

지방 채취 방법에 따른 지방 세포의 생존성에 대한 연구

이원덕 · 최진영

서울대학교 치의학대학원 구강악안면외과학교실

Abstract

AN EXPERIMENTAL STUDY ON FAT CELL VIABILITY ACCORDING TO DIFFERENT HARVESTING TECHNIQUES

Won-Deok Lee, Jin-Young Choi

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Graduate School,
Seoul National University*

Purpose: The purpose of this study is to test the efficacy of various methods of fat harvesting in animal model by viability comparison with assay including cell counting, MTT assay, and histologic evaluation.

Materials and methods: New Zealand white rabbits experiments were used. Groin fat pads were subjected to different harvest method varying ingredients of solution(Experiment 1: T1 solution= lidocaine 1000mg/L, epinephrine 1mg/L, sodium bicarbonate 10mgEq/L, Triamcinolone 10mgEq/L; T2 solution= lidocaine 1000mg/L, epinephrine 1mg/L, sodium bicarbonate 0mgEq/L, Triamcinolone 0mgEq/L) and pressure exerted on harvesting with Luer-Lock syringe connected to suction cannula.(Experiment 2: P1 group=3cc intermittent pressure: P2 group=10cc sustained pressure) Fat cell viability was assessed with cell counting with a hemocytometer, MTT assay, and histologic evaluation.

Results: *Experiment 1*

Cell count: T1=2.4/3.4/4.2, T2=9.6/8.4/7.2($\times 10^5$ per mL); MTT assay: T1=0.516/0.41/0.453/0.412/0.421, T2=0.925/0.765/0.54/0.634/0.614 in 21 days(absorbance); Histology: T1 showed elongated and, different in size and shape, and ruptured adipocytes with only a few normal adipocytes whereas T2 showed central core of fat with almost intact fat cells

Experiment 2

Cell count: P1=1.2/3.2/4.2, P2=1.2/2.4/3.8($\times 10^5$ per mL); MTT assay:P1=0.256/0.245/0.258/0.21/0.264, P2=0.12/0.231/0.245/0.313/0.281 in 21 days(absorbance); Histology: P1 showed somewhat evenly distributed normal-looking fat cells and P2 showed relatively irregular shape of fat cells with small blood vessel amongst adipocytes.

Conclusion: Viability was higher in 'modified tumescent solution' without sodium bicarbonate and triamcinolone and we also found no significantly different viability between using intermittent pressure and using sustained pressure. But in terms of initial viability of fat cell, we can assume that lower intermittent pressure would make better clinical results.

Key words: Fat graft resorption, Fat graft, Fat cell viability

I. 서 론

자가 지방 이식술은 1893년에 Neuber에 의해 독일 외과 의사회(German surgical society)에서 처음으로 소개 되었으며, 연조직 증강을 위한 술식으로는 1911년 Lexer와 Bruning에 의해 처음 행해졌다. 그 후 1960년대에 와서는 인공재료의 등장으로 지방이식이 주목을 받지 못하다가, 1980년대 지방흡입술(liposuction)이 도입되면서 널리 알려지게 되었다. 자가 지방은 연조직 보강재로서 최적의 조건을 가지고 있다고 할 수 있다. 왜냐하면 자가 지방은 PTFE(polytetrafluoroethylene)나 PMMA(polymethylmethacrylate) 등의 영구적인 이식재에 비해, 자연적인 질감(natural consistency)를 지니고 있으며 채취하기가 쉽고 안전하며, 이식 시에 과민반응이나 이물반응을 일으키지 않기 때문이다. 결정적인 단점으로는 예측 불가능한 이식 성공률 또는 흡수율이라고 할 수 있다. 이식된 지방의 수명은 3개월에서부터 8년까지 다양한 연구가 있다. Schuller-Petricic¹⁾ 등은 흡입에 의한 지방채취와 절제에 의한 지방채취사이의 비교실험에 있어 두 군 차이에는 큰 차이가 없이 1년 성공률은 50%라고 발표하였고, Kononas¹⁴⁾ 등은 동물실험에서 흡입하여 원심분리한 지방과 절제한 지방을 이식 9개월 이후 비교하였을 때 무게감소에서 각각 67%와 59%의 결과를 보고하였다. 이외에도 학자들마다 실험방법에 따라 다양한 흡수율을 보고하고 있다¹⁻¹⁶⁾. 이렇게 흡수율이 연구마다 다른 이유로는 임상기법의 표준화가 이루어지지 않았다는 점과, 이식된 지방의 흡수에 대한 기전이 완전히 밝혀지지 않았다는 사실을 들 수 있다. 이식된 지방의 흡수기전에 관련되어서는 1950년에 발표된 Peer¹⁷⁾의 '세포 생존 이론' ('Cell survival theory')이 가장 설득력이 있는 이론으로 알려져 있다. 이 이론의 골자는 이식된 지방의 운명은 살아남는 생존능 있는 세포(viable cell)들의 수에 의존한다는 것이다.

