

성견에서 하악골 신장술 후 하악과두 연골의 조직학적 변화와 Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2)와 Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-2 (TIMP-2)의 발현

변준호 · 박봉욱 · 조영철* · 성일용* · 손재희** · 김종렬**

경상대학교 의과대학 치과학교실, 경상대학교 건강과학연구원, 경상대학교 생명과학연구원,
*울산대학교 의과대학 치과학교실, **부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract

HISTOLOGICAL CHANGES AND EXPRESSION OF MATRIX METALLOPROTEINASE-2 AND TISSUE INHIBITOR OF MATRIX METALLOPROTEINASE-2 IN THE CANINE MANDIBULAR CONDYLE AFTER DISTRACTION OSTEOGENESIS

June-Ho Byun, Bong-Wook Park, Yeong-Cheol Cho*, Iel-Yong Sung*, Jae-Hee Son**, Jong-Ryoul Kim**

Department of Dentistry, College of Medicine and Institute of Health Science,

Research Institute of Life Science, Gyeongsang National University,

**Department of Dentistry, College of Medicine, Ulsan University,*

***Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Pusan National University*

Purpose : This study was to clarify the changes in mandibular condyle after unilateral mandibular distraction osteogenesis throughout histological changes and expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 (TIMP-2).

Materials & Methods : Intraoral distractors were placed via submandibular incision in 8 dogs. Two unoperated animals served as controls. Distraction was performed five days after osteotomy as a rate of 0.5 mm twice per day for 10 days. Two animals were sacrificed on 7, 14, 28, and 56 days after completion of distraction, respectively. Ipsilateral condyles were harvested and processed for histological and immunohistochemical examinations.

Results : The condyle cartilage is separated into four layers: fibrous layer, proliferative layer, hypertrophic layer, and calcified layer. At 7 days and 14 days after distraction, the condylar cartilage showed the decreased thickness of the articular cartilage and reduced cellularity. At 28 days after distraction, there was an increase in cellularity of fibrous, proliferative, and hypertrophic layer. However, it demonstrated reduced cellularity compared to the control. At 56 days of after distraction, the articular cartilage was an almost normal histologic structure. Positive Safranin-O staining, indicative of sulfated proteoglycans, was examined in the condylar cartilage of nonloaded control. At 7 days and 14 days after distraction, the sulfated proteoglycans is almost completely depleted from the noncalcified part of the condylar cartilage. At 28 days after distraction, there was an increase in Safranin-O staining intensity. However, the staining intensity of the experimental condyle was weaker than that of the control. At 56 days of after distraction, the condylar cartilage showed almost normal Safranin-O staining pattern. In control condyle, MMP-2 immunostaining was seen in fibrous, proliferative, and hypertrophic layer of condylar cartilage, however, it demonstrated lack of staining in fibrous and proliferative layer. At 7 days and 14 days after distraction, strong MMP-2 immunoreactivity was seen in the fibrous, proliferative and hypertrophic layer of the condylar cartilage. At 28 days after distraction, MMP-2 immunostaining was seen in the fibrous and hyper-

trophic layer of condylar cartilage, however, their immunoactivity was reduced. At 56 days after distraction, MMP-2 immunoreactivity showed almost normal immunostaining pattern. In control condyle, TIMP-2 immunostaining was primarily seen in fibrous and hypertrophic layer of condylar cartilage, however, it demonstrated lack of staining in proliferative layer. At 7 days after distraction, very weak TIMP-2 immunoreactivity appeared in fibrous, proliferative and hypertrophic layer of the condylar cartilage. At 14 days after distraction, weak TIMP-2 immunoreactivity was seen in the fibrous, proliferative and hypertrophic layer of the condylar cartilage. At 28 days after distraction, TIMP-2 immunoreactivity was increased in the fibrous and hypertrophic layer of condylar cartilage. At 56 days after completion of distraction, TIMP-2 immunoreactivity showed almost normal immunostaining pattern.

Conclusions : The results show that short-term outcome of physiologic distraction osteogenesis may lead to degenerative changes in the condylar cartilage. These alterations in the condylar cartilage may be considered as a pressure-related degeneration of the cartilage tissue. However, the long-term results suggest that the condylar cartilage display repair activity after mandibular distraction osteogenesis.

Key words: Condyle, Distraction osteogenesis, Matrix metalloproteinase-2, Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2

I. 서 론

골신장술은 골절단술 후, 점진적인 골조직의 늘림을 통하여 계속적으로 커가는 간격이 새로운 살아있는 골로 채워지는 것으로 긴장-응력 (tension-stress) 법칙에 의한 기계적 신호전달 (mechanotransduction)이 골조직에 대한 증식성, 생합성세포기능을 발현하는 현상이다¹⁻³⁾. 이미 한세기 전부터 골신장술에 대한 보고가 존재하였으나 1950년대 이후 러시아 외과의사인 Ilizarov⁴⁾에 의한 사지 장골의 연골성 골신장술을 통하여 기술적으로 진보된 방법이 제시되었으며 이후 1973년 Snyder 등⁵⁾에 의하여 개의 하악골을 이용한 막내골에 대한 적용으로, 골신장술은 하악골의 기형을 포함한 악안면영역의 기형을 교정하는데 널리 시행되고 있다. 골절단, 잠재기, 신연기 그리고 경화기의 4단계를 거치면서 긴장-응력 효과에 의하여 나타나는 잠재에너지를 통하여 골조직 뿐 아니라 이와 동반하여 피부, 근막, 근육, 인대, 혈관 및 말초신경 등을 포함한 다양한 조직에서도 활발한 조직형성이 일어나며, 연조직에서 나타나는 이러한 적응효과로 더 큰 골격의 이동을 얻을 수 있다. 이러한 골신장술의 악안면영역에 대한 적용과 관련하여 신생되는 골조직 및 인접한 신생혈관신경계등과 연관된 생물학적, 생체학적 원리 등은 다양하게 연구되고 응용되어 오고 있으나, 하악골의 악관절을 포함한 원거리 구조물과 관련된 연구는 그리 많지 않다. 생물학적으로 악관절은 신체의 다른 관절과 마찬가지로 인 유허관절로 관절연골, 유허막, 그리고 유허액 등이 존재

하며, 관절면의 연골세포에 대한 영양공급은 유허액으로부터의 분자 확산에 의하여 이루어진다. 일반적으로 슬관절이나 고관절보다 얇은 연골층을 가지고 있는 하악과두연골은 연골세포와 aggrecan이라 불리는 proteoglycans 복합체와 제1형, 2형, 9형, 10형, 그리고 11형 콜라겐 섬유 및 비콜라겐 단백질 등의 세포외기질성분으로 구성되어 있으며, 조직학적으로는 명확하게 네 개의 층으로 구성되어 있고 하방의 연골하 골과 구분된다. 먼저 최상층은 섬유층으로 관절면에 평행하게 배열하며 치밀하게 구성된 콜라겐 섬유로 구성되어 있고, 하방의 두 층은 연골세포가 일정한 형태로 밀집되어 있는 연골층으로, 상방의 증식층과 하방의 비후층으로 구성되어 있으며, 골과 연접한 네번째 층은 석회화 연골층으로 하방의 연골하 골과 구분된다⁶⁻⁸⁾.

정상적인 연골대사는 다양한 세포의 기질 구성성분들에서의 합성과 분해의 균형으로 이루어지나, 이러한 항상성 균형에 변화가 생길 수 있는 기계적 부하 등이 가해졌을 경우 연골세포는 그들의 대사활성을 조절하여 관절연골이 신체의 변화된 기계적 신호를 만족시킬 수 있도록 그 구조와 구성요소를 변화시킬 수 있으나, 생리적 적응능력을 초과한다면 퇴행성 변화가 발생하여 임상적으로 분명한 장애를 야기시킬 수 있다. 골신장술에서도 악관절에 영향을 미칠 수 있다고 보여지며 골절단으로 분리된 하악골에 전달되는 기계적인 긴장-응력이 관절의 위치, 생리 및 관절연골의 형태학적, 조직학적 요소에 적지 않은 영향을 미칠 수 있다. 이와 관련하여 연골과 기계적인 부하 등에 관한 일부의 연구에서

는 주요 압력부위에 관절연골의 직경감소를 보고한 연구가 있는 반면, 다른 연구에서는 연골의 두께가 증가됨이 보고되는 등, 관절연골에 대한 기계적 부하나 압력 등에 관한 장기적인 결과는 아직 명확히 규명되고 있지 못한 실정이다⁹⁻¹³.

