

흰쥐에서 당뇨 유도 후 하악골 골밀도 변화에 관한 연구

정석영 · 신상훈* · 김육규* · 박봉수** · 정인교*

동아대학교 의과대학 구강악안면외과학교실, 부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실*, 구강해부학 교실**

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2002;28:95-102)

THE STUDY OF BONE MINERAL DENSITY IN THE MANDIBLE OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

Seok-Young Jeong, Sang-Hun Shin*, Uk-Kyu Kim*, Bong-Soo Park**, In-Kyo Chung*

Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Collage of Medicine, Dong-A University

Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Dept of Oral Anatomy**,*

Collage of Dentistry, Pusan National University

DM is a systemic disease with many complications. One of them, diabetic osteopenia is important sequelae and many authors reported reduced bone mass in diabetic rats. However, in mandible, study has been rare because of its anatomical limits. So the objective of this study was to investigate bony change in mandible of diabetic rats.

Thirty-two adult rats were used in this study. Half of them were male and female respectively. In sixteen rats, streptozotocin was injected intraperitoneally to induce DM and the serum glucose concentration was checked to ensure the induction of DM prior to the time of sacrifice. At 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16weeks, control group and diabetic group rats were sacrificed respectively. And then bone mineral density of mandibles and femurs of the rats was measured using dual energy X-ray absorptiometry(DEXA). In addition serum osteocalcin and urine deoxypyridinoline were measured as markers of bone formation and resorption respectively. Mandibular and femoral bone density in streptozotocin induced rats was decreased with significance statistically after 4 weeks from injection. In mandible, comparing with femur, bone density was moderately decreased. The alveolar bone in mandible was more decreased bone density than the whole body in the mandible

From these results, bone mineral density decreased in uncontrolled diabetic group with time, and especially alveolar bone was more destructive in the mandible. So authors think that consideration of reduced bone mineral density is necessary in dental procedure.

Key words : DM, Osteoporosis, DEXA, Bone density

I. 서 론

최근 치과영역에서는 상실된 치아의 수복을 위한 치료로서 임플란트가 많이 이용되고 있으며 이에 따라 악골의 골질 및 골대사에 관한 관심이 증가되고 있다. 이러한 관심은 정상인에서 뿐 아니라 매식부에 골량이 부족한 환자나 전신질환을 동반한 환자인 경우에까지 확대되고 있다. 이러한 골량과 골의 대사에 영향을 끼치는 대표적인 전신질환의 하나로 당뇨병을 꼽을 수 있다. 전 세계인구의 약 2% 정도가 당뇨병에 이환되어 있다고 보고되고 있으며¹⁾ 우리나라에서도 연간 당뇨병 발생율이 2.5%에 이르

고 있어 중요한 문제가 되고 있다^{2,3)}.

당뇨병은 고혈당 상태를 나타내는 여러 질환을 말하는 것으로 이것의 병태생리는 매우 다양하지만 일반적으로 인슐린 분비의 절대적 또는 상대적 부족이나 인슐린 수용체에서의 인슐린의 생물학적 효과감소로 인하여 발생하는 고혈당 및 이에 수반되는 대사장애가 장기간 지속되는 상태로 특징지어지는 질환이다. 이러한 대사장애 상태가 지속되면 급성 또는 만성 합병증이 발생하게 되며, 그 중에서도 특히 골다공증은 잘 알려진 당뇨병의 합병증 중 하나이다.

당뇨병 환자에서 골다공증의 발생은 임상적으로 중요성을 가지고 있어 여러 선행들에 의해 당뇨병에서 골다공증을 증명하기 위한 골밀도의 변화가 연구되었다. 골밀도를 측정하기 위해서는 여러 가지 방법들이 사용되었으나 현재에는 비침습적인 방법이 주로 이용되고 있다. 이러한 비침습적인 방법에는 radiogrammetry, single photon absorptiometry, dual photon absorptiometry 그리고 dual energy X-ray absorptiometry 등이 있으며, 그 중 대표적인 연구 방법이 dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA)를 이용한

정 석 영

602-715, 부산광역시 서구 동대신동 3가 1

동아대학교 의과대학 구강악안면외과

Seok-Young Jeong

Dept. of OMFS, Medical College, Dong-A university

#1, 3-Ga Dongdaeshin-Dong, Seo-Gu, Pusan, 602-715, Korea

Tel: 82-51-240-5470 FAX: 82-51-247-3180

E-mail: sucky@hananet.net

골밀도 측정이다. 최근에는 작은 실험동물에서 골밀도 측정이 가능한 고해상도의 DEXA system이 개발되어 사용되고 있다⁴. 그러나 대부분의 연구들이 대퇴골이나 요추 부위에서 이루어졌으며 약안면 영역에 대한 연구는 x-ray 촬영시 나타나는 해부학적인 구조물의 중첩 때문에 상당한 제한점을 가져 거의 이루어지지 않았다.

본 연구에서는 췌장의 랑거한스섬의 베타세포를 선택적이며 비가역적으로 손상시키고 적정량의 1회 투여로 당뇨병을 유발시킬 수 있는 스트렙토조토신을 이용하여 당뇨 흰쥐를 유도하고 이로부터 하악골 및 대퇴골을 얻어, dual energy X-ray absorptiometry를 촬영하여 이들의 골밀도를 측정함으로써 당뇨병을 유도한 흰쥐에서 하악골의 골밀도 변화에 대해 알아보려고 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

실험동물은 24주된 체중 300gm 내외의 건강한 Sprague-Dawley 종 암컷 흰쥐 16마리와 500gm 내외의 수컷 흰쥐 16마리를 사용하였고 각각 8마리씩 나누어 실험군과 대조군으로 하였다.

