

동결건조한 산양뼈의 개이식 효과

최인혁¹ · 이종일
전북대학교 수의과대학

Effectiveness of Transplantation by Freeze-Dried Bone of Goat to Dogs

In-hyuk Choi¹ and Chong-il Lee

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, 561-756, Korea

ABSTRACT : Freeze-dried cortical bones of the goat were transplanted to the experimental fibular defect of 10 dogs for valuating the possibility of xenogeneic bone implantation and the specificity of BMP(Bone Morphogenetic Protein). The freeze-dried cortical bone eliminated antigens and defatted with chloroform and methanol were freeze-dried at -80°C for preservation of BMP and then sterilized with EO gas and stored in room temperature. Ten freeze-dried cortical implants of the goat were transplanted in experimentally defected regions of bilateral fibula of 5 dogs in clinically normal. The transplanted region had been radiographed for observing state of bone union and BALP(Bone Alkaline Phosphatase) in the serum of the host was measured for valuating activity of oteoblast per 2 week-interval after transplant procedures. New bone formation had been observed early in one of ten regions around implants about the same time as autoimplant regions. It was incorporated with its host bone during 4-12 weeks after transplantation. In another 2 cases of 2 dogs, new bone formation and absorption of implant had been observed from 4 weeks but they were not incorporated completely until 20 weeks. The rest of the freeze-dried bone implants, 7 cases of 4 dogs had not been observed new bone formation nor absorption of implants. The freeze-drying method for implants means to not influence bone incorporation. Although less of union percentage, the union form of this experiment were similar to alloimplantation and it may mean to block immunity reaction that disturbs the bone induction by BMP. It demonstrated that the possibility of the xenogenous bone implantation is recognized by reason of the low specificity of BMP between goat and dog.

Key words : freeze-dried bone, xenograft, BALP, dog, goat

서 론

동종골이나 이종골 이식에서 가장 중요하게 인식되어야 할 것은 종간의 특이성이나 거부반응이다. 골은 다른 연부조직에 비하여 항원성이 낮은 것으로 알려져 있으며, 특히 골의 기질에는 항원성이 매우 낮은 것으로 알려져 있어 동종간에는 골기질이 이식되고 있는 경우도 있다^{1,3,8,13,27,31,36,45,47,52,55}. 또한 골기질에서 BMP가 있음이 알려지면서 항원물질을 최소화하고 BMP를 보

존하기 위한 이식골의 처리방법이 개발되어 동결골, 동결건조골, 탈회골, 동결탈회골, 탈회동결건조골 등이 이용되고 있다^{21,40,46,58}.

동종골이식은 사람의 경우에는 일반화되어 있으나 수의학에서는 극히 일부에서 이용되고 있는 실정이다. 동종간에 이식되는 이식골의 형태는 동결골과 동결건조골이 주류를 이루고 있으며 특히 동결건조골은 생물학적, 화학적으로 안정되어 있고 항원성이 낮아는데에 근거를 두고 있기 때문일 것이다^{8,50,58}.

그러나 이종골 이식의 실용화는 아직도 부진한 실정이며 지금까지 연구된 이종골 이식은 주로 실험동물로 이용하기 쉬운 설치류간이며 다른 동물간에는 소수가 연구되고 있는 실정이다^{9,19,23,29,44,53}. 송아지 뼈

*본 연구는 전북대학교 생체안정성 연구소의 학술연구비 지원으로 이루어졌음.

¹Corresponding author.

를 개에 이식한 실험에서 유합이 자가골보다 빠르고 강하게 일어났다는 결과는 이종골 이식의 가능성을 시사하고 있다⁴⁰.

이종골 이식의 가능성은 소에서 추출한 BMP가 토끼의 근육에서 연골을 형성한 것으로 보아 BMP의 중간 특이성이 없다는 것을 의미하는 것으로 생각되었다. 그러나 소와 설치류간에는 비록 특이성이 없다 할지라도 모든 동물에 대한 BMP의 비특이성 문제는 재검토되어야 한다는 의견이 제시되고 있으나 실험동물로 이용하기 쉬운 설치류를 제외하고는 이종간에 대한 BMP의 특이성에 관한 연구는 매우 미흡한 실정이다. BMP의 중간 특이성을 검토하기 위해서는 BMP를 추출하여 다른 동물에 이식하여 유합상태나 면역학적 및 세포학적으로 거부반응을 검토하는 방법이 알려져 있으나⁴⁸ 간접적인 방법으로는 골의 기질에서 BMP를 제외한 항원성 물질을 제거하고 이 골기질을 다른 동물에 이식하여 유합상태를 확인하는 방법이 가능하다. 골기질에서 항원성을 제거하고 BMP를 보존하는 방법으로는 동결건조골이나 탈회골, 동결건조 탈회골 등이 알려져 있으나 이중 동결건조골은 항원성이 없고 유합율이 좋은 것으로 알려져 있다^{2,6,13,20,58}.

