

# 미세전류가 토끼 경골의 골절 후 BMP-4 발현에 미치는 영향

## The Effect of Microcurrent Stimulation on Expression of BMP-4 After Tibia Fracture in Rabbits

조미숙  
나사렛대학교

Mi-Suk Cho(mscho@kornu.ac.kr)

### 요약

본 연구는 BMP-4의 발현을 통해 골절 후 골유합에 대한 미세전류의 효과를 관찰하였다. 실험동물은 체중 2.5~3 kg내외의 6개월령 뉴질랜드 웅성 토끼 24마리를 사용하였으며 경골 골절 후 미세전류를 적용한 실험군과 비적용군인 대조군으로 나누었고, 시간경과에 따른 변화를 관찰하기 위하여 3일, 7일, 14일 및 28일군으로 나누어 BMP-4에 대한 면역조직화학적 염색을 실행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

BMP-4의 발현은 미세전류를 적용한 실험군과 자연치유군인 대조군 모두 시간이 경과함에 따라 증가하다가 감소되었다. 그러나 골절 7일 후 까지 동일 시점에서 실험군이 대조군에 비해 더욱 강한 면역양성 반응을 보였다. 특히 경골 골절 7일 후 대조군은 하버씨계의 동심원과 간질층판을 중심으로 중등도의 갈색의 면역양성반응을 보인데 반해 실험군의 경우 바깥층판을 포함하여 매우 강한 갈색의 면역양성반응을 보였다.

위의 결과로 보면 골절 후 미세전류를 적용할 때 치유과정 초기에 골형성단백질인 BMP-4의 발현을 증가시켜 골절 치유를 촉진시킬 수 있었다.

■ 중심어 : | 골유합 | 골형성단백질 | 미세전류 |

### Abstract

This study aimed to examine the effect of microcurrent stimulation on expression of Bone Morphogenetic Protein(BMP) 4 after tibia fracture in rabbits. The twenty four adult 6 month old New Zealand white rabbits weighting 2.5~3.5 kg were used. Twenty four rabbits with tibia fracture were randomly divided into control and experimental groups. Each group was divided into four subgroups, based on the duration of the experiment (3, 7, 14, 28 days). The experimental groups received microcurrent stimulation of 20~25  $\mu$ A intensity with surface Ag-AgCl electrode (diameter 1cm, Biopac, U.S.A.) for 24 hours a day. Cathode of the microcurrent stimulator located on the tibia directly, anode of it did on the gastrocnemius muscle. After evaluation, the test results are as follows: Comparisons of immunohistochemical observation of BMP-4 in 7 days after tibial fracture show that there was shown to be a moderate positive reaction (++) on concentric circles of Harversian system and the interstitial lamella in the control group, while there was a very strong positive reaction (++++) on concentric circles of Harversian system and interstitial lamellain the experimental group. These results suggest that applying non-invasive constant microcurrent stimulation on fractured bone is helpful to bone healing.

■ keyword : | BMP-4 | Microcurrent Stimulation | Tibia Fracture |

## I. 서론

골절치유의 한 분야로서 전기자극의 실제적인 도입은 1957년 일본의 Fukada와 Yasuda에 의해 이루어졌다. 그들은 골의 결정성분(crystal component)에 가해지는 응력이 치유를 일으키는 전류의 흐름을 유도하며, 역학적 응력에 의해 생성된 전기와 유사한 전기적 신호가 골유합을 촉진한다는 것을 보고하였다. 이들의 연구는 전기적으로 유도된 골 형성과 다양한 형태의 전기자극에 관한 연구를 촉진하였다. 그 결과 골 성장을 자극하기 위해 직류전기를 이용한 많은 생체실험들을 통해 골의 압전 특성에 대해 보다 많은 과학적 근거들이 제시되었다[1].

골유합은 다양한 성장인자, 분화인자, 호르몬 cytokine과 세포의 기질 성분을 포함한 여러 국소적, 전체적 조절 인자들의 조화로운 작용에 의해 이루어진다. 이 가운데 골형성단백질(bone morphogenetic protein; BMP)그룹이 골절치유 과정 중 세포 증식, 연골 형성, 골 형성의 일련의 과정에서 핵심적인 역할을 하는 것이 많은 연구 논문들에 의해 보고되었다[2][3].

