

연골막판으로 쌓 정제된 산호의 조직학적 연구

김지수 · 손대구 · 한기환 · 최동원 · 박관규*
계명대학교 의과대학 성형외과학교실, 해부병리학교실*

Autogenous costal cartilage graft has been commonly used for reconstruction of auricular deformity. However, the risk of complication and discomfort at the donor site, as well as distortion of the graft due to morphological change in the cartilage have been serious drawbacks to this procedure. Previous studies examining the chondrogenic potential of perichondrium have suggested that perichondrium may be used as graft for cartilage reconstruction. When a perichondrial flap or a free perichondrium was used as graft, new cartilage formed appositional to the grafted perichondrium. However, the neocartilage was often irregular in shape and varied considerably in quantity. In this study, the feasibility of controlling the shape and the mass of neocartilage was investigated using coral, a porous biomaterial, as a template. A coral template was wrapped with perichondrial flap from the ears of New Zealand white rabbits and placed into a subcutaneous pocket in the rabbit's back by incision. A total of 12 animals were used. Formation of new cartilage was later evaluated by gross and histological examination of the perichondrial flap and the coral template. New cartilage was formed in 11 animals. Immature chondrocytes were visible by 3 weeks after the surgery, and by 8 weeks the immature chondrocytes had formed a cartilage. New cartilage was formed only on the surface of the coral template. These results indicated that the shape and the mass of new cartilage may be controlled by using coral template. Therefore, the desired shape of cartilage may be achieved using a coral template of corresponding shape, and this may help in correcting subtle auricular contour defect and in correcting other structural defects that also require new cartilage formation.

Key Words: Perichondrial flap, Coral template, Chondrogenesis

Ji Soo Kim, M.D., Dae Gu Son, M.D., Ki Hwan Han, M.D., Dong Won Choi, M.D., Kwan Kyu Park, M.D.* Histologic study of Coral Template Wrapped with Perichondrial Flap. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 106: 392-398, 1999

From the Department of Plastic Surgery and *Pathology, School of Medicine, Keimyung University, Taegu, Korea

Address Correspondence to Dr. Ki Hwan Han, M.D. Department of Plastic Surgery, School of Medicine, Keimyung University, 194 Donsandong, Choong-gu, Taegu, 700-310, Korea, Fax: 053) 255-0632

* 본 논문은 제 45차 대한성형외과학회 추계학술대회에서 구연된 논문임.

* 본 연구는 1998년도 계명대학교 비사연구기금으로 이루어졌음.

I. 서 론

소이증(microtia)과 같은 선천성 기형이나 외상으로 인해 이개(auricle)의 일부나 전체가 소실되었을 때 자가늑연골이식(autogenous costal cartilage graft)을 이용해서 이개를 재건하고 있으나 아직도 만족할 만한 결과를 얻지 못하고 있다. 이는 늑연골로는 굴곡이 미묘한 이개 모양대로 정교하게 다듬기가 어렵고, 이개연골의 탄성력을 얻을 수 없을 뿐만 아니라 다듬은 뒤에는 연골 자체의 긴장력(tensile stress)과 팽창력(expansile force) 사이의 균형이 깨어져 휘어지고 뒤틀리어 연골이 변형되기 때문이다. 미용목적으로 코를 조금 듣우어 줄 경우에도 자가이갑개 연골이식(autogenous conchal cartilage graft)이나 자가비중격연골이식(autogenous nasal septal cartilage graft)으로 듣우어 줄 수 있지만 채취할 수 있는 연골의 양이 부족하기 때문에 비배 전체 길이를 듣우어 주기에는 부족하다. 그래서 양이 풍부한 자가늑연골이식을 이용해 보지만 이것도 수술 뒤에 뒤틀리거나 휘어져 변형될 수 있다.

유리연골막이식(free perichondrial graft)은 연골막의 연골생성(chondrogenesis) 잠재력을 이용하는데 이는 혈종으로 인해 박리된 이개 연골막으로부터 연골이 생성되어 양배추꽃이개(cauliflower ear)가 유발되며,¹ 늑연골막을 공여부에 남겨 두었을 때 연골이 생성되는 사실²로써 알 수 있다. 하지만 이 방법도 생성연

콜의 모양이나 재질이 불규칙한 단점이 있다.

