

종양수술전 화학요법이 미세수술시 피판생존율에 미치는 영향

김옥규 · 김용덕 · 변준호 · 신상훈 · 정인교
부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2003;29:421-429)

EFFECT OF INDUCTION CHEMOTHERAPY ON FLAP SURVIVAL RATE IN MICROSURGERY

Uk-Kyu Kim, Yong-Deok Kim, June-Ho Byun, Sang-Hun Shin, In-Kyo Chung

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Pusan National University

Purpose: Neoadjuvant chemotherapy is commonly used to treat cancer patients as adjunct treatment, but if the microvascular tissue transfer is performed simultaneously with cancer resection surgery, the induction chemotherapy might affect the survival rate of vascularized free flap. Our study will focus on the effect of induction chemotherapy on the free flaps which were made on white rat abdomen after injection of 5-FU.

Materials and Methods:

The experimental rat groups were divided into three groups (total 24 rats) as a normal control group, 24 hrs group after 5-FU injection, 3 days group after 5-FU injection. Inferior abdominal island flaps of 8 Sprague Dawley rats on each group were made and immediately were induced into an ischemic state by clamping the supplying inferior epigastric artery and vein with microvascular clamp for a hour to induce a similiar free flap circumstance, then the inferior abdominal skin flaps were reperfused by releasing the clamps.

The flaps on abdomen were repositioned and sutured. The experimental data for flap survival rate was collected by digital photo taking, analysed by computer image program to compare with the flap luminosity. The rats were sacrificed at 3 days, 5 days, 7 days after flap preparation and specimens of the flap were taken and stained with H-E staining. The microscopic finding was made under magnification of 200 and 400.

Results:

1. Gross findings on each groups showed the healing condition was good as following sequences; normal, 24 hrs group after chemotherapy, 3 days group after chemotherapy.
2. The values of flap luminosity for evaluation of flap survival rate also showed the same sequences as gross findings of healing state.
3. The microscopic findings of epidermis necrosis, inflammation state, dermis fibrosis, vessel change, fatty tissue layer thinning were compared with each group. The 3 days group after chemotherapy showed remarkably poor healing condition compared to other groups.

Conclusion: Chemotherapy agents affected the healing process of free flap, but healing condition was recovered spontaneously as post-injection periods passed out. In opposite to our expectation, 3 days group showed the bad flap condition in comparing with 24 hours group which was considered as immatured body circulation state of chemotherapy agent. It showed that 3 weeks in human being after chemotherapy was not proper as timing of microvascular tissue transfer if 3 days group in rat was considered as same healing period of 3 weeks in human being. More delayed healing timing than 3 weeks might be required in clinical application of free tissue transfer.

Key words : Induction chemotherapy, Microvascular tissue transfer, Flap survival rate

I. 서 론

김 옥 규

602-739, 부산광역시 서구 아미동 1-10

부산대학교 치과대학 구강악안면외과

Uk-Kyu Kim

602-739, Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry,

Pusan National University, 1-10, Ami-Dong, Seo-Gu, Busan

Tel : 82-51-240-7431 Fax : 82-51-244-8334

E-mail : kuksjs@pusan.ac.kr

구강암환자에서 수술전 대부분 항암제를 투여하고 있으며 수술시 절제술 및 동시에 미세혈관문합술을 이용한 유리피판재건술을 시행하는 치료법이 현재 전 세계적으로 적용되고 있다. 그러나 항암제 투여시 인체의 골수기능의 억제와 면역체계의 불안정을 가져와서 항암투여후 충분한 회복기를 부여후 수술해야 신체의 향상성을 유지할수 있으므로 암의 진행성에 비추어 수술시

기를 적절히 결정해야 함이 중요하다¹⁵⁾. 따라서 수술전 항암제의 투여가 유리피판의 생활에 불리한 환경을 제공할수도 있으리라 생각되었다. 본 연구에서는 항암제 투여후의 유리피판조직의 치유반응 정도와 수술시기에 따른 조직치유정도를 파악하고자 백서를 이용하여 실험성적을 비교관찰하고자 계획하게 되었다.

여러 항암치료제중 5-FU 및 유도체는 아직도 임상에서 많이 쓰고 있는 항암화학요법제로서 다른 약물들과 함께 병용되고 있다. 이 약물은 세포에 DNA 연결고리의 절단을 이룩하여 항암작용을 일으킨다고 알려지고 있고 이로서 정상세포의 증식에도 강하게 영향을 미치므로 주의가 요망된다. 그러므로 환자의 혈중 5-Fu의 농도가 충분히 유지되어야 치료효과가 있으므로 사용할 때 과용량이 투여되지 않도록 신중해야한다. 최근 구강암에서 복합 항암치료의 통상적인 치료로서 수술전 항암치료 및 절제술, 일차재건술이 시행되고 있고 특히 일차재건술의 술기발전으로 미세혈관봉합술을 이용한 유리조직이식술이 적극 추천되고 있다. 이때 술자의 제일 관심사는 종양의 재발방지와 유리조직의 생활이라 할 수가 있겠다. 본 연구에서는 수술전 투여한 항암화학 약물이 유리조직 생활에 미치는 영향과 화학요법후 1주일과 3주일째 수술시 조직치유반응을 파악하고자 백서에서 인체의 반응기간과 유사하게 5-FU투여후 1일, 3일째 복부유리피판을 형성하여 유리피판의 생존율과 시기에 따른 조직변화양상을 비교 검토해 봄으로서 임상진료시의 기초자료를 마련코져 계획하게 되었다.

II. 연구재료 및 방법

총 24 마리의 Sprague-Dawley계 백서(250gm - 300gm)를 사용하였다. 그중 16 마리의 백서에서 중앙화학요법제의 하나인 5-FU를 200mg/kg 용량으로 복강내 투여한후 실험 A군 8마리는 24시간 이 지난후 Ketamine Hyderchloride(Ketarr, Yuhan, Korea)를 0.75mg/kg 용량으로 마취한후 하복부 동맥 및 정맥을 근간으로