2. 연구방법

1) 당뇨유도

실험군 흰쥐에 암수 각각 스트렙토조토신(Sigma사, USA)을 citric acid (0.05 M)에 용해시켜, 체중 kg당 60mg을 복강내에 투여하는 방법을 사용하였다. 1주 후 대퇴정맥에서 혈액을 채취하여 Lifescan(Johnson & Johnson사, USA)으로 혈당치를 측정하고 그 수치가 300mg/dl 이상이며 실험기간동안 지속적으로 검출된 동물만을 당뇨 유도된 흰쥐로 인정하였다.

2) 실험기간

실험군의 흰쥐는 당뇨유도 후 1주, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 12주 및 16주간 사육하여 희생시킨 후 표본을 제작하였으며 대조군도 각시기에 한 마리씩 희생하여 표본을 제작하였다. 각 우리마다 3~4마리씩 사육하였고 실험동물용 고형사료와 수돗물을 자유 섭취하게 하였다.

3) 표본제작

희생에 앞서 먼저 기술한 방법으로 혈액을 채취, 혈당치를 확인하고, 당뇨군에서 혈당치가 300mg/dl 이상 상태가 지속되고 있는 것을 확인하였다. 당뇨 유도 후 1주, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 12주, 16주 경과한 흰쥐를 대조군 흰쥐와 더불어 암수 각각 1마리씩 Xylazine hydrochloride (Rompun®, Bayer사, 한국) 10mg/kg, Ketamine chloride (Ketalar®, 유한양행, 한국) 100mg/kg을 혼합하여 대퇴부에 근육주사하여 전신마취를 유도한 후, 심장관류법으로 조직을 고정하기 위하여 흉곽부에 Y 절개를 가하여 흉곽을

열어 심장을 노출시킨 후 5cc syringe를 이용하여 좌심실로부터 혈중 osetocalcin 측정을 위한 2cc 가량의 혈액을 채취하였다. 좌심실로 연동성 관류 펌프와 연결된 20 gauge 바늘을 삽입하여 지혈검자로 고정하고 펌프를 작동시킨 뒤, 우심방의 벽을 절개하여 채순환된 혈액을 배출시키고, phosphate buffered saline(PBS)를 사용하여 20분간 체내 혈액을 세척해낸 후 pH 7.2인 4% paraformaldehyde 고정액을 30분간 관류 펌프로써 주입하였다. 관류고정 직후 대퇴골 및 하악골을 절단해 내었다.

4) 골밀도 검사

희생한 실험동물로부터 대퇴골과 하악골을 얻어내어 모든 연조직을 제거하고 4% paraformaldehyde 고정액에 담귀 하루동안 고정시킨 후, DEXA system (Hologic QDR-4500, v1.0; Hologic Inc., Bedford, MA, U.S.A)을 이용하여 자체내에 설정되어 있는 small animal mode의 high-resolution 상태로 각각의 표본을 2번씩 촬영하여 bone mineral density(BMD) 값을 측정하였다.

5) 병리조직학적 관찰

하악골 및 경골에 대한 DEXA 촬영을 시행한 뒤, 동일한 고정액에 6시간 동안 고정시킨 후 증류수 1750ml에 250g의 EDTA와 25g의 NaOH를 녹인 탈회액에 7주간 탈회시키고, 뒤이어 조직을 조직캡슐에 넣어 흐르는 물에 12시간 동안 수세한 다음, 통상적인 방법에 따라 alcohol과 xylene으로 탈수와 투명화를 한 후 paraffin에 포매하고 6µm 두께의 시상연속절편을 제작하였다. 이렇게 제작된 표본을 hematoxylin-eosin (H-E)염색법을 써서 염색하고 광학현미경(Olympus BH60, Japan)으로 검경하여 골소주 및 골소주 직 변화의 정도를 관찰하였다.

6) 생화학적 분석

동아대학교 병원 임상 병리과에 의뢰하여 희생된 흰쥐로부터 얻어진 1ml 가량의 뇨로부터 dioxypyridinoline을 측정하고 심장에서 채취한 2ml 가량의 혈액을 이용하여 혈중 osteocalcin 농도를 측정하였다.

7) 통계학적 분석

대조군과 실험군의 차이를 비교하기 위해 비모수 통계법인 Mann-Whitney test를 사용하여 분석하였으며 p-value가 0.05이하인 경우 유의성이 있는 것으로 판독하였다.

III. 연구 결과

1. 골밀도 측정

대퇴골에서는 전체 대퇴골과 원위 골간단부를 촬영하였으며 하악골에서는 전체 하악골과 치조골 부위를 촬영하여 각각의 BMD 값을 측정하였다.

1) 대퇴골

(1) 골체부

수컷은 실험군에서 대조군에 비해 초기부터 약간의 골밀도 감소가 나타나다 4주에 이르러 급격한 변화를 보였으며 시간이 경과할수록 보다 증가된 감소량을 나타냈다. 암컷에서는 초기에는 대조군과 실험군이 거의 차이를 나타내지 않았으나 4주에 이르러 통계학적인 유의성을 가지는 급격한 골밀도 감소를 나타내었으며 시간이 지날수록 보다 심한 골밀도의 감소를 나타내었다 (Table 1).

(2) 원위 골간단부

대퇴골의 원위 골간단부를 촬영한 결과 수컷에서는 4주부터 변화가 나타나기 시작하여 16주까지 골체부에서와 비슷한 완만한 골밀도의 감소를 보였다. 암컷에서는 4주부터 급격히 감소하기 시작하여 16주에 이르러서는 30%이상의 감소된 골밀도를 나타내었다(Table 2).

