

동결, 고온-열탕 및 고온-고압처리된 토끼 장관골의 자가이식후 신생골 형성능의 비교

가톨릭대학교 의과대학 정형외과학교실

장 한 · 김용식 · 이남기 · 김승기 · 이기행 · 고해석 · 조형래 · 이승구

— Abstract —

Comparison of Osteogenic Potentials of Deep Frozen, Boiled and Autoclaved Autogenous Long Bone Graft in Rabbits

Han Chang, M.D., Yong Sik Kim, M.D., Nam Ki Lee, M.D., Seung-Ki Kim, M.D.,
Ki Haeng Lee, M.D., Hae Suk Koh, M.D., Hyung Rae Cho, M.D., & Seung Koo Rhee, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery, Catholic University Medical College, Seoul, Korea

We investigated the effect of deep-frozen, boiled and autoclaved autogenous long bone graft on the incorporation of the radial diaphyseal reconstruction in 30 rabbits by radiogram and histology for 8 weeks. Immediate histologic changes of 1cm of resected long bone treated by deep freezing, boiling and autoclaving in each 2 rabbits were also observed as control. Resected, boiled (95 °C for 5 min.) and reimplanted bone was compared with resected, autoclaved (131 °C for 5 min.) and reimplanted bone, and resected, deep frozen with liquid nitrogen for 5 minutes and thawing in saline and reimplanted bone in the reconstruction of bilateral radial defects in each of 8, and in total 24 adult rabbits.

The results were as follows :

1. Immediate histologic changes showed that intracortical osteocytes in lacunae were partially necrotized and the cortex were faintly stained with they Masson trichrome stain in both boiled and deep frozen groups, while they completely necrotized and their cortex stained more weakly with Masson trichrome stain in autoclaved group which means less amount of collagen and protein in cor-

※ 통신저자 : 이 승 구
서울특별시 영등포구 여의도동 62번지
가톨릭대학교 의과대학 성모병원 정형외과

* 본 논문의 요지는 1995년 대한 골관절 종양학회 추계학술대회에서 구연되었으며, 1995년도 가톨릭 중앙의료원 연구기금으로 이루어졌음.

tex of long bone.

2. Radiographies at 8 weeks showed complete union with more marked incorporation and external callus formation in all boiled and freezed groups, whereas there was delayed union in four of sixteen (25%) in autoclaved group. Histologically, at 8 weeks after boiled and freezed, more intense incorporation with new bone formation and neovascularization were observed, whereas transverse clefts consisted with delayed union in 4 cases of autoclaved group (25%) were observed at osteotomy site.

Through these studies, the boiled and deeply freezed bones acted as an osteoinductive material as well as osteoconductive, but the autoclaved bone only as osteoconductive. Though boiled and deeply freezed bone showed higher osteogenic potentials than autoclaved bone, the necrotizing effect on cortical and boiled bone was inferior to that of autoclaved. Thus the deeply freezed bone can be used for the treatment of aggressive benign or less malignant bone tumor not involving cortical bone, but the autoclaved bone supplemented with bone graft for the treatment of malignant bone tumor involving cortex of long bone.

Key Words : Osteogenesis, Deep freezing with liquid N₂, Boiled bone, Autoclaved bone, Limb salvage operation.

서 론

사지에 발생한 악성 골종양의 치료는 과거의 절단술이나 관절 이단술이라는 극단적인 방법보다 최근에는 전산화 단층촬영, 자기공명영상 장치 등 진단방법의 발달로 수술전 종양의 절제 범위(surgical margin)가 정확해지고 수술수기의 향상 및 항암 화학요법의 진보로 사지구제술(limb salvage operation)을 시행하는 경우가 많다. 그 결과도 사지절단술 못지 않게 좋은 치료율과 높은 생존율을 보이고 있다^{3,17}. 그러나 악성 골종양의 사지구제술후 장관골의 광범위 절제로 생기는 골 결손을 채우는 재건 방법은 매우 다양하며 어렵다. 즉, 골시멘트와 골수강내 고정물의 조합, 종양대체 삽입술(prosthetic replacement), 동종골이식술(allograft) 및 관절고정술 등의 방법이 널리 이용되고 있으나, 최근 수기가 간편하고 비용면에서 유리하며 또한 크기와 형태가 같은 병소부의 자가골을 동결-처리(deep-freezing), 가압멸균법을 이용한 고온-고압처리(auto-claving, 이하 고온-고압처리), 고온-열탕처리(boiling) 및 저온-열처리(pasteurization) 등으로 골종양 세포를 완전 괴사시켜 소파한 후 재삽입하는 방법이 점차 많이 이용되고 있다. 그러나 이들 처리방법중 어느것이 종양세포의 완전 괴사는 물론 재삽입후 신생골 형성능에 효과적인가는 알수가 없어 그 선택에 어려움이 많다. 또한 저온처리를 단시간에

시행한 결과나 절제골편을 동결 및 고온-열탕처리하거나 또는 고온-고압처리한 후의 골유합 과정을 비교한 보고도 찾기 어려웠다.

