

# 말초신경병증의 동물실험모델로서 흰쥐 꼬리 신경전도 검사의 유용성 -하지 신경전도 검사와의 비교-

이화여자대학교 의과대학 신경과학교실

오지영·박기덕

## The Usefulness of Rat Tail Nerve Conduction Study as an Animal Model for Experimental Polyneuropathy - Comparison with Rat Hind Limb Nerve Conduction Study -

Jee-Young Oh, M.D., Kee-Duk Park, M.D.

*Department of Neurology, Ewha Womans University College of Medicine*

### - Abstract -

**Objectives** : Various animal models have been developed to investigate the electrophysiological nature and pathogenesis of peripheral polyneuropathy or to evaluate the neurotoxicity of certain drugs. Among them the method that permits repeated nerve conduction studies would be the most suitable animal model because it does not sacrifice the animal and reveals serial changes of affected nerves by time sequence. Rat caudal nerve conduction study, which requires complex equipment to keep constant tail temperature, has been infrequently used in contrast to rat hind limb nerve conduction study. We analyzed the results of serial rat hind limb and tail nerve conduction studies with simply keeping the constant skin temperature by external heating lamp.

**Methods** : Seven male Sprague-Dawley rats (200-250g) were underwent motor and sensory nerve conduction studies of the sciatic and caudal nerves, respectively, every other week for 12 weeks according to the growth of the rats. During the study, skin temperature was maintained 31-33 °C by using a heating lamp.

**Results** : The motor and sensory nerve conduction velocities of both sciatic and caudal nerves increased continuously during first 8 weeks, but reached at the plateau or declined slightly after 8 weeks. Amplitudes of the compound motor action potential(CMAP) and sensory nerve action potential(SNAP) also increased, but the variations of amplitudes among serial studies are far less in the caudal nerve stimulation than in the sciatic nerve stimulation.

**Conclusion** : The rat caudal nerve conduction study model seems to be a simple and useful method in assessing electrophysiological characters of experimental polyneuropathy.

**Key Words** : Repeated nerve conduction study, Experimental neuropathy, Hind limb, Tail, Skin temperature

이화여자대학교 의과대학 신경과학교실

Address reprint requests to Kee-Duk Park, M.D.

Department of Neurology, Ewha Womans University College of Medicine, #70 Chongno-6-ga, Chongno-ku, Seoul, 110-126, Korea

Tel : 82-2-760-5280, Fax : 82-2-760-5170, e-mail : pkd1165@hitel.net

## 서 론

약물의 말초 신경 독성 여부나 말초 신경병증의 전기 생리 특성과 병리를 규명, 또는 검증하기 위해서 동물 실험 모델이 많이 사용되고 있으며, 그 중에서 실험 동물의 신경을 절단하여 실험실 내에서 전기생리 검사를 시행하거나 신경세포 배양을 통해 병리 소견을 관찰하는 방법<sup>2</sup> 등이 많이 사용되어 왔다. 그러나 이와 달리 실험 동물을 희생시키지 않고, 계속적으로 시간에 따른 변화 양상을 추적 관찰할 수 있는 반복 전기생리 검사가 가장 좋은 동물 실험 모델이라고 생각되는데 이때, 이상적인 모델은 되도록 간단하고 반복 검사 시 여러 실험 환경 변화에 영향을 적게 받는 방법이라고 할 수 있다.

가장 일반적인 동물 실험 모델인 흰쥐의 전기 생리 검사는 하지를 이용한 하지 신경 전도 검사법과 꼬리를 이용한 후미 신경 전도 검사법이 있다. 국내에서 하지 신경을 이용한 실험 보고는 박 기덕 등이<sup>3</sup> 흰쥐의 하지에서 빈크리스틴에 의한 말초신경의 전기생리 변화를 비침습적으로 반복 검사한 것과 박 인선 등이<sup>4</sup> 직접 피부를 절개하여 노출시킨 흰쥐의 말초신경에 phenol을 점적한 후 시행한 복합신경 전도검사 등 몇몇 보고가 있으나, 혹은 사용되는 후미(꼬리) 신경 전도 검사의 경우 쥐 꼬리 온도를 일정하게 유지하기 위해 항온 파라핀 욕조 등 복잡한 실험 장치가 필요하거나 실험 기술 상의 어려움 등으로 국내에서는 별로 사용되지 않았다.

