

치조골내낭에 수종의 골이식재 이식 후 혈소판 유래 성장인자의 분포에 관한 면역조직화학적 연구

엄홍식* · 한수부* · 이재일** · 김현종* · 장범석***

*서울대학교 치과대학 치주과학교실 및 치학 연구소

**서울대학교 치과대학 구강병리학교실

***강릉대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서론

치주질환에 의한 치조골흡수는 치아의 기능 상실 혹은 치아상실에 직접적인 영향을 미치므로 항상 관심의 대상이 되어왔고, 치주질환에 의해 파괴된 치조골의 회복을 위해 여러 가지 치료법이 시도되어 왔다. 그 방법으로는 치료후 자연치유에 의존하는 방법, 골성형술, 골조직이나 골대체물을 이식하는 방법 등이 있다. 골이식에는 오래전부터 자가골이 많이 이용되었으나 골채취를 위한 부가적인 수술의 필요성, 채취가능한 골의 제한성 등의 문제가 있으며, 동종골 역시 채취와 저장의 문제, 질병전염의 위험, 항원성의 문제 등의 제한점이 있어 이의 해결을 위해 합성재료로 만든 골 대체물질에 관한 많은 연구가 진행되어왔다¹⁻⁴⁾.

이러한 골대체물질 중 현재 임상적으로 가장 널리 사용되고 있는 것은 인산칼슘계 요업 재료인 tricalcium phosphate와 hydroxyapatite이며, 최근에는 천연산호와 생체유리 등이 골 이식재로 이용되면서 그에 관한 연구가 활발히 진행 중이다.

천연산호 중에서 Porites속(屬)의 골격은 99%의 탄산칼슘과 1%의 아미노산으로 구성되어 있으며, 형태적으로는 직경 약 230 μ 의 소공이 세관으로 서로 연결된 구조를 가지고 있어서⁵⁾ 이러한 형태가 골조직이 자라들어오는데 좋은 환경을 제공할 것이라는 기대로 이 산호를 멸균처리하여 골이식재료로 사용하게 되었다.

Guillemin 등⁶⁾은 천연 산호를 골결손부에 이식하여 골수에서 유래된 것으로 보이는 육아조직이 소공내로 자라들어오는 것을 관찰하였으며, Fran ois 등⁷⁾은 소공에 육아조직과 함께 혈관이 자라들어와 이식재의 전체에 걸쳐 혈액순환이 이루어지며 이식재의 흡수와 동시에 골형성이 진행된다고 하였다. Lekovic 등⁸⁾은 개에서 인공적으로 형성한 치조골결손부에 소공성 수산화인회석과 탈회동결건조골 및 천연산호를 이식하여 조직학적 및 조직계측학적으로 서로 비슷한 결과를 관찰하였다고 보고하였으며, 심 등⁹⁾은 다공성 수산화인회석과 천연산호를 비교한 임상실험을 통하여 두 이식재 사이에 치주낭 깊이 감소와 골결손부 충전 효과의 차이가 없다고 보고하였다.

* 이 연구는 1996년도 서울대학교 병원 지정연구비(02-96-242) 지원에 의한 결과임.

생체유리는 골조직과 결합하는 능력이 있으며, 골전도성을 가지고 있어서 골형성을 촉진하는 것으로 알려져 있는데⁹⁾, 생체유리 중에서도 45% SiO₂, 24.5% CaO, 24.5% Na₂O, 6% P₂O₅로 구성된 생체유리 45S5가 가장 많이 사용되고 있다.

Schepers 등¹⁰⁻¹²⁾은 생체유리를 이식하면 이식재 입자 내부에 주머니가 형성되고 이 주머니 내부에서 기존 골조직으로부터의 조골세포의 유입 없이도 골형성이 이루어진다고 하였으며, 생체유리 입자의 크기가 300-360 μ m인 것이 골형성에 가장 유리하다고 하였다. 이 등¹³⁾은 수종의 생체유리와 소공성 수산화인회석을 이용한 조직학적 관찰에서 생체유리 45S5가 소공성 수산화인회석에 비해 흡수가 빠르고 신생골 형성량이 많았다고 보고하였다.

손상된 조직의 재생과정에는 여러종류의 성장 인자들이 관여하는데, 치주조직 재생에 관련되어 주목을 받아온 성장 인자는 platelet-derived growth factor(PDGF, 혈소판 유래 성장인자), insulin-like growth factor(IGF), transforming growth factor(TGF), fibroblast growth factor(FGF), bone morphogenetic protein(BMP) 등이다.

이중 혈소판 유래 성장인자는 골형성을 촉진하며¹⁴⁻¹⁶⁾, 치주인대 세포의 증식과 화학주성을 증진시키는 것으로 보고되고 있다^{17, 18)}. 이러한 효과는 IGF-I이나 텍사메타

손에 의해 증진되는데¹⁹⁾, 혈소판 유래 성장인자와 IGF를 이용하여 개에서 신생골과 백약질의 형성촉진²⁰⁾, 원숭이에서 신부착의 형성증진²¹⁾, 개에서 임플란트 주위의 골형성 촉진²²⁾ 등이 관찰된 바 있다.

