

## 연골막을 포함한 중첩 연골 이식의 성장률 및 견고성에 관한 연구

김형택<sup>1</sup> · 송지영<sup>2</sup> · 서상원<sup>1</sup> · 장충현<sup>1</sup> · 손진희<sup>3</sup>

성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 성형외과학교실<sup>1</sup>, 프라우메디병원 성형외과<sup>2</sup>, 성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 병리학교실<sup>3</sup>

### Multilayer Onlay Cartilage Graft with Perichondrium: Comparing Growth Rate and Strength in a Rabbit Model

Hyung Taek Kim, M.D.<sup>1</sup>, Ji Young Song, M.D.<sup>2</sup>, Sang Won Seo, M.D.<sup>1</sup>, Choong Hyun Chang, M.D.<sup>1</sup>, Jin Hee Sohn, M.D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Kangbuk Samsung Hospital, School of Medicine, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea,

<sup>2</sup>Fraumed Hospital, Ulsan, Korea,

<sup>3</sup>Department of Pathology, Kangbuk Samsung Hospital, School of Medicine, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea

Multilayered cartilage graft has been clinically used at tip plasty, total ear reconstruction, and cleft lip nasal deformities. Perichondrial flap or a free perichondrium has been also commonly used for induction of neocartilage. However, the influence of perichondrium on multilayered cartilage graft to strength and growth rate is still unknown. The purpose of this study was to compare the strength and growth rate of different multilayered cartilage graft and to present the most ideal model of multilayered cartilage graft. Twenty New-zealand white rabbit were used. Triple layers of cartilage grafts with various perichondrium were inserted into six separate pockets in paravertebral region of rabbits. The grafts were grossly and microscopically observed on 8 and 16 weeks after grafting. On gross observation, the grafts showed marked enlargement of three layers of cartilage grafts with perichondrium compare with three layers of cartilage grafts without perichondrium. In histologic examination, the number of PCNA-labelled cells were significantly high on three layers of cartilage grafts with perichondrium. In conclusion, this study suggested that

triple-layer graft of cartilage grafts with perichondrium on the outside of triple-layer graft has strength and an effect on chondrogenetic induction by the perichondrium.

**Key Words:** Cartilage graft, Perichondrium, Onlay graft

### I. 서론

연골 편을 몇 개의 층으로 쌓아 이식하는 중첩 이식 (multilayered graft)은 비침성형술 및 소이증에 대한 이개 재건, 이차 구순열 변형에서의 비익 연골 재건에 임상적으로 널리 적용되고 있다. Peck 등<sup>1</sup>은 1983년 비침성형술에 이개 연골을 이용하여 중첩 이식을 시행하였으며, Blackwell 등<sup>2</sup>은 구순열 비변형에서 비익 연골 재건에 중첩 연골 이식을 시행하였다. 하지만, 일반적으로 임상에서 연골 이식을 시행한 경우 흡수가 되는 단점이 있다.

이러한 단점을 보완하기 위하여 연골 이식 시 연골막을 이식편에 포함하여 이식 후의 흡수를 줄이고 새로운 연골의 생성을 유도하는 방법이 사용되었다. 연골막을 부착시키는 경우 성장기에는 부가 성장(additional growth)에 의해 새로운 연골 조직이 생성되며, 연골막이 이식된 연골에 발생하는 변형과 흡수를 줄임을 알게 되었다.<sup>3</sup>

그러나 연골막을 포함한 중첩 연골 이식에 관한 모델 제시는 없었으며, 연골막을 포함하는 방법에 따른 차이 또한 제시되지 않고 있다.

이 연구의 목적은 연골막이 이식 후의 흡수를 줄이고 신생 연골 생성을 유도하는데 착안하여, 중첩 연골 이식에 있어서 연골막의 유무 및 그 배열에 따른 성장률 및 견고성을 비교하여 가장 이상적인 중첩 연골 이식의 모델을 제시하는 데 있다.

### II. 재료 및 방법

#### 가. 재료

실험재료는 생후 2개월의 무게 1.6 kg 내외의 백색 가토 (New zealand white rabbits) 20마리를 암수 구분 없이 사용하였으며 실험기간 동안 동일한 환경과 사료로 사육하였다.

