

가

,

,

가 , ,

2000 6



## 차 례

국문요약 .....	1
I. 서론 .....	3
II. 재료 및 방법 .....	5
III. 결과 .....	7
IV. 고찰 .....	13
V. 결론 .....	17
참고문헌 .....	18
영문요약 .....	20

## 그림 차례

그림 1. 대조군의 이식 전 조직소견 .....	10
그림 2. 냉동 건조로 전처치 직후 동종 연골의 조직소견 .....	10
그림 3. 냉동 건조로 전처치한 동종 연골의 이식 12주 후의 조직소견 .....	11
그림 4. 방사선 조사로 전처치 직후 동종 연골의 조직 소견 .....	11
그림 5. 방사선 조사로 전처치한 동종 연골의 이식 12주 후의 조직소견 .....	12
그림 6. 고압 소독으로 전처치 직후 동종 연골의 조직 소견 .....	12

## 표 차례

표 1. 각 군의 연골 부피 변화 .....	9
표 2. 각 군의 생존 연골 세포 수 변화 .....	9

## 국문요약

### 가돈에서 냉동 건조, 방사선 조사, 고압 소독으로 전처치한 후 동종 이식된 연골의 흡수에 대한 비교

연골 이식의 대치물로써 동종 연골은 다른 인공 대치물보다 자가조직에 가깝고 또 감염, 노출의 위험이 적어 자가조직의 좋은 대용물이기는 하나 항원성에 의한 거부반응으로 흡수율이 증가하고 또한 생착이 잘 안 된다는 극복해야 할 단점이 있다. 현재까지 동종 연골의 항원성을 줄이기 위해 여러 가지 전처치가 이루어지고 있는데 그 효과는 연구자에 따라 보고가 다르며 객관화 된 것이 없지만 방사선 조사, 냉동 건조가 가장 보편화된 방법이다. 이외에 동종 연골에 고압 소독으로 전처치하여 이식하였다는 보고는 아직 없지만 이론적으로 가능한 하나의 방법이 될 것이라 생각되었다. 본 연구에서는 동종 연골의 거부반응을 감소시키는 효과를 관찰하기 위하여 가돈의 동종 이개 연골을 전처치 하지 않은 대조군, 냉동 건조, 방사선 조사, 고압 소독으로 전처치한 군으로 나누어 가돈의 배부의 피하층에 동종 이식한 후 부피의 변화를 측정하였고, 조직학적으로 세포 성분, 기질의 변화를 관찰하였다.

본 실험은 두 마리의 동종 가돈을 이용하였으며 가돈의 귀에서 연골을 채취하여 12개의 1 X 1 cm의 연골 절편을 만들고 각 세 절편씩 4개의 군으로 나누어 가돈의 배부의 피하층에 동종 이식하였다. 대조군은 멸균을 위해 산화에틸렌(ethylene oxide) 가스 소독만 하였고, 냉동 건조 군은  $10^{-2}$  bar  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 냉동하였고, 방사선 조사 군은 beam energy를 15,000 Gy 조사하였으며 고압 소독 군은  $60^{\circ}\text{C}$ ,  $1\text{kg}/\text{cm}^2$ 에서 5분간 소독하였다. 모든 전처치 군에서도 전처치 후 산화 에틸렌 가스 소독으로 멸균 처리하였다. 각 실험군의 연골은 이식 전, 이식 4주 후, 이식 12주 후에 생검하여 부피, 세포 성분, 기질의 변화

를 관찰하였다.

대조군은 전처치 직후에는 부피의 변화도 없었고 조직학적으로도 핵의 농축 현상만 보일 뿐 별 다른 변화가 없었다. 하지만 이식 12 주 후에는 거의 흡수되어 형태를 찾아 보기 어려웠고 조직학적으로도 연골의 형태는 관찰되지 않았다.

냉동 건조로 전처치한 군은 전처치 직후에는 대조군에 비해 큰 차이는 없지만 부피가 약 15% 감소하였고 세포의 배열이 대조군과 비교하여 불규칙하고 세포 수도 약 20% 감소하였다. 이식 12주 후의 소견상 부피가 약 40% 감소하였으나 형태는 유지 되었고 생존해 있는 세포는 약 50% 감소하였다.

방사선 조사로 전처치한 군은 전처치 직후에는 대조군에 비해 큰 차이는 없지만 부피가 약 20% 감소하였고 세포의 배열이 대조군과 비교하여 불규칙하고 세포 수도 약 20% 감소하였다. 이식 12주 후에는 부피가 50% 이상 감소하였으나 형태는 유지 되었고 약 75%의 세포가 괴사된 소견을 보였다.

고압 소독으로 전처치한 군의 육안적 조직학적 소견상 전처치 직후에는 대조군에 비해 부피가 약 30% 감소하였고 살아 있는 세포가 약 50% 감소하였고 기질의 변성이 심하였다. 이식 12주 후에는 거의 흡수되어 연골의 형태를 관찰할 수 없었다.

