

백서 복근에 매식된 동결 건조 및 방사선 멸균처리된 동종골의 조직 반응에 관한 실험적 연구

원광대학교 치과대학 구강 악안면 외과학 교실
이창우 · 임창준 · 이동근

AN EXPERIMENTAL STUDY ON TISSUE RESPONSE FOLLOWING IMPLANTATION OF THE FREEZE - DRIED AND RADIATION - STERILIZED ALLOGENEIC BONE IN RECTUS ABDOMINICUS MUSCLE

Chang-Woo Lee, Chang-Joon Yim,
Dong-Keun Lee, Soo-Nam Kim

Department of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Wonkwang University

In this study, the healing changes of the implanted bone and its surrounding tissues were examined on the histopathologic basis following implantation of the freeze - dried and radiation - sterilized allogeneic bone in Rectus abdominicus of the rat.

This study was performed to see the tissue reactions after implantation of the freeze - dried and radiation - sterilized allogeneic bone and whether osteogenesis or osteo - induction or osteo - conduction is happened. And the results were as follows :

- 1. The shape of the implanted allogeneic bone of the 1, 2 - week group specimen was similar to that of normal bone in light - microscopic finding, and the atrophy of cellular organells was found in transmission electron - microscopic finding.*
- 2. The implanted allogeneic bone was surrounded with the dense fibroconnective tissues, and infiltration of the chronic inflammatory cells gradually became increased.*
- 3. Hyaline degeneration was observed in the surrounding tissue at the 3, 4, 6 - week group specimen.*
- 4. Light - microscopically, the resorption of implanted bone became prominent after 4 - week group and the necrosis of allogeneic bone implant became severe with loss of cell components in lacuna.*
- 5. Electron - microscopically, the osteoclast - like cells were found after 2 - week group.*

It is summarized that the osteo - conduction potential of the bone is remained just after implanting the freeze - dried and radiation - sterilized allogeneic bone on Rectus abdominicus of the rat, but gradually it disappeared with the gradual increse of chronic inflammatory reaction and osteoclastic activity. So it is suggested that the antigenicity of the freeze - dried and radiation - sterilized bone is remained and it has little osteo - conductive activity when it is implanted in the muscle.

목 차

- I. 서 론
- II. 연구재료 및 방법
- III. 연구성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고문헌
- 사진부도 및 설명

I. 서 론

구강 및 악안면영역을 비롯한 인체의 경조직 결손을 수복시키기 위하여 여러가지의 골이식술들이 사용되어 왔다. 그중에서 자가골 이식은 혈관의 빠른 신생 속도 및 정도¹⁾, 숙주와의 친화력 혹은 면역학적인 수용도의 우수성^{2,3)}, 특히 정상 골 재생이 잘되는 장점이 있어 가장 흔히 사용되고 있다. 그러나 신체의 다른 부위에 야기되는 외과적 손상, 이식재 공급여부의 제한, 그리고 채취가능한 골의 양이 한정되어 있는 단점이 있다^{4,5)}. 이러한 자가골 이식의 단점을 보완하기 위하여 냉동골(Frozen bone)⁶⁾, 동결건조골(Freeze-dried bone)⁷⁾, 자가용해성 항원추출동종골(Autolyzed Antigen extracted, Allogeneic bone: AAA bone)⁸⁾ 등과 같이 여러가지로 처리된 동종골 이식과 Kiel bone⁹⁾, Hoplant¹⁰⁾ 등과 같은 이종골 이식이 실시되고 있으나 이식재의 면역반응, 숙주와의 친화력 결여 및 안정된 공급이 어려운 단점이 있어 임상적으로 널리 사용되지 못하고 있다.

Emmings와 Gage¹¹⁾, 그리고 Gage¹²⁾은 골로 냉동시킨 후 골세포의 파괴와 골재생을 관찰하였으며, Bradley¹³⁾는 이런 경우 실험골(Nonvitalized bone)은 천천히 흡수되어 동시에 신생골로 대체된다고 하였다. Marciani¹⁴⁾은 악골을 액체질소에 침하시킴으로써 급냉실험시킨 후 재이식을 하여 좋은 결과를 얻은 바 있다.

동종골 이식시에는 이식재의 거부반응이 가장 문제가 되어왔다. 동종골의 이식후 이식재 및 주위조직에는 거부반응의 양상이 다양하게 나타나게 되므로 여러가지로 처리된 이식골편의 생존도 및 치유에 대한 평가는 면역학적인 측면에서 많이 연구된 바 있다¹⁵⁻²⁰⁾. 이러한 동종골의 여러가지 처리 방법 중에서 동결건조법은 면역항원성을 줄이고^{15, 16, 19, 20)},

단백질 변성도 최소화되며 골이식시 골전도(Osteo-conduction)가 야기되는 우수한 방법이라고 보고되었다¹⁷⁾. 따라서 골의 면역성을 감소 내지 손상시킨 동종의 동결건조골을 자가골 대신으로 선호하게 되었다. 그러나 동결건조를 시행함으로써 동종골의 항원성을 완전히 제거시킬 수 있는가 하는 점은 계속 논란이 되고 있다.

최근 일련의 학자들은 골질내에 골형성 유도물질인 골 형성 단백질(Bone Morphogenetic Protein)이 존재하고 있다는 가설을 실험으로 증명하였다. 이 물질은 탈회된 경조직 내에 존재하기 때문에 탈회된 경조직을 이식한 경우 연골내 골형성기전(Endochondral ossification)에 의해서 연골발생 및 골발생을 유도(Induction)한다고 한다^{21, 22)}. 따라서 골이식재의 다양한 처리시 골형성단백질의 파괴여부와 항원성의 존재여부는 향후 골이식의 예후를 결정하는 중요한 사항이라 볼 수 있으나 국내에서 이에 대한 연구는 미비하다.

