

골다공증이 유발된 쥐 정강이뼈에 적용한 부분 진동자극 효과

The Effects of Partial Vibration on Tibia of Osteoporosis Induced Rat

박지형¹, 서동현¹, 정영진¹, 고창용^{1,2}, 김한성^{1,✉}
Ji Hyung Park¹, Dong-Hyun Seo¹, Young-Jin Jung¹, Chang-Yong Ko^{1,2} and Han Sung Kim^{1,✉}

¹ 연세대학교 의공학과, 의료공학원구원, 연세대학교-프라운호퍼 의료기기 공동연구센터 (Department of Biomedical Engineering & Institute of Medical Engineering, Yonsei Univ. & Yonsei-Fraunhofer Medical Device lab)

² 프라운호퍼 비파괴연구소 (Fraunhofer IZFP-D)

✉ Corresponding author: hanskim@yonsei.ac.kr, Tel: 033-760-2913

Manuscript received: 2011.9.5 / Accepted: 2012.1.2

The pharmacological therapies and whole body vibration as non-pharmacological therapies were known to have adverse side effects. Therefore, partial stimulation was suggested and its effects were evaluated. This study aimed to evaluate the site-specific effects of partial stimulator for treatment of osteoporosis induced by estrogen deficiency. Sixteen virginal Sprague-Dawley rats (12 weeks old) were divided into 2 groups(no stimulation, stimulation groups). All rats were ovariectomised to induce osteoporosis. After 3 weeks of operation, the right tibiae in rats of stimulation group (frequency: 10Hz, cycle: 1500, strain on bone surface: 2000 $\mu\epsilon$) were stimulated perpendicularly at right tibia by using partial stimulator for 6 weeks (3days/week). The right tibiae in rats were scanned, before stimulation (0 week) and at 6 weeks after stimulation by using in-vivo micro computed tomography. For investigation of changes in morphological characteristics, structural parameters were measured and calculated. At 6 weeks the morphological characteristics (relative value) in stimulation group were significantly enhanced than those in no stimulation group ($p<0.05$). In this study, we find that after 6 weeks of partial stimulation, the morphological characteristics of tibia trabecular bone were enhanced. Thus, we concluded that partial stimulation could be used to treat osteoporosis.

Key Words: Partial vibration (부분진동), osteoporosis (골다공증), long bone (긴뼈), Micro CT (미세단층촬영)

1. 서론

골다공증은 50 세 이상 인구에게 빈번히 유발되는 질병이며 이에 따라 전세계시장 규모가 2002 년도에 약 70 억불에 달하고 있으며 연 8%의 성장률을 보이고 있다. 이에 따라 골다공증을 치료하기 위한 많은 방법이 제시되고 있다. 약물치료요법이 가장 많이 제시되고 있지만 장기적인 복용시 발생할 수 있는 수 많은 부작용들이 보고되고 있다. 이에 따라 비약리적인 방법들이 제안되고

있다. 최근 기계적 자극이 뼈의 신진대사에 영향을 준다는 연구결과를 통하여 이중 한가지 방법으로 전신진동이 제안되고 있다. 이에 관하여 Julia 등은 폐경기 여성과 우주비행 시 발생하게 되는 골손실의 예방과 치료를 위해 전신진동 자극이 도움이 된다는 사실을 확인하였다.¹ 하지만 미국 식품의약품국에 따르면 심혈관 질환, 부정맥, 신장결석 그리고 편두통과 같은 건강상의 문제가 있는 사람에게 전신진동 자극을 가할 경우 발생할 수 있는 부작용의 가능성이 보고되고 있다.^{2,4} 또한 15-

20Hz 의 주파수의 전신진동에 장기간 노출될 경우 가슴통증, 위장출혈, 관절과 뼈의 신경생리학적 장애가 보고되고 있고, 장기간 고강도의 전신진동은 신경계, 근골격계 질환의 위험성을 증가시킬 수 있다.⁵ Cronin 등은 12Hz 이하의 주파수, 3mm 진폭에서 전신진동자극을 가할 경우 근육통과 만성견염의 발생 가능성을 제시하고 있다.⁶ 또한 전신진동은 거동이 불편한 환자나 노인들에게는 적용하기가 매우 어려운 방법이다.

