

척수손상 백서에서 서방형 성장호르몬의 투여가 신경회복에 미치는 영향

김민수 · 허 정 · 권용석 · 이근철 · 김석권

동아대학교 의과대학 성형외과학교실

The Effects of Sustained Release Growth Hormone in the Repair of Neurological Deficits in Rats with the Spinal Cord Injury

Min Su Kim, M.D., Jung Heo, M.D.,
Yong Seok Kwon, M.D., Keun Cheol Lee, M.D.,
Seok Kwun Kim, M.D.

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, College of Medicine, Dong-A University, Busan, Korea

Purpose: Due to increasing interest in the treatment of spinal cord injuries, many histopathological studies have been conducted to prove that many neurotrophic factors including growth hormone are important for regeneration of the injured spinal cord. Growth hormone has to be given everyday, however, and this negatively affects compliance in clinical trials. Recently, the invention of sustained release growth hormone (SRGH) that can be given just once a week may both help the regeneration of injured spinal cord and, at the same time, be more compliant and convenient for clinical patients.

Methods: In this study, thirty 7-week-old female Sprague-Dawley rats were subjected to a weight-driven impact spinal cord injury. They were divided into 3 groups and Group I and II were injected with SRGH once a week for 4 weeks; Group I were injected into the injured spinal cord area, while Group II were injected into the peritoneal cavity. Meanwhile, Group III were injected with normal saline solution. The functional outcome was evaluated using the Basso-Beattie-Bresnahan motor rating score and the inclined plane test was done 4 weeks after the first injection. Histopathological examination was performed at the same time and the amount of residual white matter was measured in all groups.

Results: After 4 weeks, Groups I and II showed greater improvement than Group III(the control group) in

the functional test. In the control group, invasion of atypical phagocytes, axonal degeneration, edema and cavity formation in the posterior site of spinal cord gray matter was observed in histopathological examination. The rate of residual white matter in Group III was less than in the other groups.

Conclusion: Data showed significant functional and histopathological improvement in the groups treated with SRGH into the spinal and peritoneal cavity compared with the control group. SRGH is therefore beneficial because it helps with regeneration of the injured spinal cord and improves the compliance and convenience of patients.

Key Words: Sustained release growth hormone, Spinal cord injury

I. 서 론

척수손상은 손상 이하 부위의 운동 및 감각 기능의 상실뿐만 아니라 근위축을 초래하고 각종 합병증을 야기하는 중대한 질환이다. 그리고 척수손상은 대부분 젊은 나이에 발생하고 회복이 어려워 많은 경제적, 시간적 손실을 초래하고 있다. 1960년대 이래로 수많은 임상연구를 통해서 척수손상의 회복을 시도하고 있으나 아직도 임상적으로는 신경학적으로나 기능적으로 뚜렷한 개선을 보이는 방법이 없는 실정이다. 그러나 동물 실험의 경우에는 최근 많은 연구 성과들이 보고되면서 임상치료의 가능성을 여는 단계에까지 이르고 있다. 최근 척수손상에 대한 관심이 증가하면서 척수손상의 병태생리에 대한 많은 연구가 진행되었고 신경성장인자들이 척수손상의 재생을 촉진시키는데 매우 중요하며, 이들의 투여가 뇌신경계 기능 회복에 긍정적인 역할을 한다는 연구가 보고 되고 있다. 따라서 최근 척수손상 환자의 치료에 대해 지금까지 널리 쓰이고 있는 고식적인 재활치료와 함께 성장호르몬 투여를 비롯한 여러 새로운 치료방법이 제시되고 있다.¹

성장호르몬은 뇌하수체에서 분비되며 insulin-like growth factor-I(IGF-I)을 매개로 중추신경계의 성장과 발달에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고,² 그 외

Received January 14, 2008

Revised March 26, 2008

Address Correspondence: Keun Cheol Lee, M.D., Ph.D.,
Department of Plastic and Reconstructive Surgery, College of Medicine, Dong-A University, 1 3ga, Dongdaeshindong, Seo-gu, Busan, 602-715, Korea. Tel: 051) 240-2968 / Fax: 051) 243-5416 / E-mail: pokdung@dau.ac.kr

에 독자적인 작용이 있는 것으로 알려져 있는데, 정상 세포(astrocytes)에 직접 작용하거나 맥락막(choroid plexus), 연막(pia mater) 등의 뇌실질세포(ependymal cells)에 결합하여 다른 작용을 하는 것으로 추측되지만, 정확한 기전은 밝혀져 있지 않다.³

최근 연구들에서, 척수손상 환자에서 혈장 내 몇 가지의 뇌하수체 호르몬 수치에 변화를 보이는 신경내분비계의 변화를 보이고, 이 뇌하수체 호르몬 중 성장호르몬이 평소 또는 운동 시 모두에서 분비된다는 것이 보고되었으며, 척수손상 환자에서 운동, 안정 시 체내 성장호르몬 분비의 결핍이 있음이 증명되었다.

