인태아에서 신근 및 굴근의 근섬유형 발현에 관한 연구

연세대학교 대학원

의과학 사업단

김 준 환

인태아에서 신근 및 굴근의 근섬유형 발현에 관한 연구

지도 박 형 우 교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2001년 6월 일

연세대학교 대학원

의과학 사업단

김 준 환

김준환의 박사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ (인)

심사위원 _____ (인)

심사위원 _____ (인)

심사위원 _____ (인)

심사위원 _____ (인)

연세대학교 대학원

2001년 6월 일

감사의 말씀

이 논문을 완성하기까지 지도해 주신 박형우 교수님, 양규현 교수님, 그리고 기꺼이 심사를 맡아 주신 박창일 교수님, 연동수 교수님과 김명희 교수님께 진심으로 감사드립니다.

또한 이 논문을 쓰는 동안 많은 협조를 하여주신 발생학 실험실 여러분께 감사드립니다.

그리고 언제나 든든하게 지켜주신 부모님과 밤 늦게까지 사위를 기다리시던 장인 어른, 장모님께 감사를 드리며, 이 논문을 사랑하는 아내와 아들에게 드리고 싶습니다.

2001년 6월

저자 씀

목 차

그림 목차

표 목차

국문요약

인태아에서 신근 및 굴근의 근섬유형 발현에 관한 연구

재활의학 분야에서 진단이나 치료의 주요 대상인 근육의 발생이나 손상 후 형태적 특성은 주로 실험동물에서 얻은 것이며, 인간에서 근육의 발생에 관한 자료가 거의 없어 이에 관한 체계적인 연구가 시급한 실정이다. 효소 조직화학적 방법을 적용한 연구 결과를 보면 발생 중 섬유형들이 출현하는 시기가 보고에 따라 다르며, 시기에 따라 각 섬유형의 비율 등에 관해서도 연구가 거의 없다. 재활의학 분야에서 중요한 근육의 구조, 기능 및 병리를 이해하는데 중요한 이론적 배경을 제공해주는 인간 사지 근육의 발생에 관해서는 아직도 연구가 거의 되어 있지 않은 실정이다. 따라서 이 연구에서는 발생 중인 인간 배자 및 태아를 이용하여, 사지의 외형 발생, 사지의 조직 분화에서 근육 성분의 발생, 상완(상완삼두근과 상완이두근), 대퇴(대퇴직근과 대퇴이두근) 및 하퇴(전경골근과 비복근)의 대표적인 신근과 굴근의 초기 발생 및 형태 형성, 근섬유형의 분화 및 성장 등을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 상지는 발생 12기의 후기에 출현하여, 발생 13기에 초승달 모양, 발생 14기에 반타원 모양, 발생 15기에 특징적인 원시수판을 형성하였다. 발생 16기에 손목 부위가 뚜렷하게 잘록하였고, 발생 17기에 수지방사가 관찰되었다. 발생 18기에 수지간절흔이 형성되기 시작하였고, 이후 절흔이 더욱 뚜렷해지면서 손가락이 뚜렷해졌다. 발생 23기에 손가락 끝에 패드(pad)가 형성되어 성인에서와 유사해졌고, 이후 태아기에 크기와 비율이 점차 성인형으로 바뀌었다. 하지는 상지에 비해 대체로 1 발생기 정도 느리게 발생이 진행되었다.
2. 처음 사지싹은 표면외배엽과 치밀한 체벽중배엽으로 이루어졌으며, 외배엽 비후가 관찰되다가 곧 첨외배엽능선을 형성하였다. 사지의 중간엽에서 가장 먼저 혈관이 형성되었으며, 중간엽이 축합되면서 척수신경이 자라 들어갔고, 축합된 중간엽에서 골격 성분이 구분되면서 마지막으로 근육 성분이 구분되었다.

3. 상지의 근육 성분은 발생 17기에, 하지는 발생 18기에 처음 출현하였다. 처음에는 중간엽의 축합 상태이었으나, 곧 근세사가 관찰되고 근섬유 다발이 뚜렷이 구분되었다. 태아기 초에는 섬유 다발 사이의 간격이 넓었으나, 발생 21주 이후에 간격이 좁아지고 납작한 핵이 주변부에 위치하는 등 성숙된 모습을 보이기 시작했다.
4. 발생 17주 이전의 태아에서는 모든 근육에서 미분화형인 IIc형 섬유만 관찰되었으나, 발생 17주에 모든 근육에서 큰 I형 섬유가 출현했고 발생 28주에 I형 섬유가 출현하였고, 발생 31주에 IIa 및 IIb형 근섬유가 출현하였다. 이들 섬유형의 출현 시기는 신근과 굴근, 상지와 하지, 근위와 원위에 따른 차이는 없었고, 각 근육에서 이들 근섬유형에 비율 차이는 일부 근육의 경우를 제외하고는 없었다. 근섬유형을 구별하지 않고 각 시기 별로 근섬유의 크기를 계측하여 통계 처리한 결과 상완에서 신근이 굴근보다 컸고, 상완의 신근이 대퇴의 신근보다 컸다. 각 근섬유형에 따른 크기를 보면 IIc형과 큰 I형은 상지의 신근이 굴근보다 컸으며, 큰 I형은 대퇴와 하퇴에서 굴근이 신근보다 컸다.

핵심되는 말 : 인체, 배자, 태아, 사지 근육의 초기 발생, 근섬유형의 분화, 근섬유의 성장

인태아에서 신근 및 굴근의 근섬유형 발현에 관한 연구

< 지도 박형우 교수 >

연세대학교 대학원 의과학사업단

김 준 환

I. 서 론

재활의학 분야에서 근육은 근전도를 통한 진단의 대상이 될 뿐 아니라 근육 자체의 다양한 질환, 신경계통의 손상 후 근육의 기능 회복을 위한 치료적 운동의 대상으로서 중요한 부분을 차지하고 있다.[1-2] 이러한 진단 및 치료에 중요한 근육의 형태 변화 등에 대한 지식은 주로 실험 동물에서 인위적으로 근육 및 신경의 손상, 신경 교차지배 등의 조건을 만들어 얻어진 것이다.[3-5] 선천성 근육병 (congenital myopathy)과 같이 근육의 기능 장애를 나타내는 선천성 기형의 경우, 물리적 치료를 통해 보존적으로 치료할 뿐 기능 회복을 위한 특별한 치료법이 없는 실정이며 상지근육 보다는 하지근육, 원위부보다는 근위부의 근육에 병변이 많이 일어나며, 주로 I형 근섬유가 위축 또는 우세해지는 양상을 보이는데 자세한 원인과 기전은 아직 제대로 밝혀져 있지 않다.[6] 이런 선천성 기형에 적절하게 대처하기 위해서는 정상 발생에 관한 지식이 필수적이지만, 인간에서 근육의 발생에 관한 자료가 거의 없어 이에 관한 체계적인 연구가 시급한 실정이다.

인간에서 근육의 발생에 관해서는 1900년대 초에 이루어진 고전적인 몇몇 연구 결과 이외에는 체계적으로 연구된 적이 없다.[7-10] 이것은 근육이 신체의 다른 실질 장기(parenchymal organ)에 비해 덜 중요시 여겨졌고, 근섬유를 구별하는 염색법이 개발되어 있지 않았기 때문으로 생각된다.

Dubowitz[11]는 발생 12주의 인간 태아에서 근육의 발달을 효소 조직화학적 방법에 의해 분석하여, 다음과 같은 세 시기로 구분하였다. 제1기는 대략 발생 12주에서 20주까지인데, 미분화섬유(IIc형)가 처음으로 구별된다. 제2기는 대략 발생 20주에서 26주까지로, I형 섬유와 II형 섬유가 구분되며, I형 섬유가 전체에서 차지하는 비율은 적다. 제3기는 대략 발생 30주부터이며, 성인에서와 같은 바둑판 모양의 분화 양상을 보이고, I형 섬유와 II형 섬유의 분포도 서로 비슷하다.[12]

이후 인간에서 근육의 발생에 관한 연구들[13-20]은 발생 시기에 따라 근섬유형이 발현되는 것에 초점을 맞추고 있다. 이들 결과를 종합해 보면, 태아 초기에 관찰되는 모든 섬유들은 미분화된 IIc형이다. 보고마다 차이가 있지만 대략 발생 20주 이후에 직경이 큰 I형 섬유(large type I)들이 산재해 관찰되며, 발생 30주 이후에 I형 섬유들이 급격히 증가하고 IIc형 섬유들이 뚜렷이 감소한다. 그리고 IIa형 및 IIb형 섬유들은 출생 5주전부터 비로소 출현한다. 그런데 이들은 대퇴사두근, 복직근, 삼각근 및 가자미근 등 일부 근육만을 이용했을 뿐이다. 한편 Ringquvist 등[21]은 저작근(masticatory muscles)과 상완이두근(biceps brachii muscle)의 발달을 비교 연구하여, 저작근에서는 발생 22주에, 상완이두근에서는 발생 16주에 섬유형의 차이가 나타남을 보고하여 근육마다 섬유형의 분화 시기가 다를 수 있음을 제시하였다.

이와 같이 많은 연구들에서 발달 중인 근육을 연구하여 섬유형이 출현하는 순서는 어느 정도 보고에 따라 일치하지만, 미분화된 IIc형 섬유로 이루어진 태아의 초기 근육에서 I형 섬유, IIa형 및 IIb형 섬유가 구분되는 시기가 연구 보고에 따라 많은 차이가 있다.

