

## Poly-glycolic Acid(PGA)와 우태아 혈청(Fetal bovine serum, FBS)의 혼합물이 가토에서 골형성에 미치는 영향

성용덕<sup>1</sup> · 김용하<sup>1</sup> · 문영미<sup>2</sup> · 김갑중<sup>3</sup> · 김연정<sup>3</sup> · 최식영<sup>3</sup>

영남대학교 의과대학 성형외과학교실<sup>1</sup>, 의료공학 연구소<sup>2</sup>, 안동대학교 자연대학 응용화학과<sup>3</sup>

### The Effects of the Mixture of Fetal Bovine Serum and Poly-glycolic acid in Rabbit Calvarial Model

Yong Duck Sung, M.D.<sup>1</sup>, Yong Ha Kim, M.D.<sup>1</sup>,  
Young Mi Moon<sup>2</sup>, Kap Joong Kim<sup>3</sup>, Yeon Jung Kim<sup>3</sup>,  
Sik Young Choi, Ph.D.<sup>3</sup>

Department of <sup>1</sup>Plastic & Reconstructive Surgery, <sup>2</sup>Tissue Engineering, College of Medicine, Yeungnam University, Daegu, Korea,

<sup>3</sup>Applied Chemistry, Natural Science, Andong National University, Andong, Korea

**Purpose:** This study was undertaken to investigate the osteogenic induction potential of PGA & FBS mixture on a calvarial defect in the rabbit.

**Methods:** Twenty New Zealand white rabbit, weighing from 3.5 - 4 kg were allocated into each of the three groups. Four 8 mm sized bone defects were made on the parietal bone by drilling. In group I, the bony defects were implanted with 50  $\mu$ m thickness film containing mixture of PGA and FBS. In group II, with PGA only film, & in group III, the bony defects were left with no implants. Results were evaluated by using morphologic change, radiographic study, biochemical study and histologic examination at 1 week (group I n=7, group II n=7, group III n=14), 2 weeks (group I n=6, group II n=6, group III n=12) and 3 weeks (group I n=7, group II n=7, group III n=14) following implantation.

**Results:** In the morphologic & radiographic study, the formation and corticalization of callus were observed earlier in group I than in groups II and III ( $p < 0.05$ ). In histological examination, group I showed more abundant and faster new bone formation than in group II and III. In biochemical analysis, group I displayed more activity than in group II and III. Group I also showed more

abundant osteopontin, osteocalcin than groups II and III.

**Conclusion:** In conclusion, the results demonstrate that the mixture of PGA and FBS has an effect on osteoblastic formation in the rabbit model. It is considered that further evaluation of long term results on resorption, immunologic tissue reaction and response of applied mixture in the human model will be needed.

**Key Words:** Fetal bovine serum, Poly-glycolic acid, Rabbit model

## I. 서 론

현대 사회에서 사고 및 재해에 의한 빈번한 골조직의 파괴 및 결손, 나이에 따라 골 밀도의 감소로 인한 골절, 그리고 선천적 골형성 부전증 등의 성장 부진과 같은 다양한 문제들에 대한 효과적인 골형성 재건 방법이 요구되고 있다.

골조직의 형성을 위해 골을 생산하는 골모세포(osteoblast), 이런 세포들이 적당한 위치에서 증식할 수 있는 담체(scaffold), 그리고 골형성을 유도 인자가 필요하다. 골형성에 필요한 담체는 생체적합성이 있어야 하며, 주위의 골과 밀접하게 연계되어 표면 활성도와 뼈대구조를 제공하게 된다. 골 담체 물질로는 세라믹, 콜라겐, Poly-glycolic acid(PGA) 등이 있다. 이 중 PGA는 원하는 형태로 제조가 용이한 점, 용해되는 시간을 조절할 수 있다는 점, 성장인자들의 방출을 조절할 수 있다는 점 등 때문에 향후 골형성 담체로서 사용가능성이 높다. 현재 PGA는 흡수성 골고정 재료로써 널리 이용되고 있다.<sup>1,2</sup>

또한 골형성의 유도인자인 성장인자(growth factors)와 지방조직에서 추출된 중간엽세포(adipose derived mesenchymal cell)와 줄기세포(stem cell) 등을 첨가하는 방법이 연구되고 있다.<sup>3</sup> 저자들은 골형성에 필수적인 무기질 영양원을 담체에 삽입하는 것을 고안하여 우태아 혈청(Fetal bovine serum, FBS)을 골형성 유도인자로 삼아 실험하였다. 우태아 혈청은 세포배양 시 기본 영양공급원이 되며 성장을 촉진하는 호르몬과 성장인자, 그리고 부착과 확산인자 등을 제공한다. 또한 우태아 혈청은 단백질, 지방, 호르몬, 성장인자 등의 유기물과 미량의 무기질이 혼합된 형

Received August 28, 2006

Revised March 14, 2007

**Address Correspondence:** Yong Ha Kim, M.D., Ph.D., Department of Plastic & Reconstructive Surgery, College of Medicine, Yeungnam University Hospital, 317-1 Daemyung 5-dong, Namgu, Daegu 705-717, Korea. Tel: 053) 620-3483 / Fax: 053) 626-0705 / E-mail: kimyon@yumail.ac.kr

\* 본 논문은 2006년 제 60차 대한성형외과 학술대회에서 구연발표 되었음.

