

## 운동이 흰쥐 하지 뼈대근육의 물리적 손상후 근육 재생을 증진시키는 효과

서덕준, 이대희, 손현희, 김지영<sup>1</sup>, 유기수<sup>1</sup>

동아대학교 의과대학 생리학교실, <sup>1</sup>해부학교실

**간추림** : 뼈대근육은 손상의 요인에 따라 근섬유의 변성, 위축 및 재생시 조직화학적 변화가 다양하다. 뼈대근육에 물리적 손상을 주면 근섬유들은 변성과 동시에 재생이 일어난다. 근육의 재생과정에서 중요한 역할을 하는 것이 근육의 세포배대를 이루는 중간미세섬유이다. 이 중 desmin은 미성숙 근육섬유에서 더욱 강하게 발현되며 vimentin은 근육섬유의 재생과정이나 미성숙상태라는 것을 의미하므로 많은 연구에서 다루어져 왔다. 그러나 물리적 근손상후 재생과정일 때 운동이 미치는 영향을 desmin과 vimentin의 발현 여부로 추적한 연구는 흔치 않다.

따라서 이 연구에서는 생후 1개월 된 흰쥐 장딴지근에 30gauge needle로 200번을 찌르는 물리적 손상을 준 다음 운동을 시키지 않은 대조군과 트레이드밀을 이용해 일정한 기간(5, 10, 15, 20일)동안 운동을 시킨 실험군을 9, 16, 23, 30일째에 근육 조직을 절취하여 면역조직화학적 방법으로 중간미세섬유단백을 관찰하였다.

운동을 시킨 실험군이 대조군보다 근육재생이 빠르게 진행되었다. Desmin은 근섬유의 변성과 재생과정 모두에서 발현되었으며 vimentin은 재생과정에서만 발현되었다. 근손상후 근육조직을 절취한 9일의 대조군은 심하게 괴사된 근섬유를 보였고, 실험군에서는 재생이 진행되고 있는 근섬유가 관찰되었다. 16일의 대조군에서 근섬유가 재생됨이 관찰되었고, 실험군은 재생이 더욱 빨리 진행되고 있었다. 23일의 대조군에서 desmin과 vimentin 양성반응 근섬유가 많이 관찰되나 실험군의 근섬유에서는 거의 관찰되지 않았다. 30일의 대조군은 형태적으로는 정상에 가까운 모습이나 vimentin이 발현되어 근육이 재생과정에 있는 것을 보여 주는 반면, 실험군 대부분은 vimentin 발현이 나타나지 않는 정상 근섬유로 회복되었다. 정상군에서 desmin은 매우 약한 양성반응이 나타났고, vimentin에 대한 양성 면역반응은 근섬유에서 나타나지 않았다. 근섬유의 형태학적인 변화는 30일에서 실험군의 변화는 정상에 가까운 형태를 띠었으나, 대조군은 정상치에 달하지 못하였다. 근내막의 형태학적인 변화 역시 실험군이 대조군보다 비대현상도 작았으며 30일에 정상치에 달하였다.

이상의 결과로 근 손상 후 운동을 실시한 실험군과 대조군은 근육재생속도의 차이점을 보여 운동이 근육재생에 효과적임을 알 수 있었다. 따라서 이 연구결과는 근육의 손상 및 재생을 연구하는 분야나 다양한 뼈대근육 손상에 대한 임상적인 적용에 도움을 줄 것으로 생각된다.

**찾아보기 낱말** : 뼈대근육, 재생, 운동, 중간미세섬유단백, desmin, vimentin

### 서론

뼈대근육은 손상의 요인에 따라 섬유의 변성, 위축 및 재생 시 조직화학적변화가 다양한 것으로 알

려져 있다(Kakulas와 Adams 1985, Grounds 1991). 뼈대근육에 물리적 손상을 주면 근섬유들은 변성과 동시에 재생이 일어난다(Carlson 1973a, b).

성숙한 뼈대근육이 파열 또는 좌상 등의 급성 물리적 손상을 받은 후 회복되는 기전은 손상된 근섬유의 재생과 결체반흔조직의 형성이 동시에 일어난다고 하였다(Miller 1934, Field 1960, Betz 등 1966,

\*본 연구는 청춘장학재단 지원으로 수행되었음.  
교신저자: 서덕준(동아대학교 의과대학 생리학교실)  
전자우편: djsuh@dau.ac.kr

Gallucci 등 1966). 뼈대근육 재생의 능력이 있는 세포의 근원은 아직 부분적으로는 논란의 여지가 있으며, 재생과정 중인 세포 내외의 여러 가지 환경이 뼈대근육 재생의 기전에도 영향을 줄 수 있다.

근육의 재생과정은 근육발생 (myogenesis) 과정을 반복한다. 근육이 손상되면 근형질막 (sarcolemma)과 기저막 (basal lamina) 사이에 위치한 근위성세포 (myosatellite cell)가 근모세포 (myoblast)로 분화된다. 근모세포들은 융합되어 근관 (myotube)을 형성하고 이어 성숙한 근섬유로 재생된다. 이 재생과정에서 중요한 역할을 하는 것이 근육의 세포골격 (cytoskeleton)을 이루는 중간미세섬유 (intermediate filament)라고 알려져 있다. 근세포가 만들어지기 전에 이미 중간미세섬유가 존재해야 근 발생 과정이 진행될 수 있기 때문이다 (McGeachie과 Grounds 1999).