근육의 수축 특성은 근육을 지배하는 신경에 따라 영향을 받는데, 척수의 복측내측로(ventromedial pathway)는 전삭(anterior funiculus)이나 외측삭(lateral funiculus)의 복측에 위치하며 대부분 양측 근위부의 근육을 지배하는 운동신경원에 영향을 주어

신근(externsor muscle)을 흥분시키는 역할을 하며, 배측외측로(dorsolateral pathway)는 외측삭(lateral funiculus)의 배측에 위치하며 동측 원위부의 근육을 지배하는 운동신경원에 영향을 미쳐 굴근(flexor muscle)을 흥분시키고 신근을 억제시키는 역할을 한다.[22]

Kumagai 등[18]은 척수 전각의 복측내측핵이 체간근을 지배하고, 외측핵이 사지근육을 지배하는 것에 착안하여, 요근(psoas muscles)과 대퇴사두근(quadriceps femoris muscles)의 발달을 연구하여, 발생 18주에 두 근육 모두에서 I형 섬유가 출현하고, 발생 30주 이후에 I형 섬유가 급격히 증가하여 요근에서 50%, 대퇴사두근에서 20-23%가 존재함을 보고하여 체간근과 사지근육에서 섬유형의 비율이 다름을 보고하였다. Elder 등[23]은 신근인 상완삼두근과 굴근인 상완이두근의 발달을 연구하여, 발생 22주에서 26주 사이에 I형 섬유가 상완이두근에서 5%, 상완삼두근에서 13%의 분포를 보였고, 30주 이상에서 그 비율이 증가함을 보고하여 신근과 굴근에서 역시 섬유형의 비율이 다름을 보고하였다. 이상의 연구 결과를 살펴보면, 발생 중 체간근과 사지근육, 그리고 굴근과 신근에서 섬유형의 분포가 다른 것을 알 수 있다.

그러나 아직도 발생 중인 근육에서 신근과 굴근, 두측과 미측의 근육(예를 들면 상지와 하지의 근육), 근위와 원위의 근육(예를 들면 대퇴와 하퇴의 근육)에서 섬유형의 발현 시기나 비율, 그리고 섬유 크기 등에 어떠한 차이가 있는지 알려져 있지 않다.

이와 같이 재활의학 분야에서 중요한 근육의 구조, 기능 및 병리를 이해하는데 중요한 인간 사지 근육의 발생에 관해서는 아직도 연구가 거의 이루어져 있지 않은 실정이다.

따라서 이 연구에서는 발생 중인 인간 배자 및 태아를 이용하여, 사지의 외형 발생, 사지의 조직 분화에서 근육 성분의 발생, 상완(상완삼두근과 상완이두근), 대퇴(대퇴직근과 대퇴이두근) 및 하퇴(전경골근과 비복근)의 대표적인 신근과 굴근의 초기 발생 및 형태 형성, 근섬유형의 분화 및 성장 등을 연구함으로써 인간에서 근육의 초기 발생에 대한 기본적인 자료를 제시하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

연구 재료로는 연세대학교 의과대학 해부학교실에 수집, 보관되어 있는 정상 인간 배자 및 태아 55례를 이용하였다(표 1). 배자는 발생 4주에서 8주까지 24례를 이용하였는데, 현재 인간 배자의 발달 정도를 정하는데 가장 보편적으로 사용되는

표 1. 실험에 사용된 배자 및 태아

Gestational age(week)	Carnegie stage	Number	Crown rump length(Foot length) (㎜)
4	12	2	4.5 / 5.0
	13	2	3.0 / 4.2
5	14	2	6.2 / 6.5
	15	2	7.3 / 9.0
6	16	2	10.7 / 11.7
	17	2	12.9 / 14.0
7	18	2	15.8 / 15.9
	19	2	16.5 / 17.4
8	20	2	18.9 / 22.0
	21	2	20.2 / 22.5
	22	2	23.4 / 23.8
	23	2	25.0 / 28.0
9		2	33 / 43
10		2	51 / 58
11		1	73(13)
12		1	93(14)
13		1	102(18)
15		1	123(26)
17		2	149(29) / 155(31)
18		1	150(34)
19		2	167(-) / 175(36)
20		3	165(50) / 180(40) / 188(41)
21		3	178(38) / 188(42) / 195(42)
22		1	210(47)
23		3	218(48) / 220(46) / 225(47)
24		1	220(53)
25		1	235(53)
27		1	240(64)
28		2	250(62) / 250(65)
30		1	260(66)
31		1	260(69)
34		1	300(80)

카네기 발생기(Carnegie stage)[24]를 기준으로 분류함으로써 발생 단계를 객관적으로 나타내었다. 이 기준에 의하면 발생 4주는 10-13기, 발생 5주는 14기와 15기, 발생 6주는 16기와 17기, 발생 7주는 18기와 19기, 그리고 발생 8주는 20-23기에 해당한다.

태아는 발생 9주부터 34주까지 31례를 이용하였는데, 머리둔부길이(crown rump length)와 발길이(foot length)를 기준으로 주 별로 나누어 사용하였다.[25]

2. 연구 방법

가. 배자

배자는 우선 상지와 하지가 어떻게 발생하는가를 관찰하기 위해 5-50배로 확대가 가능한 해부현미경(Wild 10, Leica, Swiss)을 이용해 상지와 하지의 외형을 관찰 및 촬영하였다.

관찰이 끝난 배자는 10% 포르말린으로 전체를 고정하여 사용하였다. 이후 70%, 85%, 95%(2번) 및 100%(2번) 알코올로 조직의 크기에 따라 5-20분씩 탈수하고, histoclear 혹은 xylene으로 투명화시킨 후 파라핀에 포매하였다. 포매할 때 배자는 횡단면 혹은 시상단면으로 잘리도록 배자의 위치를 정했으며, 파라핀 블럭을 rotary microtome으로 5-10 ㎛ 두께로 연속 절단 표본을 제작하였다. 절편은 10% isopropyl alcohol 용액에 띄운 후 다시 45 ℃의 물로 옮겨 조직이 잘 펴지도록 한 후 silane으로 coating된 slide glass 위에 붙였다. 조직 표본은 hematoxylin-eosin(H-E) 혹은 Trichrome으로 염색하였다. 염색이 끝난 표본은 histomount로 봉입하였다. 만들어진 조직 표본은 광학현미경으로 우선 상지와 하지에서 골격, 신경, 혈관 및 근육 등의 성분이 언제 분화하는가 하는 초기 발생 과정을 관찰하였다.

근육의 원기가 출현한 이후에는 상완에서 상완삼두근(triceps brachii muscle)과 상완이두근(biceps brachii muscle), 대퇴에서 대퇴직근(rectus femoris muscle)과 대퇴이두근(biceps femoris muscle), 하퇴에서 비복근(gastrocnemius muscle)과 전경골근(anterior tibialis muscle)이 근육의 형태를 갖게되는 초기 발생 과정을 관찰 분석하였다.

나. 태아의 조직 표본 제작

1) 미세 해부 및 조직 표본 제작

이미 10% 포르말린으로 관류고정(perfusion)된 발생 9주에서 12주 사이의 태아는 미세 해부 및 H-E 염색을 통해 각 근육의 초기 발생 과정을 관찰 분석하였다.

특수 염색을 위해 발생 13주부터 34주까지의 태아는 유산된 후 세 시간이 넘지 않은 예만 사용했다. 해부현미경을 이용해 위의 여섯 근육을 분리한 후 항상 근육의 중간 부위를 횡으로 절단하여 사용하였다. 근육 조각은 액체질소에 넣어 냉각시킨 isopentane에 담가 약 10초 동안 급속히 냉동시키고 -20 ℃의 냉동절편기 속에서 10 ㎛ 두께로 횡절편을 제작하였다.

만들어진 절편은 일반적인 형태학적 변화를 보기 위하여 H-E 염색, 당원의 변화를 보기 위하여 periodic acid schiff (PAS) 반응, 그리고 근섬유형의 분류를 위하여 myofibrillar adenosine triphosphatase (myosin ATPase) 염색과 reduced nicotinamide dinucleotide-tetrazolium reductase (NADH-TR) 염색을 시행하였다.

2) PAS 반응[26]

조직 표본을 탈파라핀, 함수, 수세 과정을 거친 후, 1% periodic acid (Sigma Chemical CO, St. Louis, MO, U. S. A.) 수용액에서 5분 동안 산화시키고, 흐르는 물에서 5분 동안 수세한 후 증류수에서 헹구었다. 이어 Schiff 시약 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany)에 10분 동안 반응시킨 후, 0.5% sodium meta-bisulfate 수용액에서 2분씩 3회 세척하였다. 증류수에서 10분 동안 발색시킨 후 Harris hematoxylin 액으로 핵을 염색하고, 탈색, 중화, 수세, 탈수, 투명 과정을 거쳐 봉입하였다.

3) Myosin ATPase 염색[27, 28]

조직 표본을 실온에서 한 시간 동안 건조시킨 후, 실온에서 5분 동안 고정액에 고정하였다. Tris buffer에서 1분 동안 흔들어가면서 세척한 후, acid와 alkaline preincubation 용액(pH 4.3, 4.6, 10.4)에 옮겨 15분 동안 반응시켰다. 다시 tris buffer에 1분씩 2회 세척한 후, 반응액으로 옮겨 37 ℃에서 45분 동안 반응시켰다. 이어 1% $CaCl_2$ 수용액에 30초씩 3회 세척하였고, 2% cobalt chloride 수용액에 3분 동안

둔 다음 alkaline 세척액에 30초씩 4회 세척하였다. 1% ammonium sulfide 수용액에서 3분 동안 발색시키고, 흐르는 물에 5분 동안 수세하였다. 탈수, 투명 과정을 거친 후 봉입하였다.

(1) 고정액 : 40% 포르말린 50 ㎖에 sodium cacodylate (Wako Pure Chemical Industries Ltd, Tokyo, Japan) 31 g, $CaCl_2$ 10 g, sucrose 115 g을 가하여 용해한 후, 증류수로 채워 1 ℓ 용액을 만들었다.

(2) Tris buffer : 증류수 850 ㎖, 0.18 M $CaCl_2$ 100 ㎖, Tris (hydroxymethyl) aminomethane (Sigma Chemical CO, St. Louis, MO, U. S. A.) 12.1 g을 혼합하여 용해한 후, 1 N-6 N HCl을 사용하여 pH 7.8로 조정하고 증류수로 채워 1 ℓ 용액을 만들었다.

(3) alkaline preincubation 용액 : 1.5 M alkaline buffer (2-amino-2-methyl-1-propanol buffer, Sigma Diagnostics Inc, St. Louis, MO, U. S. A.) 3.35 ㎖, 0.18 M $CaCl_2$ 10 ㎖, 증류수 35 ㎖을 혼합한 후, 1 N-10 N KOH를 사용하여 pH 10.4로 조정하고 증류수를 채워 50 ㎖ 용액을 만들었다. 사용 직전에 제조하였다.

