

타이타늄 매식체와 수종의 골이식재료와의 조직반응 및 적합성에 관한 실험적 연구

EXPERIMENTAL STUDY ON THE TISSUE RESPONSE AND THE TISSUE COMPATIBILITY OF THE SEVERAL BONE SUBSTITUTE MATERIALS AGAINST THE ENDOOSSEOUS TITANIUM IMPLANT

단국대학교 치과대학 한국생체재료연구소

임창준 · 허성주 · 김세원 · 김정근 · 김종여

I. 서론

기원전 고대 이집트인들이 상아, 금속, 뼈, 혹은 보석들을 이용하여 상실된 치아를 대치시키고자 시도한 이래, 인공치아로서 상실된 자연치아를 대신하여 수복시키려는 많은 시도가 되어왔으나 그 성공률이 낮아 보편화 되지 못한채 근년에 이르렀다. 1950년대 이후 Branemark씨가 타이타늄 금속 매식체의 표면이 주위 뼈 조직과 직접 결합하는 성질을 발견하고서, 이 성질을 인공치아 매식체에 응용한 이후 높은 임상 성공률의 보고와 더불어서 치과계의 관심의 대상이 되고 있다.

최근에는 매식체의 단순한 삽입 수술의 단계를 지나, 치조골이 심하게 흡수되거나 외상으로 인해 갑작스럽게 치조골이 결손되어 심하게 낮아지거나 얇아진 치조제, 상악동의 팽창으로 인하여 낮아진 상악 구치부의 치조골, 혹은 발치직후 형성된 발치와에 즉시 인공치아 매식체를 식립하고자 하는 경우 등, 전에는 불가능하였던 기술을 가능케 하여 적응증의 한계가 확장되고 있는 단계로 접어들고 있다.

이러한 기술을 시행할 경우 골이식을 통하여 결손된 뼈를 재생시켜, 식립된 매식체와 잘 결합

하게 하는 것이 성공의 시금석이다. 구강악안면 영역에서 골이식은 질병, 외상으로 인한 절제, 선천적 및 후천적 기형의 교정을 필요로 하는 경우 자가골이나 동종골 혹은 기타 골대치재료들을 결손부위 재건을 위하여 사용하고 있다.

신선 자가골은 악골 결손부의 수복시 신생혈관의 빠른 재생, 숙주와의 생체 적합성, 면역학적인 수용도의 우수성이 있으며, 특히 골재생에 있어 살아 있는 조골세포를 공급한다는 점에서 가장 효과적인 재료로서 사용되고 있다. 그러나 자가골 이식은 신체 다른 부위의 부가적인 수술로 인한 감염율, 실혈량, 마취 시간 및 수술 후 통증이 증가되고 원하는 골의 모양이나 크기를 일치시키기 어려우며, 결손부위가 큰 경우 충분한 양을 얻을 수 없는 단점들이 있다⁽¹⁻¹⁰⁾. 신선 자가골 이식시의 단점들을 보완하기 위하여 냉동골, 완전 또는 불완전 탈회골 등과 같이 여러 방법으로 보존 처리된 동종골의 이식술이 시도되었으며, 동종 이식체의 면역반응 감소, 혈관 재형성능력과 신생골 형성 능력의 증진, 생체 재료로서의 조직 적합성, 보다 완벽한 멸균 방법 등에 관하여 많은 연구⁽¹¹⁻²¹⁾가 보고되었으며, 최근 탈회시킨 동종골의 골유도(osteinduction)⁽²²⁻²⁷⁾ 현상을 인공치아 매식수술에 응용하려는 많은 시도가 되고 있다.

저자들은 동종탈회골을 타이타늄 인공치아 매식수술에 임상적으로 이용될 수 있는 가능성을 다른 골대치재료들과 비교 검토하기 위하여, 단

* 본 논문은 '91년도 교육부 지원 한국학술진흥재단의 대학부설연구소 지원 학술연구조성비('92-'93)에 의하여 연구되었음.

국대학교 치과대학 한국생체재료연구소에서 동결건조 및 탈회 처리하여 개발한 동종 탈회골 분말을 성건의 대퇴골에 매식된 타이타늄 매식체 주위에 매식하고, 흡수성 수산화인회석 분말과 비흡수성 수산화인회석 분말을 각각 같은 방법으로 성건의 대퇴골에 매식된 타이타늄 매식체 주위에 매식한 후, 경시적으로 성건을 희생시켜 타이타늄 매식체와 주위 신생 골조직 간의 접촉강도를 검사하고, 그 미세 조직반응을 검경함으로써 유의있는 소견을 얻었기에 보고드리는 바이다.

II. 실험 재료 및 실험 방법

I) 실험 재료

1) 실험동물

탈회골의 골유도능 보유 여부를 알아보기 위하여 체중 2kg 내외의 웅성 가토 10마리를 사용하였다. 동일조건을 유지하기 위하여 시판되고 있는 고품사료에 의하여 일정 기간 사육하였다.

타이타늄 매식체외 수종의 이식재료간의 조직 반응 및 조직 적합성을 알아보기 위하여 체중 12kg 내외의 웅성 성견 6마리를 사용하였다. 동일조건을 유지하기 위하여 시판되고 있는 고품사료에 의하여 일정 기간 사육하였다. 1개월군 2마리가 수술후 감염으로 인하여 사망하였기, 추후 제반 검사에서 제외시키고 재실험하였다.

2) 타이타늄 인공치근 매식체

본 실험에 사용된 인공치근 매식체는 시판되어 사용되고 있는 타이타늄 분말이 고압 도포된 직경이 4mm, 길이가 10mm인 실린더 형태의 매식체(IMZ, Friedrichsfeld, Germany)를 12개 사용하였다.

3) 골 결손부 충전재(골대치재료)

본 실험중 사용된 골충전재료로서 제 1 비교군에서는 흡수성의 수산화인회석(Osteogen, Stryker, USA)을 사용하였고, 제 2 비교군에서 비흡수성 치밀 수산화인회석과 흡수성 경석고의 혼합

체(Hapset™, LIFECORE BIOMEDICAL, USA)를 사용하였다.

4) 동종 탈회골 분말 제조

특별한 감염증이 없는 정상 가토 및 성견을 희생시켜 채취한 장골(long bone)을 냉동고에 영하 70도 이하를 유지하며 저장하였다. 냉동되었던 장골들을 동결건조, 분쇄, 탈회 등의 과정을 거쳐 480-640 마이크론 크기의 탈회골 분말을 제작하였다(Table 1).

Table 1. 동종 탈회골편 제작법

1. 채취된 장골의 저온 증류수 세척 및 저장 ↓(저온 냉동고 저장)
2. 동 결 건 조
↓
3. 분말형성 및 크기 선정 (480 - 640 micron)
↓
4. 탈 회
1) 0.5N HCl(250ml/5g of bone), for 90min
↓ 2) Centrifugation (1,500rpm)
3) 반복
5. 산도의 완충 (pH 6.9까지)
↓
6. Recentrifugation
↓
7. 동 결 건 조
↓
8. 방사선 멸균 (15-25kGy)

II) 연구방법

1. 시험관내 실험

1) 동결건조 탈회골의 독성검사

제작한 동결건조 탈회골이 생체조직에 대하여 독성이 있는지의 여부를 알아보기 위하여 시편에서 유리되어 나온 물질이 세포막투과성과 세포용해에 미치는 영향을 조사하는 섬유아세포에 대한 독성검사인 시험관내 Agar Overlay Test를 시행하였다.

