

스트렙토조토신으로 유도된 당뇨백서의 하악골 골절 치유에 관한 조직형태계측학적 연구

강희제 · 김용덕 · 신상훈 · 김육규 · 김종렬 · 정인교

부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2006;32:250-261)

THE HISTOMORPHOMETRIC STUDY ON THE HEALING PROCESS OF A MANDIBULAR FRACTURE IN THE STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

Hee-Jea Kang, Yong-Deok Kim, Sang-Hun Shin, Uk-Kyu Kim,
Jong-Ryoul Kim, In-Kyo Chung

Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Pusan National University

Diabetes mellitus, as a major health problem for the elderly, is associated with an extensive list of complications involving nearly every tissue in the body and has been shown to alter the properties of bone and impair fracture healing in both human and animals.

The objective of this study was to examine the healing process of a mandibular fracture in the streptozotocin-induced rats histomorphometrically and histologically.

A standardized fracture model was chosen and based on blood-glucose value at the time of surgery. A total of 11-weeks old 36 rats were divided into 2 groups; One is a streptozotocin-induced diabetic group and the other is a non-diabetic group. All was fractured experimentally. Three animals from each group were killed 1, 2, 4, 6, 8 and 12 weeks after fracture and specimens were processed undecalcified for quantitative bone histomorphometric and histologic studies.

The diabetic group showed a significant decrease of histomorphometry-based parameter including trabecular bone volume, trabecular thickness in comparison to the non-diabetic rat. This was confirmed histologically.

In conclusion, this study suggests that in streptozotocin-induced diabetics, the healing process of bone fracture was impaired and delayed about 2-3 weeks comparing to non-diabetics.

Key words: DM, Streptozotocin, Fracture

I. 서 론

당뇨병은 인슐린분비의 절대적 또는 상대적 부족이나 인슐린 수용체에서의 인슐린의 생물학적 효과감소로 인하여 발생하는 고혈당 상태를 특징으로 하는 대사성 장애로서 신체에 급성과 만성적 합병증을 나타낸다. 잘 조절되지 않거나 인슐린에 부적절한 반응을 보이는 만성적인 당뇨병 상태의 환자들에서 크고 작은 수술이 행해질 때 다양한 문제가 발생할 수 있으며 그 중 연조직 및 경조직의 치유의 지연은 잘 알려져 있다¹⁾.

당뇨와 골절치유지연 사이의 관계는 임상적 그리고 실험적 모델에서 증명되어 왔다. 이것은 임상적으로 감소된 골절치유된 골치유양상과 종종 연관되어 설명하고 있으나 그 기전이 확실히 밝혀진 바는 없다^{2,4)}.

의학의 발달과 삶의 질의 향상으로 인해 평균연령이 증가하고 따라서 노년층이 증가하고 있다. 당뇨는 노년층에 있어 약 20%의 유병율을 보이며 우리나라에서도 연간 당뇨 발병율이 약 2.5%에 이르고 있다. 이러한 당뇨는 골을 포함한 거의 모든 장기의 합병증과 연관되어 있어 중요한 문제가 되고 있다. 골절의 위험이 나이에 따라 급격하게 증가하기 때문에 일반적으로 노년층에서 골의 건강은 또한 중요한 문제가 되고 있다^{5,6)}. 당뇨를 가진 환자의 경우 당뇨에 의한 골질의 감소로 인하여 골절의 위험이 증가하고 또한 이들의 사회활동의 증가에 따른 골질의 빈도도 증가하고 있다⁷⁾.

당뇨환자들의 대부분이 운동, 식이조절 및 인슐린 요법등을 통하여 조절된 혈당을 보이지만 많은 사람들이 인슐린 요법에도 불구하고 잘 조절되지 않는 혈당을 보이고 있다. Follak 등⁸⁾

강희제
602-739 부산광역시 서구 아미동 1가 10번지
부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실
Hee-Jea Kang
Dept. of OMFS, College of Dentistry, Pusan National University
1-10, Ami-Dong, Seo-Ku, Pusan, 602-739, Korea
Tel: 82-51-240-7436 Fax: 82-51-244-8334
E-mail: khjwhite@hanmail.net

에 의하면 인슐린에 의해 조절된 당뇨에서 골의 대사와 치유는 정상인과 유사하다고 하였으며 이는 잘 조절된 당뇨환자의 경우 골절치유가 정상적으로 일어날 것을 보여준다. 하지만 Macey 등⁹⁾은 인슐린 요법 등에 의해서도 잘 조절되지 않는 환자들은 감소된 골 밀도 및 대사이상으로 골절의 빈도가 높고 골절 치유기간 또한 증가하고 있음을 보여주었다.

실험적으로 유발된 당뇨 백서에서의 골절 치유에 대한 연구가 많이 행해지고 있으나 대부분의 연구가 장골, 대퇴골등에 이루어져 다른 발생학적 기원을 보이는 하악골에 대한 연구는 부족한 실정이다. 스트렙토조토신으로 유발된 당뇨백서에서 하악골의 골절을 유도하여 골절 후 치유양상에 대한 이번 연구를 통해 향후의 관련 연구의 기본적 지침이 되고 또한 잘 조절되지 않는 당뇨를 가진 환자의 골절 치료에 대한 이해를 돕고자 한다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

실험동물로는 일정기간 동일 조건하에서 사육한 11주 된 200-250 gm 내외의 백서(Sprague-Dawley strain) 36마리를 암수 구별없이 사용하였다. 이 백서들을 1주군, 2주군, 4주군, 6주군, 8주군, 12주군으로 각각 6마리씩 나누었으며 각 주마다 대조군과 실험군으로 3마리씩 나누었다.

2. 연구방법

1) 당뇨유발

스트렙토조토신(Sigma Corp., USA)을 citrate acid(0.05M)에 용해시켜, 60mg/kg을 복강내에 투여하는 방법을 사용하였다. 1주 후에 대퇴정맥에서 혈액을 채취하여 Life Scan[®](Johnson & Johnson, USA)으로 혈당치를 측정하고 그 수치가 300mg/dl 이상이며 실험기간동안 지속적으로 검출된 동물만을 당뇨백서로 인정하였다.

2) 하악골 골절 형성

12주 된 당뇨백서와 비당뇨백서(각각 18마리)에서 Zylaxine HCl(Rompun[®], Bayer, Korea) 10mg/Kg, Ketamine HCl(Ketalar[®], Yuhan, Korea) 100mg/kg를 혼합하여 대퇴부에 근육주사하여 전신마취를 유도한 후 우측 하악부를 제모하고 베타딘 용액으로 도포하여 소독하였다. 지혈의 목적으로 1:100,000 epinephrine이 함유된 2% lidocaine HCl을 피하주사한 후 하악골체부 하연에 절개를 시행한 후 박리를 시행하였다. 골막을 절개한 후 상방으로 견인하여 시야를 확보하고 하악골체부를 회전 디스크를 이용하여 절단한 후 생리식염수로 충분히 세척하고 교근은 3-0 Vicryl과 피부는 3-0 Black silk를 이용하여 봉합하고 Gentamycin sulfate 3.0mg/kg을 투여하였다.

3) 실험기간

실험동물은 하악골 골절 후 1주, 2주, 4주, 6주, 8주, 12주간 사육하여 희생시킨 후 표본을 제작하였다. 사육은 실내온도 27°C가 유지되는 방에서 각 우리마다 3~4마리씩 사육하였고 실험동물용 고형사료와 수돗물을 자유섭식하며 행하였다.

