

Nd-YAG laser를 이용한 기관협착 동물모델의 개발

성균관대학교 의과대학, 삼성서울병원 호흡기내과, 흉부외과*, 의공학과**

김진국*, 서지영, 정만표, 권오정, 서수원**, 김호중

= Abstract =

A Canine Model of Tracheal Stenosis Using Nd-YAG Laser

Jhingook Kim, M.D.*, Gee Young Suh, M.D., Man Pyo Chung, M.D.,
O Jung Kwon, M.D., Soo Won Suh, Ph.D.** , Hojoong Kim, M.D.

*Division of Pulmonary and Critical Care Medicine Department of Medicine,
Department of Thoracic Surgery*, Department of Medical Engineering**,
Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea*

Background : Tracheal stenosis is an urgent but uncommon disease. Therefore, primary care clinicians have limited clinical experience. Animal models of a tracheal stenosis can be used conveniently for the learning, teaching, and developing new diagnostic and therapeutic modalities for tracheal stenosis. Recently, a canine model of a tracheal stenosis was developed using a Nd-YAG laser. To describe the methods and results of developed animal model, we performed this study.

Methods : Six Mongrel dogs were generally anesthetized and the anterior 180 degree of tracheal cartilage of the animal was photo-coagulated using a Nd-YAG laser. The animals were bronchoscopically evaluated every week for 4 weeks and a pathologic evaluation was also made.

Results : Two weeks after the laser coagulation, the trachea began to stenose and the stenosis progressed through 4 weeks. All animals suffered from shortness of breath, wheezing, and weight loss in the 3 weeks after the laser treatment, and two died of respiratory failure just before the fourth week. The gross pathologic findings showed the loss of cartilage and a dense fibrosis, which resulted in a fibrous stricture of the trachea.

*본 연구는 보건복지부의 보건의료기술연구개발 사업(00-CH-12-0006) 연구비로 이루어졌음.

Address for correspondence :

Hojoong Kim, M.D.

Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Department of Medicine, Samsung Medical Center
50 Ilwon-Dong, Kangnam-Ku, Seoul, 135-710, Korea

Phone : 02-3410-3429 Fax : 02-3410-3849 E-mail : hjkim@smc.samsung.co.kr

Microscopy also showed that the fibrous granulation tissue replaced destroyed cartilage.

Conclusion : The canine model can assist in the understanding and development of new diagnostic and therapeutic modalities for tracheal stenosis. (*Tuberculosis and Respiratory Diseases* 2002, 52 : 54-61)

Key words : Animal model, Upper airway Obstruction, Bronchoscopy

서 론

상기도 협착은 정도가 심하지 않으면 증상이 없으나, 호흡곤란을 일으키는 역치점 이상 좁아지면 갑자기 심한 호흡곤란을 일으키고, 역치점에서 조금만 더 좁아지면 바로 호흡부전에 빠져 사망에 이르게 된다¹⁻³. 상기도 협착은 의학적으로 매우 중요한 응급 상황임에도 불구하고 임상에서는 접할 기회가 많지 않아 많은 일차진료 임상 의뢰가 진단하기까지 시간이 지연되는 경우가 많다. 또한 진단이 되더라도 응급 상황에서 치료를 해야 하는 경우가 많아 치료 방법에 대한 논의는 증례체험 내지 증례보고 위주로 논의되고 있는 실정이다⁴⁻⁵.

따라서 상기도 협착의 진단이나 치료 방법에 대한 연구는 체계적으로 이루어지기 보다는 몇 번의 치료경험에 의존하는 경우가 많다. 만일 동물을 이용하여 일정한 수준의 기도 협착을 일으킬 수 있다면 상기도 협착에 대한 이해와 교육을 보다 널리 할 수 있을 것이며, 새로운 진단법이나 치료법의 개발도 보다 쉽게 할 수 있을 것으로 사료된다.

