

# 처리된 동종 신경과 laminin 유래 peptide가 부착된 신경 도관을 이용한 말초 신경의 재생 비교

Comparison of Processed Nerve Allograft and Laminin Derived Peptide Incorporated Nerve Conduit for Peripheral Nerve Regeneration

이주엽 • 최민혁\* • 신은영\* • 민병무<sup>†</sup> • 노드레<sup>‡</sup> • 정동준<sup>‡</sup>

가톨릭대학교 의과대학 성빈센트병원 정형외과학교실, \*임상의학연구소, <sup>†</sup>서울대학교 치의학대학원 구강생화학학교실, <sup>‡</sup>성균관대학교 공과대학 고분자시스템공학과

**목적:** 토끼의 좌골신경 결손 모델을 이용하여 처리된 동종 신경과 laminin 유래 peptide가 부착된 신경 도관이 말초 신경의 재생에 미치는 영향을 전기신경학적, 조직형태학적으로 비교하고자 하였다.

**대상 및 방법:** New Zealand 토끼 30마리를 3개 군으로 나누어 15 mm의 좌골 신경 결손을 만든 후 1군은 자가 신경, 2군은 처리된 동종 신경, 3군은 laminin 유래 peptide가 부착된 신경 도관을 이용하여 봉합하였다. 이식 후 12주에 전 경골근의 복합 근 활동 전위, 전 경골근의 무게를 측정하였고, 정상측과 비교하여 결과를 분석하였다. 조직형태학적으로 신경의 범위, 축 축색의 수, 수초의 두께를 측정하였다.

**결과:** 이식 후 12주에 측정된 전 경골근의 복합 근 활동 전위는 1군에서 정상측의 54.1%, 2군에서 정상측의 38.2%, 3군에서 정상측의 26.4%이었다. 전 경골근의 무게는 1군에서 정상측의 57.8%, 2군에서 정상측의 54.4%, 3군에서 정상측의 43.9%이었다. 신경의 범위, 수초의 두께 등은 세 군 간에 차이가 없었으나, 축색의 수는 3군에서 가장 적었으며 축색의 형태가 불규칙하게 관찰되었다.

**결론:** 전기신경학적으로 자가 신경 이식군이 가장 좋은 결과를 보였으며, 처리된 동종 신경은 laminin 유래 peptide가 부착된 신경 도관에 비하여 더 나은 신경 재생이 관찰되었다.

**색인단어:** 말초 신경 재생, 동종 신경, 신경 도관

## 서론

말초신경 손상의 가장 이상적인 회복 방법은 신경의 근위단과 원위단을 미세수술적인 방법을 이용하여 봉합하는 것이다. 그러나 신경에 장력이 가해질 경우 나쁜 결과를 초래할 수 있고,<sup>1,2)</sup> 신경

의 결손이 심할 경우 단단 봉합술이 불가능하기 때문에 자가 신경 분절을 이용한 신경 이식술이 시행되고 있다. 그러나 자가 신경 이식술은 충분한 양의 조직을 얻을 수 없고, 공여 신경과 수혜부의 직경에 차이가 나며, 공여부 합병증이 발생할 수 있는 문제점이 있다.<sup>3,4)</sup>

이를 극복하기 위하여 신경 도관, 자가 정맥 및 근육, 동종 신경 등을 이용한 말초신경의 재생이 시도되고 있다. 신경 도관은 polyglycolic acid,<sup>5)</sup> poly DL-lactide-caprolactone,<sup>6)</sup> 제 1형 교원질<sup>7)</sup> 등의 흡수성 물질로 만들어지는데, 말초 신경의 재생 능력이 부족하기 때문에 현재 3 cm 이하의 감각 신경의 재생에 제한적으로 사용되고 있다.<sup>8)</sup> Intact laminin은 축색의 외벽에 존재하는 물질로 Schwann 세포의 부착 및 축색의 재생을 돕는 것으로 알려져 있다.<sup>9)</sup> 따라서 intact laminin을 신경 도관의 내벽에 부착한다면 일반

접수일 2009년 10월 8일 게재확정일 2009년 12월 9일

교신저자 정동준

경기도 수원시 장안구 천천동 300, 성균관대학교 공과대학 고분자시스템공학과

TEL 031-290-7286, FAX 031-292-8790

E-mail djchung@skku.edu

\*본 논문은 서울대학교 치과대학 지능형 생체계면 공학연구센터(과기부 ERC 사업) 및 2008년 성빈센트병원 임상의학연구소 연구비 지원에 의하여 이루어졌음.

적인 도관에 비하여 더욱 많은 신경의 재생을 기대할 수 있다.

자가 신경을 대체할 수 있는 다른 방법으로는 동종 신경이 있다. 동종 신경은 Mackinnon 등이 처음 임상에서 사용한 이래로 주목을 받아왔으나,<sup>10)</sup> 일정한 기간동안 면역 억제제의 투여가 필요하여 실제 임상에서 사용하기에는 어려운 점이 있었다. 그러나 최근 화학적 방법으로 동종 신경의 세포를 제거하여 면역 반응을 없앨 수 있음이 보고되고 있다.<sup>11)</sup> 또한 축삭 재생의 방해 물질로 알려진 Chondroitin sulfate proteoglycans (CSPs)을 제거함으로써 심한 신경 결손도 재생이 가능함이 알려지고 있다.<sup>12)</sup>

본 연구의 목적은 토끼의 좌골신경 결손 모델을 이용하여 화학적으로 모든 세포와 CSPs를 제거한 동종 신경과 면역 억제 기능 향상이 기대되는 laminin유래 peptide가(이하 Laminin)이 내벽에 부착된 신경 도관이 말초 신경의 재생에 미치는 영향을 전기신경학적, 조직형태학적으로 확인하고, 현재까지 표준적인 치료 방법인 자가 신경 이식술과 비교하는 것이다.

