설 절제술 후 구강기 연하장애 동물 모델 개발

김민지 · Ho Minh Tri · 김정미 · 최미은 · 김영모 · 최정석 · 김지원

인하대학교 의과대학 이비인후과학교실

Novel Animal Model of Oral Dysphagia Following Hemiglossectomy

Min Ji Kim, M.D., Ho Minh Tri, M.D., Jeong Mi Kim, Ph.D., Mi Eun Choi, M.S.,
Young-Mo Kim, M.D., Ph.D., Jeong-Seok Choi, M.D., Ph.D., Ji Won Kim, M.D., Ph.D.

Department of Otolaryngology, Inha University College of Medicine, Incheon, Korea

Objective: This study aimed to establish an animal model of oral dysphagia for translational research purposes.

Methods: Four week old C57BL/6 mice were randomized to a surgical partial glossectomy group (horizontal resection, n=13 vs. vertical resection, n=15) and a nonsurgical group (control, n=7). The survival rate, mouse weight, amount of food, and water consumption were compared. Comparisons were made using a Kruskal Wallis test, and survival was analyzed using Kaplan-Meier method.

Results: Eleven of the 13 (84.6%) horizontal resection animals and 11 of the 15 (73.3%) vertical resection animals survived to the study endpoint. Compared to the non-surgical control mice, the mice that had undergone a horizontal and vertical resection had a significantly lower mean body weight ($P<0.05$) during experimental day (ED) 5, with the greatest dysphagia observed in ED 2. The horizontal resection-type mice showed greater mean body weight loss and food consumption in the early stages of the experiment than the vertical resection-type mice. In contrast, the horizontal resection-type mice showed greater body weight gain and food consumption in the late stages of the experiment.

Conclusion: This study provides novel evidence that the proper timing for an animal model of oral dysphagia was within ED 5; severe dysphagia was observed in ED 2. The horizontal-type partial glossectomy had a better survival rate than the vertical-type model. Furthermore, the prolonged dysphagia model mimics the vertical resection-type mice. (JKDS 2021;11:9-14)

Keywords: Animal model, Dysphagia, Oral

서론

연하는 여러 근육들과 신경들의 조화로운 조절에 의해 구강으로부터 인두를 거쳐 식도로 진행되는 일련의 생리적 과정으로, 그 중 구강기 연하 과정은 음식을 구강에서 인두로 보내는 과정으로 혀의 움직임이 가장 중요한 역할을

을 담당한다¹.

구강 · 구인두 연하장애는 알츠하이머 치매, 파킨슨병, 뇌졸중, 혹은 두경부 질환의 수술이나 방사선 치료 후, 신경학적 질환 등 다양한 원인에 의해서 발생할 수 있다². 특히 구강암의 편평 상피세포암(squamous cell carcinoma)은 두경부암의 90% 이상을 차지하며 그 중에서도 혀에

투고일: 2020년 5월 6일, 심사일: 2020년 5월 6일, 게재확정일: 2020년 7월 8일
책임저자 : 김지원, 인천시 중구 인항로 27
(22332) 인하대학교 의과대학 이비인후과학교실
Tel: 032) 890-2817, Fax: 032) 890-3580
E-mail: hopefuljw@gmail.com

Copyrights © The Korean Dysphagia Society, 2021.

가장 흔하게 나타나며, 수술적 치료가 표준 치료법으로 확립되어 있다^{3,4}. 그러나 수술적 치료 후에는 발음, 삼킴, 저작 운동 등의 기능적 문제가 발생할 수 있으며 이는 수분 및 영양소 섭취를 감소시켜 적절한 중재가 이루어지지 않을 경우 영양 실조와 탈수를 초래하게 될 수 있으며 환자의 삶의 질에 심각한 영향을 초래할 수 있다⁵⁻⁸. 이러한 기능적 문제들은 수술적 절제 위치 및 범위, 남은 혀의 기능, 재건 방법 등에 따라 영향을 받기 때문에 수술적 치료 이후 기능적 결과에 대해 관심을 갖고 이에 관한 연구들이 보고되고 있다⁹⁻¹².