대로 그 조성은 세포의 성장에 이상적이라 할 수 있다.<sup>4</sup>

본 연구에 앞서 골결 부위에 사용되는 골고정 장치나 골고정편 아니라 치유에 도움이 되는 무기질 영양원을 공급할 수 있으며 골형성을 촉진시킬 수 있다는 가정하에 PGA와 우태아 혈청의 혼합 박막(film)을 만들어 실험한 결과(*in vitro*), 이 혼합물이 실험실에서 인간 조골세포의 성장에 유의한 효과가 있음을 확인한 바가 있다.<sup>4</sup>

이에 본 연구는 가토 실험을 통해 효과적인 골조직의 형성을 위해 여러 가지 단백질과 무기질영양원과 성장인자들이 함유되어 있는 우태아 혈청을 담체 역할을 하며 골형성에 유리한 매개체인 PGA에 도포한 후 골세포의 증식에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 가. 박막의 제작

골 성장에 필요한 필수 미량원소는 우태아 혈청(Gibco BRL, USA)을 동결 건조하여 1차 열 분해시킴으로써 단백질, 지방, 성장 인자와 같은 유기물을 분해시켜 얻을 수 있었다. 유기물이 분해된 우태아 혈청은 에틸알콜과 식염수로 수차례 세척하여 무기질 미량 원소만을 분리하여 PGA 혼합용 필수미량원소로 사용하였다. PGA를 225℃ 상에서 열을 가하여 용융시킨 다음, salt leaching technique를 이용하여 PGA와 동결 건조한 혈청을 휘발성 용매인 hexafluoroisopropanol에 분산한 후 PGA(Aldrich, USA)와 상온에서 혼합하였다. 동결 건조된 혈청은 우태아 혈청을 전처리한 필수 무기질 미량원소를 3%로 하여 혼합된 PGA를 50µm 두께의 박막으로 제조하였으며 다른 물질이 첨가되지 않은 PGA 박막 또한 제조하였다.

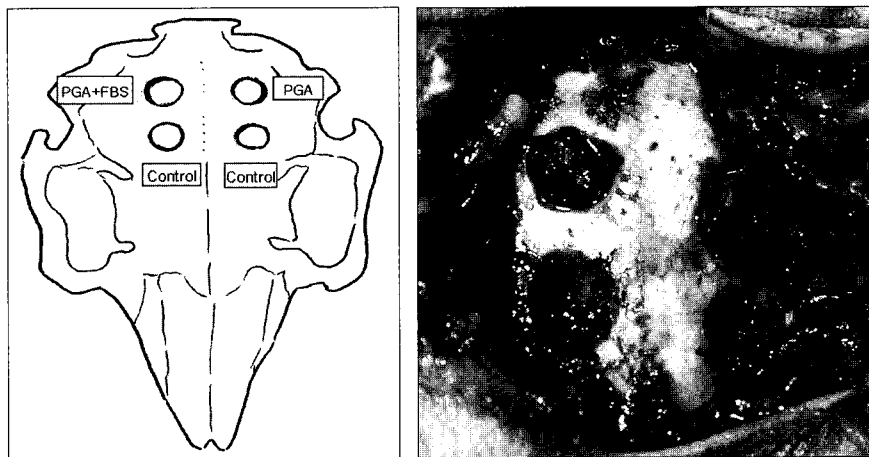
### 나. 동물실험

6-9개월 된 20마리의 체중 3.5-4.0 kg의 성체의 뉴질랜드 백색 가토를 사용하였다. 실험군은 지름 8 mm의 골결손 부위에 50µm의 두께로 제작된 PGA와 우태아 혈청 혼합물을 이식한 군을 1군, 순수 PGA만을 이식한 군을 2군, 골결손을 가토의 두개골에 인공적으로 만든 후 물질을 삽입하지 않은 대조군(control group)을 3군으로 하였다.

이개 정맥에 수액을 연결하고 정맥로를 확보한 후, pentothal sodium을 정맥 주사(30 mg/kg)하여 마취를 유도하였고, 필요에 따라 ketamine(2 mg/Kg)을 정맥로에 적절히 투여하는 방법으로 마취상태를 유지시켰다. 수술할 가토의 이개 하부(caudal portion) 및 양측 안와 사이의 두정골 부위는 삭모 후 기본적인 소독과 도포를 실시하였다. 추가적으로 절개 부위의 국소마취를 시행한 후 가토의 두개골에 종으로 4 cm 피부절개를 가한 다음, 골막을 박리하여 골 부위를 노출시켰다. 두개골의 두정부에 천공기(drill)를 이용하여 양측으로 각각 2개씩, 총 4개의 지름 8 mm의 전층 골결손을 만들었다(Fig. 1).