현재, 사람의 BMP는 비교적 분자량이 적은 당단백질로서 BMP-1에서부터 BMP-16까지 16종류가 확인되었다. 그 가운데 procollagen c-protease인 BMP-1을 제외하고는 분자 구조상 아미노산 배열에 있어 40~50%의 상동성을 가지고 있고, 최종 domain의 c-말단 부위에 7개의 cysteine 잔기를 가지므로 Transforming growth factor-beta(TGF- $\beta$ )superfamily의 일원으로 분류된다[4]. 또한 BMP 그룹은 분자 구조상 아미노산 배열의 동질성에 따라 92%가 동일한 BMP-2, 4 그룹, 82%가 동일한 BMP-5, 6, 7, 8 그룹과 BMP-3 그룹으로 세분할 수 있다[5].

골 유도성 BMP는 골 형성 과정에서 줄기 세포가 골모세포로 분화될 때 최초의 신호 분자로 작용하며, BMP에 의해 유도된 연골내골화에 의한 골 형성은 다음과 같은 일련의 순서가 관찰된다. 단핵구와 줄기 세포의 동원, 골 전구 세포들을 화학 주성에 의해 이동 증식시켜 연골 세포로의 분화, 연골 세포의 비후와 연골 기질의 석회화, 골모 세포의 분화를 위한 혈관 침습과

골 형성 과정을 거쳐 마지막으로 새롭게 형성된 골의 재형성과 골수 형성 과정이 이루어진다[6][7].

골절치유 상황에서는 대부분의 BMP 그룹이 골 형성을 증진시키는 데 관여한다고 할 수 있다. 이 가운데 특히 BMP-2, 4, 7(OP-1)이 골 형성 과정에서 주로 작용한다고 보고되었다[8]. BMP 그룹은 골 형성 과정의 가장 초기에서부터 무기질화의 완성 단계까지 다양한 과정에 작용하는데 특히 치유의 초기 단계인 골절 후 2주까지 왕성한 발현을 나타낸다고 보고되었다[9].

골절치유를 위해 사용되고 있는 전기치료로는 초음파, 직류전류, 맥동전자자장, 전기장파 전자자장 등이 있다. 최근에 이르러서는 전체 전류량은 줄이고 전압은 높여서 치료효과를 극대화 시키는 미세전류를 이용한 전기자극이 점점 대중적인 치료 모달리티(modality)로 인식되고 있다[10]. 현재 임상에서 많이 사용 중인 미세전류 통전에 이용되는 침습식 전극과 반침습식 전극은 골절치료를 위해 정확한 위치를 설정할 수 있고 전류의 흐름을 정확하게 조절할 수 있다. 이 방법은 보통 금속성 내부고정과 함께 이용되고 있다. 그러나 전극의 삽입 또는 제거 시 수술이 필요하며 이때 감염의 위험성이 상당히 높을 뿐만 아니라 삽입된 전극이 깨어질 가능성 또한 높다.

따라서 본 연구는 토끼 경골 전상골절 후 음극전극과 양극전극 모두를 표면전극을 이용하여 피부 표면에 부착시켜 미세전류를 적용할 때 골절치유과정에서 나타나는 골유합을 촉진시키는 화학적 매개체 가운데 BMP-4의 발현을 면역조직화학적으로 관찰하여 미세전류 자극이 골유합에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

## II. 연구방법

### 1. 실험동물

본 연구에서는 체중 2.5~3 kg 내외의 6개월령 뉴질랜드 옹성 토끼 24마리를 사용하였다. 실험 시작 전 일주일간의 예비 사육을 통해 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험기간 중 물과 먹이는 제한하지 않고 자유롭게 공급하였다. 실험 전 처치 후 실험군은

20~25  $\mu$ A 범위의 지속적인 미세전류전류를 비침습식으로 24시간 적용한 뒤 미세전류 적용 기간별로 각각 3일군(3마리), 7일군(3마리), 14일군(3마리) 및 28일군(3마리) 등으로 분류하였다. 대조군은 미세전류를 적용하지 않고 각각 3일군(3마리), 7일군(3마리), 14일군(3마리) 및 28일군(3마리) 등으로 무작위 배정하였다.

