

맥락얼기 뇌실막세포이식이 척수 손상
흰쥐의 신경재생에 미치는 영향

연세대학교 대학원
의 학 과
오 형 석

맥락얼기 뇌실막세포이식이 척수 손상
흰쥐의 신경재생에 미치는 영향

지도교수 박 경 아

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2004년 6월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

오 형 석

오형석의 박사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2004년 6월 일

감사의 글

이 논문이 완성되기까지 끊임없는 격려와 세심한 지도를 하여 주신 박경아 지도교수님께 진심으로 감사드리며, 바쁘신 일정에도 논문을 지도하여 주신 이원택 교수님, 박은숙 교수님, 박수철 교수님, 그리고 가톨릭 의대 천명훈 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

그리고 논문이 완성되기까지 세심한 배려를 해주신 이중은 교수님과 해부학교실원 여러분께 감사드립니다.

또한 현재의 제가 있기까지 많은 사랑과 도움을 주신 아주의대 재활의학교실과 연세의대 재활의학교실의 여러 선생님들께도 진심으로 감사드립니다.

오늘에 이르기까지 한결같은 사랑으로 이끌어 주신 부모님과 장인어른, 장모님의 은혜에 감사드리며 길고 힘든 과정을 무사히 마칠 수 있도록 곁에서 힘이 되어준 사랑하는 아내와 두 딸에게 역시 고맙다는 말을 하고 싶습니다.

끝으로 이 작은 결실이 의학발전에 조금이나마 도움이 되길 기원합니다.

저자 씀

차 례

그림 및 표 차례	
국문요약	1
I. 서론	2
II. 재료 및 방법	6
1. 실험동물	6
2. 척수 수술 방법	6
3. 표본 제작	7
4. 면역조직화학염색	8
5. 관찰 및 분석	8
III. 결과	9
1. 실험동물의 행동 관찰 소견	9
2. 육안적 소견	10
3. 조직학적 소견	10
가. 정상대조군	10
나. 타박상유발군	10
나A. 타박상을 유발한 후 맥락얼기 뇌실막세포를 이식하지 않은 실험군	10
나B. 타박상을 유발한 후 맥락얼기 뇌실막세포를 이식한 실험군	11
다. 척수가로절단군	12
다A. 척수가로절단 후 맥락얼기 뇌실막세포를 이식하지 않은 실험군	12
다B. 척수가로절단 후 맥락얼기 뇌실막세포를 이식한 실험군	13

다C. 척수가로절단 후 맥락얼기 뇌실막세포를

이식하고 매일 신경성장인자를 투여한 실험군 13

IV. 고찰 23

V. 결론 27

참고문헌 28

영문요약 36

그림 차례

Figure 1. 정상대조군(A)과 타박상 유발군(B)의 Nissl 염색	15
Figure 2. 타박상 유발후 맥락열기 뇌실막세포를 삽입한 군의 Nissl염색	16
Figure 3. 타박상 유발후 맥락열기 뇌실막세포를 삽입한 군의 신경세사 항체를 이용한 면역조직화학염색	17
Figure 4. 타박상 유발후 맥락열기 뇌실막세포를 삽입한 군의 아교섬유산 성단백질항체를 이용한 면역조직화학염색	18
Figure 5. 타박상 유발후 맥락열기 뇌실막세포를 삽입한 군의 tyrosine hydroxylase 항체를 이용한 면역조직화학염색	19
Figure 6. 척수를 가로절단한 실험대조군의 Nissl 염색	20
Figure 7. 척수절단 후 맥락열기 뇌실막세포를 삽입한 군의 H-E 염색	21
Figure 8. 척수절단 후 맥락열기 뇌실막세포를 삽입하고 신경성장인자를 투여한 군의 H-E 염색	22

국문요약

맥락얼기 뇌실막세포이식이 척수 손상 흰쥐의 신경재생에 미치는 영향

흰쥐를 대상으로 척수를 완전히 가로절단 또는 둔상으로 손상을 가한 후 손상 부위의 신경원을 재생시킬 수 있다고 생각되는 조직인 맥락얼기 뇌실막세포를 삽입한 다음 기능의 회복이 일어난 실험동물의 척수에 어떠한 형태학적 변화가 오는지를 관찰하고자 본 실험을 시도하였다.

맥락얼기 뇌실막세포 삽입은 최초로 손상을 가한 후 1-2주후에 실시하였다. 형태학적인 관찰을 하기 위해, H-E, Nissl 염색, 신경세사단백질, 아교섬유산성단백질 면역조직화학염색을 하였고, 실제로 신경의 재생이 일어나 척수 원위부로 자라나는지를 관찰하기 위해 norepinephrine 생합성의 속도제한 효소인 tyrosine hydroxylase와 serotonin을 항원으로 하는 면역조직화학방법을 이용하여 하행섬유가 손상 원위단으로 성장하는지를 관찰하고자 하였다.

맥락얼기 뇌실막세포를 넣어준 척수손상 동물에서는 마비된 뒷다리에 운동이 일어나 회복된 양상이 일부에서 나타났으며, H-E 염색과 Nissl 염색에서는 손상된 부위가 크게 감소했고, 근위부와 원위부에 모두 정상적인 회색질의 앞뿔신경세포가 나타났다. 백색질도 섬유다발로 이어졌으며, tyrosine hydroxylase와 serotonin 양성신경원이 원위부쪽으로 성장하는 현상을 관찰할 수 있었다.

핵심되는 말 : 맥락얼기 뇌실막세포, 척수손상, 신경재생

맥락얼기 뇌실막세포이식이 척수 손상 환자의 신경재생에 미치는 영향

<지도교수 박경아>

연세대학교 대학원 의학과

오 형 석

I. 서 론

척수 손상은 인간의 활동성을 극도로 제한하는 심각한 질환으로 미국에서는 주요 외상 환자의 약 3%를 차지하고 있다¹. 그 원인의 첫번째로는 교통사고가 차지하고 있어(40%) 우리나라와 같이 교통사고가 빈발하는 지역에서는 특히 중요한 연구의 대상이 되고 있다.

중추신경계의 재생이란 현대의 과학이 풀어야 할 가장 큰 과제라 할 수 있다. 말초신경계의 재생은 활발히 일어나고 있음이 이미 보고되어 있으나^{2,3}, 중추신경계에서는 아직까지 효과적인 재생방법이 확립된 바 없다.

특히 신경재생은 중추신경계가 말초신경계에 비해 매우 제한적이며 이는 중추신경계의 별아교세포(astrocyte), 신경성장인자(nerve growth factor, NGF)와 밀접한 연관이 있다고 알려져 있다^{4,5}.

근년에 와서 중추신경계의 재생에 관한 여러 종류의 실험이 시행되어

보고된 바 있다. 즉, 말초신경계를 이식한다거나⁶⁻⁸, 배아의 중추신경조직을 이식하거나⁹, 또는 특정한 항체를 이용하여 성장방해인자를 중화시키는 방법¹⁰들을 이용하고 있다. 척수와 시신경에 말초신경을 이식하여 재생된 중추신경 축삭이 슈반세포 기둥(column)을 따라 길게 성장하여 목표구조에 시냅스를 형성한 보고도 있다¹¹⁻¹⁵.

특히 최근에 와서 척수손상에 대한 연구는 재생을 촉진하는 조직 이식의 개발에 의해 척수손상을 극복할 수 있고 재생이 성공적으로 이루어질 수 있으리라는 낙관적인 전망이 보고 되고 있다^{16,17}. 성숙한 동물에서 척수손상시 절단된 척수 사이를 말초신경조직인 여러 개의 갈비뼈사이신경을 이식하고 섬유모세포 성장인자(acidic fibroblast growth factor)를 함유한 접착물질로 이어줘 기능적인 회복이 있었다는 발표가 있었으며^{15,18}, 유일하게 신경원이 재생되는 조직인 후각상피의 섬유다발인 후각신경에 존재하는 신경아교세포를 절단된 척수 사이에 넣어 기능적으로 회복되었다는 보고도 있다¹⁹. 이원택 등(2003)은 절단된 척수 사이에 후각망울(olfactory bulb)를 넣어주어 거의 완벽한 척수의 연결상태를 보고한 바 있다²⁰. 이 중에서 말초신경조직이나 슈반세포는 얻기는 쉽지만 그 자체가 죽은 신경원의 재생에 어떠한 영향을 미치는지는 불확실하며, 인간 신경줄기세포는 다른 신경원으로 분화할 수 있는 세포이기는 하지만 얻기가 쉽지 않으며 후각망울 역시 얻기가 쉽지 않다는 단점이 있다.

최근에 와서 척수손상 부위에 맥락얼기(choroid plexus)를 이식하면 재생에 효과를 보인다는 보고가 있었다. 맥락얼기 상피세포는 뇌실벽의 뇌실막세포(ependymal cell)와 같은 기원으로, 일종의 변형된 뇌실막세포라고 간주되고 있다. 이러한 맥락얼기의 뇌실막세포는 신경 재생을 촉진하는 인자를 분비하며 이식하였을 때 별아교세포로 분화하는 등 신경 재생에 효과가 있어 척수의 신경조직재생에 도움이 된다는 보고가 있다²¹.