따라서 본 연구에서는 산양과 개 사이의 BMP 특이성을 검토하고 이종골이식의 가능성을 확인하기 위하여 동결건조처리한 산양뼈의 기질을 개의 비골에 이식한 후 방사선사진으로 유합상태를 관찰하고 골아세포의 활성도를 측정하였다.

재료 및 방법

실험동물

이식골은 임상적으로 건강하다고 판단되는 산양(혹염소)의 대퇴골을 채취하였다. Recipient로서는 임상적으로 건강하다고 판단되는 생후 4-6개월령인 약 15 kg의 개 7마리를 대상으로 동결건조한 산양뼈를 5두의 양측비골에, 자가동결건조골은 2두(대조군)의 양측비골에 각각 이식하였다.

이식골편의 처리

산양에서 채취된 대퇴골의 골간부를 24시간 이내에 개의 비골 크기와 같은 직경 3~5 mm, 길이 10~15 mm 크기로 성형하고, 4°C 이하 상태를 유지하면서 항원성을 억제하기 위하여 골막, 해면질 등 기타 모든 연부조직을 제거한 뒤 Methanol+Chloroform(1:1)액에 48시간 침지로 탈지와 항원성을 제거시킨 후 증류수로 세정하여 실온에서 건조하였다¹³. 기질내에 있는 BMP의 변성을 억제하기 위하여 건조된 골을 -80°C에서 24시

간 급속 동결시킨 후 동결된 골편은 즉시 동결건조기(OPR-FDC-8032, Operon Engineering, Korea)에서 72시간 동안 동결건조시켰으며 이 때의 골 수분 함량은 1% 이내였다. 수분 5% 이내의 동결건조는 단백질이나 효소의 변성을 억제하고 복원이 가능한 것으로 알려져 있다^{8,11,42}. 동결건조 처리된 골편은 EO gas(ethylene oxide 10%+nitrous oxide 90%)로 멸균 포장하여 상온에 보존한 후 이식에 공여하였다. 이식골편의 여러 가지 소독방법중 EO gas 멸균법이 BMP의 보존과 소독에 효과적인 것으로 알려져 있다^{30,40,58}.

이식골편의 이식

각 실험견에 대한 처리는 atropine sulfate의 전마취와 thiopental sodium의 유도마취 및 enflurane의 유지마취 하에서 일반적인 방법에 따라 하퇴부의 비골외측근위부에서 접근하여 비골 근위부를 노출시켰다(Fig 1). 비골은 골이식실험의 표준으로 알려진 부분으로 이식후에 내부고정이나 외부고정을 할 필요가 없는 부분이고 내-외부 고정에 의한 비유합의 오차를 최소화할 수 있는 것으로 알려져 있다¹⁶.

동결건조한 산양뼈의 이식 : 노출된 비골에서 경골과 분리되어 있는 근위골간부 약 15 mm를 실험적으로 절제하였다. 골이식 실험에서의 골 절제길이는 반경의 2배 이상이어야 자연 치유유합이 일어나지 않는 것으로 알려져 있으며³³ 본 실험에 공여된 개의 비골 직경은 4~6 mm 범위에 있었다. 비골의 절제는 electric handpiece saw(BL-F3, Osada electric co., LTD., Japan)를 이용하였으며 비골의 결손부위는 동결건조된 이식편을 절제된 길이와 같은 크기로 성형하여 충진하였으며 내부고정을 하지 않고 절개순으로 근육과 피부를 봉합

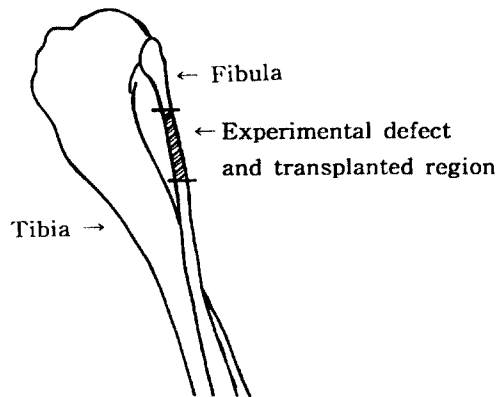


Fig 1. Diagram of experimental defect and transplanted region of fibula.

하였다. 감염을 예방하기 위하여 3일간 Ampicillin(20 mg/kg, IM, TID)을 투여한 것 외에 다른 처치는 하지 않았다.

자가 동결건조골의 이식: 대조군으로 2두의 양측 비골 근위골간부의 15 mm를 양측 비골에서 절취하고 근육과 피부를 봉합하였다. 절취된 비골은 산양뼈와 같은 방법으로 일주일간 동결건조처리한 후 좌·우측 위치를 바꿔 절제된 부위에 산양뼈의 이식골편과 같은 방법으로 이식하였다. 이식 후 처치는 산양뼈를 이식한 경우와 같이 처리하였다.

방사선 사진 검사

이식 후 2주 간격으로 골 유합상태를 확인하기 위하여 골이식부분에 대하여 방사선사진을 촬영하였다.

