

당뇨병성 신경병증시 신경성장인자 투여 후  
슈반세포의 미세구조 변화

연세대학교 대학원

의과학사업단

안 수 경

# 당뇨병성 신경병증시 신경성장인자 투여 후 슈반세포의 미세구조 변화

지도 박 경 아 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2000년 6월 일

연세대학교 대학원

의과학사업단

안 수 경

# 안수경의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 차 동 재 인

심사위원 김 승 민 인

심사위원 이 종 운 인

연세대학교 대학원

2000년 6월 일

## 감사의 글

이 논문이 나오기까지 인도해 주신 하나님께 감사드립니다.

처음부터 끝까지 지도와 노고를 아끼지 않으시고 이끌어 주신 박경아 교수님께 감사를 드리며, 또한 심사를 맡으셔서 많은 도움을 주시고 격려로 돌보아 주신 이종은 교수님, 김승민 교수님께 감사를 드립니다.

그리고 실험에 많은 도움을 주신 신영호 선생님, 함께 걱정해 주시고 도움을 아끼지 않으신 조직학 실험실 가족들에게 깊은 감사를 드립니다.

또한 항상 바쁜 가운데에도 저의 부족함을 채워 주고, 사랑과 격려로 저에게 힘이 되어 준 남편에게 이 글을 바칩니다.

저 자 씬

# 차 례

## 그림 및 표 차례

국문요약 . . . . .	1
I. 서 론 . . . . .	2
II. 재료 및 방법 . . . . .	6
1. 실험재료 . . . . .	6
2. 당뇨병성 신경병증 모델의 제작 . . . . .	6
3. 신경성장인자의 투여 . . . . .	6
4. 말초신경 표본제작 . . . . .	6
5. 결과분석 . . . . .	7
III. 결 과 . . . . .	8
1. 유수초신경섬유의 변화 . . . . .	8
2. 무수초신경섬유의 변화 . . . . .	8
3. Schwann cell unit의 변화 . . . . .	9
IV. 고 찰 . . . . .	16
V. 결 론 . . . . .	19
참고문헌 . . . . .	20
영문요약 . . . . .	29

## 그림 차례

그림 1. 정강신경의 유수초신경의 가로단면. 정상대조군 ×35,600

그림 2. 정강신경의 유수초신경의 가로단면. 당뇨군 ×31,000

그림 3. 정강신경의 유수초신경의 가로단면. 신경성장인자 투여군  
×57,000

그림 4. 정강신경의 무수초신경의 가로단면. 정상대조군 ×35,600

그림 5. 정강신경의 무수초신경의 가로단면. 당뇨군 ×31,000

그림 6. 정강신경의 무수초신경의 가로단면. 신경성장인자 투여군  
×57,000

그림 7. 정강신경의 Schwann cell unit. 정상대조군 ×11,500

그림 8. 정강신경의 Schwann cell unit. 당뇨군 ×11,500

그림 9. 정강신경의 Schwann cell unit. 신경성장인자 투여군  
×11,500

## 국문요약

### 당뇨병성 신경병증시 신경성장인자 투여 후 슈반세포의 미세구조 변화

당뇨병성 신경병증은 당뇨병으로 인하여 여러 종류의 신경세포 집단들이 손상을 입어 나타나는 다양한 증상들을 말한다. 당뇨병성 신경병증의 기전에 대하여는 여러가지 가설이 있으나 최근에 와서 신경영양물질의 감소가 그 원인 중의 하나라고 생각되고 있다. 본 실험에서는 streptozotocin으로 당뇨를 유발한 흰쥐에 신경성장인자를 투여한 후 말초 신경의 슈반세포<sup>1</sup>를 전자현미경적인 관찰을 통해 신경성장인자의 효과를 형태학적으로 관찰하고자 하였다. 체중 200 gm 내외의 Sprague-Dawley계 흰쥐에 streptozotocin 65 mg/kg을 투여한 후 당뇨병이 유발된 흰쥐에 신경성장인자를 4주간 투여한 후 말초신경의 슈반세포에서 다음과 같은 결과를 얻었다.: 당뇨유발쥐에서 유수초신경섬유의 슈반세포는 핵, 세포소기관, 세포막에서 전체적으로 심한 변성 소견이 확인되었다. 당뇨유발쥐에서 무수초신경섬유의 슈반세포는 세포소기관에서 변성 소견이 확인되었으며, 비정상적인 축삭들이 나타났다. 신경성장인자 투여시 말초신경의 슈반세포에서 당뇨유발로 파괴되었던 과립형질내세망의 배열이나 미토콘드리아와 같은 세포소기관들이 정상대조군과 유사한 형태로 회복되었다. 이와 같은 회복 현상은 유수초신경섬유에서 더 효과적이었다. 무수초 신경섬유에서 Schwann cell unit을 조사하였을 때 정상대조군에 비해 당뇨군에서 하나의 Schwann cell이 둘러싸고 있는 축삭의 수가 감소하였지만 신경성장인자를 투여하면 정상 소견을 보이는 축삭의 수가 정상대조군의 Schwann cell unit에 가깝게 회복되었다.

이상의 결과로 신경성장인자의 조기투여가 당뇨병성 신경병증을 방지하는데 효과가 있음을 형태학적인 연구를 통해 증명하였다.

---

핵심되는 말 : 당뇨병성 신경병증, 신경성장인자, 슈반세포

# 당뇨병성 신경병증시 신경성장인자 투여 후 슈반세포의 미세구조 변화

〈지도 박 경 아 교수〉

연세대학교 대학원 의학과

## 안 수 경

### I. 서 론

당뇨병성신경병증은 당뇨병환자들이 죽음에 이르게 되는 주요 합병증의 하나로 여러 종류의 신경세포 집단들이 손상을 입어 감각신경, 운동신경, 자율신경 등의 기능 장애로 나타나는 다양한 증상들을 모두 포함하는 넓은 의미의 용어라고 하겠다. 이 때 손상을 받는 신경에 따라 다양한 임상 증상을 보이는데 대부분의 경우 일차감각신경세포를 침범하여 해당부위에 저린 감각을 나타내게 되고 심해질 경우 피부에 괴저현상이 나타날 수 있다고 한다.<sup>1</sup>

당뇨병성 신경병증은 일반적으로 인슐린 부족과 고혈당의 이차적 결과로 생각되고 있으며 IDDM(Insulin Dependant Diabetes Mellitus)과 NIDDM(non-Insulin Dependant Diabetes Mellitus) 환자 모두에게서 발병될 수 있다.

