대한골절학회지 제12권, 제4호, 1999년 11월
The Journal of the Korean Society of Fractures
Vol.12, No.4, November, 1999

가토 요골 간부 골 결손 부에 혈관 부착 생골막 수술후 신생골 형성에 관한 연구

- 방사선학적, 조직학적 및 면역조직화학적 소견 -

염재광 · 정영복 · 김미경[*] · 최호림[**] · 유태열 · 한정남.

중앙대학교부속용산병원 정형외과
[*]중앙대학교의과대학 해부병리학교실
[**]대전선병원 정형외과

= Abstract =

New Bone Formation in Vascularized Periosteal Flap over the Bone Defect of the Shaft of the Radius in Rabbit.

- Early Radiological, Histological and Immunohistochemical Study of Osteogenesis -

Jae Kwang Yum, M.D., Young Bok Jung, M.D., Mi Kyung Kim, M.D.,[*]
Ho Rim Choi, M.D.,[**] Tae Yeul Yoo, M.D., Jung Nam Han, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery, Pathology [*], Yong-san Hospital, Chung-Ang University, Seoul and Department of Orthopaedic Surgery, Sun Hospital [**], Tae-jon, Korea.

Vascularized periosteal flap(VPF) is thought to enable formation of new bone and promote union in bone defect without risk of complications in donor site. Studies about the VPF thus far have been centered on the long term result than early change after VPF. The purpose of this study was to elucidate the process of new bone formation in early stage after VPF by

※통신저자 : 염재광
서울특별시용산구한강로3가 65-207 (140-757)
중앙대학교부속용산병원정형외과
Tel : (02) 748-9563~4
Fax : (02) 793-6634

radiological, histological, electron microscopical and immunohistochemical studies.

In experimental group, segmental resection of bone including the periosteum was performed in fifty-six radii of immature New Zealand white rabbits preserving the periosteal circulation from median artery which is the main source of blood supply to the periosteum. In order to simulate the transplantation of VPF, the vascular pedicle of median artery and veins was dissected from adjacent soft tissue and the periosteum was longitudinally incised to remove the bone tissue in the periosteum. Thereafter the vascularized periosteum was repaired. From the first to fourteenth day after the simulated VPF, the findings in the VPFs were observed by radiological, light microscopical, scanning electron microscopical methods and activity of osteocalcin was measured by immunohistochemical method. In control group, the bone tissue and periosteum were completely removed from the mid-shaft of seven radii, thereafter the radiological findings were observed at 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16th week and light microscopical findings were observed at 8, 16th week after operation.

From the results of this study, it is concluded that VPF is vigorously and uniformly osteogenic in its early stage. It is thought that this study could serve as a basic data for the future experimental studies about VPF in animals and clinical application.

Key Words : Long bone shaft, Bone Defect, Vascularized Periosteal Flap, Early Radiological and Histological Findings, Rabbit,

서 론

인체에서 질병이나 사고로 일정범위의 골결손이 생긴경우에, 이를치료하기위해서는골을단축시켜 결손을 복구하는 방법, 인체의 다른 골 공여부(donor site)에서채취한생골또는단순골의이식으로골결손 부위를 채워서 골유합을 유도하는 방법, 외고정장치(external fixator)를이용한 골이전술(bone transfer) 등의 방법을 이용해야 한다. 이러한 각각의 방법 중에골을단축시키는방법은해당골의길이가짧아져 기능이나 모양에서 만족스럽지 못한 결과를 초래할 수있고, 외고정 장치를 이용한 골이전술은모든 종류의골결손에 항상적용될수있는것은아니다 . 특히골이식이나생골이식을이용한방법에서는공여부의골결손으로인한합병증이많이보고되고있는 실정이다. 이러한합병증을줄이기위해서는골공여부의 피질골과 망상골은 그대로 남겨둔채 골막만을 박리하여 골 결손 부위에 이식하는 방법을 생각할 수 있으나, 혈액 공급이 없는 골막은 이식된 부위에서 신생골을 생성할 수 있는 능력이 없는 것으로 보고되고 있다[2]. 그러나 혈관을 부착하여 골막을 이식하여 이식된 골막이 수술 후 즉시 혈액 공급을 받을 수있게하는생골막이식은신생골을형성하는것으로 알려져 있으므로[1], 이러한 생골막이식 방법으로 골 결손부위는 골형성 및 골유합이 가능하도록 하고 골공여부는 골결손에 의한합병증을 피할수 있는효과를거둘수있을것으로사료된다 .

