

기니픽의 전정기관 감각유모세포에 대한 Aminoglycoside의 영향

울산대학교 의과대학 서울중앙병원 이비인후과학교실
장희종·이광선

= Abstract =

The Effect of Aminoglycosides on the Vestibular Hair Cells in Crista Ampullaris of Guinea Pig

Hee-Jong Chang, M.D., Kwang-Sun Lee, M.D.

Department of Otolaryngology, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine

Experimental studies about the effects of various ototoxic drugs were performed by many authors, and among them antibiotic aminoglycoside-related ototoxicity has been widely studied. The histopathology of aminoglycoside ototoxicity has been relatively well described, but still many aspects are remained to be revealed and especially domestic studies are very insufficient. The authors applied small amount of gentamicin(GM) and streptomycin(SM) to the guinea pig through the fenestration of lateral semicircular canal, and sacrificed the animals at 4th and 8th weeks postoperatively.

The authors performed in vivo fixation with 1% osmium tetroxide and post-fixation with modified Karnovsky's fixative. The three semicircular canals were obtained by microdissection. The cristae ampullares were embedded in the Immunobed kit and cut with the thickness of $2\mu\text{m}$ by Reichert-Jung Supercut. The mid-portions of each crista ampullaris were collected and stained with Hematoxylin and Eosin. The mounted slides were analyzed under light microscope with the image analyzer system.

The results are as follow; The distribution of sensory hair cells, especially type I cells showed a tendency to decrease in general, and was statistically significantly reduced in GM 8-week group. The areas of the epithelial layer and sensory cells also showed a tendency to decrease, but not so much extent as the decrease of cell numbers. The distribution and area of supporting cells didn't show a big difference between each group, but showed a statistically significant reduction in GM 8-week group.

In conclusion, the crista ampullaris resulted in the loss of sensory hair and degenerative cell changes after aminoglycoside application. The numbers of hair cell had a decreasing tendency generally. The result of supporting cell reduction in one group should be further discussed. These results are thought to be a useful data for the study of vestibular pathophysiology induced by ototoxic drugs.

Key Words : Ototoxicity, Aminoglycosides, Crista ampullaris, Vestibular hair cell, Guinea pig

I. 서 론

포유동물에서 평형감각의 주된 감각기관은 내이 내의 전정기관이며, 전정(vestibule)의 평형반(macula)과 삼반규관(semicircular canal)의 팽대부위(ampulla) 내에 존재하는 팽대부릉(crista ampullaris)에 말초 감각수용체인 유모세포가 분포한다. 1789년 Scarpa는 내이 말단에서 감각기관을 처음 발견하였고 1858년 Schultze에 의해 전정기관의 감각상피에 대한 개념이 도입되었다^{1,2}. 감각유모세포는 flask형 type I 세포와 cylinder형 type II 세포로 구성되어 있으나 이러한 감각유모세포의 기능에 대해서는 아직까지 정확히 알려지지 않은 점이 많다^{3,4,5,6,7,8}.

이독성 약물로 알려진 항생제, 항암제, 이노제, salicylate 등에 대한 실험적 연구는 그동안 여러 연구자들에 의해 이루어졌으나, 아직 알려지지 않은 부분이 많으며 특히 국내의 연구는 많이 부족한 실정이다. 이독성 약물중 streptomycin이 임상에 도입되면서 aminoglycoside계 약물들에 대한 실험적 또는 임상적 연구가 많이 이루어졌다⁹. Aminoglycoside계 항생제 중 kanamycin, neomycin, amikacin 등은 와우독성이 강하고 streptomycin 등은 전정독성이 강하며, gentamicin, dihydrostreptomycin, tobramycin 등의 약물은 전정 및 와우독성이 비슷하다고 알려져 있다. 이 약물들에 의한 조직병리를 보면 와우에서는 와우기저부의 외유모세포에 손상이 나타나기 시작해서 상부로 진행하게 되며, 전정에서는 삼반규관 내부의 팽대부릉과 구형낭 및 난형낭의 평형반에 존재하는 유모세포에 손상이 나타난다. 이러한 전정유모세포는 1형 및 2형 세포가 모두 손상받지만 1형 세포가 손상에 더 민감하며, 지지세포는 영향받지 않는 것으로 알려져 있다^{9,10}.

저자들은 기니픽(guinea pig)의 외측 팽대부를 통

하여 이독성 약물중 전정독성이 강하다고 알려진 aminoglycoside를 국소투여한 후 이로 인해 유발된 전정감각유모세포의 변화를 광학현미경과 image analyzer system을 이용하여 관찰함으로써, 인체 전정기관에서 이독성 약물에 의한 전정기관의 병태생리를 이해하고자 본 연구를 시행하였다.