4) 표본제작

희생에 앞서 먼저 기술한 방법으로 혈액을 채취, 혈당치를 확인하고 당뇨군에서 300mg/dl 이상 상태가 지속되고 있는 것을 확인하였다. 백서의 대퇴부에 Zylaxine HCl(Rompun[®], Bayer, Korea) 10mg/Kg, Ketamine HCl(Ketalar[®], Yuhan, Korea) 100mg/kg를 혼합하여 근육주사하여 전신마취를 유도한 후 심장관류법으로 조직을 고정하기 위하여 흉곽부에 Y절개를 가하여 흉곽을 열어 심장을 노출시킨 후 좌심실로 연동성 관류펌프와 연결된 20 gauge 바늘을 삽입하여 지혈검자로 고정된 후 PBS(phosphate buffered saline)를 사용하여 20분간 전 혈액을 세척하였다. 이 때 우심방의 벽을 절개하여 체순환된 피를 배출시켰다. 그리고 pH 7.2인 4% paraformaldehyde 고정액을 30분간 관류펌프를 통해 주입하였다. 관류 고정 직후 골절된 하악골을 절단하였다. 그 후 동일한 고정액에 8시간 동안 고정시킨 후 흐르는 물에 세척하고 증류수 1,750ml에 250g EDTA와 25g의 NaOH를 녹인 탈회액에 5주일간 탈회를 하였다. 그 후 이 조직을 조직캡슐에 넣어 흐르는 물에 12시간 동안 수세한 다음, 통상적인 방법에 따라 alcohol과 xylene으로 탈수와 투명화를 한 후 paraffin에 포매하고 4~6 μ m 두께의 시상연속절편을 만든 후 저온 냉동기에 보관하였다.

5) 병리조직학적 관찰(Histopathologic analysis)

골 형성 정도를 관찰하기 위해 hematoxylin-eosin(H-E)염색으로 표본처리 후 광학현미경(Olympus BH60, Japan)으로 검경하였다.

6) 조직형태측학적 분석(Histomorphometric analysis)

표본을 광학현미경(Olympus BX 50, Japan)을 통하여 CCD color 비디오카메라(Histachi, Japan)로 찍고 컴퓨터를 이용한 화상처리 장치(Axiovision 4.2, Carl zeiss, Germany)를 이용하여 아래의 방법으로 조직형태측측에 사용된 용어는 Parfitt¹⁰⁾에 의해 묘사된 용어를 사용하였으며 조직 이미지 상에서 골절선을 중심으로 좌우 400 μ m를 포함한 부위를 기본으로 하여 분석하였다. Total tissue area(Tt.Ar, μ m²), total trabecular area(Tb.Ar, μ m²), trabecular perimeter(Tb.Pm, μ m²)등이 측정되고 이 값들을 통해 trabecular bone volume(BV/TV=Tb.Ar/Tt.Ar, %), trabecular thickness(Tb.Th.=(BV/TV)/0.5 BS, μ m), trabecular number(Tb.N=(BV/TV)/ Tb.Th, mm⁻¹)을 계산하여 비교하였다.

7) 통계학적 분석(Statical analysis)

상기 조직형태학적으로 측정된 자료를 각 주당 비당뇨군과

당뇨군을 student T-test를 이용하여 유의차 검증을 실시하여 P<0.05를 유의차가 있다고 하였다.

Ⅲ. 연구결과

1. 병리조직학적 소견

1) 골절 후 1주군

(1) 비당뇨 백서군(대조군)

골편사이로 많은 수의 세포가 증식되어 있는 것이 관찰되며 괴사된 조직의 일부가 관찰되고 있다. 많은 수의 골모세포가 새로이 형성된 미성숙 골을 둘러싸고 있으며 연골성 결합이 형성되고 있다. 많은 수의 섬유모세포의 증식이 관찰된다(Fig. 1, 2).

(2) 당뇨 백서군(실험군)

골편사이에 세포의 증식이 관찰되나 술 후 1주 대조군에서 보다 적게 관찰된다. 미성숙골이 거의 관찰되지 않으며 아직 모세혈관의 증식이 관찰된다. 골모세포의 증식은 미약하게 관찰되며 많은 섬유모세포의 증식이 관찰되나 대조군에서 보다 적게 관찰된다(Fig. 3, 4).

2) 골절 후 2주군

(1) 비당뇨 백서군(대조군)

새로이 형성된 신생골이 성숙골로 대체되고 있으며 성숙골 내로 골세포들의 붓입이 관찰된다. 신생골 주변으로 많은 수의 골모세포의 증식이 관찰되며 연결성 연골 부위에는 연골모세포의 증식이 관찰된다(Fig. 5, 6).

(2) 당뇨 백서군(실험군)

모세혈관의 증식은 1주 군에 비해 감소하여 있으나 신생골의 형성은 미약하게 관찰된다(Fig. 7, 8).

3) 골절 후 4주군

(1) 비당뇨 백서군(대조군)

골절편 사이로 신생골이 대부분 성숙골로 대체되어 있으며 새로이 형성된 성숙골은 골교체를 보이기 시작한다. 연골성 결합이 형성된 부위는 성숙골로 바뀌고 있다(Fig. 9, 10).

(2) 당뇨 백서군(실험군)

연골성 가골의 형성이 관찰되며 신생골이 관찰되며 일부 성숙골로 대체되어 골성가골이 형성되고 있으나 그 양이 적게 관찰된다(Fig. 11, 12).

4) 골절 후 6주군

(1) 비당뇨 백서군(대조군)

새로이 형성된 성숙골의 골개조가 일어나고 있으며 치밀골

의 형성이 관찰되고 있다. 연골성 결합을 보이는 부위는 대부분 성숙골로 바뀌어 있다(Fig. 13, 14).

(2) 당뇨 백서군(실험군)

신생골이 성숙골로 바뀌어 골성가골이 형성되고 있다. 연골성 결합을 보이는 부위는 부분적으로 치밀골로 바뀌고 있는 양상이다(Fig. 15, 16).

5) 골절 후 8주군

(1) 비당뇨 백서군(대조군)

새로이 형성된 골은 골개조를 보이고 있으며 새로이 형성된 골소주의 형태는 정상골의 것들과 비슷해 보인다. 연골내 골화를 보이는 부분은 치밀골로 대체되어 관찰되지 않는다(Fig. 17, 18).

(2) 당뇨 백서군(실험군)

신생골이 층판골로 대부분 대체되어 있으나 소주골의 두께는 다소 얇게 관찰된다. 연골내 결합을 보이는 부위는 아직 남아 있다(Fig. 19, 20).

6) 골절 후 12주군

(1) 비당뇨 백서군(대조군)

신생골은 관찰되지 않으며 성숙골의 치밀골형태를 보이며 정상골과 거의 비슷한 형태를 보이고 있다(Fig. 21, 22).

(2) 당뇨 백서군(실험군)

새로이 형성된 골의 골개조가 관찰되며 연골성 결합부위는 대부분 치밀골로 대체되어 가고 있으나 부분적으로 연골세포들이 관찰되고 있다(Fig. 23, 24).

2. 조직형태계측학적 분석

1) 골소주 부피(Trabecular bone volume: BV/TV)

비당뇨군과 당뇨군에서 모두 골소주의 부피가 시간이 지남에 따라 점차적으 증가하였다. 골절 후 1주군에서 비당뇨군 10.47 ± 2.16 , 당뇨군 3.85 ± 1.35 로 유의성 있는 차이를 보였고 ($P=0.011$), 6주군에서도 비당뇨군 86.67 ± 5.51 , 당뇨군 64.04 ± 4.32 로 유의성 있는 차이를 보였으며($P=0.005$), 12주군에서도 당뇨군 92.30 ± 2.37 , 비당뇨군 71.91 ± 3.36 로 유의성 있는 차이를 보여($P<0.001$), 전체적으로 비당뇨군과 당뇨군을 비교하면 유의성 있는 차이를 보이고 있다 (Table 1, Fig. 25).

