<학술논문> **DOI http://dx.doi.org/10.3795/KSME-B.2012.36.11.1081** ISSN 1226-4881

외상성 관절염 진행에 따른 경골 골단 해면골에서의 골 미세구조 변화 패턴 추적 관찰§

이주형*· 전경진**· 이권용*,****· 김대준***,****· 김한성*****· 임도형*,****†

* 세종대학교 기계공학과, ** 한국생산기술연구원 실버기술연구그룹,
*** 세종대학교 신소재공학과, **** 세종대학교 의공학연구소, ***** 연세대학교 의공학과

Longitudinal Tracking of Alteration Pattern on Trabecular Bone Microarchitecture at Tibial Epiphysis Induced by Post Traumatic Osteoarthritis Over Time

Joo Hyung Lee*, Keyoung Jin Chun**, Kwon Young Lee*,****, Dae Jun Kim***,****, Han Sung Kim***** and Dohyung Lim*,****†

* Dept. of Mechanical Engineering, Sejong Univ., ** Silver Technology Research Group, Korea Institue of Industrial Technology,
*** Dept. of Advanced Material Engineering, Sejong Univ., **** Bioengineering Research Center, Sejong Univ.,
***** Dept. Biomedical Engineering, Yonsei Univ.

(Received March 21, 2012 ; Revised July 18, 2012 ; Accepted July 20, 2012)

Key Words: Post Traumatic Osteoarthritis(외상성관절염), Trabecular Bone Microarchitecture(해면골 미세구조), Tibial Epiphysis(경골골단), Alteration Pattern(변화경향), Longitudinal Tracking(추적관찰)

초록: 외상성 관절염 발생시 슬관절에서의 해면골 미세구조 변화 특성에 대한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 생체 내 미세 단층 촬영을 통해, 소동물(SD rat; 10 마리)의 경골 골단 해면골 미세구조 변화패턴을 연속적으로 추적 관찰하여 정량적으로 분석하였다. 외상성 관절염 군(5 마리)에는 전방십자인대절제술을 실시하였고, 정상군(5 마리)에는 아무런 외과적 처치를 가하지 않았다. 외상성 관절염 군은 정상군과 비교시 수술후 8 주까지 약 4-16%의 유의한 골 미세구조 차이를 나타내었다(P<0.05). 동일 기간 동안 골 밀집 정도 및 골 형성 정도는 5-15% 정도로 유의한 차이를 나타내었다(P<0.05). 본 연구는 외상성 관절염 발생에 의한 경골 골단 해면골의 골 미세구조 변화 특성 기준 정립 및 외상성 관절염의 이해와 치료에 도움이 될 것으로 기대된다.

Abstract: This study aims to track the longitudinal alteration pattern on the trabecular bone microarchitecture at tibial epiphysis induced by T-OA over time using in vivo micro computed tomography (μCT). Ten SD rats were divided into control (n = 5) and T-OA (n = 5) groups. Anterior cruciate ligament transaction was performed for the T-OA group. The results showed that the alteration pattern on the trabecular bone microarchitecture at tibial epiphysis in the T–OA group was definitely different compared with that in the CON group from 0 to 8 weeks (approximately 4–16%, P > 0.05). In particular, a difference was observed in the bone formation and density distributions over time (from 0 or 4 to 8 weeks; approximately 5–15%, P < 0.05). An improved understanding of the alteration pattern on the trabecular bone microarchitecture at tibial epiphysis may assist in developing more targeted treatment interventions for T-OA.

1. 서 론

퇴행성 관절염(osteoarthritis, OA)은 그 기전에 따라 일차성 퇴행성 관절염(primary OA)과 이차성인 외상성 관절염(traumatic-osteoarthritis, T-OA)으로 나뉘어 진다.[1] 일반적인 퇴행성 관절염의 특징은 연골과 골에서의 마모 및 노화에 의해서 유발되며, 60 세 이상 노년층에 주로 이환 되어 있다고 한다면, 외상성 관절염(T-OA)은 노화가 아닌 외상(injury)에 의해 발생하며, 발병의 일차적 원인과

§이 논문은 2012 년도 대한기계학회 바이오공학부문 춘계학술대회(2012. 3. 28.-30., 전남대) 발표논문임
† Corresponding Author, dli349@sejong.ac.kr
© 2012 The Korean Society of Mechanical Engineers

유발 시점을 알 수 있다는 점, 주로 35 세-55 세의 젊은 층에 이환 되어 있다는 점이 다르다. 이렇게 기전과 발병 원인이 다르지만 그 증상은 일반적 퇴행성 관절염과 유사하다고 알려져 있다.[2,3] 외상성 관절염의 경우 주로 운동시에 하중을 많이 받는 슬관절(knee joint)에서 주로 일어나는 것으로 보고되고 있으며,[4] 전체 퇴행성 관절염의 약 12% 정도 비율을 차지하고 있어 노화에 의한 퇴행성 관절염에 비해 이환 정도는 낮은 것으로 보고되고 있다.[4] 그러나 한해 미국내 슬관절 외상 환자의 발생 수는 약 90 만명 정도로 추정되고 있으며,[5] 외상 환자에게서 외상성 관절염 발병률(incident rate)이 정상인에 비해 약 2 배, 일반 환자에 비해 10 배 높다고 알려져 있어,[6] 외상성 관절염 연구의 관심 및 필요성이 증대되고 있는 실정이다.

외상성 관절염의 유발 원인 중 전방십자인대(anterior cruciate ligament, ACL) 손상에 의한 외상은 가장 흔한 외상성 관절염의 발병 원인 중 하나로 알려져 있다.[7] 전방십자인대는 슬관절의 과도한 회전(torsion) 및 신전(extension)으로부터 슬관절을 보호하는 기능을 담당하고 있는데, 전방 십자 인대 손상 시 이러한 기능상실로 인해 관절의 부정합을 야기하고, 연속적으로 슬관절에 비정상적인 하중이 인가되어 결과적으로 연골 및 연골 하 골에서 심각한 손상을 초래하는 것으로 보고되고 있다.[8] 또한 위의 증상이 심화될 경우 골의 강성도(bone strength) 약화에 따른 슬관절 골절(tibia plateau fracture)의 위험성이 높아지는 것으로 보고되고 있다.[8,18] 이에 따라 골절 위험성(fracture risk) 예측 관점에서 전방십자인대 손상에 따른 외상성 관절염 발생 시 골 특성변화에 관한 많은 연구들이 수행 되어 왔다.[9~15] 그러나 현재까지 주로 외상성 관절염에 의한 골 특성 변화 연구에서는 단순 골밀도(bone mineral density)변화에 대한 연구들이 주로 수행 되었고,[12~15] 골 강성도(bone strength) 변화의 주요 요인 중 하나인 해면골[17]에서의 미세구조 변화에 대한 연구가 부족한 실정이다. 최근 Bellido 등,[9] Sniekers 등,[10] Hayami 등[11]에 의해 전방십자인대 절제술(anterior cruciate ligament transaction, ACLT)을 통한 외상성 관절염 유발 동물 모델에서 경골 골단 부위의 해면골의 미세구조 특성 변화를 분석하고자 하는 시도가 이루어졌다. 그러나 위의 연구들은[9~11] 실험 동물 각 개체에 대한 골 미세구조 특성 변화를 연속적으로 추적 관찰 하지 못한 한계점을 가졌다. 즉, 실험 개체간의 초기 골 구조 특성 차이를 고려하지 못한 점과, 원인에 대한 결과로서 골 구조 특성 변화만을 분석하였기에, 관절염의 진행에 따른 연속적 시기별 추적 관찰이라는 연구 측면에서 한계가 있었다.