본 실험에서는 가열 전등을 이용, 피부 온도를 일정하게 유지시키는 정도만으로 조절하여 흰쥐 성장에 따른 하지와 꼬리의 신경 전도 검사 결과를 비교하였다.

## 연구 대상 및 방법

### (1) 연구 대상

건강한 생후 7-10주(몸무게 200-250g)의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐 7마리를 대상으로 하였으며 2주 간격으로 총 12주 동안 양 하지와 꼬리에서 운동 및 감각 신경 전도 검사를 시행하였다. 실험기간 동안 동물은 폴리카보네이트 사육기에 사육하였으며 사료와 식수는 무제한 공급하였다.

### (2) 전기 생리 검사

케타민(ketamine hydrochloride) 75-100mg/kg를 복강내 주입하여 마취된 흰쥐를 하지를 최대한 신전시켜 복외위로 고정 한 다음 양측 하지와 꼬리에서 신경 전도 검사를 시행하였다. 가열 전등을 이용하여 피부 온도를 31-33°C로 일정하게 유지시켰고, 자극과 기록은 침 전극(subdermal EP needle electrode, Nicolet)을, 검사 기계는 Nicolet Viking IIe

를 이용하였다.

### 가. 하지 신경 전도 검사

박 기덕 등이 사용한 기존의 방법을 그대로 사용하여 운동 및 감각 신경 전도 검사를 시행하였다. 복합 근 활동 전위(compound muscle action potential: CMAP) 측정을 위해서 기록 전극은 첫번째와 두 번째 발가락 사이의 발바닥 근육에 삽입하였다. 자극용 음전극은 발목 부위의 경골 신경 및 좌골 패임(sciatic notch)의 좌골 신경 부위에 각각 삽입하였고 양전극은 음전극의 근위 1cm 부위에, 접지 전극은 자극 전극과 기록 전극의 가운데에 각각 삽입하였다. 자극은 좌골 신경과 경골 신경에서 0.1ms rectangular pulse를 최대위 강도(supramaximal stimulation)로 자극하였다.

운동 신경 전달 속도는 두 기록 전극 사이의 거리를 발목과 좌골 패임에서 자극한 복합 근 활동 전위의 기시부 잠복기(onset latency) 차이로 나누어 계산하였고, 전위폭은 발목에서 자극하여 얻은 복합 근 활동 전위의 정점간 진폭(peak-to-peak amplitude)으로 하였다(Fig. 1).

감각 신경 전도 검사의 기록 전극은 발목 부위의 경골 신경에 최대한 가까이 삽입하였고 두번째 발가락 신경을 1Hz의 최대위 강도로 자극하여 감각 신경 활동 전위(sensory nerve action potential: SNAP)를 검출하였다. 기록은 20회 반복 자극하여 평균하였고 전달 속도는 자극 전극과 활동 전극 사이의 거리를 음정점까지의 잠복기로 나누어 계산하였으며 진폭은 양 정점간 진폭으로 측정하였다(Fig. 2).

### 나. 꼬리 신경 전도 검사

꼬리 신경 전도 검사는 Schmelzer 및 Low가 시행한 방법을<sup>5</sup> 따랐는데 일반적인 자극과 기록 방법은 하지 신경 전도 검사에서와 동일하다. 꼬리 기저부에서 1cm 떨어진 부위를 기준으로 각각 3cm, 6cm 떨어진 부위를 표시하여 꼬리 양 옆에 양전극과 음전극을 각1쌍씩 총 3쌍을 삽입하였다(Fig. 3). 기준점과 3cm 원위부를 각각 자극하여 6cm 원위부에서 검출되는 복합 근 활동 전위 파형을 얻었으며, 6cm 원위부를 자극했을 때 기준점에서 기록되는 감각 신경 활동 전위파형을 얻어 운동 및 감각 신경 전도 검사를 시행하였다(Fig. 4).