한 하복부 피부 도상피판(2×3cm²)을 좌,우 2개씩 형성하고 즉시 주 공급혈관인 하복부 동,정맥을 미세혈관 겸자로 잡아 피판의 허혈상태를 유도하여 유리 피판상태로 만들었다. 허혈상태를 1시간 정도 유지한후 다시 혈류를 재개시켜 피판으로의 혈행을 재개시키고 상처부를 층별 봉합하였다(Fig. 1~3). 이는 유리 피판술이후 재혈관 문합술 시행후 혈류를 재개하는 환경과 유사하게 만들기위한 실험설계이다. 그후 3일, 5일, 7일째 각각 2마리씩 희생하여 H-E staining하였다. 또한 술후 1일, 3일, 5일, 7일째 피판 생존을 육안으로서 확인하고 피판의 생존율을 비교하기 위하여 복부피판부에 대해 근접 사진촬영하여 digital image를 얻은후 Adobe program을 이용하여 Image기능을 적용하였다. 각 피판의 영상은 60,000 pixels(가로 ×200, 세로 ×300)상태에서 피판의 광도(Luminosity)를 수치화하였다. 동일한 술식으로 5-FU를 투여후 3일이 경과된후 실험 B군으로 구분하여 백서 8마리를 실험하였다. 동일한 부위에 동일한 피판을 써서 미세혈관겸자로서 혈류를 1시간 차단하여 허혈상태유도후 재관류시킨후 3일, 5일째 각각 2마리에 대해 피판을 채취하여 H-E staining 하여 조직현미경상의 치유과정을 관찰하였다. 또한 동일한 관찰법으로 술후 1일, 3일, 5일째 피판치유정도를 육안관찰하고 사진촬영하여 피판생존율을 상기의 방법으로 측정하였다. 대조군으로는 복강내 5-FU를 투여받지않은 백서 C군 8 마리에서 동일한 island pattern flap을 형성하고, 3일, 5일, 7일째 2 마리씩 피판부위를 채취하여 H-E염색하여 조직치유반응을 광학현미경으로 관찰하였고 상기와 동일한 방식으로 피판의 생존율을 계산하였다.

각 군간의 통계적 유의성은 각군에서 피판형성 5 일째의 피판 Luminosity를 비교하여 Kruskal-Wallis test를 적용하여 항암제투여에 따른 피판 치유정도를 비교, 검증하기 위하여 각각 5마리를 추출하여 적용하였다. 통계프로그램은 SPSS window 10.0 (Chicago, USA)를 사용하였다. 광학현미경은 수술후 3일, 5일, 7일째 피판에 대하여 200 배 및 400 배 시야하에서 상피조직의 괴사(epidermis necrosis), 염증상태(inflammation state), 진피의 섬유



Fig. 1. 피판작도 (2×3cm)



Fig. 2. 피판거상



Fig. 3. 수술완료상태

화(dermis fibrosis), 피관내 혈관변화(vessel change), 지방층의 감소(fatty tissue layer thinning)등 5개 항목으로 구분하여 조직치유도를 비교관찰하였다(Table 4).

Ⅲ. 결 과

1. 피관의 육안적 소견 및 생활을 비교

육안적으로 대조군, 항암 24 시간제군, 항암 3 일군모두에서 피관의 완전 괴사는 보이지 않았으나 치유양상은 항암 3 일군, 항암 24 시간군, 대조군순으로 느리게 치유됨이 관찰되었다. 5 일째 피관의 Luminosity에 대한 검정결과 대조군, 항암 24 시간군, 항암 3 일군순으로 평균치가 높게 나타났다(Table 1). 각군간의 차를 Kruskal Wallis통계검정결과 유의확률이 0.008로서 유의수준 0.05를 기준으로 할때 세 집단에서의 피관생활율은 차이가 있다고 판정할수 있었다. 피관생존의 평균순위를 보면 대조군이 가장 높았고 항암투여 24 시간제군, 항암투여 3일 제군순으로 나타났다(Table 2, 3).

2. 피관의 현미경적 소견(Fig. 4~15, Table 4)

1) 대조군

(1) 실험 3일째

부종이 많이 관찰되고 염증세포가 일부 관찰되며 다핵세포구가 보이며 혈관이 울혈되어있다. 표피층의 가시층과 과립층이 잘 발달되어 있고 과립층의 세포들의 활성화가 보인다. 진피층에서 땀샘이 잘 발달되어 있고 혈관에서 백혈구가 드물게 관찰된다(Fig. 4).

(2) 실험 5일째

상피층의 괴사는 보이지 않고 염증세포중 단핵구세포들이 관찰된다. 섬유화는 없으며 혈관변화도 특별히 보이지 않는다. 지방층감소는 적게 일어났으며 상피층과 진피층의 손상은 보이지 않는다. 표피층 하방의 과립층에서 세포의 활성화도가 증가되어 있으며 조직의 치유양상이 상당히 진행된 것을 관찰할수 있다(Fig. 5, 7).

(3) 실험 7일째

표피층은 수술전과 거의 유사하게 조직이 치유되었고 백혈구는 상당히 사라진 상태였다(Fig. 6).

2) 실험군A(항암투여 24시간지난후 피관형성군)

(1) 실험 3일째

상피층은 약간 위축상을 보이고 모낭기관은 양호하며 섬유화가 일부 일어났고 염증상태는 약간 보인다, 혈관의 변화는 없으며 피하지방층은 두께가 정상으로 관찰되었다. 대조군의 양상과 비슷한 소견을 보였다(Fig. 8)

(2) 실험 5일째

상피층의 변화는 없으며 다소 두터워진 양상이다. 염증은 일부 관찰되고 섬유화도 일부 관찰된다. 또한 혈관변화는 드물고 지방층의 감소도 거의 없다(Fig. 9, 11)

(3) 실험 7일째

만성염증세포가 주로 관찰된다. 임파구와 단핵세포군들이 보인다. 지방세포층의 퇴행화가 보이며 섬유화도 일어났다. 혈관 변화는 울혈상태외는 변화가 없다. 표피층에 많은 혈관들이 생성되어 있고 큰 혈관에서는 백혈구가 다소간 보이고 결합조직층

Table 1. 술후 5일째 각군피관의 Luminosity의 측정값

		케이스 요약		
		대조군	항암24HR	항암3DS
1		162.32	145.51	112.42
2		165.43	168.18	80.95
3		168.79	163.76	93.76
4		174.54	151.87	118.56
5		171.23	178.88	
합계	N	5	5	5
	평균	168.4620	161.6400	105.4060
	표준편차	4.7861	13.2298	17.3914
	분산	22.907	175.028	302.460

a. 처음 100 케이스로 제한됨.

Table 2. 검정표(대조군-1, 항암24hr-2, 항암3Ds-3)

		순위	
	실험종류	N	평균순위
피관생존	1.00	5	11.40
	2.00	5	9.60
	3.00	5	3.00
합계		15	

Table 3. 통계량

		검정 통계량 ^{ab}
		피관생존
	카이제곱	9.780
	자유도	2
	근사 유의확률	.008

a. Kruskal Wallis 검정

b. 집단변수 : 실험종류

Table 4. 조직반응(+: 경도, ++: 중등도, +++: 강도, +/-: 양성 또는 음성)

	Periods	Epidermis necrosis	Inflammation state	Dermis fibrosis	Vessel change	Fatty tissue layer thinning
Control	3 days	+/-	+ / ++	-	+	+/-
	5 days	-	++	-	-	+/-
	7 days	-	-	+	-	-
Chemo.24hrs	3 days	+	+	-	-	-
	5 days	-	+	+	+/-	+/-
	7 days	-	++	++	-	+
hemo.3days	3 days	+ / ++	+ / -	-	+	+
	5 days	++	+ / ++	+	+	++

에는 임파구가 특히 많이 관찰되었다(Fig. 10).

