

치주조직유도재생술 시행시 Gore-tex 차폐막에 부착되는 치주세균에 대한 미노클린첨부제의 항균력에 대한 미생물학적 연구

최점일 · 주애라

부산대학교 치과대학 치주과

1. 서론

치주질환으로 상실된 치주조직의 재생법이 근래에 관심을 끌고 있으며, 술후 즉시 수술 부위나 치근면에 이주하는 세포의 종류를 조절하여 치주부착조직을 재생시키는 연구가 Gottlow 등의 연구를 근간으로 많이 이루어졌다. 이들을 치주인대에서 유래한 세포들이 창상부위로 이주할 수 있으면 새로운 신부착을 도모할 수 있음을 발견하고, 치유되고 있는 외상부위에서 상피와 결합조직 세포를 차단하면 치주인대 세포가 결손부로 유도되어 현저한 재생이 일어나게 된다고 보고하였다.

초기에 이용된 것은 expanded polytetrafluoro-ethylene (e-PTFE)막으로, 막의 개방미세구조(open microstructure)와 부분봉합부(partially occlusive portion)는 치은상피와 결합조직이 치면과 치조골에 접하는 것을 방지하여 치주인대 세포에서 유래된 세포가 재생에 관여하도록 한다. -막의 사용과 아울러 여러 가지 단점이 막의 노출, 농양형성, 2차 수술의 필요, 치은형태-대두되었다. 이후 collagen이 조직재생 유도술의 재료로 도입되었고 흡수성인 장점으

로 근래 많이 이용되고 있는데, 일반적으로 조직이 재생되는데 필요한 기간보다 빨리 흡수되는 단점이 있다. 조직재생유도술후 임상 결과가 다양하나 보통 1~3mm 부착회독을 보인다. 최근까지 재생술의 술식면이나 생물학적 관점은 잘 소개되었으나 감염의 중요성과 그에 대한 조절은 미비하였다.

Selvig는 재생술후 제거된 e-PTFE막의 변연과 내면에는 세균이 응집하고 있으며 막의 구강내 노출과 세균 감염은 임상부착 회독에 좋지 못한 결과를 초래한다고 보고했다. Mombelli는 e-PTFE막 사용후 미생물학적 분석에서 배양 가능한 세균의 1/3이 그람 음성 혐기성 간균이었고, 건강한 치은이나 일반적인 치주치료 후 6주째 보이는 일반 세균총과 다르고, 오히려 치료되지 않은 성인성 치주염이나 매식체주위염의 치은 세균총과 견줄만하다고 보고하였다. 이러한 것은 막의 적용으로 치주원인균이 재부착, 재생장되는 좋은 생태학적 조건을 만들기 때문이라고 하였다. 이러한 세균의 근원은 치주치료 후 남아 있는 미생물로써 즉, 기계적, 화학적 접근이 어려운 깊은 분지부병소, 치근면 자체가 세균의 근원

* 본 연구는 동국제약 1995년도 임상시험연구비에 의해 지원되었음

이 될 수 있다. 아울러 임상에서 막의 노출을 최소화시키려고 하지만 치은의 퇴축 등으로 막의 노출이 빈번히 일어나 구강내 도처에 존재하는 세균이 여기에 응집하고 부착하게 되어 감염원이 된다.

Nowzari, Slots, Machtei 등은 black pigmented *Bacteroides*(BPB)와 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*(*A.actinomycetemcomitans*, *A.a.*)가 발견된 곳에선 임상적인 결과가 떨어진다고 보고하고 있는데, 이상적인 치유를 도모하기 위해서 치주병인균을 완전히 제거하는 것이 중요하나 국소적인 치주 처치만으로는 불가능하므로 부가적인 항생제 투여로 병인균을 제거하거나 또는 최소한 감소시켜야 한다.