생골막이식으로신생골형성을유도하는데성공한보고는있으나이식후장기적인관찰의결과를보고한 것이 대부분이며[1,2,4,5,7], 생골막 이식 직후부터 시일별로세밀하게분석하여, 이식된생골막에서어떠한시기에어떠한세포가활성화되어신생골이형성되는지에대한조기방사선학적, 조직학적및면역조직화학적(immunohistochemistry) 소견 등이 함께 보고된 것은 찾아보기 힘들다. 만일 생골막 이식에 의한조기신생골형성의과정을시일별로세밀하게파악할 수 있다면, 앞으로 생골막 이식과 함께 골유도 또는골전도물질을함께주입하는실험과비교할수 있는 좋은 자료가 될 것으로 사료되며, 또한 관절의 일부가결손이생겨여기에생골막이식수술을시행하였을 때 수술한 관절의 고정 기간, 관절운동 및 체중 부하의 시작 시기 결정에 많은도움이 될수있을

것이다.

이에저자들은가토요골간부에생골막이식과유사한 환경을 만든 후, 혈관 부착 골막내에서신생골형성의과정및형태를시일별로방사선학적, 조직학적및면역조직화학적으로관찰하여그결과를비교분석하였고, 이러한실험의결과를토대로생골막이식과유사한조건에서의시간에따른신생골형성의과정을 밝혀, 향후 생골막 이식으로 신생골 형성을 유도하는실험에기초자료를제공함과동시에더발전된생골막이식을이용한신생골형성에관련된치료와연구에기여하고자본실험을시작하였다.

연구 대상 및 방법

총 28마리의 뉴질랜드산 백색 가토(New Zealand white rabbit)의 양측 요골 간부를 실험군으로 하였으며 가토의 평균 연령은 8주, 평균 몸무게는 2.1 Kg이었다. 대개 8주정도의가토는아직 성장판이 폐쇄되지않은어린연령군으로골막이두껍고박리가용이하기 때문에 편의상 8주 전후의 가토를 실험 대상으로 하였다. 실험군은 수술후 1일부터 14일까지 각각의 날짜에 해당하는 총 14개 군으로 나누었으며, 각 군에 4례씩 총 56례였다. 실험군과비교 관찰하기 위하여 예비실험에서 우측 요골 간부 중간 ½ 부위의 골조직 및 골막을 모두 제거한 대조군 7례를 만들어 실험하였다.

[실험방법]

실험군에서는요즘간부에해당하는피부및연부조직을절개하여요골간부의대부분을노출시킨후, 근위요골동맥(proximal radial artery)을요골의원위부에서결찰및절단후주위연부조직과함께박리하여 출혈을 줄이고 요골의 골막을 노출시키기 용이하게 하였다. 요골의 바로 옆으로 주행하는 정중동맥(median artery)의 골막순환을 손상시키지 않도록 하여 골막의 혈액순환을 보존하도록 하였다. 그 후 요골 간부의 중간 ½ 정도의 길이(평균 22 mm)를 골막을 포함하여 분절 모양으로 절단한 후, 다시 골막을 종으로절개한다음그내부의골을완전히제거하여 정중동맥만이절개한골막에혈액을공급할 수있게 함으로써, 혈관 부착 골막 공여부(vascularized periosteal flap donor site)처럼만들고, 박리했던골막을 다시 제자리에 봉합함으로써 생골막을 이식하는 효과와 같게 하였다. 수술후 압박붕대로 처치하였고, 수술부위에추가고정은실시하지않았다.

대조군에서는 실험군과 동일하게 요골 간부 중간 ½ 부위에서 골조직을 제거하였고 동시에 골막까지 제거한후, 상처를봉합하고압박붕대로처치하였다.

[관찰방법]

실험군은 수술 후 1일부터 14일까지 매일 수술 부위의 단순 방사선 촬영을 시행하였고, 매일 두 마리씩 양측 요골의 수술 부위를 채취하여, 현미경적 조직 소견 및 전자현미경적 소견을 관찰하였다. 또한 최근 신생골 형성의 활성도에 대한 척도로 쓰이는 osteocalcin을 면역조직화학적인 방법으로 분석하여 신생골형성 부위에서의 osteocalcin의활성도를측정하였다.

대조군은 수술후 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16주째에 수술 부위에 단순 방사선 촬영을 시행하였고, 수술후 8주째에 3례, 16주째에 4례의 수술 부위를 채취하여 광학현미경적관찰을통하여 신생골형성여부를 관찰하였다.