사용한 세포는 L929 정상생쥐 조섬유세포(ATCC, U.S.A.)였다. 냉동보관된 L929 조섬유세포

포를 녹인 후 10% horse serum(Gibco, U.S.A.) 및 페니실린(100unit/ml)과 스트렙토마이신(100 unit/ml), 그리고 fungizone(0.3ug/ml)이 들어있는 minimum essential medium(MEM:Gibco, U.S.A.)을 이용하여 10회 계대배양후 실험에 사용하였다.

검사를 위하여 대조군으로는 섬유아세포 세포군(L929) 만을 배양하여 관찰하였고, 음성 비교군으로 실리콘 원판(직경13mm x 두께1mm)을, 양성 비교군으로는 같은 크기의 구리 원판을, 실험군으로는 제작된 동결건조 탈회골 분말을 섬유소 접착제를 이용하여 같은 크기의 원판을 만들어 시편으로 사용하였다. 직경 60mm의 세포배양용 플라스틱 배양접시(Nunc, Denmark)에 1.25×10^6 개의 세포를 넣어 24시간동안 배양액과 항생제를 이용하여 배양하였다. 배양은 섭씨 37도, 습도 90%, 5%의 이산화탄소 및 95%의 공기의 조건을 유지하는 배양기(Precision,U.S.A.)를 이용하였다. 24시간 배양후 1.5% agar(Difco, U.S.A.)-BME 용액 3ml를 부어 세포층 위에 agar층을 형성하고 그위에 0.01% neutral red 용액을 부어 생염색을 시행한 후 agar층 위에 시편을 놓고, 다시 24시간동안 배양하였다. 배양이 끝난 배양용기내 원판 주위 세포들의 용해도와 변색 상태를 육안 및 광학현미경 하에서 관찰하였다.

2. 생체실험

1) 제작된 동결건조 탈회골의 골유도능 검사

미리 제작된 480-640 마이크론 크기의 가토의 탈회골 분말들을 지름 2mm, 길이 5mm의 실리콘 튜브에 채운 후, 10 마리 웅성가토의 대둔근에 매식하였다. 매식후 3일, 1주, 2주, 4주, 6주 후에 가토를 희생시켜, 매식 부위를 포함한 5 x 5 mm 크기의 골편을 떼어냈다. 골편들을 10% 포르말린에 고정시킨 후 파라핀 포매를 하여 4-7 um두께의 절편을 만들어 헤마톡실린/에오신 중염색을 하여 신생골 형성 여부를 광학현미경하에서 검정하였다.

2) 타이타늄 매식체 주위의 조직반응 관찰 가. 동물실험

타이타늄 매식체가 각각의 골이식 재료들에 의하여 형성된 주위 수복 조직과 반응하는 양상을 관찰하기 위하여 골내 매식실험을 시행하였다. 6 마리 웅성 성견의 편측 대퇴부 외측에 약 10 센티미터 길이의 절개를 시행한 후 대퇴골을 노출시켰다. 노출된 대퇴골에 약 1500rpm의 속도로 반대쪽 피질골의 일부까지 길이 10mm, 지름 4mm의 구멍을 약 2cm 간격으로 뚫은 후, 교합면측에 해당하는 부위의 피질골에는 동일한 속도로 지름 5mm의 구멍을 추가로 형성하였다. 각각의 구멍에 매식체를 식립한 후, 각각의 주위에는 미리 제작되어 수술 30분전부터 생리식염수로 재수화(rehydration)시켰던 탈회골 분말(실험군), 흡수성 수산화인회석(비교군 1), 비흡수성 치밀 수산화인회석과 흡수성 경석고의 혼합체(비교군 2)들을 조심스레 채우고, 네번째 구멍에는 아무것도 채우지 않은 채 대조군으로 하였다. 상부 연조직을 층별로 일차봉합을 시행하였다. 수술후 1개월, 3개월, 6개월 후에 실험동물을 희생시켰다.

나. 광학현미경 및 전자현미경적 관찰

매식후 1개월, 3개월, 6개월 후 2.5% glutaraldehyde in 0.1M cacodylate buffer에 관류고정하고 성견을 희생시켜, 매식 부위를 포함한 10 x 10 x 12mm크기의 골편을 떼어냈다. 골편중 매식체 하부에 해당하는 부분을 5mm 길이로 절단하여 상부와 하부 시편으로 나누었다.

가) 광학현미경적 관찰

하부 시편을 24시간 탈수시키고 아세톤으로 24시간 치환시킨 다음 반으로 절단하였다. 절단된 시편중 한쪽을 3일간 빌라누에바 염색을 시행하고, 아세톤과 Spurr low viscosity 포매체(Poly-science, 미국)의 2:1 혼합액, 역으로 1:2 혼합액을 각각 12시간 저속회전기를 거친 다음 실온 상태에서 신선한 Spurr mixture로 2일동안 침적시키고, 70°C에서 8 내지 16시간동안 경화시켰다. 저속 다이아몬드 휠톱을 사용하여 500um 두께의 여러장의 절편을 만든 다음 연마기로 약 10 내지

20um 두께의 절편을 만들었다. 만들어진 절편을 광학현미경으로 관찰하였다.

나) 투과전자현미경(TEM) 관찰

나머지 고정된 상부 시편중 매식체에서 2mm 떨어진 부위의 조직을 일부 떼어내어 에틸알코올로 탈수하고 propylene oxide로 처리하여 Epon 812에 포매하였다. 박절편기(Supercut, Austria)에서 1um의 두께로 박절편을 제작하여 toluidine blue로 염색한 후 광학현미경으로 조직반응을 검정하였다. 아울러 초미세구조를 관찰하기 위하여 초박절편기(Nova, Sweden)에서 80 내지 100nm 두께의 초박절편을 제작하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경(JEOL 1200EX, Japan)으로 관찰하였다.

다) 주사전자현미경(SEM) 관찰

하부 시편을 알콜을 이용하여 탈수시키고 Acetone 처리를 한 후 반으로 절단하였다. 광학현미경 관찰을 위해 사용하지않고 남은 하부 부분을 통법에 의해 spurr 포매하고 Diamond saw를 이용하여 절편을 얻었다. 절편을 한쪽 면만 연마한 뒤 acetone에 담가 resin을 표면에서 제거한 뒤 실온에서 건조시켰다. 완전히 건조시킨 후 Bio-Rad 피복기에서 gold-palladium coating하여 SEM(JEOL 840A,15KV)으로 관찰하였다.

