

탈회동종골을 이용한 신혈류화골판 형성에 관한 연구

*전남대학교 치과대학 구강악안면외과학교실,
**카톨릭의과대학부속 의정부 성모병원 치과/구강악안면외과

*이종호 · **김현태

FABRICATION OF NEO-OSSEOUS FLAP USING DEMINERALIZED ALLOGENEIC BONE

Jong-Ho Lee, D.D.S., Ph.D.*, Hyeon-Tae Kim, D.D.S., Ph.D.**

*Associate professor, Department of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Dentistry,
Chonnam National University

**Associate Professor, Department of Dentistry and Oral-Maxillofacial Surgery, Uijongbu St.
Mary's Hospital, Catholic University Medical College

Microsurgical vascularized bone transfer has the disadvantages of limitation of available donor sites, loss of donor function, and the possibility of donor site defects or deformity. To overcome these shortage of current microsurgical tissue transfer, the method of creating the neovascularized free flap has been introduced. Potentially, this technique must be an innovation in providing the free vascularized bone grafts that are not limited by natural vascular anatomy. But, as could be imagined, technique resulted in unavoidable donor bone defect and additional operation for harvesting the autologous bone.

The purpose of this study was to evaluate the efficacy of demineralized allogeneic bone as a possible substitute for autologous bone in fabricating the neo-osseous flap. By histologic, microangiographic and radioisotope method, the viability and vascularity of neo-osseous flap, which has been fabricated using allogeneic bone or autologous bone, was assessed in rat model.

After 6 weeks, demineralized allogeneic bone showed consistent bone formation and neovascularization. The clinical and microscopic findings of demineralized allogeneic bone group were inferior to those of autologous bone with regard to bone regeneration. The amount of bone blood flow per dry weight of demineralized allogeneic bone group was significantly higher than that of autogenous bone, even higher than that of control intact iliac bone.

In conclusion, findings supported that allogeneic bone could be the potential substitute for autologous bone source in creating a prefabricated neo-osseous flap.

I. 서 론

미세 수술을 이용한 혈관화골이식술은 악안면재건 영역에서 중요한 분야로 발전하고 있으며, 점차 그의 적용 빈도가 증가되고 있다^{1,2)}. 그러나 이것 역시 이용 가능한 공여부 수효가 한정되어 있고, 조직 채취에 따른 공여부 기능 상실, 그리고 공여부 결손 및 변형등이 초래된다. 최근에 이러한 미세조직이전술식의 단점들을 극복할 수 있는 신혈류화 유리조직판의 개념이 제안되었으며^{3,4)}, 국소적으로 존재하는 혈관이나 이식된 혈관을 골편 사이에 매식하여 신혈류화골편을 미리 형성하는데 성공하였다⁵⁻⁷⁾. 이와같이 자가골편을 혈관을 매개로 하여 새로운 혈류화골편을 형성하는 방법은 자연적인 혈관 해부 구조에 제한을 받지 않는 유리혈관화골편판을 제공하는 혁신적인 방법이지만, 이 기술 역시 자가골을 얻기 위해 부가적인 수술과 이에 따라 공여부 골결손이 초래될 수밖에 없다⁸⁾. 이에 저자는 탈회동종골을 자가골 대체재로 사용할 수 있을 것으로 생각하였으며, 탈회동종골이 자가골편처럼 매식된 혈관에 의해 신혈류화되어 세포활성을 유지할 수 있다면, 공여부 결손이나 합병증 없이 유리 골편판을 얻을 수 있을 것이라 생각하였다.

본 연구는 신혈관화골편을 형성함에 있어 탈회동종골의 이용 가능성을 평가하기 위하여, 골편 사이에 혈관을 매식한 후 시간 경과에 따른 골활성도(bone viability)와 혈관화정도(vascularity)를 조직학적, 미세혈관조영술식으로 관찰하고, 그리고 radio-microsphere 기법을 이용하여 골혈류량을 정량적으로 측정하여 자가골을 사용하였을 때와 비교하는 데 그 목적을 두었다.

II. 재료 및 방법

동물

체중 400~450gm 사이의 웅성 백서(Sprague-Dawley rat) 60마리를 사용하였으며, 두 개의 집단으로 나누었다. 한 군은 동종골 공여군(n=20), 그리고 다른 군은 신혈류화골편 실

험군으로 사용하였다(n=40).

탈회동종골의 제작

동종골 공여 동물들을 희생시킨 후, 장골편(8×12mm)을 채취하여 골막을 포함한 부착된 모든 연조직을 제거하고, 골수를 중심으로 내외측의 두 치밀골판으로 분리하였다. 골편을 차거운 증류수로 2시간 동안 세척하여 혈액과 골수세포들을 제거하였다. 무수에탄올로 1.5시간, 그리고 다이에틸에테르로 1.5시간 처리하고 냉동건조하였다. 골편 5gram당 0.5N HCl 250 cc 비율로 90분 동안 2번 탈회하고 2시간 동안 증류수를 수회 교환하면서 세척하였다. 에탄올과 에틸에테르로 탈수한 후 탈회골을 다시 24시간 동안 동결건조하였다.

