

미세 유한요소법을 이용한 난소제거가 쥐뼈에 미치는 영향의 장기간 분석

고창용¹, 우대곤¹, 이태우¹, 김한성¹, 이법이², 탁계래³

¹연세대학교 보건과학대학 의공학부, 의용계측 및 재활공학 연구센터,
²건국대학교 의과대학 해부학 교실, ³건국대학교 의료생명대학 의공학부

Long-Term Analysis for the effect of Ovariectomy on Rat Bone using Micro Finite Element Method

C. Y. Ko¹, D. G. Woo¹, T. W. Lee¹, H. S. Kim¹, B. Y. Lee², G. R. Tack³

¹Department of Biomedical Engineering, College of Health Science, Research
Instrumentation and Rehabilitation Engineering, Yonsei University

²Department of Anatomy, College of Medicine, Kunkuk University

³Department of Biomedical Engineering, College of Medicine, Kunkuk University

ABSTRACT

This study investigated the effect of ovariectomy (OVX) on the rat bone for long term (22 weeks). In previous researches, there were many studies for morphology of OVX-induced osteoporotic bones based on micro-Computed Tomography (micro-CT). However, there were few studies for detecting and tracking changes of mechanical characteristics in the lumbar vertebrae of OVX rat for long-term. For this study, one female Sprague-Dawley rat was used: an OVX rat. The 4th lumbar of the OVX rat was utilized as a specimen. Morphological characteristics could be investigated for the lumbar vertebrae in an OVX rat by using in-vivo Micro-CT. An OVX rat was scanned at week 0 (just before surgery), at week 4, at week 8, at week 16 and at week 22 after surgery. Micro finite element (μ FE) analysis was used to investigate mechanical characteristics in the lumbar vertebrae for an OVX rat.

Key Words : Osteoporosis(골다공증) In-Vivo Micro-CT, Micro Finite Element Analysis(미세 유한요소법), Structure Parameter(구조적 파라미터), Mechanical characteristic(기계적 특성)

1. 서론

골다공증 연구를 위해 쥐의 난소를 제거하여 쥐 뼈의 변화를 관찰하는 연구가 현재 많이 수행되고 있다. 뼈는 다공성 복합물질(Porous Composite Material)이기 때문에 기계적 거동을 충분히 이해하기 위해서는 골밀도의 측정만으로는 부족하고 구조적 분석이 보장되어야 한다. 그러나 대부분의 연구가 뼈의 구조적 파라미터들을 획득하여 형태학적

변화 관찰에 집중되고 있다. 생체 내(in-vivo) 상태를 유지하면서 뼈의 변화를 추적 관찰하는 연구와 기계적 특성 변화를 분석한 연구는 부족한 실정이다. 또한 대부분의 연구가 난소제거 후 16 주 이내의 단기간 변화만을 관찰하여 장기간 쥐 뼈에 미치는 영향에 대한 연구는 이루어지지 않고 있다.

Laib 등(2001)과 Jie 등(2003)은 생체 외(ex-vivo) micro-CT 를 이용하여 난소 제거한 쥐 뼈의 변화를 관찰하였고 Waarsing 등(2004)은 생체 내

micro-CT 를 이용하여 쥐 뼈의 변화를 연속적으로 추적 관찰하였다. Peng 등(1997)은 난소제거가 쥐 뼈의 기계적 특성과 뼈의 구성물질에 미치는 영향에 대해 연구하였다.

본 연구에서는 골다공증의 원인이 폐경기 이후 여성 호르몬의 중단에 의한 것이라고 예상하고, 실험용 쥐의 난소제거 수술 후 시간의 경과에 따른 뼈의 변화를 관찰하였다. 생체 내 미세 단층촬영 시스템 (in-vivo micro-CT, Skyscn1076, Skyscan, Belgium)을 이용한 미세 유한요소 해석은 골다공증 연구에 있어서 최소한의 동물 희생으로 in-vivo 상태의 실제 실험을 통해 한 개체에 대한 장기간의 실험을 할 수 있다. 동일 개체에 대해서 뼈의 변화를 계속 추적하면서 관찰할 수 있고 미세 유한요소 해석을 통하여 기계적 특성의 변화를 관찰 할 수 있다. 또한 생체 내 미세 단층촬영 시스템과 미세 유한 요소법을 이용하여 난소 제거가 장기간 쥐 뼈에 미치는 영향을 분석하였다.