이상의 결과에서 가든의 동종 연골은 전처치의 방법에 관계 없이 다소간의 차이는 있으나 흡수되는 소견을 보였으며 흡수되는 정도는 고압 소독, 방사선 조사, 냉동 건조의 순 이었다. 또한 조직 소견에서도 연골의 흡수와 비례해서 생존 세포 수의 감소를 보였으며 기질의 변성도 심한 소견을 보였다.

결론적으로 동종 연골 이식은 다소간의 흡수가 되지만 냉동 건조가 가장 흡수를 최소화할 수 있는 전처치법이라 사료된다.

---

**핵심되는 말** : 연골, 동종 이식, 전처치, 냉동 건조, 방사선 조사, 고압 소독

# 가돈에서 냉동 건조, 방사선 조사, 고압소독으로 전처치한 후 동종 이식된 연골의 조직학적 비교

<지도 박 병 운 교수>

연세대학교 대학원 의학과

최 홍 립

## I. 서 론

안면부에서 골 결손이나 선천성 기형 혹은 후천적인 변형의 재건을 위해서 연골 이식이 이용되는 경우가 많다. 연골 이식은 현재 자가 이식으로 해결하는 것이 일반적이고 또한 이상적인 방법이라고 생각되고 있다. 그러나 자가 연골 이식은 공여부의 제한성, 합병증, 일정치 않은 흡수율 등의 문제가 있어 이를 극복하려는 노력이 있어왔다. 이런 관점에서 연골 대용물질이 소개되어 왔는데 임상적으로 사용할 수 있는 것은 크게 이종 연골 이식, 동종 연골 이식, 인공 삽입물질 등으로 크게 구분할 수 있다. 이종 이식은 시도되었으나 수혜부에 생착되지 못하고 흡수와 노출 빈도가 높아 널리 이용되지 못하였다<sup>1)</sup>. 실리콘 등의 인공 삽입물질은 형태유지는 용이하나 감염이나 노출 등의 제한점이 있고 최근 사용되는 hydroxyapatite, polyethylene(Medpor®) 등의 인공 대체물질은 생체에 이물 반응이 적고 또한 골화를 유도하는 장점이 있으나 이것 역시 이물질로써의 한계가 있고 또한 고가이다. 연골의 동종 이식은 모체 연골을 이용하여 외이 재건에<sup>2)</sup> 이용한 것이 임상적인 첫 시도였는데 장기적으로 흡수되어



형태를 유지하는데는 실패하였고 이것을 계기로 거부반응을 최소화하기 위한 연구가 진행되어 왔다. 즉 항원성을 줄이고 보관 하기 용이하게 하기 위해 연골을 화학적으로 처리하거나<sup>3)</sup> 방사선을 조사하거나<sup>4),5)</sup> 냉동 건조하여<sup>6),7),8)</sup> 동종 이식하는 방법들이 보고되어 왔다. 냉동 건조는 조직을 세포가 손상되지 않는 범위까지 냉동 시켜 항원성만 변화시켜 거부반응을 줄이며 방사선 조사 역시 고량의 방사선을 조사하여 항원성을 변화시키는 기전인데 두 방법 모두 정확한 기전은 밝혀지지 않았으며 또한 그 효과에 대해서도 보고자마다 다르다. 한편 골에서는 고압 소독한 자가 골 및 동종 골 이식에서 긍정적인 기초 및 임상적 보고가 많아 연골의 동종 이식에 적용해 보았다. 고압 소독의 원리는 세포와 단백질을 고열, 고압에 의해 탈생명화(devitalization), 변성(denaturation) 시켜 기질만 남겨 이식하면 단순히 골 전도에 의한 골 형성만 되는 것이 아니라 추후에 고압 소독하여 이식한 골의 재혈류화로 인해 모세포가 기질 내로 전이되어 재생명화(revitalization)가 일어난다는 것이다<sup>9)</sup>. 이에 본 연구의 목적은 방사선 조사, 냉동 건조, 및 고압 소독으로 전처치한 연골을 동종 이식하여 어떠한 전처치가 이식된 연골의 생착에 더 효과가 있는지 육안적, 조직학적으로 비교분석 하는 것이다.

## II. 재료 및 방법

두 마리의 체중 30 Kg의 동종 가돈(swine)을 사용하였다. ketamine(Ketallar®, 유한양행) 35mg/kg을 가돈의 근육 내로 주사하여 마취시킨 후 서로 다른 두 가돈의 양쪽 귀에서 연골막을 포함하지 않은 5 X 5 cm의 연골을 채취 하였다. 채취한 연골을 1 X 1 cm 으로 절단하여 다음과 같은 4개의 군으로 나누어 각 군에 3절편 씩 전처치 하였다.