동물에서 척수 손상 후 재생 과정은 신생동물과 성숙 후에 큰 차이가 있다고 보고 되어 있다^{4,22-27}. 특히 신생동물에서의 척수손상은 태아의 척수조직을 이식한 경우 매우 좋은 결과를 나타내어, 중추신경계의 경로를 따라 축삭이 자라는 것을 도와주며 척수상부자극(supraspinal input)을 고유척수신경원(propriospinal neuron)에 전달한다는 보고가 있다²⁷.

척수손상 시 신경계와 관련된 성장인자(neurotrophic factor)의 역할에 관한 많은 보고가 있다. 척수 손상 후 뇌기원신경영양인자(brain derived neurotrophic factor, BDNF)를 투여하여 blood-spinal cord barrier의 투과성을 약화시켜 신경보호작용을 나타내었다는 연구와²⁸, 아교세포계열기원신경영양인자(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)를 투여함으로써 신경보호작용과 동시에 축삭재생을 촉진시켰다는 보고도 있다²⁹⁻³¹. 척수 손상 후 척수의 신경성장인자(nerve growth factor, NGF) 농도를 측정할 결과 신경성장인자가 부족하다는 보고도 있었다³². 신경성장인자는 신경아교세포의 분열을 촉진하는 효과를 나타내므로 뇌실막세포의 기능을 도와줄 가능성이 있는 반면, 축삭의 성장을 막는 별아교세포의 분열도 촉진하여 재생을 가로막을 가능성도 있다. 따라서 NGF의 투여가 실제로 척수손상 시 도움을 줄 수 있는지를 확인하기 위하여 본 실험에서도 투여효과를 관찰하고자 하였다.

이와 같은 기존의 학설을 뛰어넘는 척수손상 재생과정에 대한 기전과 분석은 아직 잘 이루어져 있지 않으며, 기존의 연구에서 척수손상 후 맥락열기 뇌실막세포의 투여는 아직 파일럿 연구 중인 주제로 세계적으로 연구하고 있는 연구 집단이 거의 없다. 만약에 이러한 연구 결과가 성공적인 경우 우리나라에 빈발하는 교통사고로 인한 척수손상으로 고통 받는 수많은 환자에게 실질적으로 도움이 될 수 있다는 점에서 매우 흥미로운 연구 분야이다.

본 연구에서는 흰쥐에서 척수를 완전하게 가로 절단하거나, 타박상을 유발시킨 후, 절단된 척수 사이를 맥락열기 뇌실막세포를 삽입한 다음 기능의 회복이 일어난 실험동물의 척수에 어떠한 형태학적 변화가 오는지를 관찰하고자 하였다. 또한 그러한 경우 신경성장인자(NGF)를 투여하면 그 재생과정에 있어 촉진효과를 나타낼 수 있는지를 관찰하고자 하였다.

또한 실제로 신경섬유의 재생이 손상부위를 가로질러 일어나는지를 규명하기 위해 norepinephrine 생합성의 속도제한효소인 tyrosine hydroxylase와 serotonin을 항원으로 하는 면역조직화학방법을 이용, 하행 섬유가 손상 원위단으로 성장하는지를 관찰하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

Sprague-Dawley 계통의 성숙한 흰쥐(웅성, 250 - 350 g)를 사용하였다. 실험군으로는 척수를 가로절단한 군과 타박상(contusion)을 유발시킨 두 개의 군으로 나누어 각각 20마리씩 척수손상을 일으키고, 2주후에 다시 수술하여 맥락열기 뇌실막세포를 삽입하였으며, 척수를 가로절단한군은 다시 두개의 군으로 나누어 척수손상후 맥락열기 뇌실막세포만 삽입한 군과 척수손상후 맥락열기 뇌실막세포와 신경성장인자를 같이 투여한 군으로 나누었다. 대조군은 각각의 척수손상을 일으킨 후에 아무런 처치를 하지 않았다. 정상대조군은 추궁절제수술(laminectomy)만 시행하고 척수는 손상시키지 않는 수술(sham operation)을 하였다.

2. 척수 수술 방법

척수손상 수술 동물은 실험동물을 에테르(ether)로 가볍게 마취한 후 다시 Ketamine을 복강 주사하여 완전히 마취한 상태에서, 등의 피부를 절개하고 척추를 노출시킨 후 추궁을 절제하여 T9 척수분절의 척수를 노출시켰다. 노출된 T9 척수분절은 수술도를 사용하여 가로로 완전히 절단하였다. 절단 후 척수가 위아래로 수축되어 절단부위에 일정한 공간이 생긴 것을 확인하고 수술 후 다리의 신경반사와 운동여부를 확인하였다.

타박상 모델은 NYU 중량낙하장치(weight-drop device)를 사용하여 25 mm의 높이에서 10 g 중량충격봉(weight impact rod)을 1회 낙하하였다.

맥락열기 뇌실막세포 삽입 수술은 일차 척수 손상 수술 2주 후에 실시하였다. 척수손상모델에 삽입할 맥락열기 뇌실막세포는 척수손상모델에 삽입하기 직전에 흰쥐를 희생시킨 후 머리를 분리하고 두개골을 열어 뇌를 적출 후 4°C DMEM 배지하에서 측뇌실과 제 4뇌실에서 분리한 다음 역

시 DMEM 배지 100 μl 당 2마리분의 맥락얼기 뇌실막 세포를 잘게 부쇄 현탁액을 만들어 28게이지 주사기에 담아 냉장보관하였다. 마취한 상태에서 이미 수술한 T9 척수분절을 노출시킨 다음 먼저 준비한 맥락얼기 뇌실막세포 현탁액을 절단면 사이에 100 μl 주입하였다. 척수손상후 맥락얼기 뇌실막세포와 신경성장인자를 같이 투여한 군은 500 ng/kg의 신경성장인자를 맥락얼기 뇌실막세포를 삽입한 날로부터 2주 동안 매일 피하주사하였다. 대조군은 척수손상 후 아무런 처치를 하지 않았다.

수술이 끝난 동물은 항생제를 주사하여 비뇨관의 감염을 방지하였고, 배뇨기능이 정상으로 회복될 때까지 매일 두 차례 강제배뇨를 실시하였다.

3. 표본 제작

척수손상부위에 맥락얼기 뇌실막세포를 삽입하고 2주후에 척수손상부위에 맥락얼기 뇌실막세포를 삽입한 실험군 흰쥐와 아무런 처치를 하지 않은 실험대조군 흰쥐, 정상대조군 흰쥐를 각각 에테르로 마취시킨 후 가슴을 절개하고 생리식염수 용액을 심장을 통해 관류하였다. 이후 4% paraformaldehyde 용액으로 재관류하여 조직을 고정한 다음 척수의 분절을 확인하고 T9부위의 척수신경을 손상부위를 중심으로 2 cm 정도 되도록 척수를 적출하였다. 적출된 척수는 4% paraformaldehyde 고정액에 24시간 동안 고정한 후 탈수 하여 파라핀으로 포매한 후 박절기를 사용하여 두께 5 μm 로 박절하여 표본을 제작하였다.

표본은 hematoxylin-eosin (H-E) 염색, Nissl 염색을 하였으며, anti-tyrosine hydroxylase와 anti-serotonin, anti-ependymal cell marker, anti-neurofilament, anti-glia fibrillary acidic protein (GFAP)를 사용하여 peroxidase-antiperoxidase방법으로 면역조직화학염색을 하였다.

4. 면역조직화학염색

박절한 조직에서 파라핀을 제거(deparaffinization)한 후 0.01M phosphate buffered saline (PBS)으로 여러 번 수세하였다. 광학현미경하에서 관찰하기 위해서는 다음의 모든 용액에 0.02% Triton-X 100을 함유시켜 세포내로 항체의 투과율을 높였다. 10% normal goat serum으로 처리하여 비특이성 항원의 반응을 막고, anti-rabbit tyrosine hydroxylase 항체(Chemicon, Temecula, CA)를 가한 후 실온에서 하룻밤 반응시켰다. 반응이 끝난 표본을 PBS로 수세하고 anti-rabbit IgG로 1시간 동안 실온에서 반응시킨 후 PBS로 수세하였다. 여기에 HRP-conjugated antibody를 가하여 1 시간 동안 실온에서 반응시킨 후 0.05% diaminobenzidine으로 발색하여 표본을 제작하였다. 발색된 표본은 ethanol과 xylene을 이용한 통상의 탈수과정을 거쳐 탈수한 후 mounting solution을 가한 후 덮개유리를 씌워 관찰할 수 있는 표본을 제작하였다. 상기와 같은 방법으로 anti-serotonin, anti-ependymal cell marker, anti-neurofilament, anti-glial fibrillary acidic protein (GFAP)를 1차 항체로 각각 사용하여 면역조직화학염색을 하였다.

