

손상된 얼굴신경의 재생에 관한 고찰

서울대학교 치과대학 구강해부학교실

박문성 · 박영석 · 이승표 · 백기석 · 장미숙*

I. Introduction

얼굴신경은 교통사고나 운동경기 중 사고에 의한 안면골 골절 등의 외상으로 손상을 받기 쉽고, 타액선 질환, 두경부에 발생한 종양 등을 수술하는 과정에서도 손상을 입을 수 있다. 얼굴신경은 안면부의 얼굴근육 등에 분포하는 운동신경으로 이 신경이 손상되면 안모의 변화나 표정근의 이상에 의해 환자에게 심미적, 기능적 결함을 야기하고, 그로인해 대인관계나 심리적 문제를 일으킨다.

손상된 신경의 재생에 있어서 중추신경과는 다르게 말초신경의 경우는 내재적으로 재생능력을 함유하고 있기 때문에 말초신경인 얼굴신경은 손상을 받았을 때, 적절한 치료를 통해서 구조적, 기능적으로 정상 상태로 재생될 수 있다. 그러나 손상된 얼굴신경의 치료는 수술 기법의 발전과 현미경의 발달로 인해 손상된 신경의 구조적 회복은 거의

완벽하게 이루어지고 있지만, 기능적인 측면에서의 회복은 불완전한 상태이다. 신경의 손상 후 재생과정은 일련의 복잡한 반응과 여러 가지 인자가 작용하고, 재생과정이 다른 조직에 비해 느리고 불완전하게 이루어진다.[1]

현재 신경 손상에 대한 치료는 단열된 신경을 외과적 방법으로 연속성을 회복시킨 다음 신경재생에 영향을 미치는 여러 가지 neurotrophic factor나 물리적 자극을 통해 기능적 회복을 유도한다. 또한 동물실험을 통해 신경재생 효과에 영향을 주는 다양한 성장인자나 neurotrophic factor 등이 밝혀지고 있다. 이를 이용한 치료법도 연구되고 있다. 또한 최근 다양한 분야에서 줄기세포를 이용한 치료나 유전자 치료가 시도되고 있는데 손상된 신경의 치료에서도 이러한 방법이 응용될 수 있고 현재 여러 동물실험을 통해 효과가 입증되고 있다. 이처럼 다양한 치료방법과 재생효과를 증가시키는 전략이 제시되고 있는 상황

* 교신저자

에서 이번 중설을 통해 현재까지 임상적으로 사용되는 치료법과 동물실험을 통해 신경재생 효과가 입증된 방법에 대해 체계적으로 알아보도록 한다.

II. Anatomy

얼굴신경은 7번째 뇌신경으로써, 일반 감각, 운동, 특수감각 및 부교감신경을 갖고 있는 혼합신경이다. 이 중에 운동신경인 facial nerve는 뇌교의 facial nucleus에서 기시하여 stylomastoid foramen을 통과하여 머리뼈 밖으로 나온다. 그 후 parotid gland 속에서 parotid plexus를 형성한 다음 많은 가지를 내어 facial muscle, platysma, stylohyoid muscle, 및 posterior belly of digastric muscle에 분포한다. 특히 얼굴근육에 분포하는 운동신경은 parotid plexus를 형성한 뒤 나오는 5개의 신경가지이다. 첫 번째 신경가지는 temporal branch로서 zygomatic arch를 넘어 temporal region에서 auricularis anterior muscle, auricularis superior muscle, frontalis muscle, orbicularis oculi muscle, corrugator supercilii muscle에 분포한다. 두 번째 신경가지는 zygomatic branch이다. 이 신경가지는 안와주변의 근육에 분포하게 되는데 orbicularis oculi muscle 및 zygomaticus muscle에 분포한다. Ma-

sseter muscle의 외측면을 따라 주행하는 세 번째 신경가지인 buccal branch는 코, 윗입술, 볼의 근육에 주로 분포한다. 즉 buccinator muscle, orbicularis oris muscle, nasalis muscle, levator labii superioris muscle 등에 분포한다. 네 번째 신경가지는 mandibular marginal branch로써 아랫입술의 근육인 nasalis muscle, depressor labii inferioris muscle에 분포한다. 마지막 5번째 신경가지인 cervical branch는 목근육인 platysma에 분포한다.[103]

III. Factors contributing to nerve regeneration

A. 신경손상의 분류

신경의 손상정도를 분류하는 다양한 방법이 있다. 그 중에서 1943년에 Seddon에 의해서 제시된 신경손상 분류법이 많이 사용된다.[2] Seddon의 분류법은 신경손상을 크게 3가지 분류로 구분한다.

1. Neuropraxia

가장 경미한 신경손상으로 신경에 간접적으로 압력이 가해져서 axonal conduction이 감소하여 국소적으로 신경전도의 장애가 있는 신경손상을 말한다. 주로 수술 과정에서 과도한 신경견인에 의한 손상, 술 후 부종, 신경 주위의 염증,

또는 신경의 국소적 허혈 등의 원인으로 신경이 압박을 받음으로써 야기될 수 있다. 보통 이러한 신경손상은 말초부위에서 Wallerian degeneration을 일으키지 않고, 손상부위의 원인 요소를 제거하거나 부종이 사라지면 신속히 정상으로 회복된다.

2. Axonotmesis

축삭과 수초는 완전히 단절된 상태이나, 신경의 지지구조인 축삭의 기저막, 신경내막, 신경주막, 신경외막 등은 보존되어 있는 상태를 말한다. 신경에 심한 타박상, 수술 시 과도한 신경견인 등의 원인으로 손상이 일어난다. 손상받은 신경의 회복은 손상 부위와 재생이 될 부위 사이의 거리에 의해 좌우된다.

3. Neurotmesis

축삭과 수초뿐만 아니라 신경의 중요 구조물이 완전히 단절된 손상을 의미한다. 심한 타박, 신연, 열상에 의해서 유발될 수 있다. 단절된 신경의 근위부는 신경내 세포증식이 일어나고 원위부는 신경막내에서 수축이 발생하여 기능적 재생을 위한 충분한 직경과 수초화가 일어날 수 없기 때문에 수술치료가 필요하다.

또 다른 분류방법은 Sunderland에 의해 제시된 신경손상의 분류법이 있다. [3] 이 분류법은 결체조직 구조물의 손상유무에 기초해서 신경손상을 총 5단계로 구분하였다.

1도 손상 : 가장 경미한 말초신경손상으로 Seddon에 의한 분류법에서는 neuropraxia에 해당한다. 수상부에서 conduction이 차단된 상태이나 다른 해부학적 구조의 연속성은 보존된 상태를 의미한다.

2도 손상 : Seddon의 분류에서 axonotmesis에 해당하는 손상으로 신경내막은 이상이 없지만 축삭이 단절된 신경손상으로 단절된 신경의 원위부에서 Wallerian degeneration이 진행된다.

3도 손상 : 신경주막은 연속성을 유지하지만 그 내부구조물인 신경섬유의 축삭과 수초가 단절된 신경손상을 의미한다.

4도 손상 : 신경외막에 의해서만 신경이 연결되어 있고 내부의 신경구조는 모두 단절된 상태이다.

5도 손상 : 신경간이 완전히 끊겨진 신경손상으로 자연회복은 기대할 수 없고 수술적 봉합이 필요하다.

B. 신경손상이 Neuron에 미치는 영향

신경이 손상을 받았을 때 손상받은 신경을 구성하는 neuron의 종류에 따라 다르게 반응한다. motor neuron의 경우 손상을 받았을 때 신경재생능력이 존재하지만, 손상 받은 cerebellar Purkinje cell은 생존은 할 수 있지만 재생능력은 없고, retinal ganglion cell에 손상이 가해지면 그대로 사멸하게 된다.[4] 이번 연구에서 알아보고자 하는 얼굴신경은 운동신경으로써 손상 받았을 때 재생능력을 지니고 있다.

손상 받은 neuron의 종류에 따라 재생여부가 다르지만, 신경재생은 neuron 주변의 세포에 의해서도 영향을 받는다. neuron 주변에서 영향을 미치는 세포는 주로 Schwann cell과 신경교세포로써 손상을 받게 되면 cytokines, growth factors, neurotrophic factor 등의 이동이 감소하게 된다.[5] 이처럼 신경이 손상 받았을 때 여러 고분자물질이 감소하기 때문에 감소된 물질을 이용해 신경의 재생능력을 향상시키려는 연구가 많이 진행되고 있다.

C. 손상 정도와의 연관성

Sunderland 분류에서 2도 손상의 경우는 원위부의 Wallerian degeneration과 근위부의 축삭변성을 일으킨다. 근위 절주는 성장 추체와 여러 개의 사족을 가진 축삭의 짝으로 변하게 된다. 2도 손상의 경우는 기저판의 연속성이 유지되기 때문에 신경재생과정에서 표적기관 특이성은 유지할 수 있어 기능적 회복이 가능하다.

기저판의 연속성이 파괴된 3도 손상은 표적기관 특이성을 유지하기 어렵다. 재생되는 과정에서 축삭은 서로 섞이게 되고, 혼란이 일어난다. 그렇기 때문에 신경이 재생된 후의 예후는 손상의 수준과 표적기관과의 근접성에 영향을 받게 되고, 표적기관과의 거리가 가까울수록 기능적인 회복이 잘 일어난다.

가장 심한 손상 단계인 5도 손상의 경

우는 근위부와 원위부의 완전한 절단이 일어난 경우로 단열된 신경의 원위부에서 재생이 일어나지만, 성장 추체와 Schwann cell은 무질서하게 자라게 되어, 근위부에서 원위부로 직접적인 안내 물질이 없으면 기능적 회복은 달성하기 어렵다.

