

토끼 기관에 이식한 혈행성 연골막-구강점막 복합피판의 형태학적 연구 : II. 전자현미경적 연구

분당차병원·이비인후과

김 은 서

= Abstract =

Morphologic Study on a Vascularized Composite Flap for Tracheal Reconstruction in Rabbit : II. Electronmicroscopic study

Eun-Seo Kim M.D.

Department of Otorhinolaryngology, Pundang Cha General Hospital, Sunghnam, Korea

Successful regeneration of a cartilage framework using perichondrium has been reported by several authors but there are some arguments surrounding mucosal regeneration. And ciliary regeneration has been considered as one of the most important factor in reestablishment of respiratory physiology.

This study was designed to investigate the differences, especially in ciliary regeneration, between nonvascularized and vascularized flaps. A morphologic study was carried out to determine the process and outcome of ciliary regeneration in the grafted mucosa at regular intervals under scanning electronmicroscopy. A nonvascularized perichondrial-mucosal composite flap with the same dimension was transferred in the control group.

On scanning electronmicroscopic examination, ciliary regeneration was earlier and more complete than in the experimental group. In the control group, immature cilia were partially present even after 6 weeks but in the experimental group, thin, irregularly protruded cilia were regenerated at 4 weeks.

Ciliary regeneration in the experimental group was superior to the control group in terms of degree and quality. In conclusion, maintenance of vascularization is essential to successful regeneration of grafted mucosa and cilia with good quality.

KEY WORDS : Ciliary regeneration · Perichondrial-mucosal composite flap · Vascularized flap

서 론

안정되고 유연한 구조적인 연골 골격과 함께 호흡상피로 피복되는 기관점막이라고 할 수 있다. 1970년대초에는 기관의 결손부에 유리이 기도협착의 치료에 있어 필수적인 조건은

토끼의 연골막에 연골생성능이 있음이 실험적으로 입증되었다²³⁾. 그 이후에도 연골막을 이용한 여러 실험적 보고^{20,24)}와 적 시도⁴⁾ 등이 진행되어 왔다. 최근에는 미혈관수술의 급속한 발전에 힘입어 혈행성을 이용한 연구들이 활발히 보고되고 있다. 그러나 상기의 견해들은 모두 점막의 복원 재생이 시기별로 어떻게 일어나는지를 확명하지는 못했는데, 특히 기관재건에 된 피관의 구성상태에 따라, 이식된 점막 복원 및 재생과정에 어떤 차이가 있는지를 하는 것은 매우 의의있고 중요한 문제라고 된다. 이를 위해 저자는 광학현미경적 연통해 피관의 상태에 따른 이식점막의 운 및 기관 내막의 재건과정을 연구한 바 있다¹²⁾ 이어서 기관내강을 피복하는 점막상피 세포 재생과정을 주사전자현미경적 연구를 규명하고자 하였다. 이를 위해 동, 정맥 경을 가진 연골막에 구강점막을 봉합하

여 점막의 재혈행화를 시도한 경우를 실험군으로 하였으며, 혈관경이 없이 복합피관을 유리이식한 경우를 대조군으로 하여, 내강 표면 섬모의 재생과정을 살펴보았다.

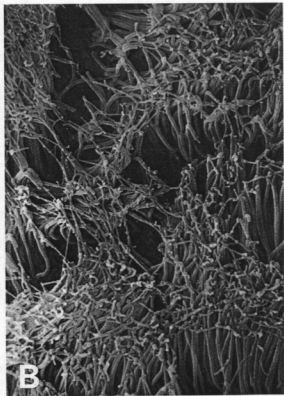
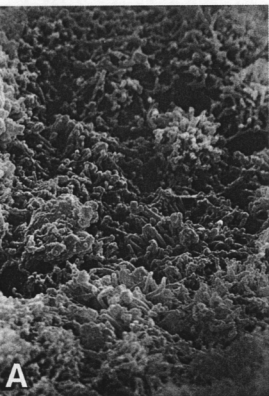
재료 및 방법

1. 실험동물

체중 2.5~3 Kg의 성숙한 토끼를 암수 구별 없이 사용하였다. 토끼는 동물실의 환경에 적응할 수 있도록 1주일 이상을 사육한 후 실험에 사용하였으며 실험전 최소한 12시간 이상의 공복을 유지하도록 하였다. 18마리를 실험군 및 대조군의 두 군으로 나누어 각 군당 9마리씩으로 하였다.