3) 실험군B(항암투여 3일지나후 피관형성군)

(1) 실험 3일째

상피층의 위축이 보이며 진피의 necrobiosis 현상이 보이며 콜라겐섬유의 퇴행성변화가 보이며 모낭기관의 피사와 지방층의 소실이 관찰되었다. 또한 심한 혈관의 울혈화가 보이며 혈관내피세포의 변화는 없다. 염증세포도 아직 많이 관찰되지 않으나 부종은 보인다. 진피층에 많은 혈관이 형성되었다 (Fig. 12, 14).

(2) 실험 5일째

상피층과 진피층의 피사가 관찰되며 모낭기관의 피사도 보인다. 지방층의 두께가 많이 감소하였으며 섬유화도 심하며 염증세포도 다소간 관찰된다. 혈관변화를 보면 울혈현상이 일어났고 혈전현상이 관찰되었다. 표피층이 많이 상실되어 있고 진피쪽의 혈관내 적혈구가 많이 파괴되어 있고 혈관 내피세포도 전반적으로 상당부분 손상된 모습이 관찰되었다(Fig. 13, 15).

Ⅲ. 고 찰

유도 항암 화학요법의 이론적 배경은 수술이나 방사선 치료전 항암제를 투여하여 혈관이 온전한 상태에서 약제전달이 효과적이고 전신상태가 양호할 때, 충분한 양의 약제투여가 가능하여 종양병소를 축소시켜 국소치료가 용이하게 하고 전신 항암 화학요법에 의하여 원격전이 기회를 줄이고 원격 전이병소를 제거할 수 있다는 점에 있다. 반면에 이러한 술전 항암요법은 국소치료의 시기를 늦추고 효과가 없을시 오히려 암의 성장을 도모하거나 수술후 창상치유의 지연등을 일으키는 단점이 있다. 항암제에 의한 암세포의 파괴는 종양을 구성하고 분열증식을 하고 있는 암 세포군에 한하여 효력을 발휘하며 일시적 휴지기 상태의 암세포군에는 감수성이 없으므로 다시 암세포가 분열 증식하게 된다. 급속히 진행하는 암인 경우는 분열증식이 되는 암세포 군을 많이 가진 암종인 경우이며 복합 항암 화학 요법치료가 요구된다. 하지만 항암제의 부작용이 심각한 편이므로 백혈구 2,000 개/mm³, 혈소판 50,000mm³인 경우는 반드시 골수기능이 회복된 이후에 항암치료를 계속해야한다^{8,10}.

이러한 종양세포에 대한 항암제 투여시 신체의 종양 면역에 대한 기전을 간략히 살펴보면 다음과 같다. 면역반응은 체액면역과 세포면역으로 구분되며 각각은 항체, 보체에 의한 세포 살해, 항체의 의존성 세포독성, 세포독성 T-임파구에 의한 용해, NK 세포와 대식세포의 반응을 들 수 있다. 면역원이 유입시 면역반응이 일어나며 대식세포에 의한 항원증여 및 임파구활성이 일어나며 T-임파구, B-임파구의 증식 및 분화과정을 거치게 된다. 면역반응은 호흡기, 소화기, 비뇨생식기등의 외분비계와 혈액, 흉선, 임파절, 비장으로 구성된 내분비계인 임파세망계로 구분되고 임파세망계는 중추임파계기관인 골수, 흉선, bursa fabricius와 말초 임파계기관인 임파절, 비장등으로 구분된다. 말초 임파조직반응의 경로는 피부, 점막등을 통과한 이물이 대식세포와 결합되어 호중구 이동을 동반한 염증반응을 유발하거나 직접 임파액 혹 혈액으로 들어오게된다. 임파액에 들어온 항원은 임파관, 임파절에 모이고 임파절은 이물을 여과하고 비장은 임파구를 생성한다. 항종양성 면역계인 세포 매개성 면역반응은 3단계의 과정을 거치게 되고 1단계는 항원이 감작된 T-임파구의 항원수용체에 부착되며 2단계는 대식세포의 도움으로 임파구증식이 일어나고 3단계는 T-helper, T-suppressor, cytotoxic T-cell, memory T-cell이 생성된다. 화학항암제를 이용한 동물의 타액선상 발암을 유도하면 선방조직위축, 관상피증식기, 편평화생기, 편평상피암 발생기의 4단계를 거치게 되고 면역반응을 관찰할수 있다. 마우스의 T-세포 표면항원인 LYT항원의 역할은 Lyt-1가 19번 염색체에서, Lyt2, 3는 6번 염색체에서 정보제공을 받으며 Lyt-1을 갖는 T-세포는 B-세포의 항체생성을 돕는 기능을 주로 담당한다. Lyt-2, 3(당단백질)을 갖는 T-세포는 세포독성 T-세포, 억제 T-세포의 기능을 행한다. 이러한 Lyt-1, 2, 3 표면항원을 구조적 적격 복합체(MHC)결정기에 의해 세분되며 이러한 표면항원을 측정하는 방법으로는 면역침강법, 응집반응법, 면역형광법, 산화효소법, 효소면역측정법등이 있고 단일클론항체를 이용한 면역형광법이 많이 사용된다¹¹⁻¹⁴.

