

성견 하악골 절단 후 기계적 골 견인에 의해 형성된 골 신장부에 대한 시기별 조직학적 변화

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

Abstract

HISTOLOGICAL CHANGES IN THE ELONGATED BONE AFFECTED BY OSTEODISTRACTION OF THE MANDIBLE IN THE DOG

Sun-Ho Baek, 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

Purpose : Traditionally, the treatment of choice has been a bone grafting procedure to increase the length of bone in case of actual length discrepancy. But, bone grafting procedure has many disadvantages, for example, graft resorption, donor site morbidity, and so on. So, many trials have been performed to avert the use of autogenous bone graft via introducing new materials or methods. And, one of those trials has been realized by the development of a technique inducing bone lengthening by osteotomy (or corticotomy) and slow gradual distraction of the osteotomized segments. This new technique of bone lengthening dates back to the early 20th century. But, the majority of information concerning the biology of new bone formation during bone lengthening and technical details of the procedure were produced by extensive clinical and experimental studies performed by Ilizarov, a Russian surgeon. According to Ilizarov, with adequate blood supply, preservation of periosteum, rigid fixation of the osteotomized segments, and proper rate and rhythm of distraction, intramembranous bone rapidly develops within the distraction gap in the limb lengthening procedure. In the limb lengthening, many orthopedic surgeons try to observe the biologic and clinical principles recommended by Ilizarov. In the oral and maxillofacial region, however, not a few studies must be performed to apply this surgical technique in the clinical cases. Besides, the mechanism of bone formation in the distraction gap is not clear, yet. The purpose of this experiment was to scrutinize serially the histological changes in the elongated bone affected by osteodistraction of the mandibular body in an adult canine model. In addition, it was performed to confirm the presence of specific region(s) which was important in the bone formation in the gap through the observation of the expression pattern of osteocalcin and osteonectin with the immunohistochemical examination.

Materials and Methods : The experimental and control specimens were obtained from seven adult male mongrel dogs weighing over 20kg. The distractors were custom-made linear extraoral devices and bicortical fixation screws were 2.3mm in diameter, 50mm in total length, 15mm in screw length. The distractors were devised to produce a linear gap of 0.75mm between two bony segments every 360° turn of the rotation rod of the device. The mandibular body of the right side of each animal was corticotomized perpendicular to the occlusal plane and then two bony segments were separated completely by careful manipulation of the segments with bone forceps. The left side of each animal was left intact. This side was served as control. At sixth day after osteotomy and fixation of the segments were performed, distraction of the segments was commenced with a rate of 1.1mm/day and a rhythm of two/day for ensuing 7 days. The animals were euthanized at the 16th, 29th, and 44th day after the osteotomy. The bony specimens were decalcified, embedded in paraffin, sectioned 5 μ m thick and stained with H&E. The prepared specimens were examined under the light microscope. And, immunohistochemical examinations using anti-osteocalcin antibody (OC1, Biodesign, USA) and anti-onectin antibody (Haematologic Technologies Inc., Essex, VT) to locate the expressions of osteocalcin and osteonectin, respectively, were performed.

Results :

1. New bone was observed already at the 16th. day after osteotomy. This suggests that new bone formation in osteodistraction was commenced at an early stage of the regenerative process. But, radiologically and microscopically, bony union was not completed in the distraction gap at the 44th. day after osteotomy. Therefore, rigid fixation must be maintained between the bony fragments till the complete bony union is confirmed clinically rather than one month or so after the completion of distraction.

2. Intramembranous bone formation predominated the regenerative process in the distraction gap. Some of the

백 선 호

150-020, 서울시 영등포구 영등포동 94-200

한림대학교 의과대학 치과학교실

Sun-Ho Baek

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

regenerated bone, however, was formed by endochondral ossification.

3. Focal islands of cartilage were observed at all experimental periods.

4. Considering the expression pattern of osteocalcin and osteonectin, new bone formation was considered to be commenced at the region adjacent to the central fibrous zone and therefore this region, especially the periosteum of this region, was important in regeneration of the distraction gap.

Focus needs be set on the region adjacent to the CFZ and the role of periosteum in performing further experiments to elucidate the mechanism of bone formation in the distraction gap.

Key word : Osteodistraction, Histological change, Mandible

I. 서 론

기형이나 외상, 질병 등의 후유증으로 인해 비정상적으로 골의 길이가 짧은 경우 그 골의 길이를 늘이는 전통적인 방법은 골이식술이었다. 그러나 골이식술은 공여부에 대한 손상이 불가피하고 이식된 골이 흡수되는 등 여러가지 단점을 갖고 있다. 20세기 초에 이르러 이탈리아의 한 외과의에 의해 골이식을 하지 않고도 골을 신장시킬 수 있는 수술법의 개발이 시도되었다. 그는 신장이 필요한 골을 절단한 다음 골편들에 기계적 견인력을 가하여 골을 늘이고자 하였다⁸⁾. 그러나 그의 급속 견인법은 심각한 부작용을 초래하여 그다지 주목받지 못하였다. 현재 정형외과영역에서 널리 적용되고 있는 느린 속도의 점진적인 견인법은 1950년대 초부터 구 소련의 Ilizarov에 의해 실시된 광범위하고 지속적인 임상적 및 실험적인 연구에 의해 확립되었다¹⁵⁻¹⁷⁾. 그의 수술법은 정형외과 영역에서는 대단히 다양하게 응용되어, 골과 인접 연조직의 이식없이도 짧은 뼈를 30cm 이상 증가시킬 수 있었을 뿐만 아니라, 얇은 뼈에서는 폭의 증가, 기형의 교정, 없어진 손가락이나 발가락의 재생 등에도 성공적으로 적용되었다고 하였다¹⁵⁾. 이 수술법의 근거가 되는 것은 Ilizarov(1989a;1989b)가 명명한 장력법칙(the law of tension-stress)으로 이는 생체조직을 서서히 잡아당기면 조직대사가 활성화되어 세포증식 및 생합성이 촉진된다는 것이다^{16,17)}. 따라서 골을 절단한 후 골편을 당겨야 할 방향을 제외한 모든 방향에 대해 견고하게 고정하고 골절편을 서서히 잡아당겨 늘이면 연령과는 무관하게 골내에 성장관 같은 구조가 출현하여 늘어난 부위가 골화되므로 골의 길이를 늘일 수 있다. 견인시에 골절편 고정이 견고하면 늘어나는 부위에 형성된 섬유성 조직은 연골 형성없이 바로 골로 변하게 된다¹⁸⁾. 일련의 실험을 통하여 Ilizarov는 이 술식을 성공시키기 위한 요인들로서 골막 및 골내 혈류의 최대보존과 골편의 견고한 고정¹⁶⁾, 일일 견인양(속도) 및 그 견인양의 일일 분할 횟수 등이 중요하며¹⁷⁾, 또한 골절단 후 견인을 시작하기까지 적절한 경과기간, 목표한 길이만큼 골이 늘어난후 골화되기까지 견고한 고정, 그리고 전 기간에 걸쳐 해당 골의 정상 기능을 유지시킬 것 등을 주장하였다¹⁸⁾. 사지골의 신장에서는 Ilizarov가 정립한 원칙들에 따라 이 수술법이 시행되고 있다.

악안면 영역에서 골절단 후 기계적 견인에 의한 골신장술의 적

용 가능성은 Snyder et al.에 의해 개의 하악골을 대상으로한 실험으로 밝혀졌다³⁹⁾. 하지만 악안면 영역에서 이 술식의 임상적 적용은 악골에서 최초의 실험보고 후 19년이나 지나 McCarthy et al에 의해 발표되었다²⁵⁾. 이러한 느린 진전은 Ilizarov에 의해 1950년대에 개발된 술식이 구 소련내에서 받아들여지기까지 오랜 세월 동안 이단적인 수술법으로 배척받았던 것을 감안하면 그다지 놀랄 일은 아닌 것 같다. 뿐만 아니라 구강악안면외과의에게는 통상적인 골절단술과 골이식이 전통적인 골수술의 원칙에 부합되며 또한 익숙한 수술법이었을 것이다. 하지만 심한 악골 결손이 있는 경우 골조직뿐만이 아니라 악골을 감싸는 연조직 또한 부족하며 이 경우 통상적인 골절단술은 연조직의 결손을 해결하지 못한다. 뿐만아니라 연조직의 부족으로 인한 저항에 의해 수술시 골의 길이 증가가 제한받기도 하며, 수술후 원래 상태로 되돌아가려는 회귀 경향이 나타난다²⁵⁾. 반면에 광범위한 골조직 및 연조직 결손이 있는 경우 Ilizarov 수술법에 의한 신장술은 골은 물론 부착된 근육, 신경, 피부 등의 연조직도 함께 점진적으로 증가시켜 주므로 연조직 결손의 해결에도 효과적일 것이다¹⁵⁾. 그리고 기계적 견인에 의한 골신장술에서는 임상적으로나 실험적으로 골신장 후 회귀현상은 없거나 거의 무시할 정도였다고 보고되었다^{12,29)}. 이 두 가지 즉, 별도의 부가적인 수술 없이도 결손된 연조직을 골과 함께 신장시키며, 골신장 후 회귀 현상이 적게 나타나는 것은 전통적인 수술법에 비해 큰 장점이 될 수 있을 것이다.