성장호르몬의 분비는 정상세포에너지 대사과정에 연관되어 있으며, 이로 인해 뇌신경계 기능에 어느 정도의 긍정적인 역할을 하는 것으로 보인다. 노화가 진행함에 따라 성장호르몬의 분비는 감소한다는 것이 보고된 바 있고, 이것으로 척수손상에 따른 성장호르몬의 감소와 혈장 내 농도저하가 신경계 퇴행성 변화와 연관되어 있음을 알 수 있다. 그러므로 성장호르몬의 외부 투여가 척수손상 환자에서 신경재생이나 기능회복에 긍정적인 효과를 낼 가능성을 제시해 준다고 할 수 있다.

그러나 기존의 성장호르몬은 매일 투여해야 하는 단점이 있다. 이는 이 후 임상적용 시 치료 순응도에 적지 않은 영향을 미칠 것이다. 최근 국내에서 주 1회 용법의 서방형 성장호르몬(Sustained-Release Growth Hormone, SRGH; Declage Inj., LG생명과학, 한국)이 개발되었고, 이것이 뇌신경계 기능회복에 동일하게 긍정적인 효과를 보인다면 임상적용 시 편리성 및 환자의 치료 순응도를 높일 수 있을 것이다.

본 연구에서는 척수손상 백서의 척수강 내 그리고 복강 내로 주 1회 용법인 서방형 성장호르몬을 투여하여 운동 기능 및 조직학적인 회복 여부를 관찰함으로써 향후 척수손상 환자에서 임상적으로 적용하는데 하나의 실험적인 모델을 제시하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

가. 척수좌상 백서모델

1) 실험대상

생후 7주, 몸무게 250-300 g의 암컷 Sprague-Dawley 계 백서 40마리를 대상으로 후궁절제술을 시행하고 척수좌상 유발장치로 척수좌상을 유발하였다. 손상정도의 표준화는 척수손상 후 신경학적 기능 회복의 척도로 이용되는 Basso-Beattie-Bresnahan(BBB) locomotor rating scale⁴을 이용하여 손상 후 1일에 BBB locomotor score가

0-2점이었다가, 손상 후 1주일에 5-7점으로 호전된 중등도로 손상된 백서만을 연구대상으로 하였으며, 손상 후 1일에 측정된 좌, 우측 양 하지의 BBB locomotor score가 2점 이상 차이가 있는 경우는 제외하였다. 이상의 기준에 적합한 30마리의 백서를 선별하여, 이 30마리의 백서를 총 3개의 군으로 나누었고 척수손상 부위에 서방형 성장호르몬을 매주 4주간 투여한 군(A군, n=10), 복강 내에 서방형 성장호르몬을 매주 4주간 투여한 군(B군, n=10), 대조 손상 군으로 복강 및 척수강 내에 생리식염수를 주입한 군(C군, n=10)으로 나누었다.

2) 실험방법

마취는 디에틸 에테르(Diethyl ether)를 이용하여 백서를 진정시킨 후 케타민(Ketamine, 유한케타민 50주사, 유한양행, 한국) 100 mg/kg을 복강 내로 주입하여 전신마취를 시키고 백서를 복와위로 눕힌 상태에서 흉요추 부위 피부의 털을 전기면도기로 제거하였다. 베타딘 용액으로 소독한 후 척추의 정중선을 따라 피부를 절개하고, 척추 주위 근육을 모두 박리한 다음 제 8, 9 번째 흉추를 확인하고 후궁절제술을 시행하여 경막이 온전한 상태로 흉수를 노출시켰다(Fig. 1). 백서를 척수좌상 유발장치(impactor, NYU Spinal cord dropping device, USA)로 옮겨 올려놓고 집게로 상하 척추 극돌기를 고정된 뒤, 지지봉을 노출된 흉수와 같은 높이의 바로 옆에 위치하도록 하여 낙하높이의 기준점으로 정하였다. 노출된 흉수의 경막 수직상방에 충격 막대가 위치할 수 있도록 충격 막대를 천천히 내려서 막대가 척수의 표면에 닿은 지점을 확인하고 25 mm지점에 직경 3.0 mm, 무게 10 g인 막대를 위치시킨 뒤, 충격 막대를 떨어뜨려 척수손상을 유발하였다(Fig. 2). 이후 동물의 창상을 봉합한 후 항생제인 gentamycin sulfate

