Corrosive Stricture Model Induced-Esophageal Burn : Animal Pilot Data

Min-Tae Kim*

Department of Radiologic Technology, Cheju Halla University

Received: September 28, 2021. Revised: October 20, 2021. Accepted: October 31, 2021

ABSTRACT

The purpose of this study was to access the possibility and ideal model for corrosive-induced tissue hyperplasia in the rat esophagus. Twenty rat were divided into two group: a healthy group, corrosive group. corrosive burn in esophagus were produced using 30% NaOH on the distal esophagus. After surgical procedure, behavioral and weight changes were monitored on a weekly. At 3 weeks after surgical procedure, fluoroscopic esophagogram was performed and then all rats sacrificed for histological analysis by administering inhalable pure carbon dioxide. Technical surgery for corrosive stricture were 100%. A total of 2 rats died in corrosive group from a corrosive burn related to dysphagia within 14 days. The esophageal stenosis ratio was significantly higher in the corrosive group than in the healthy group (40.1 ± 9.2 % and 1.4 ± 7.2%, respectively; p = 0.001). The tissue hyperplasia ratio was also significantly higher in the Corrosive group (62.5 ± 9% and 22.08 ± 6%, respectively; p = 0.001). Infusion of 30% NaOH may suggest alternative option to evaluation tool for preclinical study in a rat corrosive model.

Keywords: Esophageal Stricture, Corrosive Burn, NaOH, Animal Model, Corrosive Stricture

I. INTRODUCTION

부식성 식도 협착은 알칼리성이 강한 부식성 화학물질을 섭취할 경우 식도에 화학적 화상이 발생하여 점막이 손상되고, 조직이 과증식되어 식도가 좁아지게 되는 소화기계 질환 중 하나이다[1-3]. 부식의 정도는 주입된 물질에 따라 손상 정도의 차이가 있으며, 심한 경우 괴사가 근육층 안쪽까지 진행되어 천공을 유발하기도 한다[2,3]. 발생하는 증상으로는 협착을 동반한 연하 곤란증, 출혈, 천공 등의 문제를 야기하며 소화기계의 식이 섭취가 어려워 영양부족 등의 문제가 발생할 수 있다. 부식 물질에 의해 가장 흔히 발생하는 부식성 식도 협착은 수술적 치료 방법과 비수술적 치료 방법이 있으며, 일반적으로 비수술적 치료 방법을 1차적으로 시행하게 된다[2-5].

부식성 식도 협착의 치료 방법 중 풍선확장술은 가장 흔히 시행하게 되는 첫 번째 치료 방법이지만, 시술 후 재협착의 빈도가 많이 발생하게 된다. 천공, 흡인 등 다양한 합병증으로 삶의 질에 악영향을 미친다[2,3]. 또 다른 중재 시술 방법으로 스텐트 삽입술은 식도 협착에서 많이 시행되는 효과적인 중재 시술이지만, 스텐트와 관련된 합병증이 흔히 발생한다[5]. 합병증으로는 이물감, 출혈을 포함하여 스텐트에 의한 재협착, 역류, 천공, 스텐트 이동 등이 있다. 이러한 합병증을 최소화하기 위한 방법으로 약물에 의한 재협착 억제 방법이 대두되고 있다[1,4,5]. 하지만 약물 평가를 위한 동물모델이 제각각으로 효과 유무를 떠나 실제 부식성 식도 협착에 대한 이상적 모델이 먼저 필요하다.

인간의 질병을 가진 동물 모델은 인간과의 유전적, 구조적 차이에도 불구하고 생체 내 시스템과의 다양한 생물학적 작용이 유사하여 질병의 기전 연구와 약물의 유효성 및 안정성 평가 등에 널리 사

* Corresponding Author: Min-Tae Kim E-mail: soir09@naver.com Tel:
Address: 38, Halladaehak-ro, Jeju-si, Jeju-do, Republic of Korea

용되고 있다. 동물모델 중 백서 등의 소동물을 이용한 연구에서는 경부 식도는 경부절개를 통해 손쉽게 접근할 수 있고, 상부 소화기는 모두 동일한 형태와 유사한 기능적 측면에 있어 동일하게 적용할 수 있는 가장 현실적인 동물모델이다. 백서의 식도 절개 및 적절한 NaOH 의 특정 농도를 선택하여 모델 형성을 한다면 다양한 약물 및 의료기기 평가 모델로 활용 할 수 있을 것이다. 따라서 본 연구의 목적은 부식성 식도 협착 모델을 만들어 전임상연구 모델로서의 가능성과 활용성을 알아보고자 한다.