조직학적인관찰 방법은채취한조직을 10% 포르말린용액에 24시간동안저장하였다. 채취한조직의 길이는 평균 15 mm, 폭은 평균 3 mm였다. 10% 포르말린 용액에서 꺼낸 조직은 탈석회화 과정(decalcification)을거쳐파라핀에고정한후현미경관찰을 위한 조직편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색을 하였다. 광학현미경적관찰에서는골막주위의세포의변화, 세포외기질의 변화, 유골(osteoid)의 형성 정도및형성된신생골의변화등을관찰하였다.

실험군에서 주사 전자현미경적인 관찰 방법은 채취한 조직중 약 2x2 mm 크기의 부위를 따로 떼어 내어 cacodylate buffer(pH 7.4, 0.1 M)에 희석한 2.5% gluteraldehyde 용액에넣어 4℃에서 12시간동안 조직을 고정하였으며, 동일 완충액에 녹인 1% osmium tetroxide(OsO_4) 용액으로 1시간 동안 후고정 하였다. 고정된 조직은 50%, 70%, 80%, 90%, 95% 에탄올(ethanol)에서 15분씩 3회탈수하고 isoamyl acetate로 15분씩 2회 치환한 다음, 10분간 임계 건조기(Polaron, England)로 건조시켰다. 건조된 시료를 표본대에 붙여 ion coater(JFC-1100, JEOL, Japan, 7mA)로 20 nm 두께의 gold coating을 시행한 후 주사 전자현미경(scanning electron microscopy(SEM), JSM-35 CF, JEOL, Japan)으로 25kV의가속전압하에서관찰하였으며확대 배율은 1600배에서 3000배였다. 전자현미경적 관찰에서는 골원세포(osteogenic cell) 즉, 전구골모세포(preosteoblast), 골모세포(osteoblast), 골세포(osteocyte) 등의변화, 콜라겐(collagen) 형성의정도, 무기질침착(mineralization)의정도등을관찰하였다.

수술후시간이지남에 따라실험군에서신생골형성부위의 osteocalcin의활성도를측정하기위하여면역조직화학 검사를 시행하였다. 이를 위해서 paraffin 절편을 5 ㎛ 두께로잘라 poly-L-lysine(Sigma, St Louis)이입혀진슬라이드에 부착시킨 후충분히 건조시켰다. Xylene에 10분간 편화시킨 후 100%, 90%, 80% 알코올에 각기 5분간 처리하여 증류수를 함수시켰다. 내인성 과산화 효소의 활성을 억제시키기 위해 3% 과산화수소수에 20분간 처리한 후 Tris-buffer solution(TBS)으로 5분간 3회세척하고 skin milk로 5분간 preblocking 시키고 TBS 완충 용액으로 세척한 후 blocking 용액으로 1시간반응시켰다. 일차 항체(중앙대학교 병리학 교실 송계용 교수 제공)를 1:200으로 희석한후실온에서 16시간동안반응시키고 TBS 완충용액으로 3회세척한다음, biotin과결합된이차항체를 15분간 반응시킨 후 strepto-avidin-horseradish peroxidase를 15분간 반응시켰다. Chromogen(3-amino-9-ethylcarbazole) 용액으로 발색시켜 Meyer's hematoxylin으로 3분간 대조염색하여 봉입후 광학현미경으로 관찰하였다. 음성 대조군(negative control group, 예; 일차 항체를 이용하지 않은 검체)도 모든 염색과정에포함시켰다. 결과는한명의병리학자에의해 검사되었으며 osteocalcin의 염색정도는주관적인 판단으로"무반응","약한 반응"및"강한 반응"등으로표시되었다. 이러한모든검사는맹검으로진행되어, 검사자는자신이어떠한군의결과를측정하

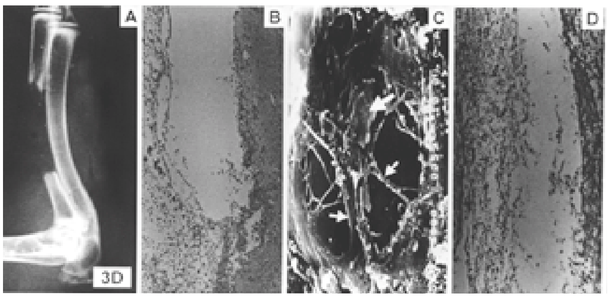

Fig 1. Findings at the third day after operation demonstrate no evidence of new bone formation in radiological, light microscopical and immunohistochemical examinations (**A, B, D**). Nevertheless, scanning electron microscopy (SEM) demonstrates osteoblast(large arrow) which is identified by their elongated appearance and collagen secretion(small arrows)(**C**, x3000).