이에 저자는 향후 동종골의 임상적 사용에 응용하기 위하여, 백서의 복근 내의 동결건조후 방사선멸균 처리된 동종골을 매식한 후 매식골편 및 주위 조직반응의 변화를 조직학적으로 관찰함으로써 골전도 능력 및 항원성의 존재여부에 관한 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 연구재료 및 방법

1. 실험 재료

실험동물은 동일 조건을 유지하기 위하여 일정기간동안 시판 고형사료에 의해 사육된 160gm 내외의 Sprague-Dawley계 웅성 백서 20마리를 사용하였다.

2. 동결조건 및 방사선멸균 처리 동종골 제작

실험 1주일 전 Ether를 흡입시켜 실험동물을 전신마취 시키고, 편측 대퇴골 부위의 제모 및 소독을 시행한 후 환부를 공포를 이용하여 격리시켰다. 대퇴부의 외측에 5cm 가량의 절개를 하고 대퇴골을 노출시켰다. 노출된 대퇴골을 적출하여 흐르는 증류수에 24시간 동안 세척을 하였다. 세척이 끝나자마자 -20°C 의 온도에서 보관한 후 72시간동안 동결건조시켜 조직내 잔류 증기 농도가 5% 이하가 되게

하였다. 진공 용기내의 동결건조된 골에 2.5mega rad의 용량을 조사하여 방사선멸균 처리를 하였다.

3. 실험방법

1) 수술방법

실험동물에 Ether를 흡입시켜 전신마취를 시행한 후, 통법에 따라 수술부(복부)의 제모 및 소독을 시행하고, 지혈목적으로 수술부에 Epinephrine이 함유된 2% Lidocaine HCl을 주입하였다. 실험동물의 복부에 1cm의 피부 절개를 하고 근육을 박리한 후, 복부 근육내에 $1 \times 4 \times 8 \text{mm}^3$ 크기의 동결건조 및 방사선 멸균처리된 동종골을 연조직 내부에 매식한 후 근육과 피부를 3-0 Chromic gut으로 봉합하였다.

2) 광학현미경 관찰

동종골 매식 수술후 1주, 2주, 3주, 4주, 6주 만에 각각 백서를 희생시켜 매식재를 포함한 연조직 절편부를 채취하여 통법에 따른 파라핀 포매 후 4~5 μm 의 절편을 만들어 Hematoxylin - Eosin 이중염색과 Masson's Trichrome 염색을 하였다.

3) 투과전자현미경 관찰

전자현미경 표본제작을 위하여 절취된 이식골편 주위조직의 일부를 1mm^3 의 크기로 절단하여 Karnovsky용액에 4°C에서 24시간 전고정하였으며, 0.2M Phosphate 완충액(pH 7.4)으로 조정된 2% Osmium tetroxide 용액에서 2시간 동안 고정하고, 통법에 의해 탈수시킨 후, EDTA에 탈회시켜 Epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 초박절편기에서 1μ 의 두께로 절편을 만들어 Toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰한 후 80mm의 두께로 초박 절편을 만들어 Uranyl acetate와 Reynold 용액으로 이중염색하여, 75KV의 가속전압하에서 투과전자현미경으로 관찰하였다.

III. 연구성적

1주 :

이식골편과 주위 근육조직 사이에는 결합조직이 관찰되었고, 골편의 피사나 변성을 거의 관찰할 수 없었으며, 전가골이 신생되는 소견을 보였다.

이식골편의 골수에는 미약한 급성염증세포 침윤과 섬유조직의 증식이 관찰되었고, 이식골편의 내부에는 조골세포들이 출현하면서 골소주에는 많은 유골

세포(Osteoid)가 발견되었다.

2주 :

이식골편은 골공(Lacuna)내 변성이 거의없이 생 활력을 유지하고 있었으며, 이식골편 주위에는 치밀한 섬유성 간질이 보였고, 골편의 변연부위에는 유골세포와 조골세포들이 관찰되었다. 염증세포의 침윤은 1주에 비하여 증가되었는데 주로 만성 염증 세포인 형질세포들이 관찰되었고, 확장된 다수의 모세혈관이 보였다. 파골세포형의 거대세포들이 가끔 골수에서 보이며, 혈관 및 섬유아세포의 증식도 관찰되었다. 한편 극히 일부에서 피사된 골과 함께 골흡수상이 보였다.

3주 :

이식골편의 세포 변성이 적으며, 극히 일부에서 신생골의 형성이 관찰되었고, 파골세포에 의한 골 흡수상이 2주에 비하여 증가되어 있다. 이식골편은 섬유성 간질에 의해 둘러싸여 있으며, 주위근육 내에는 염증세포의 침윤과 초자양화 변성이 관찰되었다. 골소주의 간질에는 임파구, 형질세포, 조직구 등의 출현 및 거대세포에 의한 흡수와 탐식작용이 일어나고 피사된 골편도 일부에서 출현하고 있다.

4주 :

이식골편은 가장자리에 형태가 불규칙해지며 심한 흡수상을 보였고 종창된 염증성 결합조직이 둘러싸고 있었다. 섬유성 조직 내에는 임파구, 조직구와 같은 만성 염증세포의 침윤이 있었고 모세혈관 증식과 섬유아세포 증식이 동반되고 있었다. 피사된 골편이 3주군에 비하여 많이 관찰되었고, 골이 치유 내지 신생되고 있는 소견은 거의 없었으며, 불규칙한 초자양화 현상이 관찰되었다.

6주 :

판상골은 육아조직으로 둘러싸였으며, 골공 내의 세포 성분은 상실되어 있었다. 판상골 주위 조직에서 드물게 거대세포(Giant cell)가 형성된 것이 보였다. 골편의 피사량과 골의 흡수량이 더욱 증가되어 있고, 여러개의 불규칙한 초자양화 현상이 관찰되었으며, 그 주위 조직에서는 주로 임파구, 조직구의 침윤 현상이 관찰되었다.

