

척수손상 흰쥐에서 방광 내 전기자극치료의 효과 및 기전

The Effect and Mechanism of Intravesical Electrical Stimulation in Spinal Cord Injured Rats

Hyung Jin Jeon, Mei Hua Jin¹, Hae Kyung Ko¹, Chang Hee Hong², Jang Hwan Kim, Sang Won Han

From the Department of Urology, Urological Science Institute and ¹Brain Korea 21 Project for Medical Science, Yonsei University College of Medicine, Seoul, and the ²Department of Urology, Hallym University College of Medicine, Chuncheon, Korea

Purpose: The objective of this study was to evaluate whether the effect on afferent c-fiber activity is the underlying mechanism of intravesical electrical stimulation (IVES) in spinal cord injured rats.

Materials and Methods: Thirty five female Sprague-Dawley rats weighting 200-300g each were divided into the normal and spinalized groups. For the spinalized rats, we observed the c-fos expression, and we compared this in the non-IVES group with that in the IVES group. Cystometrograms were performed for all the groups via a suprapubic catheter.

Results: After performing IVES in the normal and spinalized rats, the abnormal increases of the intercontraction interval (ICI) and the voiding pressure (VP) were reduced close to the normal range. In the spinalized rats, the number of c-fos positive cells in the dorsal commissure (DCM) decreased in the group that had IVES performed when compared with the non-IVES group.

Conclusions: The IVES reduced the c-fos gene expression in the L6-S1 spinal cord segment and also the bladder hyperreflexia in the spinalized rats through the inhibition of afferent c-fiber activity, in addition to affecting the Aδ mechanoreceptors. (Korean J Urol 2006;47:303-309)

Key Words: Electrical stimulation, c-fos, Spinal cord injuries, Rats

대한비뇨기과학회지
제 47 권 제 3 호 2006

연세대학교 의과대학
비뇨기과학교실, 비뇨의과학연구소,
¹BK21의과학사업단, ²한림대학교
의과대학 비뇨기과학교실

전형진 · 김매화¹ · 고혜경¹
홍창희² · 김장환 · 한상원

접수일자 : 2005년 7월 5일
채택일자 : 2005년 11월 30일

교신저자: 한상원
세브란스병원 비뇨기과
서울시 서대문구 신촌동 134
☎ 120-752
TEL: 02-2228-2310
FAX: 02-312-2538
E-mail: swhan@yumc.
yonsei.ac.kr

본 연구는 연세대학교 의과대학 2004년도
교수연구비에 의해 이루어졌음 (6-2004-
1082).

서 론

방광 내 전기자극 치료의 효과는 크게 두 가지로 볼 수 있다. 첫째는 어떤 원인에 의하여 방광의 수축능력을 상실한 경우에 배뇨근 수축을 유도하는 효과이고, 둘째는 방광의 유순도가 감소하고 고압력을 보이면서 방광용적이 감소된 환자에서 방광용적을 증가시키는 효과이다.¹⁻⁴ 특히, 척수수막류와 같은 척수기형이나 척수손상에 의한 신경인성 방광을 가진 환자에서 선택적으로 방광 내 전기자극을 시행하고 있으며, 치료 전에 방광용적이 현저히 감소되어 있는 경우에 치료효과가 뚜렷하였다.^{2,5} 이외에도 비정상적인 배뇨근 수축의 억제, 배뇨근 유순도의 증가, 방광 내 충만감의 증가, 배변기능의 강화와 같은 여러 가지 효과들이 발표

되고 있으나 이를 뒷받침할 수 있는 연구는 아직까지 미흡한 실정이다.^{1,2,6,7}

정상 쥐에서 방광 내 전기자극을 시행하면, 배뇨역치용적 (micturition threshold volume)이 감소하여 배뇨근의 수축빈도가 증가하게 된다. 이는 방광 내 수용체 활성화의 증가로 중추신경으로 흥분성 시냅스 전송이 증가하기 때문이다.⁸ 방광내 전기자극에 의한 효과는 하행성 연수척수 흥분성 경로의 NMDA 수용체와도 관련이 있으며, 방광의 기계적 수용체와 뇌교배뇨중추 (pontine micturition center)를 포함한 상행성 신경 사이의 흥분성 glutamate 시냅스에 작용하여 배뇨근 수축을 증가시키는 것으로 알려져 있다.^{9,10}

방광내 전기자극의 효과는 Aδ 기계적 수용체를 통해 배뇨근 수축력을 증가시킨다.⁴ 하지만 이러한 연구들은 실제 임상적으로 효과를 나타내고 있는 척수손상이 있는 경우에

시행하지 않고 정상 배뇨반사를 보이는 쥐에서 Aδ 구심성 신경섬유에 한정되어 있어 병적인 방광에서 활성화되는 C 섬유에 방광내 전기자극이 미치는 영향에 관한 연구는 거의 없다. 척수손상 후에 나타나는 방광의 구심성 신경의 변화는 C 섬유의 비율이 현저히 증가한다.¹¹ 따라서 방광 내 전기자극의 효과는 Aδ 섬유뿐만 아니라 다수를 차지하는 C 섬유에도 영향을 미칠 것으로 생각한다. 본 연구에서는 척수손상 흰쥐에서 요역동학검사 및 면역조직화학염색을 통하여 C 구심성 신경섬유에 대한 방광 내 전기자극의 영향을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험군 분류

체중 250-300g의 성숙한 암컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였고 크게 정상 흰쥐군과 척수손상 흰쥐군으로 분류하였다. 척수손상 흰쥐군은 생리식염수 주입군, capsaicin (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA) 전처치군, 방광 내 전기자극군으로 세분화하였다. 각 군마다 면역조직화학염색과 요역동학검사를 시행하였다.