2) 하악골

(1) 골체부

암수 모두 4주에서부터 변화가 나타나기 시작하나 통계학적으로 유의성을 가지는 골밀도의 감소는 6주부터 일어났다. 그러나 시간이 경과해도 심한 골밀도 감소는 관찰되지 않았다(Table 3).

(2) 치조골 부위

치조골 부위는 수컷은 3주부터 암컷에서는 4주부터 골밀도의 감소가 나타나기 시작하여, 시간이 경과할수록 골체부에 비해 보다 많은 골밀도의 감소를 나타내었다. 암컷에 비해 수컷의 경우에서 보다 심한 골밀도 감소를 보였다.

2. Osteocalcin 및 Deoxypyridinoline 측정

Osteocalcin은 대조군에 비해 실험군에서는 당뇨의 기간이 지속됨에 따라 암수 모두에서 약간 증가하는 양상을 보였으나 통

Table 1. BMD of diabetic group and control group in whole body of femur.

week	DMM	contM	DMF	contF
1	0.2674	0.2824	0.2515	0.2546
2	0.2675	0.2790	0.2648	0.2554
3	0.2648	0.2778	0.2633	0.2601
4	0.2524*	0.2929	0.2320*	0.2687
6	0.2486*	0.2893	0.2147*	0.2604
8	0.2472*	0.2949	0.2144*	0.2584
12	0.2448*	0.2923	0.2024*	0.2636
16	0.2424*	0.2974	0.1082*	0.2564

DMM: diabetic male group, contM: control male group, DMF: diabetic female group, contF: control female group
(*: p<0.05)

Table 2. BMD of diabetic group and control group in distal metaphysis of femur.

week	DMM	contM	DMF	contF
1	0.3023	0.3027	0.3044	0.2906
2	0.3097	0.3011	0.2937	0.2817
3	0.3326	0.3121	0.2893	0.2935
4	0.2892*	0.3050	0.2708*	0.3018
6	0.2777*	0.3183	0.2570*	0.2843
8	0.2756*	0.3250	0.2442*	0.2907
12	0.2817*	0.3275	0.2199*	0.3055
16	0.2681*	0.3271	0.1900*	0.2812

DMM: diabetic male group, contM: control male group, DMF: diabetic female group, contF: control female group
(*: p<0.05)

Table 3. BMD of diabetic group and control group in whole body mandible.

week	DMM	contM	DMF	contF
1	0.2060	0.2009	0.2022	0.1987
2	0.2040	0.2053	0.2021	0.1998
3	0.2041	0.2038	0.1997	0.2015
4	0.2017	0.2061	0.1961	0.2024
6	0.1998*	0.2085	0.1949*	0.2001
8	0.1972*	0.2056	0.1933*	0.2004
12	0.1936*	0.2094	0.1883*	0.2033
16	0.1927*	0.2030	0.1865*	0.2023

DMM: diabetic male group, contM: control male group, DMF: diabetic female group, contF: control female group
(*: p<0.05)

Table 4. BMD of diabetic group and control group in alveolar bone of mandible.

week	DMM	contM	DMF	contF
1	0.2954	0.2926	0.3017	0.2892
2	0.2941	0.2962	0.2939	0.2832
3	0.2927	0.3116	0.2821	0.2865
4	0.2868*	0.3030	0.2730*	0.2893
6	0.2841*	0.3017	0.2784*	0.2821
8	0.2807*	0.3131	0.2757*	0.2854
12	0.2777*	0.3254	0.2553*	0.2816
16	0.2651*	0.3098	0.2485*	0.2872

DMM: diabetic male group, contM: control male group, DMF: diabetic female group, contF: control female group
(*: p<0.05)

계학적인 유의성을 가지지는 못하였다. Deoxyypyridinoline의 경우 대조군과 실험군 모두에서 통계학적 의미를 가지는 변화를 나타내지 못하였다.

3. 조직학적 소견

1) 대퇴골

1주군의 경우 암수 모두에서 대조군과 실험군에서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았으며 4주군에서부터 대조군에 비해 실험군에서 주로 해면골을 중심으로 증가된 골수조직 공간을 관찰할 수 있었다. 이러한 차이는 12주군에서 보다 뚜렷하게 관찰되었다.

2) 하악골

하악골 하연을 구성하고 있는 피질골은 대조군과 실험군에서 거의 차이를 관찰할 수 없었으나, 해면골에서는 4주경부터 보다 증가되고, 넓어진 골수조직 공간이 관찰되기 시작하여 12주군에서 보다 뚜렷한 차이를 관찰할 수 있었다. 치조골 부위는 1주군의 경우 암수 모두 당뇨군과 실험군에서의 차이를 관찰할 수 없었으나(Fig. 1, 2), 4주군에서는 대조군에 비해 당뇨군에서 약간의 치조골 흡수양상과 치주인대의 증가 등을 관찰할 수 있었다(Fig. 3, 4). 이것은 시간이 지날수록 더욱 뚜렷한 양상을 보여 12주군에서는 보다 많은 치조골의 소실 및 골수조직 공간의 증가를 관찰할 수 있었다(Fig. 5, 6). 치조골 파괴 양상은 특히 수컷에서 보다 뚜렷하게 나타났다.