여러 다양한 요인들이 이식된 지방 세포에 부정적인 영향을 미치게 된다. 조직 외상(tissue trauma), 건조(desiccation), 혈류감소(decreased vascularity) 등이 지방 세포막에 부정적인 영향을 미치고 지방세포의 구조적 문제를 일으키게 된다. 임상기법의 차이로는 지방 채취 시와 채취 이후 처리 방법과 지방이식을 시행할 때의 여러 방법들간의 우수성에 대한 여러 상이한 결과를 가진 연구가 이루어져 왔다. 지방 채취시에 1. tumescent solution의 조성의 차이 2. 가하는 압력의 차이 3. 사용하는 기구 및 방법의 차이 (liposuction cannula, microcannula, syringe plus large bore needle, excision) 4. 채취후 처리의 차이(무처리, 세척, 원심분리, growth factor 또는 insulin처리) 등이 있는데 본 동물실험에서는 tumescent solution의 조성의 차이와 뒤편 주사기(Lure-Lock syringe, Becton

Dickinson, NJ, USA)에 연결된 지름 3.0mm-길이 15cm의 cannula(AP Medical, Seoul, Korea)에서 압력차이를 주는 방법에 국한하였다.

본 연구의 목적은 실제 임상 지방흡입과 이식술에 있어서 tumescent anesthesia의 용액 구성과 채취하는 압력 차에 따른 각각의 경우에 있어서 지방세포(adipocyte)의 세포파괴(cell damage)와 생존능(viability)의 정도를 평가하여 지방채취 시 지방 흡수율을 줄일 수 있는 방법을 모색하는 것이다.

II. 방 법

실험동물로는 뉴질랜드산 가토(New Zealand white rabbits)를 사용하였으며 무게는 평균 3.0kg±0.2였다. 평균 연령은 5.2개월이며 모두 수컷을 사용하였으며 동물사육실은 IACUC(Institutional Animal Care and Use Committee)의 기준을 준수하였다.

- 1) 토끼를 Zoletil 50[®](Virbac Lab, Carros, France) 2ml(Tiletamine + Zolazepam)을 근육주사로 투입하여 마취한 후 좌측의 서혜부 지방층(groin fat pad)를 외과적으로 절제하였다. 이 때는 외과적으로 최대한의 손상없이 절제해 낸 후 무게를 재고 조직을 반으로 나누었다. 이 과정에서 건조되지 않고 혈액 등의 불순물을 세척하기 위해 PBS(phosphate buffered saline)를 사용하여 씻어주었다.
- 2) 나뉘어진 두 개의 지방조직을 각각 아래의 T1, T2의 용액에 15분간 처리하였다. T1과 T2의 조성은 다음과 같다. 두 용액 공히 생리식염수 1L에 섞어 만들었다.
T1: lidocaine 1000mg/L, epinephrine 1mg/L, sodium bicarbonate 10mgEq/L, Triamcinolone 10mg Eq/L
T2: lidocaine 1000mg/L, epinephrine 1mg/L, sodium bicarbonate 0mgEq/L, Triamcinolone 0mg Eq/L
- 3) 같은 토끼에서 반대쪽 서혜부 지방층을 채취하기 위한 부위에, #11번 수술칼로 최소절개(stab incision)한 후 직경 3.0mm, 길이 15cm의 흡입 캐놀라로 각각 3cc의 간헐적인 압력과 10cc lock의 지속적인 압력으로 지방을 채취하였다.
- 4) 위에서 얻은 시편들을 37°C에서 1mg의 2형 교원질분해효소(type II, Sigma, St. Louis, MO: 1mg enzyme/ 100mg fat)로 45분 동안 처리하였다. 효소처리 전에 각각 시편들의 일부를 포르말린에 고정하여 광학현미경하 조직학적 고찰에 이용하였다.
- 5) 5mm의 PBS를 조직에 첨가하고, 이것을 원심분리

(50g: 5분, 1650 rpm)한 후 위로부터 기름층(oil layer), 지방층(fat layer), 부유물층(fluid layer)로 나누어 짐을 관찰할 수 있었다.

6) 최상층의 기름층을 버린 후 하방의 지방층에서 fat cell 을 채취하여 각각 아래와 같이 세포의 생존능과 증식 능력 평가를 시행하였다.

1. 혈구계산기를 이용한 생존 세포수 산출 (Cell Count by Hemocytometer)

Trypan blue vital stain 0.4% solution을 처리한 후 염료가 침착되지 않은 생존세포들의 수를 수정된 노이바우어 혈구계산기(modified Neubauer hemocytometer)로 광학현미경 400배 확대하에서 측정하였다. 생존능있는 지방세포를 생존능을 상실한 지방세포나 지방 부유물과 구별하게 쉽게 하기 위해 부가적으로 크리스탈 바이올렛(crystal violet)을 사용하여 성숙한 지방세포의 핵을 염색하여 보다 정확한 산출을 도모하였다. 한편 각각의 농도(purity)를, 관찰되는 세포성분과 비세포성분의 전체 숫자에 대한 생존능있는 세포 수의 비율로 계산하여 비교하였다.

2. 세포 증식능 검사 (MTT Proliferation Assay)

96-well microplates 에 각 well에 2×10^4 의 cell을 plating한 후 incubation한 후에 media 제거 후 MTT solution 을 첨가하였다. 그 후 4시간 정도 37°C에서 숙성(incubation)시켰다. 각각 세포에 보라색 침전이 생긴 후 DMSO(dimethyl sulfoxide) 첨가 후 20분 정도 shaking한 후에 570nm에서 ELISA로 흡광도를 측정하였다. 흡광도의 측정을 3일, 7일, 11일, 14일, 21일에 반복 시행하였다.