## 결 과

실험 기간 중 실내 온도는 27-30°C였고 가열 전등을 이용, 쥐의 발바닥과 꼬리의 온도를 31-33°C로 유지하였다. 쥐의 성장에 따라 쥐들의 몸무게는 214 ± 28g에서 399 ± 11g으로 증가하였으며 이에 비례하여 운동 및 감각 신경 전달 속도가 점차로 증가 하였다. 이러한 증가는 약 8주까지 지속되다가 그 이후로는 평탄하거나 약간 감소하는 경향을 보였다. 이러한 양상은 정도 차이는 있으나 하지와 꼬리에서 모두 나타났다. 활동 전위의 진폭도 전달 속도 증가 추이의 결과치

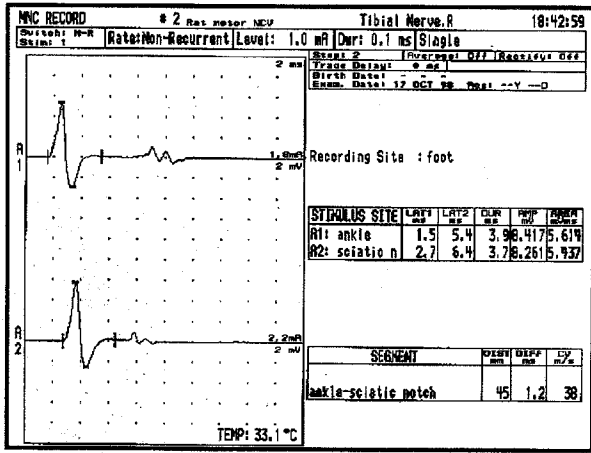


Fig. 1. The waveforms of compound muscle action potential of hindlimb. The distance between the tibial and sciatic cathodes is divided by the difference of latencies to calculate motor conduction velocity. Peak-to-peak amplitudes are measured.

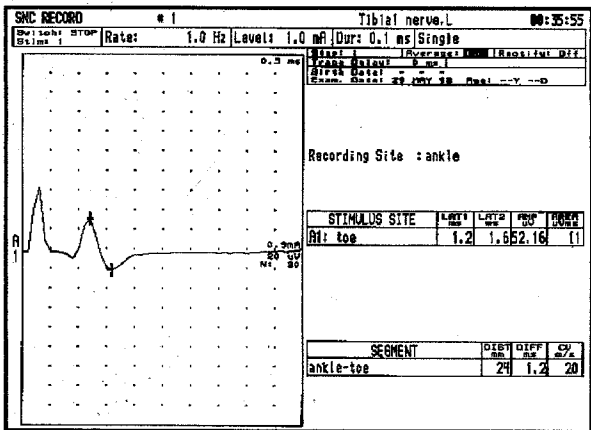


Fig. 2. The waveform of sensory nerve action potential of hindlimb. Peak latency is measured to calculate sensory nerve conduction velocity. The amplitude of SNAP was measured peak to peak.

보다는 편차가 컸으나 전반적으로 증가하는 추세를 보였다. 개체간의 편차를 비교하였을 때 신경 전달 속도는 하지와 꼬리에서 큰 차이가 없었지만, 활동 전위 진폭의 경우는 하지보다 꼬리에서 개체간 편차가 적은 것으로 나타났다(Fig. 5,6).

고 찰

1966년 Fullerton과 Barnes가<sup>6</sup> acrylamide로 말초 신경증이 유발된 실험 쥐에서 신경 전도 검사를 처음 시행한 이후 쥐의 하지를 이용한 생체 신경 전도 검사는 당뇨병 말초 신경병증<sup>7,8</sup>이나 taxol, cisplatin, vincristine 등 약제의 말초 신경 독성 연구<sup>9</sup>에 많이 사용되어 왔다. 쥐의 하지 신경 전도 검