2) 골소주 폭경(Trabecular bone thickness: Tb.Th.)

비당뇨군에서는 6주까지 점차적으 증가하다가 이후 약간 감소하는 양상이 관찰된다. 당뇨군에서 전체적으로 골소주의 두께가 비당뇨군에 비해 감소해 있는 것으로 관찰되며 8주까지 점차적으 증가하다가 이후 감소하는 것으로 측정되었다. 골

Table 1. Histomorphometric data for trabecular bone volume (Mean±SD), (%)

	Control group	Diabetic group	P-value
1week	10.47±2.16	3.85±1.35	0.011*
2weeks	26.70±2.24	14.65±2.81	0.014*
4weeks	61.31±1.91	39.75±3.45	0.001**
6weeks	86.67±5.51	64.04±4.32	0.005*
8weeks	90.52±4.27	68.77±4.66	0.004*
12weeks	92.30±2.37	71.91±3.36	0.001**

(*:P<0.05, **:P<0.001)

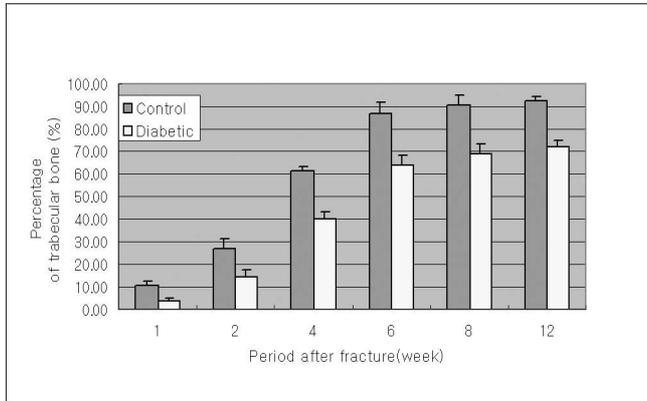


Fig. 25. Trabecular bone volume. Vertical bar represent standard errors of means. These data show significant differences between control and diabetic groups(P<0.05).

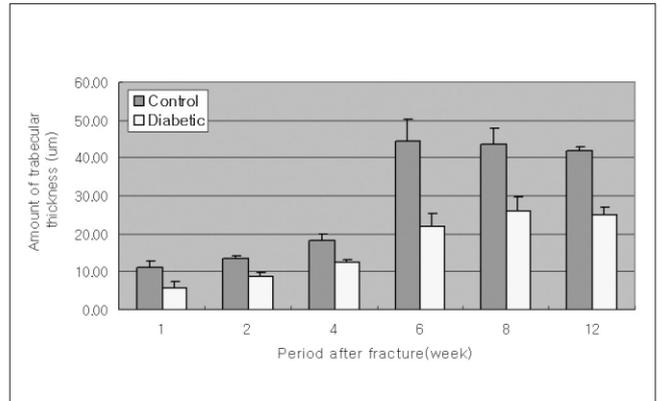


Fig. 26. Trabecular bone thickness. Vertical bar represent standard errors of means. These data show significant differences between control and diabetic groups(P<0.05).

Table 2. Histomorphometric data for trabecular bone thickness (Mean±SD), (μm)

	Control group	Diabetic group	P-value
1week	10.96±1.99	5.71±1.63	0.022*
2weeks	13.38±0.82	8.61±1.14	0.004*
4weeks	18.11±1.90	12.37±0.82	0.009*
6weeks	44.50±5.86	21.88±3.26	0.004*
8weeks	43.48±4.31	26.11±3.44	0.006*
12weeks	41.63±1.16	25.00±1.81	0.001**

(*:P<0.05, **:P<0.001)

절 후 1주군에서는 비당뇨군 10.96±1.99, 당뇨군 5.71±1.63로 유의성 있는 차이를 보였고(P=0.022), 6주군에서도 비당뇨군 44.50±5.86, 당뇨군 21.88±3.26로 유의성 있는 차이를 보였으며(P=0.004), 12주군에서도 당뇨군 41.63±1.16, 비당뇨군 25.00±1.81로 유의성 있는 차이를 보여(P<0.001), 전체적으로 비당뇨군과 당뇨군을 비교하면 유의성 있는 차이를 보이고 있다

(Table 2, Fig. 26).

3) 골소주의 수(Trabecular bone number: Tb.N)

비당뇨군과 당뇨군 모두 4주까지 증가하다가 이후 감소하는 양상이 관찰되며 비당뇨군과 당뇨군 사이에 유의성 있는 차이는 관찰되지 않는다(Table 3, Fig. 27).

Table 3. Histomorphometric data for trabecular number

	Control group	Diabetic group	P-value
1week	1.03±0.41	0.83±0.57	0.358
2weeks	2.01±0.35	1.70±0.25	0.186
4weeks	3.43±0.45	3.25±0.50	0.360
6weeks	1.97±0.20	3.01±0.59	0.039*
8weeks	2.10±0.22	2.69±0.45	0.089
12weeks	2.22±0.11	2.88±0.08	0.001**

(*:P<0.05, **:P<0.001)

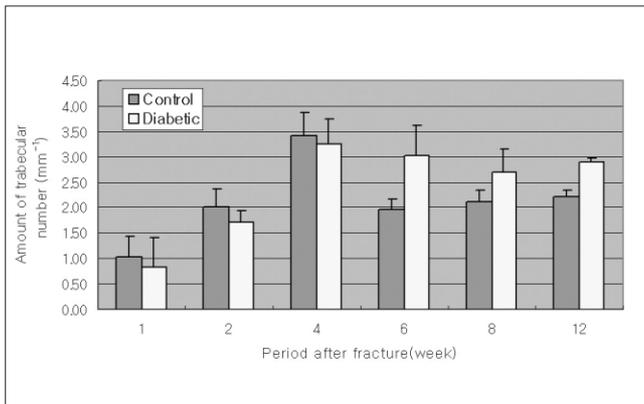


Fig. 27. Trabecular bone number. Vertical bar represent standard errors of means. These data show no significant differences between control and diabetic groups.

IV. 총괄 및 고찰

골 형성과정은 전신적이고 또한 국소적으로 생성된 성장요소, 호르몬과 비타민등의 작용을 포함하는 복잡한 과정이다. 더욱이 실험적 모델하에서 골 재생의 양과 질은 실험동물의 종, 나이, 해부학적 위치, 치밀골의 포함여부, 골막의 존재 등에 의해 많은 영향을 받는다. 이번 연구에서 보여진 것과 같이 당뇨를 가진 동물실험에서 나타난 결과들은 당뇨를 가진 환자에서 골절치유가 지연될 것이라는 것을 시사하고 있다. 이번 연구에서 보여진 골절 치유과정은 이차성 골절 치유로 연골내골 형성을 동반한 가골의 형성의 특징을 보인다¹¹.