Table 1. Histologic findings of implanted allograft

	ICF	OBA	OCA	FBR
1 week	+	+	-	±
2 week	++	+	±	+
3 week	++	±	++	++
4 week	+++	-	+++	+++
5 week	+++	-	+++	+++

(- : negative, ± : occasionally found, + : mild, ++ : moderate, +++ : marked)

ICF : Inflammatory cell infiltration

OBA : Osteoblastic activity

OCA : Osteoclastic activity

FBR : Foreign body reaction

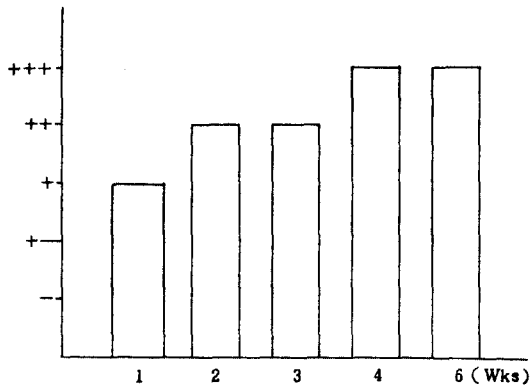


Fig. 1. Inflammatory Cell Infiltration (Degree)

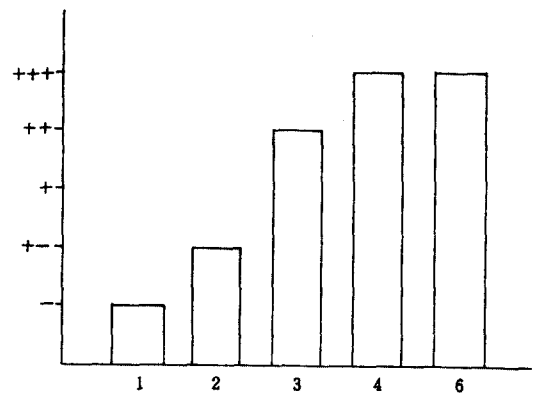


Fig. 3. Osteoclastic Activity (Degree)

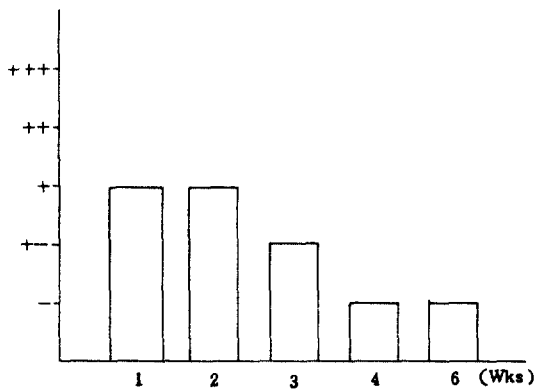


Fig. 2. Osteoblastic Activity (Degree)

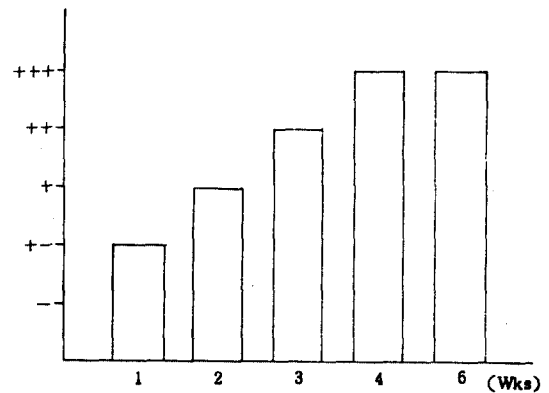


Fig. 4. Foreign Body Reaction (Degree)

IV. 총괄 및 고찰

인체의 경조직 결손부를 수복하기 위하여 자가골 외에도 여러가지로 처리된 동종이인자형골이나 이종골들이 개발되고 있다. 여러가지 골 이식술후 이식골의 생존도에 대한 뚜렷한 평가 방법은 없고 임상적 소견, 조직학적 검사, 단순 방사선 촬영, 미세혈관조영술 및 방사선 동위원소의 골주사법 등이 이용된다. 성공적인 골 이식체의 평가 기준으로 유해한 면역학적 반응을 유발하지 않아야 하고, 능동적 또는 수동적으로 숙주의 골 재생과정을 도울수 있어야 하며, 수술 부위에 가해지는 기계적 힘에 견딜수 있고, 궁극적으로 완전히 흡수되면서 숙주의 골조직으로 치환되어야 한다²³⁾.

동종이인자형 골조직이 무균 상태가 아닌 환경에서 채취되거나 처리 과정중 오염되었다면, 이러한 이식체는 임상적으로 사용되기 전에 완전히 멸균되어야만 한다. 이런 경우 Ethylene Oxide gas와 Beta-propranolactone같은 소독제를 이용한 멸균법을 사용하기도 하지만 2.5mega rad의 방사선량을 조사시키는 방사선 멸균법이 가장 효과적인 방법으로 알려져 있으며, 각국에서 점차 이 방법을 선호하고 있다^{24, 25)}.

이종골은 공급이 무제한적으로 가능하고 부가적인 수술이 필요없으며 술후 합병증을 예방할 수 있어 자가골 이식술의 단점을 보완하고, 구입 및 저장이 용이하여 이종골 이식에 적합한 이식체에 대한 연구가 계속되어 왔다²⁶⁾. 1889년 Senn²⁷⁾이 탈회된 우골(Decalcified ox bone)을 소개한 이래 1904년 Orell²⁸⁾은 Ox purum을, Williams와 Irvin²⁹⁾은 Ethylenediamine으로 유기물질을 제거한 무기질골(Anorganic bone)을 소개한 바 있다. Killdy³⁰⁾등은 Kiel bone과 혈병의 치유과정 및 Kiel bone의 항원성에 대한 연구를 진행하였고, Kramer등¹⁰⁾은 Boplant의 조직반응에 대해 연구하는 등, 이종골을 처리한 이식체들이 개발되어 일부 사용되고 있으나 아직까지 재료의 면역학적 반응 및 조직 적합성에 대한 평가가 완전히 되지않아 임상적으로 널리 사용되지 못하고 있다.