당뇨병성신경병증의 원인이 되는 기전으로는 여러 가지 가설을 들고 있



다. 즉, 첫째로 미세혈관(microvasculature) 순환장애로 인한 신경의 경색(infarction)에 의한 것,<sup>2</sup> 둘째로 비효소성 당화작용(glycosylation)에 의하여 신경기능에 중요한 단백질이 비활성화되는 것,<sup>3</sup> 그리고 셋째로 신경물질대사의 변화로 인한 에너지 고갈이나 막전압의 불안정성 등을 원인으로 들고 있다.<sup>4</sup>

최근에 와서는 신경영양물질(neurotrophic factor)의 감소가 당뇨병성신경병증의 원인중의 하나라고 생각되고 있다.<sup>5,7</sup>

신경성장인자(nerve growth factor,NGF)는 가장 널리 알려진 신경영양물질로서 뇌기원영양물질(brain-derived neurotrophic factor(BDNF), neurotrophin-3(NT-3), neurotrophin-4/5(NT-4/5))와 함께 신경영양물질 집단을 이루고 있다. 신경성장 인자는 그에 반응하는 해당신경원의 표적부위(target tissue)에서 생성되는 폴리펩타이드이며, 이들은 해당신경원의 축삭 끝에 있는 신경성장인자 수용기에 취해져 신경세포체(perikaryon)를 향해 역행성 축삭이동(retrograde axonal transport)을 하여 영양 기능을 수행하게 되는 것이다. 신경성장인자는 수용기에 결합하여 어린 신경원의 성장과 분화, 그리고 성숙 신경원의 유지에 중요한 역할을 하고 있다. 당뇨병의 경우 신경성장인자에 반응하는 신경원은 초기에 침범 당하게 되어 임상에서의 이환율(morbidity)과 치사율(mortality)에 중요한 역할을 하게 된다. NGF는 당뇨병 환자에서나 당뇨흰쥐에서 모두 뚜렷한 부족현상을 보이고 있다.<sup>6,8,9</sup>

Streptozotocin투여로 당뇨병을 야기시킨 동물은 사람의 당뇨병성신경병증의 동물 모델로 가장 흔히 사용되는 것으로서<sup>10</sup> 이 동물 모델에서 실제로 신경성장인자를 생산하는 대표적인 표적기관인 턱밑샘이나 심실, 홍채 등에서 신경성장인자의 농도가 감소하였고,<sup>9,11</sup> 신경성장인자의 이동에 관여하는 말초신경에서도 감소하였으며,<sup>9,11,12</sup> 신경성장인자의 의존부위인 상교

감신경절(superior cervical ganglion)에서도 감소하였다는 보고들이 있다.<sup>9,11</sup>

당뇨병성신경병증에 신경성장인자를 투여하면 당뇨병성신경병증을 방지할 수 있으리라는 가설 하에 몇몇 학자들이 실험을 하여 생화학적인 면과 행동반응에 있어서 긍정적인 효과가 있었다는 것을 발표하였다.<sup>13</sup> 또한 당뇨 유발 흰쥐에서 운동신경의 전도속도의 감소와 substance P<sup>14</sup> <sup>17</sup>나 CGRP<sup>18</sup>와 같은 신경전달 물질이 감소할 뿐 아니라 신경성장인자의 농도가 감소한다고 하였고, 이때 신경성장인자를 투여하면 이러한 것을 방지할 수 있다고 보고하였다.<sup>19</sup> 이러한 결과는 당뇨병뿐만이 아니라 신경절단에 의해 야기된 말초신경병증, taxol, cisplatin등의 약물로 유발된 말초신경병 등에서도 나타나 전반적인 말초신경병증의 유발기전과 치료에 신경성장인자의 중요성이 강조되고 있다.<sup>20,21</sup> 그러나 신경성장인자의 이러한 치료효과는 주로 생리학적 또는 생화학적 실험을 통한 결과들로써 이러한 효과에 대한 형태학적인 연구결과는 미흡한 실정이다. 신경성장인자의 신경병증 치료효과에 관한 연구로 가장 잘 알려진 Apfel등<sup>13,20</sup>도 행동검사와 전기생리학적 검사, 그리고 생화학적 검사로 일관된 보고를 하고 있다. 일부 형태학적 연구를 하는 연구진들도 신경성장인자가 작은 직경의 감각신경세포나 교감신경세포에 주로 영향을 미치는 것으로 보고하고 있으며 장판지 신경이나 자율신경을 이용하여 행해진 몇 가지 결과만이 있을 뿐이다. 한편, 슈반세포는 말초신경계의 신경아교세포로서 신경축삭에 적절한 환경을 조성하여 주는 역할을 하고 있다. 즉, 축삭의 성질에 따라 수초를 형성해 주거나 또는 무수초상태의 축삭을 함께 둘러 싸주고 있다.<sup>22,23</sup> 수초형성 이외에도 슈반세포는 세포외기질을 형성해주고<sup>24</sup> <sup>28</sup> 세포연접물질을 형성하기도 한다.<sup>29</sup> <sup>31</sup> 또한 슈반세포는 신경성장인자와 같은 신경영양물질을 생성하기도 한다.<sup>32</sup> <sup>35</sup> 일반적으로 신경

성장인자 의존성 신경세포들은 신경세포 이외의 세포들이 제공하는 신경 성장물질에 의존하는 바는 극히 미미하나, 일단 손상을 받으면 신경세포 이외의 세포들에서 활발한 신경성장인자의 합성이 일어난다.<sup>36</sup>

In situ hybridization 실험에서 밝혀진 바에 의하면 손상받은 신경의 슈반세포와 섬유모세포에서 특히 NGF-mRNA의 발현이 뚜렷하다고 하였다.<sup>35,36</sup>

