

기관 재건을 위한 장과 연골의 복합 이식편 개발

전상훈* · 이 섭* · 정진용** · 공준혁*** · 임정욱*** · 김유미***
 김광춘*** · 박태인*** · 이재익**** · 성숙환**** · 조중행****

Formation of an Intestine-Cartilage Composite Graft for Tracheal Reconstruction

Sanghoon Jheon, M.D.*, Sub Lee, M.D.*, Jin Yong Jung, M.D.**, Jun Hyuk Kong, M.D.***
 Jeong Ok Lim, Ph. D.***, Yumi Kim***, Kwang Chun Jin, M.D.***, Tae In Park, M.D.***
 Jae Ik Lee, M.D.****, Sook Whan Sung, M.D.****, Joong Haeng Choh, M.D.****

Background: Tracheal transplantation is necessary in patients with extensive tracheal stenosis, congenital lesions and other oncologic conditions but bears many critical problems compared to other organ transplantations. The purpose of this study was to develop intestine-cartilage composite grafts for potential application in tracheal reconstruction by free intestinal graft. **Material and Method:** Hyaline cartilage was harvested from trachea of 2 weeks old New Zealand White Rabbits. Chondrocytes were isolated and cultured for 8 weeks. Cultured chondrocytes were seeded in the PLGA scaffolds and mixed in pluronic gel. Chondrocyte bearing scaffolds and gel mixture were embedded in submucosal area of stomach and colon of 3 kg weighted New Zealand White Rabbits under general anesthesia. 10 weeks after implantation, bowels were harvested for evaluation. **Result:** We identified implantation site by gross examination and palpation. Developed cartilage made a good frame for shape memory. Microscopic examinations included special stain s howed absorption of scaffold and cartilage formation even though it was not fully matured. **Conclusion:** Intestine-cartilage composite graft could be applicable in the future as tracheal substitute and should be further investigated.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2004;37:474-481)

- Key words:**
1. Tracheal grafts
 2. Tracheal surgery
 2. Tissue engineering
 3. Intestines
 4. Cartilage

*대구가톨릭대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Catholic University of Daegu

**대구가톨릭대학교 의과대학 마취과학교실

Department of Anesthesiology, College of Medicine, Catholic University of Daegu

***경북대학교 생명과학연구소

Biomedical Research Institute, Kyungpook National University

****서울대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Seoul National University College of Medicine

†이 논문은 대한흉부외과학회 제35차 추계학술대회에서 구연되었음.

‡이 논문은 대구가톨릭대학교 의료원 임상연구비 지원으로 이루어졌음.

논문접수일 : 2004년 2월 19일, 심사통과일 : 2004년 4월 13일

책임저자 : 전상훈 (463-500) 경기도 성남시 분당구 구미동 300, 분당서울대학교병원 흉부외과

(Tel) 031-787-7133, (Fax) 031-787-4050, E-mail: jheon@snu.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

서 론

이식학의 발전으로 인체의 주요 장기들에 대한 이식술이 활발히 시행되고 있다. 그러나 기관의 경우 단속적인 혈행 분포, 연골의 함유, 대기에의 노출 등의 문제로 임상 이식은 물론 실험적 이식의 성공도 여의치 않은 실정이다. 절제술 후 단단문합이 가장 이상적인 재건법이나 일반적으로 기관 전장의 반 이상을 절제해야 하는 경우에는 불가능하여, 지금까지는 종양이나 협착 등으로 기관이 광범위하게 손상된 환자의 경우에는 기관절제 후 기공제작으로 발성이 불가능한 상태로 살아가야 하며, 인공 호흡기에 의존하여 생명을 유지하다 사망하는 경우도 적지 않다. 이런 특수한 조건을 가진 기관의 이식을 위해 연구자들은 자가 조직이면서 길이가 길고 절제 후에도 생리적으로 문제가 없는 유리 공장 이식을 기관 재건에 적용해 보고자 본 연구를 시작하였다.

기관은 항상 등근 형태를 유지해야 하므로 공장의 유리 이식만으로는 내경을 유지할 수 없다. 따라서 공장의 점막 하부조직에 자가 연골세포를 배양, 주입하여 복강 내에서 성숙시켜 연골륜을 형성한 후에 유리 이식을 시행하면 이러한 문제를 해결할 수 있으리라 생각하였다. 유리 공장 이식술 자체는 임상에서 널리 시행되는 안정된 술식이므로 공장 내 연골륜 형성만 가능하다면, 본 연구의 궁극적인 목표에 도달할 가능성이 매우 높을 것으로 판단하였다. 이러한 판단하에 본 연구에서는 일차적으로, 배양된 연골세포가 동종 실험 동물의 장 점막하 조직에서 연골을 형성할 수 있는가에 초점을 맞추었다.