2. 방 법

혈행성 (vascularized) 및 비혈행성 복합피관



1. Scanning electronmicroscopic finding of tracheal mucosa 4 weeks after graft. A: control group. B: experimental group ($\times 5,000$).

(nonvascularized composite flap)의 이식에 따른 피판의 도안, 실험방법, 수술 전후의 처치는 이전에 시행한 저자의 연구방법²⁾과 동일하였다.

피판의 이식 후 4주, 6주, 8주가 경과하였을 때 각 시기마다 한 군당 3 마리씩의 토끼를 대상으로 연구를 진행하였다. 주사전자현미경 검색에 필요한 조직절편을 4°C에서 2.5% glutaraldehyde에 4 내지 6시간 고정시킨다음 0.1 M phosphate buffer saline (PBS)으로 세척하였다. 1% osmium tetroxide에 1시간동안 후고정한 후 금방 만들어 여과한 2% tannic acid에서 하룻밤 동안 반응시키고, 다시 1% OsO₄에 30분간 후고정하였다. 60%, 70%, 80%, 90% ethanol 및 pure ethanol로 탈수시킨 후 isoamyl acetate로 처리하였으며 critical point drying을 거쳐 300 m의 두께로 gold coating하여, 결손부에 피복되는 상피세포의 내강표면에서 섬모의 재건과정을 입체적으로 관찰하였다.

결 과

이식 후 4주 경과된 대조군의 경우, 피복 상피세포는 전반적으로 짧은 미세융모를 보이고 섬모는 재생되지 않았다 (Fig. 1A). 반면 실험군에서는 일정하지는 않으나 재건된 상피에 증식된 섬모를 관찰할 수 있었다 (Fig. 1B). 그러나 이 섬모는 기관 내강으로 돌출된 정도가 일정하지 않고 정상에 비해 가늘며 촘촘하지 않았다.

6주 표본 대조군의 경우, 결손부의 점막은 부분적으로 섬모성 상피로 피복되며 섬모세포군의 사이에 반점 (patch)모양으로, 짧은 미세융모를 가진 납작한 상피세포가 관찰되었고 섬모의 증식은 아직 불완전하였다 (Fig. 2A). 실험군의 결손부는 전반적으로 섬모상피로 피복되었고 4주에 비해 섬모의 굵기가 증가하였으며 좀 더 촘촘해진 양상으로 일부는 정상섬모와 유사하였으나 섬모의 돌출정도는 아직

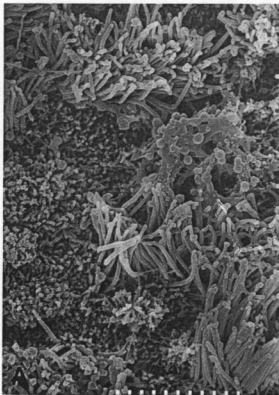


Fig. 2. Scanning electronmicroscopic finding of tracheal mucosa 6 weeks after graft. A: control group. B: experimental group ($\times 5,000$).

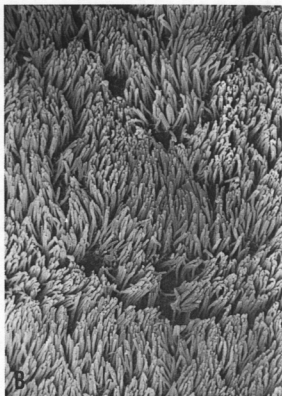
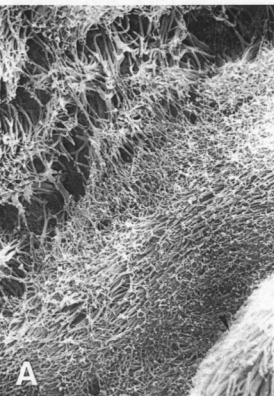


Fig. 3. Scanning electronmicroscopic finding of tracheal mucosa 8 weeks after graft. A: Arrowhead-cilia of normal surrounding mucosa in control group. B: experimental group ($\times 3,000$).