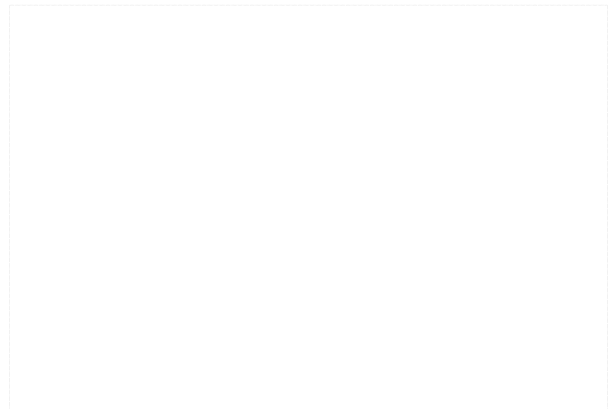


Fig. 1. Laminectomy was performed at T8-T9 level under ketamine HCl anesthesia with intact dura.

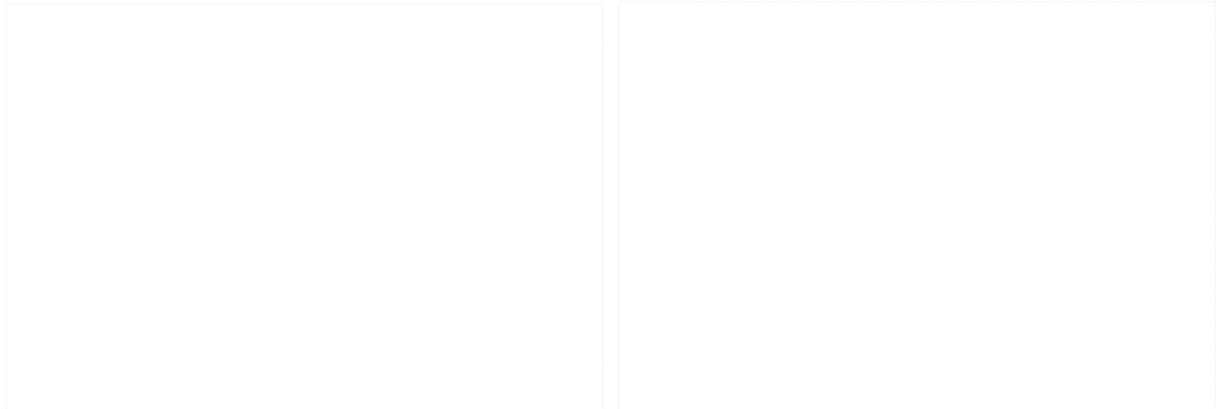


Fig. 2. The impact rod of the NYU Impactor was centered above T9 and dropped from a height of 25 mm to induce a consistent partial, incomplete spinal cord injury.

(Gentamicin[®], 한국 유나이티드) 0.6 mL/kg을 근육주사하고 하트만 용액을 5 cc 피하주사 한 후 온도조절 장치가 부착된 온열 패드(homeothermic blanket, Harvard, MA, USA)에 올려놓고 마취에서 회복될 때까지 체온을 36-37°C로 유지하였다. 척수좌상 직후부터 모든 백서는 실내온도 24°C 이상의 환경에서 사육되었으며 감염증을 예방하기 위해 gentamicin sulfate(0.6 mL/kg)를 1일 1회 총 5일간 근육주사하였고, 탈수 및 전해질 대사 이상을 방지하기 위해 1일 1회 5cc의 하트만 용액을 피하주사하였다. 자발적 배뇨관리가 가능할 시점까지 1일 3회씩 총 7일간 백서의 복부를 압박하여 방광관리를 시행하였다. 실험기간 동안 표준사료와 물은 충분히 공급하였고 실험동물의 운동을 제한하지 않고 자유롭게 움직이도록 하였다.

나. SRGH의 투여

A군에서 척수손상 부위 내에 SRGH의 투여는 척수손상 후 1주일째부터 4주째까지 매회 1/20 vial(0.6 mg, 0.1 mL)을 총 4회에 걸쳐 투여하였고, 투여방법은 이전 후궁절제술을 시행할 때 절개했던 부위로 피부절개를 가하고 후궁절제술을 시행했던 위치, 즉 흉추의 제 8, 9번 위치에서 일회용 주사기바늘을 찔러 척수에 손상을 주지 않도록 주의하며 조심스럽게 SRGH를 주입하였다. B군 및 대조 손상 군인 C군에서도 위와 같은 방법으로 척수강 내로 생리식염수 0.1 mL를 투여하였고, 투여 횟수는 동일하였다. B군에서는 anti-McBurney point에 일회용 주사기를 찔러 복강 내로 SRGH를 투여하였고, 역시 척수손상 후 1주일째부터 4주째까지 매회 1/10 vial(1.2 mg, 0.2 mL)을 총 4회에 걸쳐 투여하였다.