## 2. 경골골절 유발

실험동물을 케타민을 이용하여 마취시켰다. 마취 적용량은 ketamine hydrochloride(유한양행, Korea.)와 Xylazine hydrochloride(바이엘코리아, Korea.)를 체중 100 g 당 .15 ml 및 .05 ml 씩 섞어 카테터를 이용해 혈관 내 주사하여 실시하지만 monitoring을 통해 실험동물의 상태를 관찰하며 결정하여 적정량을 정하였다. 실험동물의 우측 뒷다리 내측의 피부를 절개하고 경골에 붙어 있는 근막을 분리시킨 후 골절을 유발시킬 부위의 골막을 일정부분 제거한 뒤 경골 밑으로 핀셋을 집어넣어 골절시킬 부위를 결정하고 가는 전기절단기를 경골의 횡으로 관통시켜 완전골절을 유발시켰다. 수술찌꺼기를 제거하고 소동물용 7-hole plate을 골절된 경골 위에 부착시켜 경골의 굴곡 정도와 맞춘 다음 토끼의 경골 표본과 비교하여 정상 위치로 각도를 설정한 뒤 1번 홀, 3번 홀, 7번 홀, 5번 홀, 2번 홀 및 4번 홀의 순서로 스크루(screw)를 박고 C-arm을 이용해 골절접합의 이상 유무를 관찰한 뒤 근막과 피부를 봉합하였다. 완전 골절을 유발시킨 실험군은 전단력에 의한 과도한 가관절증(pseudoarthrosis)을 방지하기 위해 미세전류를 적용하지 않는 안쪽에 브레이스(brace)를 대어 고정시켰다.

## 3. 미세전류 적용

전원은 9V의 어댑터를 사용하였고 저항기를 달아 저항의 변화에 영향을 받지 않고 지속적으로 20~25  $\mu$ A 범위의 일정한 출력강도를 갖는 미세전류기를 실험실에서 자체 제작하였다. 전극을 통해 피부 표면에 전달된 전류량을 Multi-Tester를 이용하여 측정한 결과 20~25 $\mu$ A 범위의 자극전류를 확인하였다. 전극은 직경 1 cm의 Ag-AgCl 전극(Biopack, U.S.A.)을 사용하였다 [11]. 수술 후 마취에서 깨어난 직 후부터 실험기간 동안

하루 24 시간 동안 지속적으로 미세전류를 적용하였다. 음극전극은 골절 부위 인 경골 전면에 근육이 없는 부위의 피부 표면에 부착하고, 양극전극은 골절 부위에서 약간 떨어진 경골 후면의 비복근 부위에 부착하였다. 미세전류 적용기간 동안 날마다 전극 부착 부위에 주사기를 이용하여 전도젤을 주입하여 피부저항을 최소화하였다. 자극 기간 동안 2~3일 간격으로 전류의 강도를 확인하고 전극 부착 부위의 합병증 등의 변화를 확인하였다.

## 4. 조직절편 제작

실험동물들은 각 해당시간에 ketamine hydrochloride(유한양행, Korea.)와 xylazine hydrochloride(바이엘코리아, Korea.)를 체중 100 g 당 .15 ml 및 .05 ml 씩 섞어 카테터를 이용해 혈관 내 주사하여 마취시킨 다음 심장을 통해 4% paraformaldehyde-lysine-periodate(PLP)로 관류고정을 시행하였다. 골절 유발 후 각 해당 시간에 실험동물의 골절부위를 절제한 뒤 동일 고정액으로 후고정(4 $^{\circ}$ C, overnight)을 시행하였다. 후고정 후 조직절편은 EDTA 용액에 침전시켜 탈회시켰다. 완전 탈회가 이루어진 것을 육안으로 확인한 후 동결보호(Cryoprotection, 20% sucrose, 4 $^{\circ}$ C, overnight)를 거친 다음 통상적 방법으로 탈수 및 투명화 과정을 거쳐 파라핀 포매한 뒤 미세절단기(Model Bright5040, Bright, U.S.A.)를 사용하여 10  $\mu$ m 두께의 조직절편을 제작하였다.