골아세포의 활성도 검사

골아세포의 활성도를 측정할 수 있는 방법으로는 PICP(Carboxyl-terminal procollagen type I propeptide), Osteocalcin을 혈중에서 측정하는 방법^{14,15,17,51,56}이 알려져 있으나 최근에 알려진 specific bone alkaline phosphatase(BALP) 측정법은 Wheat-germ agglutinin이 혈청 내 BALP의 N-acetylglucosamine과 결합하는 성질을 이용한 방법^{22,34,37,43}으로 본 연구자들의 실험^{59,60}에서 다른 방법보다 더 효과적인 방법으로 인정되었으며 본 실험에서는 Rosalki and Foo의 변법^{4,34}을 이용하였다.

ALP의 측정은 골아세포의 활성 외에도 간이나 담도계^{28,38}, 신장^{12,42}, 소화관^{10,18}의 이상이나 태반^{21,26}, 악성종양^{32,39,54} 등에서도 증가하는 것으로 알려져 있으나 건강한 동물에서 골절시에는 골아세포의 활성을 측정할 수 있는 방법으로 이용되고 있다. BALP와 ALP의 측정은 이식 후 2주간격으로 혈액을 채취하여 혈청을 분리하고 -80°C에서 동결시킨 후 검사하였다.

TALP의 측정: TALP의 측정은 p-nitrophenyl phosphate를 기질로 하여 ALP의 발색정도를 보는 Bessey-Lowry법^{18,43,57}을 이용하였다.

BALP의 측정: Rosalki and Foo의 방법을 개선시킨 Behr와 Barnert의 방법⁴을 이용하였다. 혈청은 -4°C에서 24시간 해동하고, lectin sol은 wheat germ agglutinin (*Triticum vulgaris*, wheat germ lectin, Sigma chem co., U.S.A.)을 5 g/l의 농도로 용해하고, Triton-X 100 sol은 Triton-X surfactant(Sigma chem co., U.S.A.)를 20 g/l의 비율로 희석하여 준비하였다.

준비된 혈청 50 µl에 동량의 lectin sol을 첨가한 뒤 37°C에서 30분간 incubation하고, 이 용액에 Triton-X 100 sol 5 µl를 첨가하여 혼합하고 37°C에서 30분간 다

시 incubation하였다. 이렇게 제작한 serum mixture를 2000 g에서 15분간 원심 분리하여 상층액과 침전물을 분리하였다.

상층액을 취하여 TALP의 측정법과 동일한 방법으로 ALP치를 측정하였다. BALP는 TALP에서 상층액의 ALP치를 빼고 남은 값으로 하였다.

일반혈액검사

시술 후 2주 간격으로 20주까지 실험견의 건강상태를 확인하기 위하여 적혈구수, 백혈구수, Hb, PCV 등을 자동혈액분석기(Minos Vet, ABX co., France)로 측정하였다. 생화학적 검사에서 Glucose, BUN, Total-bilirubin, ALT, Ca은 자동 혈액 화학 분석기(Spotchem™ SP-4410, Daiichi Kagaku co., Japan)로 kit를 사용하여 각각 측정하였다.

결 과

임상증상

실험기간 동안 각 실험견의 체온, 심박수 및 호흡수의 일반 임상증상은 전 실험기간 동안 정상범위내의 변화를 나타냈다.

이식골의 유합

방사선 사진에서 이식골편의 유합형태는 3가지의 유형으로 나타났다. 즉 이식골과 숙주 사이에 조기에 완전유합이 일어난 형과 불완전 유합으로서 이식골편의 흡수와 신생골의 형성이 서서히 일어나는 형 그리고 전혀 유합이 일어나지 않고 이식골이 흡수도 되지 않으며 신생골도 형성되지 않는 비유합형이 나타났다. 이와 같은 유합형태는 어느 한 개체에서 한 가지 유형이 나타나지 않고 한 개체의 양측 비골에서 서로 다른 유형이 나타나는 경우도 있었다.

완전유합이 일어난 형은 이식한 5마리 10개 부위중 1개 부위에서 시술 후 8주부터 신생골이 나타나기 시작하여 16주에 완전유합이 이루어졌고 18주부터 remolding이 시작되었으며 20주까지 지속되고 있었다(Fig 2-A). 불완전 유합이 일어난 경우는 2마리의 2개 부위에서 나타났다. 시술 후 8주부터 이식부위의 원위단에서 신생골의 생성이 관찰되었으며 이식골편도 흡수되어 갔으나 20주까지도 근위단에서는 유합이 일어나지 않았다(Fig 2-B). 유합이 일어나지 않은 비유합형은 4마리 7개 부위이었다. 이식부위 주변에서 신생골의 형성이나 이식골편의 흡수도 관찰할 수 없었으며 숙주의 원위단과 근위단이 정상의 크기보다 가늘어져