중간미세섬유는 신체의 세포 전체적으로는 총 단백질 양의 약 1%를 차지하지만 각질형성세포나 신경세포에서는 세포내 단백질의 85%까지를 차지한다 (Fuchs와 Cleveland 1978). 중간미세섬유는 10 nm 지름의 섬유로서 유전자의 DNA 염기서열과 아미노산 구성에 따라 6개의 종류로 분류된다 (Stewart 1993, Fuchs와 Weber 1994). 제I형부터 제IV형 그리고 제VI형은 세포질내 중간미세섬유이고 제V형은 nuclear lamin으로 핵의 중간미세섬유이다. 사람에서는 50가지 이상의 중간미세섬유 유전자가 존재하며 신체 대부분의 세포에 중간미세섬유가 존재하지만 세포마다 다른 양상으로 발현된다 (Fuchs와 Cleveland 1978). 세포질내 중간미세섬유는 핵 주위에서부터 세포막 쪽으로 방사상으로 배열된 망상구조를 이루는데, 세포의 종류에 따라서 서로 다른 종류와 형태의 망상구조를 갖는다 (Goldman 등 1986).

뼈대근육의 중간미세섬유에는 여러 종류가 있다 (Waterman-Storer 1991). 그중 desmin은 Z선 (line)과 근형질막 밑에 위치하며 근절 (sarcomere)끼리 부착시켜 Z선에 정렬시켜 주며 핵중간미세섬유 (nuclear intermediate filament)인 lamin B와 결합하여 근핵 (myonuclei)과 근형질막사이의 입체적 공간구조를 유지하는데 관여한다 (Lazarides 등 1982). 그러나 최근 연구보고들에 의하면 desmin은 성숙한 정상 근섬유에서 보다는 미성숙 근섬유에서 더욱 강

하게 발현된다고 하며 근발생 조절 유전자인 MyoD나 myogenin을 조절할 것이라는 주장도 있다 (Li 등 1994, Maley 등 1994).

Vimentin은 성숙한 정상 근섬유에서는 면역조직학적 방법으로는 관찰되지 않으나 근 발생시에는 매우 강하게 반응한다. 그러므로 출생 후 근섬유에서 vimentin이 관찰된다는 것은 항상 근섬유가 재생 과정이나 미성숙상태라는 것을 의미한다 (Gallanti 등 1992, Ono 등 1993).

물리적 근육 손상에 의한 재생과정을 desmin과 vimentin의 발현 여부로 추적한 연구는 흔치 않으며 연구결과 또한 매우 다양하다. 탈신경된 근육과 정상 근육사이에서 desmin과 vimentin의 반응성에 차이가 없었다는 보고가 있는가 하면 신경손상으로 위축된 근섬유는 정상 근섬유보다 desmin의 반응성이 더 높다고 보고한 경우도 있다 (Gard와 Lazarides 1980, Goebel 1995, Capetanaki와 Milner 1998). 이와 같이 주로 근육 신경병증에 대한 연구들이 대부분이며 물리적 근육 손상에 적용시킨 실험들은 드문 편이다.

뼈대근육의 운동은 근섬유의 성장이나 전환을 유도한다 (Satin과 Gollnick 1983). 운동에 의해 성장과 재생이 유도되는 동안 뼈대근육 섬유에서는 근섬유의 전구 세포인 위성세포 (myosatellite cell)가 활성화 된다. 즉, 위성세포는 운동을 하는 동안 증식과 분화가 이루어져 근모세포 및 근관을 형성하고, 내재하고 있는 근섬유 속으로 융해 (fuse)됨으로서 근섬유의 성장 및 재생을 촉진하게 되는 것이다 (Kadi 등 1998).

이에 이 연구에서는 흰쥐 장딴지근에 물리적 손상을 준 다음 트레드밀 운동을 통해 중간미세섬유 단백질의 발현변화를 밝히고 이에 따라 뼈대근육 재생을 증진 시키는 효과를 갖는지 알아보기 위해 이 연구를 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 재료

실험동물은 항온 항습이 유지되고 12시간마다 밤

낮이 교체되며 사료와 물을 자유로이 섭취할 수 있는 동일한 조건하에서 사육한 생후 1개월(150~180 g)된 스프래그-드워ley (Sprague-Dawley) 13마리로서 실험군(8마리)과 대조군(4마리) 그리고 정상군(1마리)으로 사용하였다. 실험재료는 흰쥐의 오른쪽 장딴지근(gastrocnemius muscle)을 이용하였고, 각 근육은 이 는곳(origin)과 닿는곳(insertion)의 중간부위를 선택 하였다.

## 2. 운동 방법과 실험군

### 1) 운동 방법

실험에 사용할 흰쥐들을 이중 트레드밀(dual treadmill, model DJ2-2429, 대종기기, 한국)을 이용하여 미리 1주일 동안 하루에 45분씩 17~20 m/분 속도로 적응 훈련을 시켰다. 실험군 흰쥐에게 하루 60분 씩 주 5회 4주간 운동시켰으며, 트레드밀의 경사도는 10%, 속도는 24 m/분이었다.

### 2) 실험군

실험군은 일정한 기간(5, 10, 15, 20일) 동안 각 2 마리씩 운동시켰다. 각 실험군 마다 운동을 시키지 않은 흰쥐 1마리씩을 대조군으로 사용하였다.

## 3. 수술 및 관찰시기

3.5% chloral hydrate (1 mL/100 g)로 복강내주사(introspectional injection)하여 동물을 마취시킨 뒤 오른쪽 장딴지근 중앙 부위에 직경 5 mm되는 원을 그린 후 30 gauge needle로 200번 찔러 물리적 손상을 주었다. 손상후 9, 16, 23, 30일째 각 근육의 조직을 절취하였다.