노출된 막을 오염시킨 세균과 임상적 결과에 대한 연구가 이루어지고 있다. 노출된 막을 오염시킨 세균의 형태학적 연구를 보면, Selvig는 재생술식동안 구강내 노출된 e-PTFE 막에 특히 치경부 근처와 개방 미세구조(open microstructure)에 심한 세균의 감염을 보고하였고, Grevstad는 세균이 막에 군집하는 것뿐 아니라 개방 미세구조까지 침투한다고 했으며, Simion는 세균이 3~4주 째 부분 차단부위(partially occlusive portion)까지 침투한다고 보고하였다.

미생물은 노출된 막에 부착, 집락하여 감염원이 되는데 조직재생막에 부착되는 미생물의 실험실 연구에서 *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*가 막에 강착 부착되었고, *A.a.*, *Fusobacterium*, *Actinomyces viscosus*는 다소 부착성이 있으며 spirochetes는 부착되지 않았다.

실험동물과 인체실험에서 e-PTFE막은 개방 미세구조(open microstructure)가 치태 축적의 요인이므로 임상결과를 저해한다는 보고도 있었다. 조직 재생술 후 재생정도와 미생물의 관계를 살펴보면 Nowzari와 Slots는 세균이 10^8 이하인 곳에선 평균 3mm 이상의 부착확두이 있었고 그 이상인 곳에선 부착소실 또는 1-

2mm의 부착확두이 있고, BPB가 출현된 곳에는 재생이 저하되었다고 하였으며, Machtei와 Cho 등에 의하면 *A.a.*가 발견된 곳에서도 재생정도가 떨어진다고 한다. *A.a.*와 *P.g.*는 각각 섬유아세포 억제와 독소, 교원질 분해 효소 등으로 치주조직재생을 방해하는 것으로 생각되는데, 즉 치주질환의 원인균이 조직재생 유도술 동안에 방해요소로 작용하는 것으로 생각되고 있다.

Mombelli는 재생술식 후 *P.g.*가 17.5%, *P.i.*가 21.3%, *Prevotella.melaninogenica* 6.8%, 일부 *Fusobacterium*, *Capnocytophaga*를 보고하였고, Nowzari와 Slots는 3~8종의 다양한 수의 미생물 BPB, *Fusobacterium*, *Capnocytophaga*, β -hemolytic streptococci, *A.a.*, *Enteric rod*를 보고하며, 그 외 여러 연구들에서 이와 비슷한 세균총을 보고하고 있다.

재생과정 동안 항균요법의 필요성에 관하여, 2주째와 막 제거시 나타난 특정 미생물이 치유의 모든 과정에 관여한다고 볼 수 없으므로 항생제를 복용하지 않더라도 professional tooth cleansing과 chlorhexidine mouth rinse만으로 좋은 임상적 결과를 보인다는 주장도 있으나, 대부분의 연구들은 항균요법이 필요하다고 보고하고 있다. Demelon은 e-PTFE막 사용자에서 항생제를 투여하지 않은 경우 임상적 염증 반응, 치주 병인균의 성장, 존재, 비율이 크고 시간이 지남에 따라 이러한 상황이 더욱 심화되고 임상적 결과가 저해되므로 부가적인 항생요법으로 세균을 조절하는 것이 요구된다고 보고하였다.

cytotoxic products와 치은 염증을 만드는 치주적 병원균이 치근면상에 치주섬유아 세포의 coronal migration을 억제할 것이다. 차단막 자체는 병인균에 방어적 환경을 제공할 것이다. e-PTFE막의 세공 크기는 $8\mu\text{m}$ 정도이다. 이는 보통의 경우 너비 $1\mu\text{m}$ 에 달하는 세균의 크기보다 크다. 차단막의 open microstructure내에 자라는 미생물은 다형핵 백혈구에 의한 식자

용을 피할 수 있을 것이다.

