加味伸椎步建湯이 PC12 세포의 재생에 미치는 영향

구지향[1] · 이치호[1] · 이은정[1] *

Effects of Gamishinchubogun-tang on Regeneration of PC12 Cells

Gu Ji-Hyang[1] · Lee Chi-Ho[1]· Lee Eun-Jung[1] *
[1]Dept. of Korean Medicine Rehabilitation College of Korean Medicine, Daejeon University

Objectives : This study was designed to investigate the effect of Gamishinchubogun-tang (JiaweiShenzhuibujian-tang; GSB) on regeneration of PC12 cells.

Methods : PC12 cells have been used extensively as a model for studying the cellular and molecular effects of neuronal cells. In order to check the effect of GSB on the regeneration of PC12 cells, the morphological change of PC12 cells were observed comparatively in GSB group and control group.

Results : The significant changes in neurite length of PC12 cells have been observed on GSB group. In proportion to the concentration of GSB it was observed an increase in neurite outgrowth.

Conclusions : This study confirmed that GSB made a significant influence on regeneration of PC12 cells.

Key Words : Gamishinchubogun-tang, JiaweiShenzhuibujian-tang, neural regeneration, neurite growth, PC12 cells, herniated intervertebral lumbar disc

Ⅰ. 서 론

요추 추간판 탈출증은 퇴행성 변화 또는 외력에 의해 요추부 추간판 섬유륜의 중앙, 내측 또는 외측 섬유 파열이 일어나 수핵의 일부 또는 전부가 탈출해 경막 또는 신경근을 압박하여 신경증상을 유발하는 질환이다.[1)]

추간판 탈출로 인한 척수 신경 압박은 척수강 내로 들어간 추간판 물질과 혈종으로 인한 경막외 압박(extradural compression) 및 척수 부종으로 인한 경막내 압박(intramedullary compression)으로 일어난다. 탈출된 수핵에 의한 척수 신경 압박으로 추간판 탈출증이 발생한 주변부에는 미세혈관의 혈행장애, 부종, 화학적 자극, 염증, 신경의 유합 및 자가면역반응 등이 일어난다.[2)] 척수 압박이 지속되면 척수 신경의 손상이 유발되고 감각계 및 운동계 기능이 저하된다. 이로 인해 요통 및 하지 방사통, 하지 저림과 같은 감각 이상 증상이 나타나게 된다.

요추 추간판 탈출증의 치료 방법은 크게 보존적 치료와 수술적 치료로 나눌 수 있다.[3)] 보존적 치료에는 절대 안정, 소염 진통제의 복용, 골반견인, 열 치료, 초음파 치료, 피하 신경 전기 자극(TENS), 마사지, 보조기 착용, 복근 강화 운동, 올바른 허리 사용법에 대한 교육 등이 포함된다. 수술적 치료는 보존적 치료를 6~12주간 하여도 효과가 없는 참기 힘든 통증이 있거나, 하지 마비가 초래되어 호전되지 않거나 진행되는 경우, 대소변 장애가 초래되는 경우, 통증이 자주 재발하여 일상생활이 어렵고 여가 선용에 지장이 있는 경우 시행한다. 일반적으로 요추 추간판 탈출증

* 교신저자 : 이은정, 대전 서구 대덕대로176번길 75 대전대학교 부속 둔산한방병원 한방재활의학과교실
E-mail : jungkahn@hanmail.net Tel : 042-470-9128
투고일 : 2016년08월08일 수정일 : 2016년08월14일
게재일 : 2016년08월15일

을 고식적으로 치료했을 경우 치료에 실패하여 수술을 시행하는 경우는 10% 미만이다.[4)]

한의학적 치료 방법은 모두 보존적 치료에 포함되며 전통적으로 사용되던 침구치료 및 약물요법 외에도 벌의 독을 추출하여 혈자리에 주입하는 봉독요법, 한약성분추출물을 침법과 결합한 약침요법, 시술자의 손 및 보조기기 등을 이용하여 인체의 특정 부위를 조작하여 인체의 생리병리적 상황을 조절하여 치료하는 추나요법, 전침요법 등이 있다. 최근 요추 추간판 탈출증에 관한 한방치료의 긍정적인 효과가 보고되면서 관심이 집중되고 있다.[5)]