5. 관찰 및 분석

표본은 올림푸스(Olympus, Japan)사의 프로비스(Provis) 또는 배녹스(Vanox) 광학현미경을 사용하여 관찰하고 사진을 촬영하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 실험동물의 행동 관찰 소견

정상대조군의 동물에서는 마비가 나타나지 않았고, 근육의 긴장도나 반사 활성화에 이상이 없었다.

척수절단과 타박상유발로 척수를 손상시킨 실험대조군에서는 수술 후 바로 척수쇼크 상태에 들어가 근육이 완전히 마비되고 이완되었으며 반사(reflex)가 없었으나, 점차 시간이 경과할수록 근육에 강직(spasticity)이 나타나고 반사도 정상으로 돌아왔으며 일부에서는 과도반사(hyperreflexia) 소견을 보였으며, BBB (Basso, Beattie, Bresnahan) 점수가 1-2로 엉덩이 부분이나 넓다리부분의 약한 움직임만 관찰되었다. 또한, 대부분 탈진상태로 지냈으며, 배뇨반사도 없어져 하루에 두 번씩 배뇨를 위해 방광 위를 눌러 강제로 배뇨를 시행하였다. 상당수의 동물에서는 요로감염이 나타났으며, 사망하는 경우도 있었다.

척수를 절단하거나 타박상을 유발한 후 2주 뒤에 맥락얼기 뇌실막세포를 삽입한 군은 뇌실막세포를 삽입한 2주일 후부터 마비된 뒷다리가 약간씩 운동을 하는 것이 관찰되었으며, 체중을 실어 발가락으로 바닥으로 딛는 행동이 가능해질 정도의 운동회복이 일어났고, BBB 점수는 2-3부터 9-10까지 다양한 양상을 보이고 있었다. 척수를 절단한 후 2주 뒤에 맥락얼기 뇌실막세포를 삽입하고 2주동안 신경성장인자를 매일 투여한 군은 엉덩관절과 무릎관절의 꽤 큰 움직임이 관찰되는 정도의 회복을 나타내었으나 BBB 점수에 있어서는 평균치가 2-3으로 신경성장인자를 투여하지 않은 군과 큰 차이를 보이지 않았다.

2. 육안적 소견

척수절단군의 경우 실험군의 동물 모두 희생시켜 최종적으로 척수를 적출할 때 완전히 분리시킨 척수가 외형적으로는 거의 붙어있는 것으로 관찰되었다.

3. 조직학적 소견

가. 정상대조군

정상대조군은 H-E 염색과 Nissl 염색 소견 상 T9 척수분절에 어떠한 이상 소견도 나타나지 않았다(Fig. 1A).

신경세포체가 있는 회색질(gray matter)과 신경섬유로가 주행하고 있는 백색질(white matter)이 구분되어 나타났으며, 회색질에서는 뚜렷한 핵소체와 니슬소체를 나타내는 앞뿔(anterior horn)신경원을 확인할 수 있었고, 백색질에서는 신경로의 연속된 주행을 확인할 수 있었다.

정상대조군에서는 신경섬유의 연결상태를 확인하는 면역조직화학염색으로 norepinephrine 생합성 속도제한효소인 tyrosine hydroxylase (TH)와 뇌줄기로부터 하행전달되는 대표적인 신경전달물질인 serotonin의 항체를 이용한 면역조직화학염색을 실시하여 이에 양성반응을 보이는 신경섬유들이 외측섬유단(lateral funiculus)의 후측신경로에서 집단으로 관찰되었다.

나. 타박상유발군

나A: 타박상을 유발한 후 맥락얼기 뇌실막세포를 이식하지 않은 실험대조군

타박상을 유발한 후 맥락열기 뇌실막세포를 이식하지 않은 실험대조군 중 일부는 척수손상 후 5주까지 회복양상을 보이지 않았다. 회색질내 신경세포들은 기본적인 세포형태를 잃었으며, 니슬소체용해(chromatolysis) 현상을 보이는 등 대부분 퇴화과정에 있었다. 척수내부에는 대부분 큰 공간이 생겼으며 극히 일부에서는 신경아교세포가 채워져 있는 경우도 있었으나 손상 후 5주까지도 그대로 빈 공간이 관찰되는 경우가 많았다. 척수의 백색질에는 신경섬유들이 월러변성 과정을 거쳐 대부분 정상적인 수초나 축삭의 형태를 갖추고 있지 않았다(Fig. 1B).

본 실험대조군에서는 신경섬유의 연결상태를 확인하는 면역조직화학염색에서 5주까지 tyrosine hydroxylase 양성 신경섬유와 serotonin 양성 신경섬유가 관찰되지 않았다.

나B: 타박상을 유발한 후 맥락열기 뇌실막세포를 이식한 실험군

타박상을 유발한 후 맥락열기 뇌실막세포를 이식한 실험군에서는 손상으로 인한 척수내부공간이 대부분 신경아교세포로 채워져 있었으며, 근위부와 원위부 모두에서 회색질내 신경세포의 재생과정이 뚜렷하였다. 대부분의 큰 운동신경원은 그 형태가 정상적인 모습으로 회복되었으며, 니슬소체용해 현상을 보이는 세포들이 거의 관찰되지 않았고, 새로 생성된 작은 신경원들이 다수 관찰되었다(Fig. 2A, B).

이러한 재생된 신경세포체가 정상적인 기능을 할 수 있는 신경세포인지 확인하기 위하여 신경세사(neurofilament)를 항원으로 하는 면역조직화학염색을 시행한 결과 이 실험군에서 나타난 재생된 신경세포체와 신경섬유에는 신경세사가 가득 차 있었으며, 신경세포체로부터 신경섬유가 정상적으로 뻗어나가고 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

또한 본 실험군에서 이식한 맥락열기 뇌실막세포를 척수손상부위에서

확인하기 위하여 뇌실막세포의 표지물질인 CD62P (P-selectin) 항체와 별아교세포로의 분화여부를 확인하기 위하여 별아교세포표지물질인 아교섬유산성단백질 항체로 면역조직화학염색을 시행하였다.

이식 후 3주 뒤에는 이식한 조직에서 대부분의 맥락얼기 뇌실막세포의 분화가 일어나 CD62P 항체의 양성반응이 나타나지 않았으며, 일부 세포들에서만 CD62P 항체에 의해 표지되어 주변조직과 완전히 융합되지 않은 소견을 나타내었다. 같은 조직을 아교섬유산성단백질 항체로 면역조직화학염색을 한 결과 아교섬유산성단백질 항체에 양성으로 나타나 손상부위의 대부분을 채운 세포들은 맥락얼기조직에서 유래된 반응성 별아교세포(reactive astrocyte)임을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

또한 본 실험군에서는 정상대조군과 비슷한 정도의 tyrosine hydroxylase 양성 신경섬유와 serotonin 양성 신경섬유가 관찰되어, 이식 후 분화한 신경섬유가 정상적으로 손상 원위부를 향해 성장하는 것을 확인할 수 있었다(Fig 5).

다. 척수가로절단군

다A: 척수가로절단후 맥락얼기 뇌실막세포를 이식하지 않은 실험대조군

척수가로절단후 맥락얼기 뇌실막세포를 이식하지 않은 실험대조군에서는 5주 후에 육안적으로는 대부분 연결된 형태를 보였으나, 광학현미경적 소견으로는 그 가운데 결합조직으로 구성된 격막이 형성되었고, 손상 근위부에는 대부분의 세포들이 점차 회복되는 양상을 나타내었으나 그 형태에 있어서는 정상적인 신경세포라고 하기에는 미흡한 양상이었다. 원위부의

척수손상은 전혀 회복되지 않았다. 일부 격막에서는 외부로부터 자라들어온 큰 혈관이 생성되어 있는 경우도 있었고, 주위의 결합조직이 증가되어 안으로 들어와 격막을 형성하고 있었다(Fig. 6A, B).

신경섬유의 연결상태를 확인하고자 하는 면역조직화학염색 결과, 절단 원위부에서 tyrosine hydroxylase 양성 신경섬유와 serotonin 양성 신경섬유가 관찰되지 않았다.

다B: 척수가로절단후 맥락열기 뇌실막세포를 이식한 실험군

척수가로절단후 맥락열기 뇌실막세포를 이식한 실험군은 절단면의 근위부에서는 거의 정상적으로 회색질과 백색질이 구분되었으며, 회색질에서는 앞뿔신경원 등 신경세포체의 형태도 대부분 정상으로 관찰되었고(Fig. 7A), 원위부의 세포들도 비교적 정상으로 관찰되었다. 절단부위의 외측은 근위부와 원위부가 분리되어 있었으나 내측 일부분은 근위부와 원위부가 연결되어 있었으며, 근위부와 원위부의 세포들은 비교적 정상으로 관찰되었다. 척수절단면의 근위부와 원위부가 이어진 부분에서는 백색질의 섬유 다발이 서로 연결된 소견을 나타내었고, 신경세포체나 결합조직의 증식은 없었다(Fig. 7B).

