

개에서 Poly-L-lactic-acid 이식물의 생분해성과 생체적합성에 관한 연구

박보영 · 김영기 · 박종윤* · 박종만** · 고필옥 · 장홍희 · 이희천 · 이효종 · 연성찬¹

경상대학교 수의과대학 동물의학연구소, *경상대학교 의과대학,
**경상대학교 공과대학

(제재승인: 2007년 6월 12일)

Study of Bio-absorbability and Bio-compatibility of Poly-L-lactic-acid Implant in Dogs

Po Young Park, Young Ki Kim, Jong Yoon Bahk*, Joung Man Park**, Phil Ok Koh, Hong Hee Chang
Hee Chun Lee, Hyo Jong Lee and Seong Chan Yeon¹

Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju, 660-701, Korea

*Department of Urology, Gyeongsang National University Medical School, Jinju, 660-701, Korea

**School of Materials Science & Engineering, Gyeongsang National University, Jinju, 660-701, Korea

Abstracts : Bioabsorbable devices have been utilized and experimented in many aspects of orthopaedic surgery. Depending upon their constituent polymers, these materials can be tailored to provide sufficient rigidity to allow bone healing, retain mechanical strength for certain period of time, and then eventually begin to undergo degradation. The objective of this study was to estimate extent in which Poly-L-lactic acid (PLLA) implants had bioabsorbability and biocompatibility with bone and soft tissue in dogs and also to develop bioabsorbable, biocompatible materials with the appropriate strength and degradation characteristics to allow for regular clinical use for treating orthopedic problems in humans as well as animals. Eighteen dogs were used as experimental animals and were inserted two types of PLLA implants. PLLA rods were inserted into subcutaneous tissue of back or the abdomen wall. And the rods were tested for material properties including viscosity, molecular weight, melting point, melting temperature, crystallinity, flexural strength, and flexural modulus over time. PLLA screws were inserted through cortical bone into bone marrow in the femur of the dogs and stainless steel screw was inserted in the same femur. Radiographs were taken after surgery to observe locations of screw. Histological variations including cortical bone response, muscular response, bone marrow response were analyzed over the time for 62weeks. The physical properties of PLLA rods had delicate balances between mechanical, thermal and viscoelastic factors. PLLA screws did not induce any harmful effects and clinical complications on bone and soft tissue for degradation period. These results suggest that PLLA implants could be suitable for clinical use.

Key words : PLLA implant, bio-absorbility, bio-compatibility.

서 론

골절의 고정, 골의 대체, 연골의 손상복구, 반월판의 복구, 인대의 고정, 약물의 전달 등에 있어서 다양한 생분해성 장치들이 임상적으로 적용되어 왔다(2). 생분해성 장치는 스크류, 펀, 플러그, 플레이트, 로드 등의 형태로 사용되고 있으며, 이 장치들은 임상적으로 적용되었을 때 그 적용대상이 생체라는 특수성 때문에 치유기간 동안 조직의 강도에 맞는 점성과 탄성으로 적당한 강도와 형태를 유지하고 일정기간 후에는 완전히 분해되어 흡수될 수 있어야 한다. 또한 생체 내에

장착되어 있는 동안 생체에 위해한 반응을 일으키지 않는 생체적합성도 가져야 한다. 이외에도 저독성, 멸균성, 가공성, 강도상실의 조절성 등과 같은 요구조건을 만족시켜야 한다.

현재까지 임상적으로 생체에 적용할 최적의 조건을 가진 생분해성 장치들을 개발하고 테스트하기 위하여 많은 연구들이 행하여져 왔다(1,2,10,11,14,17,18,23,26,30,32,33,35,37).

Poly-L-lactic acid(PLLA)는 생분해성 물질 중의 하나로 생체 내에서 가수분해 되어 짓산으로 바뀌고 다시 피루브산으로 된 후 TCA cycle을 통해 이산화탄소와 물로 분해된다. 이 메카니즘으로부터 착안하여 2004년 David 등(8)은 이식물 제작 시 osteoconductive buffer를 중합체에 첨가하여 PLLA의 가수분해결과로 산이 형성되는 것을 조절하여 polylactide 스크류에서 재흡수시간이 증가되게 하였다. PLLA의 물성적

¹Corresponding author.
E-mail : scyeon@gnu.ac.kr

특징은 비결정 상태에서 투명하고 용융점은 약 180, 인장강도는 40-60 MPa이며, 3-4% 신장 시에 파쇄골절(brittle fracture)이 발생되며 열적으로 불안정하다. 이러한 불안정성은 E-O 가스 멸균동안 결정화도(crystallinity)에 변화를 일으켜 형태를 유지할 수 없으며, 임상적용에 문제를 발생시켰다. 2001년 Choi 등(3)은 Poly ethylene glycol과 PLLA의 중합체로 제작된 기구는 최초결정화도가 증가하여 E-O gas 멸균동안 형태를 유지한다고 보고하였다.

최근에는 PLLA에 기초를 두고 PLLA의 생분해성을 적절히 살리고 물성적 특징을 보완하여 개발된 다양한 중합체들에 관한 다수의 연구보고들이 있다(1,11,12,13,15,16,26,30,34,35,37). 또한, 같은 생분해성 물질에서 기구의 제작방법이나 형태에 차이를 두어 비교 분석한 보고도 있다(13,23,38). 2000년 An 등(2)은 토끼에서 생체흡수적인 물질의 평가에 있어 크게 세 가지로 나누어 생체흡수성물질의 기본적 특성, 생체적합성(biocompatibility), 임상실험적인 적용면에서 평가하는 방법을 연구하였다.

이 연구는 국산화를 위한 PLLA장치가 개의 골조직과 피하조직에서 가지는 생분해성과 생체적합성의 정도를 관찰하고 임상적인 적용을 평가하기 위하여, 적당한 강도와 생분해성 및 생체적합성을 가진 고상압출법으로 제작한 스크류와 로드형태의 PLLA장치를 사용하여 시간의 경과에 따른 골의 회복정도와 PLLA장치의 생체내흡수성 및 생체적합성을 관찰하였고 이를 통하여 동물에서 뿐만이 아니라 사람에서도 안전하고 효과적으로 임상에 적용하며 기존의 임상적 문제점을 해결하는데 도움이 되는 물질 및 성형방법에 대한 기초자료를 얻고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험견은 18마리였으며, 모두 집종견이었다. 이 중 수컷은 12마리, 암컷은 6마리였고, 평균 체중은 3.46 ± 0.5 kg이었다. 실험견들은 혈액검사를 포함한 신체검사를 실시한 후 건강한 상태에서 실험에 사용하였다.

2. 실험재료

고상압출법으로 제작한 PLLA 로드와 PLLA 스크류를 사용하였다. PLLA 로드의 중량 평균 분자량은 350,000 Mw이고 지름 3.46 mm의 원기둥 모양이었다. PLLA 스크류의 중량 평균분자량은 217,000 Mw이고 지름 3.5 mm 이었다. PLLA 스크류와의 비교를 위하여 스테인레스틸 스크류가 사용되었다(Fig 1).