수술

40마리의 실험동물군을 xylazine(렘폰®, 한국바이엘)과 케타민(케타라®, 유한양행) 혼합액으로 마취하였다(렘폰 0.2ml+케타민 0.8ml, 용량 0.1ml/100g, 복강내 주사). 우측 서혜인대 부위에 피부절개를 시행하고 epigastric fat pad 하방의 하상복혈관(inferior epigastric vessel)을 노출시킨 다음, 준비한 동종골편을 샌드위치식으로 혈관 주위로 위치시켰다. 매식된 골편이 개재된 혈관 외에 주위조직으로부터 신혈관화되는 것을 방지하기 위해 0.125mm 두께의 얇은 silastic sheet(Perthèse®, Laboratoire Perouse Implant, France)로 둘러쌌다(Fig. 1). 좌측 천상복혈관은 대조군으로 동종골과 같은 크기와 형태로 자가장골을 채취하여 상기의 방법대로 신혈류화골편을 형성하였다. 창상은 층별로 봉합하였으며, 수술 후 항생제는 사용하지 않았다.

Vital stain(polychromic bone labelling)

수술 후 두가지의 fluorochrome 염색제를 순서대로 5마리의 동물 복강내로 주입하였다.

Oxytetracycline(90mg/kg)은 수술 2주, 6주, calcein green(90mg/kg)은 수술 4주, 8주에 주입하였다. 다른 5마리 쥐에서는 oxytetracycline(90mg/kg)은 수술 2주와 6주에, calcein green(90mg/kg)은 4주째, 그리고 alizarin reds



Fig. 1) Photograph showing completed neosseous flap fabrication using demineralized allogeneic bone and superficial epigastric vessel (small arrows). Note thin silastic sheet covered around the bone segments (large arrow).

(50mg/kg)는 술후 8주에 주사하였다. 마지막 약제 주입 3일후 동물을 희생시켰으며, 시편을 채취하였다. 채취한 표본은 알콜 농도를 순차적으로 높이면서 탈수시킨후, metacrylate에 포매하였다. 완전히 레진이 중화되면 줄톱을 사용하여 시편 블록을 약 100~150 μ m 두께로 횡과 종으로 절단하였다. 이렇게 준비된 절편들은 금강사로(carborundum, grit No.400) 연마하여 날을 세운 두개의 두꺼운 유리판으로 30 μ m 두께가 되도록 연마하였다. 완성된 절편을 봉입제로 마운팅한 후 형광현미경으로 관찰하였다.

미세혈관조영술

새로운 혈관 형성 정도를 평가하기 위해 술후 2주, 4주, 6주 및 8주째에 각기 5마리의 동물에서 미세혈관조영술을 시행하였다. 마취를 유도한 다음, descending carotid artery와 inferior vena cava를 복강절개를 통해 노출시키고, 적절한 굵기의 polyethylene catheter를 원심 방향으로 삽입하였다. 미세한 조영제 분말을(Micropaque[®]; particle size of contrast media, less than 0.5 μ m; Guerbet Co., Germany) 생리식염수(30% weight/volume)에 혼

합한후 여과(Phyrex[®], porosity No.1)하였다. 조영제 여과액은 분말이 응집되는 것을 막기 위해 37도로 가열한 후 초음파처리하였다. 카테터를 통해 헤파린을(1cc of 5 IU/ml), 그리고 혈관을 확장시키기 위해 리도케인 용액 2cc를 동맥내로 직접 주입하였으며, 혈관경직을 방지하기 위해 혈관주위에도 리도케인 몇방울을 점적하였다. 30%의 혈관조영제 혼탁액을 다시 두배로 희석(half-strength)하여 조영제가 하대정맥을 통해 환류될 때까지 130 mmHg 내외의 압력으로 카테터 내로 주입하였으며, 이어서 30%의 혈관조영제 혼탁액을 동물이 사망할 때까지 주입하였다. 조영제 주입이 끝나면 노출된 혈관을 실로 결찰하고 동물을 차가운 10% 포르말린 용액으로 1주일간 고정하고, 수술 부위를 노출한다음 대퇴혈관 양단을 결찰하고 골편을 채취하였다. 일부의 시편은 EDTA용액으로 탈회한 후 파라핀으로 포매하여 1~2mm 두께로 횡 또는 종으로 절단하였다. 절편을 Kodak high resolution film (SO 434, 4 \times 5 inch, 2000 lines/mm resolution)에 위치시킨다음 soft x-ray generator(Tabletop x-ray generator PW 1720/00, Philips, The Netherlands)를 사용하여 노출시켰다(20-30 KVp, 20-25mA, Exposure time 15 minutes). 촬영된 필름은 20도에서 5분 동안 Kodak HRP 현상액으로 현상하였고 수세 후 건조하였다. 이렇게 현상된 필름을 2~10 배율의 표준광학 현미경으로 관찰하였다.

조직학적 검사

미세혈관조영술에서 사용된 탈회표본을 헤마톡시린/에오진으로 염색하여 혈관 사이에 매식된 탈회동종골편의 세포학적 활성도(osteocyte, osteoblast, osteoclast)와 혈관화 정도를 평가하였다.