D. 신경재생에 대한 유전적인 영향

여러 가지 유전적인 요인이 신경재생의 과정에 영향을 미친다. bcl gene family의 경우 세포의 caspase-dependent cell death pathway와 caspase-independent cell death pathway를 조절하는 역할을 하는데, 이 유전자는 신경세포의 생존을 조절하는데 중요한 역할을 한다.[6] Bcl-2 유전자가 과발현되면 이 유전자에 의해 생산된 단백질이 세포사멸을 억제하는 것으로 알려져 있다.[7] 반면 bcl gene family와는 다르게 bax gene의 경우는 신경세포의 programmed cell death를 유발한다.[8] 쥐를 이용한 실험에서 bax gene을 파괴한 경우 brainstem, cerebellum, dorsal root ganglion 등에서 programmed cell death가 현저하게 감소하여 그 결과 신경세포가 증가한 것이 확인되었다.[9] 이러한 신경재생과 관련된 유전적인 요소는 신경손상의 원인으로서 유발된 것인지 아니면 신경손상의 결과로 나타난 것인지 정확히 구분하기는 어렵지만, 신경의 종류에 따라서 다른 신경재생 능력을 가지는 이

유를 설명할 수 있다.[10]

E. Wallerian degeneration

신경이 절단되었을 때 원위부의 신경은 대식세포와 Schwann cell에 의해 식작용이 일어나고 축삭과 수초가 분해되기 시작한다. 이러한 작용은 보통 손상 후 1달 가량이 지나면 완료되고 원위부의 축삭은 거의 대부분 제거된다.[11] 근위부의 축삭도 비슷한 퇴화 과정을 겪는다. 신경손상 초기에 축삭의 원형질이 스며나오지만 이는 24시간 이내에 세포막에 의해서 봉쇄된다. 세포체가 부풀게 되고, 핵이 편측으로 치우치게 되며, ribosomes이나 rough endoplasmic reticulum과 같은 Nissl-staining substances가 소실된다. 축삭의 원심측 말단은 세포골격요소와 세포소기관의 축적에 의해 부풀게 되어 axonal bulb 또는 growth cone을 형성하게 된다. 그런 뒤 Schwann cell이 손상된 신경의 말단부를 향해 종축으로 배열됨에 따라 근심부의 growth cone이 원위부를 향해 뻗어나게 되고, 축삭과 수초가 형성된다. 이러한 신경의 재생장은 병소의 인접 Ranvier 결절에서 시작되는데, 절단된 간격이 너무 크게 되면 재생장이 실패하게 되고 neuroma가 형성된다.

F. Schwann cell

신경이 손상된 부위에서 Schwann cell은 대식세포와 함께 신경과편을 식

작용을 한다.[12] Schwann cell은 신경재생을 보조하는 cytokine과 growth factor를 분비한다.[13] 또한 세포외기질인 collage, laminin, fibronectin, tenascin-C와 표면부착물질인 L1, NCAM, NgCAM 등도 분비하는데 이는 재생과정에서 Schwann cell에 축삭이 부착되는 것을 도와준다.[14] 신경의 단절과 같은 손상이 발생되었을 때 Schwann cell의 변화를 살펴보면 손상 후 1-2일째에 Schwann cell이 나타나 3-4일에 세포분열이 최대가 된다. 그런 뒤 neuron growth factor, TGF- β , Platelet derived growth factor, myelin P0, interleukin-1, macrophage factor에 의해 Schwann cell이 활성화되어 손상된 신경부위에서 myelin과 신경과편을 식작용하게 된다. Schwann cell이 cytokines, growth factors, 세포외기질, 표면부착물질 등을 분비하며, 축삭이 재생되기 위한 뼈대를 제공하기 위해 배열된다. 이 뼈대를 바탕으로 축삭과 수초의 형성된다.

G. Neurotrophic factors

Neurotrophic factor는 수용성의 내인성 단백질로써 이 물질은 신경의 생존, 발달, 재생, 신경의 기능에 관련된 단백질의 합성 그리고 세포자멸사의 억제요소로서 작용한다.[15] Nerve Growth Factor(NGF)는 처음으로 확인된 neurotrophic factor이고, 발견 초기에는 배

아의 신경계 발달과정에서 중요한 요소로 작용된다고 생각하였다.[16] 실험을 통해 nerve growth factor가 성인의 신경계의 발달, 시냅스의 형성, 신경재생 등에도 중요한 역할을 한다는 것이 밝혀졌다.[17] 그 외의 neurotrophic factor는 brain derived neurotrophic factor(BDNF), NT3부터 NT7까지의 다양한 neurotrophic factor가 확인되었다.[16]

H. 연령

나이가 젊을수록 신경 재생 능력이나 신경 봉합 후 기능 회복이 우수하다. 나이가 어릴수록 말단부에서 원위부 축삭과 표적기관의 변성 정도의 비율이 감소되어 있고, 축삭 재생과 신경 재생 능력이 증가되어 있기 때문에 나이가 어릴수록 손상된 신경의 치료시 예후가 좋다.[18] 나이가 증가함에 따라 신경의 재생능력이 감소하는 이유는 저속 축삭운동의 속도의 차이에 의한 것이다.

IV. Surgical intervention

A. 수술의 시기

손상받은 신경을 외과적으로 시술을 해야 할 것인가 아니면 그냥 관찰만 할 것인가 또한 수술을 할 경우 언제 할 것인가 하는 것을 결정하는 것을 결정하는

것은 매우 어려운 문제이며 신경의 정상적으로 회복시키는데 중요한 역할을 한다.

손상된 신경의 치료를 위한 수술 시기는 신경손상의 종류, 손상의 위치, 손상 후 경과된 시간, 환자의 나이와 건강상태 등의 임상적 요소, 신경세포가 가장 높은 재생능력이 일어날 수 있을 때까지의 시간, 신경 손상 부위에서 섬유세포가 반흔을 형성하기 위한 시간 등의 생물학적 요인에 의해 결정된다.[18]

Seddon에 의한 신경손상 분류에서 neuropraxia나 axonotmesis와 같은 손상의 경우는 우선 관찰을 통해 신경이 회복되는지는 확인한 뒤 추후 다른 치료법을 적용하고, neurotmesis의 경우는 그 등급에 따라 다르며 일반적으로 외과적인 재건술이 고려되어야 한다.

신경재건술의 시기를 결정하는 것은 매우 어려운 문제이나, 수술중 신경이 절단되거나 단열이 확실시 되는 경우 그 즉시 재건 해주는 것이 바람직하다. 손상 후 즉시 봉합을 하는 일차봉합의 경우는 지배되는 기관의 탈신경화되는 기간이 줄어들며, 절제해야 하는 신경단이 적고, 신경속의 배열이 좋아지는 장점과 함께 술 후 반흔 조직이 적게 생기고, 회복기간이 짧아진다. 그러나 실험 결과에 의하면 손상 후 20-40일 사이에 봉합을 행하는 것이 좋은 회복 결과를 나타냈다. 지연 봉합이 실험에서 좋은 회복 결과를 나타낸 이유는 이차수술을 통해 세포의 활성화, 반흔 조직의 제거,

이차적인 세포자극 등이 신경재생에 좋은 요소로 작용한다.

B. 신경문합법(anastomosis)

신경문합법은 절단된 신경을 직접 봉합하는 술식으로 Seddon의 신경손상 분류에서 neurotmesis가 발생되었을 때 실시한다. 이 술식은 손상부위에 이물질이나 감염이 없어야 하며, 유리신경 말단이 주위조직으로부터 과도한 장력이나 압박이 없이 수동적으로 근접될 수 있으면 효과적이다. 일반적으로 말초신경 손상 후 재생대사 활성화와 신경외막의 비대시기는 손상 후 거의 3주째에 일어난다. 그러므로 즉각적인 신경문합법 이외에도 손상으로부터 3-4주일이 지난 시기에 행해지는 지연 신경문합도 이용될 수 있다.

C. 신경이식술(Nerve grafting)

신경이 손상을 받아 단절되었을 때 이를 치료하기 위해 다른 부위의 자가신경을 손상된 신경에 이식하는 방법이 사용될 수 있다. 성공적인 자가신경이식술을 위해서는 Schwann cell과 Basal lamina endoneural tube가 존재하여야 한다. 이들은 신경재생과정에서 Neurotrophic factor와 endoneural tube surface adhesion molecule을 제공하는 역할을 한다.[19] 자가신경이식술은 이식하고자 하는 신경의 조직유용성이 중요한

테, 이식하고자 하는 신경편의 부가적인 변형이 없어야 하며 이식부와 공여부의 신경의 구조와 크기의 적합성이 일치하여야 한다. 그렇기 때문에 피부의 직경이 작은 신경섬유를 채취하여 직경이 큰 신경섬유에 이식할 경우는 문제점이 야기될 수 있다. 또한 자가신경이식술은 이식신경의 공여부의 기능이상 등의 문제가 일어날 수 있고 또한 추가적인 수술이 필요하다는 단점이 있다. 한 연구에서는 신경의 자가이식이 말단신경의 재생에 많이 사용되고 있지만, 자가신경이식을 받은 환자 중 약 50% 정도만이 기능적인 회복을 보였다.[20]

얼굴신경의 자가신경이식은 대개신경이나 비복신경을 사용한다. 이 두 신경은 장력과 신경의 분지정도가 얼굴신경이식에 적합하며 절제된 안면신경의 말초단을 연결하는데 이상적이다. 얼굴신경의 분지 가운데 temporal branch의 경우는 신경재생이나 기능의 수복이 되지 않기 때문에 재건을 시행하지 않는다. 즉 눈, 상순, 그리고 하순으로 가는 세 개의 신경가지만 재건한다. 자가신경이식을 행한 경우 기능의 회복은 최소한 6개월 이상이 지나야 예견할 수 있으며 대개 긴 시간이 소요된다. 기능의 회복을 위해서는 이식 후 운동요법이나 전기자극요법 등이 지속적으로 실시하여야 한다.

동종신경이식술도 손상된 신경의 치료에 이용된다. 하지만 동종신경을 사용할

경우는 이식받을 환자와 이식신경간의 면역반응이 야기될 수 있다는 단점이 있다. 그로 인해 동종이식술을 행할 때는 면역억제를 실시해야 하며, 동종이식술 자체의 성공률도 낮았다.[21]

D. Neural conduits

자가신경이나 동종신경을 이식하는 방법 이외에 단절된 신경의 간격을 회복시키기 위해 다양한 neural conduits가 사용될 수 있다.

1. Biological materials

Neural conduit로 사용될 수 있는 생체재료는 근육, 혈관, 힘줄이 있다. 이 중에서 골격근을 이용한 neural conduit가 많이 사용된다. 골격근 조직은 길이 방향의 basal lamina가 존재하고 세포외기질 요소가 신경섬유의 재생을 촉진하는 역할을 한다. 혈관이나 다른 재료의 neural conduit와는 다르게 골격근의 basal lamina에 의해 형성되는 3차원적인 환경은 세포외기질에 세포가 부착되는 것을 증진시킬 수 있다.