1) 정상 흰쥐군

(1) 생리식염수 주입군 (대조군, 5마리); 정상 흰쥐에서 enflurane 흡인 마취 후에 하복부를 절개하고 방광의 정부에 절개를 가하고 polyethylene 카테터 (PE-50) (Becton-Dickinson, Franklin Lake, USA)를 방광 내 삽입 고정하고 삽입한 카테터를 통하여 생리식염수를 0.04ml/min로 2시간 동안 지속관류시켜 규칙적인 방광수축을 유도하였다.

(2) 방광 내 전기자극 전처치군 (15마리); 방광 내 전기자극에 의한 *c-fos*의 발현을 알아보기 위하여 정상 흰쥐에서 방광내 전기자극을 시행한 후 1일, 3일, 5일, 7일, 9일에 각각 3마리씩 희생시켰다.

2) 척수손상 흰쥐군

(1) 생리식염수 주입군 (5마리); 척수손상 흰쥐에서 생리식염수를 정상 흰쥐에서 생리식염수 주입군과 같은 방법으로 2시간 동안 지속 관류시켜 방광수축을 유도하였다.

(2) Capsaicin 전처치군 (5마리); Capsaicin 전처치를 시행한 척수손상 흰쥐에게 같은 방법으로 2시간 동안 생리식염수를 지속 관류하였다.

(3) 방광 내 전기자극 전처치군 (5마리); 척수손상 흰쥐에서 방광 내 전기자극을 5일간 시행한 후 7일째에 삽입한 방광 내 카테터를 통하여 생리식염수를 2시간 동안 지속 관류하였다.

2. 실험방법

1) 척수손상: Acepromazine (0.05mg/kg), ketamine (50mg/kg)과 xylazine (5mg/kg)를 피하주사하고 enflurane을 이용하여 전신마취한 상태에서 등쪽 피부를 절개하여 흉추 아홉 번째에서 열 번째 척추궁관을 제거하였다. 척수손상에 의한 비정상적인 배뇨근 수축을 유도하기 위해 아홉 번째 흉수를 완전 절단하였다. 절단 후 절단부위에 젤폼 (Johnson and Johnson Medical Limited, Skipton, UK)을 넣고 절개부위를 봉합하였다. 시술 하루 전 예방적 항생제 (ampicillin 150 mg/kg)를 근육주사하였고 시술 후 1주일간 항생제를 투여하였다. 척수손상을 시행한 동물의 위생상태를 청결하게 유지하고 척수쇼크에서 벗어나 자가배뇨가 가능할 때까지 하루 3회에서 4회씩 방광을 눌러 배뇨를 유도하였다. 척수손상을 시키고 6-8주 후에 요역동학검사를 시행하였다.

2) Capsaicin 전처치: Sodium pentobarbital (50mg/kg i.p.)로 마취한 후 capsaicin (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)을 용매 (10% ethanol, 10% Tween 80% 생리식염수)에 용해시켜 125mg/kg을 2일간 피하주사하였다. 1일째는 capsaicin 25 mg/kg을 피하주사하였고 12시간 후에 50mg/kg을 피하주사하였다. 2일째는 50mg/kg을 한 번만 피하주사하였고 48시간 후에 capsaicin 용액 (20ul/ml)을 안구에 점적하여 눈감박 임반응 (eye-wipe test)을 측정하여 capsaicin 탈감작상태를 확인하였다. Capsaicin 전처치 시 호흡장애를 방지하기 위해 atropine (0.2mg/kg), terbutaline (0.2mg/kg), aminophylline (20 mg/kg)을 capsaicin 주입 15분 전에 복강 내 주사하였다.

3) 방광 내 전기자극: Ketamine (50mg/kg)과 xylazine (50 mg/kg)을 복강 내 주입하여 마취시키고, 백금 철사가 삽입된 요도 카테터를 요도를 통해 삽입하여 음극으로 이용하고 동판을 양극으로 이용하기 위해 방광의 위치에서 복벽 피부에 위치시켰다. 방광 내 전기자극은 임상에서 적용하는 MS-310 (Vitacon, Trondheim, Norway)을 이용하여 20Hz의 Frequency, 8-15mA, 0.2ms의 pulse duration으로 매일 20분간 규칙적으로 자극하였고 5일간 반복하였다.

4) 요역동학 검사: Enflurane을 흡인시켜 마취한 후 복부 절개를 가하고 방광을 노출시킨 다음 방광정부에 polyethylene (PE-50) 카테터를 삽입 고정하였고 2시간 동안 생리식염수를 주입하였다. 이 과정에 pressure transducer를 Powerlab system (AD instruments, Australia)에 연결하고 정상흰쥐에서 배뇨근 수축빈도 (intercontraction interval; ICI), 배뇨근 수축압 (maximal voiding pressure; MVP)을 측정하였고 척수손상 흰쥐에서는 배뇨를 동반하지 않은 배뇨근 수축 (nonvoiding contraction; NVC)과 배뇨를 동반한 배뇨근 수축 (voiding contraction; VC)에 대한 배뇨근 수축빈도, 방광내

압, 배뇨근 수축압을 측정하였다.

