

성견 하악 골체부 신장시 신장부위의 증식세포핵항원과 제 1형 교원질 발현에 관한 연구

임순모 · 안병근 · 박영주 · 박희건 · 박준우 · 이건주 · 이용찬 · 조병욱
한림대학교 의과대학 치과학교실 구강악안면외과

Abstract

EXPRESSION OF PROLIFERATING CELL NUCLEAR ANTIGEN AND TYPE I COLLAGEN IN THE ELONGATED BONE IN THE MANDIBLE OF ADULT MONGREL DOGS

Sun-Mo Lim, Byoung-Keun Ahn, Young-Ju Park, Hee-Geon Park, Jun-Woo Park, Gun-Joo Rhee, Yong-Chan Lee, Byoung-Ouck Cho
Department of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Medicine, Hallym University

The purpose of this experiment was to examine the histological changes and the pattern of expression of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) and type I collagen in the elongated bone affected by osteodistracted of the mandibular body in an adult canine model.

Seven adult male mongrel dogs weighing over 20kg were used for this experiment. The author excluded 3 animals because they died before the planned time of sacrifice. The custom-made linear extraoral device and 4 bicortical fixation screws 2.3mm in diameter, 50mm in total length, 15mm in screw length were used in each animal. The distal part of the distractor produced a 0.75mm gap between proximal and distal bony segments every 360° turn of the rotation rod of the device. The mandibular body of the right side from each animal was experimental side and the left side was left intact and served as control. At the experimental side, the mandibular body was osteotomized. After 5-day latency period, the segments were distracted with a rate of 1.1mm/day and a rhythm of two/day for ensuing 7 days. The animals were sacrificed at the 4th, 17th, and 32th day after the end of the distraction. The bony specimens were decalcified, embedded in paraffin, sectioned 5µm thick and stained with Masson trichrome and examined under the light microscope. The immunohistochemical examinations using anti-PCNA antibody and anti-type-I collagen antibody were performed to examine the pattern of the expression of PCNA and type I collagen, respectively, .

Results :

1. The mean increment of the distance between the proximal and distal screw-holding parts of the distractor was 6.8mm. The average elongation of the mandible in the experimental side was 5.3mm. The loss of elongation was 1.5mm in average.
2. New bone was already observed at the 4th. day after the end of distraction. But, bony union was not completed in the distraction gap at the 32th. day after the end of distraction by radiographic and microscopic examinations.
3. The expression rate of PCNA positive cells in the distraction gap had a tendency of decrease from 35.1-68.8% initially, to 49.1%, and finally to 17.6-27.2%. But at the final period, the tissue of the elongated gap still had the ability of cell proliferation. On the other hand, the expression of PCNA positive cells in the control side were negligible through the experimental period.
4. PCNA positive cells were observed primarily both at the central fibrous zone and at the region of just adjacent to CFZ which initiated new bone formation.
5. The expression pattern of the type I collagen was not zone-specific. They were observed diffusely throughout the elongation gap.
6. The predominant mechanism of new bone formation in the distraction gap was intramembranous. But, some of the regenerated bone was formed by endochondral ossification.

Key word : Osteodistracted, PCNA(proliferating cell nuclear antigen), Collagen

임 순 모

150-020, 서울시 영등포구 영등포동 94-200
한림대학교 의과대학 치과학교실

Sun-Mo Lim

Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Medicine, Hallym Univ.
94-200, Youngdungpo-dong, Youngdungpo-gu, Seoul, 150-020, Korea
Tel: 82-2-2639-5580 Fax: 82-2-2632-2846
E-mail: aerogun@lycos.co.kr

I. 서 론

골이식을 하지 않고도 사지골의 길이를 늘이는 수술법은 Ilizarov에 의해 1950년대 이후 구 소련에서 동물실험과 실제 임상 경험을 통하여 정립되었다^{1,3)}. 이러한 Ilizarov 수술법은 정형외과

영역에서는 대단히 다양하게 응용될 수 있어 골과 인접 연조직의 이식없이도 짧은 뼈를 30cm 이상 증가시킬 수 있을 뿐만 아니라, 짧은 뼈에서는 폭의 증가, 기형의 교정, 없어진 손가락이나 발가락의 재생 등에도 성공적으로 적용되었다⁹. 사지골신장에서 이 수술법의 성공을 좌우하는 중요한 요인들로는 수술시 골막 보존을 위한 최소한의 연조직 절개, 골내 혈류의 보존을 위해 피질골만의 절단, 골편의 견고한 고정, 수술 후 견인을 시작하기까지의 적절한 치유기간, 적절한 일일 견인양 및 일일 분할 횟수, 목표한 길이만큼 골이 늘어난 후 골화되기까지 견고한 고정의 유지, 그리고 전 기간에 걸쳐 해당 골의 정상 기능을 유지시킬 것 등이다⁹. Ilizarov는 이러한 요인들이 이상적으로 지켜질 때 신장된 부위에서는 섬유성 조직이 연골 형성 과정을 거치지 않고 바로 골로 전환된다고 하였다.

비록 Ilizarov는 피질골만 절단할 것을 권고하였지만 Delloye et al.⁵은 골절단이 피질골에만 행해지던, 혹은 해면골까지 완전하게 이루어지던 그 결과에 영향을 주지 않음을 보고한 바 있으며, Yasui et al.⁶도 해면골까지를 포함하는 완전한 골절단 후 견인 시작까지 10일간의 경과기간 동안 절단되었던 골수내 혈관들이 재생되고 성공적인 골신장이 이루어졌음을 보고하면서 불확실한 피질골절단보다는 완전한 골절단을 한 후 견인까지 적절한 경과기간을 두는 것이 더 효과적이라고 주장하였다.

Ilizarov가 개발한 새로운 골신장술을 악골에서도 적용하기 위해 개의 하악골을 대상으로한 실험이 Snyder등⁷에 의해 수행되어 그 적용 가능성이 밝혀진 바 있다. 그 후 Costantino et al.⁸에 의해 하악골의 연속성이 상실된 결손부의 재건에 골신장술을 이용한 실험보고가 있었다. 하지만 실제 임상에 적용되기는 Snyder et al.⁷의 실험이 보고된 후 19년이 지나서 McCarthy et al.⁹등에 의해서였다. 하악골이나 상악골은 연골내 골형성에 의해 생성되는 사지골과는 달리 주로 막내골화에 의해 골형성이 이루어지고¹⁰, 또한 곡면을 갖고 있으므로 형태적인 특성도 사지골과는 다르다. 따라서 사지골의 신장을 위해 개발된 골신장수술법을 이러한 악골에서 적용하기 위해서는 앞으로도 많은 연구가 필요하다. 이러한 연구에는 악골의 특성에 맞는 골신장 장치의 개발은 물론 악골 신장시 골형성과정에 대한 분자생물학적인 지식 축적과 더불어 그리고 Ilizarov가 정립한 성공 요인에 대한 악골에서의 검증 또는 악골에 있어서의 이상적인 골신장수술법의 개발 등이 포함되어야 할 것이다.

제 1형 교원질은 골을 형성하는 중요한 교원성 단백질로 골조직외에도 피부와 건에서도 발견되며 제 2형 교원질은 연골조직에서 특이하게 발견되는 단백질이다¹¹. 그리고 증식세포핵항원 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA)은 분자량이 35,000인 세포핵내의 산성 폴리펩타이드로서 정상적으로 증식하는 세포나 변환되어 증식하는 세포에서 발견되며 G1-phase 말기와 S-phase 초기에 핵소체내에 현저하게 축적되고 핵단백인 cyclin과 동일한 물질로 알려져 있다^{12,13}. 따라서 PCNA는 세포핵의 변환 및 세포분열과 밀접한 관계가 있는 단백질이다¹³.

이 실험의 목적은 성견 하악골에서 Ilizarov 수술법에 의해 신장되는 부위에서 일어나는 골형성 과정을 시기별, 부위별로 관찰

하고, 세포 증식의 대표적 표지자인 PCNA와 가장 풍부한 골기질 성분인 제 1형 교원질의 발현을 면역조직화학법으로 검사하여 골형성 과정의 양상을 파악하고자 하였다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

체중 20kg 이상의 수컷 잡종성견 7마리에 대해 우측 하악골을 실험측으로 하고 좌측 하악골은 어떤 처치도 하지 않고 그대로 두어 대조측으로 하였다. 모든 동물에게 수술전 1주간의 적응기간을 두고 이 기간중에 Drontal Plus-L (바이엘 코리아) 2정을 경구 투여하여 구충하였다. 수술전 24시간 동안 먹이공급을 중단한 다음 모든 동물들에 대해 동일한 수술을 하고 그 이후 시기별로 정해진 실험 처치를 똑같이 하였다.

