

## Hyaluronic Acid와 배양된 섬유모세포의 혼합 주입을 이용한 용비술

신승한 · 한승규 · 이병일 · 김우경

고려대학교 의과대학 성형외과학교실

### The Injectable Fibroblast-Hyaluronic Acid Complex for Augmentation Rhinoplasty

Seung-Han Shin, M.D., Seung-Kyu Han, M.D.,  
Byung-Il Lee, M.D., Woo-Kyung Kim, M.D.

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Korea  
University College of Medicine, Seoul, Korea

Although several suspension biomaterials have been considered to be relatively safe and convenient, varying degrees of resorption have required repeated percutaneous injection. In the previous animal study the authors have reported that cultured human fibroblasts suspended in Restylane<sup>®</sup>, which is modified hyaluronic acid, could produce human dermal matrices and prolong the effect of this gel. This study was undertaken to evaluate the clinical efficacy of this method. A total of 11 patients ranging from 25 to 57 years of age were included in this study between January of 2002 and December of 2003. All the patients were treated for the purpose of augmentation rhinoplasty.  $1 \times 10^7$ /ml or  $1.5 \times 10^7$ /ml cultured fibroblasts were suspended in 0.7 to 1.4 ml of Restylane<sup>®</sup>. The implants were transferred to a 1-ml syringe and injected subcutaneously to the nose of the patients. Among 11 patients, long term follow-up for more than 1 year was possible in 6 patients. The injected implants remained in site without evidence of resorption or loss of correction. All the patients were satisfied with long term results of this method. There was no complication during the follow-up period.

**Key Words:** Fibroblasts, Restylane<sup>®</sup>, Rhinoplasty

### 1. 서 론

최근 다양한 피하조직삽입물질이 안면부 주름이나 연부 조직결손을 교정하기 위해 상업적 목적으로 개발되었다.<sup>1-5</sup>

Received April 9, 2005

Revised August 8, 2005

Address Correspondence: Seung-Kyu Han, M.D., Department of Plastic Surgery, Korea University Guro Hospital, 97 Guro-dong, Guro-gu, Seoul 152-703, Korea. Tel: 02) 818-6698 / Fax: 02) 868-6698 / E-mail: pshan@kumc.or.kr

이 중 안정화된 비동물성 히알루론산이 널리 이용되고 있는데, 이 방법은 비교적 안전하고 주입이 편리하나 다양한 체내흡수 정도로 인하여 반복주입을 필요로 하는 단점이 있었다.<sup>5</sup> 본 연구자들은 이러한 단점을 보완하고 지속적인 교정효과를 얻고자 진피섬유모세포를 Restylane<sup>®</sup>(Q-Med, Uppsala, Sweden)에 혼합하여 주입하는 방법을 개발하여 예비 연구인 동물실험결과를 발표한 바 있다.<sup>1</sup> Nude mouse를 이용한 예비연구결과를 보면 Restylane<sup>®</sup>을 단독 주입한 경우에는 시간 경과에 따라 거의 대부분이 흡수되었으나 Restylane<sup>®</sup>과 혼합된 사람의 섬유모세포는 nude mouse 내에 정착하여 콜라겐 등 진피 기질을 생성하는 것을 확인할 수 있었다.

이와 같은 실험 결과를 바탕으로 본 연구에서는 배양된 섬유모세포와 Restylane<sup>®</sup>의 혼합주입이 임상적으로도, 특히 용비술을 원하는 실제 환자에 있어서도 효과를 얻을 수 있는지를 알아보려고 하였다.

### II. 재료 및 방법

2002년 1월부터 2003년 12월까지 용비술을 원하는 25세에서 57세 사이의 총 11명의 환자를 대상으로 하였다. 11명의 환자 중 일차 수술인 경우가 7례, 전에 실리콘 보형물로 용비술을 받았다가 제거했던 경우가 4례였다. 시술 전 기본적인 수술 전 검사를 시행하여 이상이 없음을 확인하였으며 본 연구자들 소속 Institutional Review Board (IRB)의 승인을 얻어 연구를 진행하였다.