본 연구에서는 생체 내 미세단층 촬영시스템을 이용하여 슬관절 경골 골단 부위에 대한 해면골의 다양한 골 미세구조 해석을 실시하여, 외상성 관절염 진행에 따른 골 미세구조 특성의 연속적 시기별 변화 패턴에 대한 정량적 분석을 목적으로 하였다. 이러한 연구를 통해 외상성 관절염에 의한 골 미세구조 특성 기준 정립 관점에서 외상성 관절염의 이해와 치료에 도움이 되고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험 동물 및 처치

본 연구의 동물실험은 연세대학교 동물 보호 및 사용에 관한 지침과 법규에 따라 수행되었다(YWC-091113-1). 실험동물은 6 주령 흰색 수컷 쥐(Sprague-Dawley, SD rat; 무게: 약 250±7g) 10 마리를 사용하였다. 실험 전 동물의 환경에 대한 적응을 위해 2 주간 연세대학교 동물 실험실에서(온도: 23□±3□C, 습도: 50±10%)에서 사육되었다. 밤과 낮은 12 시간 주기로 바뀌도록 설정하였다. 모든 쥐는 임의적으로 외상성 관절염 유발군(T-OA 군, 5 마리, T-OA1, T-OA2, T-OA3, T-OA4, T-OA5)과 아무런 처치를 가하지 않은 정상군(CON 군, 5 마리, CON1, CON2, CON3, CON4, CON5)의 2 개 군으로 나누었다. 이때 외상성 관절염 유발을 위해 전방십자인대 절제술을 실시하였다. 이를 위해 먼저 오른쪽 무릎관절의 피부와 근육을 세로 방향으로 약 1.5cm 정도 절개하였으며, 이후 슬관절을 신장(extention)하여 슬개 인대를 옆으로 이동시키고 경골과 대퇴골 사이의 고평부 상단의 중심을

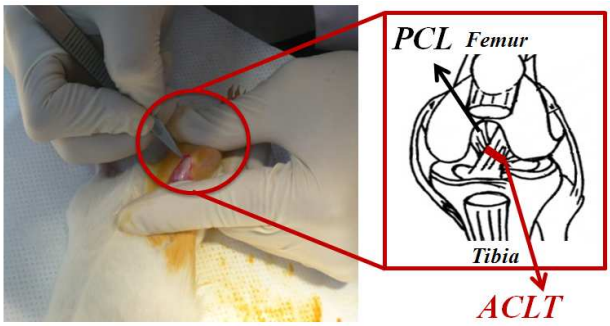

Fig. 1 Procedures of inducing traumatic osteoarthritis (T-OA) using ACLT: anterior cruciate ligament transaction, PCL: posterior cruciate ligament

연결하는 전방 십자인대를 확인 후 신장되어 있는 전방십자인대를 수술용 칼을 이용하여 절단(cutting) 해주었다(Fig. 1). 마지막으로 전방십자인대의 절단을 확인 후 이동 시켰던 슬개 인대를 원상태로 옮기고 근육과 피부를 차례로 봉합 하였다.[16] 이때 정상군에는 아무런 외과적 처치를 가하지 않았다.

2.2 생체 내 미세단층촬영

골 미세구조 특성 변화 패턴 분석을 위하여, 생체 내 미세단층촬영 시스템(in vivo micro computerized tomography examination system, Skyscan 1076, Skyscan, Belgium)을 사용하여, 모든 실험군(정상군 및 유발군) 슬관절에 대한 2 차원 미세단층(micro computerized tomography, μCT) 영상을 획득하였다(Fig. 2). 이때 연속적 시기별 특성 변화 패턴 분석을 위하여 0 주(실험 시작 시점), 4 주 그리고 8 주째에 모든 실험 동물을 대상으로 생체 내 미세단층촬영을 수행하였다. 선속 강화 효과(beam hardening effect)를 교정하기 위하여 플랫 필드 커렉션(flat field correction)과 선속 강화 인자(beam hardening factor) 교정을 수행하였다. 또한 정확한 촬영을 위해 실험동물의 움직임 제한 목적에서 염산케타민(Huons, Korea, 1mL/kg)과 자일라진(Bayer Korea, Korea, 0.33mL/kg)을 사용하여 실험동물을 마취하였다. 그리고 실험에 영향을 미칠 수 있는 동물의 스트레스 상태를 관찰할 수 있게 생체 신호 모니터링 시스템(physical monitoring system)을 이용하였으며, 동물에게 방사선 피폭 피해를 최소화하기 위한 셔터(shutter)를 사용하였다. 본 실험의 영상은 35μm x 35μm x 35μm 해상도로 촬영되었으며, 이때 생체 내 미세단층촬영을 위한 생체 내 미세단층촬영 측정 변수는 관전압 100k V, 관전류 100μA, 필터 Al 1.0mm, 그리고 회전각 0.7°로 설정하였다.

2.3 골 미세구조 변수 측정

생체 내 미세단층촬영 시스템에서 획득된 슬관절의 2 차원 미세단층 영상을 재건한 후 성장판 위로부터 600μm 높이의 경골 골단을 관심부피 영역(volume of interest, VOI)으로 지정해주었다(Fig. 2). 설정된 관심부피영역에서 CON 군과 T-OA 군의 시간에 따른 골 미세구조 변수가 측정되었으며, 골 미세구조 변수로서 골 체적비(Bone volume/Tissue volume, BV/TV), 골 표면적 비(bone surface to bone volume, BS/BV), 골 패턴요소(trabecular bone pattern factor, Tb.Pf), 골소주 개수(trabecular bone number, Tb.N), 골소주 두께(trabecular bone thickness, Tb.Th), 골소주간 거리(trabecular bone separation, Tb.Sp)가 측정 분석되었다. 여기서 BV/TV 는 전체적인 골부피 양의 변화를 확인할 수 있는 지표로서 전체 부피에서 골 조직 부피의 비율을 나타낸다. BS/BV 는 골의 교체(turnover) 정도 또는 상태를 파악할 수 있는 지표로서 선택한 골의 부피에서 골의 표면적 비를 나타내며, Tb.Pf 는 골소주의 연결성을 확인할 수 있는 지표로서 값이 높을수록 연결성이 낮음을 그리고 값이 낮을수록 연결성이 높음을 나타낸다. Tb.N 는 골소주 개수를 확인할 수 있는 지표로서 단위길이당 골소주의 개수를 나타내며, Tb.Th 는 골소주의 두께를 확인할 수 있는 지표로서 골소주의 두께를 나타내며, Tb.Sp 는 골소주 사이 간격의 평균거리를 확인할 수 있는 지표로서 간격이 좁을수록 골의 밀집도가 큰 것을 나타낸다. 추가적으로 외상성 관절염 유발로 인한 골 미세구조 변수 중 골형성 및 골밀집 정도에 대한 이해도를 높이기 위하여, Tb.Th 및 Tb.Sp 값을 세분화한 분포도를 분석하였다(Fig. 2).