3) 결합강도 검사

각각의 골이식재료에 대해 탈회골을 채운 것을 실험군, 아무것도 채우지 않은 것을 대조군, 흡수성 수산화인회석 분말(osteogen)을 채운 것을 비교군I, 비흡수성 수산화인회석을 채운 것을 비교군II로 나누었다. 각군에서의 타이타늄 매식체와 주위 조직 사이의 접착강도를 측정하기 위하여 유클를 측정(torque measurement)를 시행하였다. 6Ncm에서 60Ncm 사이의 유클를 측정 기기(BTG형, Japan)를 사용하였다.

III. 연구 성적

1. 제작된 동결건조 탈회골의 골유도능 검사

1) 3일 소견

탈회골 분말들이 튜브내에 불규칙하게 배열되어 있으며, 그 사이로 혈액세포들의 출혈상 및 급성염증세포들의 침윤이 일부 관찰되었다. 튜브와 주위결체조직의 경계부에서는 출혈 및 염증세포의 침윤이 활발하게 관찰되며, 결체조직에 접한 탈회골 분말의 표면에는 간엽세포로 여겨지는 세포들이 배열되어 있으며, 그 내부 공간에는 혈구 세포들이 관찰되었다.

2) 1주 소견

탈회골 분말의 표면에는 세포들이 활발히 배열되어 있으며, 그 내부 혈관들은 확대되어 있고 혈구 세포들이 채워져 있다.

3) 2주 소견

비활성의 이식된 골기질이 보이고 주위에 경미한 염증세포의 침윤을 관찰할 수 있다. 이식된 골기질 주변에 조골세포처럼 보이는 세포들이 배열되어 신생골 형성의 모습이 보이기 시작한다. 일부에서는 매식된 탈회골이 일부는 연골성의 세포로 되어 신생 골세포 조직과 함께 인접되어 형성된 것이 관찰되었다. 신생골화 된 작은 탈회골 분말의 표면 골흡수상도 일부 관찰되었다.

4) 4주 소견

신생골은 불규칙한 섬유소견을 보이는 무층골 형태를 띠고 있으며, 일부에서 연골성의 세포들도 관찰되었다. 신생골 형성 면적이 넓어지며 살아있는 조골 세포가 비활성의 이식골 기질 주위를 둘러싸고 있으며, 골수도 관찰된다. 일부 골수 부위에서는 거대한 파골세포의 출현과 함께 골흡수상이 관찰된다.

5) 6주 소견

신생골의 재형성 양상이 관찰되고 전 이식 골편을 통하여 조혈 지방성골수가 성숙된 모습을

보이고 있으며, 층판골로 구성된 치밀골의 형태가 관찰되었다.

2. 동결건조 탈회골의 독성검사

매식한 원판 주위의 조직반응을 관찰하여, FDA에서 추천하는 독성검사 방법에 의하여 세포 용해 상태와 변색 상태에 대한 점수를 매긴 결과는 Table 2과 같다.

Table 2. Results of Agar Overlay Cytotoxic Test

group	Zone index	Lysis index	Response index	Cyto-toxicity
Control	0	0	0/0	-
Silicone disc	0	0	0/0	-
Copper disc	3	5	3/5	severe
DFBP(EO gas)	0	0	0/0	-
DFBP(Radiation)	1	0	1/0	mild

3. 타이타늄 매식체 주위 조직반응에 관한 조직 병리학적 검사

1) 연마표본의 광학현미경적 소견

매식체 주변에 아무 것도 채워넣지 않은 대조군은 1개월 후에 매식체에 인접하여 존재하는 골소주들이 나타났으며, 대부분은 섬유성 연조직으로 둘러싸여 있었다(Fig.1). 3개월 후 골주가 층판을 형성하는 모양을 관찰할 수 있으나, 많은 부분이 연조직에 의해 피개되어 있었다(Fig. 2).

Osteogen으로 매식체 주변을 채워넣고 1개월이 경과한 후 조직소견에서 다소 흡수되어있는 osteogen 입자들을 볼 수 있었으며, 각 입자들의 주변과 입자들 사이에 골핵(nidus of bone)들이 생성되는 양상을 볼 수 있었다. 또한 매식체 주변으로 골조직이 덮여 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig.3). 3개월이 경과한 후의 소견에서 매식체 주변의 많은 부분이 골조직으로 둘러싸여 있으며, 골층판을 확인할 수 있었다(Fig.4).

매식체 주변에 HA를 넣은 후 3개월 소견에서 매식체와 붙어있는 골판들을 관찰할 수 있었고,

HA 입자 주변에도 골조직이 형성되는 것을 볼 수 있었다(Fig.5).

매식체 주변에 DBP를 넣은 후 1개월 소견에서는 많은 부분이 골조직으로 대체되어 있었으며, 신생 골주도 많이 관찰되었다(Fig.6). 6개월군의 매식체와 접해 있는 골조직에서는 개조(remodelling) 과정에 있는 Haversian Canal이 보이며 층판구조(arrow)와 osteocyte lacunae(arrow heads)들이 보이고 있다.

각군 공히 염증 소견은 관찰되지 않았다.

2) 탈회 표본의 1um 박절편의 소견

전자현미경 관찰을 위하여 탈회후 Epon 812에 포매한 다음 1um 박절편을 얻어 toluidine blue로 염색하여 관찰한 결과 새로운 골소주 형성이 관찰되었다. 활성이 높은 조골세포들이 골편을 이장하고 있으며(Fig.7), 반대편 쪽에서는 Howship's lacuna 안에 골을 흡수하고 있는 파골세포도 다수 관찰할 수 있어 매우 높은 골재형성이 이루어지고 있음을 관찰할 수 있었다.(Fig.8)

3) 주사전자현미경 소견

대조군의 6개월군에서 매식체의 주변 대부분은 연조직으로 덮여 있다. 일부분 trabecule 형태의 골조직과 직접 접하고 있으며, 매식체와 접해 있는 골조직 부위 일부에서는 잘 발달된 층판과 osteocyte lacuna를 관찰할 수 있다.

흡수성 수산화인회석을 매식하고 3개월이 지난 후 매식체 주변과 내부에 뚫린 통로 내에 그 입자들이 흩어져 있으며 매식체 경계부위에서는 골조직을 관찰할 수 없다. osteogen 과립 주위로 골조직이 신생되며 서로 연결되는 양상을 보이고 있다.

비흡수성 수산화인회석을 매식한 6개월군에서는 매식체 주위 1/2가량이 연조직 개재없이 골조직과 직접 계면을 형성하고 있는 소견을 보이고 있다.

탈회골 분말을 매식한 6개월군의 매식체와 접해 있는 골조직에서는 개조(remodelling) 과정에 있는 Haversian Canal이 보이며 층판구조(arrow)와 osteocyte lacunae(arrow heads)들이 보이고

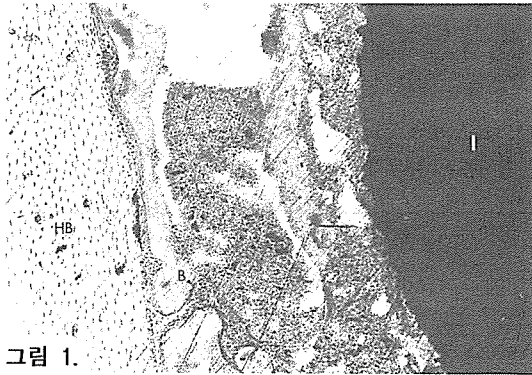


그림 1.