이차성 골절치유에서는 골절이 발생한 후 손상을 받은 골은 염증기, 연골성 가골기, 골성 가골기, 개조의 4단계를 거쳐 치유된다고 알려져 있다¹². 골절이 발생하면 먼저 염증기 동안 손상된 골의 치유를 위한 다양한 세포학적 반응이 유발되며 동시에 많은 cytokine과 성장인자가 분비되어 새로운 혈관과 기질 세포들이 증식하게 되어 결과적으로 육아조직이 골절편 사이에 생기게 되며 골절 후 약 2주 정도에 대식세포와 거대세포가 육아조직을 제거하게 된다. 이후 미분화 세포들이 연골모세포로 분화하게 되면서 골절편 사이의 연골성 결합을 형성하게 된다. 이러한 연골성 가골이 골화되면서 골모세포가 미성

숙 골을 침착하기 위한 광화된 기질을 형성하게 된다¹¹⁻¹³. 가골이 생성되고 성숙되는데 과정은 손상 후 4주에서 16주 사이에 발생하게 된다. 정상골에서 유기질의 98%를 구성하는 교원질은 연골성 가골기와 골성 가골기 동안 합성되며 기계적인 강도를 증가시키고 유지하는데 중요한 역할을 한다⁹. 이후 골모세포와 파골세포에 작용에 의해 골개조가 일어나며 성숙된 골의 형태와 기능을 회복시켜 나간다¹⁴.

이러한 골의 대사에 영향을 미치는 여러 질환 중 당뇨는 인슐린 적용의 부족에 의한 합수탄소 대사이상으로 나타나는 임상적 증후군으로 정의되며 인슐린의존성 당뇨와 인슐린비의존성 당뇨로 크게 구분된다. Thomas 등¹⁵은 인슐린비의존성 당뇨(Type II Diabetes Mellitus)에서 비만이 주요하게 나타나며 인슐린, 에스트로겐, 렙틴등을 포함한 호르몬의 영향과 기계적인 자극을 통해 높은 골 밀도(bone mineral density)를 보인다고 하였으며 인슐린 비의존성환자에서 보이는 고인슐린증이 골 형성을 촉진시킨다고 하였다. 반면에 인슐린의존성 당뇨(type I Diabetes Mellitus)에서는 인슐린의 낮은 수준으로 인하여 골 밀도의 감소와 골 형성의 지연을 보인다고 하였다.

Albright와 Reifenstein¹⁶이 혈당이 조절되지 않는 당뇨병환자에 있어서 골 밀도의 감소가 동반됨을 보고한 이후 McNair¹⁷는 당뇨병 환자와 정상인과의 골 밀도를 비교한 결과 당뇨병환자에서 약 20%정도 낮다고 보고하였으며 Kankauer 등¹⁸도 불충분한 혈당조절로 인해 젊은 성인에서도 골흡수가 촉진되고 골 밀도의 감소가 보인다고 하였다. Hedlund 등¹⁹은 당뇨병을 가진 22명의 발의 종골(calcaneous) 골질의 조사에서 방사선 소견상 감소된 골의 밀도와 결손을 가진 골의 치유를 보고하였다. Loder⁶는 당뇨병을 가진 31명의 하지골절을 수상한 환자에 대한 임상증상 및 방사선 소견을 통한 추적조사에서 증가된 골유합 기간을 보고하였다. Varmarken 등²⁰은 29명의 당뇨병을 가진 발목 골절 환자에서 2명 부정유합과 4명의 지연된 골유합을 보고하였다. Cryan 등²¹은 ankle 골절을 가진 당뇨환자와 비당뇨환자의 비교에서 당뇨환자에서 84.6%로 비당뇨환자의 26.1%에서 보다 높은 합병증율을 보고하였으며 발생한 합병증으로는 표재성 감염, 골수염, 지연된 유합등을 보고하였다.

이러한 당뇨의 골 밀도의 감소와 골절 치유 지연에 관한 원인적 요소를 밝히기 위하여 많은 연구가 있었으며 당뇨병을 실험적으로 유도하기 위한 여러 가지 방법이 소개되었다. 그

중 인간에 호발하는 인슐린비의존성 당뇨의 실험적 모델로 가장 많이 적용되는 것은 스트렙토조토신으로 유도된 당뇨백서와 spontaneously BB/Ottawa Karlsburg rat으로 인간의 당뇨에서 보이는 비슷한 병적인 소견을 보인다¹⁾. 이번 연구에서 사용되어진 스트렙토조토신은 체장에 있는 랑거한스 섬의 베타세포에 선택적인 독소로 작용하며 이것의 주요 작용은 DNA 염기의 알킬화에 매개되는 것으로 생각되며 결국 세포내 치유과정을 시작하게 하여 결과적으로 NADP(nicotinamide-adenine dinucleotide)의 저장에 심각한 감소를 발생시켜 세포의 파괴가 발생하게 되는 것으로 생각된다. 이러한 과정의 결과로 인슐린의 분비가 감소하게 되어 고혈당이 나타나게 되는 것이다.¹⁰⁾ 이러한 스트렙토조토신으로 유발된 당뇨백서에 관한 연구에서 당뇨백서는 고혈당증을 보이게 되며 감소된 교원질의 생성과 증가된 교원질분해, 혈소판에서의 Prostaglandin E2의 감소 등으로 인한 골 형성의 감소를 보인다고 하였다^{22,23)}.

당뇨에서 골 밀도의 감소와 골절 치유 지연에 관한 원인은 명확하지 않으나 실험적으로 밝혀진 바로는 Ramamurthy 등²⁴⁾은 고혈당증이 골절 치유과정에서 세포증식의 억제, 교원질의 합성의 감소와 교원질 파괴의 증가를 가져온다 하였으며 Brownlee 등²⁵⁾은 교원질내의 높은 당질화(high glycosylation end product)와 교차결합의 감소가 교원질 이상의 원인이 된다고 하였다. Barenson 등²⁶⁾은 고혈당증으로 인한 산-점액다당류(acid mucopolysaccharide)와 당단백(glycoprotein)의 감소로 인하여 교원질의 용해도가 증가한다고 하였으며, Mustard 등²⁷⁾은 혈소판에서 Prostaglandin E2가 증가하여 교원질 생성의 이상을 가져온다고 하였다. Verhaeghe 등²⁸⁾은 당뇨유도백서에서 1,25(OH)₂ VitD가 감소하여 골의 형성의 부전을 가져온다 하였다. 또한 Seifter 등¹⁾은 손상된 염증 반응과 과 감염에 대한 저항성의 감소로 인하여 치유가 지연된다고 하였다. 하지만 조직의 치유과정에서 폐쇄성 미세혈관 질환에 의한 골 치유의 지연에 대해서는 논란이 많다⁹⁾.

Verhaeghe 등²⁸⁾은 당뇨백서에서 골모세포가 감소하며 골 기질의 침착이 느린 것을 보고하였으며, Mishima 등²⁹⁾은 당뇨백서에서 치조골에서 형성된 골의 양과 파골세포의 수가 적어 치조골의 골교체를 느리다고 하였다. Herbsman 등³⁰⁾은 실험적으로 유도된 당뇨백서에서 골절부위의 인장력의 감소를 보인다고 하였으며 이후 Funk 등³¹⁾은 골의 치유에 있어 골의 기계적인 강도의 회복이 중요한 요소라고 하였으며 당뇨백서에서 failure torque, structural stiffness의 감소를 보고하였다. Shyng 등³²⁾은 당뇨백서에서 두개골 결손에서의 골 치유에 관한 실험에서 손상된 신생골의 형성과 교원질과 당단백 형성의 감소를 보고하였다. Devlin 등³³⁾은 당뇨유도백서의 발치와에서 교원질의 구조의 형성이 저하됨을 보고하였고 Beam 등³⁴⁾은 당뇨유도백서에서 세포증식의 감소와 가골 성분의 이상을 보고하였다.