Wilson과 Low²³⁾는 생체유리를 이식하여 수산화인회석 등을 이식한 경우보다 골결손부가 빨리 충전되는 것을 관찰하였는데, 이는 이식재 표면에 성장인자 축적의 차이에 기인할 것이라고 제안하였다. 치주치료시 사용되

는 골이식재의 종류에 따라 골조직을 포함하는 치주조직의 치유양상이 세포수준에서 다르게 나타날 수 있으며, 이는 치주조직 치유에 중요한 역할을 하는 것으로 보이는 혈소판 유래 성장인자의 양이나 분포에도 영향을 미칠지 모른다. 이 실험의 목적은 개에서 인공적으로 형성한 골내낭결손부에 자가골, 천연산호 및 생체유리 45S5를 이식한 후 치유과정중의 혈소판 유래 성장인자의 분포를 면역조직화학법으로 관찰하는데 있다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

특이한 병력이 없는 잡종성견 6마리를 사용하였다. 평균체중은 14kg이었으며, 암컷이 4마리, 수컷이 2마리였다. 실험전에 예방접종을 시행하였고, 2주간의 적응기간을 가졌으며, 사료는 서현초이스(서현축산)를 주었고, 전실험기간에 걸쳐 모든 실험견을 동일한 조건으로 사육하였다.

2. 실험방법

(1) 골결손부 형성

5-10mg/kg의 ketamine hydrochloride(케타라®, 유한양행)와 0.1ml/kg의 2% xylazine hydrochloride(렘폰, 바이엘코리아)를 근육주사하여 전신마취 상태를 유도한 후, 1:100,000 epinephrine을 함유한 2% lidocaine hydrochloride로 실험부위를 침윤마취하였다. 각 반악의 견치에서 제1대구치에 이르는 부위에 열구절개를 가하고 전충판막을 형성하여 거상하였다. 치아와 골표면에 남아있는 연조직을 큐렛으로 완전히 제거한 후 소구치의 인접면에서 치간 공간이 넓은 부위를 반악 당 2곳 선택하여 round bur를 이용하여 3×3×3mm 정도의 3벽성 골결손을 형성하였다. 자연치유를 방지

하기 위하여 형성된 결손부 내로 실리콘 인상재(Silasoft®, Detax, Germany)를 인상재 주입용 주사기를 이용하여 주입하였는데, 인상재 주입전에 인상재의 유지를 위하여 실험대상 치아의 치경부에 철사를 결찰하였다. 인상재의 경화를 확인한 후 chromic cat-gut 4-0로 봉합하였다. 600,000 unit의 penicillin G procaine을 1일 1회, 3일간 근육주사하였다.

(2) 골이식재료의 이식

골결손부를 형성하고 8주가 경과한 후 골결손부 형성시와 같은 방법으로 실험견을 마취하고, 견치에서 제1대구치에 이르는 부위에 열구절개를 가한 다음, 전충판막을 형성하여 거상하였다. 인상재와 철사를 제거한 후 결손부에 큐렛으로 치근활택술을 시행하였다. 각 약 당 4곳의 골결손부에 자가골, 천연산호 골이식재인 BiocoralR (Inotek, France) 및 생체유리 45S5인 BiogranR(Orthovita, USA)을 이식하고, 나머지 한 곳은 이식재를 이식하지 않은 대조군으로 하였다. 자가골은 이식수술을 위해 판막을 형성한 부위에서 trephine bur를 이용해 채취하여 골감자와 수술도로 작은 입자로 만들어 이식하였다. 수술부위를 chromic cat-gut 4-0로 봉합하고 술후 3일간 유동식을 주었으며, 600,000 unit의 penicillin G procaine을 1일 1회, 3일간 근육주사하였다. 관류고정하여 희생시킬 때까지 0.2%의 chlorhexidine gluconate 용액(사브론, 대웅제약)으로 1주일에 2회 치아를 닦아주었다.

(3) 관류고정 및 표본제작

이식재의 이식 후 4주, 8주, 12주에 실험견을 2마리씩 희생시켰다. 10% 중성 완충 포르말린으로 관류고정하고 치아와 치주조직을 포함하는 악골을 채취하여 8% 질산용액으로 탈회하였다. 탈회된 조직은 탈수하고 파라핀에 포매한 후 4 μ m 두께로 잘라 통법에 따라 헤마톡실린 에오신 염색을 시행하여 골이식

부위의 골형성정도 및 염증 반응정도를 광학현미경으로 검경하였다.

(4) 면역조직화학적 염색

통법에 따라 고정되고 파라핀에 포매된 표본을 1 μ m의 두께로 잘라 표면 처리가 된 probe-on plus slide(Fisher Scientific)에 부착한 후 탈파라핀 처리를 하고 함수시켰다. 슬라이드는 일차로 3%과산화수소 용액으로 10분간 처리하여 조직내의 내재적인 과산화효소의 작용을 차단한 후 0.05M PBS(인산 완충 생리식염수, pH7.4)로 3회 수세하였다. 비면역혈청으로 비특이 결합부를 차단한 후 항 PDGF 항체로 1시간 반응시켰다. 반응 용액을 PBS로 수세한후 다시 비오틴이 표지된 이차항체로 30분간 결합 시켰다. 이후 다시 과산화 효소가 표지된 streptavidine으로 결합 시키고 Diaminobenzidine으로 발색시킨 후 헤마톡실린으로 대조염색하고 탈수하여 봉입 관찰하였다.