II. 대상 및 방법

1. 실험동물

이개반사(Preyer reflex)가 양호한 체중 200-350gram의 기니픽 17마리를 대상동물로 사용하였다.

2. 이독성 약물 투여

Sodium pentobarbital(35mg/kg)로 복강내 마취를 시행한 후 이개의 후상부를 반월상으로 절개하고 유양봉소를 개방하였다. 미세한 drill로 외측 팽대부의 골벽을 원형으로 얇게 갈아 난형의 외림프창(면적 약 0.5mm²)을 만들었다. Streptomycin(1.0g/3.5ml distilled water) 1.43mg 및 Gentamicin(80mg/2ml) 0.2mg에 해당되는 약물 5μL를 직경 1.5mm 크기의 Gelfoam조각에 적신 후 외림프창을 덮고 절개창을 봉합하였다.

3. 방 법

수술후 4주와 8주째에 sodium pentobarbital(35mg/kg)을 복강내로 주사하여 마취한 후 수술현미경 하에서 외이도 후벽을 제거하여 중이강을 열고 등골을 탈구시켰다. 와우각의 침부와 정원창 및 난원창을 미세침으로 개방한 후 1% osmium tetroxide로 국소관류시켜 생체고정하였고 동물을 희생시켜 측두골을 분리한 후 같은 용액으로 2시간동안 침고정



Fig. 1. A cut section of mid-portion of a normal crista ampullaris. The specimen is obtained from the crista of control group(H&E stain, X200).

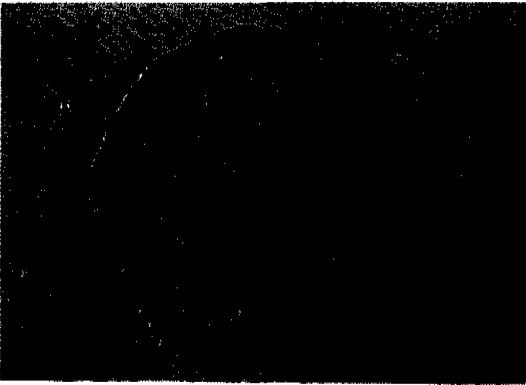


Fig. 2. A crista ampullaris from a guinea pig which was sacrificed at 4th week after streptomycin application. The sensory hairs are reduced in size and number. The hair cells also show cytoplasmic vacuolization and nuclear degeneration(H&E stain, X200).



Fig. 3. The numbers of type I (thick arrows), type II (thin arrows) and supporting cells (arrow heads) are counted using image analyzer system (H&E stain, X400).

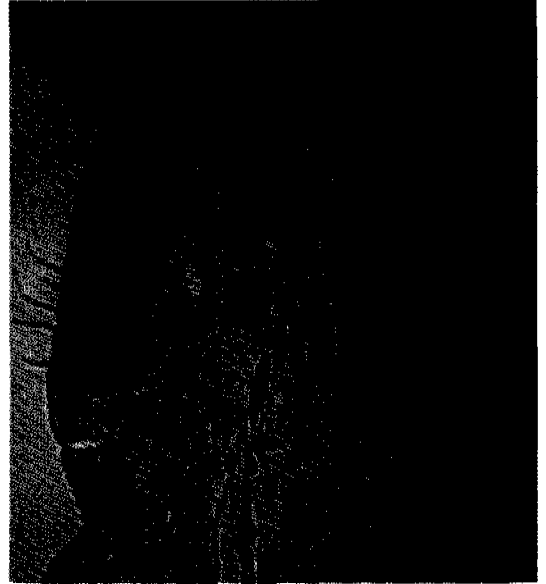


Fig. 4. The area of epithelial layer was calculated using image analyzer system. The measurement area (dark-colored area) was limited to the level of the last sensory cells which have the sensory hairs(H&E stain, X200).

