

## 연골막하 연골 결손부에 삽입한 제 1형 아교질 지지체의 연골 재생 효과

이혁구<sup>1</sup> · 손대구<sup>1</sup> · 한기환<sup>1</sup> · 김준형<sup>1</sup> · 이소영<sup>2</sup>

계명대학교 의과대학 성형외과학교실<sup>1</sup>, 재활의학교실<sup>2</sup>

### Chondrogenic Effect of Transplanted Type I Collagen Scaffold within Subperichondrial Cartilage Defect

Hyuk Gu Lee, M.D.<sup>1</sup>, Dae Gu Son, M.D.<sup>1</sup>,  
Ki Hwan Han, M.D.<sup>1</sup>, Jun Hyung Kim, M.D.<sup>1</sup>,  
So Young Lee, M.D.<sup>2</sup>

Department of <sup>1</sup>Plastic and Reconstructive Surgery,  
<sup>2</sup>Rehabilitation Medicine, Keimyung University School of  
Medicine, Daegu, Korea

The purpose of this research is to find out the degree of cartilage regeneration by inserting the atelo-collagen scaffold obtained from dermis of a calf on cartilage defect site. Dissection underneath the perichondrium by the periosteal elevator on both side of ears of six New Zealand white rabbits were made to expose the cartilage, leaving pairs of circular holes 3, 6, 9 mm width with punches. One hole was left for a control, and on the other hole atelo-collagen scaffold of the same size was transplanted. In postoperative 1, 2, 4 weeks, the tissues were dyed. The length of long axis of neocartilage was measured through an optical microscope with a 0.1 mm graduation at original magnification,  $\times 40$ . In the first and second week, both group showed no sign of cartilage regeneration. In the fourth week, regeneration on marginal portions was observed on all groups and the average values of length of long axis of neocartilage according to defect size were as follows: In the cases with 3 mm defect, it was  $0.85 \pm 0.30$  mm in the control group, and  $1.85 \pm 0.38$  mm in the graft group; in the cases with 6 mm defect,  $1.33 \pm 0.58$  mm in the control group, and  $2.25 \pm 0.46$  mm in the graft group; and in the cases with 9 mm defect,  $2.33 \pm 0.77$  mm in the control group, and  $4.47 \pm 1.39$  mm in the graft group. This means that the collagen scaffold has an influence on the regeneration of neocartilage. But the relative ratio

of the length of neocartilage to cartilage defect size was not significant in the statistics.

**Key Words:** Perichondrium, Collagen scaffold, Cartilage regeneration

### I. 서 론

비만곡증 교정에 이용되는 수술 중의 하나인 점막하비 중격절제술(submucosal resection, SMR)로 연골의 일부를 제거하거나 코미용수술을 위하여 비중격에서 연골을 채취하는 경우가 많다. 충분한 양을 얻기 위하여 비중격의 배부와 미부에 연골지지대를 조금만 남기게 되거나 공여부에 상처를 남기게 되면 이에 따른 문제가 생기지 않을까 염려하게 된다. 남겨진 연골막에서 어느 정도의 연골이 재생된다고는 하지만 그 정도가 미미하여 염려를 들어주지는 못한다. 이때 간단한 지지체를 연골 결손부에 이식하여 지지에 필요한 정도의 연골이 재생된다면 비중격 원래의 버팀 역할을 할 수 있을 뿐만 아니라 미용적으로도 훨씬 더 나은 결과를 얻을 수 있을 것이다.

성장 후에 외상 등으로 연골에 결손이 발생하면 연골막은 그 기능을 재개하여 연골막의 가장 안쪽에 있는 내측연골막에서 연골막세포(perichondrial cell)가 성숙한 연골세포(chondrocyte)로 분화하고 이 세포가 기질을 만들어 결손을 메움으로써 치유된다. 또한 기질은 연골막에서 연골세포의 분화를 유도하여 연골을 재생하게 하는 중요한 역할을 하는 것으로 생각되는데, fibrin glue,<sup>1</sup> PLGA,<sup>2,3</sup> demineralized bone matrix 등<sup>4,5</sup>과 같은 지지체를 이용하여 연골을 재생시키고자하는 연구들이 많이 있었다. 연골의 세포 외기질(extracellular matrix, ECM)은 주로 아교질과 글리코스아미노글리칸(glycosaminoglycan)으로 구성되어 있으므로 Ponticiello 등<sup>6</sup>은 연골 재생에 있어서 중간엽줄기세포(mesenchymal stem cell)의 전달체로 흡수성 아교질 스폰지인 Gelfoam을 이용하였고, Ueki 등<sup>3</sup>은 가토에서 연골을 포함한 악관절 돌기 절제 후 아교질 스폰지를 이용하여 골과 연골조직을 재생시키는 실험을 하였다.

본 연구의 목표는 토끼의 귀에 크기를 달리하는 연골 결손을 만든 다음에, 송아지 진피를 원료로 항원성을 낮춘

Received February 1, 2005

Revised April 22, 2005

Address Correspondence: Dae Gu Son, M.D., Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Keimyung University School of Medicine, 194 Dongsan-dong, Choong-gu, Daegu 700-712, Korea. Tel: 053) 250-7636 / Fax: 053) 255-0632 / E-mail: handson@dsmc.or.kr

\* 본 논문은 제 57차 대한성형외과학회 춘계학술대회에서 구연 발표되었음.

atelo-collagen을 지지체로 이용하여 연골막으로부터 연골 세포를 유도하여 연골을 재생하고자 하는 것이다.

## II. 재료 및 방법

### 가. 실험재료

실험 동물로 이용한 토끼는 2-3개월 수령에 2-3 kg의 체중으로 피부질환을 가지지 않고 귀가 몸체에 비해 상대적으로 큰 백색 토끼(New Zealand white rabbit) 18마리를 암수 구별 없이 이용하였다. 실험 일주일 전에 사육장에서 실험실로 옮겨서 이동에 따른 스트레스를 줄였으며, 표준화된 토끼사료(해표사료, 한국)를 먹였고, 물은 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다. 사육 환경은 1기압, 20-23 °C, 65%의 습도를 유지하였으며, 반나절은 불을 켜두었고 다른 반나절에는 불을 꺼서 일내변동을 만들어 주었다.

### 나. 아교질 지지체의 제작

#### 1) Atelo-collagen 용액의 추출

연골 결손부위에 이식할 아교질 지지체를 만들기 위해 생후 6개월 이내의 송아지에서 전층 피부를 채취한 다음 제모기를 이용하여 털을 제거하고 정제수를 이용해서 10회 이상 세척하여 혈흔을 제거한 후 70% EtOH 속에 넣고 6°C에서 1일 이상 두는 방법으로 전층 피부 표면을 살균하였다. 피부채취기(Dermatome<sup>®</sup>; Wimmer, Germany)를 이용하여 표피층을 제거하고 진피층만을 얻었다. 이것을 직경 5-10 mm로 세절한 다음 HCl과 정제수를 이용하여 제조한 pH 2인 용액에 가죽의 건조중량 0.1에 해당하는 펫신을 넣어서 혼합한 후 20°C에서 1주일간 교반하여 atelo-collagen을 추출하였다.

#### 2) Atelo-collagen 용액의 정제

추출된 아교질에 2 M NaCl을 처리하여 3시간 이상 교반한 다음 20분간 6000 rpm으로 원심분리하여 압착결정(pellet)을 모았다. 이렇게 모인 압착결정을 pH 7.4인 1 M NaCl/0.05 M Tris에 녹인 후 16시간 이상 교반한 후 60분간 3500 rpm으로 원심 분리하여 상층액을 모았다. 상층액에 4 M NaCl을 침가하여 3시간 이상 염석처리를 하고 20분간 6000 rpm으로 원심 분리하여 압착결정을 회수하였다. 회수한 압착결정을 pH 2.0 HCl에 녹인 후 2 M NaCl을 처리하여 3시간 이상 교반한 다음 20분간 6000 rpm으로 원심 분리하여 압착결정을 모은 후 적당량의 pH 2인 HCl에 1일간 녹였다. 녹인 콜라겐 용액을 투석관(dialysis tube)에 넣어서 투석시킨 다음 회수하고 pH 3으로 적정한 후 0.2 μm로 제균여과 하여 최종적으로 약 0.5%의 atelo-collagen을 얻었다. 모든 추출 및 정제의 과정은

10°C 이하의 무균 조건에서 시행되었다.