이에 따라 새로운 대안책으로써 긴뼈와 같은 인체의 일부분에 정적, 동적 하중과 같은 물리적 자극을 가하여 그 효과를 평가하는 연구가 진행되어 왔다. 이러한 부분자극을 가하는 방식에 대하여 Robling 등은 부분적인 자극을 가할 때 정적 하중 보다는 동적 하중인 진동 형태의 자극이 뼈를 생성하는데 더 효과가 있음을 보고하였다.¹¹ Torrance 등은 굵힘 하중을 가하였을 때 비굽힘 하중을 가하였을 때보다 골막의 형성이 더 크게 나타났고 새로운 뼈가 생성되기 위해서는 어느 정도 이상의 표면 변화량을 가해야 한다고 보고하고 있다.⁷ Notelovitz 등과 Raab 등의 연구에서도 골량을 강화시키기 위해서는 높은 변화량의 하중을 짧은 기간 동안 반복적으로 자극을 가하는 것이 필요하다고 보고하였다.^{8,9} 하지만 Tami 등은 너무 큰 표면 변화량을 지속적으로 가하면 뼈에 미세한 손상이 중첩되어 파손이 발생할 수 있다고 보고하였다.¹³ Sample 등은 팔에 부분진동 자극을 적용하였는데 신경을 마취하였음에도 불구하고 그 효과가 골격계 다른 부분에도 나타남을 보고하여 부분자극에 대한 효과를 입증하였다.¹⁰ 하지만 이들 연구 대부분은 수컷 쥐를 사용하였고 암컷 쥐를 사용하였을 때도 골다공증을 유발하는 난소절제술을 실시하여 시행하지 않는 정상적인 상태에서 부분진동 자극을 적용하여 실험하였다. 또한 대부분 2-3 주 정도의 짧은 기간을 실험기간으로 두어 연구를 하였다. 하지만 골다공증은 장기적 치료를 요구하는 질병이기 때문에 실제 골다공증이 유발된 쥐에게 장시간 자극을 적용하는 연구가 필요하다고 본다.

따라서 본 연구에서는 기존연구와는 다르게 실제로 골다공증에 부분진동 자극이 효과가 있는지를 확인하기 위하여 골다공증을 유발하는 난소절제술을 시행하고 장기적인 성향을 갖고 있는 골다공증의 연구를 위해 기존 연구들에 비하여 2-3 배 자극기간을 늘려 총 6 동안 실험을 진행하였다. 이에 따라 본 연구는 골다공증이 유발된 쥐의 정강

이뼈에 부분진동 자극을 가하여 해면골의 형태학적 특성을 측정하고 정강이뼈의 강성을 예측하여 부분진동 자극의 효과를 평가 하고자 한다.

2. 방법

2.1 실험동물

실험동물은 12 주령 Sprague-Dawley rat (SD rat, 무게 약 270g) 16 마리를 임의로 8 마리씩 자극군, 무자극군으로 나누었다. 모든 실험동물은 난소절제술을 시행하여 3 주간 골다공증을 유발하였고 자극군은 골다공증 유발 후 6 주간 부분진동 자극을 주었고 무자극군은 자극을 주지 않았다. 실험동물은 연세대학교 동물 보호 및 사용에 관한 지침과 법규에 따라 개별적으로 환기가 잘 되고 청결한 우리에서 사육되었고, 온도와 습도는 일정하게 유지되었으며(온도: 23° ± 3° C, 습도: 50±10%), 12 시간 주기로 낮과 밤이 바뀌도록 설정하였다 (YWC-101117-1).