말초 임파조직내의 T-세포아강의 분포로는 Lyt-1, 2, 3가 60-65%, Lyt-1+가 30-35%, Lyt-2, 3가 5-10%정도로 나타난다. T-세포는 부신피질, 수질부위에, 비장에서는 세동맥주위에 많이 분포하고 B-임파구는 임파절에 많다. T-cell은 대부분 T4(helper)이었고, T5(suppressor), T8(cytotoxic)는 소수이다. 종양의 면역요법으

로는 능동면역요법에서는 종양특이항원(tumor specific transplantation antigen)으로 면역시키는 특이면역과 면역촉진제를 사용하는 비특이 면역이 있다. 수동 면역요법으로는 면역된 동물의 혈장을 이용하는 혈장요법과 면역된 동물의 작동세포를 투여하는 입양 면역요법이 있다. 이외에 생물반응조절제(biological response modifier, BRM)투여 등이 있다. BRM의 일종인 Interleukine-2를 단독으로 투여하는 방법과 시험관에서 세포독성 임파구와 함께 배양된 LAK cell을 이용한 입양 면역요법이 있다. IL-2를 이용한 투여방법으로는 T-세포증식은 IL-2에 노출된 곳에 주로 일어나므로 비장내 투여시 비장의 세포독성임파구의 유도를 촉진하여 종양 성장억제 및 폐로의 전이감소를 보고한 연구가 많다. 또다른 방법으로 LAK와 IL-2를 병합투여시 항암효과를 얻었다는 보고가 있고 LAK세포군의 세포독성을 높이는 방법으로 CCDF(cytotoxic cell differentiation factor)를 이용하여 억제 T세포의 기능을 저하시키는 방법, Interferone, Levamisol등을 IL-2활성화를 위해 첨가하는 방법등이 있다. 단 약제의 병용투여시 골수기능억제, 혈뇨생성, 호산구증가, 백혈구좌측이동등의 부작용이 있을수 있다¹⁵⁻²⁰.

이러한 신체의면역계의 반응을 이용한 치료법중 하나인 항암 화학요법제에 의한 암 억제기전은 세포분열시에 필요한 DNA와 같은 세포내 거대분자를 형성하는 과정을 방해함으로써 세포의 복제를 방해하는 원리이다. 항암요법제는 Cisplatinum, Methotrexate, Bleomycin, Cyclophosphamide, 5-Fluorouracil(FU), Vinblastine, Adriamycin, Taxole 등이 있다. 그중 5-Fu의 작용기전은 다음과 같다. Fluorinated pyrimidine이 RNA와 DNA합성에 영향을 주고 Thymidylate synthetase는 Fluorinated pyrimidine에 의해 억제되며 Thymidine결핍을 초래하여 세포손상과 세포의 사멸을 야기하게 된다. 본 실험에서도 백서의 복부에 5-FU를 주사한후 일정한 시간경과에 따른 유리피부피관을 형성하여 조직치유과정을 살펴봄으로서 상기의 작용기전과 원리를 이해하고자 하였다.

유도 항암화학요법의 이론적인 근거는 수술이나 방사선 치료 전에 시행함으로써 혈관손상전 효과적인 약제전달이 가능하며 충분한 약제투여를 통해 종양병소를 축소시켜 국소치료가 용이하고 원격전이의 기회를 줄이고 원격전이병소에 대한 치료효과도 가질수 있다. 또한 암중크기가 수축되면 상대적으로 암중내 혈관분포가 증가되어 산소공급이 향상되어 방사선조사에 민감해져 방사선치료의 효과가 증가되나 반면에 항암치료효과가 없으면 오히려 암중의 성장을 도모시킬수 있고 술후 창상치유가 지연되거나 술후 감염의 기회를 제공할 수가 있다. 항암제 투여 후의 외상이나 수술시 창상치유에 대한 많은 연구가 발표되고 있는바 Cherick등은 백서의 구강점막에 5-FU를 도포하고 변화를 관찰한 결과 7일째 상피-결합조직층의 분리를 관찰하였다고 하였으며 2 주째는 상피의 유착을 관찰하였다고 했으며 Schuller등은 34 명의 두경부종양환자에서 병용화학요법을 9 주간 처치하고 3 주후 외과술을 시행한 결과 창상치유기간동안 별다른 합병증을 관찰할수 없었다고 하였다. 본 실험에서는 5-FU투여후 3일 군에서 오히려 투여 1일군에 비해 조직의 치유과정이 느리게 관찰되어 조직치유과정이 사람과 백서와 비교시 백서3일군은 인

체3주군으로 구분한다면 항암요법후 종양수술시 4주이상 경과 후 수술하는 것이 바람직하리라 생각되었다.

피부는 두 층의 다른 배열로부터 분화되고 각각의 특징을 가진다. 외측의 얇은 층은 표피층이며 내측의 두터운 층은 진피층이다. 이 두층은 탄성섬유로 결합되고 표피는 기저층에서 각질이 일어나는 편평층까지 연속분화되는 단계를 거친다. 기저층은 진피와 접하면서 혈관공급을 받으며 기저층 상부의 유극층(pickle cell layer), 과립층(granular layer), 각질층(cornified layer)순으로 구성된다. 또한 표피는 일생동안 치환된다. 진피층은 표층인 유두층(papillary layer)와 심층인 망상층(reticular layer)의 두층으로 구성되며 유두층은 인체에서 발달되어 있고 교원-탄성섬유 및 망상섬유를 함유하고 있으며 기저물질로 덮혀있다. 망상층은 조밀한 교원섬유가 표면에 편평하게 배열되고 있다. 표피세포는 발생기에 진피로 침입하여 모낭, 피지선등의 진피내 구조물들을 형성한다. 이러한 피부조직이 유리이전되어 성공적인 생착을 하기 위해서는 수혜부에서의 충분한 혈액공급이 이루어 져야한다. 자가 피부이식의 생착과정은 4기로 나누어 제1기는 조직순환기, 제2기는 혈관문합기, 제3기는 혈관재생기, 제4기는 혈행 완성기로 구분한다. 이식편의 혈관재문합기 이전에 무혈류기(ischemic phase)가 존재하며 48시간정도 지속되며 만일 조직치유의 이상이 일어나면 기간이 연장된다. 부분층 피부이식편은 4일까지 견딜수 있다고 보고되고 있다. 혈관문합기에서는 수혜부와 공여피부 이식편사이에 이식부혈관이 재생된다는 이론과 이식부혈관은 사라지고 새로운 혈관으로 대체된다는 이론이 있다. 보통 순환복구는 4일에서 7일사이에 완성되며 이식부와 수혜부사이에 혈관문합이 관찰된다. 적절한 혈관형성에도 이식부의 혈류완성이 일어나지 못하는 부위가 있다. 이식후 4일에서 8일경 표피의 증식이 이루어지고 상피세포확장과 섬유소원의 확장, 두꺼워진 기저막이 관찰된다. 이 시기에 혈관문합이 이루어 지지않으면 무혈류기가 연장되고 비가역적인 변성이 일어나고 수혜부에서의 육아조직이 이식부를 향해 증식하게된다. 이 과정은 광범위한 변성과 괴사조직의 탈락을 가져온다. 결합조직세포가 다양한 정도로 진피층에 침투하게 되고 이식부의 섬유화가 일어나게 된다. 단핵구 침윤이 진피로 일어나며 수개월에 걸쳐 새로운 혈관계가 형성된다. 이식부의 수축은 주로 수혜부에서 일어나며 공여부의 피부편의 1차수축과 이식후 치유시 일어나는 2차수축이 일어난다.

