

말초신경 재건을 위한 인회석 박막 코팅 미세공성 신경재생관(nerve conduit)의 개발

이종호¹ · 황순정¹ · 최원재¹ · 김성민^{1,4} · 김남열¹ · 이은진¹ · 안강민¹ · 명훈¹ · 서병무¹ · 최진영¹
정필훈¹ · 김명진¹ · 김현만² · 박경표³ · 김종수³

¹서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, ²구강해부학교실, ³구강생리학교실,
⁴강릉대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2003;29:151-156)

DEVELOPMENT OF MICROPOROUS CALCIUM PHOSPHATE COATED NERVE CONDUIT FOR PERIPHERAL NERVE REPAIR

Jong-Ho Lee¹, Soon-Jeong Hwang¹, Won-Jae Choi¹, Soung-Min Kim^{1,4}, Nam-Yeol Kim¹, Kang-Min Ahn¹,
Hoon-Myung¹, Byoung-Moo Seo¹, Jin-Young Choi¹, Pill-Hoon Choung¹, Myung-Jin Kim¹,
Hyun-Man Kim², Kyung-Pyo Park³, Joong-Soo Kim³

¹Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, ²Dept. of Oral Anatomy,

³Dept. of Oral Physiology, College of Dentistry and Dental Research insititue, Seoul National University,

⁴Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Kangnung National University

This study was performed to develop a useful nerve conduit which provides favorable environment for Schwann cell viability and proliferation. Milipore membrane of 0.45µm pore size was selected because it permits nutritional inflow from the outside of the conduit and prevents from invading the fibrotic tissue into the conduit. The membrane was rolled and sealed to form a conduit of 2mm diameter and 20mm length. To improve the axonal regeneration and to render better environment for endogenous and exogenous Schwann cell behaviour, the microgeometry and surface of conduit was modified by coating with thin film of calcium phosphate.

Cellular viability within the conduit and attachment to its wall were assessed with MTT assay and SEM study. Milipore filter conduit showed significantly higher rate of Schwann cell attachment and viability than the culture dish. However, the reverse was true in case of fibroblast. Coating with thin film of low crystalline calcium phosphate made more favorable environment for both cells with minimal change of pore size.

These findings means the porous calcium phosphate coated milipore nerve conduit can provide much favorable environment for endogenous Schwann cell proliferation and exogenous ones, which are filled within the conduit for the more advanced strategy of peripheral nerve regeneration, with potential of reducing fibrotic tissue production.

Key words : Nerve regeneration, Milipore conduits, Schwann cells, Calcium phosphate coating

I. 서 론

구강악안면외과 임상에서 종종 지각신경이나 운동신경의 결

손을 접하게 된다¹⁾. 근래에 신경 결손이 있는 경우 미세현미경수술의 발전에 힘입어 자가신경 (대이개신경, 비복신경) 이식술로 회복시켜주고 있으나^{2,3)}, 신경 손상의 정도나 손상 기간, 환자의 나이 등 여러 가지 변수가 존재하여 그 결과를 정확히 예측하기는 힘들다⁴⁾. 특히 발치나 임플란트 식립 등 외과적 술식과 관련된 하치조신경이나 설신경의 손상은 환자-의사간에 법정 분쟁을 야기하기도 한다. 이와 같이 신경결손이 있는 경우 그 기능의 회복을 위해서는 우선 신경조직의 연속성이 복원되어야 하는데, 이러한 목적의 신경재건술은 수술현미경의 발전과 함께 현저히 발전되었고, 신경이식술이 소개되면서 활기를 띠게 되었다. 결

이 종 호

서울시 종로구 연건동 28번지
서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Jong-Ho Lee

Dept. of OMFS, College of dentistry, Seoul National University
28-2, Yun-Gun dong, Chong-No gu, Seoul, South Korea
Tel: 82-2-740-8705, 760-3813 Fax: 82-2-766-4948
E-mail: leejongh@plaza.snu.ac.kr

* 본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(과제 고유번호 : 01-PJ5-PG3-20507-0033).

손 된 신경의 수복 물질로는 자가신경이식이 많이 사용되지만, 그 기능의 회복에 있어서는 임상적으로 그 결과가 매우 다양하여 아직도 완전하다고 할 수 없다⁷⁾. 이러한 자가 신경 대체물질로 요즈음은 인공신경을 이용한 신경재건을 시도하고 있는데, 결손 된 신경조직을 연결하고 신경섬유 재생의 통로 역할을 하는 생체재료학적 방법과 신경 재생을 촉진하고 그 환경을 양호하게 하고자 겔이나 향신경성인자를 사용하거나 또는 유전자조작세포의 이용 등 조직공학적 접근법이 시도되고 있다^{8,12)}.

