

자가지방이식에서 지방주입 케놀러의 직경과 지방세포 생존력간의 상관관계 분석

민경희¹·허찬영¹·이은혜¹·은석찬¹·장 학¹·김석화¹·민경원¹·박성수²

서울대학교병원 성형외과 성형재건연구소¹, BK동양 성형외과²

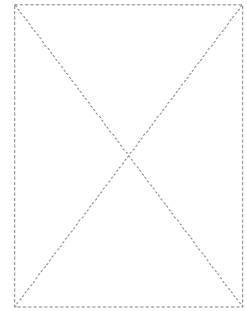
Autologous fat graft is a common procedure in cosmetic and reconstructive plastic surgery. However, a resorption is the limitation of fat graft, and there have been numerous attempts to find appropriate methods for long-term graft survival. The purpose of this study was to determine an optimum injection cannula that gave the highest numbers of viable fat cells. Fat tissue harvested from the periumbilical area of 5 patients was injected through 17G, 18G and 19G microcannulas. Injected fat tissue was then separated to mature adipocytes and preadipocytes, and cellular viability was quantitatively evaluated by XTT reduction assay. Results showed no significant difference in viability of both mature adipocytes and preadipocytes between groups. Based on these results, we concluded that there is no relationship between the size of injection cannula and the viability of fat cells. To support our conclusion, further *in-vivo* study is required.

Key Words: Adipose tissue, Graft

I. 서 론

자가지방이식술은 1893년 Neuber¹에 의해 처음 시작된 이후, 1980년대 Illouz²에 의해 지방흡입술이 소개되어 흡입한 지방이 이식의 새로운 공급원이 되면서 자가지방이식술이 발전하게 되었다. 그 후 Coleman³의 '구조적 지방이식(structural fat graft)'의 개념이 도입되면서 현재 많은 성형외과 의사들이 Coleman의 술기를 보편적으로 사용하고 있다. 자가지방이식은 이상적인

Received November 29, 2008
Revised January 22, 2009
Accepted January 25, 2009



Correlation Analysis of Injection Cannula's Diameter and Fat Cell Viability in Autologous Fat Grafts

Kyung Hee Min, M.D.¹,
Chan Yeong Heo, M.D.¹,
Eun Hye Lee, B.S.¹,
Seok Chan Eun, M.D.¹,
Hak Chang, M.D.¹,
Sukwha Kim, M.D.¹,
Kyung Won Minn, M.D.¹,
Seong Soo Park, M.D.²

¹Plastic Surgery Research Institute, Department of Plastic Surgery, Seoul National University College of Medicine, Seoul; ²BK Dong Yang Plastic Surgery Clinic, Seoul, Korea

Address Correspondence: Chan Yeong Heo, M.D., Department of Plastic Surgery, Seoul National University, Bundang Hospital, 166 Gumi-ro, Bundang-gu, Sungnam-si, Gyeonggi-do 463-707, Korea.
Tel: 031) 787-7222 / Fax: 031) 787-4055 /
E-mail: lionheo@snuh.org

* 본 연구는 대한성형외과개원의협의회 연구진흥비 지원으로 수행되었음.

충전물로서 체내에서 충분한 양을 쉽게 얻을 수 있고 경제적이며 생물학적인 충전물로 부작용이 적어 성형외과 영역에서 미용 뿐 아니라 재건수술에도 많이 이용되고 있다. 그러나 아직 이식 후 지방의 생존력이 문제점으로 남아 있는데 기존의 여러 연구들에 의하면 이식된 지방의 20-90%가 흡수된다고 보고하고 있다.^{4,5} 따라서 이식된 지방의 생존력을 높이기 위한 많은 연구들이 행해지고 있으며 최근에는 지방유래줄기세포에 대한 관심과 연구가 활발해지면서 자가지방이식에서 지방유래줄기세포의 역할과 응용에 대한 연구가 이루어지고 있다.^{6,7}

본 연구에서는 자가지방이식의 과정에서 주입 시 사

용되는 케놀러의 직경에 따른 지방세포의 생존력을 알아봄으로써 주입 시 적절한 케놀러의 직경을 알아보고자 하였다. 그리고 지방조직을 성숙한 지방세포와 지방전구세포로 분리하여 평가해봄으로써 이식 후 지방세포의 생존에 영향을 미칠 수 있는 지방전구세포의 생존력을 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

실험에 사용 될 지방조직을 얻기 위해 본원에서 안면부 지방이식이 계획되어 있는 환자 5명을 대상으로 하였으며 모든 실험과정은 원내 임상시험심사위원회 (Institutional Review Board; IRB) 승인을 전제로 하여 사전에 환자의 동의를 얻어 시행하였다.

