

동결건조한 소의 치밀골에서 전해질용액의 침지시간에 따른 Strength와 Stiffness의 변화

김남수 · 장세웅 · 김희은 · 정인성* · 최성진 · 최인혁¹
전북대학교 수의과대학, 건국대학교 수의과대학*

Changes of Strength and Stiffness of Freeze-Dried Bovine Cortical Bone according to Rehydration Time in Electrolyte Solution

Nam-Soo Kim, Se-Ung Jang, Heui-Eun Kim, In-Seong Jeong*, Sung-Jin Choi and In-Hyuk Choi¹

Collage of Veterinary Medicine, Chonbuk National University
Collage of Veterinary Medicine, Kunkook University*

Abstract : Transplanted cortical bone grafts of freeze-dried bones also function as sustaining for defected bones, however, it has less strength and is fragile without rehydration. In this study, strength and stiffness of freeze-dried bone from bovine cortical bones were evaluated by three point bending test according to different time frames such as rehydration times of 0.5, 3, 6, 12 and 24 hrs in electrolyte solution and was compared with those of frozen bones. The strength and stiffness of frozen bone were 264.4±36.7 MPa, 17.0±1.5 GPa, respectively. The strength and stiffness of freeze-dried bone which fat was removed by treatments of chloroform-methanol solutions for 6 days, then was freeze-dried at -80°C and sterilized with ethylene oxide gas, were 224.9±27.6 MPa, 19.2±2.8 GPa, respectively. The strength and stiffness of freeze-dried bone were decreased 15.0% and increased 13.2% than these of frozen bone, respectively. The strength and stiffness of freeze-dried bone rehydrated for 6 hrs were restored to 96.0% strength and 99.2% stiffness of frozen bone. The rehydration time of freeze-dried bone which had the highest strength and stiffness was six hours and three hours, respectively. The results of the mathematica program for the variation of the strength and stiffness showed 3 hours and 30 minutes of rehydration time in electrolyte solution for the best condition in the strength and stiffness which was adequate to treat freeze-dried cortical bone.

Key words : bending strength, freeze-dried cortical bone, rehydration

서 론

골이식에서 이식골의 수요가 급증함에 따라 비교적 공급이 원활한 이종골의 이식에 관한 연구에 관심이 증가하고 있다. 이종골 이식에서 중요한 문제점은 면역성 거부반응의 억제와 신생골 유도능력을 최대한 유지하는 방법이다. 이러한 문제의 해결을 위하여 많은 연구자들은 이식골의 처리방법을 개발하게 되었다. 지금까지 알려진 이식골의 처리방법으로는 동결법, 동결건조법, 탈회법, 탈단백법 등이 있으며 가장 일반적인 방법은 동결법과 동결건조법으로 알려져 있다^{9-11,15,27-29,53,54}. 특히 골결손부의 이식은 지지력이 유지되어야 하기 때문에 치밀골이 이용되지 않으면 안 된다^{35,54}. 치밀골을 동결건조처리하는 과정은 항원성 물질을 억제 또는 제거하고 신생골 유도능력을 최대한 유지시키기 위한 방법으로 chloroform+methanol solution(CM sol)으로 탈지처리를 하고 치밀골내에 함유된 골형성원성 단백질(bone morphogenetic protein;

BMP)의 유지와 보존성 및 ethylene oxide gas(EO gas) 멸균을 위한 gas의 유통을 원활히 하기 위하여 동결건조시키는 방법으로 주로 골은행에서 사용하는 처리방법이기도 하다^{27,28,29,53,54}. 뼈에서의 동결건조처리는 strength에 변함이 없거나 증가시킨다는 보고가 있으나^{26,37} 대부분의 다른 연구자들은 strength를 저하시킨다는 것이 일반적이다^{13,23,30,38,39}. 그러나 이러한 원인은 동결건조가 부서지기 쉬운(brittle) 상태의 원인이 되거나^{13,24} 물리적 특성에 크게 영향을 미치는 것으로 알려져 있는 정도이며²³, 어떠한 구조적인 변화나 기전으로 strength가 감소되는지에 대해서는 알려져 있지 않다. 한편 Roe⁴³ 등은 소독을 위한 CM sol 처리나 EO gas의 처리가 초기에는 strength에 영향을 미치지 않으나 16주 이상 시간이 경과됨에 따라서 strength가 약해진다고 보고하고 있다⁴². 이러한 strength의 저하 또는 균열의 발생은 내부고정시에 drill작업에서 쉽게 파손되거나 균열을 가져와 이식골의 고정 에 많은 어려움을 갖게 된다. 이와 같이 감소된 골의 strength를 복원하기 위한 침수(rehydration)방법이 알려져 있으며 침수시간의 범위가 30분에서 24시간까지 다양하게 보고 되어 있어 유용한 침지시간을 판단하는데 어려움이 많다^{5-7,12-14,19,20,25,51}. 또한 대부분의 실험들은 실험동물로서 rat의

¹Corresponding author.
E-mail: ihc@chonbuk.ac.kr

이 논문은 2003년도 전북대학교 생체안정성연구소 학술연구비의 일부지원으로 이루어졌음

뼈를 대상으로 하거나 trabecular를 대상으로 하여 실제 이중골로의 이용도가 높은 소뼈의 치밀골을 대상으로 한 보고는 매우 드물다^{5,7,12,14,25,30,38,39}. 또한 침수의 용매로서 대부분 saline을 사용하여 왔으며 생체와 유사한 전해질 등장액으로 침수를 한 경우는 아직 접하지 못했다.

