대한정형외과학회지 제25권 제4호
J. of Korean Orthop. Assoc.
Vol. 25, No. 4, August 1990

골격근과 망막을 이용한 말초신경 재건술에 관한 실험적 연구*

중앙대학교 의과대학 정형외과학교실, 병리학교실*

전재명 · 안병우 · 송계용* · 이상엽 · 이봉진

=Abstract=

Experimental Study for Peripheral Nerve Reconstruction using Skeletal Muscle and Omentum※

Jae Myeung Chun, M.D., Byung Woo Ahn, M.D., Gye Yong Song, M.D.*, Sang Youp Lee, M.D. and Bong Jin Lee, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery and Pathology, Medical School, Chung-Ang University*

The experimental study for peripheral nerve reconstruction was performed using degenerated skeletal muscle and omentum. At the sciatic nerves of 26 rabbits, about 10mm gaps were made under ketamine anesthesia. Degenerated skeletal muscles were made through the procedure of freezing with liquid nitrogen and thawing in distilled water. And omenta were taken through midline abdominal incisions. On 14 rabbits of experimental group, the nerves were connected with the degenerated skeletal muscles and surrounded with the omenta. On 6 rabbits of control group, the nerve gaps were connected with the degenerated skeletal muscles without surrounding with the omenta. And the other 6 rabbits of control group, the gaps were lets without further treatment. After 3, 6, 9 and 12 weeks, the results were compared using light microscope and transmission electron microscope. There were contractions and fragmentations at the skeletal muscles during the freezing and thawing. There were nerve regenerations through the degenerated skeletal muscles. The nerve tissues of the experimental group were more abundant than the control group using the degenerated skeletal muscles only.

Key Words: Nerve Reconstruction, Skeletal muscle, Omentum.

서 론

말초신경 손상에 대한 치료방법은 그 손상의 성상과 정도, 주변조직의 상태, 전신상태, 병원의 시설, 술자의 능력등에 의해 그 치료방침이 정해진다. 최근 일차적 신경 봉합술이 점차 많아지면서 이차적인 단축으로 인하여 신경간극(nerve gap)이 발생되는 예는 빈도가 줄어드는 경향이 있다. 그러나 심한 손상에 의한 신경실질의 상실이 있거나 일차적 신경 봉합술을 수행하지 못한 경우등에서는 신경간극이 발생할 수 있다. 이렇게 발생한 신경간극에 대한 해결방법으로는 대체적으로 nerve mobilization, joint position, bone shortening, nerve graft등이 있었으며, 최근에는 주로 신경이식술 (nerve graft)의 방법으로 해결하려 하는 경향이 있었다. 그러나 이러한 신경이식술은 공여부의 손상을 가져오고, 크기가 부적합한 경우가 있으며, 충분한 양을 얻기가 힘든 경우도 있었다[3,13]. 이에 최근 여러 학자들에 의해 nerve conduit에 대한 연구가 있어 왔다. 1986년에 Fawcett와 Keynes, Glasby와 Gschmeissner등, 1988년에 Gattuso와 Davies등과 Norris와 Glasby등은 골격근을 특수

*본 연구는 1989년도 문교부 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.
※본 논문의 요지는 제 282차 월례집담회에서 발표되었음.

하게 처리하여 nerve conduit로 사용한 연구를 보고하였다[3,4,5,6,7,15]. 또한 1965년에 Vineberg와 Shanks등이 심근경색 (myocardial infarction) 부위에 유리망막 (free omentum)을 이식하여 혈관이 재생되는 사실을 보고하였으며 최근 방사선조사 후에 발생한 신경염 (radiation neuritis)에 망막을 사용하여 좋은 효과를 얻은 보고가 있었다[17,19]. 이에 저자들은 골격근을 처리하여 nerve conduit로 사용한 후에 이를 망막으로 둘러싸는 술식이 신경재생에 좋은 환경을 제공할 것으로 생각되어 가토를 이용한 실험을 시행하여 그 결과를 보고하고자 한다.

