

추간판내장증에서 추간판내로의 신경침습

신재혁 · 서준영 · 하기용

가톨릭대학교 의과대학 강남성모병원 정형외과

Nerve Ingrowth into Intervertebral Disc in Internal Disc Disruption

Jae-Hyuk Shin, M.D., Joon-Yeong Seo, M.D., Kee-Yong Ha, M.D.

*Department of Orthopedic Surgery, Kang-Nam St. Mary's Hospital,
College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea*

— Abstract —

Study Design: The ingrowth of the nociceptive nerve ending into intervertebral disc was examined using immunohistochemistry and quantified using western blotting.

Objectives: To determine if the nociceptive nerve innervates into the intervertebral discs of internal disc disruption (IDD).

Summary and Literature Review: Nociceptive nerve ending and vessel ingrowth into intervertebral disc is associated with IDD and HNP. Substance P is a neurotransmitter that is found in the nociceptive nerve endings. Immunohistochemistry has confirmed the presence, and western blot has isolated the target. The localization of novel nociceptive innervation, and a quantitative comparison was made according to the original pathology is of interest.

Materials and Methods: 10 specimens of intervertebral disc were collected from IDD during total disc replacement surgery, and another 10 specimens of intervertebral disc from HNP were collected during discectomy. The control samples of intervertebral disc were obtained from 3 adolescent patients with idiopathic scoliosis, and 2 patients with a lumbar bursting fracture. Standard immunohistochemical techniques were used to test for the nociceptive neurotransmitter (substance P), which is a protein expressed during axonogenesis (growth-associated protein 43, GAP43), and a general nerve marker (protein gene produce 9.5, PGP9.5). The expression of substance P protein was quantified using western blot for its polyclonal antibody.

Results: In IDD (n=10), substance P was expressed in 6 cases of outer annulus fibrosus (AF), 5 cases of inner AF, and 3 cases of nucleus pulposus (NP). In HNP (n=10), substance P was expressed in 4 cases of outer AF, 3 cases of inner AF, and 2 cases of NP. In the control group, only 2 cases expressed substance P in outer AF. GAP43 was only positive in outer AF as follows: IDD 3 cases, HNP 1 case, and control 1 case. None of the specimens showed localized PGP 9.5.

Substance P was localized significantly in larger quantities in IDD than in the control group ($p=0.002$). In HNP, the expression level was larger than the control and lower than the IDD group but this was not statistically significant ($p=0.158$, $p=0.108$).

Conclusions: Innervation of nociceptive nerve endings was identified at the degenerative intervertebral disc of IDD, which may contribute to back pain.

Key Words: Intervertebral disc, Internal disc disruption, Herniated nucleus pulposus, Nociceptive nerve, Substance P

Address reprint requests to

Kee-Yong Ha, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery, Kang-Nam St. Mary's Hospital, College of Medicine, The Catholic University of Korea,
505 Banpo-dong, Seocho-ku, Seoul, 137-701, Korea.

Tel: 82-2-590-1464, Fax: 82-2-535-9834, E-mail: kyh@catholic.ac.kr

서 론

요통의 기전은 신경근의 압박에 의하여 발생할 수 있으나 모든 요통을 이 신경근 압박으로만 설명할 수는 없다. 자기공명영상에서 신경근의 압박소견이 없어도 요통을 호소하는 환자가 있는데 그 원인으로 추간판성 요통의 개념이 보고되고 있다^{1,2,3}). 이것은 추간판의 손상으로 통각신경종말(sensory nociceptive terminal)의 물리적 자극이나 퇴행성 추간판에서 분비되는 화학적 물질에 의한 자극에 의해 통증이 유발된다는 개념으로 그 정확한 기전을 밝히기 위해 많은 연구가 시행되고 있다^{1,2,3,4,5}).

추간판성통증을 이해하기 위한 추간판의 신경분포에 대한 연구에서 Weinstein 등^{3,4})은 추간공에 위치한 후근 신경절이 각 운동분절의 통증을 조정하는 기능을 가진다고 하였다. 즉 섬유륜 외측으로 얹히게 짜여진 연속적

인 신경섬유의 망상조직이 있는데 이는 앞쪽으로 전방 종인대의 신경총에 의해, 뒤쪽으로는 후방종인대의 신경총을 통해 나가서 추간공에서 서로 연결되어 교통지(rami communicantes)를 이룬다^{6,7}). Groen 등⁷)은 이러한 교통지가 동척추신경과 함께 교감신경과 밀접하게 연관된다고 하였고, Morinaga 등⁸)은 이러한 신경구조가 교감신경의 작용뿐만 아니라 일부에서 감각신경의 기능을 가지고 있다고 하였다. 또한 Ashton 등⁹)은 교감신경계가 C-감각섬유와 상호작용하여 통각수용체(nociceptor)를 감작시키는 역할을 한다고 하였다.