이에 저자들은 연골을 공여부에서 직접 채취하지 않고, 원하는 윤곽을 가진 연골을 만들기 위해 생체 적합성이 우수하고 점차적으로 생체 안에서 흡수되는 정제된 산호(Biocoral®, Inoteb BP, Saint Gonney, France)를 형판으로 하고 이를 연골막판으로 싸서 연골막의 연골생성 능력과 결부시켜 보았다.

II. 재료 및 방법

실험 재료는 생후 5-7개월의 무게 2.5 kg 안팎의 백색 가토(New Zealand white rabbit) 12마리를 암수구별 없이 사용하였으며, 일주일간의 순응기간을 거

친 다음 수술하였다. 형판으로 사용한 정제된 산호는 자연산 산호로서 생체에 사용 가능하도록 며칠간 태양광에 건조시킨 다음 초음파로 처리하고 섭씨 131도에서 60분간 고압멸균시킨 것이다. 그 구성성분은 99%의 탄산칼슘(calciun carbonate)과 0.5-1%의 유기물질(아미노산)로 이루어져 있으며, 다공성 구조로서 술전에 조각하여 원하는 모양과 크기로 만들 수 있고, 생체 안에서 서서히 흡수되는 생물질이다.

실험방법은 수술하기 6시간 전부터 깊은 가토의 복강 안에 pentobarbital sodium(Entobar®, 20 mg/kg)을 주사하여 마취한 다음 고정기에 고정하고 이개와 배부의 털을 깎고 4% hibiclens 용액과 2% zephiran 용액으로 소독하여 무균상태로 만들어 실험하였다. 가

