흡수성 차폐막의 치주조직 재생에 혈소판유래 성장인자가 미치는 영향

류인철* · 배규현* · 설양조* · 구 영* · 이승진** · 한수부* · 최상묵* · 정종평*

*서울대학교 치과대학 치주과학교실
**이화여자대학교 약학대학

I. 서론

치주치료의 궁극적인 목표는 질환의 진행을 차단하고 손상, 결손된 치주조직을 재생시켜 기능적 회복을 얻는 것이다. 1976년 Melcher[1]가 치주수술 후 일어나는 치유양상이 치근면에 부착되는 세포의 종류에 의해 결정된다고 제시한 이후, 이러한 가설 위에서 치주조직유도재생의 개념이 도입되게 되었다. 치주조직의 치유에는 최소한 6종류의 조직이 관여하게 되는데, 여기에는 치은 상피, 치은 결합조직, 치주인대, 백악질, 치조골 그리고 혈관구조등이 포함된다. 여러 연구들을 통해 치주인대세포가 신생 백악질과 신생 결체조직 부착을 형성할 수 있는 능력을 갖고 있으며, 치근면에 재집락하여 기능적으로 배열된 교원 섬유들을 형성할 수 있는 것으로 확인되었다[2-4]. 그러나 통상적인 치주조직의 치유과정에서는 치은 상피의 빠른 증식으로 인하여, 손상부위의 기저부에 이르기까지 긴접합상피가 치면과 만나게 됨으로써, 새로운 백악질과 치주인대 그리고 치조골의 형성에 의한 실질적인 재생을 바라는 치주치료의 목적을 어렵게 한다[5-7]. 이에 대하여 결합조직의 부착을 방해하는 치은 상피 세포와 치은 결합조직 세포가 치유부위로 유입되는 것을 차단하고, 치주인대세포의 선택적 증식을 도모하여, 신생 백악질, 치주인대, 치조골의 형성을 위한 공간을 확보함으로써 파괴된 치주조직의 재생을 유도하려는 술식이 조직유도재생술(guided tissue regeneration)이다.

Magnusson등[8]은 Millipore filter를 이용하여 치유과정 중 치은 상피와 치은 결체조직이 치근면과 접촉하지 않게 한 동물 실험에서 노출된 치근면의 50%에서 결체조직의 섬유성 신부착을 관찰할 수 있었음을 보고한바 있고, Gottlow등[9]은 expanded polytetrafluoroethylene(ePTFE)막을 이용한 임상보고에서 임상적, 조직학적으로 신부착을 관찰할 수 있었다고 하였으며, 이후의 연구에서 Pontoriero등[10]과 Caffesse등[11]은 하악 구치부의 2급 치간이개부 병변치료에 ePTFE막을 이용하여 조직유도재생효과를 확인하였다. 이 ePTFE차폐막은 여러 연구가들에 의한 광범위한 연구와 함께, 실제 임상에서도 성공적인 치료결과가 확인되어 널리 사용되고 있다. 그러나 ePTFE차폐막은 생체적합성이 우수하나,

본연구는 1995년서울대학교병원임상연구비(02-1995-365-0)의지원에의해시행되었음

비흡수성이기 때문에 2차수술을 통해 제거해야하는 불편함과, 이로 인해 신생조직이 재형성되는 과정이 방해되는 문제점이 노출되고 있다[12]. 이러한 단점을 해결하기 위해 차폐막 제거를 위한 2차수술이 필요없는 생분해성 차폐막에 대한 관심과 연구가 집중되고 있다.