다. 기능 회복 평가

모든 백서에서 척수손상을 받은 지 1주 뒤, 즉 SRGH 투여 직전 및 투여 후 4주째에 운동기능을 평가하였다. Basso Beattie Bresnahan(BBB) 척도 및 경사대 검사(inclined plane test)를 통해 신경학적 기능의 회복 정도를 관찰하였다. 측정에 있어서는 실험자의 치료에 대한 편견을 배제하기 위해 서로 다른 두 측정자가 각각 측정한 평균치를 사용하였다.

a. 백서의 기능적 보행 분석을 위한 Dynamic open-field ambulatory device(DOFAD)와 Basso Beattie Bresnahan(BBB) 척도: 척수좌상 유발 전후 백서의 운동 기능 분석을 위해 아크릴을 주재료로 밑면에는 45도 경사진 유리를 부착한 DOFAD를 제작하여 이 안에서 백서의 자유로운 보행을 유도함으로써 족부의 체중 부하양상을 비디오로 촬영, 녹화하여 척수좌상 백서의 후족의 움직임, 체중부하 및 보행양상의 변화를 1996년 Basso 등이 제시한 21점 만점 척도인 BBB척도로 평가하였다(Table I).

b. 백서의 체간 균형 능력을 평가하기 위한 경사대 검사: 척수좌상 유발 전후 백서의 체중부하 정도 및 체간의 균형능력을 평가하기 위해 아크릴을 재료로 40도 부터 5도씩 증가시켜 최대 80도까지 측정할 수 있는 경사대를 제작하여, 1977년 Rivlin과 Tator가 제시한 5초 이상 체위균형이 가능하며 미끄러지지 않는 최대 경사각도를 측정하였다.

라. 조직학적 검사

척수손상 후 5주(SRGH 투여 후 4주)째에 모든 군의 백서를 희생시켜 조직학적 평가를 시행하였다. 케타민을 복강 내에 주사하여 전신마취를 시킨 후 가슴을 절개

Table I. Basso, Beattie, and Bresnahan Locomotor Rating Scale

0	No observable hindlimb(HL) movement
1	Slight movement of one or two joints, usually the hip and/or knee
2	Extensive movement of one joint or extensive movement of one joint and slight movement of one other joint
3	Extensive movement of two joints
4	Slight movement of all three joints of the HL
5	Slight movement of two joints and extensive movement of the third
6	Extensive movement of two joints and slight movement of the third
7	Extensive movement of all three joints of the HL
8	Sweeping with no weight support or plantar placement of the paw with no weight support
9	plantar placement of the paw with weight support in stance only(i.e., when stationary) or occasional, frequent, or consistent weight-supported dorsal stepping and no plantar stepping
10	Occasional weight-supported plantar steps; no FL-HL coordination
11	Frequent to consistent weight-supported plantar steps and no FL-HL coordination
12	Frequent to consistent weight-supported plantar steps and occasional FL-HL coordination
13	Frequent to consistent weight-supported plantar steps and frequent FL-HL coordination
14	Consistent weight-supported plantar steps, Consistent FL-HL coordination, and predominant paw position during locomotion is rotated(internally or externally) when it makes initial contact with the surface as well as just before it is lifted off at the end of stance; or frequent plantar stepping, consistent FL-HL coordination, and occasional dorsal stepping
15	Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination and no toe clearance or occasional toe clearance during forward limb advancement; predominant paw position is parallel to the body at initial contact
16	Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait and toe clearance occurs frequently during forward limb advancement; predominant paw position is parallel at initial contact and rotated at lift off
17	Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait and toe clearance occurs frequently during forward limb advancement; predominate paw position is parallel at initial contact and lift off
18	Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait and toe clearance occurs consistently during forward limb advancement; predominant paw position is parallel at initial contact and rotated at lift off
19	Consistent plantar stepping and consistent FL-HL coordination during gait, toe clearance occurs frequently during forward limb advancement; predominant paw position is parallel at initial contact and lift off, and tail is down part or all of the time
20	Consistent plantar stepping and consistent coordinated gait, consistent toe clearance, predominant paw position is parallel at initial contact and lift off, and trunk instability; tail consistently up
21	Consistent plantar stepping and consistent coordinated gait, consistent toe clearance, predominant paw position is parallel throughout stance, and consistent trunk stability; tail consistently up

하고 좌심실을 노출시킨 다음 주사기를 이용해 심장에 생리식염수 및 4% 파라포름알데하이드 30 mL를 관류시켜 실험동물을 희생시키고, 척수좌상 중심부를 포함한 상하 2 cm의 척수를 적출하여 형태를 유지할 수 있도록 10% 포르말린에 넣고 48시간 동안 고정된 뒤 파라핀 절편을 제작하여 hematoxylin-eosin(H-E) 염색과 신경조직을 관찰하기 위한 luxol fast blue 염색을 시행한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 형태계측학적 관찰을 위해 각 실험군에서 40배율로 인화된 척수 단면의 광학현미경 사진을 스캐닝한 후 Image-pro® Plus(Version 4.0, Media Cybernetics, L. P.) 프로그램을 이용하여 척수 횡단면에 대해 손상되지 않은 잔여 회백질의 비율을 구하였다.