15 μ m radiocative microsphere를 이용한 골편의 혈류량 측정

술후 8주째에 radioactive microsphere technique(15 μ m, Tc-microsphere)을 사용하여 각 골편의 상대 혈류량을 평가하였다. 15 μ m 크

기의 microspheres(Nen-Trac® Microsphere, $16.5 \pm 0.1 \mu\text{m}$, SD $\pm 0.1 \sim 0.5 \mu\text{m}$, Dupont Co.)에 Tc-MDP(0.75mCi to 50mg microsphere)로 표지하고 계면 활성제(1 drop of 0.01% Tween 80, Atlas Chemical Industries Co.)와 같이 생리식염수 15cc에 섞었다. 섭씨 40도에서 40분 동안 초음파처리 하였으며, 다시 10분간 vortexing하였다. 동물을 마취시킨 후 헤파린 용액으로 채운 polyethylene catheter(내직경 0.027 inch \times 외직경 0.051 inch)를 좌측총경동맥(left common carotid artery)을 통해 좌심실로 삽입하였다. 좌심실로 1ml의 Tc-microsphere suspension을 15~20초 동안에 걸쳐 서서히 주사하고 2cc의 미지근한 헤파린식염수로 관내를 씻었다. 수분후 동물을 희생시킨다음 양쪽의 서혜부에 매식해 놓았던 자가 및 동종 골편과 정상 장골능에서 장골편을 채취하였다. 골편에 부착된 모든 연조직을 제거하고 혈액은 증류수로 수세한 후 여과지로 물기를 닦은 후 동결건조하였으며, 동결건조 전후로 각 골편의 무게를 측정하였다. 각 시편과 장골편의 방사능활동도(radioactivity)를 gamma scintillator를 사용하여 측정하였으며, background radioactivity를 시정하였다. 각 신혈류화골판(neo-osseous flap)당 그리고 건조단위 그람당 방사능활동도를 계산한 후, 통계처리하여(Kruskal-Wallis Test, Wilcoxon's score) 각군의 골혈류량 우열을 비교하였다.

III. 결 과

광학 및 형광현미경 관찰소견

탈회동종골편매식부

2주제에 주혈관경과 양 골편 사이의 작은 혈관들, 그리고 골편 내부의 혈관들에 micropaque이 잘 주입되어 있는 것이 관찰되었다(Fig 2). Villanueva 염색에서 진한 녹색을 띠는 깨식된 탈회골편 내부에는 산발적으로 진한 적색의 연골세포가 나타나 endochondral ossification이 시작됨을 보여주었고, 양 골편 사이에 추가된 탈회골분말은 변연에 적색의 띠를 갖는

연두색으로 보여 탈회골편과는 그 모양이 다르게 나타났다(Fig. 3). 4주(Fig. 4), 6주 그



Fig. 2) Photomicrograph of neo-flap using demineralized allogeneic bone (postoperative 2 weeks). There are numerous vessels around the centrally located superficial epigastric artery(A) and vein(V). No endochondral bone formation induction could be found. (Hematoxylin & Eosin Stain, Original Magnification $\times 40$)



Fig. 3) Photomicrograph of neo-flap using demineralized allogeneic bone (postoperative 2 weeks). Note new bone formation in the vicinity of the implanted vessel. (Ground Section, Thickness $30 \mu\text{m}$, Villanueva Osteochrome Bone Stain, Original magnification $\times 20$)

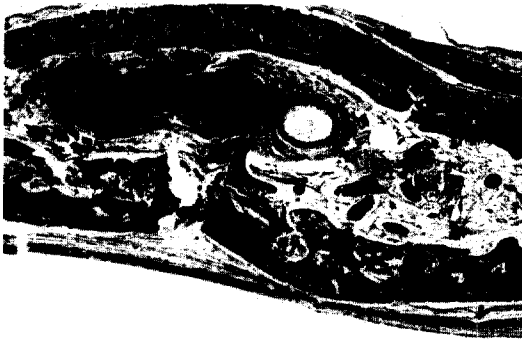


Fig. 4) Photomicrograph of neo-flap using demineralized allogeneic bone (postoperative 4 weeks). Note new bone formation in the implanted allogeneic bone itself. (Ground Section, Thickness 30 μ m, Masson and Goldner Stain, Original Magnification \times 40)

리고 8주로 시간이 경과하여도 혈관분포는 2주때와 유사하였으며, 단지 신생골의 형성 부위만이 증가되고 있었으나 8주까지 이식골이 완전히 신생골로 대체되지는 않고 이식 당시의 형태를 유지하고 있었다(Fig. 5).

대조군-자가장골편이식부
주혈관경과 그 혈관주위조직내에는 2주 실

험군과 유사한 수효와 단면적의 혈관들이 산재되어 있었다. 그러나 실험군과는 달리 이식골편 내부에 골수가 형성되어 있었으며, 이 골수강 내에 골수세포와 주입된 조영제가 포함되어 있었다. 전반적으로 woven bone이 자가이식골 주위로 형성되어 있었다. 시간이 경과할수록 골수강이 넓어지고 상대적으로 골질이 차지하는 비율은 적어지고 있었다. 가운데 매식혈관경을 중심으로 그것을 감싸는 내층과 그리고 그 외부의 골수강을 싸는 외층골로 골재형성 및 개조가 진행되었다(Fig. 6).