또한 본 실험군에서는 정상대조군과 비슷한 정도의 tyrosine hydroxylase 양성 신경섬유와 serotonin 양성 신경섬유가 관찰되었다.

다C: 척수가로절단 후 맥락열기 뇌실막세포를 이식하고 매일 신경성장인자를 투여한 실험군

척수가로절단후 맥락열기 뇌실막세포를 이식하고 매일 신경성장인자를 투여한 실험군에서는 절단한 원위부와 근위부 모두 회색질과 백색질이 뚜렷이 구분되었으며, 회색질에는 앞뿔신경원 등 신경세포체의 형태도 정상으

로 관찰되었다. 신경성장인자를 투여하지 않은 군에 비하여 재생된 신경세포의 수나 배열에 있어서 정상에 매우 가까운 양상을 보여주었다. 척수절단면의 근위부와 원위부가 이어진 부분에서도 백색질의 섬유다발이 서로 연결되어 상하로 주행하는 신경로를 확인할 수 있었다(Fig. 8).

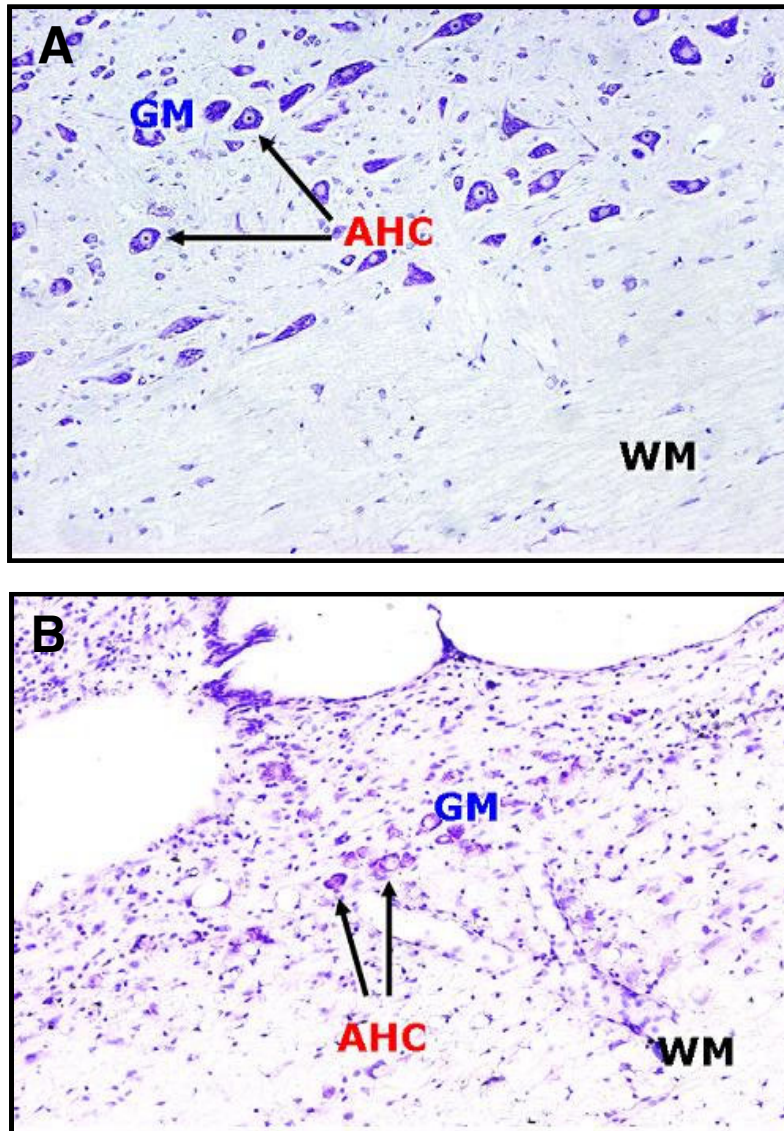


Figure 1. 정상대조군 (A)과 타박상 유발군 (B)의 Nissl 염색 사진. 정상대조군은 회색질과 백색질이 뚜렷이 구분되었고, 회색질에서는 뚜렷한 핵소체와 니슬소체를 나타내는 앞뿔신경원을 확인할 수 있었다. 타박상을 일으킨 후 맥락얼기 뇌실막세포를 이식하지 않은 실험대조군은 회색질내 신경세포들이 기본적인 세포형태를 잃었으며, 척수내부에 큰 공간이 차지하고, 대부분 퇴화과정에 있었다. GM: 회색질, WM: 백색질, AHC: 앞뿔신경원.

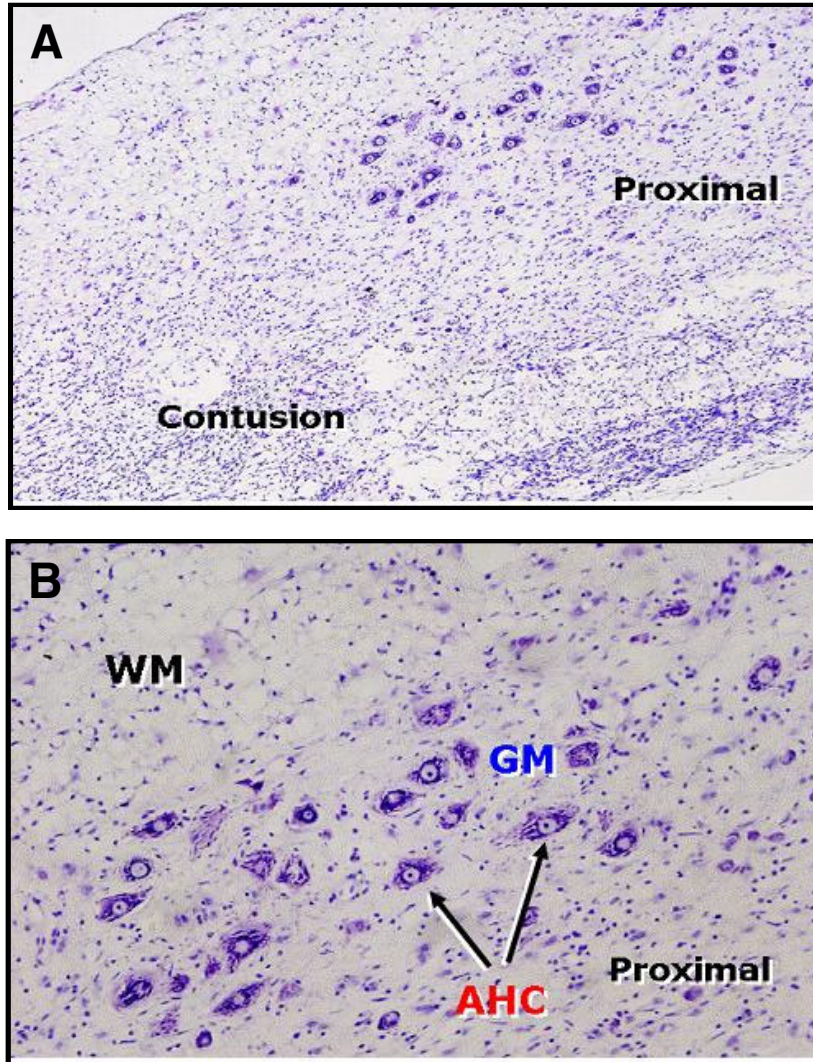


Figure 2. 타박상 유발 후 맥락열기 뇌실막세포를 삽입한 군의 Nissl 염색 사진. 타박상을 일으킨 후 맥락열기 뇌실막세포를 이식한 실험군에서는 척수내부공간이 대부분 신경아교세포로 채워져 있었으며, 근위부와 원위부에서 회색질내의 신경세포의 재생과정이 뚜렷하였다 (A). 대부분의 큰 앞뿔신경세포는 정상대조군과 같은 형태를 나타내었다 (B). GM: 회색질, WM: 백색질, AHC: 앞뿔신경원.