대상 및 방법

1) 연골조직의 채취

양호한 사육 조건에서 사육된 체중 1 kg 전후의 생후 2 주 된 토끼(New Zealand Rabbit)에서 연골을 채취하였다. 아트로핀(0.08 mg/kg)으로 전처치하고 케타민(35~40 mg/kg)과 자일라진(5 mg/kg)으로 마취시킨 후 이개와 경부의 털을 면도하였다. 베타딘 용액으로 절개할 부위를 소독한 후 소독포를 덮어 감염이 되지 않게 주의하였다. 탄성 연골의 채취를 위해 양측 귀에서 연골을 채취하였고, 초자 연골의 채취를 위해 기관을 최대한 길게 채취하였다. 기관 절제 직전에 염화칼륨을 경정맥으로 주사하여 토끼를 치사시켰다.

2) 연골세포의 분리

채취한 연골에서 Klausbrun 방법으로 연골세포를 분리하였다. 채취한 조직을 100 μ g/mL의 스트렙토마이신(Sigma, USA)과 100 unit/mL의 페니실린G (Sigma, USA) 및 20 μ g/mL의 마이코스타틴(Sigma, USA)이 포함된 완충 식염수(PBS, pH7.4)로 수차례 씻고, 섬유아세포의 오염을 방지하기 위해 연골막을 완전하게 제거하였다. 조직을 1~2 mm³ 크기로 잘라서 37°C에서 주기적으로 흔들며 주면서 0.2% typeII collagenase (Gibco BRL, USA)를 이용하여 완전히 용해시켰다. 1,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 세포를 침전시키고, 100 μ g/mL의 스트렙토마이신과 100 unit/mL의 페니실린G 및 4.5 g/dL의 포도당이 포함된 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Gibco BRL, USA)이 10%가 되도록 혼합된 배양액에 세포를 부유시킨 후 150 μ m의 체에 걸러 잔여물을 제거하고, 100 mm 배양접시에 담아 37°C, 5% CO₂의 환경에서 정적 배양하였다. 배양액은 2~3일마다 갈아주며, 0.25% 트립신(Gibco BRL, USA)과 0.02% EDTA (Sigma, USA)를 이용하여 2번에 걸쳐 계대 배양하였다. Alcian blue 염색을 시행하여, 배양된 세포들이 연골 세포임을 확인하였다.

3) 고분자 담체 제작

10% PLGA(poly lactic glycolic acid, molecular weight: 110,000 g/mol; Beoringer, Germany)를 디클로로메탄에 용해시킨 후 75~105 μ m 입자 크기의 ammonium bicarbonate를 5%가 되도록 섞었다. 건조되어 겔상태가 된 혼합물로 직경 1 mm, 길이 20 mm의 원주형 담체를 제작하였다. 담체를 후드 안에서 건조시켜 남아있는 디클로로메탄을 완전히 제거하였으며, 70°C의 증류수에서 ammonium bicarbonate가 기포가 되어 빠져 나오게 하였다. 더 이상 기포가 빠져 나오지 않게 되면 담체를 상온의 증류수에 씻고 건조시킨 후, 남은 ammonium bicarbonate를 완전히 제거하기 위해서 10초간 음파처리(sonication)하였다. 담체에 연골세포를 심기 전에 구조의 확인을 위하여 주사전자현미경(SEM)으로 관찰하였으며(Fig. 1), 사용하기 전에 감마 방사선으로 소독하였다.

4) 연골세포를 담은 겔성 미디어 제작

겔성 미디어를 제작하기 위해 플루로닉 겔(pluronic F-127, Sigma, USA)을 37°C에서 PBS에 녹여 겔 상태로 만든 후 겔 1 mL당 5×10⁷개의 연골세포를 부유(suspension)



Fig. 1. SEM micrographs of PLGA scaffolds. (A) cross sectional view, (B) outer surface, (C) inner surface.

시켰다.

5) 연골세포와 담체의 복합체 제작

1×10^8 cell/mL의 밀도로 세포 부유액을 만들어 담체에 $50 \mu\text{L}$ 씩 덜어 골고루 심어주었다. 37°C , 5% CO_2 환경에서 4시간 동안 세포를 담체에 유착시킨 후 세포가 떨어지지 않도록 주의해서 배양액을 넣어 주었다. 이 연골세포와 담체의 복합체를 *in vitro*에서 일주일간 배양하여 세포와 담체의 유착을 주사 전자현미경을 통해 확인하였다.