Received March 14, 2005

Revised May 18, 2005

Address Correspondence: Hyung Taek Kim, M.D., Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Kangbuk Samsung Hospital, School of Medicine, Sungkyunkwan University, 108 Pyung-dong, Jongno-gu, Seoul 110-746, Korea. Tel: 02) 2001-2178 / Fax: 02) 2001-2177 / E-mail: prepost1@hanmail.net

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

**나. 실험방법**

가토를 수술하기 6시간 전부터 굶긴 후, Ketamine 10 mg/kg, Xylazine 2 mg/kg, Acepromazine maleate 2 mg/kg를 혼합한 마취제를 우측 하퇴 근육 내 주사하여 마취하였다. 가토를 고정기에 고정하고, 이개와 배부의 털을 깎고 0.05% chlorhexidin gluconate(hibitan<sup>®</sup>) 용액 및 Benzalkonium chloride(Zephanon<sup>®</sup>)으로 소독하여 무균 상태를 유지하였다. 가토 이개의 중심 정맥을 축으로 하는 H자 모양의 절개선을 따라 작도하고 이개 피부를 절개한 후에 피부 및 피하조직을 함께 연골막 상부로부터 박리한 뒤, 연골막에 절개를 가한 후 골막 기자(periosteal elevator)로 이개 연골로부터 연골막을 채취하였다.

연골막을 채취한 후에 이개 연골에서 1 cm 펀치(punch)로 9조각의 연골 조각을 채취하였다. 세 층 연골 이식(Triple-layer cartilage graft) 형태를 기반으로 그룹 I에서는 연골만의 조합으로 세 층을, 그룹 II에서는 세 층의 연골 사이에 연골막을 배열하고, 그룹 III에서는 연골만의 조합 바깥층에만 연골막을 배열한 후 5-0 나일론으로 봉합하여 고정하였다(Fig. 1). 척추 주위(paravertebral) 배부에 일정한 간격으로 연골 및 연골막 조합을 피하에 삽입하고 삽입 피부에 표지(marking) 하였다. 수술 후 8주, 16주에 가토를 희생(sacrifice) 한 후 이식물을 채취하여 두께, 면적, 무게를 측정하고, 육안적 관찰을 시행하였다.

**다. 조직학적 검사**

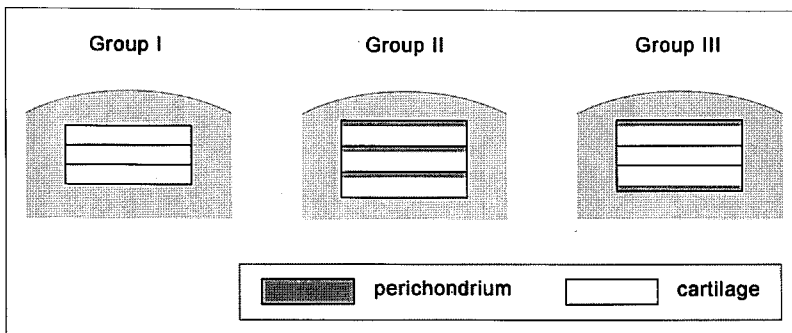
수술 후 8주, 16주에 배부에서 이식물을 채취하여 육안적 관찰을 한 후 모든 조직을 포르말린 용액으로 고정한 뒤 조직 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색 후 광학현미경으로 조직 슬라이드를 비교하였고, PCNA(proliferating cell nuclear antigen)를 이용한 면역조직화학적 염색을 통해 증식 중인 연골 세포의 수를 측정하였다.