3. 실험재료의 이식

실험견을 24시간 절식시킨 후, atropine sulfate(0.02 mg/kg)를 근육 내 투여하고 10분 경과 후 acepromazine(0.5 mg/kg)을 근육 내 투여하여 전마취하였다. 10분 경과 후 ketamine hydrochloride(10 mg/kg)을 정맥주사하여 전신마취 시킨 다음 무균수술을 위한 준비를 실시하였다. 등쪽 피부와 배쪽 피부를 1-2 cm 정도 절개하여 피하에 3-4개의 PLLA 로드를 삽입한 후 절개창을 봉합하였다(Fig 2).

같은 실험견에서, 실험견의 대퇴부를 15 cm 가량 절개하여 노출된 대퇴골의 중앙부에 에어 드릴을 이용하여 직경 약 2.5 mm 크기로 세 개의 구멍을 뚫었다. 상부에는 스테인레스

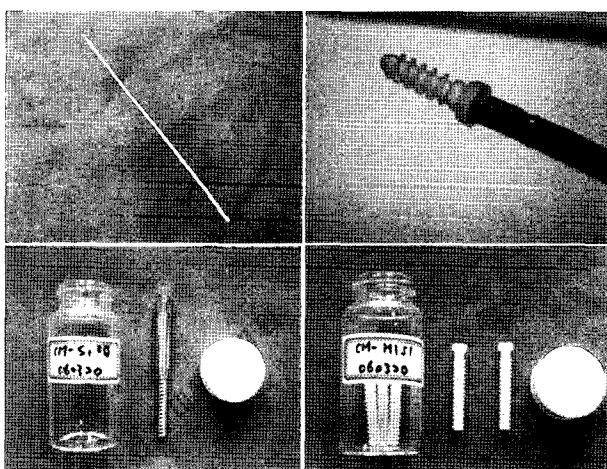


Fig 1. PLLA rod and screws.

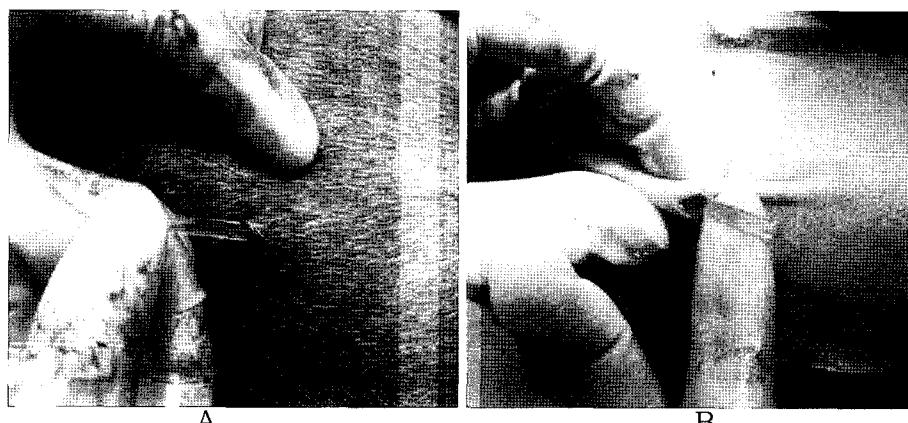


Fig 2. Insertion of PLLA rod into subcutaneous tissue of the dogs. (A: back, B: abdomen)

스틸 스크류를 고정시키고, 하부에는 준비된 PLLA 스크류를 고정시켰다. 시술 후에는 스크류의 위치를 확인하기 위하여 방사선학적 검사를 실시하였다(Fig 3-5).

수술 종료 후 cefazolin sodium(20 mg/kg)과 butorphanol tartrate(0.1 mg/kg)을 1일 1회 각각 근육주사 하였다.

4. 물성의 변화 조사

실험견의 피하에 이식된 PLLA 로드의 시간의 경과에 따른 물성의 변화를 조사하였다. 실험결과는 2~4주 간격으로 62주까지 관찰하였다.

4.1. 점도(η)

점도는 유체의 끈끈한 정도를 나타내는 물리적 단위이다. 전단응력(shear stress)과 전단율(shear rate)의 비율로 표현되며 외부에서 가해지는 힘에 저항하는 정도를 말한다. 점도는 온도가 올라갈수록 낮아지는 것이 일반적이다. 점도는 유체 점성의 크기를 나타내는 물질 고유의 상수이며, 고분자화합물의 경우 분자량이 증가할수록 점도가 증가한다. PLLA를 클로로포름에 0.1 g/dL의 농도로 녹여 25에서 상대점도를 측정하고 고유점도를 계산하였다.

4.2. 분자량(M_v)

분자량은 분자의 질량을 나타내는 양으로 분자를 구성하는

원자의 원자량의 총합으로 나타낸다. 분자량이 큰 고분자화합물에서는 평균분자량으로 나타낸다. 717 auto sampler를 갖춘 150-C GPC(Waters, USA)를 이용하여 분자량을 측정하였다.

4.3. 결정화도(%)

액체를 구성하는 많은 종류의 원소가 선택적으로 몇 종류가 집합하여 결정상태를 형성하는 일을 결정화라고 한다. 결



Fig 3. Femur was exposed for inserting PLLA screws.



Fig 4. PLLA screws were inserted through the cortical bone into the bone marrow in the femur of the dogs

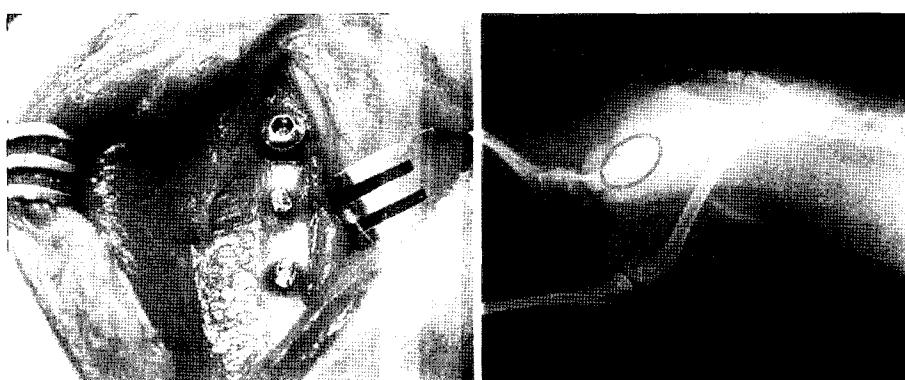


Fig 5. PLLA screws and stainless screws (A) were inserted, and postoperative radiographs (B) of lateral view.

정화도는 결정성고분자 고체 전체에 대한 결정 부분의 무게 분율이며, 고분자의 종류나 구조, 외력, 냉각속도, 결정화온도, 용해온도 및 시간 등의 물리적 조건에 따라 다르다. TA5000, DS2910 SYS(Ta Instruments, USA)를 사용하여 PLLA의 유리전이온도(T_g), 용점(T_m), 냉결정화 온도, 냉결정화 및 용융 엔탈피 값을 측정하였고, PLLA 완전 결정의 용융 엔탈피 값을(93.1 J/g)과 비교하여 결정화도를 구하였다.