조직학적 검사에서 정상적으로는 종인대와 섬유륜의 표면층에 신경종말이 존재하고^{1,10,11,12}) 섬유륜의 외측 1/3까지 신경이 분포함이 밝혀졌다¹³). 그러나 요통이 있는 환자에서 섬유륜의 손상에 의해 추간판내로 신생혈관이 생성되고 그 주위로 신경섬유의 증식이 같이 이루어진다는 연구를 통해 추간판의 병인을 밝히고자 하는 시

Table 1. Patient Information

Pt No.	Age	Sex	Level	Diagnosis	Interval from Sx. onset to surgery
IDD group					
1	44	M	L5-S1	IDD	36 m
2	41	M	L4-5	IDD	24 m
3	46	F	L4-5	IDD	12 m
4	51	F	L5-S1	IDD	48 m
5	26	M	L4-5	IDD	5 m
6	24	M	L5-S1	IDD	60 m
7	34	M	L4-5	IDD	6 m
8	50	F	L3-5	IDD	48 m
9	47	F	L4-5	IDD	30 m
10	45	F	L5-S1	IDD	7 m
HNP group					
11	27	F	L4-5	HNP	2 d
12	40	F	L4-5	HNP	210 d
13	35	M	L4-5	HNP	210 d
14	33	M	L4-5	HNP	42 d
15	22	F	L4-5	HNP	10 d
16	23	M	L4-5	HNP	2 d
17	37	M	L4-5	HNP	5 d
18	19	M	L4-5	HNP	18 d
19	27	F	L5-S1	HNP	90 d
20	36	M	L5-S1	HNP	24 d
Control group					
21	13	M	L3-4	AIS	
22	10	F	L3-4	AIS	
23	19	M	L4-5	AIS	
24	41	M	L4-5	BF	
25	45	M	L3-4	BF	

(IDD, internal disc disruption; HNP, herniated nucleus pulposus; AIS, adolescent idiopathic scoliosis; BF, bursting fracture; m, months; d, days; Sx., symptom)

도가 진행 되고 있다^{14,15,16}. 따라서 본 논문의 목적은 추간판내장증에서 추간판내의 신경섬유의 분포를 관찰함으로써 요통의 병리기전을 밝히고자 하는 것이다.

연구대상 및 방법

1. 조직의 채취

10예의 요추 추간판내장증 환자에서 인공추간판치환술 시행시 채취한 10예의 추간판과 10예의 요추부 추간판탈출증 환자로부터 탈출된 추간판제거술시 채취한 10예의 추간판을 대상으로 하였다. 특히 인공추간판치환술후 채취한 추간판은 추간판절제시에 채취한 조직과 가능한 동일한 조건을 만들고자 후방부위만을 이용하였다. 추간판내장증 환자의 평균 연령은 40.8세(24~51), 남성 5예, 그리고 여성 5예였다. 분절 부위는 제 4-5요추 추간판이 5예로 가장 많았고, 제 5요추-제 1천추 추간판이 4예, 그리고 제 3-4 요추 추간판이 1예였다(Table 1). 전 예에서 요통을 호소하였다. 자기공명영상상 변성된 추간판의 추간판조영술에서 조영제 주입 시 평소와 '일치된 통증(concordant pain)' 이 재연되는 경우 추간판 절제술을 시행하였다. 증상 발현 후 수술까지 걸린 기간은 평균 27.6개월로 5개월로부터 60개월까지 다양하였다.

추간판내장증 환자에서 추간판조영술 시 평소와 일치

된 통증을 호소한 환자의 MRI상 90%에서 중등도 내지 고도의 추간판의 퇴행성 변화가 있었고 10%에서 경도의 퇴행성 변화가 있었다. 60%에서 high intensity zone 양성이었으며 80%에서 추간판의 높이 감소와 종판(end plate)의 이상이 있었고, 50%에서 중등도 혹은 고도의 후관절낭 골관절염 소견이 있었다. 또한 모든 환자에서 추간판의 파열이 존재하였고 조영제의 추간판 외로의 누출 소견을 관찰할 수 있었다(Fig. 1, Table 2).

추간판탈출증 환자의 평균 연령은 29.9(19~40)세였으며 이중 남성 6예, 여성 4예였다. 분절 부위는 제 4-5요추 추간판이 8예, 그리고 제 5요추-제 1천추 추간판이 2예였다. 모든 예에서 심한 하지방사통을 호소하였으며 증상 발현부터 수술까지 기간은 평균 61일로써 2일에서 210일까지였다.

대조군은 3예의 청소년기 특발성측만증과 2예의 방출성골절에서 전방고정술 및 기기 고정술 시 채취한 추간판을 대상으로 하였다. 평균 연령은 25.6(10~45)세였고 남성 4예, 여성 1예였으며 분절 부위는 제 3-4요추 추간판 3예, 그리고 제 4-5요추 추간판 2예였다(Table 1).

모든 조직은 채취 즉시 액화질소에 보관 후, 실험 시까지 -70℃에서 보관하였다.