## 대상 및 방법

체중 2.5-3.0 kg의 New Zealand 토끼 30마리를 3개 군으로 나누고 각 군당 10마리의 토끼를 배정하였다. 동물 실험은 15 mm의 좌골 신경 결손 모델을 이용하여 시행하였다. 1군은 결손의 봉합을 위하여 절단한 자가 신경을 뒤집어서 봉합하였으며, 2군은 처리된 동종 신경, 3군은 Laminin이 부착된 신경 도관을 좌골신경의 결손부에 봉합하였다. 이식 후 12주에 전 경골근의 복합 근 활동 전위, 전 경골근의 무게를 측정하였고, 정상측과 비교하여 결과를 분석하였다. 조직형태학적으로 신경의 범위, 총 축삭의 수와 수초의 두께를 측정하였다.

### 1. Laminin이 부착된 신경 도관의 제조

Laminin이 부착된 신경 도관은 Huang 등<sup>13)</sup>의 방법을 이용하여 제조하였다. 신경 도관은 평균 분자량 100,000-150,000의 흡수성 중합체인 poly (lactide-co-glycolide) (PLGA)와 poly (p-dioxanone) (PPD)를 90/10의 비율로 섞어서 사용하였다. 두 흡수성 중합체를 용매에 녹이고, 펌프를 이용하여 1-4 ml/h의 속도로 섬유를 합성하였다. 합성된 섬유는 500 rpm으로 회전하는 금속 수집기에서 0.1 mm 두께로 모아서 원통형의 신경 도관을 제조하였다. 세포 부착 단백질 중 하나인 Laminin은 200  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 밀도로 신경 도관의 내벽에 피복하였다. 신경 도관은 길이 20 mm, 내경 2.5 mm로 제조하여 실험에 사용하였다.

### 2. 동종 신경의 처리

동종 신경의 처리는 Hudson 등<sup>11)</sup>과 Neubauer 등<sup>12)</sup>의 방법을 이용하여 시행하였다. 토끼를 Tiletamine과 Zolazepam으로 마취한 후 우측 대퇴골의 장축을 따라 절개선을 가하였다. 대퇴골의 후외측

을 따라 접근하여 좌골 신경을 노출하고, 15 mm 간격으로 신경을 채취하였다. 채취한 신경은 4°C의 RPMI 1640 Media에 넣어 운반하였다. 층류 후드(laminar flow hood)에서 무균적 방법으로 신경 외막에 붙어있는 지방 조직 및 결합 조직을 제거하였다. 그 후 3차 증류수가 들어있는 튜브에 넣고 25°C에서 7시간동안 교반하였다. 증류수를 125 mM sulfobetaine-10 (SB-10), 10 mM phosphate, 50 mM sodium이 든 용액에 넣어 15시간동안 추가적인 교반을 시행한 후, 50 mM phosphate, 100 mM sodium 용액에서 15분간 세척하였다. 그 후 0.14% Triton X-200, 0.6 mM sulfobetaine-16 (SB-16), 10 mM phosphate, 50 mM sodium 용액에서 24시간동안 교반하였다. SB-10 용액에서 7시간동안 추가적인 교반을 시행한 후, 세척하고 다시 SB-16/Triton X-200 용액으로 15시간동안 교반을 시행하였다. 처리를 마친 동종 신경은 3회 세척하고, 10 mM phosphate, 50 mM sodium 용액에 담아 액화 질소에서 보관하였다. 보관한 동종 신경은 수술 전일에 2 U/ml chondroitinase ABC를 포함한 phosphate buffered saline에 넣고 37°C에서 16시간동안 해동한 후 수술에 사용하였다.

### 3. 수술 방법

토끼를 Tiletamine과 Zolazepam으로 마취한 후 우측 대퇴골의 장축을 따라 5 cm의 절개선을 가하였다. 대퇴골의 후외측을 따라 접근하여 좌골 신경을 노출하였다. 노출된 좌골신경의 근위부에서 경골신경과 비골신경이 분지되기 전까지 15 mm 길이의 신경을 수술현미경하에서 미세가위를 이용하여 절제하였다. 1군은 절제한 신경을 뒤집어서 좌골 신경의 근위부와 원위부에 10-0 Nylon 봉합사를 이용하여 신경의 외막을 봉합하였다. 신경 봉합 후 주위 근육을 4-0 Vicryl 봉합사로 봉합하고, 4-0 Nylon을 이용하여 피부를 봉합하였다. 수술 후 토끼는 특별한 고정 없이 자유로운 보행을 허용하였다. 2군은 처리한 15 mm 길이의 동종 신경을 좌골 신경의 결손부에 삽입하고 1군과 동일한 방법으로 신경의 외막을 봉합하였다. 3군은 길이 17 mm, 내경 2.5 mm의 Laminin이 부착된 신경 도관을 좌골신경의 결손부에 삽입하고 8-0 Nylon 봉합사를 이용하여 좌골신경의 근위부 및 원위부에 각각 1개의 봉합을 시행하였다. 이때 고정을 위하여 Fibrin glue 등의 추가적인 처리는 시행하지 않았다.