III. 연구결과

1. 광학현미경적 소견

(1) 대조군(그림 1a, b)

4주에 골결손부는 혈관이 풍부한 교원성 결합조직으로 채워져 있으며 결손부 하방의 골형성은 뚜렷하지 않았으며 몇몇 표본에서는 치근막부위를 따라서 뚜렷한 신생골 형성이 관찰되었다. 8주에 결손부의 골형성은 4주와 유사한 소견이나 더 이상의 골형성의 진행은 보이지 않고 부분적인 골의 재형성이 관찰되며 골결손부도 그대로 유지되고 있다. 골결손부내에는 교원성 결합조직으로 차있는 소견이다. 12주 소견도 8주와 거의 동일한 소견이다.

(2) 자가골 이식군(그림 2a, b)

4주에 자가골이식편 주변에서 부분적인 골형성이 관찰되었으며 골형성부외에서는 약간의 이물반응과 염증반응이 나타났다. 골결손부의 변연부 골에서의 골형성도 왕성하였다. 8주에 이식골편은 상당히 흡수되어 있고 주변에 많은 신생골의 형성을 보였다. 골결손부내의 많은 부위가 신생골로 채워져 있었다. 12주에는 대부분의 이식골편은 흡수되었고 신생골의 형성에 의해 골결손부는 대부분 채워진 소견이었다.

(3) BiocoralR 이식군(그림 3)

4주에 Biocoral 입자는 교원성 결합조직으로 둘러싸여 있으며 약간의 이물반응을 보인다. 대식세포등이 나타나나, 염증세포의 침윤은 뚜렷하지 않았다. 8주에 Biocoral 입자는 형성되는 신생골로 둘러싸이거나 골내로 완전히 함입된 소견을 보였다. 결합조직 내의 Biocoral 입자 주변에서의 골형성은 관찰되지 않았다. 12주에는 대부분의 Biocoral 입자가 골조직 내로 함입되어 있으며 골결손부는 대부분 골로 채워져 있다.

(4) 생체유리 이식군(그림 4a, b)

4주에 생체유리 입자는 결합조직내에 존재하며 대부분 교원성 결합조직으로 싸여있었다. 입자의 가운데는 균열이 존재하며 균열 내에서는 신생골의 형성이 관찰되었다. 생체유리 입자 하방의 골결손부 주변골에서는 골의 증식이 왕성하게 나타나고 있었다. 8주에 결합조직내에 존재하는 생체유리 입자는 4주에서와 동일한 양상이다. 내부의 균열부위가 보다 확대되고 골형성량도 증가한 소견이나 입자 주변부에서의 단독적인 골형성은 없었다. 주변부의 골 증식은 보다 진행되어 일부 입자는 골내로 함입된 소견이다. 12주에 대부분의 생체유리 입자는 골내로 함입되어 있으며 입자의 크기는 감소해 있다. 상당수의 입자는 흡수된 소견을 보인다.

2. PDGF 면역조직화학적 염색 소견

(1) 대조군(그림 5a, b)

4주에 PDGF의 분포는 주로 결합조직에서 약한 양성반응을 나타내었으며 혈관주변에서 다소 증가한 반응을 보였다. 그외에 신생골의 형성부위나 조골세포 조백악세포 조상아세포 주변에서 강한 양성 반응을 나타내었다. 치아와 인접한 치주인대 주위에서 강한 양성반응을 보이는 상은 동일하였으며 특히 치근단부의 조상아 세포에서 강하게 나타났다. 골결손부에서는 손상된 골의 변연에서 골표면을 따라 띠모양의 양성반응이 증가된 것으로 나타났다. 8주에 골결손부의 신생골형성부위의 골단에서 띠모양으로 나타났는데 발현의 정도는 4주에 비해 현저히 감소하였다. 골수내 조골세포에 의한 골형성 부위에서 양성 반응을 나타내었으며 이같은 염색상은 주로 골양조직에 강하게 나타났다. 12주에는 이전의 반응양상이 매우 약화되고 손상받지 않은 정상조직에서와 유사한 양상을 나타내었다.

(2) 자가골 이식군(그림 6a, b, c)

4주 자가골이식편 주변부에서 골형성과 관계없이 뚜렷한 양성반응이 나타났으며 골결손부의 변연부 골에서의 골형성부에서도 넓고 뚜렷한 띠모양의 양성반응이 나타났다. 8주에는 흡수된 이식골편 주변의 신생골의 형성부에서 띠모양의 양성 반응이 나타났으며 골결손부내의 신생골 주변에서도 뚜렷한 양성 반응을 나타내었다. 12주에 골결손부는 대부분 채워져 있고 골막부에서 약한 띠모양의 양성반응이 나타났다. 골내부의 재형성부위에서도 주로 골양조직에 강한 양성반응을 나타내었다.