현재까지 시도되었거나 사용되고 있는 생분해성 차폐막 재료로는 type I collagen[13-15], oxidized cellulose[16], cargile membrane[17], polylactic acid[18,19], vicryl mesh(polyglactin 910)[20]등이 있다. 이들 중 collagen은 치주인대조직에 대한 화학주성과 지혈작용이 있으며, 초기 혈관과 조직이 안으로 자라올 수 있도록 섬유성 지지대의 역할을 한다. 그러나 이 재료는 사용되어진 collagen의 유형에 따라 다양한 면역반응이 나타나며, 치주조직 재생에 필요한 시간보다 빠른 속도로 흡수되는 단점[21]이있어, 치주조직 재생에 긍정적인 결과를 보인 경우도 그 효과는 그다지 크지 않다[22,23]. 이에 비해 glycolide와 lactide로 이루어진 copolymer인 생분해성 차폐막이 동물 및 인체실험에서 치유과정 중 해로운 작용이 없을 뿐 아니라 치주조직의 재생능력에 있어서도 ePTFE막과 유사한 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다[20,24,25]. 또한 이전 연구에서도 성견의 골연하 결손부에 적용하고 24주간 기간별로 조직학적 관찰을 한 결과, 술 후 8주까지 구조적 형태를 유지하고 서서히 흡수하기 시작하여 24주 후에는 거의 흡수되었으며, 상피세포의 하방증식을 억제하고 신생백악질, 신생골 그리고 치주인대의 형성을 통한 효과적인 치주조직재생을 유도한 결과가 있었다[26].

성장인자는 자연적으로 발생하는 폴리펩타이드(polypeptide)로서, 창상의 치유과정에 관련된 여러 가지 세포활동을 자극하여 세포에 대한 이동과 증식, 그리고 기질의 합성에 영향을 미치는 강력한 생물학적 매개체의 역할을 하며, 혈소판유래 성장인자(platelet derived growth factor, PDGF), 상피성장인자(epidermal growth factor, EGF), 전환성장인자(transforming growth factor, TGF), 인슐린 유사성장인자(insulinlike growth factor, IGF)등이 있다. 이들 중 혈소판유래성장인자는 높은 양전하를 띠는 2개의 긴 폴리펩타이드 사슬이 sulfide bond로 연결된 이중체 단백질로서 분자량이 약 28,000내지 35,000 Da에 이른다. 2개의 다른 PDGF polypeptide가 존재하며 이들은 서로 다른 유전자로부터 유래되나 56%정도의 유사부분을 보이고, 개별적으로 조절되는 유전형질의 발현에 의해 PDGF는 3가지의 다른 이중체 즉, 동종 이중체인 PDGF-AA, PDGF-BB와 이종 이중체인 PDGF-AB가 존재한다[27-30]. 이들 중 PDGF-AB와 PDGF-BB가 섬유아세포의 디옥시리보핵산의 합성을 촉진시킨다[31]고 알려져 있으며, Lynch등[32]은 PDGF와 IGF-1의 혼합물이 실험동물에서 신생골 및 신생백악질의 형성을 증가시킨다고 보고하였고, 이 후 Matsuda등[33]과 Oates등[34]도 시험관 실험을 통해 PDGF-BB가 사람의 치주인대조직에 대해 강력한 유사분열유도효과를 보인다고 보고하였다. 또한 Cho등[35]은 PDGF-BB와 ePTFE 차폐막을 같이 사용하는 혈소판유래성장인자 조절성 조직유도재생술식(PDGF-modulated GTR therapy)을 고안하여 치근강직이나 치근흡수와 같은 합병증 없이 조직재생을 유도할 수 있다고 발표한 바 있다. 그러나 이 방법은 ePTFE같은 비흡수성 차폐막을 사용할 때의 단점을 해결하지 못하는 한계점을 가지고 있다. 따라서 폴리펩타이드 성장인자 중 PDGF-BB를 생분해성 차폐막에 함입시켜 조직유도재생술식에 사용하였을 경우 치주조직재생효과를 더욱 증진시킬 수 있을 것으로 생각되어 진다.