### 4. 복합 근 활동 전위의 측정

이식 후 12주에 토끼를 동일한 방법을 이용하여 마취하였다. 수술 시와 동일한 절개선을 사용하여 이식한 신경의 근위부를 노출하였다. 이극 전기자극기(bipolar stimulating electrode)를 노출한 신경의 근위부에 고정하고 다른 전극을 전 경골근에 삽입하였다. 전 경골근의 복합 근 활동 전위는 VikingQuest 이동식 근전도 장치(Nicolet Biomedical, Madison, WI)를 이용하여 측정하였다. 자극 시간은 0.02 ms로 정하였고, 최대 진폭과 탈분극 곡선의 면적

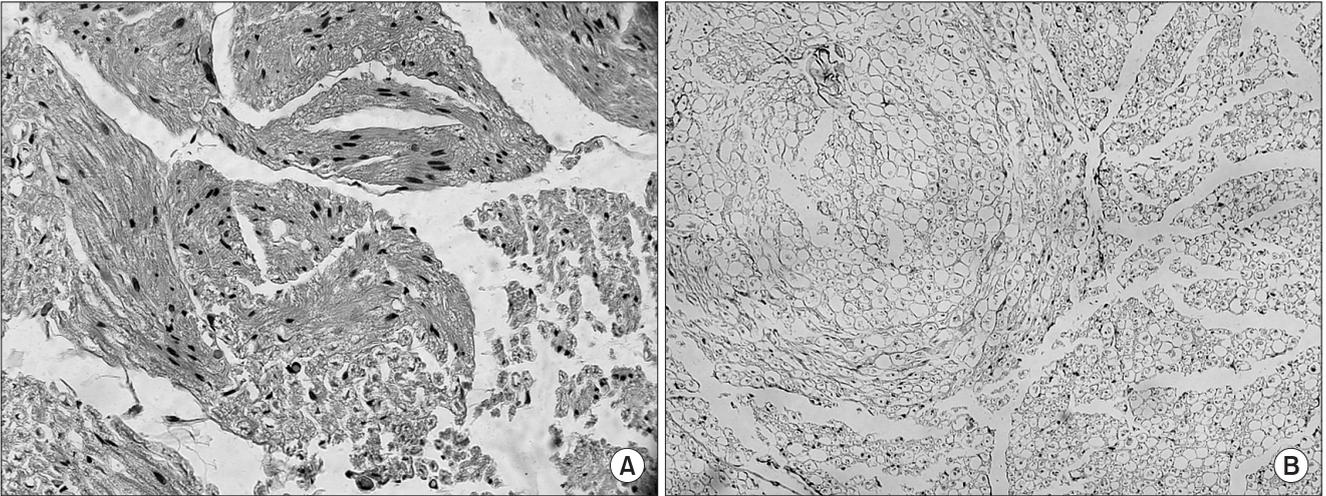


Figure 1. Comparison of autograft (A) and processed allograft (H & E stain,  $\times 200$ ). Cells are removed but intact laminin architectures are still preserved in processed allograft (B).

을 측정하였다. 정상측도 동일한 방법으로 측정하여 그 결과를 비교하였다.

### 5. 조직의 채취 및 조직형태학적 측정

복합근 활동 전위의 측정이 끝난 후 토끼의 복강내에 pentobarbital 과용량을 주사하여 희생하였다. 수술 부위를 절개하여 노출시킨 후 주위 연부조직에서 봉합한 신경을 분리하여 재생된 신경의 중앙에서 5 mm 크기의 신경 조직을 채취하였다. 채취한 조직은 2% paraformaldehyde와 2.5% glutaraldehyde로 고정하고, 신경 종축에 대해 수직 방향으로  $1\ \mu\text{m}$ 의 두께로 잘라 toluidine blue로 염색하였다. 완성된 신경 조직을 전자 현미경으로 촬영하고, 그 결과를 Image Pro Plus (Media Cybernetics, Bethesda, MD) 프로그램을 이용하여 조직형태학적인 분석을 시행하였다. 신경의 범위는 100배율의 현미경하에서 신경 조직 전체의 사진을 촬영하여 이를 Image Pro Plus 프로그램에서 수동적으로 축색이 재생된 신경의 내부 면적을 측정하여 계산하였다. 축색의 수는 400배율의 현미경하에서 수초화가 이루어진 축색의 수를 측정하고, 이를 세 번 반복하여 전체 신경의 범위에 해당하는 축색의 수를 계산하였다. 수초의 두께는 축색의 외측 지름과 내측 지름의 차이로 계산하였다. 근육의 신경 회복 정도를 확인하기 위하여 전 경골근을 조심스럽게 박리하고 무게를 측정하였다. 정상측도 동일한 방법으로 조직을 채취하여 신경의 조직형태학적 측정을 시행하고 그 결과를 실험측과 비교하였다.

각 실험군간의 차이를 비교하기 위한 통계학적 방법은 Kruskal-Wallis test와 Mann-Whitney U test를 이용하였으며, SPSS 프로그램(SPSS 12.0, Chicago, IL)을 사용하여 분석하였다. 유의확률은 0.05로 정하였고, 양측 검정을 사용하였다.