마. 통계학적 분석

통계처리는 SPSS version 10.0 프로그램을 이용하였다. 척수좌상 실험 군과 대조 손상 군의 운동기능 회복 및 손상 5주째 척수 횡단면에 대한 잔여 회백질의 비율의 통계적 분석은 paired t-test로 검증하였고, 통계학적 유의수준은 p 값을 0.05 이하로 하였다.

III. 결 과

가. 기능 회복 평가

척수손상 백서에서 척수손상 후 1주째 BBB 척도는 모든 군에서 6.0-6.2점으로 비슷하게 분포하였으나 SRGH를 투여한 후 4주째 결과에서 척수강 내에 투여한 군(13.2 ± 0.69)과 복강 내에 투여한 군(13.1 ± 0.56)에

Table II. Comparison of Functional Improvement with BBB Scores and Inclined Angle in All Groups

Time after injury	BBB scores		
	Group A	Group B	Group C
week 1	6.2 ± 0.82	6.0 ± 0.78	6.1 ± 0.72
week 5	13.2 ± 0.69*	13.1 ± 0.56 [†]	10.7 ± 0.67

Time after injury	Inclined angle(degree)		
	Group A	Group B	Group C
week 1	51.1 ± 2.21	49.9 ± 2.34	50.6 ± 2.54
week 5	64.7 ± 2.41*	63.5 ± 2.56 [†]	59.3 ± 2.56

Values are mean±standard deviation
 BBB: Basso-Beattie-Bresnahan locomotor rating scale, Group A: SRGH infusion into spinal cavity, Group B: SRGH infusion into peritoneal cavity, Group C: Normal saline infusion into peritoneal cavity.
 *: comparison between Group A and C, $p<0.05$, [†]: comparison between Group B and C, $p<0.05$.

Table III. Comparison of Percentage of Cross-sectional Area of Residual/Total Spinal Cord after Spinal Cord Contusion in SRGH and Control Groups

Time after injury	Percentage of cross-sectional area of residual/total spinal card(%)		
	Group A	Group B	Group C
week 5	72.1 ± 2.7*	72.0 ± 2.5 [†]	67.4 ± 2.7

Values are mean ± standard deviation.
 Group A: SRGH infusion into spinal cavity, Group B: SRGH infusion into peritoneal cavity, Group C: Normal saline infusion into peritoneal cavity.
 *: comparison between Group A and C, $p<0.05$, [†]: comparison between Group B and C, $p<0.05$.

서 시간이 지남에 따라 대조 손상 군(10.7 ± 0.67)에 비하여 높은 BBB 점수를 보였다. BBB 척도를 이용하여 평가한 운동 기능의 회복정도는 SRGH를 척수 내에 투여한 군과, 복강 내에 투여한 군에서 대조 손상 군에 비해 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p<0.05$). 5초 이상 체위균형이 가능하며 미끄러지지 않은 최대경사 각도를 이용하여 운동 기능을 평가한 경사대 검사에서도 손상 후 5주(이식 후 4주)째에 SRGH를 척수 내에 투여한 군과, 복강 내에 투여한 군에서 대조 손상 군에 비해 유의한 기능적 호전을 보였다($p<0.05$)(Table II).

나. 조직학적 검사

SRGH를 투여한지 4주째에 기능적 평가를 시행한 후 30마리의 백서를 희생시켜 조직학적 검사를 시행하였다. 대조군에서는 척수 좌상에 의해 척수 후근 회질부에 비전형적 탐식세포의 침투, 축삭 변성, 부종, 척수 공동형성 등의 소견을 확인 할 수 있었다. SRGH를 척수 내에 투여한 군과 복강 내에 투여한 군에서는 손상에

의한 조직의 염증 소견이 상대적으로 미미하게 나타났다. 척수 횡단면에 대한 잔여 회백질의 비율은 SRGH를 척수 내에 투여한 군(72.1 ± 2.7)과 복강 내에 투여한 군(72.0 ± 2.5)에서 대조 손상 군(67.4 ± 2.7)에 비해 유의하게 높았다($p<0.05$)(Fig. 3)(Table III).

