-2	F: GTCGATGTTGGTGCTTCTCA	NM_031511	195
	R: AAGCAGCACTCTCCACGAT		
GAPDH	F: GTATGACTCCACTCACGGCAAA	BC094037	100
	R: GGTCTCGCTCCTGGAAGATG		

표 2. 물리치료 중재 전후 결절 및 비정상 근전도 자발전위 발현여부(+; 발현, -; 비 발현)

시 기	결절 및 비정상 자발전위	정상군	대조군	레이저치료군	신경근전기자극군
중재 전	결절	+ / + / + / + / +	+ / + / + / + / +	+ / + / + / + / +	+ / + / + / + / +
	비정상 자발전위	- / - / - / - / -	- / - / - / - / -	- / - / - / - / -	- / - / - / - / -
중재 후	결절	- / - / - / - / -	- / - / - / - / -	- / - / - / - / -	- / - / - / - / -
	비정상 자발전위	- / - / - / - / -	- / - / - / - / -	- / - / - / - / -	- / - / - / - / -

고 60°C에서 1분간 extension을 실시하였다. 40 PCR cycles 후에, 모든 표본들을 72°C에서 10분 동안 더 유지하게 하였다. 모든 PCR은 Lightcycler(Px2 Thermal cycler, Thermo, U.S.A.)를 이용하여 실시하였고, 각 PCR product는 1.5% agarose gels를 이용하여 전기영동 분석을 실시하였다. Agarose gels은 ethidium bromide로 염색하여 만든 다음, 자외선 투사기(Gel Documentation System, Bio RAD, U.S.A.)를 이용하여 촬영하였다.

### 9. 자료 처리

연구 과정에서 수집된 자료는 부호화한 후 자료 처리는 유의 수준  $\alpha=0.05$ 로 하여 윈도우용 SPSS version 14.0 통계 패키지 프로그램을 이용하여 분석하였다. 물리치료 중재 후, 정상군과 실험군들 간의 하퇴삼두근 최대 횡단 직경과 IL-1 $\beta$ 의 발현 정도 차이 비교하기 위하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)를 실시하였으며 사후 분석을 위해 Scheff 분석을 실시하였다.

## III. 결과

### 1. 근전도 분석

물리치료 중재 전·후 실험동물의 손상 부위를 손으로 촉진한 결과 정상군을 제외한 실험동물 모두에서 결절이 촉진되었으나 손상 부위에 침전극을 이용하여 근전도 검사를 시행한 결과 정상군, 대조군, 레이저군 그리고 신경근전기자극군 모두 비정상적인 자발전위는 관찰되지 않았으며 물리치료 중재가 끝난 후, 같은 부위를 촉진한 결과 정상군과 실험군들 모두에서 결절은 촉진되지 않았으며 손상 부위에서도 비정상적인 자발전위는 관찰되지 않았다[표 2].

### 2. 초음파 영상 분석

물리치료 중재 후 정상군은 피하의 염증 소견이 없었으며 근육의 최대 횡단 직경은 평균 12.92 $\pm$ 0.67 mm이었으며 대조군의 경우 약간의 피하 염증 소견을 보였으며 근육의 최대 횡단 직경은 9.38 $\pm$ 0.46 mm이었다. 레이저치료군의 경우 물리치료 중재 후 피하의 염증 소견은 없었으며 근육의 최대 횡단 직경은 12.90 $\pm$ 0.44 mm이었으며 신경근전기자극군의 경우도 피하의 염증 소견은 없었으며 근육의 횡단 직경은 10.86 $\pm$ 0.83 mm를 보였다. 이들 그룹간의 차이를 비교한 결과 레이저치료군, 신경근 전기자극군 그리고 대조군의 순으로 유의한 차이를 보였다( $p<0.05$ )[표 3].

표 3. 하퇴삼두근 최대 횡단 직경 (mm)

정상군	대조군	레이저 치료군	신경근 전기자극군	F
12.92±0.67 <sup>a</sup>	9.38±0.46 <sup>b</sup>	12.90±0.44 <sup>a</sup>	10.86±0.83 <sup>c</sup>	37.777 <sup>*</sup>

a, b, c: 유의수준 0.05에서 유의하게 다름  
\* p<0.05

### 3. IL-1β 의 농도

물리치료 중재 후 혈청 IL-1β의 농도는 [표 4]와 같이 정상군과 골격근 손상을 유발한 대조군, 레이저치료군 그리고 신경근전기자극군에서 유의한 차이가 있었으나(p<0.05) 대조군, 레이저치료군 그리고 신경근전기자극군 사이에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 그러나 이들 골격근 손상군들 중 대조군의 IL-1β 농도가 가장 높았으며 레이저치료군과 신경근전기자극군은 비슷한 농도를 보였다.