이에 저자들은 임상적으로 골종양의 사지구제술시 장관골의 재건에 흔히 사용되는 액화질소를 이용한 동결처리와 고온-열탕처리 및 가압멸균법을 이용하여 고온-고압처리한 토끼의 장관골을 재삽입후 골세포의 파괴정도 및 골유합과정 등을 비교관찰하여 그 임상적 유용성을 밝히고자 본 실험을 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

실험동물로는 암수 구별없이 체중 2.0 - 2.5Kg 사이의 성인 토끼(New Zealand white rabbit) 30마리를 실험 2주전부터 동물실험실에서 동일한 조건으로 사육하였다.

2. 방 법

가) 실험동물의 분류 : 토끼의 양측 요골 간부를 1 cm 길이로 절제한 후 이들 분절편에 가한 보조처리의 방법에 따라 다음의 네군으로 나누었다.

기초 대조군 : 3마리 (6요골), 즉시 희생시켜 절취한 요골 분절편을 무처리, 냉동 처리, 고온열탕 및 고온-고압 처리하여 골에 대한 최초의 손상을 조

직학적으로 비교 관찰하기 위한 군

동결처리군 : 8마리 (16요골), 액화질소를 이용하여 분절편을 동결 처리한 후 재이식한군

고온-열탕처리군 : 8마리(16요골), 분절편을 고온-열탕처리한후 재이식한 군

고온-고압 처리군 : 8마리 (16요골), 고압 증기 멸균법(30Lbs steam pressure/ In²)을 이용하여 분절편을 고온-고압처리 한 후 재이식 한 군

나) 수술방법

토끼의 이개 정맥에 ketamine(50mg/Kg)을 주사하여 마취시키고 고정틀에 양와위로 고정된 뒤 양측 앞발의 털을 제거하고 betadine액으로 소독하였다. 무균 조작하에서 앞발 요골측에 종절개를 가하여 요골을 노출시켰다. 요골 간부에서 1cm길이의 골막을 포함한 분절편을 채취하였다. 골막을 제거한 후, 동결 처리군에서는 냉각에 의한 피사 효과를 얻기 위하여 분절편을 -21℃이하의 액화질소 용액으로 5분간 얼린후에 실온 하에서 생리 식염수로 5분간 지속 관류하여 녹인후 제자리에 삽입하고 0.9mm K-강선으로 고정하였다. 고온-열탕 처리군은 절제골편을 항온조(water bath, KMC-1205SWI)에 생리식염수를 채워 95℃로 가열한후 5분간 고온열탕처리시켜 재삽입후 고정하였다. 고온-고압 처리군에서는 분절편을 소독된 거즈로 싼후 131℃, 5분간 고압 증기 멸균소독(AMSCO, EAGLE3, 000)을 시행한후 같은 방법으로 삽입 및 고정하였다. 수술창상감염을 예방하기 위하여 3일간 kanamycine (10mg/Kg)을 근육주사하였고, 사육사 내에서 자유

로이 다닐 수 있도록하였다. 그의 골에 대한 최초의 손상을 알아보기 위하여 3마리의 토끼에서 동일한 방법으로 요골편을 떼어낸 후 동결, 고온-열탕 처리 및 고온-고압 처리한 골조직을 기초 대조군으로하여 타실험군들과 비교하였다.

3. 관찰방법

가) 방사선 관찰

모든 실험군은 수술 직후 단순 방사선 촬영으로 정확한 골정복을 확인하였고, 재삽입 부위의 가골형성 및 유합과정을 관찰하기 위하여 술후 4주 및 8주에 영상증폭 장치로 전완부 전후면 사진을 촬영하였다.