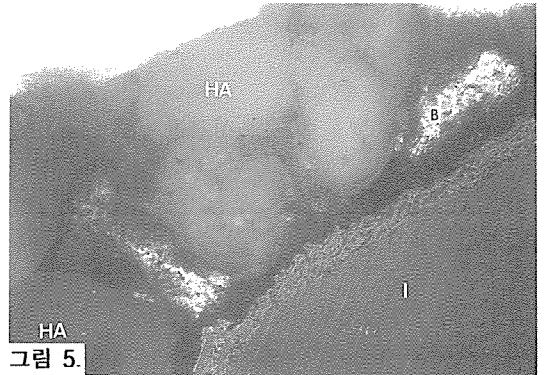


그림 5.

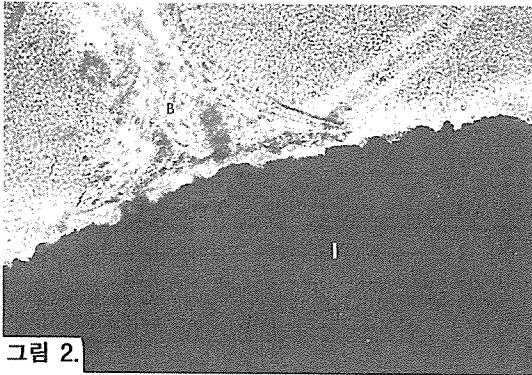


그림 2.

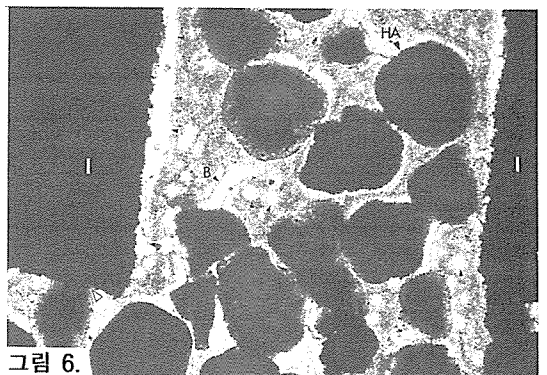


그림 6.

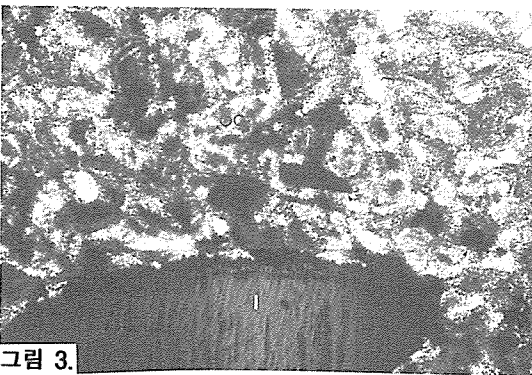


그림 3.

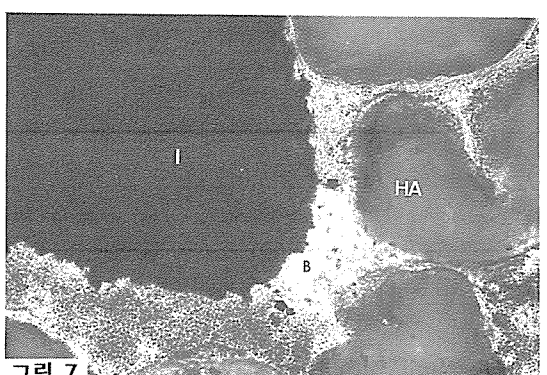


그림 7.



그림 4.



그림 8.

Table 3. Results of Torque Gauge Test (5mm specimen)

types	1 month	3 months	6 months
HA	2	16	32
DFBP	3	13	28
OS	3	16	24
N	2	19	22

HA: Hydroxylapatite
 Bone graft Plaster,
 DFBP: Demineralized
 Freeze-dried
 Bone Powder,
 OS: resorbable
 Hydroxylapatite,
 N: No filling

(Ncm)

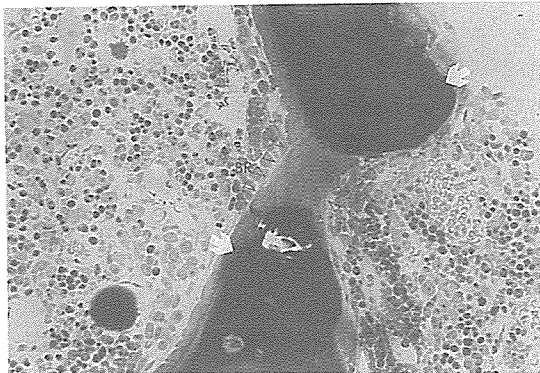


Fig. 9 Changes of the bonding strength according to the healing period

있다.

4. 접착강도 검사

측정된 유력률을 각 군에 따라 1, 3, 6개월군 순서로 살펴보면 실험군의 경우 3, 13, 28 Ncm, 대조군의 경우 2, 19, 22 Ncm, 비교군I의 경우 3, 16, 24 Ncm, 비교군II의 경우 2, 16, 32Ncm였다.(Table 3, Fig. 9)

IV. 총괄 및 고안

골유착성 인공치근 매식술은 약 6mm의 최소 넓이를 갖는 술전에 진단된 골내로 implant를 위치시키는 것으로서, 그간의 임상 연구는 골유착성 치근 매식체가 고정성과 가철성 보철물을 성공적으로 지지하고 지지조직은 오랜 시간동안 건강한 임상적 상태를 유지할수 있다는 것을 보여

주고 있다⁽²⁸⁻³¹⁾. 그러나 실제 임상에서 접하는 환자들은 골의 양이 원래 부족하거나, 매식체 표면이 노출되어 단단한 주위 골조직에 의한 지지도 및 안정성이 상실됨으로 말미암아 임상적 성공률이 낮아지게 된다.

여러가지 형태의 골 결손부위에 대한 처치법으로 자가골 이외에도 다양한 골이식재료들이 사용되고 있다. 골 결손부위에 골대치재료를 채워준다 하더라도 그 예후는 재료의 종류나 환자의 국소적, 전신적 상태에 따라 다양하게 나타날 수 있다. 즉, 충전시켰던 재료들이 전부 흡수되어 없어지는 경우, 일부는 흡수되고 일부는 결손부위에 남아 있는 경우, 충전 상태는 불활성의 상태로 유지되지만 뼈로서의 제반 역할을 못하는 경우, 충전된 상태를 유지하며 어느 정도 기능을 하고 있으나 완전히 뼈로 재생되지는 않은 경우, 완벽하게 충전된 상태를 유지하며 궁극적으로 숙주의 뼈로 재생되어 있는 경우 등이다. 인공치근 매식체 주위의 부족한 골을 재생시키고자 하는 경우 분말형의 골이식 재료들은 골강 형태의 공간을 형성하여 채워줌으로 소기의 성과를 얻고 있으며, 특히 골유도 능력이있는 동종 탈회골 분말의 경우 근년에 들어 주목을 받고 있으며, 그 예후에 관하여 관심이 증가되고 있다.