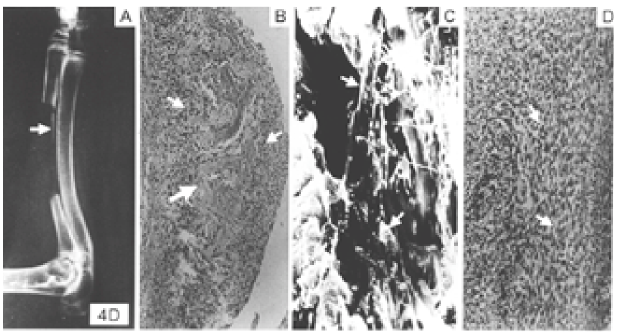

Fig 2. Findings at the fourth day after operation.
- **A**; Linear calcific density(arrow) which is an evidence of new bone formation is noted in simple roentgenograph at the ulnar side of grafted periosteum.
- **B**; Hematoxylin-eosin(HE) stain showing newly formed osteoid(large arrow) which is encased within many osteogenic cells(small arrows) (x100).
- **C**; Scanning electron photomicrograph showing more collagen secretion(arrows) (x3000).
- **D**; The earliest osteocalcin reactivity as middle-degree stain is noted(arrows).

고있는지알수없게하였다.

결 과

[실험군]

1. 방사선학적소견.

수술 직후부터 수술 후 3일째까지는 단순 방사선 사진 상 특별한 변화가 없었으나(Fig. 1A), 4일 이후 방사선 촬영이 가능하였던 44례중 39례(88.6%)에서 수술후 4일째에 혈관 부착 골막 부위중 척골과가까운 쪽 즉, 절개를 하지 않은건강한쪽의 골막에서부터 희미한석회화(calcification) 음영이 관찰되어신생골 형성이 시작되는 것을 알 수 있었고(Fig. 2A), 5례에서는 수술후 5일째부터 상기 신생골 형성의 시작이관찰되었다.

수술후7일째부터는이식된골막의전체범위에서 신생골형성이일어나고있는소견을관찰할수있었다(Fig. 3A). 그 이후에는 석회화 음영이 단순 방사선 사진상점점증가하여신생골형성이더욱진행되는 소견을보였다(Fig. 4A, 5A).

2. 광학현미경적소견.

수술후1, 2, 3일째채취한수술부위의조직은혈종 및연부조직이대부분이었고일부염증반응이관찰되었으나신생골형성의증거는관찰되지않아, 수술 후 3일까지는 신생골 형성이 아직 시작되지 않은 것을볼수있었다 (Fig. 1B). 그러나수술후 4일째부터는 골원세포들의 주위에 유골(osteoid)조직이 생기기 시작하는 막내골화(intramembranous ossification)의 소견을관찰할수있었다 (Fig. 2B). 수술후 5일째에는유골조직이 미숙골(immature bone, woven bone)로 변화되는양상을 볼 수 있었고, 이러한 미숙골 중에 일부는 이미 망상골의 형태(trabecular pattern)를 갖추고 있는

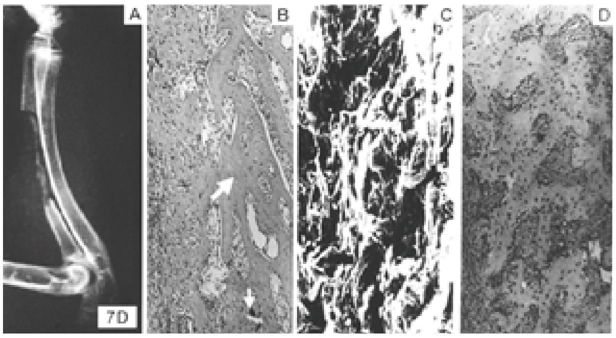

Fig 3. Findings at the seventh day after operation.
A; Simple roentgenograph showing increased obvious calcification in all areas of the grafted periosteum.
B; HE stain showing transformation of immature bones to mature lamellar bones(large arrow) and calcifications in some fields(small arrow) (x100).
C; SEM showing loss of collagen strand definition and replacement by sheets of mineralized collagen matrix (x3000).
D; Immunohistochemical study showing continuously increased osteocalcin reactivity.

