

신연 골 연장술시 연령에 따른 국소성장 인자가 근육재생에 미치는 영향

신현대 · 김경천 · 이 훈 · 김동규

충남대학교 의과대학 정형외과학교실

Age Related Local Growth Factors Affect Muscle Regeneration in Distraction Osteogenesis

Hyun-Dae Shin, M.D., Kyung-Cheon Kim, M.D., Xun Li, M.D., and Dong-Kyu Kim, M.D.

Department of Orthopedic Surgery, Chungnam National University School of Medicine, Daejeon, Korea

Purpose: To evaluate the effect of growth factors on muscle regeneration related to the distraction rate and age on bone distraction.

Materials and Methods: This study examined the effects in the tibialis anterior (TA) and soleus muscles after tibial bone distraction in 6 young and mature rats. The young and old rats were 6 weeks old (average 250 mg) and 6 months old (average 450 mg), respectively. In all rats, the right tibial bone was distracted, and the left was used as a control group. The development pattern of IGF-1, PDGF, bFGF was assessed using immunohistochemical techniques. The distraction rate was 0.7 mm/day (2 times) and the total extension ratio was 20% in all cases.

Results: In the TA muscle, the development of IGF-1 and PDGF was inversely proportional to age ($p < 0.05$). In the soleus muscle, the development of IGF-1 and PDGF was higher in the old rats but the difference was not statistically significant. BrdU positive cells were expressed in the myosatellite cells and the basement membrane of myocytes. IGF-1 and PDGF was also expressed in myosatellite cells but bFGF was not. bFGF facilitated bone regeneration but the mechanism for its effects on muscle regeneration were not identified.

Conclusion: Distraction osteogenesis facilitates the release of growth factors. Immature muscles adapt to the distraction but mature muscles do not. This suggests that mature muscles are less able to activate the proliferation and differentiation of myosatellite cells and the local release of growth factors when bone distraction is performed.

Key Words: Distraction osteogenesis, Growth factor, Muscle regeneration

서 론

점진적 신연 골 연장술시 여러 가지 합병증이 발생될 수 있으며 이들은 대부분 연부조직과 관련되어 있다. 동물 실험에서 골격근의 손상 이후 미성숙 골격근은 성숙 골격근에 비하여 재생 능력이 풍부한 것으로 알려져 있다²¹⁾. 이 과정에서 골격근 내에서 생성되는 국소 성장인자는 근육의 재생과 적응 그리고 노화에 매우 중요한 역할을 하며 그 중에서도 IGF-1이 성장과 발달에 중요한

것으로 밝혀져 있다. 그리고 신연 골 연장술시 골격근에 대해 급격한 손상이 가해지는 것은 아니며, 기계적인 점진적 자극에 의해 일부에서는 근육 세포의 재생과 발달에 도움이 될 수 있다고 하였다¹⁰⁾.

기존의 연구에 의하면 수동적 신연에 의해 IGF-1 분비가 촉진되며²³⁾ 근-건 결합부에 풍부하게 존재하는 PDGF 수용체가 신연 골 연장술시 myosatellite 세포의 증식을 조절한다고 하였다³¹⁾.

통신저자 : 신 현대
대전시 중구 대사동 640
충남대학교 의과대학 정형외과학교실
TEL: 042-280-7349 · FAX: 042-252-7098
E-mail: hyunsd@cnu.ac.kr

Address reprint requests to
Hyun-Dae Shin, M.D.
Department of Orthopedic Surgery, Chungnam National University School of Medicine, 640, Daesa-dong, Jung-gu, Daejeon 301-721, Korea
Tel: +82.42-280-7349, Fax: +82.42-252-7098
E-mail: hyunsd@cnu.ac.kr

그러나 이러한 성장인자들이 사지 연장술에서 연부 조직의 재생과 적응 과정 중에 근육의 성숙 정도에 따른 발현 양상의 차이와 그에 미치는 영향에 대하여는 아직 규명되지 않았다. 특히 성장이 남아 있는 사람과 성장이 완료된 사람에서 신연 골 연장술을 시행하는 경우 골격근에서 재생과 적응의 차이에 대하여 명확하게 규명되지 않았다.

본 연구의 목적은 신연 골 연장술에서 연령 변화에 따른 골격근 세포 재생의 차이와 성장인자가 근육 재생에 대한 영향을 관찰하는데 있다.

대상 및 방법

1. 실험동물의 선택과 실험 설계

어린 흰쥐와 성숙된 흰쥐를 이용하여 신연 골 연장술을 시행한 후 가자미 근과 전 경골 근에서 IGF-1, PDGF, bFGF 등 국소 성장인자 항체를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하였으며 Bromodeoxyuridine을 세포 증식과 신생 섬유형성의 인식자로 삼았다.

6주령의 어린 쥐(평균체중 250 g) 6마리와 6개월령 성숙 쥐(평균체중 450 g) 6마리의 Sprague-Dawley 흰쥐를 사용하였고 신연율은 0.7 mm/일 2회이다. 오른쪽 경골에 대해 신연골 연장술을 시행하였으며 왼쪽 경골은 대조군으로 사용하였다. 총 신연 길이는 모든 군에서 원래의 경골 길이의 20%가 될 때까지 시행하였다²⁸⁾.

2. 수술방법

모든 흰쥐는 수술 전 4-7일간 동일 조건하에 집중하여 사육한 후 Stainless-금속 환형 고정기를 쥐의 경골에 고정하였다. 90 mg/kg Ketamine과 8 mg/kg Xylazine 혼합용액을 흰쥐의 복강 내에 주사하여 마취 시킨 후 수술 부위의 털을 제거하고 70%의 알코올로 소독한 다음 수술포로 도포 하였다. 4개의 척추 마취 바늘(22호=0.7112 mm 직경, 3.5인치(88.9 mm) 길이)을 동력 드릴(model 275: Dremel, Racine, WI, USA)을 이용하여 경골의 뼈를 관통하여 외고정기를 연결하였다. 두 바늘 사이의 각도를 55도 되게 근위 경골을 수평 하게 관통하여 구멍 난 볼트를 이용하여 근위 링에 자연적인 상태로 고정시켰고, 2개의 바늘은 평행 하게 원위 경골부에 위치시켜 원위부 링에 고정시켰다.