기질금속단백분해효소 (matrix metalloproteinases, MMPs)는 단백분해효소중 세포외기질의 분해에 큰 역할을 하는 것으로 아연 2가 이온의 금속단백분해효소류에 속하며 막형-기질금속단백분해효소 (membrane-type metalloproteinase, MT-MMP)와 stromelysin-3을 제외한 모든 기질금속단백분해효소는 다양한 세포들에서 잠재형으로 합성되어 전효소 (proenzyme) 형태로 분비되고, 일단 활성화되면 광범위한 범위의 기질 파괴성을 나타낸다^{6,14,15}. 이러한 MMP는 상처치유, 혈관신생과 같은 생리적 과정 뿐만 아니라 중앙 침습, 관절 파괴 등과 같은 병적인 과정에서 결합조직의 재형성에 중요한 역할을 한다. 전이성 생쥐 중앙 모델을 통하여 기저막 콜라겐 분해효소로 처음에 언급되었으며, 72-kDa의 젤라틴분해효소 A (gelatinase A)로도 불리는 MMP-2는 MMPs중에서 가장 광범위하게 분포된 효소로 MMP-9와 더불어 여러형의 콜라겐, aggrecan, 그리고 섬유결합소 (fibronectin) 등을 포함하여 광범위한 기질 파괴성을 나타낸다. 연골의 분해 혹은 재형성과정에서 이러한 MMPs의 활성화는 주로 MMPs의 조직저해인자 (tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)와의 복합체 형성을 통한 균형으로 조절되는데 TIMP가 불충분시 세포외기질 분해가 나타나게 된다. 골관절염을 나타내는 관절 연골조직에서는 TIMP-1, TIMP-2 및 TIMP-3의 발현이 증가하나 연골세포에 의해 생성된 MMP의 수준을 저해하기에는 불충분하다는 연구가 보고되었다^{14,16-19}.

현재까지 골관절염이나 악관절 내장증 등과 관련하여 MMP-2의 역할이 일부 보고되고 있으나 생리학적인 하악골 골신장술과 관련하여 과두연골에서 MMP-2와 이의 길항제로 알려진 TIMP-2에 관한 상호관련 연구는 없었다. 그러므로 본 연구에서는 성견을 이용하여 일반적으로 시행되는 생리학적인 하악골 골신장술에서 치유 시기별로 압력-관련 부하에 따른 관절연골의 구조적 형태변화를 연구하였고, MMP-2 및 TIMP-2를 이용하여 관절연골의 생물학적 활성변화를 연구하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

연구에 사용한 동물은 체중 10 kg 내외의 성견 10마리였으며 이중 8마리의 실험군을 통하여 골신장술과 관련된 이환측에서 시기별로 8개의 과두 조직 표본을 제작하였으며 골신장술을 시행하지 않은 2마리의 대조군에서 2개의 과두

조직 표본을 제작하였다. 실험군은 동일한 수술을 하고 그 이후 시기별로 정해진 실험처치를 똑같이 시행하였다.

2. 연구방법

1) 수술방법

체중 1kg당 염산케타민 (Ketalar®, 유한양행, 한국) 10mg과 2% 럽폰 (Rompun®, 한국 바이엘, 한국) 2mg을 근육주사하여 전신마취한 후 통상적인 방법으로 수술부위를 소독하고 에피네프린이 1:100,000의 비율로 섞인 2% 리도카인 (광명제약, 한국)으로 국소마취 하였다. 하악골 우측 하연에 피부절개를 하고 층별박리하여 골막을 노출시킨 뒤, 최소한의 힘, 설측 골막절개로 하악골 골체부를 노출시켰다. 골신장장치 (intraoral distractor, Stryker Leibinger®, Freiburg, Germany)를 위치시켜 제3소구치와 제4소 구치사이 혹은 제4소구치와 제1대구치사이에서 하악 교합면에 수직으로 힘, 설측 피질골 일부를 절단한 다음, 절단선 양쪽에 각각 2개씩의 골신장장치 나사를 서로 평행하게 삽입하고 골신장장치를 결합시킨 후, 피질골 절단을 완전히 하였다. 하치조 신경과 혈관이 손상받지 않도록 조심스럽게 양쪽 골편들을 완전히 분리되게 한 후, 골신장장치를 결합하였다 (Fig. 1). 힘, 설측의 층별봉합을 실시하고 kg당 세파졸린 (Cefazolin sodium®, 유한양행, 한국) 20mg을 하루 2회 근육주사 하였다. 5일간의 잠재기를 부여한 후, 0.5 mm씩 두 번에 걸쳐 하루 총 1 mm의 골신장을 10일간 실시하였고 이후 1, 2, 4 그리고 8주의 경화기에 각각 2마리씩의 실험동물을 희생시켜 8개의 과두 표본을 제작하였으며 골신장을 실시하지 않은 2마리의 대조군 성견에서 2개의 과두표본을 제작하였다.



Fig. 1. Application of distractor at the osteotomized mandible.

2) 조직학적 검사

골신장술 후 1, 2, 4, 그리고 8주의 경화기 후, 각 시기별로 2마리씩을 희생시켜 이환측의 과두부를 채취하고 2마리의 대조군에서 2개의 과두부를 채취하였다. 적출한 과두의 상방부가 손상되지 않도록 조심스럽게 관절원판을 제거하고 10% neutral buffered formalin 고정액에 24시간동안 고정하였으며 조직이 완전히 고정된 후, 5% nitric acid 용액에 약 1주일간 탈회시켰다. 이후 일반적인 조직처리 과정을 거쳐 파라핀 블록을 만들었으며 이를 5- μ m 두께로 수개의 절편을 만들어 Masson Goldner 염색을 통하여 조직학적 관찰을 실시하였다. 표본을 xylene에서 탈파라핀한 후 증류수로 합수를 시키고 hematoxylin에 5분간 핵을 염색시킨 후 적당한 염색 정도를 맞추기 위해 1% HCl-alcohol에서 탈색한 후 10분간 수세하였다. Ponceau-acid fushsin 용액에 5분간 염색하고 0.2% acetic acid 용액에 행구었다. Phosphomolybdic acid-orange G 용액에 2분간 염색하고 다시 0.2% acetic acid 용액에 행구었다. Light green 용액에 5분간 염색하고 0.2% acetic acid 용액에 5분간 행군다. 95%, 95%, 100%, 100% alcohol에 탈수하고 xylene 2단계를 거쳐 청명시킨 후에 balsam으로 봉입하고 현미경 관찰을 하였다. 또한 압력 부하로 인한 과두 연골세포층의 손상을 평가하기 위하여 Safranin-O 염색을 실시하였다.

3) Safranin-O 염색의 평가

Aggrecan이라 불리는 sulfated proteoglycans에 대한 Safranin-O 염색정도를 통하여 과두 연골세포층의 손상을 평가하였다.

4) 면역조직화학검사

보존 상태가 양호한 한개의 파라핀 포매조직을 선택하여 5- μ m 두께로 수개의 절편을 획득한 후, 이러한 절편에서 기질금속단백분해효소-2 및 조직저해금속단백분해효소-2에 대한 면역조직화학염색을 시행하였다. 탈파라핀한 조직절편을 증류수에 수화시킨 후 내 인성 과산화효소를 제거하기 위해 메칠 알콜에 0.3% 과산화수소를 첨가시킨 용액에서 20분간 처리한 다음, 0.01M 인산염 식염수 (phosphate buffered saline, PBS)에서 10분간 3회 세척하고 5% normal horse serum에서 30분간 두었다. 그 후 조직절편을 세척하지 않고 부드럽게 blotting한 후, 1:400으로 희석된 1차 항체인 mouse monoclonal anti-human MMP-2 (Santa Cruz, CA, USA)와 mouse monoclonal anti-human TIMP-2 (Santa Cruz, CA, USA)를 4°C에서 14시간 내지 16시간 동안 적용하였다. 그리고 나서 PBS로 10분씩 3회 세척한 후 2차 항체인 horse anti-mouse IgG (Vector Lab, CA, USA)와 horse anti-mouse IgG

(Vector Lab, CA, USA)을 1: 200으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 각각 적용하였다. 조직절편을 PBS로 10분씩 3회 수세한 다음, 30분전에 미리 만들어 실온에 방치해 놓은 ABC (avidin-biotin horseradish peroxidase complex) 용액 (A:10 μ l, B:10 μ l in 1 ml PBS, Vector lab, CA, USA)을 1시간 동안 적용시켰다. 조직절편을 PBS로 10 분씩 3회 세척한 후, 0.05M Tris-Hcl buffer (pH 7.6)에 0.05% DAB (diaminobenzine, Sigma, St. Louis, USA)와 0.01% 과산화수소 혼합용액에서, 약 10분동안 실온에서 발색반응을 시켰다. 그 후 tris buffer, PBS 및 증류수에서 각각 10분간 순서대로 세척한 후, Harris hematoxylin으로 대조염색을 하고 통상적인 방법으로 그 이후의 과정을 거쳐 Permount (Polysciences, PA, USA)로 봉입하였다.

5) 면역조직화학검사의 평가

MMP-2 및 TIMP-2의 발현은 컴퓨터 시스템을 이용한 영상분석기 (Axioversion 4.3 program, Carl Zeiss, Germany)를 이용하여 양성과 음성을 구분하고 과두 연골 최상방의 섬유층부터 하방의 연골증식층, 연골비후층까지 염색강도 (staining intensity/mm²)를 평가하였다. 대조군 및 실험군의 각 층에서 3개의 영상지역을 채택하여 측정하였고 그 평균값을 구하였으며 각각의 층에서 가장 높은 수치의 염색강도를 나타낸 것을 3으로 하고 각 표본에서의 발현양상은 이에 대한 상대수치를 적용하여 염색강도를 분석하였다.