신경섬유가 성장하기 위해서는 슈반세포(Schwann cell)의 가이드가 중요한 것으로 알려져 있다. 그러나 현재까지 개발되어 있는 신경재생촉진용 재료표면은 대개 소수성이기 때문에 슈반세포의 부착이 어려워 신경섬유 재생 유도에 어려움이 있다. 따라서 신경 재생촉진용 재료는 신경재생에 유리한 내면의 형태와 그리고 슈반세포의 부착 성장을 돕도록 도관의 내면을 변화되어야 한다. 본 연구의 목적은 자가 신경을 대신할 이러한 인조신경을 만드는 데 있어서 흔히 구하기 쉬운 다공성의 비흡수성 재료에 생체 고반응성 불완전 인회석결정 박막을 코팅하였을 경우 내강의 변화 그리고 섬유모세포와 Schwann cell의 세포 활성화 및 부착도를 측정하여 인공신경도관으로서의 가능성을 살펴보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. Cellulose acetate filter(Millipore Co, USA)를 이용한 신경재생관의 제조

섬유세포 등은 침투되지 않으나 조직액이 적절히 관내로 유입되어 뉴런이나 슈반세포에 영양을 공급할 수 있도록 미세공성의 밀리포아 필터(pore size 0.45 μ m)를 고정용 철사(0.016")를 이용하여 직경이 2mm가 되는 도관을 형성하였으며, 이음매는 가능한 세공이 많이 막히지 않게 glue(MF cement, Millipore Co, USA)로 붙였다. (Fig. 1)



Fig. 1. Nerve conduit (diameter 2mm, length 20mm) made with Millipore membrane

2. 인회석 박막 코팅^{13,14)}

과잉포화상태의 안정된 칼슘과 포스페이트 이온 용액을 낮은 온도에서 준비하여 합성된 칼슘 포스페이트 인회석 결정체들을 0.2 N HCl (1 mg/ml) 에 녹였다. 이 산성 이온 용액 1ml를 0.2 M의 수산화메틸아미노메탄 용액 1.35ml와 섞어 4°C에서 칼슘-포스페이트 침전물을 만든 다음, 칼슘-포스페이트 침전물은 여과하여 (포어 사이즈:0.22 μ M) 준안정의 칼슘과 포스페이트 이온 용액 (pH 7.3)을 얻었다. 코팅시킬 밀리포아 필터를 8°C에서 밀리포아 필터표면에서 칼슘-포스페이트의 핵형성을 유도하기 위하여 24 시간 동안 준안정의 칼슘-포스페이트 용액에 담구었다. 그리고 나서 인회석 결정들의 성장에 의한 LCAs(low-crystalline calcium phosphate apatites)의 얇은 막 코팅을 형성하기 위해 온도(60°C까지)를 증가시켜 준비한 밀리포아 필터에 칼슘포스페이트 코팅처리를 하였다. 박막 코팅 정도를 확인하기 위해 코팅된 도관을 종축으로 이등분하고 내강을 잘 편 후 isoamyle acetate에 담갔다가 이산화탄소를 사용한 임계점 건조기로 건조시키고 gold를 증착하여 주사전자현미경 (JSM-6000 series, WDS/ EDS system, Japan)으로 관찰하였다.

3. 슈반세포의 분리 및 배양^{15,16)}

생후 1일된 백서의 척수 후근 신경절을 채취하여(Fig. 2) CMF-HBSS에 모으고, 15ml 원심 튜브에 0.25% collagenase 1 ml와 0.2% DNase 0.1 ml를 가하고 37°C에서 90분간 incubation하였다. 효소액을 버린 뒤 0.125% trypsin-EDTA 용액 2ml를 가한 뒤 10분간 incubation하였다. 조직을 바닥에 남긴 채 효소액을 버린 뒤에 배양액(MEM 93ml, 마혈청 5ml, 50% 포도당 1ml, 2mg/ml 겐타마이신 1ml)을 5ml 가하고 파스퇴르 피펫으로 피펫팅을 약 20회 한 뒤 약 3분간 정지하였다. 상층액을 cell strainer로 filtration하고 위의 debris에 media 5ml를 첨가하여 약 10회 정도 피펫팅을 한 뒤 cell strainer로 거르고 배양액 10ml로 cell strainer를 수세하여 debris에 붙어있는 세포를 모았다. 1000 rpm의 속도로 4°C에서 5분간 원심