## 결 과

실험에 사용된 New Zealand 토끼 30마리는 모두 실험에 잘 적응하였으며, 실험 도중 사망한 경우는 없었다. 또한 수술한 토끼는 실험 기간 중 특별한 고정 없이 자유로운 보행이 가능하였고, 창상 감염 등의 합병증은 발견되지 않았다. 이식 전 처리한 동종 신경을 Hematoxylin-Eosin 염색으로 관찰한 결과 자가 신경에서 보이는 세포가 모두 제거되어 있었고, 축색의 외벽을 구성하는 intact laminin의 형태는 유지되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 또한 전자현미경으로 관찰한 동종 신경에서도 동일한 축색의 intact laminin 구조가 존재하였다(Fig. 2). 이식 후 12주에 측정된 전 경골근의 복합 근 활동 전위는 1군에서 정상측의  $54.1 \pm 7.3\%$ , 2군에서 정상측의  $38.2 \pm 6.5\%$ , 3군에서 정상측의  $26.4 \pm 5.9\%$ 이었으며, 세 군 모두 통계적으로 의미있는 차이가 있었다(Fig. 3,

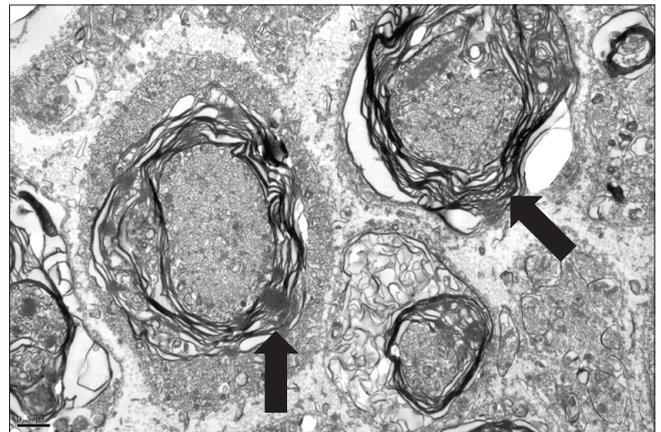


Figure 2. Electron micrograph of processed allograft showing preserved intact laminin structures (black arrows,  $\times 10,000$ ).

동중 신경과 신경 도관을 이용한 말초신경 재생

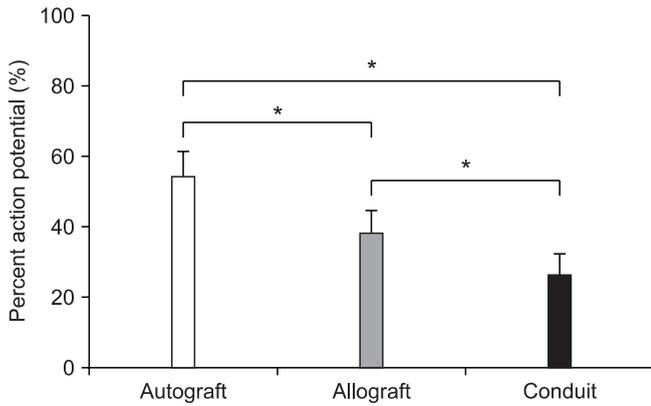


Figure 3. Compound muscle action potentials of the tibialis anterior for the three groups at twelve weeks. Error bars represent 95% confidence intervals. Asterisks represent significant difference between the 2 groups ( $p < 0.05$ ).

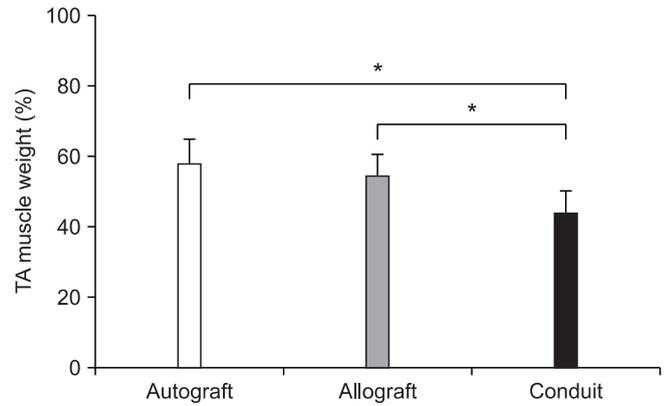


Figure 4. Wet muscle weight of the tibialis anterior for the three groups at twelve weeks. Error bars represent 95% confidence intervals. Asterisks represent significant difference between the 2 groups ( $p < 0.05$ ).