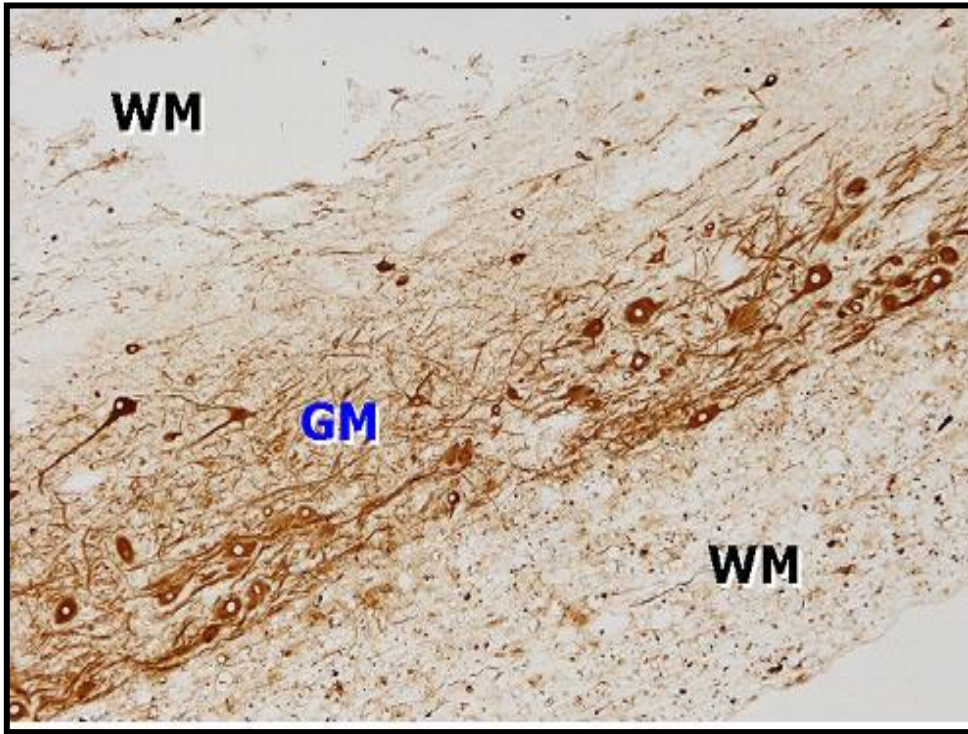


Figure 3. 타박상 유발 후 맥락열기 뇌실막세포를 삽입한 군의 신경세사 항체를 이용한 면역조직화학염색 결과 사진. 타박상을 일으킨 후 맥락열기 뇌실막세포를 이식한 실험군에서는 신경세포에 신경세사가 가득 차 있으며, 신경세포체로부터 신경섬유가 정상적으로 뻗어나가고 있었다. GM: 회색질, WM: 백색질.

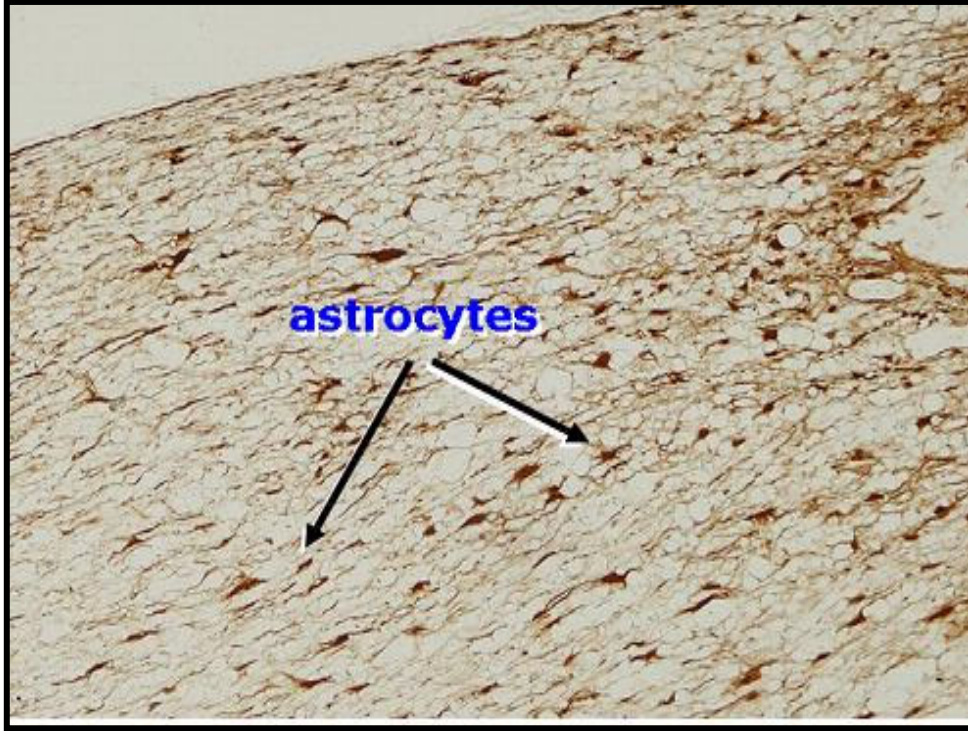


Figure 4. 타박상 유발 후 맥락열기 뇌실막세포를 삽입한 군의 아교섬유산성단백질(Glial Fibrillary Acidic Protein, GFAP) 항체를 이용한 면역조직화학염색 결과 사진. 타박상을 일으킨 후 맥락열기 뇌실막세포를 이식한 실험군에서 3주 뒤에는 대부분의 이식한 조직에서 맥락열기 뇌실막세포가 반응성 별아교세포로 분화하였다.

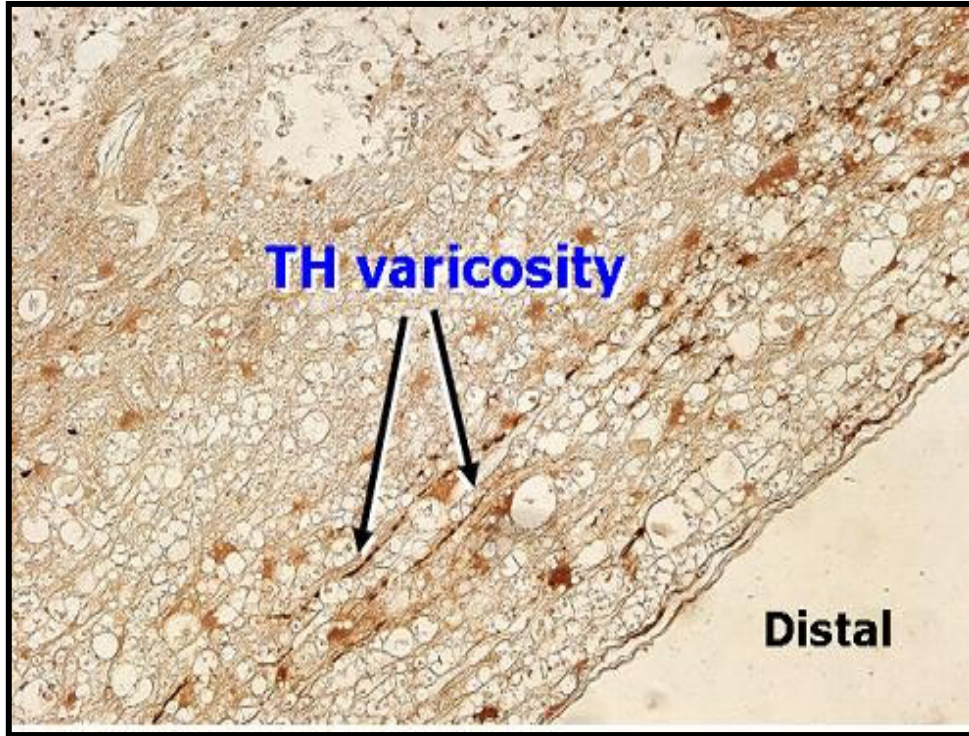


Figure 5. 타박상 유발 후 맥락얼기 뇌실막세포를 삽입한 군의 tyrosine hydroxylase 항체를 이용한 면역조직화학염색 결과 사진. 척수가로절단군의 경우 절단 원위부에서 tyrosine hydroxylase 양성 신경섬유가 관찰되었다.