IV. 총괄 및 고찰

당뇨병은 신체내의 거의 모든 장기에 영향을 미치는 대사성 질환으로서 당뇨병 환자들은 여러 가지 질환에 이환될 확률이 높으며 여러 종류의 급, 만성 합병증을 가지게 된다. 그중에서도 당뇨병성 골감소증은 당뇨병에서 나타나는 중요한 합병증으로 여러 선행학들에 의해 많이 연구되어 왔다. 당뇨병과 골밀도의 관계에 대하여 1948년 Albright와 Reifstein⁹⁾이 조절 안된 당뇨병에서 골다공증이 동반됨을 보고한 이래로 당뇨병은 이차성 골다공증의 중요한 원인의 하나로 받아들여졌고, 대체적으로 골밀도의 감소를 인정하고 있다⁶⁾. McNair⁷⁾는 당뇨병 환자에 있어서 골밀도의 감소는 당뇨병 진단 후 첫 수년내에 이루어지며, 정상인과 당뇨병 환자의 골무기질량을 비교한 결과 당뇨병 환자에서 20% 정도 낮다고 보고하였고, Miazgowski 등⁸⁾은 당뇨병 환자 58명과 정상인 33명의 요추 및 전완부의 골밀도를 비교한 결과 당뇨병 환자에서 현저하게 낮다고 보고하였으며 Krakauer 등⁹⁾은 불충분한 혈당조절로 인해 젊은 성인에서도 골흡수가 촉진되고, 골밀도 감소가 발생된다고 하였다.

당뇨병에서 골다공증이 발생하는 원인은 인슐린의 결핍, 또는 고혈당에 의한 골대사 이상이 직접 작용하는 것으로 생각되어 지는데 이에 관하여, Storm 등¹⁰⁾은 당뇨병 환자에서 1, 25-dihydroxy-vitamin D [1,25(OH)₂D]의 저하를 관찰하여 혈중 1,25(OH)₂D의 감소가 장관에서 칼슘흡수를 저하시켜서 골밀도

감소를 유발한다고 보고하였고, Martineau-Doize 등¹¹⁾과 Ituarte 등¹²⁾은 당뇨병에 의한 골다공증은 인슐린 분비저하에 의해서 골모세포 자신이 직접 불활성화되고 교원질과 프로테오글리칸의 생산이 억제된 결과에 따른다고 보고하고 있으며, Malone 등¹³⁾은 당뇨병 환자에서 요중 칼슘이온과 인산이온의 농도가 상승함에 따라 혈중 칼슘이온 농도가 저하하여 골밀도의 감소를 발생한다고 하였으며, Saggese 등¹⁴⁾은 당뇨병 환자에 마그네슘 이온의 흡수가 감소되고 이로 인해 칼슘대사에 장애가 발생되어 골밀도의 감소를 발생한다고 하였다. Grage 등¹⁵⁾은 고인슐린혈증으로 인한 신장에서의 칼슘흡수의 장애로 인하여 정상인과 비교해서 같은 양의 칼슘을 흡수하더라도 혈중에서의 수치가 낮기 때문에 골밀도가 감소한다고 하였으며, Zigler 등¹⁶⁾은 골소실이 면역반응의 일환으로 inflammation mediated osteopenia 및 인슐린양 성장 호르몬의 결핍에 의한 것이라고 제시하였다. Nagasaki 등¹⁷⁾은 부갑상선호르몬의 분비가 촉진되어 파골세포의 기능이 항진되어 골흡수가 나타난다고 하였고, Kao 등¹⁸⁾은 당뇨병이 골다공증을 일으키는 이유를 1) 인슐린 부족에 의한 조골세포 대사활동의 감소, 2) 당뇨병성 산증에 의한 파골세포 대사활동의 증가, 3) 당뇨병성 신증에 의한 이차성 부갑상선 기능항진증, 4) 성호르몬 분비의 감소, 5) 부신피질호르몬분비의 증가, 6) bone matrix 형성에 필요한 mucopolysaccharide 합성의 장애, 7) 영양부족, 8) 당뇨병성 혈관병증에 의한 골내로의 혈류감소 등으로 요약하였다.

이러한 당뇨병을 연구하기 위해 당뇨병을 유도하는 여러 가지 방법이 소개되었는데 채식절제술과 바이러스감염이나 화학물질 등의 환경인자에 의한 베타세포의 직접적인 파괴와, 자가면역기전을 통한 베타세포의 파괴로 나누어 생각할 수 있다. 베타세포의 직접적인 파괴를 가져오는 바이러스로는 Encephalomyocarditis (EMC)virus, Mengovirus(2T)와 Coxsackie B4 virus 등을 들 수 있으며 그 중에서도 특히 EMC virus에 대해서 많은 연구가 되고 있다. 베타세포를 파괴할 수 있는 화학물질로는 스트렙토조토신, Alloxan 및 Vacor 등이 알려져 있는데 이중에서도 특히 스트렙토조토신은 다량을 한 번에 투입할 경우에는 직접적인 베타세포의 파괴에 의한 당뇨병이 일어나며 소용량을 반복 투여할 경우에는 자가면역기전을 통한 당뇨병이 유도된다. 자가면역기전에 의한 베타세포의 파괴는 다시 소용량 스트렙토조토신의 반복투여에서와 같이 환경적 유발인자가 뚜렷한 경우와, BB rat나 NOD mouse에서와 같이 유전적으로 결정된 자연발생적으로 당뇨병이 발생한 경우로 나누어 생각할 수 있다¹⁹⁾. 본 실험에 사용된 스트렙토조토신은 D-글루코사민(D-glucosamine)의 N-니트로소 유도체로서 1959~1960년에 Streptomyces achromogense로부터 추출되어 항생제로 개발되었던 물질이다. 그리고 스트렙토조토신은 항백혈병 치료제와 발암물질로도 보고되었는데 당뇨병 유발은 1963년 Rakietaen에 의해 우연히 발견되었고, 1976년에 Like 등이 저용량 스트렙토조토신을 이용하여 당뇨병을 유발시킨 마우스를 소개한 이후로 사람에서 당뇨병을 연구하는데 이 모델을 사용하여 왔다. 스트렙토조토신은 50~200mg/kg의 용량에서 당뇨병을 유발시키나, 당뇨병을 유발시키는 감수성이 각 동물에서 약간의 차이를 나타낸다. 스트렙토조토신은 산성 pH

에서도 불안정하므로 pH 5.0의 citrate buffer에서 녹인 후 즉시 주사하여야 하고, 생체내 반감기는 15분 이내이다. 또한 스트렙토조토신은 세포내에서도 작용하여 베타세포내의 DNA를 파괴시키고, DNA복구의 자극, Langerhans islet내 NAD치의 감소, 소도기능의 억제 등을 일으킨다²⁰⁾. 본 연구에서는 0.05M의 citric acid buffer에 녹인 스트렙토조토신을 체중 kg당 60mg 사용하였으며 3~4주내에 혈당의 변화 및 체중의 변화를 동반한 당뇨의 증상이 나타나기 시작하였다.