## 4. 조직절편제작

3.5% chloral hydrate (1 mL/100 g)를 복강 내 주사하여 흰쥐를 마취시킨 상태에서 근육들을 절취한 후 즉시 gum tragacanth를 이용하여 콜크로 된 받침대에 접착시켰다. 근육조직들을 액체질소(liquid nitrogen)로 미리 -160°C로 냉각한 isopentane에 넣어 약 10초간 동결 고정하였다. 동결 고정된 근육조

조직편을 동결절편기(cryocut, Reichert-Jung, Germany)를 사용하여 약 6µm 두께로 조직절편을 만들고, 이들 절편을 poly-L-lysine coated slide에 부착시켰다. 조직절편을 40°C의 조직 신전기(slide warmer)에서 40분 정도 충분히 건조시킨 다음 아세톤(4°C)으로 15분간 고정하였고, 이를 다시 조직 신전기에서 2시간 이상 건조시켰다.

## 5. 면역조직화학적 염색

조직절편을 0.02 M 인산염 완충액(phosphate buffered saline; PBS, pH. 7.4)에서 약 10분 동안 2회 세척한 후 조직 내 과산화효소의 활성을 차단하기 위해 0.3% 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)가 포함된 메틸알코올을 첨가시킨 용액에서 20분간 처리하고, PBS로 10분간 3회 세척한 다음 5% 정상 말 혈청(normal horse serum)에 30분간 유지하였다. 그 후 조직절편들을 세척하지 않고 가볍게 털어 낸 다음 일차항체인 mouse anti-rat desmin antibody (희석비율 1:200, Serotec, UK) 및 mouse anti-rat vimentin antibody (희석비율 1:200, Serotec, UK)를 4°C에서 14~16시간 동안 각각 적용시켰다.

일차항체를 적용시킨 뒤 PBS로 10분씩 3회 세척하였고, 이어서 이차항체인 biotinylated horse anti-mouse IgG (Vector Lab, California, USA)를 실온에서 1시간 동안 적용시켰다. 그 후 조직절편들을 PBS로 10분씩 3회 수세한 다음 30분전에 미리 만들어 실온에 방치해 놓은 ABC (avidin-biotin horseradish peroxidase complex)용액 (Vector Lab, California, USA)을 실온에서 1시간 동안 적용시켰다. 이어서 이들 조직절편을 PBS로 10분씩 3회 세척한 후, 0.05 M Tris-HCl buffer (Tris buffer, pH 7.6)에 0.05% 3, 3'-diaminobenzine tetrahydrochloride; DAB, Sigma Co, USA)와 0.01% 과산화수소가 혼합된 용액으로 처리하여 약 10분간 실온에서 발색시켰다. 조직절편의 정색상태를 현미경하에서 확인한 후 Tris buffer, PBS 및 증류수로 각각 10분간씩 차례로 세척한 다음, Harris' hematoxylin으로 대조염색을 하고, 통상적인 과정을 거쳐 Permount (Polysciences, Warrington, PA, USA)로 봉입하였다.

대조실험에서는 상기 면역염색과정 중 일차항체 적용과정을 생략하거나 ABC 용액 적용과정을 생략하였고, 이 과정을 거친 표본에서는 어떤 면역반응성도 나타나지 않아 면역염색의 특이성을 확인하였다.

## 5. 검 경

근육조직의 검경은 광학현미경 (Axiophot, Zeiss, Germany)으로 시행하였고, 사진은 디지털 카메라 (Axicam, Zeiss, Germany)로 촬영하였다. 근섬유가 경사지게 절단된 조직표본은 제외시켰다.

## 결 과

흰쥐 장딴지근에 물리적 손상을 준 후 트레드밀 운동을 한 다음 일정한 기간(9, 16, 23, 30일)이 경과한 후 장딴지근을 절취하였다. 근육조직으로 냉동조직절편을 제작하여 면역조직화학적 방법으로 변성을 확인하였다. 조직표본에서 나타난 염색 반응성을 토대로 뼈대근육섬유의 변성 및 재생 과정을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

### 1. 형태학적 변화

#### 1) 근섬유

정상적인 장딴지근은 근섬유의 모서리가 각을 이루고 있었으나(Figs. 1, 2) 근육 손상 후 변성된 근섬유는 점차 둥근모양이나 장방형이었다. 물리적 손상 후 실험군의 근섬유에서는 9일군부터 모서리가 둥근모양이나 장방형이 적었으나(Figs. 3B, 4B) 대조군의 근섬유에서는 16일군부터 각진 모양을 띠기 시작했다(Figs. 5A, 6A). 손상후 30일군의 실험군 근섬유는 정상에 매우 가까운 형태를 취하고 있으나(Figs. 9B, 10B) 대조군은 근섬유에서는 각진 모양을 띠는 근섬유가 보이는 하나 정상치에 달하지는 못하였다(Figs. 9A, 10A).

#### 2) 근내막

근섬유사이의 공간, 즉 근내막(endomysium)의 두께에도 차이가 있었는데 정상적인 근섬유에서는 공

간이 좁았으나(Figs. 1, 2) 변성이 심해지면서 점차 넓어지는 경향을 보였다(Figs. 3~10). 이런 근내막의 비대현상은 일반적으로 대조군이 실험군에 비해 심했다. 실험군에서는 손상후 9일부터(Figs. 3B, 4B) 대조군에서는 16일군부터(Figs. 5A, 6A) 근내막의 두께가 작아지기 시작했다. 손상 30일군에서는 두군에서 매우 좁아져 있었으나 실험군(Figs. 6B, 10B)이 대조군(Figs. 9A, 10A)에 비해 정상치에 가까운 것을 볼 수 있었다.