용점(T_m)

녹는 물질이 순수한 물질이라면 그 물질이 녹는 동안 가열하여도 온도가 일정하게 유지되는 일정온도구간이 나타나며 이때 용점은 고체와 액체가 공존할 때의 온도를 말한다. 용점은 그 수지가 가지는 가공 가능온도와 내열성, 상온에서의 물성등을 예측할 수 있도록 하는데, 용점이 높은 수지는 강도가 우수하고, 용점이 존재하지 않는 비결정성 플라스틱은 유연성이 우수하다. 물질마다 녹는점은 모두 다르므로 그 물질만이 가지는 고유한 성질이 된다. 불순물이 함유되어 있거나 압력이 변하면 녹는점도 달라진다. TA5000, DS2910 SYS(Ta Instruments, USA)를 사용하여 측정하였다.

용융열(H_f)

온도를 바꾸지 않은 상태에서 1 g의 고체를 용해하여 액체로 바꾸는데 소요되는 열에너지를 용융열(용해열)이라고 한다. 물질의 분자사이의 인력이 강할수록 더 많은 용해열이 필요하므로 녹는점도 높아진다. 용융지수가 높은 것은 사출성형성이 우수하다는 의미이며, 압출을 위해서는 어느 정도 낮은 용융수지가 필요하다. 만약 용융수지가 어느 수준까지 낮지 않으면 압출시 압출물이 형태를 유지하는 용융강도가 부족해 제품을 압출하기 어려워 압출에서 매우 중요한 가공성의 인자로 사용되고 있다. TA5000, DS2910 SYS(Ta Instruments, USA)를 사용하여 측정하였다.

4.4. 굴곡시험

굴곡강도(MPa)

일정한 속도로 시편을 누르는 경우 시편으로부터 발생되는 최대의 강도를 말한다. 굴곡강도는 시료를 휘게하는 굴곡력을 적용함에 있어서 부하가 더 이상 증가하지 않는 최대 값을 말한다. 굴곡강도가 클수록 재료가 단단하고 경도가 높다고 할 수 있다. Universal Testing Machine 4201(Instron, USA)을 사용하여 ASTM D790 방법에 따라 3-point flexural

test method를 사용하여 Cross-head speed 1mm/min으로 측정하였다.

굴곡탄성계수(GPa)

시편의 중앙에 상부로부터 힘을 가하는 값을 시편에 생기는 변형으로 나눈 값으로 굴곡탄성율이 클수록 강성(stiffness)^o 높아지며 낮을수록 유연(flexible)하다. 굴곡탄성율은 굴곡력 load 커브상에서 초기 직선구간의 기울기를 가지고 계산해낸 값을 의미한다. 즉, 외부로부터 힘을 받아 구부러진 물체가 그 힘이 없어지면 다시 본래의 모양으로 되돌아가려하는 정도를 비율로 나타낸 것이다. Universal Testing Machine 4201(Instron, USA)을 사용하여 ASTM D790 방법에 따라 3-point flexural test method를 사용하여 Cross-head speed 1mm/min으로 측정하였다.

5. 조직학적 검사

시술 후 2, 4, 10, 21, 40, 62주에 각각 조직학적 검사를 실시하였다. 실험견을 안락사 시킨 후 대퇴부에 3개의 스크류가 삽입되어 있는 구멍의 상하 약 1.5 cm 부위를 절단하였다. 절단한 뼈는 포르말린 용액에 48시간 고정시켜 PBS에 2번 세척하고 탈회용액에 넣어 48시간 용해시킨 다음 다시 PBS로 2회 세척하고 완전 건조하여, 파라핀블록을 제작하였다. Microtome을 이용하여 절편을 만들어 HE 염색한 후 현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 물성의 변화

실험견의 피하에 삽입한 PLLA 로드에서 시간의 흐름에 따라 점도(η), 분자량(M_v), 용점(T_m), 용융열(H_f), 결정화도(%), 굴곡강도(MPa), 굴곡탄성계수(GPa)를 측정하여, 측정값을 정리하였다(Table 1). 이 중 분자량(molecular weight), 굴곡강도(flexural strength), 결정화도(crystallinity)의 변화는 그래프로 나타내었다(Fig 6, 7, 8).

점도, 분자량, 용점, 용융열은 시간이 경과함에 따라 감소하는 양상을 보였다. 분자량은 초반부터 급격히 감소하였지만, 기계적물성인 굴곡강도는 16~20주까지 초기값의 90% 정도의 값을 유지하다가 20주 이후부터 크게 감소하여 62주에

Table 1. Physical properties of PLLA rod inserted in hypodermal

Weeks	n	Diameter mm	Viscosity [η]	Molecular weight M_v	Melting point T_m	Melting temperature ΔH	Crystallinity %	Flexural strength MPa	Flexural modulus GPa
0	4	3.46	4.36	350,000	186	50.7	54	263	6.8
4	6	3.44	2.70	180,000	187	56.6	61	248	6.1
8	6	3.47	2.47	160,000	186	60.3	65	245	6.5
12	4	3.46	1.99	120,000	185	66.7	72	239	6.6
20	4	3.45	1.26	63,000	186	61.9	67	210	6.4
39	2	3.41	0.51	16,000	174	64	69	57	4.8
62	3	3.40	0.19	4,000	174	62.7	67	0	0

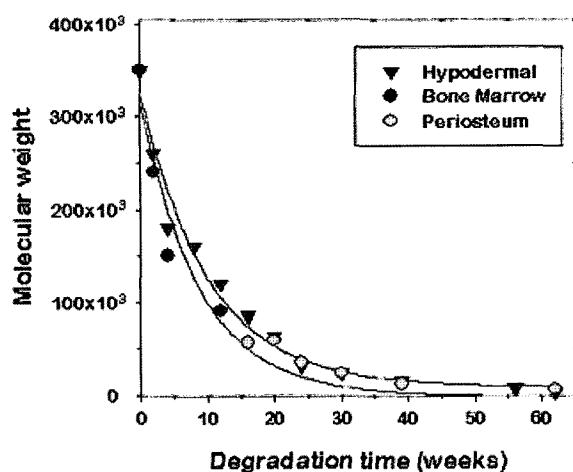


Fig. 6. Change of Molecular weight of PLLA rod inserted in suncutaneous, bone marrow and periosteum as time progresses.

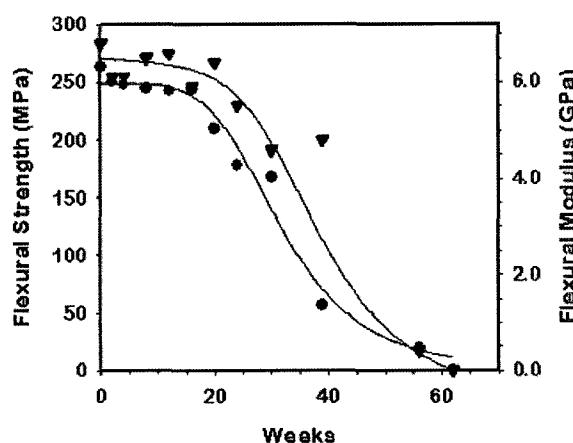


Fig. 7. Change of Flexural strength of PLLA rod inserted in hypodermal as time progresses.