(4) 반응액 : 1.5 M alkaline buffer 3.35 ㎖, 0.18 M $CaCl_2$ 5 ㎖, KCl 185 ㎎, adenosine-5'-triphosphate disodium salt (ICN Biomedicals Inc, Aurora, Ohio, U. S. A.) 76 ㎎을 혼합하여 용해한 후, 6 N HCl을 사용하여 pH 9.4로 조정하고 50 ㎖까지 증류수로 채웠다. 사용 직전에 제조하였다.

(5) alkaline 세척액 : 1.5 M alkaline buffer 13.4 ㎖, 증류수 160 ㎖을 혼합한 후, 1 N-6 N HCl을 사용하여 pH 9.4로 조정하고 50 ㎖까지 증류수로 채웠다.

(6) acid preincubation 용액 : 0.18 M $CaCl_2$ 100 ㎖, 빙초산 3 ㎖, 증류수 875 ㎖을 혼합한 후, 1 N-5 N KOH를 사용하여 pH 4.3과 4.6으로 조정하고 증류수로 채워 1 ℓ 용액을 만들었다.

4) Reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH-TR) 염색

조직 표본을 반응액에 넣어 37 ℃에서 20-30분 동안 반응시킨 후, 증류수로 1분 동안 세척하였다. 75%, 85%, 95%, 100% 알코올을 사용하여 탈수하고, 0.5% safranin(Sigma Chemical CO, St. Louis, MO, U. S. A.) 용액에서 30초 동안 대조 염

색을 한 후, 증류수로 세척하고 봉입하였다.

(1) 반응액 : tris-hydrochloric acid buffer 10 ㎖, nitro blue tetrazolium (Sigma Chemical CO, St. Louis, MO, U. S. A.) 10 ㎎, NADPH (β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form, Sigma Chemical CO, St. Louis, MO, U. S. A.) 4 ㎎을 혼합하여 pH 7.4로 조정하였다.

(2) Tris-hydrochloric acid buffer : Tris (hydroxymethyl) aminomethane 6.5 g, concentrated hydrochloric acid 3.34 ㎖, 증류수 1ℓ를 혼합하여 pH 7.4로 조정하였다.

다. 근섬유형의 분류

근섬유형은 Cooper 등[29]의 방법을 이용하여 NADH-TR 염색 반응에 따라 제I형, IIa형 및 IIb형으로 분류하였으며, Staron과 Hikida(1992)의 방법에 따라 myosin ATPase 염색 반응으로 근섬유형을 다시 한번 확인하였다.

Myosin ATPase 염색법을 이용하여 각각의 pH에서 전침적(preincubation)한 후, 근섬유형의 분류를 모식화하면 표 2와 같다.

표 2. 여러 pH에서 전침적한 후 myosin ATPase 법으로 염색하였을 때 근육형에 따른 염색 상태

	pH 10.4	pH 4.3	pH 4.6
Type I	○	●	●
Type IIa	●	○	○
Type IIb	●	○	◑
Type IIc	●	●	●

라. 근섬유의 계측

각 근육에서 발생 시기에 따라 근섬유형을 구분하여, 200배 배율에서 영상분석기(Optimas Image Analyzer Ver 6.1, Optimas Corporation, Bothell, WA, U. S. A.)를 사용하여 각각 근섬유형의 단위 면적(㎟)당 개수를 세어 비율로 나타내었고, 횡단 면

적을 계측하였다. 근섬유의 횡단면적은 각 근육의 근섬유형 마다 20개씩을 측정하였으며, 단위 면적 당 개수는 한 근육 표본에서 무작위로 세 개의 시야 (1×1 ㎜)를 설정하여 그 시야 안에 있는 모든 섬유를 섬유형에 따라 분류한 후 개수를 세었다.

마. 통계 분석

모든 계측값은 SAS 통계 프로그램(Ver 6.1, SAS Institute Inc, Raleigh, N. C, U. S. A.)을 이용하여 통계 처리하였다.

III. 결 과

1. 사지의 외형 발달

가. 상지

상지의 원기인 상지싹(upper limb bud)은 발생 12기의 후기 배자에서 처음 관찰되었다(그림 1A). 이 시기의 상지는 심장의 배미측(dorsocaudal)에서 제8-10체절 높이에 걸쳐 길이가 약 0.5 ㎜, 폭이 약 0.2 ㎜, 높이가 약 0.1 ㎜인 얕고 긴 융기의 형태를 띠고 있었다. 발생 13기(그림 1B)에는 제7-11체절에 걸쳐 놓여 있었으며, 길이가 약 0.9㎜, 높이가 약 0.3㎜인 초승달 모양의 융기로 관찰되었다.

발생 14기(그림 1C)에는 상지가 부착 길이와 돌출 높이가 거의 같은 뚜렷한 융기로 관찰되었으며, 복측으로 약간 굽어 있었다. 발생 15기(그림 1D)에는 더욱 돌출되어 전형적인 원시수판(hand plate)을 형성하였다. 수판은 전체적으로 주걱 모양이었으며, 원위측의 손분절(hand segment)과 근위측의 전완, 상완 및 어깨로 이루어졌다.

발생 16기(그림 1E)의 상지는 손목에 해당하는 부위가 뚜렷하게 잘록하였으며, 수판을 둘러싸는 두터운 주름인 수지판(digital plate)이 관찰되었다. 발생 17기(그림 1F)에서는 특징적으로 원시수판에서 수지방사(finger ray)가 관찰되었다. 발생 17기의 후기 배자에서 수판의 둘레는 톱니 모양을 나타내기 시작하였다.

발생 18기(그림 1G)의 상지에서는 수지방사가 뚜렷하였고 수판의 둘레에 얕은 수지간절흔(interdigital notch)이 잘 발달되어 있었다. 일부 표본에서 팔꿈치가 구분되었다. 발생 19기(그림 1H)에는 수지간절흔이 더욱 뚜렷해지면서 손가락이 구별되었다.

발생 20기-23기의 상지는 손가락이 점차 뚜렷해졌다. 발생 20기에 팔꿈치 부위에서 굽은 손은 심장 위에서 코 근처에 놓여 있었으며, 손가락이 뭉툭하였다. 발생

21기에는 말절골 부위가 다소 팽대되어 있었고, 발생 22기에는 상지가 정중에서 거의 만났고 팔꿈치와 손목에서 뚜렷하게 굽어 있었다. 발생 23기에는 손가락 끝에 패드(pad)가 형성되었다(그림 1I).

태아기(그림 1J)에 들어 손가락 끝의 패드가 분명해졌으며, 전체적으로 형태가 성인에서와 유사하였고, 발생이 진행됨에 따라 크기와 비율이 점차 성인형으로 바뀌었다.

나. 하지

하지의 원기인 하지싹(lower limb bud)은 발생 13기에 처음 관찰되었다(그림 2A). 배자의 꼬리 부분이 휘어 있어 관찰하기 곤란한 경우도 있었지만, 제24-27체절 높이에서 길이가 약 0.5 ㎜, 높이가 약 0.2 ㎜인 분명한 얕은 융기로 관찰되었다.

발생 14기의 하지(그림 2B)는 부착 길이가 약 0.7 ㎜이고 높이가 약 0.3 ㎜인 낮은 융기의 모양이었다. 발생 15기의 하지(그림 2C)는 부착 길이가 약 1.1 ㎜이고 높이가 약 1.3 ㎜로 유사했으며, 넓게 부착된 부분과 튀어나온 부분의 구분은 불확실하였다.

발생 16기에 하지(그림 2D)는 전형적인 원시족판(foot plate)을 이루었으며, 발이 될 부분과 하지의 나머지 부분이 구분되기 시작하였다. 발생 17기(그림 2E)에는 원시족판은 둥근 주걱 모양이었으며, 둘레에 두터운 주름인 족지판이 형성되었다. 족판과 나머지 부분 사이의 경계는 잘록했으나 상지에 비해서는 덜 뚜렷하였다.

발생 18기에는 하지(그림 2F)에서 족지방사(toe ray)가 뚜렷하였다. 발생 19기(그림 2G)에는 족판의 둘레가 톱니 모양을 나타내기 시작하였다.

발생 20기-23기의 하지는 발가락이 점차 뚜렷해졌다. 발생 20기에 족지간절흔이 뚜렷해졌으며, 무릎과 발가락이 분명해졌다. 발생 21기에는 발가락이 뚜렷해졌다. 발생 22기에 말절골 부위가 다소 팽대되었고, 발생 23기(그림 2H)에는 발가락 끝에 패드(pad)가 형성되어 외형이 성인과 같은 모양이었다.

태아기(그림 2I)에 들어 상지에서와 같이 발가락 끝의 패드가 분명해졌으며, 전체적으로 형태가 성인에서와 유사하였고, 발생이 진행됨에 따라 크기와 비율이 점차 성인형으로 바뀌었다.

2. 사지의 초기 조직 발생

가. 상지

발생 12기(그림 3A)의 상지싹은 표면외배엽(surface ectoderm)과 치밀한 체벽중배엽으로 이루어졌다. 싹의 외측연 및 복측면을 덮는 부위의 상피는 다른 부위에 비해 두꺼웠으며, 2-3 세포층의 외배엽 비후(ectodermal thickening)를 형성하였다. 체벽중배엽은 배측의 체절과는 연락이 없었다. 발생 13기(그림 3B)에 상지싹은 대략 반달 모양의 뚜렷한 융기로 관찰되었다. 싹의 외측연 및 복측면에는 외배엽비후가 잘 발달해 있었고, 능선 심측의 싹 내부에는 약간의 혈관이 형성되었다.

발생 14기(그림 3C)에는 여러 세포층으로 이루어진 첨외배엽능선(apical ectodermal ridge)이 관찰되었고, 상지 내부에서 혈관의 발달이 뚜렷하였다. 척수신경은 상지싹 기저부 근처에서 서로 만나 상완신경총(brachial plexus)의 초기 형태를 이루었으며, 상지 쪽으로 뻗는 짧은 가지가 관찰되었다. 발생 15기(그림 3D)에는 상지 근위부에서 중간엽이 축합되었으며, 상완신경총에서 나온 요골신경, 근육피부신경, 정중신경 및 척골신경 등의 가지가 상지싹의 근위부로 뻗었다.

발생 16기(그림 3E)에 중간엽의 축합이 골격의 중간엽성 원기(mesenchymal primordium)를 형성하여 상완골, 요골 및 척골의 모양과 유사해졌으며, 중앙의 일부 세포가 팽대되어 있었다. 상완신경총에서 나온 신경들은 원시수판의 기저부까지 뻗었다. 발생 17기에 중간엽의 축합은 상완골, 요골 및 척골의 모양을 나타내었고, 일부 표본에서 상완골의 연골화의 초기 변화가 관찰되었다. 또한 이 시기에 상지에서 근육 성분이 처음 관찰되었다.