### 2. 면역조직화학적 변화

#### 1) 정상군

정상적인 장딴지근의 연속조직절편에서 보이는 desmin은 매우 약한 양성 반응을 나타냈다(Fig. 1). Vimentin에 대한 양성 반응은 근섬유에서는 없었으나 혈관이나 결합조직세포들에서는 반응하였다(Fig. 2).

#### 2) 9일군

근육 손상 후 9일군에서 대조군의 근섬유는 심하게 괴사되었고 조직구들이 많이 관찰되었다(Figs. 3A, 4A). 실험군의 근섬유는 대조군의 근섬유에 비해 적은 수의 위축된 근섬유가 관찰되었다(Fig. 3B). 대조군의 위축된 근섬유에서는 진하게 염색된 부위가 관찰되었다(Fig. 3A). 실험군에서는 vimentin에 양성반응을 나타내는 재생중인 근섬유 등이 관찰되기 시작하였다(Figs. 3B, 4B). 대조군에서는 desmin에 양성 반응을 보이는 근섬유들이 대다수 출현하였으며(Fig. 4B), 실험군에서도 관찰되었으나 대조군에 비해 적은 수가 관찰되었다(Fig. 3B). 대조군은 대부분의 근섬유에서 vimentin에 양성 반응을 보이고 있고 큰 섬유 주변부에서도 진하게 염색된 부위가 관찰되었다(Fig. 4A). 실험군의 근섬유 대부분은 vimentin에 양성 반응을 보이지 않았으나 몇몇의 근섬유들은 현저하게 양성 반응을 보였다(Fig. 4B).

#### 3) 16일군

근육 손상후 16일군에서 대조군의 근섬유에서도 재생이 진행되고 있는 근섬유들이 관찰되기 시작하였다(Figs. 5A, 6A). 대조군에서는 9일군보다 desmin

에 양성 반응을 보이는 근섬유들이 줄어들었으나 많은 근섬유에서는 강하게 염색된 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 5A). 실험군에서는 몇몇의 근섬유에서만 강하게 desmin 양성 반응을 보였다 (Fig. 5B). Vimentin에 양성 반응을 보이는 근섬유가 대조군에 비해 (Fig. 6A) 실험군에서는 소수가 관찰되었다 (Fig. 6B). 대조군의 근섬유들은 많은 수가 vimentin에 강하게 염색된 것이 관찰되었다 (Fig. 6A). 실험군에서는 몇몇 근섬유들만이 vimentin에 약하게 염색된 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 6B).

#### 4) 23일군

근육 손상후 23일군에서 대조군은 대부분 근섬유에서 desmin에 양성 반응을 보이고 있으나 (Fig. 7A) 실험군에서는 양성 반응을 보이는 근섬유가 현저히 감소된 것이 관찰되었고 큰 근섬유들에서는 desmin에 약하게 염색되는 정상반응이 있었다. 작은 근섬유들에서는 desmin에 많은 양성반응을 보였다 (Fig. 7B). 대조군에서는 일부 손상된 부위에서 vimentin 양성 반응을 보였으며 크고 작은 근섬유에서 강하게 염색된 것이 관찰되었으며 많은 곳에서 중간핵이 관찰되었다 (Fig. 8A). 실험군의 근섬유에서는 vimentin에 염색되지 않았으며 여러 곳에서 분리된 근섬유가 관찰되었다 (Fig. 8B).

#### 5) 30일군

근육 손상후 30일군의 대조군에서는 형태적으로 정상에 가까운 모습을 보이고 있으나 근내막의 두께가 실험군과는 차이가 있었다 (Figs. 9A, 10A). 실험군은 대부분의 근섬유들이 정상 근섬유로 회복되고 있었다 (Figs. 9B, 10B). 대조군에서는 큰 근섬유들에서 desmin에 강하게 염색된 것이 관찰되었다 (Fig. 9A). 실험군의 근섬유는 대부분 정상형태로 보였고 desmin에 정상 반응을 보였다. 작은 근섬유만이 약하게 염색된 것이 관찰되었다 (Fig. 9B). 대조군에서는 큰 근섬유들만이 vimentin 양성 반응을 보였고 (Fig. 10A), 실험군에서는 많은 수의 근섬유에서 정상형태가 보였고 vimentin에 양성 반응을 보이지 않았고 분리된 작은 근섬유들이 관찰되었다 (Fig. 10B).

## 고 찰

근육은 근육병증 뿐만 아니라 외상이나 스포츠 손상 등 물리적인 요인에 의해서도 쉽게 손상되며 이로 인해 운동장애가 빈번히 유발되기 때문에 운동 생리학이나 재활 의학 또는 물리치료분야에서는 근육의 변성 및 재생에 관한 지속적인 연구가 필요하다 (Rantanen 등 1995, Yoshimura 등 1998, Maier와 Bornemann 1999).