탈회한 동종 이식골은 Senn 등에 의하여 지난 세기부터 사용되었으나 신선 자가골 이식 때문에 그 중요성을 인식하지 못하였다⁽³²⁻³⁴⁾. 동종골 이식편은 준비 과정에 따라 다른 치유 결과를 보이는데 탈회한 골의 신생골 형성 능력이 탈회하지 않은 골보다 훨씬 뛰어난 것으로 보고되었으며, 탈회과정에 사용되는 강산은 여러 종류가 있는데

염산, EDTA, 포름산, 시트르산 등이 소개된 바 있다^(24,25,27). 동종탈회골 이식의 경우 초기에는 숙주로부터의 모세혈관 유입 및 이식체 주위에 간엽조직 세포들이 왕성하게 형성되고, 후기에는 골의 유기질 성분이 조직 간엽세포들을 조골세포 혹은 조연골세포로 표현형(phenotype)을 변형시킴으로써 신생골이 형성된다. 탈회골의 골형성 과정은 연골내 골형성과 유사하여 대개 연골이 먼저 형성된 다음에 골기질이 석회화된다^(11,19,27). 한편 입 등은 탈회골 매식 직후에는 골흡수상이 관찰되지 못하고 신생혈관이 이식체내로 함입되어 신생골 및 신생골수가 형성된 4주군에서 파골세포의 출현을 관찰하여 보고한 바 있다⁽³⁵⁾.

본 실험에서는 수질골 골수강내 결손부에 충전된 탈회골 입자 주위에 조골세포와 파골세포들이 둘러싸인 소견과 입자와 입자 사이에 골기질이 형성되며 연결되는 상을 관찰할 수 있었다(Fig.9, 10). 한편 흡수성 수산화인회석 분말(Fig.3,4)과 비흡수성 수산화인회석 분말(Fig.5,6,7)을 타이타늄 매식체 주위에 매식한 경우도 3개월과 6개월 군에서 입자 주위에 신생골이 형성되며 다수의 골핵들이 형성되는 소견을 관찰하였다. 따라서 수산화인회석이 주위 조직과의 친화력이 있으며, 신생골을 유도할 수 있는 것을 알 수 있다. 그런데 골의 형성속도 및 같은 시기에 형성된 골의 양을 비교하여 보면 탈회골의 신생골 유도 능력이 수산화인회석에 비해 더욱 우수함을 알 수 있었다. Branemark⁽³⁶⁾는 골유착성 금속 매식체를 초기 동요도 및 하중을 받지않도록 수질부 골수강에 매식한 경우 매식체 주위에 치밀골이 형성된 것을 보고하였다. 본 실험의 결과와 Branemark의 실험결과는 골수강에도 치밀골이 형성될 수 있는 것을 보여주고 있다. 이러한 사실로 미루어 치조골의 수질부가 다공성이거나 골 밀도가 낮아 매식체의 골유착 상태(osseointegration)가 불량한 임상 증례에서 여러가지의 골대체재료들을 이식하여 치밀한 신생골 형성량을 늘려줌으로써 골유착 상태를 더욱 개선시킬 수 있을 것이다.

Urist, Reddi와 Huggins, Mulliken 등은 탈회된 동종이식골은 연조직내에서 신생골을 유도하고 골생성은 이행성 골대체 관점에서 관찰할 수 있

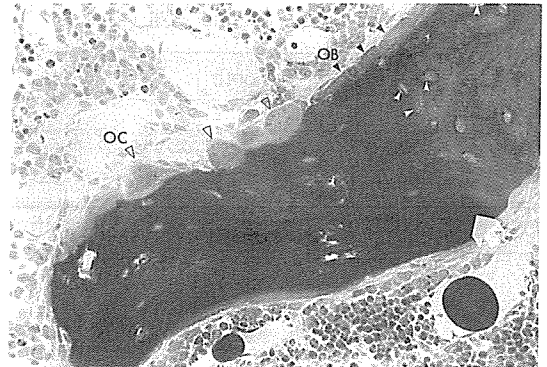


그림 10.

는 주변골에서의 경계부위에서만 생성되는 것이 아니라 전 이식체에서 관찰할 수 있었다고 하였다(field phenomenon)^(25,27,37,38). 본 실험 탈회골 매식군에서 매식 1개월후 다핵세포들과 단핵세포들이 거친 신생골 입자의 주위를 빈틈없이 둘러싼 채 입자와 입자가 서로 연결되는 소견이 관찰되었다. 다핵세포가 부착된 골 입자 표면은 Howship's lacuna와 같이 거칠게 흡수되는 상을 보이고, 단핵입방 세포들은 부착면이 비교적 매끄러우며 인접 골입자들 사이를 연결하는 교각(橋脚; bridge)을 형성하였다. 골 입자 표면에 부착된 다핵세포들은 파골세포로 추정되고, 부착된 단핵세포들은 조골세포로 추정 사료되었다.(Fig9.10).

Narang 등은 탈회한 동종골과 신선 동종골, 신선 자가골을 쥐의 골단에 이식하여, 탈회골은 이식 초기부터 칼슘량이 증가하여 8주째에 정상골 수준에 도달하는 것을 관찰하였다. 비탈회골인 신선 자가골과 신선 동종골은 이식 후 초기에 숙주 조직 내에서 탈회 과정을 거친다고 하였으며 이는 칼슘량의 감소로 확인되었다. 따라서 탈회한 동종골을 이식한 경우 숙주 조직에 의한 이식편 탈회과정이 생략될 수 있다는 가정하에 탈회한 동종골 이식을 권장하였다^(39,40). 본 연구에서는 이미 탈회된 골을 매식하였으므로 파골세포들이 출현하는 이유를 이식편의 초기 탈회 과정으로 인정할 수는 없지만, 신생골의 개조현상으로서 추정 설명할 수 있다.

Oikarinean은 탈회골과 단순냉동 동종 피질골, 자가골을 비교하여, 탈회골이 단순냉동시킨 동종

골보다 더 효과적으로 신생골 형성을 유도하지만 신선 자가골에 비해서는 신생골 형성 효과가 거의 비슷하다고 보고하였으며⁽⁴¹⁻⁴³⁾, 김과 임(1992)은 자가골과 동종탈회골을 가토의 발치와에 이식하여 보고, 골치유 반응이 거의 비슷하였다고 보고한 바 있다⁽⁴⁴⁾. Mulliken과 Glowacki는 쥐의 전두부 결손 부위에 이식된 탈회 동종골이 2주만에 100%의 치유 과정을 관찰하였다. 이때 골분말을 이식한 전부위에서 내연골 형성이 발생하여 신선 자가골이식과 동일한 효과를 보였으나, 탈회하지 않은 골에서는 골 치유과정이 일정치 않았고, 치유 정도도 불량하다고 보고하였다⁽⁴⁵⁾. 이상에서 선행학들에 의하면 탈회골을 매식한 경우 빠르면 2주일 경에 이미 신생골이 형성될 수 있다. 따라서 이미 형성된 신생골이 골개조 과정을 거치는 것으로 추정 사료된다. 본 연구의 실험군과 대조군, 그리고 비교군들 모두 수술 1개월후 이미 피질골은 완전히 치유된 것이 육안으로 관찰되었다.

