

생쥐 경골의 골절 치료에서 캠퍼롤이 골절부 주변 뼈의 기계적 강도에 미치는 영향 분석

Effect of Kaempferol Treatment on Mechanical Response of Murine Tibia Near Fracture Site

*손승배¹, 이재훈¹, 한창완¹, O. Maidar², 이상수², #박성훈¹

*S. Son¹, J. Lee¹, C. W. Han¹, O. Maidar², S-S. Lee², #S. Park(paks@pusan.ac.kr)¹

¹부산대학교 기계공학부, ²한림대학교 의과대학 골격노화연구소

Key words : Kaempferol, fracture, fracture load, fracture energy, stiffness

1. 서론

캠퍼롤(Kaempferol)은 플라보놀 형태의 플라보노이드로 다양한 채소와 과일에 존재하는 물질로서 TNF- α 에 의해 유도되는 사이토카인, MCP-1과 IL-6의 분비를 막아 파골세포의 활동을 억제하는 효과를 가지고 있어서 폐경 후 골다공증의 치료에 도움이 되는 것으로 알려져 있다. 그러므로 골 소실 예방 및 치료 물질로서 많이 연구되고 있으며,¹ 최근에는 갓 태어난 쥐를 대상으로 한 실험에서 캠퍼롤이 뼈 형성 초기에도 조골세포의 활동을 촉진시키는 것으로 조사되었다.²

현재 골다공증의 예방과 치료에서 캠퍼롤의 유효성에 대해서는 다양한 논문들이 존재하지만, 골절 치료에서의 캠퍼롤의 효과에 대한 연구는 미미한 실정이며, 특히 골절부의 치유과정에서 골절부 주변의 뼈조직에 캠퍼롤이 주는 영향에 대해서는 아무런 연구결과가 보고되지 않았다.

앞서 본 연구팀에서 골절 치유과정에서 캠퍼롤의 골절부의 골 형성 강화 효과에 대한 선행 연구가 수행되었으며, 본 연구에서는 생쥐의 경골을 이용한 골절 모델을 이용하여 골절 치유과정에서 캠퍼롤이 골절부 주변의 뼈조직에 미치는 영향을 기계적 물성 조사를 통하여 조사해보고자 한다. 캠퍼롤이 골절 치유과정에서 골절부와 골절부 주변의 뼈조직에 미치는 영향을 조사함으로써 캠퍼롤의 효과를 보다 명확히 밝힐 수 있을 것으로 보인다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1 실험 동물

골절이 치유될 때의 조직학적 구조나 물리적 특성의 변화를 알아보는데 골절모델이 사용되고 있으며, 주로 쥐, 토끼, 개 등의 동물들이 사용된다.³ 이러한 동물실험에서 X-ray, CT 촬영에 의한 골절부위의 관찰이나 물리적인 힘에 대한 저항 또는 형태적인 변화와 병리조직학적인 변화등이 관찰되고 있다.

본 연구에서는 생후 8주의 수컷 ICR 쥐의 경골에 Hiltunen의 방법을 적용하여 표준화된 골절을 유발하였다.⁴ 이를 간략히 기술하면, 쥐의 복강에 pento-

barbital(50 mg/kg)을 주사하여 마취시키고 뒷다리 측면을 제모한 후, 대퇴의 배측면에서부터 무릎 부위까지의 피부를 절개하여 경골 골단(tibial tuberosity)에 직경 0.5mm의 구멍을 만든다. 구멍을 통하여 골수내로 Anticorro insect 핀(Fine Science Tools Inc.)을 삽입하였다. 골간(diaphysis)의 중앙에 뚫은 날의 블레이드를 접촉시킨 후, 200g의 추를 195mm 높이에서 낙하시켜서 골절을 유발하였다.

골절유발 후 쥐들을 4개의 그룹으로 나누고 골절 다음 날부터 매일 위관을 통해 캠퍼롤을 주입하였다. 캠퍼롤은 20% 에탄올을 용매로 하여 주입되었으며, 3개의 실험군 쥐들에게는 각각 0.2, 1.0, 5.0 mg/kg(body weight)을, 나머지 1개 군은 대조군(control)으로써 20% 에탄올만을 주입하였다. 캠퍼롤을 처방한 후 X-ray 이미지와 전문의의 소견을 통해 쥐 경골의 골절이 회복된 것으로 판단된 21일 경과 시점에 쥐 경골 샘플을 채취하였다(Fig. 1).

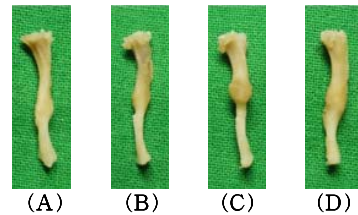


Fig. 1 Collected murine tibia from fracture(4 groups with different doses of Kaempferol): (A) control group - no Kaempferol, (B) 1st group - 0.2 mg/kg, (C) 2nd group - 1.0 mg/kg, (D) 3rd group - 5.0 mg/kg

2.2 기계적 특성 조사

각 그룹별로 9개의 경골 샘플에 대해 3점 굽힘 시험을 수행하여 골강성을 측정하였다. 골절부에서부터 무릎관절 방향 뼈 샘플을 바이오-재료시험기(Biomechanical Testing Machine, KST Co. Korea)의 5mm 간격 양측 지지대 위에 올려놓고, 중앙의 인텐터를 아랫방향으로 0.03 mm/sec의 속도로 누르면서 경골이 부러질 때까지 과단하중(fracture load)과