2. 연구 방법

1) 수술 및 골신장 장치 조작

실험동물의 체중 1kg당 염산케타민(Ketalar, 유한양행) 10mg, 2% Xylazine (렘폰, 한국바이엘) 2.0mg, 그리고 황산아트로핀 (Atropine, 대한약품) 0.05mg을 근육내 주사하여 전신마취를 하였다. 수술부위에 대해 통상적인 방법으로 소독을 하고, 에피네프린 (1:100,000)이 첨가된 2% 리도케인 (Octocaine100, Novocol Pharmaceutical, Canada)으로 국소 마취를 하였다. 우측 하악골 하연에 평행한 피부절개를 하고 단계적으로 골막하부까지 박리를 하여 악골을 노출시켰다. 제3소구치와 제4소구치 사이 또는 제4소구치와 제1대구치 사이의 악골 부위에서 골절단선이 하악 교합면에 수직이 되게 치과용 절삭기구로 협측 및 설측 피질골에 골절단선을 표시한 다음 기존의 피부절개선을 피해서 협측 피부근막피관에 형성한 네 개의 2mm 피부절개선을 통하여 골절단선의 양쪽에 각각 2개씩의 피질골나사를 서로 평행하게 악골내로 삽입하였다. 그후 골신장장치를 골나사와 느슨하게 결합하고 절삭기구로 피질골을 완전히 절단하였다. 그다음 피질골절단부의 양쪽에서 골결자로 악골을 잡고 악골내의 신경과 혈관이 손상받지 않도록 조심하며 양쪽 골편들을 움직여서 완전히 분리된 후 골편들의 동요가 없도록 골나사와 골신장장치를 단단하게 결합하였다. 골신장량의 측정을 위하여 길이 2mm의 소형 골고정용 나사(microscrew)를 골절단선의 양쪽에 각각 한 개씩 골내에 삽입한 후 두 골나사 사이의 거리를 측정 후 피관을 봉합하였다. 좌측 하악골에 대해서는 어떤 수술도 하지 않고 그대로 두어 대조측으로 사용하였다. 수술 후 체중 1kg당 20mg의 앰피실린 (Penbrex, 영진약품)과 10mg의 젠타마이신 (Gentamycin, 동신 제약)을 삼일간 근육내 주사하였다.

수술시에 손상된 골막이 어느 정도 치유될 수 있도록 수술후 5일 동안은 장치의 조작을 하지 않은 채로 두었다. 수술 후 6일째 부터 조절나사를 하루 두 번씩 회전시켜 하루에 1.1mm 씩 원심 골편이 전방전위되게 하였다. 골신장을 7일 동안 한 다음, 장치

를 악골에 부착된 채로 두어 골편들이 신장된 위치에서 동요없이 유지될 수 있도록 하였다.

2) 희생 및 조직편 채취

계획된 희생 시기에 앞서 사망한 세 마리를 제외한 동물들에 대해 골신장 장치 조작 완료 시기후 4일(수술후 16일, n=2), 17일(수술후 29일, n=2), 32일(수술후 44일, n=3)에 각각 희생시켜 조직표본을 얻었다.

전신마취후 목부위의 피부절개 및 박리를 하여 노출시킨 경동맥에 삽입한 카테터(catheter)를 통해 어느 정도 혈액이 빠져나오게 한 다음 염화칼륨(KCl)용액을 카테터를 통해 심강내에 주입하여 희생시켰다. 희생 후 즉시 실험측 및 대조측의 골편을 채취하여 10% 중성 포르말린에 넣어 고정을 하였다.

3) 골신장 장치 및 골신장량 측정

하악골의 신장을 위해 사용된 장치와 골내에 삽입한 직경 2.3mm, 전체 길이 50mm, 나사부분 길이 15mm인 피질골나사(cortical screw)는 국내(성산메디칼)에서 주문 제작하였다. 골신장장치 및 골나사는 가스소독(ethylene oxide gas)한 후 사용하였으며, 장치에 부착되어 있는 조절나사를 360도 회전시키면 원심골편은 0.75mm 전방으로 전위되도록 하였다.

수술시에 골절단선의 양쪽에 각각 한 개씩 삽입한 두 개의 소형 골고정용 나사간의 거리를 피관 봉합전과 희생시에 각각 측정하여 그 증가량을 골의 실제 신장량으로 하고, 골절단선에 인접하여 골에 삽입된 두 개의 피질골나사를 각각 신장장치에 고정하는 골나사 고정용 부품들 간의 거리 증가를 신장장치가 활성화된 거리로 하였다.

4) 방사선 촬영

수술직후, 골신장장치 조작 종료후 1일, 장치조작 종료후 4일, 장치조작 종료후 15일, 희생 직전(장치조작 종료후 32일)에 각각 전신마취된 상태에서 하악골 측방방사선사진 촬영을 하여 방사선학적으로 골치유 경과를 관찰하였다.

5) 조직 표본 제작

가. 탈회표본 제작

채취한 검체를 10% 중성 포르말린에 3일간 일차 고정후 꺼내어 표본제작에 적합한 크기로 조직을 자르고 7일간 이차 고정을 하였다. 고정이 된 후 표본을 5% 질산(nitric acid) 용액과 8% 포름산(formic acid) 용액으로 탈회하였다. 통상적인 방법으로 파라인 포매한 다음 5 μ m 두께로 절편을 채취하고 Masson trichrome으로 염색하여 광학현미경하에서 전반적인 조직학적 양상 특히 교원질의 형성 및 배열 양상, 연골 소도의 출현 양상을 관찰하였다. 형성된 연골의 면적을 전체 신장부위의 면적으로 나눈 후 백분율로 표현하여 연골양으로 하였다.

나. 면역조직화학 염색

파라인 포매된 절편을 통상적인 peroxidase Avidin-Biotin

Complex 법 (Universal LSAB kit, DAKO, Carpenteria, USA)으로 염색하였다(Hsu at al, 1981). PCNA에 대한 일차 항체(PC10, DAKO, Carpenteria, USA)는 PCNA, PC10 clone에 대한 IgG 단클론성 생쥐 항체로서 이미 적정 비율로 희석되어 있는 제품을 사용하였다. 제 1형 교원질에 대한 일차 항체(Monosan, AM Uden, the Netherlands)는 인체 제 1형 교원질에 반응하는 토끼 항체로 1:80으로 희석하여 사용하였다. link 항체는 biotinylated immunoglobulin을 사용하였다. PCNA에 대한 양성 대조는 정상 편도를 사용하였으며, 제 1형 교원질에 대한 양성 대조는 골화성 근염으로 진단된 검체를 사용하였다. 음성대조는 PCNA와 제 1형 교원질 모두 일차 항체 대신 PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4) 완충액만을 반응시킨 것을 사용하였다. 발색제는 diaminobenzidine을 사용하였다. 면역조직화학 염색 결과는 각 항체에 대한 염색상을 실험 동물의 희생 시기별로, 또한 골신장부내의 부위별로 검색하였다. 양성 판정 기준은 염색상을 전혀 관찰할 수 없는 경우를 음성(-)으로 하였고 산재하여 약간의 염색상을 보이는 경우는 약양성(+), 양성 발현의 밀집도가 중등도이며 중등도의 염색상을 보이는 경우는 중등도 양성(++), 그리고 밀집된 양성 발현 및 매우 강한 염색상을 보이는 경우를 강양성(+++)으로 하였다. PCNA의 경우는 단위 면적당 총 구성 세포의 숫자당 양성 세포의 백분율로 표현하였다.

III. 실험 성적

1. 실험 경과

모든 동물들이 수술후 잘 견뎠으며 수술후 체중이 감소한 동물은 없었다(평균 체중 증가 2.8 ± 2.0 kg). 열마리 중 세 마리는 실험에서 제외되었는데 이들은 예정된 희생시기에 앞서 사망한 동물들이었다. 사망 원인은 모두 방사선 사진 촬영을 위한 마취와 관련한 사고였다. 수술후 희생 또는 사망전까지 창상파열이나 염증이 발생한 동물은 없었으나 한 마리에서 심한 혈종이 형성되었다. 열 마리중 세 마리에서 골신장장치가 탈락을 했었다. 이중 한 마리는 희생전 사망하여 실험에서 제외하였고 나머지 두 마리는 예정된 시기에 희생시켰다. 그외의 동물들에서는 장치의 심한 동요를 관찰할 수 없었다.