근육은 직접적인 외상, 혈관 결찰, 화학적 요소나 기생충 감염 등 손상요인에 따라 다소 다를 수 있지만 일반적으로 근섬유 (myofiber)의 근형질이 부풀어 오른 뒤 총괄적인 괴사가 일어나는 변성과정을 거치게 된다 (Grounds 1990). 물리적인 손상을 입은 근섬유들은 일반적으로 손상 2일 후 작은 분절로 나뉘게 되며 이것들은 식작용 (phagocytosis)에 의해 2주간 걸쳐 지속적으로 제거된다 (Hughes 1974). 이 실험에서도 근육의 변성 과정이 손상 후 대조군에서는 16일째까지 실험군에서는 9일까지 진행되는 것이 관찰되었다. 특히, 근육손상 후 9일째에서는 대조군의 근섬유가 심하게 괴사된 상태였고 일부 부위에서는 조직구들을 포함한 것이 많이 관찰되었다. 이런 현상은 근육이 압제되었거나 단순 절단되었을 때도 나타나는데 손상 후 2일째에 백혈구나 단핵구가 증가되기 때문이다 (Kakulas와 Adams 1985).

근육의 재생은 태아에서의 근발생 과정을 반복하지만 이를 위해서는 근섬유를 둘러싸는 기저막이 완전하고 혈관 및 근위성세포가 존재할 때 가능하다. 이런 조건이 갖추어진 상황에서 근육의 재생은 근위성세포가 활동을 개시함으로써 시작된다. 정상 근발생시 desmin은 근관 및 근세사가 형성되기 전에 일찍 발현되는 것으로 보아 근발생 과정에 있어서 매우 중요한 조절인자로 추측되고 있다 (Samat 1990, Lescaudron 등 1993, Maley 등 1995). 그러므로 desmin 양성 면역반응을 보이는 근섬유들이 다수 출현한 것으로 보아 근위성세포가 활동을 시작하고 있다는 것이 입증되었다. 일부 근섬유들에서는 핵응축 현상을 나타냈으며 2개 이상의 핵을 갖고

있는 경우도 있어 한편으로는 계속적인 변성이 일어나고 있음을 알 수 있었다.

재생되는 시기는 근모세포시기 (myoblastic stage) 로 구분된다 (Maley 등 1995). 피사가 일어난 부위를 따라 근형질막에 근접한 부위에서 단핵성의 근모세포 (myoblast) 들이 증식한다. 대부분의 경우는 정상적인 근형질막과 근위성세포가 관찰되기도 하지만 곧 근섬유와는 분리되어 고립되어진다. 또한, 어떤 경우에는 온전한 근핵이 손상된 근섬유에서 관찰되기도 한다. 활동적인 근위성세포는 크고 둥글며 진한 근핵을 갖는다. 이전의 근섬유에서 분리된 후 근형질막과 기저막 사이에 위치하게 된다. 이들 세포들에게서는 가끔 유사분열이 관찰되면 이들은 단핵성 근모세포로 빠르게 증식된다. 재생 초기에 근형질이 호염기성인 것은 근모세포질내에 풍부한 RNA 때문이다 (Maley 등 1995, Bomemann 등 1999). 이 실험에서 근육 손상 후 16일째 대조군에서 근섬유들은 계속적으로 위축되거나 피사되고 있었고 조직구들도 다수 관찰되어 계속적인 변성이 일어나고 있었으나 vimentin에 강한 양성 반응을 보이는 세포들 중 세포가 집단을 이루고 있는 경우도 있어 재생도 동시에 나는 것을 확인할 수 있었다.

단핵 근모세포 (mononuclear myoblast)가 융합하여 근관 (myotube)을 형성하는 동안 손상된 근섬유의 끝에서는 근형질썩 (sarcoplasmic bud)이 마치 위쪽같이 나와 다른 손상 부위와 연결되어 근모세포가 위쪽의 표면을 덮게 된다. 띠모양의 근모세포는 다핵성이며 근형질에 싸여 있게 된다. 근핵 주위에서 근원섬유가 관찰된다. 다른 근섬유와 연결되면 더 이상 유사분열이 일어나지 않는다. 근관 (myotube)이 성숙한 근섬유로 전환되는 동안 근핵은 주변부로 이동하고 근세사 (myofilament)는 두텁고 길어져 근원섬유 (myofibril)가 된다. 근원섬유가 증가되는 기전은 발생단계에서의 근발생 과정과 흡사하다고 믿어진다. 각각의 근섬유는 결합조직이 지지하고 있는데 만약 이 결합조직이 손상이 되었다면 섬유모 세포들이 증식되어 상처를 형성한다.

이 실험에서 vimentin 양성 반응을 보이는 무수히 많은 세포들이 나타난 것으로 미루어 보아 새로운 근원섬유가 왕성히 생산되고 있음을 시사해 준다.

근육 손상 후 16일째 실험군에서는 재생이 진행되고 있는 근섬유들이 많이 관찰되었다. 근섬유들은 크기도 작았고 여러 개의 중심핵을 갖고 있었다. vimentin 양성 반응을 보이는 근섬유들은 소수만 관찰되었다. Vimentin은 근모세포나 어린 근관 등에서 관찰되며 성숙 근섬유에서는 없어진다 (Samat 1990)라고 하였으므로, 이 시기에도 계속적인 재생이 일어나고 있다는 증거라고 할 수 있다. 근육 손상 후 23일째 실험군에서는 근섬유들은 둥글지만 회복상을 보였고 어느 근섬유는 거의 정상으로 회복되어 있었다. Desmin에 양성 반응을 보이는 근섬유들은 거의 없는 반면 vimentin 양성 반응을 보이고 있었는데 이것은 desmin이 vimentin보다 일찍 사라지는 것을 의미한다. 근육 손상 후 30일째에서는 실험군 대부분의 근섬유들이 정상 근섬유로 회복되고 있었다. Desmin에 반응한 근섬유는 거의 없었고 이런 근섬유는 횡단면에서 각을 갖고 있어 정상 근섬유임을 입증해 주고 있었다. 그러나 일부 대조군의 근섬유들은 vimentin 양성 반응을 보이고 있었으며 이런 경우의 근섬유는 직경이 작아 회복 단계인 것을 시사해 주었다.