절골술은 두 링 사이 경골 내측의 작은 피부 절개를

이용하여 골에 도달하였으며 0.9 mm의 Kirschner 핀을 이용하여 경골의 절골 부위에 미리 구멍을 2-3개 낸 후 작은 osteotome을 이용하여 절골 시켰다. 이후 4-0 vicryl을 이용하여 골막과 피부를 봉합하였다. 비골의 절골은 직접적인 외측 압박력을 가하여 수동으로 비골의 중간 부위를 절골 시켰다.

수술 후 흰쥐는 단독으로 사육하였으며 7일간의 회복기를 걸친 후 신연을 시작하였다. 세포 증식을 확인하기 위하여 희생 4일전 1 mg/ml 5-bromo-2'-deoxyuridine을 생리 식염수에 희석시켜 투여하였다. 동물은 과량의 마취제를 이용하여 희생시켰으며 양측의 전 경골 근과 가자미 근을 근-긴 결합부에서 채취하였다. 10%의 Formalin 용액에 고정시켜 Paraffin에 포매하였다.

3. 면역 조직화학염색방법

슬라이드는 deparaffin시킨 후 citrate buffer (pH 6.0)에서 5분간 끓여 조직을 활성화시켰다. TBST buffer로 5분씩 3회 세척한 후 일차 항체: IGF-1 (LABVISION: 1 : 40), PDGF (LABVISION: 1 : 200), bFGF (LABVISION: 1 : 20)를 30분간 상온에서 반응시켰다. TBST buffer로 5분씩 2회 세척한 후 이차 항체 (DAKO Rabbit anti Rat)를 1시간 동안 반응시켰다. TBST buffer로 5분씩 3회 세척 후 DAB로 발색시켰고 대조염색은 Hematoxilin으로 시행한 후 탈수 하여 현미경하에서 관찰하였다.

4. BrdU를 이용한 myosatellite 세포의 증식의 관찰

채취한 근육의 슬라이드를 deparaffin시킨 후 citrate buffer (pH 6.0)에서 5분간 끓여 조직을 활성화시켰다. TBST buffer로 5분씩 3회 세척한 후 일차 항체는 항 BrdU 항체(BD Biosciences, 1 : 10)으로 상온에서 1시간 반응시킨 후 TBST buffer로 5분씩 3회 세척한 후 ready-to-use streptavidin-HRP를 첨가하여 상온에서 30분 반응시켰다. TBST buffer로 5분씩 3회 세척한 후 DAB로 발색시켰고 대조 염색은 Hematoxilin으로 시행하였으며 탈수 후 현미경하에서 관찰하였다.

5. 분석 및 통계

광학현미경을 이용하여 관찰하였으며 각 슬라이드에서 200배 확대 시야에서 임의로 5곳을 선정하여 면역 염

색 양성인 세포의 개수를 측정하여 CCD-카메라가 달린 광학현미경(Olympus BX50)으로 촬영하였다. 면역조직화학 염색시 양성 세포는 양성 대조법으로 평가하였으며, 근-건 접합부에서 근위 및 원위부를 포함한 임의의 5곳을 선정하여 2명의 관찰자가 2회의 관찰을 시행하여 총 20회의 평가치를 평균으로 계산하였다. 자료는 SAS package (version 8.1 SAS institutes, cary, NC)를 이용하여 분석하였다. 통계 분석은 paired student t-test를 이용하였으며 $p < 0.05$ 를 통계적 유의 수준으로 하였다.

결 과

1. 근육 조직의 면역 조직학 염색에서의 형태학적 관찰

BrdU는 골격근의 근-건 결합부의 기저 막에서 발현되었으며 이것은 myosatellite 세포로 인정되었다. IGF-1

과 PDGF도 골격근의 기저 막에서 발현되었으며 BrdU 발현의 위치와 동일한 것으로 관찰되었다. 이러한 결과를 볼 때 myosatellite 세포에서 상기 국소 성장 인자들이 분비된다고 판단된다(Fig. 1).

2. 신연 골 연장 술과 myosatellite 세포의 증식

신연부위의 전 경골 근과 가자미 근에서는 대조부위에 비해 BrdU의 발현이 현저히 증가되는 것을 관찰하였다. 신연시 가자미 근에서는 어린 쥐와 성숙 쥐 사이에서 BrdU 발현의 변화가 통계학적인 차이가 없었으며 전 경골 근에서는 성숙 쥐에서 BrdU가 감소되는 것을 관찰하였다($p < 0.05$)(Fig. 2).