제 1군은 우측 후방의 전층 골결손 부위에 50µm의 두께로 제작된 PGA와 우태아 혈청 혼합물을 이식하였고, 제 2군은 좌측 후방 결손 부위에 PGA만을 삽입하였으며, 제 3군은 나머지 2개의 골 결손만을 만들어 대조군으로 사용하였다.

골결손 부위에 제작된 물질을 삽입한 후 박리한 골막을 4-0 바이크릴(vicryl)로 봉합한 후 4-0 바이크릴과 4-0 나이론으로 절개 부위를 층층이 봉합한 후 마취에서 회복시켰다. 수술 봉합 부위에 염증이 생기지 않도록 베타딘으로 소독하였으며, 정상적인 사료 식이는 수술 날부터 허용하였다. 물질의 삽입이 끝난 후 1주째 7마리(1군 n=7, 2군



**Fig. 1.** Operation technique. (Left) The schematic illustration of experiment. Four 8 mm sized bone defects on the calvaria of rabbit were made by using electrical drill. (Right) The mixture of PGA and FBS was implanted to bone defect area of cephalic portion on left side. PGA was implanted to bone defect area of cephalic portion on right side. No implantation was done at distal portion of the calvaria serving as controls.

n=7, 3군 n=14), 2주째 6마리(1군 n=6, 2군 n=6, 3군 n=12), 3주째 7마리(1군 n=7, 2군 n=7, 3군 n=14)를 각각 희생시켜 육안적 검사, 방사선 검사, 생화학적 분석, 조직검사를 각각 시행하였다.

#### 다. 육안적 관찰

1주, 2주, 3주일 후에 각각 토끼를 안락사 시킨 후 골막을 벗긴 후 결손부를 노출시켜 골생성 정도 및 골결손의 치유정도에 대해 육안적 관찰을 시행하였으며, Coolpix 4500 digital camera(Nikon, Japan)로 근접사진을 촬영하였다.

#### 라. 방사선학적 검사

골결손 부위 및 주변의 정상 골조직이 포함되게 골표본을 채취하여 골화 정도를 파악하기 위해 전산화단층촬영(CT)을 통해 골결손 부위의 중심부의 한 점을 잡은 후 hounsfield unit를 측정하며 골생성 정도를 수치화하여 비교해 보았다.

#### 마. 조직학적 관찰

채취한 각각의 절편을 10% 중성 포르말린에 고정하여 파라핀블록을 만든 다음 탈회(decalcification)과정 후 hematoxylin and eosin 염색을 실행하여 Polaroid DMC Ie가 장착된 Nikon 현미경을 이용하여 관찰 후 조직사진을 촬영하였다. 천공된 골결손 부위의 중심점을 기준으로 절편 후 골모세포의 출현 및 골수강의 생성, 골지주의 형성 등을 관찰하였다.

#### 바. 생화학적 분석

##### 1) Alkaline-phosphatase activity 측정

가토의 두정골로부터 채취된 각각의 절편을 0.2%

Nonidet P-40(1 mM MgCl<sub>2</sub>)로 homogenizing 시킨 후에 원심분리기를 이용하여 얻어진 상층액을 p-nitrophenyl phosphate와 30분 동안 37°C 배양기에서 반응시켜 410 nm 분광기(spectrophotometer)로 측정하였다.

##### 2) RT-PCR(Reverse transcriptase-polymerase chain reaction)을 이용한 측정

가토의 두정골로부터 채취된 각각의 시편을 인산완충용액으로 씻어낸 후 Tri-Reagent kit(Invitrogen, USA)를 사용하여 RNA를 분리하였으며, 분리된 RNA는 RT-PCR kit(Intron, Koera)를 사용하여 cDNA로 역전사 하였다. PCR을 하기 위한 oligonucleotide primer(Bionex, Korea)에서 osteopontin, 발현을 위한 시동체(primer)를 forward는 5'GCT CAG CAC CTC AAT GTA CC 3', 역전사(reverse)는 5' CCT CGG CTC GAT GGC TAC C 3'디자인하였다.

#### 사. 통계 처리

통계적인 방법은 SPSS(version 12.0)를 이용한 Fisher's exact test를 이용하였으며, *p*-value가 0.05 이하인 경우 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

### III. 결 과

#### 가. 육안적 관찰

1주 후와 2주일 후 관찰결과는 아무것도 넣지 않은 결손 부위와 우태아 혈청과 PGA 혼합물 부위는 골조직 형성되는 것처럼 보였다. 그러나 결손 부위에 PGA만 삽입된 것은 부드러운 섬유조직으로 둘러싸여 있었으며 다른 군에 비해 상대적으로 무른 조직으로 관찰되었다. 3주 후 관찰에서는 모든 군에서 골형성이 이루어져 육안적인 차이를 쉽게 관찰할 수 없었다(Fig. 2).

