

## 가토 하치조신경 재생에 있어 Nerve Growth Factor의 효과

\*광주보훈병원 구강악안면외과

\*\*가톨릭의과대학부속 의정부 성모병원 치과 / 구강악안면외과

\*\*\*서울대학교치과대학 구강악안면외과학교실

박 광\* · 김현태\*\* · 이증호\*\*\*

### EFFECT OF NERVE GROWTH FACTOR IN REGENERATION OF MANDIBULAR NERVE OF RABBIT

Park Kwang\*., D. D. S., Kim Hyun-Tae\*\*., D. D. S., Ph. D.,

Lee Jong-Ho\*\*\*., D. D. S., Ph. D.

\*Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Kwangju Veterans Hospital

\*\*Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Uijongbu St. Mary's Hospital,

Catholic University Medical College

\*\*\*Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Seoul National University

Seoul, Korea

*An experimental study was performed to evaluate the efficacy of nerve growth factor(NGF) on inferior alveolar nerve in a rabbit model. In 20 New Zealand white rabbits, 14mm of bilateral alveolar nerve were resected and the defects were repaired with the 17mm silicone conduits. In group I, 5mm autologous nerve segment were located centrally in the left side after tubulization and NGF solution(Sigma chemical 0.1 mg/mL) was instilled into each conduit. In group II, nerve repair modality was the same but no NGF solution was instilled into the conduits. On 2 months and 6 months postoperatively, the results were evaluated by clinical and histomorphometric assessment.*

*The result was that autologous nerve segment group show the best nerve regeneration effect and NGF instilled group the worst.*

### I. 서 론

악안면 영역에 있어서 외상에 의한 손상이나 외과적 수술시 신경절단 또는 질환에 의한 안면부 말초신경의 장애는 빈번하며, 그 기능의 회복을 위해서는 신경의 연속성이 복원되어야 한다<sup>1,2)</sup>. 결손된 신경의 수복에는 자가신경이 식이 많이 사용되나<sup>3,4)</sup>, 최근 동종 또는 이종

신경이나<sup>5-7)</sup> 결손된 신경의 말단을 연결하는 통로를 통해 신경의 재생을 유도하는 중피성실(mesothelial chamber)<sup>8)</sup>, 신경외초관(perineural tube)<sup>9)</sup>, 실리콘관(silicone tube)<sup>10,11)</sup>, 자가정맥<sup>12)</sup> 등에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 이러한 재생통로의 목적은 주변 조직으로부터의 교원섬유 파급을 막으면서 결손부 근위단의 재생신경이 원위부 신경단과

연결되도록 하는데 그 목적이 있다.

신경재생에는 근위신경세포의 재생능과 원위부 신경의 향신경성 영향이 중요한데, 원위단의 자극효과는 10mm의 거리한계를 가지고 있어 신경결손이 10mm 이상일 경우에는 원위단의 자극효과가 영향을 미치지 못한다고 알려져 있다<sup>13)</sup>. 따라서 임상적으로 유의성이 있는 한계영역 이상의 신경결손 간극의 재생을 위해서는 신경단 뉴론의 생존과 재생을 위한 NGF (Nerve Growth Factor)나 chamber fluid 등 많은 향신경성 인자에 대한 연구가 중요하다고 할 수 있다. Lundborg 등<sup>10)</sup>은 실리콘관을 이용하여 신경을 복원할 때, 향상경성 성장인자 (neurotrophic growth factor)를 재생 통로 내에 주입시켰을 경우 신경 재생 속도가 빨라짐을 관찰하였으며, Smahel<sup>14)</sup>은 자가신경 절편을 자가정맥통로의 중앙부에 삽입하여 14mm의 백서 좌골신경 결손을 성공적으로 복구하였는데, 그는 신경 절편이 Schwann 세포와 신경 섬유아세포(neurofibroblast)를 추가적으로 공급하며, 삽입한 신경절편이 신경 원위단처럼 작용한다는 가설을 제시하였다. NGF는 대표적인 향신경성 인자로 정확한 기전은 알려져 있지 않으나, 근위 신경단에서의 역행에 의해 신경세포체의 재생능 촉진과 축삭의 재생을 촉진하는 것으로 알려져 있다. 따라서 NGF와 같은 향신경성인자를 국소적으로 직접 투여하면 10mm 이상의 광범위한 신경결손에서도 신경 재생이 이루어 지며, 재생속도와 재생율도 증가할 것이라는 가정을 할 수 있다. Eppley 등<sup>15)</sup>은 7mm의 가토 하치조신경 결손부에 NGF를 넣은 실리콘관을 이용할 때 신경의 재생이 증가됨을 관찰하였다. 이에 저자들은 NGF와 신경절편을