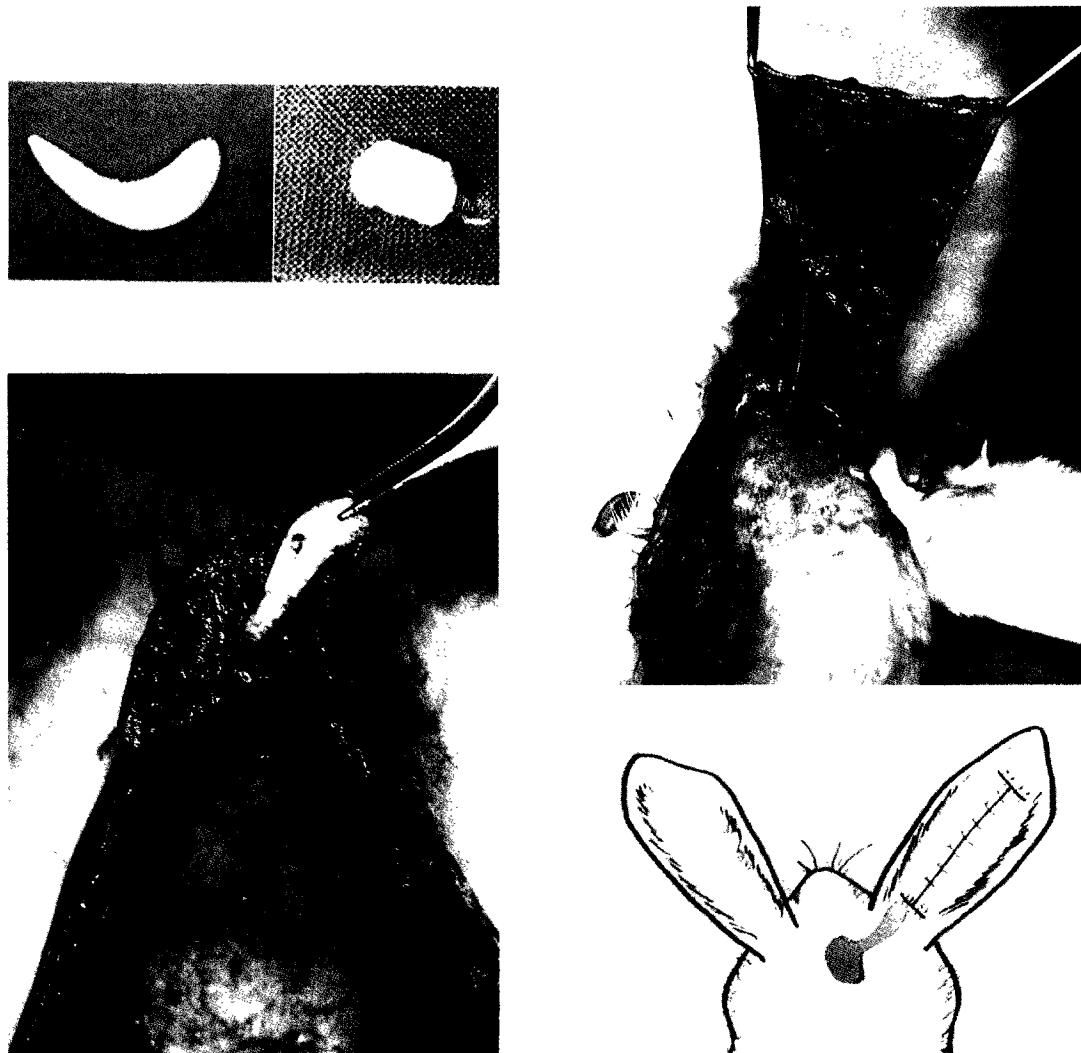


Fig. 1. Operative procedure. (Above, left) Two kinds of coral are shaped and sized to the proper dimensions preoperatively. (Above, right) An H-shaped skin incision is made on the rabbit's ear. Perichondrial flap is elevated. (Below, left) The coral is wrapped with perichondrial flap. (Below, right) The perichondrial flap-template complex is transposed and inserted under the panniculus carnosus of the back.



Fig. 2. Gross findings of the template-perichondrial flap, 8 weeks postoperatively. Newly-formed cartilage is seen through the perichondrial flap(arrow heads).

토 이개의 중심정맥을 축으로 하는 "H"자 모양의 절개선을 따라 피부를 절개한 뒤 피부 및 피하조직을 함께 연골막 상부로부터 박리하였다. 피판을 젖히고 이개의 기저부에 피관경(pedicle)이 위치하도록 연골막에 절개를 가한 다음 골막기자(periosteal elevator)를 이용하여 이개연골로부터 10 x 5 cm 크기의 연골막판을 말단부로부터 찢어지지 않도록 조심해서 일으켰다(Fig. 1. Above, left). 반달(n = 6, 45 x 19 x 4 mm)과 원판(n = 6, 24 x 33 x 2 mm) 모양으로 만들어진 2가지 형태의 산호를(Fig. 1. Above, right) 연골막판으로 감싼 다음(Fig. 1. Below, left) 5-0 견사로 봉합한 연골막판-형판 복합체를 배부로 전위 시켜 육상층(pannulus carnosus) 하방에 이식하였다(Fig. 1. Below, right). 창상을 생리식염수로 깨끗이 씻은 다음 5-0 나일론사로 피부절개를 봉합하였다. Penicillin G(150,000 unit/kg)를 수술 하루전부터 투여하기 시작하여 술후 5일간 매일 1회 근육주사하였으며, 이개 및 배부의 절개부를 매일 소독하였다. 실험기간중 실험동물의 상태는 양호하였으며, 술후 제3, 6 및 8주에 각각 4마리씩 pancuronium(Mioblock[®]) 1 ml를 근육주사하여 희생시킨 다음 각각 표본을 채취하여 먼저 육안적으로 연골 생성여부와 산호의 흡수정도를 관찰하였다. 표본을 10% formalin액에 고정시키고 탈회(decalcification)한 다음 통상적인 방법으로 파라핀 블록을 만들어서 4 - 6 μm 두께로 박절한 뒤 Hematoxylin-eosin 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. 신생연골의 두께는 1사람이 0.1 mm 까지 쟀 수 있는 눈금이 있는 광학현미경으로 3차례 계측하였다.