2. 조직학적 관찰 및 Western blot

1) 면역조직화학적 관찰

수술 시 채취한 추간판을 대상으로 10% neutral

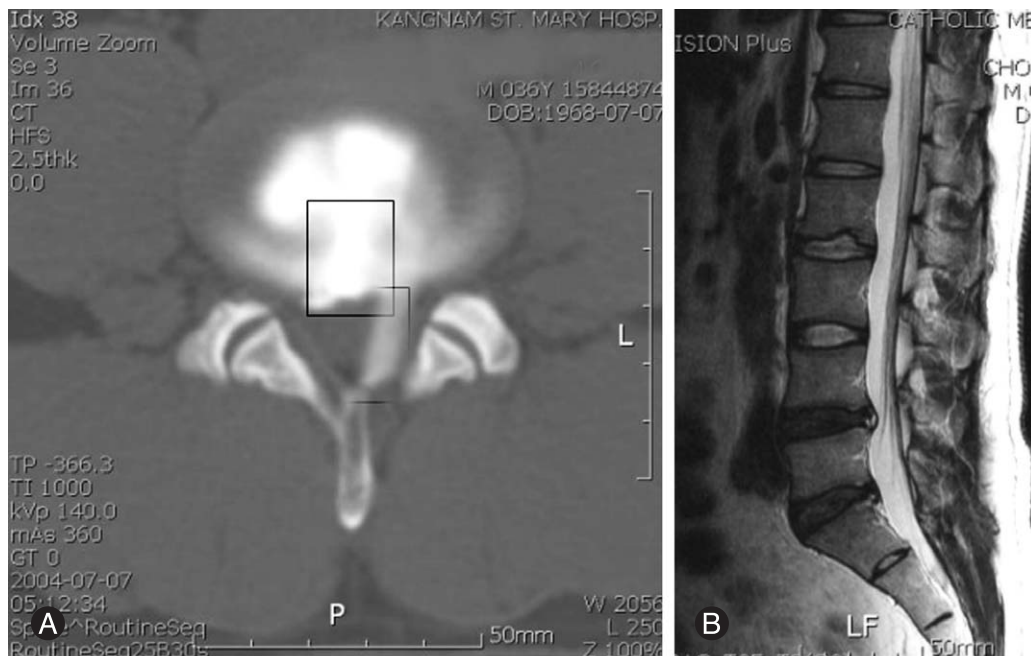


Fig. 1. CT discography shows leakages of dye. Intervertebral disc specimens is obtained from the indicated area by rectangle (A). MRI of the same patient shows the degeneration of intervertebral disc of L4-5, L5-S1 and the high intensity zone (B)

Table 2. MR and CT Discographic Findings of IDD (HIZ, High Intensity Zone)

No.*	Concordant pain	MRI grade [†]	HIZ [‡]	Decreased disc height	End plate abnormality (Modic type**)	Facet osteoarthritis ⁺ (grade)	Discography ⁺⁺
1	+	5	-	+	I	2	V
2	+	5	+	+	-	1	V
3	+	4	-	+	-	2	V
4	+	5	+	-	I	2	V
5	+	4	+	+	I	2	V
6	+	5	+	+	III	3	V
7	+	5	+	-	III	1	V
8	+	5	+	+	I	1	V
9	+	3	-	+	III	1	V
10	+	5	-	+	II	1	V

* : the same numbering as Table 1.

† : grade 3, mild degeneration, blurred differentiation of the nucleus pulposus from the annulus, slightly decreased signal of the nucleus pulposus with minor irregularities; grade 4, moderate disc degeneration, blurred differentiation of the nucleus pulposus from the annulus, moderately decreased signal of the nucleus pulposus, with hypointense zones; grade 5, severe degeneration, a loss of differentiation of the nucleus pulposus from the annulus, hypointense signal of the nucleus pulposus with or without a horizontal hyperintense band.

‡ : focal zone of high signal intensity within the posterior aspect of the annulus fibrosus, without focal protrusion or extrusion of the disc.

** : type I, low signal intensity of T1-weighted images and high signal intensity on T2-weighted images; type II, high signal intensity on both images; type III, low signal intensity on both images.

+ : grade 1, mild degenerative disease(indicated by narrowing of the facet joint space, small osteophytes, and/or mild hypertrophy of the articular process); grade 2, moderate degenerative disease(indicated by narrowing of the facet joint space, moderate osteophytes, moderate hypertrophy of the articular process, and/or mild subarticular erosions); grade 3, severe degenerative disease(indicated by narrowing of the facet joint space, severe osteophytes, severe hypertrophy of the articular process, severe subarticular erosions, and/or subchondral cysts).

++ : type I, cottonball; type II, lobular; type III, irregular; type IV, fissured; type V, ruptured.

buffered formalin에 고정하고 파라핀 포매 조직을 3 μ m로 잘라 슬라이드에 부착시킨 후 60°C 신전기에서 1시간 조직이 떨어지지 않도록 부착 시켰다. 조직이 부착된 슬라이드를 xylene 3단계로 탈파라핀화 하였고 다시 함수 과정을 거친 후 트리스완충액(tris-buffer)으로 처리 후 내인성 peroxidase의 활성을 억제시키기 위하여 3% H₂O₂-methanol 용액에 10분간 반응 시켰다. 비특이적인 항원-항체 결합을 방지하기 위해 normal horse serum에 15분간 반응시킨 뒤 1:1000으로 희석된 일차항체 polyclonal Substance P antibody(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA), mouse anti-GAP43(mouse anti-growth associated protein 43, Zymed, South San Francisco, CA), mouse-antihuman PGP9.5(mouse-antihuman protein gene product 9.5, Serotec, Oxford, UK)로 4°C에서 16시간 동안 반응시켰다. 뒤에 biotin이 부착된 이차항체 (R.T.U vectastain Kit: Vector, Burlingame, CA)로 실온에서 20분간 반응시킨 후 발색제 DAB(diamino-benzidine) 5~10분간 반응 시키고 hematoxylin으로 대조염색하여 검체 조직에서 발현 되는 특정 단백질의 존재 여부와 그 위치를 관찰 하였다.