병행하였을 경우 신경재생의 효과를 알아보고자 임상적으로 유의성이 있는 가토 하치조신경에 14mm의 결손부를 형성 후 실리콘 통로를 이용하여 수복하고, 통로 내에 NGF와 신경 절편을 동시에 넣었을 경우와 NGF나 신경 절편만을 넣었을 경우 그리고 통로내에 아무것도 넣지 않았을 경우로 나누어 각각의 신경 재생 효과를 임상적 조직계측학적으로 관찰하고 그 결과를 비교하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

2.5kg 내외의 가토 20마리를 1군(n=10)과 2군(n=10)으로 분류하였으며, 술 후 2달과 6달째에 각군 5마리를 희생시킨 후 육안적 관찰과 컴퓨터화상분석을 이용해 신경재생을 평가하였다(Table 1).

### 2. NGF

쥐의 악하선에서 추출한 Nerve Growth Factor(7S-NGF, Sigma Chemical Co.)를 주사용 증류수로 용해시켜 준비하였다(0.1mg/ml).

### 3. 수술방법

가토 귀정맥에 염산케타민을 정주후 기관 절개 삽관하여 전신마취를 시행하였으며, 좌우측 하악골 우각부에서 이부까지 악하절개를 시행하였다. 치과용 드릴로 측방 치밀골을 피질박리하고 이공에서 하악소설까지 하치조관에서 약 4cm 길이의 하치조신경을 조심스럽게 노출시켰다(Fig. 1).

신경도를 사용하여 14mm의 하치조 신경결

Table 1. Various Nerve Repair Modalities

Experimental Group	Nerve Repair Modality				
I - a	Tubulation + NGF + Nerve Segment				(n = 10)
I - b	Tubulation + NGF				(n = 10)
II - a	Tubulation + Nerve Segment				(n = 10)
II - b	Tubulation				(n = 10)
Normal Control	Normal	Inferior	Alveolar	Nerve	(n = 10)

### III. 성 적

손을 형성한후 17mm의 silastic관으로 신경의 양단을 미세봉합하였으며, 각군의 좌측 실리콘 통로에는 5mm의 자가신경 절편을 개재시켰고 우측에는 개재시키지 않았다(Fig. 2). 실리콘 관은 fibrin sealant(Beriplast P, Beringwerke AG, Germany)로 양단을 밀봉후 30G 1cc 주사기로 NGF용액(0.1mg/ml)을 실라스틱 관 내에 주입하였다(Fig. 3).

우측 하치조신경에서도 동일한 방법으로 수술하였으나 NGF를 넣지 않았으며, 남은 신경편은 epon에 포매한후 보관하여 대조군으로 사용하였다.

#### 4. 탐사 및 평가

술 후 2달째와 6달째에 펜토탈을 과량 복강내 주사하여 동물을 희생시키고 수술부위를 탐사하여 육안적으로 관찰 한뒤 신경을 채취하여 2% osmium tetroxide로 고정하였다. Epon 포매후 시편의 정중부를 2 micrometer 두께로 횡박절하고 toluidine blue로 염색하였다. 실리콘관 내에 재생된 신경을 컴퓨터화상분석을 통하여 신경속의 면적(mm<sup>2</sup>) 및 수와 밀도(axons/mm<sup>2</sup>)를 측정하였다.