나) 육안 및 조직학적 관찰

대조군은 고온-열탕 및 고온-고압처리한 각각 2마리 4개씩의 표본을 10%완충 중성 포르말린에 고정시킨후 탈 석회화하여 6 μ m 두께로 관상면(coronal) 조직절편을 만들었다. 실험군은 술후 8주에 공기색전 (air embolism)으로 도살후 채취한 표본을 육안적으로 유합부에 틈(cleft)과 같은 지연유합의 정도를 관찰한 후, 중성 포르말린에 고정시킨후 조직을 탈회용액(0.5M formic acid와 1.48M Hcl의 혼합액)으로 탈 석회화하여 통상의 조직처리 과정을 거쳐 6 μ m 두께의 조직 절편을 만들어 파라핀에 포매하였다. 이들 조직절편들은 hematoxylin-eosin 염색을하여 신생골 형성과 골유합의 정도를, 그리고 Masson trichrome 염색으로 골피질내의 collagen



Fig. 1. Radiograph of deep frozen group at post-op. 8th week shows complete incorporation of the implant

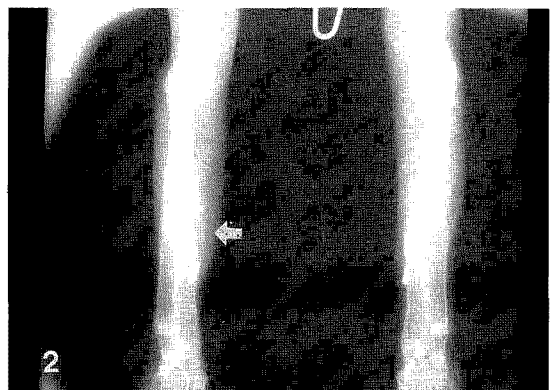


Fig. 2. Radiograph of boiled group at post-op. 8th week shows complete bony union with marked external callus.

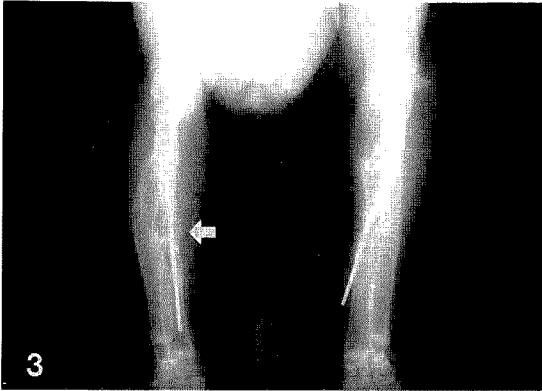


Fig. 3. Radiograph of autoclaved group at post-op. 8th week shows delayed union with minimal callus and osteolytic changes.



Fig. 4. Histologic findings of normal bone showing many osteocytes, and strong stainability with blue color by Masson-trichrome stain suggesting plenty amount of collagen and protein into bone matrix(X100)



Fig. 5. Histologic findings of deep frozen group showing focal necrosis with partly empty lacunae in cortical bone, and faint stainability by Massontrichrome stain indicating small amount of collagen and protein into bone matrix than normal(X100)

과 골단백의 양을 정성분석하여 비교 관찰하였다.

실험 결과

1. 방사선 소견

실험군에서 술후 4주 방사선 사진상 가골형성의 차이는 비슷하였고 고온-열탕처리군 및 동결처리군에서 각각 2례 및 고온-고압처리군중 6례에서 절골부 주위의 가골 형성이 뚜렷하지 않고 골절선이 보이는 지연 유합의 소견을 보였다.

술후 8주에는 각각 16개의 고온-열탕 및 동결 처리한 요골 유합부위에서는 전례에서 현저한 교도가 골(bridging callus)이 보였으나(Fig. 1과 2), 16개의 고온-고압처리한 군에서는 그 정도가 약하였으며, 4개의 표본에서 지연유합으로 인한 골절선이 관

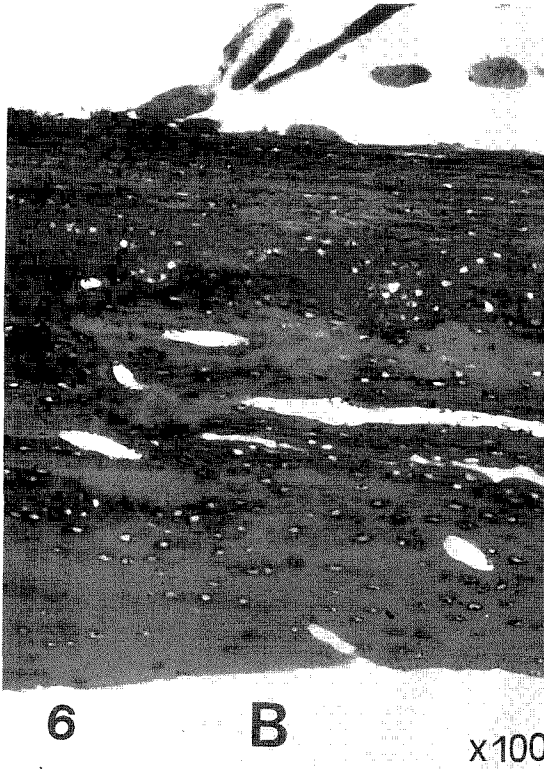


Fig. 6. Histologic findings of boiled group showing similar changes with deep freezeed group(Fig.5) (X100)

찰되었다(Fig. 3).

