

흰쥐에서 신장 부분 절제 후 Oxidized Regenerated Cellulose 및 돼지 Small Intestine Submucosa를 삽입 후 생체 적합성 비교

Comparison of the Intraparenchymal Biocompatibility of Oxidized Regenerated Cellulose and Porcine Small Intestine Submucosa in Rat Kidney

Woong Kyu Han, Se Hoon Kim¹, Jong Pil Park¹, Seung Choul Yang

From the Departments of Urology and ¹Pathology, Urological Science Institute, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: The objective of this study was to evaluate the biological properties of a variety of materials that could be used in partial nephrectomy. **Materials and Methods:** 54 Sprague-Dawley rats (9 for each group) divided into an experimental period of 4 and 12 weeks, respectively. 2 other groups were the negative control for this experiment. We inserted oxidized regenerated cellulose and porcine small intestine submucosa into the defected renal parenchyme in the experimental groups. At the end of the observation periods, the animals were killed and their specimens prepared for histological examination to evaluate the different materials biocompatibility.

Results: The reaction of the tissue to the materials diminished with time. After analyzing both periods, the inflammatory reactions to oxidized regenerated cellulose and porcine small intestine submucosa were considered slight. There were no significant differences between oxidized regenerated cellulose and porcine small intestine submucosa. Oxidized regenerated cellulose and porcine small intestine submucosa showed biocompatibility in this test model at both time periods.

Conclusions: It was concluded that there was no difference of biocompatibility between oxidized regenerated cellulose and porcine small intestine submucosa. Both materials are safe, biocompatible materials that can be inserted into the renal parenchyma. (Korean J Urol 2008;49:43-48)

Key Words: Biocompatibility, Kidney, Rats

대한비뇨기과학회지
제 49 권 제 1 호 2008

연세대학교 의과대학
비뇨기과학교실, ¹병리학교실,
비뇨의과학연구소

한웅규 · 김세훈¹ · 박종필¹ · 양승철

접수일자 : 2007년 7월 24일
채택일자 : 2007년 10월 25일

교신저자: 양승철
세브란스병원 비뇨기과
서울시 서대문구 신촌동 134
☎ 120-752
TEL: 02-2228-2310
FAX: 02-312-2538
E-mail: syang313@
yumc.yonsei.ac.kr

본 연구는 연세대학교 2002년도 교수연구비에 의해 이루어졌음.

서 론

부분 신절제술을 시행할 때 술 후 보강 봉합 시 이용되는 인공삽입물질은 여러 가지가 보고되고 있으나 최근 많은 경우에서 oxidized regenerated cellulose (Surgicel[®])를 쓰고 있다. 현재 부분신절제술로 보고되는 거의 모든 경우에서 oxidized regenerated cellulose 및 생체적합성 접착제를 사용하여 신실질의 결손부위를 봉합하고 외부적인 압착으로 지혈효과를 얻는다.¹ 또한 이와 유사하게 쓰이는 것이 돼지의 회장 점막으로 만들어진 small intestine submucosa (SIS, Surgisis[®])이다. 이를 사용해서 신부분절제술을 시행하고 추

적관찰한 바를 보고한 경우도 있다.² 이와 같이 신실질의 결손 부위를 매우면서 지혈의 효과를 얻기 위해서 쓰이는 이와 같은 인공삽입물은 일반적으로 생체적합성 (biocompatibility), 비독성, 화학적 안정성, 비면역성 등을 갖추어야 함은 물론 염증 반응이나 암을 유발하지 말아야 하며, 생체 내에서 분해되는 과정 중에 독성물질을 생성하지 않아야 한다. 또한 치유되면서 숙주 조직의 특성을 변화시키지 않고 주위조직의 고유의 크기, 형태 및 경도를 그대로 유지시켜 주어야 한다. 이는 삽입 후 일어나는 부작용을 최소화하기 위함이다. 신장 수술에 쓰이는 인공 삽입물은 그 이외에도 기존 장기의 기능에 영향을 주어서는 안 된다.³ 그러나 부분 신절제술에서 쓰이는 이런 인공삽입물의 염증 반응을