항생제의 사용은 차단막뿐 아니라 치은 연하부의 병원균을 제어할 수 있을 것이다. 대부분의 치주염 관련 세균에 관한 Minocycline의 치은연하 치태세균에 대한 susceptibility는 높다. 항생제를 경구 혹은 전신적으로 투여하는 경우의 과다한 용량 투여와 그에 따른 부작용 또 내성균의 발생과 같은 단점을 극복하기 위해서 만들어진 국소 약물 송달 체제(Local Drug Delivery System)를 이용한 미노클린 침부제(동국제약, 서울)를 본 연구에서 사용하였다. 이는 항생물질인 염산 미노사이클린을 생분해성 고분자 화합물인 폴리 카프로락톤의 용융물에 균질 혼합 후 치은 연하 치주낭에 삽입할 수 있도록 필름형으로 성형 제조한 침부제이다. 이것은 병소조직에서 염산 미노사이클린이 1주일 이상 계속 방출하도록 고안되어 있다.

본 연구는 조직재생유도술에 사용되는 차폐막에 부착하는 치주세균에 대한 미노클린침부제의 항균력을 세균배양연구를 통해 규명하고자 시행하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상

부산대학병원 치주과에 내원한 중등도 이상 치주염 환자로 골내 치주병소나 분지부 병소에 조직재생유도술을 실시한 사람을 대상으로 하였다. e-PTFE군 11명, collagen군 7명이었다. 막을 넣기 전에 구강위생법을 강조하고 치근 활택술을 실시한 후 협, 설측 전충판막 거상 후 모든 육아조직을 제거하고 치근활택술 e-PTFE나 collagen의 크기를 조절하여 넣고 판막을 재위치시켜 차폐막을 완전히 피개하도록 했다. 이때 미노클린침부제(동국제약, 서울)를 차폐막과 창상골면사이에 위치하도록 삽입하고 판막을 봉합하였다. 미노클린침부제는 1주

일후 한번 교환해 주었다. 치은연상치태를 화학적으로 조절해 주기 위해 클로르헥시딘 양치용액(부광약품, 서울)을 매회 20ml 씩 1일 2회 양치토록 하였다.

2. 연구방법

1) 표본채취 및 배양

e-PTFE군은 2주째는 막과 새로 생긴 육아 조직 사이에 2개의 멸균된 paper point를 부드럽게 삽입 후 30초간 유지하고 막의 외면은 큐벳으로 살짝 긁고, 6주째는 제거된 막의 일부를 잘라 치태를 채취하였다. 표본을 1ml RTF가 든 vial에 넣고 vortex mixer에서 30초간 분산시킨 후 10배의 비율로 일련의 희석을 하였다. 치태의 양에 따라 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 등의 비율로 혼합된 vial에서 용액 0.1ml를 비선택배지인 혈액한천배지와 A.a. 선택배지에 도말하였다. 각각 7~10일간, 3~5일간 배양하였다.

2) 미생물 동정

집락형태, 그람염색 후 세포의 현미경적형태, 생화학적 검사에 의하여 미생물을 동정하였다. 사용된 생화학적 검사로는 그람염색 반응 및 catalase검사 (3% 과산화수소), nitrate 환원 검사를 실시하였다.

III. 연구결과

치주조직재생유도술의 시행 전에 기초세균 배양결과는 표 1에 나타나 있는 바와 같이 치주독성세균이 상당량 나타나고 있다. 그러나 차폐막을 사용한 창상부에 미노클린침부제의 국소투여한 후 2주 및 6주 후에(표 2) 세균배양결과는 치주독성세균이 거의 검출되지 않을 수 있었다.

20중례 중 1중례에서만 6주 후에 *P.gingivalis*가 검출된 경우가 있었다. 술후 각 시점에 따른 각 치주세균별 출현양상은 표 3에 요약해

나타나 있다.

IV. 결 론

치주조직의 조직재생유도술을 시행함에 있어 국소송달제인 미노클린 침부제의 투여는 차폐막에 부착하는 치주세균을 억제하는 효과가 전 실험기간을 통해 탁월함을 입증할 수 있었다.