#### 1. 육안적 소견

술후 2개월째에 실리콘관을 신생골에 의해 대부분 하악골에 묻혀 있었고, 근심 신경단과 원심신경단 사이가 재생된 신경에 의해 연결되어 모래시계 형상이었다. 재생된 신경은 I-a군에서 정상 하치조 신경 직경의 약 1/3 정도였으며, I-b군에서 가장 열등한 신경 재생을 보였다. II-a군에서 정상 신경과 유사하게 보이는 가장 잘 재생된 신경을 보였으며, II-b군에서는 양쪽 신경단 부위가 다소 굵고 양쪽 신경단이 연결되지 않아 근심부가 신경종을 형성한 것처럼 보였다. 술 후 6개월째의 소견은 2개월군에 비해 큰 차이는 없었으며 신경간의 격차가 심하였다. II-a군에서 정상신경과 가장 유사하게 잘 형성되었으며, 2개월군에 비해 다소 굵은 신경속을 보였다.

#### 2. 조직계측학적 소견(Table 2)

술 후 2개월군과 6개월군의 컴퓨터화상에 의한 조직학적 분석에서 정상 가토 하치조 신경의 신경속 면적은 0.79mm<sup>2</sup> 내외였으며, 술후 6개월군은 2개월군에 비해 신경속 면적과 수가 증가한 것을 볼 수 있었고 축삭밀도는 모든

Table 2. Histomorphometric and electrophysiologic assessment of normal mandibular nerve and nerve repair

	Fascicular Area(mm <sup>2</sup> )	Axonal Number	Axonal Density(no./mm <sup>2</sup> )
Normal(n=10)	0.7990± 0.1089	9,080± 713.87	12,574± 2,223.87
2months			
Gr. I-a(n=4)	0.2098± 0.0267	2,897± 734.83	13,784± 3,562.66
Gr. I-b(n=3)	0.0987± 0.0272	976± 465.88	9,889± 445.78
Gr. II-a(n=5)	0.3546± 0.4012	5,068± 539.35	14,886± 1,187.00
Gr. II-a(n=4)	0.1013± 0.0356	1,520± 350.34	14,853± 1,673.94
6months			
Gr. I-a(n=4)	0.2145± 0.1167	3,067± 734.83	14,281± 3,682.46
Gr. I-b(n=3)	0.1077± 0.0472	997± 645.78	9,257± 959.14
Gr. II-a(n=4)	0.4586± 0.1257	6,768± 733.74	14,757± 959.87
Gr. II-a(n=4)	0.1231± 0.0756	1,672± 504.34	13,583± 4,532.29

실험군에서 비슷하거나 약간 증가되어 있었다.

#### IV. 고 찰

말초신경은 신경조직과 결체조직으로 구성되어 있으며 축삭 및 신경초 세포 복합체를 포함한 신경내막이 신경속을 싸는 신경외막에 싸여있다. 경미한 신경 손상시 감압술을 이용하거나 또는 자연적으로 신경의 대사성 변화에 의해 기능이 회복되지만, 신경의 연속성이 단절된 경우에는 신경복원술을 시행하여야 한다. 신경축삭이 절단되면 신경세포체는 신경전달물질 생산에 필요한 단백질 대신 투블린, 액틴등과 같은 축삭을 재건하는데 필요한 단백질 합성이 증가한다<sup>16</sup>. 생리학적 변화로는 모축삭의 신경전도속도의 감소 및 세포 표면 수용기의 퇴행 등이 있고<sup>17</sup>, 또한 해부학적 변화로 축삭돌기 및 축삭말단이 위축하고 모축삭이 가늘어진다<sup>18</sup>. 축삭 재생에는 1) 초기 지연(initial delay) 2) 반흔 지연(scar delay) 3) 성장기(outgrowth period) 4) 성숙 지연(maturation delay)의 4 단계가 있다. 성장기에는 신경 근위부에서 부종과 신경초 세포증식 그리고 역행성 파괴에 이어 axonal sprouting을 나타내 원위부의 신경초 세포관 까지 증식하게 되는데, 신경의 절단이나 간격의 형성에 의해 축삭이 적절한 종말기관을 만나지 못할 경우에는 성숙기가 시작되지 않아 축삭이 가늘게 남아 있게 되고 주위 연조직으로부터 형성된 결합조직에 의해 축삭의 이동이 방해받으므로 무질서한 신경원의 증식에 의해 신경증이 형성된다<sup>19</sup>.