(3) BiocoralR 이식군(그림 7a, b)

4주에 Biocoral 입자 주위를 둘러싼 결합조직에서 띠모양의 양성반응이 나타났으며 입

자 주위로 증식하는 신생골에 두꺼운 띠모양의 양성반응대가 나타났다. 이식재 입자 주변의 양성 반응대는 치주인대에 가까운 쪽에서 보다 뚜렷하고 두꺼운 형태를 나타내었다. 8주에 Biocoral 입자는 증식한 골에 의해 보다 많이 둘러싸여 있었으며 골단과 이식물 주변의 띠모양 반응대는 4주에서와 유사한 소견이었다. 다수의 이식재가 골내로 함입된 양상을 보였으며 입자 주변을 싸고 있는 골조직에서도 경계부에는 띠모양의 양성반응을 보였다. 12주에 치주인대나 조골세포주위의 양성 반응을 제외하고는 뚜렷한 반응을 나타내지 않아 정상 골조직과 동일한 소견을 나타내었다. 대부분의 Biocoral 입자는 골내에서만 관찰되었으며 매식물과 골과의 경계부에는 가는 띠모양의 양성반응이 미약하게 나타났다.

(4) 생체유리 이식군(그림 8a, b, c)

4주에 결합조직내에 존재하는 이식재는 주로 내부의 균열내에서만 강한 양성반응의 띠모양 구조가 관찰되었으며 이식재 주변에서는 거의 음성이었다. 이식재 입자주변에서 성장하는 골조직의 주변부, 즉 골양조직이나 결합조직에서의 직접골화부에서 강한 띠모양의 양성반응을 나타내었다. 8주에는 골내에 존재하는 일부 입자의 주변부는 뚜렷한 양성반응대가 나타났다. 결합조직내에 존재하는 입자의 주변부에서는 뚜렷한 양성반응을 보이지 않았다. 입자 내부의 균열에서는 증식한 골조직 전체에 강한 양성반응대를 나타내었다. 12주에는 형성된 골 주변의 양성반응은 약하게 나타났으며 골내 남은 이식재 주변에서도 약한 양성반응이었다. 골내의 재형성부위에서 강한 양성반응이었다.

IV. 총괄 및 고안

혈소판 유래 성장인자(platelet-derived growth factor: PDGF)는 치주치료 후 치주조

직 치유에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이 연구는 최근에 개발되어 치주치료에 시도되고 있는 골이식재료인 coralline calcium carbonate와 생체유리 및 자가골을 개에서 인공적으로 형성한 3벽성 골결손부에 이식하고 그 치유과정 중에 혈소판 유래 성장인자의 발현을 면역조직화학적으로 관찰하여 이를 골형성과 관련시켜 비교하고자 한 시도였다.

Holmes²¹⁾가 골이식시 불완전하게 흡수된 골원(osteon)이 골재생을 방해하며, Porites라는 산호의 골격 형태가 골원이 완전히 흡수된 피질골과 거의 같아서 골형성의 기질로 작용할 수 있는 구조라고 발표한 이래, 산호의 calcium carbonate를 열수치환하여 수산화인회석으로 만든 이른바 replamineform hydroxyapatite가 골이식재료로 많이 이용되게 되었다. 그런데 골대체물질을 이식한 경우 골형성이 시작되기 위해서는 carbonate phase가 필요하다. 즉, replamineform hydroxyapatite 등의 이식시 골형성이 시작되기 위해서는 표면의 hydroxyapatite가 carbonate로 전환되어야 한다. 천연산호의 골격을 멸균처리하여 그대로 사용할 경우 이러한 과정이 필요치 않으므로 골형성의 진행이 빠를 것이라는 기대로 coralline calcium carbonate가 골이식물질로 사용되게 되었다^{25, 36)}. Guillemin 등²⁷⁾은 소공부피가 49%인 Porites와 소공부피가 12%인 Acropora를 동물의 골결손부에 이식한 실험에서 소공부피가 큰 Porites가 Acropora에 비해 흡수가 빠르고 신생골 형성량이 많았다고 보고하였다. Lekovic 등⁷⁾은 개에서 인공적으로 형성한 수직성 골결손부에 다공성 수산화인회석, 탈회동결건조골, coralline calcium carbonate을 이식하여 조직학적 및 조직계측학적으로 관찰한 결과 신부착이나 골형성량에 있어서 이들 두 재료간의 차이를 관찰할 수 없었다고 보고하였다. 다공성 수산화인회석과 coralline calcium carbonate을 비교한 임

상실험에서 심 등⁸⁾은 치주낭깊이의 감소, 골결손부 충전효과가 서로 비슷하였다고 보고하였으며, Mora와 Ouhayoum²⁸⁾도 이 두 재료 간에 치주낭 깊이, 임상적 부착증진, 골결손충전 등에서 비슷한 효과를 보았다고 보고하였다.