동종골의 경우는 이종골보다는 거부반응이 심하지 않지만 자가골에 비해서는 이식후에 거부반응의 양상이 다양하게 나타나게 되므로, 면역거부반응을 억제하기 위해 냉각³¹⁾, 비등³²⁾등의 여러가지 방법들

이 시도된 바 있었고, 최근 냉동법이나 동결건조법이 사용되고 있는데, 면역반응 문제에 있어서 동결건조법이 다소 우수하고, 단백질 변성도 줄일 수 있으며, 상온에서도 보존이 가능하여 널리 이용되고 있다^{33, 34)}. 항원성을 감소시킨 항원 추출동종골은 무기질의 소결(燒結: Sintering)과 유기질의 연소(燃燒: Combustion)로 인하여 골소주가 비교적 얇아지고 망극이 확장되어 육아조직의 미입이 용이하여 골 형성을 촉진하는 것으로 알려져 있는데, 경도가 원래 상태보다 매우 떨어지는 단점이 있다⁸⁾.

냉동법에 의해 보존될 골이식체들은 탈단백질화, 비등법 또는 다른 처치에 의한 이인자형 이식체들보다 혈류 재생이 더욱 완전하게 되고, 흡수되며, 재형성된다⁹⁾. Emmings와 Gage¹¹⁾, 그리고 Gage등¹²⁾은 개의 냉동된 악골과 대퇴골에서 처음으로 골세포의 파괴와 골재생을 관찰하였으며, Bradly¹³⁾는 쥐와 돼지에서 냉동시킨 악골이 천천히 흡수되며 동시에 신생골에 대체되는 것을 관찰하였다. Marciani등¹⁴⁾은 악골을 체내에서 체외로 적출하여 액체 소절에서 급냉실활시킨 후 재이식하여 좋은 결과를 보고 한 바 있다. 조직동결에 따른 세포의 손상기전^{35, 36, 37)}은 세포 내의 결빙과 탈수, 또한 그에 따른 세포내 물질들의 농축에 의한 세포의 구조적, 화학적 변화와 함께 구성성분의 변화에 따른 세포막의 파열과 갑작스런 온도변화에 의한 충격으로 호흡기능을 상실하며 그와 함께 혈행의 정지와 혈전의 형성으로 해빙후에도 혈액의 공급이 중단되어 조직의 피사가 일어나게 된다. 한편 Fred³¹⁾는 냉동 상태에서의 이식체의 항원성에 대하여 신선골과 냉동골 간의 유도된 세포성 면역 정도는 확실한 차이가 없었다고 보고한 바 있다.

여러 선행들의 보고에 의하면 동결건조법은 여러가지 동종골의 처리방법 중에서 면역항원성을 줄이고 단백질 변성도 최소화시킬 수 있는 가장 우수한 방법이라고 한다¹⁵⁻²⁰⁾. 동결건조는 높은 진공상태 하에서 동결물질로부터 수분을 제거하는 과정으로 조직의 동결과정중 동시에 증발이 됨으로써 동결결정을 제거하는 것이다³⁸⁾. 동결건조는 단백질, 효소, 비타민의 보존, 저장, 운반에 과거 35년 이상 제약계에서 사용되어 왔으며⁷⁾, 혈장같은 유기물들을 동결건조시켜도 동결건조 직후나 수년간 보관한 이후에도 화학적, 항원적, 생물학적, 전기영동적으로 안정되

어 있다는 것이 밝혀졌다³⁰⁾.

따라서 꿀의 면역성을 감소 내지 손상시킨 동종의 동결건조꿀을 자가꿀 대신으로 선호하게 되었다. 그러나 동일 방법으로 동결건조시킨 동종꿀간에도 꿀내용물이나 성상에 따라 항원성에 차이가 있어 피질꿀은 비항원성이지만 해면질꿀은 미약하나 계속 항원성이 존재한다고 한다^{15, 16)}.

본 실험에서 이식꿀편의 흡수상은 3주군에서부터 활발하게 나타나기 시작하여, 4주군에서 현저하게 관찰되었으며, 4주군과 6주군에서는 육아조직으로 둘러싸인 주위조직에서 이물반응을 보였고 피사된 꿀편과 불규칙한 초자화 현상이 더욱 증가되었다. 4주군에서 현저한 흡수상을 보이고 있는 파골세포가 존재하는 꿀면에서는 Howship씨 골공과 같은 명확한 변화가 보였고, 경계면은 불규칙(ruffled)하게 관찰되었다. 이러한 현상으로 보아 동결건조된 동종이 인자형 이식재에는 항원성이 남아 있는 것으로 여겨지며, 이식재가 수용부에 완전 고정되지 않아 숙주가 운동을 함에 따라 불안정한 상태의 고형 이식재가 주위 연조직을 계속 자극함으로써 이물반응이 촉진되었을 것으로 사료된다. 이러한 소견은 Glowacki등^{40, 41)}이 탈회시키지 않은 꿀을 이식할 때 이식된 꿀편은 단핵세포, 포식세포 계통의 세포들에 의해 흡수된다고 연구 보고한 것과 일치되는 결과이다.

본 실험 2주군에서부터 전자현미경 상으로 여러 개의 핵과 전자밀도치밀과립들이 함유된 파골세포로 여겨지는 세포들이 관찰되었다. 이러한 꿀 흡수현상을 야기시키는 파골세포의 전구세포는 아직 명확히 밝혀지지 않았다.

Malone등⁴²⁾은 경조직 흡수에 관여하는 파골세포의 전구세포인 단핵세포는 꿀 기질에 이들 세포를 끌어모으는 물질이 있어 꿀면까지 도달될 것이라 보고하였다. 이와같이 단핵포식구가 파골세포의 전구세포일 것으로 제안되어 왔으나, 최근 단핵세포식세포가 융합되어 생성되는 대식성 거대세포에는 파골세포에서 발견되는 Calctonin수용체, 특히 항원이 발견되지 않는점 등으로 단핵포식구가 파골세포로 분화된다는 설에 의문이 제기되었으며^{43, 44)}. Mundy와 Roodman⁴⁵⁾은 단핵세포를 대식세포 계통 및 파골세포 계통의 단핵세포로 구분될 수 있다고 보고한 바 있다. 따라서 단핵세포와 파골세포간의 관계에 대하여 계속 규명을 해야할 것으로 사료된다.