한편 당뇨환자 및 실험 동물에서 골밀도를 측정하기 위해 여러 가지 방법들이 사용되어 왔다. 원칙적으로는 장골능에서의 생검 후 histomorphometry, calcium kinetic study, whole body retention of labelled bisphosphonate 등의 침습적인 방법이 보다 정확하겠으나 기술적인 어려움과 함께 보편적으로 사용하는 데에는 문제가 많은 것으로 알려져 있다²¹⁾. 따라서 현재에는 비침습적인 방법이 주로 이용되고 있으며, 이러한 방법에는 radiogrammetry, single photon absorptiometry, dual photon absorptiometry 그리고 dual energy X-ray absorptiometry 등이 있다. 최근에는 작은 실험동물에서 골밀도를 측정이 가능한 고해상도의 system이 개발되어 사용되고 있다⁴⁾. 이러한 system의 개발로 통계학적인 유의성을 얻기 위해 필요한 동물의 수를 감소시킬 수 있고, 대사활성이 높으나 크기가 작아 종래의 system으로는 촬영하기 어려웠던 rat의 pelvis와 같은 작은 뼈들도 이용 가능해 졌으며, 빠른 촬영이 가능해져 마취된 상태의 실험동물을 in vivo 상태에서 촬영함으로써 한 개체에서의 종적인 연구가 가능해 졌다²²⁾. 골밀도 연구를 위해 dual X-ray absorptiometry와 quantitative CT를 이용하여 당뇨환자에서 lumbar spine과 femoral neck을 촬영하였을 때 여러 가지 상반된 결과들이 보고되었다. 몇몇은 감소된 BMD를 나타낸 반면, 어떠한 감소도 발견되지 않은 결과도 있었으며²³⁾, 오히려 증가한다²⁴⁾는 주장도 있었다.

본 연구에서 골밀도 촬영 결과 대퇴골과 하악골 모두에서 4주 경부터 유의성 있는 골밀도의 감소가 나타나기 시작하였으며 하악골에 비해 대퇴골의 경우에 있어 더욱 뚜렷한 골밀도의 감소를 나타냈다. 이는 하악골은 대부분이 피질골로 이루어져 변화가 덜 일어난 반면 대퇴골의 골단부분은 하악골에 비해 보다 많은 해면골을 가지기 때문에 골변화가 주로 일어나는 해면골에서 골의 감소가 나타나므로 대퇴골에서 보다 큰 골밀도의 변화를 나타낸 것으로 생각된다. 하악골에서 전체 하악골에 비해 치조골 부위의 골밀도가 보다 많은 골밀도 감소를 나타낸 이유는 당뇨에 의한 치조골의 파괴로 인한 골밀도의 감소에 의한 것이라 생각될 수 있다. 당뇨병과 치주질환과의 관계에 대해서는 상반된 보고²⁵⁾가 있지만 대체적으로 당뇨병이 치주질환을 악화시키거나, 치료를 어렵게 하는 것으로 알려져 있다^{26,27)}.

본 연구에서는 변화된 골의 대사를 증명하기 위한 생화학적 골대사 지표로 혈중 osteocalcin의 농도와 뇨중 deoxypridinoline 농도를 측정하였다. osteocalcin은 bone gla protein(BGP)이라고도 하며 작은 비교원성 단백질로, 골조직과 치아의 상아질에 특이적으로 분포한다. Osteocalcin은 골모세포에 의해 주로 생성되며 골의 세포외기질에 축적되는데 이때 새로 생성된 osteocalcin의 일

부가 혈액속으로 방출되어 측정가능하다²⁸⁾. Osteocalcin은 혈액순환 중 반감기가 짧고 신장에 의해 제거되며 osteocalcin은 서로 다른 형태가 존재하고, 또 혈청내 osteocalcin이 상당히 불안정하기 때문에 서로 다른 kit를 이용하여 측정할 경우 상당한 값의 차이를 나타낼 수 있다^{29,30)}. Osteocalcin은 일반적으로 골형성 및 골흡수가 평형을 이루고 있는 상태에서는 전반적인 골교체율의 지표가 될 수 있으며, 다발성 골수종이나 척추 골다공증과 같은 골대사의 평형이 깨어진 경우에는 골형성의 생화학적 지표가 될 수 있다. 혈중 osteocalcin은 사춘기 및 성장 호르몬(GH) 투여시의 골격성장과 상관성이 있어, 골격의 성장에 관한³¹⁾ 좋은 지표로 생각된다. 또한 원발성 및 속발성 부갑상선 기능항진증, 갑상선 기능항진증, 말단 비대증, 뼈의 Paget씨 병 등에서는 상승하고 갑상선 기능저하증, 부갑상선 기능 저하증과 부신피질호르몬을 투여 받고 있는 환자에서는 감소하는 것으로 알려져 있다³²⁾. 또한 osteocalcin은 신장으로 배설되므로 사구체여과율이 20 ml/min/m² 이하로 감소된 신부전의 경우 골대사와는 상관없이 혈중 osteocalcin이 증가하게 되므로 해석에 주의가 필요하다³³⁾.