III. 결 과

마취중이나 수술후 또는 사육도중 사망한 토끼는 없

Table I. Incidence and Thickness of Neocartilage

Postoperative Day	Incidence of Neocartilage Formation	Mean thickness of Neocartilage
3 weeks	3 / 4	0.17 ± 0.12 mm
6 weeks	4 / 4	0.28 ± 0.15 mm
8 weeks	4 / 4	0.48 ± 0.10 mm

었다. 산호를 넣어 둔 자리가 텔에 가려서 외관상 잘 보이지는 않았으나 배부를 손으로 더듬어 보았을 때 잘 촉지 되었다. 연골막판-형판 복합체가 주위조직과 조금 유착되어 있었으나 표본을 채취하는데는 어려움이 없었다.

가. 육안적 소견

수술후 제 3주에 채취한 표본에서는 육안적으로 연골의 생성을 관찰할 수 없었으며 연골막을 통해 그 아래에 놓인 형판인 산호를 관찰할 수 있었다. 제 6주부터 연골로 생각되는 구조물이 연골막 아래에서 부분적으로 관찰되었으며 연골막을 통해 산호를 볼 수 없었다. 제 8주에 채취한 표본에서는 연골막 아래로 전반적으로 하얗게 보이는 연골이 형판의 윤곽대로 생성된 것이 관찰되었다(Fig. 2).

표본을 수직으로 절단하여 그 절단면을 보았을 때 시간이 경과함에 따라 연골막이 점차 두꺼워짐을 알 수 있었으며, 연골막과 산호 사이에 산호의 윤곽대로 연골신생이 이루어졌고, 그 두께는 제 8주 때 0.4 - 0.6 mm(평균 0.48 ± 0.10 mm)였다(Table I). 산호는 점차 흡수되어 원래 구조보다 성기어진 것을 관찰할 수 있었으나 제 8주 때에도 완전히 흡수되지는 않았다.

나. 조직학적 소견

제 3주의 소견은 연골막 아래로 핵이 큰 미성숙한

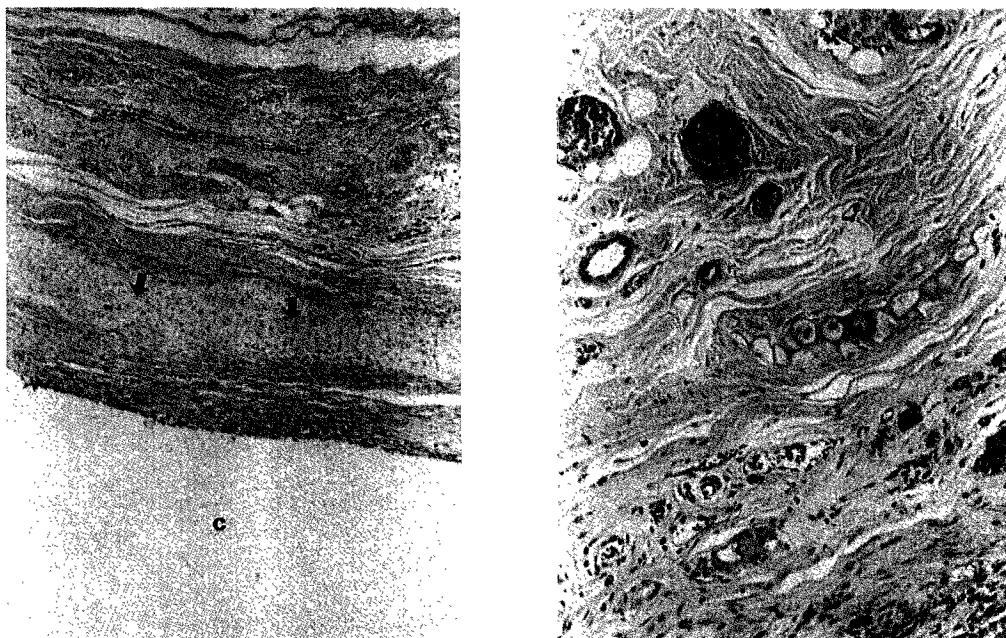


Fig. 3. Photomicrographs 3 weeks postoperatively. (Left) Newly-formed cartilage(arrows) shows pale stained immature cells(Hematoxylin-eosin stain, x 40). C, decalcified coral template. (Right) Numerous blood vessels and infiltrated monocytes are seen(Hematoxylin-eosin stain, x 100).