분명히 견인에 의한 골신장술은 전통적인 수술법에 비해 앞에서 언급한 몇가지 특징적인 장점들이 있다. 구강악안면영역에서도 이 술식이 지닌 장점들을 이용하여 임상에 적용한다면 선택된 증례들에서 기존의 수술법에 대한 좋은 대안이 될 수 있을 것이다. 정형외과영역에서 잘 정립되어 있는 이 술식을 구강악안면영역에 적용하기 위해서는 앞으로도 많은 추가적인 연구가 필요하다. 본 실험의 목적은 하악골 절단 후 기계적 견인에 의한 골신장시 신장되는 부위에서 일어나는 골형성 과정을 시기별로 조직학적인 관찰을 하고 비교원형 골기질 단백질인 osteocalcin과 osteonectin의 발현 양상을 면역 조직화학적 검사를 통하여 관찰하여 유의한 특이성이 있는지 특히 골형성이 시작되거나 다른 부위보다 왕성한 골형성을 나타내는 특정 부위가 존재하는지를 확인하는데 있었다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

실험에 사용한 동물은 체중 20kg 이상의 수컷 잡종성견 7마리였고, 희생후 조직을 채취하여 조직표본제작을 하였다. 모든 동물에게 수술전 1주간의 적응기간을 주고 이 기간중에 구충제인 Drontal Plus-L®(바이엘 코리아) 2정을 경구투여했다. 수술전 24시간 동안 먹이공급을 중단한 다음 모든 동물들에 대해 동일한 수술을 하고 그 이후 시기별로 정해진 실험 처치를 똑같이 했다.

2. 실험 방법

1) 수술

전신마취를 위해 체중 1kg당 염산케타민(Ketalar®, 유한양행) 10mg, 2% xylazine (렘폰®, 한국바이엘) 2.0mg, 그리고 황산아트로핀(Atropine, 대한약품) 0.05mg을 근육 주사하였다. 마취가 된 후 기도 유지를 위해 구강내에 삽관을 하고, 수술부위에 대해 소독을 하고, 에피네프린이 1 : 100,000의 비율로 섞인 2% 리도케인(Octocaine®100, Novocol Pharmaceutical, Canada) 으로 국소 마취를 하였다.

우측 하악골에서 하연에 평행한 피부절개를 하고 단계적으로 골막하부까지 박리를 해서 악골을 노출시켰다. 제 3소구치와 제 4소구치 사이 또는 제 4소구치와 제 1대구치 사이의 악골 부위에서 골절단선이 하악 교합면에 수직이 되게 치과용 절삭기구 (fissure bur)로 협측 및 설측 피질골을 일부만 절단한 다음, 처음의 피부절개선을 피해서 협측 피부근막피판에 형성한 네 개의 2mm 절개선을 통하여 골절단선의 양쪽에 각각 2개씩의 피질골나사를 서로 평행하게 악골내 삽입하였다. 그후 골신장장치를 골나사와 느슨하게 결합한 후, 피질골절단을 완전히 하였다. 그다음 피질골절단부의 양쪽에서 골겸자(bone forceps)로 악골을 잡고 악골내의 신경과 혈관이 손상받지 않도록 조심하며 양쪽 골편들을 움직여서 완전히 분리되게 하였다. 양쪽 골편이 완전히 분리된 것을 확인한 후 골나사와 골신장장치를 동요가 없도록 단단하게 결합하였다. 악골 신장량의 계측을 위하여 길이 2mm의 소형 골고정용 나사(microscrew)를 골절단선의 양쪽에 각각 한 개씩 골내에 삽입한 후 두 골나사 사이의 길이를 측정 한 후 피판의 봉합을 하였다. 좌측 하악골에 대해서는 어떤 수술도 하지 않고 그대로 두어 대조측으로 사용하였다. 수술 후 체중 1 kg당 20mg의 앰피실린(Penbrex®, 영진약품)과 10mg의 젠타마이신(Gentamicin, 동신제약)을 삼일간 근육주사하였다. 사료는 하루에 한 마리당 제로니®(제일제당) 1kg과 Professional Formula Conditioning Diet®(Pedigree, USA) 통조림 1통(700g)씩 공급하였다.

희생은 전신마취한 상태에서, 노출시킨 경동맥에 삽입한 카테터(catheter)를 통해 혈액이 빠져나오게 하여 실시했고, 시간절약을 위해 일정량의 혈액이 방출된 후 염화칼륨(KCl)용액을 카테터를 통해 심장내에 주입하였다. 희생 후 즉시 실험측 및 대조측의

골편을 채취하여 10% 중성 포르말린에 넣어 고정을 하였다.

2) 골신장장치 조작

하악골 절단 후 하악골의 신장을 위해 사용된 장치와 골내에 삽입한 직경 2.3mm, 전체 길이 50mm, 나사부분 길이 15mm인 피질골나사(cortical screw)는 국내에서 주문 제작된 것이었다. 골신장장치에 부착되어 있는 조절나사를 360도 회전시키면 원심 골편은 0.75mm 전방으로 전위되게 제작되었다. 장치 및 골나사는 가스소독(ethylene oxide gas)한 후 사용하였다.

수술 후 5일간은 그대로 두어 손상된 골막이 어느 정도 치유될 수 있게 한 다음 6일째부터 조절나사를 12시간마다 회전시켜(270°) 하루에 1.1mm씩 원심골편이 전방전위되게 하였다. 골신장은 7일간 계속하였고, 그 후에는 골편들이 신장된 위치에서 유지될 수 있도록 장치를 악골에 장착된 채로 두었다.

3) 골신장량 측정

골신장량 측정을 위해 수술시에 악골에 삽입한 두 개의 소형 골고정용 나사간의 거리를 수술직후와 희생시에 측정하여 그 증가량을 평가하였다. 또한 골신장장치의 일정한 부위에 대해 수술직후, 골신장 종료후, 희생시에 각각 측정하여 그 변화를 관찰하였다.

4) 방사선 촬영

동물들이 마취된 상태에서 수술직후, 술후 13일, 16일, 27일, 44일에 하악골 측방방사선사진 촬영을 하여 방사선학적으로 골치유를 관찰하고자 하였다.

5) 조직 표본 제작

수술 후 시기별로 16일(I 군, n=2), 29일(II 군, n=2), 44일(III 군, n=3)에 희생시켜 조직표본을 얻었다.

가. 탈회표본 제작

채취한 검체를 시상분할(sagittal section)하고 조직 표본을 10% 중성 포르말린에 3일간 일차 고정 한 후 꺼내어 표본제작에 적합한 크기로 조직을 자르고 7일간 이차 고정을 하였다. 고정이 된 후 표본을 5% 질산(nitric acid) 용액에서 2일간 일차 탈회한 다음 탈회액을 8% 포름산(formic acid) 용액으로 바꾸어 7일간 이차 탈회를 하였다. 통상적인 방법으로 파라핀 블록을 제작한 후 5µm 두께로 절편을 채취하고 H&E 중염색하여 광학현미경하에서 전반적인 조직학적 양상을 관찰하였다.

나. 면역조직화학검사

Osteocalcin에 대한 일차항체(OC1, Bidesign, USA)는 생쥐 단클론성 IgG 항체로 1 : 200으로 희석하여 사용하였다. Osteonectin에 대한 일차항체(Haematologic Technologies Inc., Essex, VT)는 인체 및 소의 골과 인체 혈소판의 osteonectin에 반응하는 단클론성 생쥐 항체로 1 : 200으로 희석하여 사용하였다. 면역조직 화학염색은 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거친 조직으로 Universal

LSAB kit (DAKO, Carpinteria, CA, USA)를 이용한 통상적인 peroxidase Avidin-Biotin Complex 법으로 염색하였다. 염색 과정은 탈파라핀 및 함수 과정을 거친 후 3% 과산화수소로 30분간 내인성 과산화효소의 활성을 억제한 후 정상 혈청 (Vector Lab. Inc., Burlingame)을 실온에서 30분간 반응시켰다. 적절한 배율로 희석한 일차 항체를 37°C에서 1 시간 반응시키고 link 항체 (biotinylated immunoglobulin)를 20분간 반응시켰다. Streptavidin peroxidase를 10분간 반응시킨 후 발색제인 DAB (diaminobenzidine) 용액을 10분간 반응시켜 수세 후 Mayers hematoxylin으로 대조 염색하여 봉입하였다. 각 염색 단계마다 PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4) 완충액으로 잘 세척하였고, 양성 대조로는 골화성 근염으로 진단된 검체를 사용하였고, 음성 대조로는 일차 항체 대신 PBS 완충액만을 반응시킨 것을 사용하였다. 면역조직 화학염색 결과는 각 항체에 대한 염색상을 실험 동물 희생 시기별로, 또한 주로 발견되는 성분별로 검색하였다. 전혀 염색성을 관찰할 수 없는 경우를 음성(-)으로, 정상 성숙골의 산재한 세포에서만 약간의 염색성이 관찰되는 경우를 약양성(+), 매우 강한 세포질내 염색상을 보이면서 양성 세포가 밀집되어 있는 경우를 강양성(+++), 그리고 중등도의 세포질내 염색상 및 양성 세포의 밀집도가 중등도인 경우를 중등도 양성(++)으로 판독하였다.