연구재료 및 방법

1) 연구재료

약 2.5kg 전후의 30마리 성숙가토를 일주일 동안 같은 환경 아래에서 사육하여 적응기간을 거친후에 살아남은 26마리의 가토를 사용하여 실험하였다. 골격근과 망막을 사용한 14마리를 실험군으로 하고 골격근만을 사용한 6마리와 절제술 만을 시행한 6마리를 대조군으로 하였다.

2) 연구방법

모두 ketamin을 정맥주사하여 마취하였으며 하지의 종절개를 통하여 좌골신경을 노출하여 약10mm의 간극을 만든 후에 실험군은 슬괵근 (hamstring muscle)과 망막을 사용하여 재건하였다. 슬괵근은 좌골신경을 노출한 절개부위를 통하여 근육의 일부를 채취하여 액화질소로 냉동시킨 후 증류수로 녹였으며 그후 약 5분간 생리적 식염수를 적신 gauze에 싸서 처리하였다. 망막은 복부의 정중앙을 종절개하여 채취하였다. 신경조직과 골격근의 근섬유의 방향을 평행으로 처리된 골격근을 신경간극에 삽입하고 그 양끝을 단속봉합하였고 망막으로 그 골격근 및 신경의 양끝을 싸서 연속봉합 하였다 (Fig. 1, 2). 이에 사용한 봉합사는 모두 Ethicon사의 8-0 nylon을 사용하였다. 골격근만을 사용한 대조군의 경우에도 망막의 사용을 제외하고는 실험군과 동일한 방법으로 봉합하였다. 절제술만을 시행한 대조군은 단순히 좌골신경을 약 10mm를 절제하였다. 실험군과 대조군 모두 피부봉합은 4-0 silk로 단속봉합 하였으며 술후 삼일동안 cephalosporin계열의 항생제를 근주하였다.

3) 결과분석

실험결과의 분석은 광학 현미경 검사를 위해 술후 3주, 6주, 9주, 12주에 실험군을 3마리씩, 골격근만을 사용한 대조군을 1마리씩, 그리고 절제술을 시행한 대조군을 1마리씩 희생시켜 표본을 작성하였다. 또한 전자현미경 검사를 위해 6주와 12주에 실험군을 1마리씩, 골격근만을 사용한 대조군을 1마리씩, 그리고 절제술을 이행한 대조군을 1마리씩 희생시켜서 표본을 작성하였다. 표본을 채취할 때에는 신경봉합 및 절제부위를 노출하여 실험군은 골격근 및 망막을 포함한 신경근위부와 원위부를 모두 채취하였으며 이중에서 이식부위 및 원위부위를 따로 표본 제작하였다. 골격근 만을 사용한 대조군에서도 이와 같은 방법으로 표본을 제작하였다. 절제술을 행한 대조군에서는 근위부와 신경종 부위와 원위부를 따로 표본 제작하였다. 광학현미경을 위한 표본은 채취 즉시 neutral formalin에 고정한 후 탈수와 투명화 과정을 거친 후에 파리핀에 포매하였다. 포매한 표

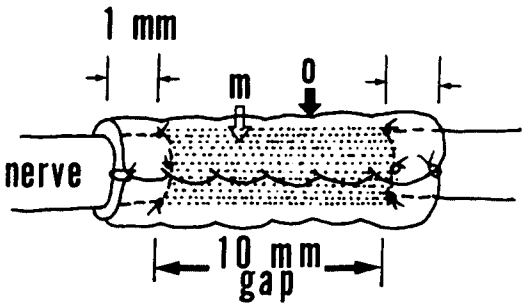

Fig. 1. Diagram of graft model. The nerve gap was connected with the degenerated skeletal muscle and surrounded by the omentum. The gap was 10 mm. The 1 mm of both ends of nerve and the degenerated skeletal muscle were surrounded by the omentum. (m ; muscle, o ; omentum).

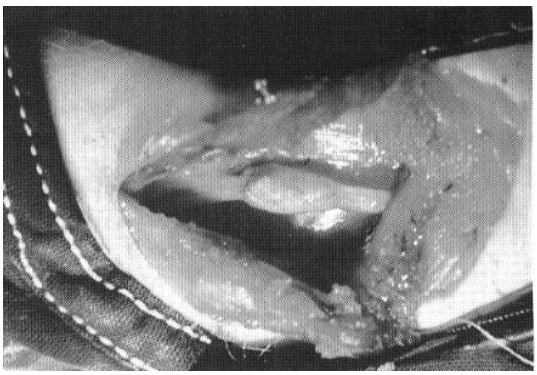

Fig. 2. Immediate postoperative findings of the experimental group.