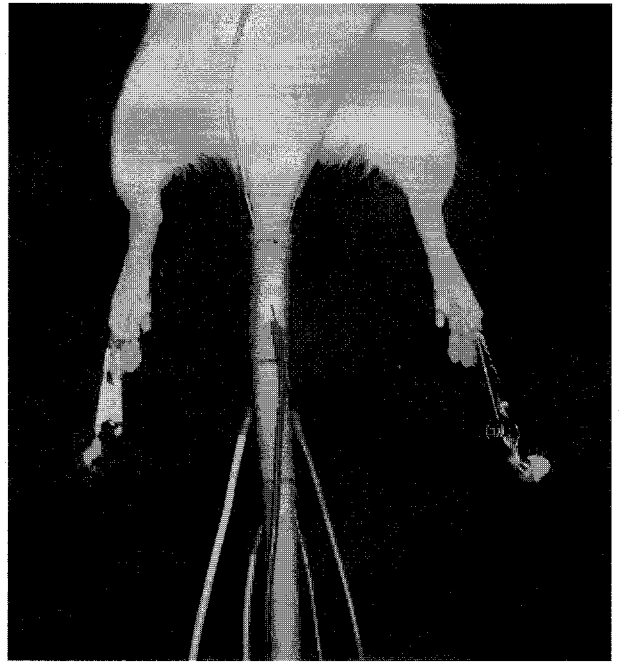


Fig. 3. The electrode placements for tail motor and sensory nerve conduction studies. Three pairs of stimulating / recording electrodes were inserted at 3 cm distance from the 1 cm distal to the tail hairline. For motor nerve conduction study, proximal two pair electrodes were stimulated, recording was done in distal pair electrode. Sensory conduction study was made by stimulating through a distal pair electrodes and recording from a more proximal pair.

사는 대개 좌골 신경과 경골 신경을 자극, 장딴지근이나 발바닥 근육에서 얻어지는 복합 활동 전위를 이용하게 되는데, Wayne 등은<sup>10</sup> 1967년 10마리의 성숙한 Wistar 쥐에서 2일 간격으로 2주간 하지 신경 전도 검사를 시행한 결과를 보고 하면서 가장 큰 실험 오차로 검사 구획의 길이 측정을 들었다. Ellis (1980)도<sup>11</sup> 성장기의 쥐의 하지 신경을 이용하여 감각 신경 전도 검사를 시행, 운동 신경과 마찬가지로 쥐의 성장에 따라 감각 신경 전달 속도도 비례하여 증가함을 보고하면서, 개체간이나 각 개체에서의 반복 실험 시 오차를 줄이기 위해 검사 구획 길이 측정의 정밀성을 강조하였다.

이후 길이 측정이 쉬운 쥐의 꼬리를 이용한 신경 전도 검사가 Miyoshi (1973)에<sup>12</sup> 의해 고안되어 현재까지 이 방법이 사용되고 있는데 이 실험 방법의 단점은 쥐의 꼬리 온도가 외부 온도 변화에 민감하게 변할 것이라는 우려 때문에 꼬리의 온도를 일정하게 유지하기 위한 항온 파라핀 욕조와 같은 복잡한 장치가 필요하다는 것이다.

저자들의 실험 목적은 하지 신경 전도 검사와 같은 조건, 즉 항온 파라핀 욕조 등을 사용하지 않고 가열 전등만을 사용하여 체온을 유지시켰을 때 꼬리 신경 전도 검사 결과를 하지 신경의 그것과 비교하여 어떻게 다른가를 쥐의 성장에 따라 순차적으로 알아 보고자 한 것으로, 실험 결과는 Miyoshi