매식재료로 환자에게 사용될 생체재료는 임상에 적용되기 전에 물리적, 기계적 성질뿐만 아니라 생물학적인 안전성이 확립되어야 한다. 생물학적인 적합성을 검사하는 방법들 중의 한가지로 독성검사를 시행한다. 치과재료의 세포독성을 측정하기 위한 평가방법으로 재료가 치수세포의 형태학적 변화에 미치는 영향을 관찰하거나, 세포수 산정, DNA 분석, 방사선 동위원소의 방출, 염색에 의한 세포막의 투과도 변화 측정법, 사립체 효소의 양적 측정법, 컴퓨터에 의한 측정법 등이 사용되고 있으며, 시험관내 세포배양에 의한 세포독성 검사는 표준화되어 있어서 평가에 객관성을 부여할 수 있고, 비교적 간단하며, 경제적이다⁽⁴⁶⁻⁵⁰⁾. 이 검사법은 그밖에도 실험에 영향을 미치는 여러가지 조건들의 조절이 손쉽고, 나타난 결과의 산술적 평가가 가능하므로 많이 이용되고 있다. 세포독성 검사에 있어서 매우 중요한 요소 중의 한가지는 세포와 실험재료 사이의 충분한 접촉을 시키는 것으로서, 시편과 세포를 직접 접촉시키거나 시편과 세포 사이에 투과성의 중간매체를 넣어 간접적으로 접촉시키는 방법이 사용되고 있다. 이때 중간매체로서 agar를 사용하거나 Millipore 여과지로 분리시키고 있으며, 치과 충

전재료를 검사하는 방법으로 신체와 유사한 조건을 주기 위하여 상아질편을 사용하는 방법이 제시되기도 한다.

본 실험에서는 세포성장과 생존률을 측정하는 방법으로 시편과 세포를 직접 접촉시키면서 배양하여 세포수를 산정하고, agar 층으로 분리된 시편으로부터 유리되어 나오는 독성물질이 염색된 세포를 탈색시키거나 혹은 용해시키는지의 여부를 관찰하였다. 실리콘 원판군과 에틸렌 옥사이드 가스 멸균을 시행한 탈회골 원판군의 경우는 대조군과 마찬가지로 세포의 탈색 및 용해 현상이 전혀 관찰되지 않았다. 구리원판군의 경우 세포 탈색지수는 3, 세포 용해지수는 5로서 매우 심한 독성이 있는 것으로 여겨진다. 방사선 멸균시킨 탈회골 원판군의 경우 세포의 용해 현상은 전혀 관찰되지 않았으나 세포탈색지수는 1로서 극히 미약한 독성 반응이 관찰되었다. 일반적으로 조직내 지방이 방사선 조사를 받는 경우 변색이 되거나 냄새가 나는 등의 반응을 하는 것이 보고되었다⁽⁵¹⁾. 본 실험에 사용된 탈회골의 경우 에테르 등 화학물질에 의한 단백질의 파괴를 최소화하기 위하여 고도로 증류시킨 물을 사용한 반복된 세척으로 탈지과정을 간소화하였다. 따라서 이러한 미약한 세포의 탈색 반응이 나타난 것으로 사료되며, 실제 그밖의 동물 실험도중 주위 조직에 대한 특기할만한 독성반응은 전혀 관찰되지 않았다.

탈회골 분말을 매식한 군에서 측정된 유력률은 1, 3, 6개월군 순서로 3, 13, 28 Ncm였고, 대조군의 경우 2, 19, 22 Ncm, 흡수성 수산화인회석을 매식한 경우 3, 16, 24 Ncm, 비흡수성 치밀 수산화인회석과 흡수성 석고의 혼합물을 매식한 경우 2, 16, 32Ncm였다. 타이타늄 인공치근을 매식한 후 1개월이 경과한 군과 6개월이 경과한 군의 주위 신생골과의 접촉강도는 골 결손부에 아무 것도 넣지 않은 군보다 탈회골 분말이나 수산화인회석을 매식한 경우가 다소 높은 것을 알 수 있다. 그러나 3개월이 경과한 후의 접촉강도는 골 결손부에 아무 것도 넣지 않은 대조군이 탈회골 분말이나 수산화인회석을 매식한 군보다 다소 높았다. 이 자료를 꺾은선 그래프로 작성해 보았더니 네군이

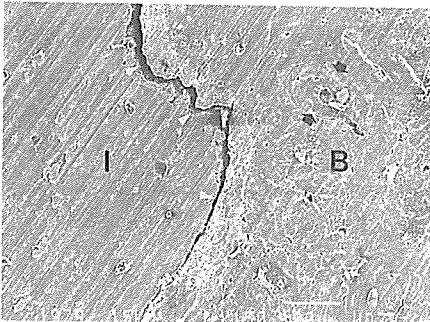


그림 11.

모두 치유 기간이 길어짐에 따라 접착강도가 증가한 것을 알 수 있었다(Fig.12). 3개월 이후 접착강도의 증가는 비흡수성 치밀 수산화인회석과 흡수성 석고의 혼합물을 매식한 비교2군과 탈회골을 매식한 실험군의 경우가 흡수성 수산화인회석을 매식한 비교1군이나 대조군에 비하여 1개월에서 3개월까지의 증가율보다 높았다. 따라서 비흡수성 치밀 수산화인회석을 매식하거나 탈회골을 매식한 경우 6개월이 지난 후에도 접착강도는 계속 증가할 것으로 추정 사료된다. 비흡수성 수산화인회석을 매식한 경우 그 주위로 거대 다핵세포들이 출현하여 수산화인회석 표면이 흡수되면서 골조직 혹은 섬유성의 조직으로 대체되는 과정에서 매식된 입자와 주위 조직과의 화학결합 상태가 고르지 않은 반면, 치밀 수산화인회석의 경우에는 주위 골조직과 기본 화학구조가 같아 주위 골과 소위 화학적 결합(biointegration)에 의한 골과의 유착 상태가 야기되어 결합력이 우수하고 흡수성 석고가 점차 흡수되며 재형성되는 주위 골과의 결합력이 증가하기 때문으로 추정 사료되며^(52,53), 탈회골을 매식한 경우에는 결손부에 형성된 신생골이 점차 재형성되어 성숙골로 변화하기 때문에 접착강도가 계속 증가할 것으로 사료된다.

본 실험에서 제조된 탈회골 분말의 골유도 현상 및 우수한 초기 신생골 형성이 확인되었다. 따라서 본 탈회골 저장법은 향후 사람의 골을 탈회시켜 동종 이식할 경우 응용될 수 있을 것이다.