본은, 실험군은 신경장축에 평행 및 수직으로, 대조군들은 신경장축에 수직방향으로, 5 micron 두께로 박절한 다음 hematoxylin-eosin염색 및 Bodian염색을 하였다. 또한 전자 현미경관찰을 위한 표본은 표본을 채취한 즉시 1×1×1mm 크기로 잘라 즉시 glutaraldehyde에 2-5시간동안 전고정하고 osmic acid에 후고정한 후 탈수과정을 거쳐 propylene oxide으로 처리하고 epon혼합물에 포매한 후, 1micron두께로 박절하여 toluidine blue염색을 한 뒤에 이를 광학현미경으로 관찰하여 수초 (myelin sheath)를 관찰하고 전자 현미경으로 관찰할 부위를 정하여 uranyl acetate와 lead acetate로 이중 염색하여 투과 전자 현미경으로 검사하였다.

결 과

실험도중에 사망한 동물은 없었으며 근육을 액화질소로 얼렸다가 중류수로 녹이는 처리과정에서 근육의 수축 (contraction)과 분절현상 (fragmentation)이 발생하는 것을 관찰할 수 있었다. 표본작성시의 육안소견에는 실험군과 골격근만을 사용한 대조군 모두에서 신경이 연결되어 있는 소견이 발견되었다 (Fig. 3). 광학현미경 소견에 절제술만을 한 대조군의 원위부위에서는 섬유조직의 증식, 공포의 형성등을 포함한 퇴행성 변화가 뚜렷하였다 (Fig. 4). 술후 12주까지의 H-E염색과 Bodian염색의 광학현미경 소견에서 골격근만을 사용한 대조군과 골격근과 망막을 사용한 실험군의 두군에서 모두 원위부에 새로이 자란 축색돌기 (axon)로 생각되는 조직이 보였으며, 이 두군중에서도 골격근과 망막을 사용한 실험군이 골격근만을 사용한 대조군보다 조밀한 신경조직의 재생을 나타내었으며 (Fig. 5~8), toluidine blue염색의 광학현미경 소견에서 골격근과 망막을 사용한

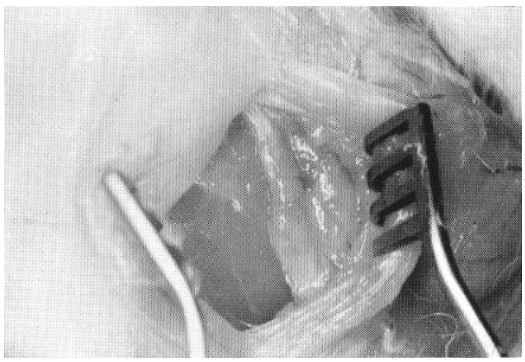

Fig. 3. Gross findings after 12 weeks of the experimental group.

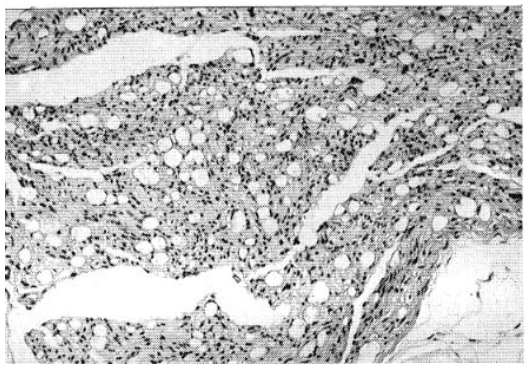

Fig. 4. Light microscopic findings of the distal portion of the resection group after 9 weeks. There was Wallerian degeneration including fibrosis and vacuolization. (Hematoxylin-eosin stain, ×200).