또한 당뇨백서에 있어 골절 치유 지연에 관한 많은 조직형태측학적 연구가 있었다. Glajchen 등³⁵⁾은 당뇨백서에서 골소주 부피와 골 형성이 감소한다고 보고하였으며 Shyng 등은³²⁾ 두개골 결손에서의 골 치유에 관한 실험에서 당뇨백서에서 골소주

부피, 평균 골소주 두께, 평균 골소주 밀도의 감소를 보고하였다. Follak 등³⁶⁾은 당뇨백서에서 술후 24일까지 골치유가 지연된다고 하였으며 Macey 등³⁷⁾은 당뇨백서의 초기 골치유에 관한 연구에서 술후 4일과 11일 사이에 가골의 교원질의 양에 있어 약 50-55%의 감소를 보인다고 하였다. Follak 등³⁶⁾은 골개조의 양상에 대한 정량적 조직형태측학적 분석을 통해 골개조의 지연이 약 6주까지 나타난다고 보고하였다. 또한 Follak 등³⁷⁾은 조직형태측학적 분석을 통하여 골기질의 침착율, 골형성비율과 주변골 침착율을 측정하여 당뇨백서가 일반백서에 비해 지연된다고 보고하였다.

본 연구에서는 약 12주된 백서에 앞서 밝힌 바와 같이 스트렙토조토신으로 유도된 당뇨백서에서 하악골 골절 유도 후 골절 치유양상을 조직학적으로 관찰하고 조직형태측학적 연구를 시행하였다.

골절 후 1주의 비당뇨군에서는 골편사이로 많은 수의 세포가 증식되어 있는 것이 관찰되고 많은 수의 골모세포가 새로이 형성된 미성숙 골을 둘러싸고 있으며 연골성 결합이 형성되고 있는 것으로 관찰되며 당뇨군에서도 골편사이에 세포의 증식이 관찰되나 술 후 1주의 비당뇨군보다 적게 관찰되고 미성숙골은 거의 관찰되지 않으며 아직 모세혈관의 증식이 관찰된다. 하지만 골모세포의 증식은 미약하게 관찰된다. 골절 후 2주가 되면서 비당뇨군에서는 새로이 형성된 골이 성숙골로 대체되고 있으며 성숙골 내로 골세포들의 붕입이 관찰되나 당뇨군에서는 아직 관찰되지 않는다. 비당뇨군에서는 신생골 주변으로 많은 수의 골모세포의 증식이 관찰되며 연결성 연골 부위에는 연골모세포의 증식이 관찰되나 당뇨군에서는 아직 신생골의 형성이 관찰되지 않는다. 비당뇨군의 경우 골절 후 4주째가 되면서 연골성 결합이 대부분 성숙골로 대체되며 치밀골의 형태를 보이고 있다. 당뇨군에서는 이러한 소견이 골절 후 6주째에 나타나고 있다. 전 기간에 걸쳐 당뇨군에서 골절 후 치유양상은 일반백서와 비교하여 볼 때 약 2-3주간 지연되는 것으로 관찰된다.

조직형태측학적 분석에서도 골소주 부피에 있어 비당뇨군과 당뇨군에서 모두 골소주의 부피가 시간이 지남에 따라 점차적으로 증가하였으나 당뇨군에서 비당뇨군보다 유의성 있게 골소주부피의 감소가 관찰되었다. 특히 비당뇨군에서 2주와 4주사이에 골소주 부피의 급격한 증가가 나타나지만 당뇨군에서는 4주와 6주사이에 급격한 증가가 나타나며 비당뇨군보다 2주 늦게 나타난다. 골소주 두께를 볼 때 비당뇨군에서는 6주까지 점차적으로 증가하다가 이후 약간 감소하는 양상이 관찰되며 당뇨군에서는 전체적으로 골소주의 두께가 비당뇨군에 비해 감소해 있는 것으로 관찰되며 8주까지 점차적으로 증가하다가 이후 감소하는 것으로 나타나며 당뇨군에서 비당뇨군보다 유의성 있게 골소주 두께의 감소가 관찰되었다. 골소주의 수에 있어서는 비당뇨군과 당뇨군에서 모두 4주까지 증가하다 이후 점차적으로 감소하는 것으로 관찰되며 이는 골소주의 두께의 증가로 인한 수의 감소가 보이는 것으로 생각되며 그 수에 있어서 비당뇨군과 당뇨군사이의 유의성 있는

차이를 보이지 않는다.

본 연구 결과에서 스트렙토조토신을 투여한 당뇨백서에서 대조군인 비당뇨백서와 하악골 골절 후 치유양상에 관하여 비교하여 볼 때 신생골 및 성숙골이 나타나는 시기가 늦고 골소주의 부피와 두께가 감소하고 증가하는 시기가 늦게 나타나는 결과를 얻을 수 있었다. 즉, 당뇨백서의 하악골 골절 후 치유 양상은 일반 백서에 비해 지연되고 손상받는 것으로 생각된다.

본 연구는 당뇨백서와 비당뇨백서간의 하악골 골절 후 치유 양상에 관한 연구이며 당뇨와 골절치유의 상관관계를 더 이해하기 위해서는 혈당이 조절된 당뇨백서와의 비교 연구가 필요할 것으로 사료되며 또한 골절치유의 지연이 고혈당증에 의한 치유기전의 손상에 의한 영향과 당뇨백서의 감소된 골 밀도에 의한 영향에 관한 상관관계에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각한다. 또한 본 연구는 12주된 백서를 당뇨 유발하여 하악골 골절 후 12주까지의 골절 치유에 관한 연구이기에 좀 더 장기적인 연구를 통해 당뇨에 의한 치유된 골의 변화에 대한 영향에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

저자는 스트렙토조토신으로 유발된 백서에서 하악 골절시 치유의 양상을 관찰하기 위하여 12주 된 백서에서 모의 수술을 시행한 후 비당뇨군(대조군)과 당뇨군(실험군)으로 나누어 하악골 골절 후 1주, 2주, 4주, 6주, 8주, 12주로 나누어 각 시기에 희생시켜 조직학적 소견을 관찰하고 조직형태계측학적 분석을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 조직병리학적 관찰에서 당뇨군에서 대조군보다 골모세포의 증식이나 신생골과 연골성 결합이 형성되는 시기가 늦고, 신생골을 형성하는 골모세포의 증식이 낮게 관찰되며 전반적인 기간에 걸쳐 대조군에 비해 신생골이 형성되어 성숙골로 대체되고 골교체가 일어나는 시기가 늦게 나타난다.
2. 조직형태계측학적 골소주 부피의 비교에 있어 전반적인 실험기간에 걸쳐 당뇨군에서 비당뇨군보다 감소되어 있으며 비당뇨군과 당뇨군 사이에 유의성 있는 차이를 보이고 있다($P<0.05$).
3. 조직형태계측학적 골소주 두께의 비교에 있어 전반적인 실험기간에 걸쳐 당뇨군에서 비당뇨군보다 감소되어 있으며 비당뇨군과 당뇨군 사이에 유의성 있는 차이를 보이고 있다($P<0.05$).
4. 조직형태계측학적 골소주의 수의 비교에 있어 비당뇨군과 비당뇨군 사이에 유의성 있는 차이를 보이지 않는다($P>0.05$).

이상의 결과에서 스트렙토조토신을 유발된 당뇨백서에서 골절 이후 골 치유의 과정이 정상백서에 비해 지연된다는 것을 알았다.