#### 가. 진피자가섬유모세포의 배양

환자의 둔부에서 표피를 제거한 후 진피만을 약  $1 \times 2.5$  cm 채취한 후 이를  $2 \times 1$  mm로 잘게 나누었다. 50% 자가 혈청(autologous serum)을 포함한 3 cc의 Dulbecco's Modified Eagle Medium/Ham's F-12 Nutrient(DMEM/F-12; Gibco, Grand Island, NY, U.S.A.)가 담긴 100 mm 배양용기에 균일하게 위치시킨 다음 조직유착의 축진을 위해 37°C에서 4시간 동안 보관한 후 자가 혈청과 겐타마이신 25 µg/ml이 혼합된 12 ml의 DMEM/F-12를 첨가하

고 배양하였다. 자가 혈청은 환자로부터 40 ml의 채혈을 한 후 4℃ 하에 12-24시간 보관 후 부유액만을 450 μg로 10분간 원심분리하여 제조하였다. 모든 배양은 5% CO<sub>2</sub>, 95% air atmosphere, 37℃에서 이루어졌으며 충분한 양이 배양되면 트립신화하여 세포들을 유리하였다.<sup>3</sup> 분리된 세포는 Dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS, Gibco, Grand Island, NY, U.S.A.)에 2.7배 희석시킨 후 17분간 450 μg로 원심 분리하고 나이론 그물(A synthetic nonwoven mesh with a diameter of 100 μm)에 투과시켜 추출하였다. 여기서 얻어진 세포는 40 ml의 DPBS에서 다시 두 번 세척하였고 세포의 밀도는 혈구계로 측정하였으며, Trypan blue로 염색하여 세포 생존도를 측정하였다. 이렇게 추출된 세포는 주입에 충분한 수를 얻기 위해 2-3주간 2회 계대배양을 시행하였다.

**나. 배양된 섬유모세포와 Restylane®의 혼합 및 주입**

1.0 × 10<sup>7</sup>/ml 내지 1.5 × 10<sup>7</sup>/ml의 배양된 진피섬유모세포에 0.7 내지 1.4 ml의 Restylane®을 첨가하여 Cottle elevator를 사용하여 조심스럽게 혼합한 후 역광 현미경으로 50 ml tube를 돌려가면서 세포들이 3차원적으로 균일하게 혼합되었음을 확인하였다. 이를 1 ml 주사기에 옮겨 23 게이지의 주사바늘로 환자 비부의 피하층으로 주입하였다.

주입물이 불규칙한 모양으로 남는 것을 막기위해 주입 직후 손가락으로 압력을 가하여 즉각적인 교정을 하였다. 최종 기대치보다 약 20-30% 과교정을 하였는데 방법은 시술 후 환자에게 거울을 주어 코모양 및 높이가 만족스러운지를 확인하고 환자가 만족하는 시점에서 약 0.2 내지 0.3 ml가량을 추가 주입하였다. 피지선이 발달하고 모공이 큰 비첨부에는 주입을 하지 않았다(Fig. 1).