당뇨병성신경병증의 경우 말초신경의 변화중 가장 뚜렷한 것이 유수초신경섬유의 크기가 줄어든다는 것으로 축삭크기의 감소를 주장한 논문도 있고,<sup>37</sup> 수초의 두께가 감소하는 등의 소견이 발표된 바도 있다. 이러한 당뇨병성신경병증의 경우 재생되는 신경섬유의 숫자가 인슐린 의존성 당뇨병의 경우 비의존성의 경우보다 더 크다고 보고되었으며, 이러한 재생시 퇴화되는 슈반세포에서 생성되는 신경성장인자가 축삭의 재생에 큰 역할을 한다고 한다.<sup>38</sup> 반면에 축삭의 재생이 잘 되지 않는 경우 신경성장인자의 부족에 기인하는 것일 것이라는 보고도 있다. 그렇다면 이러한 경우 외부로부터 신경성장인자를 투여해 준다면 신경성장인자를 생성하는 슈반세포에는 어떠한 영향을 줄 것인지 궁금해진다. 최근에 들어 당뇨병성 신경병증의 치료에 신경성장인자를 사용하고 있는데 이러한 경우 오히려 슈반세포의 활성을 감소시켜 자생력을 떨어뜨리는 것은 아닌가 하는 가설도 성립된다 하겠다. 이러한 연구부문에 있어 슈반세포의 미세구조를 전자현미경을 이용하여 관찰한 논문은 현재까지 전무한 상태이다. 이에 본 연구자는 당뇨병이 유발된 흰쥐에 신경성장인자를 4주간 투여하고 슈반세포의 미세구조에는 어떠한 변화가 일어나는지를 유수초신경과 무수초신경으로 나누어 각각 관찰하고, 과연 당뇨병성신경병증의 치료에 신경성장인자를 투여하는 것이 합당한지를 증명하고자 본 실험을 시도하였다.

## II. 실험 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

실험재료로는 체중 200gm 내외의 Spraque - Dawley 계 수컷 흰쥐 30마리를 사용하였다.

### 2. 당뇨병성 신경병증 모델의 제작

당뇨병성 신경병증을 유발하기 위하여 streptozotocin 65 mg/kg을 일회 정맥내 주사하였다. 그 후 10 % dextrose 용액으로 하룻밤을 지낸 후, 다시 기존 먹이로 사육하고 일주일 후 혈당을 측정하여 400mg/kg이하인 동물은 실험에서 제외하였다.

### 3. 신경성장인자의 투여

당뇨병성 신경병증을 일으킨 후 신경성장인자의 효과를 보기 위하여 recombinant Nerve Growth Factor(NGF) 500ng/kg을 매일 피하주사하면서 4주까지 동물을 사육하였다.

### 4. 말초신경 표본제작

말초신경 표본제작을 위하여 실험동물을 에테르 마취하에서 3% glutaraldehyde 와 3% paraformaldehyde in 0.1M phosphate 완충용액(pH 7.4)으로 관류 고정한 뒤, 정강신경(tibial nerve)을 적출하여 고정액에 1일간

후고정한 후 1% osmium tetroxide 에 2차 고정하였다. 고정된 신경을 전자현미경 관찰을 위하여 epon에 포매한 후 초박절편으로 작성하여 uranyl acetate 와 lead citrate로 염색한 후 Philips 500 전자현미경으로 관찰하였다.

## 5. 결과분석

epon에 포매한 조직을 50nm 두께로 잘라 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 11,500배와 15,500배, 17,800배, 28,500배로 사진 촬영 후 인화 하였다.

### Ⅲ. 결 과

Streptozotocin으로 유도된 당뇨흰쥐에서 신경성장인자 투여 후 말초신경을 둘러 싸고 있는 슈반세포의 미세구조를 살펴본 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

#### 1. 유수초신경섬유에서의 슈반세포 변화

정강신경의 전자현미경 표본을 촬영하여 관찰한 결과, 정상대조군에서는 수초가 일정한 간격으로 축삭을 싸고 있었으며, 슈반세포의 과립형질내세망과 미토콘드리아는 잘 발달되어 있었고, 작은 pinocytotic vesicle이 규칙적으로 배열하고 있는 것이 관찰되었다(그림1).

당뇨군에서는 수초의 변성들을 흔히 보이고 있었으며 축삭을 둘러싸고 있는 슈반세포에 심한 변성소견을 관찰할 수 있었다. 즉, 과립형질내세망의 구조들이 넓어져 있었으며, 일부는 파괴되어 그 조각들이 세포질 내에 산재되어 있었고, free ribosome이 세포질에 넓게 퍼져 있었으며, 공포형성(vacuole formation)이 자주 관찰되었고, 미토콘드리아도 파괴되어 공포로 관찰되는 경우가 종종 있었으며, dense body가 자주 관찰되었다. 또한, 슈반세포의 세포막에 pinocytotic vesicle이 불규칙적으로 크게 발달해 있는 것과 핵막이 불규칙적으로 함입되어 있는 것을 볼 수 있었다(그림 2).

신경성장인자 투여군에서는 슈반세포의 세포소기관들이 비교적 정상적인 형태로 나타났다. 즉, 과립형질내세망의 표면에서만 free ribosome을 관찰할 수 있었으며, 미토콘드리아도 정상적으로 관찰되었고, dense body는 관찰되지 않았으며, pinocytotic vesicle도 정상적으로 관찰되었다.(그림 3).

## 2. 우수초신경섬유에서의 슈반세포 변화

정강신경의 전자현미경 표본을 촬영하여 세포 소기관을 관찰하였다.

정상대조군에서는 세포질의 양이 당뇨군에 비해 풍부하고, 핵이 비교적 euchromatic하였으며, 기타 세포소기관의 특별한 소견이 관찰되지 않았다(그림 4).

당뇨군에서 모양이 불규칙해진 축삭들이 주로 관찰되었으며, 심한 경우 완전히 파괴되어 축삭의 막만이 남아있는 경우도 관찰되었다. 슈반세포에서는 핵이 위축되어 있었고, 핵질은 정상대조군에 비해 좀더 heterochromatic해져 있었으며, 세포질의 양이 많이 감소되어 있었으며, 우수초신경섬유에서와 마찬가지로 free ribosome이 세포질에 넓게 퍼져 있었고, dense body가 관찰되었다(그림 5).