**라. 통계적 분석**

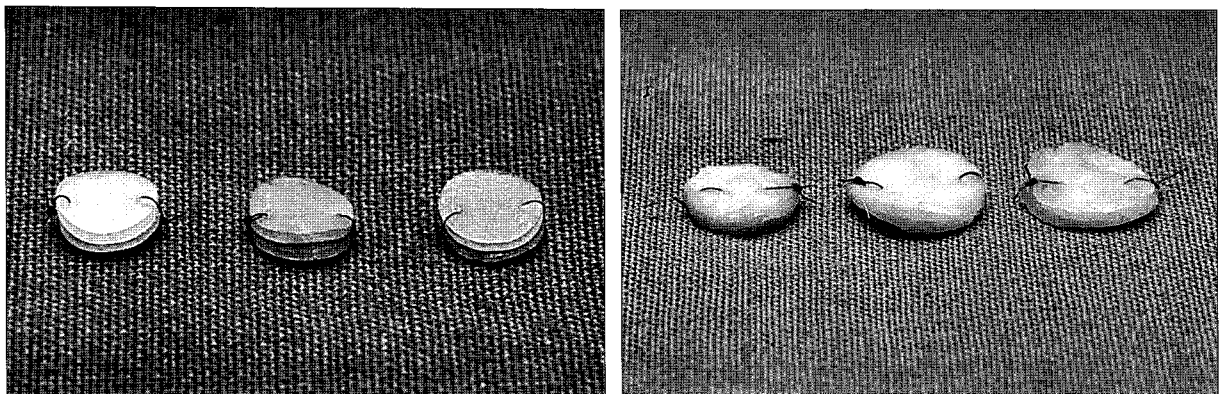
수술 후 8주, 16주에 배부에서 채취한 연골 및 연골막 조합에 대해 육안적 분석을 시행하고 두께, 면적 및 무게를 비교 분석하였으며 ANOVA 통계 분석을 하였다. ANOVA (analysis of variance) 분산 분석은 두 개 이상의 집단들의 평균값을 비교하는 데 사용하는 통계기법으로, 통계는 SPSS 11.0(SPSS Inc., Chicago, IL)을 사용하였고 P-value가 0.05 미만일 때 통계적 의미가 있다고 정의하였다.

**III. 결 과**

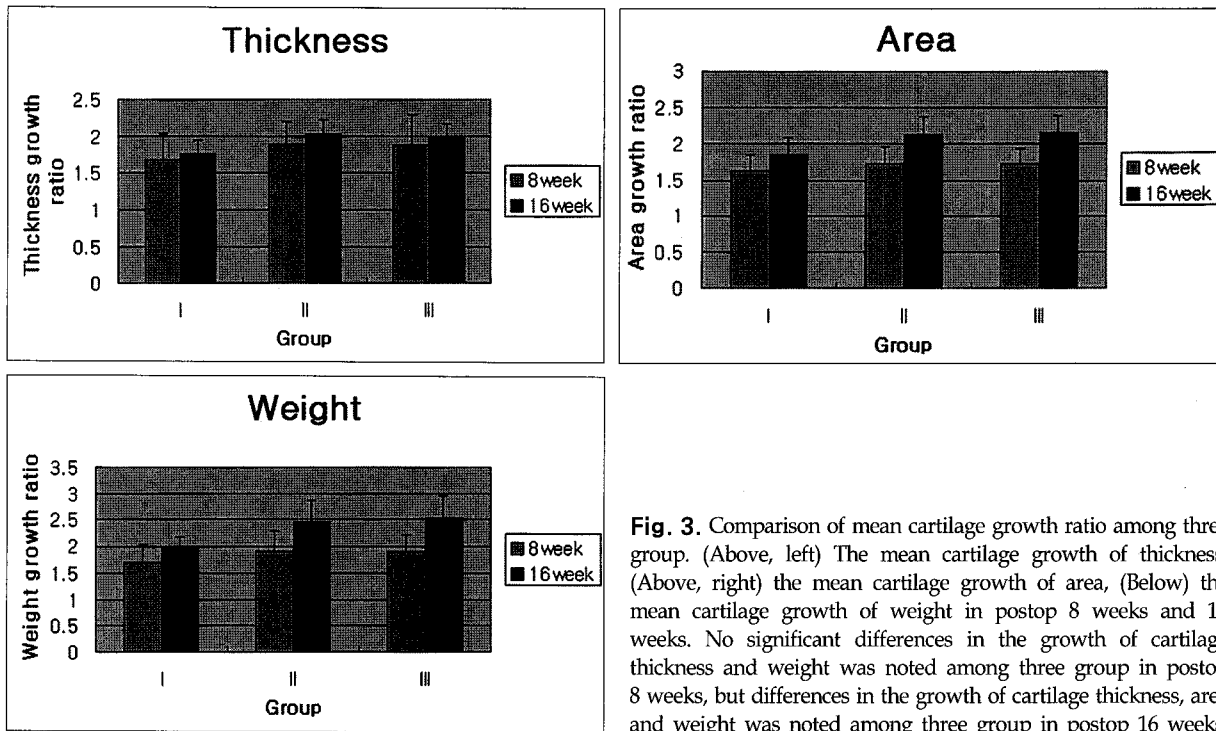
육안적 관찰시 16주에서 세 그룹간 성장의 차이를 보여 그룹 I에 비해 그룹 II, III에서 성장이 더 이루어졌음을 보인다(Fig. 2). 중첩 이식된 연골 간의 견고성도 이식 주수에 따라 증가하였으나 연골만의 조합 바깥층에만 연골막