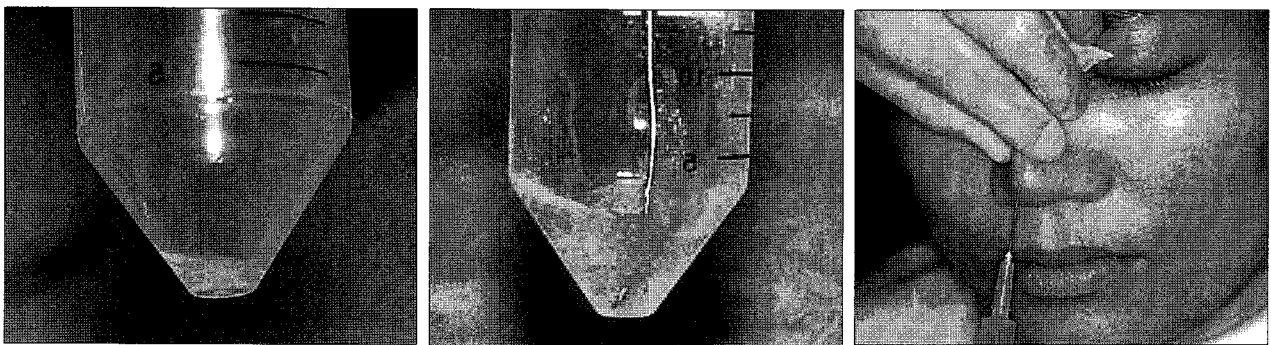
**다. 결과 관찰**

6명의 환자에서 1년 이상의 장기 추적관찰이 가능하였

는데 5명은 일차수술로 1명은 실리콘 제거 3개월 후 이차수술로 시행한 환자였다. 이들 6명을 대상으로 시술자 및 환자 자신이 주입물의 흡수 여부와 흡수량 등 본 방법의 결과를 검증하였다. 환자의 주관적 만족도도 조사하였는데 설문지를 통하여 수술전반에 대한 만족도와 술후 코모양에 대한 만족도를 조사하였다. 수술 직후 및 결과 관찰 1년 후에 코모양에 대한 만족도를 각각 매우 불만족 1점, 매우 만족 5점의 5단계 Visual Analogue Scale(VAS)을 이용하여 평가하였다(Table I).<sup>6</sup>

**Table I.** The Standardized Questionnaire about Patient Satisfaction Based on a Five-Point Visual Analogue Scale

설문 내용	
1.	이 치료 방법이 효과가 있다고 생각하십니까?
2.	시술 결과가 지속적으로 유지되었습니까? (예; 5번으로, 아니요; 3번으로)
3.	흡비효과가 감소하였다면 주입물의 흡수정도는 다음 중 어느 정도 입니까?
	가. 0-10%
	나. 10-20%
	다. 20-30%
	라. 30-40%
	마. 40% 이상
4.	감소하였다면 주입물은 언제까지 흡수된다고 생각하십니까?
5.	시술 결과에 어느정도 만족하십니까? (1점에서 5점까지로 표기하세요)
	가. 매우불만족(1점)
	나. 불만족(2점)
	다. 대체로 만족(3점)
	라. 만족(4점)
	마. 매우 만족(5점)
6.	시술 후 특별한 부작용이나 이상징후가 있었습니까? 있다면 구체적으로 기술해 주십시오.



**Fig. 1.** (Left) Cultured fibroblast pellet (Center) The cultured fibroblasts are mixing with Restylane®. (Right) The cultured fibroblasts mixed with Restylane® are being injected into a patient's nasal dorsum.

III. 결 과

시술 직후 주입 부위가 경증도의 발적을 보였으나 2-3 일 후에는 완전히 정상 피부색으로 회복하였다. 장기 추적이 가능했던 6명의 환자 모두에서 시술 직후와 비교해 볼 때 초기에는 주입물의 부피가 약간 감소하는 경향을 보였는데 환자의 주관적 결과는 첫 3일까지 감소하였다고 느낀 환자가 1명, 2주까지 감소한 것 같다는 환자가 4명, 6개월까지는 감소하는 것 같다는 환자가 1명이었다. 그러나 6명 모두 초기의 감소기간 이후에는 추가적인 부피감소는 없었다고 평가하였고 감소 정도는 10-20% 1명, 20-30% 3명, 30-40% 2명이었다. 실리콘 제거 후 세포주사로 용비술을 시행 받은 환자의 경우 흡수정도에 있어 1차 주입한 환자와의 차이는 발견할 수 없었다. 환자 자신도 시술 후 약 2주까지 주입물의 양이 감소한 것 같다고 평가하였으

며 감소정도는 약 20-30% 가량이라고 하였고 VAS 는 4 점을 부여하였다.

관찰기간 동안 기본적인 검사 소견에는 전혀 이상이 없었으며 감염, 거부반응, 육아종 형성이나 켈로이드 형성 등의 부작용도 관찰되지 않았다. 1명의 환자에 있어서만 시술 1개월 후부터 주입물질의 좌우양이 차이를 보여 사비처럼 보이는 것을 관찰할 수 있었으나 시술자나 환자 모두 교정을 요할 정도라고는 판단하지 않았다.