5) 표본 제작: 흰쥐를 ether를 사용하여 마취시킨 후, 2% sodium nitrate와 2% heparin을 넣은 생리식염수 용액을 심장을 통해 관류하고, 4% paraformaldehyde 용액으로 관류하여 고정하였다. 척추궁절제술을 시행하였고, 흰쥐의 배뇨중추인 L6, S1 척수분절을 적출하였다. 적출된 척수는 20% phosphate buffered sucrose (pH 7.4)에 담가 24시간 고정한 후 동결절편기(freezing microtomes, Microm, Walldorf, Germany)를 사용하여 40 μ m 두께의 관상연속절편을 만들어 6 well plate에 순서대로 보관하여 free floating 방법으로 면역조직화화학염색을 시행하였다.

6) 면역조직화화학염색: 박절한 조직은 phosphate buffered saline (PBS)으로 여러 번 세척하고 3% H₂O₂ 용액으로 10분간 처리하여 내인성 peroxidase를 차단하였다. 면역조직화화학염색은 *c-fos* 양성을 나타내는 신경원의 분포 및 변화를 관찰하기 위하여 L6, S1 척수조직 절편에 각각 일차항체 rabbit anti-fos (1:1000, Oncogene, Cambridge, USA)를 4°C에서 12시간 처리하였다. Biotin이 부착된 이차항체에 실온에서 2시간 반응시킨 후 diaminobenzidine (DAB)로 발색하였다.

7) 표본관찰 및 분석: 방광 내 생리식염수 주입에 의한 감각신경의 활성화를 확인하기 위해 척수분절에서 *c-fos* 발현에 대한 면역조직화화학염색을 시행한 후 신경세포의 분포와 수를 비교하였다. 면역조직화화학염색에서 *c-fos* 양성을 나타내는 세포는 S1 척수분절에서 무작위로 5개를 선택하여 4개의 영역에 따라 수를 센 후 각각의 평균을 구하였다.

3. 결과의 비교분석 방법

L6, S1 척수분절에서 *c-fos* 양성을 나타내는 세포의 수는 평균값 \pm 표준편차로 표시하였다. 척수분절의 4개의 영역에 따른 차이를 분석하기 위해서 각 실험군 간의 비교는 Mann-Whitney U test를 사용하였고 p값이 0.05 미만을 통계학적으로 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다. 방광근 수축빈도 (ICI), 방광근 수축압 (MVP) 등의 요역동학검사에서 parameter의 차이는 Student's t-test (unpaired)를 사용하여 비교하였고 p값이 0.05 미만을 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. 요역동학 검사

정상 흰쥐에서 생리식염수로 방광수축을 유도한 경우보다 척수손상 흰쥐의 경우 평균 배뇨를 동반한 수축(voiding contraction; VC)과 수축 사이의 간격(intercontraction interval; ICI)은 373sec (204-633)에서 642sec (338-994)로 증가하였고, 평균 배뇨압은 27.5cmH₂O (21.1-32.9)에서 57.3cmH₂O

(40.0-88.9)로 높아졌다 (Fig. 1, 2).

척수손상 흰쥐에서 나타난 VC의 평균압력은 29.2cmH₂O (19.7-38.1)였고 VC 사이에 나타나는 NVC의 평균횟수는 12.2회 (7-20)였다 (Fig. 1, 2). 방광 내 전기자극 후 시행한 요역동학검사에서 평균 ICI는 275sec (194-382)로 감소하였고 배뇨압은 33.9cmH₂O (31.3-36.2)로 감소하여 정상 흰쥐에서 생리식염수를 주입하여 방광수축을 유도한 경우와 비슷한 결과를 보였다. 또한 NVC의 평균압력은 20.3cmH₂O (11.1-