본 연구에서 osteocalcin은 당뇨군에서 주가 진행될수록 통계학적인 유의성은 가지지 않았으나 약간 증가하는 양상을 보였으며 이러한 양상은 암컷에 있어 더욱 두드러졌다. 이것은 아마도 당뇨로 인한 신부전에 의해 신장에서의 osteocalcin 제거가 감소되어 나타난 결과로 해석할 수 있을 것이다. 이는 osteoblastic activity의 감소에 osteocalcin의 혈중 농도가 중요한 평가 요소가 되지 못한다는 것을 의미한다³⁴⁾.

Deoxypridinoline은 파골세포에 의해 교원질이 분해되면서 유리되는 부산물로서, 생체 내에서 대사되지 않고, 약 40%는 유리형으로 배설이 되고, 약 60%는 펩티드 결합형으로 배설이 된다. Deoxypridinoline은 대부분 뼈와 상아질에 존재하며 일부는 대동맥과 인대에도 존재한다고 알려져 있으나, 이러한 조직의 교원질 교체율은 매우 낮기 때문에 뇨중 deoxypridinoline은 특이도가 높은 골흡수 표식자로 이용될 수 있다고 알려져 있으나^{33,35)} 본 실험에서 deoxypridinoline은 통계학적인 유의성을 나타내지 못하였으며 일정한 변화를 나타내지는 못하였다. deoxypridinoline이 24시간 중 배설량이 많을 때와 적을 때의 차이가 보고자에 따라 많은 차이가 나기 때문에³⁶⁾ 동일한 시간에 채취하여야 하고, 검체 채취시 오염되지 않은 순수한 뇨를 채취하여야 검사의 민감성을 최대한으로 할 수 있어 흰쥐에서 정확한 결과를 얻기에는 한계를 가진 것으로 사료된다.

마지막으로 본 연구에서는 표본의 수가 작아 통계학적인 유의성을 구하기 힘들었으며, 한 개체에서의 종적인 연구가 이루어지지 않아 개체간의 차이가 발생할 수 있다는 점 등이 결과에 오차를 가져 올 수 있었다. 이러한 문제점은 한 표본을 여러번 촬영하여 촬영시 발생하는 오차를 최소화하거나 표본의 수를 증가시킴으로써 해결할 수 있을 것으로 생각된다.

또한 본 연구에서는 조절되지 않는 당뇨환자에서 하악골의 골밀도를 살펴 본 바 임상적 적용을 위해서는 조절되는 당뇨환자에서 하악골의 골밀도 변화를 살펴보는 연구가 더 진행되어야 한다고 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 당뇨 유도된 흰쥐에서 하악골 골밀도 변화에 관해 살펴보기 위해 Sprague-Dawley종의 암수 흰쥐를 이용하여 당뇨를 유도하고 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16주간 사육한 뒤 희생하여, DEXA 촬영과 조직병리학적 분석 및 생화학적 분석을 통해 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 스트렙토조토신으로 유도된 당뇨 흰쥐에서 골밀도의 감소는 스트렙토조토신 주입 후 2주경부터 일어나기 시작하였다.
2. 대퇴골의 경우 암수 모두에서 4주부터 유의성을 가지는 골밀도의 감소양상을 나타내기 시작하여 시간이 갈수록 보다 높은 감소를 나타내었고, 특히 암컷의 원위 골간단부에서 가장 높은 감소율을 나타내었다.
3. 하악골의 경우 대퇴골에 비해 비교적 완만한 골밀도 감소를 나타내었으며, 전체 하악골에 비해 치조골 부위에서 보다 높은 감소를 보였고 수컷의 경우 암컷에 비해 보다 높은 치조골 파괴 양상을 나타냈다.
4. 조직학적 소견에서 실험군의 하악 치조골 부위에서 경도의 해면골 감소 양상을 나타내었으며 대퇴골의 경우 원위 골간단부에서 보다 높은 해면골 부위의 골감소 양상을 관찰할 수 있었다.
5. 혈중 osteocalcin의 농도는 실험군에서 시간이 증가함에 따라 조금씩 증가하는 양상을 보였으며, deoxypyridinoline은 기간 과 연관된 일정한 변화양상을 나타내지는 않았다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 조절되지 않는 당뇨에서 골감소 증은 시간이 경과할수록 보다 심해지는 양상을 나타내며, 하악골의 경우 특히 치조골 부위에서 보다 많은 골밀도의 감소가 일어나는 것으로 여겨진다. 따라서 당뇨환자에 있어 치과 시술시 이러한 골 감소증에 대한 고려가 반드시 있어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Reiner, A : Oral complication of diabetes. Dent Ann. 1977; 36: 46-52.
2. 민현기 : 한국인 당뇨병의 임상적 특성. 당뇨병 1992; 16: 163-174.
3. 신찬수 등 : 경기도 연천지역에서 당뇨병의 발생률. 당뇨병 1996; 20: 264-272.
4. Gala Paniagua J, Diaz-Curiel M, de la Piedra Gordo C, Castilla Reparaz C, Torralbo Garcia M: Bone mass assessment in rats by dual energy X-ray absorptiometry. Br J Radiol 1998; 71: 754-758.
5. Albright F, Reifenstein EC: The parathyroid glands and metabolic bone disease. Baltimore, Williams and Wilkins, 1948.
6. Kimink SA, Hermus AR, Swinkels LM, Lutterman JA, Smals AG : Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus; prevalence and aspects of pathophysiology. J Endocrinol Invest 2000; 23: 295-303.
7. McNair P: Bone mineral metabolism in human type 1 (insulin dependent) diabetes mellitus. Danish Med Bull. 1988; 35:109-121.
8. Miazgowski T, Andrysiak Mamos E, Czekalski S, Pynka S: Decreased bone mineral density in patients with insulin-dependent diabetes. Pol Tyg Lek 1995; 50:44-47.