본 연구에서는 부분 설 절제술 후 발생 가능한 구강기 연하 장애의 병태 생리를 이해하고 치료 방법이나 그 효과를 평가하기 위한 구강기 연하장애 동물 모델을 개발하고자 하였으며, 부분 절제 방법에 따른 연하의 영향을 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

C57BL/6 종 암컷 쥐 35마리(체중: 20 g)를 무작위로 3 그룹으로 분류하여 수술 방법을 달리하였다(수평 절제 13마리, 수직 절제 15마리, 비수술 대조군 7마리). 구강기 연하장애 개발 동물 실험은 동물실험윤리위원회의 가이드라인을 따라 시행했고 실험 계획서는 본원 동물 실험 윤리위원회의 승인을 받았다(INHA 191104-667).

2. 연구 방법

설암의 가장 호발하는 부위는 측면부이며 그 다음으로 는 전방 2/3에 호발한다¹³. 임상적으로 설암 수술시 부분 설 절제술 시행 후 일차 봉합을 시행하는데 이때 수평(혀의 전후 부분을 연결하여 봉합) 또는 수직(혀의 배면과 구강저부를 봉합)모양의 봉합을 시행한다. 본 동물 실험에서는 봉합 대신 절제 방법을 달리함으로써 부분 설 절제술

후 구강기 연하 장애를 모사하려고 하였다. 부분 설 절제술을 수평 또는 수직으로 시행한 군과 수술을 시행하지 않은 대조군을 포함하여 세 그룹의 연하장애 정도를 평가하였다. 혀 침부를 기준으로 약 3.6 mm 부분을 수평으로 부분 설 절제술을 시행하였으며, 혀 침부를 기준으로 6 mm 부분 및 혀의 정중면을 따라 수직으로 부분 설 절제술을 시행하였다. 절제된 혀는 수평으로 부분 설 절제술을 시행하는 경우 3.6 mm*5 mm, 수직으로 부분 설 절제술을 시행한 경우 3*6 mm로 혀의 높이는 동일하다고 가정하였을 때 18 mm²으로 동일한 면적을 갖도록 절제되었다. (Fig. 1A) 수직 또는 수평 절제를 시행 후 지혈제(보스민)를 묻힌 거즈로 압박하여 지혈하였다. 수술 이후 2일째까지 100-300 mg/kg IP (복강주사)하였고, 모든 동물에게 동일한 사료와 물을 제공하였으며, 정해진 시간마다 소비된 사료와 물의 양을 측정 및 체중을 측정하였다. 각 쥐의 케이지는 동일한 온도 및 습도를 유지하였다. 각 군의 하루의 총 소비된 사료 및 물의 양, 몸무게를 각각 합하였으며, 이를 n 수(각 대조군, 실험 군 속하는 쥐의 수)로 나누어 평균값을 구하였다. 실험은 수술 시점을 시작으로부터 12일 후를 실험 종료 시점으로 설정하였으며 동물 실험 윤리위원회의 가이드라인을 따라 안락사를 시행하였다.

3. 통계 방법

통계 분석은 Graph Pad Prism 5 package (GraphPad Software Inc. USA)를 사용하였다. 측정값은 평균±표준오차(SD.: standard deviation)로 표시하였고, 그룹 간 차이를 보기 위해 Kruskal Wallis test를 사용하였다. 각 그룹간 생존율의 차이는 Kaplan-Meier method를 사용하였으며 P value는 0.05 이하를 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

Fig. 1. (A) Schematic illustration, (B) and (C) morphology of vertical and horizontal model in hemiglossectomy, (D) morphology of specimens (left: horizontal, right: vertical model).

결과

1. 생존율

부분 설 절제술을 수평 절제로 시행한 13마리 중 2마리가, 수직 절제한 15마리 중 4마리가 수술 후 2일째에 사망하였으며, 이후 사망은 없었다. 부분 설 절제술을 수직으로 시행한 군의 생존율(11/13, 84.6%)은 수평으로 시행한 군의 생존율(11/15, 73.3%)에 비해 더 높은 것을 확인할 수 있다.(Fig. 2)

Fig. 2. Experimental animal survival. Eleven of the 13 (84.6%) horizontal resection animals and eleven of the 15 (73.3%) vertical resection animals survived to the study endpoint of 12 days. Two (in horizontal group) and four (in vertical) subjects died during 2 days.