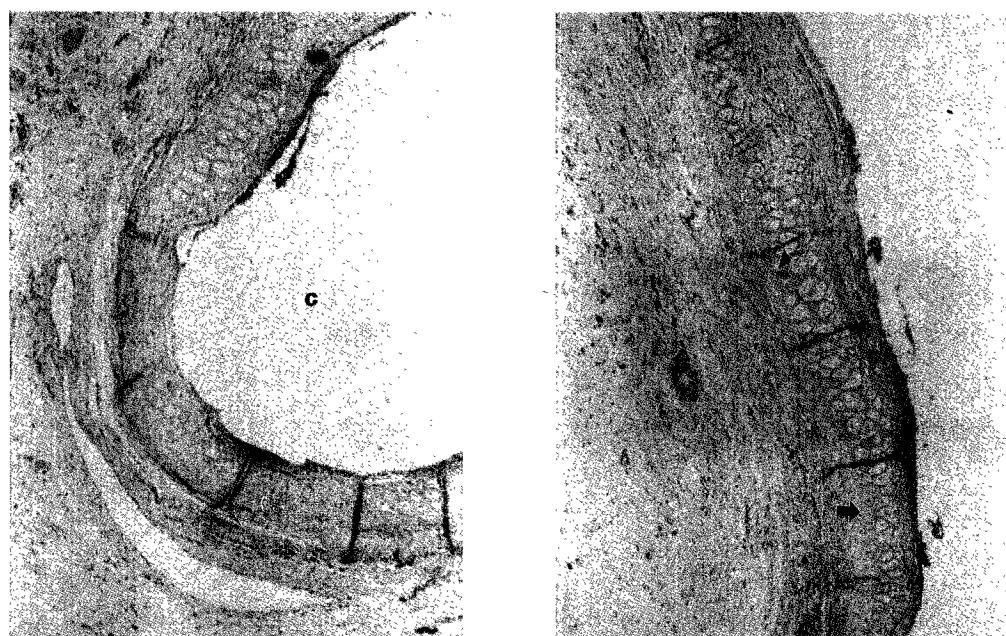


Fig. 4. Photomicrographs 6 weeks postoperatively. (Left) Neocartilage shows the same contour as that of the coral template(Hematoxylin-eosin stain, x 40). C, decalcified coral template. (Right) Immature (arrow) and mature chondrocytes (arrow head) beneath the perichondrium are seen(Hematoxylin-eosin stain, x 100).

연골이 형성된 것을 관찰할 수 있었고, 그 주위로 신생혈관이 많이 증식되어 자라 들어와 있었으며, 단핵구(monocyte)가 침윤되어 염증소견을 보이는 육아조직(granulation tissue)이 관찰되었다(Fig. 3). 신생연골의 두께는 0.1 - 0.3 mm(평균 0.17 ± 0.12 mm)

였다.

제 6주의 소견은 형판으로 사용한 산호와 같은 윤곽으로 생성된 연골에서 세포질은 커지고 핵은 점차 작아져서 핵과 세포질의 비율(nucleus/cytoplasm ratio)이 작아진 양상을 보였으며, 제 3주 때 소견보다 연