#### 3) 아교질 지지체의 제조

정제된 0.5% atelo-collagen을 원료로 하여 4°C에서 5분간 1500 rpm으로 교반하여 크림형태가 된 용액을 6 well plate에 붓고 -80°C에서 12시간 이상 동결시킨 후에 동결건조기를 이용해 48시간 이상 건조시켰다.

#### 4) 아교질 지지체의 가교

동결건조된 아교질 지지체를 병에 넣어서 진공오븐에서 0.3 mmHg 이하의 진공으로 110°C에서 72시간동안 dehydrothermal(DHT) 처리하여 물리적 가교 공정을 실시하였다. 이후에 다시 한번 -80°C의 deep freezer에서 12시간 이상 동결시킨 후에 동결건조기를 이용해 48시간이상 건조시킨 다음 원형 펀치를 이용하여 직경 3 mm, 6 mm, 9 mm 크기로 절단하였다(Fig. 1).

제조된 아교질 지지체는 각각 통기성 재질로 밀봉 포장을 한 다음 멸균을 위해 ethylene oxide(EO) gas로 살균한 후 실험 전까지 1주일이상 보관하였다.

### 다. 실험 방법

#### 1) 연골 결손의 구현

토끼의 복강 내에 ketamine HCl(Ketalar<sup>®</sup>; 유한양행, 한국) 2 mg/kg을 주사하여 마취하였다. Glucuronic acid chlorhexidine(Microshield<sup>®</sup>; Johnson & Johnson, USA)액을 적신 거즈로 양측 귀를 닦고 수술용 10번 칼로 털을 제거한 후 povidone-iodine으로 소독하였다. 한쪽 귀에는 지름 3 mm, 6 mm 크기로, 그리고 반대측 귀에는 지름 9 mm 크기로 디자인하였다(Fig. 2). 연골에는 손상을 가하지 않도록 15번 칼로 피부와 연골막을 절개하였으며 연골막이

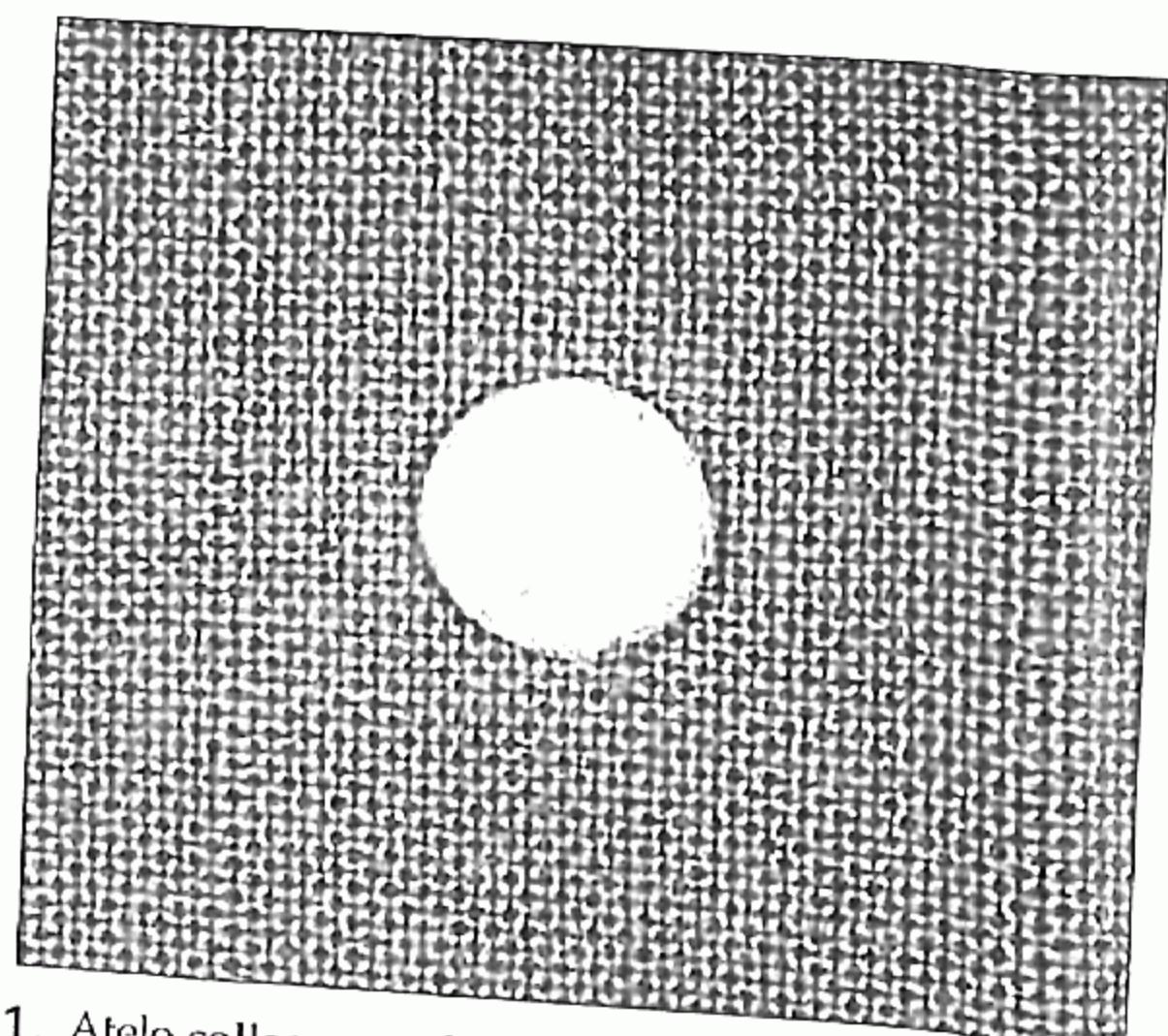


Fig. 1. Atelo-collagen scaffold derived from bovine dermis.