**Fig. 1.** Definition of cartilage pieces of three onlay grafts in three group. Group I: only three cartilage pieces in triple-layer graft. Group II: three cartilage-perichondrium pieces in triple-layer graft. Group III: three cartilage pieces with perichondrium in the outside of triple-layer graft.



**Fig. 2.** Gross appearance of three onlay grafts in three group. (Left) Before grafting. (Right) At 16 weeks.



**Fig. 3.** Comparison of mean cartilage growth ratio among three group. (Above, left) The mean cartilage growth of thickness, (Above, right) the mean cartilage growth of area, (Below) the mean cartilage growth of weight in postop 8 weeks and 16 weeks. No significant differences in the growth of cartilage thickness and weight was noted among three group in postop 8 weeks, but differences in the growth of cartilage thickness, area and weight was noted among three group in postop 16 weeks.

을 배열한 그룹에서 다른 그룹에 비해 견고한 양상을 보였다.

두께는 8주에 연골 3층으로만 배열한 경우(Group I)  $66.9 \pm 36.6$ (Mean  $\pm$  Standard deviation)%, 연골막-연골의 3층으로 배열한 경우(Group II)  $90.0 \pm 29.7\%$ , 연골 3층에 바깥 부분에만 연골막을 배열한 경우(Group III)  $88.3 \pm 40.4\%$ 의 증가를 보였으며, 면적은  $61.1 \pm 23.2\%$ ,  $72.1 \pm 23.6\%$ ,  $72.9 \pm 19.1\%$ 의 증가를, 무게는  $68.8 \pm 33.9\%$ ,  $89.5 \pm 39.8\%$ ,  $91.6 \pm 31.2\%$ 의 증가를 보였다. ANOVA 분산 분석을 통한 통계적 분석 결과 두께, 면적, 무게에 있어 유의한 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ).

16주에는 두께에 있어서  $76.5 \pm 18.5\%$ ,  $101.0 \pm 21.6\%$ ,  $98.5 \pm 19.0\%$ 의 증가를, 면적은  $85.4 \pm 22.8\%$ ,  $112.4 \pm 24.6\%$ ,  $115.2 \pm 23.3\%$ 의 증가를, 무게에 있어서  $100.3 \pm 17.9\%$ ,  $145.6 \pm 40.5\%$ ,  $153.7 \pm 42.7\%$ 의 성장을 보여 8주 이후에 그 성장의 차이가 심해졌다(Fig. 3). 두께, 면적, 무게에 있어 ANOVA 분산 분석에서 Group I에 비해 Group II, III에서 유의하게 성장의 차이를 보였다( $p < 0.05$ ).