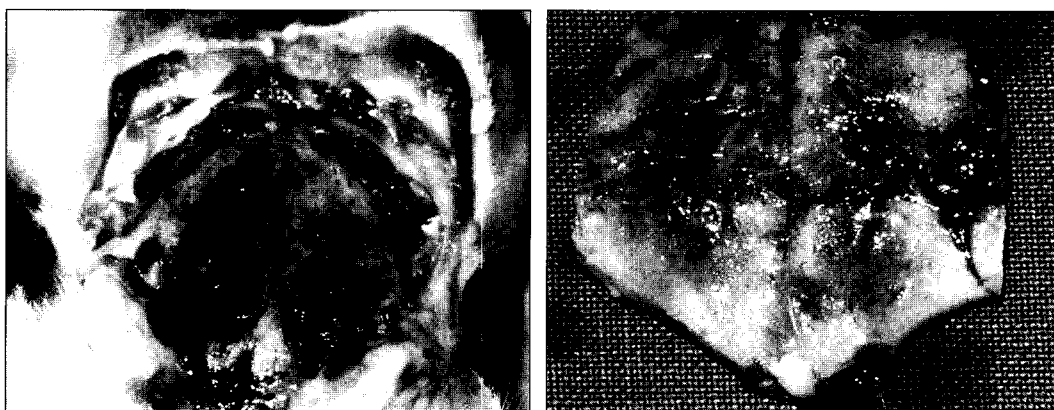


Fig. 2. (Right) Implantation state of the mixture of FBS and PGA in bone defect on calvarial bone after 1 weeks of implantation. (Left) Excised bone material was seen.

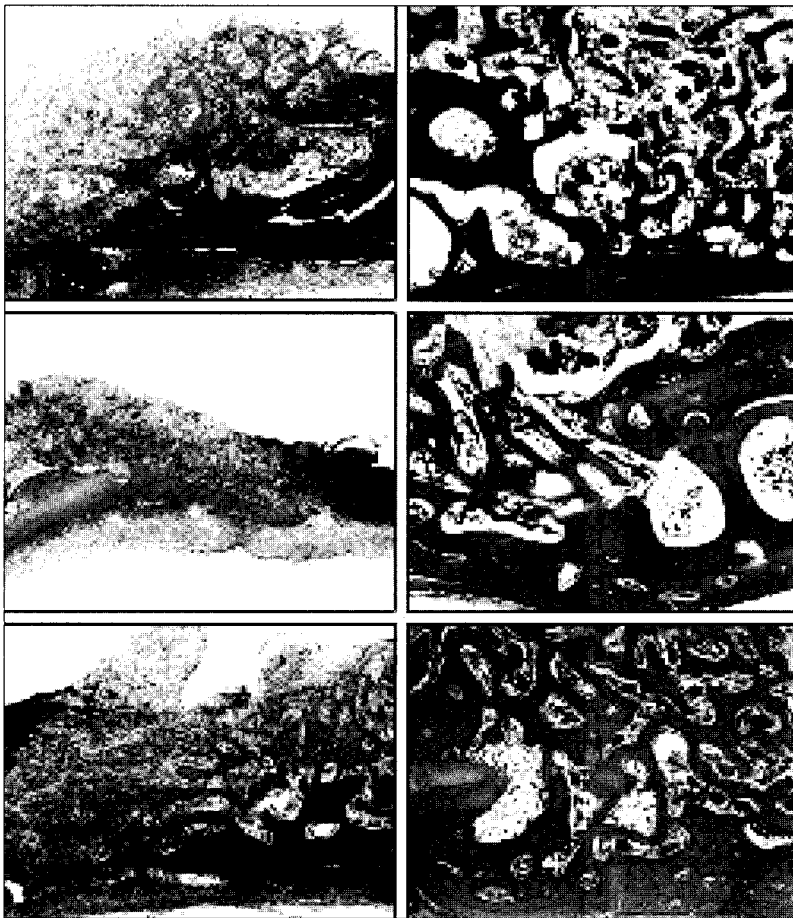
**나. 방사선학적 검사**

실험 1주 후부터 3주까지 hounsfield unit 수치의 평균에 있어서 통계적으로 유의하게 차이를 보였다. 1주째에는 1군에서의 수치가  $340 \pm 2.6$ 으로 다른 군에 비하여 조금 높게 측정되었으며, 2주와 3주째 결과에서 PGA와 우태아 혈청 혼합물을 이식한 군에서  $807 \pm 10.5$ 로 가장 수치가 높게 측정되었으며 그 다음으로 대조군, 마지막으로 PGA만을 삽입한 군에서는 수치가 가장 낮은 것으로 나타났다 ( $p > 0.01$ )(Fig. 3, Table 1).