따라서 본 연구에서는 소의 치밀골을 bone bank에서 이용되고 있는 방법으로 동결건조처리하여 strength와 stiffness를 측정하고 또한 등장 전해질용액에 침지하였을 경우에 strength가 복구되는 시간과 복구정도를 검토하여 동결건조골의 이식시 고정작업에 적합한 조건을 모색하기 위하여 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

Strength 시험용 골편의 제작

본 실험에 공여된 치밀골은 약 60-90일간 -20°C로 냉동 보관된 수입소뼈에서 부위별 strength의 오차를 최소화하기 위하여 대퇴골의 골간부에 있는 치밀골만을 채취하였다.

동결되었던 소뼈를 상온에서 해동시킨 후 연부조직을 제거하고 치밀골을 분리하여 bone saw로 폭 5 mm, 두께 5 mm, 높이 50 mm 크기로 성형하였다. 골편 성형이 끝난 후 즉시 동결건조 처리를 하였다.

골편의 동결건조 처리

준비된 골편을 chloroform과 methanol을 1:1로 섞은 혼합액에서 6일간 침지하고, 24시간 -80°C에서 예비동결을 거쳐 -80°C의 동결건조기(OPR-FDC, Operon Engineering, Korea)에서 7일간 동결건조 하였다. 동결건조 후 간에 수분측정법으로 100°C의 건조기에서 1시간 건조한 동결건조된 골편의 습도는 1% 이내였다. 동결건조가 끝난 골편은 ethylene oxide 가스로 멸균 포장하여 상온에 보존하였다.

골편의 분류

동결건조 처리하지 않은 동결골의 골편 10개를 대조군으로 하였으며, 실험군은 동결건조처리 된 골편은 lactated Ringer's solution에 침지한 시간에 따라 분류하였다. 즉, 실험군은 각 군당 10개씩 배치하였으며, 침지를 하지 않은 골편, 침지 후 30분, 3시간, 6시간, 12시간 및 24시간 군으로 각각 구분 하였다.

Strength 실험

실내 습도 50%, 실내 온도 25°C에서 강도측정기(Model no. 4467, INSTRON CO., USA)를 사용하여 3 point bending test를 실시하였으며, bending strength(강도)와 stiffness(골곡력, 강성도)를 측정 하였다(Fig 1). 측정조건은 crosshead speed 5.0 mm/min, fullscale load range 30.0 kN (kilo newton) 이었다.

대조군과 침지를 하지 않은 골을 제외한 각 실험군은 강도시험 직전까지 설정된 시간동안 lactated Ringer's solution

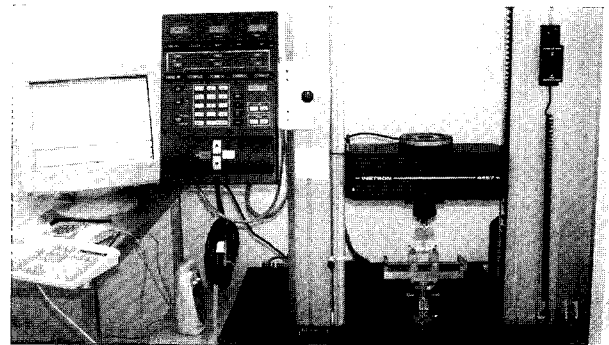


Fig 1. Apparatus for three point bending test of specimens (Model no. 4467, INSTRON CO., USA)

에 침지하였다.

함수율의 측정

동결건조 전의 무게와 동결건조 후의 무게 차이를 동결건조 전 무게에 대한 백분율로 표시한 것을 대조군의 함수율로 하였다. 실험군은 동결건조 직후 골편의 무게를 측정하였고, 각 실험군별로 설정된 시간동안 침지한 후 골편의 무게를 측정하였으며, 침지 전 후의 차이를 침지 전 무게에 대한 백분율로 표시하였다.

통계 처리

실험 결과의 통계 처리는 Student's t-test로 하였으며, $p < 0.05$ 를 유의한 차이의 한계로 하였다. strength와 stiffness에 대한 변화율의 3차곡선은 mathematica program의 3차 spline 보간 함수를 적용하였다.

결 과

Strength의 변화

동결건조 처리하지 않은 동결골의 strength는 264.4 ± 36.7 MPa이었고, 동결건조 직후에는 218.4 ± 25.7 MPa로 동결건조로 인한 골편의 strength는 대조군에 비하여 17.4%가 감소되었다. Lactated Ringer's solution에서의 침지시간에 따른 변화에서 침지 후 30분에는 230.6 ± 48.8 MPa로 동결골에 비하여 87.2%수준이었고 동결건조골편에 대하여 12.2 MPa (5.6%)의 strength가 증가하였다. 3시간 침지된 골편의 strength는 240.7 ± 15.6 MPa로 동결골에 비하여 91.05% 수준이었으며 동결건조골편에 대하여 22.3 MPa(10.2%)의 strength가 증가하였으며 30분 침지에 비하여 10.1 MPa (4.6%)가 증가하였다. 침지 6시간째에는 253.7 ± 26.4 MPa로 동결골에 비하여 96.0% 수준이었으며 동결건조골에 비하여 35.3 MPa(16.2%)가 증가하였다. 침지 후 12시간째에는 231.4 ± 36.7 MPa로 동결골에 비하여 87.68% 수준으로 6시간 침지시간에 비하여 22.3 MPa의 strength가 감소하였다. 동결건조골에 대해서는 13.0 MPa(6.0%)가 증가하였다. 침지 후 24시간에는 215.3 ± 27.9 MPa로 동결골에 비하여 81.4% 수준