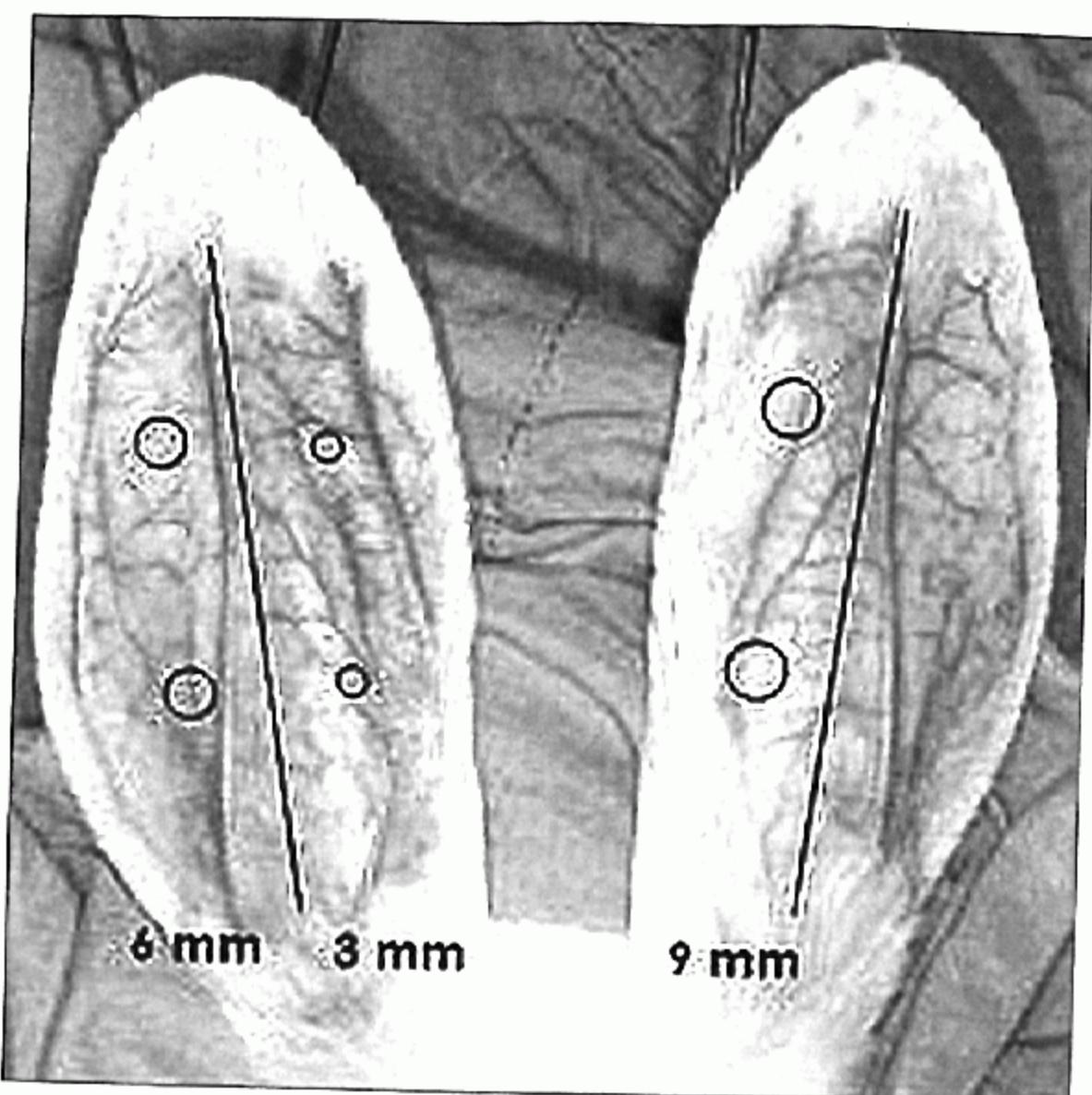


Fig. 2. The design of operation on upper area(graft group) and lower area(control group) of dorsal side of rabbit ear according to the defect size of cartilage.

찢어지지 않도록 조심해서 골막기자(periosteal elevator)로 연골막을 일으켰다. 연골을 노출시킨 후 한쪽 귀에 원형 편치를 이용하여 지름 3 mm, 6 mm 크기로 연골을 이식군과 대조군으로 하기 위하여 각각 2개씩 절제해 내어 연골 결손을 만들었다. 이때 맞은편에 붙어있는 연골막을 손상하지 않고 그대로 잘 유지하도록 조심하였다. 반대측에도 직경 9 mm 크기의 결손을 2개 만들었다. 양측 귀의 연골 결손 부위에 위쪽은 결손의 크기와 동일한 atelo-collagen 지지체를 이식하고 vicryl 8-0로 고정하여 이식군으로 정하였으며, 아래쪽은 이식하지 않고 그냥 두어 대조군으로 정하였다. 피부와 연골막을 제자리로 돌려 수술 부위를 덮고 nylon 5-0로 봉합함으로써 지지체가 연골막과 접하도록 하였다(Fig. 3). 장상감염을 방지하기 위해 수술 당일, 술후 5일 간격으로 항생제(ceftazol sodium) 15 mg/kg을 엉덩이에 주사하였으며, 수술 부위는 매일 소독하였다.

## 2) 생검

이식한 후 1주일, 2주일, 4주일째에 vecuronium bromide (Vecaron<sup>®</sup>; 이연제약, 한국) 4 mg으로 안락사를 시킨 다음 연골 결손 부위에서 5 mm 가량의 정상 연골을 포함하여 생검하였다. 생검을 하여 얻은 조직은 10% 중성완충포름알데하이드액(neutral buffered formaldehyde)에 넣어 고정하였다.

## 3) 조직학적 관찰

헤마-톡실린-에오신염색(hematoxylin and eosin stain) 및 알시안 블루염색(alcian blue stain)을 한 다음 광학현미

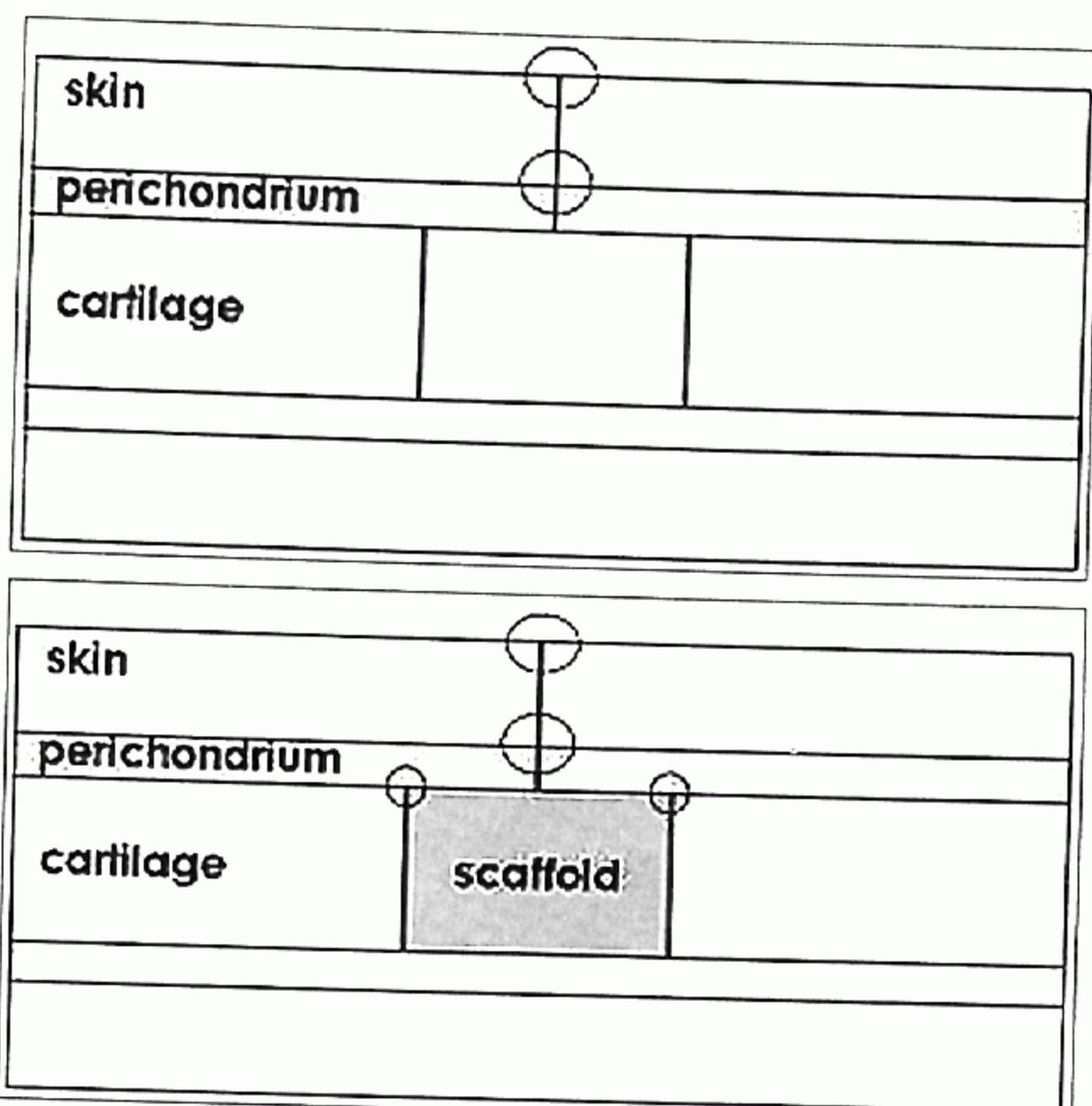


Fig. 3. Difference between operation of control group (Above) and graft group (Below).