악골내에 삽입한 골고정용 소형 나사 사이에서 측정된 실질적인 골신장량 평균은 5.3mm이었으며 골신장장치내에서 측정된 장치활성화 거리의 평균치는 6.8mm이었다.

2. 방사선 소견

아무런 처치를 하지 않은 대조측은 정상 골의 방사선 소견을 보이고 있었다(Fig. 1, 2). 수술직후 촬영한 방사선 소견상 골절단 부위는 방사선투과상으로 관찰되었다. 이 투과상은 골편의 견인에 의해 그 간격이 넓어져 있음이 견인 완료 다음날 촬영한 사진에서 확인되었다. 골견인 종료후 4일째 절단부의 새로운 골형성은 방사선학적으로 아직 관찰되지 않았다. 골견인 종료후 15일

제 사진에서 골절단부에 인접한 부위에서 방사선불투과성 소견이 관찰되었다(Fig. 1). 골절단 간격의 대부분을 채우는 방사선불투과상은 골건인 종료후 32일째에 관찰되었다(Fig. 2). 그러나 이 시기에도 여전히 골신장부의 중심은 방사선투과상이 남아 있었다.

3. 광학현미경 소견

전 시기에 걸쳐 대조측의 경우 성숙 층판성 골주로 구성된 치밀한 피질골과 해면골을 관찰할 수 있었다(Fig. 3). 견인종료후 4일 표본에서 골신장부의 중심부의 조직은 청색으로 염색되는 교원질을 많이 함유한 섬유성 간엽조직이었고, 교원질은 골편의 견인 방향과 일치하는 방향성을 보여주고 있었다. 기존의 층판성 골에 비해 새로 형성된 미성숙 직골 골주는 유골의 양이 많아 진한 청색으로 염색되어 잘 구별되었고 이는 피질골의 골막, 골내막을 따라 형성된 신생골과 해면골에서 부착성으로 형성된 신생골 모두에서 같은 소견이었다. 특히 청색으로 염색되는 교원질을 많이 함유한 간엽조직에서 미성숙 직골 골주로 이행하는 부위를 뚜렷하게 관찰할 수 있었다(Fig. 4).

견인종료후 17일에서도 골신장부를 채우고 있는 교원질의 방향성을 확인할 수 있었고, 기존 성숙골과 구별되는 신생골의 유골 성분을 뚜렷이 확인할 수 있었다. 이러한 신생 골소주도 견인 방향과 동일한 방향으로 관찰되었고(Fig. 5), 일부의 신생골에서는 청색의 유골이 성숙되어 주변 기존의 성숙골과 유사해지는 부위가 특히 기존골과 근접한 골신장부 가장자리에서 관찰되었다. 연골내 골화에 의한 골로 진행되는 부위도 일부에서 뚜렷이 관찰할 수 있었다(Fig. 5).

견인종료후 32일이 되면 대부분의 골주는 성숙되어 기존의 성숙골과 유사한 염색상을 나타내었지만 일부 미성숙 골주들에서는 청색의 유골을 관찰할 수 있었다(Fig. 6). 피질골 뿐만 아니라 해면골에서의 기존 골 및 신생골의 통합도 관찰할 수 있었다.

4. 골신장부내 연골 형성 양상

골신장 장치가 탈락되었던 두 마리에서 얻은 표본의 골신장 부위에 대한 육안 및 조직학적 소견상 다른 동물과 비교하여 신장부 골형성 양상에는 큰 차이가 없었다. 다만 이들 표본에서는 조직학적 소견상 골신장부위내에서 연골이 비교적 많이 관찰되었

다.(견인 종료후 17일군, n=1, 30%; 견인종료후 32일군, n=1, 25%) 이 두 개의 표본을 제외한 나머지 표본들에서의 연골 형성량은 견인종료후 4일군이 각각 5%, 10%, 17일군 10%, 30%, 32일군 15%와 25%이었다(Table 1).

전 시기에 걸쳐 대조측은 모두 성숙 층판골로 구성되었고, 연골은 전혀 관찰되지 않았다.

견인종료후 4일 실험측 2에 모두에서 신생골이 형성되기 시작하는 부위, 즉 골신장 중심부에 인접한 부위에서 작은 연골 소도가 불규칙하게 산재해 있는 것이 관찰되었다. 견인종료후 17일 실험측 2에 모두에서 연골 소도가 관찰되었는데 골신장부 중심부에서 가장자리로 신생골이 형성되는 부위에서 비교적 커다란 크기로 관찰되었다(Fig. 5). 전반적인 양상은 제 4일군과 유사하였지만 그 양이 약간 증가되어 있었다. 연골 소도는 골막하 신생골형성 부위에서 관찰되지 않았고, 연골 형성 부위에서는 혈관의 증식이 동반되지 않았다(Fig. 5). 이러한 연골소도는 직접 골형성으로 이어지는 양상이었다(Fig. 5).

견인종료후 32일 실험측 3에 모두에서 연골 소도가 관찰되었는데 다발성으로 커다란 크기의 결절로 관찰되었으나 대부분의 골신장부는 이미 신생 골주로 대체되어 있어 신장부의 중심부 일부에서만 연골이 관찰되었다. 이러한 연골에서도 계속하여 연골내 골형성이 진행 중인 양상이었다.

5. 면역조직화학 염색 소견

1) PCNA 발현

전 시기에 걸쳐 대조측의 성숙 골주에서는 PCNA에 양성인 세포를 거의 관찰할 수 없었다. 견인 종료후 4일째 표본에서는 골신장부를 가득 채우고 있는 신장 중심부의 섬유성 간엽 조직 중 활발하게 증식하는 세포질이 풍부한 원시성 간엽세포의 핵에서 주로 PCNA가 발현되었는데, 진한 갈색의 과립으로 관찰되었다. 이는 신장 중심부에 인접한 부위의 간엽세포에서 이행되는 미성숙 골주를 피복하고 있는 풍부한 세포질을 갖는 조골세포의 핵에서도 일부 양성으로 관찰되었다. 그러나 연골 조직에서는 염색상이 관찰되지 않았다. 부위별로 골막하 부위에서의 PCNA 양성율이 골내막 부위보다 약간 증가되어 있는 양상이었다. 견인종료후 17일째의 PCNA 발현 양상은 4일 소견과 거의 비슷하여 주로 골신장 중심부의 원시성 간엽세포 및 신장중심부 인접 부위의 조골세포 핵에서 양성으로 관찰되었다(Fig. 7). 골신장부 가장자리 즉 미성숙 직골 골주들이 성숙된 층판골 골주로 이미 진행된 부위에서는 PCNA 발현은 관찰되지 않았다.

견인 종료후 32일이 되면 이미 대부분의 골신장부가 신생골로 대체되고 성숙형 층판골로 바뀌면서 기존의 층판골과 통합되기 때문에 대부분의 부위에서는 PCNA 발현을 관찰할 수 없었지만, 골신장 중심부에 아직도 신생골의 형성이 관찰되는 부위에서 일부 PCNA의 발현을 관찰할 수 있었다(Fig. 8). 이렇게 PCNA 발현이 남아 있는 결손 중심부의 발현 양상은 제 4일 및 17일과 유사하여 간엽세포 및 조골세포의 핵에서 발현되었고, 골내막보다는 골막하 부위에서 좀 더 많이 발현되었다.

Table 1. The amount of cartilage in the distraction gap

Postdistraction Days	4		17		32	
Amount of Cartilage (%)*	5	10	10	30	15	25
Number of Animals	1	1	1	1**	1	2***

* Total area of cartilage / Total area of elongated gap.

** Distraction device was removed at the time of sacrifice because of loosening of the device.

*** Distraction device was removed at the time of sacrifice because of loosening of the device in one of two animals.

2) 제 I형 교원질의 발현

대조측의 경우 제 I형 교원질은 성숙골에 존재하는 골세포 및 조골세포에서 양성(+)으로 관찰되었다(Fig. 9).