나. 하지

발생 13기(그림 4A)에 하지싹은 얕은 융기의 상태이었으며, 싹의 복측면에는 2-3세포층의 외배엽 비후가 관찰되었고, 내부에 약간의 혈관이 발달되어 있었다. 내부의 중간엽은 상지에서와 같이 체절을 이루는 중간엽과는 연속되어 있지 않았다.

발생 14기(그림 4B)에 하지는 상지보다 덜 발달된 융기로 관찰되었으며, 복외측연을 따라 외배엽비후가 관찰되었다. 발생 15기(그림 4C)의 하지는 대체로 반월 모양이었으며, 중간엽이 더 치밀해졌고 척수신경이 하지 근처에 도달해 있었다.

발생 16기에 하지의 중간엽은 뚜렷하게 축합되었고, 하지의 근위부에 신경이 도달하였다. 발생 17기(그림 4D)에 중간엽의 축합은 대퇴골, 경골 및 비골의 모양을 나타내기 시작했으나 상지보다는 덜 뚜렷하였다. 대퇴골의 윤곽이 어느 정도 구별되면서 대퇴골 주변에서 중간엽의 축합이 구별되기 시작했으나 역시 상지보다는 덜 뚜렷하였고 근육의 원기로 인정하기는 힘들었다.

하지에서 근육의 원기는 발생 18기에 처음 관찰되었다.

3. 근육의 초기 발생

가. 상지

발생 17기(그림 5A, B)에 상완에서 처음 관찰된 근육 성분은 상완골을 중심으로 내측부에서는 근육피부신경, 외측부에서는 요골신경 주위에 놓인 치밀한 중간엽 집단으로 관찰되었다. 내측의 중간엽은 상완이두근, 외측의 중간엽은 상완삼두근의 원기로 추정되었으며, 상완골 주위를 둘러싸는 골막의 원기와 연속되어 있었다. 근세사는 아직 관찰되지 않았으며, 근육세포들은 방향성을 나타내지 않았다.

발생 18기(그림 5C, D)에 세포들이 방향성을 나타냈고 근세사가 관찰되어 근육 원기들의 윤곽이 뚜렷해졌지만 골격 성분에 부착하는 부분은 분명하게 구분되지 않았다. 상완골 체부에서 세포들이 방향성을 갖고 커지면서 초기 연골화가 뚜렷하였다. 발생 19기에는 손가락을 제외한 상지의 대부분에서 많은 근육들의 분화가 진행되었다.

발생 8주에는 상완이두근과 삼두근이 커지면서, 발생 22기에 이르러 근섬유 다발이 분명하게 관찰되었다(그림 5E, F). 발생 10주(그림 5H)가 되면 육안적으로도 두 근육이 분명하게 관찰되었고 이후 더욱 뚜렷해졌다(그림 5I).

나. 하지

발생 18기(그림 6A)에 대퇴골이 더욱 뚜렷해졌다. 대퇴골 양측에서 근육의 원기로 추정되는 치밀한 중간엽 축합으로 관찰되었다. 외측의 축합은 얇은 판 모양이었고, 내측의 축합은 둥근 모양이었다. 근육의 층은 구별되지 않았다. 하퇴에서는 굴근과 신근의 원기가 뚜렷하지 않았다. 발생 19기에 대퇴골과 경골의 체부에서 연골화가 시작되었으며, 대퇴골과(femoral condyle)와 경골과(tibial condyle)는 아직 치밀한 중간엽의 상태이었으나 전체적으로 성인에서와 유사한 모양을 나타내었다. 대퇴골 내측과 외측에서 근육의 원기를 이루는 세포들이 방향성을 나타냈고 근세사가 뚜렷하게 관찰되어 각각 하퇴의 굴근과 신근의 원기를 이루었다. 하퇴에서는 근육의 원기가 중간엽의 축합으로 관찰되었다.

발생 20기에 대퇴(그림 6B)와 하퇴(그림 6C)에서 여러 근육들이 구별되었다. 이때 대퇴직근은 대퇴골 외측에 위치한 하퇴 신근 원기의 중간부에서 관찰되었다. 대퇴이두근은 대퇴골 내측에 위치한 하퇴 굴근 원기의 외측부에서 관찰되었다. 하퇴에서 전경골근은 경골 바로 외측에서 관찰되었고, 비복근은 경골 후방의 표층에서 관찰되었다. 발생 21기(그림 6D)에는 각 근육들의 경계가 보다 확실해졌다. 발생 22기(그림 6E, F)에는 근섬유 다발이 분명하게 관찰되었다. 하지의 근육들은 발생 10주가 되면 육안적으로 구분이 가능했다.

4. 근육형의 발현 및 성장

가. 일반적인 소견

태아기 초에 각 근육은 현미경 관찰에서 섬유 다발이 분명하였으나 다발 사이의 간격이 넓었다(그림 7A, B). 또한 핵은 타원형이었고 세포의 중간에 놓여 있었다. 그러나 발생 21주 이후(그림 C, D, E)가 되면서 각 섬유 다발이 촘촘해지면서 다발 사이의 간격이 크게 좁아졌으며 납작한 핵이 세포의 주변부에 놓여 성숙한 모습을 보였다.

나. 근섬유형의 출현 및 비율 변화

각 근육에서 시기에 따라 근육형의 발현을 살펴보았다. 발생 17주 이전의 태아(그림 8A)에서는 모든 근육에서 미분화형인 IIc형 섬유만 관찰되었다. 발생 17주(그림 8B)에 모든 근육에서 큰 I형 섬유가 출현하였다. 발생 28주(그림 8C)에는 I형 섬유가 출현하였고, 발생 31주(그림 8D)에 IIa 및 IIb형 근섬유가 출현하였다. 이들 섬유형의 출현 시기에 있어 신근과 굴근, 상지와 하지, 근위와 원위에 따른 차이는 없었다.

각 근육에서 이들 근섬유형의 비율은 표 3에 나타내었다. 그리고 발생 시기에 따른 섬유형 비율의 변화를 선형 회귀 모형을 이용하여 분석한 결과, 상완의 굴근이 대퇴의 굴근보다 IIb형 섬유의 비율이 높았고($p<0.05$) 하퇴의 굴근이 대퇴의 굴근보다 IIb형 섬유 및 큰 I형 섬유의 비율이 높았다($p<0.01$).

발생 중 각 근섬유형의 비율은 IIc형의 경우 17-27주 사이에 대퇴 신근이 하퇴 신근보다 비율이 높았고($p<0.01$), 큰 I형의 경우 17-27주 사이에 하퇴 신근이 대퇴 신근보다 비율이 높았으며($p<0.01$) I형의 경우 28-30주 사이에 대퇴 신근이 상완 신근보다 비율이 높았다($p<0.05$).

다. 근섬유의 성장

각 근육에서 섬유형에 따른 근섬유의 면적은 표 4에 나타내었다.

근섬유형을 구별하지 않고 각 시기 별로 근섬유의 크기를 계측하여 통계 처리한 결과, 상완에서 신근이 굴근보다 컸고($p<0.05$) 상완의 신근이 대퇴의 신근보다 컸다($p<0.01$). 각 근육에서 섬유형에 따라 크기를 발생 시기에 따라 측정한 결과, 상완 신근의 IIc형 및 큰 I형이 굴근보다 컸고($p<0.01$) 대퇴 굴근이 신근보다 큰 I형이 컸으며($p<0.01$) 하퇴 굴근이 신근보다 큰 I형이 컸다($p<0.01$).

각 근섬유형에 따른 크기를 보면, IIc형의 경우 발생 16주 이하에는 상완 굴근이 대퇴 굴근보다 컸고($p<0.01$) 상완 신근도 대퇴 신근보다 컸다($p<0.05$). 발생 17-27주 사이에는 상완 신근이 굴근보다 컸고($p<0.01$) 상완 신근이 대퇴 신근보다 컸다($p<0.01$). 발생 28-30주에는 하퇴 신근이 굴근보다 컸고($p<0.01$) 상완 신근이 대퇴 신근보다 컸으며($p<0.01$) 하퇴 신근이 대퇴 신근보다 컸다($p<0.01$). 발생 31주 이후에는 하퇴 신근이 대퇴 신근보다 컸고($p<0.05$) 하퇴 신근이 굴근보다 컸다

($p<0.05$).

큰 I형의 경우 발생 17-27**주 사이에는 상완 신근이 굴근보다 컸고**($p<0.01$) **하퇴 굴근이 신근보다 컸으며**($p<0.01$), **상완 굴근이 대퇴 굴근보다 컸고**($p<0.05$) **상완 신근이 대퇴 신근보다 컸으며**($p<0.01$) **대퇴 신근이 하퇴 신근보다 컸다**($p<0.01$). **발생** 28-30**주 사이에는 대퇴 굴근이 신근보다 컸고**($p<0.01$) **상완 신근이 굴근보다 컸으며**($p<0.01$) **상완 신근이 대퇴 신근보다 컸다**($p<0.01$). **또한 대퇴 굴근이 하퇴 굴근보다 컸고**($p<0.01$), **하퇴 신근이 대퇴 신근보다 컸다**($p<0.01$).

I형의 경우 28-30**주 사이에 상완 신근이 굴근보다 컸고**($p<0.01$) **상완 신근이 대퇴 신근보다 컸다**($p<0.01$). **또한** 31**주 이후에는 상완 굴근이 신근보다 컸고**($p<0.01$) **대퇴 신근이 상완 신근보다 컸으며**($p<0.01$), **대퇴 신근이 하퇴 신근보다 컸다** ($p<0.05$).