인체나 동물에서 연조직 창상치유는 초기에 혈관이 확장되어 histamine과 serotonin등이 분비되어 염증반응에 관여하고 혈장 단백질, 섬유소, 혈구세포가 창상부에 모이고 24시간내 혈액에서 급성염증성 백혈구인 호중구가 이주해 와서 표피 기저층의 세포분열이 활성화 된다. 24시간에서 48 시간내 상처부의 양측 변연부의 상피세포들이 상처부로 이동한다. 3 일째 급성염증세포는 사라지고 만성염증세포인 대식세포와 섬유아세포가 출현하고 육아조직이 차라나고 교원질섬유가 주종을 이루게된다. 5 일째는 신생혈관이 자라나고 교원질섬유는 더욱 풍부해지고 상처부는 정상두께의 상피를 회복하게된다. 이러한 창상치유과정에서 항암요법에 쓰이는 화학요법제는 세포분열시에 필요한 DNA를

형성하는 과정을 방해함으로써 암세포복제의 억제와 더불어 정상세포들의 생물학적 분화과정에도 영향을 미칠수가 있다. RNA와 DNA의 합성을 억제하는 기전을 가진 5-FU는 RNA에 작용하여 비정상적인 핵산을 합성시켜 RNA내 orotic acid와 uracil의 이용을 방해한다. 항암제투여후 외상을 가하는 경우 많은 학자들의 연구²¹⁻²⁵⁾가 보고되고 있다. 정등²⁶⁾은 5-FU가 치수의 섬유아세포의 단백질합성에 미치는 영향은 주사후 곧 단백질합성의 억제를 보이고 7일째 가장 극심하였고 그후 회복하여 3주경에는 정상으로 돌아왔다고 보고하였고 Cherrick등의 학자는 5-FU를 구강점막에 도포시 24시간째는 변화가 없었으나 7일째는 상피와 결합조직의 이격현상이 관찰되었다고 하였으며 Schuller등은 두경부종양환자에서 Cisplatinum과 Methotrexate, Bleomycin등을 병용한 항암제를 9주간 투여하고 3주후 수술한 결과 창상치유의 합병증을 발생하지 않았다고 보고한 바 있다.

본 연구에서는 백서 항암제 투여 24시간군에서는 아직 항암제에 의한 부작용이 나타나지 않은 것으로 관찰되었으나 백서 3일군에서의 3, 5, 7일째의 조직치유과정은 시일이 지날수록 더 치유양상이 악화되는 것으로 관찰되었다. 따라서 이는 항암투여후 3주내 수술시는 조직의 치유가 불리할수 있음을 나타내었다. 그러나 실험이 24시간군, 3일군의 항후 5일군, 7일군등으로 보다 세분하여 실험하여 조직치유과정을 관찰하여 항암투여후 수술시기를 파악하는 것이 필요하리라 생각되었다.

선²⁷⁾등은 백서를 대상으로 5-FU투여군과 methotrexate(MTX)투여군으로 나누어 술후 3, 2, 1주째 항암제를 투여한군과 술전 1, 2, 3, 4주째 항암제를 투여한 군등 총 7개군으로 나누어서 술전, 술후 항암제투여후 피부창상치유의 양상을 관찰하였다. 수술 1주전 투여군에서는 약 7일정도의 치유지연을 보였으며 5-FU투여군이 MTX투여군보다 치유가 느렸고 수술 2, 3, 4주전 투여군에서는 치유과정이 대조군과 비슷하였으며 섬유조직 용해와 교원질 증식은 다소 지연되었고 술후 투여군에서는 항암제투여는 창상치유에 거의 영향을 미치지 않았으나 교원질 침착 및 섬유아세포증식은 지속적으로 다량 관찰되었다고 보고하였다. 술전 1주전 5-FU를 투여한 군에서의 조직치유과정에서는 호중구가 3일째까지 고도로 나타났고 7일 이후 소실되었고 임파구침윤은 7일째 중등도 관찰되었고 혈관증식은 7일까지 중등도였고 부종변화는 3일에서 14일까지 지속되었다고 보고하여 조직치유의 지연을 보였다고 보고한바 있다. 그와 반면에 정상군에서의 피부창상양상결과는 급성염증세포가 1일째 보였고 3일째는 경미하게 7일 이후는 소실되었고 임파구침윤은 3일째 고도로 나타난후 14일째 점차 소실되었다. 또한 혈관증식은 3일째 중등도로 관찰된후 14일째 소실되었고 섬유조직증식은 3일부터 경미하게 보였고 14일째 고도로 나타났음을 보고하였다. 본연구에서는 수술 24시간전에 투여한군과 3일전에 투여한 군에서의 유리조직피판의 조직치유과정을 비교한 결과 급성염증세포는 3일째까지 관찰되었고 24시간군에서는 거의 정상 대조군과 유사한 치유양상을 보인 반면 3일군에서는 시일이 지날수록 치유가 늦어짐을 확인할수 있었다.

유리조직피판의 성공은 수술전의 피판상태와 술중 미세혈관

손상등에 기인되고 피판손상의 상당한 부분이 허혈성조직에 혈류가 재개되면서 일어난다고 보고되고 있다. 이러한 원인들로는 후 모세관 정맥에서 단백질유출 및 백혈구의 유착과 유주의 증가로 특징되는 급성염증반응이 주를 이루며 허혈후 조직에 중성구축적, 임파구의 급격한 증가, 백혈구유착을 방지하는 단 세포군항체에 의해 재관류시 혈관유출의 감소등이 원인이소가 됨이 밝혀지고 있다. 허혈-재관류로 인한 조직손상의 기전은 재관류시 발생된 산소유리기, peptide, protease 및 혈관 작용물질등의 여러 독성물질에 의해 자극된 중성구가 미세혈관내벽에 유착되고 protease, oxidants를 유리하여 정상내피를 파괴하여 부종, 출혈,조직괴사등을 야기하고 중성구도 서로 유착이 일어나 미세혈관을 폐쇄시키게 된다²⁸⁻³⁰⁾. 본 연구에서는 유리조직피판의 생활은 중요한 수술의 성공요인으로 본연구의 피판상에서의 혈관변화를 살펴본 결과 대조군과 항암 24시간군에서는 피판내의 작은 혈관들의 울혈현상이 적었던 반면 항암 3일군에서는 울혈현상이 보다 컸고 또한 혈관내 혈소판 응집현상도 관찰되어 항암 3일째에서는 피판형성은 수술시기로 부적절한 시기였음이 관찰되어 이를 인체에 적용시 적어도 항암 투여후 3주이상 지난후 수술시기를 결정함이 유리할것으로 생각되었다. 본 실험을 통해 유리피판형성시 피판생활에 대한 유도항암요법이 미치는 영향은 투여직후시기보다는 오히려 투여후 3주내에서 보다 조직염증반응등이 활발히 일어나는 것을 추정할수 있었다. 그러나 본실험은 동물실험설계이며 또한 수술적정시기를 결정하기 위해서는 실험군을 보다 세분하여 추가적인 실험이 필요하리라 생각되었다. 또한 항후 술후 항암요법에 관한 연구도 필요할것으로 보였다.