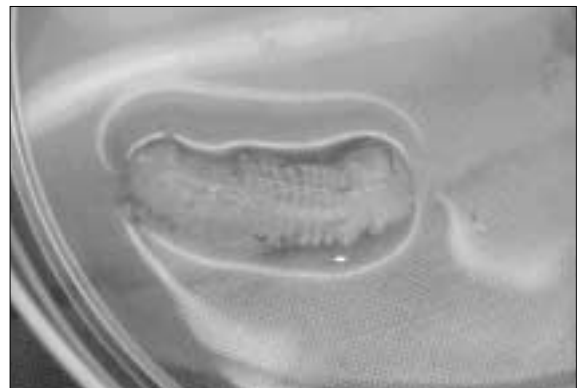


Fig. 2. Dissected spine for dorsal root ganglia harvesting

분리 한 후 상층액을 제거하고 pellet에 배양액을 교체하여 세포 부유액을 만들고 polyethyleneimine 코팅한 페트리 접시에 분주하였다. 배양 1일 후 위의 배양액에 DNA 합성저해제인 cytosine arabinoside 5 μ M을 가한 배양액과 교환하여 3일간 처리하였다. 3일 후 배양액에 bovine pituitary extract 10 μ /ml와 forskolin 2 μ M을 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 4-6일간 배양하고 슈반세포 증식을 확인하기 위해 S-100 항체를 이용하여 면역조직화학검사를 시행하였다.

4. 세포활성도 및 세포부착 검사

세포활성도 및 부착도 검사를 위하여 96-well plate의 각 well에 꼭 맞는 크기로 millipore membrane 및 인회석박막을 코팅한 millipore membrane을 적합 시킨 다음 NIH 3T3 cell line과 위와 같이 준비한 슈반세포를 각 well당 1.0 \times 10⁴개씩 분주한 후 48시간 동안 배양하고 세포활성도를 위해 MTT assay를 그리고 세포부착도를 파악하기 위해 주사전자현미경으로 관찰하였다. 대조군으로는 아무런 처리를 하지 않은 96-well plate로 상정하였다. MTT assay를 위해 배양액 500 μ l 당 20 μ l의 MTT reagent(ATCC catalog # 30-1010k, USA)를 넣고 보라색 침전이 보일 때까지 4시간 배양하였다. 그리고 배양액을 따라내고 200 μ l의 isopropanol을 넣고 5-6

분간 orbital shaker에 넣고 다시 약 2시간 동안 실온의 암소에 두었다가 570nm 파장으로 흡광도를 읽었다. 주사전자현미경 관찰을 위해 half Karnovsky solution에 2시간 동안 전고정하고, 이후 2% osmic acid에 1시간 후고정한 다음 ethanol의 농도를 상승시켜가며 탈수시켰다. Isoamyle acetate에 담갔다가 이산화탄소를 사용한 임계점 건조기로 건조시키고 gold를 중착하여 주사전자현미경 (JSM-6000 series, WDS/ EDS system, Japan)으로 200배의 배율로 임의로 3부위를 관찰하여 600 \times 500 μ m 부위에 부착되어 있는 세포를 카운팅하였다.

III. 결 과

1. 인회석박막 코팅 미세공성관의 주사전자현미경 소견 및 슈반세포 배양

주사전자현미경 상 밀리포아 막 자체는 다공성의 조면을 가지고 있었으며, 인회석 박막을 코팅하여도 다공성의 형태를 잘 유지하였다.(Fig. 3, 4) 생후 1일째의 백서 후근신경절에서 저자들의 방법으로 섬유모세포 성장을 억제시킨 채로 슈반세포를 추출 배양할 수 있었다.(Fig. 5, 6)

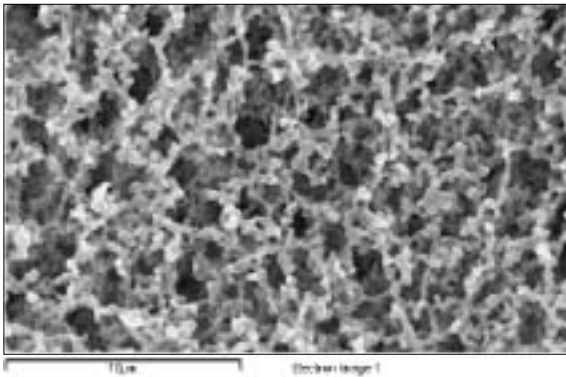


Fig. 3. SEM photograph of Millipore membrane(x100)