2. 육안적 소견

실험군에서 술후 8주에 고온-열탕처리 및 동결군의 각각 16개의 표본 모두 완전한 유합과 함께 현저한 신생골 형성과 교도가골이 관찰되었으며, 고온-고압처리군에서도 16개 표본 모두 가성운동이 없는 골유합이 이루어졌으나 교도가골의 형성은 적었다.

3. 조직학 소견

가) 기초대조군

동결 처리 및 고온-열탕처리된 요골편에서는 골수강내의 골수세포는 완전히 괴사되었으나, 피질골에서는 골소강 내에 핵이 위축되어 보이는 부분이 핵이 비어있는 부위보다 많은 국소 골괴사 소견을 나타내었다(Fig.5와 6). 고온-고압 처리 요골편에서는 골수세포 뿐만 아니라 피질골 내의 골소강내에 골세포 괴사가 완전하였고 혈관구조가 분명하지 않



Fig. 7. Histologic findings of autoclaved group showing complete necrosis with empty lacuna in cortical bone, and more weakly stained intercellular substance by Masson-trichrome stain(X100)

았다(Fig. 7). 또한 Masson trichrome 염색시 조직학적 변화는 hematoxylin-eosin 염색의 결과와 같았고, 청색으로 염색되는 정도는 동결처리 및 고온-열탕처리한 표본이 정상표본 보다는 약하게 염색되었으나 고온-고압처리 표본보다는 강하게 염색되었다. 이러한 염색상의 차이는 collagen과 골단백의 파괴가 고온-고압처리시 극심하다는 것을 나타낸다(Fig. 4-7).

나) 실험군

실험 8주후 동결 처리군에서는 절골술을 시행한 부위에 비교적 풍부한 신생 막상골 조직과 함께 새로운 골이 피질골단을 상당부분 대체하고 있었고 재이식골편내에는 비교적 많은 재혈관화를 보였으며, 재이식편을 따라서 두꺼운 골막의 및 골수강내 신생골이 일부 괴사소견이 있는 재이식골과 접하면서 완전 골유합 소견을 보였다. 고온-열탕처리한 표본에서는 교도가골이 더 많이 형성되고 정상골과 고온-열탕처리한

골편사이의 유합부에서는 대조군보다 이식골편의 괴사가 전반적으로 진행되어 골소강이 비어있는 부분이 많았고, 괴사골의 일부가 흡수되면서 신생골의 내입(ingrowth)이 이루어져 정상골과 이식골편의 경계 구별이 힘들었으며; 이식골편내에 신생혈관과 골아세포 및 골세포가 많이 관찰되었다. 고온-고압처리한 표본에서는 방사선소견상 지연유합을 보인 4개 표본의 유합 경계부에 횡방향의 틈이 국소적으로 보여 절골부가 명확하게 구별되며 이식골편이 완전히 괴사되어 있으나 신생혈관 및 골아세포등 신생골 형성이 적었고 교도가골의 형성도 미약하였다.

위와 같은소견으로 보아 고온-고압처리군이 동결처리군이나 고온-고압처리군보다 Collagen 및 골단백의 파괴가 심하여 골형성 능력과 골유합이 지연되고 있음을 알 수 있었다.

고 찰

최근에는 사지에 발생한 악성 골종양의 치료에 항암 면역요법 및 방사선학의 발달로 절단 대신 국소적 병소절제에 의한 사지구제술로써 해당사지의 기능손실을 최소화 하고 있다. 이러한 사지의 병소절제로 발생하는 광범위 골결손을 복원하는 방법으로는 인공 관절 대체물과 자가 또는 동종골 이식술이 널리 이용되고 있으며, 이중 골종양 절제부위를 동결 또는 고온-고압처리하고 재이식을 시행할 경우 이식골 획득의 용이함, 저장에 관련된 문제점들의 해소, 해부학적인 적합성, 확실한 소독력, 면역학적 반응의 회피 등과 같은 잇점이 있게된다²³.