결손된 신경의 수복에는 자가신경이식법이 주로 사용되고 있으며<sup>3,4</sup>, Cajal<sup>20</sup>은 신경이식이 손상을 받으면, 거대세포에 의해 Schwann cell이 제거되어지고 이들은 하나의 통로 역할을 하여 축삭이 자라 들어 간다고 보고하였다. 이와 같이 이식된 자가신경이 살아 있는 조직이 아닌 신경 재생 통로로서의 역할을 한다는 가설 하에, Seckel등<sup>21</sup>은 10mm의 백서 좌팔신경 결손부에 신경재생을 위한 통로로 대퇴정맥은 이식하여 성공적인 신경재생이 이루어진다고 하였다.

이러한 신경통로 이식은 외과적 손상이 적고, 주위조직으로부터 섬유조직의 침윤을 막을 수 있는 이점이 있으나, 이들 재생통로가 신경을 복원할 수 있는 한계거리는 약 10mm이며 이 이상의 신경결손 간격에서는 대부분 신경복원에 실패하였다<sup>22</sup>. 이것은 절단된 근위 신경단이 원심단으로부터 자극이 없으면 재생이 중지된다는 가능성을 제시한다고 하겠다.

Lundborg등<sup>10</sup>은 표적특이성신경재생(target-specific nerve regeneration)을 보고하였는데, 이는 원위 신경단에서 분비되는 표적에서 기원한 용해성 향신경성인자(neurotrophic factor)가 근위 신경단의 재생을 자극하고 유지하는 특이성을 가지고 있다는 것이다. 이와같이 신경재생에는 Cajal<sup>20</sup>이 제시한 central trophism과 Lundborg등이 제시한 표적기관에 의한 조절 등의 가능성이 제시되고 있으며, 팍등<sup>23</sup>은 자가정맥 내에 자가신경절편을 이식하면 신경재생량과 속도가 증진된다고 보고하여, 삽입한 신경 절편이 원위 신경단처럼 화학주성의 조절(chemotactic regulation)을 하여 신경 재생을 촉진시킨다고 하였다.

이와 같이 뉴런의 생존과 재생에는 표적 기관이나 주위 환경으로부터 계속적인 향신경성 인자의 공급을 필요로 하는데, 중피성실(mesothelial chamber)이나 실리콘관을 이용한 신경 재생에 있어 실내에 생성된 액체나<sup>8</sup>, Schwann 세포와 근세포에 의해 조건화(condition)된 배양액등<sup>24</sup>이 향신경성 효과가 있음이 입증되어 있고 이중 가장 잘 알려진 향신경성 인자가 NGF이다. NGF는 주의 악하선이나 사독등에서 추출되는 고분자 물질로 근위신경단에서 역행 수송되어 신경세포체의 동화작용과 재생능을 촉진시킬뿐 아니라 자라나는 축삭의 방향에도 영향을 미친다고 알려져 있다. Eppley등<sup>15</sup>은 가토 하치조신경 결손을 NGF를 이용하여 수복하였을때 아주 우수한 결과를 나타내었다고 보고하였다.

