# 신경성장인자(nerve growth factor)가 streptozotocin으로 유도된 당뇨흰쥐의 척수신경절세포에 미치는 효과에 대한 면역조직화학적 및 형태계측학적 연구

박승화, 백은주[1], 이원택[2], 박의우[3], 박경아[2]

건국대학교 의과대학 해부학교실, [1]아주대학교 의과대학 생리학교실
[2]연세대학교 의과대학 해부학교실, [3]건국대학교 의과대학 병리학교실

〈조 록〉

본 연구에서는 신경성장인자(nerve growth factor, NGF)가 streptozotocin으로 유도된 당뇨흰쥐의 일차감각신경에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보고자 Sprague Dawley계 성숙흰쥐 수컷(200~250 gm)을 대상으로 형태계측학적 및 면역조직화학적 방법을 이용하여 실험하였다. 또한 각 군의 척수신경절세포의 미세구조의 변화를 투과전자현미경을 이용하여 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 대조군과 비교해 볼 때, 당뇨유도군에서 A형세포와 B형세포의 총수는 52.4%와 34.8% 씩 감소하여 통계적으로 의의가 있었다($P < 0.01$). 그러나 신경성장인자를 투여한 당뇨유도군에서는 A형세포와 B형세포의 총수가 대조군과 별다른 차이가 없었다.
2. A형과 B형의 신경세포의 평균면적은 당뇨유도군과 신경성장인자를 투여한 당뇨유도군에서 모두 통계적으로 의의 있게 ($P < 0.01$) 감소하였다.
3. 대조군에 비하여 substance P와 CGRP 면역양성반응세포의 총수는 당뇨유도군에서 63.5%와 66.8% 씩 통계적으로 의의 있게 ($P < 0.01$) 감소하였다. 그러나 신경성장인자를 투여한 당뇨유도군에서는 별다른 차이를 나타내지 않았다.
4. Substance P와 CGRP 면역양성반응세포의 평균면적은 대조군에 비하여 당뇨유도군에서 각각 18.1%와 26.6% 감소하였다($P < 0.01$). 신경성장인자를 투여한 당뇨유도군에서는 CGRP 면역양성반응세포만이 통계적으로 의의있게 감소하였다 ($P < 0.01$).
5. 전자현미경 관찰에 의하면 당뇨유도군에서 많은 수의 척수신경절세포가 변성현상을 나타내어 Nissl소체가 용해되어 세포질 내에 퍼져 있었으며 핵막이 쭈글쭈글한 모양을 하고 있었다. 또한 신경세포와 신경절아교세포 연접부위가 불규칙한 모양을 하고 있었으며 세포질 내에서는 많은 공포와 치밀소체(dense body)가 관찰되었다. 신경성장인자를 투여한 당뇨유도군의 신경세포의 세포질 내에서는 대조군에서와 같은 많은 수의 미세원섬유와 미세소관이 관찰되었다.

이상의 사실들을 종합해볼 때, NGF는 streptozotocin에 의해 유도된 당뇨병성 신경병증에서 척수신경절세포 총수의 감소나 형태적인 변화에 대해 보호작용을 나타냄을 알 수 있었다.

**찾아보기 낱말** : 당뇨병성신경병증, 척수신경절, 신경성장인자

## 서 론

당뇨병성신경병증(diabetic neuropathy)은 당뇨병으로 인해 가장 흔하게 발생하는 합병증의 하나로, 신경계의 어느 부위에서도 나타날 수 있으나, 흔히 말초신경계를 침범하는 경향이 있다. 이와 같이 당뇨병에 의하여 말초신경의 기능 및 구조에 이상이 나타나는 것을 당뇨병성신경병증이라고 한다. 이때 침범된 신경섬유의 종류에 따라 다양한 임상증상을 보이고 있는데, 손발이 저리고 감각이상이 초래되는 감각신경병증이 흔히 나타나며(Dyck 등, 1985), 간혹 피부의 괴저가 동반되는 경우가 있다(Thomas와 Brown, 1987). 조직학적 변화로는 말초신경섬유가 위축(atrophy)되거나 유수신경과 무수신경등이 소실되며 아울러 월러변성(Wallerian degeneration)이나 재생(regeneration)현상을 나타낸다고 한다(Jacksen, 1976; Yagihashi 등, 1990).

당뇨병성신경병증을 일으키는 기전에 대해서는 여러 가지 가설이 제기되고 있는 바, 과혈당증으로 인해 신경조직내 당

* 본 논문은 건국대학교 중원지역발전연구원 1996년도 자유공모연구과제 지원과 1996년도 한국과학재단 특정기초연구비에 의하여 연구되었음.

의 polyol대사경로의 항진으로 에너지의 손실을 가져오거나 막이 불안전상태로 되어 일어나게 되며(Greene, 1988) 대사장애 중 nonenzymatic glycosylation에 의해 신경기능에 중요한 단백질이 비활성화(Brownlee, 1990)되어 일어나기도 한다. 또한 말초혈관장애로 신경경색(nerve infarction) (Dyck, 1989)이 일어나거나 축삭운반(axonal transport)의 장애로 신경섬유가 위축(atrophy)되고 신경조직의 $Na^+$-$K^+$-ATPase 활성도가 감소(Yorek 등, 1994)됨으로써 나타나기도 한다.

최근에 보고된 바에 의하면(Hellweg와 Hartung, 1990; Hellweg 등, 1991; Kasayama와 Oka, 1989) 신경조직내 신경영양물질(neurotrophic factor)의 감소가 당뇨병성신경병증을 일으키는 기전의 하나로 생각되고 있다. 신경영양물질은 신경세포의 생존, 형태적 발달 및 기능적 분화에 중요한 물질이다. 그중에 잘 알려진 신경성장인자(nerve growth factor, NGF)는 말초신경 중 특히 척수신경절과 교감신경절세포의 발생과 그 기능 유지 또는 생존에 중요한 인자로 알려졌다(Hellweg와 Hartung, 1990; Apfel 등, 1991; Apfel 등, 1992). 이러한 가설을 뒷받침해주는 실험결과들로는 streptozotocin으로 유도한 당뇨모델의 연구에서, 흰쥐의 좌골신경을 대상으로 살펴본 결과 운동신경의 전도속도의 감소와 아울러 substance P(Calcutt 등, 1990; Robinson 등, 1987; Tomlinson 등, 1988; Willars 등, 1989)나 CGRP (Diemel 등, 1992)와 같은 신경전달물질 뿐만 아니라 신경성장인자의 농도가 감소한다고 하였다(Hellweg와 Hartung, 1990). 또한, 실제 당뇨환자에서도 운동신경의 전도속도의 감소와 아울러 혈청내의 신경성장인자의 농도가 감소한다고 발표하였다(Faradji와 Sotelo, 1990). 당뇨로 인한 신경조직내의 이러한 변화는 역으로 신경성장인자를 외부에서 공급해주었을 때, 당뇨흰쥐의 척수신경절에서 substance P나 CGRP와 같은 신경단백질의 감소가 방지된다고 하였으며(Apfel 등, 1994), 일부 연구자들은 신경성장인자는 운동신경이나 큰 직경을 가진 감각신경세포에는 영향을 미치지 않고 주로 작은 직경을 가진 감각신경세포에 영향을 미쳐 신경성장인자는 감각성신경병증에 더 효과적이라고 알려져 있다(Verge 등, 1989; Lindsay와 Harmar, 1989). 또한 신경절단(axotomy)에 의해 야기된 말초신경병증(Schwartz와 Spirman, 1982; Rich 등, 1987) 뿐만 아니라, taxol(Apfel, 1991)이나 cisplastin(Apfel 등, 1992) 등의 약물로 유발된 말초신경병증에서도 신경성장물질의 피하주사에 의해 그 변화가 많이 경감되기 때문에, 전반적인 말초신경병증의 유발기전과 치료에 신경성장물질의 중요성이 강조되고 있다.

그러나 신경성장인자의 이러한 효과는 주로 생리적 또는 생화학적 실험을 통한 결과들로, 신경성장인자가 당뇨병성신경병증에 미치는 효과에 대한 형태학적 측면에서의 연구결과는 미흡한 실정이다. 이에 본 저자들은 streptozotocin으로 유도된 당뇨흰쥐의 척수신경절에서 신경성장인자에 의한 변화를 형태계측학적 및 면역조직화학적 방법으로 살펴보고 신경절세포의 미세구조의 변화를 관찰함으로써 당뇨병성신경병증에서 신경성장인자의 작용기전을 규명해 보고자 본 실험을 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

실험동물로는 체중 200～250 gm 정도인 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 45마리 사용하였다.

### 2. 당뇨병성신경병증 모델의 제작

당뇨병성신경병증을 유발하기 위해 streptozotocin 650 mg/kg을 일 회 정맥내 주사하였다. 그후 10% dextrose 용액으로 하루밤을 지낸 후, 다시 기존 먹이로 사육하고 일주일 후 혈당을 측정하여 400 mg/dl 이하인 실험동물은 실험에서 제외시켰다.

### 3. 생화학 검사와 신경성장인자의 투여

당뇨병성신경병증을 일으킨 후 신경성장인자의 효과를 보기 위하여 recombinant human NGF(500ng/kg)를 매일 피하주사하면서 4주까지 동물을 사육하였다. 대조군으로는 동량의 생리식염수를 투여하였다.

### 4. 광학현미경 표본제작

광학현미경 관찰을 위하여 실험동물을 에테르 마취하에 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate 완충용액(pH 7.4)으로 관류고정한 후, 제 5번째 허리신경절을 적출하여 일반적인 표본제작과정에 따라 파라핀에 포매하였다. 포매한 척수신경절을 6 μm 두께로 잘라 Nissl 염색과 면역조직화학 염색을 실시하였다.