IV. 고 찰

척수손상 후 발생하는 신경장애는 직접적 물리적 손상에 의한 것과 외상 직후부터 진행되는 이차적 손상에 의한 것으로 구분할 수 있다. 급성 외상성 척수손상의 일차적 손상은 물리적, 기계적 손상으로 사람의 경우 척추 골절이나 전위가 발생하여 척수 내로 뼈나 추간판이 밀고 들어오면서 척수의 압박손상이나 열상 등이 유발되는 것이며, 동물모델의 경우는 막대가 낙하하면서 발생하는 압박과 분쇄 등의 물리적인 요인이 일차적 손상의 원인이 된다.

이차적인 세포 손상의 명확한 기전은 아직 밝혀지지

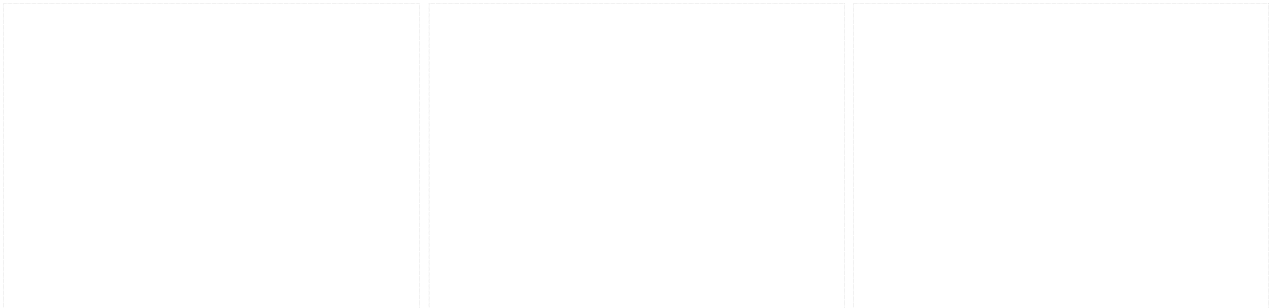


Fig. 3. Photomicrographs of cross-sectional area of spinal cord in all groups (hematoxylin and eosin stain, luxol fast blue stain, original magnification, $\times 40$). (Left) SRGH group at post-infusion 4 weeks into spinal cavity group; it shows minimal infiltration of atypical phagocytes. (Center) SRGH group at post-infusion 4 weeks into peritoneal cavity group; it shows minimal infiltration of atypical phagocytes. (Right) Control group; The remaining gray matter exhibited reduction in neuronal cell body. The remaining white matter was shown contained numerous microcysts.

않았지만 일차적인 손상 후 손상된 척수의 허혈, 탈수 초화, 세포사 등의 급격한 변화가 진행되면서 내부 생리적 균형이 깨지고 결과적으로 운동기능 부전 등의 이차적인 후유증들이 발생한다고 알려져 왔다. 이 중 대표적인 가설로써 지질과 산화에 의한 과량의 칼슘 유입, 허혈, 세포막의 파괴 등이 주류를 형성하고 척수좌상에 의한 세포 내 인지질가수분해효소의 활성화 및 미토콘드리아의 전자 이동 차단이 인산화를 방해하고 독성 물질을 유리시키는 것이 주기전이며, 그 외 여러 인자가 복합적으로 작용한다고 알려져 있다.⁵

따라서 손상 직후 급성기에 비교적 가역적인 요소를 포함하고 있는 이차적인 변화를 차단시켜 척수손상 정도를 최소화시키려는 노력으로 저체온요법 및 여러 약물요법 등이 실험적으로 보고되고 있으나 뚜렷한 치료법이 없어 어려움이 있는 것이 현실이다.

손상 당시 손상 정도가 결정되는 일차손상 시기의 중재적인 치료 목표는 축삭을 보존하여 그 기능을 최대화하고 신경원과 신경교의 사멸을 최소화 하는 것이며, 그 이후의 목표로는 손상된 축삭의 재생과 끊긴 *supraspinal connection*을 회복하는 것이다. 이러한 축삭의 성장을 자극하는 데는 신경성장인자의 투여가 기능 회복에 도움을 준다는 연구가 보고되고 있다.^{4,6-10}

신경성장인자(*neurotrophic factor*)는 신경계의 발달 및 유지를 위한 필수적 조절인자이다. 이러한 신경성장인자들로는 *fibroblast growth factor*(FGF), *nerve growth factor*(NGF), *brain-derived neurotrophic factor*(BDNF), *neurotrophin-3*(NT-3), *neurotrophin-4/5*(NT4/5), *glia cell line-derived neurotrophic factor*(GDNF), *leukemia inhibitory factor*(LIF) 등이 확인되었다. 이들 물질은 특히 신경의 생존, 축삭 성장, 시냅스 가소성 등의 조절자 역할을 담당하는 물질로서 뇌졸중이나 척수손상 동물모

델 실험을 통해 이들 물질은 신경의 손상을 방지하고 축삭의 성장을 유도하며 최종적으로 기능적 회복을 돕는 역할을 담당하는 것으로 확인되었다.