참고문헌

1. Seifter E, Rettura G, Padawer J, Stratford F, Kambos D, Levenson SM: Impaired wound healing in streptozotocin diabetes: prevention by supplemental vitamin A. *Ann Surg* 1981;194:42-50.
2. Cozen L: Does diabetes delay fracture healing? *Clin Orthop* 1972;82:134-140.
3. Levin ME, Boisseau VC, Avioli LV: Effects of diabetes mellitus on bone mass in juvenile and adult-onset diabetes. *N Engl J Med* 1976;294:241-245.
4. Schwartz AV: Diabetes Mellitus: Does it affect bone? *Calcif Tissue Int* 2003;73:515-519.
5. Lieberman D, Fried V, Castel H, Weitzmann S, Lowenthal MN, Galinsky D: Factors related to successful rehabilitation after hip fracture: a case-control study. *Disabil Rehabil* 1996;18:224-230.
6. Loder RT: The influence of diabetes mellitus on the healing of closed fractures. *Clin Orthop* 1988;232:210-216.
7. Schwartz AV, Sellmeyer DE, Ensrud KE, Cauley JA, Tabor HK: Older women with diabetes have an increased risk of fracture: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:32-8.
8. Follak N, Kloting I, Wolf E, Harry M: Histomorphometric evaluation of the influence of the diabetic metabolic state on bone defect healing depending on the defect size in diabetic rat. *Bone* 2004;35:144-152.
9. Macey LR, Kana SM, Jinguishi S, Terek RM, Borretos J, Bolander ME: Defects of early fracture-healing in experimental diabetes. *J Bone Joint Surg* 1989;71:722-733.
10. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Maluche H: Bone histomorphometry: standardisation of nomenclature, symbols, and units. *J Bone Miner Res* 1987;2:595-610.
11. McKibbin B: The biology for fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg* 1978;60:150-162.
12. Simmons DJ: Fracture healing perspectives. *Clin Orthop* 1985;200:100-113.
13. Lane JM, Suda M, Timpler: Immunofluorescent localization of structural collagen types in endochondral fracture repair. *J Orthop Res* 1986;4:318-329.
14. Hollinger J, Wong KE: The integrated processes of hard tissue regeneration with special emphasis on fracture healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;82:594-606.
15. Thomas T, Burguera B, Melton LJ, Atkinson EJ, O'fallon WM: Role of serum leptin, insulin, and estrogen levels as potential mediators of the relationship between fat mass and bone mineral density in men versus women. *Bone* 2001;29:114-120.
16. Albright F, Reifenstein EC: The parathyroid glands and metabolic bone disease: selected studies. William & Willkins Co., 1948, pp 150-152.
17. McNair P, Madsbad S, Christiansen C, Christiansen MS: Bone loss in diabetes. *Diabetologia* 1979;17:283-286.
18. Kankauer JC, McKenna MJ, Buderer NF, Rao DS, Whitehouse FW, Parfitt AM: Bone loss and bone turnover in diabetes. *Diabetes* 1995;44:775-782.
19. Hedlund LJ, Maki DD, Griffiths HJ: Calcaneal fractures in diabetic patients. *J Diab Comp* 1997;12:81-87.
20. Varmarken JE, Olsen CA, Kristiansen B: Multiple fractures in a young diabetic patient. *Injury* 1988;19:285-286.
21. Cyran F, Sheldon LS, Gregory GP, Nicholas A, Wayne B, Alfred B: Complications after surgical treatment of diabetic vs non-DM patients with isolated ankle fracture: A cohort study. *Diabete Res Clin Prac* 2000;50:280.
22. Yamada Y, Fushimi H, Inou T: Effects eicosapentaenoic acid and docosaheanoic acid and diabetic osteopenia. *Diabetes Res Clin Pract* 1995;30:37-42.
23. Bain S, Ramamurthy NS, Impeduglia T, Scloman S, Golub LM: Tetracycline prevents cancellous bone loss and maintains near-normal rates of bone formation in streptozotocin diabetic rats. *Bone*

- 1997;21:147-153.
24. Ramamurthy NS, Golub LM: Diabetes increases collagenase activity in extracts of rat gingiva and skin. *J Periodont Res* 1983;18:23-30.
 25. Brownlee M, Cerami A, Vlassara H: Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med* 1988;318:1315-1321.
 26. Berenson GS, Radhakrishnamurthy B, Dalfered ER: Connective tissue macromolecular changes in rats with experimentally induced diabetes. *Diabetes* 1972;21:733-743.
 27. Mustard JF, Packham M: Platelets and diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1984;311:665-667.
 28. Verhaeghe J, Visser WJ, Einhorn TA, Bouillon R: Osteoporosis and diabetes: Lessons from the diabetic BB rat. *Horm Res* 1990;34:245-248.
 29. Mishima N, Sahara N, Shirakawa M, Ozawa H: Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on alveolar bone deposition in the rat. *Arch Oral Biol* 2002;47:843-849.
 30. Herbsman H, Power JC, Hirschman A, Shaftan GW: Retardation of fracture healing in experimental diabetes. *J Surg Res* 1968;8:424-431.
 31. Funk JR, Hale JE, Carmines D, Gooch HL: Biomechanical evaluation of early fracture healing in normal and diabetic rats. *J Ortho Res* 2000;18:126-132.
 32. Shyng YC, Devlin H, Sloan P: The effect of streptozotocin-induced experimental diabetes mellitus on calvarial defect healing and bone turnover in the rat. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2001;30:70-74.
 33. Devlin H, Garland H, Sloan P: Healing of tooth extraction sockets in experimental diabetes mellitus. *J Oral Maxillofac Surg* 1996;54:1087-1091.
 34. Beam HJ, Parsons JR, Lin SS: The effects of blood glucose control upon fracture healing in the BB Wistar rat with diabetes mellitus. *J Orthop Res* 2002;20:1210-1216.
 35. Glajchen N, Epstein S, Ismail F, Thomas S, Fallon M: Bone mineral metabolism in experimental diabetes: Osteocalcin as a measure of bone remodeling. *Endocrinology* 1988;123:290-295.
 36. Follak N, Kloting I, Wolf E, Merk H: Delayed remodeling in the early period of fracture healing in spontaneously diabetic BB/OK rats depending on the diabetic metabolic state. *Histol Histopathol* 2004;19:473-486.
 37. Follak N, Kloting I, Wolf E, Merk H: Improving metabolic control reverse the histomorphometric and biomechanical abnormalities of an experimentally induced bone defect in spontaneously diabetic rats. *Calcif Tissue Int* 2004;74:551-560.