골격근을 이용한 neural conduit는 보통 3cm 이하의 신경 간극에 사용할 때 효과적이고, 신경결손의 길이가 증가하면 골격근을 이용한 neural conduit 효과는 감소하는 것으로 알려져 있다.[22,23] 정맥혈관을 이용한 이식의 경우 혈관을 채취할 부위가 풍부하고 채취부의 부작용이 거의 없기 때문에 짧은

신경결손부위의 neural conduit로 사용하면 효과적이다.[24]

힘줄의 경우는 아직 실험적으로만 연구되고 있는데, 쥐의 꼬리에서 채취한 힘줄을 이용해 쥐의 좌골신경을 재생시키는 연구에서 힘줄을 이용한 재생법은 신경의 축삭재생을 지지하는 역할 측면에서 근육을 이용한 방법과 큰 차이를 보이지 않았다.[25]

2. Nondegradable materials

silicone은 생체내에서 자연분해가 되지 않고 고분자를 통과시키지 않는 성질을 지니고 있다. 이러한 성질을 이용해 silicone tube를 neural conduit로 사용할 수 있다. 자가신경이식방법과 비교했을 때, tube 속을 collagen, laminin, fibronectin 등으로 구성된 gel로 채운 silicone tube를 이용하여 신경재생을 했을 때 재생된 축삭이 좀 더 성숙한 구성을 이루었다.[26] 다공성의 stainless steel tube와 elastomer hydrogel도 신경재생에 사용될 수 있다. 하지만 이러한 물질들은 생체내에서 외부물질로 인식되기 때문에 조직과 반응을 야기하는 문제점이 있다.

3. Biodegradable synthetic materials

다양한 인공물질이 신경의 재생을 위해 사용되지만, 비흡수성 물질의 단점을 극복하기 위해 최근에는 생체내에서 자연 분해되는 물질을 중심으로 연구가 진

행되고 있다. 보통 신경의 재생과 성숙에 거의 1년 정도 소요되기 때문에 이러한 생체분해성 물질은 신경재생이 이루어지는 기간 동안 유지된 후 분해가 되어야 하며, 조직과의 반응이 없어야 한다. 또한 생체분해성 물질은 비분해성 물질과는 달리 표면에 Schwann cell과 bioactive 분자가 부착될 수 있다. Collagen은 세포외기질을 이루는 주성분이며, 세포의 증식과 조직회복을 촉진하는 역할을 한다. 신경재생을 위한 conduit로써 collagen이 사용될 수 있다. 소에서 추출한 순수한 1형 collagen을 사용한 neural conduit로 5mm의 손상된 신경간격에 사용되었을 때 신경재생 효과가 있는 것으로 밝혀졌다.[27] 그러나 아직까지 collagen conduit를 사용해 신경재생을 연구한 임상연구는 없는 상태이다.

Polyglycolic acid(PGA)도 neural conduit의 재료로 사용될 수 있는데, PGA는 현재 상처 봉합을 위한 흡수성 실의 재료로 많이 사용된다. PGA로 제작된 tube를 이용한 신경재생과 자가신경이식을 통한 신경재생 효과를 비교했을 때, 8-30mm 신경단절이 있는 경우에는 PGA neural conduit가 신경재생에 더 효과가 있다.[28]

생체분해 특성, 기계적 특성, 열적 특성, 젖음성 등 원하는 성질을 얻기 위해 고분자 합성방법인 공중합법이 사용된다. 이러한 공중합법으로 합성된 지방족

폴리에스터와 copolyester가 neural conduit를 위한 재료로 사용된다.

Chitosan은 crab tendon을 처리과정을 거쳐 얻을 수 있는 물질로 세포외기질과 basal membrane에 풍부한 glycosaminoglycan과 유사한 분자특성을 가지고 있다. 이러한 특성을 바탕으로 chitosan을 이용한 tube를 사용시 chitosan과 세포외 부착 분자인 laminin, fibronectin, collagen 등이 서로 작용을 하게 된다. 또한 chitosan은 생체분해성 물질이면서 인체내에서 잘 적합되며 신경재생에 긍정적인 영향을 미치는 물질로 알려져 있다.[29]

V. Neurotrophic factor / Growth factor

최근 신경재생을 향상시키기 위해 다양한 growth factor를 이용하는 방법에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. 신경 성장과 증식에 관여하는 여러 가지의 growth factor가 발견되었고, 신경이 절단된 후 신경종말에서 방출되는 neurotrophic factor는 신경의 성장, 분화, 생존에 영향을 미친다.[30]

Neurotrophic factor는 신경이 재생되는 과정에서 자연적으로 방출되는 요소로서 nerve growth factor(NGF), brain derived neurotrophic factor(BDNF), ciliary neurotrophic factor

(CNF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1) 등이 Schwann cell에서 분비된다.[31] Schwann cell 뿐만 아니라 대식세포에서도 neurotrophic factor인 platelet derived growth factor (PDGF)와 interleukin-1(IL-1)이 방출된다. 이러한 여러 가지 neurotrophic factor는 신경재생 과정중에서 다른 시점에서 작용을 하며 축삭의 성장을 촉진한다.

neurotrophic factor를 다양한 방법으로 신경재생과정에 적용해 줌으로써 신경재생을 촉진할 수 있다. 신경재생과정에 손상된 부위에 neurotrophic factor를 직접 전달하거나, neurotrophic factor의 합성을 촉진시킬 수 있는 약리물질을 사용할 수 있다.[32] 또 다른 방법으로 수용성의 neurotrophic factor를 conduit lumen을 통해 바로 주입할 수 있는데, 세포외 신호자극과 growth factor를 함유해 신경재생을 시작할 수 있다.[33]

A. Fibroblast Growth Factor

Fibroblast growth factor는 cytokine 계열의 물질로서 세포의 성장과 재생에 중요한 역할을 하며 손상받은 신경의 종말에서 방출된다.[34] 15mm의 신경단절이 있는 손상부에 합성 neural conduit와 acidic fibroblast growth factor를 사용하여 치료를 하였을 때 운동기능의 회복과 신경의 증폭, 근육의 활동전위의 증가가 나타났다.[35] Fibro-

blast growth factor에 의한 신경재생의 효과의 기전은 아직 정확히 밝혀지지 않았지만, fibroblast growth factor가 신경이 단절된 곳에서 Schwann cell의 수를 증가시키고, 혈관에 작용하여 혈류 효과를 향상시키며, 죽어가는 신경세포를 회복시키는 효과를 통해 신경재생 효과를 향상시킨다는 실험결과가 있다.[30]

B. Nerve growth Factor

Nerve growth factor는 신경재생과 회복의 자연적인 과정에 중요한 역할을 하면서, 실험적으로 신경재생효과를 증진시키는데 효과적인 물질이다. Nerve growth factor가 신경재생능력을 향상시키는 기전은 아직 실험적으로 증명되지 않았다.[30] 그러나 nerve growth factor가 신경이 손상된 부위에서 일어나는 물질이동의 감소에 영향을 주며, 신경 성장과 관련된 환경에 영향을 주며, Schwann cell에 의한 수초 생성을 증진시키는 비신경성 세포에 직접적인 영향을 줌으로써 신경재생을 향상시키는 것으로 생각할 수 있다. Silicone conduit와 Neuron growth factor를 이용해 신경재생을 연구한 실험에서 saline을 주입한 경우에 비해 Neuron growth factor를 주었을 때 수초와 축삭이 거의 두배 증가하였고 수초의 두께도 약 58% 증가되었으며, 신경이 좀 더 성숙한 형태로 재생되었다.[36]

C. Glial Growth Factor

Glial growth factor는 뉴런에서 방출되는 물질이며, Schwann cell의 증식을 유도한다. 동물실험에서 conduit 안으로 glial growth factor를 주입했을 때 새로 생성된 Schwann cell의 수가 증가되었고 그로인해 축삭의 재생도 향상되었다.[30]

D. Ciliary neurotrophic factor

Ciliary neurotrophic factor는 myelin Schwann cell의 세포질에 함유된 물질로서, 신경이 절단되었을 때 신경의 생존을 증가시킨다. 손상된 뉴런에 직접적으로 적용을 시키던지, silicone conduit를 통해 전달할 수 있다. 이는 신경의 수초화를 증가시키며, 운동신경의 신경전도속도를 향상시키고, 근육활동의 강도를 증진시키는 효과를 나타냈다.[37]

E. Vascular Endothelial Growth Factor

Vascular endothelial growth factor는 일차적으로 혈관 조직에 능동적인 역할을 하며, 추가적으로 신경재생에 긍정적인 효과를 나타낸다.[38] 이를 이용한 실험에서 신경세포 주위로 혈관 분포가 증가되어 Schwann cell의 이동이 증가되고 축삭의 재생이 향상되었다.[38]

VI. Pharmacological intervention

약리학적인 방법을 통해 신경재생을 향상시키려는 치료법은 주로 Schwann cell을 목표로 한다. 신경재생 과정에서 Schwann cell은 신경손상시 발생하는 Wallerian degeneration과 신경의 regeneration에 중요한 역할을 하는데, 신경재생을 위해 사용되는 약제는 Schwann cell의 기능을 증진시킨다. 최근 신경전달물질과 신경호르몬을 이용한 약제를 통한 신경재생에 대한 연구가 진행중이다.

A. GABA

GABA는 중추신경계에서 대표적인 억제성 신경전달물질로 알려져 있다. 하지만 말초신경계 특히 Schwann cell에서도 활성이 있는 물질이다. Schwann cell에 H-GABA가 존재하고 유수신경과 무수신경 모두 GABA receptor와 GABA carrier가 존재한다.[39] 세포내로 chloride 이온의 유입을 조절하는 ligand-gated ion channel인 GABA-A의 ionotonic receptor는 포유류의 정상 감각신경세포에 존재하며, 또한 신경이 재생된 후에 다시 나타난다.[40] 그리고 Schwann cell에서도 다양한 GABA-A receptor의 subunit가 나타난다.[41] GABA-B는 adenylate cyclase system과 연관된 G-protein이 결합된 seven-transmembrane domain (TMC)을 가진 receptor로써 Schwann

cell에서 다양한 isoform이 발현된다. [41] 최근 GABA-B1을 knockout 시킨 쥐를 이용한 실험에서 말초신경의 수초가 형태학적으로 그리고 분자학적으로 변형이 일어나는 것을 확인했다. [42] 불규칙한 형태의 신경섬유가 증가하고 PMP 22와 P0의 발현이 증가되었다. GABA receptor가 말초신경에서 작용하는 것은 밝혀졌지만, GABAergic system을 이용한 신경재생효과는 아직 불분명하다. 한 실험에서는 GABA를 증가시키는 약제인 Valproic acid를 쥐에 투여하였을 때 신경재생의 효과가 증가되었다. [43] 그러나 신경병변통증을 감소시키는데 사용되는 GABA analog인 pregabalin을 이용한 실험에서는 신경재생이 향상되지 않은 결과가 나타났다. [44]

B. Neuroactive steroids

Neuroactive steroid라는 용어는 steroid가 신경계에 직접 작용하는 신경활성물질로 바뀔 수 있는 것을 의미한다. neuroactive steroid는 신경의 neurotransmitter gated ion channel과 작용하여 신경활성을 변화시킨다. 또한 이러한 steroid는 세포내의 steroid hormone receptor에 작용하여 유전자 발현에도 영향을 미친다. 이러한 neuroactive steroid는 중추신경계와 말초신경계의 수초화된 glial cell에서 주로 합성이 된다.