환자의 배꼽 주위에서 12G standard Coleman aspirator cannula(Byron Medical, Inc, AZ, USA)가 부착된 10 cc Luer-Lok 주사기를 이용하여 지방을 채취한 후 500g로 2분간 원심분리를 시행하였다. 원심분리한 지방조직에서 상층의 지방층(oily supernatant)과 하층의 액체층(liquid infranatant)을 제거한 중간층의 지방조직 1 cc를 1 cc Luer-Lok 주사기에 담고 17G, 18G 그리고 19G의 미세케놀러(microcannula)를 부착한 뒤 일정한 속도(1 cc/20 sec)를 유지하며 지방을 사출시켰다. 각각의 사출된 지방조직 1 cc에 3 mL의 제 1형 콜라겐 분해효소(type I collagenase)를 넣어 37°C에서 45분간 배양(incubation)하여 조직을 분해(digestion)시켰다. 그 다음 10% 우태혈청(fetal bovine serum)이 포함된 phosphate-buffered saline을 같은 양으로 넣어 콜라겐분해효소(collagenase)를 비활성화 시킨 후 250 μ m의 나일론 망을 통해 여과시켰다. 망을 통과한 조직에서 부유층(floating layer)을 분리하여 성숙한 지방세포로 분리하였다. 그리고 나서 남은 조직을 200 g로 10분간 원심분리한 후 침전물(pellet)을 지방전구세포로 분리하였다. 대조군으로는 같은 방법으로 채취한 지방에서 미세케놀러(microcannula)를 통해 사출시키지 않은 지방조직을 같은 방법으로 성숙한 지방세포와 지방전구세포로 분리하였다.

성숙한 지방세포와 지방전구세포의 생존력을 평가하기 위해 XTT 환원분석(XTT reduction assay)을 시행하였다. XTT 환원분석(XTT reduction assay)은 살아있는 세포에서 미토콘드리아 탈수소효소(mitochondrial dehydrogenase)에 의해 형성되는 Formazan 결정의 색

소를 흡광도로 측정하는 방법으로 흡광도와 살아있는 세포의 수가 양의 상관관계를 나타내게 된다.⁸ 본 실험에서는 Cell Proliferation Kit II XTT(Roche Applied Science, Indian-apolis, USA)를 사용하였으며 각 군별로 XTT kit에 성숙한 지방세포와 지방전구세포로 분리된 조직 100 μ l를 넣고 2시간동안 배양한 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과에 대한 통계분석은 각 그룹 간에 Kruskal-Wallis 검정을 시행하였다.

III. 결 과

Kruskal-Wallis 검정을 시행한 결과 유의수준 5% 이내에서 케놀러의 직경에 따른 성숙한 지방세포의 생존력은 p 값이 0.979로 각 군 간의 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았으며(Fig. 1) 지방전구세포의 생존력도 p 값이 0.967로 각 군 간의 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 2).

IV. 고 찰

자가지방이식은 쉽게 많은 양을 얻을 수 있고 자가조직으로서 생물학적으로 완전히 적합하며 필요 시 제거가 가능한 거의 이상적인 충전물이라고 할 수 있다. 따라서 성형외과 영역에서 미용 및 재건수술에 많이 이용되고 있다. 또한 임상적인 경험을 통해 자가지방이식 시 결손부위의 충전과 함께 이식된 지방이 이식 부위의 피부 및 이식 주변조직에 영향을 끼치는 것을 알 수 있었다. Coleman³은 임상적 경험을 통해 지방이식을 받은 부위의 피부의 주름이 적어지고 모공이 작아

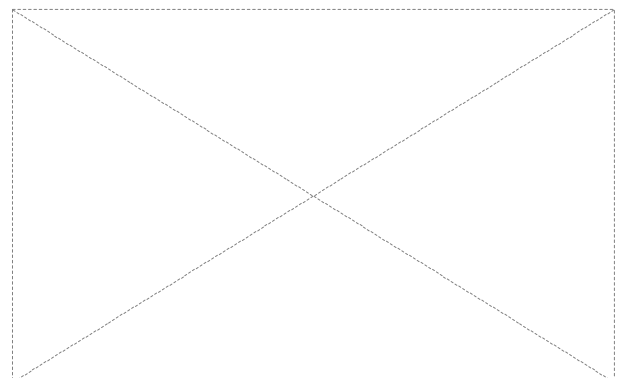


Fig. 1. Cellular viability of mature adipocytes was measured by XTT reduction assay. There was no significant difference between groups($p=0.979$).