## 5. BMP-4 분석을 위한 면역조직화학염색

시간경과에 따른 BMP-4의 발현 정도를 비교하기 위해 BMP-4에 대한 일차항체인 mouse anti-BMP IgG(Vector Lab. Inc., U.S.A.)를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하였다. 조직절편 위에 일차항체를 침적시켜 실온에서 12시간 내지 24시간 동안 반응시켰는데 일차항체의 희석은 1:500의 농도로 .1M PB에 1% normal goat serum과 .3% TritonX-100이 혼합된 것을 사용하였다. 조직절편을 실온에서 10분간 3회 .1M phosphate buffer(PB)로 세척한 후 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG(Vector Lab. Inc., U.S.A.)에 1:25의 농도로 실온에서 1시간 반응시켰다. 그 후 .1M PB로 15분

간 3회 세척한 뒤 ABC(Avidin-Biotin Complex, Vector Lab. Inc., U.S.A.) 용액에 실온에서 1시간 동안 반응시켰으며 .3% 3,3'-diaminobenzidin(DAB)에 과산화수소를 .005%되게 첨가하여 갈색반응을 실시하였다. 면역조직화학염색이 끝난 조직들은 통상적으로 탈수, 투명화과정을 거친 뒤 PMM(permanent mounting media)인 Clarion(Biomedica, U.S.A.)을 이용하여 cover glass로 봉입하였다.

### 6. 분석방법

미세전류 적용 후 적용 기간에 따른 실험군과 대조군과의 BMP-4 발현위치 및 상대적 발현 정도를 비교하기 위해서 면역조직화학법을 적용한 후 광학현미경(Model BX50, Olympus, Japan.)으로 염색반응을 관찰하였다. 광학현미경하에서 염색반응을 보인 영역을 디지털 영상화하여 Image-Pro analyzer(Media Cybernetics, U.S.A.)를 이용해 단위면적당 픽셀수를 측정하고 윈도 응용 SPSS Version 12.0 프로그램을 이용해 이원배치 분산분석을 실시하고 사후분석을 위해 Duncan의 다중범위 검정을 적용하였다. 본 연구의 통계학적 유의수준

$\alpha=.05$ 로 하였다.

## III. 결과

### 1. BMP-4의 육안적 소견

토끼의 경골 골절 후 미세전류전류자극에 의한 경골 내 BMP-4의 발현 변화를 면역조직화학적 방법을 이용해 비교 관찰하였다. 경골 골절 3일 후 대조군은 하버씨계의 간질층판을 중심으로 약한 갈색의 면역양성반응(+)을 보였으나 실험군의 경우 중등도의 면역양성반응(++)을 보였다. 경골 골절 7일 후 대조군은 하버씨계의 동심원과 간질층판을 중심으로 중등도의 갈색의 면역양성반응(++)을 보였으나 실험군의 경우 바깥층판을 포함하여 매우 강한 갈색의 면역양성반응(++++)을 보였다. 경골 골절 14일 후 대조군은 하버씨계의 간질층판과 동심원을 중심으로 강한 갈색의 면역양성반응(+++)을 보였으며 실험군 또한 강한 면역양성반응(+++)을 보였다. 그 후 점차 감소하여 경골 골절 28일 후 대조군은 하버씨계의 간질층판을 중심으로 약한 갈색

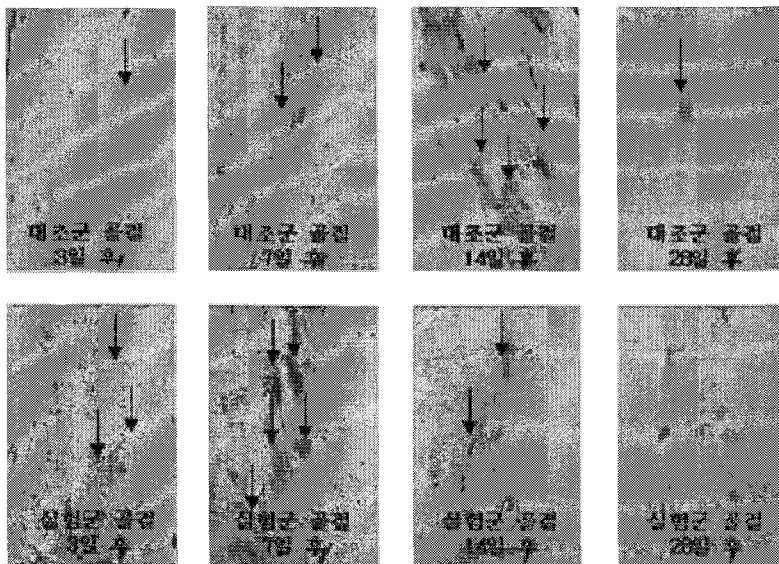


그림 1. 골절부위의 BMP-4 면역반응성(↓ : 발현부위).