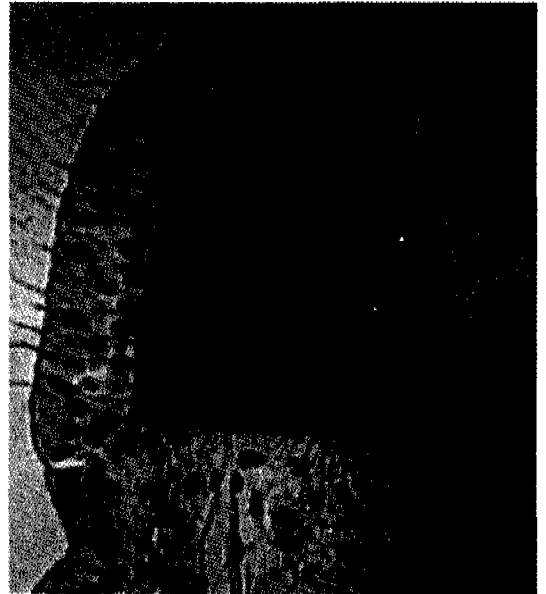


Fig. 5. Measurement of the stromal area. An imaginary line was made from the base level of the last hair cell on a side, to the counterpart on the other side. The stromal area inside of this line (dark-colored area) is being calculated using image analyzer system (H & E stain, X200).

(immersion fixation)하였다. 후고정의 단계로 2% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde 용액(modified Karnovsky's fixative)으로 8-12시간동안 침고정하였다.

고정된 측두골을 0.1M phosphate buffer로 세척한 후 70% ethanol 안에서 수술현미경 하에 한쪽 측두골당 3개씩의 팽대부통을 미세해부를 통해 분리하고 70% ethanol에 보관하였다. 포매의 전단계로써 팽대부통을 70%, 80%, 95%, 100% ethanol에 단계적으로 30분씩 탈수시켰다. 100% ethanol과 침윤액을 1:1로 섞은 용액에 팽대부통을 1시간동안 처리한 후, 4°C에서 침윤액에 24시간동안 처리하였다. Polyscience사의 Immunobed kit를 사용하여 플라스틱 포매를 한 후 건냉상태에서 2-3일간 보관하였다.

포매조직을 입체현미경하에서 조각하여 팽대부통의 축에 맞는 절편이 되도록 다시 고정대에 접착시킨 후 각 팽대부통의 중간부위를 tungsten steel knife와 Reichert Jung Supercut를 이용하여 2 μ m의 두께로 박절하였다. 만들어진 조직 슬라이드를 hematoxylin과 eosin으로 각각 45분 및 15분씩 염색하였다.

4. 분석

투여한 약제와 투여후의 기간에 따라 17마리의 기니피그를 Streptomycin(이하 SM으로 약함)투여후 4주군, Gentamicin(이하 GM으로 약함)투여후 4주군, SM투여후 8주군, GM투여후 8주군의 총 4개군으로 나누었고 약물을 투여하지 않은 반대편 귀의 팽대부통을 대조군으로 이용하였다(Table 1)(Fig. 1). 400배 광학현미경 하에서 1형 및 2형 감각유모세포와 지지세포의 갯수를 측정하였고(Fig. 3), 200배 광학현미경과 image analyzer system (Media-Cybernetics사의 Image-Pro Plus)을 이용하여 전체면적, 상피층과 간질층의 면적, 상피층중 감각유모세포와 지

지세포의 면적 등을 측정하였다. 각 팽대부통의 중간부위에서 3개의 절편을 분석하여 평균치를 산출하였고(Fig. 1, 2), 면적의 측정은 팽대부통의 양측 경사면에서 마지막 유모세포가 존재하는 곳까지의 상피층 내부의 감각유모세포 수와 면적(Fig. 4) 및 양측 마지막 유모세포가 있는 곳을 연결하는 선 내부의 간질층 면적(Fig. 5)을 측정하였다. 대조군과 각 군들간의 통계적 유의성 판정은 nonparametric Mann-Whitney test를 이용하여 검정하였다.

III. 결 과

1. 감각유모세포의 분포

대조군에서 평균 34개로 모든 실험군 들에서 전반적인 감소경향을 보이면서 GM 8주군(4실험군)에서 평균 29개로 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.01$)(Table 2).

감각세포 중 1형 유모세포의 분포는 대조군에서 평균 28개로 다른 실험군 들에서도 전반적인 감소경향과 함께 GM 8주군(4실험군)에서 마찬가지로 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.01$)(Table 3). 감각세포 중 2형 유모세포는 대조군에서 평균 6개로 다른 군들과 비슷하여 실험군들 간에 차이를 보이지 않았다(Table 4).