신경성장인자 투여군은 세포질의 양도 풍부하고, 미토콘드리아도 정상 소견을 보이는 등 대체로 정상대조군에 가까운 형태를 보이고 있었다(그림 6).

## 3. Schwann cell unit의 변화

정강신경의 전자현미경 표본을 제작하여 하나의 Schwann cell이 몇개의 축삭을 둘러싸고 있는지 계수하였다.

정상대조군에서는 하나의 Schwann cell이 14.52개의 축삭을 둘러싸고 있었으며, 각각의 축삭은 미토콘드리아도 뚜렷하고, 신경미세섬유도 잘 발달되어 있었다(그림 7).

당뇨군에서는 하나의 Schwann cell이 8.92개의 축삭을 둘러싸고 있었으며, 축삭의 미토콘드리아와 신경미세섬유도 파괴되었고, 종종 degenerative change를 보이는 축삭도 관찰되었다(그림 8).

신경성장인자 투여군에서는 하나의 Schwann cell이 12.21개의 축삭을 둘러싸고

있었으며, 축삭의 미토콘드리아와 신경미세섬유에서 회복된 소견을 관찰할 수 있었다(그림 9).





그림 1. 정상대조군의 정강신경의 유수초신경섬유 전자현미경 소견. 슈반세포의 세포소기관이 잘 발달되어 있음( $\times 35,600$ ).

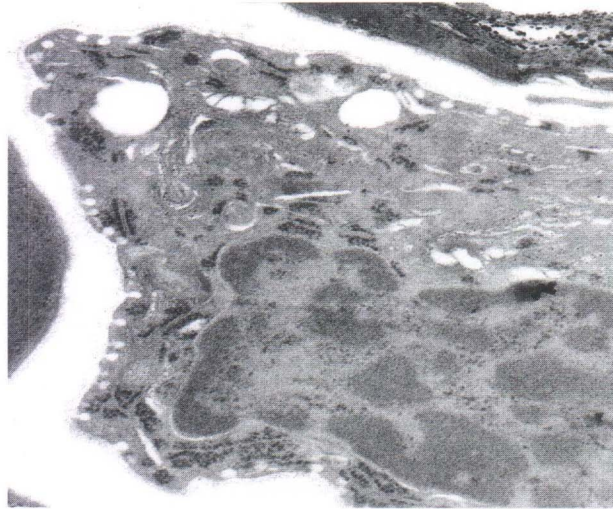


그림 2. streptozotocin 65 mg/kg를 일회 정맥주사하여 당뇨를 유발한 흰쥐의 정강신경의 유수초신경섬유 전자현미경 소견. 과립형질내세망이 파괴되어 있고, free ribosome이 넓게 퍼져 있으며, 공포형성(vacuolization)이 관찰되고 있음( $\times 57,000$ ).



그림 3. streptozotocin 65 mg/kg를 일회 정맥주사하여 당뇨를 유발한 흰쥐에 신경성장인자를 500 ng/kg를 4주간 투여 후 희생한 정강신경의 유수초신경섬유 전자현미경 소견. 신경성장인자 투여군. 슈반세포의 세포소기관들이 비교적 정상적인 형태로 관찰됨( $\times 57,000$ ).

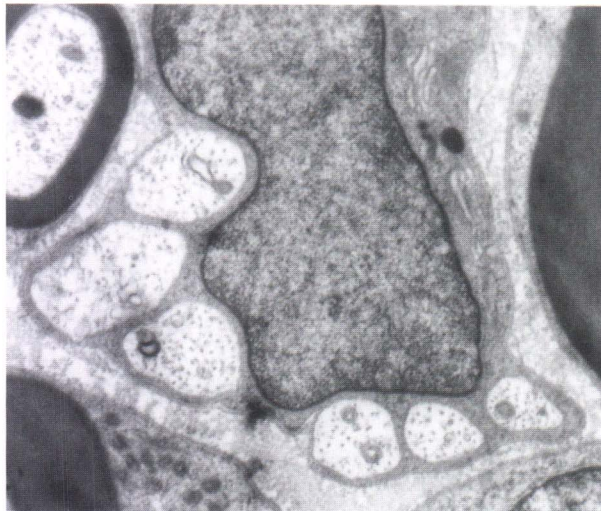


그림 4. 정강신경의 무수초신경섬유 전자현미경 소견. 정상대조군. 슈반세포의 세포질의 양도 풍부하고, 세포소기관이 잘 발달되어 있음( $\times 35,600$ ).

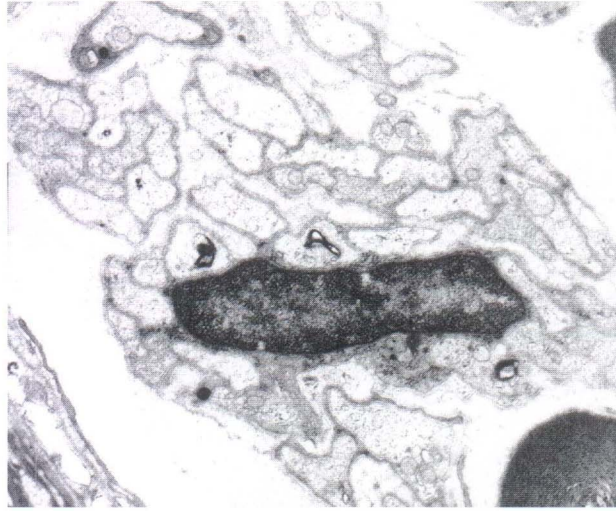


그림 5. streptozotocin 65 mg/kg를 일회 정맥주사하여 당뇨를 유발한 흰쥐의 정강신경의 무수초신경섬유 전자현미경 소견. 당뇨군. 불규칙한 축삭들이 관찰되며, 슈반세포는 핵이 위축되어 있고, 세포질의 양도 적으며, 세포소기관도 대부분 파괴되어 있음( $\times 31,000$ ).



그림 6. streptozotocin 65 mg/kg를 일회 정맥주사하여 당뇨를 유발한 흰쥐에 신경성장인자를 500 ng/kg를 4주간 투여 후 희생한 정강신경의 무수초신경섬유 전자현미경 소견. 신경성장인자 투여군. 슈반세포의 세포질의 양도 풍부하고, 세포소기관도 정상대조군에 유사한 형태로 관찰됨( $\times 57,000$ ).