Progesterone과 대사산물인 dihydroprogesterone, tetrahydroprogesterone와 dehydroepiandrosterone, estrogens, androgens 등이 neuroactive steroid로써 신경계에서 신경세포와 주변 지지세포에 중요한 신경보호작용을 한다. Progesterone과 대사산물은 Schwann cell에 의해서 말초신경의 수초단백질인 P0과 PMP22의 합성을 증가시키고 세포분화 활성과 증식에 영향을 미친다. [45] 또한 neuroactive steroid는 앞에서 언급한 GABA-A, GABA-B receptor의 발현에 영향을 미쳐 신경재생에 영향을 준다.

C. Electrical stimulation and Gonadal steroids

단절된 신경은 수술적인 방법으로 치료가 가능하지만, 신경의 기능적인 측면에서 완전한 회복은 느린 신경재생속도와 부적절한 신경재분포로 인해 종종 달성되기 어려운 경우가 있다. [55] 그렇기 때문에 손상된 신경의 완전한 기능회복을 위해서는 신경재생 속도를 향상시킬 수 있는 방법이 치료시에 적용되어야 한다. Gonadal steroid의 경우 세포의 생존, 신경전도물질의 대사, 신경의 재생 등 신경계에 중요한 영양적 효과를 가지고 있다. [56] 그러므로 손상된 신경의 치료시 신경재생의 속도를 향상시키는 방도로 gonadal steroid를 이용할 수 있다.

취를 이용한 실험에서 손상된 신경의 치료에서 testosterone을 적용한 경우 신경의 기능적 회복속도가 더 빨라졌다는 것이 증명되었다.[57] 전기적 자극도 신경의 재생속도를 향상시키는데 이용될 수 있다. 최근 연구에서 쥐의 femoral nerve 손상시 손상된 신경 부위에 짧은 전기적 자극을 주었을 때 축삭의 재생능력이 향상되었고, 운동신경의 재분포기전의 특이성도 증가되었다.[58] 그리고 testosterone과 전기적 자극을 동시에 적용했을 때의 효과와 각각을 따로 적용했을 때의 효과를 비교했을 때 testosterone이나 전기적 자극을 단독으로 적용하였을 때는 아무런 처치를 하지 않았을 때에 비해 8%의 신경 기능회복이 나타났다.[59] 반면, testosterone과 전기적 자극을 동시에 주었을 때는 22%의 신경기능회복이 나타났다.[60]

또 다른 gonadal steroid인 dihydrotestosterone과 estradiol을 이용한 실험에서는 dihydrotestosterone의 경우 단독으로 사용시 손상된 신경의 치료에 신경재생속도를 향상시키지 못한 반면 전기적 자극과 같이 적용하였을 때는 약 10%의 재생속도의 향상을 보였다.[61] 또한 estradiol의 경우는 전기적 자극을 같이 사용하더라도 추가적인 재생속도의 증가는 보이지 않았다. 그러므로 estradiol을 제외한 일부 gonadal steroid와 전기적 자극을 함께 사용하는 방법은 손상된 신경에서 신경재생속

도를 증가시키는 방법으로써 임상적으로 가치가 있는 방법이다.

D. Glutamate

Glutamate는 excitatory neurotransmitter로써 pre-synaptic cell에서 glutamate를 방출함으로써 신경전도를 시작하고, post-synaptic cell에서는 glutamate receptor인 NMDA receptor에 결합함으로써 신경을 활성화시킨다. Schwann cell은 다양한 glutamate receptor를 발현하고, 이 receptor를 통해 glutamate가 Schwann cell에 작용하게 된다.

실험을 통해서 말초신경에 병변이 있을 때 glutamate의 농도가 급격히 증가되는 것을 확인하였다.[46] 그리고 신경절단의 손상이 발생한 경우 neuron에서 metabotropic glutamate receptor(mGluRs)의 발현이 증가되었다.[47] 이처럼 손상된 신경에서 glutamate의 농도를 낮추고 glutamate receptor를 억제하기 위한 약제를 신경재생을 위해 사용될 수 있지만, 효과가 아직 증명되지 않았고, 여러 가지 부작용이 일어날 수 있기 때문에 사용되지 않고 있다.[48]

E. Cholinergic system

Acetylcholine은 성장, 생존, 분화, 세포사멸 등 세포의 기본적인 기능을 조절하는 역할하는 동시에 신경세포에서

신경전달물질로서 neuron과 glial cell의 생존과 분화를 조절하며 neural stem cell과 progenitor cell의 증식을 조절함으로써 신경형성을 조절하는 역할도 한다.[49] 손상된 신경에서 acetylcholine은 운동신경의 말단점유가 증식하는데 중요한 역할을 하며, 손상된 근육의 재생에도 영향을 미친다. 이를 통해 손상된 신경의 말단의 증식과 신경재생과정에서 필요한 neurotrophic factor와 chemical factor의 방출을 위해서도 acetylcholine이 필요하다. 이러한 acetylcholine은 신경이 손상을 받았을 때 주변 시냅스에 존재하는 Schwann cell에서 합성하여 분비하게 된다.[50] 신경 재생을 위한 방법으로는 acetylcholine과 작용을 하는 muscarinic agonist나 antagonist, 또는 nicotinic agonist나 antagonist와 같은 물질을 이용하여 원하는 효과를 얻을 수 있다.

F. Adenosine triphosphate

ATP는 신경섬유에서 GABA, glutamate, acetylcholine, dopamine 등과 함께 분비되는 물질이다. ATP의 역할은 신경에서 purinergic receptor를 통해 정보를 전달하고, 세포내에서는 kinase에 phosphate를 제공하는 역할을 통해 신경전도에 영향을 준다. 또한 신경재생 과정에서 ATP가 하는 역할은 형태학적으로 미성숙된 상태로 Schwann cell의 성숙화를 정지시킬 수 있다. 즉

ATP의 방출은 Schwann cell의 증식, 분화, 유전자 발현에 큰 영향을 미친다.

G. cyclic AMP

Adenosine cyclic monophosphate (cAMP)는 다양한 세포자극을 전달하는 주된 세포내 전령물질이다. cAMP가 주목 받게 된 이유는 재생되는 신경세포 내에서 cAMP 수준이 증가하기 때문이다. cAMP는 PC12 세포의 생존과 신경분화에 영향을 미치며,[65] Schwann cell에 의한 수초 형성을 촉진시킨다.[66] 이러한 결과를 토대로 cAMP과 신경재생 과정에서 neurotrophic 역할을 한다고 할 수 있다. 게다가 cAMP는 신경사이의 시냅스 형성과 glial cell의 활성화도 증가시키는 역할을 한다.

쥐를 이용한 실험에서 쥐의 얼굴신경을 절단한 뒤 신경문합술을 실시하고 추가적으로 dibutyryl-cAMP를 국소적으로 적용하였다. 실험 결과 cAMP를 적용하였을 때 기능적인 회복이 향상된 것을 확인하였다.[67] 실험에 사용된 dibutyryl-cAMP는 cAMP보다 원형질막의 투과능력이 우수하고 phosphodiesterase의 작용에 의한 분해가 적기 때문에 효과가 더 뛰어나다.[68] 또한 cAMP를 국소적으로 적용하는 것이 전신적으로 사용하는 것보다 사용되는 cAMP 양이나 부작용이 적기 때문에 더 선호된다.[69] 게다가 신경재생을 위해 사용되는 neurotrophic factor는 재생되는

신경세포에만 작용하는 것이 아니라 다른 세포에도 작용하게 되어 전신적으로 사용시 tumor를 야기할 가능성도 있다.

H. Mitogen-Activated Protein Kinases(MAPKs)

MAPKs는 세포의 증식, 분화, 사멸을 조절하는 주된 요소이다. 말초신경에서는 신경세포가 손상을 받았거나 아니면 신경이 재생되는 과정에서 MAPKs가 감각뉴런이나 Schwann cell에서 발현이 된다.[51] 신경절단 등 손상받은 신경의 말단에서는 Wallerian degeneration이 일어나며, neurotrophic factor인 nerve growth factor, neuroregulins, brain-derived neurotrophic factor, 등이 방출된다. 이러한 neurotrophic factor는 MAPKs 경로에 의해 활성을 띠게 되고 성장효과를 나타내게 된다.[52]

I. Erythropoietin

Erythropoietin은 독성물질과 접하게 되면 항산화효소의 생산을 촉진하는 역할을 하는 물질이다. 이러한 특성으로 erythropoietin은 glutamate cytotoxicity에 의해 유발되는 신경세포의 사멸을 막을 수 있다.[53] 또한 신경손상에 의해 erythropoietin이 증가하게 되면 Schwann cell의 증식과 손상부위로 이동이 증가되게 된다. 그러므로 신경손상시 erythropoietin을 사용하면 신경

재생 능력을 향상시켜줄 수 있다.

J. Vitamin

신경손상이 발생되면 손상된 신경에서 여러 가지 반응이 일어나는데 그중에 oxidative stress에 의해 신경의 퇴행성 변화가 발생한다. 손상의 반응 결과 생산된 활성산소와 활성질소는 Schwann cell의 투과성과 기능을 변화시켜 수초의 심각한 결함을 초래한다. 항산화 특성을 가지고 있는 Vitamin E와 C는 이러한 활성산소와 활성질소에 의한 신경 손상을 방지해 줄 수 있다.[54] 이러한 특성을 바탕으로 비타민을 신경재생을 위해 사용할 수 있다.