2.4 외상성 관절염 유발 검증

외상성 퇴행성 관절염의 유발 확인 및 진행 정도에 대한 검증을 위해 조직학 및 방사선 영상학적 검사를 수행하였다. 조직학 검증에 있어서는 모든 실험동물들을 8 주 미세단층 촬영 직후 CO_2 를 이용하여 희생시킨 후 검사를 수행하였다. 이때 조직은 실온에서 10% 파라포름 알데하이드 용액에 8 시간 고정한 후 15% EDTA 용액에 탈석화(decalcification)한

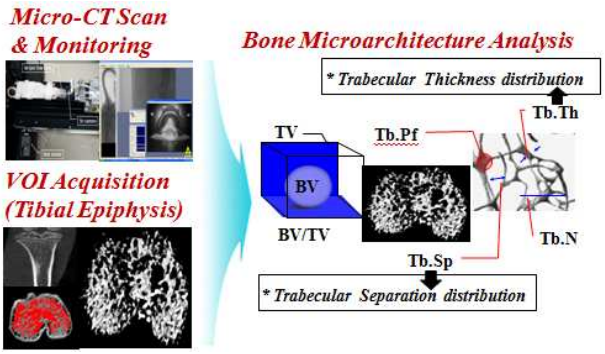

Fig. 2 μ–CT scan, monitoring, VOI (Volume of interest) acquisition, and bone microarchitecture analysis in 3D trabecular bone (BV/TV: bone volume/tissue volume, BS/BV: bone surface to bone volume, Tb.Pf: trabecular bone pattern factor, Tb.N: trabecular bone number, Tb.Th: trabecular bone thickness, Tb.Sp: trabecular bone separation)

뒤 조직 내에 남아 있는 고정액을 수세(washing)를 통해 제거하였다. 이후 파라핀이 조직 내에 침투할 수 있게 탈수(dehydration)과정을 거친 후 침투(impregnation)와 포매(embedding)를 통해 파라핀 블록을 제작하였다. 이를 4μm 의 박절(cutting)을 거쳐 슬관절에 대한 H&E (hematoxylin and eosin) 염색을 수행하였다. 방사선 영상학적 검증에 있어서는, 생체 내 미세단층 촬영 시스템으로 획득한 슬관절 μCT 이미지와 재건된 3 차원 슬관절 형상으로부터 슬관절의 골단부위 표면 형태 변화 및 파괴 정도에 따른 외형적 변화를 추적 관찰하였다. 이때 슬관절의 외형적 변화 분석을 위하여 Data viewer 1.4.2.2 (Skyscan, Belgium)와 Mimics 13.0 (Materialise, Belgium)을 사용하였다.

2.5 통계처리

각 그룹의 시간에 의한(0 주, 4 주, 8 주) 변화와 각 주에 대한 그룹간의 유의성을 알아보기 위하여 이원 분산 분석(Two-way ANOVA)과 함께 사후분석(Tukey post-hoc)을 수행 하였다. 이때 통계 분석에 사용된 유의 수준은 0.05 로 설정하였으며(P<0.05), 상용 프로그램인 SPSS 17.0 (SPSS INC. USA)을 사용하여 분석하였다.

3. 결 과

3.1 골 미세구조 특성

3.1.1 골 체적 비 (BV/TV)

시간 변화에 따른 CON 군과 T-OA 군에서의 BV/TV 변화와 각 시기별 그룹간 BV/TV 비교에 대한 결과들을 Figs. 3-5 에 나타내었다. 시간 변화에 따른 BV/TV 변화에 있어서는 0 주 대비 4 주째에 CON 군의 BV/TV 가 유의하게 증가하는데 반해(14.48±5.35%; P<0.05), T-OA 군의 BV/TV 는 유의한 변화가 없었다(P>0.05)(Fig. 3). 4 주 대비 8 주째에는 CON 군과 T-OA 군 모두 BV/TV 에 유의한 변화가 없었다(P>0.05)(Fig. 3). 각 시기별 그룹간 비교에 있어서는 0 주와 4 주째 CON 군과 T-OA 군간 BV/TV 에 유의한 차이가 없었으나(P>0.05), 8 주째에는 T-OA 군(63.66±6.14%)이 CON 군(72.79±2.58%)과 비교 시 9.13±6.47%의 유의한 차이를 보였다(P<0.05)(Fig. 3). 각 실험 동물 개체별 분석에 있어서는 골단 내측구획의 경우, 0 주 대비 4 주째에 CON 군의 모든 실험 동물 개체(CON1, CON 2, CON 3, CON 4, CON 5, 100%)에서 BV/TV 가 증가하였으며, T-OA 군의 경우 4 실험 동물 개체(T-OA2, T-OA3, T-OA4, T-OA5, 80%)에서 BV/TV 가 증가하였다(Figs. 5-6). 4 주 대비 8 주째에 있어서는, CON 군의 경우 3 실험 동물 개체(CON 1, CON 3, CON 5, 75%)에서 BV/TV 가 증가하였고, T-OA 군 역시 3 실험 동물 개체(T-OA1, T-OA2, T-OA3, 75%)에서 BV/TV 가 증가하였다(Figs. 4-5).