6명 환자의 만족도에 대한 Visual Analogue Score는 5 점 1명, 4점 4명, 3점 1명으로 이 방법의 지속적인 효과에 대해 상당히 만족하였는데 3점으로 평가한 환자는 코높이가 기대보다 조금 낮다는 것이 아쉽다는 평가였다. 그러나 6명 환자뿐만 아니라 추적기간이 짧은 나머지 5명의 환자 모두 본 시술법이 전혀 수술 받은 흔적 없이 아주 자연스런 모양을 나타내는 것에 대해 만족해하였다(Fig. 2, 3).

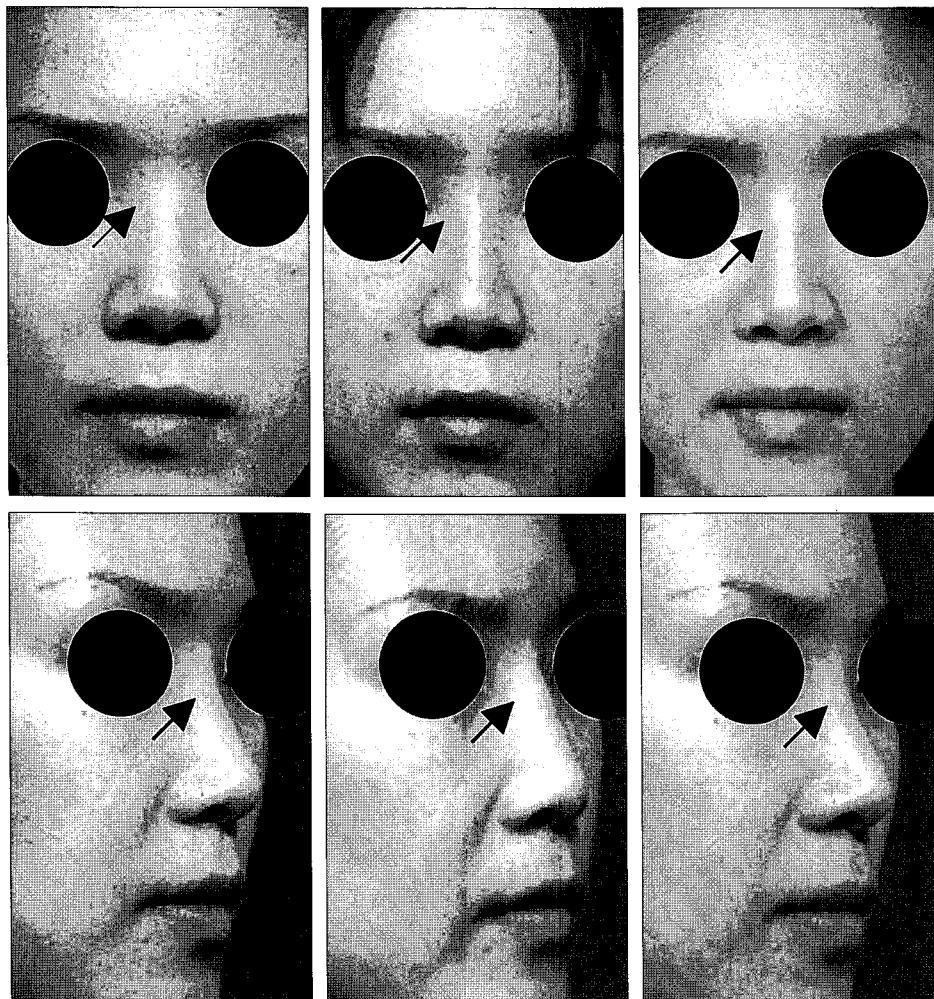
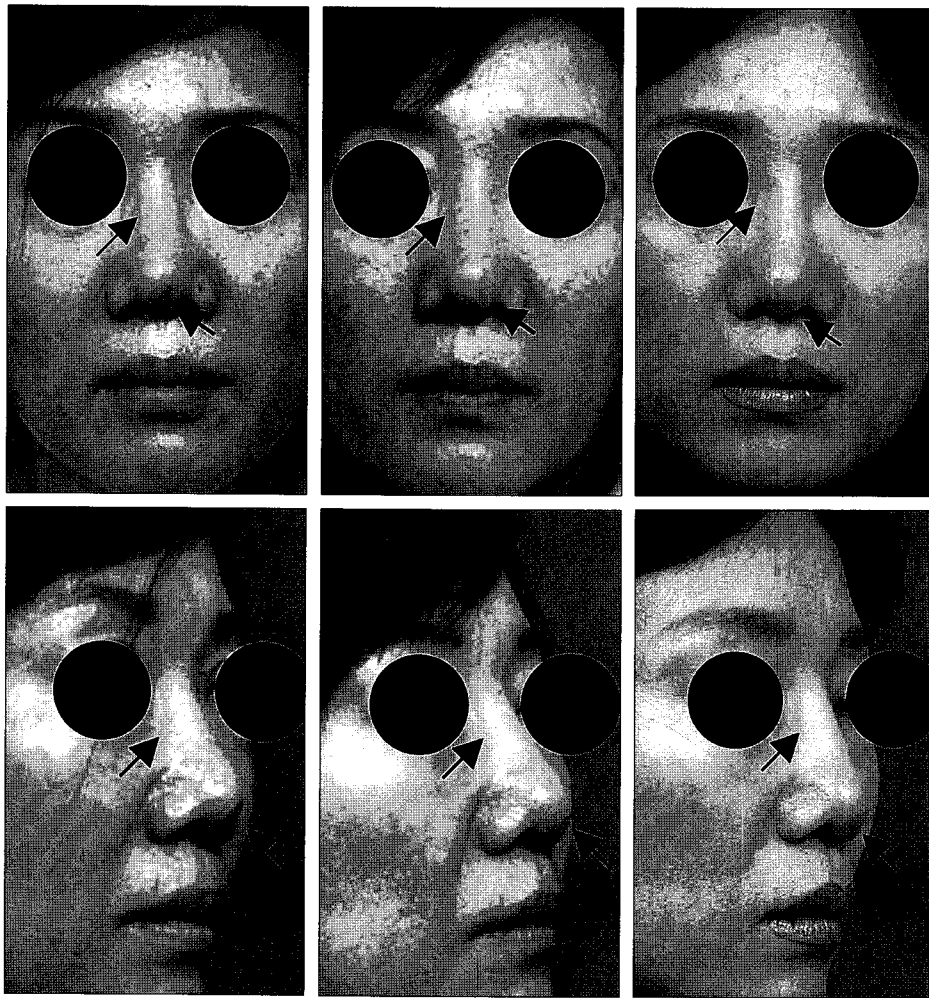