그러므로 두 가지의 중간미세섬유단백의 발현으로 흰쥐 물리적 손상후 운동을 한 실험군과 하지 않은 대조군을 비교한 이 연구의 결과는 근골격계의 질환에서 근육의 변성과 재생을 진단하는데 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

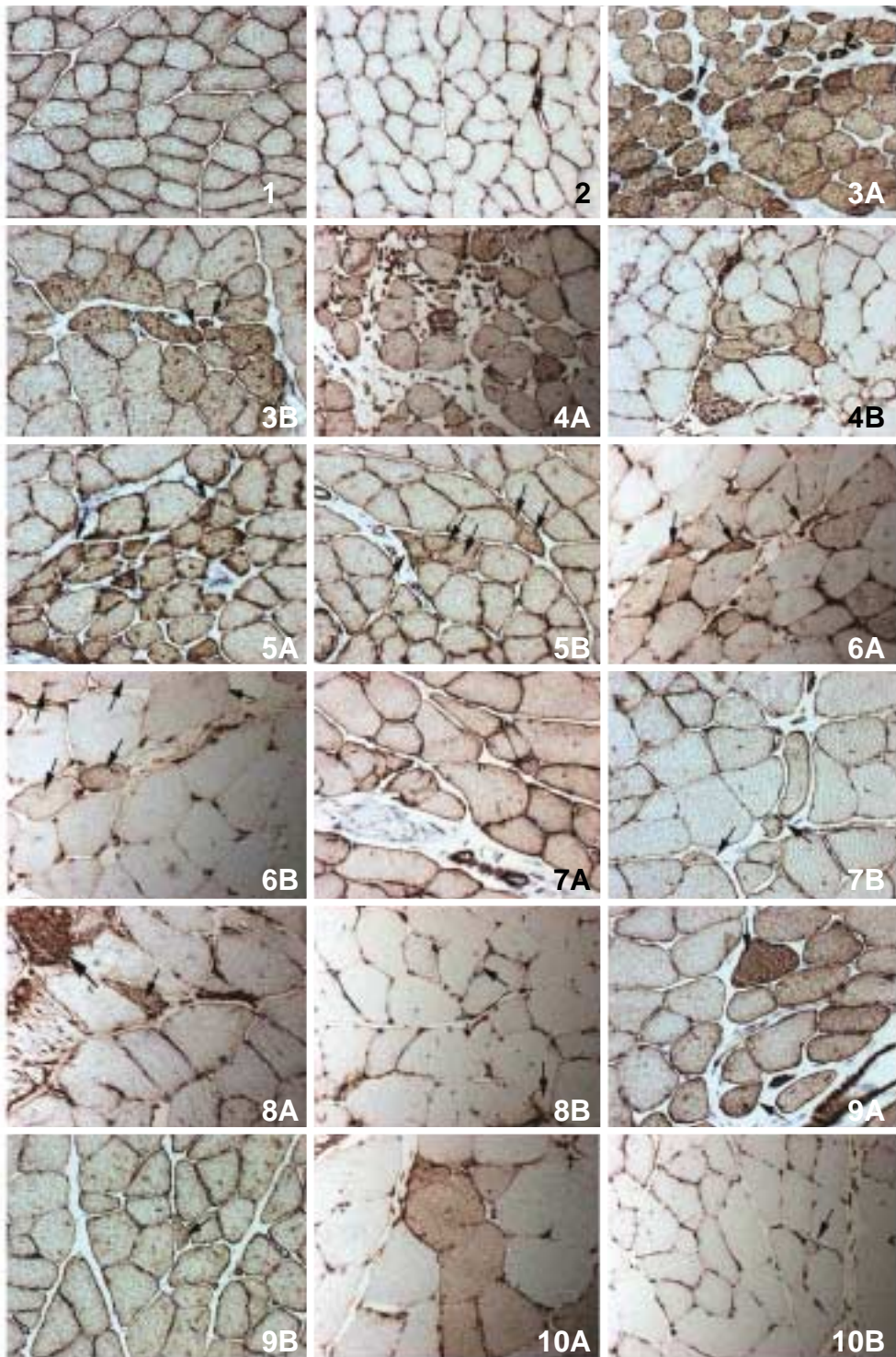
- Betz EH, Firket H, Reznik M : Some aspects of muscle regeneration. *Int Rev Cytol* 19 : 203-227, 1966.
- Bomemann A, Maier F, Kuschel R : Satellite cells as players and targets in normal and diseased muscle. *Neuropediatrics* 30 : 167-175, 1999.
- Capetanaki Y, Milner DJ : Desmin cytoskeleton in muscle integrity and function. *Subcell* 37 : 463-495, 1998.
- Carlson BM : The functional morphology of regenerating and transplanted mammalian muscle. *J Physiol (Lond)* 231 : 57-58, 1973a
- Carlson BM : The regeneration of skeletal muscle. A review. *Am J Anat* 137 : 119-149, 1973b