2) Western blot

12.5%의 SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)에 전기영동하여 단백질을 크기 별로 분리한 후 PVDF(polyvinylidene fluoride) membrane에 100 V에서 1시간 동안 전환하였다. PVDF(polyvinylidene fluoride) membrane을 Ponceau S(Ponceau S 2g, trichloroacetic acid 30g, sulfosalicylic acid 30g) 용액에 5분 정도 반응시킨 후 증류수로 씻어내어 전환된 단백질을 확인 하였다. 단백질이 확인된 PVDF(polyvinylidene fluoride) membrane을 5% skim milk 이용하여 2시간 동안 여백에 비특이적 항체의 결합을 방지한 후 3% skim milk 용액에 polyclonal Substance P antibody(Santa Cruz technology)를 1: 100으로 첨가하여 4°C에서 16시간 동안 반응 시킨 후 peroxidase labeled anti-goat antibody(Santa Cruz technology)를 이차 항체로 이용하여 반응 시켰다. ECL(enhanced chemiluminescence) Kit(RPN 2108, Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, UK)을 이용하여 감광하여 결과를 확인하고 감광의 정도를 Image Analyzer LAS-3000의 Multi Gauge software를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

3. 통계적 분석

western blotting에서 발현된 substance P의 상대적 양을 optical density로 측정하여 추간판내장증 및 추간판탈출증에서의 통계학적 유의를 위하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA; SPSS 11.0 for windows) 및 다중비교(multiple comparison; SPSS 11.0 for windows)를 이용하여 검증하였다.

결 과

1. Substance P, GAP43 및 PGP9.5에 대한 면역조직화학염색

substance P는 10예의 추간판내장증 환자의 섬유륜 외

측에서 6예, 내측에서 5예, 그리고 3예가 수핵내에서 발현되었다. 10예의 추간판탈출증 환자에서는 섬유륜 외측에서 4예, 내측에서 3예 그리고 수핵 2예에서 발현되었으며(Fig. 2), 대조군에서는 섬유륜 외측에서 2예 관찰되었다. 그러나 GAP43은 추간판내장증과 추간판탈출증 환자의 섬유륜 외측에서만 각각 3예와 1예씩 관찰할 수 있었고(Fig. 3), 대조군에서도 섬유륜 외측에서만 1예에서 관찰되었다. PGP9.5는 섬유륜과 수핵에서 모두 발현되지 않았다(Table 3).

2. Western blot을 이용한 substance P의 정량분석 결과

동일한 정량에서의 substance P의 발현을 western blotting을 이용하여 얻은 band를 optical density(OD)를 측정하여 분석한 결과 대조군에서의 평균 OD는 $5,843.42 \pm 2,812.23$ 이었으며, 추간판탈출증에서의 평균 OD는

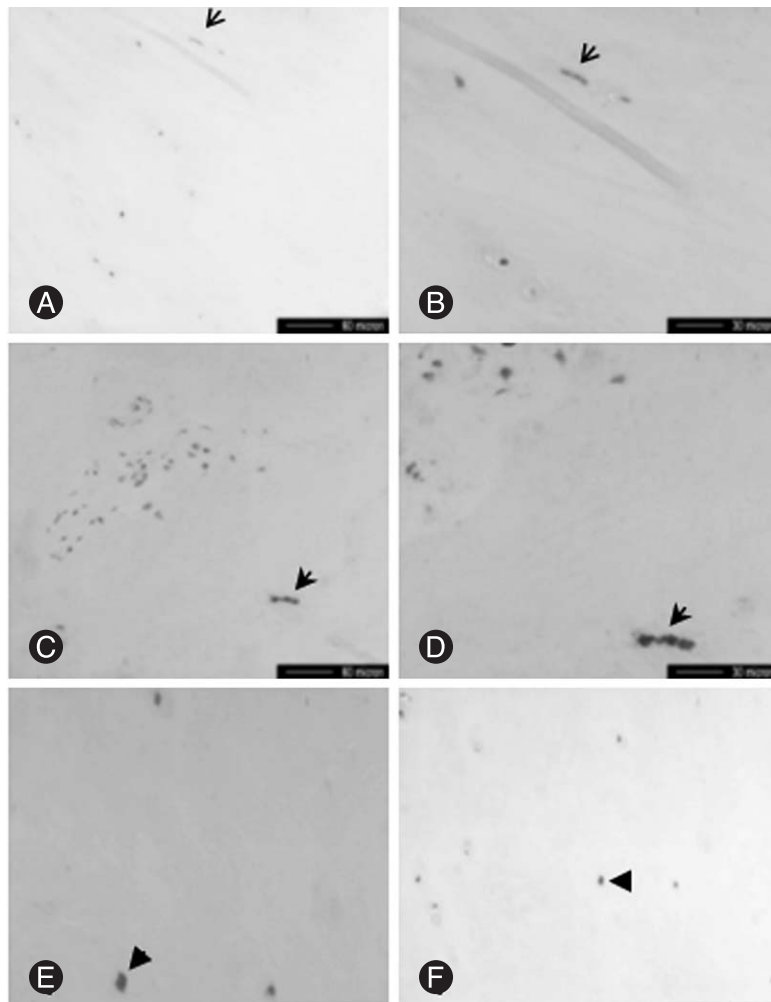


Fig. 2. Photomicrographs showing evidence of innervation in internal disc disruption. SP-immunoreactive nerve fiber is present in outer one third of the annulus fibrosus (arrows in A and B), and in the nucleus pulposus, with longitudinal (open arrows in C and D) and cross (arrows in E and F) section. (SP: substance P).