3. 신연 골 연장술과 국소 성장인자

전 경골 근과 가자미 근에서 IGF-1과 PDGF 항체를

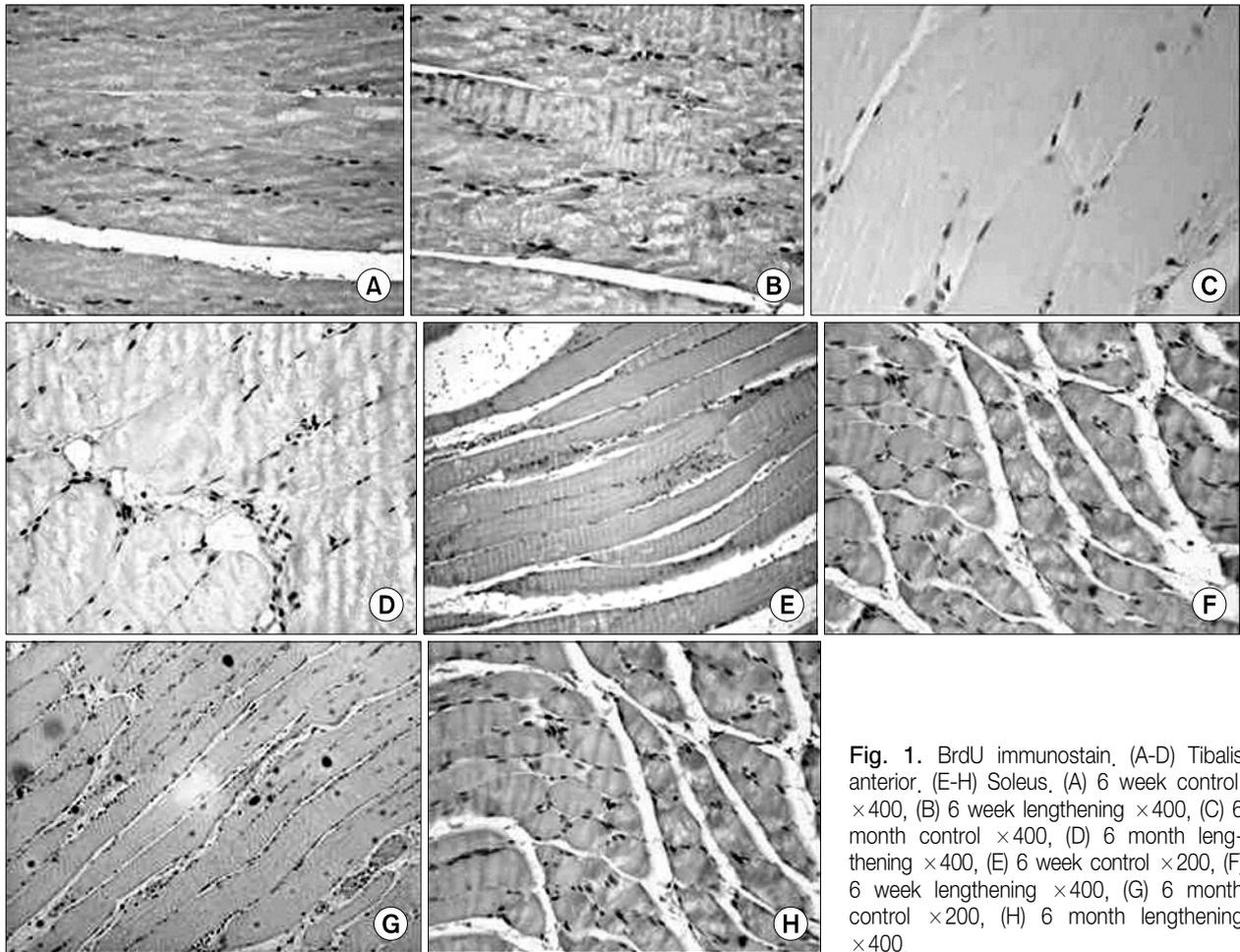


Fig. 1. BrdU immunostain. (A-D) Tibialis anterior. (E-H) Soleus. (A) 6 week control, $\times 400$, (B) 6 week lengthening $\times 400$, (C) 6 month control $\times 400$, (D) 6 month lengthening $\times 400$, (E) 6 week control $\times 200$, (F) 6 week lengthening $\times 400$, (G) 6 month control $\times 200$, (H) 6 month lengthening $\times 400$.

이용한 면역조직화학염색을 진행한 결과 신연부위에서의 발현이 대조부위에 비하여 현저히 증가되는 것을 관찰하였다($p < 0.05$) (Fig. 3, 4). bFGF의 발현은 관찰되지

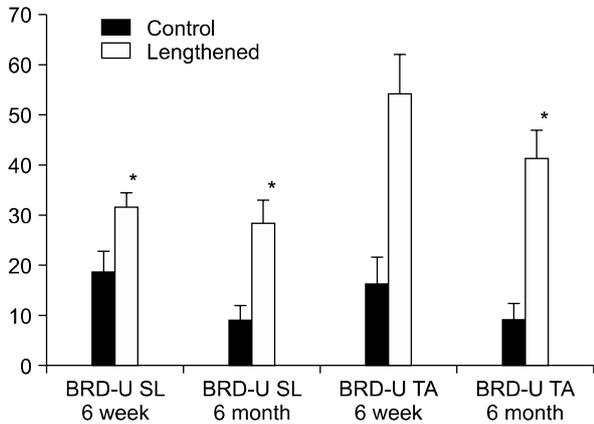


Fig. 2. Bone distraction promoted BrdU expression in soleus muscle and tibialis anterior.

않았다(Fig. 5).

4. 연령 변화에 의한 국소 성장 인자 발현

전 경골 근은 IGF-1의 발현이 성숙 쥐에서 젊은 쥐보다 현저히 감소되었고($p < 0.05$) PDGF의 발현도 성숙 쥐에서 현저히 감소되었다($p < 0.05$, Fig. 6). 결과적으로 골 신연에 따라 IGF-1 및 PDGF의 발현이 두 군 모두 증가하는 양상을 보였으며, 특히 젊은 쥐에서 더욱 현저히 발현되는 양상을 보였다($p < 0.05$).

가자미 근에서 IGF-1과 PDGF는 골 신연에 따라 전 예에서 증가하는 소견을 보였다. 특히 성숙 쥐에서 더 많은 발현을 보였으나 두 군의 발현의 차이는 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다(Fig. 7).