2. 지지세포의 분포

대조군에서 평균 51개로 각 군들간의 비교에서 큰 차이는 보이지 않았으나 GM 8주군(4실험군)에서만

Table 1. Classification of experimental animals as one control group and 4 experimental groups

Group	No. of animals	Drug & Duration
Control	17	Contralateral ears
Group I	6	SM 4 weeks
Group II	3	GM 4 weeks
Group III	4	SM 8 weeks
Group IV	4	GM 8 weeks

* SM : streptomycin, GM : gentamicin,

#4 : 4 weeks, #8 : 8 weeks

Table 2. Distribution of sensory hair cells in the mid- portions of crista ampullaris

Group	Drug (weeks)	animal	Cell No.	P-value
Control	None	17	34 ± 5	—
I	SM (#4)	6	31 ± 5	0.23
II	GM (#4)	3	32 ± 7	0.21
III	SM (#8)	4	32 ± 4	0.35
IV	GM (#8)	4	29 ± 2	0.007

* SM : streptomycin, GM : gentamicin,
#4 : 4 weeks, #8 : 8 weeks

Table 3. Distribution of type I cells in the mid- portions of crista ampullaris

Group	Drug (weeks)	animal	Cell No.	P-value
Control	None	17	28 ± 3	—
I	SM (#4)	6	24 ± 5	0.15
II	GM (#4)	3	27 ± 6	0.20
III	SM (#8)	4	25 ± 4	0.23
IV	GM (#8)	4	23 ± 1	0.002

* SM : streptomycin, GM : gentamicin,
#4 : 4 weeks, #8 : 8 weeks

Table 4. Distribution of type II cells in the mid- portions of crista ampullaris

Group	Drug (weeks)	animal	Cell No.	P-value
Control	None	17	6 ± 1	—
I	SM (#4)	6	7 ± 1	0.15
II	GM (#4)	3	6 ± 2	0.16
III	SM (#8)	4	7 ± 3	0.30
IV	GM (#8)	4	6 ± 1	0.24

* SM : streptomycin, GM : gentamicin,
#4 : 4 weeks, #8 : 8 weeks

은 평균 46개로 통계적으로 유의하게 감소하였다(p < 0.05)(Table 5).

Table 5. Distribution of supporting cell in the mid- portions of crista ampullaris

Group	Drug (weeks)	animal	Cell No.	P-value
Control	None	17	51 ± 6	—
I	SM (#4)	6	53 ± 8	0.58
II	GM (#4)	3	51 ± 5	0.81
III	SM (#8)	4	49 ± 4	0.28
IV	GM (#8)	4	46 ± 5	0.04

* SM : streptomycin, GM : gentamicin,
#4 : 4 weeks, #8 : 8 weeks

3. 상피층과 간질층의 면적

상피층과 간질층의 면적을 합친 면적은 대조군에서 평균 20,168 μm^2 로써 8주군들(3, 4실험군)에서 비교적 감소하는 양상을 보였으나 통계적 유의성은 없었다(Table 6). 이 총 면적 중에서 상피층이 차지하는 면적과 비율은 대조군에서 평균 10,932 μm^2 및 54.2%로써 역시 8주군들(3, 4실험군)에서 감소경향과 함께 특히 SM 8주군(3실험군)에서 면적 8476 μm^2 와 점유비율 48.7%로써 비교적 의미있게 감소하였다(p = 0.06)(Table 7).

4. 감각유모세포와 지지세포의 면적

상피층 중에서 지지세포를 제외한 감각유모세포의 면적과 비율은 대조군에서 평균 7,101 μm^2 및 65.0%로써 각 군간의 비율은 큰 차이가 없었으나 면적은

Table 6. Area of epithelial and stromal layers in the mid- portions of crista ampullaris measured by image analyzer system

Group	Drug (weeks)	Area(μm^2)	P-value
Control	None	20168 ± 5657	—
I	SM (#4)	20125 ± 5379	0.69
II	GM (#4)	19367 ± 1884	0.68
III	SM (#8)	17410 ± 3456	0.19
IV	GM (#8)	18002 ± 4049	0.42

* SM : streptomycin, GM : gentamicin,
#4 : 4 weeks, #8 : 8 weeks

Table 7. Area and proportion of epithelial layer in the mid-portions of crista ampullaris

Group	Drug (weeks)	Area(μm^2)/(%)	P-value
Control	None	10932 \pm 3489(54.2)	—
I	SM (#4)	10488 \pm 2796(52.1)	0.84
II	GM (#4)	10196 \pm 1046(52.6)	0.77
III	SM (#8)	8476 \pm 2054(48.7)	0.06
IV	GM (#8)	8530 \pm 1744(47.4)	0.11

* SM : streptomycin, GM : gentamicin,
#4 : 4 weeks, #8 : 8 weeks

Table 8. Area and proportion of hair cells in epithelium in the mid-portions of crista ampullaris