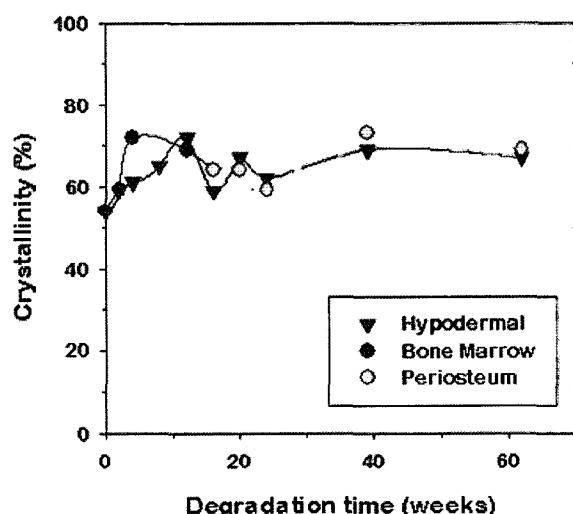


Fig. 8. Change of crystallinity of PLLA rod inserted in hypodermal, bone marrow and periosteum as time progresses.

는 그 값이 0을 기록하였다. 결정화도는 12주까지는 증가하다가 16주에 감소하고 다시 20주에 증가하였다가 이후 56주에 감소하고 62주에는 다시 증가하는 등 증감을 거듭하였으나 초기값과 비교하여 큰 차이를 보이지 않았다. 굴곡탄성계수는 20주까지는 초기값의 90%를 유지하다가 24주 이후부터 조금씩 감소하여 56주에 급격한 감소를 보이면서 62주에 이르러 그 값이 0이 되었다. PLLA 로드의 직경에는 변화가 거의 없었다(Table 1).

시간이 경과함에 따라 분자량, 굴곡강도, 굴곡탄성계수가 감소하였는데, 분자량은 처음부터 급격하게 감소하는 하향곡선을 보였지만(Fig 6), 굴곡강도는 16주차까지는 초기값과 큰 차이 없이 유지되다가 20주 이후로 급격하게 감소하였다(Fig 7). 또한 굴곡탄성계수도 굴곡강도의 감소에 따라 비슷한 양상의 하향곡선을 그리고 있지만 굴곡강도보다 완만한 감소곡선을 보였다(Fig 7). 결정화도는 시간의 경과에 따라 소폭

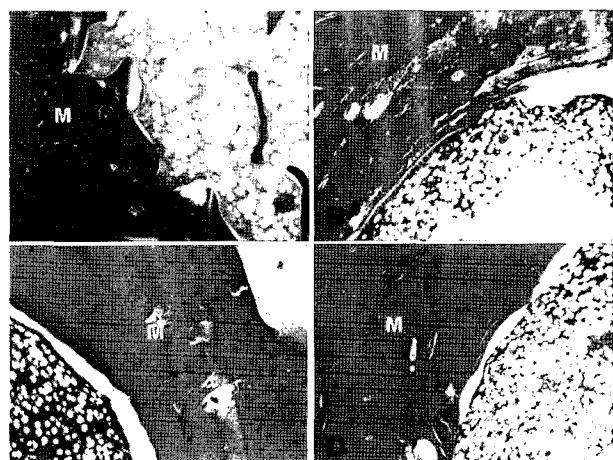


Fig. 9. Histological findings at 2 (A), 6 (B), 10 (C), and 24 (D) weeks in control groups. M indicates bone matrix and arrow shows bone trabecula. (H-E stain, $\times 40$)

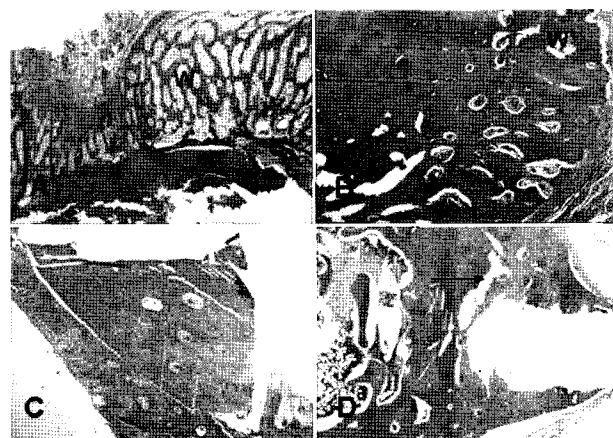


Fig. 10. Histological findings at 2 (A), 6 (B), 10 (C), and 24 (D) weeks in periosteum regions in PLLA screw implanted groups. W indicates woven (new) bone and arrow shows screw scraps. (H-E stain, $\times 40$)

증가하거나 초기값과 거의 유사한 값을 보이는 것으로 나타났다(Fig 8).

2. 조직학적 변화

실험견의 대퇴골에 삽입한 PLLA 스크류에서 시간의 흐름에 따른 피질골 반응, 골수반응, 근육반응을 조직사진으로 나타내었다(Fig 9, 10, 11, 12).

스테인리스 스크류를 삽입한 부분의 조직에서는 2, 6, 10, 24주 모두 정상적인 골기질과 골육주가 관찰되었다(Fig 9).

2.1. 피질골반응

2주: 골막주위의 조직반응에서 시술 2주 후 골막 주위 조직에 현저한 골막주위 골형성(periosteal bone formation)⁹⁾ 관찰되었다.

6주: 6주 후에는 골막에서 유도되어 형성된 불완전한 형태의 새로운 뼈(woven bone)가 단단한 피질의 뼈로 재구성이 진행되고 있었다.

10주: 10주 후에는 재구성이 더욱 진행되고 있음이 관찰되었다. 주변부의 스크류 조각들은 거대세포에 의해 탐식되고 있으나, 염증세포는 관찰되지 않았다.

24주: 24주 후에는 주변부의 스크류 조각들 주위에서 거대세포에 의한 탐식작용이 일어나고 있었으며, 정상 골조직의 피질골과 거의 유사하게 재구성되었다(Fig 10).

40주: 40주 후 주변 골조직은 재구성이 더욱 진행되어 거의 정상 골조직에 가까우며, 주변부에는 더 잘게 분해된 스크류 조각들이 남아있고 거대세포가 밀집된 상태로 침윤되어 있는 것을 관찰할 수 있었다. 60주 후 주변 골조직은 완전히 복구되었으며 스크류가 있었던 부분은 빈공간이 되었으나, 주변부에는 여전히 거대세포가 존재하고 있었다.

2.2. 골수반응

2주: 골수중심부 스크류는 2주후에도 거의 변화가 없으며, 주변부에 스크류의 부스러기가 일부 관찰되었는데, 이 부스러기를 대식세포가 탐식하고 있는 모습이었다.