실험측의 경우 제 I형 교원질의 발현은 상당히 광범위하여 견인 종료후 4일 소견상 골신장부를 채우고 있는 골신장부 중심의 원시간엽 세포 및 이에서 형성된 교원질 섬유 자체에 강하게 양성되면서 여기서 형성된 신생 골주의 조골세포 및 골세포의 세포질에 전반적으로 강한 양성이었다(Fig. 10). 즉 골신장부의 중심, 신장부 중심에 인접한 부위(NBF) 및 기존의 골절단선에 인접한 부위(NBO) 등 모든 부위에서 염색성이 관찰되었는데, 특히 증식성 간엽 세포에서 미성숙 직골 골주로 이행하는 부위의 염색성이 강하였다. 연골 부위에서는 음성이었고 연골내 골화가 진행되는 부위의 조골세포에서는 양성으로 관찰되어 음성인 연골과 뚜렷이 구별되었다. 또한 제 I형 교원질의 발현은 피질골과 연한 골막, 혹은 골내막 부위, 혹은 해면골을 중심으로 형성된 신생골 등 부위에 따른 차이는 관찰할 수 없었다. 견인 종료후 17일의 경우 전반적인 제 I형 교원질의 염색 양상은 제 4일 소견과 비슷하여 골신장부의 중심, 신장부 중심에 인접한 부위, 및 기존의 골절단선에 인접한 부위 등을 구성하는 간엽성 원시 세포, 조골세포 및 골세포에서 강한 양성 반응을 보였고 연골 소도에는 음성이었다(Fig. 11). 견인 종료후 32일로 진행되면 대부분의 결손부에서 새로 형성된 골주들이 미성숙 직골에서 성숙 층판골로 진행함에 따라 골주의 골세포에서 계속 양성의 염색상을 관

찰할 수 있었지만 제 4일의 미성숙 골주에 비해서는 양성 세포의 밀도가 상대적으로 감소하였다. 또한 제 32일이 되면 대부분의 신생 골주가 기존의 성숙골과 통합되어 염색상의 뚜렷한 차이를 발견할 수 없었다(Fig. 12).

IV. 총괄 및 고안

본 실험의 계획시 골신장량 예상치는 7.7mm (하루 1.1mm 씩 7일간)이었는데 비해 악골내에 삽입한 골고정용 소형 나사 사이에서 측정된 실질적인 골 신장량 평균은 5.3mm 이었으며 골신장 장치내에서 측정된 장치활성화 거리는 평균 6.8mm이었다. 따라서 장치 조작시 계획된 양보다 평균 0.9mm 적게 장치의 원심부가 이동된 것이다. 또한 골을 신장시키기 위해 장치의 원심부가 이동한 거리(6.8mm)에 비해 실제 골 신장량(5.3mm)은 1.5mm가 적었다. 0.9mm의 오차는 골신장 장치 활성화 조작이 수작업을 통해 이루어짐에 따라 생긴 불가피한 현상이라고 사료된다. 그리고 1.5mm의 오차는 장치 원심부가 실제로 이동해간 양만큼 원심 골편이 함께 이동하지 못했기 때문에 생긴 것으로 그 원인에 대해 단언할 수는 없지만 장치를 활성화시킬 때 나오는 골신장력이 골에 삽입된 피질골 나사를 통해 골편에 전달되는 과정에서 나타나는 손실이라고 추정되며 이는 신장 장치의 개발이나 실제 임상 적용시에 고려되어야 할 것으로 사료된다. 비록 임상적으로 이 술식과 관련하여 회귀현상은 없거나 무시할 정도인

Table 2. The expression rate of PCNA in the distraction gap*.

Postdistraction Days	4		17		32	
Numbers of Animal	2		2		3	
Region	Subperiosteum	Endosteum	Subperiosteum	Endosteum	Subperiosteum	Endosteum
Expression **	68.8	51.1	49.1	-	27.2	17.6
Rate of PCNA(%)	43.0	35.1	-	-	21.5	-

* PCNA positive cells were observed only at central fibrous zone and zones adjacent to central fibrous zone.

** Number of PCNA positive cells / Total number of cells

- No data available

Table 3. The expression of type 1 collagen in control and distraction gap

DED	Zone					
	Control	OB	NBO	NBF	CFZ	
4	+/+	+/+	+++/>+++	+++/>+++	+++/>+++	
17	+/+	+/+	++/>+++	++/>+++	++/>+++	
32	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	

The expression rate of the left side of the slash represents that of the region of endosteal bone formation. The expression of the right side represents that of the region of sub-periosteal bone formation.

DED : Day of the End of Distraction

OB : Original Bone adjacent to the osteotomy line

NBO : Newly formed Bone zone adjacent to the Osteotomy line

NBF : Newly formed Bone zone adjacent to the central Fibrous zone

CFZ : Central Fibrous Zone

것으로 보고된 바 있지만¹⁴⁾, 본 실험에서 나타난 -1.5mm의 오차는 원심으로 이동해간 골편의 회귀현상 때문일 수도 있다. 혹은 상기한 두 요인이 복합되어 나타난 결과일 수도 있을 것이다. Grayson et al.¹⁴⁾의 임상례는 모두 성장기 아동에 대한 것이므로 악골의 성장에 의해 회귀 현상이 상쇄되었을 가능성도 있다. Block et al.¹⁵⁾은 신장시 나타나는 오차의 원인에 대해 명확하게 설명하지는 않았으나 신장 계획량 10mm에 비해 실제 신장량 8mm를 보고한 바 있다.

그러므로 임상적으로 악안면부위에서 사용될 장치는 계획한 양만큼 정확하게 신장시킬 수 있도록 장치의 정교함과 조작의 용이성을 갖추어야 할 것으로 사료된다. 또한 일단 신장된 골편들 사이에서 완전한 골화가 이루어질 때까지 골편들이 동요없이 고정된 채로 유지될 수 있을 정도의 견고성이 중요할 것으로 사료된다. 악안면 부위의 골들은 사지골에 비해 훨씬 얇기 때문에 신장 장치의 골고정용 나사를 통해 골에 힘이 가해지면 나사들이 느슨해지게 되어 계획한 양만큼 골편을 이동시키지 못하거나, 또는 골편들 간의 견고한 고정이 상실되어 회귀현상이 나타나거나, 심한 경우 신장부위에서 골유합이 일어나지 않을 가능성도 있을 것이다. Ilizarov는 최대한의 골편 고정기 보장될 경우 연골형성 없이 바로 골형성이 이루어지지만 고정의 견고성이 확보되지 못하면 신장부내에서 섬유성 조직과 연골만 형성되어 골형성이 되지 않는다고 하였다²⁰⁾.

Block et al.¹⁵⁾은 개의 구개골에 식립한 치과용 임플란트를 고정원으로 하여 상악골을 신장시킨 실험에서 계획한 골 신장량은 10mm이었으나 10일간의 견인 후 실제 골 신장량은 평균 8.7mm이었고 신장장치가 부착된 상태로 유지된 10주째까지 이 신장량은 변화가 없었으나 26주째 측정된 신장량은 8.0mm이었다고 하였다. 이 실험 결과는 골신장술에서는 회귀 현상이 거의 나타나지 않는다는 것을 시사해 준다기 보다는 골신장 장치의 견고성의 중요성을 보여주는 것이라고 사료된다. 즉 골고정원으로 사용된 치과용 임플란트는 골내에 단단히 유착되어 견고성을 확보해 주었을 것이고 그러한 결과로 회귀현상이 무시할 수 있을 정도(0.7mm)였을 것이다. 또한 Block et al.이 주장한 것처럼 골편과 연조직이 함께 점진적으로 신장되어 연조직에 의한 회귀현상의 발현이 감소한 것도 중요한 이유가 될 수 있을 것이다. 반면에 치아를 고정원으로 하여 상악골을 신장시킨 실험에서는 10mm 신장 계획량에 비해 10일간 신장후 측정된 골신장량은 4mm에 불과했고 6주후에는 3mm이었는데¹⁶⁾, 이 결과는 골신장 장치와 골편의 견고한 고정이 얼마나 중요한지를 보여주는 간접적인 증거라고 사료된다.