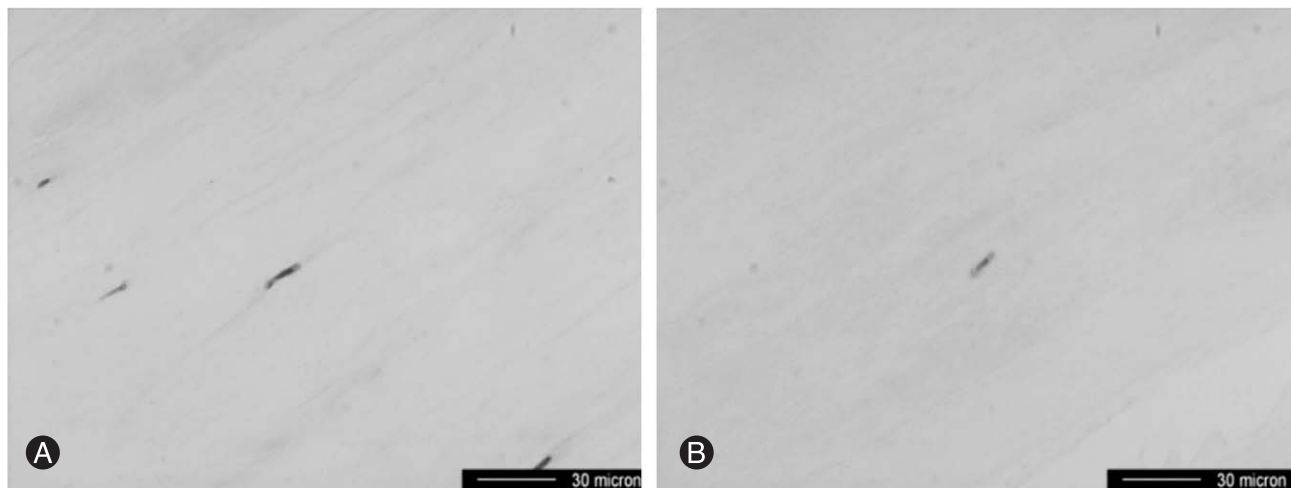


Fig. 3. (A, B) GAP43-immunoreactive nerve fiber (arrow) is present in the annulus fibrosus of IDD (A) and of HNP (B).

Table 3. Substance P-, GAP43- and PGP9.5-immunoreactive fibers in the groups of discs. IDD, n=10; HNP, n=10, Control, n=5.

	Substance P			GAP43			PGP9.5		
	Control	IDD	HNP	Control	IDD	HNP	Control	IDD	HNP
Outer 1/3 of AF	2	6	4	1	3	1	0	0	0
Inner 2/3 of AF	0	5	3	0	0	0	0	0	0
NP	0	3	2	0	0	0	0	0	0

(AF, annulus fibrosus; NP, nucleus pulposus; IDD, internal disc disruption; HNP, herniated nucleus pulposus.)

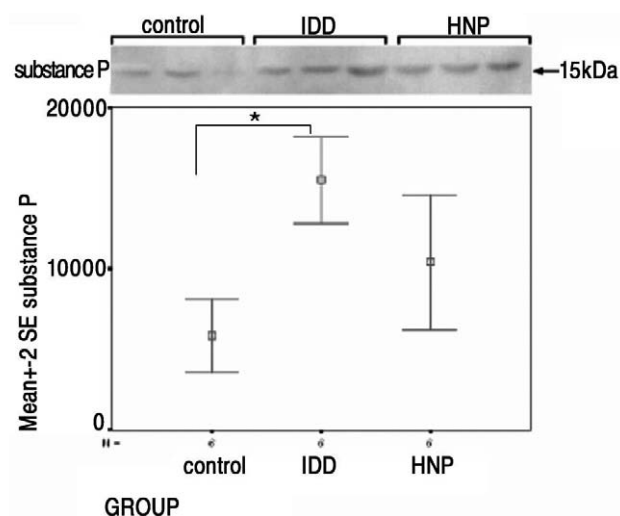


Fig. 4. Western blots and statistical analysis. Statistically significantly more expression of substance P in IDD than control group ($p_{\text{IDD-control}}=0.002$) (one-way ANOVA; SPSS 11.0 for windows).

10,408.83 \pm 5,125.98 이었으며, 추간판내장증에서의 평균 OD 는 15,483.67 \pm 3,262.41이었다. 일원배치 분산분석 (one-way ANOVA) 및 Scheffe의 다중비교 결과 추간판 내장증과 대조군과는 유의한 차이가 있었으나($p_{\text{IDD-}}$

control=0.002) 추간판탈출증은 대조군 및 추간판내장증과 유의한 차이가 없었다($p_{\text{HNP-control}}=0.158$, $p_{\text{IDD-HNP}}=0.108$) (Fig. 4).