의 면역양성반응(+)을 보였으나 실험군의 경우 중등도의 면역양성반응(++)을 보였다 [그림 1][표 1].

표 1. BMP-4 면역반응성

	골절3일후	골절7일후	골절14일후	골절28일후
대조군	+	++	+++	+
실험군	++	++++	+++	++

+ : 약함 ++ : 중등도 +++ : 강함 ++++ : 매우 강함

2. BMP-4의 면역조직화학적 소견

시간 경과에 따른 BMP-4의 상대적 발현 수준에 대한 단위면적당 픽셀수를 측정 한 결과는 [표 2]와 같다. 실험군과 대조군 사이에서 골절 후 시간 경과에 따른 통계학적 유의성을 검증하기 위하여 이원배치 분산분석을 실시한 결과, BMP-4의 발현은 실험군과 대조군 사이의 시간경과에 따라 통계학적 유의성이 관찰되었다. BMP-4발현 정도가 미세전류 적용 시 각각의 동일 시점에서 실험군과 대조군 사이에 BMP-4의 발현 정도는 통계학적으로 유의한 차이를 나타냈으며 Duncan의 다중범위검정을 사용한 사후검정 결과 각 군 내의 시간 경과에 따른 통계학적 유의성이 관찰되었다(p<.05) [표 2] [표 3].

표 2. BMP-4 면역반응성 (단위: 픽셀수)

	골절3일후	골절7일후	골절14일후	골절28일후
대조군	9.58±.68 <sup>a</sup>	21.79±.84 <sup>a</sup>	51.92±2.12 <sup>c</sup>	7.78±1.61 <sup>b</sup>
실험군	38.23±2.21 <sup>a</sup>	52.75±.62 <sup>b</sup>	30.13±1.73 <sup>c</sup>	12.97±1.12 <sup>c</sup>

\* 각 수치는 평균 ±표준편차로 나타냄.  
\* Duncan의 다중범위검정에 의해 유의성이 있을 경우 위험자가 다름

표 3. 실험군과 대조군의 기간에 따른 BMP-4 면역반응성 효과 검정

	제비유형 제공합	평균제공	F	p
기간	3491.820	1163.940	535.145	.00
집단간	693.375	693.375	318.793	.00

IV. 논의

골절 발생 후 골 유합을 주목적으로 하는 골절의 치

료는 다양한 방법으로 발달되어왔다. 최근에는 미세조 직학적으로 신생 골의 분화 및 이주 등을 포함한 분자 수준의 연구까지 이루어지고 있다. 이에 따른 골성장인 자들의 발견 및 적용에 의해 골유합의 기전에 관한 연구도 획기적으로 진일보하고 있다.

골절 치유를 위한 미세전류 자극 치료에 관한 연구는 Yasuda(1953)에 의해 골의 전기역학적인 특성과 생전 기적 전위가 발견된 이후 많은 동물 실험을 통해 삽입 식 전극을 이용한 미세전류자극이 골형성을 촉진시킴 을 보고하였다[12][13]. 이러한 연구 결과를 바탕으로 실제 임상에서 골절 치료에 20 μA 범위의 미세전류를 적용한 다음 그 치료 효과를 입증하는 많은 논문들이 보고되고 있다.

국내에서도 골절치유를 위한 직류전기를 적용한 연구들이 이루어지고 있다. 전류 자극에 의해 음극에서 신생골이 형성 되는 것이 실험적으로 증명되었고, 이후에 많은 실험과 임상적 연구가 이루어져 왔다. 이덕용 등[14]은 전기자극 기간이 신생골 형성에 미치는 영향에 관한 연구에서 12~20 μA의 지속적인 미세전류를 토끼 경골에 침습적으로 각각 1주, 2주, 3주, 4주, 6주 및 8주간 적용한 후 X-Ray 촬영과 조직검사 결과를 비교 하였다. 그 결과, 2주 내지 4주간의 단기간 전기자극이 임상적으로 유용하다고 보고하였다.