加味伸椎步建湯(Gamishinchubogun-tang, JiaweiShenzhuibujian-tang 이하 GSB)은 獨活寄生湯 가감방으로, 獨活寄生湯은 孫思邈의 『備急千金要方』[6)]에 최초로 기록되어 있다.[7)] 『東醫寶鑑』[8)]에 "治肝腎虛弱 筋攣骨痛 脚膝偏枯 緩弱冷痺"라고 기재되어 있으며 肝腎虛로 인한 요통과 슬통 등에 많이 응용되고 있다.[9)] 獨活寄生湯 관련 논문을 살펴보면 신경재생효과에 대한 긍정적인 결과가 보고되었다.[10)] GSB는 獨活, 當歸, 白茯苓, 桑寄生, 白芍藥, 肉桂, 人蔘, 牛膝, 何首烏, 白朮, 天麻, 狗脊, 川烏, 威靈仙, 巴戟天, 麻黃, 五加皮, 補骨脂, 附子 등으로 구성되어 있으며, 하지 방사통을 동반한 요추 추간판 탈출증 환자에게 임상적으로 유효하다 보고된 바 있다.[11)] 이는 GSB의 신경 재생 효과에 대한 가능성만 보여줄 뿐 이를 실제적으로 증명할 수 있는 연구보고는 없다.

이에 본 연구에서는 GSB가 하지방사통을 동반한 요추 추간판 탈출증 환자에게 임상적으로 유효한 이유가 손상된 신경을 재생하는데 긍정적인 영향을 주었기 때문이라는 가설을 세우고 신경세포의 특성을 지니는 PC12세포에 GSB를 처리한 뒤 신경 돌기의 재생을 관찰한 실험을 시행한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 재료

1) 세포주

PC12 세포는 쥐의 부신 수질 암세포(rat adrenal pheochromocytoma cell)로서 한국 세포주 은행에서 구입하였다. CO_2 세포배양기(37℃, 5% CO_2)에서 11.1 mM glucose, 5% fetal bovine serum(FBS)과 10% horse serum을 포함한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM) 배양액으로 배양하였다.

2) 약재

실험에 사용한 GSB 1첩의 내용과 용량은 다음과 같으며(Table1), 약재는 대전대학교 둔산한방병원에서 구입하여 사용하였다.

3) 시약 및 기기

본 실험의 세포배양에 필요한 Dubellco's minimum essential medium(DMEM), 항생제, Glucose free DMEM, trypsin 및 우태아 혈청(fetal bovine serum: FBS)은 GIBCO BRL사(Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하였다. 세포배양 배양용기(24-well plate, 6 ㎝ dish, 10 cm dish)는 Falcon사 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)의 coating dish를 사용하였다. 세포를 배양하기 위해 필요한 코팅용 collagen type Ⅳ는 sigma사(C5533-5MG)를 사용하였다.

2. 실험방법

1) 검액 조제

GSB 4첩 분량을 증류수 1,500 ml와 함께 3,000 ml 환저 플라스크에서 넣고 120분간 가열한 후, 여과하여 액을 얻었다. 5,000 rpm으로 30분간 원심분리하고 rotary vacuum evaporator를 사용하여 60℃에서 40분간 감압 농축하였다. 24시간 동안 초저온냉동고(-80℃)에 보관 후 동결건조기로 3일 동안 건조하여 시료를 얻었으며, 시료는 실험에 사용하기 전까지 초저온냉동고(-80℃)에서 보관하였고 실험 시에는 멸균 증류수에 희석하여 사용하였다. GSB 1첩(138.6 g)에서 12.36 g(수율 8.9%)의 추출물을 얻었다.