6) 연골세포-담체 복합체의 이식

110,000 g/mol PLGA 담체에 초자 또는 탄성 연골세포를 심은 복합체들을 토끼의 장에 심어주었다. 체중 3 kg 정도의 토끼(New Zealand White Rabbit)에게 수술 이틀 전부터 물만 먹여서 장을 최대한 비우게 하였다. 아트로핀(0.08 mg/kg)으로 전처치하고 케타민(35~40 mg/kg)과 자일라진(5 mg/kg)으로 마취시킨 후, 이개 정맥에 정맥 주사관을 확보하고 3.5번 기관 튜브로 기관 삽관하였다. 프로포폴로 마취 유지하면서 소동물용 인공호흡기에 연결하여 일회 호흡량 10 mL/kg, 분당 호흡수 20번으로 기계호흡을 시행하였다. 복부 면도와 소독 후 개복하여 위장의 체부와 횡행대장에 복합체를 심었다. 복합체 심을 자리를 선정한 후 수술용 칼로 짐막하 조직까지 절개하고 복합체를 심은 후 6-0 Vicryl로 연속 봉합하였으며 심은 자리는 견사를 이용하여 표시하였다. 초자 연골을 담체에 담은 경우와 젤성 매디아에 담은 경우, 탄성 연골을 담체에 담은 경우와 젤성 매디아에 담은 경우 등 4가지 종류의 복합체를 각기 다른 4마리 토끼의 위장과 대장에 각각 심어 두어, 한 마리당 8종류씩의 복합체가 이식되었다. 복부 절개를

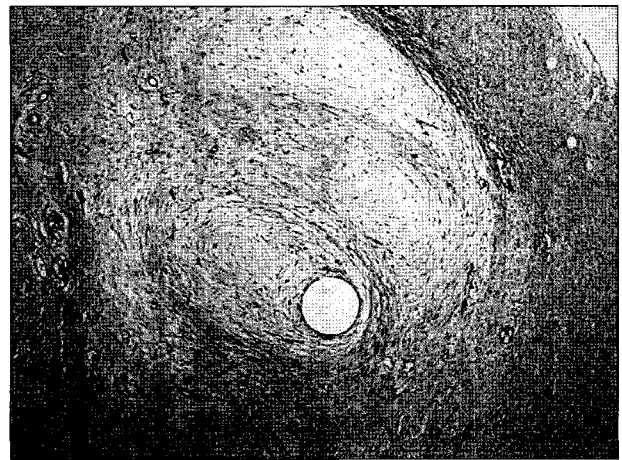


Fig. 2. Section shows a nest of mesenchymal tissue with cartilaginous differentiation with complete absorption of scaffold ($\times 40$, H&E).

봉합한 후 보온에 주의하며 마취에서 회복시켰다. 수술 후 2일까지 세파로스포린계 항생제를 주사하였고, 술 후 매일 면역 억제제 사이클로스포린을 25 mg씩 경구 투여하였다.

7) 조직 검사

이식 10주 후에 복합체를 심어둔 위장과 대장을 채취하여, 조직 검사를 위해 완충 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매시킨 후 연속 절단하여 hematoxylin and eosin 염색을 시행하였다. 연골세포와 기질의 형성을 확인하기 위하여 Verhoeff 염색과 Collagen type II S-100 antibody (Signet USA, 1 : 100)를 이용하여 면역조직화학 염색을 시행하였다.

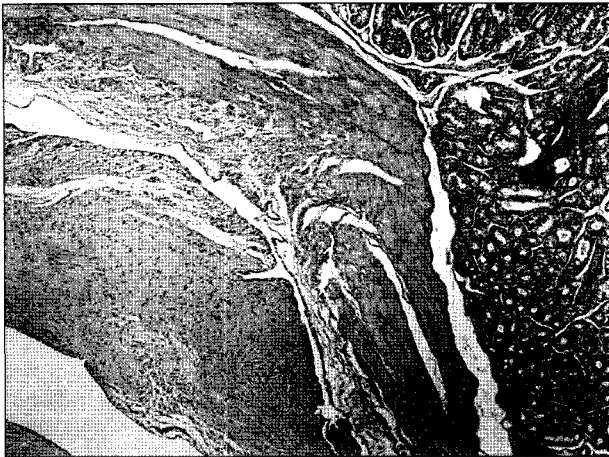


Fig. 3. Section shows a nest of mesenchymal tissue with cartilaginous differentiation in the submucosal layer of the intestine ($\times 100$, H&E).



Fig. 5. Section shows proliferation of blood vessels at the periphery of the mesenchymal cell nest ($\times 200$, H&E).

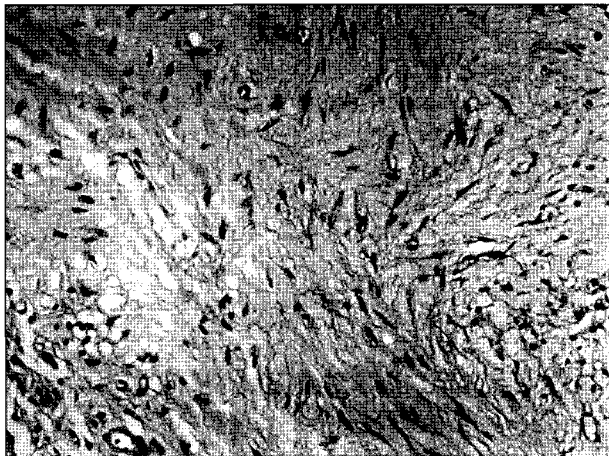


Fig. 4. Section shows proliferating immature mesenchymal cells with cartilaginous differentiation in the loose myxoid matrix ($\times 200$, H&E).