기존의 상기도 협착 동물 모델은 주로 이비인후과 영역에서 연구되어 왔으며 선천성 성대하부 협착 (congenital subglottic web)을 모방한 모델이 주류를 이루어 왔다⁶⁻¹³. 즉, 기관의 연골은 손상시키지 않으면서 광범위한 점막 손상을 일으켜 얇은 막을 형성하게 하는 방법으로서 물리적 마찰^{6,7}, 염산, 펄스 등을 이용하여 왔다. 그러나 호흡기내과 영역에서 주로 접하는 암이나 기관지 결핵에 의한 기관 협착을 모방하기 위해서는 기관 연골의 파괴가 필요하다. 즉, 기관지 결핵 환자에서 상기도 협착이 일어나는 경우, 90% 이상에서 연골의 파괴가 동반되는 소위 bottle-neck 형태를 보이며, 치료 방법 및 예후도 얇은 막을

형성하는 web 형태와는 다르기 때문이다¹⁴.

저자들은 한국산 잡견을 이용하여 Nd-YAG Laser 소작술로 의학적 역치점 수준의 기관협착을 일정하게 유도하는데 성공하였다. 이에 대해 기술하고 병리 소견을 확인하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

연구대상으로는 체중 22kg 정도의 한국산 잡견 6마리로 하였다. 잡견을 연구 대상으로 선정한 이유는 기관연골이 잘 발달되어 있어 기도협착에 잘 견디며 인간을 잘 따르므로 반복적인 전신마취 및 기관지내시경 검사가 용이하기 때문이었다. 또한 체중 22kg의 잡견은 기도의 크기가 성인과 비슷하여 임상에서 사용하는 기관지내시경 및 치료 기구를 그대로 사용할 수 있다는 장점이 있었다.

2. 방 법

본 연구는 삼성서울병원 삼성생명과학연구소 실험동물연구실의 승인을 득한 후 시행하였으며 동 연구실의 동물실험안내서의 지침을 준수하였다.

1) 실험동물의 마취

실험동물을 안정시킨 후 앞다리의 정맥에 티오펀탈 20mg/kg를 정주하여 마취를 유도하였다. 5% 포도당 액을 정주하면서 실험동물을 앙와위로 고정하고 8.0F 기도 관을 후두경하에 삽관하였다. 마취 유지를 위해 1.3% isoflurane을 분당 3L의 산소와 같이 흡입시켰고 통증 경감을 위해 0.04 mg/kg 펜타닐을 정

주하였다. 실험동물은 산소포화도와 호기 이산화탄소 분압을 연속적으로 모니터하였으며 안정에 이른 후 실험을 시작하였다.

2) 레이저 소작술

굴곡성 기관지내시경 (EVIS BF 1T240, Olympus, Japan)을 삽관된 기관으로 삽입한 후 기계호흡을 계속하면서 Nd-YAG 레이저 (Luxus 100, LaserSonics, USA)를 이용하여 비접촉형 굴곡 fiber (G56-D, LaserSonics, USA)로 기관을 소작하였다. 레이저의 power는 40 watt로 하였고 연속 mode로 사용하였으며, 소작위치는 후두에서부터 제7연골환(cartilage ring)에서 제10연골환까지 4개의 연골환을, 범위는 전방 180도를 소작하였다. 소작의 깊이는 연골 안쪽의 상피가 겹게 탄화될 정도로 하고 천공이 되지 않도록 주의하였으며, 지나친 고온에 의한 손상을 방지하기 위해 1-2분마다 냉 생리식염수로 세척하였다. 소작이 종료되면 사용한 레이저의 양을 기록하고 실험동물을 마취에서 깨우고 사육실에서 사육하였다.

3) 추적 관찰

실험동물은 1주일 간격으로 체중을 측정하였고 기관지내시경을 시행하여 기도 협착 정도를 관찰하였으며, 다음의 기준에 의해 기도협착의 정도를 점수화 하였다.