본 실험에서 제조된 탈회골 분말의 골유도 현

상 및 우수한 초기 신생골 형성이 확인되었다. 따라서 본 탈회골 저장법은 향후 사람의 골을 탈회시켜 동종 이식할 경우 응용될 수 있을 것이다. 흡수성 수산화인회석을 매식한 경우와 비흡수성 치밀 수산화인회석과 흡수성 석고의 혼합물을 매식한 경우 각 입자들 주위에 특별한 염증반응이 없이 신생골이 형성된 것을 관찰하였다. 따라서 수산화인회석도 골재생을 위한 골대치재료로 사용될 수 있으며, 매식체의 초기 골 유착을 도모하고자 한다면 치밀한 수산화인회석을 선택하는 것이 좋을 것이고, 궁극적으로 결손부가 숙주골로 대체되기를 희망하는 경우는 동종 탈회골 분말이 유리할 것으로 사료된다. 한편 흡수성 수산화인회석의 경우도 궁극적으로는 숙주골로 대체될 것이 예상되지만 이에 대한 더욱 장기간의 관찰이 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

저자들은 동종탈회골을 타이타늄 인공치아 매식수술에 임상적으로 이용될 수 있는 가능성을 다른 골대치재료들과 비교 검토하기 위하여, 단국대학교 치과대학 한국생체재료연구소에서 동결건조 및 탈회 처리하여 개발한 동종 탈회골 분말을 성견의 대퇴골에 매식된 타이타늄 매식체 주위에 매식하고, 흡수성 수산화인회석 분말과 비흡수성 수산화인회석 분말을 각각 같은 방법으로 성견의 대퇴골에 매식된 타이타늄 매식체 주위에 매식하였다. 수술후 1달, 3달, 6달 후에 경시적으로 성견을 희생시켜 타이타늄 매식체와 주위 신생 골조직 간의 접착강도를 검사하고, 매식체 주위의 미세 조직반응을 검경하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 흡수성 수산화인회석을 타이타늄 인공치근 주변에 채워넣고 1개월이 경과한 후의 조직 소견에서 수산화인회석 입자들의 주변과 입자들 사이에 생성된 골핵(nidus of bone)들과 매식체 표면에 골조직이 덮여 있는 것이 관찰되었다. 3개월이 경과한 후 매식체 주변의 많은 부분이 층판골 조직으로 둘러싸인 것이 관찰되었다.

2. 매식체 주변에 비흡수성 수산화인회석과 흡수성 석고(calcium sulfate)의 혼합물을 매식한 후 3개월 소견에서 매식체와 붙어있는 골판들을 관찰할 수 있었고, 비흡수성 수산화인회석 입자 주변에 골조직이 형성되는 것을 볼 수 있었다.
3. 매식체 주변에 탈회골 분말을 넣은 후 1개월 소견에서는 많은 부분이 신생 골소주로 구성된 골조직으로 대체되어 있었으며, 6개월군의 매식체와 접해 있는 골조직에서는 개조(remodelling) 과정에 있는 Haversian Canal이 보이며 층관 구조와 골공들이 관찰되었다.
4. 탈회골 분말을 매식한 경우 측정된 유력률은 1, 3, 6개월군 순서로 3, 13, 28 Ncm, 대조군의 경우 2, 19, 22 Ncm, 흡수성 수산화인회석을 매식한 경우 3, 16, 24 Ncm, 비흡수성 치밀 수산화인회석과 흡수성 석고의 혼합물을 매식한 경우 2, 16, 32Ncm였다.
5. 타이타늄 인공치근을 매식하고 6개월이 경과한 후의 주위 신생골과의 접착강도는 골 결손부에 아무 것도 넣지 않은 군보다 탈회골 분말이나 수산화인회석을 매식한 경우가 다소 높은 것을 알 수 있다.

참 고 문 헌

1. Ray R.D. : Vascularization of bone grafts and implants. Clin Orthop 87 : 43,1972.
2. Enneking W.F., and Morris J.L. : Human autologous cortical bone transplants. Clin Orthop. 87:28,1972.
3. Friedlander G.E., Strong D.M. : Studies on the antigenicity of bone. J Bone Joint Surg. 58A:854,1976.
4. Kaban L.B., Mulliken J.B., Glowacki J. : Treatment of jaw defects with demineralized bone implants, J Oral Maxillofac Surg. 40:623,1982.
5. Brown L.B., and Cruess R.L. : Bone and Cartilage transplantation orthopaedic surgery. J Bone Joint Surg. 64A:270,1982.
6. Petri W.H. : Osteogenic activity of antibiotic supplemented bone allografts in the guinea pig. J Oral Maxillofac Surg. 42:631,1984.
7. Petri W.H., and Schaberg S.J. : The effects of antibiotic supplemented bone allografts on contaminated partially avulsive fractures of the canine ulna. J Oral Maxillofac Surg. 42:699,1984.
8. Hosney M., and Sharawy M. : Osteoinduction in young and old rats using demineralized bone powder allografts. J Oral Maxillofac Surg. 43:925, 1985.
9. Gepstein R., Weiss R.E., et al : Bridging large defects in bone by demineralized bone matrix in the form of a powder. J Oral Maxillofac Surg. 69A, 7:984,1987.
10. Petri W.H. : Evaluation of antibiotic-supplemented bone allograft in a rabbit model. J Oral Maxillofac Surg. 49:392,1991
11. Kreuz F.P., Hyatt G.W., Turner T.C., and Bassett C.A.L. : The preservation and clinical use of freeze-dried bone. J Bone Joint Surg. 33A:863,1951.
12. Carnesale P.L., and Spankus J.D. : A clinical comparative study of autogenous and homogenous bone grafts. J Bone Joint Surg. 40A:887,1959.
13. Langer F., Czitrom A., Dritzter K.P., and Gross A.E. : The immunogenicity of fresh and frozen allogeneic bones. J Bone Joint Surg. 57A:216,1975.
14. Urist M.R., Iwata H. : A chemically sterilized antigen extracted autodigested alloimplants for bone banks. Arch Surg. 220:46,1975.
15. Ollier L. : Traite experimental et clinique de la regeneration des os. ictoro Masson et Fils, Paris,1867
16. Inclan A. : The use of preserved bone graft in orthopaedic surgery. J Bone Joint Surg. 24:81,1942.
17. Wilson P.D. : Experience with the use of refrigerated homogenous bone. J Bone Joint Surg. 33B:301,1951.
18. Hyatt G.W., and Butler M.C. : Bone grafting. The procurement, storage, and clinical use of bone homografts. In : Instructional Course Lectures, The American Academy of Orthopaedic Surgeons, Vol. 14, pp. 343, Ann Arbor, JW Edwards,1957.
19. Burwell R.G. : The fate of bone grafts. In recent advances in orthopedics, pp. 115. Baltimore, Williams and Wilkins,1969.
20. Friedlander G.E., and Mankin H.J. : Bone Banking: Current Methods and Suggested Guidelines. In : Instructional Course Lectures, The American Academy of Orthopaedic Surgeons, Vol.30, pp.36. St. Louis, C.V. Mosby, 1981.
21. Gary E., and Friedlander G.E. : Current Concepts review Bone-Banking. J Bone Joint Surg. 64A, 2:307, 1982.
22. Bright R.W., Friedlaender G.E., and Sell K.W. : Tissue Banking : The United States Navy Tissue Bank Millitary Medicine : 142, 7:503,1977.
23. Brooks D.B., Heiple K.G., Herson C.H. and Powell A.E. : Immunological factors in homogenous bone