Fig. 2. A 34-year-old woman was treated with fibroblast injection for augmentation rhinoplasty. (Above, left) Preoperative view. (Above, center) Six months after operation. (Above, right) Twelve months after operation. (Below, left) Preoperative three-quarters view. (Below, center) Postoperative three-quarters views.



**Fig. 3.** A 49-year-old woman who underwent an operation for silicone removal 3 months ago was treated with fibroblast injection into nasal dorsum and depressed scar area at infratip-columellar junction caused by silicone implant extrusion. (Above, left) Preoperative view. (Above, center) Six months after operation. (Above, right) Fifteen months after operation. (Below, left) Preoperative three-quarters view. (Below, center & right) Postoperative three-quarters views.

#### IV. 고 찰

이상적인 삽입물질은 자가조직이면서 시술이 간단하고, 공여부의 최소희생으로도 무한하고 지속적인 결과를 얻을 수 있어야 한다. 분자생물학과 조직공학적 기법의 비약적인 발전으로 많은 새로운 물질들이 등장하였으나 대부분은 기존의 물질들보다 더 나은 결과를 보이리라는 기대를 충족시키지 못하였다. 이상적인 주입물은 공여부의 조직과 가능하면 비슷하여야 할 것이므로 결국 생명체에서 얻어진 물질을 선택하는 것이 최선의 방법이라 할 수 있는데, 이러한 natural injectable filler들은 해마다 많은 종류들이 등장해 왔다. 현재 사람, 동물, 박테리아에서 기원한 물질들이 사용되고 있으며<sup>7-10</sup> 각 물질들마다 고유한 장단점을 가지고 있으나, 쉽게 흡수되어 장기간 관찰 시 불만족스러운 결과를 보이는 점이 모든 주입물질의 공통적인

단점으로 지적되어 왔다.<sup>11-15</sup>

최근 히알루론산 유도체들이 연부조직 증대를 위한 새로운 물질로 각광 받고 있는데, 이는 콜라겐과는 달리 보관이 편리하고 이상반응에 대한 예비적 목적의 피부반응 검사가 필요 없다는 등의 장점이 있기 때문이다. 순수한 히알루론 산은 조직 내에서 단지 수일 정도만 남아 있기 때문에 일련의 변화과정을 거친 히알루론 산이 사용되고 있는데 현재 유럽에서는 두 종류의 히알루론산 겔이 사용되고 있다. Hylaform<sup>®</sup>(Biomatrix Inc., Ridgefield, NJ, U.S.A.)은 수탉의 벃에서 추출된 것이며, Restylane<sup>®</sup>은 세균 발효에 의해 생산된 것으로 두가지 겔 성분 모두 장기간의 지속효과를 얻기 위해 각각 조류의 단백질과 발효에 의한 부산물을 첨가물로 사용하고 있다.

Restylane<sup>®</sup>은 세균 발효에 의해 생성된 반복구조와 mono-saccharide D-glucuronic acid 및 N-acetyl-D-glucosamine

로 구성된 글리코스아미노글리칸 이중복합체이며, 이는 원료가 비동물성 세포이므로 닭뿔에서 생성된 히알루론산이 가지고 있는 안전성에 대한 우려와는 관련이 없다. 따라서 이는 면역반응을 일으키지 않고 간에서 물과 이산화탄소로 분해된다. Restylane<sup>®</sup>은 최근에는 유럽과 캐나다뿐만 아니라 많은 다른 국가들에서 연부조직 증대를 위해 널리 이용되고 있다. 히알루론산은 모든 중에서 동일한 화학적 구성을 보이므로 동물에서 기원한 원료를 사용하는 것도 인간에서 이물반응 없이 생체에 적합하게 사용할 수 있다. 또한 가지 독특한 특성은 물과 결합하는 성질로 높은 점성도를 가지는 복합체를 형성할 수 있다. Restylane<sup>®</sup>은 부피를 그대로 유지하며 분해되는 성질을 지니는데 이는 진피 내에서의 Restylane<sup>®</sup> 농도가 감소할수록 물과의 결합능력은 증대됨을 의미한다. 이러한 독특한 물리적, 화학적 특성으로 Restylane<sup>®</sup>은 연부조직 증대에 있어 이상적인 물질로 입증되어 왔으나 여러 개량 방법에도 불구하고 체내 흡수로 인해 반복 주사해야 하는 단점이 있었다.

자가 배양된 섬유모세포는 1995년 이래로 진피와 피하층의 결손을 위한 역동적 단백질 회복 기법으로 성공적으로 사용되고 있는데<sup>3</sup> 주름이나 반흔등의 진피 혹은 피하결손부를 치료하고자 자가 배양된 섬유모세포를 이용하여 주입하는 것은 성형외과 의사에게 새로운 치료의 장을 열어주었다. 자가 배양되어 증폭된 섬유모세포는 교정효과가 수개월에서 수년간 혹은 영원히 지속되는 단백질 복구 기법을 마련하였으며 Boss 등은 이와 소의 콜라겐의 혼합을 이용하여 그 지속력을 무한한 기간까지 연장하였다고 보고하였다.<sup>4</sup>