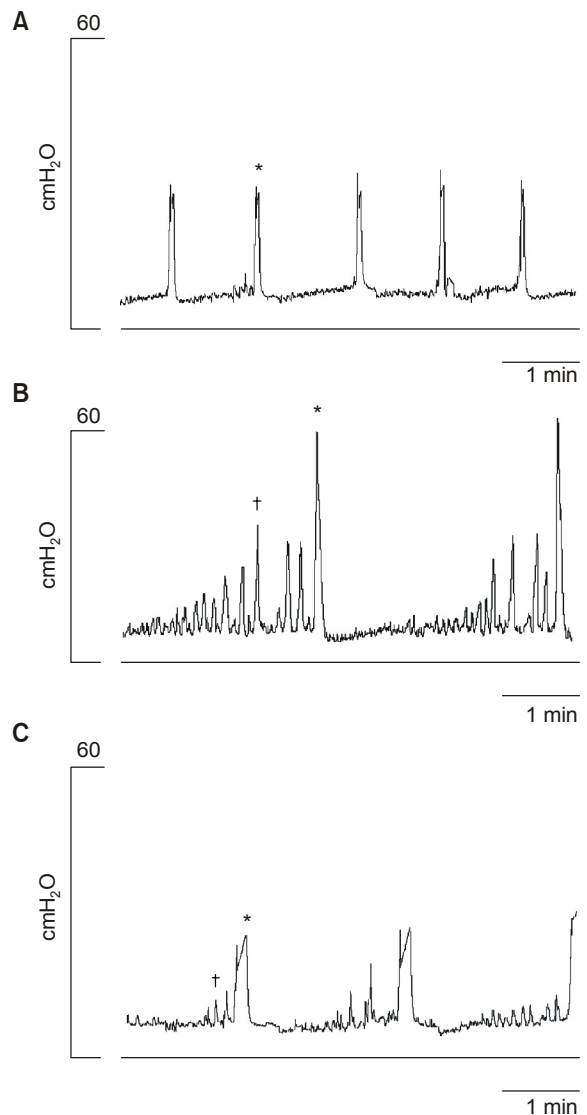


Fig. 1. Effects of intravesical electrical stimulation. Cystometrograph after the intravesical instillation of saline in the normal group (A) and the spinalized group (B). Intravesical electrical stimulation improved the urodynamic parameters in the spinalized group (C). Note the decrease in the number and the pressure of the nonvoiding contractions. *: voiding contraction (VC), + : nonvoiding contraction (NVC).

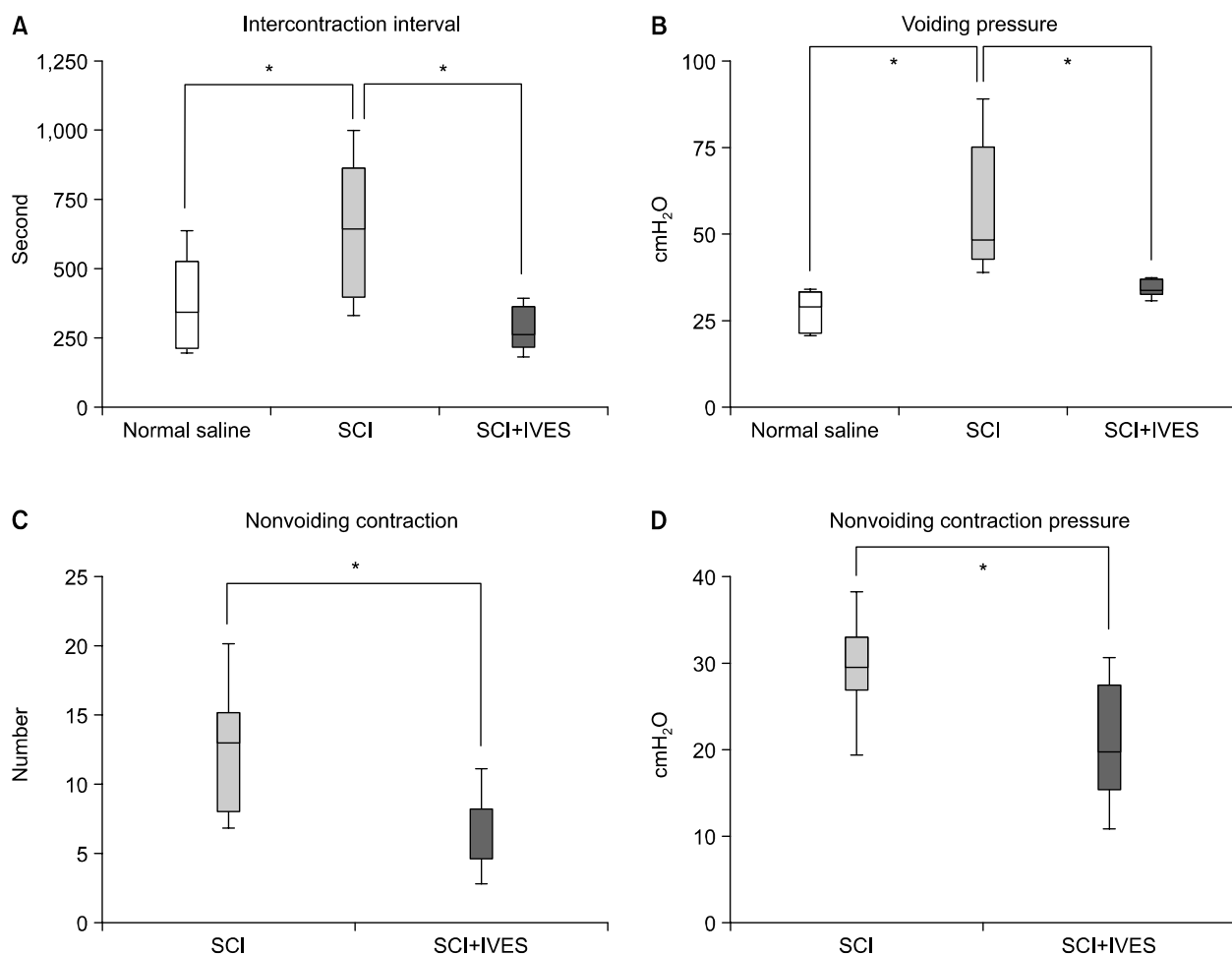


Fig. 2. Intravesical electrical stimulation decreased the intercontraction interval and voiding pressure in the spinalized group (A, B). The number and pressure of the nonvoiding contractions decreased after intravesical electrical stimulation (C, D). SCI: spinal cord injury, IVES: intravesical electrical stimulation. *: statistical analysis by Student's t-test (unpaired) ($p < 0.05$).