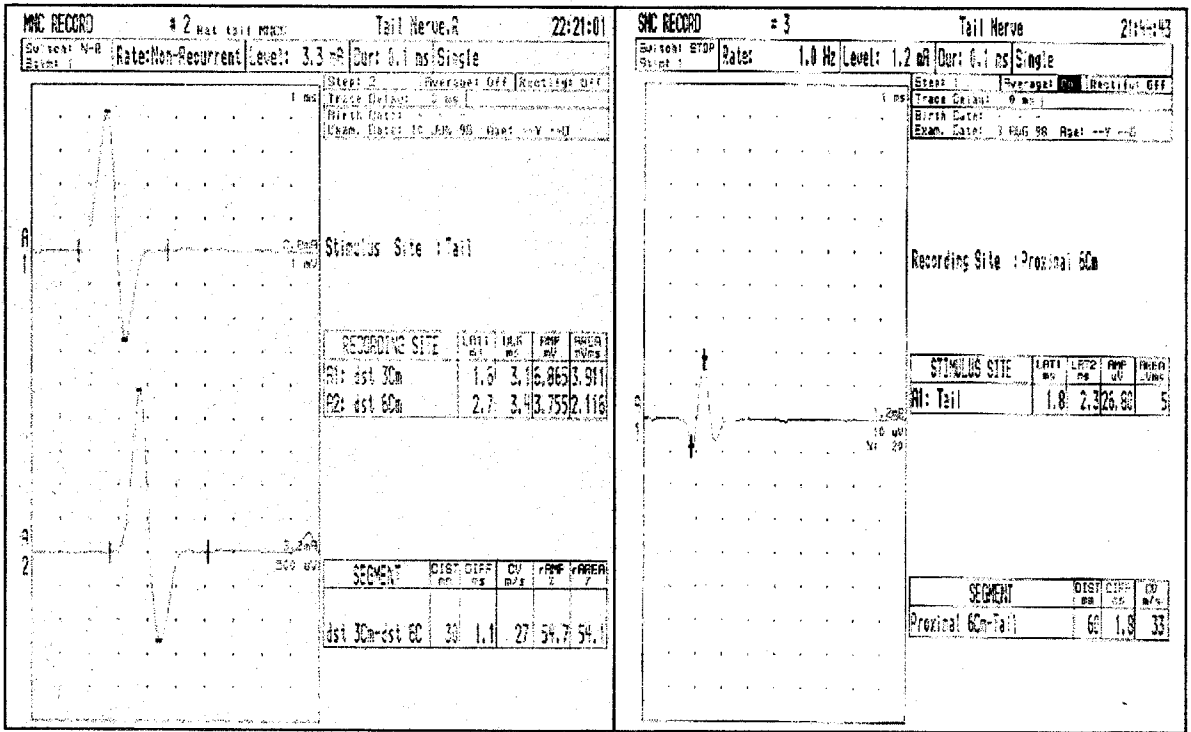


Fig. 4. The CMAP and SNAP from rat caudal nerve stimulation. Motor and sensory velocities were calculated by the same methods as hindlimb. Peak-to-peak amplitudes were measured.

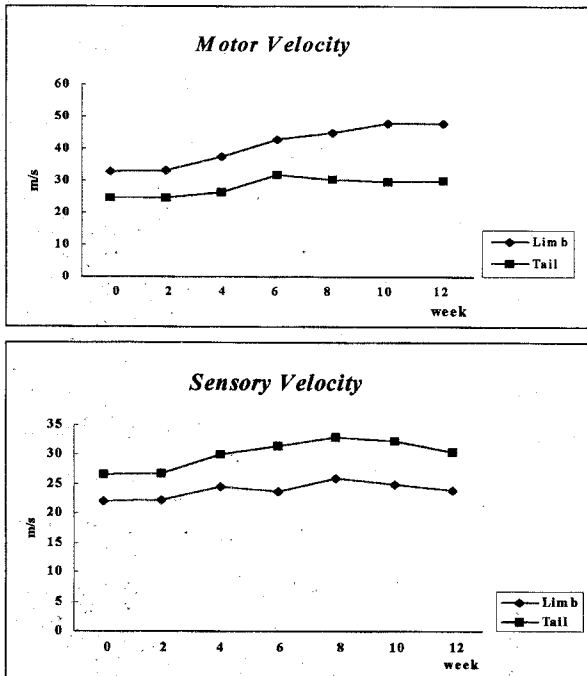


Fig. 5. Serial determination of nerve conduction velocities of the hindlimb and tail during growth.

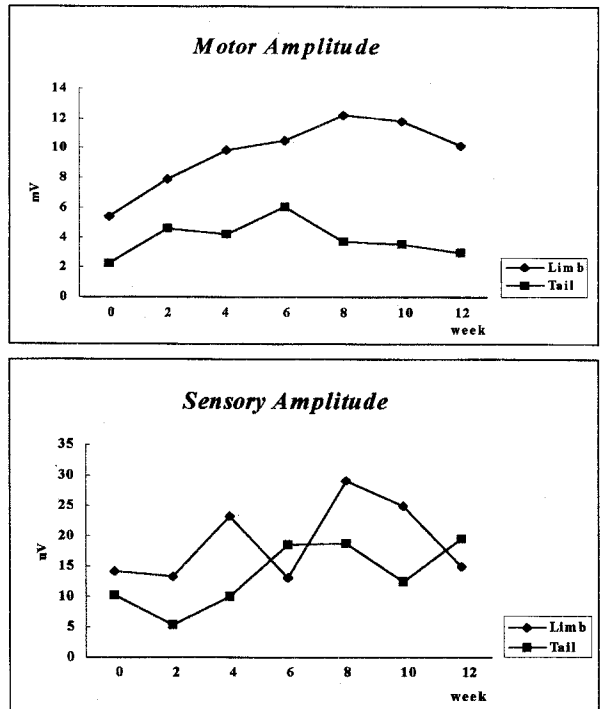


Fig. 6. Serial measurement of the compound muscle action potentials and sensory nerve action potentials of hindlimb and tail.

등이 보고한 결과와 크게 다르지 않았다.