전기자극시 골에 영향을 주는 요소로는 전류의 크기와 총 전기량 등이다. 지속적인 전기 자극이 어떠한 기전으로 골절 치유와 불유합 및 골형성에 영향을 미치는가에 대해서는 많은 연구자들로부터 다양한 의견들이 나오고 있지만, 적용되는 전류의 강도와 전극배치에 대해서는 전반적으로 비슷한 견해를 나타내고 있다.

Baranowski 등[12]은 각각 7.0V의 전력을 사용한 전 자장 효과 트랜지스터와 저항기로 구성된 회로가 전극 사이의 저항의 변화에 영향을 받지 않고 각각 .015, .075 와 20 μA의 일정한 강도의 직류를 공급하는 전기자 극기를 이용하여 토끼 경골 골절 후 반침습법을 적용하였다. 다양한 강도의 미세전류를 적용한 다음 21일 경과 후 골수강 내외 피질골의 골밀도를 측정 한 결과 골 형성반응은 .015 μA를 적용한 군에서는 비적용군에 비해 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으며, 각각

.075 $\mu$ A와 20  $\mu$ A를 적용한 군에서는 비적용군에 비해 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다고 보고하였다. 또한 20  $\mu$ A를 적용한 군에서 .075 $\mu$ A를 적용한 군 보다 신생골 생성양이 통계적으로 유의하게 많았다고 보고하였다. 즉 서로 다른 강도의 미세전류를 적용할 때 음극 주변에서 신생골 생성양은 적용되는 전류강도가 증가함에 따라 지속적으로 증가하다가 약 20  $\mu$ A 강도에서 최대로 일어났다고 보고하였다.

따라서 본 실험에서 전류의 강도는 이와 같은 연구 결과들을 바탕으로 하였으나 표면전극을 이용한 비침습법임을 고려하여 20~25 $\mu$ A를 적용하였다.

최근 in vivo 상에서 골형성을 보고한 연구들 중 IGF-I, PDGF, TGF- $\beta$  및 BMP 등의 다양한 성장인자들의 존재 하에 조직재생을 자극하거나 억제한다는 연구자들에 의하여 성장인자들이 단독 혹은 특이세포 표면 수용기들에 결합함으로써 세포 수 증식, 화학주성, 분화, 세포의 기질 합성 및 골 결손회복 조장에 효과적임을 입증하였다[15][16]. 이들 여러 성장인자 중 PDGF와 BMP가 가장 널리 연구되어 왔는데 BMP는 골아세포의 분화 및 증식에 영향을 미쳐 신생골의 형성을 유도한다고 밝혀지고 있다[2][17].

여러 가지 골형성 단백질 중 BMP-2/4군이 다른 군의 골형성 단백질과 성장인자 등에 비하여 유전자 서열이 가장 유사하고 생체 및 시험관에서 낮은 농도에서의 골형성 능력이 뛰어나 골형성 단백질의 골형성 유도를 검증하는 동물실험에서 많이 이용되고 있는데 일반적인 BMP-2/4군의 특징은 다른 군의 골형성 단백질에 비해 낮은 농도에서 생체에서 골형성을 유도하고 alkaline phosphatase(ALP) 활성을 증가시키고 교원질 합성을 자극한다고 보고되었다[18].

Orishi 등 [17]은 쥐의 대퇴골 골절 후 외부 고정을 하지 않고 자연 치유 과정에서 BMP-2, 4의 발현 정도를 연구한 논문에서 BMP가 골절 3일 후 골절 부위 근처의 비후된 골막에서 강하게 발현되다가 골절 7일 후 소주골이 새롭게 형성될 때까지 강하게 또는 중등도로 나타났으며, 그 후 직골이 충만골로 재형성 됨에 따라 점진적으로 감소하다가 28일 이후에는 대부분 사라지는 것을 보고하였다.

이러한 보고를 토대로 본 실험에서는 토끼 경골 손상 골절 후 음극전극과 양극전극 모두를 표면전극을 이용하여 피부 표면에 부착시켜 미세전류를 지속적으로 적용할 때 골절치유과정에서 나타나는 골유합을 촉진시키는 화학적 매개체 가운데 골절에 가장 효과적으로 반응하고 특히 골막, 골수강 및 골절부 주위 근육에 분포하며 골절 후 가골이 형성되기 전에 발현된다고 보고되는 BMP-4를 선택하여 토끼의 선형골절 시 미세전류의 적용이 이러한 BMP-4의 발현에 어떠한 역할을 하는지를 알아보고자 하였다.