고 찰

신연 골 연장술을 시행할 때 기계적 신호는 sar-

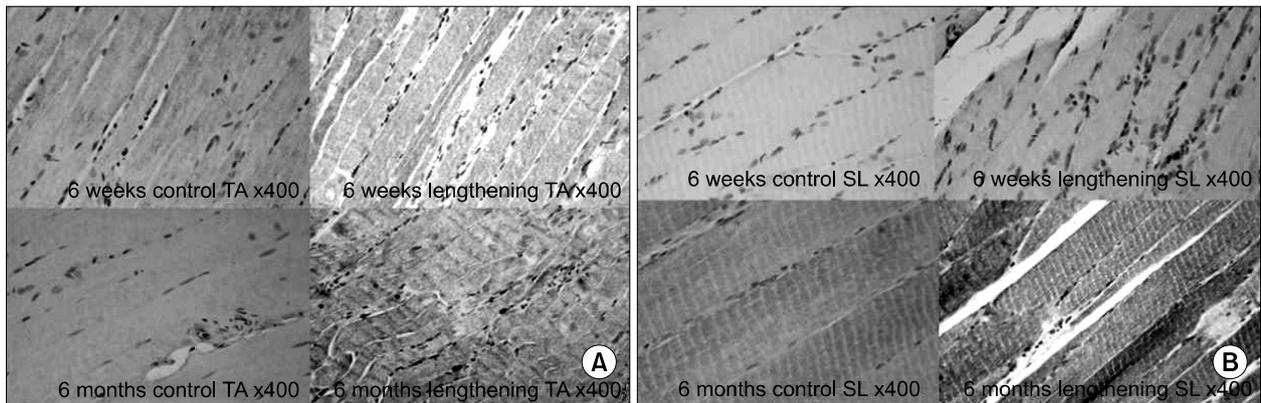


Fig. 3. (A) IGF-1 immunostaining in tibialis anterior, (B) IGF-1 immunostaining in soleus muscle.

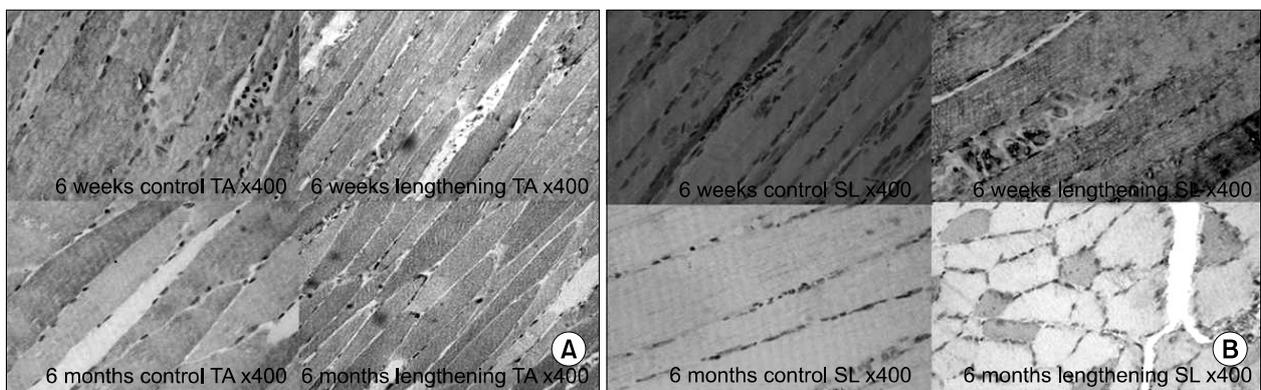


Fig. 4. (A) PDGF-1 immunostaining in tibialis anterior, (B) PDGF-1 immunostaining in soleus muscle.

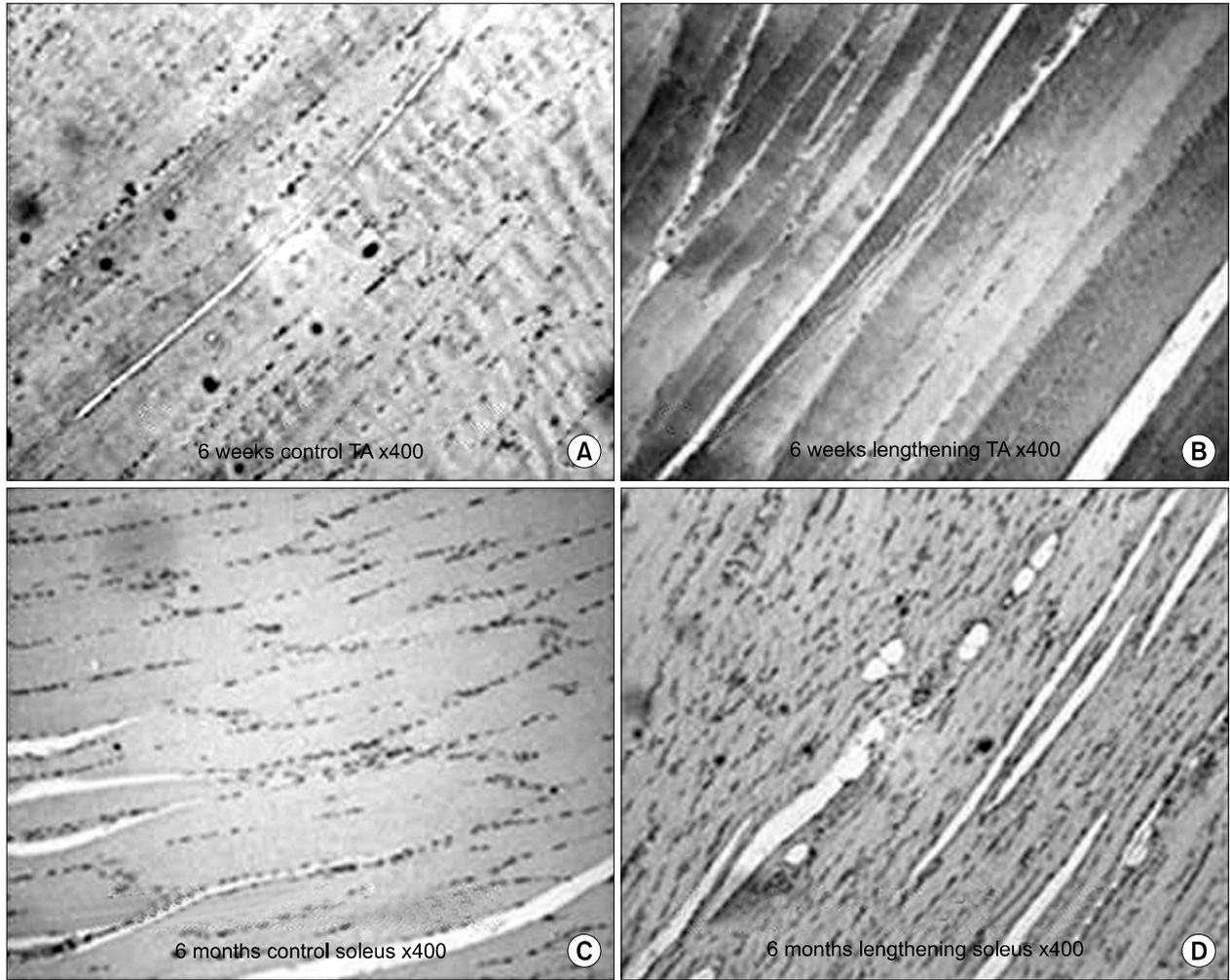


Fig. 5. bFGF immunostaining in tibialis anterior and soleus muscle.