2.2 부분진동 자극 장치

기존의 진동기기를 토대로 SD rat 의 무릎을 구속시키고 발바닥을 진동판에 올려놓는 방식으로 정강이뼈에 부분진동을 줄 수 있는 틀을 제작하였다(figure 1). 이 틀에 오른쪽 무릎을 고정시켜 오른쪽 정강이뼈에 국소적으로 진동을 가하였다. 진동 파라미터는 무릎에서의 변화량 2000 μ strain, 반복횟수 1500 cycles, 주파수 10 Hz 로 설정하여 일주일에 세 번 자극을 인가하였다.

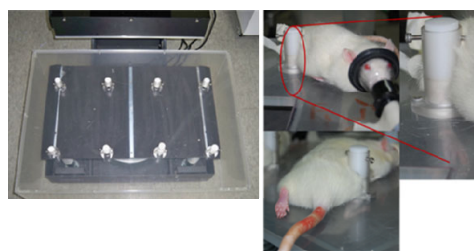
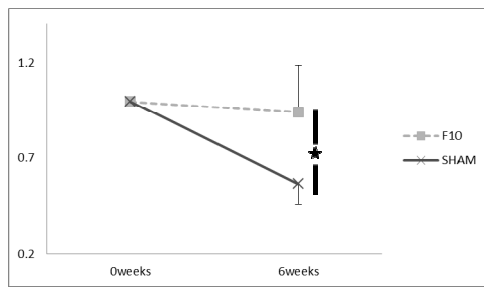


Fig. 1 Vibration equipment and device for partial vibration stimulus

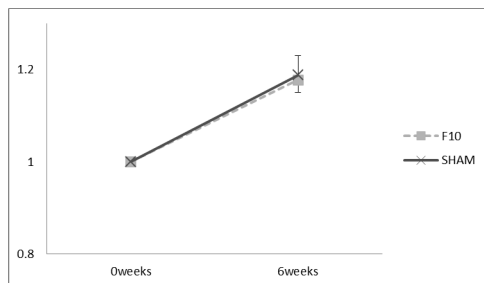
2.3 생체 내 미세단층촬영 시스템

생체 내 미세단층촬영 시스템(μ CT, Skyscan 1076, SKYSCAN N.V., Belgium)을 사용하여 자극을 주기 전과 6 주간 자극을 가한 후에 단층 촬영을 실시하여 오른쪽 정강뼈의 2 차원 횡단면 영상을 획득

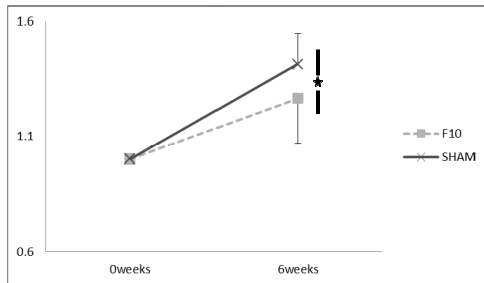
하였다. CT-AN 1.10.9.0 (SKYSCAN N.V., Belgium) 프로그램을 통하여 획득한 횡단면 영상에서 정강이 뼈의 구조적 요소와 골밀도를 측정하고 분석하였다. BV/TV 는 뼈의 부피와 관심영역의 부피 비율로써 높은 값은 뼈의 부피가 상대적으로 많음을 나타낸다. Tb.Th는 뼈간기둥의 두께를 나타내는 지표로 높을수록 두꺼운 뼈간기둥을 나타낸다. Tb.Sp 는 뼈간기둥 사이의 간격을 나타내는 지표이다. Tb.N 은 뼈간기둥의 개수를 나타내고 SMI 는 뼈간기둥의 형태를 나타내는 요소로써 0 일 때 이상적인 판 구조 형태를 나타내고 3 일 때 막대 구조 형태를 나타낸다. BMD 는 뼈의 광물 함유량을 나타내고, Conn.Dn 은 뼈간기둥의 연결성을 나타낸다. 정강이뼈의 강도를 예측하기 위하여 CT-AN 프로그램의 Volume rendering 을 통해 X-선 감쇠계수 변화에 따른 삼차원 영상을 얻어 비교하였다.