측정하고 정량적인 반응에 대한 보고는 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 흰쥐에서 부분신절제술 후 인공삽입물인 oxidized regenerated cellulose (Surgicel®) 및 최근 일부 보고에서 부분신절제술에서 사용되고 있는 보강물질인 돼지 SIS를 이용하여 신장 부분절제 후 이를 삽입하여 4주 및 12주 경과 후 신장 표본을 얻어서 병리학적인 신장의 변화를 측정하여 생체적합성을 비교관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험군

이 실험에서 동물실험에 대한 것은 연세대학교 의과대학 실험동물윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee)의 방침 및 동물실험 관련 법규를 준수하여 실험을 시행하였다. 생후 8주의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 각 군마다 9마리씩 사용하였다. 대조군인 겔보기 실험군은 2군(4주 및 12주), 실험군은 2개의 SIS군(4주 및 12주), 2개의 oxidized regenerated cellulose군(4주 및 12주)으로 분류하여 실험을 진행하였다. 신장 조직은 4주군은 실험 후 4주에, 12주군은 실험 후 12주에 각 군을 희생시킨 후 얻었다.

2. 신 부분절제술 및 인공물질 삽입술

생후 8주의 흰쥐를 ketamine을 사용하여 복강 내 마취 후 에 측상외위로 자세를 고정하였다. 좌측 복부 부위의 털을 깎고 베타딘 소독을 한 후에 2cm sized incision을 가하였다. 장을 좌측으로 젖힌 후에 좌측 신장을 우측으로 당기면서 주위의 보직과 박리를 하여 완전 노출시켰다. 신장의 외측 가운데 부위에 11번 수술용 칼을 사용하여 0.5-1cm 정도를 부분 절제하여 신실질의 결손을 만들었다. 이 결손 부위에 작게 자른 porcine SIS (5x3mm) 및 oxidized regenerated cellulose (5x3mm)를 넣고 5-0 Vicryl을 사용하여 2곳을 봉합하였다. 출혈이 없는 것을 확인 후에 장을 제 위치에 가져다 놓고 복강을 2-0 Vicryl을 사용하여 봉합하고 betadine 소독하였다.

3. 신장의 병리학적 인자의 측정방법

한 명의 병리학자가 고배율의 시야에서 인공삽입물 주위에서 neutrophilic leukocyte, macrophage, lymphocytes, plasma cells, giant foreign body cells, dispersed material, necrotic tissue, inflammatory response, calcification에 대한 사항을 technical report #9 Federation Dentaire Internationale (FDI)에 의거하여 측정하였다.⁴

4. 자료 분석방법

같은 기간의 두 물질 간의 염증반응의 차이를 알아보기 위해서 통계 분석을 사용하였으며 이는 범주형 자료 분석 방법인 chi-square test를 이용하였으며, p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

조직병리학적 검사는 FDI의 분류를 통하여 시행하였으며 염증반응의 세기를 분류한 결과는 Table 1과 같았다. 대조군에서는 주위 구조의 약간의 변화가 있거나 위축 소견 이외에는 특이 염증 반응은 거의 없거나 경미하였다. 같은 사료, 환경, 시기에 사육된 것으로 이를 통해서 다른 군에서의 염증 반응이 다른 환경적 요인에 의한 것임을 제외시킬 수 있었다. 4주 염증 반응에서 SIS와 oxidized regenerated cellulose를 통계학적으로 비교한 결과 두 군 간의 유의한 차이는 없었으며 (p=0.60), 12주 반응에서도 두 군 간에 동일한 반응이 나와서 유의한 차이는 없었다 (p=1.0) (Fig. 1, 2). 같은 군 간에 시기별 염증반응을 보았을 때는 SIS를 보강물질로 쓴 경우에 염증반응은 4주군과 12주군 간의 통계학적으로 유의한 차이는 없었으며 (p=0.257), oxidized regenerated cellulose를 보강물질로 쓴 경우에도 염증반응은 두 시기별 군 간의 비교에서 유의한 차이를 찾을 수 없었다 (p=0.527).