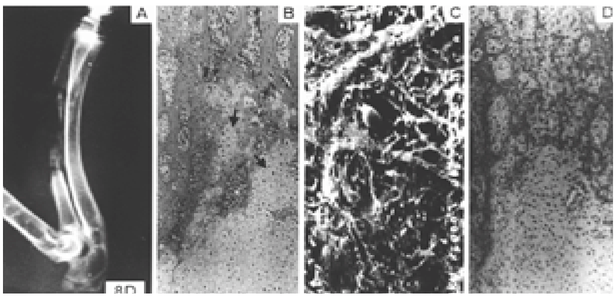

Fig 4. Findings at the eighth day after operation.
A; Simple roentgenograph showing further increased calcification.
B; HE stain showing new bone formation from cartilage tissue in many areas (arrows) (x100).
C; SEM showing more dense bone matrix by further mineralization (x3000).
D; Immunohistochemical study showing continuously increased osteocalcin reactivity.

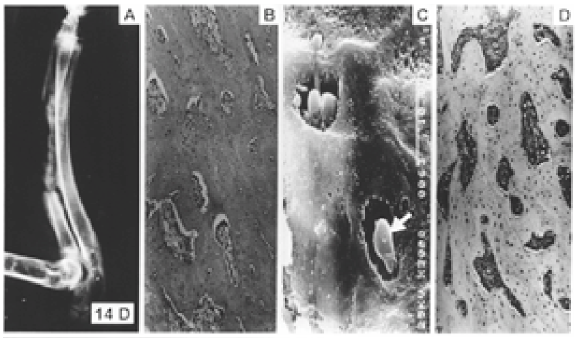

Fig 5. Findings at the fourteenth day after operation.
A; Simple roentgenograph showing further increased calcification.
B; HE stain showing plenty of mature lamellar bones in all fields (x100).
C; SEM showing dense bone matrix and the osteocyte(arrow) in lacuna as normal bone (x3000).
D; Immunohistochemical study showing increased osteocalcin reactivity.

것이 관찰되었다. 수술후 6일째에는 왕성한 신생골 형성의소견을 보였으나, 전체적으로는아직 미숙골의 형태를많이볼수있었고 , 수술후7일및 8일째에는미숙골이성숙골(mature bone, lamellar bone)로바뀌고있는소견이관찰되었는데, 세포외기질이풍부해지는소견과함께군데군데석회화소견도관찰되었으며(Fig. 3B), 일부 연골 조직에서 신생골 형성이 이루어지는 소견도 관찰되었다(Fig. 4B). 수술후 9일째의소견은거의대부분의미숙골이성숙골로바뀐소견을 볼 수 있었다. 수술후 10일째의 소견은 많은 양의성숙골을관찰할수있었으며수술후 11일째부터 14일까지는신생골의형성이 점점진행하여많은 부위에서 더욱 성숙한 골 형태로 변하는 것을 관찰할 수있었다(Fig. 5B).

3. 주사전자현미경적소견.

수술후 1, 2일째 채취한 조직에서는 수술 부위의 내부는신생골형성의증거는관찰되지않아, 수술후 2일까지는 신생골 형성이 아직 시작되지 않은 것을 관찰할수있었으나수술후 3일째부터는골모세포가 콜라겐(collagen)을 분비하기 시작하는 소견을 관찰할 수 있었다(Fig. 1C). 수술후 4일째에는 3일째보다 콜라겐의 분비가 약간 더 많아진 것을 관찰할 수 있었으며(Fig. 2C), 수술후 5일째에는 콜라겐의 침착(deposition)이좀더많아지면서구조가치밀해지는소견을볼수있었다 . 수술후6일째에는콜라겐섬유주위에무기질침착에의한석회화가진행되고있는소견이 많은 부위에서 관찰되었고, 수술후 7일째에는 콜라겐섬유주위에석회화가상당히진행되면서콜라겐섬유고유의형태가소멸되기시작하는것을관찰할 수 있었다(Fig. 3C). 수술후 8일째에는석회화된 콜라겐섬유가 더욱많아지면서치밀한구조를형성하는소견을볼수있었고 (Fig. 4C), 수술후9일째에는 석회화된 콜라겐의 일부에 골소강내에 위치하고 있는골세포(osteocyte)가처음으로관찰되었다. 그이후부터는석회화된콜라겐이점점더완전한형태의골기지리을형성하여수술후 13, 14일째에는골기질내에서골소강속에자리잡고있는골세포의모습을명확히관찰할수있었다(Fig. 5C).

4. 면역조직화학적소견.

항가토 osteocalcin 항체를 투여한 양성 대조군(positive control group)과 항체를 투여하지 않은 음성대조군(negative control group)의 면역조직화학적결과로볼때 , 수술부위에서의osteocal- cin은진한회색또는갈색으로염색되는것을알수있었다 .