생체유리는 골조직과 결합하는 능력이 있으며 골전도성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다⁹⁾. Schepers 등^{10, 11)}은 생체유리에 의해 유도되는 골형성 과정을 다음과 같은 가설로 설명하였다. 골결손부에 이식된 생체유리 입자는 조직액과의 개재면에서 일어나는 ion exchange에 의해 입자 전체가 calcium-phosphorus-rich layer에 둘러싸인 실리카겔로 변한다²⁹⁾. 유리입자의 외측부위의 CaP-rich layer에 미세한 균열이 생기고 이 균열을 통하여 탐식세포들이 실리카겔의 내부로 침투하여 겔의 내부에서 부분적인 흡수를 일으켜 CaP-rich layer를 가진 주머니를 형성한다. 이 주머니 내부는 조직액의 유동이 없고 원시간엽세포들의 이동이 없어 원시세포들이 조골세포로 분화하는에 좋은 환경을 제공하여 기존 골조직으로부터의 조골세포의 유입없이도 골형성이 가능하다는 것이다. 또한 Schepers 등¹²⁾은 생체유리 입자의 크기가 300-360 μ m인 것이 골형성에 가장 유리하다고 하였다. 이보다 입자의 크기가 크면 조직액내에서 입자 전체가 겔로 변하지 않아 중심부의 흡수가 일어나지 않으며, 따라서 유리 입자내에서 조골세포의 분화가 일어나지 않고, 이보다 입자가 작은 경우는 입자 전체가 흡수되어 간엽세포 증식의 기질로 작용할 수 없다는 것이다. 또 이들은 생체 유리 입자의 크기도 비교적 균일해야 한다고 주장하였다. 크기가 균일한 입자를 이식하면 입자 사이에 공간이 많이 생기지만, 입자의 크기가 균일하지 않을 경우 큰 입자 사이의 공간을 작은 입자들이 메우므로 조직침투와 재생의 공간이 없어진다는 것이다. 이 등¹³⁾은 몇 종류의 생체유리와 다공성

수산화인회석을 개의 골연하결손부에 이식하고 조직학적으로 관찰하여 생체유리가 다공성 수산화인회석에 비해 흡수가 빠르고 신생골형성량이 많았다고 보고하였다. Wilson과 Low²³⁾, Fetner 등³⁰⁾은 원숭이를 이용한 실험에서 생체유리가 tricalcium phosphate나 수산화인회석에 비해 골결손부 충전과 신부착형성에 더 효과적이라고 보고하였으며, 또한 골결손부 변연과 떨어진 생체유리 입자 주위에서도 신생골이 형성되는 것을 관찰하여 생체유리가 골전도성(osteoconductive)뿐 아니라 골형성능력(osteopductive)이 있다고 주장하였다.

우리의 실험에서 조직표본상에 이식된 자가골편과 생체유리는 이식된 채로 잘 유지되고 있었으나, coralline calcium carbonate은 그 입자 수가 매우 적게 나타났다.

수술시에 생체유리는 혈액이나 생리식염수에 젖으면 입자끼리 서로 잘 응집되는 성질을 보였으나 calcium carbonate 입자는 출혈에 의해서 잘 씻겨나가는 것을 볼 수 있었다. 따라서 조직표본상에서 calcium carbonate의 입자가 적게 관찰되는 것은 많은 수의 calcium carbonate 입자가 이식후 유실되었기 때문이라고 추측된다. 이 등³¹⁾은 개에서 인공적으로 형성한 골연하 결손부를 이용한 실험에서 calcium carbonate가 생체유리보다 신생골 형성 면에서 우수하다고 보고하였으나, 우리의 실험에서는 골결손부의 골충전이 calcium carbonate 이식군에서보다 자가골 이식군이나 생체유리 이식군에서 많은 것으로 관찰되었다. 이는 우리의 실험에서 calcium carbonate 입자의 유실이 많았기 때문으로 볼 수 있을 것이다. 이 실험에서 개개 이식재 입자 주위의 골형성량을 객관적으로 비교하는 것은 어려웠으나, 이 등이 보고한 바와 같이 calcium carbonate이 생체유리보다 골형성이 많았다는 관찰은 할 수 없었다.

인간의 조골세포는 비교적 많은 PDGF 수용기를 가지고 있고 PDGF-AA와 PDGF-BB

에 잘 반응하며³²⁾, organ culture에서 혈소판 유래 성장인자에 의해 초기에는 골흡수가 일어나지만 결국은 신생골 형성을 자극하는 것으로 알려져 있다¹¹⁾. Gilardetti 등¹²⁾은 혈소판 유래 성장인자가 조골세포의 mitogenic activity와 화학주성을 자극한다고 보고하였다. Canalis 등¹³⁾은 쥐의 두개골을 이용한 실험에서 혈소판 유래 성장인자가 조골세포의 증식을 자극하지만 세포당 교원질 생산량에는 거의 영향을 미치지 못한다고 보고하였다. 그러나 혈소판 유래 성장인자가 교원질을 생산하는 세포의 수를 증가시키므로 분비되는 교원질의 전체량을 증가시킨다고 하였다. 또한 혈소판 유래 성장인자는 치주인대세포의 증식을 자극하고¹⁷⁾, 치유중인 발치창의 혈병 세포의 mitogenesis와 화학주성을 자극하는 것으로 알려져 있으며¹⁸⁾, Oates 등³³⁾은 PDGF-AA와 PDGF-BB가 치주인대세포의 DNA 합성을 증진시킨다고 보고하였다.