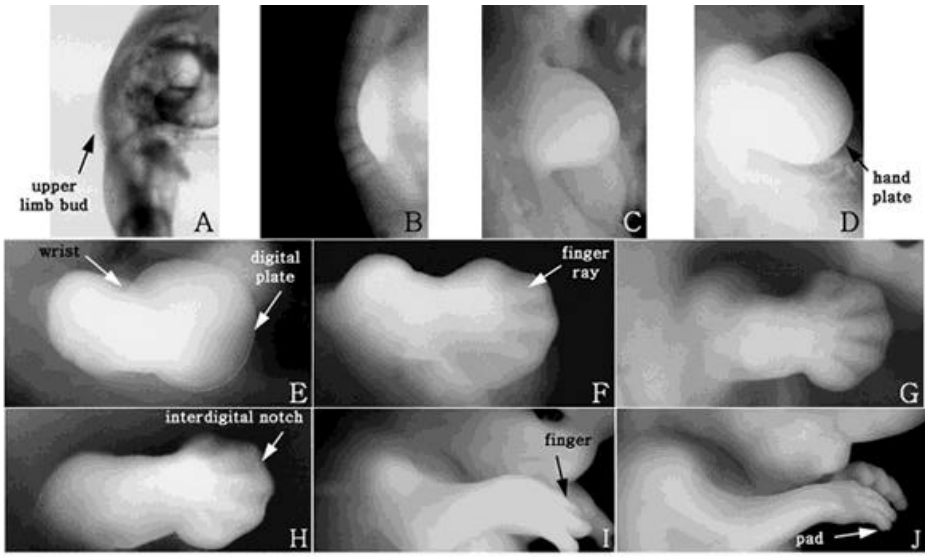

그림 1 상지의 외형 발달. A. 발생 12기 B. 발생 13기 C. 발생 14기 D. 발생 15기 E. 발생 16기 F. 발생 17기 G. 발생 18기 H. 발생 19기 I. 발생 23기 J. 발생 9주

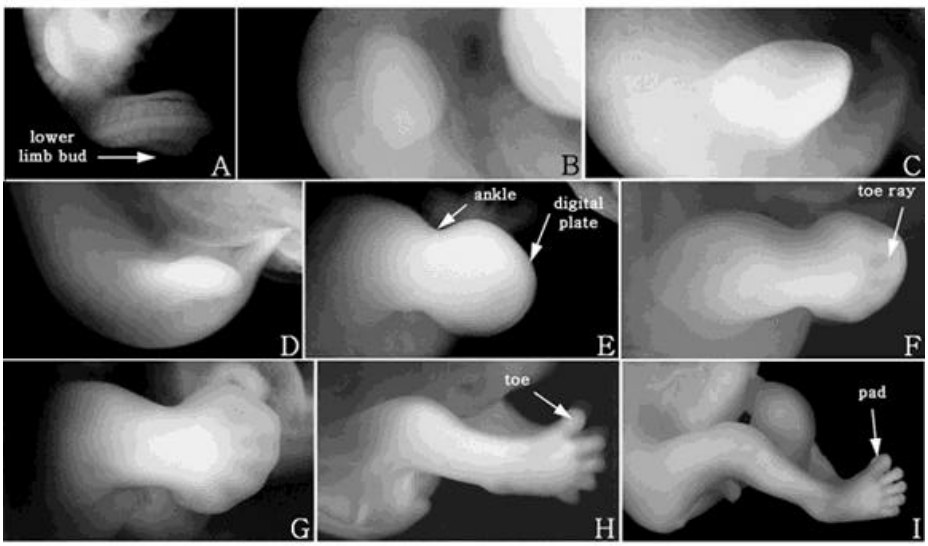

그림 2 하지의 외형 발달. A. 발생 13기 B. 발생 14기 C. 발생 15기 D. 발생 16기 E. 발생 17기 F. 발생 18기 G. 발생 19기 H. 발생 23기 I. 발생 9주

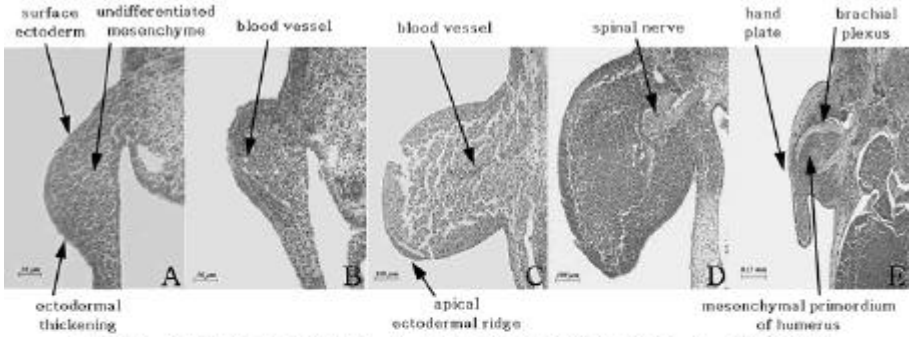

그림 3 상지의 초기 조직발생. A. 발생 12기 B. 발생 13기 C. 발생 14기 D. 발생 15기 E. 발생 16기

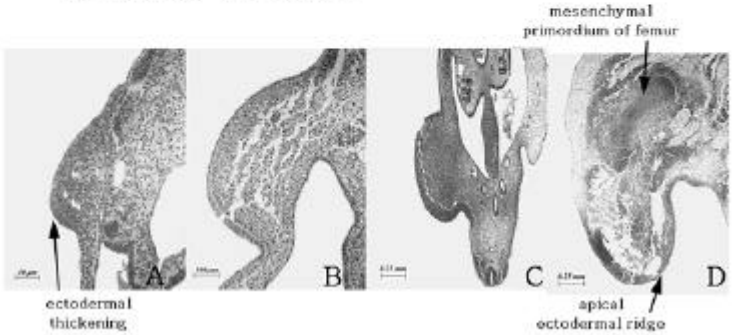

그림 4 하지의 초기 조직발생. A. 발생 13기 B. 발생 14기 C. 발생 15기 D. 발생 17기

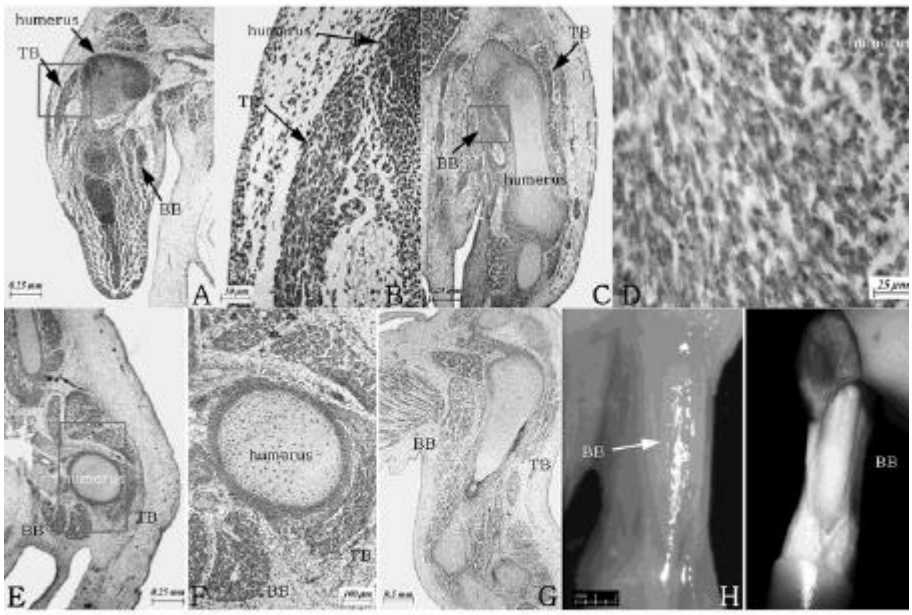

그림 5 상지 근육의 초기 발생. A. 발생 17기 상지의 저배율 단면 B. A에 표시된 사각 부위의 고배율 사진 C. 발생 18기 상지의 저배율 단면 D. C에 표시된 사각 부위의 고배율 사진 E. 발생 22기 상지의 저배율 단면 F. E에 표시된 사각 부위의 고배율 사진 G. 발생 23기 상지의 단면 H. 발생 12기 태아의 상완이두근 I. 발생 20기 태아의 상완이두근. TB; 상완삼두근, BB; 상완이두근

.

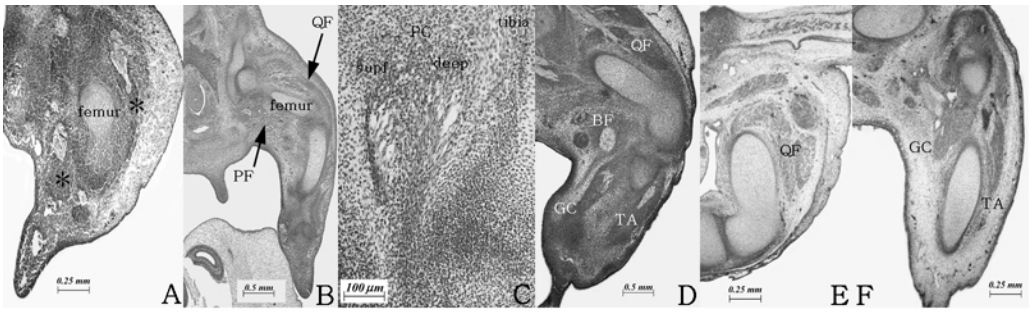

그림 6 하지 근육의 초기 발생 . A. 발생 18기 하지의 단면 B. 발생 20기 대퇴의 조직 단면 C. 발생 20기 하퇴의 조직 단면 D. 발생 21기 하지의 조직 단면 E. 발생 22기 대퇴의 조직 단면 F. 발생 22기 하퇴의 조직 단면 . QF; 대퇴사두근 , PF; 후대퇴근 , BF; 대퇴이두근 , GC; 비복근 , TA; 전경골근