수술후1, 2, 3일째채취한조직에서는osteocalcin의활성도가측정되지 않아 수술후 3일까지는 골모세포에의한신생골형성이아직시작되지않은것으로 사료된다(Fig. 1D). 그러나수술후4일째부터는osteocalcin이 골조직의간질(interstitial tissue)보다는골모세포의세포질내에서 염색되는 소견이나타나기시작하였다(Fig. 2D). 수술후 5일 이후부터는osteocalcin의 염색이더욱풍부해져서osteocalcin의활성도가계속증가되어있는양상을보였다(Fig. 3D-5D).

[대조군]

수술후 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16주째의 방사선사진상 신생골 형성의 증거는 전혀 보이지 않았고(Fig. 6A), 수

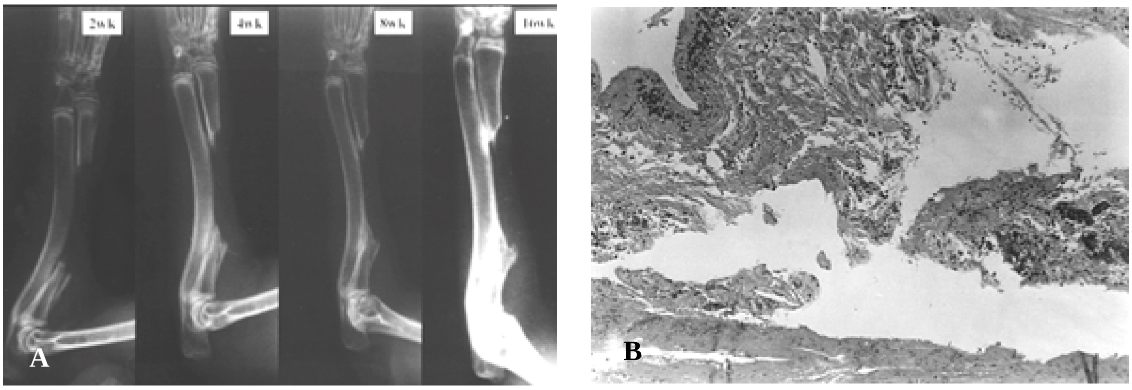

Fig 6. The results of control group.
A; Simple roentgenographs showing no evidence of new bone formation at 2, 4, 8, 16th week after operation.
B; HE stain showing no evidence of new bone formation at 16th week after operation (x 100).

술후 8주 및 16주째의 광학 현미경적 관찰에서도 새로운 골조직이 만들어지는 소견은 관찰되지 않았다(Fig. 6B).

고 찰

금세기에 골막 이식에 대한 결과는 200가지가 넘게 보고되었다. 이 보고들은 대개 단순 골막 이식(nonvascularized periosteal graft)에 대한 것이었으며, 주로 조류나 쥐 등에서 실험이 이루어졌다[8,9]. 최근에 개에서 시행된 생골막이식에 대한 결과가 보고되었으며, 이 실험의 결과로서 생골막 이식이 신생골 형성능력이 있다는 분명한 논리가 입증되었다[1,4,5].

Owen[15] 및 다른 연구자들[16]은 골막이 2개의 층즉, 외부의 섬유성 층과 내부의 세포층(cambium layer)으로 구성되어 있다고 하였으며, 이 세포층에서 골을 형성하는 원조세포(precursor)가 만들어진다고 설명하였다. 이 원조세포는 일정한 자극에 의해서 전구골모세포(preosteoblast)로 분화되고, 다시 골모세포(osteoblast) 그리고 골세포(osteocyte)로 분화한다고 하였다. 전체 혈액순환 내에 있는 미분화세포(undifferentiated cell)들도 적절한 자극에 의해 골형성 세포로 분화할 수 있다는 설명이 대두되고 있으나[3] 그 기전은 아직 정확히 밝혀지지 않았으며, 골막 신생골형성의 초기에는 그 역할이 미미한 것으로 알려져 있다[15,16].