Friedlaender와 Strong^{16, 20)}은 신선한 동종꿀의 이식시 강력한 면역원을 증명할 수 있으나, 동결건조된 동종꿀을 이식한 경우에는 상대적으로 미약한 면역성을 보이거나 심지어는 면역학적 반응을 관찰조차 할 수 없었다고 보고한 후, 이러한 동결건조가 동종꿀 이식의 감작능을 약화시키는 기전은 아직 불확실한데 동결 및 건조의 두 과정에서 면역성이 약화되고 조직내의 생존 세포가 감소하는 것이 중요한 기전일 것이라고 추정한 바 있다.

Brooks와 Heiple⁴⁶⁾은 탈회한 동종꿀의 이식이 이식거부를 촉진시키는 것과 확실히 관련된다고 하였고, Nogami와 Urist^{47, 48)}도 탈회한 동종꿀은 항원성이며 섬유성 반흔이 이식조직에서 발생하는 지연형 과민반응을 자극하게 된다고 하였다. Urist등⁴⁹⁾은 또한 이식체의 항원을 화학적으로 추출한 후에 그 잔존물을 근육 또는 꿀내에 매식을 한 경우 자가꿀 뿐만 아니라 신생꿀이 생성될 수 있다고 하였다.

Foncca등⁵⁰⁾과 Meletta등⁵¹⁾은 자가꿀이 동결건조꿀(이인자형꿀)보다 더 많은 꿀유도 능력을 나타내게 되는데, 강하고 빠른 꿀 조직 반응으로 인하여 파골작용이 증강되기 때문에 꿀유도 작용을 증가시킬 뿐 아니라 심한 꿀 흡수가 야기될 수도 있다고 하였다. 동결건조된 동종꿀은 골형성 능력이 자가꿀과 달라 신생꿀의 형성과 접합 및 혈관의 침투가 지연되며, 혈관주의의 신생골 형성은 적고 오히려 피질꿀의 재생이 많아도 한다^{3, 52, 53)}.

본 연구가 1주군과 2주군에서는 골공 내의 세포 성분은 광학현미경 소견상으로 건전하게 관찰되었고, 이식된 꿀편의 피사나 변성을 거의 볼 수 없었다. Hematoxylin - Eosin이염색에서 신생꿀이 형성되는 듯한 소견이 관찰되었고 Masson's Trichrome 염색에서 교원질을 확인할 수 있었다. 또한 3주군에서도 극히 일부에서 신생꿀과 비슷한 소견이 관찰되었다. 이것은 기존의 골치유 및 자가꿀 이식시의 소견과 흡수한 것으로서 이식된 동종꿀은 단백질의 변성이 적으며, 냉동건조 및 방사선멸균 처리된 동종 이인자형 꿀에는 골 전도 능력이 내재된 것으로 여겨진다.

한편 4주군과 6주군에서 신생꿀의 형성이 전혀 관찰되지 않았다. 이 결과는 김⁵⁴⁾이 근육내에 매식된 탈회된 꿀주위에서 골 형성을 관찰한 것과는 다른 것이다. 최근 일련의 학자들은 꿀질 내에 골형성

유도물질인 골형성 단백질이 존재하고 있다는 가설을 실험으로 증명해 왔다. Urist⁵⁾은 골유도는 골 형성 단백질의 작용에 의하여 매개된다고 보고하였는데, 골 형성 단백질은 분자량 23,000의 산불용성(Acid-insoluble) 단백질이며, 이 물질은 탈회된 경조직 내에 존재하기 때문에 탈회된 경조직을 이식한 경우 연골내 골형성기전(Endochondral ossification)에 의해서 연골 발생 및 골 발생을 유도한다고 한다^{21, 22)}. 따라서 탈회되지 않은 채 동결 건조 및 방사선 멸균 처리된 동종골에서는 골 형성 단백질의 작용이 촉진되지 않아 자체의 골 유도 능력이 없을 것으로 생각되며, 또한 근육내에 매식된 경우에는 골과 골 사이에 이식된 경우라도 달리 궁극적으로는 이식제에 내재된 골전도 능력도 발현되지 않는 것으로 사료된다. 만일 다른 숙주골 부위에 연결되어 이식된 골편이 고정된 경우라면 본 소견에서보다 훨씬 활발한 골전도 현상이 발생할 것으로 여겨진다.

V. 결 론

저자는 동결건조 및 방사선멸균 처리된 동종이인 자형골을 백서의 복근 내에 매식한 후 매식골편 및 주위 조직의 변화를 조직학적으로 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 광학현미경 소견상 1주·2주군에 매식된 골편의 형태는 정상골의 형태와 유사하였으며, 전자현미경 소견상으로 세포질의 미약한 소견이 관찰되었다.
2. 매식된 골편은 전 군에서 결합조직으로 둘러싸여 있고, 만성염증반응은 시간이 지남에 따라 심화되었다.
3. 3주·4주·6주군의 주위 조직에서 초자화 변성이 관찰되었다.
4. 광학현미경상으로 매식된 골편의 흡수 상태는 4주군에서부터 현저히 관찰되었으며, 골편의 피사현상으로 골공 내의 세포 성분이 소실되면서 시간이 지남에 따라 심하게 나타났다.
5. 전자현미경상으로 2주군에서부터 파골세포로 여겨지는 세포들이 관찰되었다.