- I. 대조군 : 전처치 하지 않은 가돈의 이개 연골을 동종 이식한 군
- II. 냉동 건조 처치군 : 냉동 건조로 전처치 한 가돈의 이개 연골을 동종 이식한 군
- III. 방사선 처치군 : 방사선 조사로 전처치 한 가돈의 이개 연골을 동종 이식한 군
- IV. 고압 소독 처치군 : 고압 소독으로 전처치 한 가돈의 이개 연골을 동종 이식한 군

냉동 건조(cryopreserving)는 연골 절편을 dimethyl sulfa oxide(DMSO, Sigma, USA) 용매에 넣은 후  $10^{-2}$ bar,  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 동안 냉동기(Freezer, S.Y.Lab, USA)를 이용하여 냉동 건조시키고 산화 에틸렌(ethylene oxide)가스 소독기(EOGS, Getinge, Sweden)로 멸균 소독하여 실온에 보관하였다가 이식 전 gentamycin(Sulfa-gentamycin®, 중외제약) 80mg을 식염수 20cc에 섞은 용액에 재수분화(rehydration) 시켰다. 방사선 조사(irradiation)는 연골 절편을 무균 flask에 담은 후 12시간에 걸쳐 Cobalt 60 원격 치료기(CGRmev, Clcyon, France)를 이용하여 15,000 Gy 조사한 후 산화 에틸렌으로 멸균 소독하고 무균 flask에 담아  $4^{\circ}\text{C}$ 에 냉장 보관하였다 이식하였다. 고압 소독(autoclaving)은 연골 절편을 무균 flask에 담아  $60^{\circ}\text{C}$ ,  $1\text{Kg}/\text{cm}^2$ 에서 5분간 고압 소독기

(Autoclave, Getinge, Sweden)를 이용하여 고압 소독한 후 산화 에틸렌으로 다시 가스 소독한 뒤 무균 flask에 담아 4℃에 냉장 보관하였다. 각 실험군의 동종 연골은 동종 가돈의 체부의 피하층에 이식하였다. 위와 같은 방법으로 각각 전처치한 연골을 전처치 직후, 동종 이식한 후 4주, 12주에 생검하여 네 번의 길이의 평균과 사면에서의 두께의 평균을 이용하여 부피를 측정하였다. 또한 조직학적으로 hematoxylin-eosin 염색을 시행하여 40배, 100배의 조직 소견에서 세포와 기질 성분의 변화를 분석하고 생존 세포의 수를 400배의 조직소견에서 power field당 생존 세포 수를 측정하였다.

### Ⅲ. 결 과

각 실험군의 동종 연골을 이식 전, 이식 4주 후, 이식 12주 후에 생검하여 부피의 변화를 측정된 결과 냉동 건조군의 흡수율이 가장 낮았고(표1), 조직학적으로도 냉동 건조군의 생존 세포 수가 가장 많았으며(표2), 기질 성분의 변화도 작았다. 각 군의 생검 결과 다음과 같은 소견을 보였다.

#### 1. 대조군

- 가) 산화 에틸렌으로 멸균 소독 직후 부피의 변화도 없었고 조직학적으로도 핵의 농축 현상만 약간 보일 뿐 별 다른 특이 소견은 보이지 않았다(그림1).
- 나) 이식 4주 후 육안적으로 부피가 약 50% 감소하였고 약 50%의 세포가 피사된 것으로 보아 흡수가 진행 중인 것으로 보였다.
- 다) 이식 12주 후 연골은 거의 흡수되어 형태를 찾아 보기 어려웠고 조직학적으로도 연골의 형태는 관찰되지 않았다.

#### 2. 냉동 건조군

- 가) 전처치 직후 대조군에 비해 큰 차이는 없지만 육안적 계측상 약 부피가 15% 감소하였고 세포의 배열이 대조군보다 불규칙하고 수도 약 20% 감소하였다. 기질이 좀 더 보라색을 띠는 것으로 보아 기질이 약간 무기질로 변성된 소견을 보였다(그림2).
- 나) 이식 4주 후 육안적, 조직학적으로 전처치 직후와 큰 차이가 없었다.
- 다) 이식 12주 후 부피가 약 40% 감소하였으나 형태는 잘 유지되었고 조직학적으로 연골의 섬유화가 진행되었고 생존해 있는 세포가 약 50% 감소된 소견을 보였다(그림3).

### 3. 방사선 조사군

- 가) 전처치 직후 부피가 약 20% 감소하였고 세포 수도 약 20% 감소된 소견을 보였다(그림4).
- 나) 이식 4주후 부피는 전처치 직후와 별 차이가 없었으나 조직학적으로 기질의 변화는 없었고 전처치 직후보다 약 30%의 세포가 괴사된 소견을 보였다
- 다) 이식 12주 후 부피가 50% 이상 감소하였으나 형태는 유지되었다. 조직학적으로 약 75%의 세포가 괴사되었으며 경색 형태의 괴사가 일어난 소견을 보였다(그림5).

### 4. 고압 소독군

- 가) 전처치 직후 대조군에 비해 부피가 약 30% 감소하였고 조직학적으로 생존해 있는 세포가 약 50% 감소하였고 기질의 변성이 심한 소견을 보였다(그림6).
- 나) 이식 4주 후 부피의 감소는 두드러지지 않으나 생존해 있는 세포가 전처치 직후 보다 약 60% 감소된 소견을 보였다.
- 다) 이식 12주 후 연골은 거의 흡수되어 형태를 찾아보기 어려웠고 조직학적으로도 연골의 형태는 관찰되지 않았다.