6) 통계학적 분석

1, 2, 4 그리고 8주의 경화기에서 과두 연골의 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에서 기질금속단백분해효소-2 및 조직저해금속단백분해효소-2의 발현을 대조군 각각의 층에서의 발현도와 Mann-Whitney U test를 통하여 비교, 분석하였으며 유의수준은 p<0.05를 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 연구결과

1. 임상적 평가

일괄절제로 채취된 이환측 과두의 모든 표본에서 관찰된 경화기의 모든 시기에서 탈구 등의 큰 변화는 나타나지 않았고 정상적인 관절원판-과두의 관계를 유지하고 있는 것으로 보였으며 퇴행성 변화는 관찰되지 않았다. 경화기 1주와 2주의 이환측 과두 후방부에 약간의 편평함이 관찰되었으나, 뚜렷한 형태학적 변화는 나타나지 않았다.

2. Masson Goldner 염색을 통한 조직학적 평가

1) 대조군

Masson Goldner를 통한 염색에서 대조군의 정상적인 과두는 전형적인 조직학적 구성 양상을 나타내었다. 최상층의 섬유층은 관절면에 평행하게 배열되어 있는 콜라겐 섬유와 함께 방추형의 세포층으로 구성되어 있었고, 하방의 연골증식층은 약 6-8층의 세포층으로 구성되어 있었으며, 연골비후층은 약 14-17층의 세포층으로 구성되어 있었으며, 석회화 연골층은 하방의 연골하 골과 잘 경계지우며 접촉하고 있었다 (Fig. 2).

2) 실험군

조직학적으로 경화기를 거치는 동안 무혈관성 괴사, 낭종성 퇴화 및 미세골절등의 소견은 관찰되지 않았다. 골신장을 실시한 경화기 1주군의 과두에서는 최상방의 섬유

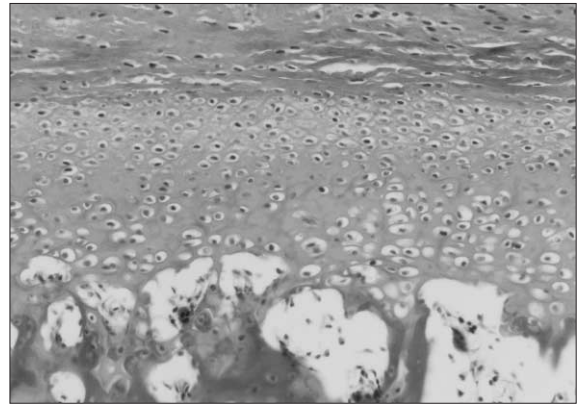


Fig. 2. Histologic appearance of condylar cartilage of nonloaded control. The articular cartilage is separated into four layers: fibrous layer (FL), proliferative layer (PL), hypertrophic layer (HL), and calcified layer zone (CL, Masson Goldner stain, original magnification $\times 200$).

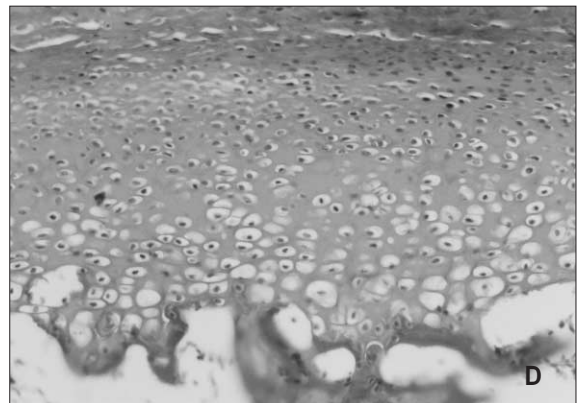
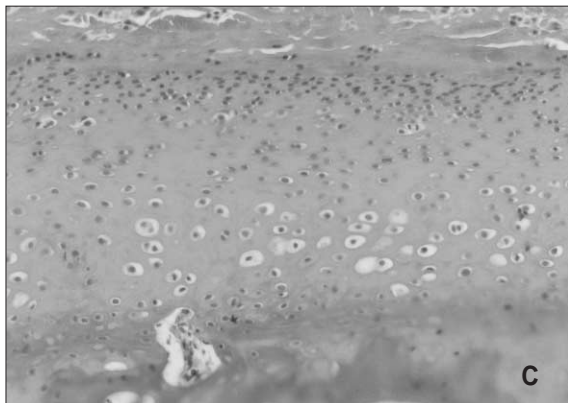
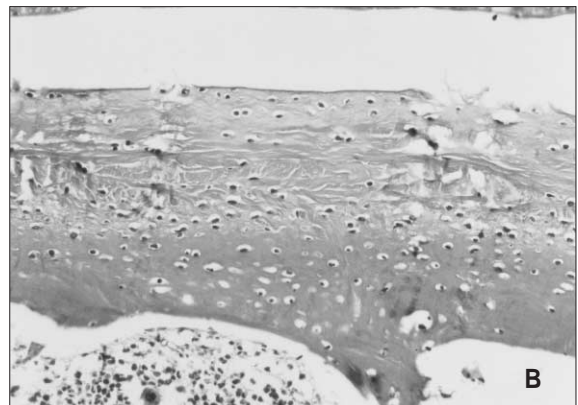
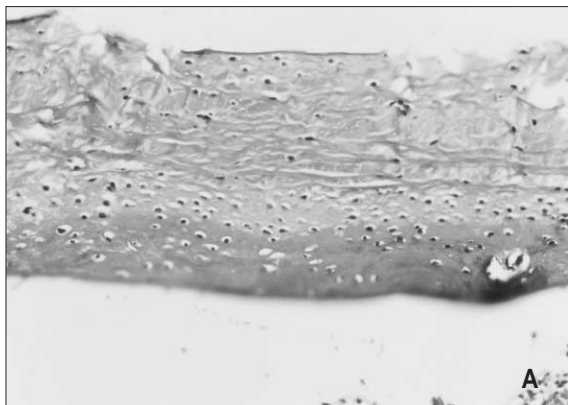


Fig. 3. Histologic appearance of cartilages of experimental condyles (7 days (A), 14 days (B), 28 days (C), and 56 days (D)) after completion of distraction (Masson Goldner stain, original magnification $\times 200$).

(A) and (B) At 7 days and 14 days after distraction, the condylar cartilage showed the decreased thickness of the articular cartilage and reduced cellularity from the fibrous layer to the hypertrophic layer (A and B). (C) There was a significant increase in cellularity of fibrous, proliferative, and hypertrophic layer at 28 days after distraction. However, it demonstrated reduced cellularity compared to the control. (D) At 56 days of after distraction, the articular cartilage showed an almost normal histologic structure.

층을 포함하여 연골증식층 및 연골비후층에서 세포층의 감소와 함께 세포밀도의 저하가 뚜렷이 관찰되었으며, 섬유층 및 연골층에서의 염색성도 정상적인 대조군에 비하여 현저히 저하되었다. 경화기 2주군에서도 연골비후층까지 세포층의 감소와 함께 세포밀도의 저하가 관찰되었으나, 경화기 1주군에 비하여 연골비후층에서는 염색성과 함께 세포층이 어느 정도 증가된 양상을 나타내었다. 4주군에서는 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에서 세포층 및 세포밀도의 증가가 뚜렷하였다. 그러나 연골증식층의 세포들은 대조군에 비하여 약간 무질서한 양상을 나타내었고, 연골비후층의 세포는 다소 크기가 커져 있었으며 대조군에 비해서는 세포밀도의 양상이 다소 부족하였다. 경화기 8주군의 과두에서는 대조군과 유사하게 전형적인 조직학적 양상을 나타내었다 (Fig. 3).

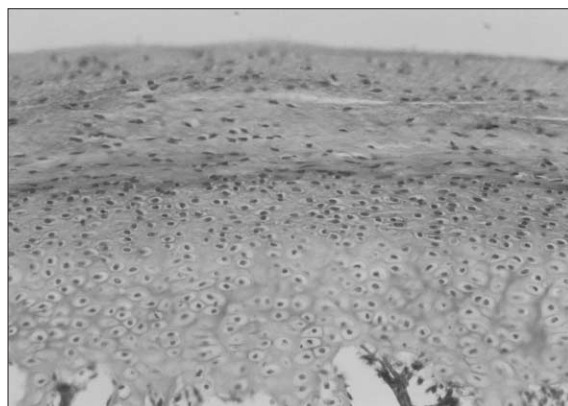


Fig. 4. Normal safranin-O staining of condylar cartilage of nonloaded control (Safranin-O stain, original magnification $\times 200$).