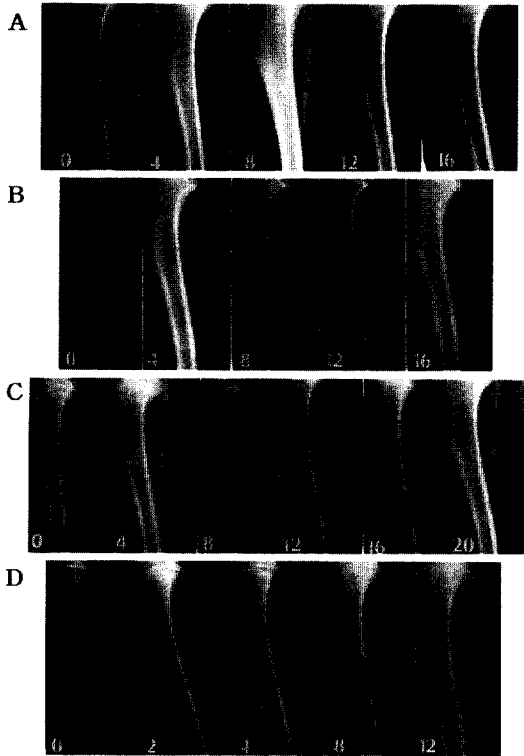


Fig 2. Serial Radiograms of implants after transplanted freeze-drying cortical bone of the goat on fibular of dogs. A. complete union form: early new bone formation, B. incomplete union form: partial(distal) new bone formation and absorption of implants, C. non-union form: fibular atrophy of the host and no new bone formation nor absorption, D. control groups.

가고 단단은 침상으로 나타나고 있었다(Fig 2-C).

자가동결건조골을 이식한 대조군의 2마리 4개 부위에서는 모두가 조기 완전유합형이 나타났다. 대부분 2주에 신생골이 형성되고 10주에 유합이 일어났으며 12주에서부터 remolding이 시작되었고 16주까지 지속되고 있었다(Fig 2-D).

골아세포의 활성도

골아세포의 활성도를 알아보기 위하여 측정된 BALP와 ALP치는 방사선사진에서 유합과 불완전 유합 및 비유합의 경우를 비교하였다. 이식 전 BALP치가 22.7 IU/L인 1마리에서는 한 측은 완전유합이 반대 측에서는 불완전 유합이 일어났다(Fig 3). 이식 전 BALP치가 31.3 IU/L인 다른 1마리는 한 측에서는 불완전유합이 일어났고 다른 한 측은 유합이 일어나지

않았으며, BALP치가 56.6 IU/L, 65.2 IU/L, 42.5 IU/L 인 3마리에서는 모두 유합이 일어나지 않았다(Fig 3).

완전 유합과 불완전 유합이 일어난 1마리에서 이식 후 신생골의 형성이 시작된 8주의 BALP치는 15.2 IU/L이었으나 이 시기부터 BALP치가 상승하여 20주에는 31.9 IU/L까지 증가되었으며(Fig 3) remolding이 시작된 20주 이후에는 다시 20.9 IU/L로 낮아졌다. 한 측에는 불완전 유합이 다른 한 측에는 유합이 일어나지 않은 1마리는 신생골이 형성되기 시작한 4주에 36.2 IU/L이었으나 14주 후에는 43.5 IU/L까지 증가하였으며 16주 후에는 31.2 IU/L이었다. 유합이 일어나지 않은 3마리의 경우에는 이식 전 평균 BALP치 54.8 IU/L가 이식 후 10주에는 35.4 IU/L(Fig 3), 22주에는 22.2 IU/L로 낮아졌다. 조기 완전유합이 일어났던 대조군 2마리에서는 신생골이 형성되기 시작한 2주의 BALP치 27.2 IU/L가 완전유합이 일어난 10주에는 41.0 IU/L까지 증가하였으나 remolding이 일어난 14주에는 18.5 IU/L로 낮아졌다(Fig 3).

완전유합이 일어난 경우와 유합이 일어나지 않은 경우에 신생골이 형성되기 시작한 이후의 BALP치에는 유의성 있는 차이가 인정되었다(Fig 4, $p < 0.05$).

TALP의 변화

이식골이 조기유합된 경우와 불완전유합 및 비유합의 경우에서 나타난 이식 후 TALP치의 변화는 BALP 변화와 유사한 변화를 나타냈다(Fig 5).

Glucose, BUN, Total-bilirubin, ALT, Ca치의 변화

각 실험견에 대한 혈청의 생화학적 검사에서

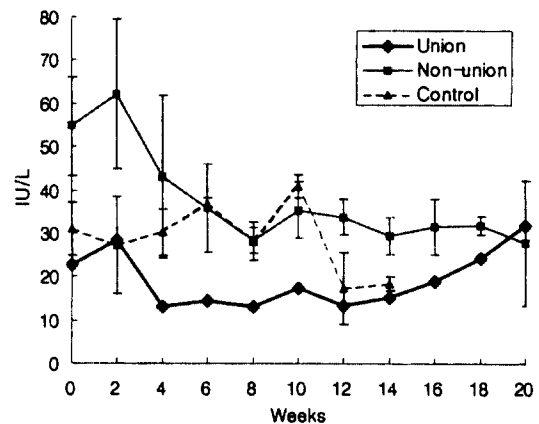


Fig 3. Changes BALP value in serum after transplanted freeze-drying cortical bone of the goat to dogs.