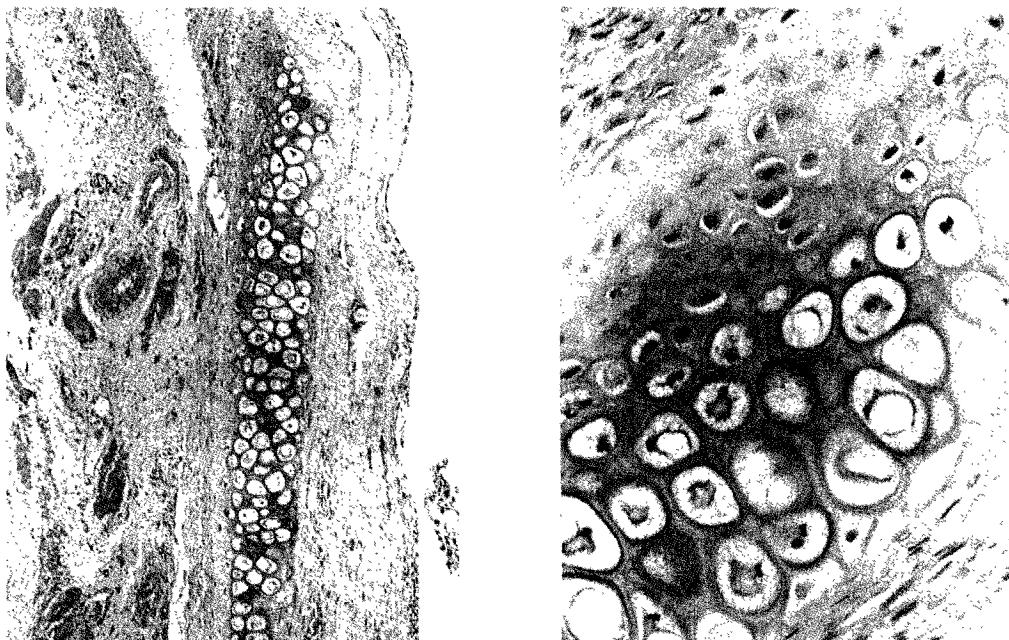


Fig. 5. Photomicrographs 8 weeks postoperatively. (Left) Deep stained mature neochondrocytes are seen(Hematoxylin-eosin stain, x 40). (Right) The cartilage shows mature appearance with large lacunae containing small nuclei(Hematoxylin-eosin stain, x 100).

골이 좀더 성숙해 졌으며(Fig. 4), 두께는 0.2 - 0.5 mm(평균 0.28 ± 0.15 mm)였다. 여전히 혈관은 증식되어 있었으나 염증소견은 관찰되지 않았다. 신생된 연골의 연골세포는 연골막 쪽으로 갈수록 미성숙한 세포가 관찰되어 연골막으로부터 세포가 생성됨을 추측할 수 있었다.

제 8주째 소견은 비후된 연골막 아래로 핵이 놓축되어 완전히 성숙된 여러개의 연골세포를 관찰할 수 있었으며(Fig. 5), 성숙된 신생연골의 두께는 0.4 - 0.6 mm(평균 0.48 ± 0.10 mm)였다.

이상과 같이 제 3주에 연골막 아래로 미성숙한 연골세포가 나타나서 점차 성숙되어 8주에 완전히 성숙한 연골세포로 분화됨을 알 수 있었다.

IV. 고 찰

연골막은 연골형성 잠재력을 갖고 있다. 이는 1959년 Lester²가 늑연골을 연골막하 절제하고 공여부에 연골막을 남겨두었을 때 연골막으로부터 연골이 생성됨을 발견하였고, Skoog 등¹이 양배추꽃이개(cauliflower ear)가 혈종에 의해 변위된 연골막이 연골과의 접촉 저지(contact inhibition)를 상실함으로써 연골막으로부터 연골이 과잉증식하여 발생한다는 것을 밝힘으로써 증명되었다. 그후 Sohn과 Ohlsen³은 연골막의 연골생성 능력을 이용하여 유리연골막이식으로써 기관

(trachea)을 재건하였고, Engkvist 등⁴은 관절을 재건하였다. 연골막을 이용한 이개재건은 Brent⁵와 Ohlsen 등⁶에 의해 시도되었다. 이식한 연골막에서 연골이 생성되는 기전은 연골막에서 먼저 부가성장(appositional growth)이 일어나서 새로운 연골세포가 생기며 이어서 세포분열이 증가하여 간질성장(interstitial growth)이 일어남으로써 이루어진다.³ 그러나 유리연골막이식에 의한 신생연골은 그 모양이나 재질이 불규칙하여서 만족스럽지 못하였다. 한편 이개재건이나 음비술에 많이 쓰이는 자가늑연골이식도 늑연골을 조각하는데 어려움이 있고, 뒤틀림이 심하며, 이개연골과 같은 탄력성을 얻을 수가 없을 뿐만 아니라 공여부에 반흔이나 변형을 남기는 단점이 있다.