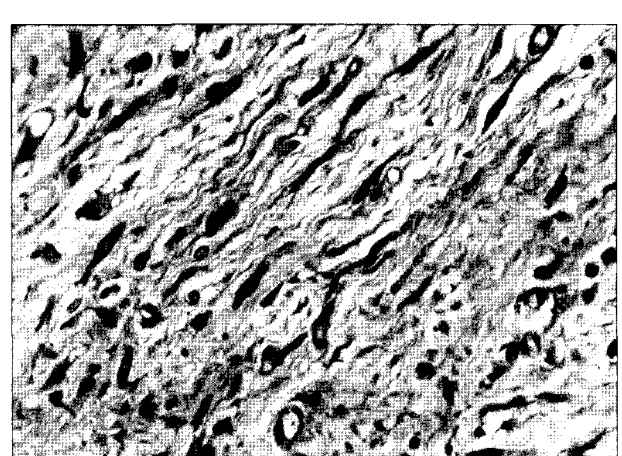


Fig. 6. The proliferating cells and extracellular matrix show positive immunohistochemical staining for type II collagen.

결 과

1) 이식 부위의 육안적 검사

이식 10주 후에 장에 복합체를 심어 놓은 토끼들을 아트로핀(0.08 mg/kg)으로 전처치하고 케타민(35~40 mg/kg)과 자일라진(5 mg/kg)으로 마취시킨 후, 이개 정맥에 정맥 주사관을 확보하고 3.5번 기관 튜브로 기관 삽관하였다. 프로포폴로 마취 유지하면서 소동물용 인공호흡기에 연결하여 일회 호흡량 10 ml/kg, 분당 호흡수 20번으로 기계호흡을 시행하였다. 개복한 후 위장의 체부와 횡행대

장에서 육안과 촉진으로 이식 부위를 판별할 수 있었다. 젤성 미디어와의 복합체를 심은 부위에서는 연골과 같은 단단한 구조물이 형성되지 않았으나, 담체와의 복합체를 심은 부위에는 구조물의 형성을 육안으로 관찰할 수 있었으며 손으로 단단한 구조물을 촉진할 수 있었다.

2) 이식 부위의 현미경적 검사

현미경적 검사상 담체는 완전히 흡수되어 관찰할 수 없었으며 이물반응(foreign body reaction)이나 거부반응 등의 이상소견은 관찰되지 않았다(Fig. 2). 장의 점막하층에서 연골성 분화를 보이는 간엽성 조직을 확인할 수 있었고

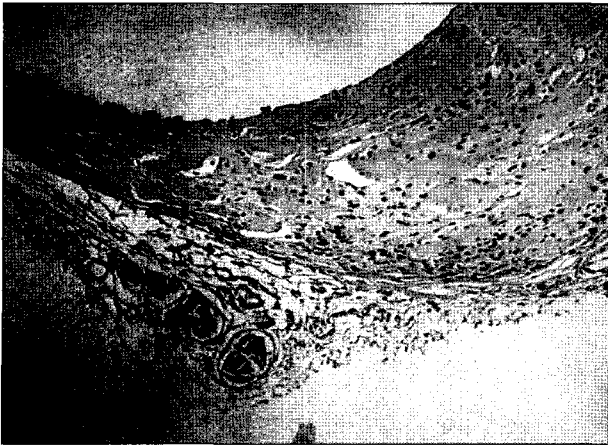


Fig. 7. Ingrown nerve fibers are observed in immune stained tissue engineered elastic cartilage from PLGA scaffold.

(Fig. 3, 4), 연골 형성부 주위로 혈관이 자라온 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 5). Type II collagen에 대한 면역조직화학염색을 시행한 결과 세포외 기질의 형성을 확인할 수 있었다(Fig. 6, 7).

고 찰

기관의 절제 및 단단문합을 통한 기관 재건술은 협착, 연화증, 결핵, 외상, 암 등 다양한 기관 질환의 표준적이고 비교적 안전한 술식으로 인정되고 있으며, 기관 전장의 50% 정도까지의 결손에서는 성공적으로 시행되고 있다 [1]. 그러나 병변이 광범위한 경우에는 기관 대체물을 사용하여 기관 치환술을 시행하여야 하며, 불가능한 경우에는 수술 자체를 포기하거나 종격기공술을 시행하여야 한다. 지금까지 많은 연구자들이 합성물질 혹은 생물학적 물질을 사용하여 기관 재건을 시도하였으나 결과는 만족스럽지 못한 실정이다. 합성물질의 경우 생체 적합성이 떨어지므로 감염, 문합부 누출, 육아종, 괴사, 협착, 혈관과의 누공 형성 등의 합병증이 호발하며 [2,3], 생체 적합성을 향상시키기 위해 콜라겐을 결합시키거나 대망에 쓴 인공물질의 사용이 시도되기도 하였다 [4]. 생물학적 물질을 사용한 경우에는 대부분에서 이식편의 협착으로 실패하였다 [5]. 최초의 기관 동종이식편(homograft) 이식은 1979년 Rose 등 [6]이 시행하였으며, 재발성 기관 협착증 환아에 시행된 사체 이식편을 이용한 기관 재건술 역시 중기 성적은 고무적이었으나 결국에는 이식편의 허혈성 손상으로 인한 괴사와 협착이 문제가 되었다 [7].