3. 조직학적 검사

조직학적 검사를 위해 시편을 Hematoxylin & Eosin 염색하여, 광학현미경에서 100배 배율에서 세포의 파괴양상 등을 두 명의 관찰자에 의해 관찰, 종합하였다.

III. 결 과

1. Tumescient Solution 조성에 따른 비교

1) 생존 세포수

모든 실험결과에 있어서 T2용액의 시편에서 T1용액의 시편보다 생존능 있는 세포의 수가 높게 관찰되었다. 세포 수 산출과정에서는 trypan blue에 염색된 생존능없는 세포와 5개이상 또는 이하의 세포들이 뭉쳐져 있는 세포군은 제외

Table 1. Cell count results in two tumescient solutions (unit: $\times 10^5$ / mL). Note that in all cases there were higher cell number in T2 solutions

| n | T1 | T2 |
|---|-----|-----|
| 1 | 2.4 | 9.6 |
| 2 | 3.4 | 8.4 |
| 3 | 4.2 | 7.2 |

Table 2. MTT assay results in two tumescient solutions (unit: absorbance). Absorbances were read higher in T2 solutions

| | 3 day | 7 day | 11 day | 14 day | 21 day |
|---------|-------|-------|--------|--------|--------|
| control | 0.040 | 0.041 | 0.041 | 0.040 | 0.040 |
| T1 | 0.516 | 0.41 | 0.453 | 0.412 | 0.421 |
| T2 | 0.925 | 0.765 | 0.54 | 0.634 | 0.614 |

하였으며, 재현성있는 산출을 위해 crystal violet으로 생존능있는 세포의 핵을 염색하였다. 한편 각각의 농도(purity)는 각각 57.2%(SD=1.1), 72.3%(SD=0.8)으로 관찰되었다 (Table 1).

2) MTT assay 결과

3일째부터 흡광도는 T2용액의 시편에서 T1용액의 시편보다 높게 측정되었으며 이는 3주째까지 같은 양상을 보임을 알 수 있었다. 흡광도의 정도는 세포증식능과 일차적인 비례관계가 있는바 이 결과에서 T2용액에서 지방세포 증식능이 더 높음을 알 수 있었다 (Table 2).

3) 조직학적 소견

T1용액에 15분간 처리한 지방시편에서는 다소 길게 늘어난 지방세포와, 크기와 모양이 일정하지 않은 파괴된 양상의 지방세포들이 많이 관찰되는 반면, T2용액에 처리한 지방시편의 지방세포들은 세포질내의 지방 성분만 염색에 의해 소실되었을 뿐 세포질이 구형 세포모양 외곽에 얇게 존재하는 등 온전한 세포구조를 띠는 것으로 관찰되었다 (Fig. 1, 2).

2. 압력 차에 따른 비교

1) 생존 세포수

세 번의 실험 중 두 번의 경우에 있어서 P1시편에서 생존 세포수가 높게 산출되었으나 그 정도의 차이는 통계적으로 유의미한 차이는 보이지 않았다. 한편 각각의 농도(purity)는 64.2%(SD=1.5), 68.6%(SD=1.2)으로 관찰되었다 (Table 3).

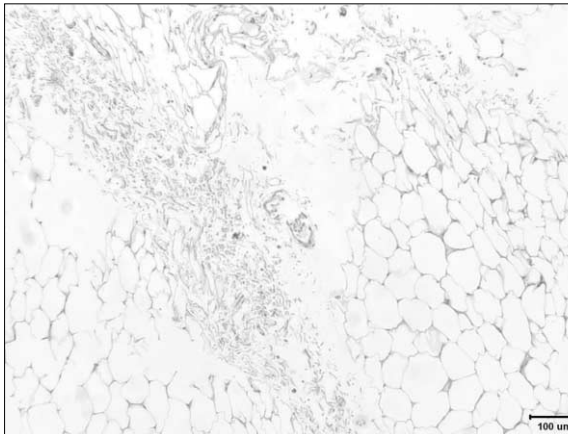


Fig. 1. Elongated and, different in size and shape, and ruptured adipocytes with only a few normal adipocytes, soaked in T1 solution for 15 minutes. (Hematoxylin and eosin; magnification ×100)

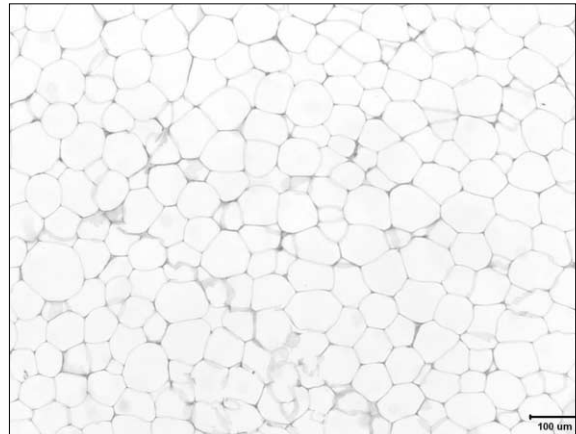


Fig. 2. Central core of fat with almost intact fat cells, soaked in T2 solution for 15 minutes. (Hematoxylin and eosin; magnification ×100)