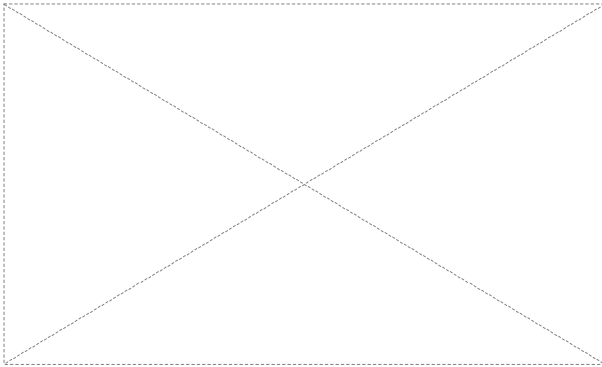


Fig. 2. Cellular viability of preadipocytes was measured by XTT reduction assay. There was no significant difference between groups($p=0.967$).

지며 색소침착이 호전되는 것을 볼 수 있었다고 하였다. 이와 더불어 최근 줄기세포에 대한 관심이 높아지고 지방조직에서 가장 많은 줄기세포를 얻을 수 있다는 것이 알려지면서 자가지방이식에서 지방유래줄기세포의 역할에 대한 연구가 진행되고 있으며, 이제 자가지방이식은 충전제의 역할 뿐 아니라 항노화 및 상처치유 등의 목적으로 사용되기 시작했다. Moseley 등⁶은 동물실험을 통해서 지방이식 시 지방유래줄기세포를 혼합하여 이식했을 때 이식 6개월 후 이식조직의 무게의 감소가 현저히 적었으며 조직학적 조건에서 이식된 조직이 지방의 형태를 더욱 잘 유지하였다고 보고하였다. 그리고 Yoshimura 등⁷은 자가지방이식을 이용한 지방확대술에서 흡입한 지방조직의 절반에서 지방유래줄기세포를 추출하고 남은 절반의 지방조직과 혼합하여 이식했을 때 임상적으로 만족할 만한 결과를 얻었다고 하였다.

그러나 자가지방이식에서 이식 후 지방세포의 생존력과 관련하여 지방조직의 흡수에 따라 술후 결과를 예측하기가 어려운 문제가 남아 있다. Coleman³은 이에 대해 지방을 채취하여 이식하는 과정에서 물리적인 손상을 최소화 하는 것이 중요하다고 하였으며, 이때 지방전구세포가 성숙된 지방세포에 비해 물리적 자극에 대한 저항성이 크기 때문에 지방이식 후이식조직의 유지에 중요한 역할을 한다고 하였다. 따라서 지방의 생존력을 높이기 위해 지방이식과정에서 지방을 채취하는 부위, 채취방법, 지방의 정제방법 그리고 주입방법 등에 대한 연구들이 많이 시행되고 있으나 아직까지 확립된 지방이식의 방법은 없는 상태이다.⁹ 본 연구에서는 지방이식의 과정에서 주입하는 케놀러의 직경

에 따른 지방세포의 생존력을 실험을 통해 알아보았다.

기존의 보고들에 의하면 Sommer와 Sattler¹⁰는 주입 시 주사기의 직경과 지방이식의 생존력 간의 상관관계가 없다고 주장하였으며, Chajchir과 Benzaquen¹¹은 1.5-2 mm의 직경이 큰 주사기를 사용해야 지방세포의 손상을 막을 수 있다고 주장하였다. Ozsoy 등¹²은 실험을 통해 4 mm 흡입케놀러(aspiration cannula)가 2 mm의 것에 비해 생존한 지방세포가 216%로 많았으며, 주입 시 2.5 mm의 케놀러가 1.6 mm의 것에 비해 생존한 지방세포가 150%로 많았다고 보고하였다. 또 다른 실험연구로 Erdim 등¹³은 6 mm의 흡입케놀러(aspiration cannula)가 2와 4 mm의 것에 비해 유의하게 생존한 지방세포가 많았으며, 14G, 16G 그리고 20G의 주사기로 주입한 경우를 비교하였을 때 주사기의 직경에 따라 생존한 지방세포의 수에 유의한 차이를 보이지 않았으나 채취 후 주사기로 주입시키지 않은 지방조직과 비교해 보았을 때에는 모든 군에서 생존한 지방세포의 수가 유의하게 적게 나타났다고 보고하였다.