우리의 실험의 몇몇 대조군 골결손부에서 치주인대에서 먼 부위보다 치주인대측에서 골형성이 많이 일어나는 것이 관찰되었다. 이런 관찰에 미루어 볼 때 외과적으로 골결손부를 형성하고 인상재 주입 후 8주간 방치하여 만성염증을 일으키려는 우리의 시도가 적어도 부분적으로는 실패하였다고 할 수 있다. 이런 이유로 우리가 의도했던 신부착형성의 군간 비교는 이 실험에서는 할 수 없었다. 우리의 실험에서 혈소판 유래 성장인자의 발현은 골형성이 왕성하게 일어나는 부위에서 많이 나타났다. 이러한 결과는 혈소판 유래 성장인자가 골형성에 중요한 역할을 한다는 사실을 간접적으로 뒷받침해주는 것이라 할 수 있겠다. Wilson과 Low²³⁾는 생체유리와 다공성 수산화인회석 및 치밀성 수산화인회석을 원숭이에서 인공적으로 형성한 골결손부에 이식하여 생체유리가 수산화인회석에 비해 상피의 하방증식 억제와 골결손 충전 효과가 우수함을 관찰하였는데, 이는 이식재 표면에

축적되는 성장인자의 양의 차이 때문일 것이라고 제안하였다. 우리의 실험에서 골이식재를 이식하지 않은 대조군에서는 혈소판 유래 성장인자의 발현이 4주에서는 비교적 강하게 나타났으나 그 발현이 점점 약해져 12주에는 손상받지 않은 정상조직과 비슷한 수준으로 나타났다. 골이식재료를 이식한 군들 중 자가골 이식군과 생체유리 이식군에서는 전기간에 걸쳐 혈소판 유래 성장인자의 발현이 강하게 나타났지만, calcium carbonate 이식군에서는 4주, 8주에 비교적 강했던 혈소판 유래 성장인자의 발현이 12주에는 약하게 나타났다. 이런 결과는 calcium carbonate에 비해 자가골이나 생체유리 이식이 치주치료 후 골충전과 신부착형성의 가능성을 높이는 방법이 될 수도 있음을 시사한다. 동물실험과 인체실험을 통하여 이러한 골이식재료의 유효성이 평가되어야 할 것이다.

V. 결 론

성견에서 인공적으로 형성한 골연하결손부에 자가골, BiocoralR 및 생체유리를 이식하여 4주, 8주, 12주의 실험기간을 거친 뒤 제작한 표본을 헤마톡실린 에오신 염색과 혈소판 유래 성장인자에 대한 면역조직화학적 염색을 하고 광학현미경으로 관찰하여 치유중에 혈소판 유래 성장인자의 분포를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈소판 유래 성장인자의 발현은 골형성이 왕성하게 일어나고 있는 부위에서 강하게 나타났다.
2. 골이식재료를 이식하지 않은 대조군에서는 4주, 8주에 다소 증가된 혈소판 유래 성장인자의 발현이 관찰되었으나, 12주에는 그 발현이 거의 관찰되지 않았다.
3. 자가골 이식군에서는 전실험기간에 걸쳐 혈소판 유래 성장인자의 발현이 강하게 나타났다.

4. BiocoralR 이식군에서는 혈소판 유래 성장인자의 발현이 4주, 8주에는 강하였으나, 12주에는 손상받지 않은 정상조직 수준으로 약해졌다.
5. 생체유리 이식군에서는 전실험기간에 걸쳐 혈소판 유래 성장인자의 발현이 강하게 나타났다.

이상의 결과는 BiocoralR에 비해 자가골이나 생체유리 이식이 치주치료 후 골충전과 신부착형성의 가능성을 높일 수 있음을 시사한다.

참고문헌

1. Schallhorn RG : Postoperative Problems Associated with Iliac Transplants. J Periodontol 43 : 3, 1972.
2. Alderman NE : Sterile Plaster of Paris as An Implant in the Infrabony Environment : A preliminary study. J Periodontol 40 : 11, 1969.
3. Hodosh M, Povar M and Shklar G : Experimental Findings of New Bone Formation after Rat Skull Implants of Polymethacrylate and an Organic Bone. Plast Reconstr Surg 44 : 582, 1969.
4. Shaffer CD and App GR: The Use of Plaster of Paris in Treating Infrabony Defects in Humans. J Peirodontol 42 : 685, 1971.
5. Francois XR, Daniel B, Bernard L and Bernard G, Geneviève : Madreporic Coral : A new bone graft substitute for cranial surgery. J Neurosurg 69 : 510, 1988.
6. Guillemin G, Patat JL, Fournie J and Chetail M : The Use of Coral as a Bone Graft Substitute. J Biomed Mater Res 21 : 557, 1987.
7. Lekovic V, Ouhayoum JP, Carranza FA, Nedic M, Bou Alboud N and Kenney EB : Histological and Histometric Evaluation of Three Graft Materials in Experimental Osseous Defects. J Peirodontol 63 : 1009(Abstr.), 1992.
8. Shim JM, Son SH and Han SB : Clinical Evaluation of Coralline Based Porous Hydroxyapatite and Coralline Based Calcium Carbonate in Human Intrabony Periodontal Lesions. J Korean Acad Periodontol 24 : 120, 1994.
9. Wilson J, Clark AE, Matthew Hall and Hench LL : Tissue Response to Bioglass Endosseous Ridge Maintenance Implants. J Oral Implantol 19 : 295, 1993.
10. Schepers E, De Cregeg MA and Ducheyne P : Bioactive Glass Partialate as a Filler for Bone Lesions. J Oral Rehab 18 : 439, 1991.
11. Schepers EJG and Ducheyne P : The Application of Biocative Glass Particles of Narrow Size Range as a Filler Material for Bone Lesions : A 24 month animal experiment. Bioceramics 6 : 401, 1993.
12. Schepers EJG, Ducheyne P, Barbier L and Schepers S: Biocative Glass Particles of Narrow Size Range : A new material for the repair of bone defects. Implant Dent 2 : 151, 1993.
13. Lee CW, Choi SM, Han SB, Park SH and Kim HJ : Histologic Study of Different Bioceramic Implants in Intrabony Defects. J Korean Acad Periodontol 26 : 27, 1996.
14. Canalis E, McCarthy TL and Centella