9. Krakauer JC, McKenna MJ, Buderer NF, Rao DS, Whitehouse FW, Parfitt AM: Bone lose and bone turnover in diabetes. Diabetes 1995; 44:775-782.
10. Storm TL, Lund B, Christiansen JS, Andersen AR, Lumholtz IB, Parving HH: Vitamin D metabolism in insulin-dependent diabetes mellitus. Metab Bone Dis Relat Res 1983-1984; 5:107-110.
11. Martineau-Doize B, Mckee MD, Warshawsky H, Bergeron JJ: In vivo demonstration by radioautography of binding sites for insulin in liver, kidney, and calcified tissue of the rat. Anat Rec 1986; 214: 130-140.
12. Ituarte EA, Itularte HG, Hahn TJ: Insulin and glucose regulation of glycogen synthase in rat calvarial osteoblast like cells. Calcif Tissue Int 1988; 42:651-657.
13. Malone JJ, Lowitt S, Duncan JA, Shah SC, Vargas A, Root AW: Hypercalciuria, hyperphosphaturia, and growth retardation in children with diabetes mellitus. Pediatrics 1986; 78 : 298- 304.
14. Saggese G, Bertelloni S, Baroncelli GI, Federico G, Calisti L, Fusaro C: Bone demineralization and impaired mineral metabolism in insulin-dependent diabetes mellitus. A possible role of magnesium deficiency. Helv Paediatr Acta 1989; 43:405-414.
15. Grag A, Bonanome A, Grundy SM, Unger RH, Breslau NA, Pak CY. Effects of dietary carbohydrates on metabolism of calcium and other minerals in normal subjects and patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 1990; 70: 1007-1013.
16. Ziegler R. : Diabetes mellitus and bone metabolism. Hormone & metabolic Research-Supplement 1992; 26: 90-94.
17. Nagasaki S, Murakami T, Uchikawa T, Ishikawa SE, Saito T: Effect of glycemic control on calcium and phosphorus handling and parathyroid hormone level in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Endocrine J 1995; 42:377-383.
18. Kao CH, Tsou CT, Chen CC, Wang SJ: Bone mineral density in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus by dual photon absorptiometry. Nucl Med Commun 1993; 14:373-377.
19. 이기업: 제1형 당뇨병의 실험동물 모델. 당뇨병 1990; 14:143-150.
20. Agarwal MKL: Theory and Practice. In Rifkin H, Porte D (eds): Ellenberg and Rifkin's Diabetic Mellitus. 4th ed, New York, Elsevier Science Publishing Co., Inc. 1991, p 301.
21. 강무일 : 골교체 생화학적 표지자의 임상적 응용. 대한 골대사학회지 1994; 1: 246-253.
22. Holdsworth DW, Thornton MM, Drost D, Watson PH, Fraher LJ, Hodsmann AB : Rapid small-animal dual-energy X-ray absorptiometry using digital radiography. J Bone Miner Res. 2000; 15: 2451-2457.
23. Sosa M, Dominguez M, Navarro MC, Segarra MC, Hernandez D, de Pablos P, Betancor P : Bone mineral metabolism is normal in noninsulin-dependent diabetes mellitus. J Diabetes Complications 1996; 10: 201-205.
24. Johnston CC Jr, Hui SL, Longcope C : Bone mass and sex steroid concentrations in postmenopausal Caucasian diabetics. Metabolism 1989; 34: 544-550.
25. De Pommereu V, Dargent-Pare, Robert JJ, Brion M : Periodontal status in insulin-dependent diabetic adolescents. J Periodontol 1992; 19: 628-632.
26. Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ : Periodontal disease in noninsulin-dependent diabetes mellitus. J Periodontol 62; 123-130.
27. Rylander H, Ranberg P, Blohme G, Lindhe J : Prevalence of periodontal disease in young diabetics. J Clin Periodontol 1987; 14: 38-43.
28. Price PA, Parthermore JG, Doftos LJ : New biochemical marker for bone metabolism. J Clin Invest 1980; 66: 878-883.
29. Blumsohn A, Hannon RA, Eastell R : Apparent instability of osteocalcin in serum as measured with different commercially available immunoassays. Clin Chem 1995; 41: 318-319.
30. Rosenquist C, Qvist P, Bjarnason N, Christianson C: measurement of a more stable region of osteocalcin in serum by ELISA with two monoclonal antibodies. Clin Chem 1995; 41: 1439-1445.
31. Kanzaki S, Hosoda K, Moriwake T, Tanaka H, Kubo T, Inoue M, Higuchi J, Yahaji T, Seino Y : Serum propeptide and intact molecular osteocalcin in normal children and children with growth hor-

- GH deficiency : A potential marker of bone growth and response to GH therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75; 1104-1109.
32. Delmas PD : Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of metabolic disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990; 19; 1-18.
 33. Eyre DR, Dickson IR, Van Nes KP : Collagen cross-linking in human bone and articular cartilage; age-related change in the content of mature hydroxy-pyridinium residues. *Biochem J* 1988; 252; 495-500.
 34. Garnero P, Delmas PD : New developments in biochemical markers for osteoporosis. *Calcif Tissue Int Suppl* 1996; 1; S2-S9.
 35. Delmas PD, Chatelain P, Malabal L : Serum bone GLA-protein in growth hormone deficient children. *J Bone Miner Res* 1986; 1; 333-338.
 36. Glajchen N, Epstein S, Ismail F, Thomas S, Fallon M, Chakrabarti S : Bone mineral metabolism in experimental diabetes mellitus : osteocalcin as a measure of bone remodeling *Endocrinol* 1988; 123; 290-295.