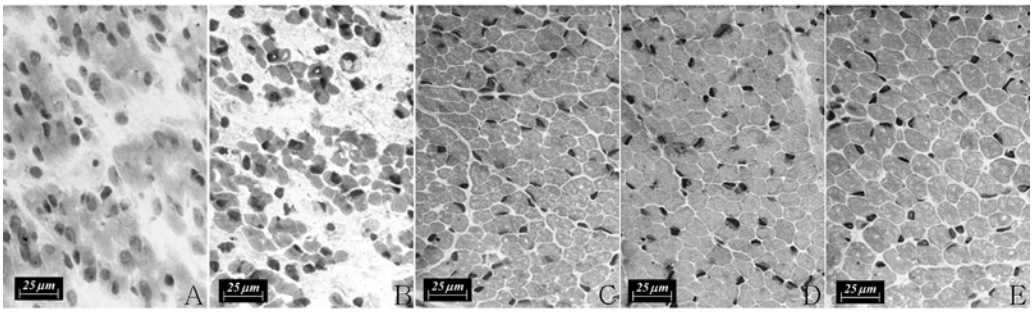

그림 7 태아기 중 근육의 초기 분화 . A. 발생 13주 B.발생 17주 C. 발생 24주 D. 발생 27주 E. 발생 31주

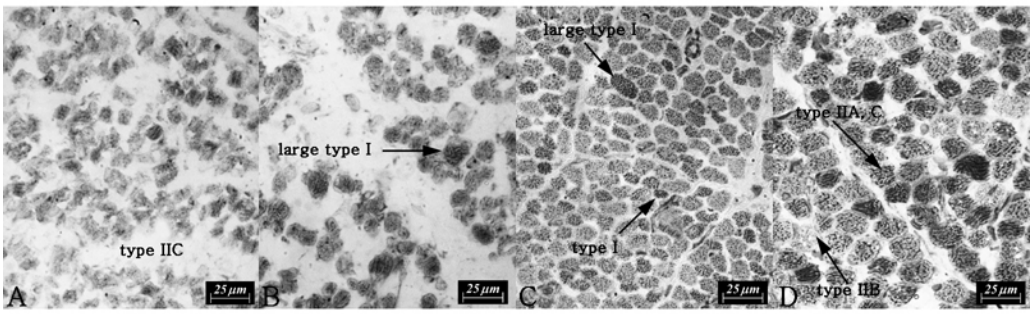

그림 8 태아기 중 근섬유형의 출현 . A. 발생 13주 B.발생 17주 C. 28주 D. 발생 31주

표 3 발생에 따른 근섬유형의 발현(%)

IIc ; 미분화 섬유, LI ; 큰 I형 섬유, I ; I형 섬유, IIa ; IIa형 섬유, IIb ; IIb형 섬유

근 육	Week / 섬유형	13	15	17	18	19	20	21	22	23	24	25	27	28	30	31	34
triceps brachii	IIc	100	100	98.3	96	97.3	95.4	94.1	97	93.4	94	90	89	94	90.3	64.7	42.3
	LI			1.7	4	2.7	4.6	5.9	3	6.6	6	10	11	5.3	8	2.3	2.3
	I													0.7	1.7	20	31
	IIa															12	19.3
	IIb															1	5
biceps brachii	IIc	100	100	97.7	98	97.3	94.7	93.8	93	94.7	97	95	85	90.8	88.3	65.3	41.7
	LI			2.3	2	2.7	5.3	6.2	7	5.3	3	5	15	8	9	3.3	2.7
	I													1.2	2.7	18	32.3
	IIa															9.7	18.7
	IIb															3.7	4.7
rectus femoris	IIc	100	100	99	99	98.3	95.9	93	91	92.9	95	96	94	91.5	88	64.7	41.7
	LI			1	1	1.7	4.1	7	9	7.1	5	4	6	7.3	9	3	2
	I													1.2	3	18	31.3
	IIa															10.7	20
	IIb															3.7	5
biceps femoris	IIc	100	100	98	97	97	96.2	93.1	92	91.2	96	94	93	91.8	87.3	64.7	40.7
	LI			2	3	3	3.8	6.9	8	8.8	4	6	7	7.3	9.7	2.3	3
	I													0.9	3	20	33
	IIa															12	19
	IIb															1	4.3
tibialis anterior	IIc	100	100	98.3	98	97.7	95	91.8	89	91.3	89	94	92	88	88	65.3	42.3
	LI			1.7	2	2.3	5	8.2	11	8.7	11	6	8	11	7.3	3.3	2.3
	I													1	4.7	18	31
	IIa															9.7	19.3
	IIb															3.7	5
gastrocnemius	IIc	100	100	97.5	99	97.5	95.4	89.9	88	90.4	96	93	93	90.8	88.7	64.7	41.3
	LI			2.5	1	2.5	4.6	10.1	12	9.6	4	7	7	8	9.3	3	2.3
	I													1.2	2	18	31
	IIa															10.7	20.3
	IIb															3.7	5

표 4 섬유형에 따른 근섬유의 면적(μm^2)

IIc : 미분화 섬유, LI : 큰 I형 섬유, I : I형 섬유, IIa : IIa형 섬유, IIb : IIb형 섬유

근 육	Week / 섬유형	13	15	17	18	19	20	21	22	23	24	25	27	28	30	31	34
triceps brachii	IIc	80.0	89.2	76.8	87.5	92.6	76.8	72.9	74.3	75.8	74.3	77.5	85.4	102.4	109.0	100.8	131.7
	LI			156.3	172.1	149.5	144.1	144.3	135.4	175.3	163.7	156.6	166.5	234.3	171.3	172.1	183.7
	I													84.4	87.7	90.6	105.1
	IIa															140.7	172.3
	IIb															140.0	171.4
biceps brachii	IIc	83.5	90.6	78.5	72.6	84.0	77.5	68.2	73.8	73.2	75.4	72.5	95.1	102.0	107.9	93.8	127.8
	LI			150.1	140.0	127.4	146.4	135.1	135.6	162.9	154.6	137.1	183.6	210.9	171.7	174.4	182.2
	I													71.4	86.8	118.2	100.9
	IIa															149.4	174.4
	IIb															142.7	170.9
rectus femoris	IIc	82.1	74.4	79.9	72.3	78.0	72.9	68.4	69.4	71.4	77.0	74.7	86.3	97.6	96.7	101.9	125.9
	LI			156.2	125.9	128.1	134.2	131.9	131.9	161.9	153.7	145.8	172.7	179.4	176.3	170.7	180.0
	I													64.9	96.5	118.5	102.4
	IIa															146.8	171.6
	IIb															146.2	172.6
biceps femoris	IIc	76.8	80.3	75.6	74.8	85.6	77.1	65.2	69.6	70.0	75.8	74.3	90.6	103.3	95.0	106.3	131.7
	LI			136.7	122.9	144.0	143.4	126.1	137.7	157.0	152.0	147.3	174.3	224.7	171.9	173.2	183.5
	I													70.2	84.7	104.6	110.2
	IIa															146.2	174.0
	IIb															145.1	172.1
tibialis anterior	IIc	77.6	82.2	78.1	66.5	78.6	74.4	67.5	70.4	73.3	74.2	73.3	79.9	95.2	106.3	90.6	133.2
	LI			142.8	142.7	134.7	152.3	130.3	129.4	147.4	155.5	145.7	169.9	188.3	183.6	172.6	184.4
	I													70.4	87.0	118.7	93.8
	IIa															143.2	172.6
	IIb															142.9	171.1
gastrocnemius	IIc	68.6	93.8	79.3	72.4	79.3	72.8	68.5	68.0	72.0	74.4	174.2	81.0	104.0	106.9	105.4	137.8
	LI			145.0	131.7	134.4	131.7	132.0	129.7	136.8	164.9	141.4	167.0	197.3	167.2	70.9	180.3
	I													69.5	86.3	113.9	90.6
	IIa															138.5	174.3
	IIb															138.4	173.8

IV. 고 찰

근육의 발생은 구조의 배열을 연구하는 해부학 뿐 아니라 기능을 연구하는 생리학에서도 중요하며, 임상적으로는 재활의학 분야에서 선천성 기형에 관한 이해 뿐 아니라 근육이나 신경의 손상 후 회복하는 과정에 대한 판정에 있어서도 중요하다. 인간 배자와 태아에서 근육의 초기 발생 및 형태 형성에 관한 연구는 1900년대 초에 일부 이루어진 바 있지만 특수 염색을 사용한 것은 아니기에 그 결과에 한계가 있었다.[7-10] 근육의 조성이나 구조 연구에 큰 전기를 마련해 준 것은 1960년대 중반 개발된 근육의 효소화학적 염색법이다.[11] 이후 근육에 대한 연구가 크게 활성화되어 주로 실험 동물에서 인위적으로 근육 및 신경의 손상, 신경 교차지배 등의 조건을 만들어 연구가 이루어져 왔다.[3-5] 그러나 인간에서 근육의 발생에 관해서는 발생 시기에 따라 일부 근육에서 섬유형이 발현되는 것에 대한 보고가 있을 뿐 각 근육을 비교한 체계적인 연구는 없는 실정이다.[12-20] 이들 연구의 결과는 섬유형이 출현하는 순서는 어느 정도 일치하지만, 미분화된 IIc형 섬유로 이루어진 초기 근육에서 여러 섬유형이 구분되는 시기에 이견이 많다. 또 발생 중 체간근과 사지근육, 그리고 굴근과 신근에서 섬유형의 분포가 다르다는 보고가 있으나,[18-23] 발생 중인 근육에서 신근과 굴근, 두측과 미측의 근육(예를 들면 상지와 하지의 근육), 근위와 원위의 근육(예를 들면 대퇴와 하퇴의 근육)에서 섬유형의 발현 시기나 비율, 그리고 섬유 크기 등에 어떠한 차이가 있는지 알려져 있지 않다.

따라서 이 연구는 발생 중인 인간 배자 및 태아에서 사지의 외형 발생, 사지의 조직 분화에서 근육 성분의 발생, 상완(상완삼두근과 상완이두근), 대퇴(대퇴직근과 대퇴이두근) 및 하퇴(전경골근과 비복근)의 대표적인 신근과 굴근의 초기 발생 및 형태 형성, 근섬유형의 분화 및 성장 등을 연구함으로써 인간에서 근육의 초기 발생에 대한 기본적인 자료를 제시하고자 하였다.

이 실험에서는 사용한 배자나 태아는 외관상 특별한 이상이 없는 정상 태아였

다. 배자령은 단순히 머리둔부길이나 월경력 등을 기준으로 추정하였을 때 나타날 수 있는 오차를 막기 위해 카네기 발생기를 이용해 배자의 외부 형태와 기관의 발생 정도에 따라 추정하였다.[24,30] 카네기 발생기는 최근 인체 발생 연구에서 세계적으로 보편적으로 사용되고 있다. 한편 태아는 우리나라의 경우 태아령을 추정하는 기준이 확립되어 있지 않기 때문에 Iffy 등의 보고[25]를 기준으로 머리둔부길이와 발길이를 이용하여 추정하였다.