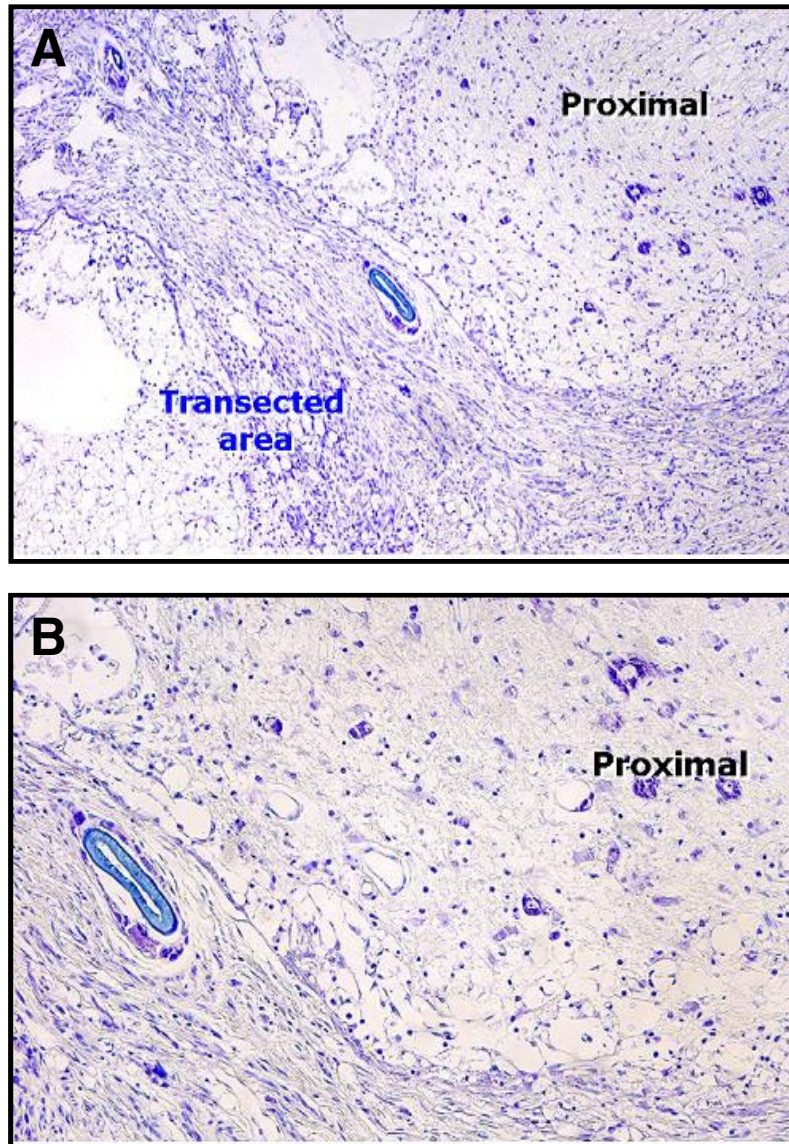


Figure 6. 척수를 가로절단한 실험대조군의 Nissl 염색 사진. 맥락열기 뇌실막세포를 이식하지 않은 실험대조군에서는 절단부위에서 결합조직으로 구성된 격막이 형성되었고, 손상근위부에는 대부분의 세포들이 정상으로 회복되는 양상을 보였으나 원위부는 손상이 회복되지 않았다. 일부 격막에서는 외부로부터 자라온 큰 혈관이 생성되어 있고, 결합조직이 증가되어 있었다.

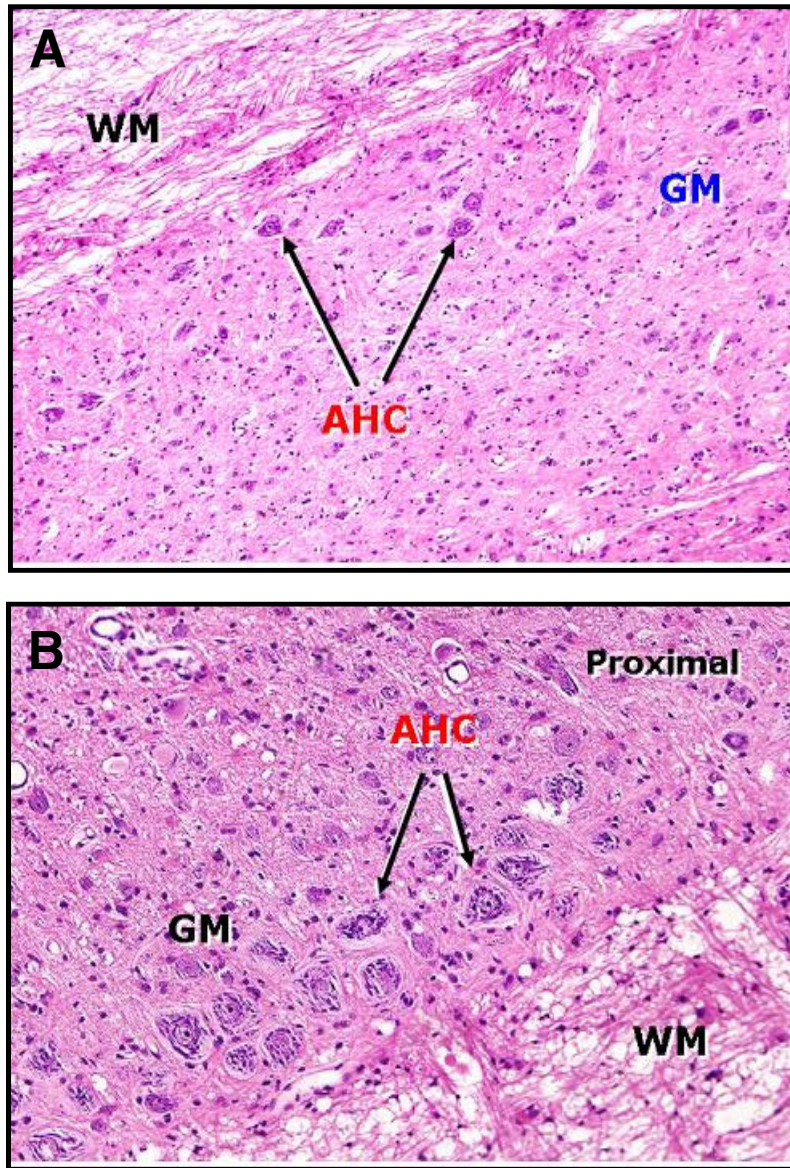


Figure 7. 척수절단 후 맥락얼기 뇌실막세포를 삽입한 군의 H-E 염색 사진. 척수가로절단 후 맥락얼기 뇌실막세포를 삽입한 실험군의 경우 절단부위의 일부가 연결되었고 원위부, 근위부의 세포들은 비교적 정상으로 관찰되었다. 손상 근위부의 형태는 거의 정상적으로 회색질과 백색질이 구분되었으며, 회색질의 앞뿔신경원도 정상으로 관찰되었다. GM: 회색질, WM: 백색질, AHC: 앞뿔신경원

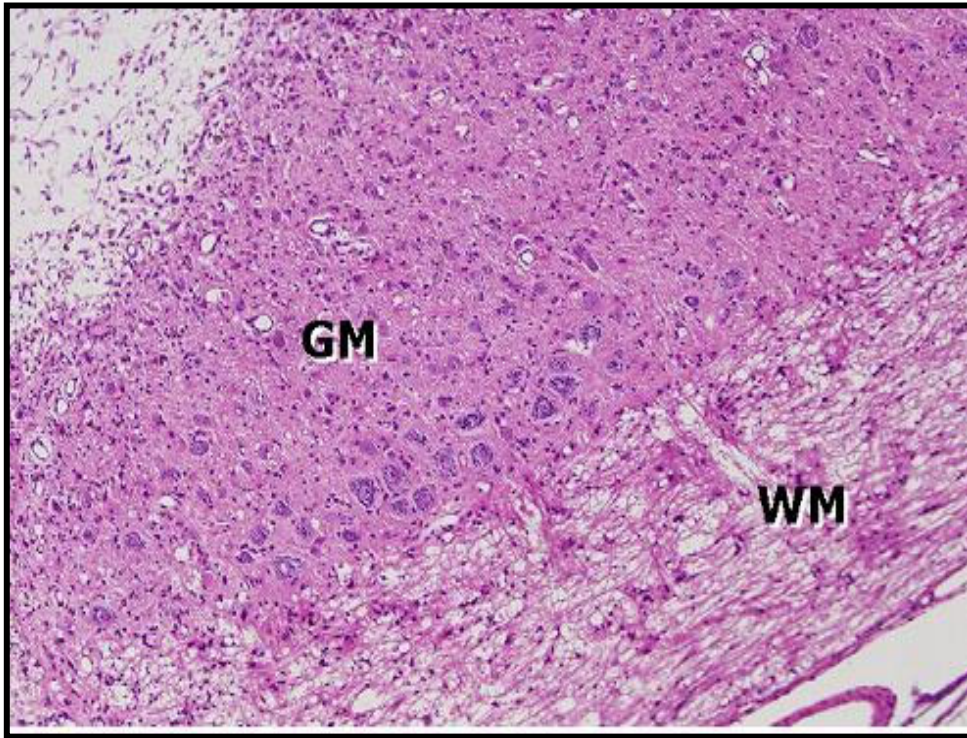


Figure 8. 척수절단 후 맥락열기 뇌실막세포를 삽입하고 신경성장인자를 투여한 군의 H-E 염색 사진. 척수가로절단후 맥락열기 뇌실막세포를 이식하고 매일 신경성장인자를 투여한 실험군에서는 절단한 원위부와 근위부 모두 회색질과 백색질이 뚜렷이 구분되었으며, 회색질에는 앞뿔신경원의 형태도 정상으로 관찰되었다. GM: 회색질, WM: 백색질

IV. 고찰

척수 손상 후 신경세포의 재생과 기능적 회복에 대하여 그 동안 많은 연구가 진행되어 왔지만 아직도 완벽하게 척수 손상을 회복시킬 수 있는 방법은 없다고 알려져 있다¹⁹. 그렇지만 최근에는 신경세포의 재생을 촉진하는 여러 가지 방법, 특히 조직이식을 통해 신경세포를 재생시키고 기능적으로 회복하려는 여러 방법들이 꾸준히 시도되어 왔다. 손상된 척수 사이에 말초신경조직을 이식하기도 하고^{15,18}, 배양된 후각신경 아교세포를 절단된 척수 사이에 넣거나¹⁵, 후각망울 조직을 이식하는 등²⁰ 여러 방법으로 신경의 재생을 시도하여 성공한 예가 보고되고 있다.