Group	Drug (weeks)	Area(μm^2)/(%)	P-value
Control	None	7101 \pm 2333(65.0)	—
I	SM (#4)	6816 \pm 1821(65.0)	0.75
II	GM (#4)	6727 \pm 810(66.0)	0.77
III	SM (#8)	5333 \pm 1135(62.9)	0.06
IV	GM (#8)	5779 \pm 1371(67.7)	0.26

* SM : streptomycin, GM : gentamicin,
#4 : 4 weeks, #8 : 8 weeks

Table 9. Area and proportion of supporting cells in epithelium in the mid-portions of crista ampullaris

Group	Drug (weeks)	Area(μm^2)/(%)	P-value
Control	None	3828 \pm 1355(35.0)	—
I	SM (#4)	3548 \pm 1217(35.0)	0.81
II	GM (#4)	3468 \pm 1183(34.0)	0.68
III	SM (#8)	3144 \pm 1011(37.1)	0.18
IV	GM (#8)	2747 \pm 534(32.3)	0.046

* SM : streptomycin, GM : gentamicin,
#4 : 4 weeks, #8 : 8 weeks

8주군들(3, 4실험군)에서 감소하는 경향을 보였고 특히 SM 8주군(3실험군)에서 면적 5333 μm^2 와 점유 비율 62.9%로써 비교적 의미있게 감소하였다($p=$

0.06)(Table 8).

상피층 중에서 지지세포의 면적과 비율은 대조군에서 평균 3,828 μm^2 및 35.0%로 각 군간의 비율은 큰 차이가 없었으나 면적은 비교적 감소하는 경향을 보이면서 특히 GM 8주군(4실험군)에서는 면적 2747 μm^2 와 점유비율 32.3%로 통계적으로 유의하게 감소하였다($p<0.05$)(Table 9).

IV. 고 찰

이독성 약물의 전정 또는 와우세포에 대한 병리조직학적 연구는 많은 연구자들에 의해 이루어진 바 있다. 그중 Aminoglycoside에 의한 이독성은 1940년대에 결핵치료제로 개발되어 현재까지도 널리 사용되고 있는 streptomycin 등의 aminoglycoside계 항생제에 의한 와우와 전정기관의 영구적인 손상이 보고되면서 많은 실험적 및 임상적 연구가 진행되어 왔다. Aminoglycoside에 의한 조직병리는 streptomycin이 임상에 도입된 직후부터 기술되었다⁹. 와우의 손상은 기저회전부의 외유모세포에 처음 나타나 침부 쪽으로 진행하고 후기에는 내유모세포에까지 손상이 일어날 수 있다. 그외 다양한 정도의 혈관조(stria vascularis)의 위축이 나타난다⁹. Aminoglycoside에 의한 전정기관의 구조적 변화는 팽대부릉과 구형낭 및 난형낭의 평형반에 존재하는 감각유모세포에 주로 나타난다^{9,11}. 1형 및 2형 유모세포가 모두 손상받지만 1형 세포가 손상에 더 민감하며, 지지세포는 영향을 받지 않는 것으로 알려져 있다¹⁰.

Aminoglycoside의 전정독성을 유발하기 위한 약물 투여방법으로는 전신적인 투여방법과, 내이 내로 직접 투여하거나 내이의 근접부위인 중이강이나 외측 반규관을 통해 국소투여하는 방법 등이 있다^{12,13,14,15}. 저자는 외측 팽대부릉을 통하여 약제를 투여하였는데 이는 Shea and Norris¹⁶, Lee and Kimura^{8,17}의 연구결과에서 볼 수 있듯이 전신적인 투여에 비해 보다 말초에 접근함으로써, 미량의 약제로도 전정의 유모세포를 선택적으로 파괴하는 것이 여러 연구에서 보고되었고 따라서 전신투여에 의한 이독성 합병증의 위험을 줄일 수 있을 것으로 생각되기 때문이다. 또한 반대측 귀를 대조군으로 사용할 수 있다는 장점이 있다.

내이의 감각세포에 관한 연구에서 정확한 조직세포의 관찰을 위한 감각유모세포의 고정방법이 중요한 문제점의 하나이다. 저자는 본 교실에서 시행한 경험이 있고, 외림프액과 접하고 있는 감각유모세포를 관찰하는데 가장 적합하다고 알려진¹² 생체고정법을 선택하였다. 이^{2,8,12}에 의하면 감각세포의 감각모나 세포막의 초미세구조에 관한 연구는 osmium tetroxide 단독의 생체고정이 좋고, 감각세포 내의 초미세 구조물이나 지지세포 혹은 분비세포에 관한 연구는 침고정이 효율적이며 전정신경섬유 등의 감각기관의 기저막 하부 구조물에 관한 연구는 심장관류가 적절하다고 보고한 바 있다.