액화질소를 이용한 냉동수술은 1964년 Marcove가 48세 남자의 상완골에 발생한 전이성 폐암에 처음으로 사용하였으며¹⁴, Gage등²⁴은 개의 대퇴골 간부에 폐쇄회로를 통하여 액화질소를 순환시킨 결과 광범위한 골괴사가 발생하였다고 보고하였다. 냉동수술에 의한 세포손상에 대한 기전으로는 온도충격(thermal shock), 전해질 변화에 의한 탈수 및 독성 효과, 세포 내 얼음 결정 형성 및 세포막 파열, 세포 단백질의 변성 및 미세혈관 구조부전등이 있으나, 일반적으로 세포내 얼음 결정의 형성이 세포괴사의 주기전으로 알려져있다^{4,16}. 동결처리에 의한 골괴사의 효과는 국소혈류량, 얼리기-녹이기의 속도와 반복회수 및 얼리기의 시간 등에 좌우되나^{15,16},

대개 1-2cm정도의 망상골 괴사가 가능하다¹⁴. 골괴사를 유발하는 임계온도는 -21℃이며 -60℃이하에서는 더 이상의 조직 괴사가 일어나지 않으므로 얼리기는 최소한 -21℃에서 -60℃사이로 유지하고, 녹이기는 0℃내외까지 하며, 얼리기와 녹이기를 각각 5분씩 2-3회 반복하면 효과를 극대화시킬 수 있다¹⁴. 본 연구에서는 토끼의 요골 간부에서 분절편을 떼어낸 후 이를 액화질소로 5분간 얼린 후 실온하에서 생리식염수로 5분간 지속 관류를 하여 녹이기를 시행하였는데, 냉동시 골괴사의 범위가 1-2cm에 이르므로 분절편의 두께가 0.5cm 정도임을 감안하면 충분한 골괴사를 얻을수 있다는 판단에서 였다. 그러나 분절골편의 골수강내에는 완전한 괴사를 보였으나 피질 골내에서는 국소 괴사소견을 나타낸 것으로 보아 위와 같은 괴사범위는 망상골에 국한하는 것으로 판단된다. Malawer등¹²은 냉동수술에 의하여 괴사된 조직의 산소분압이 정상 조직에 비해 극히 낮기 때문에 괴사골의 재생은 주로 연골내 골화에 의존할것이라고 하였지만, 본 연구에서는 연골내 골화보다 섬유 조직의 이형성 골화가 주도적 역할을 하는것으로 보이며, 섬유조직이 육아조직과 골수세포로 대체된 이후에는 골 재생의 대부분은 골유도(osteoinduction)에 의해 활성화된 골아세포에 의하여 이루어지는 것으로 판단된다. 실험 후 8주에 골수내 섬유조직의 상당한 부분이 정상 골수 세포로 대체되어 있었고, 골아세포에 의한 골형성도 매우 왕성하였는데, 이로 미루어 동결 처리에 의한 골괴사는 그 범위가 비교적 광범위 할지라도 재생될 수 있으며 이식골은 성공적으로 유합될 수 있는 것으로 판단되었다.

일반적으로 종양조직은 정상조직보다 열에 약하여 가열할 경우 쉽게 손상이되며, 43℃이상이면 종양세포의 상해가 비약적으로 증가된다는 것이 알려져있다³. 한편 세균의 열균소독시에는 수증기를 이용한 습식가열(moist heat)이 건식가열(dry heat)보다 짧은 시간에 훨씬 좋은 효과를 볼 수 있으며 60℃정도의 온도에 30분 정도만 노출되어도 거의 대부분의 세균이 사멸되는데, 이는 59℃-62℃정도의 온도에서 세포의 구성원인 단백질의 연구변성이 일어나기 때문이며, 80℃에서는 5-10분간만 노출되면 역시 대부분의 세균이 사멸된다⁶. Nakanishi¹⁸등은 토끼의 경골간부를 부분절제하여 여러 온도에서 열처