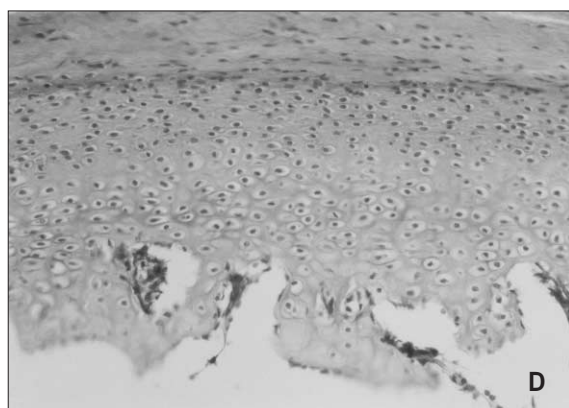
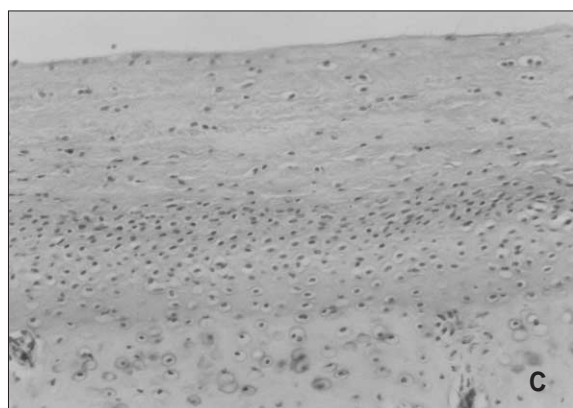
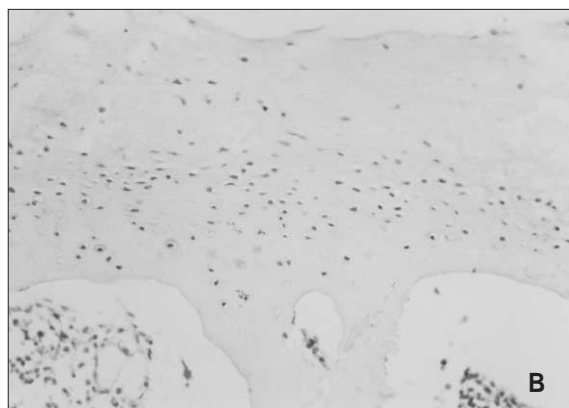


Fig. 5. Safranin-O staining of cartilages of experimental condyles (7 days (A), 14 days (B), 28 days (C), and 56 days (D)) after completion of distraction.

(A) and (B) At 7 days and 14 days after distraction, the sulfated proteoglycans is almost completely depleted from the noncalcified part of the condylar cartilage. (C) There was a slight increase in Safranin-O staining intensity. However, the staining intensity of the experimental condyle was weaker than that of the control. (D) At 56 days of after distraction, the condylar cartilage showed almost normal Safranin-O staining pattern (Safranin-O stain, original magnification $\times 200$).

3. Safranin-O 염색 결과

1) 대조군

관절연골의 sulfated proteoglycans에 대한 Safranin-O 염색에서 대조군의 정상적인 과두는 연골증식층과 연골비후층을 포함하여 뚜렷한 염색소견을 나타내었다 (Fig. 4).

2) 실험군

골신장을 실시한 경화기 1주군에서는 모든 연골층에서 sulfated proteoglycans의 완전한 소실로 염색성이 거의 나타나지 않았다. Masson Goldner를 통한 염색과는 달리 이러한 양상은 경화기 2주군 시기까지 지속되었다. 경화기 4주군에서는 연골증식층과 연골비후층에서 염색성의 회복이 나타났으나 그 양상이 뚜렷하지는 않았으며 경화기 8주군의 과두에서는 sulfated proteoglycans을 지시하는

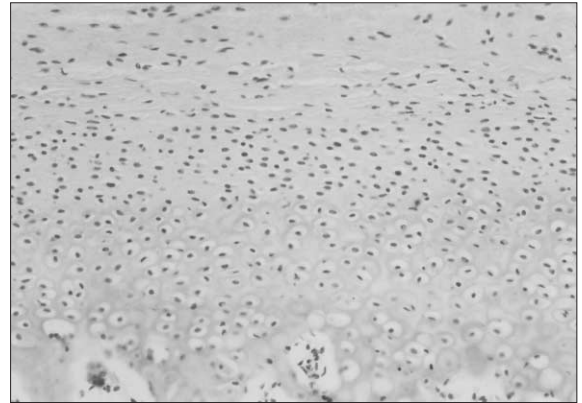


Fig. 6. Representative photomicrographs of staining for matrix metalloproteinase (MMP)-2 in condylar cartilage of nonloaded control. MMP-2 immunostaining was seen in hypertrophic layer of condylar cartilage, however, it demonstrated lack of staining in fibrous and proliferative layer of condylar cartilage (immunohistochemical stain, original magnification $\times 200$).

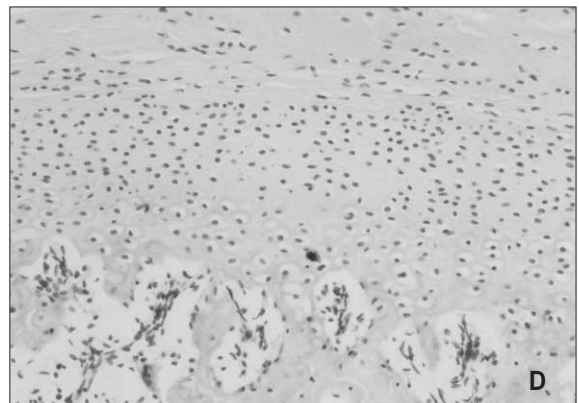
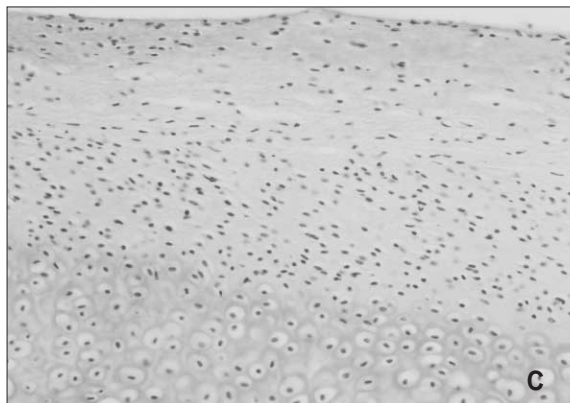
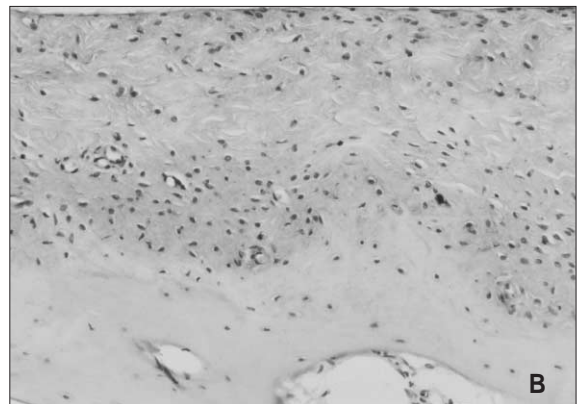
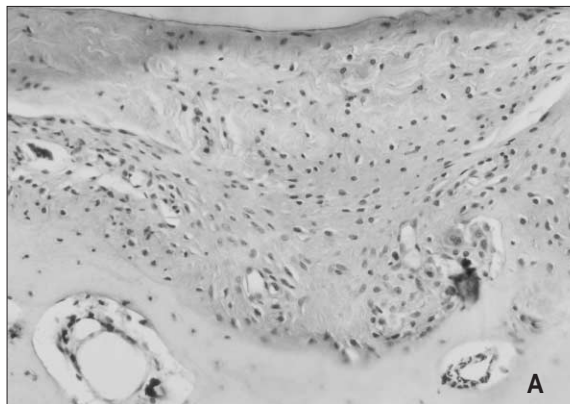


Fig. 7. Representative photomicrographs of staining for matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in experimental condyles (7 days (A), 14 days (B), 28 days (C), and 56 days (D)) after completion of distraction. (A) and (B) At 7 days and 14 days after completion of distraction, strong MMP-2 immunoreactivity was seen in the fibrous, proliferative and hypertrophic layer of the condylar cartilage. (C) At 28 days after completion of distraction, MMP-2 immunostaining was seen in the pericellular matrix of fibrous and hypertrophic layer of condylar cartilage, however, their immunoactivity was reduced. (D) At 56 days after completion of distraction, MMP-2 immunoreactivity showed almost normal immunostaining pattern (immunohistochemical stain, original magnification $\times 200$).

Safranin-O 염색소 견이 대조군과 유사한 양상을 나타내었다 (Fig. 5).