K. Hyperbaric oxygen therapy(HBOT)

신경이 외상이나 감염에 의해서 손상을 받을 경우 손상의 결과로 부종이 발생되고 신경내압의 상승이 유발된다.[62] 여러 원인에 의해 얼굴신경이 통과하는 골내의 신경관 안에서 부종이 발생이 발생되면 관주계의 압박이 유발되고, 그 결과 국소적인 빈혈과 축삭의 퇴행성 변화가 야기된다.[63] 산소는 국소적 빈혈에 있어서 중요한 역할을 하는 대사물질이기 때문에 국소적 빈혈에 의해 신경의 퇴행성 변화가 나타나는 부위에 산소 농도를 증가시킴으로써 신경의 회복을 유도할 수 있다. Hyperbaric oxygen therapy는 혈장내의 산소농도를 정상상태의 20배에 해당하는 6%까지 향상

시킨다. 이렇게 증가된 산소농도는 혈관의 수축을 야기시키고 부종을 감소시킨다. 동물실험을 통해 말초신경의 재생과정에 있어서 Hyperbaric oxygen therapy는 축삭의 퇴행성 변화를 막고 신경의 myelinization과 regeneration에 도움을 준다는 것이 증명되었다. 또한 HBOT는 myelinated axon의 범위와 myelin의 두께를 증가시켜주고, 신경부종을 감소시키며 축삭의 성장을 촉진시키는 효과가 있다.[64]

VII. Physical therapy

A. 초음파치료(ultrasound)

초음파를 이용한 치료방법은 근골격계의 다양한 병변을 치료하기 위해서 많이 사용되었지만, 아직까지 손상된 신경의 재생에 초음파가 미치는 효과는 정확히 밝혀지지 않았다. 초음파를 이용한 치료는 처음에는 신경의 전도속도를 조절하기 위해서 사용되었다.[70] 신경의 전도속도는 적용된 초음파의 강도나 적용시킨 시간에 따라 증가되기도 하고 감소되기도 한다.[71] Lowden 등에 의해서 쥐를 이용한 실험에서 신경의 재생에 초음파가 이용되었다. 그 결과 low intensity의 초음파를 적용시켰을 때는 손상된 신경의 재생속도가 증가된 반면, high intensity의 초음파를 사용했을 때는 신경의 재생속도가 저하되었다.[72]

최근 연구에서는 초음파를 이용해 말초신경의 재생 효과의 향상을 확인하였고, 그 결과를 토대로 초음파가 신경재생에 미치는 효과를 다음과 같이 도출하였다. [73] 초음파가 조사된 부위에 thermal effect를 야기하여 그 부위에 혈관의 확장과 새로운 혈관의 형성의 야기하고 그 부위로 영양분 이동을 증가시켰다. 또한 재생되는 신경섬유의 밀도를 증가시킴으로써 그 부위의 nerve sprouting이 증가되었고, 초음파가 조사된 부위의 Schwann cell이 활성화되고, 축삭원형질의 생산을 촉진시킬 화학매개체와 화학주성매개체의 방출되었다.

B. Microwave

손상된 조직의 치료에 마이크로파를 사용함으로써 얻는 효과는 온열요법과 혈류량 증대를 통해 치유 속도를 향상시키는 것이다.[73] 손상된 신경에 pulsed electromagnetic fields를 적용시켜주면 신경세포막에 있는 Calcium binding site에 영향을 미쳐 calcium의 축삭원형질로의 유입을 야기하고 calmodulin을 활성화시켜 Wallerian degeneration을 유발시킨다.[74]

다른 연구에서는 400Hz의 마이크로파에 의해 손상된 신경에 적용한 결과 신경의 섬유화와 퇴행성 변화는 감소시키는 반면, Wallerian degeneration이 가속화되고, 신경의 재생이 향상된다는 것을 확인하였다.[75]

C. LASER

Laser를 이용한 치료는 수술적인 방법 없이 손상된 신경에 laser를 조사함으로써 치료 효과를 얻을 수 있는 비침습적인 치료법이다. low-level laser를 이용한 치료법이 말초신경의 재생과 기능회복을 위해 사용되어 왔다.[76] low-level laser를 손상된 말초신경에 조사함으로써 얻는 효과는 다음과 같다. 첫째로 손상받은 말초신경의 기능적 측면에서 활동성을 증가시킴으로써 즉각적인 보호 효과를 얻을 수 있다.[77] 두 번째로 손상받은 뒤 시간이 경과하여도 신경의 기능적 활성을 유지시켜주는 효과가 있다.[78] 세 번째로 손상받은 부위에 scar tissue가 형성되는 것을 방지하거나 형성을 감소시키는 역할을 한다.[79] 네 번째로는 척수의 운동신경의 퇴행성 변화를 감소 또는 방지한다.[80] 마지막으로 축삭의 성장속도와 수초화 형성속도를 증가시키는 효과가 있다.[78] Low-level laser가 이와 같은 효과가 있기 때문에 손상받은 신경의 재생을 향상시키는 치료효과를 나타낸다.

이러한 low-level laser의 치료효과는 조사된 laser의 양에 의해서 영향을 받는데, 적은 양의 laser가 조사된 경우는 세포대사과정에서 산화환원반응의 조절이 나타나는 반면, 고용량의 laser가 조사된 경우는 세포에 광역학적인 손상을 가하게 된다.[81]

절단된 신경의 경우 우선적으로 신경

문합술을 통해 신경의 연속성을 회복한 다음 추가적으로 laser를 조사해줌으로써 신경재생 효과를 향상시킬 수 있다. 쥐의 좌골신경을 절단한 다음 신경문합술로 신경을 이어준 다음 2개의 실험군으로 나누어 한 실험군에만 신경문합술 후 Laser를 조사해 주었다.[82] 실험 결과 laser를 조사해준 실험군에서 신경자극에 대한 반응이 더 우수하게 나타났고, 큰 직경을 가진 축삭이 더 많이 재생된 결과가 나타났다. 이 결과를 통해 신경이 절단된 후 신경문합술로 단절된 신경을 이어준 다음 laser를 조사해 주면 신경재생 효과를 더 증가시킬 수 있다는 것이 확인되었다.

과거에는 He-Ne laser에서 방출되는 붉은 계열의 파장의 빛을 이용하여 신경 재생에 미치는 생물학적 효과를 연구하였다.[83] 최근에는 650nm에서 1000nm의 파장길이를 갖는 다양한 laser에 의한 신경재생 효과가 연구되고 있다. 쥐의 좌골신경을 이용한 실험에서 660nm의 파장의 빛을 방출하는 aluminum gallium arsenide low-level laser를 이용한 경우 신경재생 과정에서 수초의 형성과 관련된 형태계측학적 효과의 증진은 있었지만, 재생된 신경의 기능적인 회복 향상은 확인되지 않았다.[84]

VIII. Gene therapy

말초신경은 이론적으로 선천적인 재생 능력이 있기 때문에 손상을 받은 뒤 구조적인 측면이나 기능적인 측면에서 완전히 정상으로 회복될 수 있다. 그러나 재생과정에 대한 분자적, 세포적 연구가 부족하여 기능적인 회복이 완전히 이루어지지 못하고, 현재 손상받은 신경에 대한 치료는 수술적인 방법을 통해 신경의 구조적 결함을 해결한 다음 neurotrophic factor나 physical therapy를 통해 기능의 회복을 도모하고 있다.[85]

A. Gene transfer technology

현재까지 연구되고 있는 말초신경의 재생을 위한 유전자 치료법은 손상된 신경말단의 회복을 촉진시켜주는 neurotrophic factor를 전달하여 감각뉴런이나 운동뉴런의 생존과 재생을 유도하여 결과적으로 신경의 기능을 회복시킨다.[86] 손상된 신경의 기능 회복에 외부에서 생산된 neurotrophic factor가 중요한 역할을 하지만 대부분의 neurotrophic factor가 짧은 반감기를 가지고 있어 원하는 효과를 달성하기 위해 손상된 부위에 치료 효과를 나타내는 농도를 얻기 위해서 여러 차례에 걸친 neurotrophic factor의 투여나 계속적인 공급이 있어야 하는 단점이 있었다. 그러나 gene transfer technology를 이용하여 neurotrophic gene을 전사

하는 cDNA를 전달하여 한번의 적용만으로 원하는 neurotrophic factor를 충분한 농도로 방출할 수 있다. 치료에 필요한 gene을 말초신경으로 전달하는 매개체로는 plasmid가 사용된다. 한 실험에서 vascular endothelial growth factor를 생산하는 유전자를 함유한 plasmid를 근육내로 전달하였을 때, 여러 신경병변이 존재하는 곳에서 myelin이 파괴되는 것과 axon이 없어지는 것을 억제해 주었다.[87] 말초신경을 표적으로 해서 유전자를 전달하기 위해서 주로 3가지 종류의 viral vectors가 사용되었다. Adenovirus, Herpes Simplex Virus, Adeno-Associated Virus. 손상된 신경에 이렇나 viral vector를 주입하게 되면, viral vector가 운동신경의 세포체 내로 역전사되어 치료에 필요한 유전자를 신경세포내로 전달하게 되는 것이다.

바이러스를 이용한 매개체가 아닌 새로운 매개체가 연구되고 있는데, 이렇나 새로운 매개체는 세포 선택적인 promoter를 사용하여 특정 세포집단에서만 유전자가 발현되도록 하고, 세포의 면역체계를 활성화나 promotor의 불활성화와 같은 원치 않는 부작용을 최소화하는 것을 목표로 하고 있다.[88]

B. Neurovascular cross-talk

신경과 혈관은 생물학적으로 분자학적으로 유사성이 크고, 말초기관에서 주행

방향도 비슷하다. 이러한 특성으로 인해 신경과 혈관은 서로에게 영향을 미칠 수 있는데 혈관세포에 의해서 생성되는 신호에 의해 축삭이 성장하기도 하며, 반대로 신경에서 분비되는 물질에 의해 새로운 혈관이 유도되기도 한다.[89] 신경과 혈관에 작용하는 신호도 서로 밀접하게 연관이 있는데 불충분한 혈관형성신호는 신경의 퇴행성변화를 일으키고, *angioneurin*이라고 명명된 혈관형성인자인 VEGF, PDGF, TGF β 등은 다양한 신경세포에서 신경재생을 촉진하고, 신경보호효과를 나타내며, 다양한 다면 발현성의 효과를 일으킨다.[90]

C. Schwann cell target

앞에서 언급했듯이 Schwann cell은 신경의 재생과정에 중요한 역할을 한다. 재생되는 길이 방향으로 배열된 Schwann cell tube를 따라 축삭이 재생되고, 재생과정을 지지하는데 필요한 여러 가지 neurotrophic factor를 생산하는 역할을 한다. 그렇기 때문에 신경재생을 위한 유전자 치료의 target으로 Schwann cell을 선택할 수 있다. 바이러스를 이용한 gene transduction을 통해서 Schwann cell내의 유전자 발현을 조절함으로써 신경재생에 필요한 neurotrophic factor의 분비를 증가시킴으로써 축삭과 수초의 수적 증가를 야기하고 이를 통해 신경의 기능적 회복을 향상시킬 수 있다.[91]

D. Neuroproteomics approaches

신경이 손상을 받으면 여러 가지 신호와 물질에 의해서 Wallerian degeneration 등의 변화가 일어나게 되고, 재생과정에 서도 Schwann cell 등에서 분비하는 성장인자나 neurotrophic factor, 정보전달물질 등이 중요한 역할을 한다. 면역조직화학적 분석법과 분자분석에 의해 신경의 재생에 관여하는 다양한 물질들에 대한 정보를 획득하였고, 유전공학적 방법을 토대로 이 물질의 기능을 밝혔다. 신경손상과 재생에 관여하는 물질 뿐만 아니라 여러 가지 복잡한 반응을 이해하기 위해서 최근에 제시되고 있는 방법이 단백질 유전 정보연구이다.[92] 이 연구를 통해 축삭이 손상 받았을 때 일어나는 단백질 합성의 변화를 손상 후 유발되는 신호와 일련의 신호전달체계를 분석함으로써 밝혀냈다. 이 밖에 손상으로 인해 유발되는 Schwann cell과 Glial cell의 반응도 연구되고 있다.