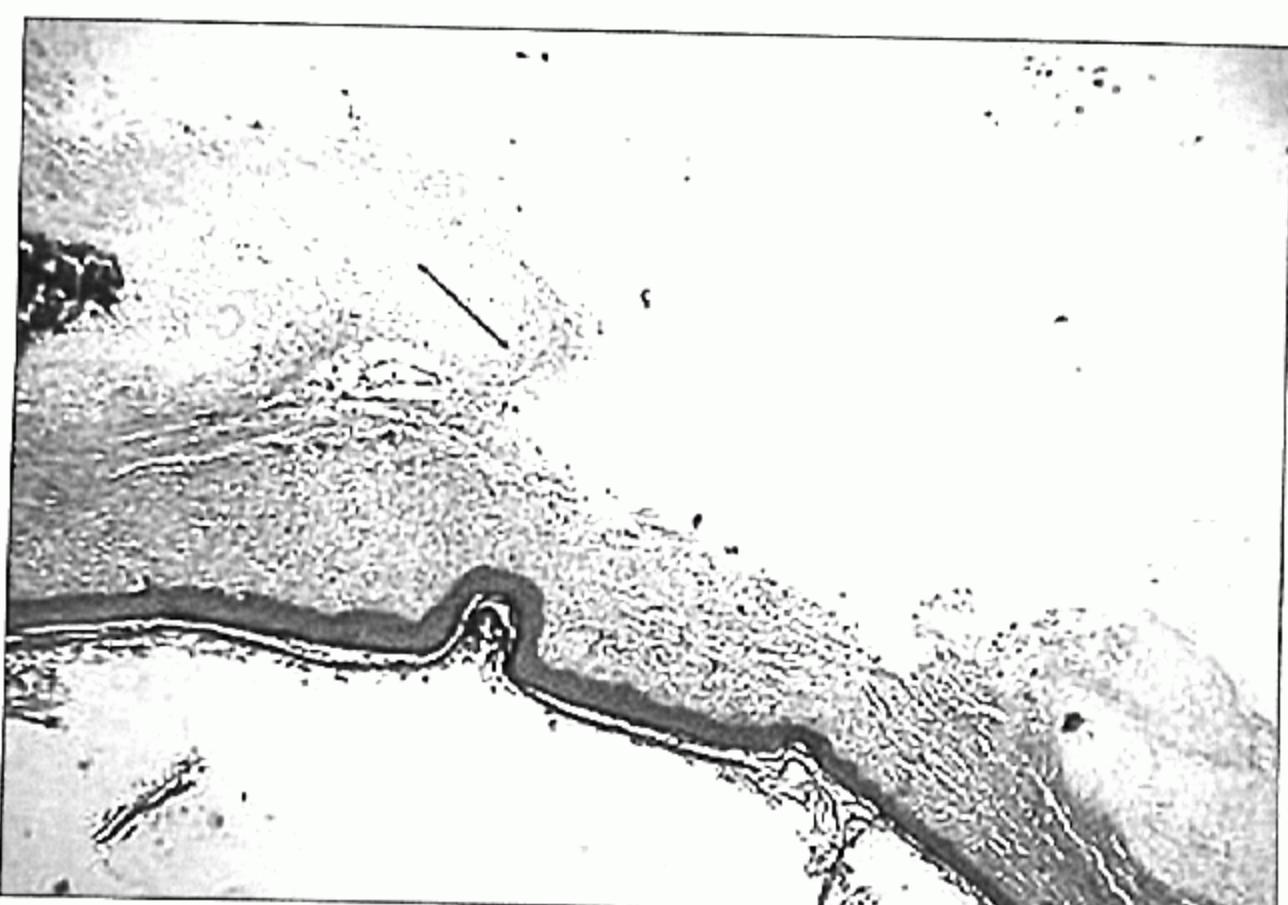


Fig. 4. The measurement of long axis of neocartilage (H & E stain,  $\times 40$ ).

경으로 연골 생성 정도를 관찰하였다. 조직학적 관찰은 피부병리학자에 의해서 행해졌다.

## 4) 신생연골 길이측정

4주째 생검한 검체당 다섯 개의 절편을 선택하여 0.1 mm 단위의 눈금이 달린 광학현미경의 40배율에서 신생연골의 장축 길이를 측정하였다. 최대값과 최소값을 제외한 나머지를 평균한 값을 최종값으로 하였다(Fig. 4).

## 라. 통계처리

객관적인 평가를 위하여 대조군과 이식군간에 재생된 연골의 길이의 유의성을 Mann-Whitney U test로, 서로 다

른 연골 결손 면적에서 신생연골의 길이의 유의성을 일원 분산분석법(analysis of variance, ANOVA)으로 서로 비교하여 알아보았다. 그리고 사후검정을 위해 Tukey HSD를, 자료처리는 통계처리전문프로그램인 SPSS(statistical package for the social science) WIN 11.0을 사용하였다. 통계적 유의수준은 P값이 0.05 미만으로 하였다.

### III. 결 과

#### 가. 동물 실험의 조직학적 관찰소견

각 실험시기(1, 2, 4주) 마다 여섯 마리씩 한 마리 당 6개의 조직을 생검하여 총 108개의 조직표본을 얻었다. 실험 중이나 사육도중 사망한 토끼 및 수술 부위에 육안적인 감염소견을 보인 토끼는 성격 대상에서 제외시키고 추가로 실험을 하였다. 광학현미경상 1주와 2주의 실험에서는 이식군이나 대조군에서 모두 연골 재생이 이루어지지 않았다(Fig. 5, 6).

4주째의 대조군에서는 결손 주변에서 연골 재생이 관찰되었지만 지지체를 이식한 군에 비교하면 적고, 형태도 더 불규칙하였다. 이식군에서는 지지체 내와 결손 주변에서 연골 재생이 많이 관찰되었으며 대조군에 비해서 신생연골의 배열이 규칙적이었으며 양도 많았다(Fig. 7, 8). 그러나 3 mm의 결손에서는 대조군과 이식군 모두에서 완전히

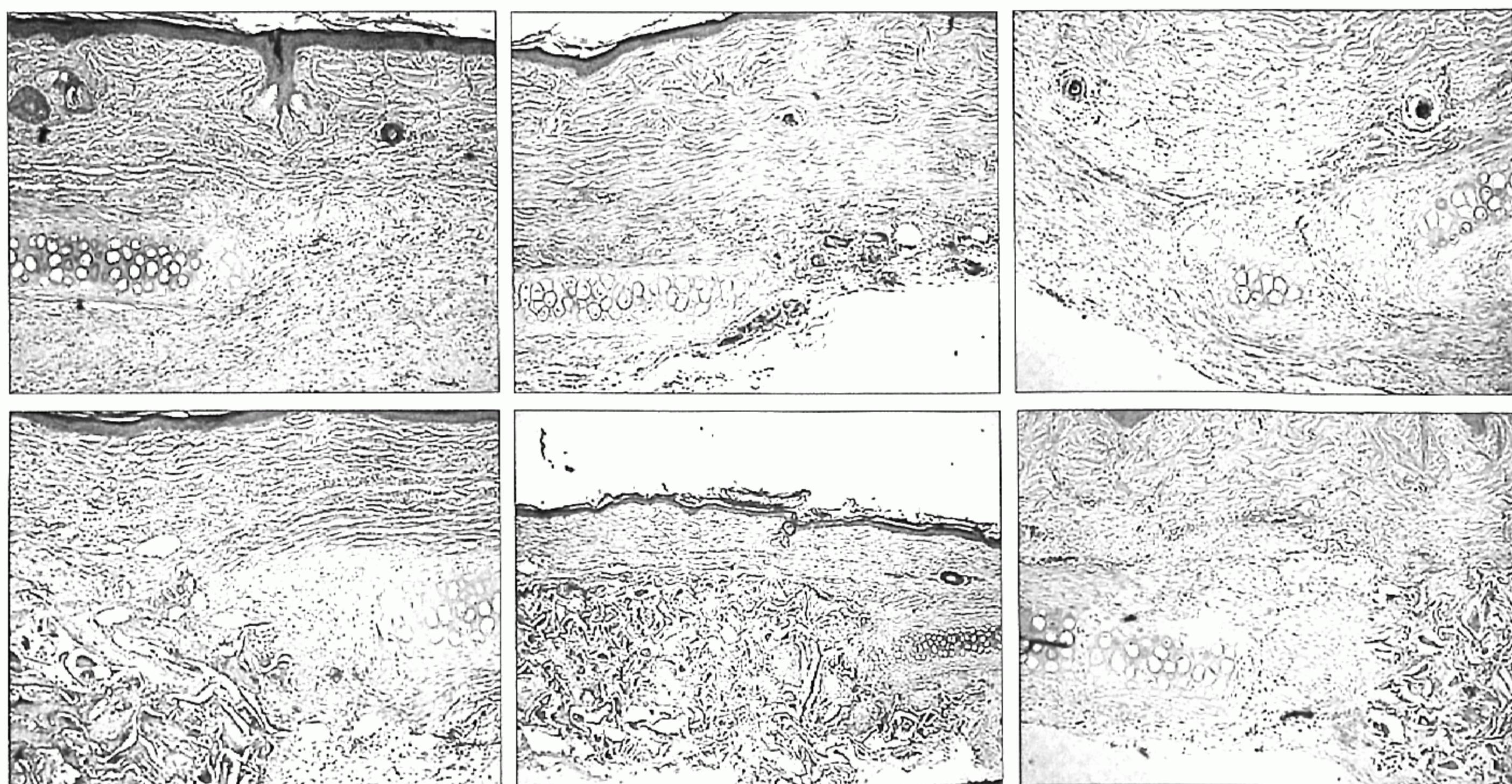
결손을 메우지는 못하였다.