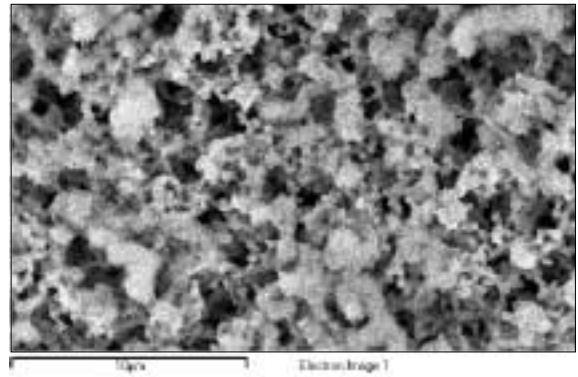


Fig. 4. SEM photograph of calcium phosphate coated Millipore membrane(x100)

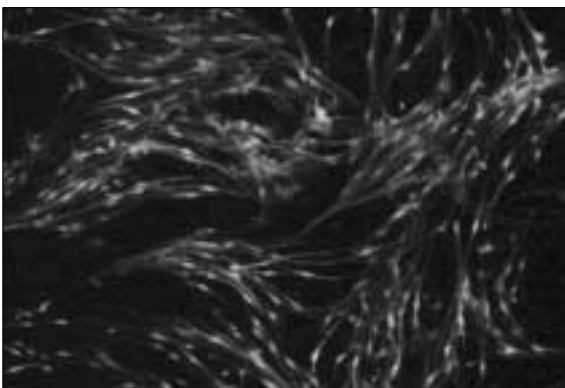


Fig. 5. Primary cultured S-100 positive cells indicating Schwann cells(x100)



Fig. 6. Phase-contrast microscopic view of primary culture showing proliferating Schwann cells(x100)

2. 섬유모세포 및 슈반세포의 세포 활성도 검사

섬유모세포를 이용한 세포활성도에서 인회석박막 코팅 군의 흡광도(파장: 570nm)는 0.85 ± 0.055 , 비처리군은 0.59 ± 0.085 로 인회석박막 코팅군은 대조군의 78.9%, 비처리군은 대조군의 54.8%의 흡광도를 나타냈다(Table 1). 또한 각 군을 Mann-Whitney U-test ($p < 0.05$)를 이용하여 비교한 결과 처리군이 비처리군에 비해 우수하였으나 두군 공히 대조군에 비해서는 열등하였다.(Fig. 7) 슈반세포의 활성도 조사에서 코팅군과 비코팅군에서 흡광도를 측정된 결과 각 실험군은 모두 대조군에 비해 훨씬 높은 활성도를 보여 더 많은 세포들이 부착하여 생존한 것으로 나타났으

며, 인회석 박막 처리군(0.45 ± 0.042)이 비처리군(0.36 ± 0.046)에 비해 생존도가 더 높았다($p < 0.05$)(Fig. 8).

3. 섬유모세포 및 슈반세포의 세포부착도

위에서 시행한 바와 같이 각 세포군을 2.5% glutaraldehyde로 10분간 고정시킨 후 주사전자현미경으로 관찰한 결과 슈반세포는 인회석박막 코팅군에서는 38.21 ± 10.05 , 그리고 비코팅군은 24.36 ± 5.55 개로 코팅군에서 더 나은 세포부착을 보였다.(Table 2) 섬유모세포는 대조군보다는 열등하였으나, 코팅군이 비코팅군보다 양호한 결과를 나타냈다.(Fig. 9, 10)

Table 1. Cell viability of fibroblast and Schwann cell (OD, 570nm)

	control	coated	noncoated
Fibroblast (3T3 cell line)	1.07 ± 0.053	0.85 ± 0.055	0.59 ± 0.085
Schwann cell	0.27 ± 0.025	0.45 ± 0.042	0.36 ± 0.046