표 4. 혈청 IL-1β 농도 차이 (pg/ml)

정상군	대조군	레이저 치료군	신경근 전기자극군	F
9.00±11.80 <sup>a</sup>	64.36±15.52 <sup>b</sup>	50.52±25.88 <sup>b</sup>	48.81±5.92 <sup>b</sup>	20.917 <sup>*</sup>

a, b: 유의수준 0.05에서 유의하게 다름  
\* p<0.05

### 4. IGF-1과 IGF-2

물리치료 중재 후 골격근 손상을 유발한 대조군과 레이저치료군에서는 정상군보다 IGF-1과 IGF-2의 발현이 증가하는 것으로 나타났고, 신경근전기자극군 역시 IGF-1의 발현이 정상군보다 증가하는 것으로 나타났지만, IGF-2의 발현은 정상군 보다 감소하는 것으로 나타났다. 레이저치료군의 IGF-1과 IGF-2의 발현은 대조군과 비교하여 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으나, 신경근전기자극군에서는 IGF-1과 IGF-2의 발현이 대조군 보다 감소하는 것으로 나타났으며 레이저치료군에서는 IGF-1과 IGF-2의 발현이 신경근전기자극군보다 증가하는 것으로 나타났다[그림 1].

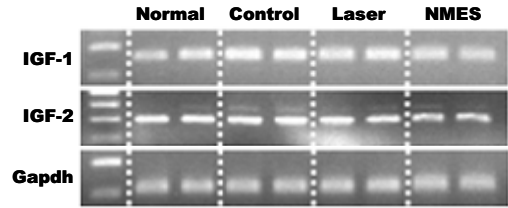


그림 1. IGF-1, IGF-2의 발현(Normal; 정상군, Control; 대조군, Laser; 레이저치료군, NMES; 신경근전기자극군)

## IV. 논의 및 결론

골격근은 인간의 움직임에 필수불가결한 중요 요소로서 골격근의 손상은 그 사용 빈도만큼 다양한 원인으로 인하여 쉽게 손상을 당한다. 물리치료에서는 이러한 골격근의 손상 치유를 위한 다양한 방법들이 제시되어 오고 있는데 크게 수기적인 방법과 도구를 이용한 방법으로 대별 할 수 있다. 도구를 사용하는 물리치료에는 치료용 레이저를 이용한 방법과 전기적 자극을 통한 신경근전기자극이 많이 사용되고 있는 실정이다. 이에 본 연구는 레이저치료와 신경근전기자극을 골격근 손상부위에 적용하여 그 효과를 근전도와 초음파영상을 통한 분석 그리고 생화학 요소의 변화를 통한 분석을 통해 알아보려고 하였다.

본 연구에서 근전도 검사를 시행한 결과 물리치료 중재 전·후 비정상적인 자발전위는 관찰되지 않았는데 비정상적인 자발전위는 신경 이상을 진단하는데 중요한 전기진단학적 지표 중의 하나이다[32]. 따라서 FCA를 통한 손상이 골격근 손상으로 한정되며 신경의 변성은 초래하지 않는 것으로 사료된다.

Hong과 Simons[33]는 단단한 띠(taut band) 내에 있는 과민한(hypersensitive) 촉진 가능한 작은 결절과 같은 골격근의 과민한 점(spot)을 발통점(trigger point)이라고 정의하였는데 본 연구에서 물리치료 중재 전, 정상군을 제외한 실험동물 전체에서 집게촉진(pincer palpation)시 단단한 결절이 촉진되어 발통점의 발생을 의심하였으나 촉진시 국소 연속 반응(local twitch response)은 관찰되지 않았으며 근전도 소견상 비정상

적인 자발 전위도 관찰되지 않아 FCA를 이용한 골격근 손상이 근막통증후군을 유발하지는 않음을 알 수 있었다.