6주: 6주 후 골수에서도 중심부의 스크류는 주목할 만한 변화가 없었고 주변부의 비교적 커다란 스크류 조각들 (스크류의 나선형 부분에 해당되는 조각으로 생각됨)이 탐식구에 의해 둘러싸여 있고, 다수의 염증세포들이 몰려 있음이 관찰되었다. 이들 세포는 대개 탐식구, 거대탐식구, 호중구로 이루어져 있으며, 이는 스크류 조각들을 이물질로 취급하여 탐식하기 위해 몰려든 것으로 판단된다.

10주: 10주 후 골수내 스크류의 중심부는 여전히 남아 있었다. 반면 스크류 조각의 주변부에서 호중구나 탐식구와 같은 염증세포는 거의 관찰되지 않고 정상에 가까운 골수로 변해가고 있음이 관찰되었다.

24주: 24주 후 골수의 스크류 중심부는 여전히 육안상(파라핀 블록상) 전재하며, 일부 주변부에서 골육주가 관찰되었으나, 거의 정상적인 골수처럼 보여졌다(Fig 11).

40주: 40주 후부터는 스크류를 삽입하였던 주변조직이 거의 정상 골조직에 가깝게 복구되었고, 골수의 스크류 중심부는 대부분 분해되어 빈공간이 된 곳도 관찰되었다.

60주: 60주 후 스크류가 있었던 주변조직은 완전히 정상적인 골조직의 양상을 보이며 스크류가 있었던 곳은 빈공간이 되었고 이물질은 발견되지 않았다.

2.3. 근육반응

근육부위에서는 20주에 다수의 대식세포가 관찰되었으며, PLLA 조각을 탐식하고 있는 대식세포의 침윤이 관찰되었고, 탐식작용을 하고 있는 대식세포는 40주 후에도 관찰되었다. 60주 후에도 PLLA 조각은 여전히 관찰되었다(Fig 12).

고 찰

이 연구에서는 개에서 PLLA 이식물을 피하와 골피질 부위에서 골수강내로 스크류를 삽입한 후 시간의 경과에 따른

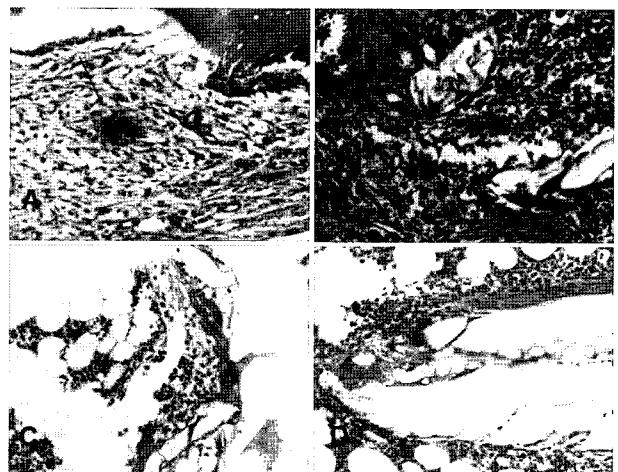


Fig 11. Histological findings at 2 (A), 6 (B), 10 (C), and 24 (D) weeks in bone marrow regions in PLLA rod implanted groups. Arrows indicate megakaryocyte and arrowheads show screw scraps (H-E stain, $\times 200$).

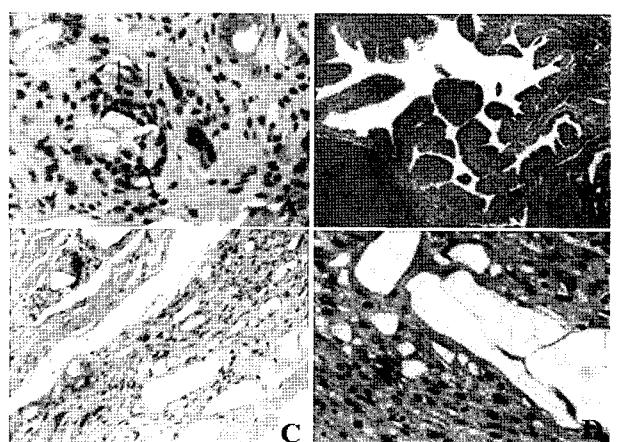


Fig 12. Histological findings at 20 (A and B), 40 (C), and 60 (D) weeks in muscular regions in PPLA screw implanted groups. Arrows indicate macrophages. Many infiltrated macrophage showed phagocytized PLLA particles (H-E stain, A, C, D, $\times 400$; B, $\times 100$).

변화를 관찰하였다. 로드형태의 PLLA 장치는 피하에 삽입하였고, 스크류 형태의 PLLA장치는 골표면에서 골수강내로 삽입하였다. 이 실험에서 로드형태의 장치는 물성의 변화에 중점을 두어 관찰하였고, 스크류형태의 장치는 조직학적인 변화에 중점을 두고 관찰하였다. 그 외에 추가적인 실험으로 PLLA 로드를 골수강내에 IM 펈 형태로 삽입하여 12주까지 관찰하였으며, 골막에 부착시켜서 16주에서 62주까지 조직의 변화와 물성의 변화를 관찰하였다. 고상압출법으로 제작한 국산 PLLA소재의 장치가 임상적으로 적용하기에 생분해성과 생체적합성적인 면에서 적합한가를 판단하는데 이 연구의 목적이 있다.

피하에 삽입된 로드형태의 PLLA장치는 시간의 경과에 따라 서서히 분해되어 분자량과 점도, 융점, 강도, 굴곡탄성계수는 감소하였고, 용융열과 결정화도는 증가하였다. 추가로 행해진 골막, 골수강내 이식실험에서도 수치는 다르지만 비슷한 변화의 양상을 보였다. 시간이 경과함에 따라 분자량은 처음부터 급격하게 감소하는 하향곡선을 보였지만, 굴곡강도는 16주차까지는 초기값과 큰 차이 없이 유지되다가 20주 이후로 급격하게 감소하였다. 또한 굴곡탄성계수(Modulus)도 굴곡강도의 감소에 따라 비슷한 양상의 하향곡선을 그리고 있지만 굴곡강도보다 완만한 감소곡선을 보였다. 이런 경향을 보이는 이유는 PLLA 로드를 피하에 삽입하면 가수분해에 의해 고분자의 분자쇄가 절단되어 분자량 감소는 초기부터 심해지지만, 분자쇄가 절단되었더라도 연신 및 결정화에 따른 배향상태는 거의 그대로 유지되기 때문에 굴곡강도는 완만하게 감소하는 것으로 추정할 수 있다. 이는 시간이 경과함에 따라 결정화도가 소폭 증가하거나 초기값과 거의 유사한 값을 갖는 점에서도 확인 가능하다. 또한 시간 경과에 따라 PLLA 로드의 직경변화가 거의 없기 때문에 이식기간 동안 치수변화에 따른 외부조직에의 스트레스는 거의 없을 것으로 추정된다. 따라서 이 실험 결과는 기존의 연구결과(1,17,18,19,21,22,23,25,26,31,33,35,37,38)와 일치되는 것으로 판단된다.