4. 면역조직화학소견

1) Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2)의 발현

골신장술을 실시하지 않은 대조군 과두 연골의 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에서 MMP-2의 발현이 나타났다. 주로 연골세포와 세포간 간질에서 이의 발현이 나타났으나 낮은 발현강도를 보였으며 상대적으로 연골비후층에서의 발현 강도는 다소 높게 나타났다 (Fig. 6). 골신장을 실시한 실험군 과두 연골의 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에 존재하는 연골세포와 세포간 간질에서도 MMP-2의 발현이 나타났으며 경화기 시기별로 다양한 양상을 나타내었다. 경화기 1주군에서는 섬유층, 연골 증식층 및 연골비후층에서 이의 발현이 높게 나타났고 정상적인 대조군에 비하여 특히 과두 표면쪽의 섬유층과 연골증식층에서 발현강도가 뚜렷하였으며 이러한 양상은 경화기 2주군에서도 비슷하였다. 경화기 4주군에서는 MMP-2의 발현강도가 경화기 1주군과 2주군에 비하여 낮게 나타났다. 연골증식층과 연골비후층에서의 발현양상은 대조군과 거의 유사한 정도의 발현강도를 나타내었으나 섬유층에서의 발현강도는 대조군보다 다소 높게 나타났다. 경화기 8주

군에서의 MMP-2 발현은 대조군과 유사한 양상을 나타내었다 (Fig. 7, 8).

2) Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 (TIMP-2)의 발현

대조군 과두 연골의 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에서 TIMP-2의 발현이 연골 세포와 세포간 간질에서 나타났다. 섬유층 표면에서의 발현은 상당히 강하게 나타났고 연골비후층에서의 발현도 강하게 나타났으나 연골증식층에서는 저발현 양상을 나타내었다 (Fig. 9). 골신장을 실시한 실험군 과두 연골의 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에 존재하는 연골세포와 세포간 간질에서도 TIMP-2의 발현이 나타났으며 MMP-2의 발현과 마찬가지로 경화기 시기별로 다양한 발현양상을 나타내었다. 경화기 1주군에서는 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에서 이의 발현은 각층에서 거의 균등하게 상당히 약하게 나타났으며 이러한 양상은 경화기 2주군에서도 비슷하였으나 약간 증가된 염색강도를 나타내었다. 경화기 4주군에서는 TIMP-2의 발현강도가 많이 증가되었다. 특히 섬유층과 연골비후층에서 이의 발현 증가가 뚜렷하였으나 대조군에 비하여 섬유층에서의 발현은 아직 많이 감소된 양상을 나타내었다. 경화기 8주군에서의 TIMP-2 발현은 섬유층에서의 뚜렷한 발현강도를 포함하여 대조군과 유사한 양상을 나타내었다 (Fig. 10, 11).

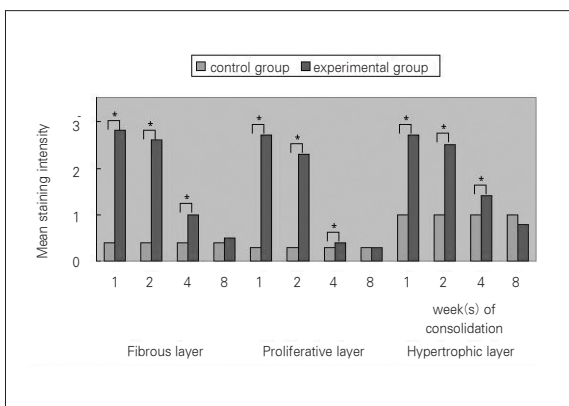


Fig. 8. Mean staining intensity for the matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in control and experimental condyles. An asterisk indicates statistically significant difference ($p < 0.05$ by the Mann-Whitney U test).

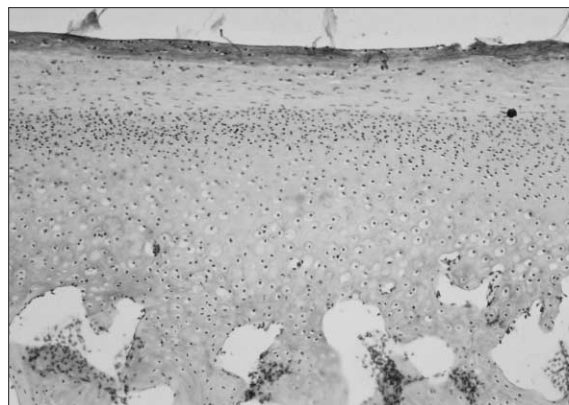


Fig. 9. Representative photomicrographs of staining for tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 (TIMP-2) in condylar cartilage of nonloaded control. TIMP-2 immunostaining was primarily seen in fibrous and hypertrophic layer of condylar cartilage, however, it demonstrated lack of staining in proliferative layer of condylar cartilage (immunohistochemical stain, original magnification $\times 200$).

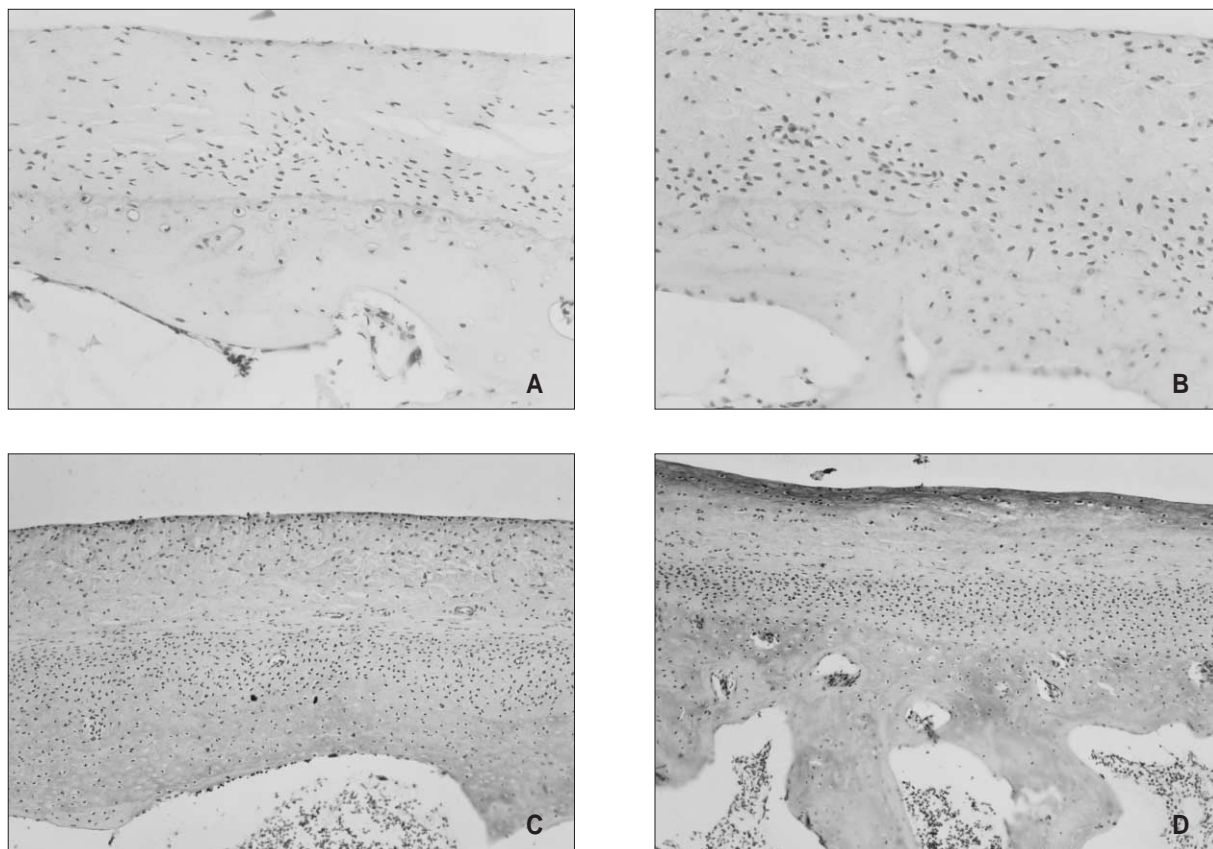


Fig. 10. Representative photomicrographs of staining for tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 (TIMP-2) in experimental condyles (7 days (A), 14 days (B), 28 days (C), and 56 days (D)) after completion of distraktion. (A) 7 days after completion of distraktion, very weak TIMP-2 immunoreactivity appeared in fibrous, proliferative and hypertrophic layer of the condylar cartilage. (B) 14 days after completion of distraktion, weak TIMP-2 immunoreactivity was seen in the fibrous, proliferative and hypertrophic layer of the condylar cartilage. (C) At 28 days after completion of distraktion, TIMP-2 immunoreactivity was increased in the fibrous and hypertrophic layer of condylar cartilage. (D) At 56 days after completion of distraktion, TIMP-2 immunoreactivity showed almost normal immunostaining pattern (immunohistochemical stain, original magnification $\times 200$).