김과 김<sup>25</sup>은 NGF를 국소적으로 투여하여 근위부의 손상된 뉴런의 생존과 재생을 증진시키고, 자가 신경 절편으로 향신경성 영향을 추가하면 월등한 신경 재생율과 재생 속도를

보일 것이라는 전제 하에 가토의 하악신경에 14mm의 신경결손을 형성후 NGF와 자가신경 절편으로 수복하고 술 후 10주째에 신경재생을 조직학적 전기생리학적으로 평가하였는데, 자가신경절편으로 수복한 군에서 신경재생이 가장 우수하였으며, NGF만을 넣은 군에서 가장 저조한 신경 재생을 보여 NGF 용액이 신경재생을 촉진시키기보다 오히려 방해하는 쪽으로 작용하였다고 보고하였다. 이러한 결과에 대해 그들은 실험에 사용된 NGF의 농도가 유효하지 못했으며, 유효 농도에 못미치는 NGF용액은 오히려 관 내 환경을 점유하여 원위 절편이나 자가 신경 절편의 향신경성 효과를 차단하고 근위단으로 부터 성장되는 축삭의 신장을 방해한다고 하였다. 이와같이 김과 김이 사용한 NGF의 신경재생연구에서 전혀 예상하지 못한 결과가 도출되어, 저자들은 부적절한 NGF 농도를 사용한 동일한 실험이 장기간에 걸쳐 관찰되었을 경우에는 NGF가 향신경성 인자로 작용하지 못하는가를 알아보기 위해 그들의 모델을 기초로 임상적으로 유의한 14mm의 신경간극을 만들어 수복하고 술후 2개월과 6개월째에 육안적소견과 컴퓨터화상분석을 이용하여 신경재생을 평가하였다. 저자 들의 실험 결과에서도, 신경절편을 사용한 군이 술 후 6개월째에 가장 증가된 신경재생을 보였으며 NGF만 사용한 군에서 가장 나쁜 결과를 나타내었고, 술 후 2개월째와 6개월째에 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 못하였다. NGF는 생체 내에서 향신경성인자로 알려져 있으나, 부적절한 농도로 사용할 때에는 장기간의 관찰에도 향신경성인자로 작용하지 못하였음을 알 수 있었다. 향후 향신경성인자로 작용할 수 있는 적정농도를 알아보기 위해 농도를 달리하는 모델을 통한 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

## V. 결 론

저자들은 NGF와 자가신경절편을 같이 사용하면 뉴런 생존과 향신경성 영향을 증가시켜 신경재생이 촉진될 것 이라는 가설 하에, 2.5kg 내외의 가토에서 14mm의 양측 하치조 신경

결손을 형성한 후 실리콘관으로 수복하고, NGF와 자가신경절편을 각각 넣은 군과 넣지 않은 군으로 분류하여, 술 후 2개월째에 6개월째에 임상적, 조직계측학적 방법에 의해 각각의 신경재생을 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

본 실험의 모든 군에서 자가신경 절편을 삽입한 통로의 신경재생이 기능적, 조직계측학적으로 가장 우수하였으며, NGF를 넣은 군에서 덜 우수한 결과를 나타내었다. 또한 2개월과 6개월의 양관찰기간 사이에 통계적으로 유의한 결과는 나타나지 않았다.