- transplantation. IV. The effect of various methods of preparation and irradiation on antigenicity. *J Bone Joint Surg.* 45A, 1617,1963.
24. Urist M.R.: Bone formation by autoinduction. *Science* 150:893,1965.
 25. Urist M.R., Dowell T.A., Hay P.H., and Strates B.S.: Inductive substrates for bone formation. *Clin Orthop*, 59:59,1968.
 26. Freiberg R.A., and Ray R.D. : Studies of devitalized bone implants. *Arch Surg.* 89:417,1964.
 27. Reddi A.H., and Huggins C.B. : Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats. *Pro Natl Acad Sci USA* 69:1601, 1972.
 28. Branemark P-I, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, et al.: Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg (suppl 16):*11,1977
 29. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark P-I: A 15-year study of osseointegrated dental implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Maxillofac Surg* 10:87,1981.
 30. Albrektsson T, Dahi E, Enbon L, Engevall S, Engquist B, Eriksson AR, et al.: Osseointegrated oral implants. A Swedish multicenter study of 8139 consecutively inserted Novelpharma implants. *J Periodontol* 59:287-296,1988.
 31. Albrektsson T. A multicenter report on osseointegrated oral implants. *J Prosthet Dent* 60:75-84,1988
 32. Senn N.: On the healing of aseptic bone cavities by implantation of antiseptic decalcified bone. *Am J Med Sci.* 98:219,1889.
 33. Deaver J.B. : Secondary bone implantation by a modification of Senn's method. *Med. News* 55:714,1889.
 34. Dean M., Toriumi et al : Demineralized bone implant resorption with long term follow up. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 116:676,1990.
 35. Yim C.J., and Kim K.W.: Guided bone regeneration associated with osseointegrated dental implant surgery using demineralized bone powders, *J Korean Dental Assoc.*, 32:129-136,1994
 36. Branemark P-I : Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent.* 50:399-410. 1983
 37. Mulliken J.B., et al : Use of demineralized allogeneic bone implants for correction of maxillocraniofacial deformities. *Ann. Surg.* 194:3366,1981.
 38. Glowacki J., Kaban L.B., Murray J.E., et al. : Application of the biological principle of induced osteogenesis for craniofacial defects. *Lancet.* 1:959,1981.
 39. Narang R., Wells H., and Lloyd W.S. : Demineralization of bone transplants in vivo. *Oral Surg.* 36: 291, 1973.
 40. Narang R., Wells H., Laskin D.M. : Experimental osteogenesis with demineralized allogeneic bone matrix in extraskeletal sites. *J Oral Maxillofac Surg.* 40:133, 1982.
 41. Oikarinen J., and Korhonen L.K. : Repair of bone defects by bone induction material. *Acta Orthop Scand.* 50:21,1979.
 42. Oikarinen J., and Korhonen L.K. : The bone inductive capacity of various bone transplanting materials used for treatment of experimental bone defects. *Clin Orthop.* 140:208,1979.
 43. Oikarinen J. : Experimental spinal fusion with decalcified bone matrix and deep frozen allogeneic bone in rabbits. *Clin Orthop.* 162:210,1982.
 44. Kim J. and Yim C.J.: A comparative Histopathologic study on the healing response of rabbit extraction sockets filled with the demineralized bone powder or the autogenous iliac bone chips, *J of Dankook Dental Research Institute*, 4:59,1992
 45. Mulliken J.B., and Glowacki J. : Induced osteogenesis for repair and reconstruction in the craniofacial region. *Plast Reconst Surg.* 65:553, 1980.
 46. Hensten-Pettersson A.: Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *Int Endo J.* 21:89-99,1988
 47. Brown R.M.: The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials - does it have a role? *Int Endo J.* 21:50-58,1988
 48. Kawahara H., and Nakamura M.: Biological testing of dental materials by means of tissue culture. *Int Dent J.* 18:443-467,1968
 49. Schmalz G.: Agar overlay method. *Int Endo J.* 21:59-66,1988
 50. American National Standard Institute/ American Dental Association ANSI/ADA Document #41. Recommended standard practices for biological evaluation of dental instruments. New York: American National Standard Institute,1979
 52. Kay J.: Physiologic acceptance of a ceramic bone implant using electron microscopic analysis. Doctorate thesis, Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, New York, 1977
 53. Kay J.: Calcium phosphate coatings for dental implants, *Dental Clinics of North America.* 36:1-18,1992

-ABSTRACT-

EXPERIMENTAL STUDY ON THE TISSUE RESPONSE AND THE TISSUE
COMPATIBILITY OF THE SEVERAL BONE SUBSTITUTE MATERIALS AGAINST
THE ENDOOSSEOUS TITANIUM IMPLANT

Chang-Joon Yim, Seong-Joo Heo, Se-won Kim, Jeun-Keun Kim, Jong-Yeo Kim

Korea Biomaterial Research Institute, Dankook University, Korea

The purpose of this study is to compare the possibility of the clinical use of titanium dental implant together with allogeneic bone powders or with other bone substitutes. The allogeneic bone powders which were freeze dried and demineralized in Korea Biomaterial Research Institute, Dankook University, resorbable hydroxyapatite (HA) particles, or nonresorbable HA particles combined with plaster were transplanted at the bone defect around the implant fixture which was inserted in the femur of the dogs. The dogs were sacrificed 1, 3, and 6 months postoperatively and the bonding strength were examined between the titanium implants and the surrounding new bone. The histological responses of the tissue surrounding the implants were observed with the LM, SEM, and TEM. The results were as followed.

1. In Experimental Group each torque strength was gauged 3, 13, 28 *NCm* at 1, 3, 6 month, in Control group was 2, 19, 22 *NCm*, in Comparative Group I was 3, 16, 24 *NCm*, and in Comparative Group II was 2, 16, 32 *NCm*.
2. New bone was partially attached at the surface of the titanium dental implant 1 month postoperatively in all Groups. Laminated bone was observed at the large portion of the surface of the implant in in all groups 6 months postoperatively.
3. In Experimental Group, the large portion adjacent to the implant fixture was replaced by the new bone trabeculae 1 month postoperatively. Haversian canals seemed to be in remodelling process 6 months postoperatively, and the laminated structures were also seen in the bone adjacent to implants.
4. In the marrow far from the implant fixture, the large multinucleated cells (osteoclasts) and the mononucleated simple cuboidal cells were aligned at the surface of the bone particles, and the mononucleated cells were observed being bridged between two particles. The lacunae of the bone particles were filled with the osteocyte.
5. In Comparative Group II, nidus of bone was seen around the HA particles 1 month postoperatively. Laminated bone was observed around the implant fixture and new bone formation was seen around the nonresorbable HA particles 3, 6 months postoperatively.

Key words : allogeneic bone powders, freeze-dried, demineralized, HA, bonding strength, torque strength, large multinucleated cells, simple cuboidal mononucleated cells