**다. 조직학적 관찰**

대조군으로 아무것도 넣지 않은 것과 실험군의 PGA와

우태아 혈청의 혼합물은 조직학적으로 미성숙한 골조직이 관찰되었다. 1군의 2주째에서 골결손 부위의 가장자리로부터 골아세포가 2군과 3군에 비해 보다 풍부하게 관찰되었고 전반적으로 섬유성 결합조직으로 채워져 있었다. 3주째에는 전반적으로 대조군의 소견과 비슷하며 신생골 형성이 조금 더 많이 관찰되었다. 2군에서는 2주째까지 PGA성분의 용해가 완전히 일어나지 않았으며 가장자리에 부분적으로 골아세포가 관찰되었다. 3주째에 1군과 3군에서 중앙부에 섬유대를 볼 수 있으며 골아세포 및 잔기둥(trabecula)이 풍부하게 형성되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 4).

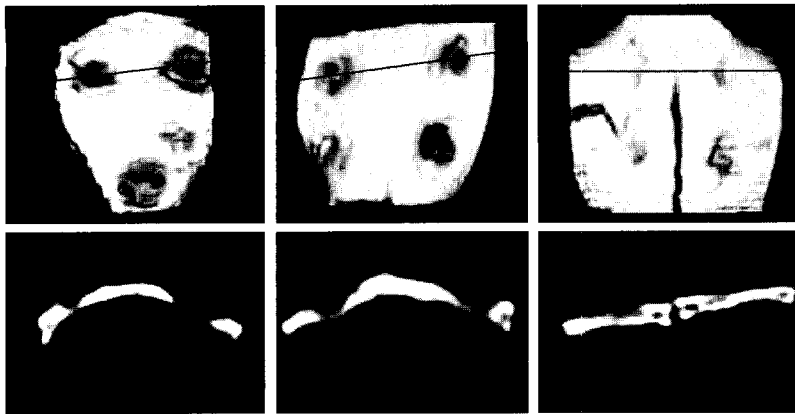


**Fig. 3.** Histological findings of the bone defect area(Hematoxylin and eosin stain,  $\times 40$ ). Group 1. (Above, left) 1 week after bone defect. (Above, right) Most abundant fat marrow and immature bone marrow were detected at 3 weeks. Group 2. (Center, left) 1 weeks after bone defect. (Center, right) Focal fat marrow was detected. Group 3. (Below, left) 1 week after bone defect. Bone defect area was checked. (Below, right) Osteoblast cell and trabecula were seen at 3 weeks. Minimal fat marrow was detected.

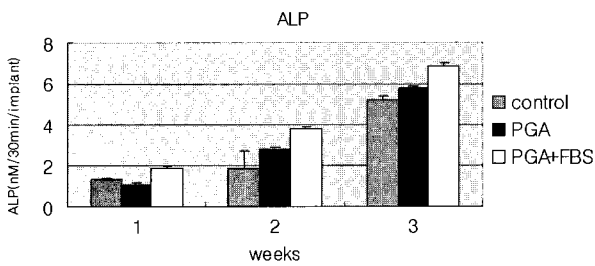
**Table 1.** Hounsfield Unit at CT Image of the Calvaria of Rabbit

	1 week	2 weeks	3 weeks
PGA + FBS	$340 \pm 2.6$	$650 \pm 6.5$	$807 \pm 10.5$
PGA	$322 \pm 6.8$	$384 \pm 10.2$	$569 \pm 9.4$
Control	$306.8 \pm 5.9$	$565 \pm 14.1$	$750 \pm 11.8$

Values are mean  $\pm$  S.D. of each group (statistical analysis: Fisher's exact test  $p > 0.05$ )



**Fig. 4.** 3D CT image view. (Above, left) 8 mm sized bone defects on the calvaria of rabbit were seen at 1 week. (Below, left) The coronal section view at the black line was seen at 1 week. (Above, center) Bone growth was seen on bone defect area of the calvaria of rabbit at 2 weeks. (Below, center) The coronal section view at the black line was seen at 2 weeks. (Above, right) The nearly filling state on bone defect area was seen at 3 weeks. (Below, right) The coronal section view at black line was seen at 3 weeks.



**Fig. 5.** Alkaline phosphatase activity of the implants. Values are mean ± SE of each group (statistical analysis: student's t-test  $p < 0.01$ )