- 0 : 기도협착이 25% 미만
- +1 : 기도협착이 25-50%
- +2 : 기도협착이 50-75%, 1kg 이상의 체중감소 없음
- +3 : 기도협착이 50-75%, 1kg 이상의 체중감소 있음
- +4 : 기도협착이 75% 이상이거나 사망 (또는 기관 스텐트삽입술 시행)

기도협착의 정도는 8.0F 기관삽관의 외경(10mm)과 기관지내시경의 외경(6mm)을 기준으로 하여 정하였으며 Dorffel 등¹⁵⁾의 기술과 같은 측정법은 시행하지 못

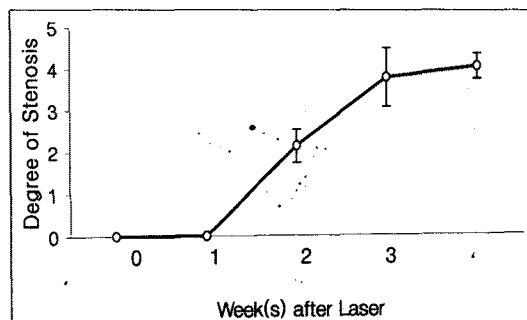


Fig. 1. Degree of luminal stenosis after trachea was coagulated using Nd-YAG laser. Tracheal lumen began to stenose 2 weeks after laser coagulation.

하였다.

기관 스텐트삽입술은 기도 협착이 75% 이상 진행되거나 호흡곤란으로 인한 증상(천명음, 호흡곤란, 식욕부진)이 나타나는 경우 즉시 시행하여 실험동물을 치료하였다.

4) 병리검사

2마리의 실험동물이 레이저 소작 3주 후부터 4주 사이에 호흡부전으로 사망하였다. 사망한 실험동물의 기관을 절제하여 육안소견을 사진으로 촬영하였고, 현미경 소견을 위해 단면을 절단하였다. 파라핀블록을 만든 후 헤마톡실린-에오신 염색을 시행한 후 현미경 검경을 시행하였다.

5) 통계 처리

모든 수치는 평균 ± 표준편차로 표기하였으며 비모수 검정인 Wilcoxon rank sum test를 시행하여 p-value가 0.05 미만일 경우 의미있게 다르다고 해석하였다.