III. 실험 성적

1. 실험경과

수술전 평균체중은 22.3 ± 2.3 kg, 희생 또는 사망전 체중은 25.1 ± 2.8 kg이었으며, 평균체중증가량은 2.8 ± 2.0 kg이었고, 수술후 체중이 감소한 동물은 없었다. 수술후 예정된 희생시기에 앞서 사망한 동물은 열 마리중 세 마리였으며 이들에서는 조직표본을 채취하지 않았다. 사망 원인은 모두 방사선 사진 촬영을 위한 마취와 관련한 사고였다. 수술후 희생 또는 사망전까지 창상과열이나 염증이 발생한 동물은 없었으나 한 마리에서 심한 혈종이 형성되었다. 세 마리에서 골신장장치가 탈락을 했었다. 그외의 동물들에서는 장치의 심한 동요를 관찰할 수 없었다.

2. 골신장량 측정

기대한 골신장량은 7.7mm였으나 골신장량 계측을 위해 악골 내에 삽입한 골고정용 소형 나사 사이에서 측정된 신장량은 전

체 평균이 5.3mm였다. I 군(16일 희생)의 평균은 4.3mm, II 군(29일) 6.3mm, 그리고 III 군(44일)은 5.3mm였다. 골신장장치에서의 측정치는 평균 6.8mm였고, I군에서 6.5mm, II 군은 7.5mm, III 군은 6.3mm였다.

3. 방사선 소견

수술직후 골절단부위는 방사선투과상으로 확인되었다(Fig. 1). 수술후 13일째에 이 방사선투과상은 골신장을 위한 기계적 골결인에 의해 수술 직후에 비해 훨씬 넓어진 양상을 보였다(Fig. 2). 수술후 16일째에도 이 신장부는 여전히 방사선투과상으로 관찰되었다. 27일째 방사선 사진상 대부분의 신장부는 아직도 방사선투과상으로 관찰되지만 골신장부에 인접한 기존의 골절단면에서 방사선불투과상이 약간 증가된 조건을 보였다(Fig. 3). 44일째 방사선 사진상에서는 골편들을 연결하는 골이 신장부내에서 관찰되었지만 골신장부를 완전히 채우지는 않았고 골신장부 중심은 여전히 방사선 불투과상으로 관찰되었다(Fig. 4).

4. H&E 염색 소견

대조측은 피질골과 해면골 모두 성숙 층판골로 구성되어 있었고, 일부 조골세포가 피복된 골주 외에는 비활성의 골세포가 개개로 흩어져서 관찰되었다. 피질골의 Haversian system을 채운 혈관들이 관찰되었고, 해면골의 성숙 골주들 사이에는 증식된 동양 혈관들이 다수 관찰되었다.

실험측 제 16일 표본에서는 골신장부를 가득 채운 섬유성 간엽 조직의 증식이 관찰되었는데 일부의 간엽세포는 세포질의 양이 많아지고 뚜렷한 핵소체를 보여서 활성이 강한 세포로 생각되었다. 이러한 간엽세포에서 이행된 조골세포들이 유골(osteoid)을 침착하여 미성숙 직골(woven bone)로 이루어진 신생골을 형성하였고 이러한 신생 골소주에는 활성이 높은 조골세포가 피복되어 있는 양상이었다(Fig. 5). 즉 막내 골형성 부위가 흔하게 관찰되었고, 이러한 골소주들 사이는 느슨한 섬유성 조직 및 증식된 혈관 조직이 채우고 있었다. 이러한 조직학적 조건을 부위별로 살펴 보면, 골신장부 중심(central fibrous zone)은 다량의 치밀한 섬유성 간엽 조직이 채우고 있었고 출혈과 약간의 염증도 관찰할 수 있었다. 중심부에서의 혈관 증식은 미미하여 몇 개의 작은 혈관만이 흩어져서 관찰되었다(Fig. 6). 중심부에 인접한 부위에서는 활발한 내피세포에 의해 피복된 작은 혈관들이 증식하고

Table 1. The amount of bony expansion

Groups	Distance(mm)		
	Interscrew (A)	Intradevice (B)	Difference (B-A)
I (sacrificed at 16day)	4.3	6.5	2.2
II (sacrificed at 29day)	6.3	7.5	1.2
III (sacrificed at 44day)	5.3	6.3	1
Average	5.3	6.8	1.5

있었고, 이 부위에서 신생골 형성이 관찰되었다. 이러한 혈관들은 기존 골절단면과 인접한 부위(골신장부 경계부위)에서는 그 크기와 숫자가 증가하여 동양(sinusoid)구조를 보이는데, 이 동양 혈관들은 형성된 신생 골소주와 동일한 방향, 즉 견인 방향과 평행하게 배열되어 있었다. 골형성은 주로 골신장부 중심의 인접 지역에서 기존의 골절단면쪽으로 진행하며, 견인방향에 대하여 평행하게 진행하는 특징이 있었다(Fig. 7). 일부의 기존 해면골에서는 파골세포에 의한 골흡수가 관찰되었고, 일부에서는 섬유성 조직에서 직접 골로 이행하지 못하고 불규칙한 연골 소도를 형성한 후 연골내 골화로 진행되는 부위도 관찰되었다.

제 29일 표본에서 골신장부의 중심은 미약한 혈관화와 함께 여전히 섬유성 간엽조직으로 채워져 있었지만 제 16일 표본에 비해 신생골 형성이 왕성하여 불규칙한 미성숙 골소주를 많이 관찰할 수 있었다. 왕성하게 신생골이 형성되는 부위에서는 골소주의 배열을 따라 혈관이 동양으로 확대되며 증식하는 소견이 뚜렷하게 관찰되었다. 섬유성 간엽조직에서 불규칙한 연골 소도를 거쳐 신생골이 형성되는 부위도 일부에서 관찰되었다(Fig. 8). 해면골 부위의 신생골 형성도 활발하여 풍부한 세포질을 갖는 조골세포로 피복된 미성숙 직골 골소주가 흔하게 관찰되었고, 일부의 골은 파골세포에 의해 흡수되어 재개조 과정을 밟고 있었다. 형성된 미성숙 골소주들은 일부 성숙되면서 기존의 성숙 골에 점진적으로 혼입되어 가는 소견을 관찰할 수 있었는데, 특히 기존의 층판골과 붙어 있는 골신장부의 경계부에서 주로 관찰할 수 있었다. 제 16일 표본에 비하여 섬유성 조직으로 차있는 골신장부 중심의 양이 감소하고 골소주로 차 있는 부위의 양이 상대적으로 증가하는 양상이었다.

제 44일 표본에서는 대부분의 골신장부가 기존의 성숙골과 통합된 성숙 층판성 골로 구성되어 있었다(Fig. 9). 따라서 세포질이 풍부한 조골세포 대신 평평한 모양의 활성을 잃은 조골세포로 피복되어 있었고 동양 혈관은 신생 골소주들 사이에 평행하게 배열되어 있었다. 일부의 골소주들에서는 세포질이 풍부한 모양을 유지하고 있는 골세포가 산재하였고, 골막 및 골내막을 따라 각각 형성된 골소주들은 서로 연결되어 상당히 규칙적이고 밀집되어 있는 양상이었다. 또한 골주 사이에는 섬유성 혹은 지방성 골수 조직도 관찰되었다. 그러나 골신장부 중심에는 아직 소량의 섬유성 간엽조직이 남아 있었고, 일부는 연골 소도 및 연골내 골형성 부위도 관찰되었다. 또한 골신장부 중심에 인접한 부위에서는 일부 조골세포로 피복된 비교적 미성숙한 골소주도 소량 관찰되었고, 파골세포에 의한 골흡수가 동반되었다. 부위별로는 제 16일 및 29일 표본에 비하여 골신장부 중심은 아주 소량이면서 대부분 골소주들로 구성되어 있고, 특히 성숙 층판골의 형성이 뚜렷하였다.

5. 면역조직화학염색 소견

1) Osteocalcin 발현

실험 시기별, 부위별 osteocalcin의 발현 정도는 Table 2와 같다. 대조측은 성숙 골주에 흩어져 있는 골세포 및 일부의 골주를 피

복하고 있는 조골세포에서 osteocalcin에 양성으로 관찰되었다.

실험측 제 16일 소견상 osteocalcin은 골신장부의 중심을 채우고 있는 교원질을 형성하는 섬유성 조직 자체에는 음성이었다(Fig. 10). 골신장부 중심에 인접해 있는 부위, 즉 골형성이 시작되는 부위의 세포질이 풍부하고 활발한 증식성을 보이는 간엽세포에서 osteocalcin은 발현되기 시작하여 이 부위의 신생골 골소주(microcolumn)를 피복하고 있는 세포질이 풍부한 조골세포에서 강한 세포질내 염색상을 보였다(Fig. 11). 이미 골기질내로 통합된 골세포의 세포질에서도 양성으로 관찰되었지만 연골 조직에서는 osteocalcin에 대한 염색상을 관찰할 수 없었다. 골절단면에 인접한 신생골이나 기존의 골에서는 대조측과 비슷한 정도의 발현을 보였다. 이러한 osteocalcin의 발현은 골막 혹은 골내막 부위에 따른 차이는 뚜렷하지 않았고, 해면골 부위에서도 비슷한 양상이었다.