자가 조직은 면역 반응의 위험이 없으므로 이상적인 기관 대체물이 될 수 있으며, 다른 일반적인 재건술에서와 같이 기관 재건술에도 자가 조직이 면역학적으로 가장 적합하다는 데는 대체로 이견이 없다. 플라스틱 링으로 지지한 피부 관(skin tube) [8], 방광벽 [9], 식도나 소장을 스텐트로 지지하여 사용한 경우 등 현재까지 많은 자가조직 이식편이 연구되어 왔으나 임상 적용에는 여러 가지 문제점들을 안고 있어 [10,11], 많은 연구자들이 기관 재건을 위한 이상적인 방법을 찾기 위해 노력하고 있다.

기관은 해부학적으로 연골을 함유하고 있으면서 제한된 혈행 분포를 가지고 있으며 대기에 노출되어 있어 다른 장기에 비해 각종 이식이나 재건술에 매우 불리한 조건들을 갖고 있다. 이렇게 특수한 조건을 가진 기관의 대체 물질로 활용되기 위해서는 호기시 허탈되지 않는 적절한 내강을 유지할 수 있어야 하며, 내강 표면이 점막으로 보호되어야 하며, 적절한 혈액공급과 주위조직과의 적합성이 필요하며, 감염과 거부반응에 강해야 한다. 이러한 조건들을 만족시키기 위해서는 자가 조직을 이용하는 것이 가장 이상적이며, 저자들은 자가 조직인 소장을 기관 대체물로 이용하되 기존의 연구에서처럼 내강의 유지를 위해 실리콘 튜브나 스텐트와 같은 인공물질을 사용하지 않고 조직 공학적 방법을 이용하여 기관과 같이 연골분을 만들어 주는 소장-연골 복합 이식편의 개발을 고안하게 되었다.

조직 공학(tissue engineering)이란 기존의 조직 기능을 유지하는 생물학적 대체 장기 개발을 위해, 공학과 생명과학의 원리와 방법을 동시에 적용하는 학문 분야이다 [12,13]. 최근 장기 이식 및 수술적 재건의 수요자가 급증하고 있으나, 공여자 및 공여 장기는 부족하여 수요, 공급의 불균형이 심하고, 이식 환자의 경우 평생 면역 억제제를 복용해야 하는 단점 때문에 조직 공학적 방법에 대한 관심이 높아지고 있다. 조직 공학적 기법의 접근 방법 중 가장 흔히 이용되는 것은 세포-기질 복합체를 이용하는 것으로, 우선 추출한 세포의 *in vitro* 배양부터 시작하여 그 세포들을 담체에 심어 일정 기간 배양한 후에 생성된 세포-기질 복합체를 환자에 이식하는 것을 말한다. Vacanti 등 [14,15]은 소의 연골과 PGA 담체를 이용하여 실험 동물에서 새로운 초자 연골을 재생할 수 있었으며, 후속 연구에서 성공적으로 PGA non-woven mesh, PLGA 등 여러 종류의 고분자를 담체로 이용하여 원하는 형태로 연골을 재생할 수 있었다 [14,16]. 이 기법을 이용한 연구들로 귀 형태의 연골 [17], 비중격 이식편 [18], 측두-하악관절관

[19] 제작과 관절표면재건[20], 반월판 치환[21], 유두 재건[22] 등이 시행되었다. 기관 재건에 대해서는 1994년 Vacanti 등[23]이 송아지 어깨에서 추출한 연골 세포를 PGA mesh에 심어 기관 연골을 재생한 예가 있다. 이들은 세포-기질 복합체를 실라스틱 튜브에 감싸서 nude mice에 이식하였고, 1개월 후 절제하여 검사한 결과 육안적으로나 현미경적으로 정상 소 연골과 매우 흡사함을 발견하였다. 이 관 모양의 이식편으로 nude rat 경부 기관의 환상 결손을 봉합한 결과, 6마리 중 4마리가 생존하였고 호흡에 지장이 없었다. 또한 추적 연구 결과 관 모양의 이식편 내에 기관 상피 세포의 증식을 확인할 수 있어, 이러한 초기 결과들은 조직 공학적 기관 치환술의 장래를 밝게 하였다. 그러나 이와 같이 담체에 연골 세포를 배양하여 기관에 직접 이식하는 방법은 배양된 연골이 기관과 직접 연결되고 대기에 노출되면서 별도의 직접적인 혈액 공급이 없어 감염 및 협착 등의 장기 성적에 문제점이 있어 임상에 적용하기에는 무리가 있다.