### 5. 면역조직화학 염색

일반적인 면역과산화효소 염색법(Sternberger, 1979)을 이용하여 염색하였다. 제일 먼저 척수신경절표본에서 파라핀을 제거시킨 후 탈수과정을 거치고 0.1 M phosphate 완충용액으로 여러번 세척하였다. 다음의 모든 용액에 Triton-X 100을 혼합하여 최종 농도가 0.02% 되게 하여 세포내로의 항체투과율을 높였다.

0.1 M phosphate 완충용액으로 여러번 세척한 후, 10% normal goat serum(NGS)으로 실온에서 1시간 처리하여 비특이성항원의 반응을 막고, 각각 1:1000으로 희석한 anti-human rabbit substance P 항혈청(Instar Co. Ltd.)과 anti-human rabbit CGRP 항혈청(Chemicon Co. Ltd.)에 실온에서 하룻밤 incubation하여 항원-항체 반응을 일으켰다. 0.1 M phosphate 완충용액으로 세척하여 항원에 부착하지않고 남아 있는 항체를 제거한 후, 이차항체인 anti-rabbit IgG로 실온에서 1시간동안

**Table 1.** Total number of $L_5$ DRG cells in control, diabetic and NGF-administered diabetic group

| Group＼Type | | A | B | Total |
|---|---|---|---|---|
| Control | n1 | 1296 | 7692 | 8988 |
| | n2 | 1620 | 8688 | 10308 |
| | n3 | 2052 | 6846 | 8898 |
| | n4 | 1600 | 5456 | 7056 |
| | n5 | 2030 | 5872 | 7902 |
| | Mean | 1719.6 | 6910.8 | 8630.4 |
| | S.D. | 320.4 | 139.9 | 1227.1 |
| | % | 100 | 100 | 100 |
| DM | n1 | 860 | 4496 | 5356 |
| | n2 | 844 | 4572 | 5416 |
| | n3 | 972 | 4816 | 5788 |
| | n4 | 774 | 5184 | 5958 |
| | n5 | 642 | 3472 | 4114 |
| | Mean | 818.4 | 4508.0 | 5326.4 |
| | S.D. | 121.5* | 638.3* | 723.0* |
| | % | 47.6 | 65.2 | 61.7 |
| DM+NGF | n1 | 1628 | 5780 | 7408 |
| | n2 | 1588 | 5900 | 7488 |
| | n3 | 1756 | 5076 | 6832 |
| | n4 | 1796 | 7716 | 9512 |
| | n5 | 1450 | 6968 | 8418 |
| | Mean | 1643.6 | 6288.0 | 7931.6 |
| | S.D. | 138.5 | 1046.3 | 1050.5 |
| | % | 95.5 | 91.0 | 91.9 |

DM : diabetic group n : number of animals
DM+NGF : NGF administered diabetic group * : P < 0.01

**Table 2.** Mean size of $L_5$ DRG cells in control, diabetic and NGF administered diabetic group unit: $\mu m^2$

| Group＼Type | A | B |
|---|---|---|
| Control | 2177.0±491.5 (1801) | 569.9±185.5 (1452) |
| DM | 1718.5±231.0* (1429) | 439.5±207.9* (1219) |
| DM+NGF | 1784.0±264.1* (1537) | 461.7±227.3* (1588) |

DM: diabetic group
DM+NGF: NGF administered diabetic group
( ) : number of cases value=Mean±S.D.
* : P < 0.01

$\mu m^2$에 걸쳐 고르게 분포하였으며 당뇨유도군에서는 크기가 2,000 $\mu m^2$ 이상인 세포가 대조군에 비하여 적게 분포하여 비교적 크기가 큰 세포들이 감소함으로서 전체 평균면적이 감소했음을 알 수 있었다.

또한 신경성장인자를 주사한 당뇨흰쥐에서는 크기가 1,750 $\mu m^2$ 미만인 세포의 분포가 가장 높았으며 대조군에 비하여 크기가 2,000 $\mu m^2$ 이상인 세포가 낮게 분포하여 숫적인 감소가 없었음에도 불구하고 (Table 1) 전체 평균면적이 감소했음을 알 수 있었다.

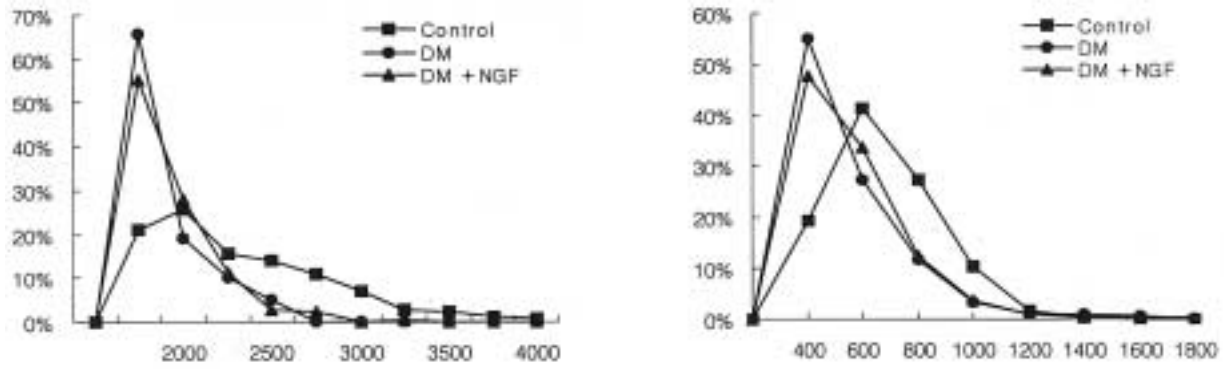
B형의 경우에서도 A형에서와 같은 경향을 나타내었는데 대조군에서 크기가 400～600 $\mu m^2$인 세포가 가장 높게 분포하였으며 당뇨유도군에서는 크기가 600 $\mu m^2$ 이상인 세포의 분포가 적게 나타났다. 또한 신경성장인자를 주사한 당뇨흰쥐에서는 주로 200～600 $\mu m^2$ 사이에 분포하고 있어 크기가 800 $\mu m^2$ 이상인 세포는 대조군에 비하여 낮게 분포함을 알 수 있었다 (Fig. 2).

### 2. 면역조직화학적 연구

대조군과 실험군에서 substance P와 CGRP 양성세포의 총수를 계수하고 면적을 계측 하기위하여 통상적인 면역효소반응법 (Sternberger, 1979)에 의하여 염색하였다 (Fig. 3 and Fig. 4).

#### 1) Substance P 양성세포와 CGRP 양성세포의 총수의 변화

대조군에서 계수한 substance P와 CGRP 양성세포의 총수는 각각 1598.0±118.4개와 2358.2±308.9개이었다. 당뇨를 유발한 흰쥐에서 substance P 양성세포의 총 수는 583.8±110.2개로 대조군에 비하여 63.5% 감소 (P < 0.01)하였으며, CGRP 양성세포는 782.8±126.6개로 66.8% 감소 (P < 0.01)하




Type A Type B

**Fig. 2.** Size distribution of Type A and Type B cells of $L_5$ DRG in control, diabetic and NGF-administered diabetic group.

**Table 3.** Total number of immunoreactive cells for SP and CGRP of $L_5$ DRG in control, diabetic, and NGF-administered diabetic group unit: one cell

| Group \ Type | | SP | CGRP |
|---|---|---|---|
| Control | n1 | 1647 | 2548 |
| | n2 | 1326 | 2748 |
| | n3 | 1430 | 2396 |
| | n4 | 1863 | 2079 |
| | n5 | 1724 | 2020 |
| Mean | | 1598.0 | 2358.2 |
| S.D. | | 118.4 | 308.9 |
| % | | 100 | 100 |
| DM | n1 | 596 | 642 |
| | n2 | 428 | 748 |
| | n3 | 726 | 969 |
| | n4 | 629 | 842 |
| | n5 | 540 | 713 |
| Mean | | 583.8 | 782.8 |
| S.D. | | 110.2* | 126.6* |
| % | | 36.5 | 33.2 |
| DM+NGF | n1 | 175.5 | 2002 |
| | n2 | 1643 | 1948 |
| | n3 | 1420 | 2354 |
| | n4 | 1567 | 1928 |
| | n5 | 1389 | 2148 |
| Mean | | 1154.8 | 2076.0 |
| S.D. | | 153.0 | 177.6 |
| % | | 97.2 | 88.0 |

DM: diabetic group
DM+NGF: NGF administered diabetic group
n : number of animals
* : P 〈 0.01

였다.

신경성장인자를 주사한 당뇨흰쥐에서 substance P와 CGRP 양성세포의 총수는 각각 1554.8±153.0개와 2076.0±1776.6개로 두 종류의 면역양성세포 모두다 대조군에서와 거의 유사한 값을 나타내었다(Table 3).

2) Substance P 양성세포와 CGRP 양성세포의 크기의 변화

(1) Substance P 양성세포와 CGRP 양성세포의 크기의 변화

다섯째 허리신경절에서 substance P와 CGRP에 면역반응을 나타내는 세포의 평균면적을 측정한 결과 대조군에서 substance P와 CGRP에 면역반응세포의 평균면적은 각각 427.9±171.0 μm²와 502.6±288.2 μm²이었다. 당뇨가 유발된 흰쥐의 substance P 면역반응세포의 평균면적은 350.6±161.40 μm²으로 대조군에 비하여 18.1% 감소(P〈0.01)하였으며 CGRP 면역반응세포의 평균면적은 369.0±228.0 μm²으로 대조군에 비하여 26.5% 감소(P〈0.01)하였다. 신경성장인자를 주사한 당뇨흰쥐에서 substance P와 CGRP의 면역반응세포의 평균면적은 각각 472.9±168.3 μm²와 412.2±168.6 μm²으로 substance P 면역반응세포의 경우 대조군에 비하여 10.5% 증가였으나 통계적인 의의는 없어 대조군과 유사한 값을 나타내었으며 CGRP 면역반응세포는 17.8% 감소한(P〈0.01) 상태로

**Table 4.** Mean size of substance P and CGRP immunoreactive cells of $L_5$ DRG in control, diabetic, and NGF-administered diabetic group unit: μm²

| Group \ Type | Substance P | CGRP |
|---|---|---|
| Control | 427.9±171.0 (1801) | 502.6±288.2 (1452) |
| DM | 350.6±161.40* (1429) | 369.0±228.0* (1219) |
| DM+NGF | 472.9±168.3 (1537) | 412.2±168.6* (1588) |

DM: diabetic group
DM+NGF: NGF administered diabetic group
n = 5 (in each group)
value = Mean±S.D.
( ) : number of cases
* : P 〈 0.01

두 종류의 면역반응세포가 서로 다른 경향을 나타내었다(Table 4).