V. 총괄 및 고안

차폐막을 이용한 조직재생유도술을 시행하는 경우 통상적으로 치은연상 세균막조절을 위해 항균구강세정제를 사용하고 치은연하 세균막조절을 위해 항생제를 전신투여한다. 임상가마다 차이는 있으나 세정제로는 클로르헥시딘 용액을 하루에 2회 사용하게 하고 항생제로는 대개 테트라사이클린제제를 1일 100~200mg 투여하여 약 2주간 투여한다. 항생요법에 사용되는 테트라사이클린은 치주세균에 광범위한 항균작용을 나타내고, 치은연하 치은열구액내의 항생제 농도를 잘 도달하는 이점을 가지고 있기 때문이다. 추가적으로 이 테트라사이클린은 치근면의 탈회와 collagen fiber를 노출시키는 dentin conditioning 효과를 가지고 있으며, 세균성 collagenase를 억제하는 효과도 가지고 있어서 재생형 치주처치에 가장 추천할 만한 항생제로 대두되어 왔다. 최근 학자들에 의해 이 테트라사이클린의 국소송달제의 개발로 국소치주낭병소부위에 투여하여 전술한 다양한 효과를 달성하고자 하는 시도들이 이루어지고 있다^{19)~21)}. 특히 전신적인 경구투여가 가지는 여러 가지 부작용, 즉 위장계 부작용, 항생제 파괴로 인한 효능 감소, 2차적인 내성세균의 발달 등을 들 수 있다. 이러한 단점에 비해 국소송달제는 부작용 없이 국소부위에 장시간 세균억제효능을 지속적으로 발휘할 수 있는 장점이 있다. 본 연구

에서는 최초로 차폐막을 이용한 조직재생유도술을 시행할 경우 차폐막에 부착되는 치주세균을 장기간 억제할 목적으로 차폐막 하부에 미노클린 침부제를 투여하여 1주일 후에 1회 교체하는 방법으로 차폐막을 제거할 기간까지의 장기간 세균억제효과를 세균배양에 의한 연구를 통해 모든 환자에서 치주독성세균의 완전한 억제효과를 볼 수 있었다. 이는 향후 흡수성 및 비흡수성 차폐막을 적용하는 치주조직 재생유도술에 국소송달제의 성공적인 적용을 가능케 하는 연구결과라고 할 수 있다. 향후 이 결과를 토대로 차폐막에 국소송달제나 테트라사이클린을 함유된 재료 개발이 기대되고, 또한 인공매식치아 주위에 발생하는 *peri-implantitis*의 국소적인 항생요법치료에 효과적으로 사용될 수 있음을 시사해 주었다.

참고문헌

1. Proceedings of the World Workshop in Clinical Periodontics. AAP 1989 : II-13.
2. Mastuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI & Genco RJ. Mitogenic, Chemotatic, and Synthetic Responses of Rat Periodontal Ligament Fibrotic Cells to Polypeptide Growth Factors In Vitro. J Periodontol 1992 : 63 : 515-525.S183
3. Nyman S, Gottlow J, Karring T & Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. J Clin Periodontol 1982 : 9 : 257-265.
4. 류인철, 손성희, 정종평, 배기환. 생약추출물이 세포성장및 Cytokine생산에 미치는 영향. 대한치주과학회지 1993 : 23 : 37-47.
5. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, et al. A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. J Clin Periodontol 1989 : 16 : 545-548.