그리고 실제 임상에서 예정된 골신장량을 가능한 확보하기 위해 약간의 과잉 신장이 필요할 수도 있을 것이다. 특히 하악골의 열성장을 초래하는 증후군을 가진 성장기 아동의 경우 과잉 신장은 두 가지 이유 때문에 필요한 것으로 주장된다¹⁴⁾. 첫째는 증후군과 관련되어 있는 열성장의 경향이 골신장 후 다시 나타날 것이라는 점을 고려하여야 한다는 것이고, 둘째는 성장기 아동에서 유치열기에서 혼합 치열기를 거쳐 영구치열기에 도달하기까지 상악치열치조궁(maxillary dentoalveolus)의 수직 성장으로

인하여 하악골이 시계 방향으로 회전하게 되는 것을 보상할 수 있어야 한다는 것이다.

가골을 형성하는 골질의 치유 과정은 제 2형 교원질을 합성하는 섬유성 연골기를 거치는 반면에, 골편의 견인에 의한 골형성에서는 제 2형 교원질의 형성없이 제 1형 교원질이 주로 형성되는 막내골형성이 주된 과정이지만¹⁷⁻¹⁹⁾ 연골내 골형성도 어느 정도는 기여하는 것으로 알려져 있다¹¹⁾. 본 실험에서도 조직학적 소견 및 제 1형 교원질에 대한 면역화학조직학적 검사 소견상 주된 골형성 기전은 막내골화과정이었으나 연골내 골화도 골형성에 기여하고 있었다.

신장 장치가 탈락되었던 세 마리중 한 마리는 계획된 희생시기에 앞서 사망하여 표본을 채취하지 않았고 나머지 두 마리에서는 희생 직전까지 장치가 부착되어 있었으나 희생 당시 고정용 나사들이 느슨해진 것을 발견하고 장치를 제거하였다. 그러나 이 두 마리에서 채취한 조직 표본의 골신장 부위에 대한 육안 및 조직학적 소견은 다른 표본들에 비해 골형성의 차이점은 없었다. 다만 조직학적 소견상 골신장부위내에서 연골이 비교적 많이 관찰되었다(술후 29일군, n=1, 30%; 44일군, n=1, 25%). 이 두 개의 표본을 제외한 나머지 표본들에서의 연골 형성량은 술후 16일군이 5~10%, 29일군 10%, 44일군 15~25%이었다. 즉 시간이 경과함에 따라 연골 형성량은 점점 증가하는 경향을 보이고 있었는데 이러한 현상은 이상하게 여겨질 수도 있겠다. 왜냐하면 시간이 경과함에 따라 골신장부위의 골조직은 더 많이 형성될 뿐만 아니라 그 골조직의 무기질화도 더 많이 진행되어 강도가 골신장 초기에 비해 훨씬 커져 골편의 동요도는 오히려 줄어들어야 하고 따라서 연골 형성량도 줄어들어야 하는 것이 당연할 것이기 때문이다. 그러나 골신장이 완료된 후 32일이 경과한 시기에 방사선학적으로나 조직학적으로 골신장부의 중심부는 골로 완전히 채워지지 않았던 것으로 미루어 이 시기에 아직 골화하지 못한 신장 중심부의 주변은 골편의 동요에 의해 뒤에서 언급하게 될 혈관화의 장애를 받을 수 있는 부위라고 사료된다. 따라서 초기에 비해 골고정용 나사들이 점점 더 느슨해짐에 따라 증가한 골편의 동요에 의해 연골 형성이 오히려 많아진 것으로 추정되지만 이 부분에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다.

골조직의 발육이나 재생의 과정에서 조직의 분화는 혈류공급과 조직내 산소 분압에 의해 결정된다고 한다²⁰⁾. 혈관화가 잘 되어 있지 않은 부위에서는 조직내 산소 분압이 낮아지게 되고 이러한 상황에서 골형성 전구 세포들은 골형성 세포보다는 연골형성 세포로 분화하게 된다²¹⁾. 그리고 골질의 치유과정중 골화는 가골의 점진적인 혈관화와 밀접한 관계가 있다²²⁾. 다시 말해서 골 또는 연골의 형성 여부는 재생되어야 할 조직의 혈관화 정도 및 조직내 산소 분압과 밀접한 관계가 있다는 것이다. 하지만 혈관화가 잘 되어 있다고 해서 조직내 혹은 세포내 산소 분압도 항상 함께 증가하지는 않는 것 같다. 왜냐하면 골절부위에서 생성된 초기 가골내의 혈관화와 혈류량은 크게 증가해 있지만²³⁾ 골절 부위의 혈중이나 신생 연골과 골의 산소 분압은 낮은 것으로 알려져 있기 때문이다^{24,25)}. 골절시 나타나는 이러한 현상에 대해서

는 비록 가골내에서 혈관의 증식이 왕성하기는 하지만 세포 증식은 더 왕성하기 때문에 골 또는 연골 세포내의 산소 분압은 낮아지게 되는 것으로 설명되고 있다²⁶⁾. 본 실험에서 연골이 형성되어 있는 부위에서는 혈관의 증식 소견이 관찰되지 않았는데 이는 골편들의 동요가 혈관 증식에 장애 요소로서 작용한 것으로 사료된다. 따라서 혈관이 형성되지 못함으로 인하여 그 주변 조직은 산소 공급의 부족이 초래되어 연골 형성이 개재되는 골 형성 과정을 거치게 되었던 것으로 추정된다.

본 실험에서 견인 종료 후 32일째 표본에서 연골은 골신장 중심부에 인접한 곳에서 주로 발견되었다. 그러나 술 후 16일째와 29일째 군 모두 44일 군 보다 연골 형성량이 적었다는 것은 골편의 동요도가 작았다는 것으로 설명이 가능하겠지만 44일군과 같은 위치 즉 골신장 중심부에 인접한 곳에서 연골이 형성되어 있었다는 것은 본 실험만으로는 설명하기 어려운 현상인 것 같다. 즉 강도가 낮은 초기에 골편의 동요에 의해 혈관화가 방해받게 되는 취약한 부위가 신장 중심부 주변인지 골절단면 주변인지 혹은 다른 부위인지 확인이 필요하다. 혹은 초기 단계에 생성되는 연골은 골편의 동요외에도 아직은 알 수 없는 다른 요소가 관계하는 것일 수도 있겠다. 골신장부의 중심은 신장부의 다른 부위와는 구분되는 부위로서 골 견인이 진행중인 상태에서 2~4mm 정도의 일정한 폭을 가지며 혈관화가 미약한 부위로서 이 신장 중심부에 인접한 부위에서 혈관화와 함께 골형성이 시작되며 생성된 혈관은 신장 중심부를 가로질러 반대편으로 연결되지 않는다²⁶⁾. 따라서 신생골형성은 혈관화가 미약한 신장 중심부가 아니라 그에 인접한 부위에서 충분한 혈관화와 함께 골형성이 시작되어 골절단면쪽으로 향해 진행하게 되며 연골 형성없이 바로 골형성이 되는 막내골화과정을 거치게 된다²⁶⁾. 본 실험에서도 이 골신장 중심부는 혈관화의 정도가 미미하였음이 관찰되었다. 따라서 이 부위는 부족한 혈관화에 의해 조직의 산소 분압이 원래 낮은 상태에 있으며 만약 골편의 동요에 의해 그 주변의 골형성이 시작되는 부위의 혈관화까지 방해받으면 그 부위에서도 산소 분압이 낮아지면 골 대신에 연골이 형성될 가능성이 높아질 것으로 추정된다.

Yasui et al.¹¹⁾은 골신장부의 골형성 과정은 막내골화 과정과 형성된 연골이 혈관의 침범을 받은 후 제거된 연골 표면 위에 골이 침착되는 연골내 골화 과정외에 제 3의 기전 (transchondroid bone formation) 즉 형성된 연골에 혈관의 침범 없이 바로 골로 변해가는 과정이 존재한다고 하였으나, 본 실험에서 그러한 제 3의 기전에 의한 골형성 양상은 관찰할 수 없었다. 본 실험에서 대부분의 골신장부는 분명하게 왕성한 혈관화를 동반하는 막내골화 과정에 의한 골형성이 일어나고 있었다. 따라서 골절단 후 골편 견인에 의한 골신장시 일어나는 조직학적인 변화는 막내골화 과정이 주로 이루어지고, 혈관 형성이 골편의 동요로 인하여 방해를 받은 일부 부위에서 연골내 골화 과정이 나타나게 되는 것으로 추정된다.