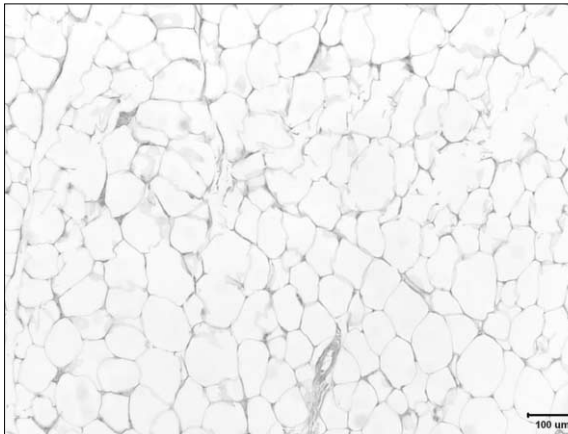


Fig. 3. Evenly distributed normal-looking fat cells, harvested with 3cc intermittent pressure. (Hematoxylin and eosin stain; magnification ×100)

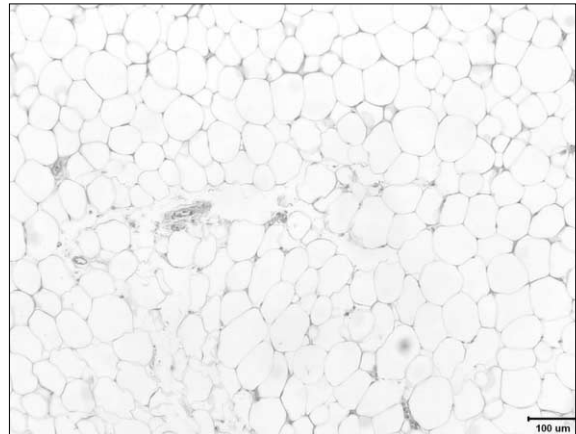


Fig. 4. Relatively irregular shape of fat cells, harvested with 10cc sustained pressure. Note small blood vessel amongst adipocytes. (Hematoxylin and eosin stain; magnification ×100)

2) MTT assay 결과

실험 1주일째까지는 P1시편에서 흡광도가 높게 측정되었으나 이후 3주째까지의 결과에서는 유의미한 차이는 보이지 않았다 (Table 4).

3) 조직학적 소견

압력차를 달리한 두 조직에서 특기할만한 조직학적 차이는 보이지 않았으며, 두 경우 모두 비교적 정상 지방세포의 구조가 잘 유지되었음을 알 수 있었다. 다만 10cc의 압력을 지속적으로 주었던 P2의 경우에서 P1의 경우에 비해 혈구 세포가 다소 많이 관찰됨을 알 수 있었다 (Fig. 3, 4).

Table 3. Cell count results in different pressure groups (unit: ×10⁵ / mL). Note that there was no significant difference in between

| n | P1 | P2 |
|---|-----|-----|
| 1 | 1.2 | 1.2 |
| 2 | 3.2 | 2.4 |
| 3 | 4.2 | 3.8 |

Table 4. MTT assay results in different pressure groups (unit: absorbance). There was no significant difference between two groups except higher absorbance in earlier days

| | 3 day | 7 day | 11 day | 14 day | 21 day |
|---------|-------|-------|--------|--------|--------|
| control | 0.047 | 0.049 | 0.048 | 0.047 | 0.046 |
| P1 | 0.256 | 0.245 | 0.258 | 0.210 | 0.264 |
| P2 | 0.120 | 0.231 | 0.245 | 0.313 | 0.281 |

Ⅳ. 고 찰

1. 용액 조성에 따른 지방세포 생존능의 차이

수술 전에 투입하는 용액의 성분 조성에 대한 서로 다른 의견들은 현재까지도 분분한 상태이다. 수술전 용액 주입을 하는 소위 'Hydrotomy'에 대한 첫번째 언급은 1885년 Halsted에 의해 행해졌다. Hydrotomy는 hydrodissection의 한 방법으로 외과적 박리를 용이하게 하는 것은 물론이고, 술후 출혈을 막는 것으로 알려져 있다. 프랑스의 외과 의사 Illouz²⁰⁾가 1980년대 초반에 hydrotomy를 응용하여 말단이 무딘 캐놀라 (blunt-tipped cannula)를 이용한 지방흡입술 (lipolysis)을 처음 도입하였다. 동시대에 Fournier와 Otteni는 용액의 전 주입 (preinjection)을 하지 않는 'dry technique'를 도입하기도 하였으나 이 방법으로는 상당한 양의 피가 흡입에 포함되는 단점이 있었다. 그래서 대부분의 외과 의사들은 'wetting solution' (WS)을 술전에 투입하는 방법을 선호하였으며 Hetter 등은 epinephrine을 첨가하는 방법을 주장했는데 이렇게 함으로써 지방 흡입 후 출혈을 더욱 줄일 수 있다고 주장하였다. 이후 1980년대 중반에는, 흡입되어질 지방의 양과는 무관하게 일률적으로 100-300 ml 정도의 용액을 주입한다는 기존의 'wet technique'에 반대되는, 흡입되어지는 지방 1 ml 당 소량의 epinephrine을 함유하는 WS 1 ml을 사용해야 한다는 'superwet' technique이 주장되어졌다. 이후 이런 비율에 대한 의견은 분분하였으나 최근의 공통점은 조직 긴장 (tissue turgor)이 발생하도록 하는 시점까지의 상대적으로 많은 부피의 용액을 사용하고 있다는 것이다. 이러한 방법에 대한 이름으로는 여러 가지 있으나 최근에 'tumescent technique'으로 불려지고 있다. 이 tumescent technique의 비율에 대해서는 학자마다 다르나 대체적으로 술전 주입되는 용액과 예상흡입 지방의 부피비가 3-7:1 정도 된다고 보고 있다^{18,19)}.