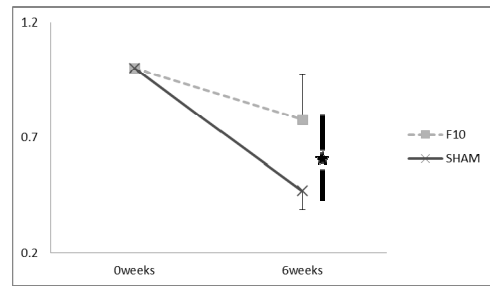
(a) BV/TV



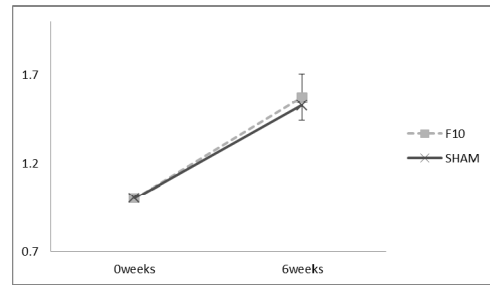
(b) Tb.Th



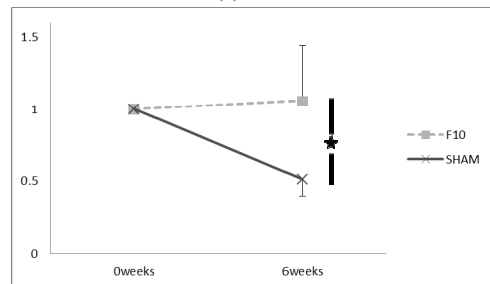
(c) Tb.Sp



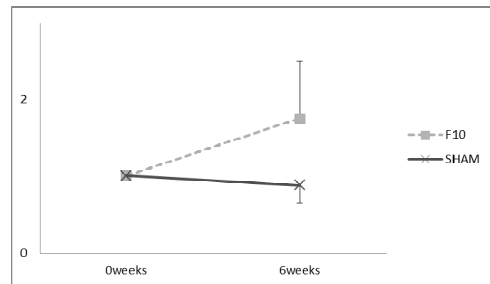
(d) Tb.N



(e) SMI



(f) Conn.Dn



(g) BMD

Fig. 2 Structural parameters of tibia trabecular bone (mean ± SE, ★ = p<0.05)

2.4 통계적 분석

6 주 동안 자극을 가한 후의 자극군과 자극을 가하지 않은 무자극군의 구조적 요소와 BMD 의 변화량이 통계적으로 유의한 차이를 나타내는지 확인하기 위해 SPSS 17.0 (SPSS Inc., USA) 을 사용

하여 공분산분석 (ANCOVA)을 시행하였다. 결과값은 평균과 표준오차로 표시하였고 통계분석에 사용된 유의수준은 0.05 로 설정하였다 ($p < 0.05$).

3. 결과

자극을 가하기 전과 후의 구조적 요소 결과값을 상대값으로 변환하여 그래프로 나타내었다. 상대값은 6 주/0 주 값으로 0 주일 때 값이 1 이고 6 주후 값이 증가하면 1 이상의 값이 되고 값이 감소하면 1 이하의 값이 된다(figure 2). 자극군의 BV/TV, Conn.Dn 상대값은 거의 변화가 없었다. 하지만 무자극군에서는 감소를 보였다. 자극군과 무자극군의 BV/TV, Conn.Dn 차이는 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 ($p < 0.05$). Tb.Th, SMI 값은 자극군 무자극군 모두 증가하였고 서로간의 유의한 점은 나타나지 않았다. 반면 Tb.Sp 는 자극군 무자극군 모두 증가하였지만 증가폭이 무자극군에서 더 큰 증가량을 나타냈고 서로 유의한 차이를 보였다 ($p < 0.05$). Tb.N 은 자극군 무자극군 모두 감소하였지만 무자극군의 감소량이 상대적으로 크게 나타났고 두 그룹간의 차이는 유의하였다 ($p < 0.05$). BMD 에서는 무자극군은 거의 변화가 없었지만 자극군에서는 증가하는 경향을 확인할 수 있었다. 그룹간에 유의한 차이는 보이지 않았다 ($p > 0.05$). 전체적으로 구조적 요소를 확인할 때 자극군의 해면골이 더 좋은 질을 갖고 있음을 확인할 수 있었다.