제 29일 소견상 osteocalcin의 발현은 기본적으로는 제 16일의 소견과 유사하였지만 골절단면에 인접한 부위의 신생골은 좀더 성숙되어 층판골로 이행하고 있었고, 골신장부 중심에 인접한 부위에서는 osteocalcin에 양성인 골세포의 밀도가 16일에서보다 감소하였다.

제 44일에는 대부분의 골신장부가 성숙된 층판성 골주로 대체되었으므로 골소주에 흩어져 있는 골세포에서만 양성으로 관찰되었고, 양성인 세포의 밀도는 더욱 감소하였다.

2) Osteonectin 발현

실험 시기별, 부위별 osteonectin의 발현 정도는 Table 3과 같다. Osteonectin의 발현은 전반적으로 osteocalcin의 발현과 유사하였다. 즉 대조측의 경우 성숙 골주에 흩어져 있는 골세포 및 골주를 피복하고 있는 조골세포에서 양성으로 관찰되었다.

제 16일 표본에서는 골신장부의 중심을 구성하는 섬유아세포성 간엽세포는 osteonectin에 음성이었다. 골신장부의 중심에 인접한 부위에서는 활발하게 증식하는 간엽조직 세포의 세포질에서 osteonectin에 대한 양성반응이 관찰되었고 이 부위의 미성숙 직골 골소주를 피복하는 세포질이 풍부한 조골세포의 세포질에서 매우 강한 염색상을 보였다(Fig. 12). 조골세포만이 아니라 성숙된 골주를 구성하는 골세포에서도 양성으로 관찰되었다. 연골 세포에서는 osteonectin의 발현은 관찰되지 않았다. 이러한 osteonectin의 발현은 피질골과 연하여 골막, 혹은 골내막을 중심으로 형성된 신생골과 해면골에 부착성으로 형성된 신생골 간에 뚜렷한 차이 없이 비슷한 양상이었다. 따라서 제 29일을 거쳐 제 44일로 진행됨에 따라 대부분의 미성숙 골소주가 성숙형의 층판성 골주로 대체됨에 따라 osteonectin에 양성인 골세포의 밀도는 상대적으로 감소하였는데 부위별로 보면 역시 골신장부 중심에 인접한 신생골 부위의 조골세포에서 가장 강한 염색상을 나타내었고 성숙 과정을 거치면서 양성 세포의 분포 양상은 기존의 골과 유사하게 점진적으로 이행하였다. 또한 osteonectin은 골의 세포의 기질에도 일부의 염색상이 관찰되었고 연골 조직에는 음성이었다.

Table 2. The expression of osteocalcin in control and distraction gap

POD \ Zone	Control	OB	NBO	NBF	CFZ
16	+/+	+/+	++/++	+++/+++	-
29	+/+	+/+	++/++	++/+++	-
44	+/+	+/+	+/+	+/++	-

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 subperiosteal bone formation.

POD : Postoperative days

OB : Original bone adjacent to the osteotomy line

NBO : Newly formed bone adjacent to the osteotomy line

NBF : Newly formed bone adjacent to the central fibrous zone

CFZ : Central fibrous zone

Table 3. The expression of osteonectin in control and distraction gap

POD \ Zone	Control	OB	NBO	NBF	CFZ
16	+/+	+/+	++/++	+++/+++	-
29	+/+	+/+	++/++	++/+++	-
44	+/+	+/+	+/+	+/++	-

IV. 총괄 및 고안

구강악안면영역에서 기형의 치료를 위해 시술되는 골절단술은 거의 모든 방향으로 골의 이동을 가능하게 하지만 여러 가지 요인에 의해 이동량의 제한이나 수술후의 회귀현상을 피할 수 없다는 것이 단점으로 지적된다. 특히 전방으로 악골의 길이를 늘이는 경우나, 상악골에서 횡으로 확장하는 경우 연조직의 저항으로 인하여 이동량은 제한받으며 수술후 회귀현상이 두드러지게 나타나고, 하악골 전방부의 횡적확장은 이식된 골을 덮어 줄 연조직의 부족으로 인해 거의 불가능하다²⁸⁾. 기형의 정도가 심하여 앞에서 열거한 방향으로 골편의 이동량이 클 경우에는 기존의 골절단술로 만족할만한 결과를 얻기는 쉬운 일이 아니다. 뿐만 아니라 이러한 통상적인 골절단술은 대개 성장이 완료된 후에 시행하므로 보다 조기에 치료를 요하는 경우에는 다른 대안이 필요하다. 선천성 기형으로 인해 심한 하악골결손이 있는 유아는 통상 기도를 유지시키기 위해 출생직후 기관절개하여 삽관을 하고, 6~9세(또는 5~6세)경 하악골절단술과 골이식으로 하악골의 위치를 정상화하여 구강 비강 인두부의 연조직관계를 개선시켜야 삽관 제거가 가능해진다^{11,19)}. 그러나 이러한 환자의 결손은 통상적인 수술법보다는 더 조기에 교정해주어야 성장에 따른 이차적인 기능장애 특히 비정상적인 발음 등을 막을 수 있다¹¹⁾. Janette는 기관삽관으로 호흡을 유지하고 있던 1.5~4세 아동 9명에 대해 견인 골신장술을 시행하여 그중 8명에 대해 성공적으로 삽관제거가 가능했음을 보고했다¹⁹⁾. 중앙절제수술이나 외상 또는 골감염의 후유증 등으로 인하여 골결손이 있는 경우 심한 연조직 결손이 동반되어있으면 결손부 재건은 어려워진다.

특히 중앙절제수술이 방사선치료와 동반된 경우 골세포의 파괴, 혈관의 소실 및 골의 섬유화로 인한 혈류량의 감소는 재건을 더 어렵게 만든다¹³⁾. 골절단후 견인에 의한 골신장을 하는 동안 신생골이 형성되는 부위에는 현저한 신생혈관의 형성이 이루어지므로¹⁶⁾ 혈류량이 감소되어있는 결손부의 재건 및 치료가 용이해질 수 있을 것이다. Sawaki et al은 구강저 암종때문에 편측 측절치부터 반대측 제일대구치까지에 이르는 광범위한 하악골 절제수술을 화학치료 및 방사선 조사와 함께 받은 환자에 대해 견인에 의한 골신장술을 시술하였다²⁹⁾. 그들은 견인 종료후 7개월째 신장된 골에서 조직학적으로 성숙된 구조는 발견하지 못했으나 그 신생골은 임상적으로 충분히 안정적이었음을 보고하였다. Minematsu et al은 악골의 악성중앙 절제 수술 전후에 화학요법을 받은 환자들에 대해 견인에 의한 골신장술을 시술하면서 국소혈류량을 측정하여, 화학요법에 의해 감소된 혈류량이 골신장술에 의해 정상범위 혹은 그 이상으로 증가하는 것을 보고하였다²⁶⁾. 또한 Aronson et al은 기계적 견인에 의한 골신장시 신장되는 부위의 국소혈류량 변화를 동물 실험을 통해 관찰한 결과 시기에 따라 2배에서 10배까지 증가하며 이러한 증가는 신장되는 부위 너머의 원심골편에서도 관찰되었다고 보고하였다¹⁾. 하지만 이러한 혈류량의 증가는 정상적인 골절치유부에서 측정된 혈류량과 큰 차이가 없었다고 한다²⁾. 견인에 의한 골신장시 일시적인 국소혈류량의 증가는 악안면 영역에서 항암화학요법이나 방사선 치료를 받아 혈류량이 감소되어있는 경우 악골 결손부의 재건이나,^{13,20)} 만성골수염이 동반되어있는 골절비유합부의 치료^{18,24)}에 유리하게 작용할 수 있을 것이다. 또한 견인 골신장술은 골조직 주변의연조직 신장도 함께 이루어지기때문에 연조직 결손이 동반

된 골결손의 치료 역시 용이해진다.