이러한 tumescent solution의 성분과 그 조성에 대해서는 술자마다 여러 다른 조합들이 있으나, 현재 공통적인 성분은 lidocaine, epinephrine, sodium bicarbonate, triamcinolone 등이 있다. Lidocaine은 진통의 효과를 위해 통상 포함되어지나, 포도당 대사 (glucose transport)를 저해하고 지방세포의 분해를 일으킨다는 주장도 있지만 지방 채취 후 수세하는 과정에서 상기와 같은 부작용은 상쇄될 수 있다고 하는 주장이 우세하고 있다. Epinephrine은 지방분해 (lipolysis)를 일으킨다고 알려져 있지만, 혈관수축 효과를 얻기 위해 써야 한다는 주장과, 지방세포대사의 증진을 위해 쓰지 말아야 한다는 주장이 있다²¹⁾. 본 연구에서 사용한 용액은 현재 임상가들에게 있어서 가장 널리 사용되어지고 있는 modified Klein's solution의 조성에서 sodi-

um bicarbonate와 triamcinolone을 제외한 성분과 원래의 조성의 용액을 비교한 것이다. sodium bicarbonate는 NaHCO₃의 화학식을 가지는 염으로서 의학분야에서 여러 가지 용도로 사용되는데 tumescent 용액의 'wet technique'에서는 국소마취제 주입할 때 느낄 수 있는 작열감 (burning sensation)을 줄이는 용도로 사용된다. Triamcinolone은 스테로이드의 일종으로 술후 부종을 막기 위해 사용된다.

실험 결과에서 sodium bicarbonate와 triamcinolone을 첨가한 용액을 적용하였던 군보다 첨가하지 않은 군에서 생존능 있는 세포들이 더 많게 나온 것으로 보아 tumescent 용액에 상기의 두 성분을 첨가하지 않는 것이 지방 채취시 지방세포의 생존성에 긍정적인 역할을 하는 것으로 사료된다. 흡광도를 측정 한 결과에 있어서는 T1용액은 측정하는 동안 흡광도의 변화가 거의 없는 채로 T2용액보다 세포 증식능이 낮은 것으로 나타났고, 측정 11일 이후에는 두 군에 있어서 흡광도의 차이가 이전보다 작아졌음을 알 수 있었다. 이는 두 성분을 포함하지 않은 T2용액의 경우에서도 동일한 지남에 따라 세포의 증식능이 떨어지기 때문이라고 생각할 수 있다. 보통 지방을 채취함과 동시에 지방이식이 이루어지기 때문에, 초기 상태에서의 지방세포의 생존능이 관건이 되는 바 비록 흡광도의 차이는 크게 나지는 않았으나 초기 세포증식능이 높은 T2용액을 사용하는 것이 지방세포의 흡수율을 낮추는 데 도움을 줄 것으로 사료된다. 이러한 결과는 조직학적 관찰에서도 확인이 될 수 있었던 바, T1용액으로 전처리해 놓은 조직 시편 (Fig. 1)에서는 지방세포들이 불규칙적으로 분포하며 다소 파괴된 영상을 보였고, 이에 반해 T2용액으로 전처리해 놓은 조직 시편 (Fig. 2)에서는 지방세포들이 비교적 서로 밀집하여 분포하며 지방세포 각각의 형태와 연결되어 있는 양상이 T1용액의 경우에서보다 월등히 규칙적인 분포와 구조를 지니고 있었다.

2. 압력에 따른 지방세포 생존능의 차이

지방 흡입술에 있어서 또한 논란이 많이 되는 부분은 지방 채취 방법에 따른 지방 세포의 손실 정도에 대한 것이다. 여러 연구가들의 연구에 의하면 지방세포의 대사 (adipocyte metabolism)는 지방세포 채취의 방법에 따라 별 차이가 없는 것으로 알려져 있으나 이에선 여러 의견들이 많이 존재한다.

지방흡입을 하는 방법으로는 크게 지방을 흡입하는 (suction-removed) 방법과 외과적으로 절제하는 (surgically excised) 방법이 있다. Justin³³⁾ 등은 지방 흡입하는 방법이 지방세포에 더욱 침습적이고 외상을 주기 때문에, 외과적으로 절제하는 방법보다 좋지 않다는 주장을 하였다. 그리고 Nguyen²²⁾등도 흡입된 지방이 기계적으로 더 왜곡 되

므로 지방 성분(fat content)을 상실해 섬유화 전환(fibrotic replacement)을 거친다는 주장을 하였으나 정확한 기전을 밝히지는 못했다. 한편 이에 반해 Dennis²³⁾ 등은 흡입된 지방이 '지방 세포 배양' (fat cell culture)의 효과가 있어 이식되었을 때 외과적으로 제거된 지방보다 더 잘 생존한다고도 한다.