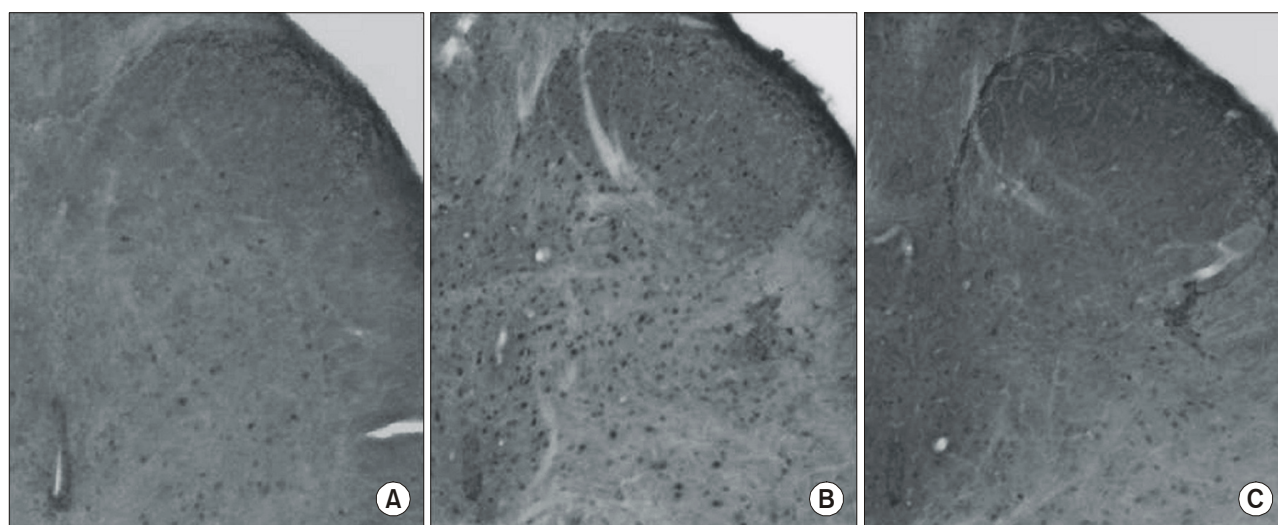


Fig. 3. Immunohistochemical staining. The normal group (A), the saline group (SCI+NS) (B), and the IVES groups (SCI+IVES) (C). SCI: spinal cord injury, NS: normal saline, IVES: intravesical electrical stimulation.

30.2), VC 사이에 나타나는 NVC의 평균횡수는 6.9회 (3-11)로 유의하게 감소하였다 (Fig. 1, 2).

2. 방광에 분포하는 감각신경의 활성화에 따른 *c-fos* 발현의 변화

2시간 동안 방광 내 생리식염수 자극에 의해 활성화된 *c-fos* 양성 신경세포를 확인하기 위하여 L6, S1 척수분절에서 *c-fos* 단백질을 항원으로 하는 면역조직화학염색을 시행한 결과 세포핵에서 *c-fos* 단백질에 대한 양성을 나타내는 갈색의 신경세포 증가를 관찰하였다 (Fig. 3).

Table 1. The number of Fos immunoreactive (IR) cells induced in each group (means \pm SE)

	Fos-IR, cells/section			
	SPN	DCM	MDH	LDH
Control+NS	23.5 \pm 7.1	15.8 \pm 6.9	2.9 \pm 2.3	1.8 \pm 2.1
SCI+NS	35.5 \pm 3.5	94.4 \pm 7.1	23.0 \pm 3.9	18.5 \pm 3.2
SCI+Caps	23.4 \pm 7.2*	18.1 \pm 5.5*	7.7 \pm 4.1*	6.2 \pm 4.6*
SCI+IVES	31.4 \pm 6.3 [†]	32.5 \pm 5.2 [†]	16.3 \pm 2.1 [†]	11.6 \pm 3.6 [†]

Statistical analysis by Mann-Whitney U test ($p < 0.05$), *: p-value indicates the comparison between saline group (SCI+NS) and capsaicin group (SCI+Caps) ($p < 0.05$), [†]: p-value indicates the comparison between saline group (SCI+NS) and IVES group (SCI+IVES) ($p < 0.05$), SCI: spinal cord injury, NS: normal saline, Caps: capsaicin, IVES: intravesical electrical stimulation, MDH: medial dorsal horn, LDH: lateral dorsal horn, DCM: dorsal commissure, SPN: sacral parasympathetic nucleus

정상흰쥐에서 생리식염수를 방광 내에 2시간 동안 주입하여 방광내 감각신경을 활성화시킨 경우, L6-S1 척수분절의 *c-fos* 양성 세포수는 평균 43.9 \pm 13.9 cells/section로 관찰되었다. 영역에 따른 평균 *c-fos* 양성 세포의 분포는 SPN 부위에서 23.5 \pm 7.1cells/section (53.5%), DCM 부위에서 15.8 \pm 6.9cells/section (36.0%)로 SPN 부위에 가장 많이 분포하는 양상으로 나타났다 (Table 1).

척수손상 흰쥐에서 생리식염수를 방광 내에 2시간 동안 주입한 경우 정상 흰쥐와 비교하여 전체 *c-fos* 발현 세포수도 증가하고 특히 DCM 부위에서 차지하는 비율이 94.4 \pm 7.1cells/section (43.8%)로 현저히 증가하였다 (Table 1)(Fig. 4).

척수손상 흰쥐에서 capsaicin을 전처치한 후 생리식염수를 주입한 경우 DCM 부위에서 나타나던 평균 *c-fos* 양성 세포수가 18.1 \pm 5.5cells/section (32.5%)로 감소하였다 (Fig. 4).