2. 실험방법

본 실험에서의 동물실험은 건국대학교 동물 보호 및 사용에 관한 가이드라인과 법규에 따라 수행되었다.

14 주된 Sprague-Dawley 쥐를 항시 25℃로 유지하고 12 시간 주기로 낮과 밤이 바뀌게 하였다. 난소 제거 후 제거시점을 기준으로 0 주, 4 주, 8 주, 16 주 그리고 22 주에 생체 내 미세 단층촬영 시스템을 이용하여 뼈의 장축에 직각이 되도록 35 μm 의 해상도를 갖는 2 차원 단면 촬영을 하였다. 이때 각 시기별로 체중을 측정하였다(Table 1).

Table 1. Change of rat weight

시간	0 주	4 주	8 주	16 주	22 주
체중(kg)	0.224	0.245	0.253	0.287	0.322

생체 내 미세 단층촬영 시스템 촬영 시 방사선 피해를 최소화하기 위해 35 μm 의 해상도로 촬영하여 촬영시간을 최소화 하였고 셔터(shutter)를 사용하여 방사선노출을 최소화 하였다. 고화질의 영상을 획득하기 위하여 쥐의 호흡량과 촬영시간을 동조시켜 촬영하였다. 이때 획득된 영상을 사용하여 시기별의 구조적 파라미터 (structure parameter)들을 구하였다. 획득된 2 차원 단면 촬영영상은 BIONIX 3.3 (CANTiBio co.) 소프트웨어를 사용하여 3 차원 구조로 변환시켰다. 이때 구조적 파라미터 체적비와 유한요소모델의 체적비를 같게 하였다 (Rietbergen 등, 1996). 모든



Fig. 1 3D model in the 4th lumbar of the rat.(top view)

모델은 등방성을 갖는다고 가정하였다. Hypermesh 7.0 (Altair co. USA) 소프트웨어를 사용하여 모의 압축실험을 위한 3D 모델로 재건하였다(Fig. 1).

그 후 각각 3 차원 유한 요소 모델의 구속 조건을 결정하고, 탄성특성에 해당하는 압축 하중 조건을 부가하였다. 탄성 특성을 분석하기 위해 3 차원 유한 요소 모델의 상단부에 0.5%의 압축 변위까지 허용하도록 압축 하중 조건을 부가하였다. 해석은 ABAQUS6.4(HKS, Inc.) 소프트웨어를 사용하여 탄성특성에 대해 전산모의 압축실험을 수행하였다.

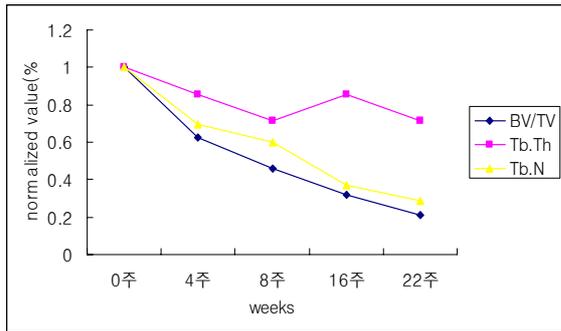
3. 결과

생체 내 미세 단층촬영 시스템에서 획득한 영상들로 부터 구조적 파라미터들을 획득하였다. (Table 2, Fig. 2) 결과에서 보는 바와 같이 난소제거 후 BV/TV (voulme fraction), Tb.N (Trabecular Number)는 감소하고, Tb.Sp (Trabecular Separation), Tb.Pf (Trabecular patten factor), SMI (Structure model index)는 증가한다. Tb. Th (Trabecular Thickness)는 그 값이 감소하다가 16 주일 때 일시적으로 증가하는 경향을 보인다. 대부분의 값들이 난소 제거직후의 변화율이 가장 크고 그 후에는 변화율이 둔화되는 경향을 보인다.