이 연구는 1차적으로 소장의 점막하 조직에 동종 연골 세포를 배양하였을 때 원하는 형태의 연골 튜브 형성이 가능한가에 초점을 맞추었다. 그 결과 비록 완전히 성숙되지는 않았으나 장내 연골이 담체의 모양대로 원하는 형태를 유지하며 재생되어 있었고, 현미경 검사 소견에 담체는 완전히 흡수되었고 성장한 연골 주위로 신경이나 혈관이 형성되어 주위 장 조직과 이물반응이 없이 일체성을 가질 수 있다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 기관 연골과 이개 연골에서 각각 연골세포를 채취하여 이식함으로써 초자 연골과 탄성 연골 중 어느 것이 조직 형성 능력이 뛰어난지를 알고자 하였다. 인간의 초자 연골세포의 연골 형성에 대한 특징은 많이 보고되고 있으나 탄성 연골세포에 대한 연구는 그다지 많지 않은 실정이다. 최근까지 단층 배양에서는 탄성 연골이 그 특성을 잃어버리고 초자 연골로 변한다고 알려져 있었지만, Rodriguez 등[24], Shin 등[25]은 인간의 탄성 연골세포를 심은 경우에 탄성 연골이 형성되었다고 보고하였다. 김유미 등[26]은 두 가지 연골 세포의 연골 형성에 대한 특성을 nude mouse를 이용하여 평가한 결과, 초자 연골보다 탄성 연골이 조직 형성 능력이 뛰어나다고 보고하였다. 이 연구에서는 초자 연골세포-담체 복합체를 이식한 경우가 가장 연골 형성 능력이 뛰어났으나, 실험 동물의 수가 제한되어 있으므로 이 부분에 대해 결론을 내리기는 어려울 것으로 생각된다. 실제 임상에 적용 시에는 환자가 이미 기관절개술이 되어 있는 경우도 있으므로, 기관으로부터 초자 연골세포를 채취하

는 것은 감염 등의 문제를 야기할 수 있어 탄성 연골로부터 세포를 채취하는 것이 유리할 수 있다. 연골세포를 담아 원하는 모양으로 키우기 위한 담체는 천연 물질이나 합성 물질 어느 것으로도 만들 수 있다. 천연 물질은 주로 세포 외 간질 성분으로서 자연적인 세포 환경과 상당히 유사하다. 반면에 합성 물질은 장력, 분해 시간, 다공성, 미세구조 같은 기계적 속성을 조절할 수 있다는 장점이 있다[13]. 담체를 화학적으로 변형시키거나 코팅함으로써 세포 부착률을 향상시킬 수 있고, growth factor를 기질내에 첨가하여 세포의 발육을 촉진시키기도 한다. 이상적인 담체란 생체적합성, 생체흡수성, 비면역원성을 갖추어야 하고, 세포 성장을 촉진하며 새로 형성된 조직을 공급할 혈관 생성을 유발할 수 있어야 한다. 현재까지 조직 재생을 위해 사용되는 담체로는 천연 고분자에 콜라겐, 젤라틴, 키토산, 하이아론산 등이 있고, 합성 고분자에는 poly(lactic acid), poly(glycolic acid), poly(D, L-lactic-co-glycolic acid, PLGA)와 그 유사 공중합체 등과 polyanhydrides, polyorthoesters 등이 있다[27]. 본 연구에서 사용한 담체는 분자량 110,000 g/mol PLGA로서 김유미 등[26]에 의하면 분해도가 느려 세포 성장 속도의 조직 형성에 따른 적절한 분해와 영양공급 및 대사 산물의 교환에 문제가 있는 220,000 g/mol PLGA에 비해 연골 형성 능력이 뛰어나다고 하였다. 대조군으로 연골세포를 젤성 메디아에 혼합하여 장에 주입한 경우는 주사 직후 장 점막하층을 통해 옆으로 퍼지는 현상을 관찰할 수 있었고, 10주 후 개복시 표시해 둔 이식 부위에 아무런 흔적도 발견할 수 없었다. 이 같은 현상은 연골세포가 부유된 젤성 메디아 가장 운동 등에 의하여 세포외 기질이 생성되어 연골의 형태를 갖출 때까지 연골세포를 위한 공간을 확보하지 못한 것이 원인이 된다고 사료된다. 반면에 저자들이 사용한 담체는 흡수까지 6~8주 정도가 걸리므로 연골세포가 성장하여 기질을 분비하여 형태를 유지할 때까지 적절한 안정된 공간을 확보해 줄 수 있었으며, 연골의 형태를 만들 시점에는 담체는 흡수되어 성장한 연골이 주위의 장 조직과 잘 조화되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 동종의 연골 세포이나 수용 동물에서 이를 이종 물질로 인지하고 이식 세포를 파괴하는 현상도 예측 가능하다. 만약 10주 후 개복하여 연골이 생성되지 않았을 경우 수용 동물 체내에서 세포 성장이 실패한 것인지, 자가 면역체계에 의해 과멸된 것인지 판단하기 어려울 것으로 생각되어 저자들은 수용 동물에게 경구용 면역 억제제를 지속적으로 투여하였다. 아직 초기 단계의 실험 결과이기는 하나, 연골세포-담