척수손상 흰쥐에서 방광 내 전기자극치료 후 생리식염수를 주입한 경우 정상군과 비교하여 전체 *c-fos* 발현이 감소하였고 특히, DCM 부위에서 평균 32.5 \pm 5.2cells/section (35.4%)로 감소하여 capsaicin과 유사한 감소를 나타냈다 (Table 1) (Fig. 4).

고 찰

방광 내 전기자극치료 (intravesical electrical stimulation; IVES)는 1958년 Katona¹²가 처음 소개하였고 미국에서도 1998년 FDA 승인을 받게 되었다. 방광 내 전기자극치료는 배뇨근 수축이 약화된 신경인성 방광이나 방광용적이 감소된 척수수막류 환자에서 시술되고 있는 방법이다.^{2,3,6} 방광

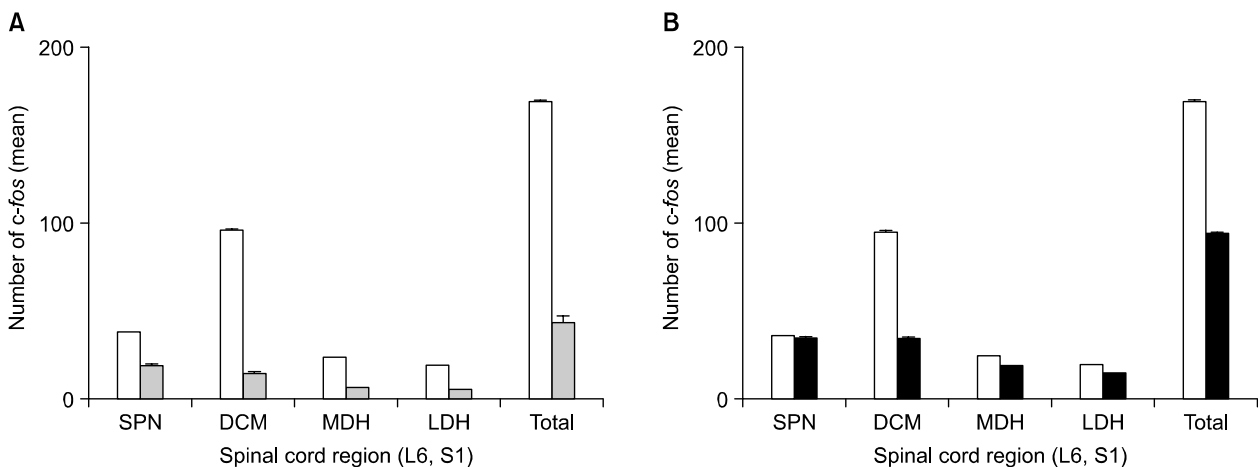


Fig. 4. Topographical distribution according to the *c-fos* expression in the L6-S1 spinal cord of the spinalized rat. Saline group (□) and capsaicin group (■) (A), saline group (□) and IVES group (■) (B). SPN: sacral parasympathetic nucleus, DCM: dorsal commissure, MDH: medial dorsal horn, LDH: lateral dorsal horn.

내 전기자극치료의 작용기전은 기존의 보고에 의하면 Jiang 등^{8,10}이 제안한 것과 같이 크게 두 가지로, 전기자극을 통하여 방광 벽의 Aδ 기계적 수용기를 활성화시켜 배뇨반사에 관여하는 신경섬유의 활성을 지속적으로 강화하여 중심성 신경흥분전달을 증가시켜 배뇨반사의 조절을 유도하는 것이며, 두 번째는 기계적수용기가 잠작되어 낮은 방광용적에서도 반응하게 되어 결국 배뇨가 시작되는 최소방광용적 (micturitional threshold volume)이 감소되는 것이다. 그러나 기존의 대부분의 실험적 연구들은 정상적인 배뇨반사를 보이는 정상 쥐에서 제한적으로 이루어진 것이었다. Jiang¹⁰은 정상 쥐에서 20Hz 주파수, 20mA까지의 강도로 5분 동안 방광 내 전기자극을 시행하였을 경우 Aδ 기계적 수용기를 통한 배뇨근 수축이 일어나는 것을 확인하였다. 이러한 전기자극의 강도는 원심성 신경섬유나 방광근을 직접 자극하기에는 매우 낮은 수준이지만, 척수손상 후에 활성화되는 구심성 신경섬유의 중요한 구성요소 중 하나인 C 섬유에 대한 영향을 증명하지는 않았다.

척수손상에서는 정상 배뇨반사궁이 소실된 상태로 손상 후 수주 동안은 배뇨근이 수축하지 않는 상태를 유지하다가 비정상적인 배뇨근 수축을 일으키는 배뇨반사가 나타나게 된다. Cheng 등¹³은 척수손상 6-8주 후에 시행한 요역동학 검사에서 정상에서는 관찰되지 않는 다수의 배뇨를 동반하지 않는 배뇨근 수축이 나타나는 것을 확인하였다. 이러한 배뇨를 동반하지 않는 배뇨근 수축 (nonvoiding contraction; NVC)은 capsaicin을 주사한 경우에는 소실되었고, 배뇨를 동반하는 배뇨근 수축은 capsaicin 주사 후에도 관찰할 수 있었다. 이러한 결과를 바탕으로 C-fiber가 배뇨근-외요도괄약근 부조화 및 배뇨근 과반사에 관여함을 증명하였다. 본 실험에서도 척수손상 흰쥐가 척수쇼크에서 벗어난 6-8주 후에 시행한 요역동학검사서 비정상적인 배뇨근 수축 (NVC)이 지속적으로 나타나다가 배뇨를 동반한 배뇨근 수축 (voiding contraction; VC)이 관찰되었다. 방광 내 전기자극 후에는 배뇨를 동반하지 않는 배뇨근 수축 (NVC) 횟수 및 수축압의 감소를 통해 방광 내 전기자극치료가 C 섬유에 미치는 영향을 간접적으로 확인할 수 있었다.