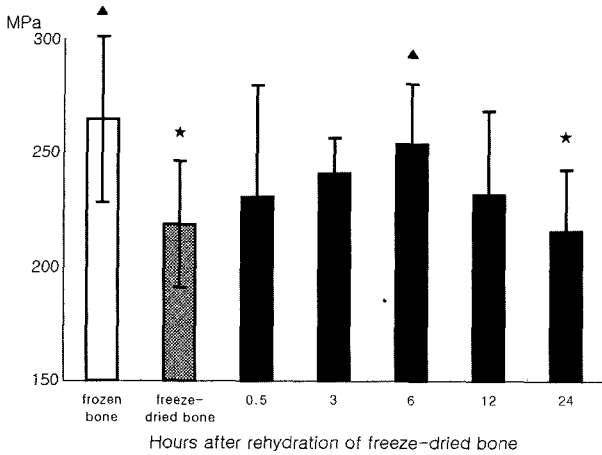


Fig 2. Changes of strength according to rehydration time
 ★: significant difference from raw bone, $p < 0.05$;
 ▲: significant difference from freeze-dried bone, $p < 0.05$

으로 strength는 점차 감소되어 갔으며 동결건조골에 대하여는 3.1 MPa (1.4%)가 오히려 감소하였다(Fig 2).

Stiffness의 변화

동결건조 처리하지 않은 동결골의 stiffness은 17.0 ± 1.5 GPa이었고, 동결건조 후에는 19.2 ± 2.8 GPa로 동결골에 비하여 2.2 GPa(13.1%)가 증가되었다. 침지시간에 따른 변화에서 침지 후 30분에는 21.5 ± 2.3 GPa로 동결골에 비하여 4.5 GPa(26.4%)가 증가하였으며 동결건조골에 비하여 2.3 GPa(12%)가 증가하였다. 침지 후 3시간에는 22.3 ± 1.8 GPa로 동결골에 비하여 5.3 GPa(30.9%)가 증가하였으며 동결건조골에 비하여 3.1 GPa(16.1%)가 증가하였다. 침지 후 6시간에는 17.1 ± 1.7 GPa로 동결골에 비하여 0.1 GPa(0.8%)가 증가하였으며 동결건조골에 비하여 2.1 GPa(10.9%)가 오히려 감소되었다. 침지 후 12시간에는 17.9 ± 3.3 GPa로 동결골에 비하여 0.9 GPa(5.1%)가 증가되었으며 동결건조골에 비하여는 1.3 GPa(6.8%)가 감소되어 있었다. 침지 후 24시간에는 15.2 ± 1.3 GPa로 동결골에 비하여 1.9 GPa(10.9%)가 감소되어 있었고 동결건조골에 비하여는 4.0 GPa(20.8%)가 감소되어 있었다(Fig 3).

함수율의 변화

동결건조처리로 측정된 동결골의 함수율은 $10.4 \pm 0.9\%$ 이었다. 침지 시간에 따른 변화에서 침지 후 30분에는 동결건조골에 비하여 $8.8 \pm 0.8\%$ 가 증가하였으며 동결골에 비하여 1.6%가 감소하고 동결골의 84.6% 수준이었다. 침지 후 3시간에는 동결건조골에 비하여 $9.6 \pm 1.0\%$ 로 증가하였으며 동결골의 92.3% 수준이었다. 침지 후 6시간에는 $10.5 \pm 0.9\%$ 로 증가되었으며 동결골의 99.0% 수준이었다. 침지 후 12시간에는 $11.5 \pm 1.5\%$ 가 증가되었으며 동결골보다 10.5%가 증가되어 있었다. 침지 후 24시간에는 $11.7 \pm 0.4\%$ 로 증가되었고 이는 동결골보다 12.3%가 증가된 수준이었다(Fig 4).

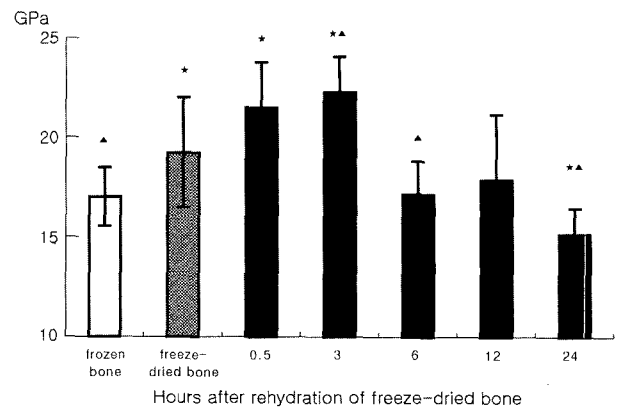


Fig 3. Changes of stiffness according to rehydration time
 ★: significant difference from raw bone, $p < 0.05$
 ▲: significant difference from freeze-dried bone, $p < 0.05$