6. Rutherford RB, Ryan ME, Kennedy JE, Tucker MM and Charette MF. Platelet-derived growth factor and dexamethasone combined with a collagen matrix induce regeneration of periodontium in monkeys *J Clin Periodontol* 1993 : 20 : 537-544
7. Lynch SE, Castilla GR, Willams RC. The Effects of Short-Term Application of a Combination of Platelet-derived and Insulin-Like Growth Factors on Periodontal Wound Healing. *J Periodontol* 1991 : 62 : 458-467.
8. Becker W, Lynch SE, Leckholm U, Becker BE, Caffesse R, Donath K, and Sanchez R. A comparison of e-PTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and Insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants *J Periodontol* 63 : 929-940
9. Metzler DG, Seamons BC, Mellonig JT, Gher ME, and Gray JL. Clinical Evaluation of Guided Tissue Regeneration in the Treatment of Maxillary Class II Molar Furcation Invasion. *J Periodontol* 1991 : 62 : 353-360
10. Wang HL, Pappert TD, Castelli WA. The Effect of Platelet-Derived Growth Factor on the Cellular Response of the Periodontium : An Autoradiographic Study on Dogs. *J Periodontol* 1994 : 65 : 429-436.
11. Cho MI, Lin WL and Genco RJ. Platelet-derived growth factor modulated guided tissue regeneration therapy. *J Periodontol* 1994 : 65 : 522-530
12. Park JB, Matsuura M, Han KY, Nordeyd O, Lin WL, Genco RJ, and Cho MI. Periodontal Regeneration in Class III furcation effects of Beagle Dogs Using Guided Tissue Regenerative Therapy With Platelet-derived growth factor *J Periodontol* 1995 : 66 : 462-477
13. Tonetti MS, Pini-Prato G, Cortellini P. Periodontal Regeneration of Human Infrabony defects IV. Determinants of Healing Response. *J Periodontol* 1992 : 63 : 934-940
14. Mombelli A, Lang NP, and Nyman S. Isolation of Periodontal Species after Guided Tissue Regeneration. *J Periodontol* 1993 : 64 : 1171-1175
15. Machtei EE, Dunford RG, Norderyd OM, Zambon JJ, & Genco RJ. GTR & anti-infective therapy in the treatment of class II furcation defect. *J Periodontol*. 1993 : 64 : 968-971
16. Demolon IA, Persson GR, Moncla BJ, Johnson RH, and Ammons WF. Effects of antibiotic treatment on clinical conditions and bacterial growth with guided tissue regeneration. *J Periodontol* 1993 : 64 : 609-616
17. O'Connor BC, HN Newman and M Wilson. Susceptibility and resistance of plaque bacteria to minocycline. *J Periodontol* 1990 : 61 : 228-233
18. Baker PJ, Evans RT, Slots J and Genco RJ. Susceptibility of Human oral anaerobic bacteria to antibiotics suitable for topical use. *J Clin Periodontol* 1985 : 12 : 201-208
19. Saito A, Hosaka Y, Nakagawa T, Seida K, Yamada S, and Okuda K. Locally Delivered Minocycline and Minocycline and Guided Tissue Regeneration to Treat Post-Juvenile Periodontitis. A Case Report. *J Periodontol* 1994 : 65 : 835-839
20. Ciancio SG, ML Mather & JA Mc Mullen. The effect of short-term administration of Minocycline HCl on gingival inflammation & subgingival microflora. *J Periodontol* 1994 : 53

: 557-561

21. 최현순, 이상철, 김강주, 장원규, 정서영,
정종평 30% Minocycline 국소약물 송달체

제의 생체내의 방출역학, 세포독성 및 세
포활성도 측정 대한구강생물학회지 1992 :
16 : 63-68

표 1. Cultivable microflora of e-PTFE at baseline

Patient	Total viable counts ($\times 10^4$)	% of total isolates ($\times 10^4$)
(ePTFE-1)	baseline	
KHY	160	E.c. 13(8.13%), P.i. 14(8.75%)
NSY	152	C.r. 13(8.55%), E.c. 1(0.66%)
LKH	68	NID BPB 2 (1.32%) NID STB 3 (4.41%) P.g. 7 (10.29%)
LJH(#36)	50	P.g. 9(18%)
LJH	1	
JST	38	C.r. 1(2.63%) NID BPB 2(5.26%)
CIS	52	C.r. 5(9.62%), P.i. 3(5.77%)
HSD(#46)	56	C.r. 5(9.62%), P.i. 3(5.77%)
HSD(#36)	15	NID BPB 14(25%)
Mean	119.2	
Range	1-600	
(ePTFE)		
PMH	376	E.c. 48(12.77%) P.i. 112(29.79%)
SYK	336	NID STB 18(5.36%) P.i. 3(0.89%)
SMH	300	Capnocytophaga 2(0.67%) C.r. 10(3.33%) P.g. 4(1.33%)
YSJ	72	Capnocytophaga 2(2.78%) E.c. 3(4.17%)
JSN	42	E.c. 2(4.76%) NIC STB 1 (2.38%)
JYK(#36)	640	Capnocytophaga 32(5%) P.i. 35(5.47%)
JYK(#46)	496	NID STB 23(4.64%) P.i. 96(19.35%)
CBS	104	Capnocytophaga 3(2.88%)
Mean	295.75	
Range	42-640	