그림 7. 정강신경의 Schwann cell unit. 정상대조군  $\times 11,500$ . 하나의 Schwann cell이 14.52개의 축삭을 둘러싸고 있으며, 각각의 축삭은 미토콘드리아도 뚜렷하고, 신경미세섬유도 잘 발달되어 있다.

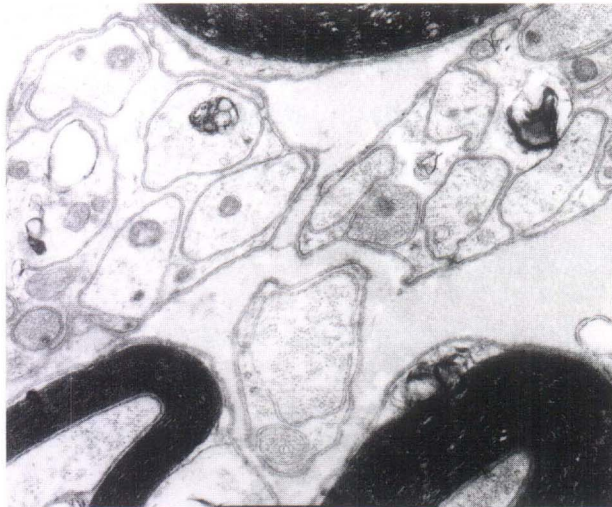


그림 8. 정강신경의 Schwann cell unit. 당뇨군  $\times 11,500$ . 하나의 Schwann cell이 8.92개의 축삭을 둘러싸고 있으며, 각각의 축삭은 미토콘드리아와 신경미세섬유가 파괴되어 있다.

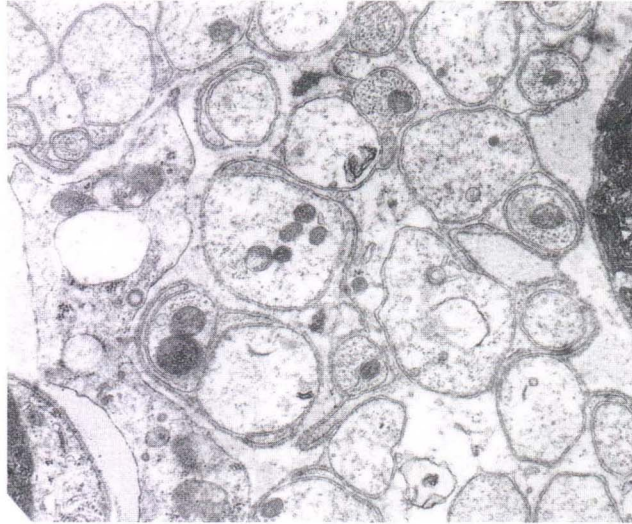


그림 9. 정강신경의 Schwann cell unit. 당뇨군  $\times 11,500$ . 하나의 Schwann cell 이 12.21개의 축삭을 둘러싸고 있으며, 각각의 축삭은 미토콘드리아와 신경미세 섬유가 회복된 소견을 보이고 있다.

## IV. 고 찰

당뇨병성 신경병증은 망막병증, 신장병증과 함께 당뇨의 삼병증(triopathy)의 하나로 IDDM과 NIDDM 모두에서 나타날 수 있으며 동통 및 감각이상은 물론 말초부 근약증, 자율신경계의 이상으로 인한 기립성 저혈압 및 발기 부전등의 증상을 초래할 수 있다.

당뇨병성 신경병증을 일으키는 기전에 대하여는 아직까지 뚜렷하게 밝혀진 것은 없으나 만성적 고혈당증과 동반된 대사장애, 그리고 미세혈관의 이상으로 인한  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  pump의 기능상실이 당뇨병성 신경병증의 발병기전(pathogenesis)에 관련된 것으로 보인다. 그리고 최근에는 신경영양물질의 감소가 당뇨병성 말초신경병증의 발병 원인으로 많이 강조되고 있으며 이중 신경성장인자는 신경영양물질 중 널리 알려진 것으로 많은 연구가 진행되고 있으며 당뇨병성 신경병증과 관련이 큰 것으로 알려져 있다.<sup>6,39,40</sup>

본 연구에서는 당뇨병성 신경병증으로 인한 신경변성시 신경성장인자를 투여하였을때 슈반세포의 미세구조 변화를 알아보기 위해 흰쥐에서 streptozotocin으로 당뇨를 유발한 후 매일 일정양(500ng/kg)의 신경성장인자를 지속적으로 4주간 투여한 후 전자현미경 관찰을 시행하여 슈반세포의 세포 소기관의 이상상태를 관찰해 보았다.

당뇨병성 신경병증에서는 국소적 탈수초화 현상과 무수초신경섬유 및 유수초신경섬유의 소실이 쉽게 관찰되고 축삭의 변성 및 소실과 미세혈관의 이상 등을 특징으로 한다.<sup>41</sup> Bischoff<sup>42</sup>은 일차 병리적 변화는 슈반세포의 세포질에서 나타난다고 하였으나, Dyck등<sup>43</sup>은 축삭의 변성이 당뇨병성 신경병증에 일차적인 역할을 한다고 하는 등 대부분 축삭의 변성에 관한 연구가 주류를 이루고 있다.

Said등<sup>44</sup>은 당뇨병성 신경병증 환자의 장딴지 신경에 대한 연구에서 무수초신경섬유 및 작은 유수초신경섬유의 신경섬유의 수와 축삭의 변성에 선택적으로

감소를 보인다고 보고하였다. 그리고 일차적으로 또는 이차적으로 탈수초화 현상을 보고하였고 근위부의 탈수초화와 원위부의 축삭의 변성을 보고하였다.