IX. The use of Stem cell

신경이 절단되는 손상이 발생하였을때 신경의 치료를 위해서는 신경을 이식하는 자가신경이식법이나 neural conduit를 이용하여 신경의 재생을 유도하는 방법이 사용될 수 있다. 이러한 신경치료법을 한 뒤 신경의 기능적 회복을 위해서는 neurotrophic factor와 Schwann cell

이 적절히 적용되어야 한다. 치료법에 사용되는 Schwann cell의 경우 치료 효과를 얻기 위해 충분한 양을 채취하기 위해 침습적인 방법으로 신경조직검사를 사용한 뒤, 실험실에서 상당한 기간동안 증식을 시킨 다음 사용이 가능하다.[93] 그러므로 손상된 신경의 치료과정에서 필요한 Schwann cell을 손쉽게 얻는 것이 중요해졌다. 비침습적인 방법으로 Schwann cell을 얻기 위한 방법으로 stem cell이 이용된다.

신경재생에 사용되는 Schwann cell로 분화시키기 위한 stem cell은 인체의 여러 부위에서 얻을 수 있다. 우선 Embryonic neural stem cell이나 cell line을 이용해서 신경손상을 치료하고 신경을 재생시킬 수 있다. 그러나 embryonic neural stem cell은 채취의 한계가 있다.[94]

반면, 성인의 stem cell은 상대적으로 비침습적인 방법으로 이용이 가능한 장점이 있어 임상적으로 손상된 신경의 치료에 가장 적절하다. 골수에서 얻을 수 있는 stromal cell을 이용해 신경 재생에 사용될 수 있다. Mesenchymal stem cell을 적절한 배양액에 두면, S100 protein, GFAP, p75등을 발현하는 표현형을 지닌 Schwann cell로 교차분화하게 된다.[95] 최근에는 지방 조직에서 골수에서 채취하는 stromal cell과 표현형적으로 유사한 multipotent stem cell을 얻을 수 있다. 지방에서

획득한 stem cell도 실험실에서 적절한 배양액을 통해 myelinating Schwann cell로 분화를 시킬 수 있다.[96] 마지막으로 피부와 부속기관도 stem cell을 함유하고 있는데, 머리카락이나 수염의 모낭에서 발견되는 neural crest stem cell도 뉴런, 평활근 세포, Schwann cell, melanocyte 등으로 분화될 수 있다.[97]

A. 손상된 신경에 전달되는 stem cell의 수와 방법

Stem cell을 이용한 여러 실험에서 다양한 수의 stem cell이 손상된 신경 부위에 적용 되었는데, 전달한 stem cell 수의 선택기준에 대해 정확히 설명하고 있지 않아 신경재생에 가장 적절한 stem cell 수는 결정하기 어렵다. 그러나 너무 적은 수의 stem cell을 사용하면 신경재생 효과를 얻을 수 없을 것이고, 반면 너무 많은 수의 stem cell을 사용하게 되면 재생과정에서 불필요한 stem cell이 해로운 작용을 할 것이다. 이는 신경재생 과정에서 신경회복의 향상을 위해 다양한 수의 Schwann cell을 적용한 다음 재생결과를 확인한 실험을 토대로 유추해 볼 수 있다.[98] 10mm의 신경 절단이 있는 부위에 20x10⁶ cells/ml 농도의 Schwann cell을 적용한 결과 축삭의 재생능력에 증가가 나타나지 않았다. 농도를 증가시켜 80x10⁶

cells/ml의 Schwann cell을 적용하면 이상적인 재생이 나타났다. 반면, Schwann cell의 농도를 더 증가시키면 재생능력이 약간 감소하는 것으로 밝혀졌다. 이는 Schwann cell의 농도가 증가함에 따라 재생되는 신경에서 공간과 가용한 자원을 많이 차지하게 되어 재생능력이 감소한 것으로 생각된다. 이식된 stem cell의 수와 마찬가지로 stem cell을 이식하는 방법도 다양하게 나타났다. 원하는 부위에 직접적으로 stem cell을 미세주입하는 방법, 인공관을 이용하여 확산시키는 방법, 불활성화된 근육이나 신경을 이용해서 stem cell을 심는 방법 등이 이용되었다. 손상의 정도와 유형에 따라 stem cell을 이식하는 방법이 다르겠지만, 이식된 세포가 해당 부위에서 잘 생존되고, 유지될 수 있는 방법으로 이식되어야 한다.[99]

B. 신경재생 효과에 영향을 미치는 요인

말초신경의 치료에 stem cell을 이용하는 것은 손상된 부위로 stem cell이 전달된 다음 치료에 필요한 세포로 분화를 일으켜 치료 효과를 얻기 위해서이다. 그렇기 때문에 stem cell을 이용한 치료법을 통해 정확하고 완전한 치료효과를 얻기 위해서는 필요한 표현형의 세포로 분화시키는 방법의 선택이 중요하다.

실험을 통해 신경계에서 추출한 세포와 함께 stem cell이나 progenitor cell을 배양액에서 키우면 stem cell이 세포를

추출한 신경계에 존재하는 세포와 관련된 표현형으로 분화되는 것을 확인하였다.[100] dorsal root ganglion에서 추출한 세포와 함께 stem cell을 배양 시에는 stem cell이 말초신경의 뉴런, Schwann cell, 평활근 표현형으로 분화되었고, cerebellar feeder와 함께 배양 시에는 중추신경의 뉴런으로 분화되었다.

Stem cell을 이식하기 전에 전처리를 통해 stem cell의 분화정도를 조절하는 것도 치료의 효과를 얻는데 중요하게 작용한다. 분화단계를 조절하지 않은 stem cell을 손상된 spinal cord에 이식했을 때, 비정상적으로 신경이 뺏어 나갔다. 반면, neurogenin-2를 이용해 stem cell을 전처리한 뒤 이식하였을 때는 기능적인 측면에서 전반적인 향상을 보였다.[101] Stem cell의 분화 단계를 조절하지 않은 채로 치료에 이용하는 것은 이식된 stem cell에 의해 종양이 유발될 수 있는 단점이 존재한다.

이식된 stem cell이 손상된 신경 부위에서 적절한 기간 동안 생존을 하여야 증식, 분화를 통해 신경재생에 효과를 나타낼 수 있다. 그렇기 때문에 stem cell이 이식된 부위에서 생존기간을 조절하는 것도 치료의 성공을 위해서 중요하다. 세포의 생존 기간을 조절하는 방법으로는 유전자 조작을 통해 stem cell의 생존능력을 향상시키거나, 이식시 생존에 필요한 보호약제나 영양인자를

같이 사용하는 것이 가능하다. 동물실험에서 중배엽성 줄기세포를 granulocyte-colony stimulating factor와 함께 이식했을 때 이식된 줄기세포의 생존능력이 향상됨과 동시에 신경의 재생능력도 같이 증가되었다.[102]

X. Conclusion

얼굴신경과 같은 말초신경은 손상을 받았을 때 재생능력이 존재하기 때문에 손상받은 신경을 정상상태로 회복이 가능하고, 신경재생을 위해 여러 가지 치료법이 사용되었다. 그러나 신경 손상에 대한 반응이나 재생과정에 대한 완전한 이해가 이루어지지 않았고, 손상된 신경의 기능적 회복도 불완전하다.

신경을 재생시키는 방법으로 크게 수술적인 방법과 비수술적인 방법으로 구분할 수 있는데 어느 방법이 임상적으로 더 우수하다고 말할 수 없다. 단지 손상의 원인이나 정도에 따라서 적용하는 치료법이 달라진다.

신경이 외상이나 수술 과정에서 단열이 발생한 경우에는 수술적인 방법으로 치료를 시도할 수 있다. 단절된 신경이 긴장 없이 봉합될 수 있을 때는 신경문합법으로 신경의 연속성을 회복해 줄 수 있다. 하지만 단열된 신경간에 간극이 존재하게 되면 신경문합법으로는 치료를 할 수 없다. 자가신경을 이용해 신경을

이어주거나 neural conduit를 이용해 신경이 재생되는 환경을 조성해 주어야 한다. 이처럼 수술적인 치료방법은 신경의 구조적 결함은 없애줄 수 있지만, 기능적 회복까지 보장해 주는 것은 아니다.

신경의 재생 능력의 증가를 통해 기능적 회복을 향상 시키기 위한 다양한 방법이 이용된다. 신경 재생과정에서 중요한 역할을 하는 neurotrophic factor나 growth factor를 손상된 신경에 적용함으로써 신경의 재생능력을 향상시키려는 연구가 진행중이다. 이러한 물질들은 단독으로 적용되기도 하지만 neural conduit를 이용한 수술법과 병행되기도 하고, 전기적 자극이나 LASER 등의 치료법과 같이 사용하여 그 효과를 증가시키는 방법으로 시도되고 있다. 유전자 치료를 통해서도 신경재생에 영향을 주는 인자를 손상된 신경으로 전달하려는 시도가 행해지고 있다.

초음파 치료, 마이크로파를 이용한 치료가 다양한 조직의 치유 촉진을 위해 사용되었고, 이들을 이용한 치료가 신경의 치료에도 응용되어 실험을 통해 그 효과가 입증되었다. 최근에는 다양한 LASER를 이용해 손상된 신경의 치료에 적용하려는 시도가 있는데, LASER를 이용한 실험에서는 수초의 형성을 촉진하는 등 구조적 재생에는 효과가 있지만, 기능적 회복의 효과는 아직 밝혀지지 않았다.

줄기세포를 손상된 신경에 이식하여 신경재생을 유도하는 치료법은 많은 동

물실험을 통해 그 효과가 증명되었다. 비록 세포를 기반으로 하는 치료법은 손상된 신경의 재생에 새로운 치료법으로 자리잡게 되지만, 세포의 이식방법이나 이식된 세포가 손상 부위에서 어떤 기전으로 작용하게 되는지에 대한 연구가 더 필요하다. 위에서 언급했듯이 줄기세포를 이식하였을 때 최대한의 치료효과를 얻기 위해서는 적절한 수의 줄기세포, 효과적인 이식방법, 그리고 이식된 줄기세포의 생존과 분화를 조절하는 것이 필요하다. 그렇지 않으면 이식된 줄기세포로부터 종양이 발생할 수 있는 위험성이 존재하기 때문에 실제 임상에 적용되기 위해서는 연구가 더 필요한 실정이다.