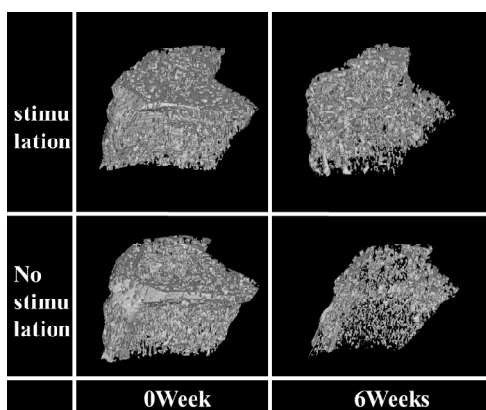


Fig. 3 3D Model of tibia trabecular bone

이러한 차이점은 해면골의 3 차원 형상으로도 확인할 수 있었다(figure 3). 3 차원 모델은 Mimics

14.0 (Materialise, Belgium) 상용프로그램을 통해서 생성하였다. 0 주에서는 자극군과 무자극군의 3 차원 형상이 거의 차이가 없는 반면 6 주 후의 자극군 해면골은 감소하는 경향이 조금 나타나기는 하지만 무자극군에서는 해면골이 확실히 감소함을 확인할 수 있었다.

정강이뼈의 강도를 예측하기 위하여 X-선 감쇠계수 변화에 따른 삼차원 영상을 비교 확인하였다. 푸른색을 많이 함유할수록 뼈의 감쇠계수가 더 크기 때문에 더 강한 뼈임을 예측할 수 있다. 무자극군에서는 푸른색이 거의 나타나지 않는 반면 자극군에서는 푸른색 영역이 상대적으로 많이 나타나고 있어 정강이뼈의 강도가 더 강함을 예측할 수 있다(figure 4).

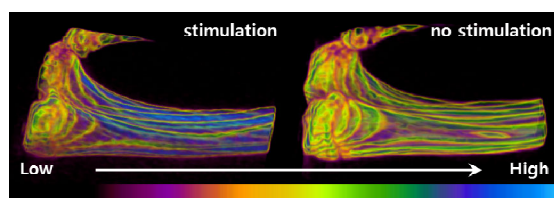


Fig. 4 X-ray attenuation coefficient distribution

4. 결론

본 연구에서는 골다공증을 치료하기 위한 기존의 약물적인 방법과 비약물적인 방법의 장기간 치료시 보고되고 있는 많은 부작용 때문에 새롭게 제시되고 있는 부분진동 자극 방법을 실제 골다공증을 유발시킨 동물을 통해서 그 효과를 확인하고자 하였다. 해면골의 특성을 확인하기 위하여 구조적 요소의 결과를 보면 6 주간 아무런 자극도 가하지 않은 무자극군에서 BMD 는 0 주에 비해 변화가 거의 없었고 뼈간기둥의 두께는 증가하였지만 골량과 뼈간기둥의 개수 그리고 뼈간기둥의 연결성이 감소하며 뼈간기둥의 간격과 구조적 지수의 값이 증가하였기 때문에 해면골의 질이 전형적인 골다공증의 형태를 나타내는 좋지 않은 상태로 변화하였음을 확인할 수 있었다. 반면 6 주간 일주일에 3 회 부분진동을 가한 자극군에서는 구조적 지수와 뼈간기둥의 간격이 0 주에 비해 증가하였지만 뼈간기둥의 간격은 무자극군과 비교하여 유의하게 낮은 값을 나타내었고 ($p < 0.05$) 뼈간기둥의 개수도 감소하는 경향을 보였지만 무자극군에 비해 유의하게 높은 값을 확인할 수 있었다