#### 나. 연골 결손 크기에 따른 연골의 재생

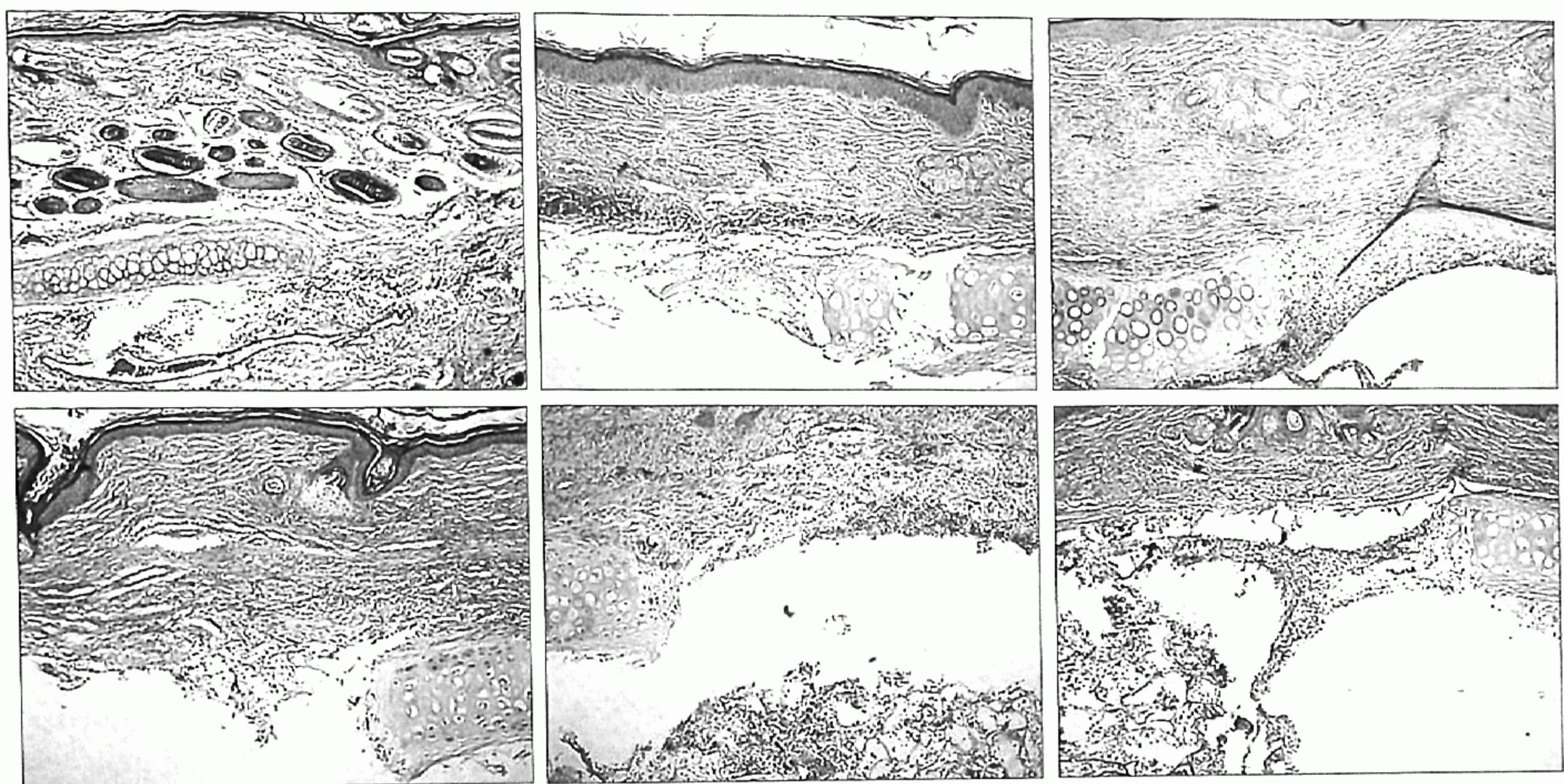
각 결손 크기에 따른 신생연골의 길이 측정치는 3 mm의 결손에는 대조군에서는 평균값이  $0.85 \pm 0.30$  mm, 이식군에서는  $1.85 \pm 0.38$  mm였고, 6 mm의 결손에는 대조군에서는 평균값이  $1.33 \pm 0.58$  mm, 이식군에서는  $2.25 \pm 0.46$  mm, 그리고 9 mm의 결손에는 대조군에서는 평균값이  $2.33 \pm 0.77$  mm, 이식군에서는  $4.47 \pm 1.39$  mm로 측정되었다. 그리고 결손 크기에 따른 측정된 신생연골 길이의 상대적인 비율을 계산하였는데, 3 mm의 결손에는 대조군에서는 평균값이  $28 \pm 10\%$ , 이식군에서는  $65 \pm 18\%$ 였고, 6 mm의 결손에는 대조군에서는 평균값이  $29 \pm 8\%$ , 이식군에서는  $37 \pm 7\%$ , 그리고 9 mm의 결손에는 대조군에서는 평균값이  $26 \pm 9\%$ , 이식군에서는  $50 \pm 15\%$ 로 측정되었다. 통계학적 검증으로 대조군간에는 유의한 차이가 없었지만, 이식군간에서는 연골 결손이 3 mm와 6 mm 사이에만 유의한 차이가 보였으며 9 mm와 다른 결손 면적간에는 유의한 차이가 보이지 않았다( $p < 0.05$ )(Table I, Fig. 9).