2. 구강기 연하장애 평가지표

Table 1은 대조군 및 두 실험 군의 평균 체중 및 먹이 섭취량, 물 섭취량을 보여주고 있다. 쥐의 평균 체중 및 섭취량은 실험 5일째까지는 대조군에 비해 실험군에서 통계학적으로 의미 있는 차이를 보이지 않으나($P < 0.05$) 5일 이후부터는 군간 차이를 보이지 않았다. 쥐의 평균 체중은 초기 2일까지 부분 설 절제술을 시행한 두 군 모두 대조군에 비해 현저하게 감소하였으며 3-5일째 급격한 증가를 보였다. 이후 부분 설 절제술을 시행한 두 군 모두 대조군에 비해 통계학적 큰 차이를 보이지 않으며 부분 설 절제술을 수평으로 시행한 군이 수직으로 시행한 군에 비해 대조군에 근접하게 회복되었다.(Fig. 3A) 평균 사료 섭취량 및 물 섭취량은 부분 설 절제술을 받은 두 군에서 대조군에 비해 초기 2일간 통계학적으로 유의미하게 현저하게 감소되어 있으나 3-5일째에 회복기를 거쳐 대조군과 유사해짐을 확인 할 수 있다.(Fig. 3B, C)

고찰

본 연구는 부분 설 절제술을 시행 후 발생하는 구강기 연하 장애에 대한 동물 모델을 개발하기 위해, 생존율 및 연하장애 정도를 고려하여 최적의 동물 실험 모델 조건을 알아보고자 하였다. 연하란 음식물을 삼키는 동작을 일컫는 말로 구강 단계, 인두 단계, 식도 단계의 3단계로 나뉜다. 구강기에는 혀가 음식 덩어리를 목구멍으로 밀어 넣는 과정으로, 혀는 전후 회전활동을 통해 음식을 위쪽으로

Table 1. Outcomes of control and hemilglossectomy models groups.

Variable	Control	Horizontal	Vertical	P value
Number	7	13	15	
Survival at 12 days	100%	84.6% (11/13)	73.3% (11/15)	0.307
Mean animal weight, g (SD)				
Baseline	18.86 (0.69)	18.92 (0.86)	19.27 (0.88)	0.247
2 days	19.00 (0.58)	14.91 (0.83)	15.00 (1.19)	0.001
5 days	19.29 (0.76)	17.09 (1.30)	18.09 (2.55)	0.009
12 days	19.75 (0.50)	19.33 (0.52)	18.50 (2.74)	0.498
Mean intake during 3 days				
Food consumption				
2 days	4.13 (0.22)	1.12 (0.32)	1.22 (0.99)	0.001
5 days	3.76 (0.22)	5.71 (0.92)	4.60 (0.64)	0.001
12 days	3.67 (0.12)	4.20 (0.32)	4.10 (0.86)	0.136
Water consumption				
2 days	5.72 (0.89)	2.72 (1.35)	4.09 (1.75)	0.002
5 days	5.47 (0.44)	6.52 (0.99)	5.76 (0.66)	0.031
12 days	5.00 (0.11)	5.56 (0.61)	5.28 (1.08)	0.358

Fig. 3. (A) Mean body weight, (B) mean food consumption, (C) mean water consumption during twelve days.