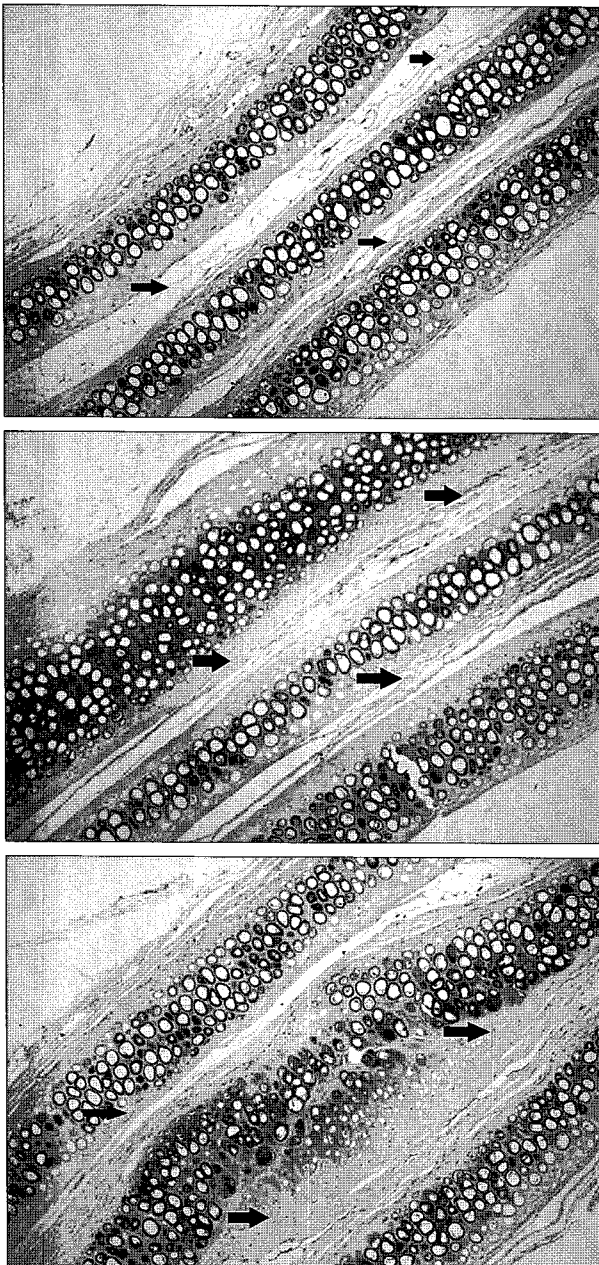
8주, 16주에 시행한 조직학적 검사 소견을 볼 때 Group I에서 결체조직(vascularized connective tissue)이 각각의 층 사이로 침윤(infiltration)되어 성긴 섬유조직이 삽입(loose fibrous tissue interposition)된 소견을 보였으며, Group II에서는 Group I에 비해 섬유조직이 좀 더 치밀하게 결합되었다. Group III에서는 중간엽 세포(mesenchymal cell)를 포함한 치밀한 섬유조직이 연골간의 결합부에서 강한 연결을 보였다(Fig. 4). PCNA-labeled cells의 수는

연골 3층으로만 배열한 경우(Group I)  $15.12 \pm 7.24$  cells/100  $\mu$ m, 연골막-연골의 3층으로 배열한 경우(Group II)  $19.35 \pm 8.12$  cells/100  $\mu$ m, 연골 3층에 바깥 부분에만 연골막을 배열한 경우(Group III)  $20.62 \pm 8.75$  cells/100  $\mu$ m를 보였으며, 통계적으로 연골막-연골의 3층으로 배열한 경우 및 연골 3층에 바깥 부분에만 연골막을 배열한 경우에 유의하게 증가 소견을 보였다(Fig. 5).