II. MATERIAL AND METHODS

1. Animals

모든 동물실험은 서울아산병원 내 연구 생명 윤리위원회의 승인을 받아 진행되었다 (No. 2017 - 13 - 246). 9주령의 백서 20마리를 각각 10마리씩, 부식성 재료를 사용하지 않은 Healthy group과 부식성 재료(NaOH)를 통한 Corrosive group으로 나누었다.

2. Surgical Procedure

백서 금식 12시간 후 근육하 주사로 50mg/kg zolazepam and tiletamine (Zoletil 50; Virbac, Carros, France)과 10mg/kg xylazine(Rompun; Bayer HealthCare, Leverkusen, Germany)을 투여하여 마취하였다. 중앙 개복술을 실시하였고, 절개 후 원위부 식도 1.5cm 구간을 준비하였다. 입을 통해 원위부 식도 상부에 5 프렌치의 조영 카테터를 배치했다. 위 식도 접합부는 묶여있고 2/0 silk ligature 으로 외부적으로 NaOh 용액이 위 안으로 새어 들어가는 것을 방지했다. 횡경막 바로 아래에 식도를 2/0 silk ligature로 묶어서 역류와 흡수를 막았다. 세척을 위해 공급 카테터를 통해 얇은 카테터를 삽입했다. 그런 다음 얇은 카테터를 통해 30% NaOH 용액 1mL를 90초간 주입하였다.

그 후 용액을 다시 흡입하고 증류수를 사용하여 연소된 부위를 60초간 세척하였다. 주입 및 세척 시 경외압은 식도벽의 약간의 반투명도와 혈관의 분지가 관찰될 때까지 조심스럽게 진행하였다. 근위부 silk ligature을 자르고 카테터를 음압으로 뽑았다. 그리고나서 말단 봉합을 자르고 개복술을 하였다. Corrosive group에 수술 후 3주 동안 매일 1회 0.3mL의 인공위액으로 구성된 용액을 투여했다. Healthy group은 특별한 수술없이 어떠한 치료도 받지 않았다.

3. Fluoroscopic Esophagogram

조영제가 투여된 식도조영술은 시술 후 21일 후에 모든 그룹에서 수행되었다. 식도조영술은 위에서 설명한 것과 동일한 마취법으로 조영제(Ultravist 300; Shering Korea, 안성, 한국)를 사용하여 실시하였다. 협착 비율은 손상되지 않은 근위부 및 원위부 협착부 모두에서 식도의 횡단면을 측정하여 평가되었다. 이 비율은 $\frac{\text{원위부 협착부}}{\text{근위부}}$ 으로 정의되었다

4. Histological Analysis

근위부와 원위부 식도의 협착 부분은 부식성 화상 후 3주 후에 획득하였다. 조직 샘플을 10% 중성 완충 포르말린에 24시간 동안 고정시킨 후 파라핀에 넣은 후 분할하여 H&E 염색하였다. Healthy group도 같은 절차를 거쳤다. 식도 바깥쪽 여백, 내강 부위, 횡단부의 점막하 콜라겐 부위를 둘러싸는 총 면적을 측정하여 과증식 면적 비율을 파악하였다. 이 면적 공식은 $\frac{\text{점막하 콜라겐 면적}}{\text{총면적} - \text{내강면적}}$ 으로 정의되었다.

5. Statistical Analysis

통계는 SPSS (SPSS 22 Version, 미국)를 이용하여 Mann-Whitney U test하였고, 유의성은 0.05 미만에 한하여 유의한 것으로 간주하였다.

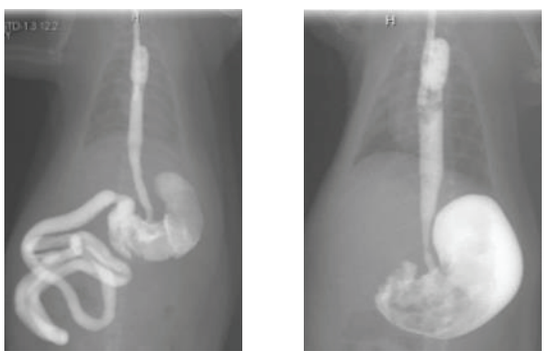
III. RESULT

Corrosive group의 모든 수술적 절차는 성공적이었으나 14일 이내에 부식성 화상에 의한 식이 섭취 어려움으로 2마리가 사망하였다. 그 외 Corrosive group과 Healthy group 내에서의 개체들은 체중적변

화 또는 기타 유관 증상은 따로 나타나지 않았다. 해당 데이터는 본 실험 결과 해석에서 제외하였다.

1. Esophageal stenosis ratio

Healthy group과 Corrosive group의 식도 협착은 Fig. 1과 같다. Healthy, Corrosive group의 식도 협착 비율은 Table 1과 같이 Healthy group은 1.4±7.2%, Corrosive group은 40.1±9.2%로 통계적으로 유의하게 낮았다($p < 0.001$).