축삭의 변성이 일어나는 데에는 축삭형질이동을 통한 영양물질 이동의 장애로 인해 나타난다고 생각된다. 실험적으로 당뇨를 유발시킨 경우에서 느린 진행성 축삭형질이동의 장애로 축삭의 직경의 변화가 오는데 근위부는 직경이 증가하고 원위부는 직경이 감소하는 소견을 보인다.<sup>45,46</sup> 빠른 진행성 축삭형질이동의 속도나 양을 감소시키는 화학물질등은 원위부 축삭변성을 일으킨다고 한다.<sup>47</sup>

이와 같이 당뇨병성 신경병증에서 축삭 변성에 관한 연구들은 일부가 보고되고 있으나, 축삭을 둘러싸고 있는 슈반세포의 변화에 관하여는 연구가 매우 미약하다.

본 연구에서는 전자현미경을 이용하여 관찰한 결과, 신경세포의 변화는 무수초신경섬유에서 모양이 불규칙한 섬유들이 관찰되며 축삭내 소기관들이 완전히 파괴되어 축삭의 막만 남아 있는 경우도 있었으며 주위에 큰 포식세포들이 관찰되었다. 유수초신경섬유에서의 슈반세포에는 변성소견을 보였으며 Sasaki등<sup>48</sup>의 연구결과와 같이 미토콘드리아도 파괴되어 공포로 관찰되는 소견이 많이 관찰되었다. 핵막도 안쪽으로 함입을 보여 주글주글한 모양으로 관찰되었으며, 과세형질내세망의 구조들이 넓어진 소견을 보였고, 유수초신경섬유에서의 슈반세포에서 더 많은 이상 소견을 보였다. 그리고 신경성장인자를 투여한 경우에는 이러한 신경변성 소견들이 경미하고, 정상대조군에 더 가까운 소견으로 관찰되는 것을 확인할 수 있었다.

신경성장인자는 신경세포 말단에서 자신에 대한 수용체와 결합하여 세포체로 역행성으로 운반되며 신경미세섬유등 단백질, 펩타이드 등의 전사과정에 영향을 주어 진행성 축삭형질로 이동되는 물질의 양에 변화를 가져올 수 있다.<sup>49</sup> 그리고 신경성장인자는 자신의 수용체의 수를 조절할 수 있는데 말초신경이 절단된 후에 제 5요수 척수 신경절의 고친화성 수용체 및 저친화성 수용체에 대한

mRNA 수준은 감소조절되며(downregulation) 외부로부터 신경성장인자 투여시 재저장된다고 한다. 흥미롭게도 외부로부터 투여한 신경성장인자는 손상받지 않은 감각신경에서 고친화성 신경성장인자 수용체의 mRNA에는 영향을 주지 않으나 저친화성 수용체의 mRNA는 증가조절(upregulation)된다고 한다.<sup>39</sup>

Ungar 등<sup>50</sup>은 당뇨유발쥐에서 척수신경절의 신경성장인자의 고친화성수용체(trk-A)의 면역염색성(immunostaining)은 변화가 없었으나 정상쥐에서 오랫동안 신경성장인자를 투여한후 척수신경절에서 신경성장인자의 고친화성수용체(trk-A)의 면역반응성(immunoreactivity)은 감소하는 소견을 보인다고 하였다.<sup>51</sup>

신경성장인자의 합성의 조절은 cytokine이나 다른 성장인자에 의한 protein kinase A나 C 의 활성의 조절등 여러 가지 복합적인 작용기전에 의한 것으로 이러한 신경성장인자의 합성에 관련하는 여러 단계의 조절체계들이 고혈당에 매우 민감하다는 보고가 있으며,<sup>52,53</sup> 당뇨로 인해 고혈당 상태가 되면 신경성장인자의 합성에 영향을 주어 신경성장인자의 양이 감소되며 이로 인해 신경세포체 내에서 단백질등 전향성 축삭형질이동되는 물질의 양이 감소하게 되어 신경변성들이 일어나는 것으로 생각할 수 있는데, 당뇨병의 발생 기전에 관하여는 앞으로 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 실험 결과, 당뇨유발시 신경성장인자를 생성하는 세포로 알려져 있는 슈반세포의 심한 변성을 관찰하였으며, 이로 인하여 신경성장인자의 합성이 저하되는 것으로 생각되고, 이와 같은 신경성장인자의 저하는 당뇨병성 신경병증을 촉진시키는 것으로 추정된다. 외부에서 투여한 신경성장인자로 인해 슈반세포에서 형태학적으로 회복되는 것을 관찰할 수 있었으며, 슈반세포의 단백질 합성기능이 회복될 것으로 생각되고, 나아가 당뇨병성 신경병증의 회복에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.



## V. 결 론

Streptozotocin으로 당뇨를 유발한 흰쥐의 슈반세포에서 신경성장인자의 효과를 형태학적인 분석을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 당뇨유발쥐에서 유수초신경섬유의 슈반세포는 과립형질내세망이 파괴되고, free ribosome이 넓게 퍼지며, 공포형성이 관찰되고, dense body가 관찰되는 등 세포소기관에서 심한 변성 소견이 확인되었다.
2. 당뇨유발쥐에서 무수초신경섬유의 슈반세포는 핵이 위축되었고, 세포질의 양이 많이 감소되었으며, free ribosome이 넓게 퍼져 있었고, dense body가 관찰되는 등 세포소기관에서 변성 소견이 확인되었으며, 비정상적인 축삭들이 나타났다.
3. 신경성장인자를 투여하여 말초신경의 슈반세포에서 세포소기관이 정상대조군에 가까운 형태를 보이는 것으로 보아 변성 회복에 효과가 있었으며, 유수초신경섬유에서 더 효과적이었다.
4. 무수초신경섬유에서 정상대조군에 비해 당뇨유발쥐에서 하나의 Schwann cell이 둘러싸고 있는 축삭의 수는 감소하였지만 신경성장인자를 투여하면 정상 소견을 보이는 축삭의 수가 정상대조군의 Schwann cell unit에 가깝게 회복되었다.

이상의 결과로 신경성장인자의 조기투여가 당뇨병성 신경병증을 방지하는데 효과가 있음을 형태학적인 연구를 통해 증명하였다.