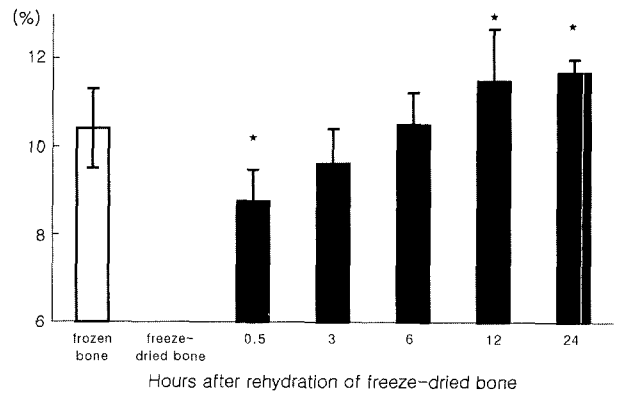


Fig 4. Changes of hydrated rate according to rehydration time
 ★: Significant difference from frozen bone, $p < 0.05$

Strength와 stiffness의 변화율 함수

Strength와 stiffness는 단위의 차이가 크기 때문에 동결건조 후 전해질 침지시간에 따른 strength와 stiffness의 변화율로서 2차함수를 조사하였으며 변화율은 동결건조된 골의 측정치를 기준으로 하여 산출한 것이다. 이들의 역학적인 조건에 맞는 즉 2차함수가 교차되는 지점이 strength와 stiffness의 두 조건을 충족시킬 수 있을 것이다. 따라서 두 조건이 알맞은 최적의 침지시간을 산출하기 위하여 mathematica program의 3차 spline 보간함수를 사용하였으며 그 결과는 graph에 나타난 바와 같다.(Fig 5) 이 그림에서 strength와 stiffness이 만나는 지점, 즉 두 조건을 충족할 수 있는 침지시간은 3시간 30분으로 나타났으며 이때의 strength는 243.9 MPa이며 stiffness는 21.5 GPa이었다.

고 찰

치밀골의 strength를 변화시키는 원인중의 하나는 종에 따라서 차이가 있으며 연령이 증가함에 따라 하중으로 인한 미

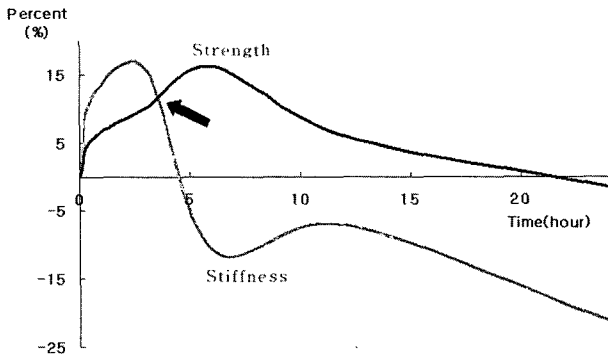


Fig 5. Curved line of change rate of strength and stiffness according to rehydrtion time.

세균열이 축적되고 골밀도가 낮아지며 Harversian canal이 확대 되어 노령의 뼈에서는 strength가 약하고 균열과 골절이 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다^{47,49}. 또한 같은 종일지라도 부위에 따라서 생체역학적인 부중의 차이 때문에 치밀골의 strength에 많은 차이가 있는 것으로 알려져 있다^{14,16,31,34,43}. 따라서 본 연구에서는 이러한 오차를 최소화하기 위하여 2세 내외의 수입된 비육소의 대퇴골에서 채취된 치밀골만을 사용하였다. 본 연구에 제공된 -20°C로 60-90일간 냉동된 소뼈를 대조군으로 사용한 것은 -20°C의 저장은 동결골에 비하여 역학적인 특성에 변화를 주지 않는다는 연구자들의 자료를 근거로 하였으며^{4,14,23,36}, 소뼈는 사람뼈에 비하여 치밀골의 밀도가 높고 미세균열의 발생율이 높은 것으로 알려져 있다^{47,48}. 또한 소독의 방법으로 이용되는 방사선 조사는 조사량에 차이가 있으나 일반적으로 3.0 megarad 이상에서는 골의 역학적인 strength에 크게 손상을 입히는 것으로 알려져 있다^{1,13,20,22,23,26,38,39}.

본 연구의 결과에서 동결건조처리한 것은 동결골에 비하여 strength는 17.4%가 감소하였으며 stiffness 13.1%가 증가한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 동결건조처리과정이 CM sol 처리와 동결건조 및 EO gas 처리가 되었기 때문에 어떤 처리과정이 이러한 변화를 가져왔는지를 명확하게 구분하여 밝히기는 어렵다. 개의 치밀골에서 CM sol 처리와 EO gas 소독 후 16주 이상 보관 상태에서 compressive loading가 23%, pullout load에서 39%가 감소되며 이 시기에는 구조적인 변화가 일어나는 것으로 보고 되어 있어⁴² 동결건조 이외의 탈지나 소독과정에서도 치밀골의 역학적인 감소가 일어나고 있음을 알 수 있다.