사진부도

- Fig. 1. Histologic finding at 1 week in control group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 2. Histologic finding at 1 week in control group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 3. Histologic finding at 1 week in diabetic group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 4. Histologic finding at 1 week in diabetic group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 5. Histologic finding at 2 weeks in control group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 6. Histologic finding at 2 weeks in control group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 7. Histologic finding at 2 weeks in diabetic group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 8. Histologic finding at 2 weeks in diabetic group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 9. Histologic finding at 4 weeks in control group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 10. Histologic finding at 4 weeks in control group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 11. Histologic finding at 4 weeks in diabetic group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 12. Histologic finding at 4 weeks in diabetic group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 13. Histologic finding at 6 weeks in control group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 14. Histologic finding at 6 weeks in control group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 15. Histologic finding at 6 weeks in diabetic group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 16. Histologic finding at 6 weeks in diabetic group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 17. Histologic finding at 8 weeks in control group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 18. Histologic finding at 8 weeks in control group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 19. Histologic finding at 8 weeks in diabetic group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 20. Histologic finding at 8 weeks in diabetic group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 21. Histologic finding at 12 weeks in control group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 22. Histologic finding at 12 weeks in control group (H-E stain, $\times 100$)
- Fig. 23. Histologic finding at 12 weeks in diabetic group (H-E stain, $\times 40$)
- Fig. 24. Histologic finding at 12 weeks in diabetic group (H-E stain, $\times 100$)

사진부도 ①

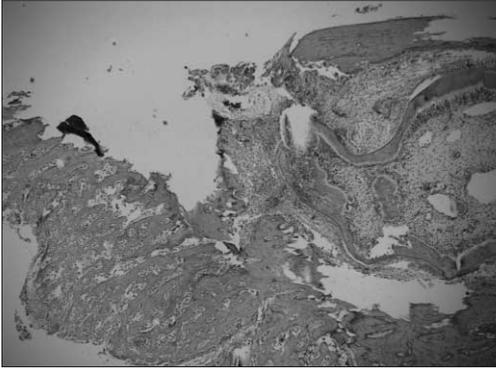


Fig. 1.

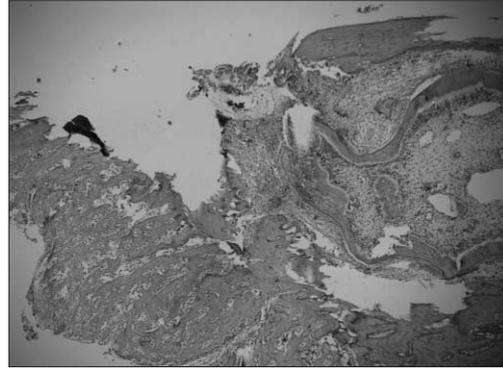


Fig. 2.

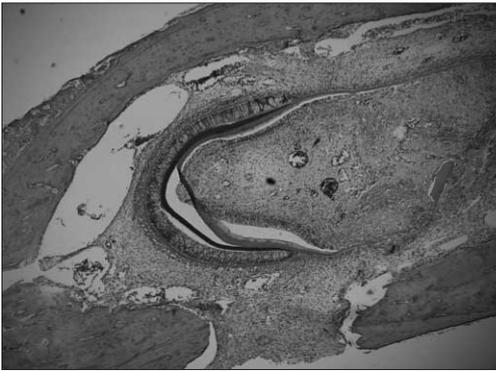


Fig. 3.

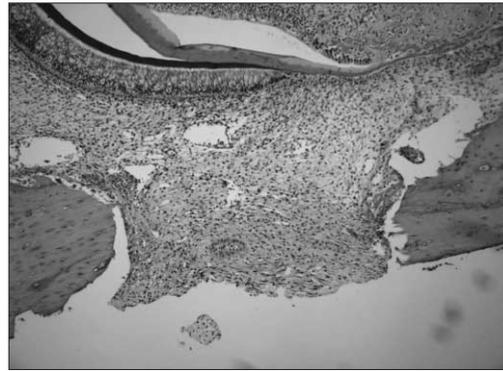


Fig. 4.

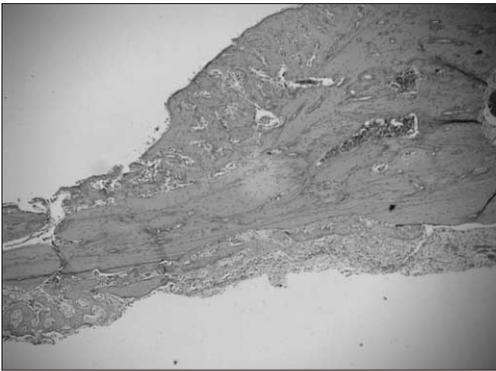


Fig. 5.

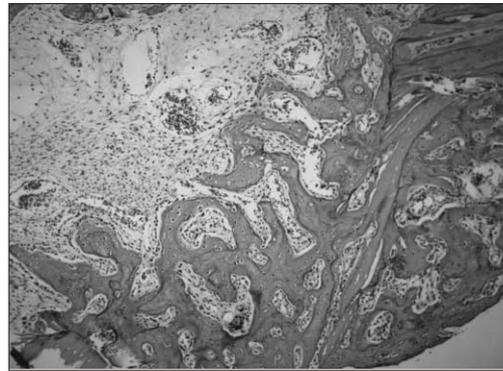


Fig. 6.

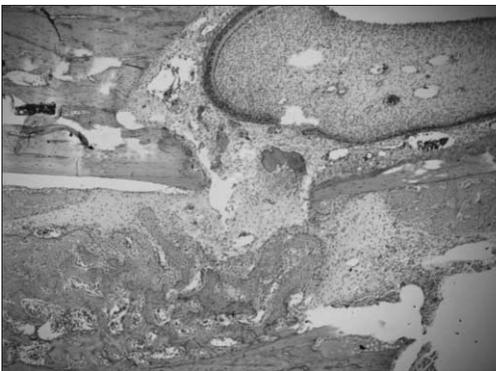


Fig. 7.

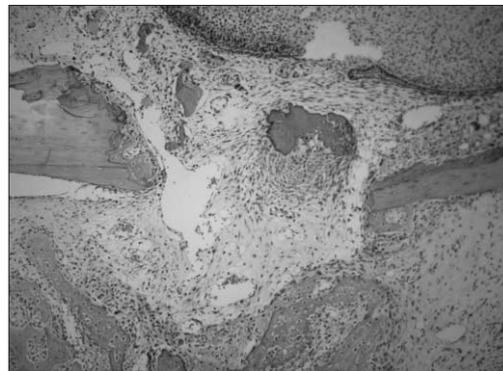


Fig. 8.

사진부도 ②

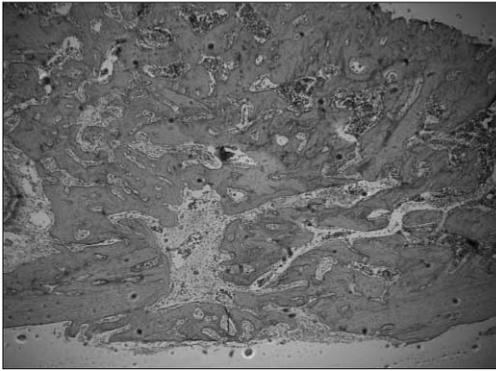


Fig. 9.

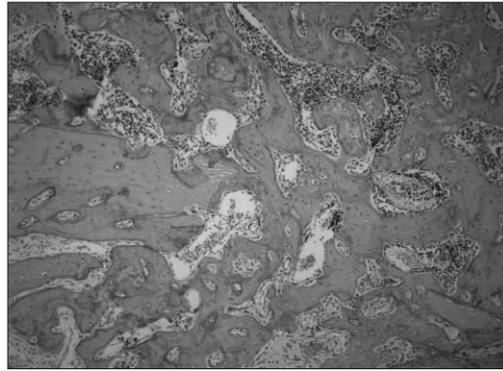


Fig. 10.

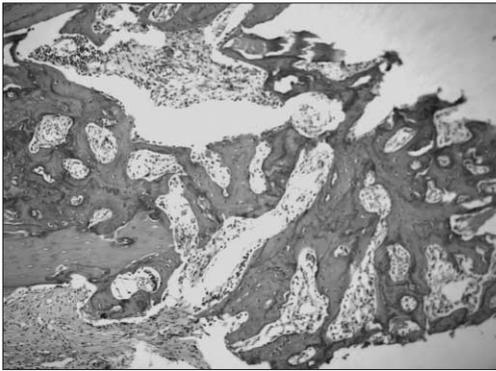


Fig. 11.