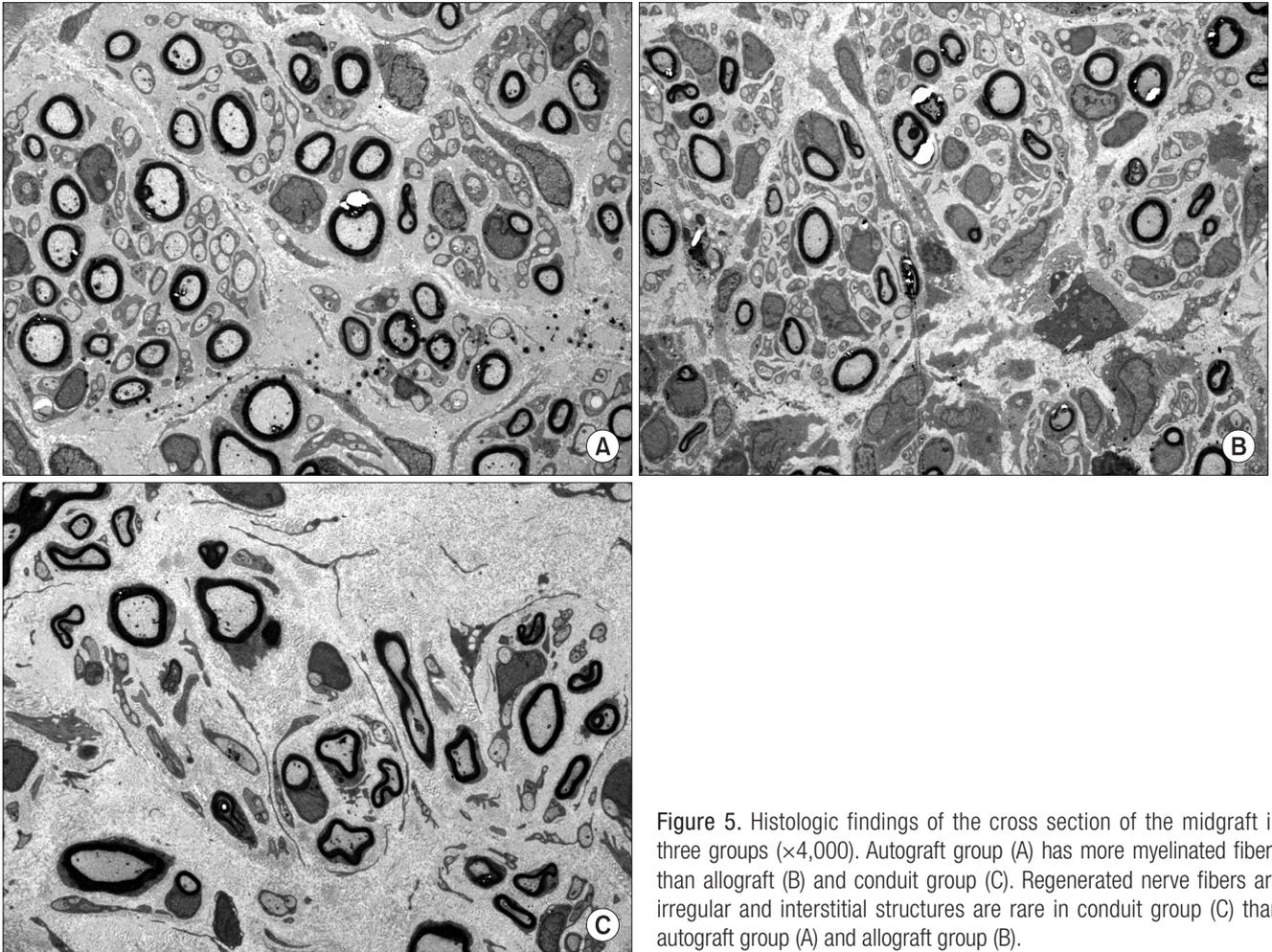


Figure 5. Histologic findings of the cross section of the midgraft in three groups ( $\times 4,000$ ). Autograft group (A) has more myelinated fibers than allograft (B) and conduit group (C). Regenerated nerve fibers are irregular and interstitial structures are rare in conduit group (C) than autograft group (A) and allograft group (B).

$p < 0.001$ , group I vs II;  $p < 0.001$ , group I vs III;  $p < 0.001$ , group II vs III). 전 경골근의 무게는 1군에서 정상측의  $57.8 \pm 7.1\%$ , 2군에서 정상측의  $54.4 \pm 6.0\%$ 로 측정되어 통계적으로 의미있는 차이

가 없었으나( $p=0.256$ ), 3군에서는 정상측의  $43.9 \pm 6.2\%$ 로 1군 및 2군과 모두 통계적으로 의미있는 차이가 있었다(Fig. 4,  $p < 0.001$ , group I vs III;  $p=0.002$ , group II vs III). 조직형태학적 검사상 신

경의 범위는 1군에서  $98.4 \pm 23.9\%$ , 2군에서  $91.8 \pm 21.2\%$ , 3군에서  $92.2 \pm 28.0\%$ 으로 측정되어 세 군간에 차이가 없었으며( $p=0.482$ ), 수초의 두께도 1군에서  $84.7 \pm 13.2\%$ , 2군에서  $79.9 \pm 13.4\%$ , 3군에서  $82.1 \pm 14.1\%$ 로 측정되어 세 군간에 차이가 없었다( $p=0.329$ ). 축색의 수는 1군에서 정상측의  $89.1 \pm 24.7\%$ 로 측정되어 2군의  $74.3 \pm 23.4\%$  및 3군의  $58.9 \pm 21.1\%$ 와 통계적으로 의미있는 차이가 있었다(Fig. 5,  $p=0.037$ , group I vs II;  $p<0.001$ , group I vs III;  $p=0.085$ , group II vs III). 또한 3군에서는 축색의 형태가 매우 불규칙하였으며, 다른 두 군에 비하여 결합조직이 치밀하지 못한 소견이 관찰되었다(Fig. 5C).

## 고 찰

자가 신경 이식술의 문제점을 극복하고 신경 결손의 회복을 증진시키기 위하여 조직 공학을 이용한 다양한 종류의 신경 대체물이 연구되고 있다. 이상적인 신경 대체물의 조건은 첫째, 면역 반응이나 독성이 없어야 하고, 둘째, 신경 조직의 구조와 유사하여야 하며, 셋째, 신경의 재생을 도울 수 있는 세포와 성장 인자를 포함하여야 한다. 또한 신경 도관은 생체 흡수성과 함께 신경 재생이 이루어질 동안 충분히 신경을 보호할 수 있어야 한다.<sup>14)</sup> 본 연구에서는 두 가지 신경 대체물인 처리된 동종 신경과 Laminin이 부착된 신경 도관을 비교하였다.