사진부도

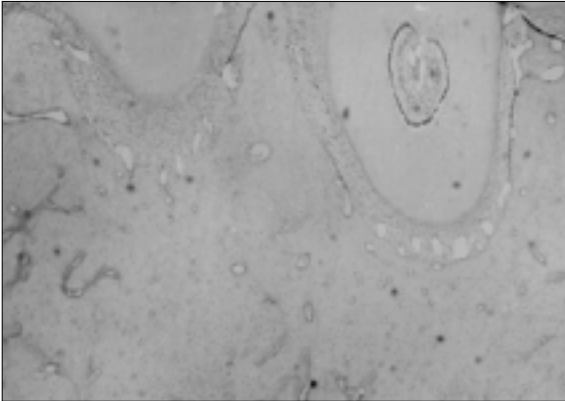


Fig. 1. Histologic findings at 1 week of alveolar bone in female diabetic rats(H-E stain, original magnification $\times 40$).

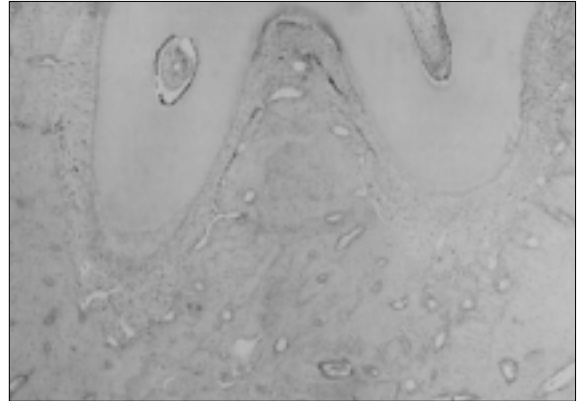


Fig. 2. Histologic findings at 1 week of alveolar bone in male diabetic rats(H-E stain, original magnification $\times 40$).

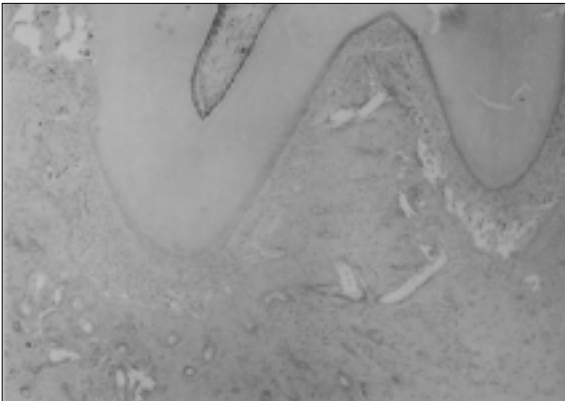


Fig. 3. Histologic findings at 4 weeks of alveolar bone in female diabetic rats (H-E stain, original magnification $\times 40$).

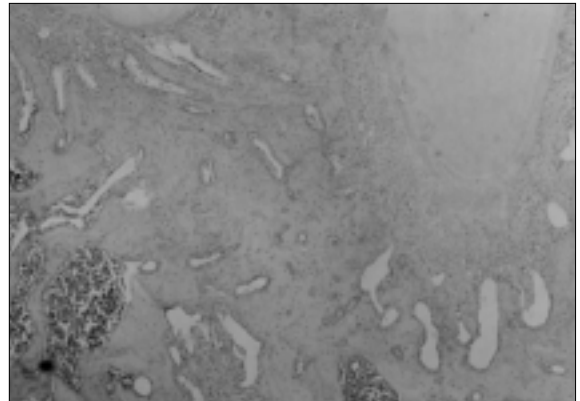


Fig. 4. Histologic findings at 4 weeks of alveolar bone in male diabetic rats(H-E stain, original magnification $\times 40$).

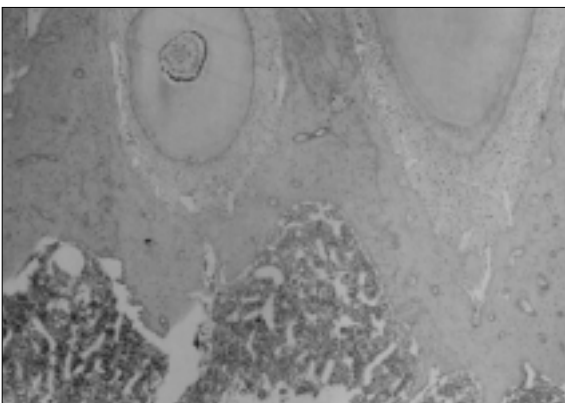


Fig. 5. Histologic findings at 12 weeks of alveolar bone in female diabetic rats (H-E stain, original magnification $\times 40$).

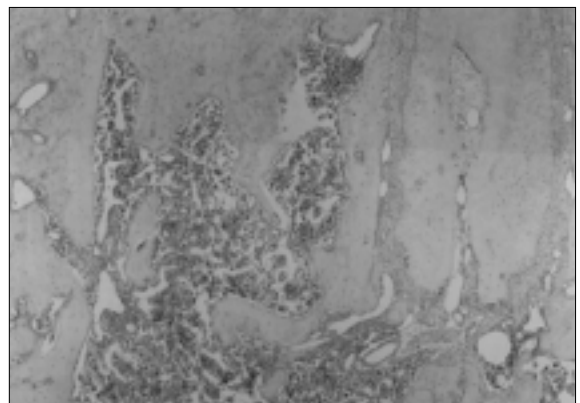


Fig. 6. Histologic findings at 12 weeks of alveolar bone in male diabetic rats(H-E stain, original magnification $\times 40$).