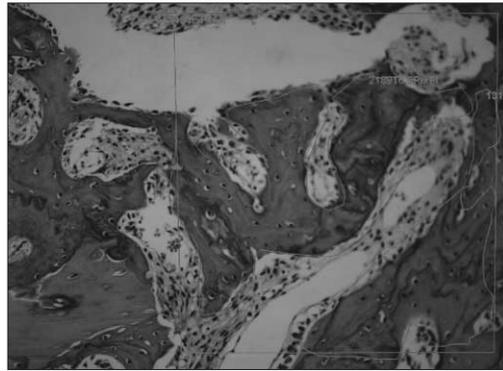


Fig. 12.

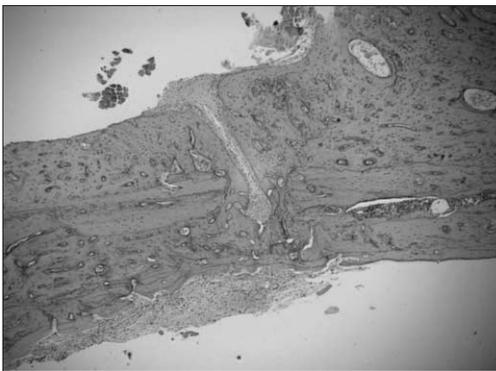


Fig. 13.

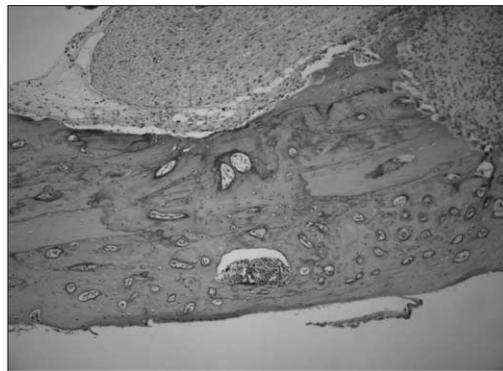


Fig. 14.



Fig. 15.

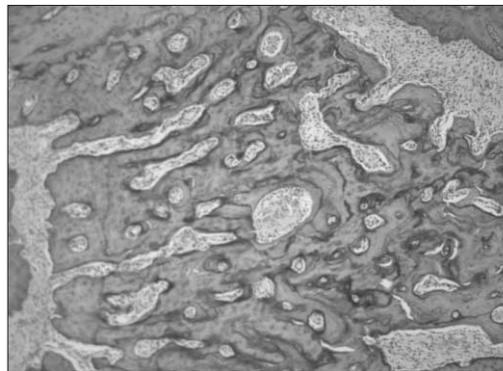


Fig. 16.

사진부도 ③

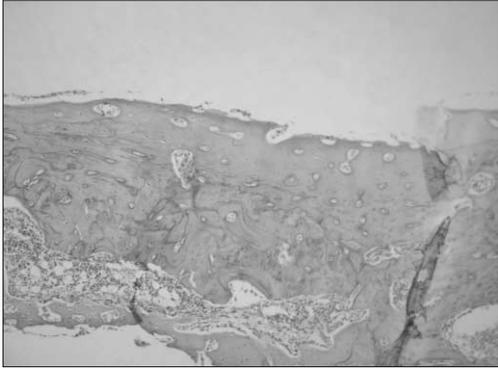


Fig. 17.

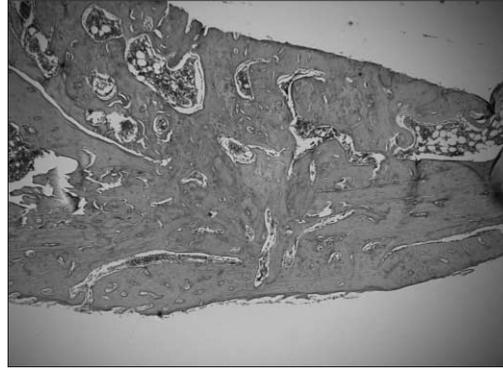


Fig. 18.

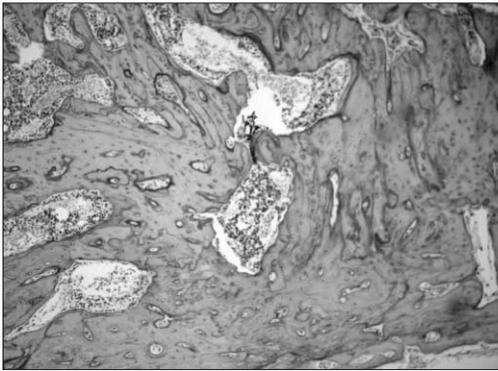


Fig. 19.

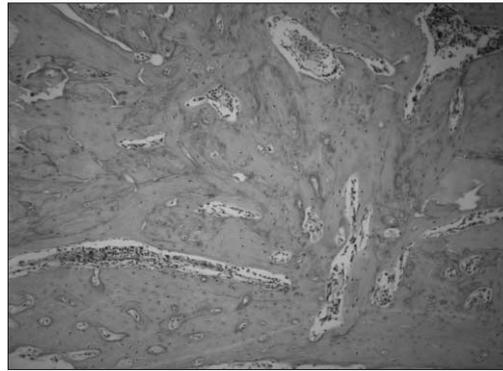


Fig. 20.



Fig. 21.

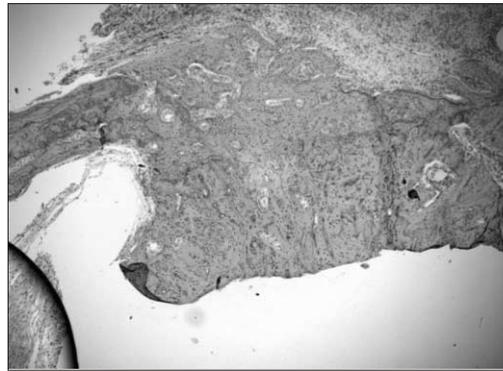


Fig. 22.

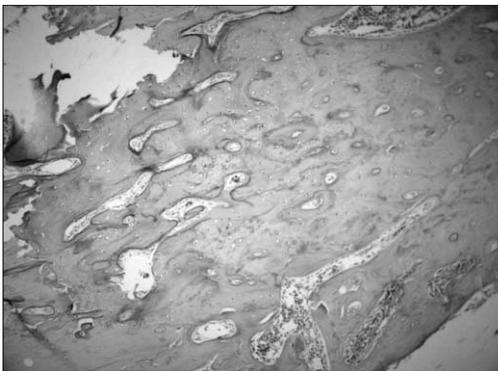


Fig. 23.

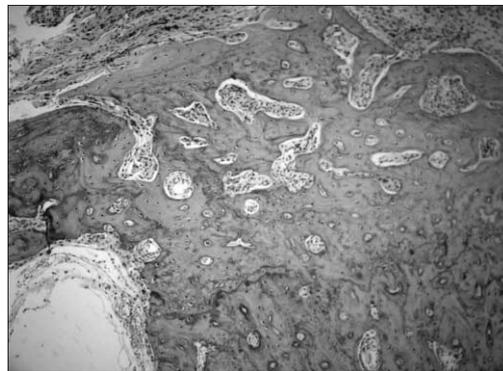


Fig. 24.