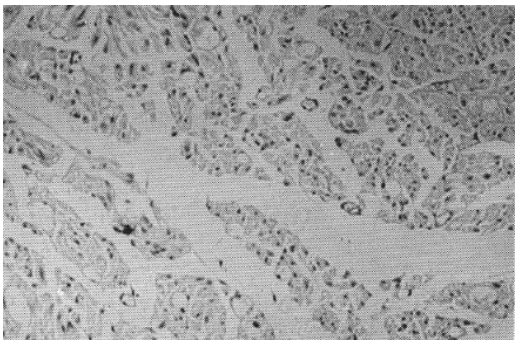

Fig. 5. Light microscopic findings of the distal portion of the control group using degenerated skeletal muscle only after 12 weeks. There were regenerating nerve fibers (Hematoxylin-eosin stain, ×200).

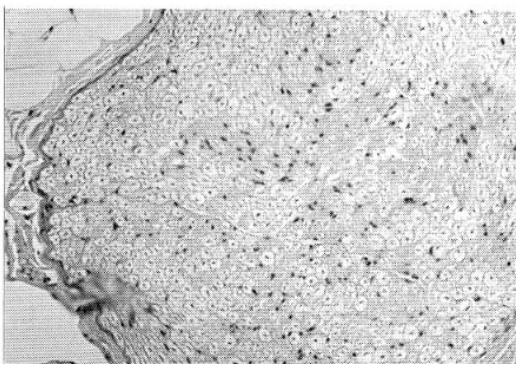

Fig. 6. Light microscopic findings of the distal portion of the experimental group after 12 weeks. There were regenerating nerve fibers. The fibers were more abundant and compact than Figure 4 (Hematoxylin-eosin stain, ×200).

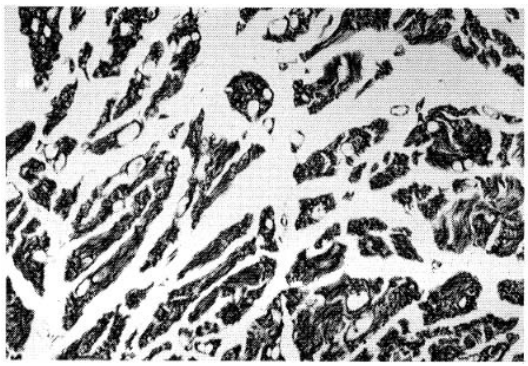

Fig. 7. Light microscopic findings of the distal portion of the control group using degenerated skeletal muscle only after 12 weeks. There were regenerating nerve fibers (Bodian stain, ×200).

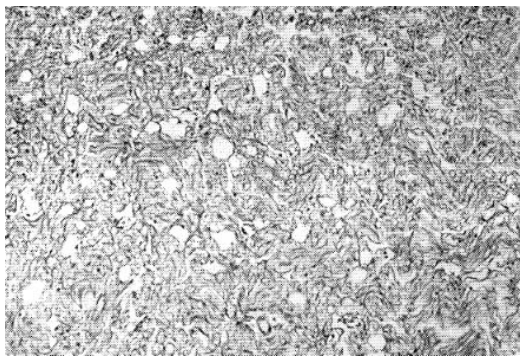

Fig. 8. Light microscopic findings of the distal portion of the experimental group afer 12 weeks. The nerve tissues were more abundant and compact than Figure 6 (Bodian stain, × 200).

실험군과 골격근만을 사용한 대조군에서 모두 원위부의 수초의 존재가 확인되었다 (Fig. 9). 또한 축색돌기의 존재를 보다 명확히 하기위해 시행한 전자 현미경 소견에서 골격근과 망막을 사용한 실험군의 6주째의 원위부에서 슈반세포 (Schwann cell), 유수섬유 (myelinated nerve fiber), 무수섬유 (unmyelinated nerve fiber), 축색돌기등이 확인되었으며(Fig. 10), 12주째에는 골격근과 망막을 사용한 실험군과. 골격근만을 사용한 대조군의 이식부위 및 원위부에서 모두 슈반세포, 유수섬유, 무수섬유, 축색돌기등이 확인되었다 (Fig. 11).