결 과

1. 기관지 소작시의 체중과 레이저의 양

실험동물의 체중은 $22.3 \pm 1.3\text{Kg}$ 이었으며 기관소작

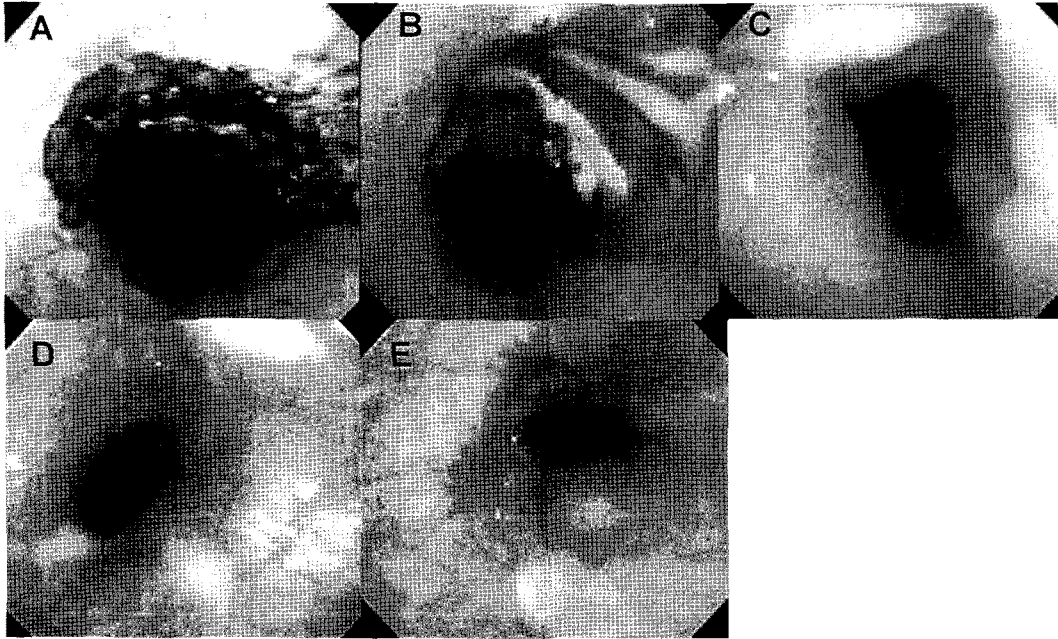


Fig. 2. Bronchoscopic findings of laser-treated dog. Just after laser coagulation (A), dark carbonized tissue was observed. One week after laser (B), airway mucosa was denuded and tracheal cartilage was exposed. Two weeks after the treatment (C), tracheal lumen began to stenose, and the stenosis progressed 3 weeks (D) and 4 weeks (E) after laser coagulation.

에 사용한 레이저의 총 양은 한 마리당 8946 ± 2484 Joule 이었다.

2. 시간에 따른 협착의 정도(그림 1)

기관지내시경을 1주 간격으로 시행하면서 점수화된 협착의 정도는 제1주가 0.0 ± 0.0 , 제2주는 2.1 ± 0.4 , 제3주는 3.8 ± 0.7 , 제4주가 4.0 ± 0.3 이었다. 제2주부터 협착이 시작되어 제3주까지 계속 비슷한 속도로 진행되었으며, 제4주에 정점(plateau)에 이르는 양상을 보였다. 모든 실험 동물은 제3주가 지나 심한 호흡곤란과 천명음, 식욕부진 및 체중 감소를 보였고, 이중 2마리는 호흡부전으로 4주가 되기 전에 사망하였다. 나머지 4마리 중 3마리는 체중 감소가 2kg 이상 진행되어 제4주째에 기관 스텐트삽입술을 시행하여 치료하였다.

3. 시간에 따른 기관지내시경 소견(그림 2)

레이저 소작 직후 기관 상피는 검게 탄화되었으나 내경의 변화는 없었다(A). 소작 1주 후, 소작한 기도 상피는 소실되고 기관 연골이 노출되는 모습을 보였다(B). 소작 2주 후, 기도 상피의 심한 발적과 내경의 협착을 보이고 있으며(C), 3주 후 75%의 협착을 나타내었고(D) 4주후에는 이러한 협착이 지속되었다(E).

4. 병리 소견(그림 3)

육안 소견상 소작 부위의 기관 연골이 소실되고 섬유 조직으로 치환되어 외경도 감소되어 있었다(A, B). 현미경 소견에서 연골이 소실되고 섬유화 조직이 협착을 일으켜 내경이 감소된 모습을 확인할 수 있었다(C).