배양된 섬유모세포를 Restylane<sup>®</sup>에 혼합하는 것은 Restylane<sup>®</sup>을 단독 사용하는 것보다 이에 세포의 기질을 생성하는 세포를 혼합 주입하여 교정효과가 장기간 지속될 것이라는 가설에 기초하고 있다. Restylane<sup>®</sup>은 극적인 초기 충전효과를 제공하고 배양된 섬유모세포는 Restylane<sup>®</sup>의 단독 사용으로는 얻을 수 없는 장기 지속 효과를 제공할 것이다. 즉, 주입 후 국소적인 기질의 새로운 생성을 기대할 수 있다. 비록 본 연구에서의 추적관찰 기간이 충분히 만족스럽다고 하기에는 부족한 면이 있으나 제조사의 설명에 따르면 Restylane<sup>®</sup>은 진피가 아닌 피하주입 시 3주 내에 흡수되므로 환자들에서 1년 이상 동안 연부조직 증대 효과가 지속된 것은 혼합된 세포가 진피 기질을 생성한 것으로 추측이 가능하다. 물론 이러한 가설은 Restylane<sup>®</sup>만을 단독 주입한 집단과의 대조군 연구를 통하여 검증됨을 원칙으로 하겠으나 이전의 동물실험을 통한 저자들의 대조군 연구에서 그 차이가 명백하였고,<sup>1,2</sup> 이미 그 흡수성이 잘 알려져 있는 히알루론산을 단독 주입하여 환자의 용비술에 사용한다는 것은 실제 환자를 대상으로 시술함에 있어 환자의 동의

를 얻어내기에 어려움이 있어 시행할 수 없었다.

기존의 세포 공학적 방법을 이용한 연부조직 증대에 관한 연구들 중에는 콜라겐과 세포의 혼합 주입을 이용한 방법이 발표된 바 있으나 Restylane<sup>®</sup>과 세포 혼합의 예는 시도된 바 없었다. 이에 저자들은 동물실험을 통하여 nude mouse의 배부에 Restylane<sup>®</sup>과 사람의 진피섬유모세포를 혼합 주입하여 그 결과를 관찰하였으며, 연부조직 증대가 첫 2-3주에서는 약간의 흡수됨을 보였으나 그 이후부터는 더 이상의 흡수 없이 잘 유지됨을 보고하였고<sup>1</sup> 이러한 결과는 본 임상실험에서도 거의 일치하는 결과를 나타내었다. 따라서 Restylane<sup>®</sup>과 섬유모세포의 혼합주입시 이러한 흡수 정도를 고려하여 20-30%의 과교정을 해주는 것이 만족스러운 장기 추적결과를 얻기 위해 필요하리라 사료된다. 또한 이러한 세포주입을 이용한 용비술은 비배부에서는 만족스러운 결과를 얻을 수 있으나 비침부의 성형에 있어서는 여러 제한점으로 인하여 좋은 결과를 기대하기 힘든데, 그 주된 이유로는 비침부는 모공이 커서 감염의 위험이 높고 주입물이 모공으로 빠져나올 수 있으며 비침부의 피부는 탄성도가 낮아 비침부의 증대 효과가 적다는 점 등을 들 수 있다.

장기 추적 환자 중 한 명에서는 경미한 사비 소견을 보였는데 이는 시술초기 환자에 있어 주입물의 균등분배를 정확히 하지 않고 손가락의 압력만으로 조절을 하였기 때문이라 생각되며, 이후에는 주입 시 섬세하게 균등분배를 함으로써 이와 같은 현상을 방지할 수 있었다. 따라서 혼합물 주입 시 처음부터 정확히 비배부에 균등하게 분배하여 주사하는 것이 중요하다고 판단된다.

Restylane<sup>®</sup>과 세포의 혼합 주입의 장점으로는 자가 조직을 이용함으로써 환자에게 심리적 안정감을 주고, 시술 방법이 간단하여 수술에 대한 부담감 없이 외래에서 시행 가능하며, 부종이 거의 없고 환자가 시술 즉시 효과를 확인할 수 있어 의사와 환자간의 의사소통에서의 오류를 최소화할 수 있는 점 등을 들 수 있다. 그러나 앞으로 진행되어야 할 연구과제로서 더 많은 증례수의 장기 추적관찰이 필요하며, 부피감소에 대한 정량적 결과의 비교, Restylane<sup>®</sup> 이외의 좀 더 값싼 material을 이용할 수 있는지 여부, 다른 세포 공학적 방법과의 차이점, 1차 수술과 2차 수술에서의 부피감소의 차이점 및 배양된 세포 수와 결과에 관련된 통계적 검증 등이 필요하다고 사료된다.