(2) Substance P 양성세포와 CGRP 양성세포의 면적분포의 변화

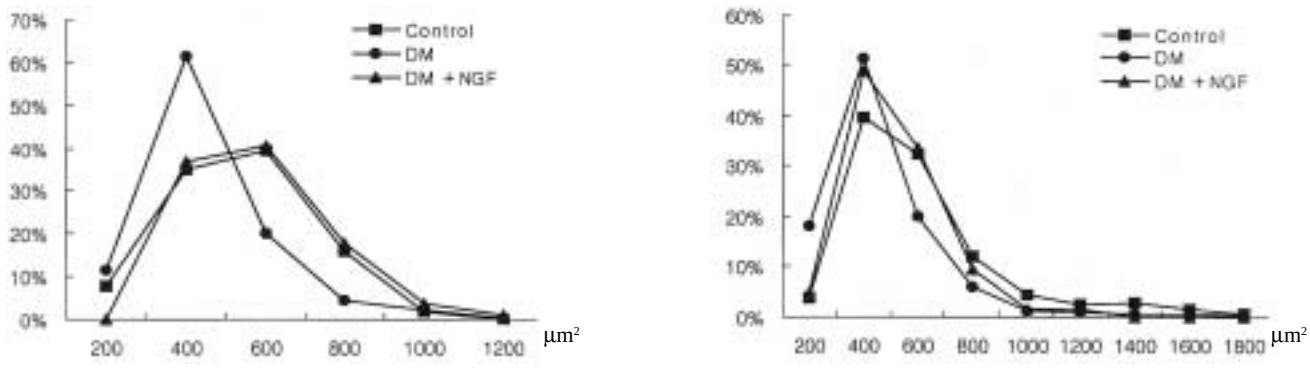
각 군에서 substance P와 CGRP에 대해 양성반응을 나타내는 세포의 면적분포를 살펴보면 substance P 면역양성반응세포는 대조군에서 400～800 μm²에서 가장 높은 분포를 나타내었으며 당뇨유도군에서는 200～400 μm²에서 높은 분포를 나타내어 600 μm² 이상의 세포가 대조군에 비하여 낮은 분포를 나타내었다. 또한 신경성장 인자를 주사한 당뇨유도군에서는 400～800 μm²의 세포가 높은 분포를 나타내어 대조군에서 보다 평균면적이 증가하였으나 통계적인 의의는 없었다.

한편, CGRP 면역양성반응세포의 경우에서는 대조군에서 크기가 400～800 μm²에서 가장 높은 분포를 나타내었으나 크기가 1,000～1,800 μm²인 큰 세포에서도 나타나 substance P에 비해 평균면적이 컸다. 당뇨유도군에서는 200～400 μm² 사이에서 가장 높게 나타났으며 600 μm² 이상인 세포의 분포가 대조군에 비해 적어 비교적 크기가 큰 세포가 소실됨을 알 수 있었다. 또한 신경성장인자를 주사한 당뇨유도군에서는 400～800 μm²에서 가장 높게 분포하여 신경성장인자가 크기가 작은 CGRP 면역양성반응세포에 대해 보호작용을 나타냄을 알 수 있었다(Fig. 5).

3. 전자현미경적 연구

당뇨로 인해 초래되는 말초신경병증에서 척수신경절세포에는 아무런 변화를 초래하지 않는다는 종래의 통념과는 달리 세포들의 변화를 확인할 수 있었다.

대조군에서 광학현미경하에서 크기가 크고 세포질이 밝게 나타나는 A형세포(Fig. 6)와 크기가 작고 세포질이 어둡게 나타나는 B형세포(Fig. 7)가 구별되었으며 이들은 다른 연구자들이 보고한 바와 같은 전형적인 척수신경절세포의 특징을 나타내었다. 또한 각 신경세포 주변에는 일정한 간격을 두고 이를 둘러싸고 있는 척수신경절아교세포(satellite cell)도 관찰되었다(Fig. 8).




Substance P CGRP

**Fig. 5.** Size distribution of substance P and CGRP immunoreactive cells of $L_5$ DRG in control, diabetic and NGF-administered diabetic group.

당뇨를 유발한 군에서 척수신경절세포의 핵막이 불규칙적으로 쭈글쭈글한 모양을 하고 있었으며 닛슬소체가 용해되어 세포막주변부로 퍼져 있었다(Fig. 9). 당뇨로 인한 손상효과는 신경절아교세포에서도 관찰할 수 있었던 바, 신경세포체와 신경절아교세포사이의 연접부위가 매우 불규칙한 형태를 하고 있었으며 그 사이간격이 대조군에 비해 많이 벌어져 있었다. 이 연접부위에서 신경세포의 주변부위나 신경절아교세포의 주변부위의 세포질 내에 많은 공포가 형성되어 있는 것이 관찰되었다(Fig. 10).

신경성장인자를 주사한 당뇨흰쥐에서는 당뇨유발군에서의 손상효과가 많이 감소하여 신경세포체내에서 닛슬소체도 대조군과 거의 유사하게 세포질 전반에 걸쳐 잘 발달되어 있었으며 세포질내에 미세소관(microtubule)이나 미세원섬유(neurofilament)가 많이 증가하였다(Fig. 11). 신경세포와 척수신경절 아교세포사이의 연접부위도 대조군에서와 같이 규칙적인 모양을 하고 있었으며 신경세포나 신경절아교세포의 세포질 주변부위에 형성된 공포도 감소되어 나타나(Fig. 12) 신경성장인자가 당뇨로 인한 척수신경절내의 세포형태 변화에 대해 보호작용을 나타냄을 확인할 수 있었다.

## 고 찰

당뇨병의 원인과 증상의 기전에 대한 연구는 그동안 많이 이루어져 왔으나 아직도 규명되어 있지 않은 부분도 많으며, 아직까지 근본적인 치료법이 개발되어 있지도 않은 실정이다.

실제 환자들에게 고통을 주는 것은 당뇨병 자체라기 보다는 당뇨병으로 생기는 합병증으로, 당뇨가 지속되면 신경병증(neuropathy), 망막병증(retinopathy), 신장병증(nephropathy) 등이 나타난다고 한다(Dyck 등, 1985; Low 등, 1975; Thomas와 Brown, 1987).

최근에 들어 신경조직내 신경영양물질의 감소가 당뇨병성 말초신경병증(diabetic neuropathy)의 발병원인이 된다는 보고가 있다(Hellweg와 Hartung, 1990; Hellweg 등, 1991; Kasayama와 Oka, 1989). 신경영양물질 중 신경성장인자는 그 연구가 가장 활발하여 당뇨병성신경병증과 가장 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다.

본 실험에서는 이러한 가설을 바탕으로 streptozotocin으로 당뇨가 유발된 흰쥐에 매일 지속적으로 4주동안 일정량(500 ng/kg)의 신경성장인자를 주사한 후 척수신경절세포에서의 변화를 형태계측학적인 방법과 면역조직화학적 방법을 이용하여 신경성장인자가 당뇨병성신경병증에 대해 어떠한 영향을 미치는지를 살펴보았다.

말초신경병증의 가장 흔한 형태는 길이가 길고 직경이 굵은 신경섬유 원위부에 변성이 일어나 소실되는 것이며, 이때 특징적으로 장갑을 낀(stocking-and-glove) 형태로 감각이 소실되고 후에는 같은 부위에 운동이 약화(motor weekness)된다. 이러한 현상은 비타민 결핍상태나 당뇨와 같은 대사장애에 의해서 흔히 나타나며 기계적인 신경손상에 의해서도 같은 증상이 나타난다고 한다(Schaumburg 등, 1983). 축삭의 손상이 일어나는 원인에 대해서는 축삭형질이동을 통한 영양물질의 이동이 결여되거나 차단됨으로써 나타난다는 생각이지배적이다. 느린전행성축삭형질이동(slow anterograde axoplasmic transport)을 통해서는 주로 신경미세섬유(neurofilament)가 이동되는데 acrylamide와 같은 독성물질이나 streptozotocin으로 유도된 당뇨에 인한 신경병증에서 이와같은 느린축삭이동이 저해되어 세포체로부터 가까운 쪽의 축삭의 직경은 증가하는 반면 먼 쪽의 직경은 감소하게 된다고 한다(Macioce 등, 1989; Medori 등, 1988; Larsen과 Sidenius, 1989). 또한 신경전달물질과 같은 단백질을 이동시키는 빠른전행성축삭형질이동(fast anterograde axoplasmic transport)의 속도나 이동되는 물질의 양이 감소되기도 하는데 당뇨병성신경병증의 경우, 빠른축삭형질에 의해 운반되는 단백질의 양은 감소되나 운반속도는 영향을 받지 않는다고 하였다(Sickles,

1989; Sidenius와 Jakobsen, 1987).