XI. Reference

- Rodriguez FJ, Valero-Cabe A, Navarro X : Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. *Drug Discov today Dis Models* 1 : 177-185, 2004
- Seddon HJ : Three types of nerve injury. *Brain* 6 : 237-288, 1943
- Sunderland S : A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain* 74 : 491-516, 1951
- Sofroniew MV, Tuszynski MH, Kordower J : Neuronal responses to axotomy. In *CNS regeneration*. Academic Press, Sna Diego : 3-26
- Eddleston M, Mucke L : Molecular profile of reactive astrocytes - implications for their role in neurological disease. *Neuroscience* 54 : 15-36, 1993
- Rizwan SA, Jayne MN, Kevin AR : Bcl-2 family regulation of neuronal development and neurodegeneration. *Biochimica et biophysica acta* 1644(2-3) : 189-203, 2003
- Korsmeyer SJ : Bcl-2 gene family and the regulation of programmed cell death. *Cancer Res* 59 : 1693-1700, 1999
- Jürgensmeier JM, Xie Z, Devaux Q, Ellerby L, Bredesen DE, Reed JC : Bax directly induces release of cytochrome c from isolated mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 : 4997-5002, 1998
- Deckwerth TL, Elliott JL, Knudson CM, Johnson EM, Snider WD, Korsmeyer SJ : Bax is required for neuronal death after trophic factor deprivation

- and during development. *Neuron* 17 : 401-411, 1996
10. D Choi, Dunn LT : Facial nerve repair and regeneration : an overview of basic principles for neurosurgeons. *Acta Neurochir* 143(2) : 107-114, 2001
 11. Cajal YR, DeFilipe K, Jones EG(eds) : Cajal's degeneration and regeneration of nervous system. *History of neuroscience* 5 : pp 543-547, 1991
 12. Stoll G, Griffin JW, Li CY, Trapp BD. : Wallerian degeneration in the peripheral nervous system: participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation. *J Neurocytol* 18 : 671-683, 1985
 13. Ide C : Peripheral nerve regeneration. *Neurosci Res* 25 : 101-121, 1996
 14. Martini R : Expression and functional roles of neural cell surface molecules and extracellular matrix components during development and regeneration of peripheral nerve. *J Neurocytol* 23 : 1-28, 1994
 15. Hefti F : Neurotrophic factor therapy for nervous system degenerative disease. *J Neurobiol* 24 : 1418-1435, 1994
 16. Levi-Montalcini R, Hamburger V. : Selective growth stimulating effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo. *J Exp Zool* 116 : 321-362, 1951
 17. F. Hefti : Nerve growth factor (NGF) promotes survival of septal cholinergic neurons after fimbrial transection. *J Neurosci* 6 : 2155-2162, 1986
 18. Brunelli G, Brunelli F : Strategy and timing of peripheral nerve surgery. *Neurosurg Rev* 13 : 95-102, 1990
 19. Maria Siemionow, Mehmet Bozkurt, Fatih Zor : Regeneration and repair of peripheral nerves with different biomaterials: review. *Microsurgery* DOI 10.1002 : 1-15
 20. Lee SK, Wolfe W : Peripheral nerve injury and repair. *J Am Acad Othop Sur* 8 : 243-252, 2000
 21. Strasberg SR, Mackinnon SE, Genden EM, Bain JR, Purcell CM, Hunter DA, Hay JB : Long segment nerve allograft

- regeneration in sheep model: experimental study and review of the literature. *J Reconstr Microsurg* 12 : 529-537, 1996
22. Fawcett JW, Keynes RJ : Muscle basal lamina: a new graft material for peripheral nerve repair. *J Neurosurg* 16 : 354-363, 1986
 23. Jiming K, Shizhen Z, Bo S, Shengxiu Z : Experimental study of bridging the peripheral nerve gap with skeletal muscle. *Microsurgery* 7 : 183-189, 1986
 24. Chiu DTW, Strauch BA : Propective clinical evaluation of autogenous vein grafts used as a nerve conduit for distal sensory nerve defects of 3cm or less. *Plast Reconstr Surg* 86 : 928-934, 1990
 25. Brandt J, Dahlin LB, Lundborg G : Autologous tendons used as grafts for bridging peripheral nerve defects. *J Hand Surg* 24 : 284-290, 1999
 26. Chen YS, Hsieh CL, Tsai CC, Chen TH, Cheng WC, Hu CL, Yao CH : Peripheral nerve regeneration using silicone rubber chambers filled with collagen, laminin and fibronectin. *Biomaterials* 21 : 1541-1547, 2000
 27. Archibald SJ, Shefner J, Krarup C, Madison RD : Monkey median nerve repaired by nerve graft or collagen nerve guide tube. *J Neurosci* 15 : 4109-4123, 1995
 28. Weber RA, Breidenbach WC, Brown RE, Jabaley ME, Mass DP : A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plast Reconstr Surg* 106 : 1036-1045, 2000
 29. Wang X, Hu W, Cao Y, Yao J, Wu J, Gu X : Dog sciatic nerve regeneration across a 30mm defect bridged by a chitosan/PGA artificial nerve graft. *Brain* 128 : 1897-1910, 2005
 30. Doolabh VB, Hertl MC, Mackinnon SE : The role of conduits in nerve repair. *Rev Neurosci* 7 : 47-84, review, 1996
 31. Hudson TW, Evans GR, Schmidt CE : Engineering strategies for peripheral nerve repair. *Orthop Clin North Am*

- 31 : 485-498, 2000
32. Huang YC, Huang YY : Bio-materials and strategies for nerve regeneration. *Artif Organs* 30 : 514-522, 2006
33. Evans GR : Challenges to nerve regeneration. *Smin Surg Oncol* 19 : 312-318, 2000
34. Ide C, Tohyama K, Tajima K, Endoh K, Sano K, Tamura M, Mizoguchi A, Kitada M, Morihara T, Shirasu M : Long acellular nerve transplants for allogenic grafting and the effects of basic fibroblast growth factor on the growth of regenerating axons in dogs: A preliminary report. *Exp Neurol* 154 : 99-112, 1998
35. Walter MA, Kurouglu R, Caulfield JB, Vasconez LO, Thompson JA : Enhanced peripher nerve regeneration by acidic fibroblast growth factor. *Lymphokine Cytokine Res* 12 : 135-141, 1993
36. Rich KM, Alexander TD, Pryor JC, Hollowell JP : Nerve growth factor enhances regeneration through silicone chambers. *Exp Neurol Surg B* 105 : 162-170, 1989
37. Chen MB, Zhang F, Lineaweaver WC : Luminal fillers in nerve conduits for peripheral nerve repair. *Ann Plast Surg* 57 : 462-471, 2006
38. Kempton LB, Gonzalez MH, Leven RM, Hughes WF, Beddow S, Santhiraj Y, Archibald SJ, El Hassan B, Shott S, Kerns JM : Assessment of axonal growth into collagen nerve guides containing VEGF-transfected stem cells in matrigel. *Anat Rec* 292 : 214-224, 2009
39. Brown DA, March S : Axonal GABA-receptors in mammalian peripheral nerve trunks. *Brain Res* 156 : 187-191, 1978
40. Bhisitkul RB : Axonal GABA receptors are selectively present on normal and regenerated sensory fibers in rat peripheral nerve. *Exp Brain Res* 66 : 659-663, 1987
41. Magnaghi V : GABA receptor-mediated effects in the peripheral nervous system: A cross-interaction with neuroactive steroids. *J Mol Neurosci* 28 : 89-102, 2006
42. Magnaghi V : Altered peri-

- pheral myelination in mice lacking GABA-B receptors. *Mol Cell Neurosci* 37 : 599-609, 2008
43. Wu F : Enhanced rat sciatic nerve regeneration through silicon tubes implanted with calproic acid. *J Reconstr Microsurg* 24 : 267-276, 2008
44. Whitlock EL : Pregabalin does not impact peripheral nerve regeneration after crush injury. *J Reconstr Microsurg* 23 : 264-268, 2007
45. Desarnaud F : Progesterone stimulates the activity of the promoters of peripheral myelin protein-22 and protein zero genes in Schwann cells. *J Neurochem* 71 : 1765-1768, 1998
46. Watkins JC : L-Glutamate as a central neurotransmitter: Looking back. *Biochem Soc Trans* 28 : 297-309, 2000
47. Anneser JM : Axotomy of the sciatic nerve differentially affects expression of metabotropic glutamate receptor mRNA in adult rat motoneurons. *Brain Res* 868 : 215-221, 2000
48. Cvrcek P : Side effect of ketamine in the long-term treatment of neuropathic pain. *Pain Med* 9 : 253-257, 2008
49. Loreti S : Acetylcholine inhibits cell cycle progression in rat Schwann cells by activation of the M2 receptor subtype. *Neuron Glia Biol* 3 : 269-279, 2007
50. Dennis MJ, Miledi R : Electrically induced release of acetylcholine from denervated Schwann cells. *J Physiol* 237 : 431-452, 1974
51. Chen Z : MAP kinases. *Chem Rev* 101 : 2449-2476, 2001
52. Wiklund P : Mitogen-activated protein kinase inhibition reveals differences in signalling pathways activated by neurotrophin-3 and other growth-stimulating conditions of adult mouse dorsal root ganglia neurons. *J Neurosci Res* 67 : 62-68, 2002
53. Brines ML : Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 10526-10531, 2000
54. Rock CL : Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients:

- Vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *J Am Diet Assoc* 96 : 693-702, 1996
55. Valero-Cabre A, Tsironis K, Skouras E, Navarro X, Neiss WF : Peripheral and spinal motor reorganization after nerve injury and repair. *J Neurotrauma* 21 : 95-108, 2004
 56. Shumacher M, Robel P, Baulieu EE : Development and regeneration of the nervous system: a role for neurosteroids. *Dev Neurosci* 18 : 6-21, 1996
 57. Brown TJ, Khan T, Jones KT : Androgen induced acceleration of functional recovery after rat sciatic nerve injury. *Restor Neurol Neurosci* 15 : 289-295, 1999
 58. Borgens RB, Roederer E, Cohen MJ : Enhanced spinal cord regeneration in lamprey by applied electric fields. *Science* 213 : 611-617, 1981
 59. Lal D, Hetzler LT, Sharma N, Wurster RD, Marzo SJ, Jones KJ, Foecking EM : Electrical stimulation facilitates rat facial nerve recovery from a crush injury. *Otolaryngol Head Neck Surg* 139 : 68-73, 2008
 60. Hetzler LE, Sharma N, Tanzer L, Wurster RD, Leonetti J, Marzo SJ, Jones KJ, Foecking EM : Accelerating functional recovery after rat facial nerve injury: effects of gonadal steroids and electrical stimulation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 139 : 62-67, 2008
 61. Sharma N, Coughlin L, Porter RG, Tanzer L, Wurster RD, Marzo SJ, Jones KJ, Foecking EM : Effects of electrical stimulation and gonadal steroids on rat facial nerve regenerative properties. *Restorative Neurology and Neuroscience* 27 : 635-646, 2009
 62. Fisch U : Management of intra-temporal facial nerve injuries. *J Laryngo Otol* 94 : 129-134, 1980
 63. Powell HC, Myers RR, Costello ML, Lampert PW : Endoneurial fluid pressure in Wallerian degeneration. *Ann Neurol* 5 : 550-557, 1979
 64. Bradshaw PO, Nelson AG, Fanton JW, Yates T : Effect of hyperbaric oxygenation on