이외에도 정확한 조직표본을 얻기 위한 여러 단계의 처리 과정에서 시행착오나 어려움을 겪게 된다. 저자의 경우에도 포매의 단계에서 침윤액이 잘 굳지 않아 시간이 오래 걸리고 포매조직이 견고하지 않은 경우 2 μ m의 두께로 박절하는데 어려움이 많았다. 또한 가장 어려운 단계의 하나가 포매된 조직을 입체현미경하에서 팽대부릉을 자르려는 축과 방향에 맞도록 조각하여 다시 포매조직에 붙이는 과정이었다. 이러한 점들을 고려하여 본 교실의 과거의 실험에서 유용성이 확인된 실험방법과 시약 등을 사용하였다. Osmium tetroxide는 검은 색으로 세포를 변색시키고 세포 내의 초미세구조를 정확하게 유지하는 장점이 있고², 후고정액으로 사용한 modified Karnovsky 용액도 고정액의 빠른 침투력과 조직의 견고성 유지, 세포질 위축의 방지 등의 장점이 있어^{2,8,12} 골조직으로부터 작은 팽대부릉을 분리하는 과정, 미세박절, 축에 맞도록 조각하는 과정에서 특히 유용성이 높았다. 또한 절편의 방향을 바르게 유지시켜 정확한 조직을 얻기 위한 조각에 있어서 투명도가 높은 플라스틱 포매제계의 선택도 유용하였다.

본 실험의 결과 정상적인 상피층과 감각모를 유지하고 있는 대조군의 팽대부릉(Fig. 1)에 비해 실험군에서는 전반적인 감각모의 감소나 위축의 소견과 함께 세포질의 공포화, 핵농축 등의 퇴행성 변화를 보였다(Fig. 2). 감각유모세포의 초미세적 변화로는 mitochondria의 증창, osmiophilic dense body의 출현, ribosome의 숫적 감소와 세포질의 공포화 및 핵변성 등이 나타난다. 이러한 변화가 심해지면 핵농축, stereocilia의 변성과 함께 세포질의 탈출이 일어

나 결국 세포사에 이르게 된다^{8,9,11,12,13}. 4주와 8주의 약물 투여기간에 따른 차이는 광학현미경 상에서 관찰할 수 없었으며, 일부 실험군에서는 거의 정상적인 형태를 유지하고 있는 조직도 있었다. 육안적으로 1형과 2형 세포를 구분하는 것이 어려운 경우가 있었고 특히 심하게 손상된 조직에서는 세포수와 면적 계산에 있어 오차가 생길 수 있는 가능성이 높았다. 이러한 점을 고려하여 한 개의 팽대부릉에서 3개씩의 조직 슬라이드를 분석한 후 시간적 차이를 두고 동일한 슬라이드를 다시 분석하여 가능한 한 정확한 결과를 얻고자 하였다.

본 연구결과 감각세포의 수가 전반적으로 감소하고 한 군(4실험군)에서는 통계적으로 유의한 감소가 나타나 일정한 경향은 볼 수 있었으나 Kimura와 이 등의 연구결과¹⁷와 같은 정상범위의 60-70% 수준의 현저한 유모세포의 감소는 나타나지 않았다. 이의 보고¹⁷에 의하면 정상 기니픽의 외측 팽대부릉을 통해 streptomycin을 투여한 결과 와우의 감각세포에는 거의 영향이 없이 3개의 팽대부릉과 난형낭에 있는 유모세포를 파괴하였다고 하였다. 100 x 20 μ m의 면적 내에 정상 팽대부릉의 유모세포의 수는 평균 30개이나 streptomycin 투여동물에서는 평균 17-18개, gentamicin 투여동물에서는 평균 15-17개로써 gentamicin에서 더 심한 손상이 일어났으나 통계학적 의미는 없다고 하였다. 본 실험의 결과와 관련하여 비교해 보았을 때 실험방법 및 분석방법이 다소 다르고 표본의 수가 훨씬 작은 점 이외에도 약제의 국소투여시이나 조직의 처리과정에서 차이점이나 오차가 있었을 가능성을 생각할 수 있겠다. 실험과정에서의 비뿔림을 배제하고 정확한 결과를 얻기 위해서는 정확한 수술적 약물투여와 생체고정, 시약의 농도나 처리시간의 준수, 실험수기의 숙달 등이 요구된다 하겠다.