표 1. 각 군의 연골 부피 변화

전처치 방법/주수	전처치 직후	4 주	12 주
대조군	200 mm <sup>3</sup> (100%)	102 mm <sup>3</sup> (51%)	
냉동 건조군	172 mm <sup>3</sup> (85%)	162 mm <sup>3</sup> (80.4%)	124 mm <sup>3</sup> (62%)
방사선 조사군	164 mm <sup>3</sup> (82%)	144 mm <sup>3</sup> (72%)	104 mm <sup>3</sup> (52%)
고압 소독군	142 mm <sup>3</sup> (71%)	99.8 mm <sup>3</sup> (50%)	

( ) : 이식 전 부피의 %

표 2. 각 군의 생존 연골 세포 수 변화

전처치 방법/주수	전처치 직후	4 주	12 주
대조군	78 /hpf	38 / hpf	
냉동 건조군	56 / hpf	47 / hpf	32 / hpf
방사선 조사군	58 / hpf	40 / hpf	14 / hpf
고압 소독군	44 / hpf	16 / hpf	

hpf : high power field

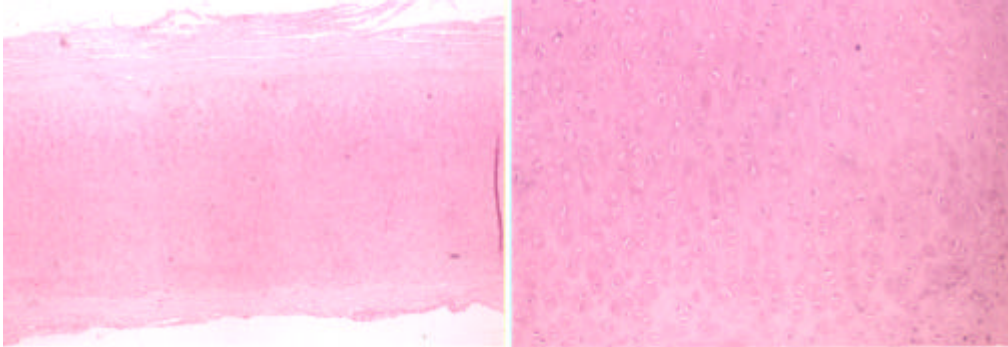


그림 1. 대조군의 이식 전 연골 조직소견.(좌 : 40배, 우 : 100 배)

핵의 농축 현상만 약간 보일 뿐 별 다른 특이 소견은 보이지 않았다.

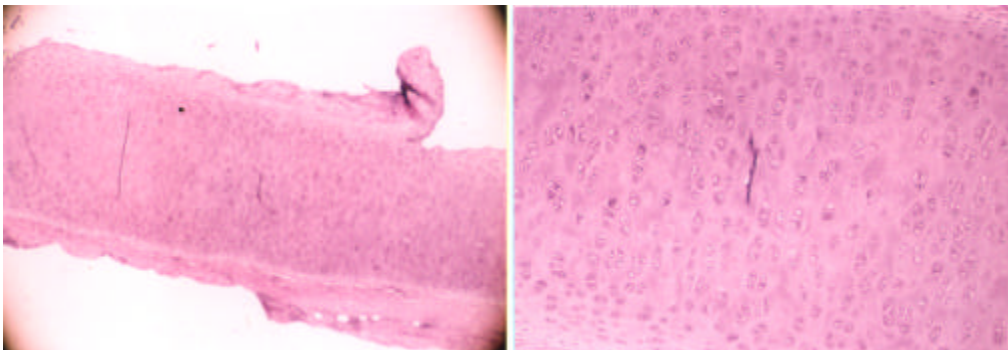


그림 2. 냉동 건조로 전처리 직후 동종 연골의 조직소견.(좌 : 40배, 우 : 100 배) 연골 세포의 배열이 대조군 보다 불규칙하고 수도 약 20% 감소하였다. 기질이 다소 보라색을 띠는 것으로 보아 기질이 일부 무기질로 변성된 소견을 보였다.

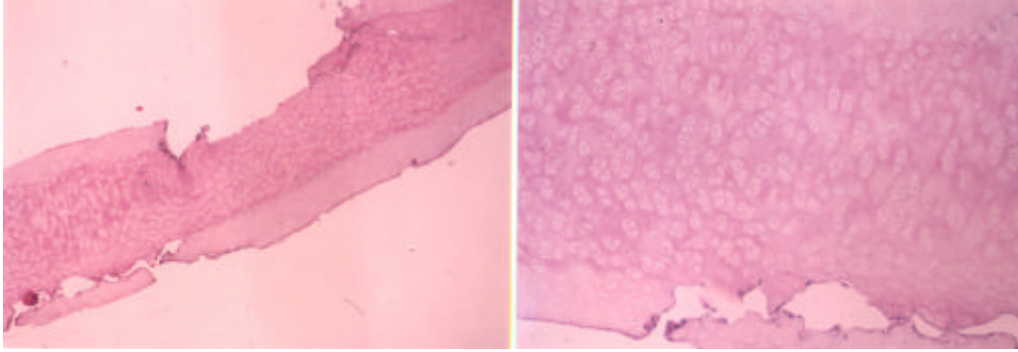


그림 3. 냉동 건조로 전처치한 동종 연골의 이식 12주 후의 조직소견.(좌:40배, 우:100 배) 연골의 섬유화가 진행되고 생존해 있는 세포가 전처치 직후보다 약 50% 감소된 소견을 보였다.