비록 동종 신경이 일부 임상적인 성공을 거두기는 하였으나,<sup>10)</sup> 전신적인 면역 억제제의 사용은 동종 신경의 광범위한 적용에 제한점이 되어 왔다. 본 연구에서는 Hudson 등<sup>11)</sup>의 방법을 이용하여 동종 신경의 면역 반응을 제거하였다. Hudson 등<sup>11)</sup>은 화학적으로 처리한 동종 신경에서 CD8 양성 세포가 대조군에 비하여 현저히 감소하였으며, 조직학적으로도 면역 세포의 침윤이 적음을 관찰하였다. Whitlock 등<sup>15)</sup>도 처리한 동종신경에서 면역 매개물질인 IFN- $\gamma$ 가 감소되어 있음을 확인하였다. 본 연구에서도 조직 소견상 염증 반응이 없어 처리한 동종 신경의 면역 반응은 없는 것으로 판단하였다. 또한 CSPs는 축색의 intact laminin에 부착하여 축색의 재생을 방해하는 것으로 알려져 있다.<sup>16)</sup> 본 연구에서는 축색 재생의 방해 물질로 알려진 CSPs를 분해 효소로 제거함으로써 신경 재생이 더욱 촉진될 수 있도록 하였다.

PLGA 신경 도관은 다공성 합성 폴리에스터인 polyglycolide와 polylactide의 중합체로 흡수성 봉합사나 정형외과용 고경물에 널리 사용되는 흡수성 물질이다.<sup>17)</sup> PLGA는 중합체의 처리 과정을 통하여 기계적 강도 및 생체내 분해 정도를 조절할 수 있으며, 수분과 산소의 선택적 투과성을 가지는 장점이 있다.<sup>17)</sup> PLGA 신경 도관은 면역 반응 등의 문제점은 없으나 신경 재생 능력이 제한적이기 때문에, 본 연구에서는 신경 도관의 내부에 Laminin을 부착하였다. Laminin은 슈반 세포의 부착 및 이동을 돕는 것으로 알려져 있기 때문에 슈반 세포에 의한 축색 재생의 촉진을 기대하

였다.

실험 결과 자가 신경이 복합 근 활동 전위, 전 경골근의 무게 및 축색의 수 등 모든 면에서 가장 우수한 것으로 드러났으며, 처리된 동종 신경이 Laminin이 부착된 신경 도관에 비하여 더 나은 신경 재생이 관찰되었다. 이 결과는 Laminin이라는 물질 자체가 중요한 것이 아니라, 신경 도관이 축색의 성장을 돕는 구조적인 특징을 가져야 함을 의미한다. Ide 등<sup>18)</sup>은 신경의 근위부 및 원위부에서 슈반 세포가 basal lamina 구조를 따라 이동한다고 하였다. 저자들도 처리된 동종 신경에서 보존된 intact laminin 구조가 신경 재생의 촉진에 도움을 준 것으로 판단하고 있다. 비록 본 연구에서 사용된 동종 신경의 처리 방법으로 intact laminin 구조를 보존할 수 있었으나, 보다 이상적인 동종 신경의 처리 방법을 찾기 위하여 보다 많은 연구가 필요할 것으로 판단된다. 최근 Whitlock 등<sup>15)</sup>도 쥐의 좌골 신경 결손 모델을 이용하여 처리된 동종 신경과 자가 신경, 제 1형 콜라겐 신경 도관을 비교한 연구를 발표하였다. 모든 항목에서 자가 신경군이 가장 우수한 재생 결과를 보였으나, 14 mm 신경 결손 모델에서는 처리된 동종 신경이 신경 도관보다 좋은 결과를 나타내었다. 이는 본 연구와 일치하는 결과로 판단되며, 현재 임상에서 흔히 행해지고 있는 3 cm 이하의 수부 감각 신경의 재건에서 처리된 동종 신경이 신경 도관을 대체할 수 있음을 시사하는 것이다.

본 연구는 몇 가지 단점을 가지고 있다. 신경 도관은 어떠한 재료로 어떻게 만드느냐에 따라 실험 결과가 달라질 수 있으므로 본 연구 결과를 모든 신경 도관에 일반화시키기에는 무리가 있을 것으로 판단된다. 또한 Laminin이 없는 신경 도관을 대조군에 포함하지 않아 Laminin의 부착 여부가 신경 도관의 기능에 어떠한 영향을 주는지를 규명하지 못했다. 이에 대해서는 향후 다양한 신경 도관을 이용한 비교 연구가 필요할 것이다.