정치 못한 상태였다 (Fig. 2B).

이식 후 8주가 경과하였을 때, 대조군의 경우에는 결손부 주변의 정상점막의 섬모에 비해 생성된 섬모의 굵기와 밀도 및 돌출정도는 불충하였다 (Fig. 3A). 반면 실험군의 경우 정상피조직의 섬모와 동일한 정도로 증식된 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 3B).

고 찰

기도협착을 성공적으로 치료하기 위해서는 작부위를 절제한 후 남게되는 기도의 결손위를 원활히 재건하여야 하는데 이를 위해 기도의 골격으로서의 연골의 재건과 아울러 이 건부위에 점막재생이 신속하고 원활하게 이루어 지도록 하는 것이 중요하다.^{8,12,15,25} 즉 안 되고 유연한 골격으로 구조적인 안정성을 보하는 동시에 내면은 호흡상피로 피복

됨으로써 기능적으로도 정상화되어야 하는 것이다. 따라서 기도의 기도 골격과 점막을 동시에 재건함으로써, 재건부위의 가피형성과 분비물의 축적을 억제하고 원활한 호흡을 유지시켜 정상적인 기도생리를 복원할 수 있다면 이상적이라고 하겠다.

1980년대에 들어 크게 발전하기 시작한 미세혈관 문합술이 기관협착의 치료 및 기도 재건에도 실험적, 임상적으로 시도되기 시작하면서^{4,17} Krepsi 등⁶이 2단계의 수술을 통해, 개의 기도에 형성한 환상의 결손부 (circumferential defect)를 흉막-골막 피판으로 재건한 실험적 결과를 보고하였다. 이외에도 측두-두정근막 유리피판 (temporoparietal fascial free flap)을 이용한 재건⁴이나 근골막피판 (myoperiosteal flap)을 이용한 재건⁹ 등이 실험적으로 또는 임상적으로 시도되었다. 이와 같은 혈행성 피판은 꾸준한 실험적 시도를 통해, 피판의 부피를 줄일 수 있고 내면의 상피화를 촉진시킬

수 있을 뿐만 아니라 결손부의 위치 및 크기에 따라 다양하게 도안할 수 있는 장점이 있는 것으로 알려지게 되었으며 향후 기도재건의 새로운 방법으로 각광받을 전망이다⁶⁾. 이러한 형태의 피판에는 견고한 골격이 뒷받침되어야 기도내의 호흡에 따른 양압과 음압을 견딜 수 있으며 또한 피하조직이 없이도 내강의 상피화가 순조롭게 이루어 지도록 함으로써 기도의 내경을 넓게 유지할 수 있다. 물론 피판을 구성하는 모든 조직이 생존할 수 있는 일관된 혈행이 무엇보다도 가장 중요하다. 혈행성 피판이 비혈행성 피판에 비해 연골의 생성능이 월등하다는 연구결과는 이미 보고되어 있으며^{11,12)} 이 과정에 있어서의 미세구조적인 변화도 활발히 연구되고 있다^{7,13)}.