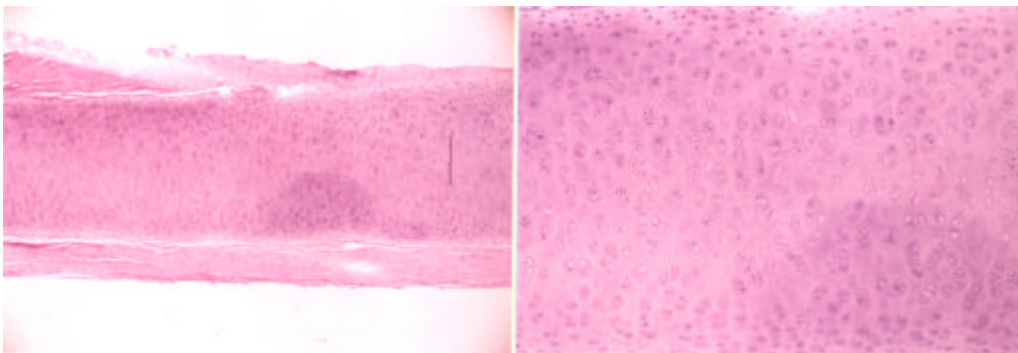


그림 4. 방사선 조사로 전처치 직후 동종 연골의 조직소견.(좌 : 40배, 우 : 100 배) 방사선을 조사한 연골은 대조군과 비교하여 세포의 배열도 다소 불규칙하고 세포 수도 약 20% 감소된 소견을 보였다.



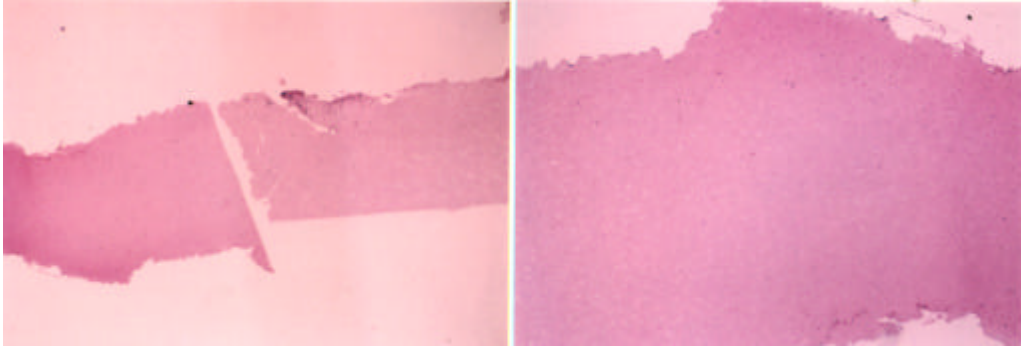


그림 5. 방사선 조사로 전처치한 동종 연골의 이식 12주 후의 조직소견.(좌: 40 배, 우: 100 배) 전처치 직후보다 약 75%의 세포가 괴사되었으며 경색 형태의 괴사가 일어난 소견을 보였다.

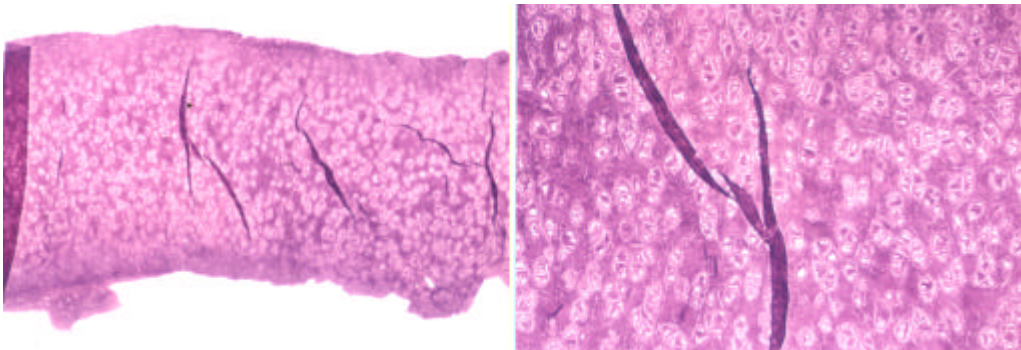


그림 6. 고압 소독으로 전처치 직후 동종 연골의 조직소견.(좌 : 40배, 우 : 100 배) 비교군에 비해 살아 있는 세포가 약 50% 줄어들었고 기질이 짙은 보라색을 띠는 것으로 보아 무기질로의 변성이 심한 소견을 보였다.