II 2. Cultivable microflora of e-PTFE membrane at 2weeks & 6 Weeks(membrane removal)

Patient	Total vable counts ($\times 10^4$)	% of total isolates ($\times 10^4$)	Total Viable counts ($\times 10^4$)	% of total isolates ($\times 10^4$)
(ePTFE-1)	2weeks		6weeks	
KHY	168		1184	C.r. 3(0.25%)
NSY	416	NID STB 2 (0.48%)	2000	Capnocytophaga 152(0.38%)
LKH	1		120	
LJH(#36)			344	NID BPB 88(25.58%)
LJH(#46)	7		840	NID STB 16(1.90%)
LBH	25	NID BPB (4.00%)	1	
JST	164		752	NID STB 56(7.45%)
HSD(#46)			30000	Capnocytophaga 24(0.08%)
HSD(#36)	10	10000	20000	Capnocytophaga 33(0.33%) P.i. 400(4%)
Mean	99.13		8368.80	
Range	1-416		120-30.000	
(ePTFE-2)				
PMH	1		140	Capnocytophaga
SYK				32(22.86%) P.g. 46(32.86%)
SMH				
YSJ			20000	NID STB 48(0.24%)
JSN	260	NID STB 1(0.38%)		
JYK(#39)	1			
JYK(#46)	2			
CBS	57			
Mean	64.20		6909.33	
Range	1-260		140-20.000	

III 3. Mean proportion and prevalence of cultivable microflora in membrane

Organism	Baseline		epTFE-2	
	ePTFE-1	P	MP(%)±SD	P
NID BPB	5.00±35.66	3/10		
P.i.	7.13±5.50	2/10	20.79±44.34	4/8
P.g.	6.71±1.00	2/10	6.91±4.00	2/8
E.c.	5.87±6.00	2/10	5.97±21.45	3/8
C.r.	8.67±6.39	3/10	3.38	1/8
Capnocytophaga			3.30±12.85	4/8
NID STB	2.10±0.50	2/10	4.73±9.42	3/8

Organism	2weeks		epTFE-2	
	ePTFE-1	P	MP(%)±SD	P
NID BPB	1.01	1/10		
P.i.				
P.g.				
E.c.				
C.r.				
Capnocytophaga				
NID STB	2.02	1/10	1.56	1/10

Organism	6weeks		epTFE-2	
	ePTFE-1	P	MP(%)±SD	P
NID BPB	0.63±35	2/10		
P.i.	4.78	1/10		
P.g.			0.67	1/8
E.c.				
C.r.	0.04	1/10		
Capnocytophaga	0.83±52.04	3/10	0.46	1/8
NID STB	0.48±17.28	3/10	0.69	1/8

mean proportion : mean No. of isolates | 100
 mean total viable counts

prevalence: number of positive sites

– Abstract –

Microbiological study of the antibacterial effects of locally delivered Minocycline^R on the plaque accumulation on Gore-tex^R membrane during the guided tissue regeneration therapy

Jeom-iL Choi and Ae-Ra Ju

Department of Periodontology School of Dentistry Pusan National University

The present study was done to evaluate the antibacterial effects of Minoclin^R which was locally delivered on the Gore-tex^R barrier membrane in the guided tissue regeneration(GTR) therapy for treatment of human furcal defects. Beneath the membranes. the antibiotics were applied for 1 week and then changed with new one. The Minoclin^R was removed out one week later. 6 weeks after the GTR therapy. No systemic antibiotics were administered except for oral mouthrinses with chlorhexidines. 2 weeks and 6 weeks following the membrane therapy, the bacterial samples were examined for periodontopathic microorganisms. The results indicated that the locally delivered Minoclin^R successfully inhibited the growth of periodontopathic organisms. This results might be further applied in the subgingival plaque control regimen in the GTR procedure, especialy in patients who is contraindicated for oral administration of systemic antibiotics