고 찰

추간판의 신경분포에 대해 다양한 소제가 연구되고 있는데 그 대상이 동물 대 인간, 그리고 태아에서 성인까지 광범위하여 일반적인 결론 유추가 난해하였다. 그러나 이들 연구의 공통점은 요추간판의 신경분포는 섬유륜의 외측에 국한된다는 것이다.

구조상으로 섬유륜 후부가 손상에 취약한 부분으로 평가되는데 추간판조영술을 시행한 후에 전산화 단층촬영을 시행한 연구에서 조영제가 수핵으로부터 섬유륜 후부의 파열된 틈을 통해 새어 나오는 것을 관찰하였다¹⁶⁾. 이러한 섬유륜의 손상을 복구하려는 생리적 반응으로 혈관생성을 동반한 육아조직의 증식이 나타나게 된다. 정상적으로는 성인의 추간판에는 혈관이 없으나 실험적 연구에서 육아조직 형성에 의해 치유된 섬유륜 조직에서 혈관이 관찰되었다¹⁵⁾. 또 손상된 돼지 추간판의 연구에서 수술 후 2주에서 2개월 간 섬유륜의 치유된 부위에서 모세혈관의 조밀한 망상조직을 관찰할 수 있

었고¹⁴⁾, 사람의 퇴행성추간판 내부로의 신생혈관생성도 보고되었다¹⁷⁾. 이러한 섬유륜의 손상을 복구하는 과정으로 생성된 염증성 육아조직은 IL-6, IL-8, PGE2같은 inflammatory cytokines를 분비하고 이것이 추간판 내에서 통각 수용체를 감작시키는 중재물질의 역할을 하는 것으로 알려져 있다¹⁸⁾.

substance P는 nociceptive pain mediator로서¹⁹⁾ 실제로 Gile과 Harvey²⁰⁾, Ashton 등⁹⁾은 사람의 후관절낭에서 substance P를 포함한 신경을 발견하였고, Korkala 등²¹⁾은 후종인대에서도 substance P의 면역반응성을 관찰하였고, 쥐의 추간판 연구에서 섬유륜의 외측과 극간인대에서 substance P, calcitonin gene related peptide(CGRP), vasoactive intestinal peptide(VIP)를 발현하는 신경섬유가 있음을 확인하였다^{3,4,22)}. Ashton 등²³⁾은 요통이 없는 사람의 추간판 외측 3 mm내에서 substance P, CGRP, VIP를 확인하였으나 Coppes 등²⁴⁾은 퇴행성추간판에서는 내측에서도 substance P를 발현하는 신경섬유를 관찰하였다. 또한 Freemont 등²⁵⁾도 이환된 추간판의 내측에서 substance P를 발현하는 신경섬유를 관찰하였으며 최근에 Peng 등²⁶⁾은 통증을 호소하는 추간판의 파열된 틈을 따라 형성된 육아조직부위를 따라 섬유륜의 내부와 수핵까지 substance P, neurofilament, VIP를 발현하는 신경섬유가 자라 들어오는 것을 관찰하였다. Freemont 등²⁵⁾은 만성요통이 있는 환자에서 요추추간판의 전방 부위에서 조직을 채취하였으며 섬유륜의 바깥 1/3에서 60%에서 신경섬유를 발견하였고 섬유륜의 내부 1/3 및 수핵내로 각각 46%와 22%에서 신경섬유가 자라 들어가는 것을 관찰하였다. 그러나 일반적으로 추간판조영술 시행시 전방부위의 균열의 발생은 드물다. 따라서 이들의 실험은 요통의 원인으로 설명하기는 부족하다. 따라서 Peng 등²⁶⁾은 후방부위에서 조직을 채취한 후 substance P, NF, VIP - immunoreactive nerve fiber가 대조군보다 증가하였다고 하였다. 이는 추간판성 요통 및 추간판 조영술의 원인으로 추간판 후방조직에 신경 지배가 중요한 역할을 한다고 하였다. 저자들은 추간판 내장증과 수핵탈출증의 추간판을 채취시 동일한 조건을 얻고자 후방부위만 선택하여 실험을 시행하였다.

또한 본 연구에서는 추간판내장증 환자와 추간판탈출증환자의 추간판에서 면역염색화학법을 이용하여 섬유륜의 내부와 수핵에서의 substance P에 반응하는 신경섬유를 관찰하였다. substance P와 같이 사용한 PGP9.5는 일반적인 신경 표지자이고 GAP43은 축삭형성(axonogenesis) 시 발현하는 단백질이다. Freemont 등²⁵⁾은 실험에서 추간판 내부에는 두가지 형태의 신경섬유가 있는데 하나는 혈관과 같이 주행하는 신경섬유이고 다른 하나는 단독으로 주행하는 신경섬유가 있는데 단독으로