이상의 소견으로 보아, 동결건조 및 방사선멸균 처리된 동종 이인자형 골조직내 항원성은 남아 있으며, 본 재료의 골 전도 능력은 내재되어 있으나

근육 조직내에 삽입된 경우의 골 전도 능력은 거의 없는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Ray R. D. : Vascularization of bone grafts and implants, Clin Orthop 87 : 43, 1972.
2. Smith R. T : The mechanism of graft rejection, Clin Orthop 87 : 15, 1972.
3. Brwn L. B., and Cruess R. L. : Bone and cartilage transplantation in orthopedic surgery J Bone Joint Surg 64A : 270, 1982.
4. Carnesale P. L., and Spankus J. D. : A clinical comparative study of autogenous and homogenous bone grafts, J Bone Joint Surg 40-A : 887, 1959.
5. 진성락, 김수경 : Technetium-99m 골주사를 이용한 하악골의 자골 및 동종골 이식의 평가에 대한 실험적 연구, 대학치과의사협회지, 22 : 37, 1984.
6. Langer F., Czitrarn A., Dritzer K. P., and Gross A. E. : The immunogenicity of fresh and frozen allogenic bones. J Bone Joint Surg 57A : 216, 1975.
7. Kreuz F. P., Hyatt G. W., Tunrer T. C., and Rassett A. L. : The preservation and clinical use of freeze - drind bone. J Bone Joint Surg 33A : 863, 1951.
8. Urist M. R., and Iwata H. : A chemicoesterilized antigen extracted autodigested alloimplant for bone banks. Arch Surg 110 : 46, 1975.
9. Nisbet N. W. : Immunology of bone transplantation. Clin Orthop Rel Res 47 : 199, 1966.
10. Kramer I. R., Killey H. C., and Wright H. C. : Thr response of the rabbit to implants of processed Calf bone(Boplant). Arch Oral Biol 13 : 1263, 1968.
11. Emmings F. G., and Gage A. A. : Freezing the mandible without excision. J Oral Surg 24 : 145, 1966.
12. Gage A. A., Grene B. W., and neider M. E. : Freezing bone without excision : An experi-

- mental study of bone cell destruction and manner of regrowth in dogs. *J A D A* 196 : 770, 1966.
13. Bradley P. F. : Modern trends in cryosurgery of bone in the maxillofacial regions. *Int J Oral Surg* 7 : 405, 1978.
 14. Marciani R. D., Roth G. I., and White D. K. : Healing of reimplanted freeze-treated maxillary bone. *J Oral Maxillo Surg* 40 : 401, 1982.
 15. Enneking W. F., and Morris J. L. : Human autologous cortical bone transplants. *Clin Orthop* 87 : 28, 1972.
 16. Friedlaender G. E., and Strong D. M. : Studies on the antigenicities of bone. *J Bone Joint Surg* 58A : 854, 1976.
 17. Kreuz F. P. : The preservation and clinical use of freeze-dried bone. *J Bone Joint Surg* 33A : 863, 1951.
 18. Friedlaender G. E. : Immune response to osteochondral allografts. Current knowledge and future directions. *Clin Orthop* 174 : 58, 1983.
 19. Burwell R. G., Gowland G., and Dexter F. : Studies in the transplantation of bone. VI. Further observations concerning the antigenicity of homologous cortical and cancellous bone. *J Bone Joint Surg* 45B : 597, 1963.
 20. Friedlaender G. E. : The antigenicity of preserved allografts. *Transp Proc* 8 : 195, 1976.
 21. Urist M. R., and Dowell T. A. : Inductive substratum for osteogenesis in pellets of particulate bone matrix. *Clin Orthop* 61 : 61, 1968.
 22. Urist M. R. : Bone morphogenetic protein, bone regeneration, heterotrophic ossification, and the bone-bone marrow consortium. In "Bone and Mineral Research." Vol. 6 Research. Vol. 6 Peck W.A. ed. pp 57-112, Elsevier, Amsterdam, 1989.
 23. Kruger G. O. : Tissue transplantation in Text book of oral and maxillofacial surgery, 6th Ed., The Mosby Company, St. Louis, pp. 296-332, 1984.
 24. Cohen J. : Cathode ray sterilization of bone grafts. *Arch Surg* 71 : 784, 1955.
 25. Bright R. W., Friedlaender G. E., and Sell K. W. : Tissue banking : the United States Navy Tissue Bank, *Milit Med* 142 : 503, 1977.
 26. Hancox N. M., Owen R., and Singleton A. : Cross-species grafts of deproteinized bone. *J Bone Joint Surg* 43-B : 152, 1961.
 27. Senn N. : On the healing of aseptic bone cavities by implantation of antiseptic decalcified bone, *Int Med Sci* 98, 1889.
 28. Orell S. : Surgical bone grafting with os primum, os novum, and boiled bone, *J Bone Joint Surg* 19 : 873, 1937.
 29. Williams J. B., and Irvie J. W. : Preparation of the inorganic matrix, *Science*, 119 : 771, 1954.
 30. Killdy H. C., Kramer I. R. H., and Wright H. C. : The response of the rabbit to implant of processed bovine bone (Kiel Bone) and the effects of varying the relationship between implant and host bone, *Arch Oral Biol* 15 : 33, 1970.
 31. Fred L. : The immunogenicity of fresh and frozen allogeneic bone. *J Bone Joint Surg* 57A : 216, 1975.
 32. Burwell R. G., and Gowland G. : Studies in the transplantation of bone. III. The immune responses of lymph nodes draining components of fresh homologous cancellous bone and homologous bone treated by different methods. *J Bone Joint Surg* 44B : 131, 1962.
 33. Boyne P. J., and Zarem H. : Osseous reconstruction of the resected mandible. *Am J Surg* 132 : 49, 1976.
 34. Robinson P. J., and Guernsey L. H. : Clinical transplantation in dental specialties, St Louis, C V Mosby Co, pp 38-64, 1980.
 35. Bradley P. F. : Modern trends in cryosurgery of bone in the maxillofacial regions. *Int J Oral Surg* 7 : 405, 1978.
 36. Cooper I. S. : Cryogenic surgery : A new method of destruction or extirpation of benign or malignant tissues. *N Eng J Med* 268 : 743,