이식점막의 생존여부와 아울러 두 군의 재건과정에 있어 커다란 차이점중의 하나는 섬모의 재생이다. 섬모의 재생은 미세음모의 증식 초기에 일어나기 시작하는 것으로 알려져 왔는데^{18,20)} 일련의 과정을 연속적으로 관찰하기 보다는 특정시기에 국한하여 과정의 일부만을 보고한 연구가 많았다²¹⁾. 위중층 원주상피에 재생된 섬모는 기능적 재건에 필수적인 요소로서 종래의 기도재건이 주로 해부학적, 구조적 재건에 주력했다면, 앞으로는 섬모 재생에 의한 생리적, 기능적인 재건이 관건일 것으로 생각된다. 이러한 측면에서 본 실험의 결과는 매우 의미있는 것이라고 할 수 있다. 섬모의 재생에 대해서는 다양한 견해가 보고되어 있다⁷⁾. 즉 기관의 결손부가 위중층 원주상피로 재생되더라도 섬모는 재생되지 않는다는 견해^{3,10,18)}가 있는 반면 본 연구결과와 같이 위중층 섬모성 원주상피로 재생된다는 보고도 있다²⁰⁾. 본 연구는 시기 별로 피판의 구성상태에 따라 섬모의 재생 및 증식과정을 관찰하였다는 데에 1차적인 의의가 있을 것으로 생각된다. 즉 혈행성피판의 경우에는 수술 후 4주 이내에, 미숙하지만 전반적인 섬모증식을 관찰할 수 있었으며 혈관경이 없는 유리피판의 경우에도 재건 및 성장속도는 느리지만 섬모의 재건이 이루어지는 것을 알 수 있었으며 이는

기존의 일부 보고와 유사한 소견이었다²⁰⁾. 한편, 섬모세포는 결손부로의 조직이동 및 재건에 관여하지 않는 것으로 알려져 있고¹⁶⁾, 따라서 혈행성 피판이나 유리피판의 점막재생이 모두 정상조직의 이동 및 증식에 의한다면 섬모의 재생도 비슷한 속도로 일어나야 할 것이지만 본 연구의 결과, 혈행성 피판에서 훨씬 더 빠른 것이 규명되었으므로 혈행성 피판의 점막재생이 주변 조직의 이동이라는 기전외에도 대조군과는 다른 기전이 작용하였으리라는 추정을 뒷받침한다고 생각하였다. 또한 실험군의 경우, 재건된 상피의 위치에 따라 섬모재생의 단계 및 속도에 있어 특별한 차이를 보이지 않는 것으로 관찰되었는데 이것은 상피의 재건이 주변조직의 이동에 의하지 않고 생존한 이식점막의 화생에 의하였을 것이라는 것을 간접적으로 뒷받침해 주는 소견이라고 사료되었다.

향후 점막의 혈행 (mucosal vascularity)을 더욱 향상시킬 수 있는 부위에서 도안한 피판을 이식함으로써 위중층 섬모성 원주상피로의 피복을 촉진하고 기관내강의 정상적인 생리의 복원을 이룰 수 있어야 할 것으로 생각한다.

결 론

혈행이 유지된 이개연골막에 구강점막을 봉합하여 복합피판을 구성한 후 기도 결손부에 이식하였다. 대조군은 혈행이 유지되지 않는 유리연골막에 구강점막을 봉합하여 이식한 경우로 하였다. 결손부에 재건된 점막상피 표면에서의 섬모 재건과정을 주사전자현미경적으로 연구하였다.

대조군에서는 6주 표본에서 불완전한 섬모의 출현이 부분적으로 관찰된 반면, 실험군의 경우, 4주 표본에서부터 가늘면서 돌출정도가 상이하기는 하지만 일정한 형태의 섬모증식을 관찰할 수 있었다. 이를 통해 저자는 혈행성 피판을 이용한 재건이 기관내강을 피복하는 점막상피뿐만 아니라 섬모의 재건에도 우수

결과를 나타내며 기도의 생리적 복원을 좀 신속하고 원활하게 이룰 수 있는 방법이라 단하였다.