IV. 요 약

총 24 마리의 백서를 선택하여 중앙화학요법제의 하나인 5-FU를 복강내 투여한후 24 시간이 지난후 8마리에서는 하복부 동맥 및 정맥을 근간으로 한 하복부 피부 도상피판(2×3cm²)을 좌, 우 2 개씩 형성하고 피판을 허혈상태를 유도하여 유리피판상태를 만들었다. 허혈상태를 1 시간정도유지한후 다시 혈류를 재개시켜 피판으로의 혈류를 재개시키고 상처부를 증별봉합 하였다. 그 후 3 일, 5 일, 7 일째 각각 2마리씩 희생하여 H-E staining하였다. 또한 술후 1 일, 3 일, 5 일, 7 일째 피판생존을 육안으로서 확인하고 피판의 survival rate를 비교하기 위하여 사진촬영하여 digital image를 얻은후 adobe software program을 이용하여 Image, Histogram기능을 써서 60,000 pixels(가로×200,세로×300)상태에서 피판의 Luminosity(광도)정도를 수치화하였다. 마찬가지로 5-FU를 투여후 3일이 경과된후 8마리를 동일한 부위에 동일한 피판을 써서 3 일, 5 일째 각각 2마리에 대해 피판을 채취하여 H-E staining 하여 조직현미경상의 치유과정을 관찰하였다. 대조군으로서 복강내 5-FU를 투여받지않은 백서 8마리에서 동일한 도상 피부피판을 형성하고 3 일, 5 일, 7 일째되는 2마리씩 피판부위를 채취하여 H-E염색하여 조직치유반응을 광학현미경으로 관찰하였고 상기와 동일한 방식으로 피판의 생존율을 계산하

여 다음의 결과를 얻었다.

1. 육안적 소견으로 치유의 순은 대조군, 항암 24 시간제군, 항암 3 일군순으로 빨리 치유되었다.
2. 피관생존율을 비교하기 위한 광도(Luminosity)의 차는 3군끼리 모두 유의한 차를 보였으며 평균치 비교에서는 대조군, 항암 24 시간제군, 항암 3 일군순으로 높았다.
3. 광학현미경상 조직치유의 정도는 5개 항목으로 나누어 관찰하였다. 전체적으로 대조군과 항암 24 시간군은 시일이 지날수록 치유가 되는 양상을 보였으나 항암 3 일군은 조직의 염증반응이 더 심해지는 양상을 보였다. epidermis necrosis관찰 항목에서는 대조군에 비해 항암제투여군이 정도의 반응을 보였고 항암 3 일군에서 가장 심하였다. Inflammation state는 3 일째는 대조군에서 가장 높게 나타났으나 시일이 지남에 따라 감소한 반면 항암 3 일군은 시일이 지날수록 심해졌다. dermis fibrosis면에서는 항암 24 시간군에서 가장 크게 나타났다. vessel change는 대조군과 항암 24군에서는 거의 관찰되지 않았고 항암 3 일군에서는 중등도로 관찰되었다.fatty tissue layer thinning은 3 군모두에서 관찰되었고 항암 3 일군이 가장 심하게 나타났다.

이상의 실험결과를 보면 술전 항암제투여가 초기에 시행한 경우에는 조직의 치유에 초기 5 일정도까지는 영향을 미치나 7 일 이 지나면 정상범주로 회복함을 알 수 있었고 실험결과 항암제 투여후 3 일째 피관 형성한 군에서 피관치유가 늦어진 것으로 관찰되어 인체에서 항암 투여후 수술시기는 인체면역계가 회복하는 시기를 3주이상 경과후 적어도 4주째 수술시기를 정하는 것이 유리하리라 생각되었다.

참고문헌

1. Goss G, Paszat L, Newman TE, Evans WK, Browman G, Use of preoperative chemotherapy with or without postoperative radiotherapy in technically resectable stage IIIA non-small-cell lung cancer, *Cancer-Prev-Control*, 1998; 2(1):32-9.
2. Hoffman PC, Haraf DJ, Ferguson MK, Drinkard LC, Vokes EE, Induction chemotherapy, surgery, and concomitant chemoradiotherapy for carcinoma of the esophagus: a long-term analysis, *Ann-Oncol*, 1998; 9(6):647-51.
3. Imbriaco M, Yeh SD, Yeung H, Zhang JJ, Healey JH, Meyers P, Huvos AG, Larson SM, Thallium 201 scintigraphy for the evaluation of tumor response to preoperative chemotherapy in patients with osteosarcoma, *Cancer* 1997; 80(8): 1507-12.
4. Ilson DH, Bains M, Ginsberg RJ, Kelsen DP, Neoadjuvant therapy of esophageal cancer, *Surg-Oncol-Clin-N-Am* 1997; 6(4): 723-40.
5. Albain KS, Induction chemotherapy with/without radiation followed by surgery in stage III non-small cell lung cancer 1997; 9:51-7.
6. Souhami RL, Craft AW, Van-der-Eijken JW et, Randomised trial of two regimens of chemotherapy in operable osteosarcoma: a study of the European osteosarcoma intergroup, *Lancet* 1997; 350(9082): 911-7.
7. Law s, Fok M, Chow S, Wong J, Preoperative chemotherapy versus surgical therapy alone for squamous cell carcinoma of the esophagus: a prospective ransomized trial, *J Thorac Cardiovasc surg* 1997; 114(2): 210-7.
8. Recht A, Preoperative chemotherapy and breast conserving therapy: Why not everyone? *J Clin Oncol*, 1997; 15(7):2483-93, 1997.