체 복합체를 장내 점막하 조직에 삽입한 후 원하는 형태의 조직 형성을 유도하여 원래의 담체와 거의 유사한 형태의 연골이 형성되었고, 그 연골의 분화된 모습과 혈관 및 신경세포가 자라 들어옴을 보았을 때 상당히 고무적인 결과라고 사료된다. 그러나 실험 개체의 수가 적고, 동물의 크기가 너무 작아서 소장에 기관 연골 모양인 말발굽 형태의 연골륜의 형태를 디자인하지 못했다는 제한점들이 있다고 생각한다. 또한 비록 동종이긴 하나 자가 연골 조직을 사용하지 않았으므로, 향후 보다 큰 동물의 자가 연골 세포를 배양하여 실제 기관 모양에 근접하는 연골륜의 형태를 제작하는 방향으로 연구를 추진할 예정이다.

결 론

저자들이 고안한 방법은 자가 조직을 이용하며 이식세포가 장의 점막 하부에 위치함으로써 감염을 막고, 연골이 형성되고 담체가 완전히 흡수된 상황에서 술식의 안정성이 확립된 유리 공장 이식술을 시행하는 것이다. 이는 완전한 동종의 생체조직으로 이물반응과 면역학적 거부 반응의 가능성이 없으며 안정된 혈류 공급과 주변 조직과의 적합성이 좋으며 점막을 유지하는 등, 기관 대체물이 갖추어야 할 모든 조건들을 갖춘 새로운 방법이라고 생각한다. 저자들이 고안한 기관 재건법에 대한 연구는 아직 시행된 바 없으며, 이 연구가 저자들이 기획하는 일련 연구의 초기 단계에 불과하나 상당히 고무적인 결과를 나타내어 다음 단계 연구의 기틀을 마련했다고 판단한다. 이러한 형태의 기관 재건술이 성공할 경우 많은 기관 질환 자들에 대한 기관 재건 수술에 큰 기여를 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Kon M, van den Hooff A. *Cartilage tube formation by perichondrium: a new concept for tracheal reconstruction*. *Plast Reconstr Surg* 1983;72:791-7.
2. Cull DL, Lally KP, Mair EA, Daidon M, Parsons DS. *Tracheal reconstruction with polytetrafluoroethylene graft in dogs*. *Ann Thorac Surg* 1990;50:899-901.
3. Schauwecker HH, Gerlach J, Planck H, Bucherl ES. *Isoelastic polyurethane prosthesis for segmental trachea replacement in beagle dogs*. *Artif Organ* 1989;13:216-8.
4. Teramachi M, Nakamura T, Yamamoto Y, Kiyotani T, Takimoto Y, Shimizu Y. *Porous-type tracheal prosthesis sealed with collagen sponge*. *Ann Thorac Surg* 1997;64:965-9.
5. Sabas AA, Uez JB, Rojas O, Inones A, Aranguren JA. *Replacement of the trachea with dura mater. Experimental work*. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1977;74:761-5.
6. Rose KG, Sesterhenn K, Wustrow F. *Tracheal allotransplantation in man*. *Lancet* 1979;1:433.
7. Lenot B, Macchiarini P, Dulmet E, Weiss M, Darteville PH. *Tracheal allograft replacement : an unsuccessful method*. *Eur J Cardiothorac Surg* 1993;7:648-52.
8. Grillo HC, Dignan EF, Miura T. *Experimental reconstruction of cervical trachea after circumferential resection*. *Surg Gynecol Obstet* 1966;122:733-8.
9. Marshak G, Porter JH, McAdams JA. *Reconstruction of the canine trachea with urinary bladder wall*. *Laryngoscope* 1973;83:1090-5.
10. Letang E, Sanchez-Lloret J, Gimferrer JM, Ramirez J, Vicens A. *Experimental reconstruction of the canine trachea with a free revascularized small bowel graft*. *Ann Thorac Surg* 1990;49:955-8.
11. Kato R, Onuki AS, Watanabe M, et al. *Tracheal reconstruction by esophageal interposition: an experimental study*. *Ann Thorac Surg* 1990;49:951-4.
12. Langer R, Vacanti JP. *Tissue engineering*. *Science* 1993; 260:920-6.
13. Vacanti JP, Langer R. *Tissue engineering: the design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation*. *Lancet* 1999;354 (suppl 1): S132-4.
14. Ibarra C, Langer R, Vacanti JP. *Tissue engineering: cartilage, bone, and muscle*. In : Lanza RP, Chick WL, eds. *Yearbook of cell and tissue transplantation*. Kluwer Academic Publishers:Amsterdam, The Netherlands 1996/1997;235-45.
15. Vacanti CA, Langer R, Schloo B, Vacanti JP. *Synthetic polymers seeded with chondrocytes provide a template for new cartilage formation*. *Plast Reconstr Surg* 1991;88:753-9.
16. Kim WS, Vacanti JP, Cima L, et al. *Cartilage engineered in predetermined shapes employing cell transplantation on synthetic biodegradable polymers*. *Plast Reconstr Surg* 1994; 94:233-40.
17. Vacanti CA, Cima LG, Ratkowski D, et al. *Tissue engineered growth of new cartilage in the shape of a human ear using synthetic polymers seeded with chondrocytes*. *Mater Res Soc Symp Proc* 1992;252:367-73.
18. Puelacher WC, Mooney D, Langer R, Upton J, Vacanti JP, Vacanti CA. *Design of nasoseptal cartilage replacements synthesized from biodegradable polymers and chondrocytes*. *Biomaterials* 1994;15:774-8.
19. Puelacher WC, Wisser J, Vacanti CA, Ferraro NF, Jaramillo D, Vacanti JP. *Temporomandibular joint disc replacement made by tissue-engineered growth of cartilage*. *J Oral Maxillofac Surg* 1994;52:1172-8.
20. Vacanti CA, Kim W, Schloo B, Upton J, Vacanti JP. *Joint resurfacing with cartilage grown in situ from cell-polymer structures*. *Am J Sports Med* 1994;22:485-8.