그 예로, 실험적으로 손상된 척수조직에 신경성장인자인 NT-3를 투여하였을 때 손상된 피질-척수 축삭(*corticospinal axon*)의 성장과 부분적이지만 신경기능의 회복을 볼 수 있었고,^{4,6-10} 또한 손상된 피질-척수로(*corticospinal tract*)에 투여한 BDNF와 GDNF로 피질-척수로 주변의 감각-운동 피질에 과발현 되어 있는 것이 발견되었고 또한 *axonal sprouting*을 볼 수 있었다.^{8,11} Sanchez 등¹²은 성인 골수세포에 EGF와 BDNF를 투여하여 신경세포로의 발현을 보고하였다.

성장호르몬은 뇌하수체에서 분비되며 *insulin-like growth factor-I*(IGF-I)을 매개로 중추신경계의 성장과 발달에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고, 그 외에 독자적인 작용이 있는 것으로 알려져 있는데, 정상 세포에 직접 작용하거나 맥락막, 연막 등의 뇌실질 세포에 결합하여 다른 작용을 하는 것으로 추측되지만, 정확한 기전은 밝혀져 있지 않다.³

성장호르몬이 중추신경계에 작용하기 위해서는 체내로 투입된 성장호르몬이 뇌의 혈액장벽을 통과해야만 가능한데, 성장호르몬은 분자량이 매우 커서 혈액장벽의 통과가 불가능하여 높은 혈중 농도에도 불구하고 뇌척수액에서는 낮은 농도로 유지된다고 한다. 따라서 성장호르몬을 고용량으로 사용할 경우에만 부분적으로 신경보호작용이 있다고 하였다.^{13,14} 본 실험에서는 이러한 혈액장벽에 의한 영향을 최소화하고 성장호르몬의 효과를 최대화하기 위한 척수강 내에 직접 투여하는 방법과 이러한 혈액장벽을 극복하기 위해 고용량의 성장호르몬을 복강 내로 투여하는 방법을 사용하였다.

최근 연구들에서, 척수손상 환자에서 혈장 내 몇 가

지의 뇌하수체 호르몬 수치의 변화로 인해 신경내분비계에 변화를 보이고, 이 뇌하수체 호르몬 중 성장호르몬이 평소 또는 운동 시 모두에서 분비된다는 것이 보고되었으며, 척수손상 환자에서 운동, 안정 시 체내 성장호르몬 분비의 결핍이 있음이 증명되었다.² 이 결과들로 척수손상 환자에서 혈장 내 성장호르몬 치가 감소함을 알 수 있다.

성장호르몬의 분비가 정상세포에너지 대사과정에 연관되어 있으며, 이로 인해 뇌신경계 기능에 어느 정도의 긍정적인 역할을 하는 것으로 보인다. 노화가 진행함에 따라 성장호르몬의 분비는 감소한다는 것이 보고된 바 있고, 이것으로 척수손상에 따른 성장호르몬의 감소와 혈장 내 농도저하가 신경계 퇴행성 변화와 연관되어 있음을 알 수 있다. 그러므로 성장호르몬의 외부 투여가 척수손상 환자에서 신경 재생이나 기능 회복에 긍정적인 효과를 낼 가능성을 알 수 있다.

기존의 성장호르몬은 매일 투여해야 하는 단점이 있다. 이는 이 후 임상적용 시 치료 순응도에 적지 않은 영향을 미칠 것이다. 최근 국내에서 주 1회 용법의 서방형 성장호르몬(Sustained-Release Growth Hormone, SRGH; Declage Inj., LG생명공학)이 개발되었고, 이것이 뇌신경계 기능회복에 동일하게 긍정적인 효과를 보인다면 임상적용 시 편리성 및 환자의 치료 순응도를 높일 수 있을 것이다.

본 실험에서 SRGH를 주입한지 5주째에 척수강 내 투여 군과 복강 내 투여 군에서 대조 손상 군에 비해 Basso-Beattie-Bresnahan(BBB) locomotor rating scale에서 유의한 운동 기능의 개선을 확인할 수 있었다. 그리고 백서가 중심을 유지하면서 미끄러지지 않은 최대 각도(inclined angle)를 이용하여 기능적 회복을 확인한 결과 척수강 내 투여 군과 복강 내 투여 군에서 대조 손상 군에 비해 유의한 운동 기능의 개선을 볼 수 있었다. 기능적 평가를 시행한 후 30마리의 백서를 희생시켜 조직학적 검사를 시행하였다. 대조군에서는 척수 좌상에 의해 척수 후근 회질부에 비전형적 탐식세포의 침투, 축삭 변성, 부종, 척수 공동형성 소견을 확인할 수 있었으며, 척수강 내 투여 군과 복강 내 투여 군에서는 대조군과 비교해서 잔여 회백질의 비율이 유의하게 높았고 이를 통해서 회백질의 회복을 확인할 수 있었다.