이 연구에서 I형 근섬유와 II형 근섬유를 구분하는데 사용한 myosin ATPase 염색은 I형과 II형만을 구분할 수 있고 병리 소견이 있는 경우 관찰이 용이하며, 염색법이 비교적 쉽고 반응이 근세사에서 일어나므로 10 ㎛ 정도의 얇은 조직 절편에서도 염색이 가능한 이점이 있다.[13]

이 연구에서 관찰한 사지의 외형 발달은 기존의 다른 보고와 큰 차이를 보이지 않아 사지싹의 출현, 원시수(족)판, 수지(족지)판, 그리고 수지(족지)방사, 지절간절흔 등의 순서로 발생이 진행되었고 하지가 상지보다 한 발생기 정도 느리게 발달하였다.[31-33]

인간의 사지는 다른 실험동물과 달리 체절 성분이 아니라 체벽중배엽(somatic mesoderm)의 분화에 의해 형성되는 것으로 받아들여져 있으며, 이 연구에서도 발생 초기에 사지싹의 중간엽은 체절과 분명하게 구분되었다. 발생 초의 상지는 표면의 외배엽과 내부의 중간엽으로 이루어진다. 발생이 진행되면서 중간엽은 혈관, 골격, 및 근육으로 분화하며, 신경이 자라 들어가 분포한다. 상지싹의 형태 형성 및 분화 과정에는 특수화된 표면외배엽인 첨외배엽능선과 중간엽의 상호 작용이 중요한 것으로 알려져 있다.[34] 특히 첨외배엽능선은 골격이나 근육의 초기 분화에 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다.[35] 또한 신경의 분포가 근모세포의 초기 분화에 중요한 것으로 보고되었다.[36]

이 실험에서는 상지의 경우 발생 12기에 상지싹이 형성되기 시작해 발생 13기에 혈관이, 발생 15기에 신경이 분포되었고 발생 16기에 골격의 중간엽성 원기가 형성되었으며 발생 17기에 근육의 초기 분화가 관찰되었다. 이런 양상은 하지에서도 같았는데, 위의 여러 실험 결과와 일치하는 소견으로 생각된다. 사지의 여러 성분 중 근육이 가장 늦게 출현하는 것은 다른 성분들이 근육의 발생에 모종의 영향

을 미칠 수 있는 가능성이 있다는 것을 의미한다. 이중에서 혈관과 신경은 영양 공급이나 신경 지배의 측면에서 근육의 발생과 직접 관련이 있는 것 같으며, 나머지 중간엽에서 골격 성분이 구별된 이후 나머지가 축합되어 근육의 원기를 형성하는 것으로 관찰되었다.

근육은 몇 단계를 거쳐 발생한다. 우선 미분화된 중간엽세포가 단핵의 근육모세포(myoblast)로 분화하고, 이들 세포가 서로 융합되어 다핵성의 근관(myotube)을 형성한다. 근관에서는 근세사, 횡행세관, 근형질세망 등이 형성된다. 근관은 새로운 근육모세포의 융합 및 근세사의 형성으로 성장한다. 그리고 신경지배가 근육의 기능 분화 및 근섬유형 발현에 중요하다.

근육모세포로 분화하기로 예정된 초기의 세포는 근세사가 없고 세포분열을 통해 수가 많아지며, 예정근육모세포(presumptive myoblast)라 한다. 그러나 이 세포에 근세사가 형성되고 더 이상 세포분열이 일어나지 않으면 근육모세포(postmitotic myoblast)라 한다. 일반 염색 표본의 현미경 조직 관찰에서는 근세사를 관찰해 근육모세포의 출현을 확인할 수밖에 없는데 이 실험에서는 상지의 경우 발생 17기에 처음 관찰되었다. 그러나 배자에서 예정근육모세포가 나타내는 표지(marker)에 대한 면역조직화학법을 적용시켜 보면 정확히 언제 이 세포가 출현하는가를 확인할 수 있겠지만 신선한 배자를 구하지 못하여 시행하지 못하였다.

근육모세포는 서로 융합되어 근관을 형성하는데 발생 7 - 9주 사이에 일어나는 것으로 보고되어 있다.[37] 융합은 두 세포가 일정 기간 이상 서로 접촉해 있어야 하고 원형질막의 지방층이 밀착되어 융합되기 시작하는데 일단 시작된 융합은 빠르게 진행된다. 따라서 통상적인 방법으로 고정한 표본에서는 융합 현상을 확인하기는 어렵다. 이 실험에서는 hematoxylin과 eosin의 이중 염색 표본을 관찰했는데, 상지의 경우 발생 17기에 출현한 근육 성분에서 발생 18기에 방향성이 관찰되었고 발생 8주말에 근섬유다발이 분명하게 관찰되면서 근육층이 구별되기 시작하였다. 이들 근육은 발생 10주에 육안적으로 분명하게 관찰되었다.

발생 10-15주에 각 근육이 관 모양으로 구별되며 특징적으로 핵은 중앙에 놓여 있다가 발생 16주 이후에 핵이 주변부로 이동되기 시작한다. 이 실험에서도 이와 유사한 결과를 얻었는데 발생 13주에는 모든 핵이 세포의 중앙에 놓여 있으나 발생

17주에는 일부 세포에서 핵이 주변부에 놓여 있었고 근섬유다발 사이의 간격이 넓었다. 그러나 발생 24주가 되면 거의 대부분의 핵이 세포 주변부에 놓였고 근섬유다발 사이의 간격이 좁아졌다.

초기에 관찰되는 모든 섬유들은 미분화된 IIc형인데 발생 20주 정도에 직경이 큰 큰 I형 섬유들이 처음으로 관찰되며 발생 30주 이후에는 I형 섬유들이 급격히 증가하면서 IIc형 섬유들이 뚜렷이 감소한다. 그리고 발생 IIa형 및 IIb형 섬유들은 출생 5주전부터 비로소 출현한다. 그런데 연구 대상이 되었던 것은 대퇴사두근, 복직근, 삼각근 및 가자미근 등 일부 근육이었다. 한편 Ringquvist 등[21]은 저작근과 상완이두근의 발달을 비교 연구하여, 저작근에서는 발생 22주에, 상완이두근에서는 발생 16주에 섬유형의 차이가 나타남을 보고하여 근육마다 섬유형의 분화 시기가 다를 수 있음을 제시하였다.

이 실험에서는 근섬유형이 분화되는 시기는 모든 근육에서 동일하였고, 따라서 신근과 굴근, 상지와 하지, 근위와 원위에 따른 차이가 없었다. 그러나 섬유형 비율의 변화를 선형 회귀 모형으로 분석한 결과 의의 있는 결과를 얻었다. 그렇지만 이와 비교할 만한 다른 연구자들의 결과가 없는 실정이므로, 향후 보다 많은 예수를 이용한 연구를 통해 정확하게 밝혀져야 할 것으로 생각된다.

근섬유의 직경도 역시 통계적으로 의의있는 결과를 얻었지만 비교할만한 보고가 없는 실정이다. 그런데 모든 근육에서 대체로 27-28주 경이 되면 뚜렷하게 직경이 커진 것을 알 수 있었다. 신생아는 다섯 근육에서 I형 섬유가 28-45%, IIc형 섬유가 10-17%의 비율로 존재한다고 한다.[38] 가자미근에서 I형 섬유의 비율은 생후 5개월 이전에서는 신생아와 유사했지만 생후 8-10개월에는 70%이었으며 18개월 이후에는 성인에서와 비슷한 비율을 보였다. 다른 근육들에서도 I형 섬유의 비율은 생후 5개월까지는 38-45% 정도였다가 그 이후에는 계속 증가하여 성인에서와 유사해졌다. 또한 성인에서는 IIc형 섬유가 5% 미만으로 존재한다.

이러한 근섬유의 지속적인 성숙 및 분화는 근육의 활동이 증가함에 영향을 받는 것으로 생각할 수 있다. 즉 신생아가 뒤집고, 기고 걷는 과정에서 근육의 활동이 증가하게되고 이에 따라 근 섬유형의 성숙이 이루어진다.

이상과 같이 발생 중인 배자와 태아에서 사지의 외형 발생, 사지의 조직 분화

과정 중 근육 성분의 발생을 연구하여 시기에 따라 나타나는 특징을 관찰하였다. 이를 바탕으로 상완, 대퇴 및 하퇴에서 대표적인 신근과 굴근을 정해 이들의 초기 발생 및 형태 형성을 관찰하였고, 신근과 굴근, 두측과 미측의 근육(상지와 하지), 근위와 원위의 근육(대퇴와 하퇴)에서 섬유형의 발현 시기나 비율, 그리고 섬유 크기 등에 어떠한 차이가 있는지 통계적으로 분석해 보았다. 통계 처리 결과 의미 있는 결과를 얻었으나 이를 뒷받침해 줄 다른 연구자의 보고가 요구된다.

이 실험에서는 표본을 얻기 어려워 최신의 분자생물학적 기법을 통한 발생 초배자에서의 근육의 초기 분화를 살펴보지 못한 점이 아쉬웠고, 또한 신생아에서 성인에 이르기까지 근육의 전체적인 변화는 추적하지 못하였다. 시급히 이들 자료를 보강하여 인간 사지에서 근육의 발생에 관해 기초적인 토대가 쌓여지기를 기대한다.