본 실험에서는 기존의 연구와 달리 지방조직을 성숙한 지방세포와 지방전구세포로 분리하여 지방이식의 생존에 영향을 미치는 지방전구세포의 생존력을 알아보고자 하였다. 그리고 조직염색을 통해 생존한 세포의 수를 세어 평가한 기존의 실험방법과 달리 본 실험에서는 XTT 환원분석(XTT reduction assay)을 이용하여 세포의 생존력을 흡광도로 비교하였다. 실험결과 성숙한 지방세포와 지방전구세포 모두에서 케놀러의 직경에 따라 세포 생존력에 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았으며 케놀러를 통과시키지 않은 지방조직과도 생존력의 유의한 차이를 보이지 않았다. 따라서 현재 임상에서 주로 사용되는 17-19G 케놀러로 지방을 주입할 때 지방세포의 생존력에 유의한 영향을 끼치지 않는다는 것을 알 수 있었다.

그러나 이러한 결론을 뒷받침하기 위해서는 앞으로 본 실험결과를 바탕으로 케놀러 직경에 따라 사출된 지방을 *in vivo*로 직접 이식한 후 시간에 따른 지방조직의 생존력을 비교하는 실험이 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

자가지방이식 시 주입하는 케놀러의 직경에 따른 세포의 생존력을 알아보기 위해 케놀러로 통과시키지 않

은 지방조직을 대조군으로 포함하여 지방조직을 성숙한 지방세포와 지방전구세포로 분리하여 XTT 환원분석(XTT reduction assay)을 통해 생존력을 비교해 본 결과 각 군 간의 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 이로써 지방이식 시 주입하는 케놀러의 직경이 세포의 생존력에 영향을 끼치지 않는 것을 알 수 있었으나 향후 본 연구의 결론을 뒷받침할 수 있는 *in vivo* 실험이 필요하다.

REFERENCES

1. Neuber G, Cited from; Billings E, May JW: Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg* 83: 368, 1989
2. Illouz YG: Body contouring by lipolysis: a 5 year experience with over 3000 cases. *Plast Reconstr Surg* 72: 591, 1983
3. Coleman SR: Structural fat grafting: more than a permanent filler. *Plast Reconstr Surg* 118: 108S, 2006
4. Nguyen A, Pasky KA, Bouvier TN, et al.: Comparative study of survival of autologous adipose tissue taken and transplanted by different techniques. *Plast Reconstr Surg* 85: 378, 1990
5. Matsudo PK, Toledo LS: Experience of injected fat grafting. *Aesthetic Plast Surg* 12: 35, 1988
6. Moseley TA, Zhu M, Hedrick MH: Adipose-derived stem and progenitor cells as fillers in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg* 118: 121S, 2006
7. Yoshimura K, Sato K, Aoi N, et al.: Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation: supportive use of adipose-derived stem/stromal cells. *Aesthetic Plast Surg* 32: 48, 2008
8. Smith, P, Adams WP, Lipschitz AH, et al.: Autologous human fat grafting: effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plast Reconstr Surg* 117: 1836, 2006
9. Locke MB, de Chalain TMB: Current practice in autologous fat transplantation suggested clinical guidelines based on a review of recent literature. *Ann Plast Surg* 60: 98, 2008
10. Sommer B, Sattler G: Current concepts of fat graft survival: histology of aspirated adipose tissue and review of literature. *Dermatol Surg* 26: 1159, 2000
11. Chajchir A, Benzaquen I: Fat grafting injection for soft tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg* 84: 921, 1989
12. Ozsoy Z, Kul Z, Bilir A: The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: a quantitative analysis. *Aesthetic Surg J* 26: 287, 2006
13. Erdim M, Tezel E, Numanoglu A, et al.: The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 19: [Epub ahead of print], 2008