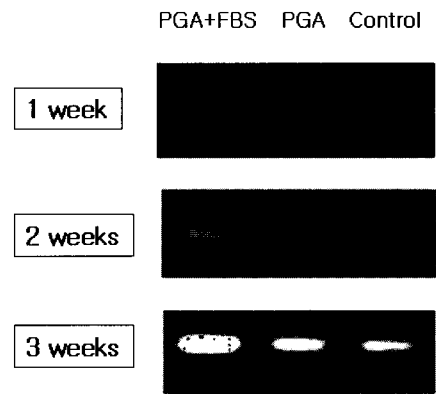
**라. 생화학적 분석**

1) Alkaline-phosphatase activity(ALP) 측정

1주, 2주, 3주일 후에 채취된 절편의 ALP 측정결과에서 우태아 혈청과 PGA를 혼합한 것이 대조군과 PGA만을 삽입한 군보다 활성도가 높게 측정되었다(Fig. 5). 1주 후에 채취한 시편은 1군부터 3군까지 각각  $1.86 \pm 0.3$ (nM/30 min/implant, Mean ± SD),  $1.1 \pm 0.4$ ,  $1.3 \pm 0.5$ 로 PGA시편에 우태아 혈청을 혼합한 것이 가장 높았고, 2주 후에 채취한 시편과 3주에 채취한 시편도 각각  $3.8 \pm 0.19$ ,  $2.8 \pm 0.1$ ,  $1.9 \pm 0.2$  그리고  $6.8 \pm 0.6$ ,  $5.7 \pm 0.41$ ,  $5.16 \pm 0.31$ 로 PGA시편에 우태아 혈청을 혼합한 것이 ALP가 가장 높게 나타났으며 통계적 유의성이 있었다( $p < 0.01$ ).

2) RT-PCR을 이용한 측정

1주일 후에 채취한 시편에서는 대조군, PGA, PGA+FBS 모두 osteopontin의 발현을 관찰할 수 없었고, 2주일 후에 채취한 시편에서는 PGA + FBS에서만 osteopontin의 발현을 확인하였다. 3주 후에 시편에서는 모두 osteopontin이 발현하였고, PGA + FBS군에서 높은 발현을 보였다. osteopontin은 2주부터 생성되기 시작하였으며, 3주에는 대조군, PGA, PGA+FBS에서 osteopontin 발현하기 시작하였다(Fig. 6).



**Fig. 6.** Result of RT-PCR for osteopontin.

**IV. 고 찰**

현재 골절부의 골고정에 사용되는 재료들은 오직 고정만을 목적으로 사용된다. 고정에 사용되는 재료는 크게 비흡수성과 흡수성 재료로 나뉘며 점차 흡수성 재료에 대한 비중이 높아지고 있는데 이는 일정 시간이 경과 후 완전히 체내에서 흡수되는 장점 때문이다.<sup>5,6</sup> 한편 골의 형성에 필수적인 무기질 영양원, 예를 들면 아연, 망간, 마그네슘, 보론 등은 극히 미량으로 골형성에 영향을 미친다. 만약 골절 부위로 직접 필수적 무기질 영양원을 공급할 수 있다면 골형성에 중요한 영향을 미칠 수 있을 것이다.<sup>7,8</sup>

우태아 혈청은 여러 물질이 혼합된 복합 산물이다. 세포 배양시 사용하는 우태아 혈청은 단백질, 지방, 호르몬, 성장인자 등의 유기물과 미량의 무기질이 혼합된 형태로 그 조성은 세포의 성장에 이상적이라 할 수 있다.<sup>9</sup> 우태아 혈청의 성분을 자세히 알아보면 세포의 성장과 기능에 관여하는 호르몬 즉 알부민과 글로불린을 제공하고, 세포부착을 촉진시키는 화이브로넥틴(fibronectin), 트립신(trypsin)을 억제하는  $\alpha 2$ -macroglobulin, 태아 혈청 내에 세포부착

을 촉진시키는 fetuin, 철과 결합하여 독성이 덜하고 인체 내에 유용한 transferrin 등이 있다. 또 세포증식 촉진능력을 가지고 있는 폴리펩티드, transforming growth factor (TGF) 등으로 구성되어있다. 그 뿐만 아니라 성장인자인 FGF, EGF, ECGF 등도 소량존재하고, 각종 영양소와 대사물질, 무기물질 등을 포함한다. 아직까지 정확하게 밝혀져 있지는 않지만 세포배양에 용이한 여러 가지 인자가 포함되어있다.<sup>10</sup> 현재 거의 모든 조직 공학관련 연구기관에서 사용되는 배양방법에는 이 우태아 혈청이 사용되고 있다. 우태아 혈청을 이용하여 배양된 세포에서 본질적 생물학적 특성을 변화시킨다는 어떤 증거도 발견되지 않았으나, 인체적용을 전제로 한 조직공학적 배양과정에서 우태아 혈청의 사용은 광우병 등의 전염성 질환을 인간에게 전파시킬 수 있는 잠재적 위험성이 있는 것이 사실이다. 1990년 우태아 혈청으로 배양된 세포를 임상적으로 사용할 경우에는 동물의 전염성 질환을 인간에게 전파시킬 수 있는 잠재적 위험성이 있으므로 이러한 위험을 방지하기 위해서 자가혈청을 이용함으로써 감염을 예방할 수 있다고 발표된 바 있다.<sup>11</sup> 그 후 1996년 자가 혈청을 이용해 연골세포를 배양하여 증식과 분화에 자가혈청이 용이하다는 가설이 제시되었고, 2000년에는 자가혈청을 이용하여 골세포를 배양함으로써 골세포의 증식과 분화에서 자가혈청의 유용성을 입증하였다.<sup>12</sup> 본 연구는 이러한 사실을 근거로 현재 연구가 되고 있는 자가혈청의 이용에 앞서 우태아 혈청을 이용한 동물실험을 시행함으로써 향후 자가혈청을 이용한 연구를 위한 이론적 토대를 마련하기 위함이다.