증례에 따라서는 기존의 수술법에 비해 몇가지 특징적인 장점들을 갖고 있는 견인 골신장법은 원래 정형외과 영역에서 사지골 결손을 치료하기 위해 개발된 것으로 수술법 등이 그 분야에서는 이미 잘 정립 되어있다. Ilizarov는 견인 골신장술에 의해 형성되는 신생골의 양과 질을 결정하는 요인들로서 골막과 골내혈류량 그리고 골수의 보존 정도, 골편 고정 의 견고성, 일일 견인 속도 및 견인 양의 일일 분할횟수등을 들고 있다^{16,17}. 골막, 혈류, 골수의 보존을 위해 그는 최소한의 연조직절개와 피질골만 절단할 것을 권장하였다. 그러나 개의 사지골을 대상으로한 Delloye et al.의 실험에서 해면골까지를 포함하는 완전 골절단군과 피질골 절단군은 결과에 차이를 보이지 않았다¹⁰. 또한 Yasui et al.(1993)은 토끼의 경골을 대상으로한 실험을 통해 해면골까지를 포함하는 완전한 골절단 후 견인시작까지 10일간의 경과기간 동안 절단되었던 골수내 혈관들이 재생되었고 골신장이 성공했음을 보고하면서 불확실한 피질골절단보다는 완전한 골절단을 한 후 견인까지 적절한 경과기간을 주는 것이 더 낫다고 주장하였다.³⁸ 따라서 골절단법의 선택은 집도의의 선호도 그리고 수술부위의 해부학적 특성에 따라 결정될 수 있을 것이다. 하악 골체부에서처럼 절단될 부위에 보존되어야 할 신경이 존재하는 경우에는 피질골만 절단하는 것이 필수적이다. 본 실험에서는 하치조신경의 보존을 위해 하악골체부에 피질골절단만을 한 후 골절단의 완전성을 확보하기 위해 골편들의 동요가 확인될 때까지 골검자로 조심스럽게 흔들어 주었다. 그러나 대상으로 한 개들의 하치조신경관 주위는 해면골이 전혀 없고 모두 치밀골로만 구성되어 있어 하치조신경을 손상없이 악골로부터 채취해 내기가 대단히 어려웠으므로 골절단시의 신경손상이나 견인에 의한 신경손상 유무를 확인하지는 못하였다. 뿐만아니라 실험에 사용된 구외견인장치의 직선형태와 골나사의 크기, 실험대상 개들의 치아와 하치조신경의 근접성, 개의 하악골의 상하폭이 전방으로 갈수록 좁아지는 형태때문에 장치 장착시에 치아나 하치조신경의 손상을 피해서 골나사를 삽입하기 어려운 점이 있었다. Block et al.도 개의 하악골체부에 대해 구외견인장치를 장착하는 동안 신경손상을 피할수가 없어 치아를 제거한 후 하악치조골에 고정되는 작은 구내견인장치로 바꾸어야 하였으며⁵ 견인에 의한 신경손상유무를 확인하기위해 채취한 신경은 골체부내의 신경이 아니라 하악이공에서 빠져나오는 하악이신경이었다는 것은 개의 하치조신경을 손상없이 골체부로부터 채취하는 어려움에 대한 간접적인 증거라고 할수 있다.

골편고정의 견고성또는 골편의 동요도가 견인 골신장시 신장부위에 출현하는 신생조직의 형태적 특성을 결정한다. 즉, 골편의 동요가 심한 경우 골형성을 하지 못하고 부분적인 출혈소견과 함께 약간의 연골을 포함하는 섬유성 조직으로 채워지며, 동요가 있기는 하지만 고정이 어느 정도 견고하면 신생조직은 연골내 골화과정을 거쳐 골이 형성되고, 최대한의 견고성이 확보되는 경우 연골형성 없이 바로 골이 재생된다^{16,18}. 따라서 신장되는 방향으로의 골편 이동을 제외한 모든 방향에 대해 골편 고정의 견고성이 확보되어야 한다. Ilizarov는 연골내 골화과정에 의

한 골재생이 연골형성없이 직접 골화되는 과정보다 느린 과정으로 간주하였다¹⁸. 연골형성을 결정하는 요인은 고정의 견고성의 예도 골절단 방법, 골절단 후 견인까지의 경과 기간, 견인 양, 그리고 실험동물의 종에 따른 차이 등이 거론된다²⁰. Jazrawi et al.은 골신장시에 연골형성은 반드시 일어나는 과정으로 간주하고 있는데, 그들에 의하면 견인을 하는 동안 신장되는 부위에서는 혈관형성이 왕성하게 일어나서 산소분압이 증가하고 따라서 신생골형성을 촉진하며 연골형성은 억제하지만 그 주변의 손상받았던 골막에서는 산소분압이 낮아서 연골을 형성한다고 하였다. 그리고 견인이 끝난 후에는 혈관생성도 중단되므로 산소분압이 감소하여 신장된 부위내에서 연골형성이 일어난다고 하였다²⁰. Peltonen et al.도 모세혈관 주변에서 신생골형성이 가장 활발했으며 견인이 끝난 후에 신생골내에 약간의 연골이 관찰되었다고 하였다²⁷. 그러나 Yasui et al.이 관찰한 바로는 연골형성은 골절단과 견인시작 전까지의 경과기간 동안 골막부근에서 형성된 연골성 가골로부터 견인 초기에 일어나지만 이 연골은 점차 골로 대체되고 후기에는 막내골화 과정에 의해 신생골이 형성된다고 하였다³⁹. 본 실험에서는 수술후 16일(I군), 29일(II군), 44일(III군) 표본들 모두에서 주로 골신장부 중심 바깥쪽의 신생골이 형성되는 곳에서 연골 소도가 관찰되었으며 골막과의 연관성을 보여주는 것은 7개의 표본들 중 하나에서만 확인되었다. 이 결과는 연골이 골막에 의해 형성된다는 앞에서 언급한 Yasui et al³⁹이나 Jazrawi et al²⁰의 견해와 반드시 일치하지는 않는 것으로 사료된다. 하지만 한 개 표본에서 골막과의 연관성을 보여주는 소견도 있었으므로 골막에 의해 연골이 형성된다는 것을 배제할 수도 없을 것 같다. 따라서 견인 골신장과 관련하여 형성되는 연골에 대해서는 아직 밝혀지지 않은 부분이 남아있다. 하지만 견인 골신장에 의해 재생되는 신생골은 연골내골화과정이라기보다는 주로 막내골화과정에 의한 것이라는 견해가 지배적이다. 견인 골신장시 신생조직에서는 약간의 연골이 관찰되기는 하지만 조골세포의 활성이 주로 관찰되며,^{2,10,27} 연골에서 특징적으로 관찰되는 제 2형 교원섬유는 발견되지 않고 골조직의 특징적인 제일형 교원섬유가 전적으로 관찰된다^{21,36}는 점은 막내골화에 의해 골이 재생된다는 주장들에 대한 근거가 된다. 본 실험에서도 비록 연골이 전 기간에 걸쳐 발견되었으나 주된 골형성은 막내골화과정에 의해서 이루어졌다. 하지만 연골이 어느 특정 시기에만 나타난 것이 아니라 전 시기에 걸쳐 나타났던 것으로 미루어 연골내골화과정이 어느 정도는 관여했다고 판단된다. 하지만 견인 골신장에서 연골내골화과정이 필수적인 과정인지의 여부에 대해서는 단정할 수 없다. 왜냐하면 연골이 전 시기에 걸쳐 관찰된 것은 본 실험설계상의 조건과 사용한 견인장치가 가진 고정의 견고성 정도에 의해 나타난 결과일 것이며 다른 조건 그리고 다른 견인장치를 사용한 실험에서는 다른 결과가 나타날 수도 있을 것이기 때문이다. 실제로 Carls et al.은 개를 대상으로 구개골의 견인신장을 한 다음 연골내골화과정없이 전적으로 막내골화과정에 의해서만 골이 형성된 소견을 관찰할 수 있었다고 하였다⁶. Aronson et al.이 쥐의 경골을 대상으로 실험한 결과는 골절단 후 견인 시작전까지의 경과 기간이 골신장부에서 형성되는

조직의 형성 이전에 일시적인 영향을 미칠수도 있다는 것을 시사해 준다⁶. 그들은 경과기간없이 바로 견인을 시작한 군과 7일 간의 경과기간 후 견인을 시작한 군을 비교한 결과 7일 경과군에서는 처음 2주간은 막내골화와 연골내골화가 혼재되어 나타나고 그 이후 3-6주경까지는 주로 막내골화가 나타난 반면, 바로 견인을 시작한 군에서는 전 기간에 걸쳐 주로 막내골화가 이루어졌다고 하였다. 그리고 연골내골화과정에 의해 7일 경과군은 바로 견인을 시작한 군에 비해 골유합이 2주 지연되었지만 두 군간 골신장부에서의 강도는 유의성 있는 차이가 없었다고 하였다. 그들의 실험에서 경과기간을 두었던 군에서는 골절단시 손상받았던 골막이 7일 간의 경과 기간동안 치유되면서 이 골막에 의해 초기에 연골성 가골이 생성된 것이 아닌가 사료된다. 그러나 골신장시 연골이 형성되는가 아닌가 하는 문제 그리고 형성된 연골이 조직학적인 골유합을 2주 지연시켰다는 것보다 중요한 것은 신장된 골의 최종 강도로서 신생골내의 골형성 이전에 연골내골화과정이 포함되었더라도 최종 강도에 차이가 없었다는 것은 임상적인 의미를 갖는다고 할 수 있겠다. 임상에서 골신장 후 골편 고정장치의 제거는 신장부의 골화가 충분히 진행되어 고정장치없이도 기능적인 부하에 견딜 수 있을 때 해야 된다. 그 시기는 대개 신장부에서 방사선학적으로 피절골의 외형이 관찰될 때이다³⁰.