3.1.2 골 표면적 비 (BS/BV)

시간 변화에 따른 CON 군과 T-OA 군에서의 BS/BV 변화와 각 시기별 그룹간 BS/BV 비교에 대한 결과들을 Figs. 3-5 에 나타내었다. 시간 변화에 따른 BS/BV 변화에 있어서는 0 주 대비 4 주째에 CON 군의 BS/BV 가 유의하게 감소하는데 반해(3.53±1.69mm^{-1}; P<0.05), T-OA 군의 BS/BV 는 유의한 변화가 없었다(P>0.05)(Fig. 3). 4 주 대비 8 주째에는 CON 군과 T-OA 군 모두 BS/BV 에 유의한 변화가 없었다(P>0.05)(Fig. 3). 각 시기별 그룹간 비교에 있어서는 4 주째에 두 그룹간의 유의한 차이를 보이지 않았으나(P>0.05), 8 주째에는 T-OA 군(9.74±1.18mm^{-1})이 CON 군(7.49±0.61mm^{-1})과 비교 시 2.25±1.14mm^{-1} 의 유의한 차이를 보였다(P<0.05)(Fig. 3). 각 실험 동물 개체별 분석에 있어서는 0 주 대비 4 주째에 CON 군의 모든 실험 동물 개체(CON1, CON2, CON3, CON4, CON5, 100%)에서 BS/BV 가 감소하였으며, T-OA 군의 경우에는

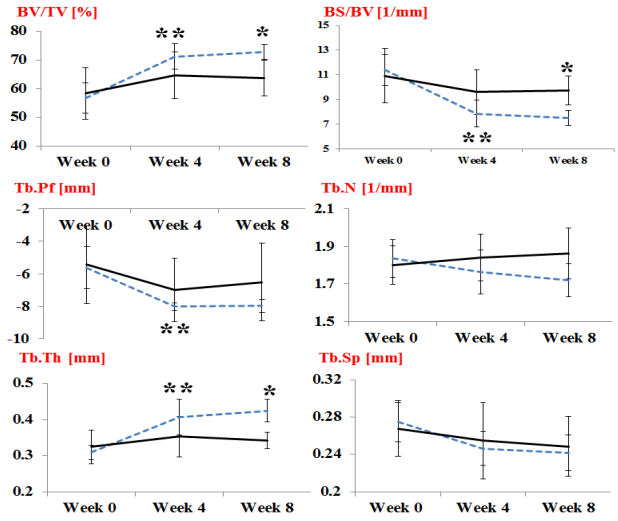

Fig. 3 Relative alterations of bone microarchitectural characteristics at the tibial epiphysis at weeks 0, 4, and 8 weeks (line, T-OA group; dotted line, CON group; *, differences between groups; **, difference between 0 to 4, or 4 to 8weeks; P<0.05)

4 실험 동물 개체(T-OA2, T-OA3, T-OA4, T-OA5, 80%)에서 BS/BV 가 감소하였다(Figs. 4-5). 4 주 대비 8 주째에 있어서는, CON 군의 경우 4 실험 동물 개체(CON1, CON3, CON4, CON5, 80%)에서 BS/BV 가 감소하였고, T-OA 군의 경우 2 실험 동물 개체(T-OA3, T-OA4, 40%)에서 BS/BV 가 감소하였다(Figs. 4-5).

3.1.3 골 패턴 요소 (Tb.Pf)

시간 변화에 따른 CON 군과 T-OA 군에서의 Tb.Pf 변화와 각 시기별 그룹간 Tb.Pf 비교에 대한 결과들을 Figs. 3-5 에 나타내었다. 시간 변화에 따른 Tb.Pf 변화에 있어서는 0 주 대비 4 주째에 CON 군의 Tb.Pf 가 유의하게 감소하는데 반해 ($0.08\pm0.04mm^{-1}$; $P<0.05$), T-OA 군의 Tb.Pf 에 유의한 변화가 없었다($P>0.05$)(Fig. 3). 4 주 대비 8 주째에는 CON 군과 T-OA 군 모두 Tb.Pf 에 유의한 변화가 없었다($P>0.05$)(Fig. 3). 각 시기별 그룹간 비교에 있어서는 0 주, 4 주, 8 주째에 걸쳐 두 그룹간 Tb.Pf 에 유의한 차이가 없었다($P>0.05$)(Fig. 3). 각 실험 동물 개체별 분석에 있어서는 0 주 대비 4 주째에 CON 군의 모든 실험 동물 개체(CON1, CON2, CON3, CON4, CON5, 100%)에서 Tb.Pf 가 감소하였으며, T-OA 군의 경우 4 실험 동물 개체(T-OA2, T-OA3, T-OA4, T-OA5, 80%)에서 Tb.Pf 가 감소하였다(Figs. 4-5). 4 주 대비 8 주째에 있어서는, CON 군의 경우 3 실험 동물 개체(CON1, CON2, CON4, 60%)에서 Tb.Pf 가 감소하였고, T-OA 군의 경우 3 실험 동물 개체(T-OA3, T-OA4, T-OA5, 60%)에서 Tb.Pf 가 증가하였다(Figs. 4-5).

3.1.4 골소주 개수 (Tb.N)

시간 변화에 따른 CON 군과 T-OA 군에서의 Tb.N 변화와 각 시기별 그룹간 Tb.N 비교에 대한 결과들을 Figs. 3-5 에 나타내었다. 시간 변화에 따른 Tb.N 변화에 있어서는 0 주 대비 4 주째, 4 주 대비 8 주째에 CON 군과 T-OA 군 모두 유의한 변화가 없었다.($P>0.05$)(Fig. 3). 각 시기별 그룹간 비교에 있어서는 0 주, 4 주, 8 주째에 걸쳐 두 그룹간의 Tb.N 에 유의한 차이가 없었다($P>0.05$)(Fig. 3). 각 실험 동물 개체별 분석에 있어는 0 주 대비 4 주째에 CON 군의 경우 3 실험 동물 개체(CON1, CON3, CON5, 60%)에서 Tb.N 이 증가하였고, T-OA 군의 경우 2 실험 동물 개체(CON1, CON3, 40%)에서 Tb.N 이 감소하였다(Figs. 4-5). 4 주 대비 8 주째에 있어서는, CON 군의 경우 4 실험 개체(CON1, CON3, CON4, CON5, 80%)에서 Tb.N 이 감소하였고, T-OA 군의 경우 3 실험 개체(T-OA1, T-OA4, T-OA5, 60%)에서 Tb.N 이 증가 하였다(Figs. 4-5).

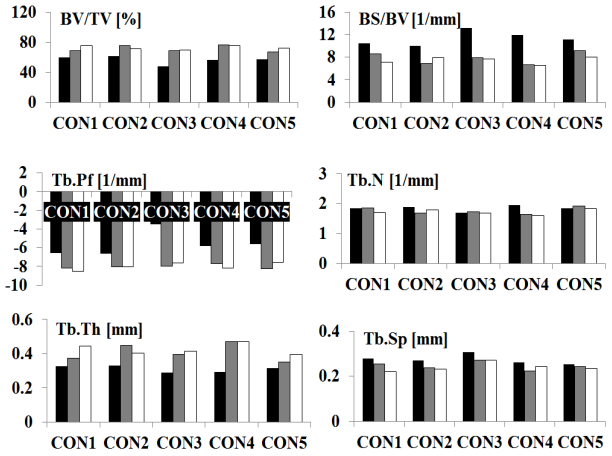

Fig. 4 Relative alteration in the bone microarchitecture characteristics for each animal in the CON groups (black bar, 0 weeks; gray bar, 4 weeks; white bar, 8 weeks)