($p < 0.05$). 반면 골량과 뼈간기동의 연결성은 유지하는 경향을 보였으며 뼈간기동의 두께와 BMD 는 증가하여 전체적으로 무자극군에 비하여 해면골의 질이 좋은 상태임을 정량적으로 확인할 수 있었다. 해면골의 질이 좋은 상태가 되면 생체역학적으로 뼈에서 견딜 수 있는 힘의 크기가 증가되어 골다공증으로 인한 이차적인 질병의 위험성을 감소시킬 수 있어 근본적인 치료가 가능할 것으로 사료된다. Tb.Th 와 SMI 를 제외한 구조적요소 결과값에서 표준오차가 다소 크게 나타났는데 이는 각각의 개체별 특성이 다르기 때문에 나타난 것으로 사료되며 무자극군보다 자극군에서 표준오차가 더 크게 발생하여 개체별 특성에 더 영향을 미치는 것으로 사료된다. 정량적인 결과가 실제 어떠한 형태로 나타났는지 시각적으로 확인하기 위하여 3 차원 형상을 비교한 결과 역시 유사한 결과를 나타냄을 확인할 수 있었다. 또한 정강이뼈의 강도를 예측하기 위한 X-선 감쇠계수의 변화에 따른 영상에서도 무자극군 보다 자극군의 정강이뼈 강도가 더 강한 상태임을 예측할 수 있었다. 하지만 X-선 감쇠계수 영상은 정량적인 수치에 근거하여 강도를 예측하기 때문에 실제 실험값과는 차이가 있을 수 있다는 제한점이 있다.

이전 연구에서 Mosley 등은 성장기 쥐 긴뼈에 하중을 가했을 때에는 뼈의 길이가 줄어들거나 미성숙 등의 현상으로 성장이 억제될 수 있다는 가능성을 제시하였다.¹² 반면 Turner 등은 성숙한 쥐에서는 저강도의 기계적 자극으로도 성장기의 쥐로 실험하였을 때의 효과를 얻기에 충분하다고 보고하였다.¹⁴ 따라서 골다공증 유발 후 부분진동 자극의 효과를 확인하기 위한 실험동물의 주령은 성숙단계 이상이 적합함을 알 수 있기 때문에 본 연구에서는 12 주령 쥐로 실험을 진행하였다. 또한 Robling 등¹¹ 에 의하면 부분자극의 효과를 연구하기 위해서는 동적 자극형태인 진동자극이 적절하고 낮은 강도의 기계적 자극으로 하루 자극 시간을 짧지만 장기적인 자극을 가하여야 효과가 있을 것으로 보고하였으며 이에 따라 본 연구에서는 동적 자극형태인 진동자극을 선택하였고 음파진동방식을 채택하여 세밀한 주파수 조절이 가능하고 뼈에 무리를 주지 않기 때문에 기존의 모터 방식의 단점을 보완할 수 있었으며 기존 연구들보다 장기 자극기간을 주어 추적 관찰하였다.

본 연구에서는 6 주간의 부분진동 자극은 지속적인 골의 감소를 억제하는데 효과가 있음을 확인

할 수 있었다. 기존 연구들에서는 일반적인 쥐에 부분진동 자극을 적용하여 그 효과를 확인하였지만 본 연구에서는 난소절제술을 시술하여 골다공증을 유발시킨 쥐에 직접 부분진동 자극을 적용하여 평가하였다는 것에 의의다. 하지만 본 연구는 성숙된 쥐로 실험을 하였지만 주령이 더 많은 쥐로 실험을 하지 못하였고 정강이뼈 부분만 분석하고 정강이뼈의 강성을 예측하는 단계였다는 제한점을 갖고 있다. 향후 최적화된 파라미터를 얻기 위해 반복실험을 하고 이전연구¹⁰와 같이 다른 골격계에 미치는 영향에 대해 확인을 한다면 부분진동 자극 효과에 대한 입지를 더욱 굳힐 수 있을 것으로 본다. 더 나아가 동물실험을 기반으로 임상실험을 진행하여 그 효과를 입증한다면 골다공증 치료에 크게 기여하는 방법으로 자리잡을 것으로 사료된다.