2) 세포주 배양

PC12 세포를 10% (w/v) collagen type Ⅳ로 코팅된 24 well-plate에 5×10^4 cell/ml의 농도

Table1. The Compositions of Gamishinchubogun-tang(JiaweiShenzhuibujian-tang; GSB)

Herb Name	Scientific Name	Amount(g)
天麻	*Gastrodia elata*	20
白朮	*Atractylodes japonica*	20
當歸	*Angelica sinensis*	10
麻黃	*Ephedra sinica*	10
白茯苓	*Poria cocos*	10
桑寄生	*Viscum album var.coloratum*	6
半夏	*Pinellia ternata*	6
川烏	*Aconitum ciliare Decaisne*	6
威靈仙	*Clematis mandshurica Maximowicz*	6
巴戟天	*Morinda citrifolia*	6
白芍藥	*Paeonia japonica*	5
何首烏	*Pleuropterus multiflorus*	5
五加皮	*Acanthopanax*	5
牛膝	*Achyranthes bidentata Blume*	4
補骨脂	*Psoralea corylifolia*	4
狗脊	*Osmunda japonica*	4
獨活	*Aralia contientalis*	4
肉桂	*Cinnamomum loureirii*	3
人蔘	*Panax ginseng C.A.Meyer*	3
附子(炮)	*Aconitum carmichaeli Debeaux*	1.6
Total Amount		138.6

로 분주한 뒤, 11.1 mM glucose, 5% FBS와 10% horse serum이 포함된 DMEM 세포배양액으로 37℃, 5% CO_2 조건으로 배양하였다. 약 48시간 주기로 DMEM 배양액을 교체하며 최초 배지의 50%를 덜어내고 새로운 DMEM을 같은 양으로 넣어주었다. log phase에 있는 세포에 멸균 증류수 또는 GSB를 농도별(100, 250, 500 mg/ml)로 처리한 후 실험을 시행하였다. 이때 GSB는 원하는 농도의 100배로 농축한 뒤 well 당 1% 부피로 처리하였으며, 새로운 배지를 교체할 때 GSB의 농도가 희석이 되므로 배지 교체 시 각 농도에 맞게 GSB 추출물을 새로 넣어주었다.

3) 신경돌기 성장 측정

PC12 세포의 신경돌기 성장을 측정하기 위해 각 배양군마다 임의로 두 부분을 선택하여 현미경에 보이는 시야(field)를 확인하고 사진으로 기록하였다. 관찰은 Ti-S 도립현미경(Nikon, Japan)과 NIS elements software를 이용하였으며, 6일 동안 세포를 배양하면서 2일마다 세포의 형태를 bright field에서 살아있는 상태 그대로 기록하였다.

Ⅲ. 결 과

PC12 세포에 멸균 증류수 및 GSB 처리한 뒤 2일, 4일, 6일째에 신경 돌기를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.(Figure 1)

멸균 증류수(Distilled Water)를 처리한 대조군에서는 뚜렷한 신경 돌기의 성장을 관찰할 수 없는 반면에, GSB를 처리한 군에서는 신경 돌기의 길이가 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 GSB 100 mg/ml 군보다 GSB 250 mg/ml 군의 신경 돌기 길이가, GSB 250 mg/ml 군보다 GSB 500 mg/ml 군의 신경 돌기의 길이가 긴 것을 보아 GSB의 농도에 비례하여 신경 돌기의 성장 속도가 증가하는 것을 알 수 있었다.

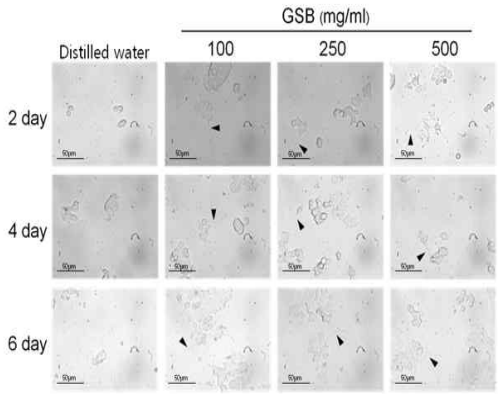

Figure 1. Light micrographs of PC12 cells. PC12 cells were treated distilled water or GamiSinchuBogun-tang(GSB). Arrowheads indicate the re-growth neurites.