또한 본 연구의 저자들은 초음파 영상을 통해 발통점의 발생 여부를 재확인하였는데 Lewis와 Tehan[34]은 11명의 근막통증후군 환자를 대상으로 초음파를 시행하였는데 이들 중 1명에서 에코(echo)가 증가되어 있는 부분이 있었다고 보고하였으며 Gerwin과 Duranleau[35]는 발통점 부위를 고해상도 초음파를 이용하여 관찰한 결과 수축된 근육섬유 다발에서 저에코가 관찰되었다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 근막통증후군으로 판단할 만한 에코의 변화 양상은 관찰되지 않아 근전도 소견과 같이 근막통증후군은 유발되지 않았음을 확인할 수 있었다.

물리치료 중재 후 정상군과 초음파 영상을 비교한 결과 레이저치료군 0.2%, 신경근전기자극군 15.9% 그리고 대조군 27.4%의 근육 최대 횡단 직경의 감소를 보여 레이저치료군과 신경근전기자극군의 회복 속도가 대조군에 비해 월등하였는데 레이저치료군의 경우 항염증 작용, 부종 감소, 혈관재생, 섬유조직의 형성 감소를 통한 결합조직 세포의 성장자극[36]을 통해 골격근 손상의 회복이 이루어진 것으로 사료되며 이러한 결과는 선행 연구들[30][37]과 일치하였다. 신경근전기자극은 정상 신경 지배를 받는 근육에 전기적 자극을 가하는 방법으로 임상적으로는 근육 위축의 예방과 근력의 증가 및 근육 질환의 치료 시 재활기간을 단축시키는데 사용되고 있는데 본 연구에서 물리치료 중재 후, 신경근전기자극군의 근육 최대 횡단 직경이 대조군에 비해 11.5% 큰 것으로 나타나 선행 연구들[38][39]과 유사한 결과를 보였는데 이러한 결과는 Gibson 등[40]의 제안대로 신경근전기자극이 골격근의 유전자 전사를 증가시키고 단백질 합성 능력을 증가시킨 결과로 사료된다.

IL-1은 중요한 염증성 시토카인으로 IL-1 $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 두 개의 작용제(agonist)가 있는데 IL-1은 염증이거나 감염이 있을 때 생산되고 IL-1이 과도하게 존재할 경우 여러 기관들에서 감염성 질환이나 자가면역질환이 발생할 수 있으며[20] IL-1 $\beta$ 의 증가는 골격근의 손상을 의미한다[23]. 본 연구에서 정상군에 비해 대조군, 레이

저치료군 그리고 신경근 자극군에서 IL-1 $\beta$ 의 유의한 차이가 있었으나 이들 실험군 사이에는 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다. 그러나 대조군에 비해 레이저치료군의 경우 21.50% 그리고 신경근전기자극군의 경우 24.20% IL-1 $\beta$ 가 많이 감소한 것으로 나타나 물리치료중재가 골격근 손상으로 인한 염증을 감소시키는 것으로 사료된다. Yu 등[41]도 레이저를 조사한 섬유아세포와 레이저 조사를 실시하지 않은 섬유아세포의 사이토카인 분비가 유의한 차이를 보였다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 보고하였다. 이러한 결과는 레이저 조사나 전기자극을 실시한 경우 골격근의 기능 회복이 촉진되었다는 선행 연구들[39][41]과 일치하는 결과로서 이는 선행 연구들[42][43]의 제안과 같이 레이저나 신경근전기자극에 의해 새로운 근관(myotube)과 위성세포의 형성이나 모세혈관 관류의 증가에 기인한 결과로 사료된다.

위성세포는 손상 후 근육 재생의 전구물질로 여겨지는데 정상적으로는 활성화 되지 않으나 근섬유의 손상으로 인해 여러 요소들이 분비되면 활성화 된다[44]. 손상 받은 근육은 근육섬유의 수, 길이, 두께의 증가라는 세 가지 기전에 의해 손상이 치유되는데[45] 근육 조직 손상시 위성세포는 분열되고 근육세포로 분화하여 근섬유를 형성하게 되며 다기능 간질세포는 계열유도 유전자에 의해 근모세포로 분화하고 많은 수로 분열하여 인접 세포끼리 융합하여 다수의 핵을 가진 근관들을 형성하고 이 근관들은 구조 단백질이 형성되고 수축기가 형성되면서 성숙된 근육의 기본 단위인 근섬유로 분화된다[46]. 따라서 레이저 조사나 신경근전기자극은 새로운 근관과 위성세포의 형성과 근육 수축에 의한 혈류 공급의 개선으로 염증의 감소를 유도하여 IL-1 $\beta$ 의 감소가 레이저치료군과 신경근자극군에서 보다 빨리 일어난 것으로 사료된다.