21. Ibarra C, Jannetta C, Vacanti CA, et al. *Tissue engineered meniscus: a potential new alternative to allogenic meniscus transplantation*. Transplant Proc 1997;29:986-8.
22. Cao YL, Lach E, Kim TH, Rodriguez A, Arevalo CA, Vacanti CA. *Tissue-engineered nipple reconstruction*. Plast Reconstr Surg 1998;102:2293-8.
23. Vacanti CA, Paoge KT, Kim WS, Sakata J, Upton J, Vacanti JP. *Experimental tracheal replacement using tissue-engineered cartilage*. J Pediatr Surg 1994;29:201-5.
24. Rodriguez A, Cao YL, Ibarra C, et al. *Characteristics of cartilage engineered from human pediatric auricular cartilage*. Plast Reconstr Surg 1999;333:1111-9.
25. Shin D, Han E, Park J, et al. *Tissue engineered cartilage formation using human hyaline chondrocytes and elastic chondrocytes*. J Korean Soc Plast Reconstr Surg 2001;28(3): 233-40.
26. Kim YH, Lim JO, Chung HY, Park TI, Baek WY. *Tissue engineered cartilage formation on various PLGA Scaffolds*. J Biomed Eng Res 2002;23(2):145-53.
27. Park TG. *Degradation of poly(lactice-co-glycolic acid) microspheres: effect of copolymer composition*. Biomaterials 1995; 16:1123.

=국문 초록=

배경: 암이나 협착 등의 각종 기관질환으로 광범위한 기관절제가 필요한 경우에는 기관 이식이 필요하나, 다른 장기의 이식술과 비교하여 많은 어려움이 있다. 이에 본 연구에서는 이상적인 기관 대체물을 개발하기 위한 노력의 일환으로, 조직 공학적 기법을 통하여 기관 재건에 적용할 수 있는 소장-연골 복합 이식판의 개발이 가능한가를 알아보려고 하였다. 대상 및 방법: 생후 2주 된 토끼의 기관과 이개로부터 각각 연골세포를 채취하여 8주간 배양하였다. 배양된 초자 연골세포와 탄성 연골세포를 담체(PLGA)에 십거나 플루로닉 겔에 혼합한 후에, 4종류의 혼합체를 토끼의 위장과 대장의 점막하 조직에 이식하고 10주 후에 연골 형성 여부를 평가하였다. 결과: 육안과 촉진으로 이식 부위를 판별할 수 있었으며, 현미경적 소견상 담체의 흡수와 연골의 형성을 확인할 수 있었다. 특히 초자 연골세포-담체 혼합체에서 연골의 형태를 잘 갖추고 있었다. 결론: 장-연골 복합 이식판 개발의 전망은 밝으며, 이상적인 기관 대체물로서 기관 재건에 기여할 가능성이 있다고 사료된다.

- 중심 단어 : 1. 기관이식편
2. 기관 수술
3. 조직 공학
4. 장관
5. 연골