본 실험은 그 결과를 주로 형태학적으로 관찰하였기 때문에 골모세포의 분화의 시작이나 신생골 형성의 정확한 시작 기점을 측정할 수 없었으나, 본 저자의 실험결과에 의하면 생골막이식과 유사한 조건에서는 신생골 형성이 방사선학적 및 조직학적으로는 수술후 4일째부터 시작되며, 주사 전자현미경적 소견에서는 수술후 3일째부터 organic collagen matrix의 분비와 뒤이은 무기질 침착 등의 신생골 형성의 시작이 관찰되었다. 이는 Canalis 등[6]의 실험결과와 유사한 소견을 보인다. 따라서 생골막 이식과 유사한 조건하에서의 신생골 형성은 수술후 제 3일째부터 시작되는 것으로 사료된다. 그 이후부터는 신생골 형성이 계속 진행되어 시간이 지남에 따라 새로 생긴 미숙골이 성숙골로 점차 변해 가는 과정을 관찰할 수 있었다. 또한 수술후 신생골 형성의 시작 기점을 osteocalcin에 대한 면역조직화학적 방법으로 분석한 결과 수술후 제 4일째되는 조직에서 osteocalcin이 검출되었으나 이때부터가 골원세포에 의한 신생골 형성의 시작이라고 단정하기는 어려우며 그 이유는 신생골형성이 시작하는 시기와 osteocalcin의 검출되는 시기와의 상관관계에 대한 정확한 연구가 아직 되어 있지 않기 때문이다.

이 실험에서 실험군의 단순방사선소견상 신생골

형성의초기소견이수술부위의척골측에서관찰되는것을볼수 있었는데, 이는수술 부위골막의척골측이 절개 및 봉합을 하지 않은 건강한 부위이며 또한요골과척골사이로동맥이주행하면서골막에혈액을공급하기때문에골막의 척골측에혈액공급이 왕성하여, 골막의척골측에서신생골형성이먼저시작되는것으로사료된다. 또한생골막이식과유사한 조건에서의 신생골형성에대한 광학현미경소견상 막내골화 및 연골내 골화의 소견을 모두 관찰할 수 있었는데이는신생골형성에있어서이들두종류의 골화 과정이 모두 신생골 형성에 기여하며, 생골막 이식 부위 주위의 여러 요소(factor)에 의해 결정되는 것으로사료된다.

이실험중면역조직화학적방법의 실험과정에서 조직을 일단 paraffin에 고정한 후 다시 탈석회화(decalcification) 과정을거친후실험하였기때문에, 이 탈석회화 과정에서 골조직의 간질에 존재하는 osteocalcin의 손실이 있어, 간질에서의 osteocalcin의 염색은드물게나타난반면에 골모세포내에서는비교적 osteocalcin의 손실이 적어 염색이 잘 되었던 것으로사료된다. 따라서앞으로의실험에서는채취한 조직을탈석회화과정을거치지않고바로 osteocalcin에대한면역조직화학적실험을시행한다면좀더정확한결과를얻을수있을것이다.

최근에는 인간이나 동물의 골수로부터 간엽 세포(mesenchymal stem cell)를분리할수있는방법이개발되었고[10,12,14,17], 또한 이렇게 얻은 간엽 세포를 골원세포(osteogenic cell)로 분화시킬수있는 방법이보고되고 있다[10,11,12,13]. 이러한 방법을 응용하여 생골막 이식과함께배양된간엽세포를주입했을때신생골 형성이얼마나빠르게, 그리고어떠한형태로일어나는지 관찰하는 것도 좋은 연구 대상이며, 아울러 신생골 형성을 촉진하는 것으로 알려진 물질, 즉 골유도(osteo-induction) 또는 골전도(osteo-conduction) 물질을생골막이식부위에주입하여그변화를관찰하는 것도 신생골 형성에 대한 연구에 많은 도움이 될 수 있을것이다. 그리고앞으로분자생물학적인분석방법을이용하여, 생골막이식에의한신생골형성에서의 골모세포 분화의 시작과 과정, 그리고 신생골 형성의정확한 시작기점을 알수 있다면더욱 가치있는자료가될것으로사료된다.

요 약

일정 범위의 골 결손 치료에 혈관 부착 골막만을 이식하는 생골막 이식 방법이 가능한가를 검증하기 위하여 실험적으로 28마리의 가토 양측 요골 간부를 대상으로골결손에대한생골막이식과유사한환경을 만든 후 시간이 경과함에 따라 수술 부위의 조기 변화를방사선학적, 광학현미경적, 전자현미경적및 면역조직화학적 방법으로 관찰하여 다음과 같은 결과를얻었다.

대조군에서는방사선사진상이나, 광학현미경적 관찰에서 새로운 골조직이 만들어지는 소견은 전혀 관찰되지않았다.