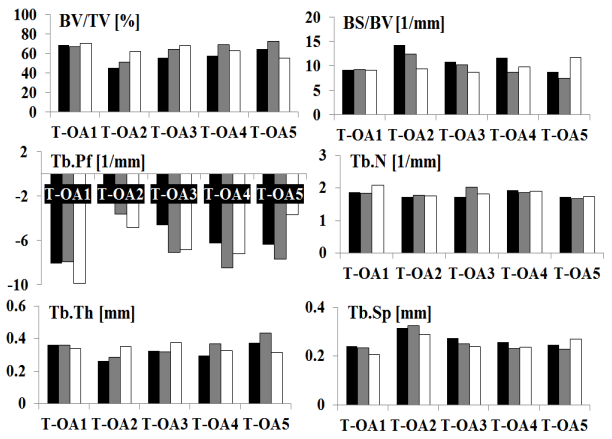

Fig. 5 Relative alteration in the bone microarchitecture characteristics for each animal in the T-OA groups (black bar, 0 weeks; gray bar, 4 weeks; white bar, 8 weeks)

3.1.5 골소주 두께 (Tb.Th)

시간 변화에 따른 CON 군과 T-OA 군에서의 Tb.Th 변화와 각 시기별 그룹간 Tb.Th 비교에 대한 결과들을 Figs. 3-5 에 나타내었다. 시간 변화에 따른 Tb.Th 변화에 있어서는 0 주 대비 4 주째에 CON 군의 Tb.Th 가 유의하게 증가하는데 반해 ($0.10\pm0.06mm$; $P<0.05$), T-OA 군의 Tb.Th 는 유의한 변화가 없었다($P>0.05$)(Fig. 3). 반면 4 주 대비 8 주째에는 CON 군과 T-OA 군 모두 Tb.Th 에 유의한 변화가 없었다.($P>0.05$)(Fig. 3). 각 시기별 그룹간

비교에 있어서는 0 주와 4 주째에는 CON 군과 T-OA 군간 유의한 차이가 없었으나(P>0.05), 8 주째에 있어서는 CON 군(0.42±0.03mm)과 T-OA 군(0.31±0.02mm) 사이에 0.08±0.04mm 의 유의한 차이를 보였다(P<0.05)(Fig. 3). 각 실험 동물 개체별 분석에 있어서는 0 주 대비 4 주째에 CON 군의 모든 실험 동물 개체(CON1, CON2, CON3, CON4, CON5, 100%)에서 Tb.Th 가 증가하였으며, T-OA 군의 경우 3 실험 동물 개체(T-OA2, T-OA4, T-OA5, 60%)에서 Tb.Th 가 증가하였다(Figs. 4-5). 4 주 대비 8 주째에 있어서는, CON 군의 경우 4 실험 동물 개체(CON1, CON3, CON4, CON5, 80%)에서 Tb.Th 가 증가하였고, T-OA 군의 경우 3 실험 동물 개체(T-OA1, T-OA4, T-OA5, 60%)에서 Tb.Th 가 감소하였다(Figs. 4-5).

3.1.6 골소주간 거리 (Tb.Sp)

시간 변화에 따른 CON 군과 T-OA 군에서의 Tb.Sp 변화와 각 시기별 그룹간 Tb.Sp 비교에 대한 결과들을 Figs. 3-5 에 나타내었다. 시간 변화에 따른 Tb.Sp 변화에 있어서는 0 주 대비 4 주째, 4 주 대비 8 주째에 CON 군과 T-OA 군 모두 유의한 변화가 없었다(P>0.05)(Fig. 3). 각 시기별 그룹간 비교에 있어서는 0 주, 4 주, 8 주째에 걸쳐 두 그룹간의 Tb.Sp 에 유의한 차이가 없었다(P>0.05)(Fig. 3). 각 실험 동물 개체별 분석에 있어서는 0 주 대비 4 주째에 CON 군의 모든 실험 동물 개체(CON1, CON2, CON3, CON4, CON5, 100%)에서 Tb.Sp 가 감소하였으며, T-OA 군은 4 실험 동물 개체(T-OA1, T-OA3, T-OA4, T-OA5, 80%)에서 Tb.Sp 가 감소하였다(Figs. 4-5). 4 주 대비 8 주째에 있어서는, CON 군의 경우 3 실험 동물 개체(C1, C2, C5, 60%)에서 Tb.Sp 가 감소하였고, T-OA 군의 역시 3 실험 동물 개체(T-OA1, T-OA2, T-OA3, 60%)에서 Tb.Sp 가 감소하였다(Figs. 4-5).

3.1.7 골소주 두께(Tb.Th) 분포 : 골 형성 정도

시간 변화에 따른 CON 군과 T-OA 군에서의 경골 골단 내 Tb.Th 분포도 변화를 Fig. 6 에 나타내었다. 시간 변화에 따른 Tb.Th 분포도 변화에 있어서, 0 주 대비 4 주째에는 0.17mm 두께 이하의 골소주 양이 CON 군에서는 유의하게 감소하였으나(7.51±3.56%; P<0.05), T-OA 군에서는 유의한 변화가 없었다(P>0.05)(Fig. 6). 0.17-0.31mm 두께의 골소주 양에 있어서도, CON 군에서는 0.17-0.31mm 두께의 골소주 양이 유의하게 감소하였으나(16.54±9.17%; P<0.05), T-OA 군에서는 유의한 변화가 없었다(P>0.05). 반면 0.31mm 두께 이상의 골소주의 양은 CON 군과 T-OA 군 모두에서 유의한 변화가 없었다(P>0.05)(Fig. 6). 4 주 대비 8 주째에는 CON 군과 T-OA 군 모두 Tb.Th 분포도의 변화에 있어서 유의한 변화가 없었다(P>0.05)(Fig. 6). 각 시기별 그룹간 비교에 있어서, 0 주와 4 주째에는 Tb.Th 분포도의 전 영역에 걸쳐 두 그룹간의 유의한 차이가 없었으나(P>0.05), 8 주째에 있어서는 0.17mm 두께 이하의 골소주 양은 CON 군(29.88±4.57%)이 T-OA 군(41.11±2.46%)에 비해 유의하게 낮음을 확인할 수 있었다(11.24±6.78%; P<0.05). 0.17-0.31mm 두께의 골소주 양은 유의한 차이가 없었다(P>0.05).

0.31mm 두께 이상의 골 소주 양은 CON 군(51.31±4.57%)이 T-OA 군(66.85±5.22%)에 비해 유의하게 낮음을 확인할 수 있었다(15.54±7.47%; P<0.05)(Fig. 6).