비록 추적관찰 기간이 충분한 증례 수가 많지 않아 섬유모세포 혼합에 따른 더 많은 연구와 임상경험 예를 필요로 하나 본 연구는 배양된 섬유모세포와 Restylane<sup>®</sup>의 혼합이 용비술을 위한 적합한 주입 물질임을 보여주고 있다. 또한 Restylane<sup>®</sup>과 섬유모세포의 혼합은 용비술에서의 사용 외에도 영구적 생체 적합 주입물이 필요한 다른 여러

부위에서도 이용될 수 있을 것으로 기대된다. 향후 더 많은 증례에서 장기 추적관찰을 통하여 이 혼합 주입 방법의 정확한 효과를 발표할 수 있으리라 생각한다.

## V. 결론

본 연구는 개량된 히알루론산인 Restylane<sup>®</sup>을 배양된 섬유모세포와 혼합하여 주입보형물의 지속성을 유지할 수 있는지를 실제 환자를 대상으로 검증하고자 진행되었다. 본 연구의 결과, Restylane<sup>®</sup>과 섬유모세포의 혼합은 잘 생착할 뿐만 아니라 용비술 시행에 있어서 장기간 지속되는 이식편으로 성공적으로 주입될 수 있음을 보여주었다.

## REFERENCES

1. Yoon ES, Ko HW, Han SK, Kim WK: Advantage of the presence of living dermal fibroblasts within restylane<sup>®</sup> for soft tissue augmentation. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 30: 39, 2003
2. Knapp TR, Kaplan EN, Daniels JR: Injectable collagen for soft tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg* 60: 398, 1977
3. Boss WK, Usal H, Fodor PB, Chernoff G: Autologous cultured fibroblasts: a protein repair system. *Ann Plast Surg* 44: 536, 2000
4. Ersek RA, and Beisang AA III: Bioplatique: A new textured copolymer microparticle promises permanence in soft-tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg* 87: 693, 1991
5. Duranti F, Salti G, Bovani B, Calandra M, Rosati ML: Injectable hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation: A clinical and histologic study. *Dermatol Surg* 24: 1317, 1998
6. Sjoerd D, Berend VDL: Long-term results of upper lips treated for rhytides with carbon dioxide laser. *Plast Reconstr Surg* 115: 1731, 2005
7. Alster TS, West TB: Human-derived and new synthetic injectable materials for soft-tissue augmentation: Current status and role in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg* 105: 2525, 2000
8. Coleman SR: Long-term survival of fat transplant: controlled demonstrations. *Aesthetic Plast Surg* 19: 421, 1995
9. Austin HW, Weston GW: Rejuvenation of the aging mouth. *Clin Plast Surg* 19: 511, 1992
10. Beran SJ, Rohrich RJ: The potential role of autologous, injectable dermal collagen(Autologen<sup>®</sup>) and acellular dermal homograft(Alloderm<sup>®</sup>) in facial soft tissue augmentation. *Aesthetic Surg* 17: 420, 1997
11. Burres SA: Recollagenation of acne scars. *Dermatol Surg* 22: 364, 1996
12. Davidson BA: Lip augmentation using the palmaris longus tendon. *Plast Reconstr Surg* 95: 1108, 1995
13. Gatti JE: Permanent lip augmentation with serial fat grafting. *Ann Plast Surg* 42: 376, 1999
14. Botti G, Villedieu R: Augmentation cheiloplasty by using mucomuscular flaps. *Aesthetic Plast Surg* 19: 69, 1995
15. Isenberg JS: Further clinical experience in permanent lip augmentation using autologous breast implant capsule. *Ann Plast Surg* 40: 265, 1998