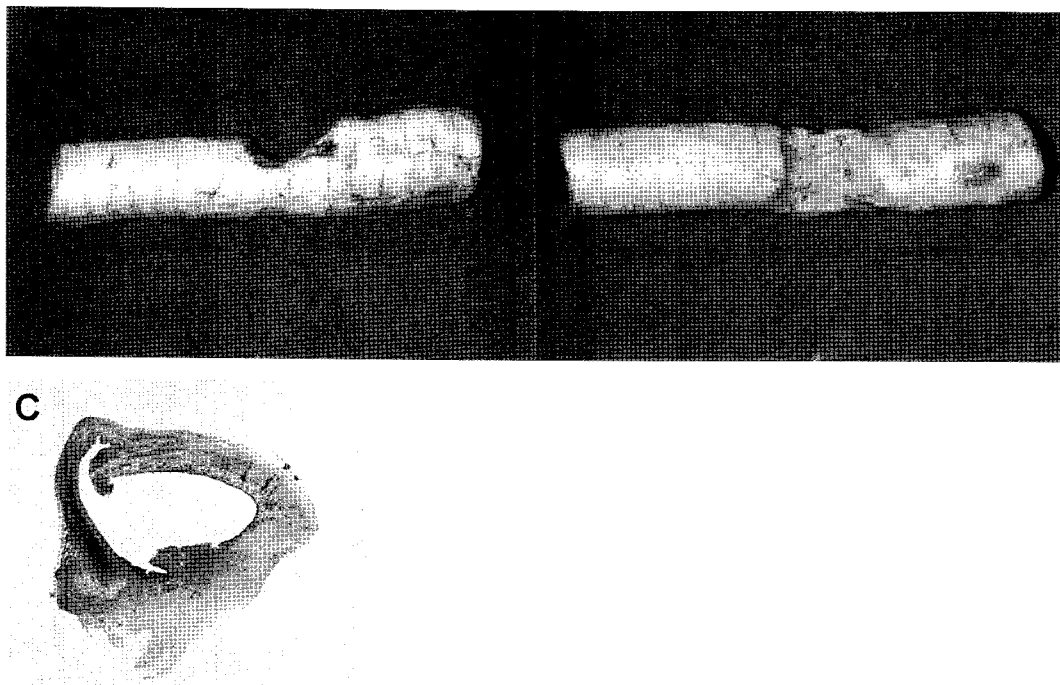


Fig. 3. Gross (A, B) and microscopic (C) findings of stenosed trachea. Note tracheal cartilage was destroyed and replaced with fibrous granulation tissue, which resulted in airway stricture.

고 찰

일반적으로 기관의 협착이 50% 이상 진행되면(내경 10mm) 호흡곤란이 시작되며, 협착이 75%를 초과하면(내경 7-8mm) 심한 호흡곤란이 초래된다¹. 이러한 기관 협착 환자에서 점액 저류나 출혈 등에 의해 경미한 기도 내경의 감소가 추가로 일어나 임계점을 지나면, 환자는 호흡부전에 빠져 사망하게 된다. 원인 질환에 따라 악화되는 속도가 다양하지만, 호흡곤란의 시작에서부터 호흡부전에 의한 사망까지의 기간은 대개 몇 주에서 몇 개월밖에 되지 않는다^{1,6,9}. 상기도 협착 환자의 주증상은 호흡곤란이고 기관지천식 환자의 천명음과 유사한 천음(stridor)이 청진되므로, 일차 의료기관의 진료에서 흔히 기관지천식으로 오인된다. 더욱이 기관지천식 환자 치료에 사용되는 부신피질 호르몬 제에 반응하여 증상이 일시적으로 호전되기 때문

에, 응급 치료가 필요할 정도의 심한 호흡곤란이 생겨서야 비로소 진단되는 경우가 흔히 있다^{1,3}.

이러한 상기도 협착을 일으키는 질환은 여러가지가 있는데 가장 많은 원인은 악성 종양의 기도 침범이다. 폐암, 식도암, 유방암, 갑상선암 등이 비교적 흔히 기관지 협착을 일으키며, 그 외에도 전이성 신장암, 대장암, 자궁암, 악성 흑색종 등이 기관내 전이를 일으켜 기도 폐쇄를 초래한다^{1-5,15-19}. 양성 기도 협착을 일으키는 가장 흔한 원인은 한국에서는 기관지 결핵이며, 그 외에도 삼관후 기관협착, 기도절개술후 기관협착, 선천성 기관내 web, 기관연화증 등이 있다^{1,3,5}. 이러한 질환들은 빈도가 상대적으로 낮아 풍부한 경험을 가지고 환자를 진료할 수 있는 의료기관이 많지 않으며, 거의 응급 상황에서 치료가 이루어지므로 치료 방법에 대한 논의는 체계적인 접근보다는 증례체험 내지 증례보고 위주로 토론되고 있는 실정이다. 또한 이

리한 질환을 가르치고 배우고자 하더라도 기회를 갖기가 매우 어려운 실정이다.