- M : Effects of Platelet-derived Growth Factor in Bone Formation in vitro. *J Cell Physiol* 140 : 530, 1989.
15. Gilardetti RS, Chaibi MS, Strounza J, Williams SR, Antoniadis HN, Carnes DC and Graves DT : High-affinity Binding of PDGF-AA and PDGF-BB to Normal Human Osteoblastic Cells and Modulation by Interleukin-1. *Am J Physiol* 261 : C980, 1991.
 16. Hughes FJ, Aubin JE and Heersche JN : Differential Chemotactic Responses of Different Populations of Fetal Rat Calvaria Cells to Platelet-derived Growth Factor and Transforming Growth Factor Beta. *Bone Miner* 19 : 63, 1992.
 17. Piche JE, Carnes DL Jr and Graves DT : Initial Characterization of Cells Derived from Human Periodontia. *J Dent Res* 68 : 761, 1989.
 18. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI and Genco RJ : Mitogenic, Chemotactic and Synthetic Responses of Rat Periodontal Ligament Fibroblastic cells to Polypeptide Growth Factors in vitro. *J Periodontol* 63 : 515, 1992.
 19. Rutherford RB, Trailsmith MD, Ryan ME and Charette MF : Synergistic Effects of Dexamethasone on Platelet-derived Growth Factor Mitogenesis in vitro. *Arch Oral Biol* 37 : 139, 1992.
 20. Lynch SE, de Castilla GR, Williams RC, Kiritsy CP, Howell TH, Reddy MS and Antoniadis HN : The Effects of Short-term Application of a Combination of Platelet-derived and Insulin-like Growth Factors on Periodontal Wound Healing. *J Periodontol* 62 : 458, 1991.
 21. Rutherford RD, Niekrash CE, Kennedy JE and Charette MF : Platelet-derived and Insulin-like Growth Factors Stimulate Regeneration of Periodontal Attachment in Monkeys. *J Periodontol Res* 27 : 285, 1992.
 22. Becker W, Lynch SE, Lekholm U, Becker BE, Caffesse R, Donath K and Sanchez R : A Comparison of ePTFE Membranes Alone or in Combination with Platelet-derived Growth Factors and Insulin-like Growth Factors-I or Demineralized Freeze-dried Bone in Promoting Bone Formation around Immediate Extraction Socket Implants. *J Periodontol* 63 : 929, 1992.
 23. Wilson J and Low S : Bioactive Ceramics for Periodontal Treatment : Comparative studies in the patas monkey. *J Appl Biomater* 3 : 123, 1992.
 24. Holmes RE : Bone Regeneration within a Coralline Hydroxyapatite Implant. *Plast Reconstr Surg* 63 : 626, 1979.
 25. Ohgushi H, Okumura M, Yoshikawa T, Inoue K, Senpuku N and Tamai S : Bone Formation Process in Porous Calcium Carbonate and Hydroxyapatite. *J Biomed Mater Res* 26 : 885, 1992.
 26. Yukna RA : Clinical Evaluation of Coralline Calcium Carbonate as a Bone Replacement Graft Material in Human Periodontal Osseous Defects. *J Periodontol* 65 : 177, 1994.
 27. Guillemin G, Meunier A, Dallant P, Christel P, Pouliquen JC and Sedel L : Comparison of Coral Resorption and Bone Apposition with Two Natural Corals of Different Porosities. *J Biomed Mater Res* 23 : 765, 1989.
 28. Mora F and Ouhayoun JP : Clinical