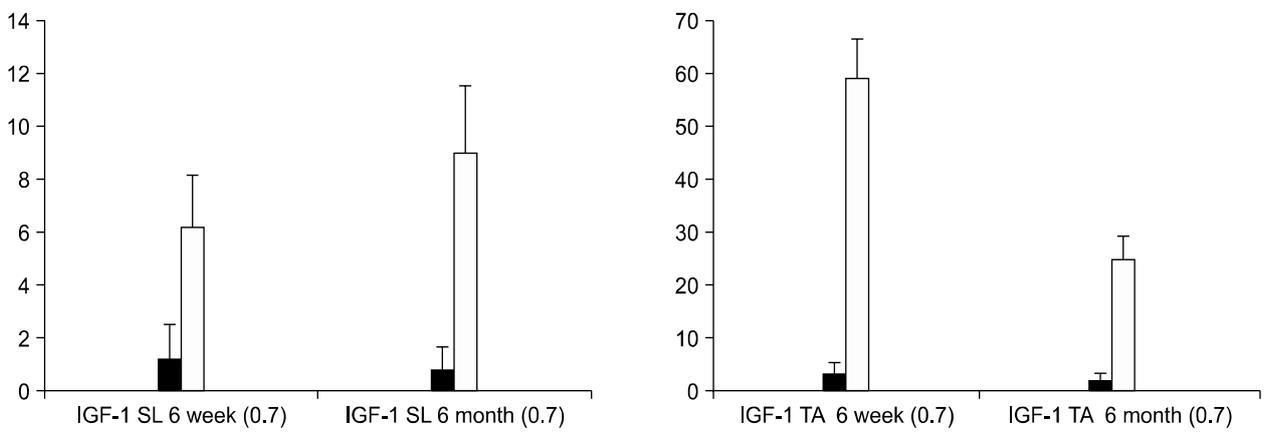


Fig. 6. IGF-1 expression of the Tibialis anterior was decreased in mature rats than that of young rats.

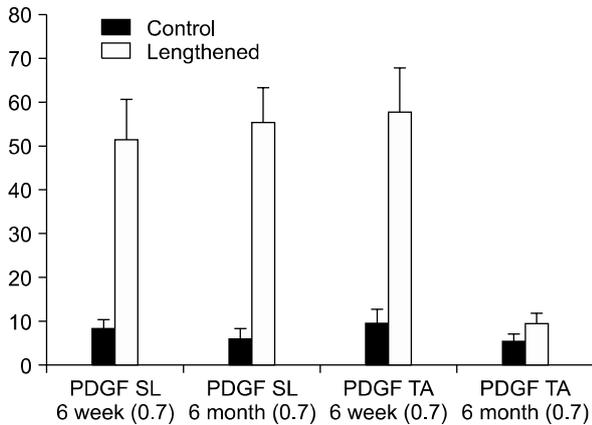


Fig. 7. According to bone distraction, IGF-1, PDGF of the soleus muscle are increased in all of the cases. It appears that mature rats have more expressions, but the expression of the groups has no difference in the statics.

colemma와 cytoskeleton의 혼합체에 의해 감지되는 것으로 되어 있다. 이 sarcolemma의 변화는 tyrosine kinases를 포함하고 있어 cytoplasm의 변화가 일어나고 이는 세포핵의 변화를 초래한다. 이는 신연에 민감한 염색체의 전사를 일으키며 염색체의 전사는 근육에 과부하를 가한 결과로 생각 된다^{7,32}.

다른 가능성은 신연 결과 myosatellite 세포가 자극되어 증식하여 기존의 근육 섬유와 결합하는 것이다. 신연 골 연장술에서 세포의 증식은 우선적으로 근-건 결합부에서 발생한다. 힘의 전달에서 이 구조물은 신연력을 결체 조직에서 근육에 전달한다¹³. 그러나 기계적 환경의 변화에 따른 myosatellite 세포의 작용과 신생 근육 섬유의 생성은 아직 과학적으로 충분히 규명되지 못하였다.

Williams와 Goldspink¹⁵는 신연 골 연장술에서도 상기 변화와 유사한 현상이 나타나는 것을 관찰하였다. 만약 신연 위치에서 고정하면 근육은 근육 양쪽 끝의 sarcomere 증가에 의하여 적응된다. 이와 같은 실험들은 신연력은 근육의 비대를 초래한다는 가설을 제공하고 있다¹⁵. 또한 자아 분비가 근육 성장을 조절한다는 것을 기초로 하여 성장인자(basic fibroblastic growth factor)가 근모세포 증식을 촉진한다고 하였다. 더불어 국소 성장 인자 즉 Insulin related growth factor (IGF), fibroblastic growth factor (FGF)가 근육 성장에 중요하다고²⁵ 보고되고 있으며, 수동적인 신연력을 가했을 때 이런 결과를 볼 수 있다. 이런 국소 성장 인자들은 일

반적으로 myosatellite 세포의 분화를 촉진하는 것으로 밝혀졌다. 신연력은 민감하게 IGF-1의 분비를 촉진하거나 이는 신연 골 연장술에 어떻게 관여하는지는 아직 규명되지 않았다.