따라서 기관 협착 실험동물 모델을 만들 수 있다면 기관 협착의 진단, 치료 및 교육에 유용하게 이용될 수 있다. 과거에 사용되어 왔던 상기도 협착 동물 모델은 주로 이비인후과 영역에서 연구되어 왔으며 기관의 연골은 손상시키지 않으면서 광범위한 점막 손상을 일으켜 얇은 막을 형성하게 하는 방법이었다. 그러나 호흡기내과 영역에서 주로 접하는 종양이나 기관지 결핵에 의한 기관 협착을 모방하기 위해서는 기관 연골의 파괴가 필요하였고 본 연구에서는 레이저를 이용하여 연골환을 180도만 손상시킴으로서 어느 정도 이상의 협착을 유도하였다. 레이저를 이용하여 기도를 협착시키는 실험은 Hautmann 등, Witt 등에 의해 시도되었으며 철망 기도스텐트 실험을 위한 전구 실험이었다^{16,17}.

협착된 기도를 레이저로 소작하는 경우 너무 광범위한 소작은 오히려 협착을 더 악화시킨다는 사실은 널리 알려져 있다⁴⁻⁶. 즉, 기도의 광범위한 손상은 점막 및 점막하 섬유세포의 증식을 광범위하게 유도하고, 원형의 섬유화 조직이 기도의 협착을 초래한다. 이러한 부작용을 예방하기 위하여 기도를 레이저로 치료할 때는 90도 간격으로 4방향을 내일 클로버 잎사귀처럼 소작하는 방법이 이비인후과 영역에서 이미 개발되어 있다⁴. 본 연구에서는 Nd-YAG 레이저를 이용하여 일정한 수준의 기도 협착을 일으키는 방법을 개발하고자 하였고, 예비 실험을 통해 180도의 소작이 유용하다는 사실을 알게 되어 본 실험을 진행하게 되었다.

본 실험의 결과에서와 같이 180도의 연골환 파괴는 실험 동물 모두에서 소작 3주후부터 임상적으로 유의한 수준의 상기도 협착을 초래하였고, 병리 소견에서 증식된 섬유조직에 의한 협착을 확인할 수 있었다. 이러한 기도 협착 동물 모델은 정해진 레이저 조사 3주 후에는 임상적으로 유의한 수준의 기도협착을 유발시킨다는 점에서 중요하다고 할 수 있다. 즉 향후 기도 협착의 새로운 진단 및 치료법 개발하는데 있어 이러

한 실험동물 모델을 만들어 3주 이내에 처치를 함으로써 향후 연구에 도움을 줄 것으로 사료된다.

요 약

배 경 :

동물 모델을 이용하여 일정한 수준의 상기도 협착을 일으킬 수 있다면 이에 대한 임상교육에도 도움이 되며 새로운 진단법이나 치료법의 개발을 보다 쉽게 할 수 있을 것이다. 저자들은 한국산 잡견을 이용하여 Nd-YAG Laser 소작술로 기관 협착을 일정하게 유도하는데 성공하여, 이에 대해 기술하고자 본 연구를 시행하였다.

방 법 :

체중 22kg 정도의 한국산 잡견 6마리를 전신마취시킨 후, Nd-YAG 레이저를 이용하여 4개의 기관 연골환의 전방부 180도를 8946 ± 2484 Joule로 소작하였다. 실험 동물은 매 1주마다 4주 동안 기관지내시경으로 기관 협착 정도를 관찰하였고, 병리학적 검사를 같이 시행하였다.

결 과 :

기관 협착은 레이저 소작 2주 후부터 시작되어 3주 후까지 빠른 속도로 진행되었으며, 소작 4주 후에 가장 심한 양상을 보였다. 모든 실험 동물은 제 3주가 지나 심한 호흡곤란과 천명음, 식욕부진 및 체중 감소를 보였고, 이중 2마리는 호흡부전으로 4주가 되기 전에 사망하였다. 병리 육안소견상 소작 부위의 기관 연골이 소실되고 섬유조직으로 치환되어 외경도 감소되어 있었고, 현미경 소견에서 연골이 소실되고 섬유화 조직이 협착을 일으켜 내경이 감소된 모습을 확인할 수 있었다.