주행하는 신경섬유가 통각신경종말의 형태를 가진 것이라 하였다. 또한 이들은 PGP9.5와 substance P가 혈관과 같이 주행하는 신경섬유에서 발현하는 것을 관찰하였고 GAP43은 이러한 신경섬유에서는 발현하지 않았으며 단독으로 주행하는 신경섬유에서만 발현하는 것을 관찰하였다. 또한 substance P가 단독으로 주행하는 신경섬유에서도 발현하는 것으로 관찰되었다. 본 연구에서는 단독으로 주행하는 신경섬유만이 substance P와 GAP43을 이용한 면역화학염색에서 발현되는 것을 관찰할 수 있었다. 채취한 추간판을 실험에 사용하기 위해 일부분만 절제하는 과정에서 비교적 손상되지 않은 부분을 선택하였기 때문에 혈관생성을 동반한 육아조직이 발견되지 않았고 이러한 이유로 신생혈관 주위에서 발견될 수 있는 PGP9.5를 발현하는 신경섬유는 관찰할 수 없었던 것으로 생각된다. 면역화학염색법에서 substance P와 GAP43을 발현하는 신경섬유는 추간판내장증 환자에서 더 많이 발현되었으며 western blots을 시행하여 추간판내장증 환자에서 substance P에 반응한 단백질 양이 대조군에 비해 많음($p_{IDD-control}=0.002$)을 밝혀냄으로서 요통성 추간판에 통각 신경섬유가 많이 분포하는 이유를 입증하였다. 추간판내장증과 추간판탈출증, 그리고 추간판탈출증과 대조군은 각각 차이는 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았다($p_{IDD-HNP}=0.108$, $p_{HNP-control}=0.158$). 또한 추간판의 퇴행성 변화에 의한 신생혈관이 자라 들어감과 함께 신경섬유가 침입하여 요통의 병인과 추간판 내로의 신경침습이 상호 연관되어 있음을 알게 되었다. 면역조직 화학염색법을 이용한 신경섬유의 관찰에 대한 연구는 많았으나 western blots을 시행하여 정량적 분석을 시도한 연구를 시행하였다는 점에 본 논문의 의의가 있다.

그러나 본 연구에서 대조군으로 방출성 골절과 특발성측만증에서의 추간판을 사용하였는데, 방출성골절의 경우 골절이 연골종판까지 연장되어 파괴되었다면 추간판에 큰 영향을 미칠 것으로 생각되며, 또한 정상 추간판으로 간주하기 어렵다는 제한이 있었다. 또한 특발성측만증의 경우에서도 정상 추간판과 비교하여 기질의 조성 및 구조 차이와 연골종판 석회화에 따른 투과성 감소 등이 있어 이환기간과 환자의 연령에 따라 추간판의 변성이 이미 있을 수 있다는 점도 고려해야 할 것이다.

참고문헌

- 1) Hirsch C, Ingelmark BE, Miller M: *The anatomical basis for low back pain. Studies on the presence of sensory nerve endings in ligamentous, capsular and intervertebral*