리후 골유합을 관찰한 결과 온도가 높을수록 골유합이 지연되었고, 120℃에서 열처리후에는 골유합이 전혀 이루어지지 않을뿐더러 장관골의 강도(strength)도 약해진다고 하였고, 신생골 생성은 70℃에서 10-15분간 열처리한 군에서 골형성능이 최고이었다고 하였다. Parrish등²⁰ 과 Manabe¹³도 골조직을 같은 시간동안 열처리한다면 100℃-120℃의 고온처리 보다 60℃-80℃의 저온처리에서 골세포의 괴사는 물론 골조직의 강도가 훨씬 잘 보존될 수 있다고 하였다. 그러나 고온-고압열처리에 의한 멸균정도(degree of sterilization, FO)는 시간(t)과 온도(T)에 따라 $FO = t \times 10^{(T-121)} \times 10^{-0.1}$ 으로 표시되며, 임상에서 완전멸균을 뜻하는 FO의 값은 20으로 121℃의 온도에서는 20분, 131℃에서는 2분이며, 역학강도는 121℃ 20분 고온-고압처리시 정상골의 77%의 강도가 유지되며, 131℃ 2분시는 91%로 훨씬 더 잘 유지된다고 하였다¹⁰. 따라서 단시간의 고온처리가 멸균이나 골세포의 괴사 및 골강도의 유지에 효과적인 것으로 판단된다.

본 연구에서 고온-열탕(95℃) 및 고온-고압처리(131℃)의 시간을 5분간 시행하였는데 이는 토기의 장관골에서 열전도를 측정된 결과 항온조의 온도와의 관계없이 피질골의 내부온도는 2.5분이내에 같아졌다는보고¹⁰와 임상에서 135℃ 고온-고압처리를 7분에서 10분간 시행한 결과³ 등을 비교하여 결정한 것이며, 결과적으로도 두 군의 대조군의 조직관찰 결과 삽입골편 중앙부의 골소강내에 골세포가 거의 보이지 않는 완전괴사가 관찰되어 충분한 시간의 열처리가 되었다고 판단된다. 그러나 고온-고압처리한 조직에서는 골수강내 골수세포들과 골피질내 골세포 등의 괴사가 심해 골소강이 거의 모두 비워 있었으며, 반면 고온-열탕처리한 조직에서는 골피질내 골세포들의 국소괴사 소견만이 관찰되었는데 이는 고온-열탕처리만으로는 골피질내 골세포들을 완전괴사시키지 못하였음을 의미한다. 방사선 소견상 술후 4주에서 가골형성의 차이는 없었고, 고온-열탕처리군에서는 16개 표본중 2개의 표본 즉 12.5%, 고온-고압처리군에서는 37.5%의 지연유합이 있었고, 술후 8주에서는 고온-열탕처리군 전례에서 유합 및 현저한 가골형성이 되었고 고온-고압처리군 25%에서 지연유합의 소견이 있었다. 또한 재이식 8주후의 조직학적 관찰 결과 고온-열탕처리군에서는 골유합

이 잘 이루어졌으나 고온-고압처리군에서는 틈(cleft)이 골유합부에서 발견되는 경우도 16개 표본중 4개 표본에 있어 골유합이 지연되고 있었고, 술후 8주 방사선 결과와 조직학적 결과는 동일하였다. 이는 Nakanishi등¹⁰의 실험에서와 같이 10분간 열처리시 100℃ 이상에서는 신생골 형성이 없었지만 90℃에서는 신생골 형성이 이루어진 결과와, 본 실험에서 Masson trichrome 염색시 고온-열탕처리 표본이 고온-고압처리 표본보다 collagen과 골단백질이 덜 파괴되어 청색의 염색상이 더 많았는데, 이는 고온-고압처리보다 고온-열탕처리시 BMP나 골기질을 포함한 골유도능력이 어느정도 남아있기 때문이며, 또한 방사선상 골유합율이 높은것과도 일치된다. Köhler등⁷은 고온-고압처리한 14표본중 8표본(57.1%)에서 불유합을 보여 본 실험결과와는 다르나 이는 내고정유무에 따른 차이로 판단된다.

신생골형성의 정도를 골전도(osteoconduction) 및 골유도(osteoiduction)면에서 보면, 동결 및 고온-열탕처리군에서는 전표본에서 양호한 신생골형성과 완전 골유합소견을 관찰하였는데 이는 골격내 골기질이 부분적으로 남아 재삽입부 주위 연부조직에서 유래된 섬유모세포나 간엽세포들과 접촉하여 골형성세포들로 분화시키는 골유도의 역할을 한 것으로 판단된다. 반면 고온-고압군에서는 16표본중 4표본(25%)에서 지연유합 소견을 보였는데 이는 골세포의 완전괴사는 물론 골 주위의 BMP 및 각종 골기질들까지도 완전 소멸시켜 단순 골격틀(scaffold)만이 남아 재삽입부 주위의 연부조직에서 이식골 내로 모세혈관이나 간엽세포들이 자라 들어가는 골전도의 과정뿐이어서 골형성능이 전체적으로 저하된것으로 판단된다. Kreicbergs와 köhler¹¹는 토기의 장관골을 고온-고압처리한 후 열전도성, 골유도능 및 염전력을 실험한 결과 고온-고압처리는 골의 구조특성에 변화를 가져오지만 시간과 온도를 적절히 조절함으로써 골 강도의 변화를 최소화하고 골의 완전 비활화(devitalization)를 막을 수 있다고 하였다. 임상에서는 고온-고압처리시 주로 121℃에서 20분간 또는 131℃에서 5분간으로 처리하고 있으며, 이중 어느 처리가 사지구제술시 중앙세포의 괴사나 골 강도의 변화에 효과적인가는 향후 연구가 필요하다. 또 실제 골관절 악성 종양 환자의 사지구제술시 고온-고압처리한 분절 장관골을 재삽입시에