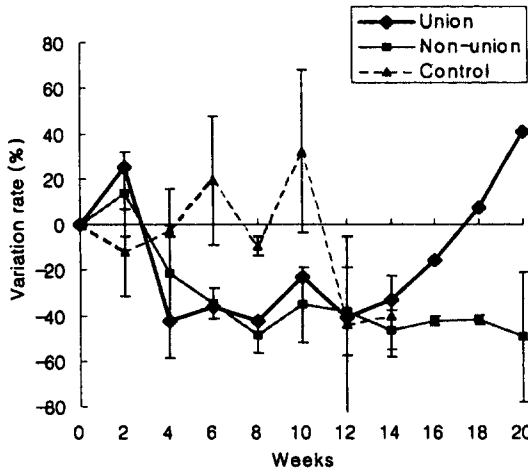


Fig 4. Comparison of BALP variation rate. The difference between union and non-union during 8~20 weeks, bone incorporation period was statistically significant ($p < 0.05$).

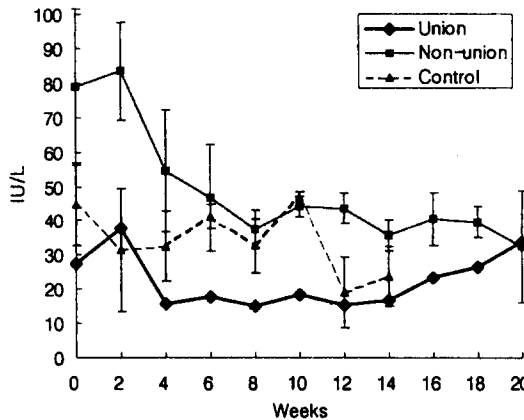


Fig 5. TALP changes in union, non-union and autoimplant (control).

Glucose, BUN, Total-bilirubin, ALT, Ca치는 전 실험기간 동안 정상범위내의 변화를 나타냈다.

고 찰

개의 동종 동결건조골 이식에서 이식골의 신생골형성이나 유합과정에 대하여 연구자간에 다양한 유합과정이 보고되어 있으며^{7,60} 이들 연구자들의 유합과정형태는 이식골의 흡수과정과 신생골의 형성과정에서 유합과정을 방사선사진에 의한 형태학적인 관점에서 여러 형으로 구분하고 있다. 이들 연구자들의 공통점으로는 (1) 초기에 신생골이 형성되고 유합된 후 이식골

의 흡수가 일어나는 자가골 이식과 같은 조기유합형, (2) 이식골의 흡수와 신생골의 형성이 동시에 일어나는 지연유합형, (3) 이식골이 연속성만 유지하면서 거의 흡수된 후에 신생골이 형성되는 지연유합형의 3가지 형태로 요약할 수 있다. 본 실험에서 유합이 일어난 경우는 (1)과 (2)의 2가지 유합형태를 나타내고 있었다. 그러나 이와 같은 유합과정의 차이가 일어나는 기전에 대해서는 아직 밝혀진 바 없으나 이식골과 주위에서 일어나는 맥관의 침투와 대사반응 및 골형성과 유도인자들의 활성 정도에 따른 차이 때문인 것으로 생각된다.

본 실험에서 나타난 이식 후 조기유합이나 불완전 유합이 일어난 시기에 있어서도 동종골이식에서 나타난 유합의 시기와 매우 유사하게 나타났다. 이러한 결과는 동종골이식에서의 유합지연이나 비유합의 요인이 산양과 개의 이종골이식에도 같은 영향을 미치고 있다는 것을 시사할 수 있다.

이식골의 흡수는 유합이 일어난 후에도 6개월 이상 걸리는 것으로 알려져 있으나¹⁶ 본 실험에서의 유합형에서는 18주에 remolding에 들어갔으나 불완전유합이나 비유합형에서는 24주까지도 이식골의 흡수가 전혀 관찰되지 않았다.

본 실험에서 나타난 불완전유합과 지연유합은 이종골에서 일어난 현상이라기보다는 많은 연구자들에 의해 보고된 기질골에서의 골유도가 creeping substitution이 있다는 이론^{5,25,40}에 영향을 미친 것으로 생각된다. 또한 이식골이 완전히 흡수된 후에 신생골이 형성된다는 이론^{7,23}은 본 실험에서 불완전유합의 경우는 일치된다 하더라도 완전유합이 일어난 경우나 대조군의 경우는 이식골편의 흡수 이전에 신생골이 형성되어 이식골의 기질내에 있는 BMP가 골의 형성을 유도한 것으로 생각된다. BMP의 골유도는 이식골 주변의 면역반응으로 차단된다는 주장¹³을 따른다면 본 실험에서 나타난 3예(30%)의 신생골 형성은 면역반응이 없었다는 것을 시사할 수 있다.