상반되는 연구가 많이 존재하기는 하나, 최근의 많은 연구에서는 지방흡입에 의한 지방 채취방법이, 외과적 절제에 의한 방법에 비해 지방세포 손실이 더 크지 않다는 사실이 밝혀지고 있다. 이러한 사실은 Lalikos²⁴⁾가 glycerol-3-phosphate dehydrogenase(G3PDH) 효소 연구에서 지방 생성 효소(lipogenic enzyme)인 G3PDH의 원형질막(plasma membrane) 통한 누출이 지방 세포 파괴의 표지자가 된다는 것에 바탕을 두고 진행한 실험에서 주장하였다.

본 연구에서 외과적 절제 방법이 아닌, 흡입에 의한 방법 중에서 압력 차에 의한 방법을 비교하기로 고안한 이유는 현재 외과시술의 경향이 '최소침습기술' (minimally-invasive technique)의 추세라는 것과 실제적으로 미용외과 술식에서 많이 쓰이는 방법을 사용하는 지방흡입술에 대한 과학적인 근거를 마련하기 위함이었다.

주사기는 약 -0.6atm의 상대적 진공을 만들어낸다. 기계 흡입에서 -0.95atm의 최고 음압이 걸려야만 지방조직의 부분 파괴나 공기화(vaporization)가 생길 수 있다. 지방 세포의 직경은 기계적으로 늘어나기도 하며 -0.5atm에서 추출된 지방세포에서 보다 크다는 사실이 알려져 있다²⁵⁾.

주사기를 천천히 당길 경우, 압력은 liposuction 기구를 사용한 양의 약 40%에 달하지만, 10cc syringe plunger를 최대한으로 당겼을 경우, 음압은 liposuction 기구의 압력의 100%에 달하는 것으로 알려져 있다²⁶⁾.

Nguyen²²⁾ 등은 조직학적인 분석에서 -1.0atm(-760mmHg)의 음압으로 흡입했을 때 지방세포의 90%가 손상을 받았으며 그보다 압력이 작을 때는 손상이 적다고 하였다. 음압이 높고 지속될수록 지방세포에 더욱 외상을 많이 준 것으로 생각된다는 것이다. Gonzalez²⁷⁾의 실험에서도 알 수 있듯이 외상을 덜 줄수록 세포파괴가 덜 일어나게 되며 지방 전구 세포(pre-adipocytes)의 수도 늘어나게 된다. 본 실험의 결과에서 알 수 있듯이 루어락 주사기(Luer-Lock syringe)로 3cc 눈금으로 압력을 간헐적으로 준 경우가, 10cc 눈금에서 lock을 걸어 지속된 압력으로 주는 경우보다 살아있는 세포의 수에서는 유의할만한 차이는 아니지만 높게 나타남을 알 수 있었다. MTT assay 결과에서는 관찰초기에 3cc의 간헐적 압력을 적용한 경우가 세포증식능이 높게 나타났다. 이러한 사실을 바탕으로 본 연구에서 압력을 크게 지속적으로 주는 경우보다 보다 작은 압력으로 간헐적으로 가하는 것이 생존능과 증식능이 높은 지방세포를 채취

하는데 도움이 될 것으로 생각된다. 조직학적 관찰에서 두 그룹간에는 큰 차이를 보이는 소견이 보이지는 않았다(Fig. 3, 4).

3. 향후 연구 방법

지방과 그 액체상태인 오일(oil)은 주로 triacylglycerols (triglyceride 또는 neutral fat)들의 혼합물로 이루어져 있다. triacylglycerol은 동물에 있어 에너지 저장고로 사용된다. 동물에게 있어 지방세포(adipocyte)는 triacylglycerol의 합성과 저장에 적합하게 만들어져 있다. 다른 세포들은 세포질내에 fat droplet이 생기기 포함되어 있는 반면에 지방세포(adipocyte)는 세포자체가 fat globule로 가득 채워 있다²⁸⁾. 이러한 지방세포는 여러 연구에서 생체 외에서(in vitro) 광범위한 성형성(plasticity)을 갖는다고 보고되고 있는데 지방세포는 섬유모세포와 비슷한(fibroblast-like) 세포로 역분화(de-differentiate)도 할 수 있으며, 어느 정도까지는 지방성분(lip droplet)을 축적하여 지방으로 다시 재분화(re-differentiate)할 수 있다고 알려져 있다.

세포주변에 혈행이 감소해지면 몇몇의 세포는 죽고, 일부 세포는 지방세포(adipocyte)로 생존하고, 일부 세포는 역분화(dedifferentiation)의 과정을 겪는다. 지방이식 후에 이식편들은 재혈류화된 이후 일부세포는 다시 살게 되어 그 기능을 하게 되며, 생존하지 못한 세포들은 흡수되고 섬유조직들로 대체되게 된다. 지방 전구 세포(pre-adipocyte)는 채취된 지방세포의 10%도 되지 못하나 이것들이 그들의 높은 증식능력으로 인해 지방 이식 성공의 주역할을 하고 있는 것으로 생각된다⁶⁾.