### IV. 고 칠

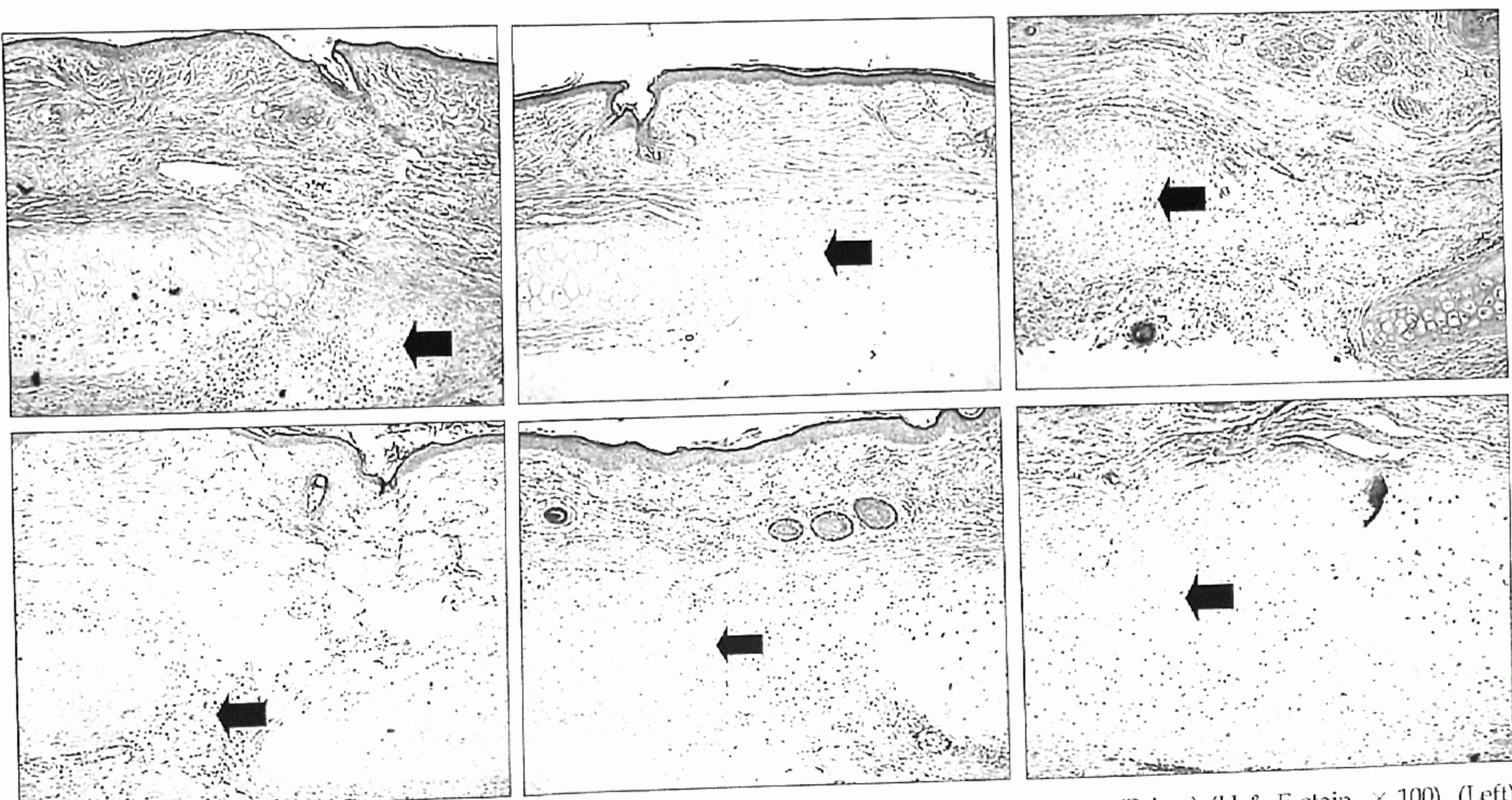
성형외과 영역에서 응비술 등의 미용 수술이나 소이증



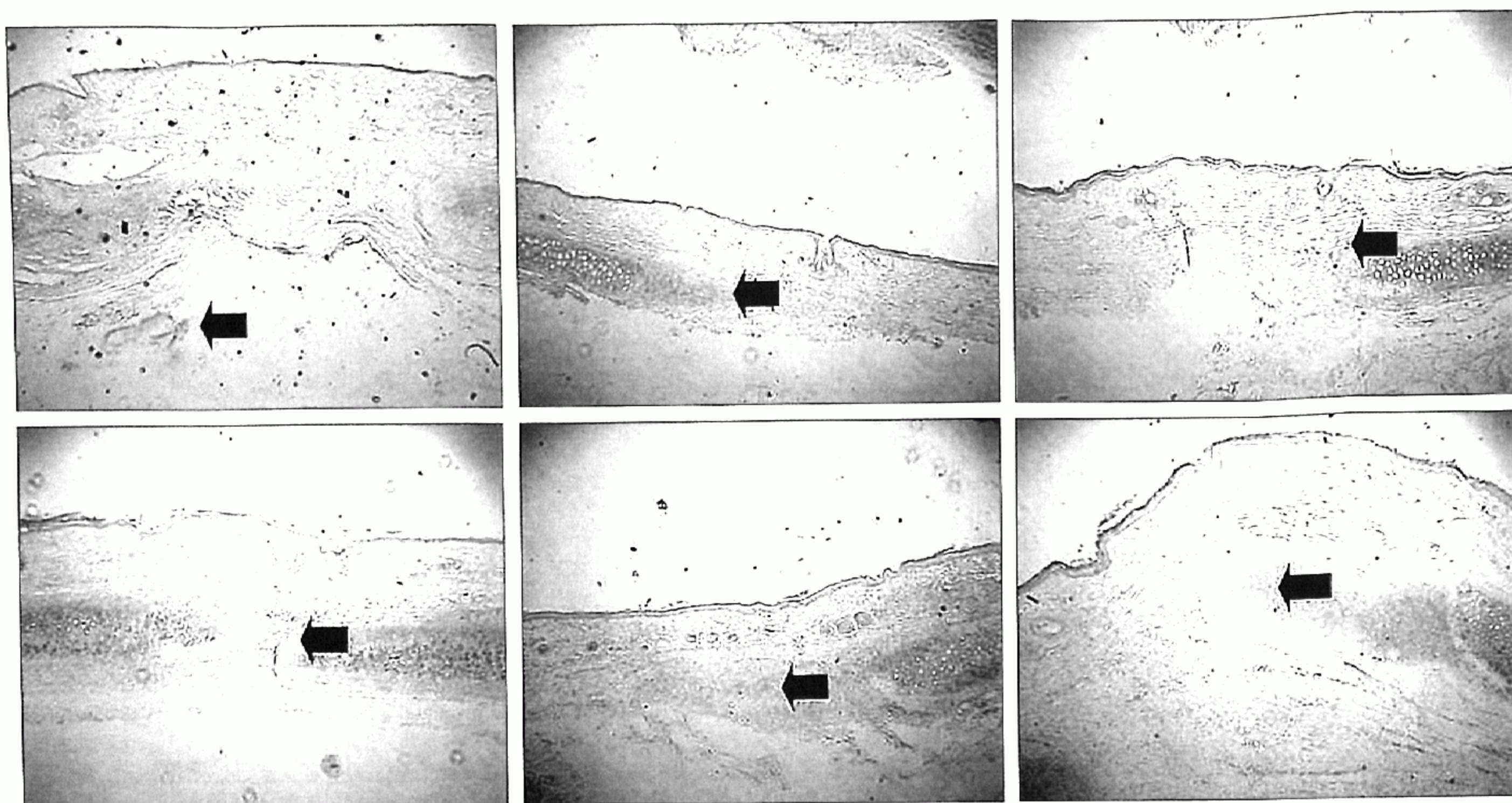
**Fig. 5.** Histologic findings in 1 week postoperatively on control group (Above) and graft group (Below) (H & E stain,  $\times 100$ ). (Left) Group with 3 mm-sized cartilage defect. (Center) Group with 6 mm-sized cartilage defect. (Right) Group with 9 mm-sized cartilage defect. Cartilage regeneration on all cases was not detected.



**Fig. 6.** Histologic findings at 2 weeks postoperatively on control group (Above) and graft group (Below) (H & E stain,  $\times 100$ ). (Left) Group with 3 mm-sized cartilage defect. (Center) Group with 6 mm-sized cartilage defect. (Right) Group with 9 mm-sized cartilage defect. Cartilage regeneration on all cases was not detected.



**Fig. 7.** Histologic findings at 4 weeks postoperatively on control group (Above) and graft group (Below) (H & E stain,  $\times 100$ ). (Left) Group with 3 mm-sized cartilage defect. (Center) Group with 6 mm-sized cartilage defect. (Right) Group with 9 mm-sized cartilage defect. The cartilage regeneration was identified (arrow). The amount of neocartilage on graft group was more than on control group and the form of neocartilage on graft group was more regular than on control group. Incomplete formation of cartilage was detected on 3 mm-sized defect area of cartilage.



**Fig. 8.** Histologic findings at 4 weeks postoperatively on control group (Above) and graft group (Below) (Alcian blue stain,  $\times 100$ ). (Left) Group with 3 mm-sized cartilage defect. (Center) Group with 6 mm-sized cartilage defect. (Right) Group with 9 mm-sized cartilage defect. The cartilage regeneration was identified (arrow). The cartilage regeneration was occurred on the margin of the cartilage defect and scaffold.