이러한 골형성 단백질 중 본 실험에서는 골형성 단백질인 BMP-4의 반응에 대한 결과 분석에서 실험군은 골절 7일 후 까지 대조군에 비해 강한 면역양성반응을 보였다. 특히 경골 골절 7일 후 실험군은 매우 강한 갈색의 면역양성반응(++++)을 보여, 중등도의 면역양성반응(++)을 보인 대조군에 비해 확연한 BMP-4의 발현을 나타내었다. 이는 골절 시 미세전류 자극의 적용은 골형성 단백질 중 골절부위의 가골 형성 및 회복에 강한 역할을 하는 BMP-4의 발현을 활성화 시켜 골절 초기의 회복에 효과적임을 보여주고 있다. 그러나 BMP가 골절 후 3일 후에 발현되기 시작하여 2주안에 거의 감소된다는 선행의 연구들[19][20]과 본 실험의 결과인 미세전류자극이 토끼 경골의 골절치유에서 BMP-4가 4주까지 지속적으로 발현되는 것이 다소 상이점을 나타냈는데 이는 지속적인 전류 강도의 차이로 인식되고 있지만 이에 대한 후속 연구가 필요하다고 본다.

## V. 결론

골절 후 골 유합에 대한 미세전류 자극의 효과를 관찰하기 위하여 본 연구에서는 체중 2.5~3 kg내외의 6개월령 뉴질랜드 웅성 토끼 24마리를 대상으로 전기절단기를 이용하여 경골 골절 후 7-hole plate로 연결시킨 뒤 실험동물은 미세전류 자극을 적용한 실험군과 비적용군인 대조군으로 나누었고, 시간경과에 따른 변화를 관찰하기 위하여 3일, 7일, 14일 및 28일군으로 나누어 BMP-4에 대한 면역조직화학적 염색을 실행하여 다음

과 같은 결론을 얻었다.

BMP-4의 발현은 미세전류를 적용한 실험군과 자연 치유군인 대조군 모두 시간이 경과함에 따라 통계학적으로 유의하게 증가하다가 감소되었다. 그러나 골절 7일 후 까지 동일 시점에서 실험군이 대조군에 비해 더욱 강한 면역양성반응을 보였다. 특히 경골 골절 7일 후 대조군은 허버씨계의 동심원과 간질층판을 중심으로 중등도의 갈색의 면역양성반응을 보인데 반해 실험군의 경우 바깥층판을 포함하여 매우 강한 갈색의 면역양성반응을 보였다.

위의 결과로 보면 골절 후 미세전류를 비침습적으로 적용할 때 치유과정 초기에 골형성단백질인 BMP-4의 발현을 증가시켜 골절 치유를 촉진시킴을 알 수 있었다.