근 비대에는 국소 부위의 위성세포 활성이 필수적인데 국소 부위의 위성세포는 근초(sarcolemma)와 세포 외부 영역 사이에서 분열됨으로써 근비대가 이루어진다. 또한 세포 외부 영역에서 IGF-1과 같은 면역 단백질의 합성과 분비가 국소 위성세포 근처에서 촉진되며 혈관을 따라 다른 조직에 국소적으로 작용하여 근세포

가 성장하게 된다[47]. Brunetti 등[48]은 근원섬유의 근관으로의 분화는 5~10배 많은 인슐린 수용기의 증가와 관련이 있다고 하였으며 IGF의 발현이 단백질 결합을 증가시켜 골격근의 크기를 증가시킨다[49]. IGF-1과 마찬가지로 IGF-2도 근육발생시 증식과 분화에 영향을 미치는데 IGF-2는 근모세포 분화에 중요하다[50]. 따라서 본 연구에서는 골격근 손상 유도 후 회복 정도를 IGF-1과 IGF-2의 발현 정도로도 분석하였는데 근육의 분화는 섬유모세포 성장인자(fibroblastic growth factor; FGF)[51], 표피 성장인자(epidermal growth factor; EGF)[52] 그리고 IGF 등과 같은 펩타이드성 성장인자들에 의해 조절된다[46]. IGF는 인슐린과 같은 대사적 효과를 발휘할 뿐 아니라 조직의 성장과 발달에 관여하여 골격근의 성장과 비대 및 재생을 촉진시키는 것으로 알려져 있는데 본 연구에서 IGF-1의 발현은 정상군에 비해 대조군과 레이저치료군 그리고 신경근전기자극군에서 모두 증가하였으며 IGF-2는 신경근자극군에서 낮게 발현되어 섬유아세포(fibroblast)에 저출력레이저를 조사한 결과 TGF- $\beta$ 와 혈소판 유도성 성장인자(platelet-derived growth factor; PDGF)가 방출되었다고 보고한 Yu 등[41]의 연구와 유사하였으며 신경근전기자극의 경우에도 전기자극을 통한 IGF와 TGF- $\beta$ 의 증가가 있었다는 여러 연구들[52-57]과 유사하였다. 그러나 RT-PCR 분석의 특성상 IGF-1과 IGF-2 발현이 많고 적음만을 알 수 있고 이를 정량화 할 수 없는 문제로 인하여 대조군의 자발적인 회복과 레이저치료군 그리고 신경근전기자극군의 물리치료 중재 효과 차이를 단정 할 수는 없을 것으로 사료된다. 그러므로 IGF-1과 IGF-2의 발현 정도와 앞서 언급한 IL-1 $\beta$ 의 변화 그리고 초음파 영상을 통한 분석 결과를 종합적으로 판단하여야 할 것으로 여겨지며 차후, 유사한 실험 설계 하에서 중재 시기별 이들 성장인자의 발현 양상 분석에 대한 연구가 보다 자세히 이루어져야 할 것으로 사료된다.

따라서 본 연구의 결과와 전기자극과 저출력레이저 조사가 사이토카인의 유의한 감소를 유발하고 IGF와 위성세포 및 새로운 근관의 분화를 촉진하였다는 선행 연구들을 종합적으로 고려하면 신경근전기자극과 저출

력레이저 조사는 손상 골격근의 모세혈관 관류 증가를 통한 염증 억제와 IGF의 발현 유도를 통한 손상된 골격근의 위성세포 발현과 새로운 근관으로의 분화를 강화하여 골격근 손상에 의미 있는 회복을 유도하는 것으로 여겨진다.