지금까지 발표된 여러 연구자들의 보고에 의하면 이와같이 말초신경병증에서는 주로 말초신경섬유가 손상되며 세포체는 별로 영향을 받지않는다고 알려져있다. 그러나 본 실험의 결과에서 보면 당뇨유도후 척수신경절세포의 수는 A형이 818.4±121.5개로 대조군에 비하여 52.4% 감소하였으며 ($P < 0.01$) B형세포는 4508.0±638.3개로 34.8% 감소하여 ($P < 0.01$) 당뇨로 인해 A형세포와 B형세포 모두 정도의 차이는 있지만 소실되는 것을 알 수 있었다.

본 실험에서 계측한 신경세포의 면적의 분포변화를 살펴볼 때, 대조군에서 A형세포의 평균면적이 2177.0±491.5 $\mu m^2$, B형세포의 평균면적이 569.9±185.5 $\mu m^2$이었으며 당뇨군에서 A형세포의 평균면적이 1718.5±231.0 $\mu m^2$으로 21.1% 감소 ($P < 0.01$), B형세포의 평균면적이 439.5±207.0 $\mu m^2$로 22.9% 감소하여 ($P < 0.01$) A형과 B형세포 모두 신경세포의 소실과 아울러 신경세포의 크기도 위축됨을 알 수 있었다.

전자현미경을 이용한 신경세포의 미세구조의 변화에서도 핵막이 쭈글쭈글해지고 닛슬소체가 용해되어 세포질의 주변부위로 이동되고 골지체가 팽대되는 등 세포체내에서 변성이 일어남을 관찰할 수 있었는데 이로 미루어 당뇨로 인해 척수신경절내에서의 신경세포의 소실도 어느 정도는 추측할 수 있었다.

Sasaki (1998) 등은 streptozotocin으로 당뇨유발 후 12～15달후에 흰쥐의 척수신경과 척수신경절에서의 변화를 살펴보았을 때, 주된 변화로는 척수신경의 앞뿌리와 뒤뿌리의 탈수초화 현상으로 이러한 현상은 뒤뿌리에서 더 뚜렷하였으며 척수신경절세포에서는 대부분의 세포에 공포가 형성되었으며 이러한 공포는 미토콘드리아의 파괴에 의한 것이라고 하였다. 이러한 결과로 미루어 당뇨는 척수신경과 척수신경절에서 정상적인 나이에 따른 변성현상을 촉진시키며 특히 그 효과는 감각신경에 선택적으로 미친다고 하였다. 이들은 당뇨가 척수신경절세포에도 영향을 미침을 간접적으로 시사해 주었다. 그러나 당뇨유도 후 이른 시기에 척수신경절세포 내에서의 변화에 대해서는 대부분의 학자가 변화가 없다고 주장하고 있지만 이에 대해서는 앞으로 더 연구해 보아야 할 것이다. 특히 당뇨로 인한 신경세포의 소실이 어떠한 작용기전에 의해 이루어지는 가를 살펴보는 것은 당뇨병성신경병증의 발병원인을 이해하는데 많은 도움이 될 것이다.

Trenghi 등 (1994)은 자연적으로 당뇨가 유발된 BB흰쥐에서 넷째와 다섯째 요수의 척수와 척수신경절에서 substance P와 CGRP에 대한 면역반응세포의 변화를 살펴보았다. 당뇨군에서는 CGRP 면역반응세포만의 직경이 의의있게 감소하고 substance P 함유신경세포는 변화를 나타내지 않으며 CGRP 함유신경세포는 크기가 크거나 중간인 세포가 감소한다고 하였다. 그러나 substance P나 CGRP 함유신경세포의 총수의 변화는 없는 것으로 나타났으며 척수의 앞뿔과 뒤뿔에서의 substance P나 CGRP에 대한 면역반응정도는 당뇨군과 대조군에서 별다른 차이가 없게 나타났다. 이로서 당뇨군에서 CGRP 함유신경세포의 크기가 줄어든 것은 CGRP 함유신경세포의 축삭의 직경과 전도속도가 감소함 때문으로 생각되며 당뇨에 의해서 감각신경세포의 종류에 따라 다르게 영향을 받는다고 하였다. 본 실험에서도 substance P와 CGRP 함유신경세포의 변화에 대해서 살펴본 바, 대조군의 substance P 함유신경세포의 총수는 1598.0±180.4개, CGRP 함유신경세포의 총수는 2358.2±308.9개이었으며 당뇨군에서는 substance P 함유신경세포의 총수가 583.8±110.2개로 63.5%감소 ($P < 0.01$), CGRP 함유신경세포의 총수가 782.8±126.6개로 66.8% 감소하여 ($P < 0.01$) Trenghi 등 (1994) 의 보고와는 일치하지 않았다. 그러나 Apfel 등 (1994)은 당뇨유도후 8주째와 16주째에 척수신경절내의 substance P와 CGRP의 양이 급격히 감소한다고 하여 본 실험의 결과는 이들의 보고를 확인할 수 있었다.

본 실험에서 계측한 substance P와 CGRP 함유신경세포의 크기의 분포를 살펴볼 때 대조군에서 substance P 함유신경세포의 크기는 427.9±171.05 $\mu m^2$, CGRP 함유신경세포의 크기는 502.6±288.2 $\mu m^2$였으며 당뇨군에서 substance P 함유신경세포의 크기는 350.6±161.4 $\mu m^2$로 18.1% 감소, CGRP 함유신경세포의 크기는 369.0±228.0 $\mu m^2$로 26.5% 감소하였다. Ju 등 (1987)에 의하면 substance P 함유신경세포의 경우 그 크기가 매우 작으며 대부분이 CGRP를 같이 함유하고 있으며 CGRP만을 단독으로 가지고 있는 신경세포는 크기가 다소 큰 중간 크기의 세포라고 하였다.

이러한 사실에 비추어 볼 때 당뇨유발후 세포의 크기가 감소된 것이 substance P와 CGRP를 같이 공유하고 있는 세포가 선택적으로 감소한 것으로도 생각할 수도 있다. 그러나 이러한 사실은 본 실험의 결과로는 단정할 수 없으므로 추후 다시 연구해 보아야 할 것이다

근래에 들어 전반적인 말초신경병증은 표적조절 (target control)의 장애로 해석하고 있는데, 즉 모든 종류의 말초신경병증에서 역행성축삭이동 (retrograde axonal transport)이 저해됨으로써 표적조직 (target tissue)에서 유래된 신경영양물질의 소실을 가져오게 되며 신경영양물질중 말초신경병증과 밀접한 관계를 가지고 있는 것이 신경성장인자이다 (Pinter 등, 1991; Gold 등, 1991).

신경성장인자는 감각신경이나 교감신경의 발달, 생존, 성장에 필요한 물질로 널리 알려져 있다 (Thoenen과 Brade, 1980). 그러나 성숙동물에 있어서 신경성장인자의 작용에 대해서는 잘 밝혀져 있지 않아 저자들에 따라 의견을 달리하고 있다. 감각신경의 경우, 출생후에는 신경성장인자에 의존하지 않아 신경성장인자의 항혈청을 성숙흰쥐에 투여하여도 거의 모든 세포가 죽지 않는다고 하였다 (Gorin과 Johnson, 1980; Schwartz와 Spirman, 1982). 그러나 살아있는 동안 신경성장

인자는 특수하게 척수신경절세포의 중심돌기와 말초돌기를 통해 역행성으로 세포체로 운반된다(Richardson과 Riopelle, 1984; Stockel 등, 1975). 성숙흰쥐의 척수신경절에 있는 신경세포의 약 40%가 신경성장인자에 대하여 고친화성(high-affinity) 수용체를 가지고 있는데 이 수용체는 신경성장인자가 세포체로 이동되는데 필요한 것이다. 신경성장인자에 대한 수용체는 척수신경절내의 모든 크기의 세포에 다 존재한다고 하며, 이는 신경성장인자의 역할이 단순히 작은 감각신경의 생존을 증진시키는 역할만 하는 것이 아니라는 사실을 시사해준다(Richardson 등, 1986; Richardson, 1991; Verge 등, 1989; Verge 등, 1991). 일부 학자는 신경성장인자가 성숙동물의 감각신경의 기능을 조절한다고 하는데, 절단된 좌골신경의 말단에 계속해서 신경성장인자를 주사하면 절단된 신경의 척수신경절내의 신경세포 내에서의 형태적, 생화학적, 그리고 전기생리학적인 변화를 막을 수 있다고 하였다(Rich 등, 1987; Schwartz와 Spirman, 1982).

또한 신경성장인자는 substance P나 CGRP와 같은 척수신경절내의 펩타이드의 유전자 발현(gene expression)과 양을 조절한다고 하며(Lindsay와 Harmar, 1989; Verge 등, 1989) 신경성장인자가 결여되면 척수신경절내의 substance P의 양이 줄어들고 세포의 크기도 줄어들게 된다고 한다(Rich 등, 1987). 본 실험에서 살펴본 바에 의하면 당뇨유도와 동시에 신경성장인자를 계속 투여한 군에서 신경세포의 수와 크기가 거의 대조군과 유사하였다. 즉 A형세포의 경우 1643.6±138.5개로 대조군의 95.5%에 해당하였으며 B형의 경우 6288.0±1046.3개로 대조군의 91.0%에 해당하여 당뇨유도와 동시에 신경성장인자를 투여했을 때 척수신경절내에서 A형과 B형세포 모두 신경세포의 소실이 거의 없음을 알 수 있었다. 또한 세포면적의 변화에서 A형과 B형 신경세포가 각각 1784.0±264.1 $\mu m^2$, 461.7±227.3 $\mu m^2$로 대조군에 비하여 위축된 상태이었는데 이는 신경성장인자가 주로 크기가 작은 신경세포에 대해 보호작용을 나타낸 결과로 생각된다.