## 참고문헌

1. Thomas PK, Brown MJ. Diabetic polyneuropathy in diabetic neuropathy. In: Dyck PJ, Thomas PK, Asbury AK, Winegrad AI, editors. Diabetic Neuropathy. Philadelphia: W.B. Saunders; 1987. p.56-65.
2. Dyck PJ. Hypoxic neuropathy: Does hypoxia play a role in diabetic neuropathy. Neurology 1989;39:111-8.
3. Brownlee M. Advanced products of nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. In: Rifkin H, Porte D, editors. Diabetes Mellitus. Theory and Practice. New York: Elsevier; 1990. p.279-91.
4. Green D. The pathogenesis and prevention of diabetic neuropathy and neuropathy. Metabolism 1998;37:25-32.
5. Kasayama S, Oka T. Impaired production of nerve growth factor in the submandibular gland of diabetic mice. Am J Physiol 1989;257:E400-4.
6. Faradji V, Sotelo J. Low serum levels of nerve growth factor in diabetic neuropathy. Acta Neurol Scand 1990;81:402-6.
7. Hellweg R, Raivich G, Hartung HD, Hock C, Kreutzberg GW. Axonal transport of endogenous nerve growth factor(NGF) and NGF receptor in experimental diabetic neuropathy. Exp Neurol 1994;130:24-30.

8. Jakobsen BK, Platz P. HLA-D and -DR antigens in genetic analysis of insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1981;21:108-15.
9. Hellweg R, Hartung HD. Endogenous levels of nerve growth factor(NGF) are altered in experimental diabetes mellitus: A possible role for NGF in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *J Neurosci Res* 1990;26:258-67.
10. Thomas PK, Fraher JP, O'Leary D, Moran MA, Cole M, King RHM. Relative growth and maturation of axon size and myelin thickness in the tibial nerve of the rat 2: Effects of streptozotocin-induced diabetes. *Acta Neuropathol(Berl)* 1990;79: 375-86.
11. Hellweg R, Wöhrle M, Hartnung HD, Stracke H, Hock C, Federlin K. Diabetes mellitus-associated decrease in nerve growth factor levels is reversed by allogeneic pancreatic islet transplantation. *Neurosci Lett* 1991;125:1-4.
12. Hanaoka Y, Ohi T, Furukawa Y, Hayashi K, Matsukura S. The therapeutic effects of 4-methylcatechol, a stimulator of endogenous nerve growth factor synthesis, on experimental diabetic neuropathy in rats. *J Neurol Sci* 1994;122:28-32.
13. Apfel SC, Arezzo JC, Brownlee M, Federoff H, Kessler JA. Nerve growth factor administration protects against experimental diabetic sensory neuropathy. *Brain Res* 1994;634:7-12.

14. Robinson JP, Willars GB, Tomlinson DR, Keen P. Axonal transport and tissue contents of substance P in rats with long-term streptozotocin-diabetes. Effects of the aldose reductase inhibitor 'stail'. Brain Res 1987;426:339-48.
15. Tomlinson DR, Robinson JP, Willars GB, Keen P. Deficient axonal transport of substance P in streptozotocin-induced diabetic rats. Effects of sorbinil and insulin. Diabetes 1988;37:488-93.
16. Willars GB, Calcutt NA, Compton AM, Tomlinson DR, Keen P. Substance P levels in peripheral nerve, skin, atrial myocardium and gastrointestinal tract of rats with long-term diabetes mellitus. Effects of aldose reductase inhibition. J Neurol Sci 1989;91:153-64.
17. Calcutt NA, Tomlinson DR, Willalrs GB, Keen P. Axonal transport of substance P-like immunoreactivity in ganglioside-treated diabetic rats. J Neurol Sci 1990;96:283-91.
18. Diemel LT, Brewster WJ, Fernhyough P, Tomlinson DR. Expression of neuropeptides in experimental diabetes: Effects of treatment with nerve growth factor or brain-derived neurotrophic factor. Mol Brain Res 1994;21:171-5.
19. Schmidt Y, Ungar JW, Bartke I, Reiter R. Effect of nerve growth factor on peptide neurons in dorsal root ganglia after taxol or cisplatin treatment in

diabetic(db/db)mice. *Exp Neurol* 1995;132:16-23.

20. Apfel SC, Lipton RB, Arezzo JC, Kessler JA. Nerve growth factor prevents toxic neuropathy in mice. *Ann Neurol* 1991;29:87-90.

21. Apfel SC, Arezzo JC, Lipson LA, Kessler JA. Nerve growth factor prevents experimental cisplatin neuropathy. *Ann Neurol* 1992;31:76-80.

22. Weinberg HJ, Spencer PS. Studies on the control of myelinogenesis. I. Myelination of regenerating axons after entry into a foreign unmyelinated nerve. *J of Neurocytol* 1975;4:395-418.

23. Aguayo AJ, Peyronnard JM, Bray GM. A quantitative ultrastructural study of regeneration from isolated proximal stumps of transected unmyelinated nerves. *J Neuropathol Exp Neurol* 1973;32:256-70.

24. Bunge MB, Williams AK, Wood PM. Comparison of nerve cell plus Schwann cell cultures, with particular emphasis on basal lamina and collagen formation. *J of Cell Biol* 1980;84:184-202.

25. Carey DJ, Eldridge CF, Cornbrooks CJ, Timpl R, Bunge RP. Biosynthesis of Type IV collagen by cultured rat Schwann cell. *J of Cell Biol* 1983;97:373-9.

26. Cornbrooks CJ, Carey DJ, McDonald JA, Timpl R, Bunge RP. In vivo

and in vitro observations on laminin production by Schwann cells. Proc Natl Acad Sci USA 1983;80:3850-4.

27. McGarvey ML, Baron-Van Evercooren A, Kleiman HK, Dubois-Dalcq M. Synthesis and effects of basement membrane components in cultured rat Schwann cells. Dev Biol(Orlando) 1984;105:18-28.

28. Mehta H, Orphe C, Todd MS, Cornbrooks CJ, Carey DJ. Synthesis by Schwann cells of basal lamina and membrane-associated heparan sulfate proteoglycans. J Cell Biol 1985;101:660-6.

29. Neike J, Schachner M. Expression of the neural cell adhesion molecules L1 and N-CAM and their common carbohydrate epitope L2/HNK-1 during development and after transection of the mouse sciatic nerve. Differentiation 1985;30:141-51.