고 찰

최근 신경간극에 대한 치료의 한 종류로써

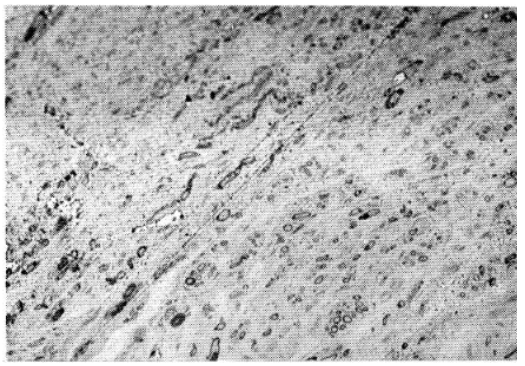

Fig. 9. Light microscopic findings of the graft portion of the experomental group after 12 weeks. There were numerous regenerating myelin sheaths (Toluidine blue stain, ×200).

여러 학자들에 의하여 nerve conduit에 대한 연구가 있어 왔다. 이러한 nerve conduit는 모양과 크기를 쉽게 선택할 수 있고 보관이 가능하다는 장점이 있을 수 있다[3]. Nerve conduit에 대한 연구들을 역사적으로 살펴보면 골조직, 동맥, 정맥, 밀짚, silicon chamber, pseudosynovial sheath, polyglactan tube, polyglycolic acid tube등이 발표되었으며[1,2,10,14,16]. 1986년 Fawcett와 keynes, Glasby와 Gschmeissner등이 골격근을 nerve conduit로 사용한 실험을 보고하였다[3,5,6,7].

Ide Tohyama등에 의하면 신경재생은 슈반세포의 기저막 (Schwann cell basal lamina)만 있어도 일어난다고 보고하였다[11]. 이러한 기저막은 산소를 필요로 하는 세포가 없기 때문에 혈관이 미처 자라 들어가지 않은 조건에서도 신경재생의 conduit로 쓰일 수 있음을 시사하였다[3,11]. 이에 1986년 Fawcett와 Keynes, Glasby와 Gschmeissner등이 골격근의 기저막을 신경재생에 이용하는 실험을 시행하여 발표하였으며[3,5,6,7], 1988년에는 Norris와 Glasby등에 의해 인체의 적용이 발표되기에 이르렀다[15]. 본 실험에서도 골격근을 처리하여 신경재생에 이용한 대조군에서 신경재생이 일어나는 사실을 확인할 수 있었다. 또한 그간 발표되어온 골격근 처리방법은 여러가지 있으나 본 실험에서는 이들 중에서 비교적 간편하다고 생각된 Gattuso와 Davies등의 방법에 준하여 단순한 액화질소로 얼렸다 증류수로 녹이는 과정만으로 실험한 결과 이러한 방법으로 처리된 골격근도 nerve conduit로 사용되어질 수 있음이 확인되어 임상에서 사용하기가 보다 용이할 것으로 생각되

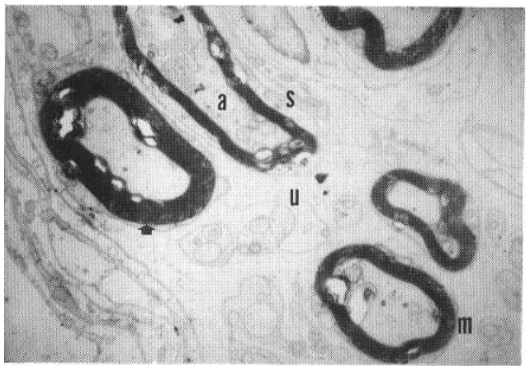

Fig. 10. Transmission electron microscopic findings at the distal portion of the experimental group after 6 weeks. There were Schwann cells, myelinated nerve fibers, unmyelinated nerve fibers and axons(a;axon, m;myelinated nerve fiber, u;unmyelinated nerve fiber, s: Schwann cell, arrow;myelin sheath, ×400).