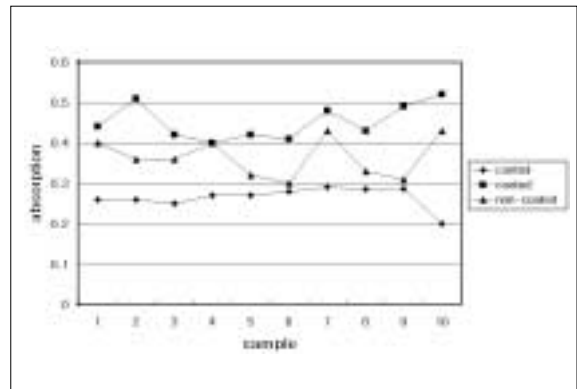


Fig. 7. Cell viability test of fibroblast(NIH 3T3 cell)

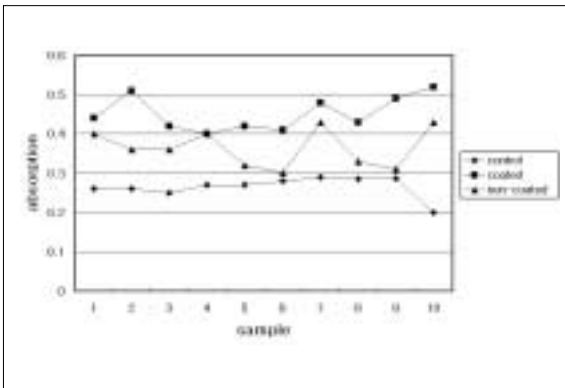


Fig. 8. Cell viability test of Schwann cell

Table 2. Cellular adhesion of fibroblast and Schwann cell (cell number/600x500 μm)

	control	coated	noncoated
Fibroblast (3T3 cell line)	85.38 ± 23.53	52.54 ± 14.35	23.29 ± 7.24
Schwann cell	22.38 ± 14.24	38.21 ± 7.05	24.36 ± 5.55

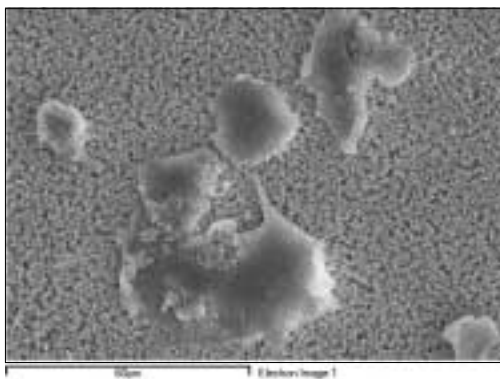


Fig. 9. NIH 3T3 cell in coated MF(SEM, x1000)



Fig. 10. Schwann cell in coated MF(SEM, x1000)

IV. 총괄

신경결손복원술로는 자가신경이식이 가장 많이 사용되지만⁶⁷⁾ 동종 또는 이종신경이식의 연구와 함께 결손된 신경조직을 연결하고 신경섬유 재생의 통로 역할을 하게 하는 중피성 실, 신경의 초관(perineurial tube), 실리콘관(silicone tube), 자가정맥(Chiu,1982) 및 생체 흡수가 가능한 합성 통로의 실험적 연구가 많이 진행되었다¹⁷⁻²³⁾. 재생통로 술식은 신경결손이 있을 경우 주변 조직에서 과급되는 교원섬유의 증식을 막고 재생신경이 원위부 신경단과 연결되도록 유도하는데 그 목적이 있으며 Table 3에 서와 같이 다양한 재료들이 사용되고 있다.

그러나 신경재생통로를 사용한 최근의 연구에 따르면 사용된 폴리머 시스템에 따라 신경재생이 영향을 받음이 알려져 졌으며, 과거에 생각하던 것처럼 단순히 피동적인 관의 역할만 하지 않

Table 3. Materials used for nerve regeneration conduits²⁴⁾

Polymeric materials	
Nonabsorbable materials	
Nonporous	
	Ethylene-Vinyl Acetate Copolymer(EVA)
	Polytetrafluoroethylene(PTFE)
	Polyethylene(PE)
	Silicone elastomers(SE)
	Polyvinyl chloride(PVC)
Microporous	
	Expanded polytetrafluoroethylene(dPTFE)
	Millipore (cellulose filter)
Semipermeable	
	Polyacrylonitrile(PAN)
	Polyacrylonitrile/Poly vinyl chloride(PAN/PVC)
	polysulfone(PS)
Piezo electric	
	Poly vinyl idene fluoride(PVOF)
	PTFE-electret
Release of trophic factors	
	Ethylene vinyl acetate(EVEA)
Absorbable Materials	
	Polyglycolide(PGA)
	Poly lactide(PLLA)
	PGA/PLLA blends
	Polycaprolactone(PCL)
Metals	
	Stainless steel
	Tantalum
Biological Materials	
	Artery
	Collagen
	Hyaluronic acid derivatives
	Mesothelial tubes
	Vein

음이 밝혀졌다^{25,26)}. 특히 관의 물질 통과성과 관의 표면 구조, 전기 부하 그리고 관내에 불용성 겔을 함유하고 있는지 그 여부에 따라 신경 재생이 영향을 받음이 알려져 이러한 것을 적절히 함으로써 신경 재생을 최적화시키고자 하는 연구가 시도되고 있다^{27,28)}.