#### IV. 고 찰

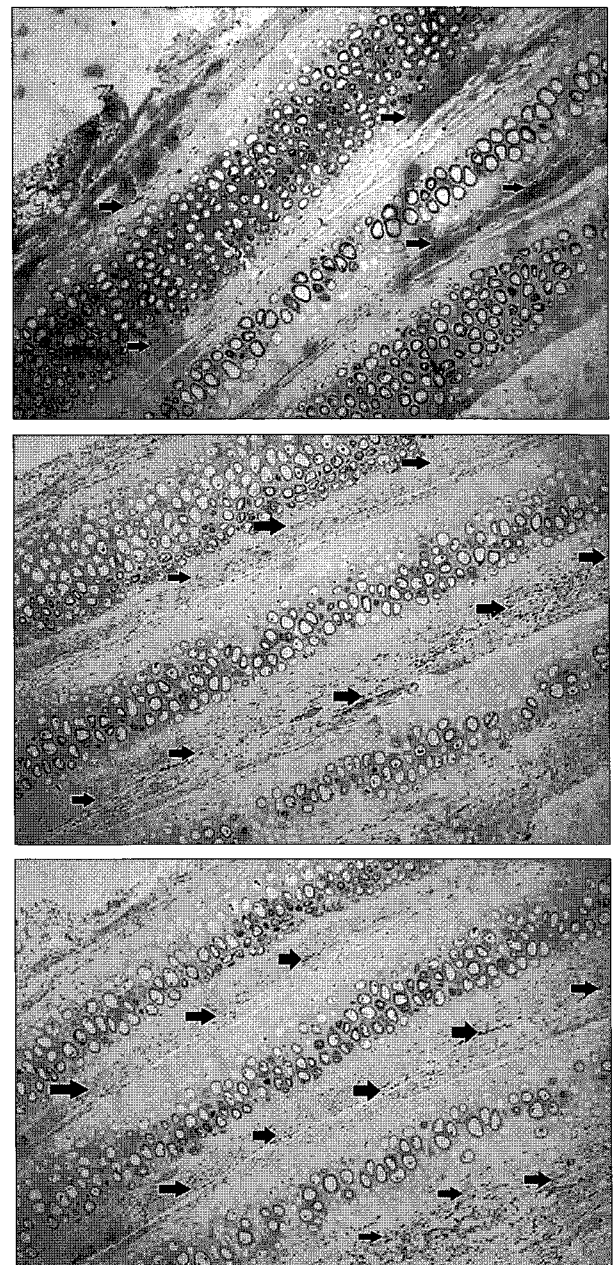
자가 연골 이식의 성장에 관해서는 이미 잘 알려져 있다. 1941년에 Dupertuis<sup>4</sup>는 이식된 이개 연골이 147%의 길이 성장 및 453%의 size 증가를 보임을 보고했으며, 1946년에 Peer<sup>5</sup>는 1-2세의 유아에서 자가 연골 이식 시 30%의 길이 성장 및 17%의 너비 증가를 보고했다. 황건 등<sup>6</sup>의 세층 중첩 이식 시에는 80%의 두께 증가와 103%의 무게 증가를 보였다. 이러한 이전 연구에서 연골 이식의 성장을 보여주고 있으나 연골막이 첨가된 경우에 관해서는 언급되어 지고 있지 않다.

물론 연골막의 연골 형성 잠재력에 관해서는 여러 차례 보고되었다. 1959년 Lester<sup>7</sup>는 늑연골을 연골막하 절제하고 공여부에 연골막을 남겨 두었을 때 연골막으로부터 연골이 생성됨을 발견하였고, Skoog 등<sup>8</sup>은 양배추 이개(cauliflower ear)가 혈중에 의해 변위된 연골막이 연골과의 접촉 억제(contact inhibition)를 상실함으로써 연골막으로부터



**Fig. 4.** Pathological finding of three groups after 16 weeks period. (H&E stain,  $\times 100$ ) (Above) Group I, Loose fibrous tissue interposition is seen between cartilage pieces on Group I(arrows). (Center) Group II, More dense attachment is seen between cartilage pieces (arrows). (Below) Group III, Tightly attached fibrous and mesenchymal tissue with newly formed cartilage are seen between cartilage pieces (arrows).

터 연골이 과잉 증식하여 발생한다는 것을 밝혔다. 그 후 Sohn과 Ohlsen<sup>9</sup>은 연골막의 연골 생성 능력을 이용하여 유리 연골막이식으로써 기관을 재건하였고, Brent<sup>10</sup>와 Ohlsen 등<sup>11</sup>은 연골막을 이용해 이개 재건을 시도하였다. Brent<sup>10</sup>는 연골 이식 시 연골막의 역할에 관한 비교 실험에서 연



**Fig. 5.** Immunohistological finding of three groups after 16 weeks period with proliferating cell nuclear antigen(PCNA) labeling study. (PCNA,  $\times 100$ ) (Above) Group I, (Center) Group II, (Below) Group III. The nucleus of proliferative cells were labeled with PCNA(arrows).

골막을 포함한 연골 이식(perichondrial-covered cartilage grafts)시 77.5%의 이식의 성장을 보이는 반면, 연골막을 배제한 연골 이식(perichondrial-stripped grafts) 인 경우에는 42.6%의 성장을 보였다.

김지수 등<sup>12</sup>은 정제된 산호를 가토 이개로부터 일으킨 연골막판으로 싸서 배부에 복합이식 하여 형판 윤곽과 같

은 모양의 연골을 얻었으며, 오경석 등<sup>13</sup>은 조직 공학적 연골 형성에 연골막을 부착시켜 연골조직을 생성하여 연골막이 연골 생성 과정에서 발생하는 변형과 흡수를 줄임을 밝혀냈다.