미세혈관조영술(Fig. 7)

이미 2주째부터 매식된 주혈관으로부터 잘 발달된 혈관들이(vascular tree) 관찰되었으나, 시간이 경과함에 따라 혈관가지가 더 발달되어 있지는 않았다. 그리고 실험군과 대조군의 차이는 인지할 수 없었다.

15 μ m radioactive microsphere를 이용한 골편의 혈류량 측정

혈류량 측정을 위한 10마리의 동물 중 한마리는 마취 유도 중 사망 그리고 두마리는 삼관 실패로 인해 단지 7마리에서만 혈류량을 측정할

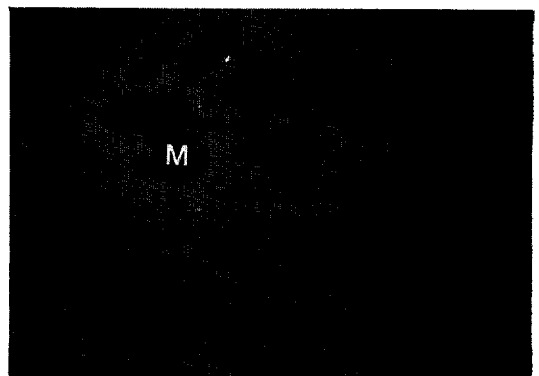
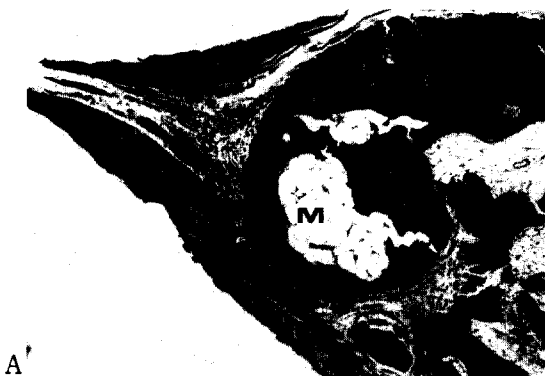


Fig. 5) Photomicrograph of neo-flap using demineralized allogeneic bone (postoperative 8 weeks), showing functional marrow(M) formation with focal area of new bone deposit. (A, Ground Section, Thickness 30 μ m, Masson and Goldner Stain ; B. Vital Stain with Tetracycline & calcein green ; Original Magnification \times 40)

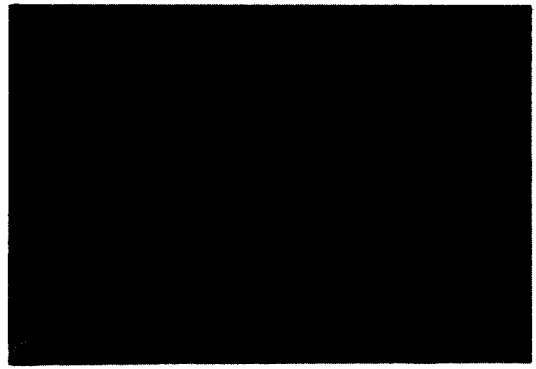


Fig. 6) Photomicrograph of neo-flap using autogenous iliac bone segment (postoperative 4 weeks), showing viable bone with well developed marrow. (A, Ground Section, Thickness 30 μ m, Masson and Goldner Stain ; B. Vital Stain with tetracycline & calcein green : Original Magnification \times 40)



Fig. 7) Microangiogram of neo-flap using demineralized allogeneic bone (postoperative 6 weeks) showing numerous vascular twigs and trees from the central pedicle.

수 있었다. 표 1에서 보듯이 탈회동종골편을 사용한 군은 골판당 평균 17992.72 \pm 3765.41 cpm/min이었으며, 자가골을 이용한 골판은 43829.43 \pm 19361.80 cpm/min, 그리고 정상 장골은 25960.86 \pm 11060.63 cpm/min으로 탈회골을 이용한 골판의 혈류량이 자가골을 사용하였을 경우보다 확실히 낮았다($p=0.4291$). 그러나 건조 단위 무게당 count는 탈회골을 사용한 골판(573067.86 \pm 143292.16 cpm/min)이 자가골을 사용한 경우(383359.43 \pm 112881.40 cpm/

min)보다 많았으며, 또한 둘다 정상 장골부(297688.29 \pm 94620.12 cpm/min)의 그것보다는 높았다($p=0.0032$).

IV. Discussion

1979년 Yao⁹⁾는 피판 하방에 위대망동정맥(gastroepiploic artery & vein)과 함께 대망(omentum)을 위치시켜 비축성피판(random pattern flap)을 축성피판(axial-pattern flap)으로 변화시켜 미세이전한 증례를, 그리고 1981년에는 피부 하방에 동맥과 정맥을 매식시켜 혈관에 의해 이차적으로 형성된 혈류화 피판형성을 보고하였다¹⁰⁾. 1987년 Duarte등¹¹⁾은 쥐의 천상복혈관(superficial epigastric vessels) 주위로 근육을 위치시켜 12일간 유지시킨 다음 새로운 유리근판을 만들었으며, 12일째 미세이전하여 성공적인 결과를 얻었다. Hirase등¹²⁾도 하상복혈관에 외복사근(external abdominal oblique muscle)을 싸서 2주만에 신혈류화된 근판을 만들었으며 장골편을 역시 같은 방법으로 미리 새롭게 혈류화시켜 이전하였다. 이와같이 수혜부에 필요한 조직과 형태를 갖춘 신혈관화된 조직편을 미리 형성한 다음, 이것을 미세이전하여 결손부를 수복하는 "neo-flap"의 개념이 제시되었다. 창상 치유 과정에서 발생