Cornu¹³등은 탈지와 동결건조 처리한 대퇴골두에서 동결골에 비하여 ultimate stress는 18.9%가 감소하였고 stiffness는 20.2%가 감소한 것으로 보고하였으며 Kang 등³⁰ rat의 femur에서 동결건조로 신선골에 비하여 bending strength가 9.7% 감소하였으며 compressive strength는 1.1%가 감소하였으나 유의차는 없었다고 보고하였다. Pelker^{37,38} 쥐의 장골에서 동결건조골이 compressive strength에서 10%가 증가하였다고 보고하고 있다. 이와 같은 연구자간의 차이는 측정 골의 종에 따른 차이나 채취부위에 따라 또는 동결건조과정

에 따라 차이가 있을 수 있으나 동결건조가 뼈의 strength를 감소시키는 기전에 대해서는 밝히지 않고 있다. 다만 골의 밀도가 strength에 밀접한 관계가 있으며 탈회골에서 strength가 감소한다는 것이 알려져 있는 정도이다^{8,41}.

동결과 관련된 골의 strength 변화에서 Brochers 등⁴ -70°C의 보존시 구조상의 변화가 없다고 한 반면 Kang 등³⁰ -80°C 동결에서 bending strength와 compressive strength가 각각 7.2%와 11.0%가 감소하였으며 Moreno³⁶등은 -80°C에서의 저장은 bending strength와 compressive strength를 감소시킨다고 하였다. 또한 Laforest 등³³ 동결방법에 따라 loading and torsion strength에 차이가 있음을 보고하였다. 이러한 결과들은 -70°C와 -80°C 사이에 strength에 영향을 미치는 변화가 일어나는 것으로 추정된다. 이러한 주장에 의 존한다면 본 연구에서의 strength의 감소는 -80°C의 동결건조와 예열을 위한 24시간의 -80°C 동결이 구조상에 영향을 미친 것으로 생각된다. 그러나 본 연구에서 동결건조처리후의 strength의 감소는 침수 6시간에 복구되어 가역성인 것으로 생각된다. -80°C의 동결이나 동결건조가 strength를 저하시키는 기전에 대해서는 연구되어야 할 과제로 생각된다. 동결건조로 인한 strength의 저하는 치아에서 부서지기 쉬운 (brittle) 상태가 되거나²⁴ 동결건조로 인한 porous의 증가가 strength를 감소시키는 것으로 생각된다. Bettin 등³ tendon에서 -50°C로 동결건조한 것과 -80°C에서 동결한 것 사이에 stiffness나 energy failure에 차이가 없었다고 하였으나 Turner 등⁴⁵ 십자인대에서 동결건조한 것이 동결한 것보다 stiffness가 감소한다고 하였고 Flynn 등¹⁷ 추간관에서 동결건조한 것이 동결한 것보다 stiffness, flexion, torsion이 감소하였다고 하였다. 이러한 동결과 동결건조의 차이는 수분 함량의 차이와 골의 밀도나 collagen 변화에 의한 차이일 것이다.

본 연구결과에서 나타난 stiffness의 감소는 다른 연구자들의 결과와 상당한 차이를 나타내고 있었으나 다른 연구자들의 결과는 동결건조 후에 감소하거나 유사한 경향을 나타내고 있다고 보고한^{38,39} 반면 Jerosch 등²⁶ bending strength가 18.9%가 증가하였다고 하였으며 Grzegorzczyn 등²¹ elastic modulus가 신선골에 비하여 30% 증가한 것으로 보고하였다. 또한 치밀골을 실온에서 건조한 경우에는 stiffness를 증가시키는 것으로 알려져 있다^{5,18,26,40}. 그러나 다른 연구자들은 변화가 없거나 유의적인 차이가 없다고 하였다^{14,36}. 이러한 보고들은 동결건조로 인한 stiffness의 변화기전에 대해서는 밝히지 않고 있으나 Burstein 등⁸ strength는 주로 골의 밀도와 밀접한 관계가 있으며 stiffness는 collagen과 밀접한 관계가 있는 것으로 주장한 사실을 근거로 한다면 동결건조로 수분의 감소가 porous의 증가로 strength의 감소를 일으킬 수 있으며 collagen의 탈수가 stiffness를 증가시킨 것으로 생각된다. 이것은 본 결과에서 동결건조된 치밀골을 침수하였을 때 stiffness가 3시간 까지 증가하였으나 충분히 흡수가 된 6시간 이후에는 감소하는 경향을 나타내고 있어 collagen의 수분함량과 밀접한 관계가 있다고 생각된다.

동결건조로 인한 strength의 감소와 brittleness를 복구하여 고정 작업을 원활히 하기 위한 목적으로 처리되는 침수가 골의 strength에 어떤 영향을 미치는가에 대해서는 연구자간에 많은 차이가 있고 침수용매는 대부분 saline solution을 이용하고 있다. 본 연구에서 saline 대신에 전해질 등장용액을 사용한 것은 아직 보고를 접하지 못했으며 이식골이 생체에서는 saline sol.의 영향보다는 등장전해질의 환경에 놓이게 될 가능성이 높기 때문에 생체이식 후의 이식골의 strength의 변화하는 상태를 측정하는 것이 현실성이 높을 것이라는 판단 때문이었다.