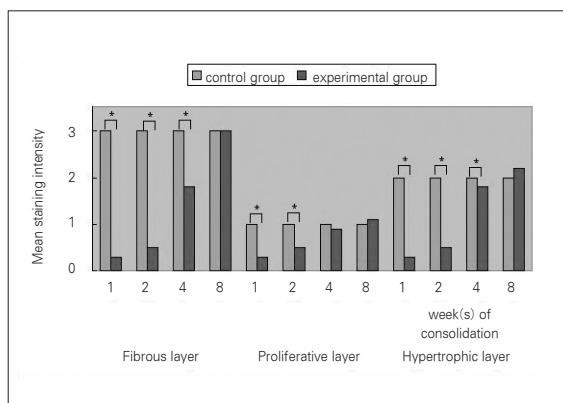


Fig. 11. Mean staining intensity for the tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-2 in control and experimental condyles. An asterisk indicates statistically significant difference ($p < 0.05$ by the Mann-Whitney U test).

IV. 총괄 및 고찰

기계적인 부하하에서 겪는 연골대사의 조절기능이나 반응은 복잡하다. 생리학적으로 관절연골은 마찰이 없는 표면을 가지고 있어 관절에 전달되는 부하의 분산에 용이하고 이에 따른 특이적인 손상은 나타나지 않으며, 연골세포군집의 동화작용과 이화작용의 균형을 통하여 그 구성성과 구조가 유지된다. 연골세포는 신체내 정상적인 부하활동에 의해 나타나는 신호체계를 인지하고 이에 반응할 수 있으며, 성장인자나 사이토카인과 같은 생화학적 요인에 의해서도 그 활성이 조절된다. 생체모델을 이용하여 기계적으로 유도된 세포행태 (cell behavior)에 관한 연구에서, 연골세포는 그들의 표현형을 변화함으로써 기계적인 부하에 반응함이 보고되는 것과 같이, 본래의 생리학적 환경과 다른 상황에서 나타나는 기계적 신호에 대하여 연골세포는 그들의 대사활성을 조절하여 신체에 요구되는 상황을 만족시킬 수 있도록 그 구조와 구성요소를 변화시킬 수 있다. 이러한 관점에서 볼 때 연골세포에 적용되는 기계적 환경은 기능의 보존 및 관절의 안정성과 밀접한 관련성을 가지게 된다^{9,12,20,21}.

최근 악안면 영역의 선천적인 기형, 후천적인 외상이나 질환 등에 의한 골절손상에 긴장-응력 효과를 이용하여 긴장 벡터를 따라 분리된 골편의 중앙부를 향하여 계속적으로 신생골이 형성되는 생물학적 과정인 골신장술이 많이 시행되고 있다. 골신장술에서의 이러한 긴장-응력 효과는 골조직에 의미있는 기계적 신호전달을 산생하여 세포학적, 그리고 저세포학적 수준에서 신생골의 성장과 형성을 용이하게 한다. 골신장에서 중요한 생체학적 고려사항은 기계적 긴장-응력에 의해 전달되는 힘의 형질변환 개념이다. 즉, 골신장에 의하여 악관절에 나타나는 조직변화의 정도는 적용된 골신장 힘의 크기에 의존하게 된다. 이러한 사실과 기계적 신호에 대한 연골세포의 적응력을 고려하여 대체적으로 일반적인 골신장술에서 악관절은 잘 조절된 내성효과를 나타내나 고생리학적 긴장 상황이 유도될 경우 연골층의 손상이 뒤따를 수 있다^{2,22-24}.

압력과 관련하여 관절연골의 장기적인 결과에 대해서는 아직 분명히 알려져 있지 않으며 여러 생물학적인 고려사항이 존재한다. 가토의 무릎관절을 이용하여 연골조직의 압력-관련 퇴행성변화를 연구한 Salter 등²⁰에 의하면 압력조건하에서는 활액으로부터 관절연골로 영양물의 확산이 방해받을 수 있음을 주장하였다. 하지만 이와 반대로 기계적 부하등이 증가된 상황에서 관절연골의 두께가 증가된 보고도 있듯이, 관절면에 적용되는 충격부하는 정수압을 포함하여 장력, 압축, 전단긴장 그리고 전단응력 등의 혼합된 양상을 나타낸다^{9,10}.

악관절은 인체에서 가장 복잡한 관절중의 하나로 일생을 통하여 형태와 역할이 변형과 변화를 거치게 되며 생체학

적, 생물리학적 환경의 변화에 잘 반응한다. 이러한 적응능력과 관련하여, 대부분의 윤활관절이 초자연골로 덮여있는 반면, 하악과두는 비혈관성, 비신경성의 치밀한 섬유연골로 덮여있어 외상이나 퇴행성 변화에 대하여 좀 더 저항성을 나타낼 뿐 아니라 재생에 있어서도 뛰어난 기능적 양상을 나타낸다. 과두의 활성에 영향을 미칠 수 있는 요소들로는 악관절의 내재적 구조내에서의 운동, 연조직막에 의한 운동의 제한성 및 관절면에 적용되는 어떠한 압력과 관련된 부하가 있다. 이러한 압력-관련 부하와 관계하여 골절단으로 분리된 하악골에 긴장-응력을 가하는 골신장술은 과두의 위치, 생리 및 관절연골의 형태학적, 조직학적 요소에 적지 않은 영향을 미칠 수 있다^{6-8,22-24}.

골신장술과 관절연골과의 관계에 대해서는 아직 완전한 이해가 이루어지지 않고 있으나 대체로 생리적 적응능력을 초과하는 긴장-응력 효과는 관절연골의 퇴행성 변화를 일으키며 연골부의 수축 및 침식까지도 유발할 수 있다. 가토모델을 통하여 하악골 신장술에서 신장력에 따른 악관절 연골의 형태학적 변화를 연구한 Kruse-Losler 등²²의 연구에서도 최대한의 신장력이 가해진 군에서 최상층 뿐 아니라 하방의 세포층을 포함하여 관절연골의 모든 층에서 세포층의 수적감소가 나타났음을 보고하며 고압력하에서의 퇴행성 변화는 하방의 세포층에도 나타날 수 있음을 보고하였다. 골신장술과 관련하여 고압력하에서 연골층의 감소는 초자연골을 통한 연구에서도 나타난다. 하지만 골신장과 같이 어떤 부하가 가해지는 상황에서 발생하는 간헐적인 역동성 펌핑은 관절연골 지역에 미세순환전류를 산생하여 연골세포로 혹은 연골세포들로부터 영양물 및 대사산물 등의 전달을 용이하게 할 수도 있다²⁵⁻²⁹.

골신장술과 관련되어 나타나는 관절연골의 변화에 대한 일반적인 평가방법으로는 컴퓨터 단층촬영이나 자기공명영상 등을 통한 방사선학적인 방법이 선호되나, 이는 연골이 심하게 손상된 경우와 같이, 그 변화양상이 뚜렷한 경우에서만 의미있는 결과를 제시한다. 하루에 0.5 mm씩 두 번, 1 mm를 신장하는 일반적인 하악골 신장술에서는 형태적, 기능적으로 하악과두가 적절한 적응반응을 나타내어 장기적으로는 악영향을 미치지 않는다고 알려져 있으나 과두연골에 가해진 기계적 응력과 관련된 연골세포의 변화에 대해서는 아직 완전한 이해가 이루어지지 않고 있는 실정이다. 즉, 하악골 신장술이 과두의 형태나 기능에 어느 정도 영향을 미칠 수 있다는 것에는 많은 학자들이 대체로 동의하나 그 변화정도, 양상 및 시간에 따른 회복정도에 대해서는 아직 확실히 알려진 것이 없다. 그리하여 과두 연골세포의 대사와 밀접한 관련이 있는 세포의 기질 구성성분들의 합성과 분해에 대한 이해가 중요할 수 있으므로 하악골 신장과 관련하여 과두 연골에 대한 연골분해 표지자 및 이의 길항인자의 활용은 의미가 있다^{22-24,30-32}.