로 이동시키고 연구개와 구개수(uvula)가 역류를 방지하기 위해 비인두를 닫는다. 구강기 연하 장애 발생 시 수분과 영양 섭취가 제대로 이뤄지지 못한다^{5,6}. 구강기 연하 장애를 보이는 ALS (Amyotrophic Lateral Sclerosis) 동물 실험 모델에서도 쥐의 저작 속도(mastication rate), 혀 핥는 속도(lick rate) 감소가 수분 섭취량 및 몸무게와 유의미한 연관성을 갖고 있음이 보고된 바 있다⁷. 이와는 달리 구강 수술 후 발생하는 연하 장애는 수술 직후 발생하며, 수술 부위 및 범위에 따라 결과 및 예후가 다르다. 수술 후 일정 시간이 지난 후 구강 식이를 시작하면서 연하 훈련을 시작하게 되며 이에 적응하기 때문에 추적 관찰하는 기간에 비례하여 연하 기능이 호전된다¹². 임상적으로 조기 설암의 경우 측면에 호발하여 안전연(safety margin)을 갖고 절제한 후 일차 봉합을 하게 되는데, 봉합 방법에 따라 최종적인 혀의 모양이 다르게 보이게 된다. 혀의 전후 부분을 연결하여 봉합할 경우 혀의 전면부의 부피가 부족하며, 혀의 배면과 구강 저부를 봉합할 경우 혀의 측면부의 부피가 부족하다. 본 실험에서는 실험

동물의 특성상 봉합을 시행하지는 못하였으나 전면부 부피 부족은 수평 절제로, 측면부 부피 부족은 수직 모델로 모사하려 하였다.

본 연구에서 수술 방법에 상관없이 수술 후 2일 이내에 평균 먹이 섭취량, 물 섭취량, 평균 체중이 급격히 감소하였으나 그 이후 호전되면서 대조군과 유사한 결과를 보였다. 이는 수술 후 구강기 연하 장애를 보이는 환자들과 유사한 양상으로 연하 기능의 저하는 수술 직후에 가장 그 정도가 크며 일시적으로 식이 및 식음량이 떨어지더라도 수술 2-3일 후 지속적인 식이 및 식음 따라잡기를 통해 적응하며 체중이 호전되는 것을 확인할 수 있었다. 그렇기에 수술 후 발생하는 구강기 연하장애 동물 실험 모델로 이용하기 위해서는 수술 5일 이내가 좋을 것이고, 심한 연하장애(severe dysphagia) 모델은 실험 2-3일에 사용하는 것이 적절할 것으로 사료된다.

수직으로 부분 설 절제술을 시행할 경우 수평으로 시행할 경우보다 상대적으로 높은 사망률을 보였는데, 사망 시기가 모두 실험 2일째 초반에 이루어진 것으로 미루어

보아 사망의 원인은 대부분 지혈 장애로 인하 흡인으로 추정된다. 수직 설 절제술의 경우 수평 설 절제술에 비해 절단 면적은 유사하나 혀뿌리가 포함되어 절제되지 않았어도 혀 뿌리에 가까운 혀 근육이 포함되어 지연성 동맥 출혈이 있을 가능성이 있다. 따라서 구강기 연하장애 동물 모델 실험으로 이용하기 위해서는 생존율을 고려하여 수평 절개 부분 설 절제술을 시행하는 것이 나을 것으로 사료된다.

구강암의 수술적 절제 후 발생하는 연하 장애는 절제하는 위치 및 범위, 크기에 따라 정도의 차이를 보일 수 있으며, 혀 뿌리를 포함하여 절제한 경우 구강 준비 시간 및 구강 전달 시간이 증가하고 인두 전달 시간이 길어짐에 따라 구강 내 잔여물이 증가하기 때문에 연하 장애 발병률이 높으며 수술 후 경관 식이 의존율이 높다고 보고되고 있다¹⁴⁻¹⁸. 본 실험 결과 상대적으로 평균 먹이 섭취량, 평균 물 섭취량, 평균 체중 감소된 결과를 통해 연하 장애 발생률이 혀뿌리 가까이 절제될 시 심한 연하 장애 발병률이 높다는 것을 시사하였고 이는 이전 연구 결과에 부합된다. 또한 부분 설 절제술 시 일차 봉합 시에는 연하 기능을 고려한다면 최대한 혀뿌리 가까운 근육을 보존하는 방법으로 봉합하는 방법이 급성 연하 곤란을 예방할 수 있을 것이라 사료된다.