Table 1. Distribution of bone blood flow scintillation data

N	cpm/each segment*			cpm/gramp(dry weight)**		
	DBS	ABS	CIB	DBS	ABS	CIB
1	17548	32839	14467	487444	310094	211197
2	21261	36427	19316	652177	354693	236715
3	14963	33215	14537	440088	247873	209466
4	20776	85063	41772	567650	547733	438321
5	18625	33957	25897	491424	291476	256914
6	11303	51613	39265	513772	503541	410721
7	21473	33692	26472	858920	428106	320484
Mean	17992.71	43829.43	25960.86	573067.86	383359.43	297688.29
S. D.	3765.41	19361.80	11060.63	143292.16	112881.40	94620.12

Abbreviations—CMP, count per minute ; DBS, neo-osseous flap using demineralized bone slab ; ABS, neo-osseous flap using autologous bone segment ; CIB, control iliac bone

* p=0.4291 (Kruksal-Wallis Test)

ABS>DBS (Wilcoxon Scores)

** p=0.0032 (Kruksal-Wallis Test)

DBS>ABS>CIB (Wilcoxon Scores)

하는 혈관재생(신혈류화) 현상을 이용한 이러한 이차적 유리조직판 형성은 개념적으로 상당히 진보된 방법임에 틀림이 없으나, 이것 역시 자가골을 채취해야 하고 또한 형태를 인위적으로 부여하기 위해서는 금속이나 합성물질로 만들어진 주형을 필요로 한다.

1991년 Bernard와 Picha¹⁵⁾는 산호인회석을 혈관경과 연조직으로 재혈류화시킨 “biocomposite” 유리판을 실험적으로 형성하였다. 비록 그들은 자가조직 대체물로 수산화인회석(hydroxyapatite, HA)을 선택한 것이 아니고, HA에 충분한 혈류를 유지시켜 이 생합성체에 감염 저항성을 부여하고자 의도하였지만 자가골 채취에 따르는 부가적인 수술을 없앨 수 있는 새로운 유리 조직판 형성 가능성을 제시하였다. 이들의 방법과 유사하게 Hoerl¹⁴⁾은 다공성 폴리테트라 플로로에틸렌(PTFE) 블럭을 중심으로 지방조직 및 전층피부이식체로 구성되는 유리조직판을 실험적으로 형성하였으며, 기타 다공성 생합성재료를 이용한 비교 연구를 발

표하였다¹⁵⁾. 이들은 생합성 재료 내부로 섬유성 조직과 미세혈관을 침투 성장시켜, 감염으로 인한 실패 가능성을 저하시켰으며 또한 활성을 유지한 피부로 싸서 이식물질의 노출을 방지 하고 골격 결손 수복과 동시에 점막이나 피부 결손을 피개할 수 있게끔 하였다.

신혈류화골판 형성에 있어 자가골을 대체할 수 있는 물질은 골형성 또는 유도능이 신속하고 확실해야 하며, 그 자체가 신혈류화골판을 만드는 과정에서 흡수되지 않고 충분한 강도를 유지하거나 확보하여 틀로써 역할을 수행할 수 있어야 하며, 마지막으로 매식된 혈관경으로부터 조기에 신혈관화가 이루어져야 한다. 자가 이식재 대체재로 요즈음 탈회동종골이 많이 사용되고 있는데, Mizumoto¹⁶⁾은 세라믹을 주형으로 하여 그 내부에 탈회골기질 분말과 골수의 골형성 전구세포를 채워 혈관화 유리골판을 만드는 실험을 수행하였으며, 신생골 형성은 술후 2.5주째부터 시작되었고 그리고 3주째면 매식된 혈관으로부터 조기의 신혈관화가

이미 일어나 있음을 관찰하였다. 이와같이 미분화골형성전구세포가 골유도 물질의 영향으로 활성화되어 연골이나 골을 형성하는 이소성골형성(ectopic bone formation) 유도 현상¹⁷⁻¹⁹⁾은 1965년에 Urist²⁰⁾에 의해 기술되었으며, Reddi와 Huggins²¹⁾의 탈회골분말의 골유도능의 연구에서 획기적인 진보를 맞게 되었다.