정상적인 관절연골에서 연골세포는 aggrecan과 제2형 콜라겐 등의 연골 특이적 세포의 기질 단백질을 합성하여 이화학적, 동화학적 경로의 균형으로 연골 기질의 합성과 분해가 조화를 이루게 된다. 그러나 이러한 항상성은 골관절염과 같은 질환에서 MMP의 합성 및 활성화에 의하여 파괴된다^{6,8)}. MMP는 단백분해효소 중 세포의 기질의 분해에 중요한 역할을 하는 것으로 아연 2가 이온의 금속단백분해효소류에 속하며 interstitial collagenases, gellatinases, stromelysins, membrane-type MMP, 그리고 matrilysin, metallo-elastinases 등의 소그룹으로 분류할 수 있다. Aggrecan의 interglobular domain이 활성화된 stromelysin-1 (MMP-3)에 민감하고, aggrecanase의 기능을 가진 MMP-8과 -13이 aggrecan의 분해에 주된 역할을 하며 제2형 콜라겐을 손상시키는 MMP-1과 제9형, 11형 콜라겐을 분해시키는 stromelysin-1 (MMP-3)이 연골 콜라겐의 파괴에 주된 역할을 한다. 모든 MMP는 잠재형(latent form)으로 합성되어 전효소(proenzyme) 형태로 분비되며 이의 전령 리보핵산(mRNA) 전사는 호르몬, 종양유전자, 성장인자 및 중앙 축진자 등에 의하여 조절된다. MMP들 중에서 가장 광범위하게 분포되어 있는 MMP-2는 MMP-9와 함께 젤라틴분해효소에 속하는 것으로 젤라틴, aggrecan, 섬유결합소 및 제4형, 5형, 7형과 11형 콜라겐 등을 포함하여 광범위한 기질 특이성을 나타낸다. 종양이나 골관절염과 같은 질환에서 이미 이의 강한 발현이 알려져 있다. 악관절 질환과 관련하여서는 Tanaka 등¹⁴⁾이 사체를 이용한 연구에서 악관절 내장증에서 나타나는 섬유연골의 분해에 MMP-2가 중요한 역할을 한다고 하였으며, 또한 양의 모델을 통하여 실험적으로 악관절에 골관절증을 유발시킨 후, 윤활액에서 MMP-2의 역할을 연구한 Miyamoto 등³³⁾에 의하면 MMP-2의 활성은 진행된 골관절증에서보다 질환의 초기에 관절연골의 파괴에 관계하는 것이라고 하였다. 하악과두 관절연골의 주된 콜라겐 형이 제1형과 제2형인 것을 고려하면 MMP-2의 활성이 하악과두 관절연골 손상에 대해서는 특이성이 부족할 것 같으나, 제1형과 제2형 콜라겐 기질 분해에 있어서 MMP-2의 중요한 간접적 역할이 알려져 있다. 즉, 제1형 콜라겐분해에 특이성을 가지는 membrane-type MMP-1의 활성이 MMP-2 존재하에서 상승적으로 증가하며, 제2형 콜라겐과 aggrecan분해에 특이성을 가지는 MMP-13 역시, MMP-2에 의하여 활성화된다. 그러므로 aggrecan이라 불리는 proteoglycans 복합체와 주로 제1형, 2형 콜라겐 섬유로 구성되어 있는 하악과두 섬유연골의 손상시 MMP-2의 활용은 중요한 의미를 가진다고 할 수 있으나 특별히, 하악골 골신장술과 관련하여서는 알려진 것이 거의 없다. 이러한 MMP의 활성은 네 가지의 TIMP-1, 2, 3, 그리고 4에 의하여 조절된다. TIMP는 활성화된 MMP와 이원성 복합체를 형성하거나 잠

재형인 전젤라틴분해효소(progelatinase)와 복합체를 형성하여 MMP의 활성을 저해한다. 이러한 항상성 균형에서 어떠한 변화가 있을 경우 관절연골의 건강한 기능에 영향을 미치게 되며 MMP와 TIMP사이의 불균형이 초래되어 세포외 기질의 파괴가 일어나게 된다. 즉 골관절염을 나타내는 관절연골조직에서 TIMP의 발현도 증대되나 연골세포 및 윤활막세포 등에 의해 생성되는 MMP의 분자량이 TIMP의 분자량을 초과하게 된다¹⁵⁻¹⁹⁾.

현재 하루에 0.5 mm씩 두 번, 1 mm를 신장하는 일반적인 하악골 신장술에서 하악과두는 형태나 기능적인 면에서 큰 변화없이 잘 적응하는 것으로 알려져 있으나, 골신장술이라는 압력-관련 부하에 대하여 그 경화시기에 따른 관절연골 각층의 변화, 각층에서의 MMP-2 발현의 변화 및 TIMP-2에 대한 연구는 없으므로 본 연구를 계획하게 되었다. 본 연구에서 골신장술을 실시하지 않은 악관절의 관절연골의 각층에서도 MMP-2 및 TIMP-2의 발현이 나타났다. 생리적인 골신장을 실시한 후, 경화기 초기에서 조직학적으로 세포층의 감소가 나타났으며 이와 동반하여 연골 세포의 기질 분해 표지자인 MMP-2 발현의 증가와 TIMP-2 발현의 감소도 관찰되었다. 이는 TIMP의 분자량을 초과하는 MMP의 생성시, 연골 세포의 기질의 항상성 불균형이 초래될 수 있음을 확인할 수 있는 것으로, 성견을 이용한 생리학적인 골신장술에서도 일반적인 관절연골의 압력-관련 부하에 따른 연골대사를 관찰할 수 있었다. 경화기가 진행되면서 4주군에서는 MMP-2 발현의 감소와 함께 TIMP-2 발현의 증가가 나타나 골신장술에 따른 관절연골의 대사가 어느 정도 회복되고 있음을 관찰하였으나, 골신장을 실시하지 않은 하악과두와는 달리 그 표층에서는 아직 완전히 구조적으로 회복되지 못함을 관찰하였으며, 경화기 8주에서는 조직학적 변화와 연골대사 표지자의 활성이 정상적인 하악과두와 유사함을 확인하였다.

성견을 이용한 본 연구를 통하여 하루에 0.5 mm씩 두 번, 1 mm/day로 하악골 골신장술을 시행할 경우 골신장술에 따른 긴장-응력 효과가 원거리 부위에 존재하는 악관절의 연골대사에 영향을 미침을 알 수 있었고, 이에 MMP-2와 TIMP-2의 불균형이 관여함을 알 수 있었으며, 특히 경화기 초기에 MMP-2의 과발현과 TIMP-2의 저발현이 나타남을 관찰하였다. 물론 이러한 양상은 가역적으로 경화기가 진행됨에 따라 하악과두 연골은 생리학적인 적응 능력을 발휘함을 관찰할 수 있었다. 그러나 하악골 골신장술을 실시함에 있어서 본 연구결과를 주지할 뿐 아니라, 연골세포 수와 생존성의 전반적인 감소, 기질합성의 감소, 그리고 관절면을 따라 발생할 수 있는 골-관절 병소 양상과 같은 성장 및 연령에 대한 과두연골의 변화 및 적응에 대한 연구도 계속적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

체중 10kg 내외의 1-2세된 성견 10마리를 이용하여 이중 8마리는 실험군으로 하악골 골체부 골절단술후, 5일간의 잠재기를 부여하고 0.5 mm씩 두 번, 하루에 1 mm의 골신장을 10일간 실시하는 일반적인 하악골 편측성 골신장술을 실시하고 골신장 완료후 경화기 1주, 2주, 4주, 그리고 8주에 각각 2마리씩의 실험동물을 희생시켜 8개의 과두 표본을 제작하였으며 골신장을 실시하지 않은 2마리의 대조군 잡종견에서 2개의 과두표본을 제작하여 경화기 각 시기별로 골신장술에 따른 하악과두 관절연골의 구조적 형태를 관찰하고, MMP-2 및 TIMP-2의 발현을 이용하여 관절연골의 생물학적 활성을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Masson Goldner 염색을 통한 조직학적 평가에서 대조군의 정상적인 과두는 과두 표면으로부터 전형적인 4층의 연골층을 나타내었다. 실험군의 과두에서 경화기 1주군에서는 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에서 세포층의 감소와 세포밀도의 저하가 뚜렷이 관찰되었으며 이러한 양상은 경화기 2주군에서도 비슷하였다. 경화기 4주군에서는 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에서 세포층의 증가 양상을 나타내었으나 대조군에 비해서 연골증식층의 세포들은 약간 무질서한 경향을 양상을 보였으며 경화기 8주군의 과두에서는 대조군과 유사하게 전형적인 조직학적 양상을 나타내었다.
2. Safranin-O 염색을 통한 조직학적 평가에서 대조군 관절연골은 연골증식층과 연골비후층을 포함하여 뚜렷한 염색소견을 나타내었다. 실험군의 과두에서 경화기 1주군과 2주군에서는 각층에서 이의 염색성이 거의 나타나지 않았다. 경화기 4주군에서는 연골증식층과 연골비후층에서 염색성의 회복이 나타났으나 그 양상이 뚜렷하지는 않았으며 경화기 8주군의 과두에서는 대조군과 유사한 염색소견을 나타내었다.
3. MMP-2의 발현을 통한 면역조직화학검사서 대조군에서는 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층의 연골세포와 세포간 간질에서 이의 저발현이 나타났다. 골신장을 실시한 실험군 경화기 1주군에서는 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에서 이의 발현이 강하게 나타났으며 특히 대조군에 비하여 과두 표면의 섬유층과 연골증식층에서 발현양상이 뚜렷하였으며 이는 경화기 2주군에서도 비슷하였다. 경화기 4주군에서 이의 발현강도는 경화기 1주, 2주군에 비하여 약화되었으며 특히 연골증식층과 연골비후층에서의 발현양상의 감소가 뚜렷하였으나 아직 모든 층에서 대조군과 통계학적으로 유의한 차이를 나타내었다. 경화기 8주군에서의 MMP-2 발현은 대조군과 유사한 양상을 나타내었다.
4. TIMP-2의 발현을 통한 면역조직화학검사서 대조군에

서는 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층의 연골세포와 세포간 간질에서 이의 발현이 나타났는데 섬유층 표면에서 상당히 강한 발현을 나타내었고 연골비후층에서의 발현도 강하게 나타났다. 골신장을 실시한 실험군 경화기 1주군에서는 섬유층, 연골증식층 및 연골비후층에서 거의 균등하게 저발현양상을 나타냈으며 이러한 양상은 경화기 2주군에서도 비슷하였다. 경화기 4주군에서는 섬유층과 연골비후층에서 이의 발현 증가가 뚜렷하였으나 섬유층에서의 발현은 아직 감소된 양상을 나타내었다. 경화기 8주군에서의 TIMP-2 발현은 섬유층에서의 뚜렷한 발현강도를 포함하여 대조군과 유사한 양상을 나타내었다.