이러한 여러 가지 방법 중 하나로 맥락얼기(choroid plexus)의 이식이 재생에 효과가 있다는 보고가 있다²¹. 맥락얼기 상피세포는 뇌실벽의 뇌실막세포(ependymal cell)가 연속된 구조로 뇌실막세포와 기원이 동일하여 일종의 변형된 뇌실막세포라고 간주되고 있다. 이 세포는 IGF-II, bFGF, N-CAM 등 여러 가지 영양인자(trophic factors)와 세포부착물질을 분비한다고 알려져 있고^{16,33-35}, 배양시 후근신경절세포(DRG) 돌기의 성장을 촉진하며³⁶, 손상된 척수에 맥락얼기 세포를 이식한 후 이 세포들이 별아교세포로 분화된다는 연구 결과가 발표되어 있다³⁷.

본 실험에서도 완전히 손상된 척수에 맥락얼기 상피세포를 이식한 결과 신경세포의 사멸이 감소되고 새로운 신경세포가 출현하였으며, 아교세포들이 증식되고 하행신경섬유의 성장이 관찰되는 등 Ide 등(2001)의 연구결과와 일치하는 실험 결과를 얻었다. 다만 차이점은 Ide의 연구에서는 척수를 부분적으로 손상시키고 후섬유단에 맥락얼기 조직을 이식한 반면, 본 연구에서는 척수를 완전히 손상시켜 떨어진 부분에 맥락얼기 조직을 이식한 점에서 다르다. 이는 완전히 척수가 손상되어 떨어진 후에도 조직을 이식

하면 효과를 볼 수 있다는 점에서 앞으로 임상에 유용한 결과가 될 것으로 생각된다.

또한 뇌실막세포의 표지물질인 CD62P (P-selectin) 항체와 별아교세포의 표지물질인 아교섬유산성단백질 항체로 면역조직화학염색을 시행한 결과 이식 후 3주 뒤에는 CD62P 항체가 대부분 없어지고 아교섬유산성단백질 항체가 양성인 세포가 많이 나타나는 것으로 보아 손상부위의 대부분을 채운 아교세포들이 반응성 별아교세포임이며, 이 세포들이 뇌실막세포에서 온 세포라고 추측할 수 있었다. 이는 부분적으로 손상된 척수에 맥락열기 세포를 이식한 후 이 세포들이 별아교세포로 분화된다는 Chakraborty 등(2000)의 연구 결과와 일치하며, 완전히 손상된 척수에서도 동일한 현상이 일어남을 확인해주는 연구 결과라고 할 수 있다.

본 연구에서 척수 절단 후 맥락열기 조직과 신경성장인자를 함께 투여한 경우 좀 더 재생이 활발하게 이루어짐을 확인할 수 있었다.

신경성장인자가 신경세포의 재생에 미치는 영향에 대해 수많은 연구가 진행되었다. BDNF나 IGF-1은 혈관부종과 세포손상을 일으키는 혈청 단백질에 대한 혈액척수관문(blood-spinal cord barrier, BSCB)의 투과성을 감소시켜 신경을 보호하는 효과가 있다고 보고되고 있다²⁸. 또한 아교세포계열기원 신경영양인자는 만성 척수손상의 경우는 축삭재생을 촉진시키고 급성 척수손상의 경우는 신경보호작용이 있음이 증명되었다²⁹. 이외에도 성숙한 쥐의 척수에 손상을 가한 후 아교세포계열기원 신경영양인자를 분비하도록 유전적으로 조작된 섬유모세포(fibroblast)를 투여한 결과 여러 개의 척수로가 빠르게 재생되었고, 슈반 세포의 이동을 유도하여 재생중인 축삭의 재수초화를 일으킬 수 있음이 보고되었다³⁰. 그리고 Zhou 등(2003)은 요수부의 neurotrophin-3 (NT-3)과 BDNF 또는 GDNF를 같이 과발현(overexpression)시킨 군과 NT-3만 단독으로 과발현시킨 군 사이에서 감

각운동피질에서 일어나는 축삭재생의 차이를 관찰하였는데, 지속적으로 신경성장인자가 과발현된 군에서 척수손상 후 축삭 재생이 더 활발하게 일어났고, 이를 근거로 신경성장인자가 중추신경계 손상 후 치료제로 이용될 수 있으며, NT-3를 지속적으로 발현시키면 외상 후 탈신경부위에 살아있는 피질척수로에서 축삭재생에 도움을 줄 수 있다고 보고하였다^{38,39}.

유전자 조작 및 이를 이용한 신경성장인자 전달에 대한 연구도 많이 진행되었다. 기계적으로 척수에 손상을 가한 후 이 곳의 인접부위에 BDNF, NT-3, trkB, trkC 등이 과발현되는 현상이 발견되었으며, 이는 수상부위의 신경기능 저하에 대한 보상 반응으로 이들 단백질들이 신경세포의 생존과 가소성에 기여할 것이라 생각되고 있다⁴⁰. 또한 생체에서 GDNF의 cDNA를 cationic liposome-mediated gene transfer 방법을 이용하여 축삭 재생을 촉진시킴과 동시에 기능적 회복도 증강시킬 수 있다고 보고 되고 있으며 이는 외상성 척수손상의 치료에 실제로 이용될 수 있는 방법이라 생각된다⁴¹. 또한 기능적으로 BDNF가 발현되도록 유전자를 조작한 섬유아 세포는 만성척수손상 흰쥐의 경우 상위척수 신경원으로부터 시작되는 축삭 재생을 촉진시킴과 동시에 운동능력도 향상시켰음을 관찰하였다⁴². Cheng 등(2002)은 척수손상 후 쥐에게 GDNF를 투여하여 기능과 형태가 모두 회복 양상을 보였으며 GDNF-activated MAP kinase와 bcl-2 신호 전달(signaling)이 척수 손상 후 신경원 생존에 기여할 수 있다고 보고하였다³⁵. Cao 등(2002)은 NGF가 bcl-2 단백질 표현을 자극하고 bax 단백질 표현을 억제하며 척수손상 후 신경원의 아포토시스를 억제시킴으로써 손상된 신경을 보호한다고 하였다³⁴. 그 외에 성장원추 유전자(growth cone gene)에 대해 연구가 진행 되고 있으며 임상적으로 매우 큰 관심을 끌고 있다⁴³.

따라서 맥락열기 등 신경세포의 재생을 촉진하는 조직의 이식시 성장인

자를 함께 넣는 방법이 재생에 더 좋은 영향을 미칠 수 있으리라고 생각된다.

V. 결 론

본 연구에서는 흰쥐에서 척수를 완전하게 가로절단하거나 타박상을 일으켜 척수를 손상시킨 후 절단된 척수 사이를 맥락열기 뇌실막세포인 신경아교세포를 삽입하여 이어준 다음 기능의 회복이 일어난 실험동물의 척수에 어떠한 형태학적 변화가 오는지를 관찰하였다.

맥락열기 뇌실막세포를 넣어준 척수손상 동물에서는 마비된 뒷다리에 운동이 일어나 회복된 양상이 나타났으며, 가로절단 후 뇌실막세포를 삽입한 군에서는 H-E 염색과 Nissl 염색에서 가로 절단 부위가 섬유다발로 이어지고, 원위부에 신경세포의 증식 현상을 보였으며, 타박상유발 후 뇌실막세포를 삽입한 군에서는 정상적인 신경섬유다발의 연속과 신경원의 분포를 확인하였다.

참 고 문 헌

1. Burney RE, Maio RF, Maynard F, Karunas R: Incidence, characteristics, and outcome of spinal cord injury at trauma centers in North America. Arch Surg 1993;128:596-9.
2. Ide C: Peripheral nerve regeneration. Neurosci Res 1996;25(2);101-21.
3. Ide C, Kato S: Peripheral nerve regeneration. Neurosci Res Suppl 1990;13;S157-64.
4. Firkins SS, Bates CA, Stelzner DJ: corticospinal tract plasticity and astroglial reactivity after cervical spinal injury in the postnatal rat. Exp Neurol 1993;120;1-15.
5. Carlstedt T: Nerve fibre regeneration across the peripheral-central transitional zone. J Anat 1997;190:51-6.
6. David S, Aguayo AJ: Axonal elongation into peripheral nervous system "bridges" after central nervous system injury in adult rats. Science 1981; 214: 931-3.
7. Benfey M, Aguayo AJ: Extensive elongation of axons from rat brain into peripheral nerve grafts. Nature 1982; 296: 150-2.