쥐의 꼬리는 표재 측부 정맥과 심부 정맥 사이의 관류 (shunt)가 매우 적기 때문에 심부 온도와 외부 온도에 따라 꼬리 표면 온도의 변화가 하지보다 심한 것은 사실이며<sup>13</sup> 쥐 꼬리가 열을 발산하여 체온을 조절하는 역할을 하는 부위로

서 다른 부위에 비하여 체온이 약간 낮기는 하나 어느 정도의 온도 범위내에서는 체온의 항상성이 유지되므로 일관된 검사 방법을 사용한다면 그 검사치의 유용성이 있으리라고 생각된다

다. 또한 실제로 많은 수의 검사를 시행하여야 하는 경우 항온 피라핀 욕조 같은 불편한 장치를 계속 사용한다는 것은 검사의 능률을 떨어뜨려서 결과적으로 검사의 정확도에도 영향을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 동물 실험에서 실험 오차의 주원인이 되는 검사 구획 길이 측정, 온도, 마취 심도 등에서 하지 신경 전도 검사에 비해 쥐의 꼬리 신경 전도 검사가 온도 조절에 대한 영향이 과거의 염려와 달리 그리 크지 않다면, 길이 측정이 정확하게 이루어 질 수 있는 꼬리 신경 전도 검사가 실험 오차를 줄일 수 있는 좋은 실험 방법이 될 수 있을 것으로 보인다. 실제 실험에 있어 하지 신경 전도 검사는 구획 측정 시 다리를 최대한으로 신전 시키기는 하나 마취의 심도에 따라 신전의 정도가 달라지고, 검사 구획이 짧기 때문에 수 mm의 차이에도 신경 전달 속도가 크게 달라지는 것을 볼 수 있었다.

또 이번 실험에서 주목할 만한 것은 복합 근, 신경 활동 전위 진폭으로 하지보다는 꼬리에서 개체간 또는 실험간 편차가 적었다는 점이다. 활동 전위 진폭은 병변이 축삭성 인지 탈수초성 인지를 전기 생리학적으로 가능하게 하는 중요한 단서가 되지만 실험 동물에서는 자극과 기록 전극 모두를 침전극으로 사용하는 관계로 각 전극의 미세한 위치 변화에도 전위 폭의 변화 편차가 크게 나타나 그 실험적 가치가 적었다. 1998년 Kenneth 등이<sup>15</sup> 본 저자들과 동일한 반복적인 쥐의 하지 운동 신경 전도 검사를 하면서 정확한 실험 기법만 이루어지면 일정한 진폭의 복합 근 활동 전위를 얻을 수 있음을 주장 하였지만 저자들의 견해로는 일관된 복합 근 활동 전위 파형을 얻기 위해서는 상당한 노력과 검사 시간이 필요하다고 생각된다. 본 실험에서도 복합 근 활동 전위 진폭 뿐 아니라 복합 신경 활동 전위 진폭 역시 성장에 따라 증가하는 경향을 확인할 수 있었는데 하지보다는 꼬리에서 개체 간 및 검사간의 차이가 현저히 적고 일관된 결과를 보여 주었다. 이러한 결과를 해부학적 구조와 연관시켜보면, 꼬리는 사지 근육과 달리 등쪽과 배쪽으로 각 1쌍 씩의 근육이 수 mm 단위로 분절되어 있고<sup>16</sup> 각각을 등쪽과 배쪽 신경이 지배하고 있어 검사 시 마다 일정한 근육을 자극하는 것이 가능했기 때문으로 생각된다.

또 쥐의 해부학적 구조상 배쪽 근육의 근섬유가 등쪽 근육보다 많고, 신경의 경우 배쪽 신경에 수초화 섬유가 많으며(약 4.5배) 감각 신경은 배쪽 신경에 더 많이 분포되어(4배) 있으므로<sup>17</sup> 배쪽과 등쪽 신경을 동시에 자극할 수 있는 검사 방법이 바람직하리라 본다. 이번 실험에서는 침 전극을 꼬리의 양 옆에 삽입하여 등쪽과 배쪽 신경을 모두 자극하려고 하였으나 앞으로 꼬리 전극(ring electrode) 등으로 더 정확한 자극을 할 수 있는 방법이 있다면 보다 일관된 검사 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다. 이상과 같이 꼬리 검사는 여러 가지 술기의 개발을 통하여 하지 전도 검사보다 보다 간편하고 정확하게, 실험적으로 유발된 말초 신경병증의 전기 생리학적 특성을 평가할 수 있는 방법으로 사용될 수 있을 것이다.