전자현미경을 이용한 미세구조의 변화에서도 당뇨유도와 동시에 신경성장인자를 투여한 군의 척수신경절세포는 대조군에서와 같이 모든 세포소기관이 정상적인 모양을 하고 있었으며 특히 세포질내에 신경세사 등의 세포골격성분이 증가함을 관찰할 수 있었다.

Miller 등(1986)에 의하면 acrylamide나 organophosphate와 같은 화학물질에 의해 야기된 신경병증에서도 표적조직에서 유래된 신경영양물질의 결여에 의해 신경병증이 초래되며 축삭절단에 의한 변화와 유사한 변화가 척수신경절세포에서 일어나고 신경성장인자를 투여한 군에서 척수신경절내의 신경세포체내에서 신경미세섬유의 합성을 증가시킨다고 하였다. 이들의 보고로 미루어 보아 대사장애로 일어나는 당뇨병성신경병증도 다른 종류의 말초신경병증에서와 같은 기전으로 유래됨을 알 수 있었으며 외부에서 신경성장인자를 투여해 줌으로써 당뇨로 인한 손상이 방지됨을 확인할 수 있었다.

당뇨유발과 동시에 신경성장인자를 투여한 군에서 substance P나 CGRP 함유신경세포의 수도 대조군에서의 수와 거의 유사하여 substance P 함유신경세포의 경우 1554.8±153.0개이었으며 CGRP 함유신경세포의 경우 2076.0±177.7개였다. Apfel 등(1994)은 당뇨로 인해 척수신경절내의 substance P나 CGRP와 같은 신경단백질의 양이 감소하고 당뇨유도후 신경성장인자의 투여에 의해 이들 물질이 정상으로 회복된다고 보고하고 있는 바 본 실험에서는 이들의 결과를 형태적으로 확인할 수 있었다. 그러나 Schmidt 등(1995)은 자연적으로 당뇨가 유발된 생쥐에서는 척수신경절세포의 크기의 분포변화가 없으며, 신경펩타이드 중 CGRP가 뚜렷하게 감소하고 10 mg/kg의 신경성장인자를 주사했을 때 CGRP의 양과 면역반응세포의 수가 의의있게 증가하였다고 보고하였다. 이 결과는 신경성장인자가 CGRP를 다시 회복시켜주고 있음을 뒷받침해 준다. 그러나 이들은 당뇨병성신경병증에서 substance P는 변화를 나타내지 않으며 신경성장인자의 투여에 의해 아무런 효과를 초래하지 않는다고 하여 본 실험의 결과와는 일치하지 않았다. 본 실험에서 측정한 신경단백질 함유신경세포의 크기는 substance P 함유신경세포의 경우 472.9±168.3 $\mu m^2$로 대조군과 거의 일치하며 CGRP 함유신경세포의 경우 412.19±168.6 $\mu m^2$로 대조군에 비하여 17.9% 위축된 상태이었다. 이는 신경성장인자가 크기가 작은 CGRP 함유신경세포에 대해서 선택적으로 보호작용을 나타낸 것이라고 생각할 수도 있으나 이것에 대하여는 더 많은 연구를 해보아야 할 것 같다.

이상과 같이 신경성장인자는 당뇨병성신경병증의 완화에 매우 효과적임을 확인할 수 있었던 바 다른 종류의 말초신경병증에서도 좋은 효과를 나타내고 있음이 보고되고 있다. Taxol과 같은 암유발물질에 의해 야기된 신경병증에서도 신경성장인자를 투여함으로써 꼬리신경에서 compound action-potential 의 크기가 감소하고, 척수신경절내에서 substance P의 양이 감소하며 통각에 대한 역치값이 증가하는 등 증상의 완화를 보인다고 하였다(Apfel 등, 1991). 당뇨병성신경병증에서 척수신경절내의 신경성장인자의 감소에 의해 카테콜아민성 신경전달물질의 합성이 저하되어 신경성장인자의 투여에 의해 이러한 감소를 막을 수 있다고 하나 어떤 상황에서나 신경성장인자의 주사에 의해 축삭변성이나 세포체의 소실을 막을 수 있는지에 대해서는 아직도 의문으로 남아있다고 하였다(Hellweg와 Hartung, 1990). 치료적인 차원에서 신경성장인자의 항혈청을 주사하면 척수신경절내의 substance P의 수준을 낮춤으로서 만성통증을 조절할 수 있다고도 생각할 수 있지만(Cheshire 등, 1990) 아직은 가능성에 머무르고 있다. 다른 신경영양물질을 말초신경이나 중추신경계의 신경변성에 의한 질병에 적용하려는 시도도 지금 추진중인 것으로 알려져 있다. BDNF는 중뇌핵(mesencephalic nucleus)에서 methyl-

tetrahydropyridine (MPTP)의 독성효과를 감소시키며 (Hyman 등, 1991) CTNF를 신생흰쥐의 절단된 안면신경에 적용시켰을 때 해당하는 운동신경의 변성이 나타나지 않는다고 한다 (Sendtner 등, 1990).

이상의 사실들을 종합해 볼 때 신경성장인자는 성숙동물에서 신경조직의 정상적인 작용에 필수 불가결한 물질이며, 여러 종류의 신경병증에서 매우 중요한 역할을 하고 있음을 알 수 있다. 특히 본 실험의 주제인 당뇨병성신경병증에서도 신경성장인자의 감소가 발병원인이 될 수 있음을 확인할 수 있었으며 이러한 신경성장인자의 감소로 인해 성숙흰쥐의 척수신경절내에서 신경세포가 어느 정도의 세포가 손실됨을 알 수 있었다. 또한 당뇨유발과 동시에 신경성장인자를 투여해 봄으로써 신경성장인자는 척수신경절내에서 신경세포의 소실을 막아줄 뿐만 아니라 substance P나 CGRP와 같은 통각에 관여하는 신경전달물질의 대사에 영향을 미쳐 당뇨병성신경병증의 유발을 저지할 것이라고 생각된다.

## 참 고 문 헌


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

Apfel SC, Arezzo JC, Lipson L, Kessler JA : Nerve growth factor prevents experimental cisplastin neuropathy. *Ann Neurol 31: 76–80, 1992.*

Apfel SC, Arezzo JC, Brownlee M, Federoff H, Kessler JA : Nerve growth factor administration protects against experimental diabetic sensory neuropathy. *Brain Res 634: 7–12, 1994.*

Brownlee M : Advanced products of nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *In Diabetes Mellitus. Theory and Practice, eds. Rifikin H, Porte D, Elsevier, New York, pp. 279–291, 1990.*

Calcutt NA, Tomlinson DR, Willars GB, Keen P : Axonal transport of substance P–like immunoreactivity in ganglioside–treated diabetic rats. *J Neurol Sci 96: 283–291, 1990.*

Cheshire WP, Snyder CR : Treatment of reflex sympathetic dystrophy which topical capsaicin. Case report. *Pain 42: 307–311, 1990.*

Diemel LT, Stevens EJ, Willars GB, Tomlinson DR : Depletion of substance P and calcitonin gene–related peptide in sciatic nerve of rats with experimenRal diabetes: effects of insulin and aldose reductase inhibition. *Neurosci Lett 137: 253–256, 1992*

Dulbecco R, Margi L : Ricerche sul numero dei neuroni sentivi nei gangli dei metameri toracici dell' uomo. *Monit Zool Ital 44: 126–131, 1933.*

Duchen LW, Anjorin A, Watkins PJ, Mackay JD : Pathology of autonomic neuropathy in diabetes mellitus. *Ann Intern Med 92: 301–303, 1980.*

Dyck PJ : Hypoxic neuropathy: Does hypoxia play a role in diabetic neuropathy. *Neurology, 39: 111–118, 1989.*

Dyck PJ, Karnes JL, Daube J, O'Brien P, Service FJ : Clinical and neuropathologic criteria for the diagnosis and staging of diabetic polyneuropathy. *Brain 108: 861–880, 1985.*

Faradji V, Sotelo J : Low serum levels of nerve growth factor in diabetic neuropathy. *Acad Neurol Scand 81: 402–406, 1990.*

Gold BG, Mobley WC, Matheson SF : Regulation of axonal caliber, neurofilament content and nuclear localization in mature sensory neurons by nerve growth factor. *J Neurosci 11: 943–955, 1991.*

Gorin PD, Johnson Jr EM : Effects of long–term nerve growth factor deprivation on the nervous system of the adult rat: an experimental autoimmune approach. *Bain Res 198: 27–42, 1980.*

Greene D : The pathogenesis and prevention of diabetic neuropathy and nephropathy. *Metabolism 37 suppl 1: 25–32, 1988.*

Hellweg R, Hartung HD : Endogenous levels of nerve growth factor (NGF) are altered in experimental diabetes mellitus: a possible role for NGF in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *J Neurosci Res 26: 258–267, 1990.*

Hellweg R, Wohrle M, hartung HD, Stracke H, Hock C, Fegerlin K: Diabetes mellitus associated decrease in nerve growth factor levels is reversed by allogenic pancreatic islet transplantation. *Neurosci Lett 125: 1–4, 1991.*

Hyman C, Hofer M, Yves–Alain B, juhasz M, Yancopoulos GD, Squinto SP, Lindsay RM : BDNF is a neurotropfic factor for dopa-minergic neurons of the substantia nigra. *Nature 350: 230–232, 1991.*

Jakobsen J : Axonal dwindling in early experimental diabetes. *Diabetologia 12: 539–546, 1976.*

Ju G, Hokfelt T, Brodin E, Fahrenkrug J, Fischer JA, Frey P, Elde RP, Brown JC : Primary sensory neurons of the rat showing calcitonin gene–related peptide immunoreactivity and their relation to substance P–, somatostatin–. galanin–, vasoactive intestinal polypeptide– and cholecystokinin–immunoreactive ganglion cells. *Cell Tiss Res 247: 417–431, 1987.*