Table 2에서와 같이 조직학적 염증세포를 단위화하여 나타낸 것을 참고로 하면 두 가지 물질에 대한 염증반응 양상

Table 1. Number of renal units and the intensity of the inflammatory response

Inflammatory response	SIS		Surgicel®		Control	
	4 weeks	12 weeks	4 weeks	12 weeks	4 weeks	12 weeks
No response/slight	6	8	7	8	9	9
Moderate	3	1	2	1	-	-
Severe	-	-	-	-	-	-
Total	9	9	9	9	9	9

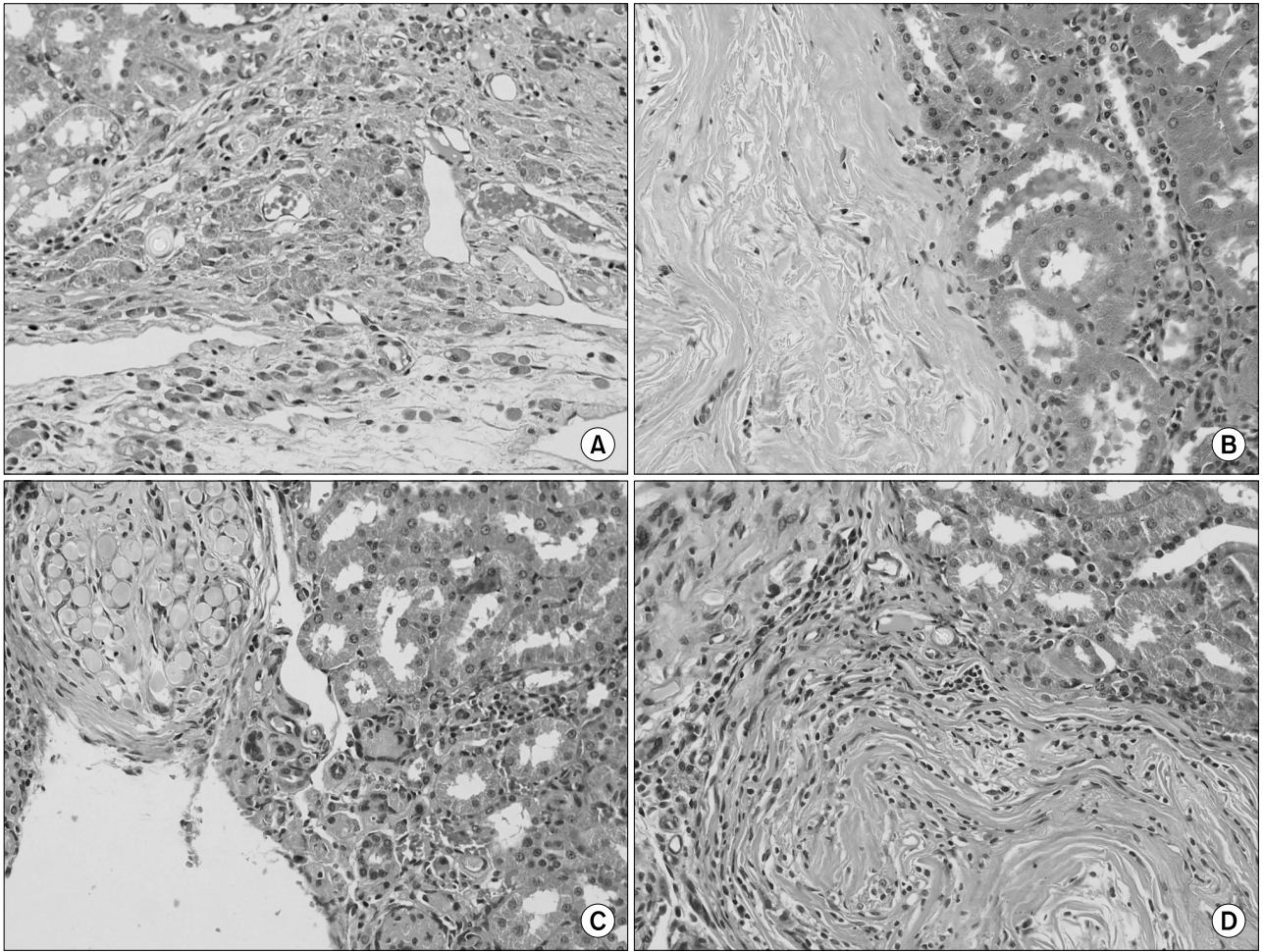


Fig. 1. Microscopic findings of the kidney section: note the slight inflammatory reaction. (A) 4 weeks after implantation of Surgicel[®] (x200), (B) 4 weeks after implantation of SIS (x200), (C) 12 weeks after implantation of Surgicel[®] (x200), (D) 12 weeks after implantation of SIS (x200).