본 실험 결과를 통하여 혈관 형성의 주된 장애 요소는 골편들 간의 동요이며 이러한 동요도가 클수록 연골도 많이 형성된다고 추론하여 볼 수 있겠다. 그리고 이러한 연골내 골화 과정이 개재

되는 정도가 클수록 골화는 지연될 수 있는 가능성도 높아질 것이다. Aronson et al.²⁶⁾은 골견인 속도를 높이면 국소적인 혈류가 제한받게 된다고 하였다²⁶⁾. 실제로 생쥐의 경골에 대한 실험에서 일일 견인 속도를 2.0mm로 하였던 동물의 반수 이상에서 골유합의 지연 혹은 골유합의 실패가 나타났으며 골신장부내에는 주로 섬유성 연골 조직으로 구성되었다고 하였다²⁷⁾. 따라서 골신장부에서 나타나는 연골내 골화과정은 필연적인 골형성 과정이라기 보다는 가능한 억제되어야 하는 골형성 과정이라고 사료된다. 그러므로 이 술식을 실제 임상에 적용할 때에는 견인 도중은 물론이고 계획된 양만큼의 골견인이 종료된 후에도 완전한 골화가 이루어질 때까지의 기간동안 확실하고도 견고한 골편 고정기 유지될 수 있도록 충분한 주의를 해야 할 것으로 사료된다.

본 실험에서 방사선학적으로 골절단면에서의 골형성은 견인 종료 후 15일째(술 후 27일)에 관찰할 수 있었으나 조직학적으로는 견인 종료 후 4일째(술 후 16일) 표본에서 유골로 이루어진 미성숙 직골이 관찰되어 골형성이 이미 시작되었음을 알 수 있었다. 신생유골의 형성은 이보다 앞선 시기에 시작되었을 수도 있지만 본 실험 설계상의 제한때문에 골편이 견인되고 있는 기간 중에 신생골형성이 시작되었는지 혹은 견인 종료 직후부터 시작되었는지는 알 수 없다. 양의 요골에서 골절단 후 7일째 시작하여 최대 14일 간 견인을 한 실험에서 골신장부내의 무기질 성분은 14일간 견인을 한 후(술 후 3주)에도 검출되지 않았다고 하였다¹⁸⁾. 그러나 골견인을 시작한 지 3일째(술 후 10일) 신장부 중심에서 얻은 표본에서 풍부한 교원질이 검출되었으며 이는 전체 단백질중 29%정도였다고 하였다. 이 교원질은 14일간 견인한 다음에는(술 후 3주) 59%까지 증가하였고 주된 성분은 제 1형 교원질이었으며 제 2형 교원질은 검출되지 않았다고 한다. 따라서 골신장부에서의 신생골 형성은 아주 빠른 시기에(술 후 10일경) 시작되었음을 보여준다고 하였다¹⁸⁾. 본 실험에서는 술 후 16일에 제 1형 교원질은 신장부 전체에 걸쳐 강한 양성으로 발현되었고, 술 후 29일에는 다소 줄어들기는 하였으나 여전히 중등도에서 강양성으로 발현되었다. 따라서 제 1형 교원질의 생성은 초기에 시작되고 비교적 장기간에 걸쳐 이루어진다고 추정할 수 있겠다. 양의 요골에 대한 또 다른 실험에서는 견인을 시작한지 14일째(술 후 3주) 무기질 성분이 골신장부 전체 중량의 약 2% 정도가 검출되었다고 한다²⁸⁾. 한편 Kallio 등¹⁸⁾은 자신들의 미발표 연구에서 견인을 시작한지 7일 후에는(술 후 14일) 골신장부의 무기질화가 시작되고 있음을 전자현미경적으로 관찰할 수 있었다고 하였다. 본 실험에 사용한 동물과 인용한 연구들의 실험에 사용한 동물, 대상 부위, 그리고 장치조작 시기 등이 다르므로 골형성 시기에 대한 직접적인 비교나 일반화를 할 수는 없겠지만 골신장부의 무기질화는 견인 도중에도 시작되며 대략 술 후 2주경에는 이미 시작되고 골기질의 형성은 그보다 일찍, 즉 술 후 10일 경에는 시작된다고 일단은 추정해 볼 수 있겠다. 그러나 이 부분에 대해서는 추가적인 연구를 통하여 밝혀야 할 것으로 사료된다.

Aronson et al.²⁶⁾은 생쥐의 경골을 절단한 후 다음날 아침부터 최대 20일까지 골견인을 한 군과 골절단 후 견인을 하지 않은 군간의 PCNA 양성세포 발현 양상을 비교하여 관찰하였다. 그들은 술

후 2일째에는 두 군간 PCNA 발현 양상의 차이가 없었으나 술후 10일과 20일에는 차이가 나타나서 견인을 하였던 군은 PCNA 양성 세포들이 주로 신생골이 형성되기 시작하는 부위 즉 골신장 중심부의 양쪽에 인접한 부위에서 주로 발현된 것에 비해 골절 단만 하였던 군은 골절 치유가 일어나는 부위 전체에 산만하게 흩어져 발현되었다고 하였다. 그리고 이 시기에는 골절군에 비해 견인군에서 PCNA 양성 세포의 수가 많았다고 하였다. 하지만 특이하게도 두 군 모두에서 2일과 10일 사이에는 골절선에 인접한 골수 조직내에서 PCNA 양성 세포 농도가 감소하였으며 이는 골수의 증식 능력이 이 시기에 급격히 감소한 것을 반영하는 것이므로 골신장부에서 나타나는 세포수의 증가 현상이 어디에서 기원하는지 의문을 남기게 되었다고 하였다. 이러한 골절군과 견인군간의 PCNA 발현 양상의 차이 및 본 실험에서도 확인되었던 골신장부 내에 형성된 교원질이나 골소주들이 모두 견인 방향과 일치하는 방향성을 갖고 있었던 점은 골편 견인시에 골신장부의 조직에 가해진 힘이 골형성 과정에 영향을 미치고 있음을 반영하는 것이라고 할 수 있다. 이러한 기계적 힘이 골형성 과정을 촉진하는지 어떤지 그리고 어떤 기전으로 골형성 과정에 영향을 미치는지에 대해서는 아직 확실하지 않다.

본 실험에서 PCNA 양성세포는 골신장 중심부와 그에 인접한 신생골 형성이 시작되는 부위에서 주로 관찰되었는데 이는 이 세포들이 주로 신생골 형성 시작 부위에서 관찰되었다는 Aronson등²⁹⁾의 결과와는 약간의 차이가 있다. 이러한 차이는 실험에 사용한 동물 종의 차이, 실험 방법 상의 차이 (예를 들어 골절단 후 견인 시작까지의 경과 기간), 또는 고정 견고성의 차이 등에 의한 것이 아닌가 추정된다.

그리고 대조측의 성숙골에서는 PCNA 양성세포가 거의 관찰되지 않은 것에 비해 골견인 종료후 32일이 지난 골신장부내에서 20% 이상의 양성 발현을 나타낸 것은 이 시기에도 세포 증식 능력이 아직 남아 있다는 것을 반영하는 것이다. Aronson등²⁹⁾도 견인에 의하여 촉진된 세포 증식능력이 지속된다고 하였다.

향후 골신장부의 골형성 기전을 명확하게 규명하기 위한 추가적인 연구가 필요하며 특히 골신장 중심부 및 그에 인접한 부위에서 일어나는 현상에 대한 규명이 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

체중 20kg 이상의 잡종 성견 7 마리에 대해 하악골을 절단하고 견인 시작하기 전까지 5일간의 경과 기간을 준 후 하루 2 번에 걸쳐 1.1mm씩 7일간 견인함으로써 골신장술을 시행하고 Masson trichrome 염색 및 제 1형 교원질과 PCNA에 대한 면역조직화학염색을 하여 시기에 따른 골신장부의 부위별 조직학적 골형성 과정을 관찰한 바 다음의 결론을 얻었다.

1. 골신장을 위하여 골신장 장치의 원심부가 이동한 거리는 6.8mm이었으나 실질적인 골신장량은 평균 5.3mm이었다.
2. 견인 종료후 4일째에 이미 신생골이 형성되고 있었지만 견인 종료후 32일째에도 골신장부는 방사선학적으로나 조직

학적으로 골유합이 완전히 이루어지지 않았다.