결 론 :

이러한 기도 협착 동물 모델은 향후 기도 협착의 이해, 교육, 새로운 진단 및 치료법의 개발에 도움을 줄 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Miller RD. Obstructing lesions of the larynx and trachea : Clinical and pathophysiological aspects. In : Fishman AP (2nd ed.) Pulmonary Diseases and Disorders. McGraw-Hill, New York, 1988; 1173-87.
2. Lillington GA. Benign tumors. In : Murray JF, Nadel JA (2nd ed.) Textbook of Respiratory Medicine. Saunders, Philadelphia, 1994;1622-9.
3. Prakash UBS. Bronchoscopy. Raven, New York, 1994.
4. Shapshay SM, Beamis JF, Hybels RL, Bohigian RK. Endoscopic treatment of subglottic and tracheal stenosis by radial laser incision and dilation. *Annal Otol Rhinol Laryngol* 1987;96:661-4.
5. Kim H. Stenting therapy in stenosing airway disease. *Respirology* 1998;3:221-8.
6. Borowiecki B, Croft CB. Experimental animal model of subglottic stenosis. *Annal Otol Rhinol Laryngol* 1977;86:835-40.
7. Marshak G, Doyle WJ, Bluestone CD. Canine model of subglottic stenosis secondary to prolonged endotracheal intubation. *Laryngoscope* 1982;92:805-9.
8. Wang Z, Perrault DF Jr., Pankratov MM, Shapshay SM. Endoscopic laser-assisted reshaping of collapsed tracheal cartilage : a laboratory study. *Annal Otol Rhinol Laryngol* 1996;105:176-81.
9. Correa AJ, Reinisch L, Sanders DL, Huang S, Deriso W, Duncavage JA, Garrett CG. Inhibition of subglottic stenosis with mitomycin-C in the canine model. *Annal Otol Rhinol Laryngol* 1999; 108:1053-60.
10. Borowiecki B, Croft CB. Experimental animal model of subglottic stenosis. *Annal Otol Rhinol Laryngol* 1977;86:835-40.
11. Livingston GL, Schild JA. Lathyrogenic agents as therapy for subglottic stenosis—a pilot study. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1987;97:446-51.
12. Marshak G, Doyle WJ, Bluestone CD. Canine model of subglottic stenosis secondary to prolonged endotracheal intubation. *Laryngoscope* 1982;92:805-9.
13. Jewett BS, Cook RD, Johnson KL, Logan TC, Shockley WW. Effect of stenting after laryngotracheal reconstruction in a subglottic stenosis model. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 122:488-94.
14. 박재용, 정태훈. 기관 및 기관지결핵에 의한 반흔성 기도협착에 대한 기관지경적 Nd-YAG 레이저 치료의 효과. 결핵 및 호흡기질환. 1994;41:494-503.
15. Dorffel WV, Fietze I, Hentschel D, Liebetrueth J, Ruckert Y, Rogalla P, Wernecke KD, Baumann G, Witt C. A new bronchoscopic method to measure airway size. *Eur Respir J* 1999;14:783-8.
16. Hautmann H, Huber RM. Laser resistance of expandable metal stents in interventional bronchoscopy : an experimental evaluation. *Lasers Surg Med* 2002;29:70-2.
17. Witt C, Schmidt B, Liebetrueth J, Baumann G. Nd:YAG laser and tracheobronchial metallic stents : an experimental in vitro study. *Lasers Surg Med* 1997;20:51-5.
18. Colt HG. Bronchoscopic laser resection in patients with thoracic neoplasia. In : Aisner J, Arriagada R, Green MR, MArtini N, Perry MC (1st ed.) *Comprehensive Textbook of Thoracic*

- Oncology. Williams & Wilkins, Baltimore, 1996; 925-39.
19. 한성구, 정희순, 심영수, 김건열, 한용철, 황태숙. 기도에서 Nd-YAG 레이저 조사의 효과 및 안전성에 관한 실험적 연구. 결핵 및 호흡기질환. 1988; 35:73-9.
20. 박정웅, 박상준, 서지영, 김호철, 정만표, 김호중, 권오정, 이종현. Nd-YAG 레이저와 풍선고관을 이용하여 치료한 기관내 삼관 후 발생한 기관협착 1예. 결핵 및 호흡기질환. 1998;45:624-9.