3.1.8 골소주간 거리(Tb.Sp) 분포 : 골 밀집 정도

시간 변화에 따른 CON 군과 T-OA 군에서의 경골 골단 내 Tb.Sp 분포도 변화를 Fig. 7 에 나타내었다. 시간 변화에 따른 Tb.Sp 분포도 변화에 있어서, 0 주 대비 4 주째에는 0.17mm 두께 이하의 골소주간 거리의 양이 CON 군과 T-OA 군에서 모두 유의하게 증가하였고(CON : 5.65±2.38%; T-OA : 3.95±2.50%; P<0.05), 0.17–0.31mm 의 골소주간 거리의 양은 두 군 모두 유의한 변화가 없었다(P>0.05). 0.31mm 이상의 골소주간 거리의 양은

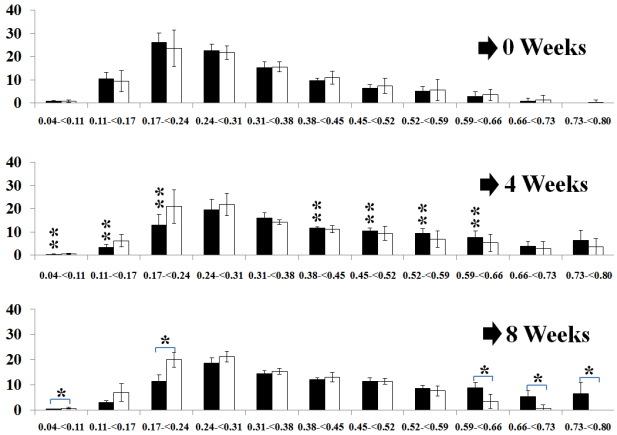

Fig. 6 Alteration of trabecular bone thickness distribution at the tibial epiphysis at weeks 0, 4, and 8 (vertical axis, trabecular bone thickness, mm; horizontal axis, bone percentage, %; black bar, CON group; white bar, T-OA group; *, differences between groups; **, difference from 0 to 4 weeks; ***, difference from 4 to 8 weeks)

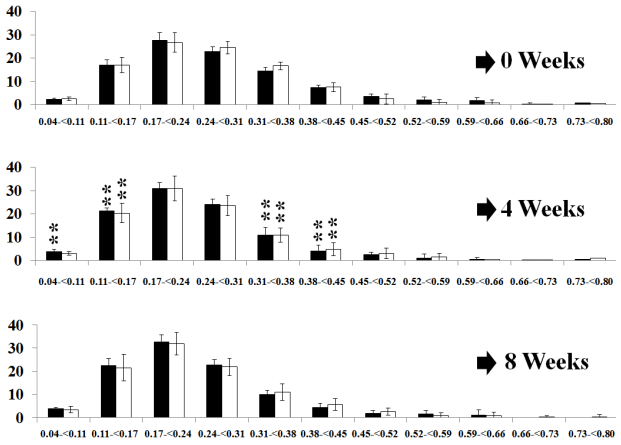

Fig. 7 Alteration in trabecular bone separation distribution at the tibial epiphysis at weeks 0, 4, and 8 (vertical axis, trabecular bone separation, mm; horizontal axis, bone percentage; black bar, CON group; white bar, T-OA group; *, differences between groups; **, 0–4 difference from 0 to 4 weeks; ***, 4–8, difference from 4 to 8 weeks)

CON 군에서는 유의하게 감소하였고(10.21±5.92%; P<0.05), T-OA 군 에서도 유의하게 감소하였다(7.31±4.93%; P<0.05). 그러나 4 주 대비 8 주째에는 CON 군과 T-OA 군 모두 Tb.Sp 분포도의 변화에 있어서 유의한 변화가 없었다(P>0.05). 각 시기별 그룹간 비교에 있어서, 0, 4, 8 주째에 걸쳐 두 그룹간 전 영역의 Tb.Sp 분포도에 유의한 차이가 없었다(P>0.05)(Fig. 7).

3.2 외상형 관절염 유발 검증

CON 군과 T-OA 군에서 획득된 조직학검사 결과를 Fig. 8 에 나타내었다. CON 군의 슬관절 골단부위 형태의 경우 외형적인 부분에서의 형태 변화나 불규칙성을 나타내고 있지 않았다(Fig. 8). 반면에 T-OA 군의 경우, 경골 골단(tibial epiphysis) 부위에서 퇴행성 관절염에서 주로 나타나는 연골 손상, 골 침식(bone erosion), 활액막염(synovitis), 판누스(pannus) 증상을 보임을 확인할 수 있었다(Fig. 8). 또한 활액에서의 약한 염증반응(mild inflammation)을 확인할 수 있었다(Fig. 8). 슬관절 μCT 이미지와 재건된 3 차원 형상으로부터 CON 군과 T-OA 군의 슬관절 골단부위 표면 형태 변화 및 파괴 정도에 따른 외형적 변화를 Fig. 9 에 나타내었었다. CON 군의 경우, 외형적인 부분에서의 형태 변화나 불규칙성을 나타내고 있지 않았다(Fig. 9). 그러나 T-OA 군의 경우에 있어서는, CON 군과 다르게 반월판의 부정합 형태와 국소적인 골 침식(bone erosion)을 확인할 수 있었다(Fig. 9). 대부분 경골 골단

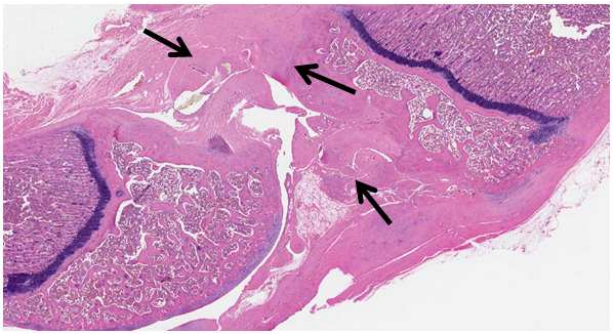

Fig. 8 Representative histological image of knee joint with T-OA (black arrows: mild inflammation, pannus formation, and synovial hypertrophy).

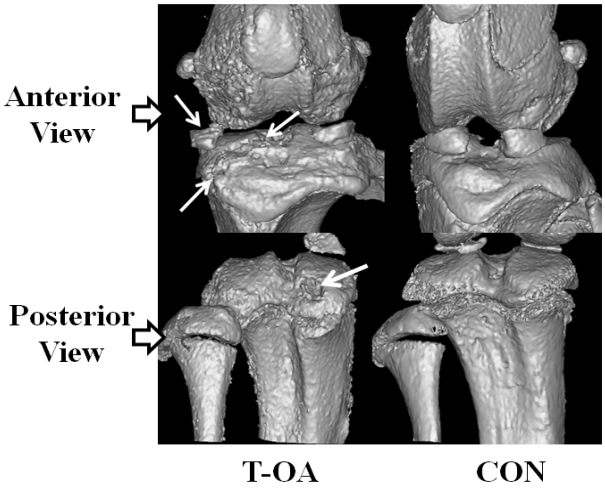

Fig. 9 Representative radiological images of knee joints in T-OA groups at 8 weeks (white arrows: local bone erosion at tibial epiphysis)

내측의 중내방(central) 또는 후내방(posteromedial)에서 국소적인 침식을 보임을 확인할 수 있었다(Fig. 9). 그러나 국소적 침식 부위를 제외하면 전반적으로 정상적인 형태를 띄고 있는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 9).