Ilizarov는 개의 경골을 대상으로 한 실험을 통하여 사지골에서 이상적인 일일 견인량(속도)은 1mm이고, 견인 속도가 0.5mm이면 신장부의 조기 유합이, 그리고 2.0mm에서는 골형성 능력이 낮아져 유합의 지연이 나타난다고 하였다¹⁷. 토끼의 경골을 대상으로 한 Li et al.의 연구에 의하면 견인속도가 증가함에 따라 (0.3mm, 0.7mm) 골신장부의 골화되는 부위(primary mineralization front)에서 세포 증식은 유의성있게 증가하였고, 0.7mm에서 세포 증식은 최대 수준에 도달한 다음 그 이후에는 견인 속도가 증가하여도 (1.3mm, 2.7mm) 더 이상 세포증식의 증가는 없었다고 하였다²⁹. 이 연구 결과는 견인시 골신장부에 가해지는 힘이 그 부위의 세포 증식능을 촉진한다는 것에 대한 근거가 될 수 있으며 또한 견인 속도에 따라 세포 증식능이 변할 수 있다는 것을 추정할 수 있게 한다. 하지만 이 연구결과를 그대로 임상에 적용하는 것은 무리이다. 왜냐하면 Li et al.²⁹의 연구는 소동물(토끼)을 대상으로 한 것으로 견인 속도와 세포 증식능의 관계는 종에 따른 차이가 있을 수 있기 때문이다. 실제로 Choi et al.의 연구에 의하면 쥐의 경골에서는 견인 속도 0.25mm 부터 0.75mm까지 모두 성공적으로 견인에 의한 골신장이 이루어졌지만, 0.25mm 견인 속도 군에서 0.75mm 군에 비해 유의성 있게 더 좋은 결과를 얻었다고 하였다⁸. 따라서 토끼나 쥐등의 소동물에서 얻은 연구 결과를 임상에 그대로 적용해서는 안되며, 이상적인 견인속도에 대해서는 개나 원숭이같은 대동물에 의한 실험 결과가 필요할 것으로 사료된다. Ilizarov는 견인량의 일일 분할 회수에 대해서 1mm를 최소한 4회 분할하여 견인하여야 하며, 분할 회수가 많을수록 골형성 능력이 더 크게 나타날 뿐만 아니라 주변의 근막이나 신경조직에 미치는 유해한 효과가 조직학적으로 적었다고 발표하였다^{17,18}. 그러나 Welch et al.이 염소의 경골을 대상으로 실험한 바에

의하면 동일한 견인 속도에서(0.75mm/day) 분할회수의 차이에 (1, 4, 720회) 의한 신생골 형성의 차이는 없었다³⁰. 하지만 이들의 연구는 골격적으로 성숙되지 않은 동물에서 시행된 것이므로 성장이 완료된 개체에서도 같은 결과가 나올 것인지는 의문이다. 뿐만 아니라 그들의 연구는 신생골에 국한된 것이며 그 주위의 연조직에 대한 반응은 무시하였다. 따라서 현재로서는 앞서 언급한 Ilizarov의 일일 분할 횟수에 대한 권고를 무시할 수는 없을 것 같다. 하지만 일일 분할 횟수가 미치는 영향에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 왜냐하면 견인시 분할회수가 신생골조직뿐만 아니라 주변 연조직 변화에도 영향을 미치지 않는다면 굳이 값비싼 자동화 장치를 부착할 필요가 줄어들므로 보다 저렴하게 치료를 시행할 수 있을 것이기 때문이다. 물론 환자 본인이 스스로 골견인장치를 작동시킬 수 없는 경우, 특히 아동에서 부모가 매일 시간을 맞추어서 작동을 시켜줄 수 없는 경우에 자동화장치는 매우 유용할 것이다. Leong et al.은 임상적인 이유에서 견인 속도를 줄여야 할 필요가 있는 경우라도 분할횟수는 지켜야 한다고 하였다²⁹. 그들은 정확히 구분된 시간 간격에 따라 분할하여 견인함으로써 신장부위의 조직에 가해지는 힘의 최대치를 감소시키고 또한 응력의 해소 양상이 동일해 지므로 좋다고 하였다.

하악골체부를 수평으로 늘여야 하는 임상례에서 골체부 견인 신장시 이러한 치아나 신경손상의 가능성이 존재한다. 따라서 이 수술법이 하악골체부에서 적용된다면 치아나 신경손상을 피할 수 있도록 작은 장치, 특히 심미성과 환자의 불편감을 고려하여 작은 구내장치가 이용되어야 할 것이다. 하지만 Block et al.⁹이 실험에 사용한 것과 같은 하악치조골에 삽입되는 장치는 치아의 제거가 필수적이므로 견인해야 할 부위에 치아가 존재하는 임상증례에서는 사용하기에 부적절한 것 같다. 따라서 골절시 골편들의 고정에 사용하는 것과 유사한 형태의 얇은 골견인장치를 개발하여 골막하에 장착하는 것이 필요하리라 사료된다. 하지만 이러한 골막하 장착이 가능한 얇은 장치는 견인시 파절의 위험성이 있으므로 충분한 강도를 지녀야 할 것이다. Chin & Toth는 골막하에 장착되는 장치를 이용하여 양측 하악골을 견인하는 중 10mm까지 신장된 후 한쪽 장치가 파절되어 교체해야 했던 증례를 보고하였다⁷. 하지만 이러한 장치의 파절은 장치 자체의 강도만이 아니라 악골에 장착된 장치의 축방향과 견인방향의 불일치에 의해 어느 정도 예상할 수 있다. 하악골은 V자 형태를 하고 있기 때문에 장치를 하악골체부의 V자 외형에 맞추어 장착하는 경우 장치의 장축은 견인해야 할 방향과 어긋나게 되어 하악골을 1mm 신장시킬 때마다 장치의 후방부분은 0.25mm 정도의 축방변위가 발생한다³⁰. Samchukov et al은 이 축방변위력이 골나사의 이완, 장치의 파절, 그리고 악관절의 변성 등을 초래하는 원인이 될 수 있으므로 장치의 장축은 견인방향과 일치해야 한다고 주장하였다³⁰. 따라서 Chin & Toth⁷의 증례에서 10mm 신장시 장치 후방부는 2.5mm의 축방 변위를 야기하는 힘을 받고 있었으므로 이 힘이 장치 파절의 원인중 하나가 되었을 것이다. 골막하 장치는 견인할 골에 밀착되어 부착되어야 하므로 그 장 축방향은 견인할 방향과 일치할 수가 없기 때문에 골신장량이

클 경우 측방력은 더욱 커질 수 밖에 없고 따라서 장치의 파절이나 골나사의 이완이 없다면 그 힘은 악관절에 작용되어 퇴행성 변화를 야기할 수도 있다는 것은 골막하 장치의 단점이라 할 수 있겠다. 앞으로 골막하 장치가 널리 사용되기 위해서는 상기한 문제에 대해 충분한 연구가 있어야 할 것으로 사료된다. 본 실험에서 사용한 장치는 직선형태의 구외견인장치로서 하악골체부의 외형에 평행하게 고정하였다. 10마리 동물들중 세 마리에서 고정 초기에 견고하게 고정되어 있던 골나사가 견인 종료시에 이완되어 견인 장치가 탈락했었는데 이는 견인력이 골에 가한 직접적인 압력에 의해 골이 흡수되면서 나사가 이완되었을 가능성과 함께 상기한 견인방향과 장치장축 방향의 불일치에 의한 측방력 때문이 아닌가 추정된다. 또한 장치가 탈락하지 않았던 나머지 7마리에서도 이러한 골고정용 나사의 이완에 의해 골고정의 견고성이 다소 약화되어 골편의 동요가 증가함으로써 전 시기에 걸쳐 연골이 관찰되었던 것으로 추정된다.

본 실험에서 계획하였던 골신장량은 7.7mm이었으나 장치가 활성화되었던 양은 6.8mm이었고 실질적인 골신장량은 5.3mm이었다. 따라서 실험에 사용한 장치의 골신장 효율은 78%였다. 이러한 차이가 나게된 것은 골신장을 위한 장치 조작이 수작업을 통해 이루어졌기 때문에 계획한 양만큼 견인을 할 수 없었던 것 외에도 골에 가해진 견인력 및 견인방향과 장치장축 방향의 불일치에 의해 발생한 것으로 추정되는 피질골나사의 이완에 의한 골편 고정의 견고성 감소 그리고 회귀경향 등이 복합적으로 관여하여 발생되었을 것으로 사료된다. 이러한 점을 고려하면 실제 임상 적용시에는 어느 정도의 과잉 신장이 필요할 것으로 사료된다.

Osteocalcin과 osteonectin은 골을 구성하는 비교원성 단백질로 이중 osteonectin은 골에서 비교원성 유기물 성분들중 가장 흔하며 type I collagen과 결합하고 calcium과 hydroxyapatite에 대한 친화력이 높으며 골의 석회화의 시작 및 골의 재개조 등에 중요한 역할을 하는 당단백이다^{4,30}. Osteocalcin은 bone Gla protein (BGP)라고도 불리며 골의 calcium 축적을 조절하는 calcium 결합 단백질로서 hydroxyapatite 결정의 성장을 조절하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다^{4,30}. 본 실험에서 osteocalcin과 osteonectin의 발현은 전 시기에 걸쳐 골신장부 중심에 인접한 신생골 형성부에서 강하게 나타났(Table 2, 3). 이는 이 부위가 견인 골신장술에 의한 골형성에서 중요한 역할을 하는 부위로서 골신장부 중심의 미분화 간엽세포가 조골세포로 이행하면서 골형성이 시작된다는 것을 시사한다. 특히 이 부위의 주변부(골막)에서 형성된 신생골은 해면골 부위보다 항상 강한 발현정도를 보여주었다는 것이 신생골형성에 있어서 골막의 중요성을 시사한다고 사료된다. 29일째 표본에서 해면골 부위에서는 osteocalcin과 osteonectin의 발현은 모두 2+ 정도 였으나, 골막부위에서는 3+로서 16일째의 그것과 그다지 차이가 없었으므로 이 시기에서도 골막에서의 골형성 능력이 여전히 왕성함을 알 수 있었다. 비록 44일째 표본에서 조직학적인 골유합은 완성되지 않았고 해면골 부위에서의 osteocalcin 및 osteonectin의 발현(1+)이 대조측(1+)과 유사하기는 하였지만 골막부위(2+)에서는 여전히 골형성 능력이 남아 있어

서 이 부위에서의 골형성이 계속 진행되어 골유합이 완성될 것이라는 것을 추정할 수 있었다.