- Field EJ : Muscle regeneration and repair. In Boure GH eds. *Structure and Function of Muscle, III*. Academic Press, New York, pp. 139–170, 1960.
- Fuchs E, Cleveland DW : A structural scaffolding of intermediate filaments in health and disease. *Science* 279 : 514–519, 1978.
- Fuchs E, Weber K : Intermediate filaments: structure, dynamics, function, and disease. *Annu Rev Biochem* 63 : 345–382, 1994.
- Gallanti A, Prella A, Moggio M, Ciscato P, Checcarelli N, Sciacco M, Comini A, Scarlato G : Desmin and vimentin markers of regeneration in muscle disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 85 : 88–92, 1992.
- Gallucci V, Novello F, Margareth A, Aloisi M : Biochemical correlations of discontinuous muscle regeneration in the rat. *Brit J Exp Pathol* 47 : 215–227, 1966.
- Gard DL, Lazarides E : THE synthesis and distribution of desmin and vimentin during myogenesis in vitro. *Cell* 19 : 263–275, 1980.
- Goebel HH : Desmin-related neuromuscular disorder. *Muscle Nerve* 18 : 1306–1320, 1995.
- Goldman RD, Gold AE, Green KJ, Jones JC, Jones SM, Yang HY : Intermediate filament networks : organization and possible functions of a diverse group of cytoskeletal elements. *J Cell Sci Suppl* 5 : 69–97, 1986.
- Grounds MD : The proliferation and fusion of myoblasts in vivo. *Adv Exp Med Biol* 280 : 101–104, 1990.
- Grounds MD : Towards understanding skeletal muscle regeneration. *Pathol Res Pract* 187 : 1–22, 1991.
- Hughes JT : Pathology of muscle, WB Saunders, Philadelphia pp. 57–60, 1974.
- Kadi F, Hagg G, Hakansson R, Holmner S, Butler-Brown GS, Thornell LE : Structural changes in male trapezius muscle work-related myalgia. *Acta Neuropathol (Berl)* 95 : 352–360, 1998.
- Kakulas BA, Adams RD : Disease of muscle: Pathological foundation of clinical myology. 4th ed, Harper & Row, Philadelphia, pp. 131–163, 1985.
- Lazarides E, Gard DL, Granger BL, O'Connor CM, Breckler J, Danto SI : Regulation of the assembly of the Z-disc in muscle cells. *Prog Clin Biol Res* 85 Pt B : 317–340, 1982.
- Lescaudron L, Li Z, Paulin D, Fontaine -Perus J : Desmin-lacZ transgene, a marker of regenerating skeletal muscle. *Neuromuscu Disord* 3 : 419–422, 1993.
- Li H, Choudhary SK, Milner DJ, Munir MI, Kuisk IR, Capetanaki Y : Inhibition of desmin expression blocks myoblast fusion and interferes with the myogenic regulator MyoD and myogenin. *J Cell Biol* 124 : 827–841, 1994.
- Maier F, Bornemann A : Comparison of the muscle fiber diameter and satellite cell frequency in human muscle biopsies. *Muscle Nerve* 22 : 578–583, 1999.
- Maley MA, Davies MJ, Grounds MD : Extracellular matrix, growth factors, genetics: their influence on cell proliferation and myotube formation in primary cultures of adult mouse skeletal muscle. *Exp Cell Res* 219 : 169–179, 1995.
- Maley MA, Fan Y, Beilharz MW, Grounds MD : Intrinsic differences in MyoD and myogenin expression between primary cultures of SJL/j and BALB/C skeletal muscle. *Exp Cell Res* 211 : 99–107, 1994.
- McGeachie JK, Grounds MD : The timing between skeletal muscle myoblast replication and fusion into myotubes, and the stability of regenerated dystrophic myofiber: an autoradiographic study in mdx mice. *J Anat* 194 : 287–295, 1999.
- Miller WG : Regeneration of skeletal muscle in young rabbits. *J Pathol* 38 : 145–151, 1934.
- Ono K, Abe J, Kagawa N, Ii K, Hizawa K : Immunohistochemical analysis of myoblast proliferation and differentiation in experimental skeletal muscle regeneration. *Zentralbl Pathol* 139 : 231–237, 1993.
- Rantanen J, Hunne T, Lukka R, Heino J, Kalimo H : Satellite cell proliferation and the expression of myogenin and desmin in regenerating skeletal muscle: evidence for two different populations of Satellite cells. *Lab invest* 72 : 341–347, 1995.
- Samat HB : Myotubular myopathy: arrest of morphogenesis of myofibers associated with persistence of fetal and neonatal muscle. *Can J Neurol Sci* 17 : 109–123, 1990.
- Satin B, Gollnick PD : Skeletal muscle adaptability: significance for metabolism and performance. In; *Handbook of Physiology. Skeletal Muscle*. Bethesda, MD : Am Physiol Soc sect. 10, chap. 19, pp. 555–631, 1983.
- Stewart M : Intermediate filaments structure and assembly. *Curr Opin Cell Biol* 5 : 3–11, 1993.
- Waterman-Storer CM : The cytoskeleton of skeletal muscle: is it affected by exercise? A brief review. *Med Sci Sports Exerc* 23 : 1240–1249, 1991.
- Yoshimura K, Harii K, Asato H, Ueda K, Yamada A : Immunohistochemical analysis of clinically transplanted muscle. *J Surg Res* 79 : 31–38, 1998.