(A) (B)

Fig. 1. Fluoroscopic image for Healthy Group (A) and Corrosive Group (B).

2. Histological Finding

Healthy group과 Corrosive group의 식도 과증식은 Fig. 2와 같다. Healthy, Corrosive group의 식도 과증식 비율은 Table 1과 같이 Healthy group은 22.08±6%, Corrosive group은 62.5±9%로 통계적으로 유의하게 낮았다($p < 0.001$).

(A) (B)

Fig. 2. Histological findings for Healthy Group (A) and Corrosive Group (B).

Table 1. Fluoroscopic and Histological Findings

	Group A	Group B	p-value
Esophageal Stricture ratio (%)	1.4±7.2	40.1±9.2	< 0.001
Tissue hyperplasia area (%)	22.08±6	62.5±9	< 0.001

IV. DISCUSSION

본 연구는 소동물 백서에서 NaOH 30% 농도의 부식성 식도 협착 모델 형성의 가능성을 평가하여 부식성 식도 협착 모델로서의 활용성을 확인하였다. 부식성 식도 협착 모델의 형성 정도를 통해 차후 협착 형성 억제 또는 협착 치료를 위한 다양한 약물 및 의료기기 평가에 활용할 수 있는 모델을 개발하고자 하였으며 해당 연구를 통해 백서 식도 협착 및 부식성 식도염에 대한 치료 평가 툴로 사용할 수 있을 것이다.

소아에서 흔히 발생하는 부식성 물질에 의한 식도염에 의한 협착의 경우 수술적 방법 보다는 비수술적 방법인 풍선확장술이나 약물치료의 방법들이 많이 활용되고 있다. 식도의 내막의 부식성 식도염 정도에 따라 협착의 정도가 달라 동물실험하여 형성된 과증식 정도를 기준으로 스텐트 삽입의 적정성을 평가하기는 어려울 수 있으나 항섬유제 유형의 약물치료를 할 경우 식도염 및 식도염에 의한 협착을 억제할 수 있을 것으로 사료 된다[1,5,6].

병리학적으로 염증 등에 의한 조직 과증식은 많은 혈관들이 재형성을 동반하며 발생하는 것으로 알려져 있다[7,8]. 본. 연구에서 부식성 식도염에 의한 조직 과증식 비율은 정상군 대비 약 40% 정도였다. 본 연구의 조직 과증식에 의한 협착 정도는 실제 임상에서 부식성 식도 협착 치료를 위한 전임상 연구 모델로서 활용성이 적절할 것으로 보인다. 물론 일부 개체의 경우 부식성 식도염에 의한 식이 섭취 어려움으로 무게 감소 후 사망한 경우가 존재하였으며 이러한 모델 제작에 있어서 발생하는 합병증의 경우 보다 적절한 NaOH 농도에 대한 연구 필요성이 있을 것으로 보인다.

본 연구는 전임상 평가연구를 위한 동물모델 형성이란 점에 의의가 있으며 대동물에 비하여 실제

사람과 유사한 대동물 실험의 형태는 아니나 소동물에서만 시행 가능한 항체를 이용한 조직병리학적 평가분석이 가능하다[7]. 본 연구는 약물치료라는 부분에 중점을 두고 모델 제작을 하여 가능성과 활용성을 판단하였다. 그럼에도 불구하고 본 연구의 제한점이 있다. 첫째, 파일럿 사전실험이라는 부분에서 개체의 수가 다소 적어 비모수 검정방법을 사용하여 통계적 의의가 다소 떨어진다. 둘째, NaOH의 다양한 농도에 대한 평가 방법을 시행하지 않았다. 본 연구는 기존의 문헌들을 통해 적절 농도에 대한 방안을 모색하였으나 조직형성에 대한 차이는 없으며, 부식성 식도염에 의한 사망률의 차이가 있는 것으로 확인하였다[9,10]. 이러한 제한점이 있으나 기술적 방법과 임상적 형성 결과가 실제 임상에서 활용 가능한 사전적 데이터로서 가치가 있을 것으로 보인다. 결론적으로 30% 농도의 NaOH를 이용한 백서 부식성 모델은 전임상 연구 평가 툴로서 다양한 부식성 식도 협착 치료 전임상 연구를 수행할 수 있을 것이라 사료된다.

Acknowledgement

This work This work was supported by the National Research Foundation of Korea(NRF) grant funded by the Korea government(MSIT) (NRF-2019R1F1A1040357).