Kasayama S, Oka T : Impaired production of nerve growth factor in the submandibular gland of diabetic mice. *Am J Physiol 257: E400–E404, 1989.*

Königsmark BW : Methods for the counting of neurons. *In Contemporary Research Methods in Neuroanatomy, eds. Nauta WJH, Ebbsson SOE, Springer Verlag, New York, pp. 315–340, 1970.*

Larsen JR, Sidenius P : Slow axonal transport of structural polypeptides in rat: early changes in streptozotocin diabetes and effect of insulin treatment. *J Neurochem 52: 390–401, 1989.*

Lindsay RM, Harmar AJ : Nerve growth factor regulates expression of neuropeptide gene in adult sensory neurons. *Nature 337: 362–364, 1989.*

Low PA, Walsh JC, Huang CY, McLeod JG : The sympathetic nervous system in diabetic neuropathy. *Brain 98: 341–356, 1975.*

Macioce P, Filliatreau G, Figliomeni B : Slow axonal transport impairment of cytoskeletal proteins in streptozotocin–induced diabetic neuropathy. *J Neurochem 53: 1261–1267, 1988.*

Medori R, Jenich H, Autilio–Gambetti L, Gambetti P : Experimental diabetic neuropathy: similar changes of slow axonal transport and

axonal size in different animal models. *J Neurosci 8: 1814−1821, 1988.*

Miller MS, Miller MJ, Burks TF, Spies IG : Altered retrograde axonal transport of nerve growth factor after single and repeated-doses of acrylamide in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol 69: 96−101, 1986.*

Pinter MJ, Noven SV, Miccio D, Wallac N : Axotomy-like changes in cat motoneuron electrical properties elicited by botulinum toxin depend on the complete elimination of neuromuscular transmission. *J Neurosci 11: 657−666, 1991.*

Rich KM, Luszczinski JR, Osborne PA, Johnson EM Jr : Nerve growth factor protects adult sensory neurons from cell death and atrophy caused by nerve injury. *J Neurocytol 16: 261−268, 1987.*

Richardson PM : Neurotrophic factors in regeneration. Curr Opin *Neurobiol 1: 401−406, 1991*

Richardson PM, Riopelle RJ : Uptake of nerve growth factor along peripheral and spinal axons of primary sensory neurons. *J Neurosci 4: 1683−1689, 1984.*

Richardson PM, Vergel Issa VMK, Riopelle RJ : Distribution of neuronal receptors for nerve growth factor in the rat. *J Neurosci 6: 2312−2321, 1986.*

Robinson JP, Willars GB, Tomlinson DR, Keen P : Axonal transport and tissue contents of substance P in rats with long-term streptozotocin-diabetes. Effects of the aldose reductase inhibitor 'statil'. *Brain Res 426: 339−348, 1987.*

Sasaki T, Yasuda H, Maeda K, Kikkawa R : Hyperalgesia and decreased neuronal nitric oxide synthetase in diabetic rats. *Neuroreport 9: 243−247, 1998.*

Schaumburg HH, Spencer PS, Thomas PK : Disorders of peripheral nerves. F.A. davis, Philadelphia, *1983.*

Schmidt Y, Unger JW, Bartke I, Reiter R : Effect of nerve growth factor on peptide neurons in dorsal root ganglia after taxol or cisplatin treat and in diabetic (bd/db) mice. *Exp Neurol 132: 16−23, 1995.*

Schwartz M, Spirman M : Sprouting from chicken embryo dorsal root ganglia induced by nerve growth factors is specifically inhibited by affinity-purified antiganglioside antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA 79: 6080−6083, 1982.*

Sendtner M, Kreutzberg GW, Thoenen H : Ciliary neurotrophic factor prevents degeneration of motor neurons after axotomy. *Nature 345: 440−441, 1990.*

Sickles DW : Toxic neurofilamentous axonopathies and fast anterograde axonal transport. I. The effects of single doses of acrylamide on the rate and capacity of transport. *Neurotoxicology 10: 91−102, 1989.*

Sidenius P, Jakobsen J : Anterograde fast component of axonal transport during insulin-induced hypoglycemia in nondiabetic and diabetic rats. *Diabetes 36: 853−858, 1987.*

Sternberger LA : Immunohistochemistry. Prentice Hall, New Jersey, *pp. 104−169, 1979.*

Stockel K, Schwab M, Thoenen H : Specificity of retrograde transport of nerve growth factor (NGF) in sensory neurons: a biochemical and morphological study. *Brain Res 89: 1−14, 1975.*

Terenghi G, Chen S, Carrington AL, Polak JM, Tomlinson DR : Changes in sensory neuropeptides in dorsal root ganglion and spinal cord of spontaneously diabetic BB rats, A quantitative immunohistochemical study. *Acta Diabetol 31: 198−204, 1994.*

Thoenen H, Brade YA : Physiology of nerve growth factor. *Physiol Rev 60: 1284−1335, 1980.*

Thomas PK, Brown MJ : Diabetic polyneuropathy in diabetic neuropathy. *In Diabetic Neuropathy, eds. Dyck PJ, Thomas PK, Asbury AK, Winegrad AI, W.B. Saunders, Phildelphia, pp. 56−65, 1987.*

Tomlinson DR, Robinson JP, Willars GB, Keen P : Deficient axonal transport of substance P in streptozotocin-induced diabetic rats. Effects of sorbinil and insulin. *Diabetes 37: 488−493, 1988.*

Verge VMK, Grodin J, Riopelle RJ, Richardson PM : Receptor radioautography and *in situ* hybridization for NGF receptors in primary sensory neurons. *Soc Neurosci Abstr 17: 1498, 1991.*

Verge VMK, Richardson PM, Benoit R, Riopelle RJ : Histochemical characterization of sensory neurons with high-affinity receptors for nerve growth factor. *J Neurocytol 18: 583−591, 1989.*

Verge VMK, Riopelle RJ, Richardson PM : Nerve growth factor receptors on normal and injured sensory neurons. *J Neurosci 8: 914−922, 1989.*

Willars GB, Calcutt NA, Compton AM, Tomlinson DR, Keen P : Substance P levels in peripheral nerve, skin, atrial myocardium and gastrointestinal tract of rats with long-term diabetes mellitus. Effects of aldose reductase inhibition. *J Neurol Sci 91: 153−164, 1989.*

Yagihashi S, Kamijo M, Watanabe K : Reduced myelinated fiber size correlates with loss of axonal neurofilaments in peripheral nerve of chronically streptozotocin diabetic rats. *Am J Pathol 136: 1365−1373, 1990.*

Yorek MA, Dunlap JA, Stefani MR, Davison EP : Reduced $Na^+/K^+$ ATPase transport activity, resting membrane potential and bradykinin-stimulated phosphatidylinositol synthesis by polyol accumulation in cultured neuroblastomas. *Neurochem Res. 19: 321−30, 1994.*

## Legends for Figures

**Fig. 6.** Somata of dark cell of the $L_5$ DRG in control group.
Centrally located pale and round nucleus is seen (N). Nissl bodies are well developed. Golgi apparatus (G) appears well developed and are present in several areas of neuronal cytoplasm. It contains long parallel cisternae with which many vesicles are associated. Mitochondria (M) are randomly distributed and contains moderate number of cisternae. Some of lysosoms (L) are seen. Scale bar = 0.5 μm

**Fig. 7.** Somata of light cell (type A) of $L_5$ DRG in control group.
Well developed Nissl bodies are seperated by spaces containing many microtubules (MT) and neurofilaments (NF). The ganglion cell contains numerous mitochondria (M) and Golgi apparatus (G) which are rather evenly dispersed through the cytoplasm. And lipofuscin granules (LF) are seen. Scale bar = 0.5 μm

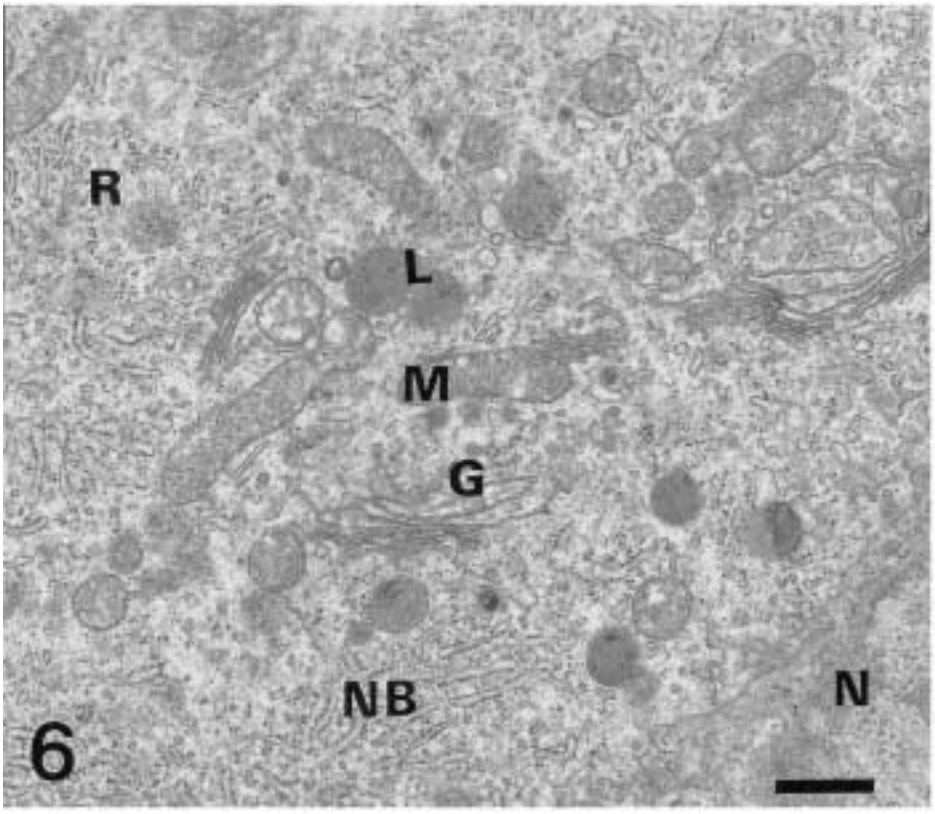
**Fig. 8.** Satellite cell of $L_5$ DRG in control group.
Satellite cell is surrounded by basal lamina (BL). Intercellular space (ICS) with collagen (C) is observed. Centrally located nucleus with nuclear envelope is seen (N). Rough endoplasmic reticulum (RER) and many clusters of free ribosomes (R) located in the near nucleus. Mitochondria (M) are randomly distributed. Scale bar = 0.5 μm