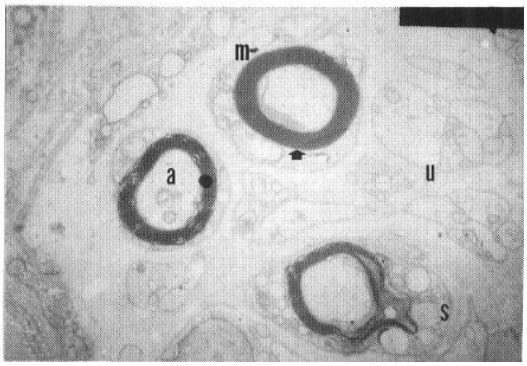

Fig. 11. Transmission electron microscopic findings at the graft portion of the experimental group after 12 weeks. There were Schwann cells, myelinated nerve fibers, unmyelinated nerve fibers and axons (a;axon, m; myelinated nerve fiber, u;unmyelinated nerve fiber, s: Schwann cell, arrow;muelin sheath, ×500).

었다[4].

망막은 1965년 Vineberg와 Shanks등이 심근경색의 치료에 사용하여 혈관의 재생을 보고하였으며 그 이후 많은 학자에 의하여 여러 질환에 대한 연구보고가 있어 왔다[8,9,18,19]. 또한 방사선 조사에 의해 발생한 동통을 동반한 신경염에 망막을 이용하여 좋은 효과를 보았다는 보고가 있었으나 그 기전은 확실하지는 않았다[17].

이상적인 nerve conduit로는 얻기쉽고, 생체내 흡수가 용이하고, 항원발현성 (antigenicity)이 없거나 적고, 쉽게 혈관이 생성될 수 있으며, 산소운반이 잘되는 것이어야 한다[3,13,14]. 이러한 여건에 처리된 골격근 (degenerated skeletal muscle)과 망막이 모두 부합된다고 생각되었으며 골격근을 둘러싸고 cuff로 망막을 사용하여 보다 신경재생에 좋은 효과를 얻으려고 하였다. cuff의 사용은 축색돌기가 제방향이 아닌 다른 방향으로 자라들어 가는 것을 막고 주변조직에서의 섬유조직의 증식을 제한하는 작용이 있을 것으로 기대되며 neuronotrophic factor의 누출을 방지하는 역할이 있을 것으로 사료된다[1,12]. 따라서 cuff가 없을 때 보다 있을 때에 더욱 신경재생이 원활할 것으로 생각되어지며 본 실험의 결과를 미루어 보아 이러한 방법이 신경재생에 유용할 가능성이 높다고 사료된다. 또한 이렇게 골격근을 처리하여 사용하면 신경의 모양이나 크기를 자유로이 재건할 수 있을 것으로 생각되며 가는 굵기의 감각신경을 여러가닥 사용하는 통상의 신경이식술 보다 술식이 쉬울 것으로 판단한다[3]. 그러나 이러한 방법을 환자에게 적용시키기 위해서는 보다 많은 연구가 필요하리라고 생각된다.

본 실험에서 골격근을 액화질소로 얼린후에 다시 증류수로 녹이는 과정에서 근육의 수축과 분절현상이 일어나는 것이 관찰되었다. 이 중에서 수축에 대해서는 문헌에 기술되어 있는 바를 찾을 수 없었으나 분절현상에 대해서는 Fawcett와 Keynes에 의해서 기술되었다[3]. 그러나 이에 대해 Gattuso와 Davies등은 근상막(epimysium)을 같이 떼어내어 사용하면 분절현상이 거의 없다고 하였다[4]. 본 실험에서도 근상막이 한쪽에 붙어있는 상태로 근육을 떼어 처리하였으나 근섬유에 미세한 분절현상이 일어나는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 이러한 분절현상이 봉합술을 하지 못할 정도로 심하지는 않았다. 또한 본 실험결과로 미루어 보아 이러한 수축과 분절현상이 신경재생을 크게 저해하지는 않는 것으로 생각되었다.

요 약

가토의 좌골신경에 신경간극을 만들고, 이 사이에 액화질소로 얼려서 증류수로 녹인 골격근을 이식하고, 이 이식 부위를 다시 망막으로 둘러싸는 방법으로 말초신경을 재건하는 실험을 시행하였으며 그 결과로 미루어 보다 다음과 같은 결론을 얻었다. 골격근을 액화질소와 증류수로 처리하는 과정에서 근육의 수축과 분

절현상이 관찰되었다. 이렇게 처리된 골격근을 통해 신경의 재생이 일어나는 것이 확인되었다. 처리한 골격근을 이식하고 그 겉을 다시 망막으로 둘러싼 경우에 신경의 재생이 보다 더 잘 일어나는 경향이 있는 것으로 생각되었다.