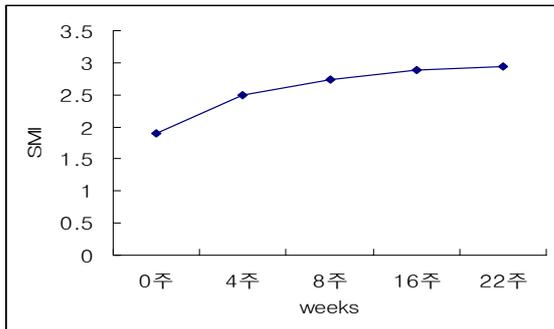
Fig. 3 은 전산모의 압축실험을 수행한 결과 폰 미세스 응력 (Von Mises stress)분포를 나타내고 있다. Fig. 4 는 각 시기별로 전산모의 압축 실험을 수행하여 탄성계수 (Effective modulus)의 상대적 변화값을 나타내었다. 그 결과를 보면 탄성계수는 난소제거 직후에 급격하게 감소하고 그 이후에는 감소율이 둔화되는 경향을 보인다. 구조적 파라미터들의 변화와 탄성계수의 변화를 비교해보면 BV/TV 와 Tb. N.의 감소경향과 탄성계수의 감소경향이 같은 경향을 보이고 있다.

Table 2. Structure parameters of the 4th lumbar in ovx rat

	BV/TV (%)	Tb.Th (mm)	Tb.Sp (mm)	Tb.N (mm ⁻¹)	Tb.Pf (mm ⁻¹)	SMI
0 주	30.94	0.14	0.22	2.28	-4.29	1.89
4 주	19.32	0.12	0.24	1.59	4.58	2.50
8 주	14.28	0.10	0.25	1.37	8.39	2.73
16 주	9.87	0.12	0.39	0.85	12.83	2.88
22 주	6.50	0.10	0.42	0.65	17.87	2.95



(a)



(b)

Fig. 2 Changes in structure parameters after OVX. (a) BV/TV, Tb.Th., Tb.N. (b) SMI

4. 결론

본 연구에서는 난소 제거가 쥐 뼈에 미치는 영향에 대해 장기간 (22 주) 추적 관찰하였다. 이때 쥐뼈의 구조적 변화와 기계적 특성 변화를 분석하기 위하여 생체 내 미세 단층촬영 시스템과 미세 유한요소법을 사용하였다.

난소 제거 후 쥐 척추뼈는 골체적비가 낮아지며 골소주간 거리는 멀어지고 있다. 골소주는 점차 막대구조를 보이며 구조적으로 약하게 되는 것을 확인하였다. 이는 Laib 등(2001)의 결과와 같은 경향을 보인다. 골소주의 두께는 난소제거 직후에 얇아지다가 16 주일 때 두꺼워지며 그 후 다시

얇아지는 경향을 보이고 있다. 또한 시간이 지날수록 탄성계수가 감소하여 기계적 특성도 약하게 되는 것을 확인하였다.

본 논문은 살아있는 생명체로 실험을 하였고 생체조건과 유사한 구속조건에서 실험하였다. 시간 경과에 따라 동일 개체에서 같은 부위로부터 기계적인 특성의 변화를 연속적으로 관찰하였다. 생체 내 미세 단층촬영 시스템은 생체 내 상태로 비파괴 촬영이 가능하므로 한 개체에 대해 추적 관찰이 가능하다. 동일 개체에 대해 관찰이 가능하므로 Fig. 5 와 같이 그 변화를 시각적으로 확인해서 뼈의 상태변화를 확인할 수 있었다. 골다공증이 진행될수록 척추가 다공성이며 성긴 구조를 보이고 이에 따라 쥐 척추뼈의 기계적 특성 (반발력 및 탄성계수)도 감소한다는 것을 확인할 수 있었다.