의 차이를 알 수 있다. SIS의 경우는 4주에는 염증 반응을 나타내는 세포들이 12주에 비해서 많았으며 이는 12주에 급격한 감소를 나타냈다. 이에 반해서 oxidized regenerated cellulose의 경우는 초반 시기인 4주에서부터 염증 반응을 나타내는 세포들이 12주와 비슷한 양상으로 나타났으며 전체적으로 4주와 12주의 차이는 없었다.

고 찰

최근에는 우리나라를 포함하여 세계 여러 나라의 신장암 추세는 국소상태에서의 조기진단율이 높아지고 있다는 것이다.⁵ 이는 건강검진에서 전산화 단층촬영과 초음파가 기본적으로 도입되었고, 또한 장비의 성능이 향상되어 현재에는 1cm 미만의 신장 종물도 발견이 가능하게 되었기 때문이다. 이로 인하여 무증상이면서 크기가 작고 국소적인

조기 신세포암의 발견이 급증하게 된 것이다.⁶ 이런 작은 신종양에 대해서 수술적 치료 방법 또한 이전의 근치적인 목적에 주위구조를 포함한 완전한 장기의 절제를 시행하는 방법에서 나머지 정상 조직의 기능을 유지하고 종양만 제거하고도 완전 적출술과 거의 동일한 완치율을 보이는 수술을 선호하게 되었다. 현재 선택적 신원 보존 수술은 근치적 신적출술을 대신할 안전하고 효과적인 방법으로 널리 인식되고 있다.

부분 신절제술은 1887년 처음 시도된 이후 초기에는 출혈, 요증, 염증 재발 등의 합병증이 빈번하여 널리 시행되지 않았으나 최근 영상진단학의 발달로 수술 전 해부학적 구조를 정확히 알 수 있게 되었고 부분 신절제술에 대한 광범위한 연구가 진행되어 신기능을 최소한으로 감소시키면서 종양을 완전 제거할 수 있는 수술방법으로 그 술기가 비약적으로 발달하면서 여러 나라에서 널리 시행되고 있는 추