- 1963.
37. Natiella J. R., Gage A., and Armitage J. : Tissue response to cryosurgery of the oral cavity in rhesus monkey. *Arch Pathol* 98 : 183, 1974.
 38. Hyatt G. W., and Butler M. C. : Bone grafting : The procurement, storage, and clinical use of bone homografts. In *Instructional course lectures, The American Academy of Orthopaedic Surgeons*. Vol. 14, pp 343-373, Ann Arbor, J. W. Edwards, 1957.
 39. Flisdrf E. W. : Changes in products during desiccation from the frozen state and in storage. In *Freeze-drying (Drying in sublimation)*. New York, Reinhold, 1949.
 40. Neuman W. F., and Neuman M. W. : Emerging concepts of the structure and metabolic functions of bone, *Am J Med* 22 : 123, 1957.
 41. Glowacki J. : The effects of heparin and protamine on resorption of bone particles. *Life Science* 33 : 1019, 1983.
 42. Glowacki J., Altobelli D., and Mulliken B. : Fate of mineralized and demineralized ossous implants in cranial defects. *Calcif Tissue Intl* 33 : 71, 1981.
 43. Malone J. D., Teitelbaum S. I., Griffin G. L., Senior R. M., and Kahn A. J. : Recruitment of osteoclast precursors by purified bone matrix constituents. *J Bone Joint Surg* 92 : 227, 1982.
 44. Ali N. N., Jones S. J., and Bodye A. : Monocyte-enriched cells on calcified tissues. *Anat Embryol* 170 : 169, 1984.
 45. Chambers T. J. : The origin of the osteoclast. In *"Bone and Mineral Research"* vol. 6, Peck WA. ed. pp. 1-26, Elsevier, Amsterdam, 1989.
 46. Mundy GR, and Roodman GD. Osteoclast ontogeny and function, in : *"Bone and Mineral Research"* vol 5. Peck WA. ed. pp. 209-280, Elsevier, Amsterdam, 1987.
 47. Brooks D. B., and Heiple K. G. : Immunological factors in homogenous bone transplantation. *J Bone Joint Surg* 44A : 1617-1626, 1963.
 48. Nogami H., and Urist M. R. : Substrata prepared from bone matrix for chondrogenesis in tissue culture. *J Cell Biol* 62 : 510, 1974.
 49. Urist M. R., and Nogami H. : Morphogenetic substratum for differentiation of cartilage in tissue culture. *Nature* 225 : 1051, 1970.
 50. Urist M. R., and Mikulski A. : A chemosterilized antigen-extracted autodigested alloimplant for bone banks. *Arch Surg* 110 : 416, 1975.
 51. Fonseca R. J., Nelson J. F., Frost D. F., and Olson R. A. : Re-vascularization and healing of onlay particulate allogeneic bone grafts in the primates, *J Oral Maxillofac Surg* 41 : 153, 1983.
 52. Maletta J. A., Gasser J. A., Fonseca R. A., and Nelson J. A. : Comparison of the healing and revascularization of onlayed autologous M lyophilized allogeneic rib grafts to the edentulous maxilla, *J Oral Maxillofac Surg* 41 : 487, 1983.
 53. Burwell R. G. : The fate of freeze-dried bone allografts. *Transpl Proc Suppl*, 1 : 95, 1976.
 54. Epker B. N. : The use of freeze-dried bone in middle third face advancements. *J Oral Surg* 42 : 278, 1972.
 55. 김현만 : 원위 탈회 경조직의 이식시 탈회정도에 따른 조직반응에 관한 연구, 서울대학 대학원 박사논문, 1990.

Explanations of photomicrographs

- Fig. 1. 1 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(H & E, $\times 100$)
Implanted bone was not resorbed and was completely surrounded by the fibroblast - like cells with mild inflammatory infiltration. There is no evidence of necrosis in the implanted bone and marrow.
- Fig. 2. 1 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(M. T., $\times 100$)
The same specimen of Fig. 1. Woven bone surrounded by the fibrous connective tissue was seen.
- Fig. 3. 1 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(H & E, $\times 200$)
Numerous inflammatory cell infiltration was observed in the implanted bone marrow and congestion was observed in many capillaries.
- Fig. 4. 2 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(H & E, $\times 100$)
Fibrous connective tissues of abundant vessels were noticed.
- Fig. 5. 3 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(H & E, $\times 100$)
Vitality of implanted bone was almost preserved, but bone resorption chronic inflammatory cells infiltrations were seen.
- Fig. 6. 3 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(M. T., $\times 400$)
The implanted bone was surrounded by osteoblast - like cells.
- Fig. 7. 4 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(H & E, $\times 100$)
Implanted bone was surrounded by edematous connective tissue. Osteoclast - like giant cells and chronic inflammatory cell infiltrations were noticed.
- Fig. 8. 4 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(H & E, $\times 400$)
Implanted bone shows irregular - shaped, and ruffled - border - like resorption and necrotic change. Chronic inflammatory cell, especially lymphocytes & histiocytes were predominated.
- Fig. 9. 4 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(M. T., $\times 100$)
Liquefaction necrosis and bone resorption was seen in marrow portion.
- Fig. 10. 6 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(H & E, $\times 100$)
There seems to be no cell components in lacunae. Increased bone resorption and necrotic bone particle were noted.
- Fig. 11. 6 week after implantation of the freeze - dried allogeneic bone(M. T., $\times 200$)
There are few cellular activity and necrotic evidence implanted bone.
- Fig. 12. Electron photomicrography of the 1 - week specimen after implantation of the freeze - dried allogeneic bone($\times 4,000$)
Osteocyte embedded within bone matrix is observed.
- Fig. 13. Electron photomicrography of the 2 - week specimen after implantation of the freeze - dried allogeneic bone($\times 5,300$)
Osteocyte showed poor RER, and its cell process seems to be entering into a canaliculus. The osteoid is composed of the tangled collagen fibrils.