Corwin 등은 조류에서 소음에 의한 세포의 파괴 후 와우감각세포의 재생을 보고하였으며^{13,18}, 양서류나 조류 외에 포유류에서도 전정기관의 감각세포가 재생된다는 연구결과 들이 최근 보고되고 있다. 이에 대한 첫 보고로 1993년 Forge와 Warchol에 의해 aminoglycoside로 인한 손상후 전정기관의 유모세포에 stereocilia bundle이 재출현하는 것이 관찰되었고, 1994년 Lee와 Kimura는 gentamicin 투여 4주

후에 기니픽의 난형반에서 유모세포가 재생되었다는 보고를 하였다^{8,19}. 이의 연구에 의하면 외측 팽대부에 소량의 streptomycin을 투여한 경우 7일 이후 3개의 팽대부에서 대부분의 1형 및 2형 감각세포의 손실을 나타내어 7-10일 사이에 감각세포 파괴의 절정을 이룬다고 하였다. 이때 완전파괴되었던 감각모가 14일째에 2형 감각세포에서 나타나는 것이 관찰되었고 이는 지지세포층에서 감각세포가 재생 혹은 신생되는 것으로 추정된다고 보고하였다^{8,13,18}. 따라서 포유동물의 전정감각세포도 재생될 수 있다는 가능성을 제시했던 결과와 관련하여, 본 실험에서도 약제투여 후 4주와 8주째에 어느 정도의 감각세포의 재생이 있었을 가능성도 생각할 수 있지만 이의 검증에는 실험의 정확성이 더욱 확보되고 전자현미경적 분석 등의 정밀한 실험방법이 추가되어야 할 것이다. 그리고 시간경과에 따른 평형감각기능의 회복과 약 1-2개월 후에 재생되는 전정의 유모세포와의 관련성 등에 관한 연구들이 계속되어야 할 것이다.

외측 반규관에 aminoglycoside의 투여로 인한 전정기관의 손상은 이미 전자현미경 혹은 Celloidin 포매에 의한 광학현미경적 연구에 의해 증명되었으나, 같은 약제에 의한 와우감각세포의 손상에 대한 연구는 아직 부족하다. 따라서 외측 반규관을 통한 국소 투여에서도 비록 미소량이지만 내림포공간을 통해 와우의 감각세포에 영향을 미칠 수 있는 가능성을 예상할 수 있겠다. 지금까지 여러 연구자들의 보고에서 와우기능은 보존되는 결과를 보였지만, 전정유모세포의 파괴가 가장 심한 시기인 투약후 10일 전후에 정도의 차이는 있을지라도 와우에도 유사한 변화가 일어날 가능성이 있어 이에 대한 연구가 향후 필요할 것으로 생각된다.

현재까지 알려진 바와 다르게 비록 일부이지만 지지세포의 수와 면적이 감소한 것이 본 연구결과 중 특이한 결과라 할 수 있겠다. 지지세포는 세포질 침부에 다수의 과립이 있어 cupula를 형성하는 분비물질 생성의 역할을 할 것이라고 추측되어 왔으나 아직 정확한 연구보고는 없으며, aminoglycoside투여시 손상받지 않는 것으로 알려져 있다^{9,10}. 본 실험에서 비록 하나의 실험군(4실험군)이지만 이러한 결과가 나오게 된 원인으로는 지지세포가 감각세포에 비해 세포질이 뚜렷하지 않아 면적측정시에 누락되거

나, 상피층에 심한 변성이 있을때는 그 수의 측정에 서도 축소계산 되었을 가능성을 고려할 수 있겠고, 표본의 수가 비교적 작아 통계적 유의성 면에서도 신빙도가 떨어질 수 있음을 생각할 수 있겠다. 그러나 본 연구결과는 일부 군에서의 지지세포의 감소보다 전반적으로 유모세포가 감소하는 경향이 더 강하게 나타났으며, 지지세포의 감소에 대해서는 저자 및 여러 연구자들의 추후 연구에 의해 규명되어야 할 것이다.

V. 결 론

Streptomycin(SM)과 gentamicin(GM)을 외측반규관을 통해 guinea pig에 국소투여 후 4주와 8주째에 동물을 희생시켜 얻은 팽대부층에서 세포의 수와 면적을 측정 및 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

감각유모세포의 수와 그중 특히 1형세포의 수는 전반적인 감소경향을 보였으며 특히 GM 8주군(4실험군)에서 통계적으로 유의하게 감소하였다. 지지세포의 수는 대조군과 각 군간에 큰 차이가 없었으나 GM 8주군(4실험군)에서는 통계적으로 유의하게 감소하였다.