## 참고문헌

1. Peter, G. M. : Microsurgical correction of the injured inferior alveolar nerve. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 43 : 352, 1985.
2. 김명래 : 하악 구치부 수술후 하순지각마비의 진단적 평가와 치료. *대한치과의사협회지*, 28 : 107, 1990.
3. Edinger, D., Luhr, H. : Free autologous nerve grafting-Comparison of suture methods. *J. Maxillofac. Surg.* 14 : 227, 1986.
4. Hausamen, J. E., Samii, M., Schmidseeder, R. : Repair of the mandibular nerve by means of autologous nerve grafting after resection of the jaw. *J. Maxillofac. Surg.* 1 : 74, 1973.
5. Marmor, L. : Regeneration of peripheal nerve defects by irradiated homografts. *Lancet*, 1 : 1191, 1963.
6. Marmor, L. : The repair peripheral nerves by irradiated homografts. *Clin. Orthop.*, 34 : 161, 1964.
7. Ducker, T. B., Hayes, G. J. : Peripheral nerve grafts : experimental studies in the dog and chimpanzee to define homograft limitation. *J Neurosurg.* 32 : 236, 1970.
8. Danielsen, N., Dahlin, L. B., Lee, Y.E. : Axonal growth in mesothelial chambers. *Scan. J. Plast. Reconstr. Surg.* 17 : 199,

- 1983.
9. Restrepo, Y., Merle, M., Michon, J. : Fascicular nerve graft using an empty perineurial tube : An experimental study in the rabbit. *Microsurgery*, 4 : 105, 1983.
  10. Lundborg, G., Gelbermann, R. H., Longo, F. M. : In vivo regeneration of cut nerves encased in silicone tubes. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 41 : 412, 1982.
  11. Ducker, T. B., Hayes, G. J. : Experimental improvement in the use of silastic cuff for peripheral nerve repair. *J. Neurosurg.* 28 : 582, 1968.
  12. Chiu, D. T. W. : Autogenous vein graft as a conduit for nerve regeneration. *Surgery*, 91 : 226, 1982.
  13. Sunderland, S. : Nerves and nerve injuries, 2nd ed, Edinburgh, Churchill Livingstone, 1978.
  14. Smahel, J. : Stimulation of peripheral nerve regeneration by an isolated nerve segment. *Ann. Plastic. Surg.* 16 : 494, 1986.
  15. Eppley, B. L., Snyders, R. V., Winkelmann, T. M., Roufa, D. G. : Efficacy of nerve growth factor in regeneration of the mandibular nerve : A preliminary report. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 49 : 61, 1991.
  16. Politis, M. J., Sternberger, N., Ederle, K., Spencer, P. S. : Studies on the control of myelogenesis. IV. Neuronal induction of Schwann cell myelin-specific protein synthesis during nerve fiber regeneration. *J. Neurosci.* 2 : 1252, 1982.
  17. Yu, L. T., England, J., Sumner, A., Larossa, D., Hickey, F. : Electrophysiologic evaluation of peripheral nerve regeneration through allografts immunosuppressed with cyclosporin. *J. Reconstr. Microsurg.* 6 : 317, 1990.
  18. Hoffman, P. N. : Changes in neurofilament transport coincide temporally with alterations in the caliber of axons in regenerating motor fibers, caliber by neurofilament transport. *J. Cell. Biol.* 101 : 1332, 1985.
  19. Ducker, T.B., Kempe, L.G., Hayes, G.J. : The metabolic background for peripheral nerve study. *J. Neurosurg.* 30 : 270, 1963.
  20. Cajal, R. : Degeneration and regeneration of the nervous system(Translated and edited by May, R. M.), New York, Hafner Press/Macmillan, 1959.
  21. Seckel, R. B., Chiu, T. H., Nyilas, E. : Nerve regeneration through synthetic biodegradable nerve guides : regulation by the target organ. *Plast. Reconstr. Surg.* 74 : 173, 1984.
  22. Mackinnon, S.E., Dellon, A. L. : A study of nerve regeneration across synthetic(Maxon) and biologic(Collagen) nerve conduit for nerve gaps up to 5 cm in the primate. *J. Reconstr. Microsurg.* 6 : 117, 1990.
  23. 광동열, 박병윤, 이영호 : 신경 결손에서 이식정맥내 신경절편이 신경재생에 미치는 영향, *대한성형외과학회지*, 15 : 399, 1988.
  24. Ide, C., Tohyama, K., Yokota, R., Nitatori, T., Onodera, S. : Schwann cell basal lamina and nerve regeneration. *Brain Research*, 288 : 61, 1983.
  25. 김현태, 김수경 : 가토 하치조신경 재생에 있어 자가신경 절편과 Nerve growth factor (NGF)의 효과. 서울대학교 대학원 박사 학위논문. 1993.