V. 결 론

체중 20kg 이상의 잡종 성견 하악골을 절단하고 5일간의 경과 기간 후 하루 1.1mm를 2회에 분할하여 7일간 견인함으로써 골신장술을 시행하고 H&E 염색 및 osteocalcin과 osteonectin에 대한 면역조직화학염색을 하여 시기에 따른 골신장부의 골형성 과정을 관찰한 바 다음의 결론을 얻었다.

1. 수술후 16일에 이미 신생골이 형성되고 있었으나 44일이 지난 후에도 골신장부는 방사선학적으로나 조직학적으로 골유합이 완전히 이루어지지 않았다. 따라서 골견인 완료후 골유합이 완전하게 이루어지기까지 충분한 기간동안 견고한 고정이 필요하다고 사료된다.
2. 골신장부내에서 연골은 어느 특정 시기에만 나타난 것이 아니라 실험의 전 기간에 걸쳐 나타났다.
4. 골신장부의 신생골은 주로 막내 골화에 의해 형성되었다. 그러나 연골내 골화도 어느 정도 관여하였다.
5. Osteocalcin과 osteonectin의 발현 양상으로 미루어 골신장부 중심에 인접한 부위가 골형성에 있어 중요한 역할을 하며 특히 골막의 골형성 능력이 중요한 역할을 하고 있었다.

본 실험의 결과를 고려하여 본다면 골신장시의 골형성 기전을 밝힐 앞으로의 연구는 골신장부의 중심에 인접한 부위 및 골막의 역할에 초점을 맞출 필요가 있다고 사료된다.

참고문헌

1. Aronson, J.: Temporal and spatial increases in blood flow during distraction osteogenesis. Clin.Orthop. (301): 124-131.,1994.
2. Aronson, J.: The biological basis for distraction osteogenesis. J Oral Maxillofac Surg 54(Suppl 3)(8): 1,1996.
3. Aronson, J., Good, B., Stewart, C., Harrison, B., & Harp, J.: Preliminary studies of mineralization during distraction osteogenesis. Clin.Orthop. (250): 43-49.,1990.
4. 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.
5. Block, M.S., Daire, J., Stover, J., & Matthews, M.: Changes in the inferior alveolar nerve following mandibular lengthening in the dog using distraction osteogenesis. J.Oral Maxillofac.Surg. 51(6): 652-660.,1993.
6. Carls, F.R., Schupbach, P., Sailer, H.F., & Jackson, I.T.: Distraction osteogenesis for lengthening of the hard palate: Part II. Histological study of the hard and soft palate after distraction. Plast.Reconstr.Surg. 100(7): 1648-1654.,1997.
7. Chin, M., & Toth, B.A.: Distraction osteogenesis in maxillofacial surgery using internal devices: review of five cases. J.Oral Maxillofac.Surg. 54(1): 45-53.,1996.
8. Choi, I.H., Shim, J.S., Seong, S.C., Lee, M.C., Song, K.Y., Park, S.C., Chung, C.Y., Cho, T.J., & Lee, D.Y.: Effect of the distraction rate on the activity of the osteoblast lineage in distraction osteogenesis of rat's tibia. Immunostaining study of the proliferating cell nuclear antigen, osteocalcin, and transglutaminase C. Bull.Hosp.Jt.Dis. 56(1):

- 34-40.,1997.
9. Codivilla, A.: On the means of lengthening, in the lower limbs, the muscles and tissues which are shortened through deformity. 1904 [classical article]. *Clin.Orthop.* (301): 4-9.,1994.
 10. 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.
 11. Erickson, M.F.: Mandibular lengthening in children. *J Oral Maxillofac Surg* 54(Suppl 3)(8): 1-2.,1996.
 12. 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.
 13. Greenspan, D.: The side effects of radiation therapy and chemotherapy on the oral structures. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America* 5(2): 347-353.,1993.
 14. Hirakawa, K., Hirota, S., Iketa, T., & and et.al.: Localization of the mRNA for bone matrix proteins during fracture healing as determined by in situ hybridization. *J Bone Min Res* 9(10): 1551-1557.,1994.
 15. Ilizarov, G.A.: The principles of the Ilizarov method. *Bull Hosp Joint Dis Orthop Instit* 48(1): 1-9.,1988.
 16. 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.
 17. 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.
 18. Ilizarov, G.A.: Clinical application of the tension-stress effect for limb lengthening. *Clin.Orthop.* (250): 8-26.,1990.
 19. Janette, A.J.: Treatment of upper airway obstruction secondary to mandibular deficiency by distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg* 53(8(Suppl 4)): 96,1995.
 20. Jazrawi, L.M., Majeska, R.J., Klein, M.L., Kagel, E., Stromberg, L., & Einhorn, T.A.: Bone and cartilage formation in an experimental model of distraction osteogenesis. *J.Orthop.Trauma.* 12(2): 111-116.,1998.
 21. 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.
 22. Leong, J.C., Ma, R.Y., Clark, J.A., Cornish, L.S., & Yau, A.C.: Viscoelastic behavior of tissue in leg lengthening by distraction. *Clin.Orthop.* (139): 102-109.,1979.
 23. Li, G., Simpson, A.H., Kenwright, J., & Triffitt, J.T.: Assessment of cell proliferation in regenerating bone during distraction osteogenesis at different distraction rates. *J.Orthop.Res.* 15(5): 765-772.,1997.
 24. Marsh, D.R., Shah, S., Elliott, J., & Kurdy, N.: The Ilizarov method in nonunion, malunion and infection of fractures. *J.Bone Joint Surg.Br.* 79(2): 273-279.,1997.
 25. 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.
 26. Minematsu, K., Tsuchiya, H., Taki, J., & Tomita, K.: Blood flow measurement during distraction osteogenesis. *Clin.Orthop.* (347): 229-235.,1997.
 27. Peltonen, J.I., Kahri, A.I., Lindberg, L.A., Heikkila, P.S., Karaharju, E.O., & Aalto, K.A.: Bone formation after distraction osteotomy of the radius in sheep. *Acta Orthop.Scand.* 63(6): 599-603.,1992.
 28. Proffit, W.R.: Treatment Planning: The Search for Wisdom. In Proffit W. R. & White R. P. J. (Eds.): *Surgical-Orthodontic Treatment.* St.Louis, Mosby-Year Book,Inc., 1991, pp. 142-191.
 29. Rachmiel, A., Jackson, I.T., Potparic, Z., & Laufer, D.: Midface advancement in sheep by gradual distraction: a 1-year follow-up study. *J.Oral Maxillofac.Surg.* 53(5): 525-529.,1995.
 30. Samchukov, M.L., Cope, J.B., Harper, R.P., & Ross, J.D.: Biomechanical considerations of mandibular lengthening and widening by gradual distraction using a computer model. *J.Oral Maxillofac.Surg.* 56(1): 51-59.,1998.
 31. Sandberg, M.M., Aro, H.T., & Vuorio, E.I.: Gene expression during bone repair. *Clin Orthop Rel Res* (289): 292-312.,1993.
 32. Sawaki, Y., Hagino, H., Yamamoto, H., & Ueda, M.: Trifocal distraction osteogenesis for segmental mandibular defect: a technical innovation [In Process Citation]. *J.Craniofac.Surg.* 25(6): 310-315.,1997.
 33. 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.
 34. Stucki-McCormick, S.U., Winick, R., & Winick, A.: Distraction osteogenesis for the reconstruction of the temporomandibular joint. *N.Y.State.Dent.J* 64(3): 36-41.,1998.
 35. Tessier, P., & Tulasne, J.F.: Stability in correction of hypertelorbitism and Treacher Collins syndromes. *Clin.Plast.Surg* 16(1): 195-204.,1989.
 36. 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.
 37. Welch, R.D., Birch, J.G., Makarov, M.R., & Samchukov, M.L.: Histomorphometry of distraction osteogenesis in a caprine tibial lengthening model [see comments]. *J.Bone Miner.Res.* 13(1): 1-9.,1998.
 38. 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.
 39. 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.