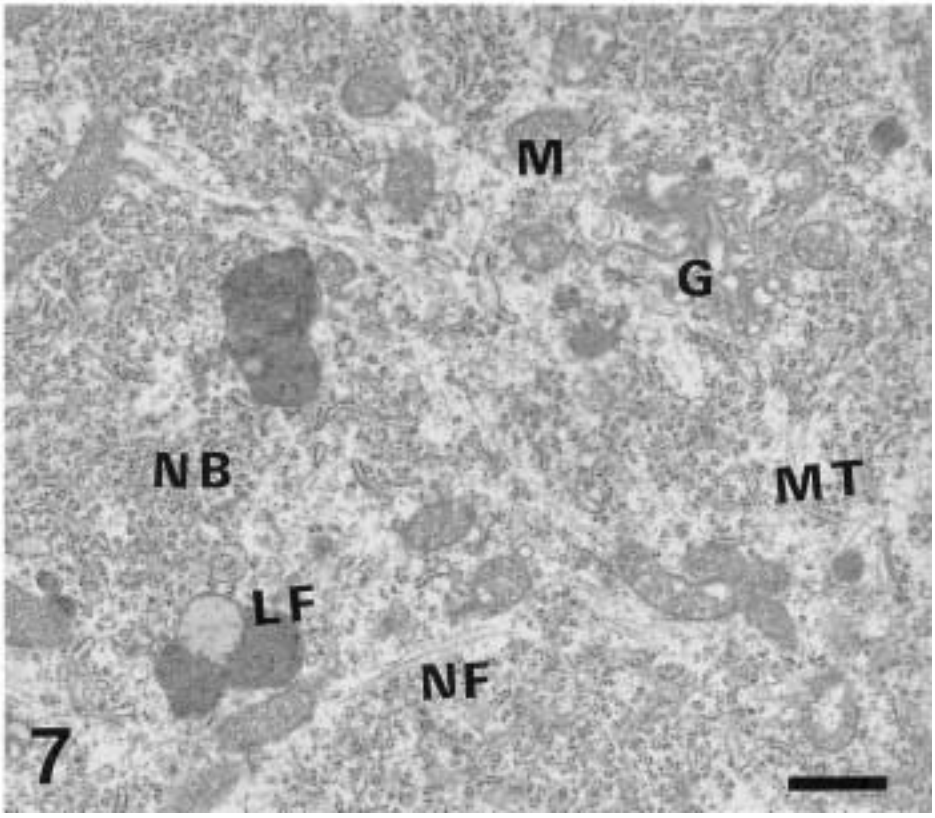
**Fig. 9.** Somata of the dark cell(type B) of the $L_5$ DRG in diabetic group.
Nucleus showes irregular contour (arrow). Some of the Nissl aggregates (NB) lost their compact arrangement and are dispersed over a large area. These dispersed Nissl bodies frequently occupied that portion of the cytoplasm adjacent to the cell membrane. Scale bar = 0.5 μm

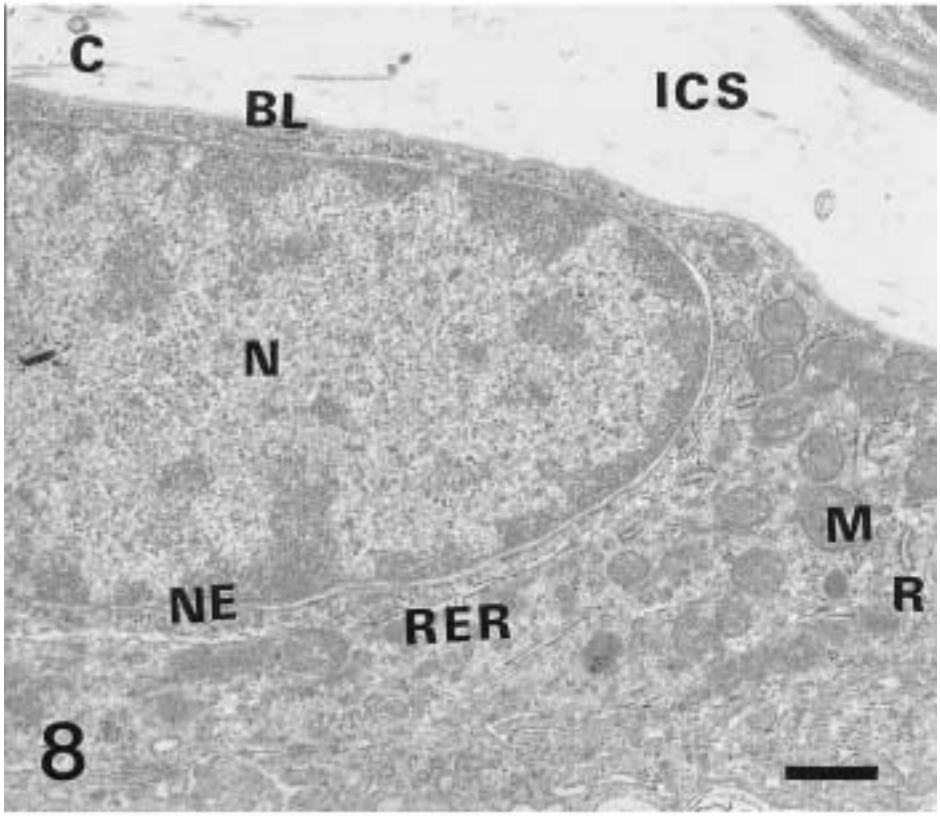
**Fig. 10.** Satellite cell of the $L_5$ DRG in diabetic group.
Nucleus (N) showes irregular contour. In the upper left, neuron-satellite cell interface (arrow) is gapped. Many vacuoles and dense bodies are observed. Scale bar = 0.5 μm

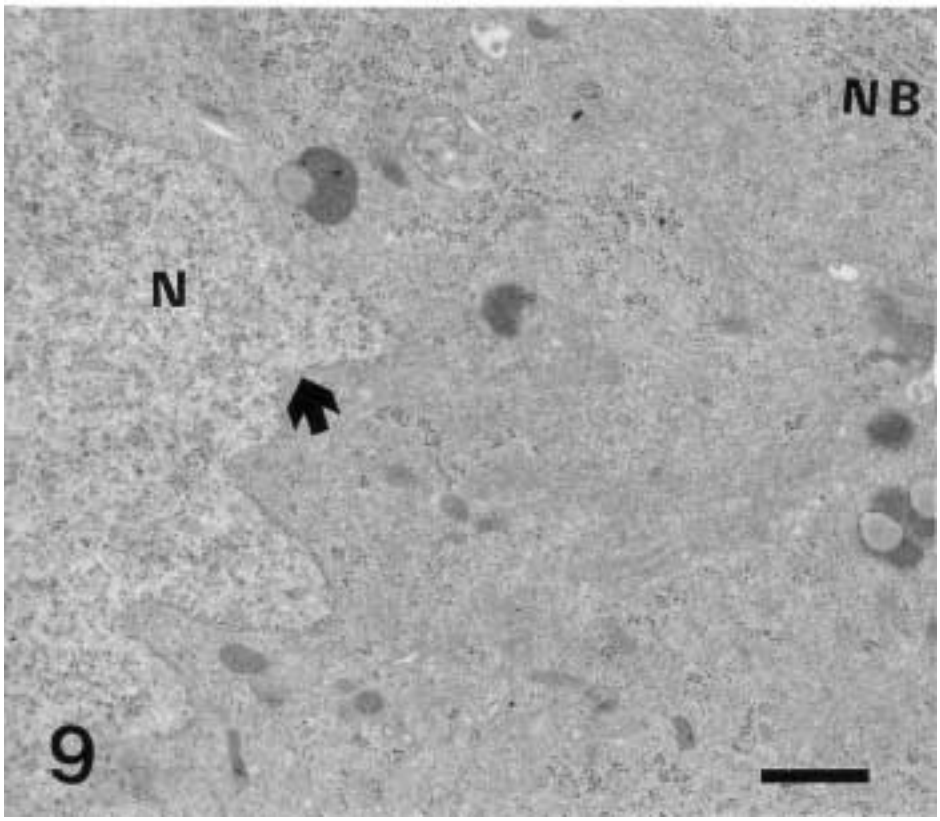
**Fig. 11.** Somata of the light cell (type A) of the $L_5$ DRG in NGF administered diabetic group.
Nissl bodies (NB) are well developed. Many neurofilaments (NF) and neurotubules (NT) are seen. Scale bar = 0.5 μm