는 견고한 내고정을 하여야함은 물론 신생골 형성이 지연되는 것을 예방하기 위하여 자가해면골 이식이나 이종 골기질(allogenic bone matrix) 또는 BMP 등을 부가하여 신생골 형성을 촉진시키고 있다⁹⁾.

결론적으로 고온-고압처리하는 동결 및 고온-열탕처리보다 골수강 및 피질내 대부분의 세포들을 완전괴사시키는 것으로 관찰되어, 열에 보다 심한 상해를 받는 종양세포는 고온-고압처리시 모두 괴사될 가능성이 크므로 임상적으로 악성 골 종양의 사지구제술시 종양 제거면에서는 보다 안심하고 사용할 수 있을 것으로 판단되었다. 그러나 저하된 신생골 유도를 증진시키기 위하여는 BMP나 골기질 등을 함께 이식하여야하며 또한 골강도 저하에 대한 향후 연구도 필요하다. 반면 동결 및 고온-열탕처리는 피질내 골세포들에 대하여 부분 괴사만을 일으켜 임상적으로 피질골을 광범위하게 침범하는 악성 종양의 제거에는 불완전한 것으로 판단되었다.

결 론

동결처리, 고온-열탕 및 고온-고압처리된 자가장관골의 이식후 이들의 골형성 능력을 알아보기 위하여, 골관절 종양의 사지 재건술시 흔히 이용되는 액화질소를 이용한 동결, 95℃, 5분간의 고온-열탕 및 131℃, 5분간의 고온-고압처리된 토끼의 요골 간부를 이용하여, 수술전 동결 및 열처리한 골편과 정상 골편의 표본을 조직학적으로 비교하고, 또한 재삽입술후 8주에 각각의 표본을 방사선 및 조직학적으로 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 동결 및 고온-열탕처리시 골피질내 골수강내 골세포의 형태는 비교적 유지되었으나 위축되어 국소괴사의 소견을 보였고, 고온-고압처리시에는 골피질내에 골수강이 모두 비어 있는 완전한 골세포 파괴를 보였다. 또한 Masson trichrome 염색 후 피질의 염색상이 동결 및 고온-열탕 표본에서 정상표본보다는 약하였지만 고온-고압 표본보다는 더 청색으로 강하게 염색되었는데, 이로써 동결 및 고온-열탕처리시 collagen과 골단백의 파괴정도가 고온-고압처리군보다 경함을 알 수 있었다.
2. 재삽입 8주후 방사선상 동결 및 고온-열탕처리

군에서 각각 16개 요골 절골부에 현저한 교도 가골의 형성 및 완전유합 소견을 보였고, 조직학적으로도 골이식부의 경계가 구별이 힘들 정도로 혈관신생 및 유합이 잘 이루어졌다. 반면 고온-고압처리군에서는 16개 요골 절골부중 4 표본에서 지연유합 소견(25%)을 보였으며, 조직학적으로 횡방향의 틈이 국소적으로 보일 정도로 유합부의 경계가 쉽게 구별되었다.

이상의 결과로 보아 동결 및 고온-열탕처리하는 골수강내 골수세포들의 괴사는 완전하나 골피질내 골세포들에는 국소괴사의 소견을 보였다. 고온-고압처리하는 신생골 형성능력은 적으나 동결 및 고온-열탕처리보다 완전한 골괴사를 일으키므로, 골 유도능이 있는 자가 해면골 이식이나 골형성 단백질 등을 함께 이식하면 장관골에 발생한 악성 골종양의 사지구제술에 효과적이라 판단된다.