PLLA는 체내에 존재하는 결산의 중합체로서 지방족 폴리에스터의 하나이다. PLLA등 생분해성 고분자 소재의 강도가 낮은 문제점은 고분자 소재 자체의 문제이기도 하지만 제조 방법상의 문제이기도 하다. 즉 일반적 고분자 성형법인 압출, 사출성형, 압축성형등의 용융가공은(melt processing) 필연적으로 가공 도중에 상당한 양의 분자쇄 절단이 발생되어 분자량 감소가 나타나 최종적인 강도가 저하 될 수 있다. 이러한 가공상의 문제점은 재료적 측면으로는 고분자량의 고분자 합성, 고분자 내부에 존재하는 촉매, 단량체 및 불순물의 제거와 말단기의 blocking 과정 등의 후처리 공정을 통하여 재료의 열적안정성을 개선할 수 있는데 이를 개선하기 위하여 많은 연구가 행하여져 왔다(3,7,8,23,38). 재료의 열안정성은 열분해를 일으킬 수 있는 요인을 제거함으로써 가능하는데, 열분해를 적게 하는 방법으로 배향을 수반하는 저온가공법이 있으며 그 대표적인 방법으로 유압압출법(hydrostatic extrusion)(23,38), 고상압출법(solid-state extrusion)(1,38), 다

이 연신(die drawing)(19) 및 자가강화(self-reinforcing) 방법(34,11,12,17,18,21,22,23,32,35,37) 등이 있다. 이 실험에서는 고상압출법으로 제작된 이식물을 사용하였으며 이 방법은 융점 이하의 온도에서 가공함으로써 분자량 감소를 줄일 수 있고 용융가공에 비해 분자쇄 절단을 현저히 감소시킬 수가 있어 강도 저하도 줄일 수 있는 것으로 본 실험결과 나타났다.

2001년 Rubel 등(25)은 소의 대퇴골에 SR-PLLA 펈과 Kirschner 와이어를 삽입한 후 두 가지 타입의 펈을 제거하는데 요구되는 인장강도(pullout strength)를 비교하여 SR-PLLA에서 더 좋은 결과를 얻었으며, 2002년 Norström 등(22)은 랫트에서 양쪽 대퇴골에 절골술을 실시한 후 각각 SR-PLLA와 SR-PGA 펈으로 고정한 후 해면골의 역학적 강도를 비교한 결과 SR-PGA 이식물은 해면골의 복구에 SR-PLLA 이식물은 피질골의 실험적인 절골술의 고정에 더 유용하다고 보고하였다. 이 외에도 SR-PLLA의 분해성이나 물성을 분석한 보고서나(2,10,18) SR-PLLA를 다른 생분해성 물질과 비교 분석한 보고서(17,33,37), SR-PLLA 스크류의 제작방법을 달리하여 비교한 보고서(23)등에서 SR-PLLA가 임상적으로 적용하기에 바람직한 조건을 갖추고 있음을 밝혔기에 추후 본 실험에 적용된 고상압출법(solid-state extrusion)으로 제작된 PLLA 이식물과 비교분석하는 연구도 수행되어야 할 것으로 판단된다.

스크류 삽입 실험결과는 2, 6, 10, 24, 40, 60주에 각각 분석되었는데, 10주 까지도 스크류의 중심부가 분해되지 않고 남아있음을 알 수 있었다. 24주에도 스크류의 중심부는 완전히 분해되지 않았고, 남은 스크류의 조각들은 거대세포에 의해 활발하게 탐식되고 있는 것이 관찰되었다. 이는 골피질과 골수조직이 24주에 이르러 거의 정상적으로 복구되었다는 결과(35)와 연관지어 본다면, 골이 복구되는 기간 동안은 스크류가 남아있었고, 골의 복구가 완성되는 시점에 이르러서는 스크류의 분해정도가 더 커진다는 점과 일치한다(22,26,29,33). Kilicoglu 등(10)에 따르면, 양에서 PLLA 스크류로 전방십자인대(patellar tendon)를 고정한 결과 6주에 스크류와의 접촉면에 괴사성변화가 일어났다고 보고되었으나, 본 연구에서는 골조직의 괴사성변화를 관찰할 수 없었고 단지 염증세포가 다수 출현하였다. 2004년 Tuomo 등(35)은 골절을 생분해성 이식물로 고정한 부분이 헐거워져서 고정이 실패하거나 지연되는 경우를 보고하였는데, 1995년 Goh 등(5)은 골절의 고정이 실패하는 중요한 요인으로 골밀도를 높았고 골밀도가 증가할수록 고정강도(fixation strength)가 증가하므로 수술 후 보호적 장치를 이용하여 환자의 골밀도를 높이는 것을 고려하는 것이 바람직하다고 하였다. 본 실험에서는 그러한 경우가 발생하지 않았으나, 실제 임상적으로 적용전에 좀 더 광범위한 연구가 필요하리라 생각된다.

동물에서 PLLA소재의 이식물을 피하에 삽입하거나(35) 골절의 고정에 사용하여 민족할 만한 결과를 보였다는 다수의 보고들이 있으며(5,17,22,26,27,32), 사람에서 PLLA소재의 이식물을 다양한 방면에 적용하여 임상적으로 바람직한 결과를 얻었다는 보고들도 있다(12,20,28,29,31). 2002년 Maurer

등(20)은 PLLA 재흡수성 osteosynthesis 스크류를 bilateral sagittal split osteotomy의 고정에 사용하여 안정성을 시험하였으며 수술 후 저작력(chewing force)이 매우 안정적이었다고 보고하였다. 2001년 Stendel 등(31)은 Poly-70L/30D, L-lactide로 구성된 스크류를 신경외과 수술에서 골편(bone flap)을 고정하는데 사용하여 이식거부반응이 없는 유용한 결과를 얻었다. 2002년 Serlo 등(29)은 36세의 남성에서 외상 후 안면골 결손의 재건에 생체흡수성 압정(tack)과 플레이트를 사용하여 pariental bone split graft를 실시한 결과 1년 후 매우 성공적인 결과를 얻었다. 2001년 Laaksovirta 등(12)은 수술 후 전립선 부종에 의한뇨정체의 예방을 위해 개발된 self-reinforced lactic acid and glycolic acid copolymer(ratio 80:20) prostatic spiral stent의 팽창률과 생분해성을 조사한 결과 팽창속도와 팽창률이 stent를 제자리에 고정시키기에 충분하고 방광의 배출 폐쇄로 인하여 발생되는 부종을 예방해주며, 수술 후 2개월 이상 힘이 지속되어 이후에 야기 될 수 있는 손상을 예방하기에도 충분할 만큼 지속된다고 보고하였다.

그러나, 사람에서 임상적용 시 심각한 부작용이 있었음을 보고한 예도 있다. 2002년 Malhan 등은(16) beta tricalcium phosphate and poly L-lactide로 만든 생체흡수성 내부고정용 스크류를 사용하여 전방십자인대를 재건한 후 환자에게 급성 통증과 몸쪽 경골(poximal tibia)에 종창이 나타났으며, 3개월 후 완전히 회복된 후에도 12개월 후 경골 낭(tibial cyst)이 형성되어 제거해야하는 결과를 얻었다. 따라서 모든 임상적용에 있어서 보다 신중을 기할 필요가 있으며 더 많은 연구가 수행되어 생분해성 이식물의 안전성을 확보하여야 할 것으로 판단된다.