연골성골화(endochondral osteogenesis)에는 혈관 침투 역할이 중요하며, 혈관이 발아하고 연골을 침투하는데에는 비타민 D3가 관여한다고 알려져 있다²²⁾. 본 연구에서 골유도 및 골판의 틀(mould) 목적으로 사용된 탈회동종골편은 주위가 실라스틱으로 차단된 상태에서 단지 매식혈관과 그 주위조직에 의해서만 연골의 분화, 혈관의 침입, 골의 분화등 내연골성골화작용의 연속 다단과정을 일으켰다²³⁾. 골형성에 있어 혈관이나 혈관주위조직의 역할이 중요함은 여러 선행들에 의해 지적되었으며, 살아있는 또는 살아 있지 않은 조직을 이식시 혈관주위세포의 유도에 의해 골이 생기거나 혈관주위세포 자체가 골유도능을 가지고 있거나 또는 양자의 혼합 작용으로 골이 형성된다는 생각을 가지게 되었다²⁴⁾. Trueta등²⁵⁾은 무균성골괴사의 연구에서 혈관이 골형성에 중요한 역할을 한다고 강조하였으며, Woodhouse²⁶⁾는 골형성을 촉진시키기 위해 골내로 동맥경을 위치시켜 새로운 혈액 공급을 시도하였다. Dickerson등²⁷⁾은 개에서 대퇴동맥을 대퇴골 속에 이식시켜 신생혈관 증식과 더불어 신생골을 형성시킨 실험을 보고하였다. Hori등²⁸⁾은 혈관주위조직과 함께 동맥과 정맥을 사용하여 고립골편과 부골에 모세혈관망을 형성시켜 재혈관화시켰으며, 동종골도 66%에서 혈류화되었다고 보고하였다. 또한 그들은 이식혈관 주위로 미세혈관과 섬유아세포가 증식되어 파골세포와 조골세포로 변하여 부골을 흡수하며 신생골을 증식시킨다고 하였으며, 고립골편이나 부골 그리고 동종골이 골개조 과정에서 골 유도체로 작용하는 것으로 생각하였다. 본 실험에서 사용된 탈회골편은 8주까지도 완전히 신생골로 재생되지 않았으며, 12주째에는 조직학적으로 거의 골성 조직으로 바뀌어져 있었으나 석회

화가 충분치 않았다. 이와같이 탈회동종골편은 시간이 경과함에 따라 골 형성이 증진되었으나 자가장골편을 사용하였을 때 보다는 그 속도 및 양에 있어서는 훨씬 열등하였다. 이것의 이유로 생각할 수 있는 것으로 첫째, 탈회골 자체의 골유도능이 미약하기 때문일 가능성이 있다. 둘째로는 골편 사이에 개재된 혈관주위 조직에 조골세포나 조연골세포로 변할 수 있는 primitive mesenchymal cell의 근원이 충분치 않은 것에 기인할 수도 있다. 비록 동물 수술시 혈관주위조직을 잘 보존시키면서 골편 사이에 매식하였지만, 하상복혈관주위조직 자체가 소량이거나 조골세포로 전이되는 간엽세포가 적을 수 있다. 셋째, 동종이식에 사용되는 조직은 면역학적으로 숙주와 달라 종종 면역 거부 반응을 일으킬 수 있는데, 이러한 면역학적 반응은 재혈관화(revascularization)를 차단시켜 골 형성을 지연시킨다. 비록 골 형성의 과다 정도만으로 신혈류화골판의 우열을 나타낸다고 할 수는 없지만, 12주의 관찰 기간에서 신혈류화골판 형성체로서 탈회골편은 골형성 면에서 자가골을 대신할 수 있는 치환체로서는 적합하지 않았다.

육안적으로도 자가골을 사용한 골판은 단단하고 혈관 양편으로 위치시킨 골편이 서로 융합되어 변연이 다소 부드럽게 되어 있었다. 이것과는 달리 탈회골편을 사용한 골판은 원래 매식하였던 골편의 형태에서 거의 변하지 않았으며, 보기에 연골처럼 느껴졌다. 탈회골편은 흡수가 잘되지 않고 원래의 형태를 잘 유지하여 틀로서 우수하였을 뿐 아니라, 자체적으로도 골유도능이 있고 결국 숙주골로 치환된다는 점에서 HA나 타이테늄등의 조직친화성 물질보다 많은 장점을 갖고 있을 것으로 생각되었다. 그러나 탈회골편을 이용한 신혈류화골판은 12주까지도 연골처럼 손으로 골판을 다소 변형시킬 수 있을 정도여서 외력이 가해지는 곳에는 부가적 지지 없이 단독으로 적용될 수 있을지 의문시 되었다. 물론 자가골편 사용군에서도 시간이 경과할수록 골수가 많이 형성되고 골편의 치밀골층이 개조되어 얇아져 있었으며, 따라서 이러한 골판은 수혜부로 이식될

때 숙주골과의 골간고정이 어려울 것이며 또한 외력에 저항하는 힘이 약할 것으로 추측되었다.

토끼나 쥐에서 탈회골기질을 매식하거나 사 람에서 자가이식을 하게되면 두가지의 morpho-genetic process, 즉 angiogenesis와 vasculoge-nesis가 일어나게 된다²⁹⁾. Angiogenesis는 mig-ratory mesenchymal cell이 증식하고 분화하여 기저막(basement membrane)을 형성할 때 일 어나게 된다. Vasculogenesis는 이미 수혜상에 존재하는 모세혈관이나 작은 혈관으로부터 균을 지어 이동하는 미분화세포가 확장되면서 일어난다³⁰⁾. 세정맥(venule)의 기저막이 부분적으로 변성(degradation)되고, 이어서 내막세포가 이동하고 발아단(sprouting end) 뒤에서는 분열대를 형성한다. 침투하는 혈관아는 가늘고 편평한 개창된 한 층의 내막세포로 구성되어 있으며, 성장중에는 그의 딸세포와 tight junction을 형성하여 혈관처럼 연속성을 유지한다³¹⁾.