REFERENCES

- 1) Dewey W, Hopwood L & Spareto S (1977) Cellular responses to combinations of hyperthermia and radiation. *Radiology*. 123, 463-474.
- 2) Gage A, Greene GW, Neiders ME & Emmings FG (1966) Freezing bone without excision. An experimental study of bone cell destruction. *J.A.M.A.* 196, 770-774.
- 3) Harrington KD, Johnston, JO Kaufer HN, Luck JV Jr & Moore TM(1986) Limb salvage and prosthetic joint reconstruction for low-grade and selected high-grade sarcomas of bone after wide resection and replacement by autoclaved autogenous grafts. *Clin. Orthop.* 211, 180-214.
- 4) Harris L & Griffiths J (1977) Relative effects of cooling and warming rates on mammalian cell during the freeze-thaw cycle. *Cryobiology* 14, 662-667
- 5) Johnston JO, Harries TJ, Allexander CE & Allexander AH(1983) Limb salvage procedure for neoplasms about the knee by spherocentric total knee arthroplasty and autogenous autoclaved bone grafting. *Clin. Orthop.* 181, 137-145.
- 6) Jöklík WK, Willett HP, Amos DB & Wilfert CM (1992) *Zinnser Microbiology*, Appleton and Lange, 20th ed, p.196, Connecticut.
- 7) Köhler P, Glas JE, Larsson S & Kreicbergs A(1987) Incorporation of nonviable bone grafts. *Acta Orthop. Scand*, 58, 54-60.

- 8) **Köhler P & Kreicbergs A**(1987) Incorporation of autoclaved autogeneic bone supplemented with allogeneic demineralized bone matrix. *Clin. Orthop.* 218, 247-258.
- 9) **Köhler P & Kreicbergs A** (1993) Chondrosarcoma treated by reimplantation of resected bone after autoclaving and supplement with allogenic bone matrix. *Clin. Orthop.* 294, 281-284.
- 10) **Köhler P, Kreicbergs A & Stromberg, L** (1986) Physical properties of autoclaved bone. *Acta Orthop. Scand.* 57, 141-145.
- 11) **Kreicbergs A & Köhler P**(1987) Diaphyseal reconstruction by autoclaved bone. *Acta Orthop. Scand.* 58, 61-65.
- 12) **Malawer MM, Marks MR, McChesney D, Piasio M, Gunther SF & Schmookler BM** (1988) The effect of cryosurgery and polymethylmethacrylate in dogs with experimental bone defects comparable to tumor defects. *Clin. Orthop.* 226, 299-310.
- 13) **Manabe J**(1993) Experimental studies on pasteurized autogenous bone graft. *J. Jpn. Orthop. Assoc.* 67, 255-266.
- 14) **Marcove RC**(1981) The surgery of tumors of bone and cartilage. Orlando, Grune & Stratton, 24-90
- 15) **Mazur P** (1970) Cryobiology : the freezing of biological systems. *Science* 168, 939-949.
- 16) **Miller RH & Mazur P** (1976) Survival of frozen-thawed human red cells as a function of cooling and warming velocities. *Cryobiology* 13 404-408.
- 17) **Mutschler W, Burri C & Kiefer H**(1987) Functional results after pelvic resection with endoprosthetic replacement. In Contribution to Limb Salvage in Musculoskeletal Oncology, Bristol-Myers/*Zimmer Orthopaedic Symposium*, ed. Enneking, W.F., P.156-166, New York, Churchill Livingstone.
- 18) **Nakanishi K, Sato K, Sato T, Takahashi M, Fukaya N & Mirra T**(1992) Preservation of bone morphogenetic protein in heat-treated bone. *J. Jpn. Orthop. Assoc.* 66 949-955.
- 19) **Orell S**(1934) Cited from Bone Transplantation. ed. Aebi, M. & Regazzoni, P. (1989), Springer, Heidelberg, 155-161.
- 20) **Parrish W, Makley J & Njus G**(1992) Torsional strength of autoclaved autogenous bone. In Second Combined Musculoskeletal Tumor Society and European Musculoskeletal Oncology Society Meeting pp.32.
- 21) **Sijbrandij S**(1978) Resection and reconstruction for bone tumors. *Acta Ortho. Scand.* 49, 249-254.
- 22) **Smith WS & Simon MA**(1975) Segmental resection for chondrosarcoma. *J. Bone and Joint Surg.* 57-A, 1097-1103.
- 23) **Smith WS & Struhl S** (1988) Replantation of autoclaved autogenous segment of bone for treatment of chondrosarcoma. Long-term follow up. *J. Bone Joint Surg.* 70-A, 70-75.