Ⅳ. 고 찰

요추 추간판 탈출증은 섬유륜의 파열이 일어나 수핵이 파열된 섬유륜 사이를 뚫고 외부로 탈출되는 질환으로, 척추의 굴신 운동, 회전 운동, 갑작스런 자세의 변동 등 주로 척추의 가벼운 외상에 의해 일어난다. 수핵이 탈출된 정도에 따라 돌출 추간판(protruded disc), 탈출 추간판(extruded disc), 격리된 추간판(sequestrated disc)으로 나눌 수 있다.[4]

탈출된 수핵은 신경근을 자극하게 되는데, 신경근 자극은 탈출된 수핵의 기계적 압박과 함께 수핵 내 단백다당에 의해 유발되는 염증 반응에 의한 것으로 사료된다. 무혈성 조직이었던 수핵이 혈류로 노출됨에 따라 자가 면역 반응에 의해 염증 반응이 나타나고, 이러한 염증 반응에 따른 통증 매개 물질이 주위 조직을 자극하는 것이다. 통증 매개 물질에 의해 통각에 예민해진 신경근은 조금만 자극되어도 그 신경근이 구성하는 대퇴신경이나 좌골신경을 따라 심한 방사통을 유발한다.[4]

방사통에 관한 동물실험에 따르면, 정상적인 신경근은 압박하거나 잡아 당겨도 통증이 없었으나 이미 손상된 신경근을 잡아당기거나 전기적 자극 시 특징적인 통증이 유발된다고 보고되어 있다.[4] 따라서 요추 추간판 탈출증에서 나타나는 국소 통증 및 하지방사통은 추간판 탈출에 의한 척수 신경근 손상에 의해 나타난다고 볼 수 있으며, 손상된 신경의 치료가 통증을 제어하는데 있어 매우 중요한 요소라고 볼 수 있다.

신경 손상은 크게 중추 신경 손상과 말초 신경 손상으로 나눌 수 있다. 말초 신경 손상의 경우 느리더라도 신경 돌기의 느린 재생을 동반하여 회복을 일으킨다고 보고되어 있으며[12] 중추 신경의 손상 또한 재생이 불가능하다고 여겼던 과거와 달리 신경가소성에 의해 신경 재활이 가능하다고 여겨지고 있다.[13] 하지만 신경 재생 범위 및 정도가 불완전하거나 기능적 회복이 제한되는 경우가 흔하다.[14] 또한 신경 재생 작용의 지연 및 중지, 신경의 재생에도 불구하고 기능적 회복이 더딘 경우가 흔하게 발생한다.[15] 그 원인으로 가장 많이 꼽히는 이유는 신경 돌기의 느린 재생 및 재생 중지로 알려져 있다.[16]

신경 손상에 대한 치료는 수술 및 스테로이드 약물을 이용한 합병증 방지와 기능회복이 주이며 치료 결과는 만족할만한 수준에 미치지 못하는 것으로 평가된다.[17, 18] 최근 황[19] 등, 이[20] 등의 연구에서 척수가 손상된 동물모델에 인간의 희소돌기아교세포 신경전구세포를 이식하였을 때 하지 운동기능이 향상되는 것을 확인한 연구가 있었으나 아직 널리 상용화되지는 못하고 있다.[20]

요추 추간판 탈출증의 치료는 수술적 방법과 보존적 방법으로 구분할 수 있는데, 90%이상의 환자가 보존적인 방법에 의하여 치료될 수 있는 것으로 알려져 있다.[21] 또한 일반적으로 마미증후군, 크게 탈출되었거나 탈출된 추간판 조직이 분리되어서 생긴 진행하는 운동신경 손상, 보존적 치료를 하는 초기의 견딜 수 없는 통증의 경우에는 보존적 치료보다 수술적 치료가 필요하다고 알려져 있는데[22], 최근에는 이러한 환자들도 보존적 치료를 통해 신경학적 증상이 호전되었다고 보고되면서[23] 보존적 치료의 비중이 높아지고 있다. 이에 보존적 치료를 위주로 하는 한의학적 치

료법에 대한 관심도 급증하고 있다.