신연력에 민감한 유전자를 구성하는 분자의 전사와 국소 성장 인자 분비의 조절은 아직 명확히 규명되고 있지 않으나, 국소 성장 인자는 작은 peptides로서 이는 세포막의 수용체와 결합하여 여러 가지 신호체계에 의해 세포의 성장과 발육의 단계에 영향을 주는 것으로 되어 있다^{9,18,26}. 이는 근육 재생 과정에서 영양 물질이 근육 손상에 의한 myosatellite 세포 활성화에 의해 분비 되는 것으로 되어 있으며^{3,14,21} 골격근 세포의 성장과 발달 과정에서 많은 성장 인자가 여러 가지 반응을 유발할 수 있다고 하였다¹⁷. 이외의 연구에서 각각 다른 국소 성장 인자가 근육 재생 과정에서 각각 다른 특징적인 작용을 한다고 지적하였다^{1,9,18,22,23,27}. 이 결과 골격근 조직의 회복을 개선할 수 있다고 하였다. 특히 사지 연장술을 시행할 때 연령이 근육의 적응력과 관련되어 있다. Myoblast의 증식이 근육 신연과 조직의 재 조성에서 증가 되는 것을 볼 수 있으며¹¹, 특히 Extracellular matrix가 신연 골 연장술 과정에 참여하는 것이 관찰 된다고 하였다¹². 이런 두 가지 반응은 어린 근육에서 성숙 근육 보다 더 쉽게 나타날 수 있다고 하였다^{5,6}.

전 경골 근과 가자미 근은 하지에서 오직 한 개 관절만 지나는 두 근육이다. 골 연장술과 연관된 근육의 연장에 관한 연구는 오직 한 관절을 통과한 근육에서 관절의 구축에 의한 신연 효과의 감소를 방지하여 보다 직접적으로 관찰할 수 있다고 판단된다. 따라서 본 연구에서는 전 경골근과 가자미근을 이용하여 실험을 시행하였다.

연령이 증가될수록 골격근에서의 재생과 발육 능력이 감소되며, 극단적인 연령의 증가에 따른 myoblast 재생의 감소는 손상에 의한 myosatellite 세포의 활성화 자체가 손상 되어 일어난다고 보고하고 있다^{4,8}. Myosatellite 세포는 myogenic한 세포로서 생후 성장에 관여한다고 보고되며²⁰, Pattison 등은 사지를 고정한 후 근육의 성장은 성숙 쥐에서는 없었으며, 어린 쥐에서는 완전히 성장한다고 보고하였다³⁰.

신연 골 연장술에서 수동적인 신연은 근육 섬유의 미세 손상을 유발하여 근육 섬유 기저막의 손상을 초래하고 Myosatellite 세포의 분비를 촉진하는 것으로 추정되며,

myoblast의 증식이 활성화 되면 Bromodeoxyuridine이 세포핵 내로 진입을 하며, myoblast 복제 여부를 확인하게 해준다. 본 실험에서 연장 측과 비 연장 측의 전 경골 근과 가자미근을 비교해 보면, 신연골 연장술은 myosatellite 세포의 증식을 증명할 수 있으며 가자미 근에서는 연령 변화에 의한 근육 myosatellite 세포 증식의 차이는 발견하지 못하였다. 전 경골 근에서는 연령 증가에 따른 myosatellite 세포 증식이 감소되는 것을 관찰하였다. 따라서 신연골 연장술은 근육 성장을 촉진하며, Myosatellite 세포의 증식 능력은 연령 증가에 따라 감소되는 것으로 판단된다.

Insulin like growth factor (IGF-1)는 근육의 성장과 분화에 중요한 작용을 하는 것으로 밝혀졌다. 실험동물에서 IGF-1의 과 발현은 연령 증가에 따른 근육의 위축과 연관된다고 보고되었다²⁾. 따라서 신연골 연장술시 IGF-1의 투여가 근육의 위축 및 가동 범위의 감소 등과 같은 근육 작용의 상실 등에 미치는 영향을 확인할 수 있다면 상당한 의미가 있을 것으로 판단되며 이런 면에서 신연골 연장술시 신연된 근육에서의 IGF-1 양의 변화 및 염색체 발현의 변화의 규명은 중요하다고 할 수 있다¹²⁾.

IGF-1 Ec 종류는 기계적인 신호 혹은 미세손상에 민감하기 때문에 이 종류를 MGF (Mechano-growth factor)라고 부른다. 최근의 연구 결과가 장력에 의한 논리를 제공하고 있다. 예를 들면 신연과 동시에 전기적 자극을 경골 근에 가했을 때 오직 신연력만 가한 군보다 MGF mRNA의 조절이 현저히 증가 된다고 하였다²⁸⁾. 또한 MGF mRNA가 신연력을 가한 쥐와 고정된 Mdx (dystrophic) 작은 쥐에서는 측정되지 않았다¹⁷⁾. 이런 유전자 도입(knock-out) 동물에는 중요한 구조의 세포 골격 단백질 dystropin 유전자가 포함되지 않았다. 또한 최근 Haddad와 Adams²⁰⁾의 연구는 MGF mRNA가 흰쥐의 등척 운동 후 적어도 두 배 이상 증가 되었다고 보고 하였다.

이러한 유전자 조작 실험에서는 성숙 쥐의 경우 국소 IGF-1이 근육 양을 유지하는데 중요한 인자로 작용한다고 제시되었다. 최근 Owing, Yang, Goldspink 등은 흰쥐에서 인대를 제거하여 가자미 근과 족저 근육에 과부하를 가하여 근육에서 연령의 변화에 따른 MGF 종류의 반응을 관찰하였다. 서로 다른 연령의 동물에 과부하를 5일 동안 가한 후 어린 쥐에서는 MGF, mRNA 양이 반대 측

과 비교하여 1,200% 증가하였다고 보고하였다. 그러나 성숙 쥐에서는 증가가 현저히 감소되는 것을 관찰하였다(500%).