#### 참고 문헌

- [1] J. D. Schertzer, S. M. Gehrig, J. G. Ryall, and G. S. Lynch, "Modulation of insulin-like growth factor(IGF)-I and IGF-binding protein interactions enhances skeletal muscle regeneration and ameliorates the dystrophic pathology in mdx mice," *Am J Pathol*, Vol.171, No.4, pp.1180-1188, 2007.
- [2] D. A. Canapp, "Select modalities," *Clini Tech Small Anim Pract*, Vol.22, No.4, pp.160-165, 2007.
- [3] S. R. Moore and J. Shurman, "Combined neuromuscular electrical stimulation and transcutaneous electrical nerve stimulation for treatment of chronic back pain: A double-blind, repeated measures comparison," *Arch Phys Med Rehabil*, Vol.78, No.1, pp.55-60, 1997.
- [4] D. A. Lake, "Neuromuscular electrical stimulation. An overview and its application in the treatment of sports injuries," *Sports Med*, Vol.13, No.5, pp.320-336, 1992.
- [5] J. A. Neder, D. Sword, S. A. Ward, E. Mackay, L. M. Cochrane, and C. J. Clark, "Home based neuromuscular electrical stimulation as a new rehabilitative strategy for severely disabled patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD)," *Thorax*, Vol.57, No.4, pp.333-337, 2002.
- [6] D. C. Carvalho de Abreu, A. C. Júnior, J. M. Rondina, and F. Cendes, "Muscle hypertrophy in



- quadriplegics with combined electrical stimulation and body weight support training," *Int J Rehabil Res.* Vol.31, No.2, pp.171-175, 2008.
- [7] J. N. Gibson, K. Smith, and M. J. Rennie, "Prevention of disuse muscle atrophy by means of electrical stimulation: Maintenance of protein synthesis," *Lancet*, Vol.2, No.8614, pp.767-770, 1988.
- [8] R. E. Kaplan, J. J. Czyrny, T. S. Fung, J. D. Unsworth, and J. Hirsh, "Electrical foot stimulation and implications for the prevention of venous thromboembolic disease," *Thromb Haemost*, Vol.88, No.2, pp.200-204, 2002.
- [9] M. J. Conlan, J. W. Rapley, and C. M. Cobb, "Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. A review," *J Clin Periodontol*, Vol.23, No.5, pp.492-496, 1996.
- [10] T. Karu, "Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells," *J Photochem Photobiol B.* Vol.49, No.1, pp.1-17, 1999.
- [11] A. C. Amaral, N. A. Parizotto, and T. F. Salvini, "Dose-dependency of low-energy HeNe laser effect in regeneration of skeletal muscle in mice," *Lasers Med Sci*, Vol.16, No.1, pp.44-51, 2001.
- [12] S. Tumilty, J. Munn, J. H. Abbott, S. McDonough, D. A. Hurley, and G. D. Baxter, "Laser therapy in the treatment of achilles tendinopathy: A pilot study," *Photomed Laser Surg*, Vol.26, No.1, pp.25-30, 2008.
- [13] S. Rochkind, V. Drory, M. Alon, M. Nissan, and G. E. Ouaknine, "Laser phototherapy (780 nm), a new modality in treatment of long-term incomplete peripheral nerve injury: A randomized double-blind placebo-controlled study," *Photomed Laser Surg*, Vol.25, No.5, pp.436-442, 2007.
- [14] L. J. Walsh, "The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 2. Hard tissue applications," *Aust Dent J*, Vol.42, No.5, pp.302-306, 1997.
- [15] N. Ben-Dov, G. Shefer, A. Irintchev A, A. Wernig, U. Oron, and O. Halevy, "Low-energy laser irradiation affects satellite cell proliferation and differentiation in vitro," *Biochim Biophys Acta*, Vol.1448, No.3, pp.372-380, 1999.
- [16] I. Stadler, R. J. Lanzafame, R. Evans, V. Narayan, B. Dailey, N. Buehner, and J. O. Naim, "830-nm irradiation increases the wound tensile strength in a diabetic murine model," *Lasers Surg Med*. Vol.28, No.3, pp.220-226, 2001.
- [17] K. Küllmer, K. W. Sievers, J. D. Rompe, M. Nägele, and U. Harland, "Sonography and MRI of experimental muscle injuries," *Arch Orthop Trauma Surg*, Vol.116, No.6-7, pp.357-361, 1997.
- [18] W. E. Paul and R. A. Seder, "Lymphocyte responses and cytokines," *Cell*, Vol.76, No.2, pp.241-251, 1994.
- [19] K. Nagaraju, N. Raben, G. Merritt, L. Loeffler, K. Kirk, and P. Plotz, "A variety of cytokines and immunologically relevant surface molecules are expressed by normal human skeletal muscle cells under proinflammatory stimuli," *Clin Exp Immunol*, Vol.113, No.3, pp.407-414, 1998.
- [20] W. P. Arend, "The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease," *Cytokine Growth Factor Rev.* Vol.13, No.4-5, pp.323-340, 2002.
- [21] D. S. Tews and H. H. Goebel, "Cytokine expression profile in idiopathic inflammatory myopathies," *J Neuropathol Exp Neurol*, Vol.55, No.3, pp.342-347, 1996.
- [22] I. Lundberg, A. K. Ulfgrén, P. Nyberg, U. Andersson, and L. Klareskog, "Cytokine production in muscle tissue of patients with