4. 토 의

최근 전방십자인대 손상으로 인한 외상성 관절염에서의 골 구조 특성 변화를 이해하고자 하는 연구가 시도 되고 있다.[9~16] 그러나 앞서 언급하였듯 기존 외상성 관절염에 의한 슬관절 골 특성변화 연구들은 골량 특성 변화에 관한 연구가 대부분이고,[12~16] 해면골에서의 미세구조 특성 분석 및 골 미세구조 변화의 연속적인 추적 관찰 측면에서 한계점을 내포하고 있다.[9~11] 특히 외상성 관절염 유발 및 진행 과정에 따라 해면골 미세 구조 특성

변화를 고려하지 못한 점이 부족하였다. 따라서 본 연구는 이러한 한계점 극복을 통해 외상성 관절염 진행에 따른 해면골의 미세구조 특성 변화를 실험 동물 각 개체에서 연속적으로 추적 관찰하였다는 점에서 의의를 가질 수 있을 것으로 판단 된다.

해면골 미세구조 변화 패턴 결과를 살펴보면 CON 군의 경우 0 주에서 4 주 사이에 일부 골 미세구조 파라미터(BV/TV, BS/BV, Tb.Pf, Tb.Th)에서 구조적 성장 패턴을 보였고(P<0.05), 4 주에서 8 주 사이에는 구조적 변화패턴을 보이지 않았다(P>0.05). 상대적으로 T-OA 군은 0 주에서 8 주 사이에서 전반적으로 구조적인 증가나 감소 패턴을 보이지 않았다(P>0.05). 이러한 결과를 Tb.Th, Tb.Sp 분포도를 통해 세부적으로 살펴보면, 8 주까지 골 밀집정도(Tb.Sp distribution)에는 CON 군과 차이가 없었지만(P>0.05) 골 형성정도(Tb.Th distribution)에 있어서는 8 주차에 T-OA 군은 CON 군에 비해 상대적으로 얇은 골소주 비율이 낮고(P>0.05), 상대적으로 두꺼운 골소주의 비율은 높은 것을 확인할 수 있다(P<0.05). 즉, 전체적인 골소주의 밀집정도는 CON 군과 유사하게 유지 되고 있지만, 얇은 골소주의 형성정도가 상대적으로 높고 두꺼운 골소주의 형성정도가 낮음을 알 수 있었다. 따라서 T-OA 군은 CON 군에 비해 미세구조적으로 불안정한 상태를 유지하고 있음을 나타내며, 해면골 미세구조 변화 패턴은 전방십자인대 손상에 의해 어느 정도 영향을 받고 있음을 알 수 있었다. 따라서 이러한 결과에 근거하여, 외상성 관절염(T-OA)에서의 골절 위험성(fracture risk)에 대한 진단 및 치료수행에 있어, 미세구조적인 변화 패턴이 진행 시기별로 고려되어야 할 것으로 사료된다. 앞서 언급하였듯 T-OA 군에서 미세구조 변화패턴은 시간에 따른 유의한 변화가 없었지만(P>0.05), 이를 각 실험 동물 개체간 변화를 통하여 관찰 하였을 때, 일부 개체의 패턴이 항상 일치하지 않음을 확인할 수 있었다. 이는 전방십자인대 손상으로 관절간 하중분포 변화에 의한 국소적 골 손실을 고려하지 않고,[7] 골단 해면골 전체를 분석함에 따른 분석 오차에 의한 것으로 판단된다. 즉, 전방십자인대 손상 시 슬관절의 전방전이 및 회전에 따른 기계적 접촉부위 변화와 이로 인한 국소 부위에서의 비정상적 응력분포에 따른 국소적 골 미세구조 변화 특성을 고려하지 못하여 발생한 것으로 판단된다. 또한 전방십자인대 손상 후 실험 동물 모델에서의 질환에 대한 생리적 적응력 차이(슬관절 불안정성 극복을 위한 슬관절 지지 근육강화 보상, 관절간 마찰을 줄이기 위한 보행 특성변화 등),[21,22] 그 밖의 외부적 실험 환경 요인(방사능 노출시간, 세균감염, 소음 등)에 따른 오차에 의한 것으로 판단된다.[19,20] 따라서 본 연구 결과에 대한 신뢰성을 보다 향상 시키기 위해서는 골단 내외방에서의 전방(anterior), 중방(central), 후방(posterior)의 해면골 미세구조 변화 패턴 분석 및 이에 따른 나머지 부위에서의 골 미세구조에 대한 상관성 분석이 이루어져야 할 것으로 판단된다. 또한 실험 동물의 실시간 관찰 등을 통해 실험 오차 요인 제거를 추가적으로 수행 할 필요가 있을 것으로 사료된다. 이에 대한 연구들이 현재 계획되고 있으며 추가적인 연구 결과를 향후 발표할 예정에 있다. 그러나 외상성 관절염 진행에 따른 골 미세 구조 특성 변화 연구에서, 실험 동물 각 개체간 해면골 미세구조 특성 변화를 연속적으로 추적 관찰 함으로서 기존 선행 연구들의 한계점을 극복하였다는데 본 연구의 의의가 있을 것으로 사료된다. 또한 본 연구의 골 미세구조 분석 방법 및 변화패턴 결과는 외상성 관절염 치료를 위하여 개발되고 있는 다양한 항염증제나 재흡수 억제제와 같은 약물들의 골질 개선 관점에서의 치료 효과 분석 연구에도 활용 될 수 있을 것으로 기대된다.

5. 결 론

외상성 관절염 진행에 따른 해면골 미세구조 변화 패턴 결과를 살펴보면, CON 군의 경우 미세구조적 특성 향상 후 안정화 패턴을 보였다. 반면 T-OA 군에서는 대부분의 미세구조 파라미터에서 유의한 변화를 보이지 않음으로서 전체적으로 안정적인 변화 패턴을 보였다. 즉, 외상성 관절염 진행에 따른 경골 골단 해면골의 미세구조가 정상 슬관절에 비해 상대적으로 불안정하다는 것을 알 수 있다.

후 기

이 논문은 2011 년도 세종대학교 미래전략연구비 지원에 의한 논문임.

참고문헌

(1) Gold, R. H., Bassett, L. W. and Seeger, L. L., 1988, “The Other Arthritides. Roentgenologic Features of

Osteoarthritis, Erosive Osteoarthritis, Ankylosing Spondylitis, Psoriatic Arthritis, Reiter's Disease, Multicentric Reticulohistiocytosis, and Progressive Systemic Sclerosis," *Radiologic Clinics of North America*, Vol. 26, No. 6, pp. 1195~1212.

(2) Buckwalter, J. A. and Brown, T. D., 2004. "Joint Injury, Repair, and Remodeling: Roles in Post-Traumatic Osteoarthritis," *Clinical Orthopaedics and Related Research*, No. 423, pp.7~16.