본 연구에서 면역 조직화학방법을 이용하여 IGF-1의 국소 근육 조직에서의 발현을 관찰한 결과 신연골 연장술에서 IGF-1의 발현이 전 경골 근과 가자미 근의 근-건 결합부에서 현저히 증가되는 것을 관찰하였다($p < 0.05$). 어린 쥐와 성숙 쥐를 비교할 때 연령 증가에 따라 감소되는 것을 관찰하였다. 또한 IGF-1이 Myosatellite에서 발현되는 것을 관찰하였다. 이런 현상은 신연골 연장술이 근육의 myosatellite 세포의 증식을 촉진하며 myosatellite 세포는 MGF의 분비를 촉진하여 근육의 발육과 성장을 촉진함을 의미한다.

PDGF는 인간의 혈소판에서 성장 촉진 활성화를 가진 것으로 인식되고 있다²⁸⁾. 이는 세 가지 종류로 존재하는데 PDGF-AA, -AB, -BB이다. 체외에서 근육의 선구 세포에서의 작용을 관찰할 때 오직 PDGF-BB만이 세포증식을 촉진하며 분화를 방지 하는 것으로 되어 있다²⁵⁾.

흰쥐 Myoblast에서 선택적으로 PDGF-B가 유사 분열 반응을 유발하는데 관련된다고 하였는데²⁶⁾, 특히 C2 Myoblast는 성숙된 작은 쥐의 Myoblast에서 분리되고 이는 PDGF-BB와 많은 관련이 있으며 AA와 AB 종류에는 적게 관련된다고 하였다. 이는 근육에 높은 수준의 PDGF β 아 단위 수용체가 존재한다는 것으로 설명된다고 하였다. PDGF는 Myosatellite 세포에서 높은 세포 증식의 촉진 효과와 강한 분화 억제력을 가지고 있다고 여겨지며, Myosatellite 세포는 주화성을 가지고 있어 PDGF 촉진에 의한 혈관 생성 과정에서 동시에 나타나는 것으로 판단된다.

본 실험에서 신연골 연장술에서 전 경골 근과 가자미 근의 근-건 결합부에서 PDGF의 발현이 증가되는 것을 관찰할 수 있으며, 이는 연령 증가에 따라 감소되었다. 또한 PDGF가 역시 myosatellite 세포에서 발현되는 것이 관찰되었다. 이런 현상은 신연골 연장술이 myosatellite 세포의 국소 성장 인자(IGF-1, PDGF 등)의 분비를 촉진하며 이런 국소 성장 인자들이 공통으로 myosatellite 세포의 증식과 분화를 촉진하여 신연에 의한 근육의 길이의 변화에 적응한다고 판단된다.

결 론

신연 골 연장술에서 연령 변화에 따른 근육의 재생과 국소 성장 인자의 변화를 관찰한 결과 빠른 신연골 연장 술시 근육에서 성장인자 분비가 촉진되며 성숙되지 않은 근육은 신연에 대한 적응력이 강하나 성숙된 근육은 약한 것으로 판단된다. 이는 성숙한 근육이 골신연시 국소 성장인자 유리 및 myosatellite cell 증식과 분화를 활성화 하는 능력이 저하되어 있기 때문으로 사료된다.

참고문헌

1. **Anderson JE, Liu L, Kardami E:** Distinctive patterns of basic fibroblast growth factor (bFGF) distribution in degenerating and regenerating areas of dystrophic (mdx) striated muscles. *Dev Biol*, 147: 96-109, 1991.
2. **Barton-Davis ER, Shoturma DI, Musaro A, Rosenthal N, Sweeney HL:** Viral mediated expression of insulin-like growth factor I blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95: 15603-15607, 1998.
3. **Bischoff R:** The satellite cell and muscle regeneration. In: Engel AG, Franzini-Armstrong C, eds. *Myology: basic and clinical*. New York, etc. McGraw Hill. 97-118, 1994.
4. **Brooks SV, Faulkner JA:** Contraction-induced injury: recovery of skeletal muscles in young and old mice. *Am J Physiol*, 258: C436-442, 1990.
5. **Cannon JG:** Intrinsic and extrinsic factors in muscle aging. *Ann NY Acad Sci*, 854: 72-77, 1992.
6. **Carlson BM:** Muscle regeneration and aging. *Monogr Dev Biol*, 23: 189-195, 1992.
7. **Carson JA, Yan Z, Booth FW, Coleman ME, Schwartz RJ, Stump CS:** Regulation of skeletal alpha-actin promoter in young chickens during hypertrophy caused by stretch overload. *Am J Physiol*, 268: C918-C924, 1995.
8. **Chakravarthy MV, Davis BS, Booth FW:** IGF-1 restores satellite cell proliferative potential in immobilized old skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 89: 1365-1379, 2000.
9. **Chambers RL, McDermott JC:** Molecular basis of skeletal muscle regeneration. *Can J Appl Physiol*, 21: 155-184, 1996.
10. **Codivilla A:** On the means of the lengthening, in the lower limbs, the muscles and tissues which are shortened through deformity. 1904. *Clin Orthop Relat Res*, 301: 4-9, 1994.
11. **Day CS, Moreland MS, Floyd SS Jr, Huard J:** Limb lengthening promotes muscle growth. *J Orthop Res*, 15: 227-234, 1997.
12. **De Deyne PG, Meyer R, Paley D, Herzenberg JE:** The adaptation of perimuscular connective tissue during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res*, 379: 259-269, 2000.
13. **Dix DJ, Eisenberg BR:** Myosin mRNA accumulation and myofibrillogenesis at the myotendinous junction of stretched muscle fibers. *J Cell Biol*, 111: 1885-1894, 1990.
14. **Florini JR, Magri KA:** Effect of growth factors on myogenic differentiation. *Am J Physiol*, 256: C701-711, 1989.
15. **Goldspink G, Scutt A, Loughna PT, Wells DJ, Jaenicke T, Gerlach GF:** Gene expression in skeletal muscle in response to stretch and force generation. *Am J Physiol*, 262: R356-363, 1992.
16. **Goldspink G, Yang SY, Skarli M, Vrbova G:** Local growth regulation is associated with an IGF-1 isoform of IGF-1 that is expressed in normal muscle but not in dystrophic mdx or dydy mouse muscle when subjected to stretch. *J Physiol*, 495: 162-163, 1996.
17. **Grounds MD:** Age-associated changes in the response of skeletal muscle cells to exercise and regeneration. *Ann N Y Acad Sci*, 854: 78-91, 1998.
18. **Grounds MD:** Towards understanding skeletal muscle regeneration. *Pathol Res Pract*, 187: 1-22, 1991.
19. **Haddad F, Adams GR:** The time course of cellular and molecular responses to a single bout of resistance exercise in rodent skeletal muscle. In: IUPS Conference. New Zealand, 2001.
20. **Hawke TJ, Jiang N, Garry DJ:** Absence of p21CIP rescues myogenic progenitor cell proliferative and regenerative capacity in Foxk1 null mice. *J Biol Chem*, 278: 4015-4020, 2003.
21. **Hurme T, Kalimo H:** Activation of myogenic precursor cells after muscle injury. *Med Sci Sports Exerc*, 24: 197-205, 1992.
22. **Jennische E:** Sequential immunohistochemical expression of IGF-1 and the transferrin receptor in regenerating rat muscle in vivo. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 121: 733-738, 1989.
23. **Jennische E, Hansson HA:** Regenerating skeletal muscle cells express insulin-like growth factor 1. *Acta Physiol Scand*, 130: 327-332, 1987.