REFERENCES

1) 박명욱, 이윤호, 김진환:정맥이식을 이용한 신경재생의 실험적 연구. 대한성형외과학회지, *12:1-8, 1985.*

2) Chiu, D.T.W., Janeka, I., Karizek, T.J., Wolff, M. and Lovelace, R.E.:*Autogenous vein graft as a conduit for nerve regeneration. Surgery, 91:226-233, 1982.*

3) Fawcett, J.W. and Keynes, R.J.:*Muscle basal lamina: a new graft meterial for peripheral nerve repair. J. Neurosurg., 65:354-363, 1986.*

4) Gattuso, J.M., Davies, A.H., Glasby, M.A., Gschmissner, S.E. and Huang, C.L-H.:*Peripheral nerve repair using muscle autografts. Recovery of transmission in primates. J. Bone and Joint Surg., 70-B:524-529, 1988.*

5) Glasby, M.A., Gschmeissner, S., Hitchcock, R.J.I. and Huang, C.L-H.:*Regeneration of the sciatic nerve in rats. J. Bone and Joint Surg., 68-B:829-833, 1986.*

6) Glasby, M.A., Gschmeissner, S.E., Huang, C.L-H. and De Souza, B.A.:*Degenerated muscle grafts used for peripheral nerve repair in primates. J. Hand Surg., 11-B:347-351, 1986.*

7) Glasby, M.A., Gscchmeissner, S.G., Hitchcock, R.J.I. and Huang, C.L-H.:*The dependence of nerve regeneration through muscle grafts in the rat on the avilability and orientation of basement membrane. J. Neurocytology, 15:497-510, 1986.*

8) Goldsmith, H.S. : *Long term evaluation of omental transposition for chronic lymphedema. Ann. Surg., 180:847-849, 1974.*

9) Goldsmith, H.S., Duckett, S. and Chen, W-F.:*Spinal cord vascularization by intact omentum. Am. J. Surg., 129:262-265, 1975.*

10) Guadros, C.L. and Granatia, C.E.:*Nerve regeneration through a synthetic microporous tube (expanded polytetrafluoroethylene): experimental study in the sciatic nerve of the rat. Microsurgery, 33:41-46, 1987.*

11) Ide, C., Tohyama, K., Yokota, R., Nitatori, T. and Onodera, S. : *Schwann cell basal lamina and nerve regeneration. Brain Research, 288:61-756, 1983.*

12) Lundborg, G.:*Nerve regeneration and repair. A review. Acta Orthop. Scand., 58:145-169, 1987.*

13) Mackinnon, S.E. and Dellon, A.L.:*A comparison of nerve regeneration across a sural nerve graft and a vascularized pseudosheath. J. Hand Surg., 13A:935-942, 1988.*

14) Mackinnon, S.E. and Dellon, A.L.:*Surgery of the peripheral nerve. 1st ed. pp. 551-574, New York, Thieme Medical Publishers, Inc., 1988.*

15) Norris, R.W., Glasby, M.A., Gattuso, J.M. and Bowded, R.E.M.:*Peripheral nerve repair in humans using muscle autografts. A new technique. J. Bone and Joint Surg., 70-B:530-533, 1988.*

16) Seckell, B.R., Chiu, T.H., Nyilas, E. and Sidman, R.L.:*Nerve regeneration through synthetic biodegradable nerve guides: regulation by the target organ. Plastic and reconstructive surgery, 74:173-182, 1984.*

17) Terzis, J.K.:*Microreconstruction of nerve injuries. 1st ed., pp. 455-462, 1987.*

18) Yasagil, M.G., Yonekawa, Y., Denton, I., Piroth, D. and Benes, I.:*Experimental intracranial transplantation of autogenic omentum majus. J. Neurosurg., 39:213-217, 1974.*

19) Vineberg, A.M., Shanks, J., Pifarre, R., Criollos, R., Kato, Y. and Baichwal, K.S.:*Myocardial revascularizaion by omental graft without pedicle: experimental background and report on 25 cases followed 6 to 16 months. J. Thoraic and cardiovascular surg., 49:103-127, 1965.*