본 연구에서는 최고 60주까지의 소견을 관찰하였으나, 연구기간을 더욱 연장하여 조직학적 관찰을 계속한다면 더 많은 결과를 얻을 수 있을 것이라 판단된다. 본 연구를 통하여 동물실험으로 얻은 긍정적인 결과로 미루어 인체에 대하여 임상적으로 적용시에도 좋은 결과가 기대되며, 추후 국산 PLLA 소재의 이식물 제작방법과 적용범위, 적용대상, 적용기간에 대한 다양한 연구가 계속 진행되어져야 할 것으로 판단된다.

결 론

이 연구는 개에서 고상압출하여 제작한 PLLA 이식물을 장착한 후 시간의 경과에 따른 변화를 관찰하고자 수행되었다. 로드형태의 PLLA 장치는 피하에 삽입하였고, 스크류 형태의 PLLA장치는 골표면에서 골수강내로 삽입하였다. 로드 형태의 장치는 물성의 변화에 중점을 두었고, 스크류 형태의 장치는 조직학적인 변화에 중점을 두고 관찰하였다. 이를 통하여 고상압출법으로 제작한 PLLA소재의 장치가 생분해성과 생체적합성적인 면에서 임상적으로 적용하기에 적합한가를 판단하였다.

피하에 삽입한 로드형태의 PLLA장치는 시간의 경과에 따라 분자량은 처음부터 급격하게 감소하였고, 굴곡강도는 16주차까지는 초기값과 큰 차이 없이 유지되다가 20주 이후로

급격하게 감소하였으며, 또한 굴곡탄성계수는 굴곡강도의 감소에 따라 굴곡강도보다 완만하게 감소되었다. 이러한 사실로 미루어 PLLA 로드를 피하에 삽입하면 16주까지 활발한 가수분해에 의하여 분자량이 감소하지만, 연신 및 결정화에 따른 배향상태는 거의 그대로 유지되기 때문에 시간이 경과 하여도 결정화도가 소폭 증가하거나 초기값과 거의 유사한 값을 갖게 되며, 조직이 복구될 때까지 필요한 지지력을 확보할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

스크류 형태의 PLLA장치를 삽입한 골조직에서는 술 후 2주부터 현저한 골형성이 관찰되었고 10주에는 더욱 진행되어 24주에는 거의 정상골조직과 유사하게 복구되었으며, 골수에서는 술 후 24주까지도 스크류의 중심부가 남아서 거대 세포에 탐식되고 있었고, 주변부의 골수는 정상에 가깝게 회복되어 있음을 볼 수 있었다. 40주 이후에는 스크류 주변부가 거의 정상적인 골조직의 형태를 보였다. 60주에는 스크류 장치가 삽입되었던 곳이 빈 공간으로 남은 개체도 있었다. 실험기간 중에 과도한 이물반응이나 만성염증소견은 관찰되지 않았다.

생분해성 이식물이 가져야 할 조건이 조직이 복구되는 기간 동안 역학적인 힘(mechanical strength)를 유지하고, 이후에 생체에서 부작용 없이 분해되는 것이라는 관점에서 볼 때, 실험결과로부터 PLLA 로드의 물질적 특성이 역학적(mechanical), 열적(thermal), 점탄성적(viscoelastic) 인자들(factors) 간에 밸런스를 유지하고 있음을 알 수 있으며, PLLA 스크류가 골조직과 연조직(soft tissue)에서 분해되는 기간 동안 심각한 이물작용이나 생체조직에 나쁜 영향이 없는 것으로 판단된다. 따라서, 고상압출법으로 제작된 국산 PLLA 이식물은 임상적으로 적용하기에 안전하고 유용한 생체이식도구라고 판단되나 추후 이에 대한 계속적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

감사의 글

이 연구는 한국과학재단 목적기초연구비(과제번호: R21-2005-000-10002-0)에 의해 수행된 연구결과이며, 이에 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

- Andriano KP, Wenger KH, Daniels AU(Dan), Heller J. Technical Note: Biomechanical Analysis of Two Absorbable Fracture Fixation Pins After Long-Term Canine Implantation. *J Biomed Mater Res (Appl Biomater)* 1999; 48: 528-533.
- An YH, Woolf SK, Friedman RJ. Pre-clinical in vivo evaluation of orthopaedic bioabsorbable devices. *Biomaterials* 2000; 21: 2635-2652.
- Choi YD, Kim SY, Moon MH, Kim SH, Lee KS, Byun YR. Poly(ethylene glycol)-poly(L-lactide) diblock copolymer prevents aggregation of poly(L-lactide) microspheres during ethylene oxide gas sterilization. *Biomaterials* 2001; 22: 995-1004.