Legends for Figures

- Fig. 1. Lateral radiograph of the mandible taken immediately after osteotomy. Narrow osteotomy line can be seen.
- Fig. 2. Lateral radiograph of the mandible taken at 13th. day after osteotomy. The bony gap is widened than that of just after osteotomy. New bone formation is not observed, yet.
- Fig. 3. Lateral radiograph of the mandible taken at 27th. day after osteotomy. The bony gap is seen as a radiolucent image. Radiopaque image is slightly increased at the regions adjacent to the osteotomy line.
- Fig. 4. Lateral radiograph of the mandible taken at 44th. day after osteotomy. Most of the bony gap is filled with radiopaque image, but central radiolucent line is still observed. So, bony union is not completed at this stage.
- Fig. 5. Mineralization front adjacent to the central fibrous zone. This region are composed of activated plump mesenchymal cells, osteoblastic cells, and osteoid matrix(▲). 16th. postoperative day. (H&E, x100)
- Fig. 6. Central fibrous zone composed of proliferated fibroblastic cells and a few blood vessels. 16th. postoperative day. (H&E, X100)
- Fig. 7. Microcolumn of bony trabeculae(▲) oriented parallel to the direction of distraction. Sinusoidal blood vessels are also oriented in the same direction. 16th. postoperative days. (H&E, x100)
- Fig. 8. Area of chondroid nodule(▲) with endochondral ossification. 29th. postoperative day. (H&E, x100)
- Fig. 9. Mature lamellar bony trabeculae(▲) merge completely with the host bone. 44th. postoperative day. (H&E, x100)
- Fig.10. Central fibrous zone is negative with osteocalcin. (Immunohistochemistry by ABC method for osteocalcin, X100)
- Fig.11. Osteocalcin is strongly expressed on the cytoplasm of plump mesenchymal cells and osteoblastic cells lining immature bony trabeculae(▲). 16th. postoperative day. (ABC for osteocalcin, x100)
- Fig.12. Osteonectin is strongly expressed on the cytoplasm of osteoblastic cells lining immature and mature bony trabeculae. 16th. postoperative day. (ABC for osteonectin, x100)

Legends for Figures

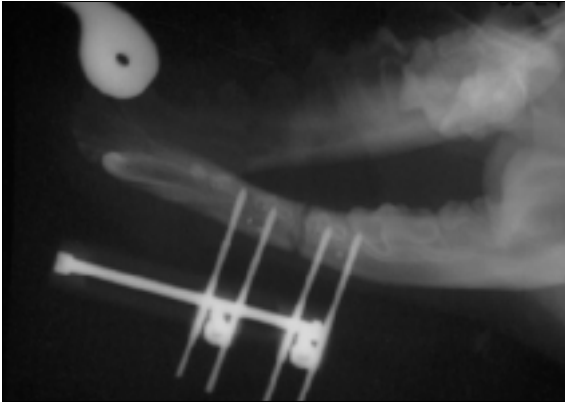


Fig. 1

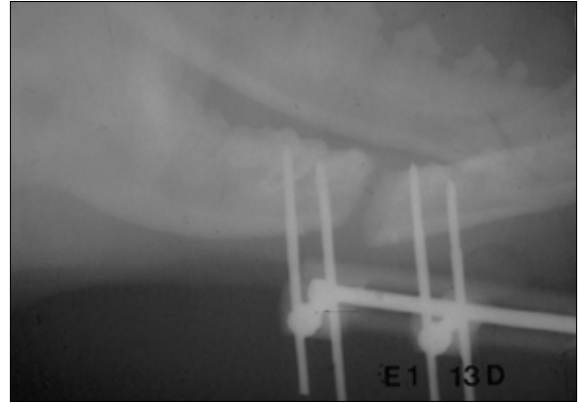


Fig. 2

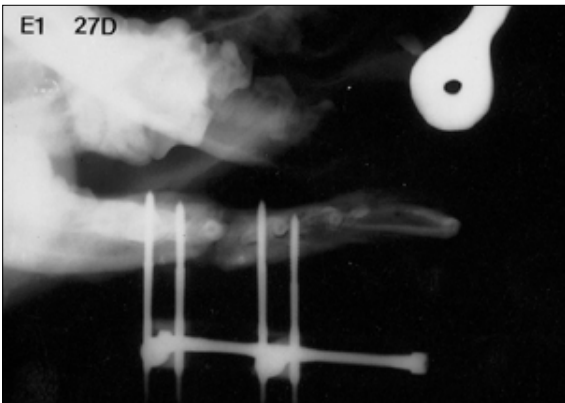


Fig. 3

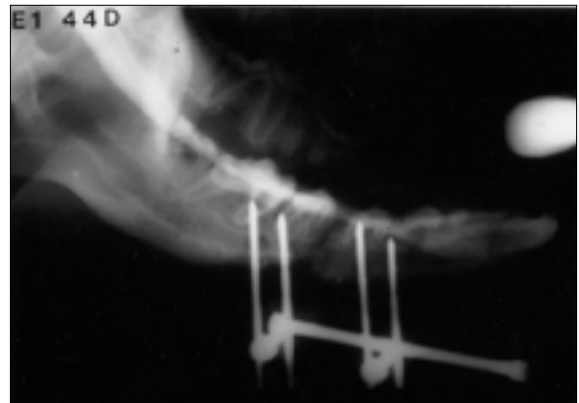


Fig. 4

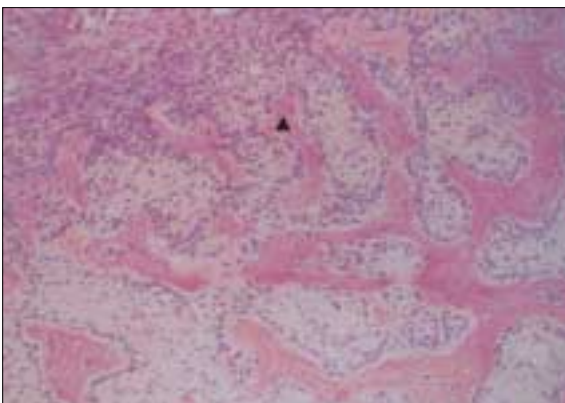


Fig. 5



Fig. 6

Legends for Figures

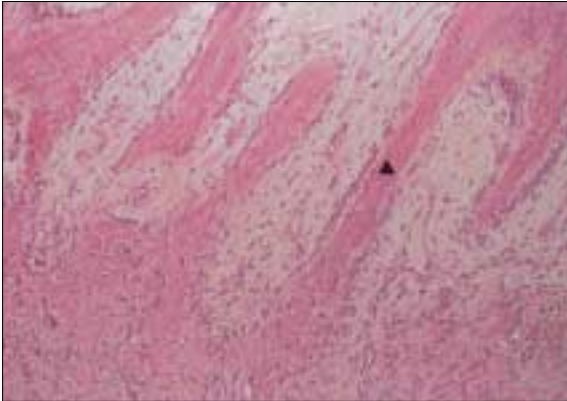


Fig. 7

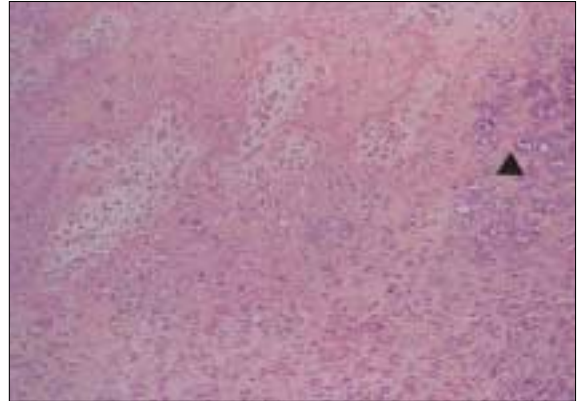


Fig. 8

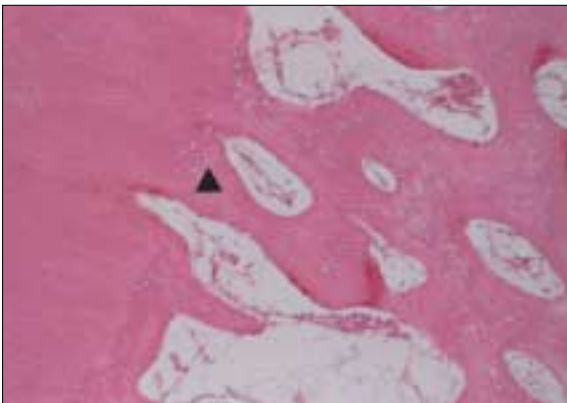


Fig. 9



Fig. 10

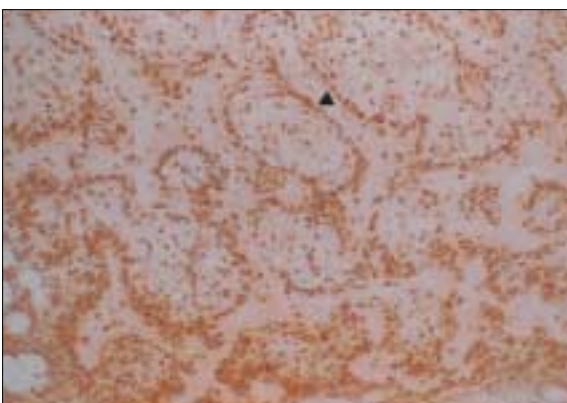


Fig. 11

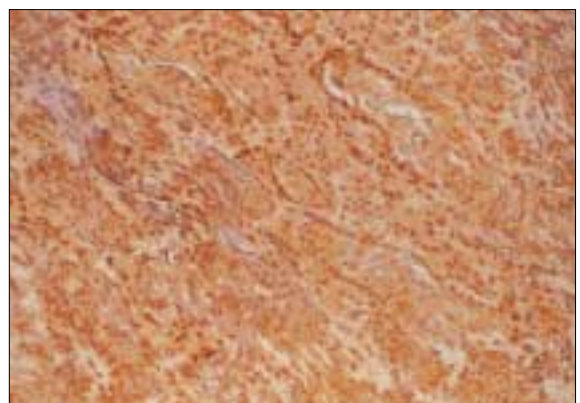


Fig. 12