지방 전구 세포(pre-adipocyte)에 대한 첫 번째 언급은 1921년 Wassermann에 의해 이루어졌다. 그는 미성숙한 지방체 (immature fat body)로부터 미분화된 결체조직 세포 (undifferentiated connective-tissue cells)들의 이식을 연구하여, 미성숙한 결체조직들은 이식 시에 이미 특수화되었다고 주장하였다²⁹⁾. 한편 Hausberger³⁰⁾는 '지방 전구 세포' 또는 'mesenchymal adipose cell precursor'는 성숙한 지방 세포가 되도록 운명지어졌다고 주장하였다. 이러한 지방 전구 세포에 대한 연구는 1971년 Smith³¹⁾ 등이 지방 세포 조직 배양 기술을 개발함으로써 많은 진전을 보이게 되었다. 비슷한 시기에 Poznanski³²⁾ 등은 유년기 발생 비만과 성년기 발생 비만의 차이에 대한 연구에서 각 유형의 비만에 있어서 새로운 지방 세포가 만들어지는지 또는 기존의 세포의 크기의 증가가 원인이 되는지에 대한 연구를 시행하였다. 지방세포를 얻은 후 교원질 분해효소(collagenase)에 의해 처리한 후에 원심분리를 하여 stromal vascular fraction(SVF)를 배양하였고 이것을 배양된 섬유모세포와 비교하였다. 그 결과 SVF가 섬유모세포에 비해 5배

이상 포도당 합성을 많이 하는 것을 발견할 수 있었다. 그들은 SVF가 성숙한 지방세포로 복제 및 분화되는 잠재성을 지니고 있는 'adipocyte precursor'를 함유하고 있다고 결론지었다. 지방세포(adipocyte) 분리를 위한 최적의 교원질 분해효소의 사용조건을 찾아내는 것이 여러 연구의 관건이 되고 있다.

향후 지방세포 채취에 있어서 지방 전구 세포(preadipocyte)를 잘 정제해내는 방법에 대한 연구가 필요하리라고 보여진다. Justin³³⁾ 등은 최근 연구에서 교원질분해효소로 처리한 후 원심분리를 시행하는 함으로써 지방 세포의 생존성을 높이는 동시에 세포 잔사(cellular debris)와 죽은 지방세포의 숫자를 줄일 수 있다는 사실을 발표하였다.

이를 바탕으로 세포 조직배양을 통해 배양된 지방 전구 세포가 다양한 연조직 함몰부에 있어서 유용한 자가이식재료로 사용될 수 있음을 예상할 수 있다. 지방 전구 세포는 성숙한 지방 조직보다 외상에 더욱 강한 저항성을 지니고 있다고 알려져 있다. 이를 바탕으로 지방 전구 세포를 이식하였을 때 이것이 분화하고 성장하여 정상크기의 지방 세포가 되어 이식부위에 실제 인체에서처럼 'fat pad'를 형성할 수도 있을 것이다. 지방세포의 'single-cell suspension'을 추출할 수 있게 된다면 동일환자에게서 여러 번에 걸친 지방 주입술을 대체할만한 방법으로 사용될 수 있을 것이다.

V. 결 론

본 실험 결과, 우리는 현재 임상에서 지방 흡입시 많이 사용되는 방법 중에서 술전 투입하는 용액의 조성상에서 sodium bicarbonate와 triamcinolone을 투입하지 않은 군에서 지방세포가 더 많이 생존할 수 있다는 것과, 그리고 압력을 가하는 방법에 있어서는 10cc의 높은 압력을 지속적으로 가하는 것보다는 3cc의 간헐적인 압력을 가하는 방법이 생존능과 세포증식능을 보다 많이 가지는 지방세포를 채취하게 할 수 있음을 알 수 있었다.

이번 연구의 한계로는 연조직 증강을 위한 오랜 기간의 세포 생존능(cell viability)를 연구하게 위해서는 생체 내 실험 또는 연구가 필요하다는 것이다. 또한 오랜 기간의 세포 생존능과 활성에 있어서 채취한 부위나 개체의 특성에 따른 변수도 생각되어야 할 것이다. 흡연여부, 영양상태, 투약여부와 종류 등의 환경적 요인이 세포의 성장과 분화에 상당한 영향을 끼치는 것으로 사료되기 때문이다³⁴⁾.

참고문헌

1. Schuller PS : Improving the aesthetic aspect of soft tissue defects on the face using autologous fat transplantation. *Facial Plast Surg* 12 : 12, 1997.
2. Hambley RM, Carruthers JA : Microlipoinjection for the