본 연구에서 저자들은 신경도관 내에 슈반세포를 주입함으로써 신경 재생을 촉진하는 방법에 관심을 갖고 도관 내로 주위로부터 영양공급이 가능하며 또한 슈반세포와 재생되는 뉴런이 생존하고 자라나오기에 좀 더 적합한 도관을 선택하는 과정에서, 구하기 쉽고 미세공성인 밀리포어 필터의 사용을 생각하게 되었다. 시판되고 있는 필터는 매우 저렴하며, 다양한 굵기로 제조할 수 있었다. 여기서 이음매를 Milipore Glue로 부착할 때, 이음매 부분에 세공이 막히게 되는 문제점이 있었으나, 이러한 점은 필요 시 생산자에게 도관 형태의 필터를 주문하면 해결 될 것으로 생각되었다.

인회석은 치아, 뼈 등의 성분으로 조골세포, 섬유모세포 및 치주인대세포 등과 생체적합성이 있는 것으로 알려져 있다. 김현만 등²⁹⁾은 저온에서 흡수성 봉합사 (Vicryl, Ethicon Co Ltd, UK) 표면에 low-crystalline calcium phosphate crystal 박막을 입히고 L929 섬유모세포와 MC 3T3 조골세포를 배양하였을 경우 세포가 부착이 잘되고 증식되는 것을 관찰하였다. 이 점에 저자들은 비록 뼈나 경조직 유래 세포는 아니지만 슈반세포도 부착되거나 세포활동(cellular behaviour)을 유지하는데 도움이 될 수 있을 것이라고 생각하였으며, 저자들의 연구 결과에서도 섬유모세포와 슈반세포의 성장과 부착에 인회석 박막이 더 좋은 환경을 가지고 있음을 보여주었다³⁰⁾. 특히 밀리포어 필터는 배양접시 보다도 더 나은 슈반세포 부착과 성장 조건을 가지고 있으며, 섬유모세포에는 그 반대의 결과를 보이는 고무적인 점이 관찰되었다. 이것의 의미는 신경도관술로 신경 결손부를 재건하고자 할 경우 도관 내에 재생되는 뉴런 외에 반흔 조직으로 도관 내강이 줄어들게 되면 신경 재생에 장애가 되게 되는데, 밀리포어 도관은 이러한 점에서 섬유모세포의 증식을 억제하여 섬유성조직 형성을 낮추어 재생관의 역할에 좀더 도움이 될 것으로 생각되었다. 또한 저자들은 슈반세포를 백서(생후 1일째의 SD rat) 척수 후근 신경절을 효소 처리하여 부유세포를 배양한 다음 DNA 합성 억제제를 이용하여 섬유모세포를 제거하고 슈반세포 증식 촉진제로써 슈반세포의 증식을 유도하는 방법을 사용하였는데, 이 과정에서 다소 남아 있을 수 있는 섬유모세포가 밀리포어 도관 내로 슈반세포와 같이 유입되더라도 밀리포어관의 성질 상 필요한 슈반세포는 부착이 용이하고 섬유모세포는 저해되어 신경재생 면에서 유리한 환경을 갖게 될 것이라고 생각되었다.

인회석 코팅 시 저자들은 저온에서 low-crystalline calcium apatite 박막을 형성 시키는 방법을 사용하였는데, 전자현미경 상 필터의 세공과 이면에도 박막 형성이 잘 되어 있었으며, 박막의 두께가 2-100nm 정도로 세공의 크기를 크게 변화시키지 않았다. 그러나 실험을 하면서 기술면과 관련하여 지적할 사항으로 칼슘 포스페이트 코팅의 방법 및 상태에 따라 박막 두께가 2-3 μ m 까지 증가될 수 있어 이러한 두께는 세공을 완전히 막히게 할 수 있으므로 박막 두께를 일정하게 할 수 있는 방법은 좀더 모색되어야 할 부분으로 생각되었다.