이식골의 유합형태와 골아세포의 활성도를 비교하기 위한 BALP의 측정에서 유합형과 대조군은 11.46 IU/L에서 39.11 IU/L의 범위를 유지하고 있었으나 비유합형에서는 BALP치가 낮아지고 있었다. 이러한 결과는 정상적인 사람의 경우에서 10세의 150-240 IU/L에서 성장기인 20세 이후에는 31.4-39.8 IU/L까지 낮아져 성장기 이후에는 변화가 적은 것과 같이³⁴ 정상적인 개에서도 개의 연령에 따른 BALP치가 생후 4개월에 27.7 IU/L에서 1세 이후에는 9.7 IU/L로 낮아지고 2세 이후에는 9.6-8.5 IU/L 범위에서 큰 변화없이

유지되었다는 보고⁵⁹와 비교한다면 본 실험에서 이용된 실험견의 연령이 이식수술 당시 4-6개월령으로서 실험이 종료된 시기는 9개월령에서 1세가 되므로 정상적인 BALP치가 낮아지는 시기에 해당되기 때문에 BALP치가 일정한 범위에 있는 것은 상승하고 있음을 의미하는 것일 것이다. 이러한 추정은 비유합형에서 정상적인 개에서와 같이 BALP치가 낮아지고 있는 것으로 인정될 수 있다. 이러한 변화는 이식 후 TALP치의 변화에서도 유사한 결과를 나타냈으나, 이것은 건강한 동물에서 TALP중 골아세포의 활성에 관련되는 BALP만을 침전시켰기 때문에 TALP와 BALP가 일정한 비율을 유지한 것으로 생각된다. 따라서 방사선사진에 의한 유합형태는 신생골이 형성되기 시작한 8주 이후부터 BALP치의 변화와 유의성 있는 관계가 있음을 인정할 수 있었다($p < 0.05$).

이식 전에 측정된 BALP치에서 한 측은 완전유합이 일어나고 다른 한 측은 불완전 유합이 일어난 경우는 22.7 IU/L, 한측은 불완전 유합이 일어나고 다른 한측은 비유합이 일어난 경우는 31.3 IU/L 양측에 유합이 일어나지 않은 3마리의 경우는 평균 54.8 IU/L로 나타난 것은 BALP치가 낮을수록 유합율이 높다는 것을 시사하고 있다. 이러한 결과는 저자들이 보고한 동종골의 이식 실험⁶⁰에서도 유사한 결과가 나타나 이식전 BALP치와 이식골의 유합관계에 대해서는 앞으로 검토되어야 할 과제로 생각된다.

본 실험에서 나타난 결과에서 유합율이 낮을 지라도 동종골 이식에서 나타난 결과와 유사한 유합과정이 나타나는 점으로 보아 동결건조한 산양뼈를 개에 이식한 결과는 동종간에 이식에서의 문제점과 유사한 것으로 생각된다. 또한 자가골을 동결건조처리하여 이식한 모든 예에서 조기유합이 나타난 것은 동결건조 처리가 유합을 억제하지 않는다고 할 수 있으며 신생골의 형성은 면역반응이 일어나지 않고 있다는 것과 완전유합에서 나타난 이식골의 흡수이전에 조기에 신생골이 형성된 것이 BMP의 골형성유도 때문이라고 생각한다면 산양과 개 사이에는 BMP의 특이성이 없다고 인정할 수 있었다. 그러나 동결건조골이 항원성을 최대한 축출하였기 때문에 BMP를 제외한 중간의 특이성 유무는 알 수 없다.

이중간에 BMP의 특이성이 없다 하더라도 임상에서의 이종골 이식의 확실한 응용을 위해서는 골기질에서 일어나는 creeping substitution, osteoclast나 osteoblast의 활성에 관여하는 요인과 기전에 대한 정체가 밝혀져야 할 것으로 생각된다.

결 론

산양과 개사이의 골이식 가능성과 BMP의 특이성을 검토하기 위하여 산양뼈의 기질을 동결건조처리하여 개의 비골에 이식하였다. 산양뼈 기질의 동결건조는 chloroform과 methanol로 탈지와 항원성을 제거하였고 동결건조로 BMP를 보존하였으며 EO gas로 멸균하였다. 동결건조된 이식골편을 개 5마리의 양측 비골 10곳에 이식한 결과 1곳에서 완전유합이 일어났으며, 2마리 2곳에서는 불완전 유합이, 4마리 7곳에서는 유합이 일어나지 않았다. 자가골 기질을 동결건조 처리하여 이식한 결과에서 동결건조처리방법은 이식골의 유합에 영향을 미치지 않았다. 비록 유합율은 낮았지만 지라도 이러한 이식골의 유합형태는 동종골 이식과 유사한 유합형태를 나타냈고, BMP에 의해 유도되는 신생골 형성은 면역반응이 차단된 것을 의미하므로 개와 산양간의 BMP는 특이성이 낮아 이식의 가능성이 있음을 시사하고 있었다.