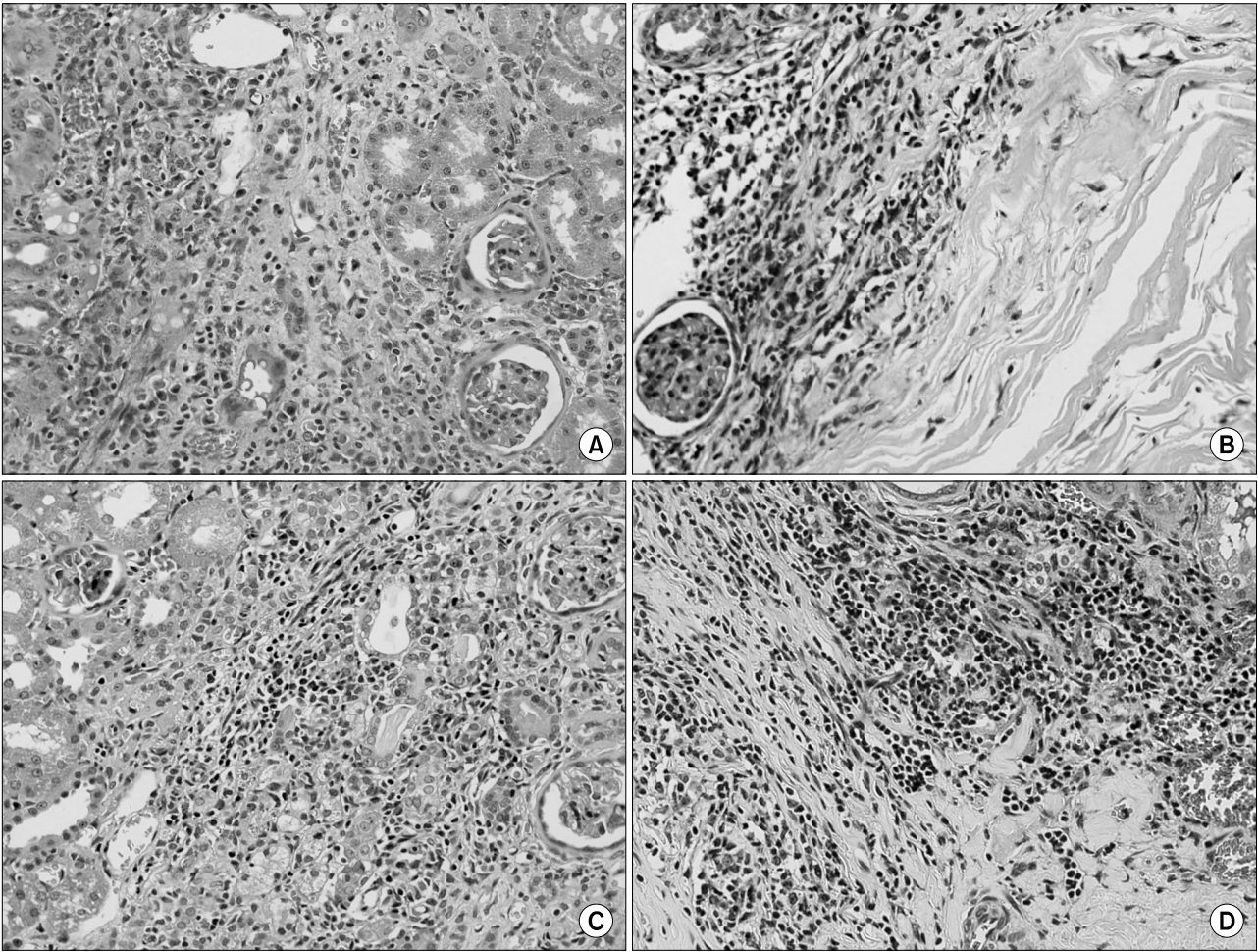


Fig. 2. Microscopic findings of the kidney section: note the moderate inflammatory reaction. (A) 4 weeks after implantation of Surgicel[®] (x200), (B) 4 weeks after implantation of SIS (x200), (C) 12 weeks after implantation of Surgicel[®] (x200), (D) 12 weeks after implantation of SIS (x200).

Table 2. Histological evaluations of the tested materials at 4 and 12 weeks

Histological criteria	SIS		Surgicel [®]	
	4 weeks	12 weeks	4 weeks	12 weeks
Neutrophilic leukocytes	*	*	*	*
Macrophages	**	*	**	**
Lymphocytes	**	*	**	*
Plasma cells	**	*	*	*
Giant foreign body cells	**	*	**	*
Dispersed material	***	*	*	*
Necrotic tissue	—	—	—	—
Inflammatory response	*	*	*	*
Calcification	*	*	*	*

*Absent/slight, **moderate, ***severe

세이다. Fergany 등⁷은 부분 신절제술의 장기 추적 결과를 통하여 근치적 신적출술과 술 후 재발물이나 술 후 합병증 등을 고려해 볼 때 큰 차이가 없는 대체가 가능한 수술이라고 하였으며, 국내에서도 Nam 등⁸은 4cm 이하의 신장암 환자를 대상으로 시행한 근치적 신적출술과 부분 신절제술의 비교할 때 부분 신절제술의 경우 국소 재발물이나 생존율에 있어서 차이를 보이지 않으면서 술 후 혈중 크레아티닌 상승이 의미 있게 적어 안전하면서 효과적인 수술이라고 보고하여 현재 신장암 분야에서 임상적으로 널리 시행되는 당위성을 입증하였다.

부분 신제술은 그 술기에서 특수성이 있다. 그것은 중앙 부분 만큼의 신장실질의 결손이 있기 때문에 이 부분을 메워주면서 지혈을 목적으로 하는 술기가 필요하기 때문이다. 이를 위해서 신장 실질 봉합을 하게 되면 이와 동시에 봉합시 실질의 파괴를 적게 해주며 공간을 차지하여 작은

혈관들을 압박해주는 효과를 얻기 위해서 인체적합성이 있는 수술용 인공 삽입물을 넣게 된다. 대표적으로 쓰이는 삽입물질은 oxidized regenerated cellulose (Surgicel[®])이다. Oxidized regenerated cellulose는 국소 지혈 물질로 여러 가지 수술에서 사용되어 보고되어진 바 있다.⁹ 이것은 흡수성 지혈제로 처음에는 수술용 거즈와 같이 누르는 효과 및 국소 지혈 인자의 활성을 촉진시키는 역할을 한다. 그 이후에는 시간이 지남에 따라서 우리 몸의 대식세포 등에 의해서 제거가 되는 것으로 알려져 있다. 신장 수술에 oxidized regenerated cellulose를 사용한 것은 Bornemisza 등¹⁰에 의해 신손상을 유발할 개를 이용한 동물 모델을 사용한 실험을 보고하였다. 이 실험에서 국소적인 신 혈류를 방해하지만 신장의 기능을 저해하는 소견은 없었다고 보고하였다.