동결건조골의 침수시간에 있어서 30분에서 24시간까지 다양하게 보고 되어 있다.^{5,12,13} 침수에 의한 동결건조골의 복구는 liposome의 bilayer가 수분을 저장하고 복원하는 것으로 알려져 있다.⁵ 동결건조골이 동결골보다 strength가 역학적인 기능이 약화되거나 복원율이 낮은 것은 급속동결이나 초음파작용이 liposome의 안정성에 손상을 가져오기 때문인 것으로 보고 되어 있다.⁴⁶ 본 연구에서는 침수로 인한 무게의 증가율은 침수 6시간에 동결된 대조군에 비하여 10.5%의 증가로 99%의 함수회복율을 나타냈으며 12시간 후에는 대조군에 비하여 11.5%의 증가로 110.5%가 과잉함수가 되었다. 동결건조골의 침수시간에 관한 연구로는 Jerosch 등이²⁵ 치밀골의 침수에 관한 연구에서 lipid를 추출한 후 침수 4시간에 60%, 8시간에 92.7%의 무게가 증가 하였으며 동결건조 후 8시간에는 18.1%가 증가하였다고 하였다. 또한 Bumann등은⁶ 동결건조한 연골에서 침수 5-6시간에 완전히 복구되었다고 하였으나 본 연구와 조건이 다르기 때문에 비교될 수는 없으나 유사한 무게증가율을 나타내고 있었다.

침수와 골의 역학적인 관계에서 Broz등은⁵ 쥐의 치밀골을 48시간 건조하고 3시간 침수로 strength와 stiffness가 회복되었다고 하였으며 Burchart등은⁷ 2시간 침지로 유의적인 strength의 차이가 없다고 하였다. 그러나 다른 연구자들은 동결건조골의 30분의 침수로 brittleness가 없어 졌거나 breaking strength가 회복되었다고 하였다.^{13,26} 또한 Grzegorzczyn등은¹⁹ 동결건조골을 24시간 침수한 결과 strength는 18%가 증가하고 elastic modulus가 11%가 감소하였으며 침수 후 10시간에서 가장 큰 변화가 있었다고 하였다. 이러한 결과들은 본 연구결과에서 stiffness는 침수 후 3시간에 대조군보다 30.9%가 증가한 최고치를 나타내고 있었으며 6시간 이후에는 동결건조골 보다 낮은 것으로 나타났고 strength에서는 침수 후 6시간에 최고치를 나타냈고 동결건조골 보다는 16.2%가 증가하고 동결골의 96% 수준으로 회복되었으나 6시간 이후에는 점차 감소한 결과와는 상당한 차이를 나타내고 있었다.

한편 동결건조골을 침수하였을 경우에 역학적으로 가장 안전한 침수시간에 대해서는 연구자들 간에 많은 차이가 있으나 본 연구에서 strength와 stiffness의 두 가지 조건에 충족할 수 있는 침수시간은 mathematica program-3rd spline 보간함수를 이용한 통계처리에서 3시간 30분으로 나타났다. 이러한 결과는 Broz등이⁵ rat의 femur에서 48시간 건조한 골을

3시간동안 침수하여 strength와 stiffness가 회복되었다는 보고와 유사하게 나타나 있다. 그러나 Curry는¹⁴ 소뼈의 치밀골을 25일간 건조시키고 침수시킨 결과 bending strength는 변함이 없다고 보고하였다. 이와 같은 결론들은 건조한 골은 생골에 비하여 strength나 stiffness가 증가하거나 유사하며 동결건조골은 strength는 감소하고 stiffness는 유사하거나 증가하고 있다는 것을 알 수 있다. 따라서 본 연구결과에서 나타난 동결건조골에서의 전해질용액의 3시간 30분의 침수는 동결골에 비하여 strength는 7.7%가 낮으나 stiffness는 26.3%가 증가하여 drilling이나 screwing과 같은 고정 작업에는 동결골보다 더 안정된 상태라고 할 수 있다.

결 론

소뼈의 치밀골을 CM solution으로 6일간 탈지하고 동결건조한 후 EO gas로 멸균 보존하여 측정된 strength는 동결골에 비하여 17.4%가 감소하고 stiffness는 13.1%가 증가하였다. 동결건조처리된 치밀골을 lactated Ringer solution에 침지한 결과에서 침지 후 6시간에 동결골과 가장 근접한 strength와 stiffness를 나타냈으며 이 때의 strength는 동결골의 96.0%, stiffness는 99.2%가 복구되었고 이때의 수분함량은 동결골의 92.3% 수준이었다. 동결건조골의 침지시간에 따른 strength의 변화는 침지 후 6시간에서 253.7±26.4 MPa로 가장 높았으며 stiffness는 침지후 3시간에서 22.3±1.8 GPa로 가장 높게 나타났다. 이식골의 동결건조처리법으로 처리한 치밀골에서 내부고정 작업에 적절한 strength와 stiffness를 얻을 수 있는 lactated Ringer solution의 침지시간은 3시간 30분이었으며 이때의 strength는 243.9 MPa, stiffness는 21.5 GPa로 나타났다. 따라서 동결건조골의 이식전에 전해질용액에서 3시간 30분의 침수가 동결건조골에서 strength의 안정에 가장 효과적인 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Akkus O and Rimnac CM. Fracture resistance of gamma radiation sterilized cortical bone allografts. J Orthop Res. 2001; 19(5): 927-934.
2. Allison SD, Randilph TW, Manning MC, Middleton K, Davis A, Carpenter JF. Effect of drying methods and additives on structure and function of actin: Mechanism of dehydration-induced damage and its inhibition. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1998; 358(1) : 171-181.
3. Bettin D, Polster J, Rullkotter V, von Versen R, Fuchs S. Good preservation of initial mechanical properties in lipid-extracted, disinfected, freeze-dried sheep patellar tendon grafts. Acta Orthop Scand. 2003; 74(4): 470-5.
4. Borchers RE, Gibson LJ, Burchardt H, Hayes WC. Effects of selected thermal variables on the mechanical properties of trabecular bone. Biomaterials 1995; 16: 545-551.
5. Broz JJ, Simske SJ, Greenberg AR, Lutges MW. Effects of rehydration state on the flexural properties of whole mouse long bones. J Biomech Eng. 1993; 115(4A): 447-9.