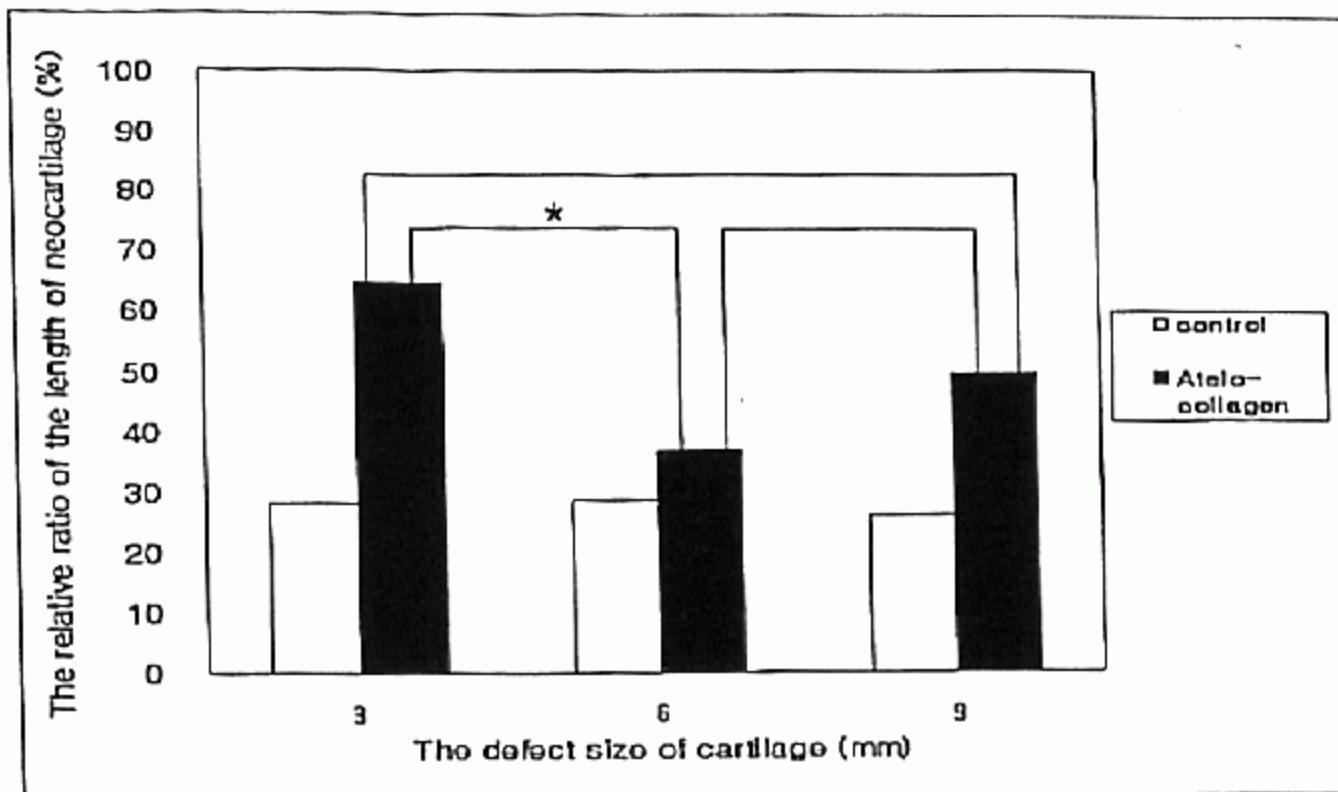
**Table I.** The Length of Neocartilage according to the Defect Size of Cartilage at 4 Weeks

Experiment rabbits	Control group			Graft group		
	Defect size (mm)			Defect size (mm)		
	3	6	9	3	6	9
1	0.6	1.89	1.76	1.7	2.77	5.22
2	0.45	1.75	3.45	2.05	1.46	4.12
3	0.73	1.31	1.32	1.14	2.42	5.74
4	1	1.29	2.25	2.17	2.03	4.78
5	1.1	1.46	2.91	1.92	2.31	5.13
6	1.2	0.26	2.31	2.09	2.53	1.85

등의 선천성 기형, 화상과 외상으로 귀의 일부나 전체가 소실되었을 때 자가연골 이식이 필요한 경우가흔히 있다. 그러나 공여부가 한정되어 있어서 충분한 양을 얻을 수 없고, 흡수되거나, 공여부에 상처를 남겨 성장기에 있는 나이에는 이에 따른 성장 장애를 가져오는 등의 단점이 있다. 이러한 단점을 보완하기 위해 실험실에서 조직공학(tissue engineering) 기법을 이용하여 연골을 만들거나 생체에서 이소성유도(heterotopic induction)를 하는 등의 연구가 있었다.<sup>1-11</sup> 연골은 연골세포와 기질, 섬유망(fibrous

network)으로 구성되며, 그 중 기질은 단백다당류(protein polysaccharide, 7%), 아교질원섬유그물(collagen fibrillar network, 13%) 및 수분(80%)으로 구성되어 있다. 연골막은 연골을 덮고 있는 교원성 결합조직으로, 섬유층인 외층과 세포수가 적은 중간층, 그리고 세포수가 많은 내층으로 구성되어 있다. 중간층과 내층에 내재되어 있는 연골막세포는 분화하여 성숙한 연골세포로 되고 연골을 생성할 수 있어 이를 연골 생성층이라고 한다.

연골막은 태생기 동안 연골에 연골세포와 기질을 공급



**Fig. 9.** The differences in the relative ratio of the length of neocartilage to cartilage defect size between graft and control group were measured by Mann-Whitney U test and one-way ANOVA test. \*This mark presents that the differences of mean percentage between two groups were statistically significant ( $p < 0.05$ ).

하지만, 성장 후 연골막의 기능이 정지되어 있다가 질병이나 외상 발생 시에 연골을 재생하여 치유를 촉진시키는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. Lester<sup>12</sup>는 2명의 함몰흉(pectus excavatum)을 가진 환자 중 1명에서 늑연골을 연골막하로 절제하고 3년 뒤에 절제된 부위에서 섬유성 연골이 생성되었음을 보고하였다. Skoog 등<sup>7</sup>은 양배추꽃귀(cauliflower ear)가 생기는 것은 혈종에 의해 변위된 연골막이 연골과의 접촉저지(contact inhibition)를 상실함으로써 내측연골막으로부터 연골이 과잉증식한 것 때문이라는 것을 실험으로 증명하였다. Sohn 등<sup>8</sup>도 토끼의 기도 결손부위에 이개 연골막을 이식하였을 때 신생연골이 만들어지는 것을 관찰하였다. 그렇지만 불규칙하게 만들어진 신생연골은 연골 원래의 기능을 하지 못하므로 원하는 모양의 연골을 얻기 위하여 fibrin glue,<sup>1</sup> PLGA,<sup>2,3</sup> demineralized bone matrix<sup>4,5</sup> 그리고 AlloDerm이나 Chitosan mesh 등<sup>10</sup>과 같은 다양한 물질들을 지지체로 이용한 연구들이 국내외에서 활발히 진행되어오고 있다. 저자들이 사용한 지지체인 atelo-collagen은 송아지 진피에서 추출하여 정제하여 만든 것으로, 항원성을 줄이기 위하여 펩신을 이용해서 아교질 분자 말단부에 존재하는 telopeptide를 제거한 것이다. 이러한 atelo-collagen의 항원성 정도는 타이로신(tyrosine)이 차지하는 비율로 평가할 수 있는데, 저자들이 추출한 atelo-collagen의 경우 타이로신 비율이 0.12%로 비항원성 콜라겐의 기준인 0.2%보다 적어 생체에 이식하더라도 염증반응이 최소화 될 것으로 생각되며, 저자들의 동물 실험에서도 염증반응은 대조군과 비교하여 별반 차이가 없었다.