#### IV. 고 찰

연골의 동종 이식은 1950년대 처음 시도되어 수술 직후는 결과가 만족스러우나 장기추적 결과는 만족스럽지 못했다<sup>10,11)</sup>. 이식 전에 75%의 세포가 생존해 있는 동종 연골을 이식하였을 때 세포생존율이 2년 후에는 55%, 6년 후에는 15%로 감소한다는 보고가 있으며<sup>11)</sup> 소이증 환자에서 동종 연골로 외이 재건술을 시행하였을 때 거의 형태를 유지하지 못했다는 보고도 있다<sup>2)</sup>. 현재 거부반응을 줄이기 위한 여러 가지 전처치 방법들이 연구되고 있는데<sup>3,4,6,7)</sup> 그 효과는 보고자에 따라 다르고, 해석 방법의 객관화가 어렵고 또한 같은 조건에서 여러 전처치를 비교한 보고가 거의 없어 어떤 방법이 가장 효과적인지는 보고자에 따라 다르다. 동종 연골의 이식시 거부 반응에는 class II antigen이 큰 역할을 하는데 이것은 연골 세포에는 없지만 연골막에는 상당히 존재한다고 알려져 있다<sup>12)</sup>. 지금까지 연구된 전처치 과정으로<sup>4,5,6,7)</sup> 이 항원이 상당량 제거되지만 연골막을 제거하는 것이 거부 반응을 더 줄일 수 있다는 가정으로 본 연구에서는 연골막을 제거하였다. 육안적으로 연골막을 제거하였으나 연골과 연골막의 경계가 불명확하여 연골막을 완전히 제거하는 것은 불가능하고 따라서 보이지 않게 잔존하는 연골막이 이 실험의 결과에 하나의 변수로 작용하였을 가능성도 있다. 여러 방법으로 전처치한 동종 연골 이식 시 연골의 소독 방법에는 화학적 처리, 방사선 조사, 가스 소독 등 여러 가지 방법이 소개되었는데 이 중 산화 에틸렌 가스 소독이 연골의 흡수를 가장 최소화한다는 보고가 있다<sup>13)</sup>. 따라서 본 연구에서는 동종 연골의 소독 방법으로 가스처리를 하였다. 다른 전처치군에도 동등한 조건을 부과하기 위해 산화 에틸렌 가스로 멸균 소독하였다. 거부반응을 좀 더 정확하게 판단하기 위해서는 오랜 기간 관찰하여야 하지만 보고에 의하면 일반적으로 거부반응에 의해 연골이 완전히 흡수되는 기간은 100일 정도로<sup>13)</sup> 추정하고 있어 본 실험에서는 이식 12주 후에 결과를 판정하였다.

대조군의 실험결과와 같이 산화 에틸렌 가스 멸균 소독으로는 연골 자체에 큰 영향이 없는 것으로 보이며 핵의 농축 현상은 정상적인 연골에서도 세포 자율 괴사(apoptosis)등의 과정에서 관찰될 수 있다. 그러나 4주 후의 검체에서 약 50%의 부피와 생존세포 수의 감소로 보아 흡수가 진행되었고 12주 후의 검체에서는 형태를 알아볼 수 없을 정도로 완전히 흡수되었다. 동종 이식에 의한 거부반응 이외에 연골의 흡수에 대한 설명으로 조직 항원이 연골막에 많이 존재하므로 거부 반응을 줄이기 위해 연골막을 제거한 것이 거부 반응 자체를 떠나 연골의 흡수에 관여하였고 아울러 연골막이 존재하면 기대할 수 있는 부가적 연골 성장이 차단되었다는 가정과, 이식 후에 적절한 고정이 이루어지지 않았으며, 가idon이 실험기간에 너무 과도하게 성장하여 조직의 성장력에 의해 이식편에 압력의 증가 등의 흡수 요소를 생각해 볼 수 있다. 하지만 냉동 건조나 방사선 전처치군과 달리 대조군에서 이식된 연골이 완전 흡수됨은 확실히 거부반응에 의한 흡수라고 추측된다.

냉동 건조에 의한 전처치는  $-80^{\circ}\text{C}$ 까지는 세포가 괴사되지 않고 항원성만 변화된다고 보고 되고 있으나<sup>7)</sup> 기전은 정확하게 밝혀지지 않고 있다. 본 실험에서 전처치 직후나 이식 4주 후의 검체에서 약 20%의 부피와 생존 세포 수의 감소가 관찰되었으나 조직학적 소견상 이식 전의 대조군과도 별 차이가 없었다. 그러나 12주 후의 검체에서는 약 40%의 부피 감소와 50%의 생존 세포의 감소가 관찰되었다. 냉동 건조가 본 실험에서도 나타나듯 가장 좋은 전처치 방법 중의 하나지만 흡수를 완전히 막을 수는 없다고 생각된다.

방사선 조사로 연골의 세포 성분과 항원 물질을 제거하기 위해서는 약 30,000 Gy 정도의 조사량이 필요하다. 이런 많은 양의 방사선이 조사된 연골은 항원성이 변하여 거부반응을 줄일 수 있다고 추측되나 그 정확한 이유는 밝혀지지 않았고 또 흡수율에 관해서는 보고마다 틀리다<sup>5),6)</sup>. 본 실험 결과에서 방사선으로 전처치한 동종 연골은 초기에는 냉동 건조법과 비슷해 보였으나 12주 후의 검체에서는 약 50%의 부피 감소와 75%의 세포 성분의 감소를 보였다.