신경도관 내의 미세구조(microgeometry)는 신경조직의 성장(outgrowth)에 많은 영향을 미침이 알려져 있는데³⁰, 본 연구의 인회석 박막 코팅 도관은 표면이 아주 거칠며 또한 세공성이어서 신경섬유속(fascicle)의 확산(spread)에 양호한 조건을 부여할 것으로 생각되었다. 그리고 인회석 박막을 코팅하였을 경우 전반적으로 밀리포아 관이 딱딱해져 기계적 물성이 증가하여 도관의 내강 유지 면에서도 유리하였으며, 잘 부스러지는 필터를 견고히 하여 신경 말단과 봉합을 할 경우에도 찢어지거나 부서지는 단점을 보완할 수 있었다. 그리고 인회석 박막 도관은 하지조신경과 같이 뼈로 둘러싸인 신경 결손 재건에서 생체적합성이나 도관 주위로 뼈 재생 면에서 일반 도관 보다 훨씬 양호할 것으로 추측되었다.

V. 결 론

본 연구는 말초신경 재생을 위하여 속이 빈 인조신경도관 안에 슈반세포들을 채움으로써 신경재생을 촉진코자 할 때 사용이 용이한 신경도관을 개발코자 시도되었다. 관내에 넣은 슈반세포가 주위로부터 영양을 공급받을 수 있지만 관 외부에서 내부로 반흔이 침투되지 않을 정도의 미세공성 밀리포아막으로 신경도관을 만들고 여기에 세포 부착도를 증가시키기 위해 인회석으로 박막 코팅하였다.

다공성의 밀리포아 필터는 말초신경 재생에서 필수적인 역할을 수행하는 슈반세포의 부착은 증진 시켰으나, 반흔 형성 등 신경 재생에 저해가 될 수 있는 섬유모세포의 부착 증식은 억제하여 신경도관으로서의 효용을 증가시킬 수 있었으며, 또한 인회석 박막을 코팅함으로써 슈반세포의 부착과 활성을 더욱 더 향상시킬 수 있었다. 이상의 실험을 통해 저자들은 슈반세포가 성장하기에 유리한 조건을 갖는 신경재생도관을 만들 수 있었다.

참고문헌

1. Alling CC III : Dysesthesia of the lingual and inferior alveolar nerves following third molar surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 44:454-7,1986.
2. Donoff RB : Surgical management of inferior alveolar nerve injuries: the case for early repair. *J Oral Maxillofac Surg* 53:1327-9, 1995.
3. Gregg JM, Pogrel MA: Surgical management of inferior alveolar nerve injuries(part II): the case for delayed management. *J Oral Maxillofac Surg* 53:1330-33, 1995.
4. Wessberg GA, Wolford LM, Epker BN: Simultaneous inferior alveolar nerve graft and osseous reconstruction of the mandible. *J Oral Maxillofac Surg* 40:384-90,1982.
5. 김명래, 오주호, 정현주: 하지조 신경 손상을 GTAM 포관술로 재건한 후의 경과. *대한치과의사협회지* 36:570-5,1998.
6. Hausamen JE, Samii M, Schmidseder R: Repair of the mandibular nerve by means of autologous nerve grafting after resection of the jaw. *J Oral Maxillofac Surg* 2:74-8,1973.
7. 이승호, 이종호: 백서의 좌골신경결손 수복에 있어 혈관화신경이식과 비혈관화신경이식의 비교. *대한구강악안면외과학회지* 22:267-77, 1996.
8. 박광, 김현재, 이종호: 가토하지조신경 재생에 있어 nerve growth factor의 효과. *대한악안면성형재건의과학회지* 18:261-8, 1996.
9. Xu XM, Guenard V, Kleitman N, et al: Axonal regeneration into Schwann cell-seeded guidance channels grafted into transected adult rat spinal cord. *J Comp Neurol* 351:145-60, 1995.
10. Guenard V, Kleitman N, Morrissey TK, et al: Syngenic Schwann