척수손상 흰쥐에서 배뇨를 동반한 배뇨근 수축 (VC)에 Aδ 섬유도 중요한 역할을 하고 있다.¹⁴ 본 실험에서 VC의 경우 배뇨근 수축과 수축사이의 간격 (ICI)이 정상 흰쥐에 비해 의미있게 증가하였고 정상에 비해 높은 압력을 나타냈다. 방광 내 전기자극 후에 시행한 요역동학검사에서는 정상 쥐에서와 유사하게 ICI가 감소하는 것을 확인할 수 있으며, 이러한 변화는 Aδ 섬유에 대한 방광 내 전기자극의 효과에 의한 최소역치용적 (micturitional threshold volume)이 감소한 것으로 해석할 수 있다. 또한 방광내 전기자극치료

후에 배뇨 시 압력은 정상에 가깝게 떨어지게 된다. ICI의 경우 통계적으로 유의하지는 않았으나 정상군과 비슷하게 유지되었고 방광 내 압력이 의미있게 감소하는 것은 방광 내 전기자극치료 후 조화로운 배뇨근 수축의 결과라고 할 수 있다. 따라서 방광내 전기자극치료가 정상적인 배뇨근 수축을 강화하며 비정상적인 배뇨근 수축을 억제하는 것을 요역동학검사를 통해 확인할 수 있다. Wang 등¹⁵은 척수손상 흰쥐에서 유발된 과반사 방광에 대한 S1 천수신경에 대한 전기자극 후에 방광내압이 의미있게 감소하였고 이러한 신경조정의 기전은 C 섬유를 통해 일어나는 것을 확인하였다. Kaplan 등¹은 소아에서 전기자극치료 후에 방광역류의 소실 및 요누출내압의 감소를 통한 방광 내 전기자극치료의 효과를 제시하였는데 이러한 것은 모두 방광내압의 감소를 통한 결과라고 할 수 있다.

Capsaicin은 *c-fos* 발현에 관여하는 구심성 신경인 capsaicin 과민 구심성 신경을 탈감작시키는 신경독소로 acetic acid로 방광을 자극하기 전에 capsaicin으로 처치하면 acetic acid로 유발되는 *c-fos*의 발현을 감소시킨다.¹⁶ 척수손상 흰쥐에서도 생리식염수 주입 후 요천추 척수에서 *c-fos* 발현은 capsaicin 전처치에 의해 억제된다.¹¹ 즉, 척수손상이 비침해성 자극에 의한 척수신경원의 Fos 단백질 발현을 변화시키는 것이며, 이러한 구심성 신호전달에 C 섬유가 관여하고 있는 것이다. 본 실험에서도 척수손상 흰쥐에서 capsaicin을 투여한 후 L6, S1 척수신경원에서 *c-fos* 양성 세포수가 감소하는 것을 확인하였으며 방광 내 전기자극 후에도 capsaicin에서와 같은 *c-fos* 양성 세포수의 감소를 나타냈다. 이러한 결과를 바탕으로 방광 내 전기자극의 작용기전이 정상적인 배뇨반사 상태에서 Aδ 구심성 신경섬유를 활성화하여 배뇨근 수축을 유도하는 데 제한되어 있지 않고 C 섬유가 배뇨반사에 관여하는 병적인 상태에서는 C 섬유의 활성화를 억제하고 C 섬유에 의한 배뇨반사를 조정한다고 할 수 있겠다.

C-fos는 중추신경계에서 배뇨반사에 관여하는 신경원의 활성을 나타내는 대표적인 표식인자로 알려져 있다.¹⁷ 척수의 *c-fos* 유전자는 방광의 생리적 상태에서는 발현이 없다가 주로 무수 C 섬유에 의해 전달된 침해성 자극이 척수의 감각신경세포에 노출되면 활성화된다.¹⁸ 척수의 *c-fos* 면역조직염색에서 양성분포에 따라 medial dorsal horn (MDH), lateral dorsal horn (LDH), dorsal commissure (DCM), sacral parasympathetic nucleus (SPN)로 나눌 수 있는데, 척수손상이 있는 경우에 방광 내 생리식염수를 주입하게 되면 DCM 부위에서 가장 많은 *c-fos*의 발현이 증가하게 된다. 본 연구에서는 척수손상 흰쥐에서 방광내 전기자극 후에 L6, S1 척수분절의 전체 *c-fos* 수가 감소하였고 DCM, SPN 영역에서

*c-fos*의 유의한 감소를 확인하였다. 즉, 방광 내 전기자극치료는 구심성 C 신경섬유를 억제하여 신경인성 방광에 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다. 척수손상 흰쥐의 방광 내에 5일간 전기자극을 시행한 결과 L6-S1 척수분절에서 *c-fos* 발현의 감소를 확인하였고 특히, DCM 영역에서 유의한 감소를 나타냈다.