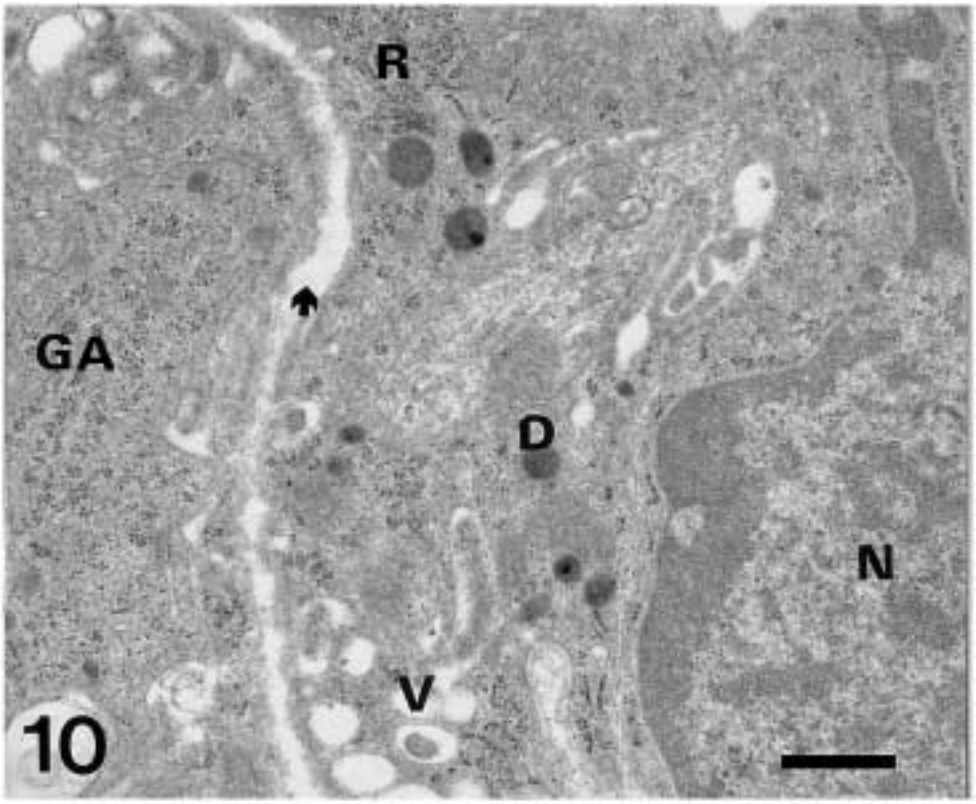
**Fig. 12.** Satellite cell of the $L_5$ DRG in NGF administered diabetic group.
Neuron-satellite cell interface is regular in form. Many ribosomes (R), round nucleus (N), Golgi apparatus (G), rough endoplasmic reticulum (RER) are in normal. Scale bar = 0.5 μm

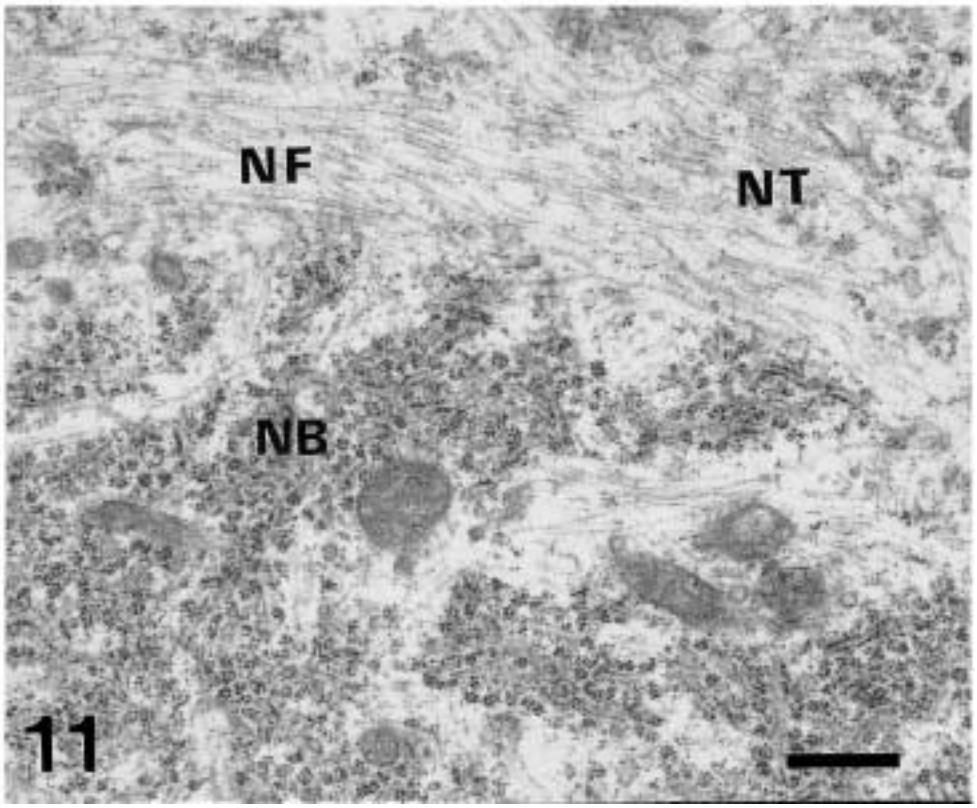

R
L
M
G
NB
N
6

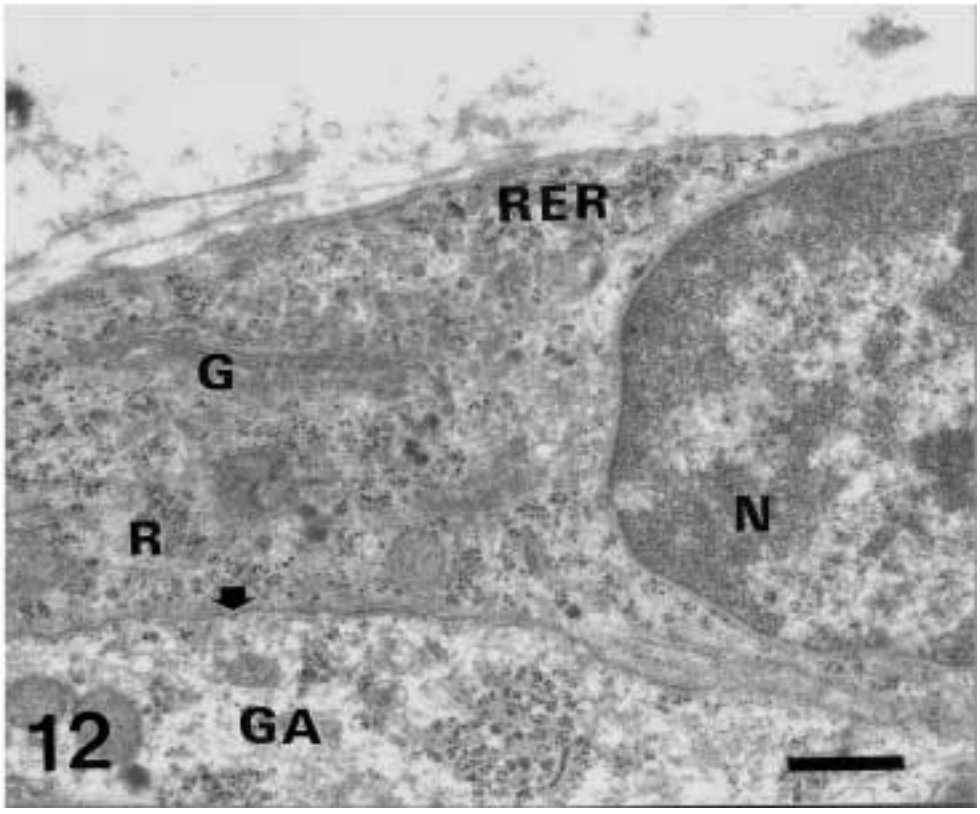

M
G
NB
MT
LF
NF
7


C
BL
ICS
N
M
R
NE
RER
8


NB
N
9


R
GA
D
N
V
10


NF
NT
NB
11


RER
G
N
R
12
GA

**— Abstracts —**

# The Immunohistochemical and Morphometric Study of the Effect of Nerve Growth Factor on Spinal Ganglia in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Seung Hwa Park, Eun Joo Baik[1], Won Taek Lee[2]
Eui Yu Park[3], Kyung Ah Park[2]

Department of Anatomy, College of Medicine, Kon-Kuk University, Chung Ju
[1]Department of Physiology, College of Medicine, Ajou University, Suwon
[2]Department of Anatomy, Yonsei University, College of Medicine, Seoul
[3]Department of Pathology, College of Medicine, Kon-Kuk University, Chung Ju

Recently diabetic neuropathy has been postulated to occur from reduced availability of neurotrophic factor. This experiment was performed to identify the effect of nerve growth factor on dorsal root ganglia (DRG) in the streptozotocin-induced diabetic rat using morphometry and immunohistochemistry.

The results obtained are as follows :

1. Unlike in the diabetic group where the type A and B cells were significantly decreased in their total numbers and sizes, these cells were normal in NGF-administered diabetic group.
2. Numbers of cells immunoreactive with SP and CGRP were also significantly decreased in the diabetic group. However, the NGF-administered diabetic group did not show any reduction in the number of these cells.
3. Mean sizes of cells immunoreactive with SP and CGRP cells were reduced in the diabetic group by 18.1% and 26.6% respectively ($P < 0.01$). On the other hand, in NGF-administered diabetic group, mean sizes of SP-immunoreactive cells were increased (10.5%) which was not statiatically significant, and those of CGRP-immunoreactive cells were decreased (18%) compared to the control group ($P < 0.01$).
4. In the diabetic group, many of nerve cell bodies showed some degenerative characteristics including neuron-satellite cell interface of irregular shape, the presence of a number of vacuoles and dense bodies, and nucleus of irregular contour. However, NGF-administered diabetic group exhibited neuron-satellite cell interface of regular form, many neurofilaments and neurotubules, and normal intracellular organelles.

These results suggest that administration of NGF protects spinal ganglion cells from morphometric and morphological changes which are associated with a streptozotocin -induced diabetic neuropathy.

**Key words** : Diabetic Neuropathy, Spinal Ganglia, Nerve Growth Factor