저자들의 실험에서 지지체를 넣은 이식군의 지지체 변연부와 지지체 내에서 연골 재생이 관찰되었는데 연골막만

넓은 대조군에 비해 신생연골의 양도 많았고, 형태도 더 일정하였다. 이와 같이 지지체는 연골 결손 시 연골 기질과 같은 역할을 하여 연골막에서 연골세포 분화 시 격자역할을 하며, 연골막으로부터 연골세포로 가는 영양분의 적절한 확산에 도움을 주어 연골 재생이 더 많이 이루어지게 하며, 신생연골의 모양도 일정하게 유지시켜주는 것으로 생각된다. 그러나 신생연골이 완전히 재생되기 전에 지지체가 먼저 흡수되어 형태를 잃어버린다면 일정한 모양을 유지할 수 없을 것이다. 이를 방지하기 위한 방법 중의 하나가 아교질 지지체에 chondroitin-6-sulphate를 첨가하여 단백분해효소(protease)에 의한 아교질의 생물분해(biodegradation)를 줄이는 것이다. 이렇게 하면 아교질로만 이루어진 지지체에 비하여 물리적인 탄성과 경도가 증가할 뿐만 아니라 좀 더 다공성의 구조를 가지게 되어 주변조직에서부터 지지체로 세포 이동을 용이하게 한다.<sup>13</sup> 또한 chondroitin-6-sulphate는 성장인자의 결합과 조절에 관여하며, 세포의 접합, 이동, 증식 및 분화에도 영향을 미친다.<sup>11</sup>

저자는 동물실험에서 연골 결손의 면적을 지름 3 mm, 6 mm, 9 mm 원형 크기로 구분하여 연골 재생이 저절로 이루어지지 않는 결정적인 연골 결손의 크기(critical size defect)를 알아보려고 하였다. 지름 3 mm 원형 결손의 대조군이나 이식군 모두에서 연골 재생이 완전히 이루어지지는 않았다. 관찰 기간이 짧아 이 결과로 가설을 내기에는 부족하지만 자발적 신생연골의 완전한 재생은 이 크기보다 작을 수도 있으며, 연골에서는 어떠한 크기의 결손도 아무런 조치가 없을 때는 골과 같이 완전히 치유되는 것은 힘들지 않을까 생각되기도 한다.

객관적인 분석을 위하여 연골 결손 부위에 재생한 신생연골의 장축 길이를 0.1 mm 단위의 눈금이 달린 광학현미경의 40배율에서 측정한 후 연골 결손의 크기에 따른 신생연골 길이의 상대적인 비율을 통계학적으로 검증하였다. 그 결과 결손의 크기에 따른 연골 재생은 3 mm와 6 mm 사이에서만 유의한 것으로 나타나 큰 의의가 없었다.

조직공학 연구에서 새롭게 생성된 조직에 대한 정확하고 객관적인 정량적인 분석은 조직공학연구자들이 모두 간절히 바라는 바이다. 그렇지만 새롭게 생성된 조직이 주위 조직과 어지간히 분리되어 있으면, 예를 들어 쥐의 등에 세포를 담은 지지체를 심어서 새롭게 생성된 연골이나 지방 등과 같이, 그것을 취하여 무게나 용적(dimension)을 재는 것 등이 가능하겠지만 정상 조직과 연속하여 재생된 조직들은 그러한 분석이 어렵기 때문에 새롭게 생성된 조직에 특이하게 반응하는 항체를 이용한 면역조직화학(immunohistochemistry) 염색을 하거나 조직의 RNA를 뽑아내어 RT-PCR 등의 분자생물학적인 분석을 하는 간접적인 방법이 이용되고 있다. 저자들은 객관적인 분석을 위

하여 새롭게 생성된 연골의 길이를 다섯 개의 절편에서 측정하여 최고치와 최저치를 제외한 평균으로 하였는데, 조직 절편이 얇아서 귀의 면에 평행한 절편을 얻지 못함으로 인해 면적을 구하여 비교하지는 못하였지만, 대조군에 비하여 통계학적인 유의한 결과를 얻을 수 있었다.

요약하면, 저자들이 직접 송아지의 진피를 이용하여 만든 atelo-collagen 지지체가 연골 재생의 지지체로 이용될 수 있음을 확인하였다. 그렇지만 지름 3 mm 원형 크기의 작은 연골 결손에서 조차 4주째까지 완전히 연골로 재생되지는 않았다. 더 규칙적이고 많은 신생연골을 유도하기 위하여 배양된 연골세포를 추가하고, 지지체를 개선하며 관찰 기간을 더 연장하는 실험이 앞으로 필요할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

저자들이 직접 송아지의 진피를 추출하여 만든 atelo-collagen을 연골 재생의 지지체로 이용하여 가토 이개의 연골 결손 부위에 이식한 군과 이식하지 않은 대조군으로 나누고, 연골 결손 면적을 지름 3 mm, 6 mm, 9 mm 원형 크기로 다르게 하여 술후 1주와 2주, 4주에 생검하여 조직학적 소견과 신생연골의 장축 길이를 측정하여 연골 결손의 크기에 따른 신생연골 길이와 비율로 결과를 분석하였다.

술후 1주, 2주에는 연골 재생이 이루어지지 않았으며, 술후 4주에 대조군에 비해 이식군에서 신생연골이 더 많이 형성되었으며 모양도 일정하였다. 대조군이나 이식군 모두에서 지름 3 mm 원형 크기의 결손 부위에도 신생연골이 완전히 채워지지는 않았지만 아교질 지지체가 연골 결손부에서 신생연골 재생을 촉진할 목적으로 사용될 수 있을 가능성을 확인하였다.

## REFERENCES

- Hong SP, Burm JS, Park JK, Kim JY, Lee DH: *In vitro* tissue engineering of cartilage using autologous fibrin glue and chondrocytes. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 106: 383, 1999
- Lee JW, Ahn TJ, Park JG, Sohn JY, Cho HS, Lim P: Culture of chondrocytes on scaffolds with different pore network of PLGA and PLLA. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 30: 237, 2003
- Ueki K, Takazakura D, Marukawa K, Shimada M, Nakagawa K, Takatsuka S, Yamamoto E: The use of polylactic acid/polyglycolic acid copolymer and gelatin sponge complex containing human recombinant bone morphogenetic protein-2 following condylectomy in rabbits. *J Craniomaxillofac Surg* 31: 107, 2003
- Bean JK, Verwoerd HL, Verwoerd CDA: Reconstruction of anterior laryngeal wall a composite graft of Demineralized Bovine Bone Matrix and autogenous perichondrium. *ORL* 56: 224, 1994
- Paul GJ, Gerjo JVM, Carel DA, Henriette L: Efficacy of perichondrium and a trabecular demineralized bone matrix for generating cartilage. *Plast Reconstr Surg* 102: 2012, 1998
- Ponticiello MS, Schinagl RM, Kadiyala S, Barry FP: Gelatin-based resorbable sponge as a carrier matrix for human mesenchymal stem cells in cartilage regeneration therapy. *J Biomed Mater Res* 52: 246, 2000
- Skoog T, Ohlsen L, Sohn SA: Perichondral potential for cartilaginous regeneration. *Scand J Plast Reconstr Surg* 6: 123, 1972
- Sohn SA, Ohlsen L: Growth of cartilage from a free perichondrial graft placed across a defect in a rabbits trachea. *Plast Reconstr Surg* 53: 55, 1974
- Ruuskanen MM, Vitanen MK, Touminen H, Törmälä P, Waris T: Generation of cartilage from auricular and rib free perichondrial grafts around a self-reinforced polyglycolic acid mound in rabbits. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg* 28: 81, 1994
- Yu YI, Kim JC, Kim SH, Paik MH, Kim SH, Kim MK: The effect of AlloDerm, chitosan mash and gelfoam in chondrogenesis of auricular cartilage donor site in rabbits. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 28: 156, 2000
- Van Susante JLC, Pieper J, Buma P, Van Kuppevelt TH, Van Beuningen HV, Van der Kraan PM, Veerkamp JH, Van den Berg WB, Veth RPH: Linkage of chondroitin-sulfate to type I collagen scaffolds stimulates the bioactivity of seeded chondrocytes *in vitro*. *Biomaterials* 22: 2359, 2001
- Lester CW: Tissue replacement after subperichondrial resection of costal cartilage: two case reports. *Plast Reconstr Surg* 23: 49, 1959
- Yannas IV, Burke JF: Design of an artificial skin. I. Basic design principle. *J Biomed Mater Res* 14: 65, 1980