참 고 문 헌

1. Adeyanju BJ, Butler HC, Leipold HW. Healing of cortical bone grafts in the dog the role of Azathioprine. *Veterinary Surgery* 1982; 11(2): 52-59.
2. Alexander JW. Bone grafting. *Vet Clin North Am* 1987; 17(4): 811-819.
3. Alexander JW. Use of a combination of cortical bone allografts and cancellous bone autografts to relace massive bone loss in fresh fractures and selected nonunions. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1982; 19: 671-678.
4. Berh W, Barnert J. Quantification of bone alkaline phosphatase in serum by precipitation with wheat-germ lectin: a simplified method and its clinical plausibility. *Clin Chem* 1986; 10: 1960-1966.
5. Binnington AG. Bone remodeling and Transplantation. In: *Canine Orthopedics* 2nd ed. Philadelphia, London: Lea & Febiger. 1990: 166-189.
6. Brown KLB, Cruess RL. Bone and cartilage transplantation in orthopedic surgery. *J Bone & Joint Surg* 1982; 64-A: 270.
7. Burchardt H. Biology of bone transplantation. *Orthop Clin North Am* 1987; 18(2): 187-196.
8. Burchardt H, Jones H, Glowczewskie F, et al. Freeze-dried allogeneic segmental cortical-bone grafts in dogs. *J Bone & Joint Surg* 1978; 60-A(8): 1082-1090.
9. Cohen RE, Mullarky RH, Noble B, et al. Phenotypic characterization of mononuclear cells following anorganic

- bovine bone implantation in rats. *J Periodontol* 1994; 65(11): 1008-1015.
10. Coleman JE. Alkaline phosphatase solution structure and mechanism. In: *Advances in Enzymology*. 1st ed. New York. An interscience publication. vol 55 1983: 381-451.
 11. Conrad EU, Ericksen DP, Tencer AF, et al. The effects of freeze-drying and rehydration on cancellous bone. *Clin Orthop & Related Res*. 1993; 290: 279-284.
 12. Cornelius CE. Liver function-Alkaline phosphatase. In: *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4th ed. San Diego: Academic press, Inc. 1989: 384-385.
 13. Cutting CB, McCarthy JG, Knize DM. Repair and grafting of bone. In: *Plastic surgery I, General principle*. WB Saunders co. 1990: 594-597.
 14. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of metabolic bone disease. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 1990; 19(1): 1-18.
 15. Duda RJ Jr., O'Brien JF, Katzmann JA, et al. Concurrent assays of circulating bone glaprotein and bone alkaline phosphatase: Effects of sex, age, and metabolic bone disease. *JCE & M* 1988; 66(5): 951-957.
 16. Enneking WF, Burchardt H, Puhl JJ. Physical and biological aspects of repair in dog cortical-bone transplants. *J Bone & Joint Surg*. 1975; 57-A(2): 237-252.
 17. Epstein S. Serum and urinary markers of bone remodeling: Assessment of bone turnover. *The Endocrine Society* 1988; 9(4): 437-449.
 18. Fishman WH. Perspectives on alkaline phosphatase isoenzymes. *American Journal of Medicine* 1974; 54: 617-650.
 19. Forell EB, Straw RC, Powers BE, et al. Evaluation of the osteoinductive capacity of canine demineralized bone matrix in heterotopic muscle sites of athymic rats. *VCOT* 1993; 6: 21-28.
 20. Friedlaender GE, Strong DM. Studies on the antigenicity of bone. *J Bone & Joint Surg*. 1976; 58-A(6): 855-858.
 21. Friedlaender GE. Current concepts review bone-banking. *J Bone & Joint Surg*. 1982; 64-A(2): 307-311.
 22. Frost HM. Tetracycline-based histological analysis of bone remodeling. *Calc Tiss Res* 1969; 3: 211-237.
 23. Fukunaga T, Masumi S, Yano H, et al. Osteogenesis in xenogeneic bone transplantation, using an immunosuppressant. *Acta Orthop Scand* 1995; 65(6): 557-560.
 24. Gonchroff DG, Branum EL, Cedel SL, et al. Clinical evaluation of highperformane affinity chromatography for the separation of bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes. *Clin Chem Acta* 1991; 199: 43-50.
 25. Harvey CE, Newton CD, Schwartz A. Biology of bone grafts. In: *Small Animal Surgery*. Philadelphia: JB Lippincott Company. 1990: 544-548.
 26. Hendrix PG, Hoylaerts MF, Nouwen EJ, et al. Enzyme immunoassay of human placental and germ-cell alkaline phosphatase in serum. *Clin Chem* 1990; 36: 1793-1799.
 27. Henry WB, Wadsworth PL. Diaphyseal allografts in the repair of long bone fractures. *J Am Anim Hosp Assoc* 1981; 17: 525-534.
 28. Hill CS, Wolfert RL. The preparation of monoclonal antibodies which react preferentially with human bone alkaline phosphatase and liver alkaline phosphatase. *Clin Chem Acta*. 1989; 186: 315-320.
 29. Ikebe S, Masumi S, Yano H. et al. Immunosuppressive effect of tacrolims (FK-506). *Acta Orhtop Scand* 1996; 67(4): 389-392.
 30. Johnson AL, Moutrary M, Hoffmann WE. Effect of ethylene oxide sterilization and storage conditions on canine cortical bone harvested for banking. *Veterinary Surgery* 1987; 16(6): 418-422.
 31. Johnson AL, Eurell JAC, Schaeffer DJ. Evaluation of canine cortical bone graft remodeling. *Veterinary Surgery* 1992; 21(4): 293-298.
 32. Kaplan MM. Alkaline phosphatase. *New Engl J Med* 1972; 286: 200-202.
 33. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am*. 1987; 18(2): 213-225.
 34. Leung KS, Fung KP, Sher AHL et al. Plasma bone specific alkaline phosphatase as an indicator of osteoblastic activity. *J Bone Joint Surg* 1993; 75: 288-292.
 35. Makley JT. The use of allografts to reconstruct intercalary defects of long bones. *Clin Orthop & Related Res*. 1985; 197: 58-75.
 36. Mankin HJ, Doppelt S, Tomford W. Clinical experience with allograft implantation. *Clin Orthop & Related Res* 1983; 174: 69-86.
 37. Monsigny M, Roche AC, Sene C, et al. Sugerlectin interactions: How dose wheat-germ agglutinin bind sialoglycoconjugates? *Eur J Biochem* 1980; 104: 147-153.
 38. Moss DW, Whitby LG. Simplified heat-inactivation method for investigating alkaline phosphatase isoenzymes in serum. *Clin Chem Acta* 1975; 61: 63-71.
 39. Moss DW. Alkaline phosphatase isoenzyme. *Clin Chem* 1982; 10: 2007-2016.
 40. Olds RB. Bone grafting In: *Pathophysiology in small animal surgery*. Philadelphia. Lea & Febiger 1981: 534-541.
 41. Pappas AM. Current methods of bone storage by freezing and freeze-drying. *Cryobiology* 1968; 4: 358-375.
 42. Price PA, Williamson MK, Lothringer JW, et al. Origin of the vitamin K-dependent bone protein found