3. PCNA양성 세포 발현율은 견인 종료후 4일의 35.1~68.8%에서 견인 종료후 17일의 49.1%를 거쳐 32일째에 17.6~27.2%로 점차 감소해 가는 경향을 보이기는 하였으나 마지막 시기에도 아직 세포증식능력이 남아 있었다. 반면에 대조측에서 PCNA양성 세포 발현은 거의 없었다.
4. PCNA 양성세포는 주로 골신장 중심부와 그에 인접한 신생골 형성 부위에서 현저하였다.
5. 제 1형 교원질은 골신장부 내에 광범위하게 발현하였다.
6. 골신장부의 신생골은 주로 막내 골화에 의해 형성되었으나 일부 연골내 골화 과정에 의해 형성되는 부분도 있었다.

참고문헌

1. Ilizarov, G.A.: The principles of the Ilizarov method. Bull Hosp Joint Dis Orthop Instit 48(1): 1-9.,1988.
2. Ilizarov, G.A.: The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft-tissue preservation. Clin.Orthop.(238): 249-281.,1989.
3. Ilizarov, G.A.: The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. Clin.Orthop.(239): 263-285.,1989.
4. Ilizarov, G.A.: Clinical application of the tension-stress effect for limb lengthening. Clin.Orthop.(250): 8-26.,1990.
5. Delloye, C., Delefortrie, G., Coutelier, L., & Vincent, A.: Bone regenerate formation in cortical bone during distraction lengthening. An experimental study. Clin.Orthop.(250): 34-42.,1990.
6. Yasui, N., Kojimoto, H., Sasaki, K., Kitada, A., Shimizu, H., & Shimomura, Y.: Factors affecting callus distraction in limb lengthening. Clin.Orthop.(293): 55-60.,1993.
7. Snyder, C.C., Levine, G.A., Swanson, H.M., & Browne, E.Z.J.: Mandibular lengthening by gradual distraction. Preliminary report. Plast.Reconstr.Surg 51(5): 506-508.,1973.
8. Costantino, P.D., Shybut, G., Friedman, C.D., Pelzer, H.J., Masini, M., Shindo, M.L., & Sisson, G.A.S.: Segmental mandibular regeneration by distraction osteogenesis. An experimental study. Arch.Otolaryngol.Head.Neck Surg. 116(5): 535-545.,1990.
9. McCarthy, J.G., Schreiber, J., Karp, N.S., Thorne, C.H., & Grayson, B.H.: Lengthening the human mandible by gradual distraction. Plast.Reconstr.Surg. 89(1): 1-8.,1992.
10. Proffit, W.R.: Etiologic factors in the development of dentofacial deformity. In Proffit W. R. & White R. P. J. (Eds.): Surgical-Orthodontic Treatment. St. Louis, Mosby-Year Book,Inc., 1991, pp. 24-70.
11. Yasui, N., Sato, M., Ochi, T., Kimura, T., Kawahata, H., Kitamura, Y., & Nomura, S.: Three modes of ossification during distraction osteogenesis in the rat. J.Bone Joint Surg.Br. 79(5): 824-830.,1997.
12. Kurki, P., Ogata, K., & Tan, E.M.: Monoclonal antibodies to proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin as probes for proliferating cells by immunofluorescence microscopy and flow cytometry. J Immunol.Methods 109(1): 49-59.,1988.
13. Mathews, M.B., Bernstein, R.M., Franza, B.R.J., & Garrels, J.I.: Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin. Nature 309(5966): 374-376.,1984.
14. Grayson, B.H., McCormick, S., Santiago, P.E., & McCarthy, J.G.: Vector of device placement and trajectory of mandibular distraction. J.Craniofac.Surg. 8(6): 473-480.,1997.
15. Block, M.S., Akin, R., Chang, A., Gottsegen, G.B., & Gardiner, D.: Skeletal and dental movements after anterior maxillary advancement using implant-supported distraction osteogenesis in dogs. J.Oral Maxillofac.Surg.55(12): 1433-1439.,1997.
16. Block, M.S., Cervini, D., Chang, A., & Gottsegen, G.B.: Anterior

- maxillary advancement using tooth-supported distraction osteogenesis. *J.Oral Maxillofac.Surg.* 53(5): 561-565.,1995.
17. Ashhurst, D.E.: Collagens synthesized by healing fractures. *Clin.Orthop.*(255): 273-283.,1990.
 18. Kallio, T.J., Vauhkonen, M.V., Peltonen, J.I., & Karaharju, E.O.: Early bone matrix formation during distraction. A biochemical study in sheep. *Acta Orthop.Scand.* 65(4): 467-471.,1994.
 19. Sandberg, M., Aro, H., Multimaki, P., Aho, H., & Vuorio, E.: In situ localization of collagen production by chondrocytes and osteoblasts in fracture callus. *J Bone Joint Surg [Am.]* 71(1): 69-77.,1989.
 20. Carter, D.R., Blenman, P.R., & Beaupre, G.S.: Correlations between mechanical stress history and tissue differentiation in initial fracture healing. *J Orthop.Res.* 6(5): 736-748.,1988.
 21. Lane, J.M., Suda, M., von der, M., & Timpl, R.: Immunofluorescent localization of structural collagen types in endochondral fracture repair. *J Orthop.Res.* 4(3): 318-329.,1986.
 22. Chidgey, L., Chakkalakal, D., Blotcky, A., & Connolly, J.F.: Vascular reorganization and return of rigidity in fracture healing. *J Orthop.Res.* 4(2): 173-179.,1986.
 23. Hughes, S.P., McCarthy, I.D., & Hooper, G.: The vascular system in bone. Its importance and relevance to clinical practice. *Clin.Orthop.*(210): 31-36.,1986.
 24. Brighton, C.T.: Principles of fracture healing. In Murray J. A. (Ed.): *Instructional Course Lectures.* St.Louis, C.V.Mosby Co., 1984, pp. 60-82.
 25. Heppenstall, R.B., Grislis, G., & Hunt, T.K.: Tissue gas tensions and oxygen consumption in healing bone defects. *Clin.Orthop.*(106): 357-365.,1975.
 26. Aronson, J., Good, B., Stewart, C., Harrison, B., & Harp, J.: Preliminary studies of mineralization during distraction osteogenesis. *Clin.Orthop.* (250): 43-49.,1990.
 27. Aronson, J., Shen, X.C., Skinner, R.A., Hogue, W.R., Badger, T.M., & Lumpkin, C.K.J.: Rat model of distraction osteogenesis. *J.Orthop.Res.*15(2): 221-226.,1997.
 28. Vauhkonen, M., Peltonen, J., Karaharju, E., Aalto, K., & Alitalo, I.: Collagen synthesis and mineralization in the early phase of distraction bone healing. *Bone Miner.* 10(3): 171-181.,1990.
 29. Aronson, J., Shen, X.C., Gao, G.G., Miller, F., Quattlebaum, T., Skinner, R.A., Badger, T.M., & Lumpkin, C.K.J.: Sustained proliferation accompanies distraction osteogenesis in the rat. *J.Orthop.Res.* 15(4): 563-569.,1997.

Legends for Figures

- Fig. 1. Fifteen days after the end of distraction. The radiolucent distraction gap can be observed. Radiopacity is slightly increased at the regions adjacent to the osteotomy line.
- Fig. 2. Thirty-two days after the end of distraction. Most of the distraction gap is filled with radiopaque image, but central radiolucent line is still observed.
- Fig. 3. Compact cortical bone of control side (Masson trichrome, X100).
- Fig. 4. Four days after the end of distraction. Central fibrous zone and adjacent zone. Note proliferation of longitudinal fibroblastic cells with blue-stained collagen fibers(▲).(Masson trichrome, X100)
- Fig. 5. Seventeen days after the end of distraction. Note collagen fibrils surrounding cartilage island (▲) and bony trabeculae(O, osteoid).(Masson trichrome, X100)
- Fig. 6. Thirty-two days after the end of distraction. Interface between host bone and newly formed bony trabeculae(▲). (Masson trichrome, X40)
- Fig. 7. Seventeen days after the end of distraction. Several scattered PCNA positive nuclei in CFZ and its adjacent zone. A lot of plump mesenchymal cells and osteoblastic cells lining bony trabeculae express nuclear positivity(▲). (ABC for PCNA, X200)
- Fig. 8. Thirty-two days after the end of distraction. Some regions still express PCNA positivity(▲), especially in subperiosteal region. (ABC for PCNA, X200)
- Fig. 9. Control side. (ABC for type I collagen, X100)
- Fig. 10. Four days after the end of distraction. Diffuse positive reaction on fibroblastic cells and osteoblastic cells covering newly formed bony trabeculae(▲).(ABC for type I collagen, X100)
- Fig. 11. Seventeen days after the end of distraction. Complete absence of reaction on cartilage island(▲). (ABC for type I collagen, X100)
- Fig. 12. Thirty-two days after the end of distraction. Integration between host bone and newly formed bone(▲). (ABC for type I collagen, X100)