본 실험에서는 실험 초반엔 수평/수직 절제군 모두에서 체중 저하, 먹이 섭취 저하를 보이다가 실험 5일째부터 서서히 먹이량을 따라 잡고 체중을 회복한다. 하지만, 실험 12일째 수평 절제 부분 설 절제술 동물은 정상 체중에 가깝게 회복하지만, 수직 절제 동물은 먹이 섭취량 증가가 크지 않고 체중도 대조군만큼 회복되지 못하는 결과를 보였다. 이는 설 절제술 후 혀의 재생 조직의 특성에 기인한 것으로 추정되며, 수평 절제의 경우 절제된 전방을 향해 조직이 재생되는 반면, 수직 절제술의 경우 소실된 혀 측면에 재생된 조직이 채워지면서 소실된 쪽으로 혀가 굽으면서 자라나는 특성을 보여, 이는 재생된 혀의 모양이 쥐가 먹이를 핥는 습성과 관련하여 적절한 구강기 연하과정에 영향을 끼쳤을 가능성이 있다. 그러므로 지연성 연하장애 모델의 경우 수직 절개 부분 설 절제술을 할 것을 권고한다.

본 연구가 위와 같이 부분 설 절제술 시행 후 발생하는 구강기 연하 장애의 특징을 반영하는 최초의 동물실험 모델이라는 의미를 가짐에도 몇 가지 한계점을 갖고 있다. 첫번째로는 임상적으로 부분 설 절제술을 시행한 경우, 대부분의 기관에서는 일차적 봉합을 시행하고, 절제 면에 피부 이식을 하기도 하며 일부의 경우만 봉합하지 않고

이차적인 조직 치유를 유도한다. 본 실험에서는 동물 모델의 설 크기가 작아 봉합을 시행할 수 없어 이차적인 조직 치유가 진행되었고 실험 5일 이후 연하장애가 호전을 보이는 이유가 단지 식이 작용을 통해 연하 운동을 시행하게 되고 이에 대한 적응으로 이루어진 것 이외에 절제 부위의 활발한 재생 작용으로 인한 영향을 배제할 수 없다. 두번째는 구강기 연하 장애를 확인하는 지표로 간접적인 평균 먹이 섭취량, 평균 물 섭취량, 평균 몸무게로만 평가하였다는 점이다. 삼킴 과정을 시각화하여 해부학적 또는 생리적인 병변을 확인할 수 있는 비디오 투시 연하 검사(video fluoroscopy swallowing studies)를 통해 쥐의 핥는 횟수, 저작 횟수 등을 직접적인 지표로 확인 가능하나^{2,7}, 본 연구에서는 시행하지 않았기 때문에 이러한 지표와 간접적인 지표 간의 상관관계를 알 수 없다. 마지막으로, 본 연구에서 수술 후 2일째까지 복강내 진통제 주사를 하였지만, 수술 직후 통증으로 인해 구강 섭취가 어려울 수 있다는 것 또한 연하 평가의 한계로 여겨진다. 이러한 한계점을 보완하는 추가적인 연구들이 추후 필요하며, 부분 설절제술 동물실험 모델이 구강기 연하 장애뿐 아니라 인두기 연하장애에까지 확장되어 사용될 수 있는지에 대한 평가가 필요하다. 구강기 연하 장애를 보이는 환자군에서 연하 장애로 인해 감소된 하루 식이 섭취 총량을 유지 및 증가시키기 위해 먹는 시간을 오래하여 보상한다는 보고가 있으며, 절제 범위에 혀뿌리가 포함된 경우 구강 내에서 인두로 음식물이 전달되는 시간이 길어진다¹⁸. 이를 참고하였을 때 연하 장애에 대한 간접적인 지표로 식이 및 식음에 소요되는 시간 또한 고려된 연구가 필요할 것으로 생각된다.

부분 설 절제술 후 발생하는 구강기 연하장애 동물모델의 적절한 시기는 혀 조직 재생 시간을 고려하여 수술 후 5일 이내가 적절하며, 수술 후 2일 이내가 심한 연하 장애 모델로 적절한 시기이다. 생존율을 고려하여 부분 설 절제술은 수직보다는 수평 절제하는 것이 좋으며, 지연성 연하 장애 모델의 경우 수직 절개 부분 설 절제술을 할 것을 권고한다.