GSB은 獨活寄生湯 가감방으로, 둔산한방병원 한방재활의학과에 내원한 환자 중 요추 추간판 탈출증으로 진단받고 하지방사통을 동반한 요통을 호소하는 환자들에게 투여하여 유효성이 보고된 한약 처방이다.[11)]

GSB은 補肝腎 强筋骨 祛風寒濕하여 肝腎이 허약한 상태에서 風寒濕의 邪氣로 발현된 요추 추간판 탈출증을 치료하기 위해 고안된 처방으로 獨活寄生湯 가감방이다. 국내문헌에 보고된 獨活寄生湯 관련 논문을 살펴보면, 김 등[24)]은獨活寄生湯이補肝腎하여근골의운동기능보강및요추관절고정에효과적이라고보았고, 이 등[10)]은 실험을 통해 獨活寄生湯이신경재생효과가있을것으로 보았다. 신 등[25)]은獨活寄生湯, 白屈菜, 獨活寄生湯加味方이 xanthine oxidase(XO, Sigma)와 hypoxanthine(HX, Sigma)에 의해 손상된 배양 척수감각신경세포에서 lipid peroxidation을 유의하게 감소시키는 작용을 함으로써 산화적 손상에 의한 척수감각신경세포장애 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 보았다. 이러한 獨活寄生湯 처방 구성 중 獨活, 當歸, 白芍芩, 桑寄生, 白芍藥, 肉桂, 人蔘, 牛膝을 취하고, 熟地黃 대신 성질이 온화하여 不寒不燥하여 肝腎을 補하되 膩滯하지 않은 何首烏를 加하였다.[11)] 또한, 脾胃를 補益하는 要藥인 白朮과, 平肝息風의 작용으로 일체의 風證에 寒熱을 막론하고 사용할 수 있는 天麻, 風濕을 제거하여 關節을 通利하는 효능이 있는 狗脊, 去寒濕 散風邪 溫經 止痛하는 효능이 있는 川烏, 風邪가 偏勝하여 유주성으로 肢體가 疼痛하는 증상에 사용되는 威靈仙, 腎陽을 溫補하고 筋骨을 强壯시키며 겸하여 風濕을 제거하는 효능이 있는 巴戟天, 發汗散寒하는 효능이 있는 麻黃, 痺痛과 근골위약을 치료하는 要藥인 五加皮, 補腎壯陽의 主藥인 補骨脂, 元陽이 부족한 것을 도와주어 表裏의 寒濕을 제거하는 附子 등을 加하여 구성하였다.[26)] 이에 “腎氣不足而風邪所乘” 또는 “寒氣痰濕入於膀胱及膽二經所致”의 腎虛를 기본 병리기전으로 하여 風寒濕 三氣가 膀胱經 및 膽經에 침입하여 발생하는 腰痛, 腰脚痛의 범주에 속하는 요추 추간판 탈출증[27)]에 GSB가 한의학적으로 의미가 있다고 사료된다.

이에 저자는 GSB가 신경 세포의 재생에 미치는 영향을 실험적으로 연구하기 위하여 PC12세포에 GSB를 처리한 뒤 신경 돌기의 재생을 관찰하였다.

PC12세포는 쥐의 부신 수질 암세포로, 신경세포와 가장 비슷하여 신경세포 재생 연구에서 주로 사용된다.

신경 재생의 평가 방법으로는 신경세포, 말초신경섬유, 신경종말부 등의 형태를 직접 보고 변화를 관찰하고 숫자를 세거나 크기를 재는 등의 형태학적 방법, electromyogram(EMG)을 사용하여 복합활동 전압의 증폭을 비교하는 등의 신경기능회복을 측정하는 방법, 수초층과 교원질 등의 성분을 생화학적으로 분석하여 신경의 변성 및 재생 정도를 비교하는 방법 등 다양한 방법이 있다. 이러한 방법들은 각각의 장·단점과 목적에 따라 이용될 수 있으며, 상호 보완을 위해 몇 가지 방법을 같이 이용하여 결과를 분석하는 경우 더욱 정확한 해석을 얻을 수 있을 것이라 사료된다.[28)]

본 실험에서는 PC12세포에 GSB를 처리한 경우와 멸균증류수를 처리한 뒤 현미경으로 촬영하여 신경 돌기 길이를 관찰하는 등 형태학적 분석 방법을 이용하였다.