저자들은 산호를 형판으로 이용하여 연골막으로부터 원하는 윤곽의 연골구조를 얻고자 하였다. 과거에도 형판을 이용한 연골생성의 시도는 있었다. 기관을 재건하기 위해 이형성형물(alloplastic material)인 Plastiopore⁷나 이종삽입물(xenoimplant)인 hydroxyapatite⁸를 형판으로 이용하였지만 이런 물질들은 흡수되지 않기 때문에 성장기에 사용했을 때 주위 구조물은 자라는 데도 형판은 자라지 않기 때문에 협착이 생겼으며 주위조직과 잘 융합되지 못할 경우 안정성에 문제를 나타내었다. 또 이종훈 등⁹은 실리콘 고무를 형판으로 이용하여 연골막으로부터 이개연골을 얻었으나 이것도 흡수가 되지 않으므로 나중

에 형판을 제거해 줘야하는 단점이 있었다.

Bean 등¹⁰은 생체 안에서 흡수되는 다공성 물질인 탈광물우형골기질(dimineralized bovine bone matrix, DBBM)을 이개의 연골막판으로 싸서 기관지에 복합이식(composite graft)했을 때 8주 뒤에 DBBM이 완전히 새로 생긴 연골로 전환되었음을 보고하였다. 저자는 형판으로 정제된 산호를 사용하였는데, 이는 자연산 산호(natural coral)를 여러 단계의 정제과정을 통해 생물질(biomaterial)로 전환시킨 것으로서 생체적합성이 우수하고, 생체 안에서 흡수되며, 필요에 따라 여러 가지 모양으로 만들어 사용할 수 있다. 원래 산호는 골 대용물질로 사용하던 것으로서 다공성 구조(multiple pore structure)인데 구멍의 직경은 230 μ 정도이다. 구멍의 양상에 따라 각각 지주골(trabecular bone)의 구조를 가진 것과 치밀골(compact bone)과 비슷한 구조를 가진 것으로 나눌 수 있다.^{11,12} 산호가 생체 안에서 흡수되는 것은 효소반응 즉 탄산탈수효소(carbonic anhydrase)의 작용에 의한다.^{11,12} Guillemain 등¹¹은 실험동물의 부분적 골 결손을 산호로 이식했을 때 술후 6-8주에 새로 생긴 골로 완전히 대치된다고 하였다. Roux 등¹²은 다공성 구조의 산호를 두개성형술(cranioplasty)에 적용했을 때 술후 8-10개월에 부피가 현저하게 줄어들어 1년 뒤에는 50% 정도가 완전히 흡수되었으며, 나머지 50%는 부분적으로 흡수되어 골로 치환되었으나 삽입한 산호의 부피가 큰 경우에는 술후 1년 뒤에도 40% 정도만 흡수된다고 하였다. 또 이런 흡수 정도의 차이는 이식한 산호의 부피나 이식한 위치 등에 따라 결정된다고 하였다. 본 실험에서는 술후 8주에도 산호가 완전히 흡수되지 않았는데, 이는 너무 크고 두꺼운 산호를 사용하기 때문으로 생각되며, 산호를 보다 얇게 가공해서 사용하면 이런 문제는 해결될 수 있을 것으로 생각된다. 본 실험에서 생성된 연골의 두께는 제 8주째에 0.4 ~ 0.6 mm 정도로 관찰되었는데, Ohlsen¹³의하면 연골막을 이식한지 2주에 두께가 2 mm 정도로 정상연골보다 오히려 1.5배 정도 두껍지만 7주에 연골이 성숙되면서 정상연골의 두께가 된다고 하였다. 저자들은 혈액순환을 원활히 하고 감염을 방지하기 위해 혈관경을 가진 연골막판을 이식하였다. Bean 등¹⁰은 유리이식보다 혈관경을 가진 연골막판이 보다 많은 연골을 생성한다고 하였는데, 그 까닭은 유리이식 때에는 혈액순환이 불충분하여 대사가 원활하지 못하고 세포가 괴사되어 생성능력이 감소되기 때문이라고 하였다. 그러나 Donski와 O'Brien¹⁴은 어떤 방법이든 연골재생의 정도에는 큰 차이가 없다고 하였

고, Hartig 등¹⁵도 유리연골막이 급속히 신생혈관화(neovascularization)되기 때문에 차이가 없다고 하였다. 실제로 피판경을 가진 연골막판을 이용하기에는 피판의 크기나 위치선정에 제약이 많기 때문에 이개에서 연골막을 필요한 만큼 떼어 산호형판과 함께 유리복합이식을 하는 것이 실제 임상에 적용하기에는 더 적합할 것으로 생각된다.