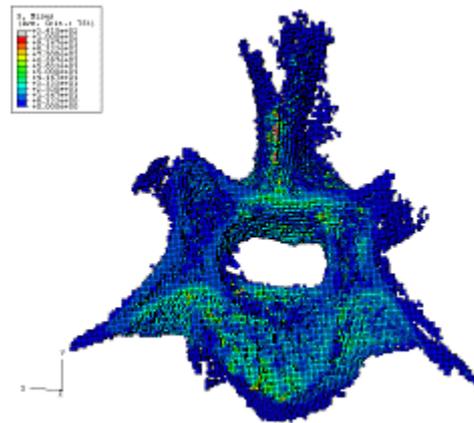


Fig. 3 Finite element model in the simulated compression test (top view)

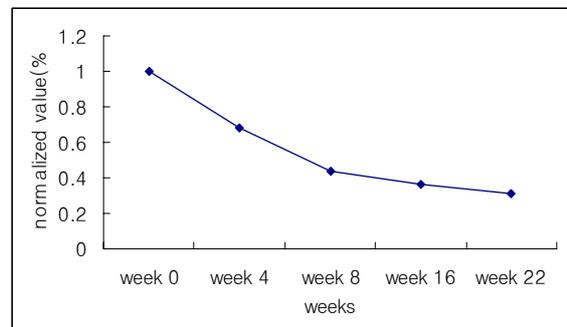


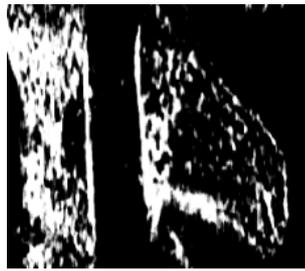
Fig. 4 Relative modulus at week 0, week 4, week 8, week 16 and week 22

후 기

본 연구는 과학기술부 한국과학재단 지정 연세대학교 의용계측 및 재활공학 연구센터의 지원에 의한 것임.

참고문헌

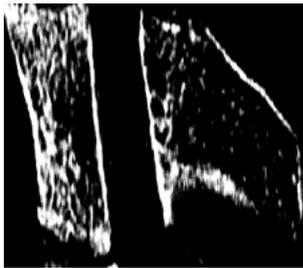
1. Laib A, Kumer JL, Majumdar S, Lane NE. "The temporal changes of trabecular architecture in ovariectomized rats assessed by MicroCT. " *Osteoporos Int* vol. 12, pp. 936-941, 2001
2. Jie Yang, DMD, MS, MMS, DDS, Son M.Pharm, MS, Deborah L. Crabbe, MD, "High-resolution micro-ct evaluation of mid- to long-term effects of estrogen deficiency on rat trabecular bone", *Academic Radiology*, Vol 10, pp. 1153-1158, 2003
3. J.H. Waarsing. J.S. Day, J.C. van der Linden, A.G.Ederveen, C. Spanjers, N. De Clerck, A. Sasow, J.A.N. Verhaar, and H. Weinansa, "Detecting and tracking local changes in the tibiae of individual rats:a novel method to analyse longitudinal in vivo micro-CT data", *Bone*, vol. 34, pp. 163-169, 2004
4. Z.Q.Peng, H.K.Vaananen, H.X.Zhang, and J.Tuukkanen, "Long-term effects of ovariectomy on the mechanical properties and chemical composition on rat bone", *Bone*, vol. 22, pp.207-212, 1997
5. N. J. Wachter, G. D. Krischak, M. Mentzel, M. R. Sarkar, T.Ebinger, L. Kinzl, L.Clazes, P.Augat, "Correlation of bone mineral density with strength and microstructural parameters of cortical bone in vitro", *Bone*, Vol 31(1), pp. 90-95, 2002
6. Rietbergen VB, Weinans H., Huike R, and odgaard A. ,"Computational strategies for iterative solutions of large FEM applications employing voxel data" *Int J Num Meth Eng.*, Vol 39, pp. 2743-2767, 1998
7. Laib A. Barou O, Vico L, Lafage-Proust MH, Alexandre C, Ruegsegger P. "3D micro-computed tomography of trabecular and cortical bone architecture with application to a rat model of immobilization osteoporosis.", *Med Biol Eng Comput.*, Vol. 38, pp. 326-32, 2000



(a) week 0



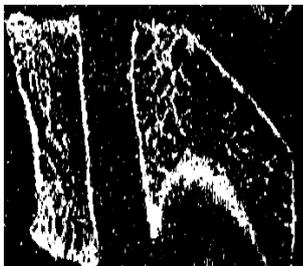
(b) week 4



(c) week 8



(d) week 16



(e) week 22

Fig. 5 Longitudinal cross-sections of the 4th lumbar at week 0, week 4, week 8, week 16 and week 22