## Explanations of Figures

- Fig. 1. Surgical exposure of rabbit mandibular nerve.
- Fig. 2. Schematic drawing of surgical intervention.  
Silicone tube bridged the nerve defects(14mm) and 5mm nerve segment was introduced at the midpoint of the conduit.
- Fig. 3. NGF instillation into the silastic tubulization.
- Fig. 4. When exploring after 10 weeks postoperatively, the silastic conduits were largely buried with new bone.
- Fig. 5. Macroscopic appearance of the conduit with nerve segment. The gap between the nerve stump was bridged and the structure looked like as hourglass.
- Fig. 6. Histomorphometric assessment using computer image analysis.



Fig. 1

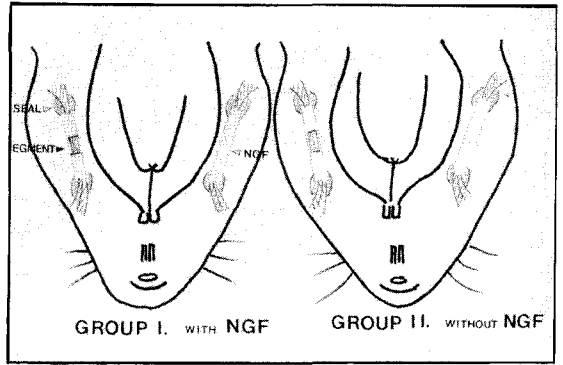


Fig. 2

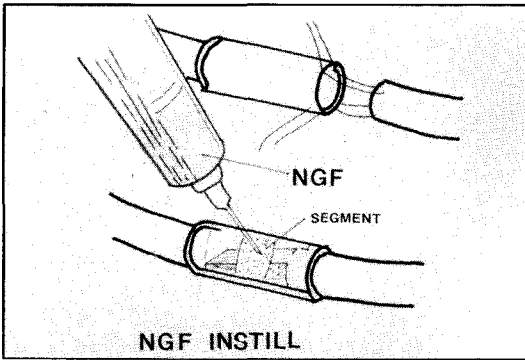


Fig. 3



Fig. 4

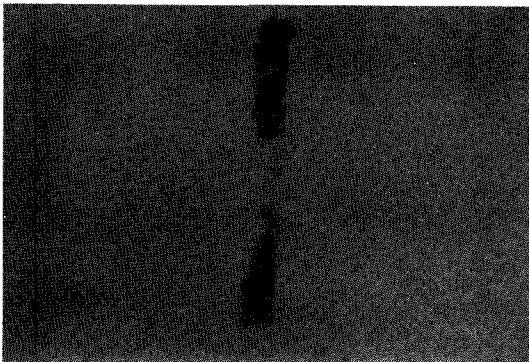


Fig. 5

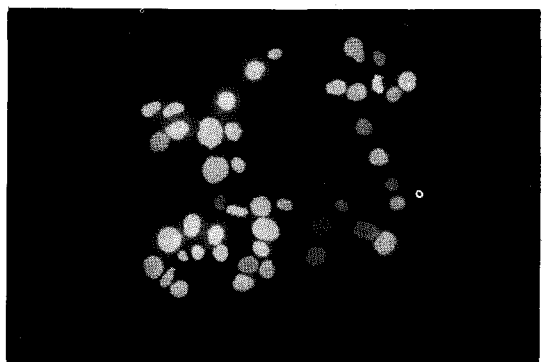


Fig. 6