탈회골편 사용군, 그리고 자가장골이식군 모두에서 매식혈관과 그의 혈관주위조직의 혈관망에서 2주째 시행된 미세혈관조영상에서 이미 이식골편의 변연으로 향하는 미세혈관들이 이식편 전체에 걸쳐 잘 형성되어 있는 것이 관찰되었다. 비록 저자들은 8주에 걸쳐 2주간격으로 미세혈관조영술을 시행하였지만 시간 경과에 따르는 신혈관화 정도의 차이는 구분하기 어려웠고, 같은 기간이 경과하여 시행된 혈관조영상은 군에 관계 없이 거의 유사한 혈관화 정도를 나타냈다. 이러한 점으로 볼 때, 신혈관화는 매식된 골형성 또는 유도체의 종류에 무관한 것으로 생각되었으며, 본 실험에서 사용된 크기의 이식편은(크기: 8×12mm) 개재된 혈관에 의해 충분히 재혈류화를 알 수 있었다.

방사능 물질로 표지된 미세구(radiocative microsphere)를 이용한 골 혈류량 측정에서도 탈회동종골편을 사용한 골편이 자가골을 사용한 골편보다 혈류량을 의미하는 방사능 활동도 수치가 낮았으나, 건조 단위 무게당 수치, 즉 혈류량은 자가골을 사용한 골편보다 오히려 우월하였다. 여기서 보듯이 자가골이나 또는

동종골을 이용하였을 때, 정상 시의 장골 혈류량보다 오히려 혈류가 증가되었다.

본 연구를 통하여 저자들은 탈회골편을 사용하여 신혈류화골편을 형성할 수 있음을 확인하였으며, 탈회골편만을 사용하여서도 골형성이 더 진행될 수 있도록 매식 기간을 좀 더 연장하거나 또는 골형성인자를 추가하여 골형성유도를 보강하여 주면 자가골 치환체로서 충분히 그 역할을 할 수 있을 것으로 생각하였다. 물론 동종이식은 면역학적인 문제 외에도 질병 전파(disease transfer) 가능성이 항상 존재하지만, 골유도단백의 분리와 증식(cloning) 그리고 합성물질(synthetic material) 분야의 진보 덕택에 지금 새로운 골을 만들 수 있는 문턱에 와 있다³²⁾. 따라서 골유도인자(bone-inductive factor)와 조골세포로 전환될 수 있는 세포(responding cell)를 탈회 동종골편과 적절히 사용하여, 탈회골 단독으로 사용했을 경우의 미비점을 보강하여 준다면, 보다 우수한 자가골 대체제 역할을 할 수 있을 것으로 생각되었다.

V. 결 론

신혈류화골편을 형성하는데 있어 탈회동종골이 자가골을 대신할 수 있는지 알아보고자 60마리의 백서에서 천상복혈관을 매식한 후 시간 경과에 따른 골활성도와 혈관화 정도를 측정하였다. 혈관 매식 후 6주가 경과하면서 모든 탈회동종골편에서 골형성과 혈관화가 일어났다. 골형성 면에서 탈회동종골편을 사용하였을 때 자가골을 사용한 경우보다 조직화속 그리고 임상적으로 열등한 결과를 보였다. 골편의 혈류량은 자가골을 사용한 군에 비해 탈회동종골을 사용한 군에서 골편 당 절대량은 적었으나, 단위 건조 무게당 혈류량은 가장 많았다.

본 연구 결과를 통해 저자는 신혈류화골편 형성에 있어 자가골 대체제으로써 탈회동종골을 사용할 수 있으리라는 결론을 얻었다.