연골의 성장은 연골세포 및 연골막에 의해 합성되고 분비되는 연골 기질(cartilage matrix)에 의하며, 연골은 연골 주변 세포가 연골 세포로 분화하거나 어린 연골 세포의 유사 분열에 의해 증식한다. 이식한 연골막에서 연골이 생성되는 기전은 연골막에서 부가 성장(appositional growth)이 일어나서 새로운 연골 세포가 생기며 이어서 세포 분열이 증가하여 사이질 성장(interstitial growth)이 일어남으로써 이루어진다. 이러한 부가 성장은 성인이 되면 잠재되어 있다가 외상이나 질병 등의 상황에서 활성화된다.<sup>3,9</sup>

성인에서 연골은 성장을 멈추며, 손상 후의 재생 능력도 떨어진다. 따라서 분화기능이 높은 연골을 얻기 위해서는 태아 상태나 어린 동물을 이용하는 것이 바람직하며, 비교적 큰 포유동물이며 거대한 이개를 가져 연골막을 쉽게 채취할 수 있는 토끼가 연구에 적합하였다.<sup>13</sup>

이 실험에서 연골막을 포함하는 경우에는 신생 연골이 증식되는 결과를 보였으나 연골의 성장에는 모든 연골 층에 연골막을 포함한 경우나 연골 바깥층에만 연골막을 배설한 경우 유의한 차이가 없었다. 그러나 연골 바깥층에만 연골막을 배설한 경우에는 조직학적으로 더욱 견고한 결합이 일어남을 확인할 수 있었다.

따라서 중첩 연골 이식 시행 시 성장을 염두에 두는 경우 가급적 연골막을 포함하는 것이 바람직하나 모든 연골 층에 연골막을 포함하는 경우는 연골 바깥층에만 연골막을 배설한 경우와 비교하는 경우 큰 의미 차이가 없으며 견고한 결합을 필요로 하는 경우에는 연골막을 배제하는 것이 바람직하다.

## V. 결 론

이 실험은 성장기(adolescent) 가토에서 연골 및 연골막 조합의 성장률 및 그 배열에 따른 결과를 고찰해보고 임상

에 적용코자 하였으며 중첩 연골 이식 시 연골 바깥층에만 연골막을 배열하여 복합 이식을 시행하는 것이 견고성과 함께 신생 연골 증식을 얻을 수 있는 가장 일반적이고 바람직한 형태로 생각된다.

## REFERENCES

1. Peck GC: The onlay graft for nasal tip projection. *Plast Reconstr Surg* 71: 27, 1983
2. Blackwell SJ, Parry SW, Roberg BC, Huang TT: Onlay cartilage graft of the alar lateral crus for cleft lip nasal deformities. *Plast Reconstr Surg* 76: 395, 1985
3. Kang JS: *Plastic Surgery*. 3rd ed, Seoul, Koonja Co., 2004, p 290
4. Dupertuis SM: Actual growth of young cartilage transplants in rabbits. *Arch Surg* 43: 32, 1941
5. Peer LA: Experimental observations on the growth of young human cartilage grafts. *Plast Reconstr Surg* 1: 108, 1946
6. Hwang K, Lee WJ, Lee SI, Park IS: Growth difference of multilayer onlay cartilage grafts in rabbit ears. *Ann Plastic Surgery* 50: 177, 2003
7. Lester CW: Tissue replacement after subperichondrial resection of costal cartilage: Two case reports. *Plast Reconstr Surg* 23: 49, 1959
8. Skoog T, Ohlsen L, Sohn SA: Perichondrial potential for cartilagenous regeneration. *Scand J Plast Reconstr Surg* 6: 123, 1972
9. Sohn SA, Ohlsen L: Growth of cartilage from a free perichondrial graft placed across a defect in a rabbit's trachea. *Plast Reconstr Surg* 53: 55, 1974
10. Brent B: The Acquired auricular deformity: a systematic approach to its analysis and reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 59: 475, 1977
11. Ohlsen L: Cartilage regeneration from perichondrium: experimental studies and clinical applications. *Plast Reconstr Surg* 62: 507, 1978
12. Kim JS, Son DG, Han KH, Choi DW, Park KK: Histologic study of coral template wrapped with perichondrial flap. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 26: 392, 1999
13. Oh KS, Kim HJ, Lee DJ, Jeong JH, Choi JH: The effects of perichondrium on cartilage tissue engineering. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 28: 380, 2001