앞선 다른 연구들에서 척수손상 시 성장호르몬이 신경 기능 회복에 중요한 역할을 하는 인자라고 보고했고, 본 연구를 통해서 SRGH의 척수강 내 투여 및 복강 내 투여가 척수손상 백서에서 기존의 성장호르몬과 유사하게 신경회복에 긍정적인 역할을 하는 것을 확인하였고, SRGH의 임상적용 시 투여의 편리성과 환자의 치

료 순응도를 높이는데 도움이 되리라 생각된다.

V. 결 론

본 연구에서는 척수손상 백서에서 SRGH를 손상 1주 후부터 4주에 걸쳐 매주 척수강 내, 복강 내로 투여하여 4주 동안 관찰함으로써 척수좌상 백서에서 SRGH 투여에 따른 기능적 회복을 관찰하였다. SRGH를 척수강 내, 복강 내로 투여한 실험동물 군에서 투여 4주째에 대조 손상 군의 운동 기능 개선 정도에 비해 유의한 운동 기능의 개선을 볼 수 있었다. SRGH의 투여에 의한 조직학적인 회복정도를 척수 횡단면에서 잔여 회백질의 비율을 구하여 비교하였고 대조군에 비해 SRGH를 척수강 내, 복강 내에 투여한 군에서 유의한 회복 정도의 차이를 보였다. 이를 통해 SRGH가 성장호르몬과 유사하게 척수손상 환자의 기능회복에 도움을 줄 수 있음을 확인하였고, 이는 성장호르몬 투여의 편리성을 증대시켜줄 것이다.

REFERENCES

1. Kakulas BA: Neuropathology: the foundation for new treatments in spinal cord injury. *Spinal Cord* 42: 549, 2004
2. Scheepens A, Sirimanne ES, Breier BH, Clark RG, Gluckman PD, Williams CE: Growth hormone as a neuronal rescue factor during recovery from CNS injury. *Neuroscience* 104: 677, 2001
3. Guan J, Bennet L, Gluckman PD, Gunn AJ: Insulin-like growth factor-1 and post-ischemic brain injury. *Prog Neurobiol* 70: 443, 2003
4. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC: A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma* 12: 1, 1995
5. Wrathall JR, Pettegrew RK, Harvey F: Spinal cord contusion in the rat: production of graded, reproducible, injury groups. *Exp Neurol* 88: 108, 1985
6. Blesch A, Lu P, Tuszynski MH: Neurotrophic factors, gene therapy and neural stem cells for spinal cord repair. *Brain Res Bull* 57: 833, 2002
7. Blesch A, Uy HS, Grill RJ, Cheng JG, Patterson PH, Tuszynski MH: Leukemia inhibitory factor augments neurotrophin expression and corticospinal axon growth after adult CNS injury. *J Neurosci* 19: 3556, 1999
8. Zhou L, Baumgartner BJ, Hill-Felberg SJ, McGowen LR, Shine HD: Neurotrophin-3 expressed in situ induces axonal plasticity in the adult injured spinal cord. *J Neurosci* 23: 1424, 2003
9. Grill R, Murai K, Blesch A, Gage FH, Tuszynski MH: Cellular delivery of neurotrophin-3 promotes corticospinal axonal growth and partial functional recovery after spinal cord injury. *J Neurosci* 17: 5560, 1997
10. Liu Y, Kim D, Himes BT, Chow SY, Schallert T,

- Murray M, Tessler A, Fischer I: Transplants of fibroblasts genetically modified to express brain-derived neurotrophic factor promote regeneration of adult rat rubrospinal axons and recovery of forelimb function. *J Neurosci* 19: 4370, 1999
11. Lu P, Jones LL, Snyder EY, Tuszynski MH: Neural stem cells constitutively secrete neurotrophic factors and promote extensive host axonal growth after spinal cord injury. *Exp Neurol* 181: 115, 2003
 12. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedeford T, Willing A, Freeman TB, Saporta S, Janssen W, Patel N, Cooper DR, Sanberg PR: Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells *in vitro*. *Exp Neurol* 164: 247, 2000
 13. An RZ, Yu JH, Song KS: The Neuroprotective effect of growth hormone on neuronal injury of brain in pilocarpine induced status epilepticus. *J Korean Soc Endocrinol* 16: 26, 2001
 14. Coculescu M: Blood-brain barrier for human growth hormone and insulin-like growth factor-I. *J Pediatr Endocrinol Metab* 12: 113, 1999