- peripheral nerve regeneration in adult male rabbits. *Undersea hyperb Med* 23 : 107-113, 1996
65. Lambeng N, Michel PP, Agid Y, Ruberg M : The relationship between differentiation and survival in PC12 cells treated with cyclic adenosine monophosphate in the presence of epidermal growth factor or nerve growth factor. *Neurosc Lett* 297 : 133-136, 2001
 66. Sobue G, Pleasure D : Schwann cell galactocerebroside induced by derivatives of adenosine 3',5'-monophosphate. *Science* 224 : 72-74, 1984
 67. andrei B, Ronaldo NT, Paulo LH, Jose GT, Oswaldo L, Mendonga C, Yotaka F : Influence of cyclic AMP on facial nerve regeneration in rats. *Rev Bras Otorrinolaringol* 74(5) : 675-683, 2008
 68. Lerner A, Kim DH, Lee R : The AMPc signaling pathway as a therapeutic target in lymphoid malignancies. *Leuk Lymph* 37 : 39-51, 2000
 69. Kohmura E, Yuguchi T, Yoshimine T, Fujinake T, Koseki N, Sano A, Kishino A, Nakayama C, Sakaki T, Nonaka M, Takemoto O, Hayakawa T : BDNF atelocollagen mini-pellet accelerates facial nerve regeneration. *Brain Research* 848 : 235-238, 1999
 70. Madsen PW, Gerten JW : The effect of ultrasound on conduction velocity of peripheral nerve. *Arch Phys Med Rehab* 42 : 645-649, 1961
 71. Halle JS, Scoville CR, Great-house DG : Ultrasound's effect on conduction latency of superficial radial nerve in man. *Phys Ther* 61 : 345-350, 1981
 72. Lowdon IMR, Seaber AV, Urbaniak JR : An improved method of recording rat tracks for measurement of the sciatic functional index of De Medinaceli. *J Neurosci Meth* 24 : 279-281, 1988
 73. Sekins KM, Lehmann JF, Esselman P : Local muscle blood flow and temperature responses to 915MHz diathermy as simultaneously measured and numerically predicted. *Arch Phys Med Rehabil* 65 : 1-7, 1984
 74. Schlaepfer WW : Calcium-

- induced degeneration of axoplasm in isolated segments of rat peripheral nerve. *Brain Res* 69 : 203-215, 1974
75. Wilson DH, Jagadeesh P : Experimental regeneration in peripheral nerves and the spinal cord in laboratory animals exposed to a pulsed electromagnetic field. *J Int Med Soc Parapl* 14 : 12-20, 1976
76. Gigo-Benato D, Geuna S, Rochkind S : Phototherapy for enhancing peripheral nerve repair: a review of the literature. *Muscle Nerve* 31 : 694-701. review, 2005
77. Rochkind S, Nissan M, Lubart R, Avram J, Bartal A : The in vivo nerve response to direct low-energy laser irradiation. *Acta Neurochir* 94 : 74-77, 1988
78. Rochkind S, Barr-Nea L, Razon N, Bartal A, Schwartz M : Stimulatory effect of HeNe laser low-dose laser on injured sciatic nerves of rats. *Neurosurgery* 20 : 843-437, 1987
79. Rochkind S, Nissan M, Barr-Nea L, Schwartz M, Bartal A : Response of peripheral nerve to HeNe Laser: Experimental studies. *Laser surg Med* 7 : 441-443, 1987
80. Rochkind S, Barr-Nea L, Volger I : Spinal cord response to laser treatment of injured peripheral nerve. *Spine* 15 : 6-10, 1990
81. Rochkind S, Quaknine GE : New trend in neuroscience: low-power laser effect on peripheral and central nervous system (basic science, preclinical and clinical studies). *Neurol Res* 14 : 2-11, 1992
82. Sharmir MH, Rochkind S, Sandbank J, Alon M : Double-blind randomized study evaluating regeneration of the rat transected sciatic nerve after suturing and postoperative low power laser treatment. *J Reconstr Microsurg* 17 : 133-138, 2001
83. Basfold JR : Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers surg Med* 16 : 331-342, 1995
84. Dos Reis FA, Belchior ACG, de Carvalho TC, da Silva

- BAK, Pereira DM, Silva IS : Effect of laser therapy(660nm) on recovery of the sciatic nerve in rats after injury through neurotmesis followed by epineural anastomosis. *Lasers Med Sci* 24 : 741-747, 2009
85. Abrams M, Wicenfalk J : Emerging strategies to promote improved functional outcome after peripheral nerve injury. *Restor Neurol Neurosci* 23 : 367-382, 2005
86. Haastert K, Mauritz C, Chaturvedi S, Grothe C : Human and rat adult Schwann cell cultures: Fast and efficient enrichment and highly effective non-viral transfection protocol. *Nat Protoc* 2 : 99-104, 2007
87. Kirchmair R, Tietz AB, Panagiotou E, Walter DH, Silver M, Yoon YS, Schratzberger P, Weber A, Kusano K, Weinberg DH, Ropper AH, Isner JM : Therapeutic angiogenesis inhibits or rescues chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Taxol- and thalidomide induced injury of vasa nervorum is ameliorated by VEGF. *Mol Ther* 15 : 69-75, 2007
88. Liu BH, Wang X, Ma YX, Wang S : CMV enhancer/human PDGF-beta promoter for neuron-specific transgene expression. *Gene Ther* 11 : 52-60, 2004
89. Mukoyama YS, Hin D, Britsch S, Taniguchi M, Anderson DJ : Sensory nerves determine the pattern of arterial differentiation and blood vessel branching in the skin. *Cell* 109 : 693-705, 2002
90. Zacchigna S, Lambrechts D, Carmeliet P : Neurovascular signalling defects in neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci* 9 : 169-181, 2008
91. Golden KL, Pearse DD, Blits B, Garg MS, Oudega M, Wood PM, Bunge MB : Transduced Schwann cells promote axon growth and myelination after spinal cord injury. *Exp Neural* 207 : 203-217, 2007
92. Faneng S, Valeria C : Neuroproteomics approaches to decipher neuronal regeneration and degeneration. *Molecular & Cellular proteomics* 9.5 : 963-975,

2009

93. Guest JD, Rao A, Olson L : The ability of human Schwann cell grafts to promote regeneration in the transected nude rat spinal cord. *Exp Neurol* 148 : 502-522, 1997
94. Heine W, Conant K, Griffin JW : Transplanted neural stem cells promote axonal regeneration through chronically denervated peripheral nerves. *Exp Neurol* 189 : 231-240, 2004
95. Tohill M, Mantovani C, Wi-berg M : Rat bone marrow mesenchymal stem cells express glial markers and stimulate nerve regeneration. *Neurosci Lett* 362 : 200-203, 2004
96. Kingham PJ, Kalbermatten DF, Mahay D : Adipose-derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro. *Exp Neurosurg* 207 : 267-274, 2007
97. Sieber-Blum M, Grim M, Hu YF : Pluripotent neural crest stem cells in the adult hair follicles. *Dev Dyn* 231 : 258-269, 2004
98. Mosahebi A, Woodward B, Wi-berg M : Retroviral labeling of Schwann cells: in vitro characterization and in vivo transplantation to improve peripheral nerve regeneration. *Glia* 34 : 8-17, 2001
99. Murakami T, Fujimoto Y, Yasunaga Y : Transplanted neuronal progenitor cells in a peripheral nerve gap promote nerve repair. *Brain Res* : 17-24, 2003
100. Brannvall K, Corell M, Forsberg-Nilsson K : Environmental cues from CNS, PNS, and ENS cells regulate CNS progenitor differentiation. *Neuroreport* 19 : 1283-1289, 2008
101. Hofstetter CP, Holmstrom NA, Lilja JA : Allodynia limits the usefulness of intraspinal neural stem cell grafts: directed differentiation improves outcome. *Nat Neurosci* 8 : 346-353, 2005
102. Pan HC, Chen CJ, Cheng FC : Combination of G-CSF administration and human amniotic fluid mesenchymal stem cell transplantation promotes peripheral nerve regeneration. *Neurochem Res*. 2008

- ABSTRACT -

Study on the regeneration of injured motor part of facial nerve

Mun-Sung Park, Young-Seok Park, Seung-Pyo Lee, Ki-Suk Paik, Mi-Sook Chang

Department of Oral Anatomy, College of Dentistry, Seoul National University, Korea

The facial nerve can be damaged by trauma, infection and surgery. Injury to this nerve results in multiple dysfunction of muscles of face and ocular adnexa that have cosmetic, functional and psychological impacts on the patients. Although the peripheral nerve system has an ability to regeneration, recovery of nerve is dependent on multiple factors. Despite of advances in surgical technique and a good rate of structural nerve healing, functional recovery of injured nerve remains incomplete. For functional recovery of injured nerve, innovative strategies which enhance the ability of regeneration are published. In this review, after a brief description of the anatomy and factors contributing to nerve regeneration, we examine the therapy of injured nerve and then survey the recently published strategies.

Injured nerve can be treated by surgical methods such as anastomosis, nerve grafting and neural conduits. Surgical interventions can be used for the treatment of severed nerve. Timing of surgery is controversial. But recently, it is generally accepted that primary surgery has many advantages. For the functional recovery of nerve, the growth factor and neurotrophic factor can be applied with surgical therapy. The growth factor are Nerve growth factor and Brain-derived growth factor that are released by Schwann cell.

For peripheral nerve regeneration, ultrasound, microwave, and LASER have been used to increase regeneration ability and to promote the functional recovery. These physiological therapy induced the thermal effect, the activation of Schwann cell, and the improvement of functional

recovery.

Pharmacologic intervention for nerve regeneration is proposed. The pharmacologic approaches focused on the modulation of the Schwann cell that is a crucial role of nerve regeneration. These agents are neurotransmitters and neurohormones.

Recently, gene therapy and use of stem cell for improving regeneration are proposed. Gene therapy is the delivery of therapeutic gene which translated the growth factor or neurotrophic factor to the injured site. The studies on new intervention of using the stem cell which differentiate into Schwann cell-like cell is in progress.