30. Noble M, Albrechtsen M, Moller C, Lyles J, Bock E, Goridis C, et al. Glial cell express N-CAM/D2-CAM-like polypeptides in vitro. Nature 1985;316:725-8.

31. Daniloff JK, Levi G, Grumet M, Rieger F, Edelman GM. Altered expression of neuronal cell adhesion molecules induced by nerve injury and repair. J Cell Biol 1986;103:929-45.

32. Richardson PM, Ebendal T. Nerve growth activities in rat peripheral

nerve. Brain Res 1982;246:57-94.

33. Rush RA. Immunohistochemical localization of endogenous nerve growth factor. Nature 1984;312:364-7.

34. Assouline JG, Bosch P, Lim R, Kim IS, Jensen R, Patapis NJ. Rat astrocytes and Schwann cells in culture synthesize nerve growth factor-like neurite-promoting factors. Brain Res 1987;428:103-18.

35. Bandtlow CE, Heumann R, Schwab ME, Thoenen H. Cellular localization of nerve growth factor synthesis by in situ hybridization. EMBO Journal 1987;6:891-9.

36. Heumann R. Interleukin-1 regulates synthesis of nerve growth factor in non-neuronal cells of rat sciatic nerve. Nature 1987;330:658-9.

37. Yagihashi S, Kamijo M, Ido Y, Mirrlees DJ. Effects of long-term aldose reductase inhibition on development of experimental diabetic neuropathy: Ultrastructural and morphometric studies of sural nerve in streptozocin-induced diabetic rats. Diabetes 1990;39:690-6.

38. Bradley JL, Thomas PK, King RH, Muddle JR, Ward JD, Tesfaye S, et al. Myelinated nerve fibre regeneration in diabetic sensory polyneuropathy: correlation with type of diabetes. Acta Neuropathol (Berl) 1995;90:403-10.

39. Brewster WJ, Fernyhough P, Diemel LT, Mohiuddin L, Tomlinson DR. Diabetic neuropathy, nerve growth factor and other neurotrophic factors. *TINS* 1994;17: 321-5.
40. Dyck PJ. Nerve growth factor and diabetic neuropathy. *Lancet* 1996;348: 1044-5.
41. Dyck PJ, Giannini C. Pathologic alterations in the diabetic neuropathies of humans: A review. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55:1181-93.
42. Bischoff A. Die ultrastruktur peripherer nerven bei der diabetischen neuropathie. *Dtsch Gesellschaft Innere Med* 1967;18:1138-41.
43. Dyck PJ, Lais A, Karnes JL, O'Brien P, Rizza R. Fiber loss is primary and multifocal in sural nerves in diabetic polyneuropathy. *Ann Neurol* 1986;19: 425-39.
44. Said G, Slama G, Salva J. Progressive centripetal degeneration of axons in small fibre diabetic neuropathy. *Brain* 1983;106:791-807.
45. Medori R, Autilio-Gambetti B, Monaco B, Gambetti P. Experimental diabetic neuropathy: Impairment of slow transport with changes in axon cross-sectional area. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:7716-20.
46. Macioce P, Filliatreau G, Fibliomeni B. Slow axonal transport impairment



of cytoskeletal proteins in streptozotocin-induced diabetic neuropathy. *J Neurochem* 1989;53:1261-7.

47. Griffin JW, Watson DF. Axonal transport in neurological disease. *Ann Neurol* 1988;23:3-13.

48. Sasaki T, Yasuda H, Maeda K, Kikkawa R. Hyperalgesia and decreased neuronal nitric oxide synthetase in diabetic rats. *Neuroreport* 1998;9:243-7.

49. Schmidt RE, Modert CW, Yip HK, Johnson Jr EM. Retrograde axonal transport of intravenously administered <sup>125</sup>I-nerve growth factor in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes* 1983;32:654-63.

50. Ungar JW, Klitzsch T, Pera S, Reiter R. Nerve growth factor and diabetic neuropathy in the rat: morphological investigations of the sural nerve, dorsal root ganglion, and spinal cord. *Exp Neurol* 1998;153:23-4.

51. Verge VMK, Riopelle RJ, Richardson PM. Nerve growth factor receptors on normal and injured sensory neurons. *J Neurosci* 1989;9:914-22.

52. Matsuoka I, Meyer M, Hoenen H. Cell type specific-regulation of nerve growth factor synthesis in non-neuronal cells: comparison of Schwann cells with other cell types. *J Neurosci* 1991;11:3165-77.

53. Fernyhough P, Diemel LT, Brewster WJ, Tomlinson DR. Deficits in

sciatic nerve neuropeptide content coincide with a reduction in target tissue nerve growth factor messenger RNA in streptozotocin-diabetic rats: Effects of insulin treatment. *Neuroscience* 1994;62:337-44.

## **Abstract**

The morphological studies on the effects of Nerve Growth Factor on the Schwann cell in the diabetic neuropathy in the rats

Soo Kyung Ahn

*Division of Medical Sciences  
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Kyung Ah Park)

Diabetic neuropathy is a broad term that encompasses many destructive syndromes that various kinds of neuronal population is affected in diabetes mellitus. Diabetic neuropathy has been postulated to occur by diverse pathogenetic mechanisms. Recent studies suggest that the reduction of neurotrophic factors is one of the causes of diabetic neuropathy.

This study was performed to identify the effect of nerve growth factor on Schwann cell in the streptozotocin-induced diabetic rats morphologically.

Sprague-Dawley rats(weighed about 200 gm) were rendered diabetes by injection of streptozotocin(STZ 65 mg/kg) and nerve growth factor was administered for 4 weeks.

The result obtained are as followed: 1.Degenerations in cytoplasmic organelles of Schwann cell of the myelinated nerve fibers in dibetic rats were identified. 2. Degenerations in cytoplasmic organelles of the schwann cell of the unmyelinated nerve fibers in dibetic rats were identified and abnormal axons were appeared. 3. Nerve growth factor had an effect on the recovery of degeneration and it was more effective in myelinated nerve fibers.

These results show that early administration of nerve growth factor have the effect of protection of diabetic neuropathy by morphological study.

---

Key Words : diabetic neuropathy, nerve growth factor, Schwann cell