#### 참고 문헌

- [1] A. E, Karamitros, V. N, Kalentzos, and P. N. Soucacos, "Electric stimulation and hyperbaric oxygen therapy in the treatment of nonunions," *Injury*, Vol.37, No.5, pp.63-73, 2006.
- [2] M P, Bostrom, J. M, Lane, W. S, and Berberian, "Immunolocalization and expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in fracture healing," *J Orthop Res*, Vol.13, No.3, pp.357-367, 1995.
- [3] M L, Bouxsein, T. J, Turek, and C. A, Blakel, "Recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates healing in a rabbit ulnar osteotomy model," *J Bone Joint Surg Am*, Vol.83-A, No.8, pp.881219-1230, 2001.
- [4] J. M, Granjeiro, R. C, Oliveira, and J. C, Bustos-Valenzuela, "Bone morphogenetic proteins: from structure to clinical use," *Br J Med Biol Res*, Vol.38, No.10, pp.1463-1473, 2005.
- [5] S, Croteau, F, Rauch, and A, Silvestri, "Bone morphogenetic proteins in orthopedics: from basic science to clinical practices," *Orthopedics*, Vol.22, No.7, pp.686-695, 1999.
- [6] R. A, Kanaan and L. A. Kanaan, "Transforming growth factor  $\beta$  1, bone connection," *Med Med Sci Monit*, Vol.12, No.8, pp.164-169, 2006.
- [7] S, Suttapreyasri, S, Koontongkaew, and A, Phongdara, "Expression of bone morphogenetic proteins in normal human intramembranous and endochondral bones," *Int J Oral Maxillofac Surg*, Vol.35, No.5, pp.444-452, 2006.
- [8] M, Egermann, C. A, Lill, and K, Griesbeck, "Effects of BMP-2 gene transfer on bone healing in sheep," *Gene Therapy*, Vol.13, No.17, pp.1290-1299, 2006.
- [9] R. H, Li, M. L, Bouxsein, and C. A, Blake, "rhBMP-2 injected in a calcium phosphate paste ( $\alpha$ -BSM) accelerates healing in the rabbit ulnar osteotomy model," *J. J al Ortho Res*, Vol.21, No.6, pp.997-1004, 2003.
- [10] 박래준, "경피신경자극과 미세전류자극이 정상인의 교감신경 긴장도에 미치는 영향", *대한물리치료학회지*, Vol.9, No.1, pp.51-57, 1997.
- [11] J. A, Spadaro and R. O. Becker, "Function of implanted cathodes in electrode-induced bone Growth," *Med. Biol. Eng Comput*, Vol.17, No.6, pp.769-775, 1979.
- [12] T. J Jr, Baranowski, J, Black, and C. T, Brighton, "Electrical osteogenesis by low direct current," *J Orthop Res*, Vol.1, No.2, pp.120-128, 1983.
- [13] C. T, Brighton, W, Wang, and R, Seldes, "Signal transduction in electrically stimulated bone cells," *J Bone Joint Surg Am*, Vol.83-A, No.10, pp.1514-1523, 2001.
- [14] 이덕용, 정문상, 성상철, 김명호, "전기자극 기간이 신생골 형성에 미치는 영향", *대한정형외과학회지*, Vol.19, No.5, pp.757-764, 1984.
- [15] T, Noshi, T, Yoshikawa, and Y, Dohi, "Recombinant human bone morphogenetic

protein-2 potentiates the in vivo osteogenic ability of marrow/hydroxyapatite composites," *Artif Organs*, Vol.25, No.3, pp.201-208, 2001.

- [16] Y, Shimakura, Y, Yamzaki, and E. Uchinuma, "Experimental study on bone formation potential of cryopreserved human bone marrow mesenchymal cell/hydroxyapatite complex in the presence of recombinant human bone morphogenetic protein-2," *J Craniofac Surg*, Vol.14, No.1, pp.108-116 2003.
- [17] T, Onishi, Y, Ishidou, and T, Nagamine, "Distinct and overlapping patterns of localization of bone morphogenetic protein (BMP) family members and a BMP type II receptor during fracture healing in rats," *Bone*, Vol.22, No.6, pp.605-612, 1998.
- [18] M. Nakashima, "Mitogenic and dentin inductive effects of crude bone morphogenetic protein from bone and dentin in primary adult pulp cell culture," *Oral Surg Oral Med Oral Patho*, Vol.73, No.4, pp.484-489, 1992.
- [19] M, Ronga, F, Baldo, and G, Zappala, "Recombinant human bone morphogenetic protein-7 for treatment of long bone non-union: An observational, retrospective, non-randomized study of 105 patients," *Injury*, Vol.37, No.Suppl 3, pp.S51-S56, 2006.
- [20] J, Park, R, Lutz, E, and Felszeghy, "The effect on bone regeneration of a liposomal vector to deliver BMP-2 gene to bone grafts in peri-implant bone defects," *Biomaterials*, Vol.28, No.17, pp.2772-2782, 2007.

저 자 소 개

조 미 숙(Mi-Suk Cho)

정회원



- 1987년 2월 : 연세대학교 공과대학 식품공학과(공학사)
- 2005년 2월 : 대구대학교 대학원 재활과학과 물리치료학 전공(이학석사)
- 2007년 8월 : 대구대학교 대학원 재활과학과 물리치료학 전공(이학박사)

- 2006년 3월 ~ 2010년 2월 : 영동대학교 물리치료학과 교수
  - 2010년 3월 ~ 현재 : 나사렛대학교 물리치료학과 교수
- <관심분야> : 노인물리치료학, 전기치료학, 신경생리학