방광내 전기자극만으로도 척수분절에서 *c-fos* 단백발현을 일으킬 수 있다. 최근에 방광 내 전기자극을 시행하고 7일 동안의 *c-fos* 발현을 L5-S1 척수분절에서 관찰하였고 방광내 전기자극에 의한 *c-fos* 단백발현의 증가는 3일 후까지 지속되었고 5일째에 결보기 수술군의 밀도로 감소하는 것을 확인하였다. 이러한 결과를 바탕으로 방광 내 전기자극치료 후에 척수신경원에서 발현이 증가하는 *c-fos*의 변화를 확인하기 위해서 자극 후 1일에서 9일까지의 L6, S1 척수신경원의 변화를 확인한 결과, 자극 7일 이후에는 *c-fos* 발현이 정상 흰쥐와 같은 수준으로 감소하는 것을 확인하였다. 따라서, 척수손상 흰쥐에서 생리식염수 주입은 방광 내 전기자극 후 *c-fos*가 정상수준으로 떨어지는 7일째에 시행하였다.

결 론

방광 내 전기자극을 통해 척수손상에 의해 발생한 비정상적인 배뇨반사의 억제 및 배뇨압의 감소, 배뇨근 수축의 증가와 같은 효과를 얻을 수 있었다. 면역조직화염색을 통한 *c-fos*에 관한 연구는 방광 내 전기자극이 C 구심성 신경섬유를 통해서 작용하고 있음을 보여주었다. 본 연구를 통해 방광내 전기자극의 작용기전이 Aδ 구심성 신경섬유를 활성화하여 배뇨근 수축을 유도하는 데 제한되어 있지 않고 C 섬유가 배뇨반사에 관여하게 되는 병적인 상태에서는 C 섬유의 활성화를 억제하고 C 섬유에 의한 배뇨반사를 조절할 수 있음을 확인하였다. 방광 내 전기자극은 척수손상이나 척수기형에 의한 신경인성 방광을 가진 환아들에 있어 매우 효과적인 치료법이라고 생각한다. 배뇨근 수축이 저하된 환아뿐만 아니라 비정상적인 배뇨근 수축을 보이는 경우에도 효과를 보일 것으로 생각한다.

REFERENCES

- Kaplan WE, Richards I. Intravesical bladder stimulation in myelodysplasia. J Urol 1988;140:1282-4
- Cheng EY, Richards I, Balcom A, Steinhart G, Diamond M, Rich M, et al. Bladder stimulation therapy improves bladder compliance: results from a multi-institutional trial. J Urol 1996;156:761-4
- Boone TB, Roehrborn CG, Hurt G. Transurethral intravesical electrotherapy for neurogenic bladder dysfunction in children with myelodysplasia: a prospective, randomized clinical trial. J Urol 1992;148:550-4
- Ebner A, Jiang C, Lindstorm S. Intravesical electrical stimulation-an experimental analysis of the mechanism of action. J Urol 1992;148:920-4
- Cheng EY, Richards I, Kaplan WE. Use of bladder stimulation in high risk patients. J Urol 1996;156:749-52
- Lyne CJ, Bellinger MF. Early experience with transurethral electrical bladder stimulation. J Urol 1993;150:697-9
- Han SW, Kim MJ, Kim JH, Hong CH, Kim JW, Noh JY. Intravesical electrical stimulation improves neurogenic bowel dysfunction in children with spina bifida. J Urol 2004;171:2648-50
- Jiang CH, Lindstrom S. Intravesical electrical stimulation induces a prolonged decrease in micturition threshold volume in the rat. J Urol 1996;155:1477-81
- Matsumoto G, Hisamitsu T, de Groat WC. Role of glutamate and NMDA receptors in the descending limb of the spino-bulbospinal micturition reflex pathway of the rat. Neurosci Lett 1995;183:58-61
- Jiang CH. Modulation of the micturition reflex pathway by intravesical electrical stimulation: an experimental study in the rat. Neurourol Urodyn 1995;17:543-53
- Vizzard MA. Increased expression of spinal cord Fos protein induced by bladder stimulation after spinal cord injury. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2000;279:R295-305
- Katona F. Stages of vegetative afferentation in reorganization of bladder control during intravesical electrotherapy. Urol Int 1975;30:192-203
- Cheng CL, Ma CP, de Groat WC. Effect of capsaicin on micturition and associated reflexes in chronic spinal rats. Brain Res 1995;678:40-8
- Mallory B, Steers WD, De Groat WC. Electrophysiological study of micturition reflexes in rats. Am J Physiol 1989;257:R410-21
- Wang Y, Hassouna MM. Neuromodulation reduces *c-fos* gene expression in spinalized rats: a double-blind randomized study. J Urol 2000;163:1966-70
- Birder LA, de Groat WC. Induction of *c-fos* expression in spinal neurons by nociceptive and nonnociceptive stimulation of LUT. Am J Physiol 1993;265:R326-33
- Birder LA, de Groat WC. Increased *c-fos* expression in spinal neurons after irritation of the lower urinary tract in the rat. J Neurosci 1992;12:4878-89
- Birder LA, Roppolo JR, Iadarola MJ, de Groat WC. *C-fos* as a marker for subsets of visceral second order neurons in the rat lumbosacral spinal cord. Soc Neurosci 1990;16(abstr):703A