- idiopathic inflammatory myopathies," *Arthritis Rheum*, Vol.40, No.5, pp.865-874, 1997.
- [23] H. Koshima, S. Kondo, S. Mishima, H. R. Choi, H. Shimpo, T. Sakai, and N. Ishiguro, "Expression of interleukin-1beta, cyclooxygenase-2, and prostaglandin E2 in a rotator cuff tear in rabbits," *J Orthop Res*, Vol.25, No.1, pp.92-97, 2007.
- [24] J. R. Florini, D. Z. Ewton, and S. A. Coolican, "Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis," *Endocr Rev*, Vol.17, No.5, pp.481-517, 1996.
- [25] A. Musarò, K. McCullagh, A. Paul, L. Houghton, G. Dobrowolny, M. Molinaro, E. R. Barton, H. L. Sweeney, and N. Rosenthal, "Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle," *Nat Genet*, Vol.27, No.2, pp.195-200, 2001.
- [26] S. M. Rosenthal and Z. Q. Cheng, "Opposing early and late effects of insulin-like growth factor I on differentiation and the cell cycle regulatory retinoblastoma protein in skeletal myoblasts," *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol.92, No.22, pp.10307-10311, 1995.
- [27] R. Ambalavanar, C. Yallampalli, U. Yallampalli, and D. Dessem, "Injection of adjuvant but not acidic saline into craniofacial muscle evokes nociceptive behaviors and neuropeptide expression," *Neuroscience*, Vol.149, No.3, pp.650-659, 2007.
- [28] W. Puehler, C. Zöllner, A. Brack, M. A. Shaqura, H. Krause, M. Schäfer, and C. Stein, "Rapid upregulation of mu opioid receptor mRNA in dorsal root ganglia in response to peripheral inflammation depends on neuronal conduction," *Neuroscience*, Vol.129, No.2, pp.473-479, 2004.
- [29] N. V. Bulyakova and V. S. Azarova, "Structure peculiarities of muscle regenerates and state of thymus under He-Ne laser therapy in different periods after muscle trauma," *Izv Akad Nauk Ser Biol*, Vol.6, pp.667-679, 2006.
- [30] N. V. Bulyakova and V. S. Azarova, "Regeneration of skeletal muscles and state of thymus in gamma-irradiated rats under laser therapy of the area of muscle trauma," *Minim Invasive Ther Allied Technol*, Vol.15, No.5, pp.277-285, 2006.
- [31] 채윤원, 근육통에 의한 이차성 통각과민에 대한 TENS와 냉의 효과, 대구대학교대학원 박사학위 논문, 2002.
- [32] F. Weber and U. Albert, "Electrodiagnostic examination of lumbosacral radiculopathies," *Electromyogr Clin Neurophysiol*, Vol.40, No.4, pp.231-236, 2000.
- [33] C. Z. Hong and D. G. Simons, "Pathophysiologic and electrophysiologic mechanisms of myofascial trigger points," *Arch Phys Med Rehabil*, Vol.79, No.7, pp.863-872, 1998.
- [34] J. Lewis and P. Tehan, "A blinded pilot study investigating the use of diagnostic ultrasound for detecting active myofascial trigger points," *Pain*, Vol.79, No.1, pp.39-44, 1999.
- [35] R. D. Gerwin and D. Duranleau, "Ultrasound identification of the myofascial trigger point," *Muscle Nerve*, Vol.20, No.6, pp.767-768, 1997.
- [36] J. Kert and L. Rose, *Clinical laser therapy: low level laser therapy*, Scandinavian Medical Laser Technology, 1989.
- [37] A. C. Amaral, N. A. Parizotto, and T. F. Salvini, "Dose-dependency of low-energy HeNe laser effect in regeneration of skeletal muscle in mice," *Lasers Med Sci*, Vol.16, No.1, pp.44-51, 2001.