암세포가 침습한 골 등에서 제거한 골 조직을 고압 소독하여 다시 제거한 자리에 자가 이식하였을 때 제거되었던 골 생성 세포가 비록 자가 이식한 골보다는 작지만 다시 생존하여 골을 생성한다는 보고가 있고 실제 이에 대한 연구가 활발하다<sup>9)</sup>. 이것을 동종이식에 적용하면 이론적으로 고압소독으로 항원물질을 제거할 수 있고 재혈류화에 의한 연골 모세포의 이동으로 연골이 재생명화되어 동종 연골이 생존할 수 있다는 것을 생각해 볼 수 있다. 하지만 연구 결과에서 나타나듯이 연골이 완전 흡수되어 형태를 알아볼 수 없었다. 이것은 골과는 달리 연골은 석회화 조직이 거의 없고 단백 다당질(protein polysaccharide), 교원 섬유망(collagen fibrillar network) 및 수분으로 기질이 형성되어 있는데 고압에 의한 변성이 심해 궁극적으로 완전 흡수가 되었다고 생각된다.

이상의 결과를 토대로 살펴볼 때 전처치 유무에 관계 없이 모든 동종 연골에서 흡수량의 차이는 있으나 흡수를 보였다. 물론 이 실험을 통하여 정확하게 정량적으로 연골의 흡수를 측정하는 것은 문제가 있다. 검체가 정사각형 내지 이등변 사각형 등의 일정한 형태를 취하는 것도 아니고 두께가 모든 면에서 일치하는 것도 아니며 검체 주위에 연부 조직도 다소 붙어 있기 때문에 정확한 부피는 영상 분석기(imaging analyser)를 이용하면 좀 더 정확한 부피 측정이 가능하나 조직 표본을 얻어야 하기 때문에 각 변에서의 길이와 두께의 평균값으로 하였고 실제 검체에서 볼 때 같은 조건으로 측정하여 상대적 부피의 비교 관찰에는 문제가 없다고 생각된다. 또한 자가 이식된 연골의 흡수도 같이 비교하였다면 거부반응과 다른 흡수 요인을 비교할 수 있는 중요한 대조군이 되었을 것이라 생각된다.

비성형술, 안와저 골절 등에 동종 연골을 이식하여 좋은 결과를 보인 임상 예의 보고는 생검 결과가 없기 때문에 형태의 유지가 과연 어떤 기전으로 이루어진 것인지는 확인할 수 없다. 그러나 조직학적으로 볼 때 이식 후 시간이 지남에 따라 연골 세포의 수가 감소하고 기질이 변성되는 것은 동종 이식된 연골은 세포가 생존하는 이식편 보다 형태 유지를 위한 대치물의 역할이 더 중요하다

고 생각된다. 앞으로의 실험에서 연골막의 기능, 정확한 정량적 계측, 항원의 분자 생물적 관찰, 장기적 관찰 기간 등의 요소를 더욱 고려한 실험으로 연골의 동종 이식에서 거부 반응의 기전을 일부 밝혀 이의 조절의 기초가 되면 동종 연골 이식의 유용성이 증가될 것으로 사료된다.

## V. 결 론

가뚝의 귀에서 각각 1 ×1 cm 크기의 동종 연골을 채취하여 전처치 하지 않은 대조군, 냉동 건조군, 방사선 조사군, 고압 소독군으로 나누어 가뚝 배부의 피하층에 이식하여 전처치 직후, 이식 4 주, 이식 12 주 후에 각각 생검하여 부피 변화를 측정하고 조직학적으로 세포 성분과 기질의 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 전처치를 하지 않은 대조군과 고압 소독으로 전처치한 군은 흡수가 진행되어 이식 12 주 후에는 완전히 흡수되었다
2. 냉동 건조로 전처치한 군은 이식 12 주 후에 이식 전보다 약 40%의 부피 감소가 있었으나 형태가 비교적 잘 유지되었다. 조직학적 소견상 연골의 섬유화가 진행되었고 생존해 있는 세포가 전처치 직후보다 약 50% 감소하였다.
3. 방사선으로 전처치한 군은 이식 12주 후에 부피가 이식 전보다 50% 감소하였으나 형태는 유지되었으며 조직학적 소견상 약 75%의 세포가 괴사되었으며 경색 형태의 괴사가 일어난 소견을 보였다.

이상의 결과로 볼 때, 동종 연골은 전처치의 유무와 방법에 관계 없이 흡수되는 소견을 보였으나 냉동 건조로 전처치한 동종 연골이 가장 적게 흡수되었다. 또한 고압 소독은 실제 연골의 구조상 연골의 전처치로는 적합하지 않은 방법이라 생각된다. 연골의 흡수에 관해서는 거부 반응 이외에도 연골막의 존재 여부, 가뚝의 급격한 성장 등 여러 요인을 고려해 볼 수 있지만 냉동 건조나 방사선 조사로 전처치한 군과 전처치를 하지 않은 대조군 사이에 확연한 흡수율의 차이가 있는 것으로 보아 동종 이식에 따른 거부반응이 가장 중요한 원인이라 생각된다.