- Fig. 14. Electron photomicrography of the 2-week specimen after implantation of the freeze - dried allogenic bone($\times 4,000$)**
Multinucleated giant cell contains a cytoplasm filled with clear vesicles and mitochondria.
- Fig. 15. Electron photomicrography of the 4-week specimen after implantation of the freeze - dried allogenic bone($\times 4,000$)**
The osteoclast adjoins bone matrix.
- Fig. 16. Electron photomicrography of the 6-week specimen after implantation of the freeze - dried allogenic bone($\times 4,000$)**
Complicated bone resorption in collagenous osteoid matrix is seen.

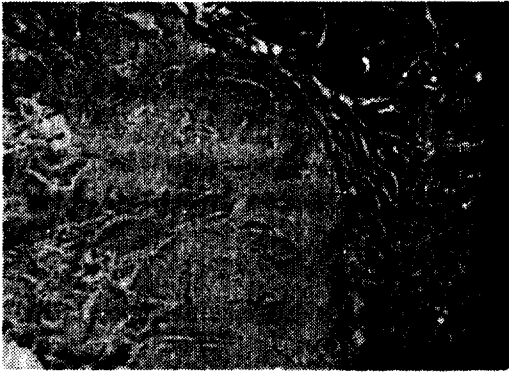


Fig. 1

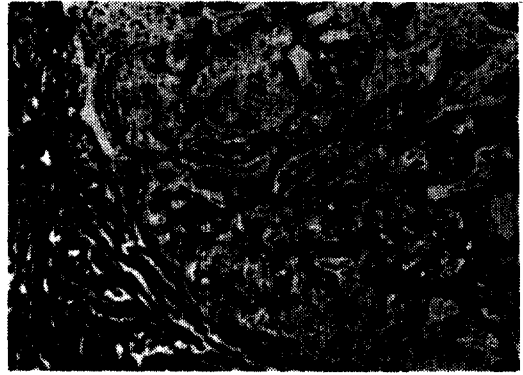


Fig. 2

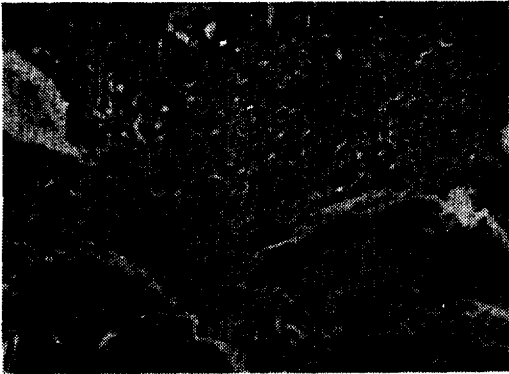


Fig. 3



Fig. 4

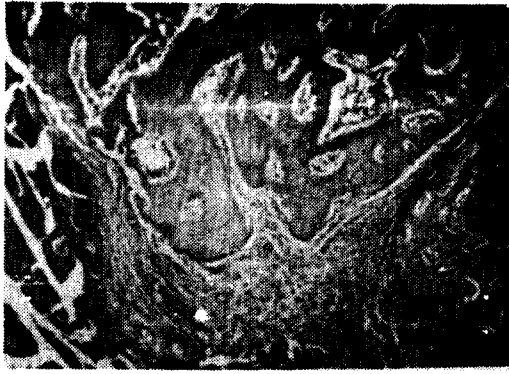


Fig. 5

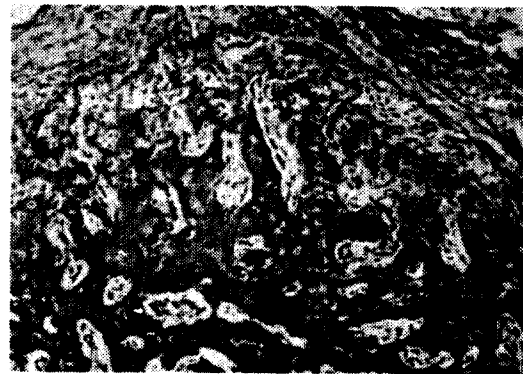


Fig. 6



Fig. 7



Fig. 8



Fig. 9



Fig. 10

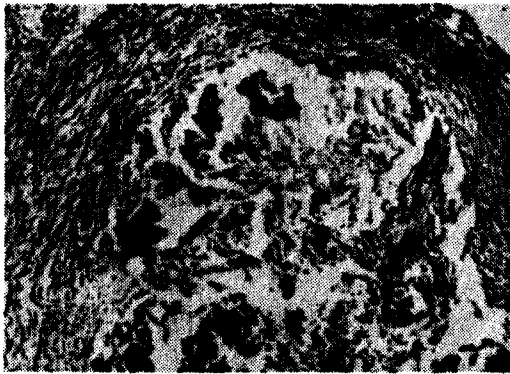


Fig. 11



Fig. 12

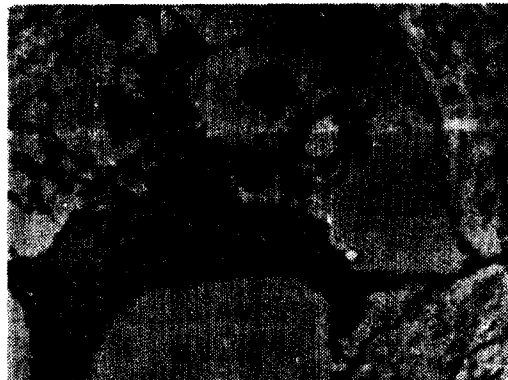


Fig. 13



Fig. 14

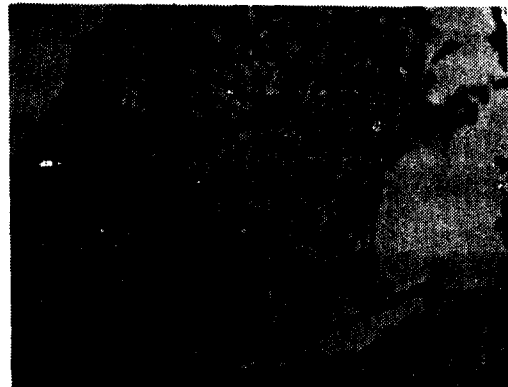


Fig. 15



Fig. 16