신경돌기는 일반적으로 신경 세포에서 뻗어있는 돌기 가운데 가장 긴 돌기를 지칭하며, 신호를 보내는 역할을 한다. 손상된 신경돌기가 느리게 재생되거나 재생에 참여하는 신경돌기의 수가 제한적인 경우, 신경의 재생 및 기능적 회복이 완전하지 않은 결과를 초래할 수 있다.[29)] 다시 말해, 신경 손상 후 재생에 참여하는 신경 돌기의 수 및 속도는 신경 재생과 기능 회복에 매우 중요한 요소라고 할 수 있다.[30)]

본 연구에서, GSB는 농도 의존적으로 신경세포의 신경돌기 재생에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.(Figure 1) GSB를 처리한 군은 멸균 증류수를 처리한 대조군보다 신경 돌기의 성장이 뚜렷하였으며, GSB의 농도에 따라 그 속도가 증

가하는 것을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과를 종합하면 GSB는 신경 재생의 중요한 과정인 신경돌기 생성을 촉진하는 효과를 나타내었다. 따라서 GSB는 손상된 신경의 재생에 긍정적인 영향이 있을 것으로 예상되며, 신경세포 손상으로 야기되는 질환에 응용될 수 있을 것으로 사료된다. 하지만 이는 in vitro 연구로써 실제 생체 내에서의 작용은 아직 확인되지 않았다. 따라서 관련된 in vivo 연구 및 RCT연구 등 자세한 작용 기전에 대한 향후 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Ⅴ. 결 론

하지 저림을 동반한 요추 추간판 탈출증에 긍정적인 효과를 보이는 GSB이 신경세포의 재생에 미치는 영향을 알아보기 위하여 신경세포의 특징을 나타내는 PC12세포에 GSB를 처리한 후 신경돌기의 길이를 측정하였다. GSB은 농도 의존적으로 신경돌기의 생성을 촉진시켰다.

이상의 결과로 보아 GSB는 PC12세포의 신경돌기 성장을 유도하여 손상된 신경의 재생에 긍정적인 영향을 주는 것으로 사료된다.

참고문헌

1. The Korean Academy of Oriental Rehabilitation Medicine. Oriental Rehabilitaion Medicine. Seoul, Koon ja, p.56, 2001.
2. Song BK, Study on the Conservative Treatment of Herniated Lumbar Intervertebral Disc. Journal of Korean Medicine, 16(2):62-78, 1995.
3. Lee GM, Lee KC, Hwang YJ, Collaborative study of oriental-western medicine on HIVD. J Kor Acu Mox Soc, 17: 1-10, 2000.
4. The Korean Orthopaedic Association. Orthopedics. Seoul, Recent medical history, p.860-874, 2013.
5. Sin MS, Roh JD, Choi SW, Lee DH, Song BY, Yook TH, Clinical Studies on Ruptured Intervertebral Lumbar Discs. The Acupuncture, 18(6): 84-92, 2001.
6. Sun SM, Emergency Formulas Worth a Thousand in Gold. Beijing, Huaxia publishers Co, p.132, 1993.
7. Moon HJ, Lim EM, Effects of Gagamdokhwalgisang-Tang on the Morphometric Changes of Femur and the Factors Related with Bone Metabolism in Ovariectomized Rats. The Journal of Oriental Obstetrics and Gynecology, 19(1): 47-68, 2006.
8. Heo J, Donguibogam. Seoul, BubIn publishers Co: p.850-851, 2007.
9. Choi CH, Kim SJ, Shin JC, Wi TS, Kim JH, Choi JB, et al., Clinical Study of Dokhwalkigisaengtanggagambang(DGG) and Gamisayuktanggagambang(GSG) for Improving Lumbago and Knee Joint Pain. The Society for Herbal, 28(2): 75-82, 2013.
10. Lee SG, Won JK, Yeom SR, Lee SK, Song YS, Kwon YD, The Effects of Dokhwalgisaeng-tang(Duhuoqisheng-tang) and Jungsongouhyul Pharmacopuncture on Pain Control and Nerve Regeneration in the Crush-induced Sciatic Nerve Injury of the Rat Model. Journal of oriental rehabilitation medicine, 19(3): 15-32, 2009.
11. Lee EJ, Choi JJ, Jang ES, Park Yc, Jung IC, Effects of Shinchubogun-tang and Common Korean Medicine Treatment on Symptom Reduction in Patients with Intervertebral Lumbar Disc Herniation : A Retrospective Observational Study.

Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine, 30(1): 66-72, 2016.
12. Ide C, Peripheral nerve regeneration. Neuroscience Research, 25(2): 101-21, 1996.
13. Coderre TJ, Katz J, Vaccarino AL, Melzack R, Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. Pain, 52(3): 259-85, 1993.
14. Höke A, Brushart T, Introduction to special issue: Challenges and opportunities for regeneration in the peripheral nervous system. Experimental neurology, 223(1): 1-4, 2010.
15. Brushart TM, Gerber J, Kessens P, Chen YG, Royall RM, Contributions of pathway and neuron to preferential motor reinnervation. The Journal of neuroscience, 18(21): 8674-8681, 1998.
16. Faweett JW, Keynes RJ, Peripheral nerve regeneration. Annual review of neuroscience, 13(1): 43-60, 1990.
17. Shin SR, Kim AL, Factors effect on quality of life of spinal cord injury patients. Journal of korean Academy of Nursing, 31(1): 126-38, 2001.
18. DeLisa JA, Developing an integrative approach to spinal cord medicine. The journal of spinalcord medicine, 26(1): 27, 2003.
19. Hwang KJ, Transplantation of humanneural stem cells-derived oligodendrocyte progenitors into spinal cord injury in adult rat. 연세대학교 대학원 석사학위 논문, 2010.
20. Lee KH, Yoon DH, Park YG, Lee BH, Effects of glial transplantation on functional recovery following acute spinal cord injury. Journal of neurotrauma, 22(5): 575-589, 2005.
21. Kim HK, Lee JD, The follow-up computed tomographic view after treatment of HNP of L-spine by oriental medical method. Journal of Korean Medicine, 18(2): 33-42, 1997.
22. Postacchini F, Results of surgery compared with conservative management for lumbar disc herniations. Spine, 21(11): 1383-1387, 1996.
23. Saal JA, Saal JS, Nonoperative treatment of herniated lumbar intervertebral disc with radiculopathy: an outcome study. Spine, 14(4): 431-437, 1989.
24. Kim JY, Lee SY, Lee KG, Effects of Dokwhalgisaengtang on the serum in Rats. Korean J. Oriental Medical Pathology, 12(2): 99-104, 1998.
25. Shin BC, Song YS, Kwon YD, Effects of Dokhwalgisaeng-tang(Duhuojisheng-tang) and Herbar Chelidoni on the Cultured Spinal Sensory Neurons Damaged by XO/HX. Journal of oriental rehabilitation medicine, 10(2): 69-79, 2000.
26. College of Oriental Medicine, Co Textbook Compilation Committee. Herbal Medicine. Seoul, Yonglim, p.152-637, 2007.
27. Lee KH, Kim CY, Kim KY, Nam HW, Jung YH, Koh YT, Case Report of L-spine HIVD treated with Spine Decompression. The Journal of Korean Society of Chuna Manual Medicine for Spine & Nerve, 2(1): 39-47, 2007.
28. Han HJ, June LH, Kang SS, Lee SH,

Cho IH, Hwan LJ, et al., Effect of Red Ginseng Total Saponin on Sciatic Nerve Regeneration. Journal of Ginseng Research, 27(3): 103-109, 2003.

29. Gordon T, The role of neurotrophic factors in nerve regeneration. Neurosurgical focus, 26(2): E3, 2009.
30. Park JS, The effects of treadmill exercise on axon regeneration in injured median nerve. The Korea Journal of Sports Science, 22(4): 983-994, 2013.