## Legends for Figures

- Fig. 1.** A cryosection of normal gastrocnemius muscle. This section is immunoreacted for desmin. Cross sectional muscle fibers show their polygonal appearances. Immunoreaction of desmin is weak. Sarcolemma and basement membranes of myofibers are intact. Original magnification.  $\times 250$ .
- Fig. 2.** A cryosection of normal gastrocnemius muscle. This section is immunoreacted for vimentin-immunoreactivity. Cross sectional muscle fibers show their polygonal appearances. Immunoreaction of vimentin is absent. Some connective tissue cells are revealed by vimentin. Sarcolemma and basement membranes of myofibers are intact. Original magnification.  $\times 250$ .
- Fig. 3.** Photographs of gastrocnemius muscle of 9 days after injury. Immunoreacted fibers for expression of desmin is observed. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Strong stained atrophic muscle fibers (arrows) are appeared. (B) Muscle fibers of trained rat (5 days treadmill exercised) skeletal muscle. Atrophic muscle fibers (arrows) are fewer than those of control rat myofibers. Original magnification.  $\times 250$ .
- Fig. 4.** Photographs of gastrocnemius muscle of 9 days after injury. Immunoreacted fibers for expression of vimentin is observed. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Myofibers of this section are strong stained with vimentin. (B) Muscle fibers of trained rat (5 days treadmill exercised) skeletal muscle. Almost myofibers are not immunoreactive, but several myofibers are prominent immunoreaction for vimentin. Original magnification.  $\times 250$ .
- Fig. 5.** Photographs of gastrocnemius muscle of 16 days after injury. Immunoreacted fibers for expression of desmin is observed. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. There are many strong immunoreactive myofibers observed (arrows). (B) Muscle fibers of trained rat (10 days treadmill exercised) skeletal muscle. Several myofibers are strong-immunoreacted for desmin (arrows). Original magnification.  $\times 250$ .
- Fig. 6.** Photographs of gastrocnemius muscle of 16 days after injury. Immunoreacted fibers for expression of vimentin is observed. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. There are many strong-immunoreactive myofibers (arrows). (B) Muscle fibers of trained rat (10 days treadmill exercised) skeletal muscle. The photograph shows several weak-immunoreactive myofibers (arrows). Original magnification.  $\times 250$ .
- Fig. 7.** Photographs of gastrocnemius muscle of 23 days after injury. Immunoreacted fibers for expression of desmin is observed. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Most myofibers are immunoreactive for desmin. (B) Muscle fibers of trained rat (15 days treadmill exercised) skeletal muscle. Large myofibers have the normal immunoreactivity. Smaller myofibers (arrows) are more immunoreactive for desmin (arrows). Original magnification.  $\times 250$ .
- Fig. 8.** Photographs of gastrocnemius muscle of 23 days after injury. Immunoreacted fibers for expression of vimentin is observed. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Strong immunoreactive large myofiber (large arrow) and small myofiber (small arrow) are observed. They have many central nuclei. (B) Muscle fibers of trained rat (15 days treadmill exercise) skeletal muscle. Myofibers are not immunoreactive for vimentin and have some splitted fibers (arrows). Original magnification.  $\times 250$ .
- Fig. 9.** Photographs of gastrocnemius muscle of 30 days after injury. Immunoreacted fibers for expression of desmin is observed. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. A large strong desmin immunoreactive myofiber is observed (arrow). (B) Muscle fibers of trained rat (20 days treadmill exercised) skeletal muscle. Almost myofibers are appeared of normal shapes and are normal immunoreactive for desmin. A small weak stained myofiber is observed (arrow). Original magnification.  $\times 250$ .
- Fig. 10.** Photographs of gastrocnemius muscle of 30 days after injury. Immunoreacted fibers for expression of vimentin is observed. (A) Muscle fibers of control rat skeletal muscle. Large vimentin immunoreactive fibers are visible. (B) Muscle fibers of trained rat (20 days treadmill exercised) skeletal muscle. Many myofibers show normal polygonal appearance and are not immunoreacted with vimentin. A small splitted myofiber is observed (arrow). Original magnification.  $\times 250$ .

— 근육 손상후 재생시 운동효과 —



**Abstract**

**Effect of Exercise to Improve of Rat Lower Limb Healing  
after Physical Injury**

Duk-Joon Suh, Dae-Hee Lee, Hyun-Hee Son, Ji-Young Kim<sup>1</sup>, Ki-Soo Yoo<sup>1</sup>

*Department of Physiology, <sup>1</sup>Department of Anatomy, College of Medicine, Dong-A University*

The aim of this report is to show that treadmill running exercise under well-controlled conditions is to improve of regeneration in rat gastrocnemius muscles after physical injury.

For this, rats were submitted to bouts of exercise on a treadmill up a 10 degrees decline for 60 min and gastrocnemius muscles were analysed at different exercise periods by immunohistochemistry in comparison with injured non-exercised muscles. Rats were used with guidelines for experimental procedures as set forth in the Declaration of Helsinki. We analysed the regenerative processes by detection of immunoreactivity for the two intermediate filaments, desmin and vimentin. Desmin and vimentin are specific components of the cytoskeleton of striated muscle fibers and of mononuclear cells of mesenchymal origin including myoblasts, respectively.

We found that non-exercised rats had more desmin- and vimentin-positive myofibers than that of exercised rats at 9th, 16th, 23th, 30th day after physical injury. At 30th day, non-exercised rats had several desmin- and vimentin-positive myofibers, but exercised rats had numerous normal myofibers.

These results show that exercise is able to improve regeneration processes in physical injured gastrocnemius muscles of rats.

**Key words** : Skeletal muscle, Regeneration, Exercise, Intermediated filament protein, Desmin, Vimentin