- Evaluation of Natural Coral and Porous Hydroxyapatite Implants in Periodontal Bone Lesions: Results of a 1-year follow-up. *J Clin Periodontol* 22 : 877, 1995.
29. Kokubo T, Ito S, Huang T, Hayashi T and Sakka S : Ca, P-rich Layer Formed on High-strength Bioactive Glass-ceramic A-W. *J Biomed Mater Res* 24 : 331, 1990.
30. Fetner AE, Hartigan MS and Low SB : Periodontal Repair Using PerioGlas in Nonhuman Primates: Clinical and histologic observations. *Compend Contin Educ Dent* 15 : 934, 1993.
31. Lee IK, Yi KY, Han SB, Ko JS and Cho JS : Effect of Bioceramic Grafts with and without ePTFE Membrane in Periodontal Osseous Defects in Dogs. *J Korean Acad Periodontol* 26 : 47, 1996.
32. Zhang L, Leeman E, Carnes DC and Graves DT : Human Osteoblasts Synthesize and Respond to Platelet-derived Growth Factor. *Am J Physiol* 261 : C348, 1991.
33. Oates TW, Rouse CA and Cochran DL: Mitogenic Effects of Growth Factors on Human Periodontal Ligament Cells in vitro. *J Periodontol* 64 : 142, 1993.

사진부도 설명

- 그림 1 Light micrographs of specimen treated without bone graft material after 4 weeks(a) and 12 weeks(b) of healing. Only minimal amount of bone formation was seen along the margin of bone defect . Magnification : a $\times 40$, b $\times 200$.
- 그림 2 Light micrographs of specimen treated with autogenous bone graft showing new bone(arrow and NB) around the grafted bone after 4 weeks(a) and 12 weeks(b) of healing. GB : grafted bone. Magnification : a $\times 40$, b $\times 200$.
- 그림 3 Light micrograph of specimen treated with Biocoral graft showing multinucleated giant cells(arrow) and a little osteoblastic activity around the grafted particle(magnification $\times 200$).
- 그림 4 Light micrographs of specimen treated with bioglass graft showing new bone formation around the grafted particles(arrow) and in the central excavations(arrow head) after 4 weeks(a) and 8 weeks(b) of healing. Magnification: a $\times 40$, b $\times 100$.
- 그림 5 Light micrograph of specimen treated without bone graft showing increased PDGF expression along the margin of bone defect(arrows) after 4 weeks of healing(a). After 12 weeks of healing, little PDGF expression was observed(b). Magnification: a $\times 100$, b $\times 200$.
- 그림 6 Light micrographs of specimen treated with autogenous bone graft showing strong PDGF expression around the grafted bone(arrows) after 4 weeks(a), 8 weeks(b) and 12 weeks(c) of healing. Magnification: a $\times 100$, b $\times 100$, c $\times 400$.
- 그림 7 Light micrographs of specimen treated with Biocoral graft showing strong PDGF expression around the grafted particles(arrows) after 4 weeks of healing(a). After 12 weeks of healing, the Expression of PDGF was rather decreased(b). Magnification: a $\times 100$, b $\times 40$.
- 그림 8 Light micrographs of specimen treated with bioglass graft showing PDGF expression around the grafted particles(arrows) and in the central excavations(arrow heads) after 4 weeks(a), 8 weeks(b) and 12 weeks of healing. Magnification : a $\times 100$, b $\times 200$, c $\times 40$.

사진부도 (I)

그림 1a

그림 1b

그림 1c

그림 2a

그림 2b

그림 2c

그림 3a

그림 3b

사진부도 (Ⅱ)

그림 3c

그림 4a

그림 4b

그림 4c

그림 5a

그림 5b

그림 5c

그림 6a

사진부도 (Ⅲ)

Immunohistochemical Study on Platelet-derived Growth Factor after Implantation of Different Bone Graft Materials in Intrabony Defects

*Heung-Sik Um, *Soo-Boo Han **Jae-Il Lee, *Hyeon-Jong Kim, ***Beom-Sek Chang

*Department of Periodontology and Dental Research Institute,
College of Dentistry, Seoul National University.

**Department of Oral Pathology, College of Dentistry, Seoul National University.

***Department of Periodontology, College of Dentistry, Kannung National University.

Platelet-derived growth factor(PDGF) has been shown to play an important role in periodontal regeneration. The purpose of the present study was to examine the distribution of PDGF in experimentally created periodontal intrabony defects after flap surgery with various bone graft materials. Six healthy mongrel dogs were used in this study. Three-wall bony defects were created in maxillary and mandibular premolars, inflammation induced by wire ligation and injection of impression material into the defects. Eight weeks later, the experimental lesions thus obtained were treated by plain flap surgery(control group), flap surgery plus autogenous bone graft(autogenous bone group), flap surgery plus Biocoral graft(Biocoral group), or flap surgery plus bioglass graft(bioglass group), which were randomly assigned to the defects. After 4, 8, and 12 weeks postoperatively, 2 dogs were sacrificed at each time and the specimens were taken for histological examinations and immunohistochemical examinations for PDGF. In the control defects the amount of new bone formation was minimal. In the autogenous bone and Biocoral group new bone was deposited around implanted particles and the amount of new bone was increased with time. A large number of bioglass particles exhibited a central excavation and bone formation could be observed in the central excavation as well as around the particles. The expression of PDGF was low in the control group. The expression of PDGF in Biocoral group was increased at 4, 8 week, but decreased at 12 week. The increased PDGF expression in autogenous bone and bioglass group was maintained to the end of the experiment

Key words : autogenous bone, Biocoral, bioglass, platelet-derived growth factor