동물의 신경 재생 실험에서 어떤 방법으로 실제적인 신경 재생을 측정할 수 있는가 하는 문제는 항상 논란의 대상이 되어 왔다. 운동 신경의 회복을 정량적으로 측정하는 방법중 하나로 보행 분석(walking track analysis)<sup>19,20)</sup>이 시행되고 있다. 그러나 보행 분석은 신경의 손상 이후에 관절의 구축이 발생할 경우 결과가 부정확할 수 있다.<sup>21)</sup> 또한 신경 손상으로 인한 통증 때문에 자기 절단(autotomy) 현상이 흔히 발생한다.<sup>22)</sup> Urbanchek 등<sup>23)</sup>도 보행 분석 결과와 최대 근력간에 상관관계가 없다고 하였다. 본 연구에서는 토끼를 이용한 동물 모델의 제한상 보행 분석을 시행하지 않았으며, 복합 근 활동 전위를 측정하여 운동 신경의 회복을 측정하고자 하였다. 복합 근 활동 전위는 전극의 위치에 따라 결과가 달라질 수 있음이 알려져 있으나,<sup>24)</sup> 본 연구에서는 직접 재생된 좌골 신경 및 전 경골근을 노출하고 신경을 자극하여 비교적 정확한 결과를 얻을 수 있도록 하였다. 실험 결과 전 경골근의 복합 근 활동 전위는 자가 신경군에서 가장 좋은 결과를 보였으며, 이는 전 경골근의 무게와 비례하였다.

신경에 대한 조직형태학적 검사상 신경의 범위, 총 축색의 수와 수초의 두께를 측정하였는데, 신경의 범위 및 수초의 두께는 각 구간이 차이가 없었으며 축색의 수만이 차이를 보였다. 신경의 범위와 수초의 두께는 신경의 성숙도를 관찰하는 척도로, 동물에 성장함에 따라 증가할 수 있기 때문에 신경의 재생을 측정하는데 적절하지 않을 수 있다.<sup>25)</sup> Chamberlain 등<sup>25)</sup>은 수술 후 1년에 관찰한 신경의 조직형태학적 검사상 축색의 수는 증가하였으나 축색의 지름이나 수초의 지름은 작아지는 것을 관찰하였다. 반면에 축색의 수는 많은 연구에서 신경의 재생을 확인하는 표준적인 방법으로 사용되고 있으며, 이는 원위부 근육의 신경유도와 연관이 있는 것으로 설명하고 있다.<sup>26)</sup> 본 연구에서는 정상축의 축색의 수에 표준화하여 그 차이를 비교하였다. 자가 신경군에서는 정상축의  $89.1 \pm 24.7\%$ 로 측정되어 동종 신경군의  $74.3 \pm 23.4\%$  및 신경 도관의  $58.9 \pm 21.1\%$ 와 통계적으로 의미있는 차이가 있었다. 또한 신경 도관군에서는 축색의 형태가 매우 불규칙하였으며, 다른 두 군에 비하여 결합조직이 치밀하지 못한 소견이 관찰되었다. 이는 내부가 비어있는 신경 도관의 구조적 문제에 기인하는 것으로 판단되며, 상대적으로 신경의 intact laminin 구조가 보존된 동종 신경이 신경의 재생에 더욱 유리함을 나타내는 것이다.

본 연구에서 저자들은 자가 신경이 신경 결손의 치료에 최선의 방법임을 확인할 수 있었다. 그러나 동종 신경을 골격으로 이용하여, 그 내부에 슈반 세포나 성장 인자 등을 추가적으로 포함시킬 수 있다면 보다 나은 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대할 수 있으며 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

## 결론

저자들은 조직형태학적 및 전기신경학적으로 자가 신경 이식군이 가장 좋은 신경 회복을 얻을 수 있음을 확인하였으며, 처리된 동종 신경은 Laminin이 부착된 신경 도관에 비하여 더 나은 신경 재생을 관찰하였다. 향후 자가 신경의 대체 조직을 개발하기 위하여 추가적인 연구가 필요하다.

## 참고문헌

- Millesi H. Nerve grafting. *Clin Plast Surg.* 1984;11:105-13.
- Naff NJ, Ecklund JM. History of peripheral nerve surgery techniques. *Neurosurg Clin N Am.* 2001;12:197-209.
- Meek MF, Coert JH. Clinical use of nerve conduits in peripheral-nerve repair: review of the literature. *J Reconstr Microsurg.* 2002;18:97-109.
- Staniforth P, Fisher TR. The effects of sural nerve excision in autogenous nerve grafting. *Hand.* 1978;10:187-90.
- Mackinnon SE, Dellon AL. Clinical nerve reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast Reconstr Surg.* 1990;85:419-24.
- Nicoli Aldini N, Perego G, Cella GD, et al. Effectiveness of a bioabsorbable conduit in the repair of peripheral nerves. *Biomaterials.* 1996;17:959-62.
- Archibald SJ, Krarup C, Shefner J, Li ST, Madison RD. A collagen-based nerve guide conduit for peripheral nerve repair: an electrophysiological study of nerve regeneration in rodents and nonhuman primates. *J Comp Neurol.* 1991;306:685-96.
- Weber RA, Breidenbach WC, Brown RE, Jabaley ME, Mass DP. A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plast Reconstr Surg.* 2000;106:1036-45.
- Yip JW, Yip YP. Laminin--developmental expression and role in axonal outgrowth in the peripheral nervous system of the chick. *Brain Res Dev Brain Res.* 1992;68:23-33.
- Mackinnon SE, Doolabh VB, Novak CB, Trulock EP. Clinical outcome following nerve allograft transplantation. *Plast Reconstr Surg.* 2001;107:1419-29.
- Hudson TW, Zawko S, Deister C, et al. Optimized acellular nerve graft is immunologically tolerated and supports regeneration. *Tissue Eng.* 2004;10:1641-51.
- Neubauer D, Graham JB, Muir D. Chondroitinase treatment increases the effective length of acellular nerve grafts. *Exp Neurol.* 2007;207:163-70.
- Huang YC, Huang CC, Huang YY, Chen KS. Surface modification and characterization of chitosan or PLGA membrane with laminin by chemical and oxygen plasma treatment for neural regeneration. *J Biomed Mater Res A.* 2007;82:842-51.
- de Ruitter GC, Malessy MJ, Yaszemski MJ, Windebank AJ, Spinner RJ. Designing ideal conduits for peripheral nerve repair. *Neurosurg Focus.* 2009;26:E5.
- Whitlock EL, Tuffaha SH, Luciano JP, et al. Processed allografts and type I collagen conduits for repair of peripheral nerve gaps. *Muscle Nerve.* 2009;39:787-99.
- Zuo J, Hernandez YJ, Muir D. Chondroitin sulfate proteoglycan with neurite-inhibiting activity is up-regulated following peripheral nerve injury. *J Neurobiol.* 1998;34:41-54.
- Merrell JC, Russel RC, Zook EG. Polyglycolic acid tubing as a conduit for nerve regeneration. *Ann Plast Surg.* 1986;17:49-58.
- Ide C, Tohyama K, Yokota R, Nitatori T, Onodera S. Schwann cell basal lamina and nerve regeneration. *Brain Res.* 1983;288:61-75.