- [38] L. Qin, H. J. Appell, K. M. Chan, and N. Maffulli, "Electrical stimulation prevents immobilization atrophy in skeletal muscle of rabbits," *Arch Phys Med Rehabil*, Vol.78, No.5, pp.512-517, 1997.
- [39] F. Canon, F. Goubel, and C. Y. Guezennec, "Effects of chronic low frequency stimulation on contractile and elastic properties of hindlimb suspended rat soleus muscle," *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, Vol.77, No.1-2, pp.118-124, 1998.
- [40] J. N. Gibson, K. Smith, and M. J. Rennie, "Prevention of disuse muscle atrophy by means of electrical stimulation: Maintenance of protein synthesis," *Lancet*, Vol.2, No.8614, pp.767-770, 1988.
- [41] A. Bibikova and U. Oron, "Regeneration in denervated toad(*Bufo viridis*) gastrocnemius muscle and the promotion of the process by low energy laser irradiation," *Anat Rec*, Vol.241, No.1, pp.123-128, 1995.
- [42] F. R. Clemente, D. H. Matulionis, K. W. Barron, and D. P. Currier, "Effect of motor neuromuscular electrical stimulation on microvascular perfusion of stimulated rat skeletal muscle," *Phys Ther*, Vol.71, No.5, pp.397-404, 1991.
- [43] F. R. Clemente and K. W. Barron, "The influence of muscle contraction on the degree of microvascular perfusion in rat skeletal muscle following transcutaneous neuromuscular electrical stimulation," *J Orthop Sports Phys Ther*, Vol.18, No.3, pp.488-496, 1993.
- [44] R. Bischoff, "Cell cycle commitment of rat muscle satellite cells," *J Cell Biol*, Vol.111, No.1, pp.201-207, 1990.
- [45] E. N. Olson, "Interplay between proliferation and differentiation within the myogenic lineage," *Dev Biol*, Vol.154, No.2, pp.261-272, 1992.
- [46] P. Dias, M. Dilling, and P. Houghton, "The molecular basis of skeletal muscle differentiation," *Semin Diagn Pathol*, Vol.11, No.1, pp.3-14, 1994.
- [47] V. R. Sara and K. Hall, "Insulin-like growth factors and their binding proteins," *Physiol Rev*, Vol.70, No.3, pp.591-614, 1990.
- [48] A. Brunetti, B. A. Maddux, K. Y. Wong, and I. D. Goldfine, "Muscle cell differentiation is associated with increased insulin receptor biosynthesis and messenger RNA levels," *J Clin Invest*, Vol.83, No.1, pp.192-198, 1989.
- [49] J. Isgaard, L. Carlsson, O. G. Isaksson, and J. O. Jansson, "Pulsatile intravenous growth hormone(GH) infusion to hypophysectomized rats increases insulin-like growth factor I messenger ribonucleic acid in skeletal tissues more effectively than continuous GH infusion," *Endocrinology*, Vol.123, No.6, pp.2605-2610, 1988.
- [50] J. R. Florini, K. A. Magri, D. Z. Ewton, P. L. James, K. Grindstaff, and P. S. Rotwein, "Spontaneous differentiation of skeletal myoblasts is dependent upon autocrine secretion of insulin-like growth factor-II," *J Biol Chem*, Vol.266, No.24, pp.15917-15923, 1991.
- [51] L. Li, J. Zhou, G. James, R. Heller-Harrison, M. P. Czech, and E. N. Olson, "FGF inactivates myogenic helix-loop-helix proteins through phosphorylation of a conserved protein kinase C site in their DNA-binding domains," *Cell*, Vol.71, No.7, pp.1181-1194, 1992.
- [52] B. B. Olwin and S. D. Hauschka, "Cell surface fibroblast growth factor and epidermal growth factor receptors are permanently lost during skeletal muscle terminal differentiation in culture," *J Cell Biol*, Vol.107, No.2, pp.761-769,

1988.

저 자 소 개

김 종 순(Jong-Soon Kim)

정회원



- 2001년 8월 : 대구대학교 재활과학대학원(이학석사)
- 2004년 8월 : 대구대학교 대학원 물리치료전공(이학박사)
- 2005년 3월 ~ 현재 : 부산가톨릭대학교 물리치료학과 교수

<관심분야> : 정형물리치료학, 근골격계질환

노 민 희(Min-Hee Rho)

정회원



- 1978년 8월 : 서울대학교 보건대학원(보건학석사)
- 1988년 2월 : 건국대학교 대학원 수의학전공(수의학박사)
- 1984년 3월 ~ 현재 : 부산가톨릭대학교 물리치료학과 교수

<관심분야> : 생리학, 해부학