9. Gilks CB, Effects of preoperative chemotherapy on the morphology of resectable breast carcinoma, *Mod Pathol* 1997; 9(9): 893-900.
10. Dunphy FR, Dunleavy TL, Harrison BR, et al, Erythropoietin reduces anemia and transfusions after chemotherapy with paclitaxel and carboplatin, *Cancer* 1997; 79(8): 1623-8.
11. Cascinu S, Labianca R, Graziano F et al, Intensive weekly chemotherapy for locally advanced gastric cancer using 5-FU, cisplatin, epidoxorubicin, 6s-leucovorin, glutathione and filgrastim, *Br J Cancer* 1998; 78(3): 390-3.
12. Wunder JS, Paulian G, Huvos AG, et al, The histological response to chemotherapy as a predictor of the oncological outcome of operative treatment of Ewing sarcom, *J Bone Joint Surg Am* 1998; 80(7): 1020-33.
13. Meyers PA, Gorlick R, Heller G, et al, Intensification of preoperative chemotherapy for osteogenic sarcoma: results of the Memorial Sloan Kettering protocol, *J Clin Oncol* 1998; 16(7): 2452-8.
14. Ueda M, Ueki-K, Kumagai K et al, Apoptosis and tumor angiogenesis in cervical cancer after preoperative chemotherapy, *Cancer Res* 1998; 58(11): 2343-6.
15. Eberhardt W, Wilke H, Stamatis G, et al, Preoperative chemotherapy followed by concurrent chemoradiation therapy based on hyperfractionated accelerated radiotherapy and definitive surgery in locally advanced non-small-cell lung cancer, *J Clin Oncol* 1998; 16(2) 622-34.
16. Dunphy F, Boyd J, Dunleavy T, Paclitaxel and carboplatin in head and neck cancer, *Semin Oncol* 1997; 24: s19-25-s19-27.
17. Mazurkiewicz M, Peszynski J, Kozuch GW, The value of inductive chemotherapy in radiation treatment of advanced neoplasms of the head and neck, *Otolaryngol* 1995; 49 suppl 20: 287-91.
18. Rotman M, Aziz H, Choi K, et al, The role of infusional chemotherapy and radiation in organ preservation, *Rays* 1997; 22(3): 372-92.
19. Harris AL, Antiangiogenesis for cancer therapy, *Lancet* 1997; supply: sII 13-5.
20. Kohno N, Nakazawa E, Kusunoki M, Nishiya M, Chemotherapy of head and neck cancer, *Gan-To-Kagaku-Ryoho* 1996; 23(3): 277-82
21. Fonseca E, Cruz JJ, Duenas A, et al, Do the conventional clinicopathologic parameters predicts for response and survival in head and neck cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy? *Tumor* 1996; 82(6): 560-6.
22. Kumazawa H, Wada Y, Tachikawa T, et al, Mechanism of cisplatin and pemetrexid therapy on head and neck carcinomal, *Hum Cell* 1996; 9(1): 69-74.
23. Fujii M, Tokumaru Y, Imanishi Y, et al, Combination chemotherapy with nedaplatin and 5-FU for head and neck cancer, *Gan-To-Kagaku-Ryoho* 1998; 25(1): 53-8.
24. Ho CM, Lam LK, Wei WI, et al, Regional chemotherapy for recurrent squamous head and neck cancers through a saphenous vein interposition graft, *Arch-Otolaryngol-Head-Neck-Surg* 1993; 119(6): 608-11.
25. Inuyama Y, Fukuda S, Horiuchi M, Current status of clinical trials on pre-and postoperative chemotherapy for head and neck cancer 1994; Suppl 3: 338-47.
26. 정인교, 민병국, 술전 및 술후 항암제 요법이 백서 배부창상치유에 미치는 영향, 부산대학교 치과대학 학술지 1990; 1: 12-19.
27. 선우민, 김경옥, Fluorouracil투여가 백서 자가피부이식시 치유에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 대한구강악안면외과학회지, 1997; 23(2): 273-282.
28. Cherrick HM, Weissman D, Effects of topically applied 5-Fluorouracil in the syrian hamster, *J. Investigative Dermatol*, 1974; 63: 284-291.
29. 김수관, 여환호, 진행된 구강암의 항암화학요법에 대한 임상적 연구, 대한구강악안면외과학회지, 1993; 19(1):12-21.
30. 서영교, 김옥규, 백서 도상 피부피관에서 허혈-재관류손상의 예방: Histamine 수용체봉쇄약물과 L-arginine의 효과비교, 부산대학교 학술지 2002; 1: 3-11.

사진부도 ①

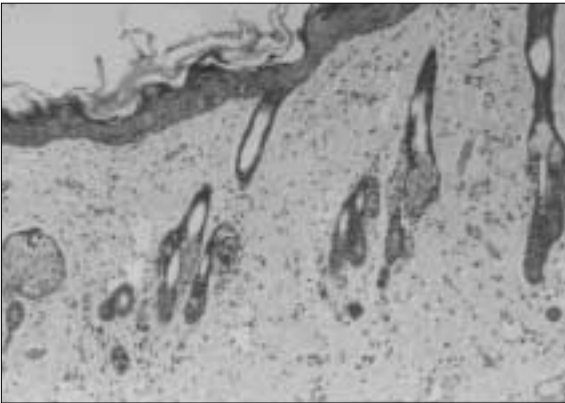


Fig. 4. control 3days(×200)

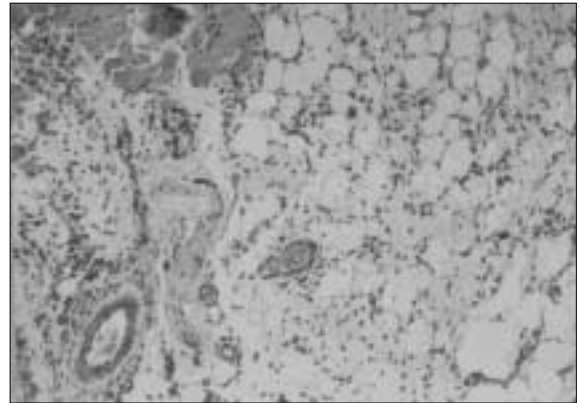


Fig. 5. control 5days(×200)

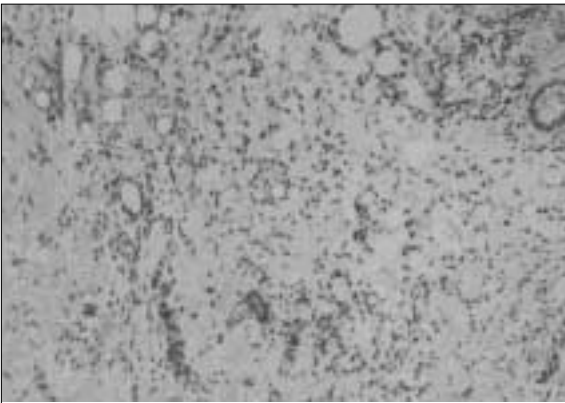


Fig. 6. control 7days(×200)