돼지의 SIS는 그것이 개발된 이래로 많은 임상적인 연구가 이루어 졌다. 현재는 상품화되어서 요로 재건술에 많이 쓰였으며 이에 대한 여러 보고들이 있다.¹¹⁻¹³ 이것은 면역반응을 일으키지 않는 생체적합성 물질로 요로상피가 그 위로 재생이 가능하다고 믿어지고 있다.¹³ 부분 신절제술에서도 사용된 보고가 있으며 일반적인 개복술을 통한 부분신절제술 시에 신결손 부위를 메우고 덮어주는 역할로 18.4개월의 추적관찰 시 합병증의 빈도가 없었다고 하였다.²

이렇게 두 가지 물질에서 신 부분절제술에 이용되어 훌륭한 경과를 보고하였지만 과연 임상에서 어떤 물질을 쓰는 것이 더 좋으냐는 것은 어려운 문제이다. 일반적으로 수술 시 쓰이는 인공삽입물은 생체적합성 (biocompatibility), 비독성, 화학적 안정성, 비면역성 등을 갖추어야 함은 물론 염증 반응이나 암을 유발하지 말아야 하며, 생체 내에서 분해되는 과정 중에 독성물질을 생성하지 않아야 한다. 또한 치유되면서 숙주 조직의 특성을 변화시키지 않고 주위조직의 고유의 크기, 형태 및 경도를 그대로 유지시켜 주어야 한다. 이는 삽입 후 일어나는 부작용을 최소화하기 위함이다. 신장 수술에 쓰이는 인공 삽입물은 그 이외에도 기존 장기인 신장 기능에 영향을 주어서는 안 된다. 일부 실험 보고에서는 oxidized regenerated cellulose를 신장에 넣을 경우 신장 혈류의 부분적인 방해를 한다는 보고를 하여 완전히 안전한 삽입물이라는 확실적인 보고는 없는 형편이다.¹⁰ 이에 본 연구자는 기존에 알려진 생체적합성 물질 중 하나인 돼지 SIS와 oxidized regenerated cellulose와 조직접합성에 대해서 비교하는 실험을 착안하였다.

두 물질 간의 생체 적합성을 비교하는 실험에서는 여러 가지 기준들이 존재한다. 대표적인 것은 삽입물질과 숙주 장기간의 거리를 측정하여 이를 객관화하는 방법이 있다. 이는 이번 실험에서는 적용이 힘들었다. 가장 큰 이유는 인공삽입물을 넣은 후 봉합을 시행하므로 인위적으로 두 물

질 간의 간격을 없애 준 것 때문이었다. 그 이외의 방법으로는 염증반응을 객관화하여 측정하고 인공 삽입물이 있는 주위 고배율 시야에서 잘 훈련된 전문가에 의한 염증세포 관찰하여 그 정도를 3단계로 구분하는 방법이다.^{3,4} 본 연구에서는 병리학자 한 명이 이 작업을 하였으며 모든 포본 슬라이드 관찰하고 염증단계를 범주화하여 Table 1, 2를 완성하였다.