이상의 실험결과로 보아 일반적으로 실시되는 하악골 편측성 골신장술에서 이환측의 과두연골은 그 조직학적 변화양상이 초기에는 퇴행성변화를 띄다가 경화기가 진행됨에 따라 약 56일 후에는 가역적으로 회복됨을 알 수 있었다. 또한 연골 세포의 기질의 대사와 관련된 MMP-2와 TIMP-2의 발현도 경화기 초기에는 MMP-2의 과발현과 TIMP-2의 저발현이 나타났으나, 경화기가 진행됨에 따라 약 56일 후에는 그 발현양상이 가역적으로 회복됨을 관찰하여 하악골 신장술과 관련되어 과두 연골의 생리학적 적응이 회복되었음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Cillo JE Jr, Gassner R, Koepsel RR et al : Growth factor and cytokine gene expression in mechanically strained human osteoblast-like cells: implications for distraction osteogenesis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 90 : 147, 2000.
2. Weiss S, Baumgart R, Jochum M et al : Systemic regulation of distraction osteogenesis: a cascade of biochemical factors. J Bone Miner Res 17 : 1280, 2002.
3. Mofid MM, Manson PN, Robertson BC et al : Craniofacial distraction osteogenesis: a review of 3278 cases. Plast Reconstr Surg 108 : 1103, 2001.
4. Ilizarov GA : 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 Relat Res 238 : 249, 1989.
5. Snyder CC, Levine GA, Swanson HM et al : Mandibular lengthening by gradual distraction. Preliminary report. Plast Reconstr Surg 51 : 506, 1973.
6. Imai K, Ohta S, Matsumoto T et al : Expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase and activation of progelatinase A in human osteoarthritic cartilage. Am J Pathol 151 : 245, 1997.
7. Wei L, Hjerpe A, Brismar BH et al : Effect of load on articular cartilage matrix and the development of guinea-pig osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage 9 : 447, 2001.
8. Teramoto M, Kaneko S, Shibata S et al : Effect of compressive forces on extracellular matrix in rat mandibular condylar cartilage. J Bone Miner Metab 21 : 276, 2003.
9. McNamara JA Jr, Hinton RJ, Hoffman DL : Histologic

- analysis of temporomandibular joint adaptation to protrusive function in young adult rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Am J Orthod* 82 : 288, 1982.
10. Eggli PS, Hunziker EB, Schenk RK : Quantitation of structural features characterizing weight- and less-weight-bearing regions in articular cartilage: a stereological analysis of medial femoral condyles in young adult rabbits. *Anat Rec* 222 : 217, 1988.
 11. Nakamura E, Mizuta H, Takagi K : Knee cartilage injury after tibial lengthening. Radiographic and histological studies in rabbits after 3-6 months. *Acta Orthop Scand* 66 : 313, 1995.
 12. Karaharju-Suvanto T, Peltonen J, Laitinen O et al : The effect of gradual distraction of the mandible on the sheep temporomandibular joint. *Int J Oral Maxillofac Surg* 25 : 152, 1996.
 13. Harper RP, Bell WH, Hinton RJ et al : Reactive changes in the temporomandibular joint after mandibular midline osteodistraction. *Br J Oral Maxillofac Surg* 35 : 20, 1997.
 14. Tanaka A, Kawashiri S, Kumagai S et al : Expression of matrix metalloproteinase-2 in osteoarthritic fibrocartilage from human mandibular condyle. *J Oral Pathol Med* 29 : 314, 2000.
 15. Gepstein A, Arbel G, Blumenfeld I et al : Association of metalloproteinases, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, and proteoglycans with development, aging, and osteoarthritis processes in mouse temporomandibular joint. *Histochem Cell Biol* 120 : 23, 2003.
 16. Liotta LA, Abe S, Robey PG et al : Preferential digestion of basement membrane collagen by an enzyme derived from a metastatic murine tumor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76 : 2268, 1979.
 17. Salo T, Liotta LA, Tryggvason K : Purification and characterization of a murine basement membrane collagen-degrading enzyme secreted by metastatic tumor cells. *J Biol Chem* 258 : 3058, 1983.
 18. Howard EW, Bullen EC, Banda MJ : Regulation of the autoactivation of human 72-kDa progelatinase by tissue inhibitor of metalloproteinases-2. *J Biol Chem* 266 : 13064, 1991.
 19. Goldberg GI, Strongin A, Collier IE et al : Interaction of 92-kDa type IV collagenase with the tissue inhibitor of metalloproteinases prevents dimerization, complex formation with interstitial collagenase, and activation of the proenzyme with stromelysin. *J Biol Chem* 267 : 4583, 1992.
 20. Salter RB, Simmonds DF, Malcolm BW et al : The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg Am* 62 : 1232, 1980.
 21. Meyer U, Meyer T, Wiesmann HP et al : Strain related transdifferentiation of chondrocytes to osteoblast-like cells in distraction osteogenesis. *Calcif Tissue Int* 64 : 97, 1990.
 22. Kruse-Losler B, Meyer U, Floren C et al : Influence of distraction rates on the temporomandibular joint position and cartilage morphology in a rabbit model of mandibular lengthening. *J Oral Maxillofac Surg* 59 : 1452, 2001.
 23. Zou S, Hu J, Wang D et al : Changes in the temporomandibular joint after mandibular lengthening with different rates of distraction. *Int J Adult Orthodon Orthognath Surg* 16 : 221, 2001.
 24. Thurmuller P, Troulis MJ, Rosenberg A et al : Changes in the condyle and disc in response to distraction osteogenesis of the minipig mandible. *J Oral Maxillofac Surg* 60 : 1327, 2002.
 25. van Valburg AA, van Roermund PM, Marijnissen AC et al : Joint distraction in treatment of osteoarthritis (II): effects on cartilage in a canine model. *Osteoarthritis Cartilage* 8 : 1, 2000.
 26. Fink B, Schwinger G, Singer J et al : The effect of tibial lengthening using the Ilizarov method on the cartilage and the menisci of the knee joint. *J Orthop Res* 19 : 665, 2001.
 27. Williams JL, Do PD, Eick JD et al : Tensile properties of the physis vary with anatomic location, thickness, strain rate and age. *J Orthop Res* 19 : 1043, 2001.
 28. Meyer U, Meyer T, Wiesmann HP et al : Mechanical tension in distraction osteogenesis regulates chondrocytic differentiation. *Int J Oral Maxillofac Surg* 30 : 522, 2001.
 29. Zarzycki D, Tesiorowski M, Zarzycka M et al : Long-term results of lower limb lengthening by physeal distraction. *J Pediatr Orthop* 22 : 367, 2002.
 30. Meyer U, Meyer T, Wiesmann HP et al : The effect of magnitude and frequency of interfragmentary strain on the tissue response to distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg* 57 : 1340, 1999.
 31. Bouletreau PJ, Warren SM, Longaker MT : The molecular biology of distraction osteogenesis. *J Craniomaxillofac Surg* 30 : 1, 2002.
 32. Marucci DD, Yu Y, McTavish J et al : Matrix metalloproteinases and their inhibitors in bone remodelling following distraction osteogenesis of the sheep mandible. *J Craniomaxillofac Surg* 30 : 208, 2002.
 33. Miyamoto K, Ishimaru J, Kurita K et al : Synovial matrix metalloproteinase-2 in different stages of sheep temporomandibular joint osteoarthrosis. *J Oral Maxillofac Surg* 60 : 66, 2002.

저자 연락처

우편번호 602-739
 부산광역시 서구 아미동 1가 10번지
 부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실
 김종렬

원고 접수일 2006년 4월 18일
 게재 확정일 2006년 8월 21일

Reprint Requests

Jong-Ryoul Kim
 Dept. of OMFS, College of Dentistry, Pusan National University
 1-10 Amidong, Seogu, Pusan, 602-739, Korea
 Tel: 82-51-240-7434 Fax: 82-51-244-8334
 E-mail: jorkim@pusan.ac.kr

Paper received 18 April 2006
 Paper accepted 21 August 2006