- disc structures in the human lumbar spine. *Acta Orthop Scand* 1963; 33: 1-17.
- 2) **Bogduk N, Windsor M, Inglis A:** The innervation of the cervical intervertebral discs. *Spine* 1988;13: 2-8.
- 3) **Weinstein J, Claverie W, Gibson S:** The pain of discography. *Spine* 1988;13:1344-1348.
- 4) **Weinstein J, Pope M, Schmidt R, Seroussi R:** Neuropharmacologic effects of vibration on the dorsal root ganglion. An animal model. *Spine* 1988;13:521-525.
- 5) **Stolker RJ, Vervest AC, Groen GJ:** The management of chronic spinal pain by blockades: a review. *Pain* 1994;58:1-20.
- 6) **Bleys RL, Groen GJ, Matthijssen MA:** A method for identifying peripheral connections of perivascular nerves based on sensitive acetylcholinesterase staining via perfusion. *J Histochem Cytochem* 1994;42:223-230.
- 7) **Groen GJ, Baljet B, Drukker J:** Nerves and nerve plexuses of the human vertebral column. *J Anat* 1990; 188: 282-296.
- 8) **Morinaga T, Takahashi K, Yamagata M, et al:** Sensory innervation to the anterior portion of lumbar intervertebral disc. *Spine* 1996 Aug 15; 21: 1848-1851.
- 9) **Ashton IK, Ashton BA, Gibson SJ, Polak JM, Jaffray DC, Eisenstein SM:** Morphological basis for back pain: the demonstration of nerve fibers and neuropeptides in the lumbar facet joint capsule but not in ligamentum flavum. *J Orthop Res* 1992; 10: 72-78.
- 10) **Pedersen HE, Blunck CF, Gardner E:** The anatomy of lumbosacral posterior rami and meningeal branches of spinal nerve (sinu-vertebral nerves); with an experimental study of their functions. *J Bone Joint Surg* 1956; 38-A: 377-391.
- 11) **Malinsky J:** The ontogenetic development of nerve terminations in the intervertebral discs of man. (Histology of intervertebral discs, 11th communication). *Acta Anat (Basel)* 1959; 38: 96-113.
- 12) **Jackson HC, Winkelmann RK, Bickel WH:** Nerve endings in the human lumbar spinal column and related structures. *J Bone Joint Surg* 1966; 48-A: 1272-1281.
- 13) **Yoshizawa H, O'Brien JP, Smith WT, Trumper M:** The neuropathology of intervertebral discs removed for low-back pain. *J Pathol* 1980; 132: 95-104.
- 14) **Kaapa E, Gronblad M, Holm S, Liesi P, Murtomaki S, Vanharanta H:** Neural elements in the normal and experimentally injured porcine intervertebral disk. *Eur Spine J* 1994; 3: 137-142.
- 15) **Osti OL, Vernon-Roberts B, Fraser RD:** 1990 Volvo Award in experimental studies. Anulus tears and intervertebral disc degeneration. An experimental study using an animal model. *Spine* 1990; 15: 762-767.
- 16) **Saifuddin A, Braithwaite I, White J, Taylor BA, Renton P:** The value of lumbar spine magnetic resonance imaging in the demonstration of anular tears. *Spine* 1998; 23: 453-457.
- 17) **Vernon-Roberts B, Fazzalari NL, Manthey BA:** Pathogenesis of tears of the anulus investigated by multiple-level transaxial analysis of the T12-L1 disc. *Spine* 1997; 22: 2641-2646.
- 18) **Burke JG, Watson RW, McCormack D, Dowling FE, Walsh MG, Fitzpatrick JM:** Intervertebral discs which cause low back pain secrete high levels of proinflammatory mediators. *J Bone Joint Surg Br.* 2002; 84: 196-201.
- 19) **Henry JL:** Relation of substance P to pain transmission: neurophysiological evidence. *Ciba Found Symp.* 1982; (91): 206-224.
- 20) **Giles LG, Harvey AR:** Immunohistochemical demonstration of nociceptors in the capsule and synovial folds of human zygapophyseal joints. *Br J Rheumatol* 1987; 26: 362-364.
- 21) **Korkala O, Gronblad M, Liesi P, Karaharju E:** Immunohistochemical demonstration of nociceptors in the ligamentous structures of the lumbar spine. *Spine* 1985; 10: 156-157.
- 22) **McCarthy PW, Petts P, Hamilton A:** RT97- and calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity in lumbar intervertebral discs and adjacent tissue from the rat. *J Anat* 1992; 180 : 15-24.
- 23) **Ashton IK, Roberts S, Jaffray DC, Polak JM, Eisenstein SM:** Neuropeptides in the human intervertebral disc. *J Orthop Res* 1994; 12: 186-192.
- 24) **Coppes MH, Marani E, Thomeer RT, Groen GJ:** Innervation of "painful" lumbar discs. *Spine* 1997; 22: 2342-2350.
- 25) **Freemont AJ, Peacock TE, Goupille P, Hoyland JA, O'Brien J, Jayson MI:** Nerve ingrowth into diseased intervertebral disc in chronic back pain. *Lancet* 1997; 350: 178-181.
- 26) **Peng B, Wu W, Hou S, Li P, Zhang C, Yang Y:** The pathogenesis of discogenic low back pain. *J Bone Joint Surg Br.* 2005 Jan; 87: 62-67.

국문초록

연구계획: 통각신경섬유(nociceptive nerve fiber)의 추간판 내로의 신생 분지를 면역조직 화학법을 이용하여 확인하고, western blot을 이용하여 정량비교분석하였다.

연구목적: 추간판내장증에서 추간판내의 통각신경섬유(nociceptive nerve fiber)의 분포를 관찰함으로써 요통의 병리기전을 밝히고자 하였다.

대상 및 방법: 요추 추간판내장증 환자의 추간판 절제술에서 10예의 추간판과 요추 추간판탈출증의 수핵 제거술에서 10예의 추간판을 채취하였다. 대조군으로 3예의 청소년기 특발성측만증과 2예의 방출성 골절에서 채취된 추간판을 이용하였다. 면역조직화학 염색법으로 통각신경전달물질인 substance P, 축삭형성시 발현되는 단백질인 growth-associated protein 43(GAP43), 일반 신경표지자인 protein gene product 9.5 (PGP9.5)를 확인하였다. 그리고 western blots을 이용하여 substance P의 발현을 정량분석 비교하였다.

결과: substance P는 추간판내장증(10예)의 섬유륜 외측에서 6예, 내측에서 5예, 수핵에서 3예 발현되었고, 추간판탈출증(10예)에서는 섬유륜 외측에서 4예, 내측에서 3예, 수핵에서 2예 발현되었다. 대조군(5예)에서는 섬유륜 외측에서만 2예에서 발견되었다. GAP43은 섬유륜 외측에서만 추간판내장증, 추간판탈출증, 그리고 대조군에서 각각 3예, 1예, 그리고 1예 관찰되었다. PGP9.5는 모든예에서 발현되지 않았다.

western blots에서 추간판내장증과 대조군과는 substance P의 발현에 유의한 차이가 있었으나 ($P=0.002$) 추간판 탈출증은 대조군보다는 높게, 추간판내장증군보다는 낮게 나타났으나 통계적 유의지 않았다($p=0.158$, $p=0.108$).

결론: 추간판내장증에서 요통의 기전으로 퇴행성 변화에 의한 추간판의 손상으로 추간판 내부로 통각신경종말(nociceptive nerve endings)의 침습을 확인할 수 있었다.

색인단어: 추간판, 추간판내장증, 추간판탈출증, 통각신경, Substance P

※ 통신저자 : 하 기 웅

서울특별시 서초구 반포동 505번지

가톨릭대학교 의과대학, 강남성모병원 정형외과

Tel: 82-2-590-1464 Fax: 82-2-535-9834 E-mail: kyh@catholic.ac.kr