8. Carstens E: Responses of motor units during the hind limb flexion withdrawal reflex evoked by noxious skin heating: phasic and prolonged suppression by midbrain stimulation and comparison with simultaneously recorded dorsal horn units. *Pain* 1992; 48: 215-26.
9. Iwashita Y, Kawaguchi S, Murata M: Restoration of function by replacement of spinal cord segments in the rat. *Nature* 1994;367:112-3.
10. Schnell L, Schwab ME: Axonal regeneration in the rat spinal cord produced by an antibody against myelin-associated neurite growth inhibitors. *Nature* 1990; 343: 269-72.
11. So KF, Aguayo AJ: Lengthy regrowth of cut axons from ganglion cells after peripheral nerve transplantation into the retina of adult rats. *Brain Res* 1985; 328: 349-54.
12. Vidal-Sanz M, Bray GM, Villegas-Perez MP, Thanos S, Aguayo AJ: Axonal regeneration and synapse formation in the superior colliculus by retinal ganglion cells in the adult rat. *J Neurosci* 1987; 7: 2894-909.
13. Hopkins JM, Bunge RP: Regeneration of axons from adult rat retinal ganglion cells on cultured Schwann cells is not dependent on basal lamina. *Glia* 1991; 4: 46-55.

14. Paino CL, Fernandez-Valle C, Bates ML, Bunge MB: Regrowth of axons in lesioned adult rat spinal cord: promotion by implants of cultured Schwann cells. *J Neurocytol* 1984; 23: 433-52.
15. Cheng F, Cao Y, Olson L: Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function. *Science* 1996;273(5274):510-3.
16. Fawcett JW, Geller HM: Regeneration in the CNS: optimism mounts. *Trends Neurosci* 1998;21:179-80.
17. Kocsis JD: Restoration of function by glial cell transplantation into demyelinated spinal cord. *J Neurotrauma* 1999;16:695-703.
18. Olson L, Cheng H, Zetterstrom RH, Solomin L, Jansson L, Gimenez-Llort L, Hoffer BJ, Perlmann T: On CNS repair and protection strategies: novel approaches with implications for spinal cord injury and Parkinson's disease. *Brain Res Rev* 1998;26:302-5.
19. Ramon-Cueto A, Cordero MI, Snatos-Benito FF, Avila J: Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia. *Neuron* 2000;25:425-35.
20. 이원택, 임길병, 박승화, 이종은: 척수절단 후 후각방울 조직의 이식이

내림신경섬유 재생에 미치는 영향. 대한해부학회지 2003;36(4):247-256.

21. Ide C, Kitada M, Chakraborty S, Taketomi M, Matsumoto N, Kikukawa S, Mizoguchi S, Endoh K, Suzuki Y: Grafting of choroid plexus ependymal cells promotes of regenerating axons in the dorsal funiculus of rat spinal cord: a preliminary report. *Exp Neurol* 2001;167:242-251.
22. Bregman BS, Kunkel-Bagden E, Reier PJ, Dai HN, McAtee M, Gao D: Recovery of function after spinal cord injury: mechanisms underlying transplant-mediated recovery of function differ after spinal cord injury in newborn and adult rats. *Exp Neurol* 1993;123:3-16.
23. Lahr SP, Stelzner DJ: Anatomical studies of dorsal column axons and dorsal root ganglion cells after spinal cord injury in the newborn rat. *J Comp Neurol* 1990 15;293(3):377-98.
24. Ono K, Shimada M, Yamano T: Reorganization of the corticospinal tract following neonatal unilateral cortical ablation in rats. *Brain Dev* 1990;12(2):226-36.
25. Bates CA, Stelzner DJ: Extension and regeneration of corticospinal axons after early spinal injury and the maintenance of corticospinal topography. *Exp Neurol* 1993 ;123(1):106-17.

26. Bregman BS, Kunkel-Bagden E, Reier PJ, Dai HN, McAtee M, Gao D: Recovery of function after spinal cord injury: mechanisms underlying transplant-mediated recovery of function differ after spinal cord injury in newborn and adult rats. *Exp Neurol* 1993;123(1):3-16.
27. Diener PS, Bregman BS: Fetal spinal cord transplants support growth of supraspinal and segmental projections after cervical spinal cord hemisection in the neonatal rat. *J Neurosci* 1998;18:779-93.
28. Sharma HS: Neurotrophic factors attenuate microvascular permeability disturbances and axonal injury following trauma to the rat spinal cord. *Acta Neurochir Suppl* 2003;86:383-8.
29. Dolbeare D, Houle JD: Restriction of axonal retraction and promotion of axonal regeneration by chronically injured neurons after intrapinal treatment with glial cell line-derived neurotrophic factor(GDNF). *J Neurotrauma* 2003;20(11):1251-61.
30. Blesch A, Tuszynski MH: Cellular GDNF delivery promotes growth of motor and dorsal column sensory axons after partial and complete spinal cord transections and induces remyelination. *J Comp Neurol* 2003;467(3):403-17.

31. Lannotti C, Li H, Yan P, Lu X, Wirthlin L, Xu XM: Glial cell line-derived neurotrophic factor-enriched bridging transplants promote propriospinal axonal regeneration and enhance myelination after spinal cord injury. *Exp Neurol* 2003;183(2):379-93.
32. Bennett AD, Taglialatela G, Perez-Polo R, Hulsebosch CE: NGF levels decrease in the spinal cord and dorsal root ganglion after spinal hemisection. *Neuroreport* 1999;17;10(4):889-93.
33. Martin D, Franzel R, Delree P: Effect of Schwann cell transplantation in a contusion model of rat spinal cord injury. *J Neurosci Res* 1996;45:588-597.
34. Cao X, Tang C, Luo Y: Effect of nerve growth factor on neuronal apoptosis after spinal cord injury in rats. *Chin J Traumatol* 2002;5(3)131-5.
35. Cheng H, Wu JP, Tzeng SF: Neuroprotection of glial cell line-derived neurotrophic foactor in damaged spinal cords following contusive injury. *J Neurosci Res* 2002;69(3):397-405.
36. Kitada M, Chakraborty S, Matsumoto N, Taketomi M, Ide C: Differentiation of choroid plexus ependymal cells into astrocytes after grafting into the pre-lesioned spinal cord in mice. *Glia*

2001;36:364-374.

37. Chakraborty S, Kitada M, Matsumoto N, Taketomi M, Kimura K, Ide C. Choroid plexus ependymal cells enhance neurite outgrowth from dorsal root ganglion neurons in vitro. *J Neurocytol.* 2000;29(10):707-17.
38. 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* 2003;23(4):1424-31.
39. Zhou L, Shine HD: Neurotrophic factors expressed in both cortex and spinal cord induce axonal plasticity after spinal cord injury. *J Neurosci Res* 2003;74(2):221-6.
40. Uchida K, Baba H, Maezawa Y, Furukawa S, Omiya M, Kokubo Y, Kubota C, Nakajima H: Increased expression of neurotrophins in the receptors in the mechanically compressed spinal cord of the spinal hyperostotic mouse(twy/twy). *Acta Neuropathol* 2003;106(1):29-36.
41. Lu KW, Chen ZY, Jin DD, Hou TS, Cao L, Fu Q: Cationic liposome-mediated GDNF gene transfer after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2002;19(9):1081-90.

42. Jin Y, Fischer I, Tessler A, Houle JD: Transplants of fibroblasts genetically modified to express BDNF promote axonal regeneration from supraspinal neurons following chronic spinal cord injury. *Spine* 2002;177(1):265-75.

43. Bulsara KR, Iskandar BJ, Villavicencio AT, Skene JH: A new millennium for spinal cord regeneration: growth-associated genes. *Spine* 2002;27(17):1946-9.

Abstract

The effect of ependymal cell transplantation on nerve regeneration after spinal cord injury in rats.

Hyung Seok Oh

Department of Medicine

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Kyung Ah Park)

Nerve regeneration in the central nervous system has been studied by grafting various tissues and cells. Choroid plexus epithelial cells represent a continuation of ventricular ependymal cells and have the same origin as regarded as modified ependymal cells.

To study the use of choroid plexus ependymal cell grafting for nerve regeneration in the spinal cord, the choroid plexus was excised from the lateral and fourth ventricles of adult Sprague-Dawley rats, minced into small fragments, and grafted at the T9 level in adult rat spinal cord transected or contused.

In this study, transplants of choroid plexus ependymal cells were successfully used to promote functional and structural recovery after

spinal cord transection and contusion. The area of damaged spinal cord was diminished after choroid plexus ependymal cells transplantation. Nearly normal anterior horn cells were observed immediately distal to the transected region. Tyrosine hydroxylase immunoreactive descending fibers were observed in the distal region beyond transected area.

These findings indicate that choroid plexus ependymal cells have the ability to facilitate axonal growth, suggesting that they may be a promising candidate as graft for the promotion of nerve regeneration in the spinal cord.

Key words : Choroid plexus ependymal cell, Spinal cord injury, Nerve regeneration