## 참고 문헌

1. Ersek RA, Rothenberg PB, Denton DR. Clinical use of an improved processed bovine cartilage for contour defects. *Ann Plast Surg* 1984; 13:44 - 52.
2. Converse JM. The absorption and shrinkage of maternal ear cartilage used as living homograft: follow up report of 21 of Gillies' patients. *Reconstructive Plastic Surgery*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1977. P. 308-309 .
3. McGlynn MJ, Sharpe DT. Cialat preserved homograft cartilage in nasal augmentation: A long term follow up review. *Br J Plast Surg* 1981; 34: 53-57.
4. Schuller DE, Bardach J, Krause CJ. Irradiated homologous costal cartilage for facial contour restoration. *Arch Otolaryngol* 1977; 103:12-15.
5. Lefkovits G. Irradiated homologous costal cartilage for augmentation rhinoplasty. *Ann Plast Surg* 1990; 25:317-327.
6. Sailer HF. Experiences with the use of lyophilized bank cartilage for facial contour correction. *J Maxillofac Surg* 1976; 4: 149-154.
7. Chen JM, Zingg M, Laedrach K, Raveh J. Early surgical intervention for orbital floor fracture: A clinical evaluation of lyophilized dura and cartilage reconstruction. *J Maxillofac Surg* 1992; 50: 935-941.
8. Stoksted P, Ladegoged C. Crushed cartilage in nasal reconstruction. *J Laryngol Otol* 1996; 100:897-906
9. Zellin G, Alberius P, Linde A. Autoclaved bone for craniofacial reconstruction: Effects of supplementation with bone marrow or recombinant human fibroblast growth factor-2. *Plast Reconstr Surg* 1998;

102: 792-800.

10. Gibson T, Davis WB, Curran RC. The long term survival of cartilage homografts in man. *Br J Plast Surg* 1958; 11: 117-123.
11. Hagerth RF, Braid HL, Bonner WM, Hennigar GR, Lee WH. Viable and nonviable human cartilage homografts. *Surg Gynecol Obstet* 1967; 125: 485-493.
12. Bujia J, Wilmes E, Hammer C, Kastenbauer E. Class 2 antigenicity of human cartilage: Relevance to the use of homologous cartilage graft for reconstructive surgery. *Ann Plast Surg* 1991; 26: 541-550.
13. Wangerin K, Ewers R, Bumann A. Behavior of differently sterilized allogenic lyophilized cartilage implants in dog. *J Maxillofac Surg* 1987; 45: 236-242.



Abstract

A comparison of absorption in cartilage allograft pretreated with cryopreservation, radiation, and autoclaving in swine

Hong Lim Choi

*Department of Medicine*  
*The Graduate School, Yonsei University*

**(Directed by Professor Beyoung Yun Park)**

Allograft compared to alloplastic implants for the replacement of bone and cartilage has the advantage of less infection and exposure but may not be able to survive and be absorbed due to rejection. Thus far, there has been many attempts to decrease the antigenicity of allograft cartilage with pretreatment but no objective method has been reported.

Cryopreservation and radiation pretreatment have been attempted in studies but autoclaving, a possible alternative, has not been reported. The authors compared allograft transplantation of swine ear cartilage with a control and cartilage pretreated with cryopreservation, radiation, and autoclaving. The difference was observed by grossly measuring the volume change of the allograft and by comparing the histologic change of cell components and matrix. Observation was focused on which method minimized resorption due to rejection.

On the gross examination and histology of pre-transplanted cartilage, the

control disinfected with only ethylene oxide sterilization showed no gross volume change and only condensation of nucleus of histologic evaluation. The cartilage pretreated with cryopreservation showed a minor decrease in volume and histologically the alignment altered and cells decreased by 20% compared to the control. The cartilage pretreated with radiation was similar to the control. The cartilage pretreated with autoclaving showed a 30% volume loss and 50% cell loss and severe matrix degeneration compared to other cartilages.

On the gross examination and histology of transplanted cartilage after 12 weeks, the control and cartilage pretreated with autoclaving was completely absorbed with almost no remaining tissue on histology. The cartilage pretreated with cryotherapy decreased in volume by 40% but shape was maintained. Histologically, 50% loss in number of cells was observed. The cartilage pretreated with radiation decreased in size by over 50% but shape was maintained. About 75% of cell loss was observed on histology with an ischemic pattern.

From the results of the this study, the author found that any type of pretreatment of alloplastic cartilage could not prevent rejection or absorption. Although it can not prevent absorption, cryopreserving is better methods for pretreatment of alloplastic cartilage. The result showed autoclaving the cartilage is not appropriate method for alloplastic cartilage pretreatment.

---

**Key Words:** cartilag, allograft, pretreatment, cryotherapy, radiation, autoclaving