참 고 문 헌

- 김은서 · 최은창 · 김영호 등 : 토기 기관의 재건에 이용된 연골막 피판의 연골생성능. 기관식도 2 : 46~56, 1996
- 김은서 · 홍원표 · 이정권 등 : 토기 기관에 이식한 혈행성 연골막-구강점막 복합 피판의 형태학적 연구: I. 광학현미경적 연구. 한이인지 40 : 185~196, 1997
- 허순철 · 김형곤 · 이형석 등 : 가토의 자가 이개연골편을 이용한 기관재건술에 대한 연구. 한이인지 30 : 241~249, 1987
- Brent B, Upton J, Acland R, et al : *Experience with the temporoparietal fascial free flap. Plast Reconstr Surg* 76 : 177~188, 1985
- Delaere PR, Boeckx WD, Vandamme B, et al : *Perichondrial microvascular free transfer: Creation of a compound flap for laryngeal reconstruction in rabbit. Ann Otol Laryngol* 101 : 265~269, 1992
- Delaere PR, Ostyn F, Mebis J, et al : *Experimental transferable vascular bed for laryngotracheal reconstruction: Further observations. Ann Otol Rhinol Laryngol* 102 : 144~151, 1993
- Delaere PR, Ziyang L, Feenstra L : *Tracheal autograft revascularization and transplantation. Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 120 : 1130~1136, 1994
- Donski BP, O'Brien MC : *Perichondrial microvascular free transfer: An experimental study in rabbits. Br J Plast Surg* 33 : 46~53, 1980
- Friedman M, Grybauskas V, Toriumi DM, et al : *Reconstruction of the subglottic larynx with a myoperiosteal flap: Clinical and experimental study. Head Neck Surg* 8 : 287~295, 1986
- 10) Greenberg SD, Willms RK : *Regeneration of respiratory epithelium. An experimental study in dogs. Arch Pathol* 73 : 65~70, 1962
- 11) Hartig GK, Esclamado RM, Telian SA : *Chondrogenesis by free and vascularized rabbit auricular perichondrium. Ann Otol Rhinol Laryngol* 103 : 901~904, 1994
- 12) Hartig GK, Esclamado RM, Telian SA : *Comparison of the chondrogenic potential of free and vascularized perichondrium in the airway. Ann Otol Rhinol Laryngol* 103 : 9~15, 1994
- 13) Hattori Y, Tsurukubo K, Nakamura K, et al : *Electron microscopic study of vascular regeneration in rat tracheal mucosa following physical curettage. Auris Nasus Larynx* 19 : 251~269, 1992
- 14) Krepski YP, Biller HF, Baek SM : *Tracheal reconstruction with a pleuroperosteal flap. Otolaryngol Head Neck Surg* 91 : 610~614, 1983
- 15) Mayer E, Cardoso PFG, Puskas JD, et al : *The effect of basic fibroblast growth factor and omentopexy on revascularization and epithelial regeneration of heterotopic rat tracheal isografts. J Thorac Cardiovasc Surg* 104 : 180~188, 1992
- 16) McDowell EM, Becci PJ, Schurch W, et al : *The respiratory epithelium. VII. Epidermoid metaplasia of hamster tracheal epithelium during regeneration following mechanical injury. J Natl Cancer Inst* 62 : 995~1008, 1979
- 17) Morgan E, Lima O, Goldberg M, et al : *Successful revascularization of totally ischemic bronchial autografts with ome-*

- ntal pedicle flaps in dogs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 84 : 204~210, 1982
- 18) Morgenstein KM : Composite auricular graft in laryngeal reconstruction. *Laryngoscope* 82 : 844~847, 1972
 - 19) Nordin U : The regeneration after cuff-induced tracheal injury. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 94 : 514~519, 1982
 - 20) Ohlsen L, Nordin U : Tracheal reconstruction with perichondrial grafts. *Scand J Plast Reconstr Surg* 10 : 135~145, 1976
 - 21) Ohlsen L, Nordin U : Experimental laryngeal reconstruction with preformed composite graft. *Scand J Plast Reconstr Surg* 20 : 259~271, 1986
 - 22) Satoh T, Tsuchiya M, Harii K : A vascularised iliac musculo-periosteal free flap transfer: a case report. *Br J Plast Surg* 36 : 109~112, 1983
 - 23) Skoog T, Ohlsen L, Sohn SA : Perichondrial potential for cartilaginous regeneration. *Scand J Plast Reconstr Surg* 6 : 123~125, 1972
 - 24) 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 : 55~60, 1974
 - 25) Takato T, Harii K, Nakatsuka T : The development of bone after perichondrial grafting: an experimental study using ear and rib perichondrium in rabbits. *Br J Plast Surg* 40 : 636~641, 1987