- in plasma and its clearance by kidney and bone. *J Biological Chem* 1981; 256: 12760-12766.
43. Rosalki SB, Foo AY. Two new methods for seperating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma. *Clin Chem* 1984; 7: 1182-1186.
 44. Säveland H, Aspenberg P, Zygmunt S, et al. Bovine bone grafting in occipito-cervical fusion for atlanto-axial instability in rheumatoid arthritis. *Acta Neurochir (Wien)* 1994; 127: 186-190.
 45. Schena III CJ, Mitten RW, Hoefle WD. Segmental freeze-dried and fresh cortical allografts in the canine femur. I. A sequential radiographic comparison over a one-year interval. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1984; 20: 911-925.
 46. Schwarz N, Schlag G, Thurnher M, et al. Fresh autogeneic, frozen allogeneic, and decalcified allogeneic bone grafts in dogs. *J Bone & Joint Surg.* 1991; 73-B(5): 787-790.
 47. Sinibaldi KR. Evaluation of full cortical allografts in 25 dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1989; 194(11): 1570-1577.
 48. Stevenson S, Horowitz M, Ohio C. Current concepts review The response to bone allografts. *J Bone & Joint surg.* 1992; 74-A(6): 939-950.
 49. Stevenson S. Bone grafting In: *Current techniques in Small animal surgery.* 3rd ed. Philadelphia, London: Lea & Febiger. 1990: 836-844.
 50. Tomford WW, Mankin HJ, Friedlaender GE, et al. Methods of banking bone and cartilage for allograft transplantation. *Orthop Clin North Am* 1987; 18(2): 241-247.
 51. Van Straalen JP, Sanders E, Prummel MF, et al. Bone-alkaline phosphatase as indicator of bone formation. *Clin Chem Acta* 1991; 201: 27-34.
 52. Vasseur PB, Stevenson S. Osteosarcoma at the site of a cortical bone allograft in a dog. *Veterinary Surgery* 1987; 16(1): 70-74.
 53. Vilijanen VV, Gao TJ, Lindholm TC, et al. Xenogeneic moose (*Alces alces*) bone morphogenetic protein (mBMP)-induced repair of critical-size skull defects in sheep. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1996; 25: 217-222.
 54. Weiss MJ, Henthorn PS, Lafferty MA, et al. Isolation and characterization of a cDNA encoding a human liver/bone/kidney-type alkaline phosphatase. *Proc Natl Acad Sci.* 1986; 83: 7182-7186.
 55. Wilson JW, Hoefle WD. Diaphyseal allograft: eight-year evaluation in a dog. *VCOT* 1990; 3: 78-81.
 56. 강무일. 골교체 생화학적 표지자의 임상적 응용. *대한골대사학회지.* 1994; 2: 246-253.
 57. 이삼열. 임상병리검사법. 1985; 연세대학교 출판부. 226-228.
 58. 장익열. 동결건조골에 대한 소고. *대한정형외과학회지* 1988; 23(3): 929-935.
 59. 조성진, 김남수, 최인혁. 정상적인 개에서의 serum bone alkaline phosphatase의 활성치. *Korean J Vet Clin Med* 1997; 14(1): 65-69.
 60. 최인혁, 김현경, 김남수. 개의 비유합골절 model에 있어서 동결건조골이식의 효과. *대한수의학회지* 1996; 36(2): 495-511.