6. Bumann A, Kopp S, Eickbohm JE, Ewers R. Rehydration of lyophilised cartilage grafts sterilized by different methods. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1989; 18(6): 370-372.
7. Burchardt H, Jones H, Glowczewskie F, Runder C, Ennecking WF. Freeze-dried allogeneic segmental cortical-bone grafts in dogs. *J Bone & Joint Surg Am* 1978; 60(8): 1082-1090.
8. Burstein AH, Zika JM, Heiple KG, Klein L. Contribution of collagen and mineral to the elastic-plastic properties of bone. *J Bone Joint Surg Am* 1975; 57(7): 956-61.
9. Choi IH, Kim HK, Kim NS. Effectiveness of freeze-dried bone grafts on the non-union fracture model of dogs. *Korean J Vet Res* 1996; 36(2): 495-511.
10. Choi IH, Lee JL. Effectiveness of transplantation by freeze-dried bone of goat to dogs. *Korean J Vet Clin Med* 1998; 15(2): 442-449.
11. Choi IH, Lee MJ, Choi OK, Joung IS, Choi SJ, Kim NS. Changes of xenograft according to extract time with chloroform-methanol solution in freeze-dried cortical bone of pig transplanted to dogs. *Korean J Vet Clin Med* 2003; 20(1): 91-95.
12. Conrad EU, Ericksen DP, Tencer AF, Strong DM, Mackenzie AP. The effects of freeze-drying and rehydration on cancellous bone. *Clin Orthop & Related Res* 1993; 290: 279-284.
13. Cornu O, Banse X, Docquier PL, Luyckx S, Delloye C. Effect of freeze-drying and gamma irradiation on the mechanical properties of human cancellous bone. *J Orthop Res*. 2000; 18(3): 426-431.
14. Currey JD. The effects of drying and re-wetting on some mechanical properties of cortical bone. *J Biomech* 1988; 21(5): 439-41.
15. Cutting CB, McCarthy JG, Knize DM. Repair and grafting of bone. In: *Plastic surgery I, General principle*. WB Saunders co. 1990: 594-597.
16. Drozdowska B, Pluskiewicz W, Przedlacki J. Prediction of the biomechanical properties of cancellous bone using ultrasound velocity and bone mineral density - an vitro study. *Med Sci Monit*, 2002; 8(1): MT15-20.
17. Flynn J, Rudert MJ, Olson E, Baratz M, Hanley E. The effects of freezing or freeze-drying on the biomechanical properties of the canine intervertebral disc. *Spine* 1990; 15(6): 567-70.
18. Griffon DJ, Wallace LJ, Bechtold JE. Biomechanical properties of canine corticocancellous bone frozen in normal saline solution. *Am J Vet Res* 1995; 56(6): 822-5.
19. Grzegorzyn S, Turczynski B, Slowinska L. The effect of rehydration on the elasticity modulus and strength of lyophilised and irradiated femur bone in the human] *Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol* 1996; 61(6): 593-599.
20. Grzegorzyn S, Turczynski B. Strength of dense, lyophilized and irradiated cortical bone of the human femur: *Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol* 1995; 60(2): 129-33.
21. Grzegorzyn S, Turczynski B. Elasticity modulus of lyophilized cortical bone in the human femur. *Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol* 1994; 59(2): 153-7.
22. Hamer AJ, Strachan JR, Black MM, Ibbotson CJ, Elson RA. Biomechanical properties of cortical allograft bone using a new method of bone strength measurement; A comparison of fresh, fresh-frozen and irradiated bone. *J bone and Joint Sur* 1996; 78-B(3): 363-368.
23. Hubble MJW. Bone transplantation. *Current Orthopaedics* 2001; 15(3): 199-205.
24. Jameson MW, Hood JA, Tidmarsh BG. The effects of dehydration and rehydration on some mechanical properties of human dentine. *J Biomech* 1993; 26(9): 1055-65.
25. Jerosch J, Granrath M, Clahsen H and Halm H. Effects of various rehydration periods on the stability and water content of bone transplants following freeze-drying, gamma sterilization and lipid extraction. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 1994; 132(4): 335-341.
26. Jerosch J, Muchow H, Clahsen H. Stability of human bone cortex following various preservation and sterilization methods. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 1991; 129(4): 295-301.
27. Kakiuchi M, Ono K. Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilisation with ethylene oxide gas. Part 2. Clinical evaluation of its efficacy and safety. *International Orthopedics(SICOT)* 1996; 20: 147-152.
28. Kakiuchi M, Ono K, Nishimura A, Shiokawa H. Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilisation with ethylene oxide gas. Part 1. Experimental evaluation of its efficacy and safety. *International Orthopaedics(SICOT)* 1996; 20: 142-146.
29. Kakiuchi M. (恒内 雅明). 同種保存骨-意義と新應用, 日整會誌(*J Jpn Orthop Assoc*) 1994; 68(1): 26-35.
30. Kang JS and Kim NH. The biomechanical properties of deepfreezing and freeze drying bones and their biomechanical changes after in-vivo allograft. *Yonsei Medical Journal* 1995; 36(4): 332-335
31. Kim NS, Hwang EH, Choi SJ, Jung IS, Choi OK, Choi IH. Biomechanical properties of cortical bone in bovine long bones. *Korean J Vet Clin Med* 2003; 20(3): 345-350.
32. Kristiansen J. Leakage of a trapped fluorescent marker from liposomes: effects of eutectic crystallization of NaCl and internal freezing. *Cryobiology* 1992; 29(5): 575-584.
33. Laforest P, Kempf JF, Follea G, Karger C, Kempf I. Comparison of mechanical qualities of cortical bone preserved by various freezing methods. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 1991; 77(6): 389-395.
34. Markel MD, Sielman E, Rapoff AJ, Kohles SS. Mechanical properties of long bones in dogs. *Am J Vet Res*. 1994; 55(8): 1178-83
35. Martinez S, Walker T. Bone grafting. *Vet Clin North Am* 1999; 29(5): 1207-1219.
36. Moreno J and Forriol F. Effects of preservation on the mechanical strength and chemical composition of cortical bone: an experimental study in sheep femora. *Biomaterials* 2002; 23: 2615-2619.
37. Pelker RR, Friedlaender GE, Markham TC, Panjabi MM, Moen CJ. Effects of freeze-drying on the biomechanical properties of rat bone. *J Orthop Res* 1984; 1(4): 405-411.
38. Pelker RR, Friedlaender GE, Markham TC. Biomechanical properties of bone grafts. *Clin Orthop* 1983; 174: 54-57.
39. Randall RL, Pelker RR, Friedlaender GE, Goldsmith SL, Panjabi MM. Sequential dependence of freeze-drying and irradiation on biomechanical properties of rat bone. *Am J Orthop* 2002; 31(3): 129-134.
40. Rho JY, Ashman RB, Turner CH. Young's modulus of trabecular and cortical bone material: ultrasonic and microtensile measurements. *J Biomech* 1993; 26(2): 111-119.
41. Roe SC, Pijanowski G, Johnson AL. Biomechanical properties of cortical bone allografts prepared for bone