ACKNOWLEDGEMENTS

본 연구는 2019년도 대한연하장애학회 대상 연구과제로 채택되어 지원받은 연구비로 진행된 연구결과에 대한 보고입니다.

REFERENCES

1. Park YH. Management of Oropharyngeal Dysphagia. *Korean Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2003;46:997-1004.
2. Kuo P, Holloway RH, Nguyen NQ. Current and future techniques in the evaluation of dysphagia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2012;27:873-81.
3. Bagan JV, Scully C. Recent advances in Oral Oncology 2007: epidemiology, aetiopathogenesis, diagnosis and prognostication. *Oral Oncol*. 2008;44:103-8.
4. Rusthoven KE, Raben D, Song JI, Kane M, Altoos TA, Chen C. Survival and patterns of relapse in patients with oral tongue cancer. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010;68:584-9.
5. Wirth R, Dziewas R, Beck AM, Clave P, Hamdy S, Heppner HJ, et al. Oropharyngeal dysphagia in older persons - from pathophysiology to adequate intervention: a review and summary of an international expert meeting. *Clin Interv Aging*. 2016;11:189-208.
6. Perry L, Love CP. Screening for dysphagia and aspiration in acute stroke: a systematic review. *Dysphagia*. 2001;16:7-18.
7. Lever TE, Gorsek A, Cox KT, O'Brien KF, Capra NF, Hough MS, et al. An animal model of oral dysphagia in amyotrophic lateral sclerosis. *Dysphagia*. 2009;24:180-95.
8. Hsiao HT, Leu YS, Chang SH, Lee JT. Swallowing function in patients who underwent hemiglossectomy: comparison of primary closure and free radial forearm flap reconstruction with videofluoroscopy. *Ann Plast Surg*. 2003;50:450-5.
9. Ji YB, Cho YH, Song CM, Kim YH, Kim JT, Ahn HC, et al. Long-term functional outcomes after resection of tongue cancer: determining the optimal reconstruction method. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2017;274:3751-6.
10. Sun J, Weng Y, Li J, Wang G, Zhang Z. Analysis of determinants on speech function after glossectomy. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007;65:1944-50.
11. Joo YH, Hwang SH, Park JO, Cho KJ, Kim MS. Functional outcome after partial glossectomy with reconstruction using radial forearm free flap. *Auris Nasus Larynx*. 2013;40:303-7.
12. Lee DY, Ryu YJ, Hah JH, Kwon TK, Sung MW, Kim KH. Long-term subjective tongue function after partial glossectomy. *J Oral Rehabil*. 2014;41:754-8.
13. Goldenberg D, Ardekian L, Rachmiel A, Peled M, Joachims HZ, Laufer D. Carcinoma of the dorsum of the tongue. *Head Neck*. 2000;22:190-4.
14. Zuydam AC, Rogers SN, Brown JS, Vaughan ED, Magennis P. Swallowing rehabilitation after oro-pharyngeal resection for squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2000;38:513-8.
15. Nicoletti G, Soutar DS, Jackson MS, Wrench AA, Robertson G. Chewing and swallowing after surgical treatment for oral cancer: functional evaluation in 196 selected cases. *Plast Reconstr Surg*. 2004;114:329-38.
16. Borggreven PA, Verdonck-de Leeuw I, Rinkel RN, Langendijk JA, Roos JC, David EF, et al. Swallowing after major surgery of the oral cavity or oropharynx: a prospective and longitudinal assessment of patients treated by microvascular soft tissue reconstruction. *Head Neck*. 2007;29:638-47.
17. Hirano M, Kuroiwa Y, Tanaka S, Matsuoka H, Sato K, Yoshida T. Dysphagia following various degrees of surgical resection for oral cancer. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1992;101:138-41.
18. Smith JE, Suh JD, Erman A, Nabili V, Chhetri DK, Blackwell KE. Risk factors predicting aspiration after free flap reconstruction of oral cavity and oropharyngeal defects. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2008;134:1205-8.