Reference

[1] V. Yukselen, E. Vardar, O. Yukselen, A. O. Karaoglu, C. Yenisey, O. Ozutemiz, "Colchicine in experimental alkaline burns of the rat esophagus: an old drug, a new indication?", Pediatric Surgery International, Vol. 22, No. 4, pp. 363-368, 2006. http://dx.doi.org/10.1007/s00383-006-1644-5

[2] J. H. Kim, H. Y. Song, H. C. Kim, J. H. Shin, K. R. Kim, S. W. Park, H. Y. Jung, G. H. Lee, S. I. Park, "Corrosive esophageal strictures: long-term effectiveness of balloon dilation in 117 patients", Journal of Vascular and Interventional Radiology, Vol. 19, No. 5, pp. 736-741, 2008. http://dx.doi.org/10.1016/j.jvir.2008.01.015

[3] H. Y. Song, Y. M. Han, H. N. Kim, C. S. Kim, K. C. Choi, "Corrosive esophageal stricture: safety and effectiveness of balloon dilation", Radiology, Vol. 184, No. 2, pp. 373-378, 1992. http://dx.doi.org/10.1148/radiology.184.2.1620830

[4] Özkan Herek, Murat Karabul, Çiğdem Yenisey, Muhan Erkuş, "Protective effects of ibuprofen against caustic esophageal burn injury in rats", Pediatric Surgery International, Vol. 26, No. 7, pp. 721-727, 2010. http://dx.doi.org/10.1007/s00383-010-2618-1

[5] J. H. Kim, H. Y. Song, J. H. Park, H. J. Yoon, H. G. Park, D. K. Kim, "IN-1233, an ALK-5 inhibitor: prevention of granulation tissue formation after bare metallic stent placement in a rat urethral model", Radiology, Vol. 255, No. 1, pp. 75-82, 2010. http://dx.doi.org/10.1148/radiol.09090670

[6] E. J. Chung, "Development of Artificial Substitutes for Upper Digestive Tract: Personal Experience of Trials and Errors", Korean Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Vol. 62, No. 12, pp. 675-680, 2019. http://dx.doi.org/10.3342/kjorl-hns.2019.00710

[7] M. T. Kim, "A Mouse Colon Model to Investigate Stent-induced Tissue Hyperplasia", Journal of the Korean Society of Radiology, Vol. 14, No. 4, pp. 439-445, 2020. https://doi.org/10.7742/jksr.2020.14.4.439

[8] Y. C. Heo, D. K. Han, M. T. Kim, "Therapeutic effect of local photothermal heating of gold nanoparticle-coated self-expandable metallic stents for suppressing granulation tissue formation in the mouse colon", PLOS ONE, Vol. 16, No. 4, pp. 0249530, 2021. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249530

[9] F. Larios‐Arceo, G. G. Ortiz, M. Huerta, C. Leal‐Cortés, J. A. Saldaña, O. K. Bitzer‐Quintero, S. Rodríguez‐Reynoso, "Rodríguez-Reynoso S. Protective effects of melatonin against caustic esophageal burn injury in rats", Journal of Pineal Research, Vol. 45, No. 2, pp. 219-223, 2008. http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00562.x

[10] P. Gehanno, C. Guedon, "Inhibition of experimental esophageal lye strictures by penicillamine", Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery, Vol. 107, No. 3, pp. 145-147, 1981. https://doi.org/10.1001/archotol.1981.00790390011004

NaOH 용액을 이용한 부식성 식도 협착 동물모델 형성에 관한 연구

김민태

제주한라대학교 방사선과

요 약

본 연구의 목적은 부식성 식도 협착 모델을 만들어 전임상연구 모델로서의 가능성과 활용성을 알아보고자 한다. 20마리의 백서를 Healthy group / Corrosive group으로 나누고, 부식성 화상은 하부 식도에 30% NaOH를 사용하여 모델링하였다. 수술 후 행동 및 체중 변화를 매주 모니터링했습니다. 수술 후 3주 뒤에 식도조영술을 시행한 후 모든 쥐를 안락사 희생시키고 병리학적 분석을 위해 하부식도를 파라핀블럭 제작하였다. 부식성 협착에 대한 기술적 성공은 100%였습니다. 총 2마리의 백서가 연하곤란과 관련된 부식성 화상으로 Corrosive group에서 14일 이내에 사망했다. 식도 협착 비율은 Corrosive group이 Healthy group보다 유의하게 높았다(각각 40.1 ± 9.2% 및 1.4 ± 7.2%; p = 0.001). 조직 증식 비율도 Corrosive group에서 유의하게 더 높았다(각각 62.5 ± 9% 및 22.08 ± 6%; p = 0.001). 결론적으로, 30% 농도의 NaOH를 이용한 백서 부식성 모델은 전임상 연구 평가 툴로서 다양한 부식성 식도 협착 치료 전임상 연구를 수행할 수 있을 것이라 사료된다.

중심단어: 식도 협착, 부식성 열상, 수산화나트륨, 동물 모델, 부식성 협착

연구자 정보 이력

	성명	소속	직위
(단독저자)	김민태	제주한라대학교 방사선과	교수