- banking(Abstract). *Vet Sur* 1985; 14: 62-63
42. Roe SC, Pijanowski GJ, Johnson AL. Biomechanical properties of canine cortical bone allografts: Effects of preparation and storage. *Am J Vet Res* 1988; 49(6): 873-877.
 43. Rohlmann A, Zilch H, Bergmann G, Kolbel R. Material properties of femoral cancellous bone in axial loading. Part I: Time independent properties. 1: *Arch Orthop Trauma Surg* 1980; 97(2): 95-102.
 44. Suzuki T, Komatsu H and Miyajima K. Effects of glucose and its oligomers on the stability of freeze-dried liposomes. *Biomech Biophys Acta* 1996; 1278: 176-182
 45. Turner WD, Vasseur P, Gorek JE, Rodrigo JJ, Wedell JR. An in vitro study of the structural properties of deep-frozen versus freeze-dried, ethylene oxide-sterilized canine anterior cruciate ligament bone-ligament-bone preparations. *Clin Orthop* 1988; 230: 251-6.
 46. Van Winden EC, Zhang W, Crommelin DJ. Effect of freezing rate on the stability of liposomes during freeze-drying and rehydration. *Pharm Res* 1997; 14(9): 1151-1160.
 47. Vashishth D, Behiri JC and Bonfield W. Crack growth resistance in cortical bone: concept of microcrack toughening. *J Biomech* 1997; 30(8): 763-769
 48. Vashishth D, Tanner KE and Bonfield W. Contribution, development and morphology of microcracking in cortical bone during crack propagation. *J Biomech* 2000; 33(9): 1169-1174.
 49. Wachter NJ, Krischak GD, Mentzel M, Sarkar MR, Ebinger T, Kinzl L, Claes L, Augat P. Correlation of bone mineral density with strength and microstructural parameters of cortical bone in vitro. *Bone* 2002; 31(1): 90-95.
 50. Yeni YN, Fyhrie DP. Fatigue damage-fracture mechanics interaction in cortical bone. *Bone* 2002; 30(3): 509-514.
 51. Zhang W, van Winden EC, Bouwstra JA, Crommelin DJ. Enhanced permeability of 'freeze-dried' liposomal bilayers upon rehydration. *Cryobiology* 1997; 35(3): 277-289.
 52. Zioupos P. Accumulation of in-vivo fatigue microdamage and its relation to biochemical properties in aging human cortical bone. *Journal of Microscopy* 2001; 201(2): 270-278.
 53. 우영균. 골이식 및 골이식 대체물. *대한정형외과학회지*. 1995; 제 39차 추계학술대회 연수강좌: 143-152.
 54. 장익열. 동결건조골에 대한 소고. *대한정형외과학회지* 1988; 23(3): 929-935.