이상과 같이 정제된 산호를 형판으로 사용해서 연골막판이나 유리연골막과 같이 복합이식하면 이개결손이나 기형의 재건, 기관재건, 비변형 및 검판결손 등의 연골재건에서 한 차례의 수술로 원래의 해부학적인 구조를 가진 연골을 만들 수 있을 것으로 기대된다.

V. 결 론

생체적합성이 우수하고 점차 흡수되는 정제된 산호를 가토 이개로부터 일으킨 연골막판으로 싸서 배부에 복합이식 하였을 때 산호는 점차 흡수되면서 연골막으로부터 생성된 연골로 대체되어 형판 윤곽과 같은 모양의 연골을 얻을 수 있었다. 이를 임상에 적용하면 결손된 연골의 해부학적 구조에 맞도록 형판을 제작하고 이 형판을 연골막판으로 싸서 이식하면 결손부와 같은 윤곽과 모양을 가지는 연골을 얻을 수 있고, 또 형판을 제거할 필요가 없기 때문에 한 차례 수술로 재건이 가능하여 환자에게 경제적으로나 정신적으로 도움을 줄 것으로 생각된다.

References

1. Skoog T, Ohlsen L, Sohn SA: Perichondrial potential for cartilagenous regeneration. *Scand J Plast Reconstr Surg* 6: 123, 1972
2. Lester CW: Tissue replacement after subperichondrial resection of costal cartilage: Two case reports. *Plast Reconstr Surg* 23: 49, 1959
3. Sohn SA, Ohlsen L: Growth of cartilage from a free perichondrial graft placed across a defect in a rabbit's trachea. *Plast Reconstr Surg* 53: 55, 1974
4. Engkvist O, Johansson SH, Ohlsen L, Skoog T: Reconstruction of the articular cartilage using autologous perichondrial grafts: a preliminary report. *Scand J Plast Reconstr Surg* 9: 203, 1975
5. Brent B: The Acquired auricular deformity: a systematic approach to its analysis and reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 59: 475, 1977

6. Ohlsen L: Cartilage regeneration from perichondrium: experimental studies and clinical applications. *Plast Reconstr Surg* 62: 507, 1978
7. Joachims HZ, Ben Arie J, Schokat S, Goldsher M, Eliachar I: Plastipore in reconstruction of the laryngotracheal complex. *Acta Otolaryngol* 199: 167, 1984
8. Hirano M, Yashida T, Sakaguchi S: Hydroxyapatite for laryngotracheal framework reconstruction. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 98: 713, 1989
9. Lee JH, Cho KS, Song JY: An experimental study of auricular cartilage framework formation by perichondrial graft and flap. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 24: 284, 1997
10. Bean JK, Verwoerd-Verhoeven HL, Verwoerd CDA: Reconstruction of the anterior laryngeal wall with a composite graft of Demineralized Bovine Bone Matrix and autogenous perichondrium. *Acta Otolaryngol* 56: 224, 1994
11. Guillemin G, Fournie J, Chetail M: The use of coral as a bone graft substitute. *J Biomed Mater Res* 21: 557, 1987
12. Roux FX, Brasnu D, Loty B, George B, Guillemin G: Madreporic coral: a new bone graft substitute for cranial surgery. *J Neurosurg* 69: 510, 1988
13. Ohlsen L: Cartilage formation from free perichondrial grafts: an experimental study in rabbits. *Br J Plast Surg* 29: 262, 1976
14. Donski P, O'Brien BM: Perichondrial microvascular free transfer: an experimental study in rabbits. *Br J Plast Surg* 33: 46, 1989
15. Hartig GK, Esclamado RM, Telian SA: Chondrogenesis by free and vascularized rabbit auricular perichondrium. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 103: 901, 1994