24. **Jin P, Rahm M, Claesson-Welsh L, Heldin CH, Sejer-son T:** Expression of PDGF A chain and beta-receptor genes during rat myoblast differentiation. *J Cell Biol*, 110: 1665-1672, 1990.
25. **Johnson SE, Allen RE:** Activation of skeletal muscle satellite cells and the role of fibroblast growth factor receptors. *Exp Cell Res*, 219: 449-453, 1995.
26. **Lagord C, Carpentier G, Leibovitch MP, Gautron J, Martelly I:** Stimulation of rat satellite cell myogenesis by inhibitors of ser/thr protein kinases. *Neuromolecul Disord*, 3: 379-383, 1993.
27. **Lefaucheur JP, Sébille A:** Muscle regeneration following injury can be modified in vivo by immune neutralization of basic-fibroblast growth factor, transforming growth factor Pi or insulin-like growth factor 1. *J Neuroimmunol*, 57: 85-91, 1995.
28. **Li Xun, Kim KC, Choi JH, Lee HJ, Shin HD:** Effect of local growth factors on muscle regeneration in distraction osteogenesis. *J Korean Orthop Assoc*, 41: 1028-1036, 2006.
29. **Noble M, Murray K, Stroobant P MD, Waterfield MD, Riddle P:** Platelet-derived growth factor promotes division and motility and inhibits premature differentiation of the oligodendrocyte/type-2 astrocyte progenitor cell. *Nature*, 333: 560-562, 1998.
30. **Pattison JS, Folk LC, Madsen RW, Childs TE, Booth FW:** Transcriptional profiling identifies extensive downregulation of extracellular matrix gene expression in sarcopenic rat soleus muscle. *Physiol Genomics*, 15: 34-43, 2003.
31. **Tidball JG, Spencer MJ:** PDGF stimulation induces phosphorylation of talin and cytoskeletal reorganization in skeletal muscle. *J Cell Biol*, 123: 627-635, 1993.
32. **Wiedeman JL, Rivera-Rivera I, Vyas D, et al:** Beta-MHC and SMLC1 transgene induction in overloaded skeletal muscle of transgene mice. *Am J Physiol*, 270: C1111-1121, 1996.
33. **Yablonka-Reuveni Z, Balestreri TM, Bowen-Pope DF:** Regulation of proliferation and differentiation of myoblasts derived from adult mouse skeletal muscle by specific isoforms of PDGF. *J Cell Biol*, 111: 1623-1629, 1990.

= 국문초록 =

목적: 골 견인 시 견인율과 연령에 따라 성장인자가 근육 재생에 미치는 영향을 평가하였다.
대상 및 방법: 젊은 쥐 (6마리, 성숙 쥐 (6마리)를 대상으로 경골의 골 견인이 전 경골근과 가자미 근에 미치는 영향을 측정하였다. 젊은 쥐는 6주(평균 250 gm), 성숙 쥐는 6개월(평균 450 gm)된 Sprague-Dawley 쥐를 사용하였으며, 면역조직화학 검사를 통하여 국소성장인자인 IGF-1, PDGF, bFGF가 발현되는 양상을 평가하였다. 신연율은 0.7 mm/일(2회)로 전 예에서 우측 경골을 견인시켰고, 좌측은 대조군으로 사용하였다. 전 예에서 경골의 길이는 총 20%를 신장하였다.

결과: 전 경골 근에서 골 신연시 IGF-1 및 PDGF의 발현은 연령의 증가에 따라 감소하였다($p < 0.05$). 가자미근에서는 IGF-1와 PDGF가 모두 성숙 쥐(6개월)에서 골 신연시 증가하는 양상을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다. BrdU 양성인 세포는 myosatellite cell 뿐만 아니라 골격근의 기저 막에서 발현되었고, IGF-1과 PDGF도 myosatellite cell에서 발현하였다. 그러나 bFGF는 발현하지 않았다. bFGF는 골 재생을 촉진하였으나, 근육 재생에서 bFGF의 작용은 불분명하였다.

결론: 빠른 신연 골 연장술시 근육에서 성장인자 분비가 촉진되며 성숙되지 않은 근육은 신연에 대한 적응력은 강하나 성숙된 근육은 약한 것으로 판단된다. 이는 성숙한 근육이 골신연시 국소 성장인자 유리화 myosatellite cell 증식과 분화를 활성화하는 능력이 저하되어 있기 때문으로 사료된다.

색인 단어: 신연 골 연장술, 성장인자, 근육재생