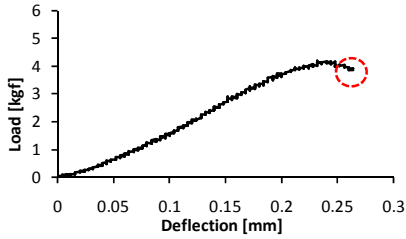


Fig. 2 Representative load-deflection graph until fracture from 3-point bending test on murine tibia

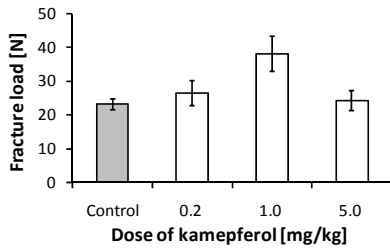


Fig. 3 Average fracture load of each groups

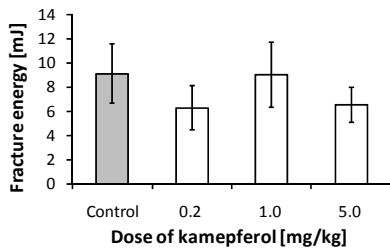


Fig. 4 Average fracture energy of each groups

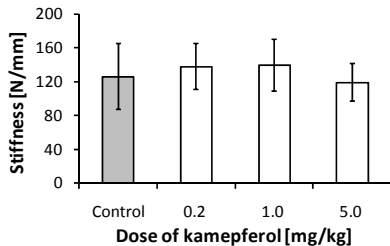


Fig. 5 Average stiffness of each groups

골강성(stiffness), 파단에너지(fracture load)를 측정하였다.

3. 실험 결과

파단하중은 Fig.2 에 원으로 표시한 지점과 같이 파단이 일어나는 시점의 하중을 측정하였다. 1.0 mg/kg 의 캠퍼롤을 투여한 군에서 측정된 파단하중은 평균 38.07 N(25.42 ~ 58.91 N)인데 비해, 대조군의 평균 파단 하중은 23.13 N(18.62 ~ 27.10 N)으로 통계적으로(student t-test) 유의한 차이(p = 0.003)를 보였다(Fig. 3). 경골에 하중이 가해지는 시점부터 파단이 일어날 때까지 흡수된 파단에너지는 하중-처짐 그래프 상에서 해당 범위의 면적을 구함으로써 측정되었다. 대조군과 실험군 사이에

통계적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았으나, 1.0 mg/kg 의 캠퍼롤을 투여한 군과 대조군이 다른 두 군에 비해 다소 높은 파단에너지를 흡수 하였다(Fig. 4). 골강성은 하중-처짐 그래프의 선형구간 기울기를 구함으로써 측정되었다. 파단에너지의 경우와 마찬가지로 대조군과 실험군 의 골강성은 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 1.0 mg/kg 의 캠퍼롤을 투여한 군의 골강성이 가장 높게 나타났다(Fig.5).

4. 고찰 및 결론

앞서 선행된 연구에서 골절부에 형성된 가골(callus)의 기계적 강도는 캠퍼롤 투여량이 많을수록 골강성이 좋아지는 것으로 조사되었다. 본 연구에서는 1.0 mg/kg 의 캠퍼롤을 투여한 군이 전체적으로 기계적 성질이 우수한 것으로 나타났으며 특히 파단 하중 측면에서 우수한 성질을 보였다. 투여량이 많거나 적은 경우 오히려 대조군보다 낮은 수준의 성질을 보이는 경향이 있지만, 파단에너지, 골강성에서 통계적 유의성을 보이지 않았다. 따라서 적정량의 캠퍼롤 투여는 골절부 주변 뼈의 파단 강도를 높이는 효과가 있으며, 뼈의 인성(toughness)과 골강성에는 영향을 주지 않는 것으로 판단된다. 골절 치유과정에서 골절부 뿐만아니라 주변뼈도 캠퍼롤의 영향을 받는 것으로 보이며, 보다 정확한 결과를 위해 뼈의 단면의 형상 고려 및 조직 분석이 추가로 수행되어야 한다.

후기

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행되었습니다. (2010-0021759, R33-10155)

참고문헌

- Pang JL, Ricupero DA, Huang S, Fatma N Singh DP, Romero JR, Chattopadhyay N, "Differential activity of kaempferol and quercetin in attenuating tumor necrosis factor receptor family signaling in bone cells," *Biochemical Pharmacology*, **71(6)**, 818-826, 2006.
- Yang L, Takai H, Utsunomiya T, Li X, Li Z, Wang Z, Wang S, Sasaki Y, Yamamoto H, Ogata Y, "Kaempferol stimulates bone sialoprotein gene transcription and new bone formation," *Journal of Cellular Biochemistry*, **110(6)**, 1342-1355, 2010.
- Lenehan, T.M., Balligand, M., Nunamaker, D.M. and Wood, F.E.Jr. "Effect of EHDP on fracture healing in dogs," *Journal of Orthopedic Research*, **3**, 499-507, 1985
- Hiltunen A, Vuorio E, Aro HT, "A standardized experimental fracture in the mouse tibia," *Journal of Orthopaedic Research*, **11(2)**, 305-312, 1993.