본 연구를 통하여 골다공증이 유발된 쥐의 오른 정강이뼈에 부분진동 자극을 가했을 때 진동자극을 가한 해면골의 전체적인 질이 좋아지고 정강이뼈의 강도가 상대적으로 높아지는 효과를 확인할 수 있었다.

후 기

이 논문은 2011 년도 정부 (교육과학기술부) 의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 우주핵심기술개발사업 연구임(2011-0030888).

참고문헌

1. Totosy de Zepetnek, J. O., Giangregorio, L. M. and Craven, B. C., "Whole-body vibration as potential intervention for people with low bone mineral density and osteoporosis: A review," *Journal of Rehabilitation Research & Development*, Vol. 46, No. 4, pp. 529-542, 2009.
2. Duri, S., "WAVE Whole Body Advanced Vibration Exercise donates vibration therapy unit to Rotary humanitarian effort," *Windsor*, pp. 1-2, 2009.
3. TurboSonic USA, <http://www.turbosonicusa.com>, 2009.
4. Cardinale, M. and Pope, M. H., "The effects of whole body vibration on humans: Dangerous or advantageous," *Acta Physiologica Hungarica*, Vol. 90, No. 3, pp. 195-206, 2003.

5. Fritz, M., "Simulating the response of a standing operator to vibration stress by means of a biomechanical model," *Journal of Biomechanical*, Vol. 33, No. 7, pp. 795-802, 2000.
6. Cronin, J. B., Oliver, M. and McNair, P. J., "Muscle stiffness and injury effects of whole body vibration," *Physical Therapy in sport*, Vol. 5, No. 2, pp. 68-74, 2004.
7. Torrance, A. G., Mosley, J. R., Suswillo, F. L. and Lanyon, L. E., "Noninvasive loading of the rat ulna in vivo induces a strain-related modeling response uncomplicated by trauma or periosteal pressure," *Calcified Tissue International*, Vol. 54, No. 3, pp. 241-247, 1994.
8. Notelovitz, M., Martin, D., Tesar, R., Khan, F. Y., Probart, C., Fields, C. and Mckenzie, L., "Estrogen therapy and variable-resistance weight training increase bone mineral in surgically menopausal women," *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 6, No. 6, pp. 583-589, 1991.
9. Raab, D. M., Crenshaw, T. D., Kimmel, D. B. and Smith, E. L., "A histomorphometric study of cortical bone activity during increased weight-bearing exercise," *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 6, No. 7, pp. 741-749, 1991.
10. Sample, S. J., Collins, R. J., Wilson, A. P., Racette, M. A. Behan, M., Markel, M. D., Kalscheur, V. L., Hao, Z. and Muir, P., "Systemic effects of ulna loading in male rats during functional adaptation," *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 25, No. 9, pp. 2016-2028, 2010.
11. Robling, A. G., Duijvelaar, K. M., Geevers, J. V., Ohashi, N. and Turner, C. H., "Modulation of appositional and longitudinal bone growth in the rat ulna by applied static and dynamic force," *Bone*, Vol. 29, No. 2, pp. 105-113, 2001.
12. Mosley, J. R. and Lanyon, L. E., "Strain rate as a controlling influence on adaptive modeling in response to dynamic loading of the ulna in growing male rats," *Bone*, Vol. 23, No. 4, pp. 313-318, 1998.
13. Tami, A. E., Nasser, P., Schaffler, M. B. and Knothe Tate, M. L., "Noninvasive fatigue fracture model of the rat ulna," *Journal of Orthopaedic Research*, Vol. 21, No. 6, pp. 1018-1024, 2003.
14. Tuner, C. H., Takano, Y. and Owan, I., "Aging changes mechanical loading thresholds for bone formation in rats," *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 10, No. 10, pp. 1544-1549, 1995.