(3) Gelber, A. C., Hochberg, M. C., Mead, L. A., Wang, N. Y., Wigley, F. M. and Klag, M. J., 2000. "Joint Injury in Young Adults and Risk for Subsequent Knee and Hip Osteoarthritis," *Annals of Internal Medicine* 133, pp. 321~328.

(4) Lotz, M. K. and Kraus, V. B., 2010, "New Developments in Osteoarthritis. Posttraumatic Osteoarthritis: Pathogenesis and Pharmacological Treatment Options," *Arthritis Research and Therapy*, Vol. 12, No. 3, p. 211.

(5) Brown, T. D., Johnston, R. C., Saltzman, C. L., Marsh, J. L. and Buckwalter, J. A., 2006, "Posttraumatic Osteoarthritis: a First Estimate of Incidence, Prevalence, and Burden of Disease," *Journal of Orthopaedic Trauma*, Vol. 20, No. 10, pp. 739~744.

(6) Gillquist, J. and Messner, K., 1999, "Anterior Cruciate Ligament Reconstruction and the Long-Term Incidence of Gonarthrosis," *Sports Medicine*, Vol. 27, No. 3, pp. 143~156.

(7) Roos, H., Adalberth, T., Dahlberg, L. and Lohmander, L. S., 1995, "Osteoarthritis of the Knee After Injury to the Anterior Cruciate Ligament or Meniscus: the Influence of Time and Age," *Osteoarthritis and Cartilage*, Vol. 3, No. 4, pp. 261~267.

(8) Quatman, C. E., Kiapour, A., Myer, G. D., Ford, K. R., Demetropoulos, C. K., Goel, V. K. and Hewett, T. E., 2011, "Cartilage Pressure Distributions Provide a Footprint to Define Female Anterior Cruciate Ligament Injury Mechanisms," *The American Journal of Sports Medicine*, Vol. 39, No. 8, pp. 1706~1713.

(9) Bellido, M., Lugo, L., Roman-Blas, J. A.,Castaneda, S., Caeiro, J. R., Dapia, S., Calvo, E., Largo, R. and Herrero-Beaumont, G., 2010, "Subchondral Bone Microstructural Damage by Increased Remodelling Aggravates Experimental Osteoarthritis Preceded by Osteoporosis," *Arthritis Research and Therapy*, Vol. 12, No. 4, p. R152.

(10) Sniekers, Y. H., Intema, F., Lafeber, F. P., van Osch, G. J., van Leeuwen, J. P., Weinans, H. and Mastbergen, S. C., 2008, "A Role for Subchondral Bone Changes in the Process of Osteoarthritis; A Micro-CT Study of Two Canine Models," *BMC Musculoskeletal Disorders*, Vol. 9, p. 20.

(11) Hayami, T., Pickarski, M., Wesolowski, G. A., McLane, J., Bone, A., Destefano, J., Rodan, G. A. and Duong le, T., 2004, "The Role of Subchondral Bone Remodeling in Osteoarthritis: Reduction of Cartilage Degeneration and Prevention of Osteophyte Formation by Alendronate in the Rat Anterior Cruciate Ligament Transection Model," *Arthritis and Rheumatism*, Vol. 50, No. 4, pp. 1193~1206.

(12) Boyd, S. K., Muller, R., Leonard, T. and Herzog, W., 2005, "Long-Term Periarticular Bone Adaptation in a Feline Knee Injury Model for Post-Traumatic Experimental Osteoarthritis," *Osteoarthritis and Cartilage*, Vol. 13, No. 3, pp. 235~242.

(13) Boyd, S. K., Matyas, J. R., Wohl, G. R., Kantzas, A. and Zernicke, R. F., 2000, "Early Regional Adaptation of Periarticular Bone Mineral Density After Anterior Cruciate Ligament Injury," *Journal of Applied Physiology*, Vol. 89, No. 6, pp. 2359~2364.

(14) Leppala, J., Kannus, P., Natri, A., Pasanen, M., Sievanen, H., Vuori, I. and Jarvinen, M., 1999, "Effect of Anterior Cruciate Ligament Injury of the Knee on Bone Mineral Density of the Spine and Affected Lower Extremity: A Prospective One-Year Follow-Up Study," *Calcified Tissue International*, Vol. 64, No. 4, pp. 357~363.

(15) McErlain, D. D., Appleton, C. T., Litchfield, R. B., Pitelka, V., Henry, J. L., Bernier, S. M., Beier, F. and Holdsworth, D. W., 2008, "Study of Subchondral Bone Adaptations in a Rodent Surgical Model of OA Using in Vivo Micro-Computed Tomography," *Osteoarthritis and Cartilage*, Vol. 16, No. 4, pp. 458~469.

(16) Williams, J. M., Felten, D. L., Peterson, R. G. and O'Connor, B. L., 1982, "Effects of Surgically Induced Instability on Rat Knee Articular Cartilage," *Journal of Anatomy*, Vol. 134, No. Pt 1, pp. 103~109.

(17) Dempster, D. W., 2000, "The Contribution of Trabecular Architecture to Cancellous Bone Quality," *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 15, No. 1, pp. 20~23.

(18) Manidakis, N., Dosani, A., Dimitriou, R., Stengel, D., Matthews, S. and Giannoudis, P., 2010, "Tibial Plateau Fractures: Functional Outcome and Incidence of Osteoarthritis in 125 Cases," *International Orthopaedics*, Vol. 34, No. 4, pp. 565~570

(19) Rogers, M. P., Trentham, D. E., McCune, W. J., Ginsberg, B. I., Rennke, H. G., Reich, P. and David, J. R., 1980, "Effect of Psychological Stress on the Induction of Arthritis in Rats," *Arthritis and Rheumatism*, Vol. 23, No. 12, pp. 1337~1342.

(20) Smith, M.M. and Little, C.B., 2007. *Experimental Models of Osteoarthritis*, in: Moskowitz, R.W., Altman, R.D., Hochberg, M.C., Buckwalter, J.A.,

Goldberg, V.M., *Osteoarthritis: Diagnosis and Medical/Surgical Management*, 4th edition, WB Saunders., Philadelpia, p. 118.

(21) Bray, R. C., Doschak, M. R., Gross, T. S. and Zernicke, R. F., 1997, "Physiological and Mechanical Adaptations of Rabbit Medial Collateral Ligament After Anterior Cruciate Ligament Transection," *Journal of Orthopaedic Research*, Vol. 15, No. 6, pp. 830~836.

(22) Wexler, G., Hurwitz, D. E., Bush-Joseph, C. A., Andriacchi, T. P. and Bach, B. R., Jr., 1998, "Functional Gait Adaptations in Patients with Anterior Cruciate Ligament Deficiency over Time," *Clinical Orthopaedics and Related Research*, No. 348, pp. 166~175.