참고문헌

1. Shennaq, S. M. and Vargo, D. Vascularized bone grafts. In : Bone grafts & bone substitutes, edited by Habal, M. B. and Reddi, A. H. Philadelphia : W. B. Saunders Co., 1992, p.305-315.
2. Urken, M. L., Weinberg, H., Vickery, C., Buchbinder, D., Lawson, W. and Biller, H. F. : Oromandibular reconstruction using microvascular composite free flaps. Report of 71 cases and a new classification scheme for bony, soft-tissue, and neurologic defects. Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. 117 : 733-744, 1991.
3. Hallock, G. G. and Koch, T. J. : External monitoring of vascularized jejunum transfers using laser Doppler flowmetry. Ann. Plast. Surg. 24 : 213-215, 1990.
4. Hirase, Y., Valauri, F. A. and Buncke, H. J. : Neovascularized bone, muscle, and myo-osseous free flaps : An experimental model. J. Reconstr. Microsurg. 4 : 209-215, 1988.
5. Hirase, Y., Valauri, F. A. and Buncke, H. J. : Creation of neovascularised free flaps using vein grafts as pedicles : A preliminary report on experimental models. Br. J. Plast. Surg. 42 : 216-222, 1989.
6. Khouri, R. K., Upton, J. and Shaw, W. W. : Prefabrication of composite free flaps through staged microvascular transfer : An experimental and clinical study [see comments]. Plast. Reconstr. Surg. 87 : 108-115, 1991.
7. 이종호, 김수경 : 동맥 사이에 이식된 정맥을 혈관경으로 한 신혈류화골판 형성에 관한 연구. 서울치대논문집, 15 : 325-344, 1991.
8. Lee, J. H. and Park, K. D. Experimental microtransfer of neovascularized bone flaps, 1992. (poster presented at the 37th Congress of Japanese Oral & Maxillofacial Surgery, at Yokohama, Japan)
9. Yao, S. T. : Vascular implantation into skin flap : Experimental study and clinical application : A preliminary report. Plast. Reconstr. Surg. 68 : 404, 1981.
10. Yao, S. T. : Omental axial flap- A new technique to form a vascularized free flap. Chinese Journal of Surgery 17 : 151, 1979.
11. Duarte, A., Valauri, F. A. and Buncke, H. J. : Creating a free muscle flap by neovascularization : An experimental investigation. J. Reconstr. Microsurg. 4 : 15, 1987.
12. Hirase, Y., Valauri, F. A., Bucke, H. J. and Newlin, L. Y. : Customized prefabricated neovascularized free flaps. Microsurgery 8 : 218, 1987.
13. Bernard, S. L. and Picha, G. J. : The use of coralline hydroxyapatite in a "Biocomposite" free flap. Plast. Reconstr. Surg. 87 : 96-105, 1991.
14. Hoerl, Von H. W., Kloeppe, M. and Biemer, E. : Experimentelle Untersuchung zur Anwendung poroeser, vaskularisierbarer Polytetrafluorethylene in praeformierten freien Lappen. Handchir. Mikrochir. Plast. Chir. 24 : 243-249, 1992.
15. Hoerl, Von H. W., Kloeppe, M., Scherer, M. and Biemer, E. : Vaskularisierte poroese Kunststoffe als Geruestmaterial fuer praeformierte freie Lappen. Handchir. Mikrochir. Plast. Chir. 23 : 32-38, 1991.
16. Mizumoto, S., Inada, Y. and Weiland, A. : Fabrication of vascularized bone grafts using ceramic chambers. J. Reconstr. Microsurg. 9 : 441-449, 1993.
17. Burwell, R. G. : The function of bone marrow in the incorporation of a bone graft. Clin. Orthop. 200 : 125-141, 1985.

18. Lane, J. M. and Sandhu, H. S. : Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop. Clin. North Am.* 18 : 213–225, 1987.
19. Friedenstein, A. J. : Precursor cells of mechanocytes. *Int. Rev. Cytol.* 47 : 327–356, 1976.
20. Urist, M. R. : Bone : Formation by autoinduction. *Science* 150 : 893, 1965.
21. Reddi, A. H. and Huggins, C. B. : Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69 : 1601, 1972.
22. Hunter, W. L., Arsenault, A. L. and Hodsmann, A. B. : Rearrangement of the metaphyseal vasculature of the rat growth plate in rickets and rachitic reversal : A model of vascular arrest and angiogenesis renewed. *Anat. Rec.* 229 : 453–461, 1991.
23. Lindholm, T. C., Lindholm, T. S., Alitalo, I. and Urist, M. R. : Bovine bone morphogenic protein (bBMP) induced repair of skull trephine defects in sheep. *Clinic. Ortho. and Related Res.* 227 : 265–268, 1988.
24. Urist, M. R. and McLean, F. C. : Osteogenic potency and new bone formation by induction in transplants to the anterior chamber of the eye. *J. Bone Joint Surg.* 34A : 443–470, 1952.
25. Trueta, J. and Morgain, J. D. : The vascular contribution to osteogenesis, I. Studies by the injection method. *J. Bone Joint Surg. [Br.]* 42 : 97, 1960.
26. Woodhouse, C. F. : The transplantation of patient arteries to bone. *J. Int. Coll. Surg.* 39 : 437, 1963.
27. Dickerson, R. C. and Duthie, R. B. : The diversion of arterial blood flow to bone. *J. Bone Joint Surg.* 45 : 356, 1963.
28. Hori, Y., Tamai, S., Okuda, H., Sakamoto, H., Takita, T. and Masuhara, K. : Blood vessel transplantation to bone. *J. Hand Surg.* 4 : 23–33, 1979.
29. Urist, M. R. Bone morphogenetic protein. In : *Bone grafts & bone substitutes*, edited by Habal, M. B. and Reddi, A. H. Philadelphia : W. B. Saunders Co., 1992, p. 70–83.
30. Ansprink, D. H. and Folkman, F. : Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels and tumor angiogenesis. *Microvasc. Res.* 14 : 53–65, 1989.
31. Hunter, W. L. and Arsenault, A. L. : Endothelial cell division in metaphyseal capillaries during endochondral bone formation in rats. *Anat. Rec.* 227 : 351–358, 1990.
32. Cunningham, N., Ma, S. and Reddi, A. H. Bone grafts & bone substitutes. In : *Biologic principles of bone induction : Application to bone grafts*, edited by Habal, M. B. and Reddi, A. H. Philadelphia : W. B. Saunders Co., 1992, p. 93–98.