## 결 론

실험 동물 모델을 이용한 신경 전도 검사는 대개 흰쥐에서 시행되어 왔는데 사람에서와 마찬가지로 전기 생리학적 검사의 기술적 오류를 범하지 않기 위해서는 검사 구획 길이 측정, 온도 변화 및 마취 심도와 같은 오차 요인을 줄이는 것이 중요하다. 따라서 다른 조건이 일정하게 유지된다면 보다 정확한 길이 측정이 가능하고 길고 곧은 쥐 꼬리 신경이 하지 신경보다 이상적인 재료가 될 수 있을 것이다. 저자들은 가열 전등만을 이용, 피부 온도를 일정하게 유지시켰을 때에도 꼬리 신경 전도 검사 결과가 하지 신경 전도 검사 결과와 유사한 양상을 보이고 동일 개체의 검사간 편차가 적은 것으로 미루어 꼬리를 이용한 신경 전도 검사가 보다 간단하고 실험 오차를 줄일 수 있는 검사 방법으로 사용될 수 있을 것으로 생각한다.

## REFERENCES

1. Birren JE, Wall PD. Age change in conduction velocity, refractory period, number of fibers, connective tissue space and blood vessels in sciatic nerve of rats. *J Comp Neurol* 1956; 104: 1-16
2. Gill JS, Windebank AJ. Cisplatin-induced apoptosis in rat dorsal root ganglion neurons is associated with attempted entry into the cell cycle. *J Clin Invest* 1998; 101: 2842-2850
3. 박기덕, 선우일남, 구혜수. 빈크리스틴에 의한 흰쥐 말초 신경의 전기생리와 형태변화. *대한신경과학회지* 1997; 15: 586-605
4. 박인선, 이강목. 백서의 말초신경에 phenol, alcohol 및 procaine 용액 점적후의 신경전도 변화에 대한 연구. *대한재활의학회지* 1987; 11: 212-221
5. Schmelzen JD, Low PA. Electrophysiological studies on the effect of age on the caudal nerve of the rat. *Exp Neurol* 1987; 96: 612-620
6. Fullerton PM, Barnes JM. Peripheral neuropathy in rats produced by acrylamide. *Brit J Industr Med* 1966; 23: 210-221
7. Parry GJ, Kozu H. Piroxicam may reduce the rate of progression of experimental diabetic neuropathy. *Neurology* 1990; 40: 1446-1449
8. Weis J, Dimpel W, Schroder JM. Nerve conduction changes and fine structural alterations of extra- and intrafusal muscle and nerve fibers in streptozotocin diabetic rats. *Muscle Nerve* 1995; 18: 175-184

9. Cliffer KD, Siuciak JA, Carson SR, Radley HE, Park JS, Lewis DR et al. Physiological characterization of taxol-induced large fiber sensory neuropathy in the rat. *Ann Neurol* 1998; 43: 46-55
10. Rameran WG, Honet JC, Jepsen RH. Serial determination of nerve conduction velocity in the rat. *Arch Phy Med Rehabil* 1968; 49: 205-209
11. Stanley EF. Sensory and motor nerve conduction velocities and the latency of the H reflex during growth of the rat. *Exp Neurol* 1981; 71: 497-506
12. Miyoshi T, Goto I. Serial in vivo determination of nerve conduction velocity in rat tails - physiological and pathological change. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1973; 35: 125-131
13. Wu Y, Jij LM, Lemons DE, Weinbaum S. A nonuniform three-dimensional perfusion model of rat tail heat transfer. *Phys Med Biol* 1995; 40: 789-806
14. Dawson NJ, Keber AW. Physiology of heat loss from an extremity - the tail of the rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1979; 6: 69-80
15. Cliffer KD, Tonra JR, Carson SR, Radley HE, Cavnor C, Lindsay RM et al. Consistent repeated M- and H- wave recording in the hindlimb of rats. *Muscle Nerve* 1998; 21: 1405-1413
16. Thompson J: Parallel spindle systems in the small muscles of the caudal artery of the rat. *J Physiol* 1970; 211: 781-799
17. Sittiracha T, McLachlan EM, Bell C: The innervation of the caudal artery of the rat. *Neuroscience* 1987; 21: 647-659