Legends for Figures

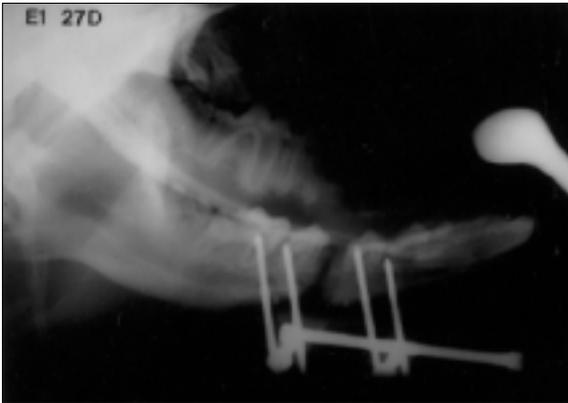


Fig. 1

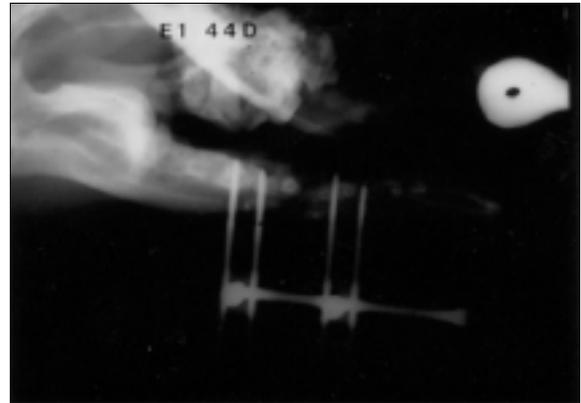


Fig. 2

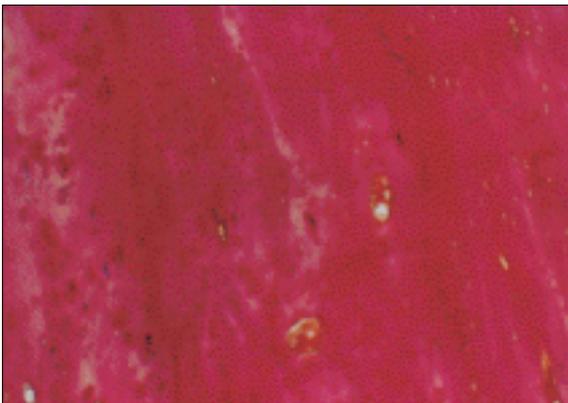


Fig. 3

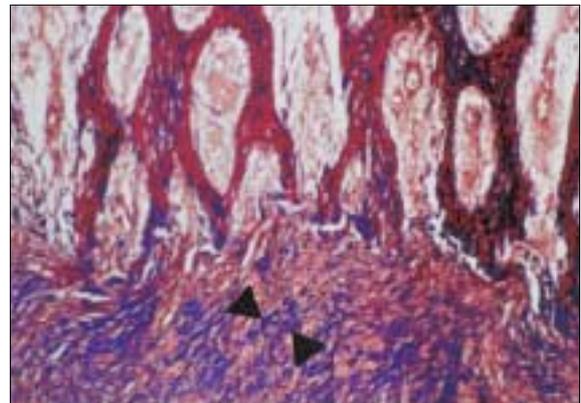


Fig. 4

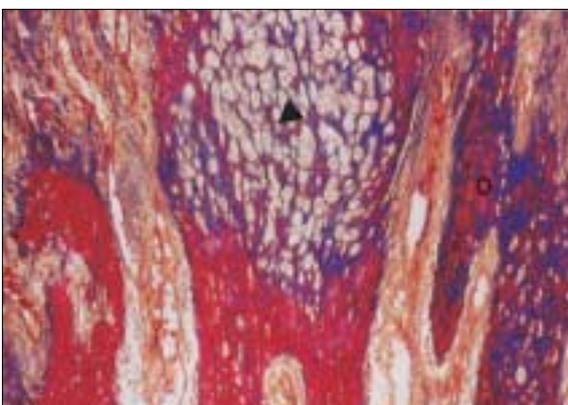


Fig. 5

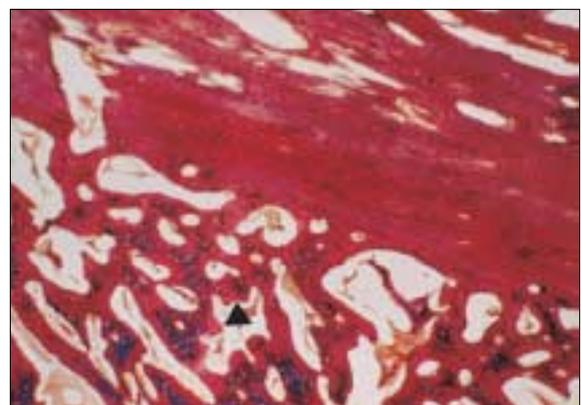


Fig. 6

Legends for Figures



Fig. 7



Fig. 8

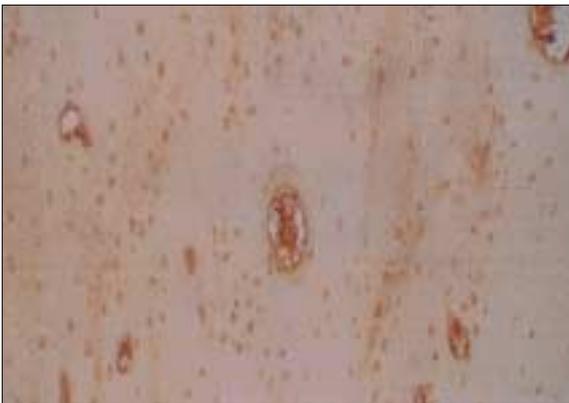


Fig. 9

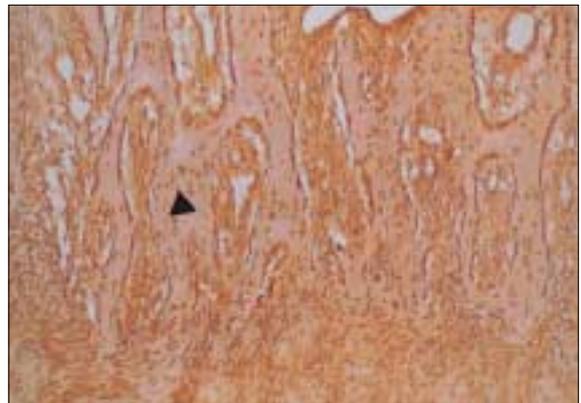


Fig. 10

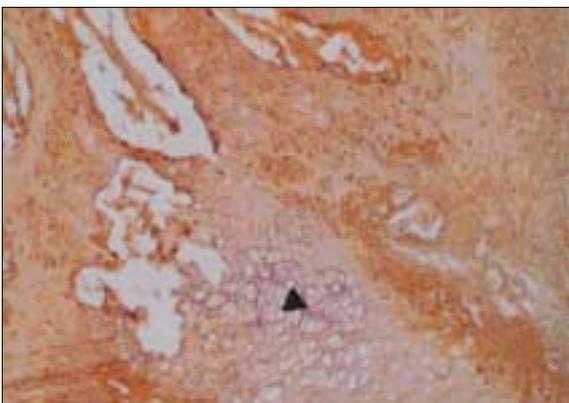


Fig. 11

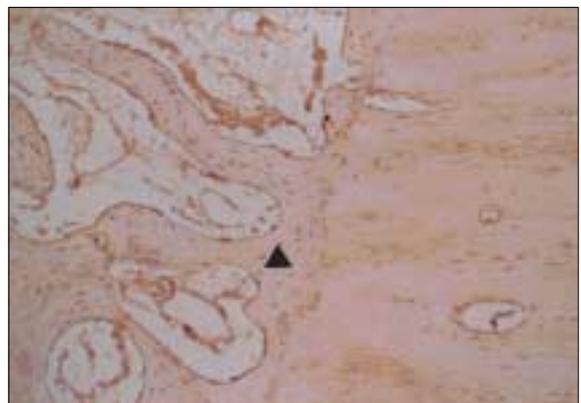


Fig. 12