- cells derived from adult nerves seeded in semipermeable guidance channels enhance peripheral nerve regeneration. *J Neurosci* 12:3310-20,1992.
11. Varon S, Skaper S, Manthorpe M: Trophic activities for dorsal root and sympathetic ganglionic neurons in media conditioned by Schwann and other peripheral cells. *Brain Res* 227:73-87,1981.
12. Ide C, Tohyama K, Yokota R, et al: Schwann cell basal lamina and nerve regeneration. *Brain Res* 288:61-75,1983.
13. 김현만, 김윤지, 박수진, 고재승: 낮은 결정도를 갖는 인회석 결정을 포함하는 박막층(thin layer of apatite crystals)의 형성방법. *대한민국출원번호* 97-9161(1997. 3. 18)
14. 김현만, 김윤지, 박수진, 고재승: 고농도 칼슘포스페이트 과포화 용액의 제조 및 이를 이용한 칼슘포스페이트 결정 박막 형성방법. *대한민국출원번호* 96-38553 (1998. 9. 17)
15. Morrissey TK, Kleitman N, Bunge RP: Isolation and functional characterization of Schwann cells derived from adult peripheral nerve. *J Neurosci* 11:2433-42,1991.
16. Morrissey TK, Kleitman N, Bunge RP: Human Schwann cells in vitro : myelination of sensory axon following extensive purification and heregulin-induced expansion. *J Neurobiol* 28:190-201,1995.
17. Adison RD, Da Silva CF, Dikkes P: Peripheral nerve regeneration with entubulization repair: comparison of biodegradable nerve guide vs. polyethylene tubes and the effects of a laminin-containing gel. *Exp Neurol* 95:375-82,1987.
18. Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen N, et al: Nerve regeneration across an extended gap: a neurobiologic view of nerve repair and the possible involvement of neuronotrophic factors. *J Hand Surg* 7:580-7,1982.
19. Seckel BR, Chiu TH, Nyilas E: Nerve regeneration through synthetic biodegradable nerve guides: regulation by the target organ. *Plast Reconstr Surg* 74:173-81, 1984.
20. Madison RD, Da Silva CF, Dikkes P: Entubulation repair with protein additives increases the maximum nerve gap distance successfully bridged with tubular prostheses. *Brain Res* 447:325-34, 1988.
21. Aebischer P, Valentini RF, Winn SR, et al: The use of a semi-permeable tube as a guidance channel for a transected rabbit optic nerve. *Prog Brain Res* 78:599-603,1988.
22. Evans GRD, Brandt K, Widmer M, et al: Tissue engineered conduit: the use of biodegradable poly-DL-lactic-co-glycolic acid PLGA scaffolds in peripheral nerve regeneration. In: Stark GE, Horch R, Tanczos E(Editors). *Biological matrices and tissue reconstruction*. Berlin: Springer, p.187-92,1998.
23. Widmer MS, Gupta PK, Lu L, Meszlenyi R, et al: Manufacture of porous biodegradable polymer conduits by and extrusion process for guided tissue regeneration. *Biomaterials* 19:1945-55,1998.
24. Valenti RF, Aebischer P : Strategies for the engineering of peripheral nervous tissue regeneration. In: Lanza RP, Langer R, Chick WL(Editors). *Principles of tissue engineering*: Academic Press. Austin, USA. 678, 1997.
25. Valentini RF, Vargo TG, Gardella JAJr, et al: Patterned neuronal attachment and outgrowth on surface modified, electrically charged fluoropolymer substrates. *J Biomater Sci Polym Ed* 5:13-36, 1993.
26. Valentini RF, Vargo TG, Gardella JAJr, et al: Electrically charged polymeric substrates enhance nerve fibre outgrowth in vitro. *Biomaterials* 13:183-190, 1992.
27. Fine EG, Valentini RF, Bellamkonda R, et al: Improved nerve regeneration through piezoelectric vinylidene fluoride-trifluoroethylene copolymer guidance channels. *Biomaterials* 12:775-780, 1991.
28. Guenard V, Valentini RF, Aebischer P: Influence of surface texture of polymeric sheets on peripheral nerve regeneration in a two-compartment guidance system. *Biomaterials* 12:259-263, 1991.
29. Kim HM, Kim Y, Park SJ, et al. : Thin film of low-crystalline calcium phosphate apatite formed at low temperature. *Biomaterials*. 21:1129-1134., 2000.
30. 안정연, 박수진, 고재승 등. 합성 인회석 결정 박막에서 단백질 부착과 섬유모세포 부착 및 증식. *대한구강해부학회지* 21:243-59, 1997.
31. Aebischer P, Guenard V, Valentini RF : The morphology of regenerating peripheral nerves is modulated by the surface microgeometry of polymeric guidance channels. *Brain Res* 531:211-8, 1990.