흡수성 재료 중 대표적인 것이 PGA와 polylactic acid (PLA)이며 이들을 이용한 다양한 형태의 제품들이 골고정에 사용된다.<sup>13</sup> 이 중 PGA는 1930년대 William에 의해 합성된 물질로서 glycolic acid 단분자(monomer)로부터 만들어진 중합체(polymer)이며 여러 형태로의 변형이 가능한 특징이 있다.<sup>14</sup> 한편 골의 성장에 필수적인 미량 무기질 영양원을 골절부에 지속적으로 공급하는 것은 골절부의 치유에 중요하다.<sup>7,8</sup>

저자는 이 두 가지의 혼합물을 박막형태로 가공한 후 골절부에 적용함으로써 골고정 효과뿐만 아니라 국소적이고 지속적인 영양원을 공급할 수 있을 것이라는 가설을 세웠다. 일반적으로 골절의 치유를 유도하기 위해서는 골절부의 고정과 적절한 골성장을 유도하는 것이 중요하다. 골절부의 고정에 사용되는 PGA에 이상적인 필수 미량 무기질 영양원의 조합이라 할 수 있는 우태아 혈청의 혼합물을 박막형태로 만들어 골절부에 적용하는 방법은 PGA가 흡수되는 동안 지속적인 영양원의 공급이 가능하여, 조골세포의 성장을 촉진하여 골형성을 효과적으로 증대하는 것을 실험실 연구를 통해 확인한 바 있다.<sup>4</sup>

육안적 관찰에서 1주 후와 2주 후 관찰결과는 1군과 3군에서 2군에 비하여 골결손 주위로부터 골조직이 잘 형성되는 것이 관찰되었으며 3주 후 관찰에서는 골형성이 거의 완성되어 육안적인 차이를 관찰하기 어려웠다. 이는 천공된 구멍의 크기가 8 mm로 상대적으로 작아서 골형성이 빨리 이루어져 서로 유사한 결과가 나타났으리라 생각된다. 기존 연구에서 가토의 두개골에서 임계 결손(critical defect)은 15 mm로 기술되어 있지만 이는 실험기간이 10주 이상이 된 것이었다.<sup>15</sup> 저자들이 8 mm의 골결손을 시행한 이유는 먼저 본 실험에서 가토의 두개골 크기를 고려할 때 그 이상의 결손은 불가능하였으며, 또한 실험이 3주간 진행되어 임계 결손의 크기에 있어 실험방법 상의 문제는 없는 것으로 사료된다. 방사선학적 검사로 컴퓨터단층촬영을 통해 hounsfield unit를 측정하여 골화 정도를 수치화한 검사에서 2주와 3주째 결과에서 PGA와 우태아 혈청 혼합물을 이식한 1군에서 가장 수치가 높게 측정되었으며 그 다음으로 대조군, 마지막으로 PGA만을 삽입한 군에서는 수치가 가장 낮은 것으로 나타났다. PGA군이 다른군에 비해 수치가 낮은 이유는 이물질 반응이나 결손 부위 공간의 차이로 인해 골형성이 늦어진 결과로 생각된다. 조직학적 연구에서는 1주 후의 결과에서는 모든 군에서 골결손 부위의 가장자리로부터 골아세포가 생성됨을 관찰할 수 있으며 각 군 간의 특이점은 발견할 수 없었다. 실험 3주 후 결과에서 모든 군에서 미성숙 골조직(immature bone tissue)을 관찰할 수 있었으며, 1군에서 골형성 발현이 좀 더 증가했음을 지방속질(fat marrow)의 증가와 골아세포 및 간기둥(trabecula)가 풍부하게 형성된 것을 통해 확인할 수 있었다. 골형성 과정에서 alkaline phosphatase activity(ALP)의 증가는 골세포 활성의 증가와 밀접히 관련되어 있으며, 골조직의 특이적인 단백질로 대표적으로 osteopontin, osteocalcin이 있다. 골조직이 형성되었다면 골세포의 성장에 따라 당연히 osteopontin, osteocalcin 등의 단백질이 생성될 것이다. 생화학적 분석을 시행한 결과에서 PGA + FBS군에서 ALP의 활성화도 및 osteopontin이 통계적으로 유의하게( $p < 0.01$ ) 발현이 증가하였으며, 이를 통해 PGA와 우태아 혈청의 혼합물이 골조직 형성에 더 유리함을 알 수 있었다.