실험군에서는단순방사선사진상수술후제 4일째부터신생골형성시작의소견이이식된골막의척골측에서관찰되었으며그이후시간이경과함에따라신생골형성이더욱왕성하게일어나는소견을보였다. 조직학적소견에서는광학현미경소견상수술후 제 4일째부터 신생골 형성의 시작 소견을 관찰할 수있었고, 시간이지남에따라미성숙골이성숙골로 변화하는모습을관찰할수있었다. 주사전자현미경적 소견에서는 수술후제 3일째에신생골형성의 시작 소견이 관찰되었고, 그 이후에는 콜라겐 섬유에 석회화가 진행되고 그 구조가 치밀해지면서 골기질을 형성하여 수술후 13, 14일째에는 골기질 내에서 골소강 속에자리잡고있는 골세포의 모습이명확히 관찰되었다. 면역조직화학적 소견에서는 수술후 제 4일째부터 osteocalcin이 염색되는 소견이 나타나기 시작하였으며시간이 지남에따라 osteocalcin의 염색의정도가강해졌다.

이러한 결과를 볼 때, 생골막 이식과 유사한 환경하에서는 신생골의 형성이 조기에 빠르게 진행되는 것을 알 수 있으며, 이러한 특징을 이용하여 골결손 부위에 생골막 이식을 시행함으로써 공여부의 합병증을줄이고신생골형성을촉진하여이환기간을단축시켜환자를 정상적인생활로빨리복귀하도록도움을 줄 수 있을 것으로 생각되며, 정형외과 영역에서 혈관부착 생골막이식 수술이 골 결손치료에 또 하나의해결책을제시할수있을것으로사료된다.

REFERENCE

1) **Burstein FD and Canalis RF** : Studies on the osteogenesis potential of vascularized periosteum: Behavior of periosteal flaps transferred onto soft tissues. *Otolaryngol Head Neck Surg* 93: 731-735, 1985.
2) **Burstein FD, Canalis RF, Canalis EM and Ariyan S** : Scanning electron microscopy and gel electrophoresis of vascularized periosteal autografts. *Plast Reconstr Surg* 83(3): 500-510, 1989.
3) **Canalis E** : The hormonal and local regulation of bone formation. *Endocrinol Rev* 4: 62-77, 1983.
4) **Canalis RF** : Further obsevations on the fate of pedicle osteocutaneous grafts. *Otolaryngol Head Neck Surg* 87: 763-767, 1979.
5) **Canalis RF and Burstein FD** : Osteogenesis in vascularized periosteum. Interactions with underlying bone. *Arch Otolaryngol* 111: 511-516, 1985.
6) **Canalis RF, Burstein FD, Dickman P and Berke G** : Early structural changes in vascularized periosteal flaps studied in situ. *Am J Otolaryngol* 12: 90-95, 1991.
7) **Canalis RF, Hemenway WG and Ward PH** : Role of periosteum on the fate of pedicle osteocutaneous grafts. *Ann Otol* 88: 642-648, 1979.
8) **Davis JS and Hunnicutt JA** : The osteogenic power of periosteum: With a note on bone transplantation: An experimental study. *Ann Surg* 61: 672-678, 1915.
9) **Fell HB** : The osteogenic capacity in vitro of periosteum and endosteum isolated from the limb skeleton of fowl embryos and young chicks. *J Anat* 66: 157-180, 1932.
10) **Haynesworth SE, Goshima J, Goldberg VM and Caplan AI** : Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. Bone 13: 81-88, 1992.
11) **Jaiswal N, Haynesworth SE, Caplan AI and Bruder SP** : Osteogenic differentiation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells in vitro. J Cell Biochem 64: 295-312, 1997.
12) **Kadiyala S, Jaiswal N and Bruder SP** : Culture-expanded, bone marrow-derived mesenchymal stem cells can regenerate a critical-sized segmental bone defect. *Tissue Eng* 3: 173-185, 1997.
13) **Kadiyala S, Young RG, Thiede MA and Bruder SP** : Culture-expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro. Cell Transplant 6: 125-134, 1997.
14) **Lennon DP, Haynesworth SE, Bruder SP, Jaiwal N and Caplan AI** : Development of a serum screen for mesenchymal progenitor cells from bone marrow. In Vitro Cell Dev Biol 32: 602-611, 1996.
15) **Owen M** : Histogenesis of bone cells. *Calcif Tissue Res* 25: 205-207, 1978.
16) **Tonna EA and Cronkite EP** : An autoradiographic study of periosteal cell proliferation with tritiated thymidine. *Lab Invest* 11: 455-462, 1962.
17) **Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, Young RG, Mansour JM, Caplan AI and Goldberg VM** : Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg* [Am] 76: 579-592, 1994.