V. 결 론

재활의학 분야에서 중요한 근육의 구조, 기능 및 병리를 이해하는데 중요한 이론적 배경을 제공해주는 인간 사지 근육의 발생에서 특히 근육 성분의 발생, 상완(상완삼두근과 상완이두근), 대퇴(대퇴직근과 대퇴이두근) 및 하퇴(전경골근과 비복근)의 대표적인 신근과 굴근의 초기 발생 및 형태 형성, 근섬유형의 분화 및 성장 등을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 상지는 발생 12기의 후기에 출현하여, 발생 13기에 초승달 모양, 발생 14기에 반타원 모양, 발생 15기에 특징적인 원시수판을 형성하였다. 발생 16기에 손목 부위가 뚜렷하게 잘록하였고, 발생 17기에 수지방사가 관찰되었다. 발생 18기에 수지간절흔이 형성되기 시작하였고, 이후 절흔이 더욱 뚜렷해지면서 손가락이 뚜렷해졌다. 발생 23기에 손가락 끝에 패드(pad)가 형성되어 성인에서와 유사해졌고, 이후 태아기에 크기와 비율이 점차 성인형으로 바뀌었다. 하지는 상지에 비해 대체로 1 발생기 정도 느리게 발생이 진행되었다.
2. 처음 사지싹은 표면외배엽과 치밀한 체벽중배엽으로 이루어졌으며, 외배엽 비후가 관찰되다가 곧 첨외배엽능선을 형성하였다. 사지의 중간엽에서 가장 먼저 혈관이 형성되었으며, 중간엽이 축합되면서 척수신경이 자라 들어갔고, 축합된 중간엽에서 골격 성분이 구분되면서 마지막으로 근육 성분이 구분되었다.
3. 상지의 근육 성분은 발생 17기에, 하지는 발생 18기에 처음 출현하였다. 처음에는 중간엽의 축합 상태이었으나, 곧 근세사가 관찰되고 근섬유 다발이 뚜렷이 구분되었다. 태아기 초에는 섬유 다발 사이의 간격이 넓었으나, 발생 21주 이후에 간격이 좁아지고 납작한 핵이 주변부에 위치하는 등 성숙된 모습을 보이기 시작했다.
4. 발생 17주 이전의 태아에서는 모든 근육에서 미분화형인 IIc형 섬유만 관찰되었

으나, 발생 17주에 모든 근육에서 큰 I형 섬유가 출현했고 발생 28주에 I형 섬유가 출현하였고, 발생 31주에 IIa 및 IIb형 근섬유가 출현하였다. 이들 섬유형의 출현 시기는 신근과 굴근, 상지와 하지, 근위와 원위에 따른 차이는 없었고, 각 근육에서 이들 근섬유형에 비율 차이는 일부 근육의 경우를 제외하고는 없었다. 근섬유형을 구별하지 않고 각 시기 별로 근섬유의 크기를 계측하여 통계 처리한 결과 상완에서 신근이 굴근보다 컸고, 상완의 신근이 대퇴의 신근보다 컸다. 각 근섬유형에 따른 크기를 보면 IIc형과 큰 I형은 상지의 신근이 굴근보다 컸으며, 큰 I형은 대퇴와 하퇴에서 굴근이 신근보다 컸다.

참고문헌

1. Kimura J. Electrodiagnosis in Diseases of Nerve and Muscle: Principles and Practice. 2nd ed. F. A. Davis Company; 1989.

2. Delisa JA, Gans BM. Rehabilitation Medicine: Principles and Practice 2nd ed. J. B. Lippincott Company; 1993.

3. Karpati G, Engel WK. "Type grouping" in skeletal muscles after experimental reinnervation. Neurology 1968; 18: 447-455.

4. Lomo T, Westgaard RH, Dahl HA. Contractile properties of muscle: Control by pattern of muscle activity in the rat. Proc R Soc Lond [Biol] 1974; 187: 99-103.

5. Romanul FCA, Van Der Meulen JP. Slow and fast muscles after cross innervation: enzymatic and physiological changes. Arch Neurol 1967; 17: 387-402.

6. Banker BQ. The congenital myopathies. In : Engel AG, Banker BQ(eds): Myology. New York: McGraw-Hill; 1986, pp 1527-1581.

7. MacCallum JB. On the histogenesis of the striated muscle fibre, and the growth of the human sartorius muscle. Johns Hopk Hosp Bull 1898; 9: 208-215.

8. Bardeen CR, Lewis WH. Development of the limbs, body-wall and back in man. Am J Anat 1901-2; 1: 1-36.

9. Lewis WH. The development of the arm in man. Am J Anat 1901-2; 1: 145-183.

10. Bardeen CR. Development and variation of the nerves and the musculature of the inferior extremity and of the neighboring regions of the trunk in man. Am J Anat 1906-7; 6: 259-390.

11. Dubowitz V. Histochemistry, enzyme histochemistry of developing human muscle. Nature 1966; 211: 884-885.

12. Brooke MH, Williamson E, Kaiser KK. The behavior of four fiber types in developing and reinnervated muscle. Arch Neurol 1971; 25: 360-366.

13. Engel WK. Fiber-type nomenclature of human skeletal muscle for histochemical purposes. Neurology 1974; 24: 344-348.

14. Farkas-Bargeton E, Diebler MF, Arsenio-Nunes ML, Wehrle R, Rosenberg B. Etude de la maturation histochemique, quantitative et ultrastructurale du muscle foetal humain. J Neurol Sci 1977; 31: 245-259.

15. Colling-Saltin AF. Enzyme histochemistry on skeletal muscle of the human fetus. J Neurol Sci 1978; 39: 169-185.

16. Billeter R, Heizmann CW, Howald H, Jenny E. Analysis of myosine light and heavy chain types in single human skeletal muscle fibers. Europ J Biochem 1981; 116: 389-395.

17. Thornell LE, Billeter R, Butler-Browne GS, Eriksson PO, Ringovist M, Whalen RG. Development of fiber types in human fetal muscle. J Neurol Sci 1984; 66: 107-115.

18. Kumagai T, Hakamada S, Hara K, Takeuchi T, Miyazaki S. Development of human fetal muscle: A comparative histochemical analysis of the psoas and the quadriceps muscles. Neuropediatrics 1984; 15: 198-202.

19. Pons F, Léger JOC, Chevallay M, Tomé FMS, Fardeau M, Léger JJ. Immunocytochemical analysis of myosin heavy chains in human fetal skeletal muscles. J Neurol Sci 1986; 76: 151-163.

20. Draeger A, Weeds AG, Fitzsimons RB. Primary, secondary and tertiary myotubes in developing skeletal muscle: A new approach to the analysis of human myogenesis. J Neurol Sci 1987; 81: 19-43.

21. Ringquvist M, Ringquvist I, Thornell LE. Differentiation of fibers in human masseter, temporal and biceps brachii muscles. J Neurol Sci 1977; 32: 265-273.

22. Davidoff RA. The pyramidal tract. Neurlogy 1990; 40: 332-339.

23. Elder GCB, Kakulas BA. Histochemical and contractile property changes during human muscle development. Muscle and Nerve 1993; 16: 1246-1253.

24. O'Rahilly R, Müller F. Developmental Stages in Human Embryos. Carnegie Institution of Washington, 1987.

25. Iffy L, Jakobovits A, Westlake W, Wingate M, Caterini H, Karofsky P, Menduke H. Early intrauterine development: I. The rate of growth of caucasian embryos and fetuses between the 6th and 20th weeks of gestation. Pediatrics 1975; 56: 173-186.

26. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. London: The C. V. Mosby Company; 1980. p.162

27. Guth L, Samaha FJ. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. Exp Neurol 1970; 28: 365-367.

28. Staron RS, Hikida RS, Hagerman FC. Myofibrillar ATPase activity in human fast-twitch subtypes. Histochemistry 1983; 78: 405-408.

29. Cooper CC, Cassens RG, Kastenschmidt LL, Briskey EJ. Histochemical characterizatio of muscle differentiation. Dev Biol 1970; 23: 169-184

30. **박형우, 민양기, 심용운. 인간 배자의 사지의 발생에 관한 연구, 대한해부학회지** 1992; 25: 1-11.

31. Olivier G. Formation du squelette des membres chez l'homme. Paris: Vigot; 1962

32. Blechschmidt E. The early stages of human limb development. In: Limb Development and Deformity(Swinyard CA, ed). Thomas, Springfield, 1969; pp 24-56.

33. O'Rahilly R, Gardner E. The timing and sequence of events in the development of the limbs in the human embryo. Anat Embryol 1975; 148: 1-23.

34. Saunders JW, Gasseling MT, Errick JE. Inductive activity and enduring cellular constitution of a supernumerary apical ectodermal ridge grafted to the limb bud of the chick embryo. Dev Biol 1970; 50: 16-25.

35. O'Rahilly R, Gardner E, Gray DJ. The ectodermal thickening and ridge in the limbs of staged human embryos. J Embryol Exp Morphol 1956; 4: 254-264.

36. Vivarelli E, Cossu G. Neural control of early myogenic differentiation in cultures of mouse somites. Dev Biol 1986; 117: 319-325.

37. Tomanek RJ, Colling-Saltin A. Cytological differentiation of human fetal skeletal muscle. Am J Anat 1977; 149: 227-246.

38. Elder GCB, Kakulas BA: Histochemical and contractile property changes during human muscle development. Muscle & Nerve 1993; 16: 1246-1253.

ABSTRACT

Early Development and Differentiation of Muscles in Developing Human Limbs

Joon Hwan Kim

Brain Korea 21 Project for Medical Sciences

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Hyoung Woo Park)

This study was performed to know the differentiation of fiber types in developing human skeletal muscles of the extremities.

The material consisted of muscle samples from different muscles, i. e. biceps brachii, triceps brachii, quadriceps femoris, biceps femoris, tibialis anterior, and gastrocnemius, of 55 fetuses between 4 and 34 week of development.

Serial crossly cut frozen sections of different 6 muscles were stained with H-E, PAS, Masson's trichrome, NADH-TR, myofibrillar ATPase(preincubation at PH 4.3, 4.6, 10.3) and analyzed quantitatively as well as qualitatively.

The results are as follows :

1. By the end of the stage 12, the upper limb was observed as small elevation. The lower limb bud appeared one stage later. With further growth, the upper and lower limbs became adult shape.
2. The limb buds consisted of a core of mesenchyme and a covering layer of the ectoderm. At the apex of the buds, the ectoderm was somewhat thickened and was known as the apical ectodermal ridge. Blood vessels were developed first and various

spinal nerves penetrated into the mesenchyme, then osseous components were developed and finally limb musculature was found.

3. The first identification of the upper limb musculature was found at stage 17. The lower limb musculature appeared at stage 18.
4. All muscles consisted of undifferentiated type IIc fibers before the 17th week of development. Large type I fiber began to appear around 17th week. Type I fibers appeared around the 28th week. Type IIa and IIb fibers appeared around the 31th week. The timing of the fiber type expression was equal to all 6 muscles and there were no differences in percentage of fiber types except a few cases. When muscle fiber size was measured at each developmental stage without consideration of fiber types, fiber size of extensor was larger than flexor muscle of the upper extremity. Also larger in extensor muscle of upper extremity than in extensor muscle of the thigh. Type IIc and large type I fibers were larger in extensor muscle than in flexor muscle of the upper extremity and large type I fibers of flexor muscles of lower extremity are larger than those of extensor of lower extremity.

Key word : human, embryo, fetus, myogenesis, muscle growth, differentiation