- elevation of depressed full-thickness skin grafts of the nose. *J Dermatol Surg Oncol* 18 : 963, 1992.
3. Guerrerosantos J, Gonzalez MA, Masmela Y : Long-term survival of free fat grafts in muscle: An experimental study in rats. *Aesthetic Plast Surg* 20 : 403, 1996.
4. Pereira LH, Radwanski HN : Fat grafting of the buttocks and lower limbs. *Aesthetic Plast Surg* 20 : 409, 1996.
5. Scarborough DA, Schuen W, Bisaccia E : Fat transfer for aging skin: Techniques for rhytids. *J Dermatol Surg Oncol* 16 : 651, 1990.
6. Lauber JS, Abrams HL, Coleman WP : Application of the tumescent technique to hand augmentation. *J Dermatol Surg Oncol* 16 : 369, 1990.
7. Coleman W, Lawrence N, Sherman R et al : Autologous collagen? Lipocytic dermal augmentation. A histopathologic study. *J Dermatol Surg Oncol* 19 : 1032, 1993.
8. Chajchir A : Fat injection: Long-term follow-up. *Aesthetic Plast Surg* 20 : 291, 1996.
9. Gormley DE, Eremia S : Quantitative assessment of augmentation therapy. *J Dermatol Surg Oncol* 16 : 1147, 1990.
10. Pinski KS, Roenigk HH Jr : Autologous fat transplantation: Long term follow-up. *J Dermatol Surg Oncol* 18 : 179, 1992.
11. Carpaneda CA : Study of aspirated adipose tissue. *Aesthetic Plast Surg* 20 : 291, 1996.
12. Novaes F, dos Reis N, Baroudi R : Counting method of live fat cells used in liposuction procedures. *Aesthetic Plast Surg* 22 : 12, 1998.
13. Horl HW, Feller AM, Biemer E : Technique for liposuction fat reimplantation and long term volume evaluation by magnetic resonance imaging. *Ann Plast Surg* 6 : 248, 1991.
14. Kononas TC, Bucky LP, Hurle C et al : The fate of suctioned and surgically removed fat after reimplantation for soft tissue augmentation: A volumetric and histologic study in the rabbit. *Plast Reconstr Surg* 91 : 763, 1993.
15. Bastart JP, Cuevas J, Cohen S et al : Percutaneous adipose tissue biopsy by mini-liposuction for metabolic studies. *J Parenter Enteral Nutr* 18 : 466, 1994.
16. Coleman SR : Long-term survival of fat transplants: Controlled demonstrations. *Aesthetic Plast Surg* 19 : 421, 1995.
17. Peer LA : Loss of weight and volume in human fat grafts: With postulation of a "cell survival theory." *Plast Reconstr Surg* 5 : 217, 1950.
18. Peter BF : Wetting solutions in aspirative lipoplasty: A plea for safety in liposuction. *Aesth Plast Surg* 19 : 379, 1995.
19. Illouz YG : The Wet technique. In YG Illouz(Ed.) *Body Sculpting by lipoplasty*. New York: Churchill Livingstone, 124, 1994.
20. Illouz YG : The fat cell 'graft': A new technique to fill depressions. *Plast Reconstr Surg* 78 : 122, 1986.
21. John HM, Jerzy WK, Luz MM et al : Viability of fat obtained by syringe suction lipectomy: Effects of local anesthesia with lidocaine. *Aesth Plast Surg* 19 : 335, 1995.
22. Nguyen A : Comparative study of survival of autologous adipose tissue taken and transplanted by different techniques. *Plast Reconstr Surg* 85 : 378, 1990.
23. Dennis VH, Karsten H, Sevinc H et al : Comparison of viable cell yield from excised versus aspirated adipose tissue. *Cell Tissues Organs* 178 : 92, 1994.
24. Lalikos JF : Biochemical assessment of cellular damage

- after adipocyte harvest. J Surg Res 70 : 95, 1997.
25. Boris S, Gerhard S : Current concepts of fat graft survival: Histology of aspirated adipose tissue and review of literature: Dermatol Surg 26 : 1159, 2000.
 26. Paul S : Autologous human fat grafting: Effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival: Plast Reconstr Surg 117 : 1836, 2006.
 27. Gonzalez AM : An alternative method for harvest and processing fat grafts: An *In Vitro* study of cell viability and survival. Plast Reconstr Surg 120 : 285, 2007.
 28. Stryer L : Biochemistry, the third edition, W.H. Freeman and company/ New York: 1988, 634.
 29. Edmund BJ, James WM : Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. Plast Reconstr Surg 83 : 372, 1989.
 30. Hausberger FX : Quantitative studies on development of autotransplants of immature adipose tissue of rats. Anat Rec 122 : 507, 1955.
 31. Smith V : Morphological studies of human subcutaneous adipose tissue *in vitro*. Anat Rec 169 : 97, 1971.
 32. Poznanski WJ : Human fat cell precursors. Morphologic and metabolic differentiation in culture. Lab Invest 29 : 570, 1973.
 33. Justin HP : An Experimental Model for improving fat graft viability and purity: Plast Reconstr Surg 119 : 1571, 2007.
 34. Rohrich RJ : In search of improved fat transfer viability: A Quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site: Plast Reconstr Surg 113 : 391, 2004.

저자 연락처
우편번호 110-749
서울특별시 종로구 창경궁로 62-1
서울대학교 치과병원 구강악안면외과
최진영

원고 접수일 2007년 12월 3일
게재 확정일 2008년 1월 15일

Reprint Requests

Jin-Young Choi

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Seoul National University
62-1, Changgyeonggungro, Chongrogu, Seoul, 110-749, Korea
Tel: 82-2-2072-3992
E-mail: jinychoi@snu.ac.kr

Paper received 3 December 2007
Paper accepted 15 January 2008