상피층과 감각세포의 면적은 세포수의 감소만큼 현저하지는 않았으나 감소하는 추세를 보이면서 특히 SM 8주군(3실험군)에서는 의미있게 감소하였다. 지지세포의 점유비율은 큰 차이가 없었으나 면적은 8주군들(3, 4실험군)에서 감소 소견을 보였고 특히 GM 8주군(4실험군)에서 통계적으로 유의하게 감소하였다.

이상의 결과를 살펴 보면 aminoglycoside의 투여 후 팽대부층의 조직소견은 감각모의 소실 및 감각유모세포의 퇴행성 변화와 함께, 기존에 알려진 외국의 연구결과와 같은 현저한 감소는 보이지 않았으나, 세포수가 전반적으로 감소하였고 일부의 실험군에서는 통계적으로 유의한 감소가 있어, 결론적으로 일정한 감소경향을 볼 수 있었다. 서로 비교가 가능한 정량적인 실험의 결과가 충분치 않아 향후 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. 일부에서 보인 지지세포의 감소결과는 현재까지 알려진 것과는 다른 결과이므로 추후의 연구들에 의해 규명되어야 할 것이다.

이상의 결과는 aminoglycoside의 전정독성에 의한 감각세포의 병태생리에 관한 유용한 자료가 될 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Lysakowsky A, McCrear RA, Tomlinson RD : Anatomy of vestibular end organs and neural pathways. In *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*(ed. Cummings CW, Fredrickson JM et al), 2nd ed., St. Louis, Mosby, 1993 ; 2525–2547.
2. 유승주, 이광선 : 정상 기니픽에서 팽대부릉 감각 유모세포의 분포. *한이인지* 1995 ; 38(5) : 657–663.
3. Wersall J : Studies on the structure and innervation of sensory epithelium of crista ampullaris in the guinea pig. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1956 ; 126 : 1–5.
4. Engstrom H : On the double innervation of sensory epithelium of inner ear. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1958 ; 49 : 109–118.
5. Kimura RS : Distribution, structure and function of dark cells in the vestibular labyrinth. *Am J Otol Rhinol Laryngol* 1969 ; 78 : 542–544.
6. Lindeman HH : Distribution of type I and II cells in crista ampullaris in guinea pig. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1981 ; 92 : 315–321.
7. Chang JSY, Popper AN, Saidel WM : Two types of sensory hair cell in the saccule of a teleost fish. *Hearing Research* 1993 ; 64 : 211–216.
8. Lee KS, Kimura RS : Ultrastructural changes after SM application on lateral semicircular canal. *Scan Micro* 1994 ; 8–1 : 107–124.
9. Stringer SP, Meyerhoff WL, Wright CG : Ototoxicity. In *Otolaryngology*(ed. Paparella MM,

- Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL), 3rd ed., Philadelphia, W.B.Saunders, 1991 ; 1653–1669.
10. Leonard PR, Gregory GM : Effects of toxic agents. In *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*(ed. Cummings CW, Fredricson JM, Harker LA, Crause CJ, Schuller DE), 2nd ed., St. Louis, Mosby, 1993 ; 2943–2964.
11. Wersall J, Hawkins JE : The vestibular sensory epithelium in cat in chronic streptomycin intoxication. *Acta Otolaryngol(Stockh)* 1961 ; 54 : 1–24.
12. 이광선 : 고정방법에 따른 전정기관 감각세포의 초미세구조의 변화에 관한 연구. *한이인지* 1991 ; 34(5) : 867–878.
13. 이광선 : 외측 팽대부에 Streptomycin 국소 투여 후 전정기관의 초미세구조의 변화. *한이인지* 1992 ; 35(1) : 7–21.
14. Kimura RS, Iverson NA, Southard RE : Selective lesions of the vestibular labyrinth. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1988 ; 97 : 577–584.
15. Lee KS, Kimura RS : Effects of ototoxic drug administration to the endolymphatic sac. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991 ; 100 : 355–360.
16. Shea JJ : Perfusion of the inner ear with streptomycin. *Am J Otol* 1989 ; 150–155.
17. Kimura RS, Lee KS, Nye CL, Trehey JA : Effects of systemic and lateral semicircular canal administration of aminoglycoside on normal and hydroptic inner ears. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1991 ; 111 : 1021–1030.
18. Corwin JT, Cotanche DA : Regeneration of sensory hair cells after acoustic trauma. *Science* 1988 ; 240 : 1772–1774.
19. Forge A, Li L, Corwin JT, Nevill G : Ultrastructural evidence for hair cell regeneration in the mammalian inner ear. *Science* 1993 ; 259 : 1616–1619.