본 연구에서는 두 물질 모두에서 세균이 자라는 것은 관찰할 수 없었다. 또한 심한 염증반응은 일부의 경우에서만 존재하였으며 대부분의 경우 중증도 이하의 염증 반응만이 관찰이 되었다. 두 군 간의 염증반응을 대응되는 시기별로 관찰한 결과에서 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 특히 초기 초기반응에서의 차이가 없음을 두 물질 모두 생체 적합성을 갖고 있다는 것을 알 수 있었다. 신장 주변조직에 대한 영향은 두 물질 모두에서 거의 없었으며 SIS에서 기존에 주장해 왔던 기존 장기 세포가 그 안으로 침착하여 자란다는 것에 착안해서 관찰한 결과는 세포의 증식을 관찰할 수 없었다. 이는 12주라는 단기 실험이었기 때문에 이런 결과를 얻었다고 생각한다. 보통 SIS 제조 회사에서 주장하는 세포의 침착은 2년 이상의 경과를 관찰한 데이터를 보여주고 있기 때문이다. 두 물질 간의 신장에 넣었을 때 가장 차이가 나는 것은 Table 2에서 보듯이 양 물질의 퍼져있는 상태이다. Oxidized regenerated cellulose의 경우는 흡수되면서 양이 그 안에 묻혀 있는 양상을 나타낸다. 하지만 SIS의 경우는 대부분이 그대로 존재하면서 주변으로 퍼져 있으며 실질을 누르는 양상을 띠고 있었다. 이는 양 물질 간의 생체 흡수성에 차이가 있는 것으로 생각한다. 이상의 결과로 두 물질간의 유의한 생체적합성의 차이는 없었다. 여기에서 착안할 점은 우리가 신결손에 이용하는 물질을 고를 때 상품의 가격과 삽입물질의 생체 내 반응의 차이가 기존 장기 기능에 영향을 주는지 여부 등을 고려해야 하며 이를 토대로 두 물질 모두 신부분절제술 시 유용하고 안전하게 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

결 론

본 실험은 신부분절제술 시 임상에서 사용되는 것으로 알려진 두 물질인 돼지 SIS와 oxidized regenerated cellulose를 사용하여 흰쥐에서 신장에 삽입하여 생체적합성에 대해서 관찰하였다. 이상의 결과에서 생체에서 흡수되는 속도의 차이로 인하여 급성과 만성의 시기의 반응 모양은 달랐으나, 두 물질 간의 염증반응의 유의한 차이는 없었다. 결론적으로 두 물질 간의 유의한 생체적합성의 차이는 없었다.

REFERENCES

1. Polascik TJ, Pound CR, Meng MV, Partin AW, Marshall FF. Partial nephrectomy: technique, complications and pathological findings. *J Urol* 1995;154:1312-8
 2. O'connor RC, Harding JN 3rd, Steinberg GD. Novel modification of partial nephrectomy technique using porcine small intestine submucosa. *Urology* 2002;60:906-9
 3. Sousa CJ, Loyola AM, Versiani MA, Biffi JC, Oliveira RP, Pascon EA. A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. *Int Endod J* 2004;37:738-48
 4. Federation Dentaire Internationale. Recommended standard practices for the biological evaluation of dental materials. *Int Dent J* 1980;30:174-6
 5. Kim WJ, Chung JI, Hong JH, Kim CS, Jung SI, Yoon DK. Epidemiologic study for urologic cancer in Korea (1998-2002). *Korean J Urol* 2004;45:1081-8
 6. Jayson M, Sanders H. Increased incidence of serendipitously discovered renal cell carcinoma. *Urology* 1998;51:203-5
 7. Fergany AF, Hafez KS, Novick AC. Long-term results of nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: 10-year followup. *J Urol* 2000;163:442-5
 8. Nam JK, Cha CS, Chung MK. The treatment outcomes of a partial nephrectomy in the management of renal cell carcinomas. *Korean J Urol* 2004;45:1100-5
 9. Pierce AM, Wiebkin OW, Wilson DF. Surgicel: its fate following implantation. *J Oral Pathol* 1984;13:661-70
 10. Bornemisza G, Ladanyi J, Furka I, Miko I. Effect of absorbable cellulose on the renal parenchyma. *Acta Chir Acad Sci Hung* 1976;17:329-33
 11. Liatsikos EN, Dinlenc CZ, Kapoor R, Bernardo NO, Pikhosov D, Anderson AE, et al. Ureteral reconstruction: small intestine submucosa for the management of strictures and defects of the upper third of the ureter. *J Urol* 2001;165:1719-23
 12. Xie H, Shaffer BS, Wadia Y, Gregory KW. Use of reconstructed small intestine submucosa for urinary tract replacement. *ASAIO J* 2000;46:268-72
 13. Kropp BP. Small-intestinal submucosa for bladder augmentation: a review of preclinical studies. *World J Urol* 1998; 16:262-7
-