이상에서 관찰한 바와 같이 가토 실험에서 PGA와 우태아 혈청의 혼합물이 골형성에 유리한 영향을 미칠 수 있음을 확인할 수 있었다. 하지만 본 연구에서 오랜 기간의 추적관찰이 이루어지지 못했으며, 골 결손 부위에 인공적으로 합성된 물질을 삽입함으로써 조직검사 결과 상 골생성 반응 외에 이물질 반응이 생긴 것에 대한 연구가 좀 더 필요하다 할 수 있다. 또한 이를 인체에 사용하기까지는 면역학적 문제, 추적관찰 기간 등에 대한 좀 더 많은 연구

가 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

최근 골고정 재료로서 흡수성 재료가 각광을 받고 있으며, 흡수성 재료에서 PGA는 원하는 형태로 제조가 용이하고 용해되는 시간을 조절할 수 있으며, 성장인자들의 방출을 조절할 수 있다는 점에서 향후 골형성 유도 물질로서 사용 가능성이 높다. 또한 세포배양 시 사용하는 우태아혈청은 단백질, 지방, 호르몬, 성장 인자 등의 유기물과 미량의 무기질이 혼합된 형태로 그 조성은 세포의 성장에 이상적인 것으로 알려져 있다. 저자는 이러한 흡수성 고정 재료에 골조직의 형성을 위해 여러 단백질과 성장인자들이 함유되어 있는 우태아 혈청을 혼합한 후 가토에 이식하여 이 혼합물이 골세포증식에 효과가 있음을 확인하였다. 기존의 흡수성 판막 고정에 골 성장인자를 추가하여 사용함으로써 향후 골결부의 골생성에 보다 나은 효과가 있을 것으로 사료된다.

## REFERENCES

1. Tija JS, Moghe PV: Analysis of 3-D microstructure of porous poly (lactide-glycolide) matrices using confocal microscopy. *J Biomed Mater Res* 43: 291, 1998
2. Saito N, Okada T, Horiuchi H, Murakami N, Takahashi J, Nawata M, Ota H, Miyamoto S, Nozaki K, Takaoka K: Biodegradable poly-D, L-lactic acid-polyethylene glycol block copolymers as a BMP delivery system for inducing bone. *J Bone Joint Surg Am* 83: S92, 2001
3. Nacamuli RP, Wan DC, Lenton KA, Longaker MT: New developments in pediatric plastic surgery research. *Clin Plast Surg* 32: 123, 2005
4. Choi JW, Kim YH, Moon YM, Kim YJ, Choi SY: *The effects of mixture of the fetal bovine serum and poly-glycolic acid in growth of human osteoblasts in vitro*. Proceedings of the 59th congress of the Korean society of plastic and reconstructive surgeons. Seoul, Korea; Nov 11, 2005
5. Nelson JF, Stanford HG, Cutright DE: Evaluation and comparisons of biodegradable substances as osteogenic agents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 43: 836, 1977
6. Huttmacher D, Hurrzeler MB, Schliephake H: A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. *Int J Oral Maxillofac Implants* 11: 667, 1996
7. al Ruhaimi KA: Effect of adding resorbable calcium sulfate to grafting materials on early bone regeneration in osseous defects in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 15: 859, 2000
8. Kim GR, Cho BC, Yang JD, Lee DG, Chung HY, Park JW, Kim IS, Park NW, Jang KH, Jang HS, Kwon IC, Roh KH, Lee DS: Effect of injectable chitosan bead encapsulating calcium sulfate on bony consolidation in distraction osteogenesis. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 31: 390, 2004
9. Huang MH, Li S, Vert M: Synthesis and degradation of PLA-PCL-PLA triblock copolymer prepared by successive polymerization of  $\epsilon$ -caprolactone and DL-lactide. *Polymer* 45: 8675, 2004
10. Takata T, Wang HL, Miyauchi M: Attachment, proliferation and differentiation of periodontal ligament cells on various guided tissue regeneration membranes. *J Periodontal Res* 36: 322, 2001
11. Nijweide PJ, Burger EH: *Mechanisms of bone formation in vitro*. In *The Osteoblast* (Ed. B.K. Hall): Bone. Caldwell, New Jersey, Telford Press, 1990, p 303
12. McAlinden MG, Wilson DJ: Comparison of cancellous bone-derived cell proliferation in autologous human and fetal bovine serum. *Cell Transplant* 9: 445, 2000
13. Eppley BL, Reilly M: Degradation characteristics of PLLA-PGA bone fixation devices. *J Craniofac Surg* 8: 116, 1997
14. Long CM, Conley SF, Kajdacsy-Balla A, Kerschner JE: Laryngotracheal reconstruction in canines: fixation of autologous costochondral grafts using polylactic and polyglycolic acid miniplates. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 127: 570, 2001
15. Bouletreau PJ, Warren SM, Paccione MF, Spector JA, McCarthy JG, Longaker MT: Transport distraction osteogenesis; a new method to heal adult calvarial defects. *Plast Reconstr Surg* 109: 1074, 2002