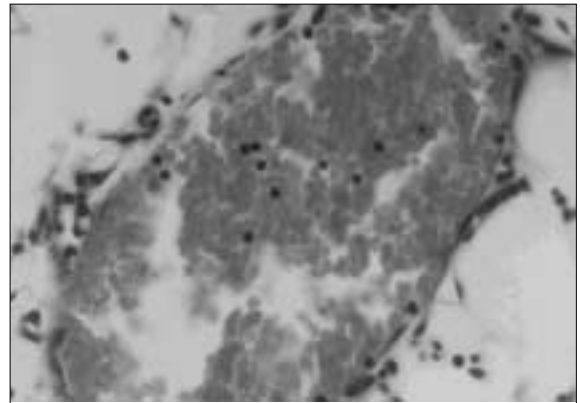


Fig. 7. control 5days(×400)

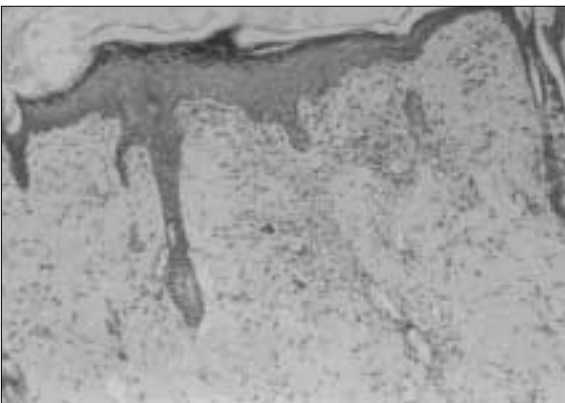


Fig. 8. Chemo.24hrs-3Ds(×200)

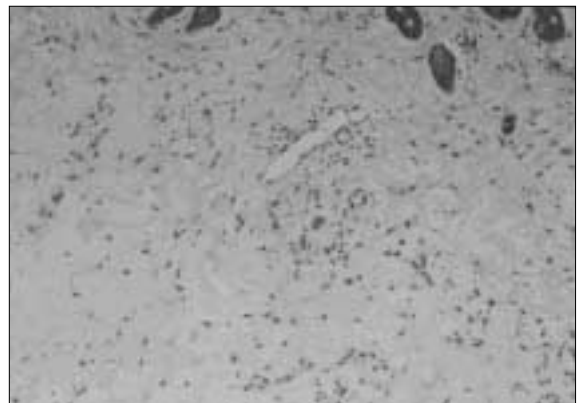


Fig. 9. Chemo.24hrs-5Ds(×200)

사진부도 ②

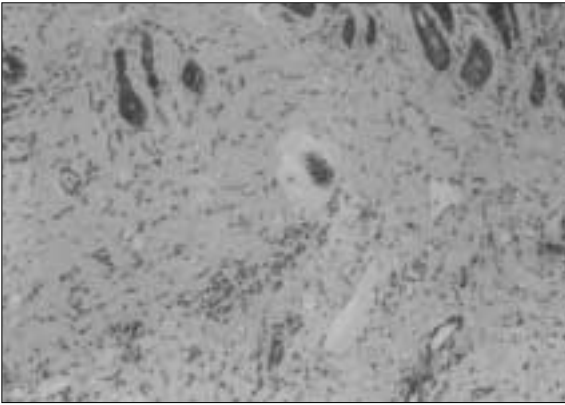


Fig. 10. Chemo24.hrs-7Ds (×200)

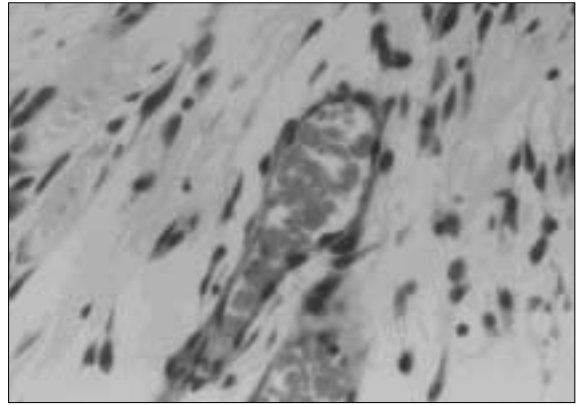


Fig. 11. Chemo.24hrs-5Ds (×400)



Fig. 12. Chemo.3days-3Ds (×200)

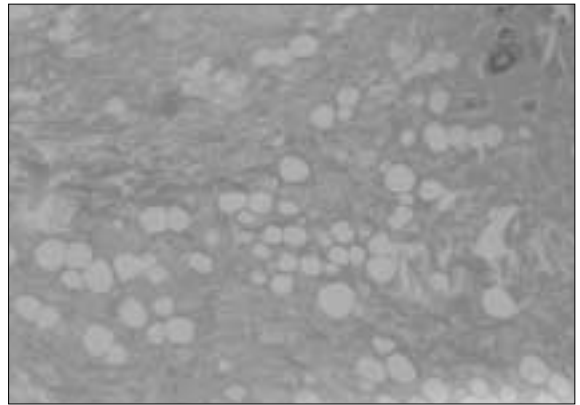


Fig. 13. Chemo.3days-5Ds (×200)

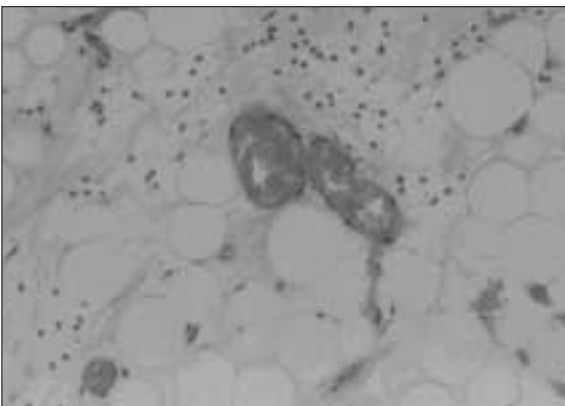


Fig. 14. Chemo.3days-3Ds (×400)

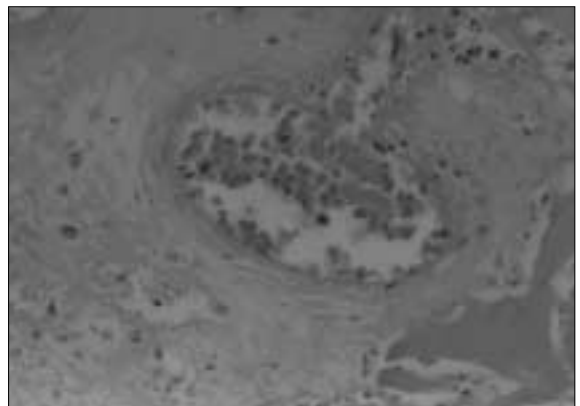


Fig. 15. Chemo.3days-5Ds (×400)