19. De Medinaceli L. Use of sciatic function index and walking track assessment. *Microsurgery*. 1990;11:191-2.
20. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg*. 1989;83:129-38.
21. Dellon AL, Mackinnon SE. Sciatic nerve regeneration in the rat. Validity of walking track assessment in the presence of chronic contractures. *Microsurgery*. 1989;10:220-5.
22. Weber RA, Proctor WH, Warner MR, Verheyden CN. Autotomy and the sciatic functional index. *Microsurgery*. 1993;14:323-7.
23. Urbanchek MS, Chung KC, Asato H, Washington LN, Kuzon WM Jr. Rat walking tracks do not reflect maximal muscle force capacity. *J Reconstr Microsurg*. 1999;15:143-9.
24. Stys PK, Ransom BR, Waxman SG. Compound action potential of nerve recorded by suction electrode: a theoretical and experimental analysis. *Brain Res*. 1991;546:18-32.
25. Chamberlain LJ, Yannas IV, Hsu HP, Strichartz GR, Spector M. Near-terminus axonal structure and function following rat sciatic nerve regeneration through a collagen-GAG matrix in a ten-millimeter gap. *J Neurosci Res*. 2000;60:666-77.
26. Vleggeert-Lankamp CL, de Ruiter GC, Wolfs JF, et al. Pores in synthetic nerve conduits are beneficial to regeneration. *J Biomed Mater Res*. 2007;80:965-82.

## Comparison of Processed Nerve Allograft and Laminin Derived Peptide Incorporated Nerve Conduit for Peripheral Nerve Regeneration

Joo-Yup Lee, M.D., Min-Hyeok Choi, B.S.\* , Eun-Young Shin, B.S.\* , Byung-Moo Min, D.D.S.<sup>†</sup> , Deule Roh, B.S.<sup>‡</sup> , and Dong-June Chung, Ph.D.<sup>‡</sup>

*Department of Orthopedic Surgery, \*Research Institute of Medical Science, St. Vincent Hospital, The Catholic University of Korea College of Medicine, † Department of Oral Biochemistry, School of Dentistry, Seoul National University, ‡ Department of Polymer Science and Engineering, Sungkyunkwan University, Suwon, Korea*

**Purpose:** To compare a processed nerve allograft, laminin derived peptide incorporated nerve conduit, and autograft in terms of electrodiagnostic testing and nerve histomorphometry for peripheral nerve regeneration in a rabbit sciatic nerve defect model.

**Materials and Methods:** Thirty New Zealand white rabbits were divided into three groups, and a unilateral 15 mm sciatic nerve defect was made. Group I, II and III was repaired with a reversed autograft, a processed acellular nerve allograft, and a laminin derived peptide incorporated nerve conduit, respectively. At twelve weeks, the animals were evaluated with the compound muscle action potential, wet muscle weight, and nerve histomorphometric parameters such as nerve area, number of axons, and myelin thickness.

**Results:** At twelve weeks, the compound muscle action potential for group I, II and III was 54.1%, 38.2% and 26.4%, respectively. Significant differences were found between the three groups ( $p < 0.001$ , group I vs II;  $p < 0.001$ , group I vs III;  $p < 0.001$ , group II vs III). The wet muscle weight for group I, II and III was 57.8%, 54.4% and 43.9%, respectively. Group I had significantly more muscle weight than group III ( $p < 0.001$ ), but the difference was not significant with group II ( $p=0.256$ ). Group II and III showed a significant difference ( $p=0.002$ ). The number of axons in group III decreased and the shape of the axon was irregular, even though the nerve area and myelin thickness were similar in the three groups.

**Conclusion:** An autograft remains the gold standard to repair a segmental nerve defect. Processed allograft demonstrated superior nerve recovery compared to the laminin derived peptide incorporated nerve conduit.

**Key words:** peripheral nerve regeneration, processed nerve allograft, nerve conduit

**Received** October 8, 2009 **Accepted** December 9, 2009

**Correspondence to:** Dong-June Chung, Ph.D.

Department of Polymer Science and Engineering, Sungkyunkwan University, 300, Chunchun-dong, Jangan-gu, Suwon 440-746, Korea

**TEL:** +82-31-290-7286 **FAX:** +82-31-292-8790 **E-mail:** djchung@skku.edu