4. Fossum M, Nordenskjöld A, Kratz G. Engineering of Multilayered Urinary Tissue in Vitro. *Tissue Eng* 2004; 10(1): 2: 175-180.
5. Goh JCH, Shah KM, Bose K. Biomechanical study on femoral neck fracture fixation in relation to bone mineral density. *Clin Biomech* 1995; 10(6): 304-308.
6. Heidemann W, Fischer JH, Koebke J, Bussmann C, Gerlach KL. In-vivo-Untersuchung zur Degradation von Poly-(D,L)-Laktid-und Poly-(L-Laktid-co-Glykolid)-Osteosynthesematerial. *Mund Kiefer GesichtsChir* 2003; 7: 283-288.
7. Hildebrandt P, Sayyad M, Rzany A, Schaldach M, Seiter H. Prevention of surface encrustation of urological implants by coating with inhibitors. *Biomaterials* 2001; 22: 503-507.
8. Hile DD, Doherty SA, Trantolo DJ. Prediction of Resorption Rates for Composite Polylactide/Hydroxylapatite Internal Fixation Devices Based on Initial Degradation Profiles. *J Biomed Mater Res Part B:Appl Biomater* 2004; 71B: 201-205.
9. Hodgkinson R, Currey JD. Young's modulus, density and material properties in cancellous bone over a large density range. *J Mater Sci Mater Med* 1992; 3: 377-381.
10. Kilicoglu O, Demirhan M, Akman S, Atalar AC, Ozsoy S, Ince U. Failure strength of bioabsorbable interference screws: effects of in vivo degradation for 12 weeks. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2003; 11: 228-234.
11. Laaksovirta S, Laurila M, Isotalo T, Välimaa T, Teuvo L, Tammela J, Törmälä P, Talja M. Rabbit muscle and urethral in situ biocompatibility properties of the self-reinforced l-lactide-glycolic acid copolymer 80:20 spiral stent. *J Urol* 2002; 167: 1527-1531.
12. Laaksovirta S, Talja M, Välimaa T, Isotalo T, Törmälä P, Tammela RLJ. Expansion and bioabsorption of the self-reinforced lactic and glycolic acid copolymer prostatic spiral stent. *J Urol* 2001; 166: 919-922.
13. Leinonen S, Tiainen H, Kellomki M, Törmälä P, Waris T, Ninkovic M, Ashammakhi N. Holding power of Bioabsorbable Self-Reinforced Poly-L/DL-Lactide 70/30 Tacks and Miniscrews in Human Cadaver Bone. *J Craniofac Surg* 2003; 14(2): 171.
14. Liatsikos EN, Dirlenc CZ, Kapoor R, Bernardo NO, Pikhassov D, Anderson AE, Smith AD. Ureteral Reconstruction: Small intestine submucosa for the management of strictures and defects of the upper third of the ureter. *J Urol* 2001; 165: 1719-1723.
15. Lumiaho J, Antero Heino A, Tunninen V, Ala-Opas M, Talja M, Välimaa T, Törmälä P. New Bioabsorbable Polylactide Ureteral Stent in the Treatment of Ureteral Lesions: An experimental Study. *J Endourol* 1999; 13 (2): 107-112.
16. Malhan K, Kumar A, Rees D. Tibial cyst formation after anterior cruciate ligament reconstruction using a new bioabsorbable screw. *The Knee* 2002; 9: 73-75.
17. Manninen MJ, Pivrinta U, Ptil H, Rokkanen P, Taurio R, Tamminenki M, Törmälä P. Shear strength of cancellous bone after osteotomy fixed with absorbable self-reinforced polyglycolic acid and poly-L-lactic acid rods. *J Mater Sci Mater Med* 1992; 3: 245-251.
18. Manninen MJ, Pohjonen T. Intramedullary nailing of the cortical bone osteotomies in rabbits with self-reinforced poly-L-lactide rods manufactured by the fibrillation method. *Biomaterials* 1993; 14(4): 305-312.
19. Matsusue Y, Yamamoto T, Oka M, Shikinami Y, Hyon SH, Ikada Y. In vitro and in vivo studies on bioabsorbable ultra-high-strength poly(L-lactide) rods. *J Biomed Mater Res* 1992; 26: 1553-1567.
20. Maurer P, Holweg S, Knoll W-D, Schubert J. Study by finite element method of the mechanical stress of selected biodegradable osteosynthesis screws in sagittal ramus osteotomy. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2002; 40: 76-83.
21. Mazzonetto R, Paza AO, Spagnoli DB. A retrospective evaluation of rigid fixation in orthognathic surgery using a biodegradable self-reinforced (70L:30DL)polyactide. *Int. J. Oral Maxillofac Surg* 2004; 33: 664-669.
22. Nordström P, Pohjonen T, Törmälä P, Rokkanen P. Shear-load carrying capacities of the distal rat femora after osteotomy fixed with self-reinforced polyglycolic acid and poly-L-lactic acid pins. *J Mater Sci Mater Med* 2002; 13: 65-68.
23. Pohjonen T, Helevirta P, Törmälä P, Koskikare K, Pätiälä H, Rokkanen P. Strength retention of self-reinforced poly-L-lactide screws. A comparison of compression moulded and machine cut screws. *J Mater Sci Mater Med* 1997; 8; 311-320.
24. Prokop A, Jubel A, Hahn U, Dietershagen M, Bleidistel M, Peters C, Höfl A, Rehm KE. A comparative radiological assessment of polylactide pins over 3 years in vivo. *Biomaterials* 2005; 26: 4129-4138.
25. Rubel IF, David Seligson, Lai JL, Voor MJ, Wang M. Pullout Strengths of Self-Reinforced Poly-L-Lactide(SR-PLLA)Rods Versus Kirschner Wires in Bovine Femur. *J Orthop Trauma* 2001; 15(6): 429-432.
26. Saikku-Bäckström A, Tulamo R-M, Rih JE, Kellomki M, Toivonen T, Törmälä P, Rokkanen P. Intramedullary fixation of cortical bone osteotomies with absorbable self-reinforced fibrillated poly-96L/4D-lactide(SR- PLA96)rods in rabbits. *Biomaterials* 2001; 22: 33-43.
27. Saito T, Iguchi A, Sakurai M, Tabayashi K. Biomechanical Study of a Pily-L-Lactide(PLLA) Sternal Pin in Sternal Closure After Cardiothoracic Surgery. *Ann Thorac Surg* 2004; 77: 684-687.
28. Selvan VT, Oakley MJ, Rangan A, Al-lami MK. Optimum configuration of cannulated hip screws for the fixation of intracapsular hip fractures: a biomechanical study. *Injury* 2004; 35: 136-141.
29. Serlo W, Ashammakhi M, Törmälä P, Waris T. A New Technique for Cranial Bone Osteofixation: Use of Bioabsorbable Tacks and Plates to Fix Parietal Bone Split Grafts Used for Reconstruction of a Posttraumatic Frontal Bone Defect. *J Craniofac Surg* 2002; 13(2): 331-336.
30. Shikinami Y, Okuno M. Mechanical evaluation of novel spinal interbody fusion cages made of bioactive, resorbable composites. *Biomaterials* 2003; 24: 3161-3170.
31. Stendel R, Krischek B, Pietil TA. Biodegradable Implants in Neurosurgery. *Acta Neurochir(Wien)* 2001; 143: 237-243.
32. Suuronen R, Wessman L, Mero M, Törmälä P, Vasenius J, Partio E, Vihtonen K, Vainionpää S. Comparison of shear strength of osteotomies fixed with absorbable self-reinforced poly-L-lactide and metallic screws. *J Mater Sci Mater Med* 1992; 3: 288-292.
33. Suuronen R, Pohjonen T, Taurio R, Törmälä P, Wessman L, Rönkkö K, S. Vainionpää. Strength retention of self-reinforced poly-L-lactide screws and plates: an in vivo and in vitro study. *J Mater Sci Mater Med* 1992; 3: 426-431.
34. Tiainen J, Soini Y, Törmälä P, Waris T, Ashammakhi N. Self-Reinforced Polylactide/Polyglycolide 80/20 Screws Take More Than 1 Years to Resorb in Rabbit Cranial Bone. 2004 Wiley Periodicals, Inc. *J Biomed Mater Res; Part B Appl*

- Biomater 2004; 70B:49-55.
35. Tuomo P, Matti L, Ptil Hannu, Pentti R, Henna N, Pertti T. Fixation of distal femoral osteotomies with self-reinforced poly(L/DL)lactide 70:30/bioactive glass composites. An experimental study on rats. J Mater Sci Mater Med 2004; 15: 275-281.
36. Vert M, Li SM, Spenlehauer G, Guerin P. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters. J Mater Sci Mater Med 1992; 3: 432-446.
37. Waris E, Ashammakhi N, Happonen H, Raatikainen T, Kaarela O, Törmälä P, Santavirta S, Konttinen YT. Bioabsorbable Miniplating Versus Metallic Fixation for Metacarpal Fractures. Clin Orthop Rel Res 2003; 410: 310-319.
38. Widmer MS, Gupta PK, Lu L, Meszlenyi RK, Evans GRD, Brandt K, Savel T, Gurlek A, Patrick Jr CW, Mikos AG. Manufacture of porous biodegradable polymer conduits by an extrusion process for guided tissue regeneration. Biomaterials 1998; 19: 1945-1955.