이 연구의 목적은 폴리락트산(poly-L-lactic acid)과 폴리글라이콜린산(polyglycolic acid)로 제작된 생분해성 차폐막에 200ng/cm^2 농도의 혈소판유래성장인자를 함유하여 성견의 치조골 결손부에서의 초기 치주조직 재생유

도효과를 조직학적으로 평가하는데 있다.

Ⅱ. 연구 재료 및 방법

1.실험 동물

체중 13kg 내외의 생후 18개월된 2마리의 비글견(Marshall Farms USA, Inc., New York, U. S. A.)을 실험 동물로 하였으며, 모두 임상적으로 치주질환이 없었다. 실험 견들은 실험 기간 동안 각각 다른 우리에서 사육되었으며 변화된 환경에 대한 2주간의 적응기간을 갖게 한 후 실험을 시작하였으며, 결손부 형성 수술 전까지는 고형사료(서현초이스, 서현축산, 한국)를 먹게 하였다.

2. 실험 재료

실험용으로 만든 차폐막은 다음과 같은 방법으로 제작하였다. 폴리글라이콜산(점도 18,000 poise)(삼양사, 서울, 한국)을 용융하여 방사기(Extrusion system Ltd., Drighlington, England)로 250℃에서 방사를 하여 관형편직기 (tube knitter)(Koike Ltd., Nara Japan)로 편직을 하였다. 제작된 망사를 펴서 고정한 후, 염화메틸렌으로 녹이고 에틸아세테이트를 첨가시킨, 분자양 367,900의 폴리락트산(Purac Biochem BV, Gorinchem, Holland)을 피막 시켰다. 이 후 상온에서 24시간 건조하여 용매를 증발시키고 다시 24시간 진공 건조시켜 남은 용매를 제거하였다. PDGF - BB(Genzyme, CA, U. S. A.)를 함유하는 차폐막을 제조하기 위해서는 PDGF - BB를 소의 혈청알부민(bovine serum albumin, BSA)이 폴리락트산중량에 대하여 10%비율로 함유된 인산염 완충액(pH 7.4)에 가하고 이를 폴리락트산 용액에서 유화 시켰다. 이 유탁액을 폴리글라이콜산으로 제작된 편직물에 기구(doctoring blade)를 이용하여 피복시켰다.

3. 실험 방법

상,하악 좌우측 견치와 제 3 소구치를 실험대상으로 하였고 수술은 2% 염화자일라진액(Rompun®, 한국 바이엘, 서울, 한국)15mg/kg을 정맥주사하여 전신마취를 유도한 후 시행하였으며, 수술 부위에는 에피네프린(1:100,000)이 포함된 2% 염산 리도카인(유한양행, 서울, 한국)을 이용한 국소 마취 하에서 무균적 조건에서 실시하였다.

(1) 치조골의 결손부 형성

치은열구 절개를 한 후 상하악의 실험대상 치아의 인접치아까지가 포함되게 협측에만 전층판막을 만들었다. 육아조직을 모두 제거한 후, 저속 회전하는 다이아몬드 절삭용 바와 치즐을 이용하여 협측 치조골을 제거하였다. 과열에 따른 조직 손상을 줄이기 위하여 멸균생리식염수로 충분히 세척하면서 실시하였다. 협측골의 제거는 백악법랑경계부에서 치근방향으로 5mm 정도의 길이까지, 그리고 근원심으로는 6mm정도 연장하였으며, 실험치아와 차폐막 사이의 공간을 확보하기 위해 상하악 견치의 순측 치조골, 제 2, 3 소구치의 2급 치근이개부를 형성하였다. 이 과정에서 백악질이 제거되지 않도록 주의하였다.

(2) 재건수술

결손부 형성 후, 치은열구절개 및 전층판막을 만들고 스케일링 및 치근면 활택술을 시행하였다. 노출된 결손부의 최하방점을 기준점으로 정하기 위해 33½ round bur로 잔존 치조골과 같은 높이에다 기준홈을 형성하였다. 저자들이 만든 실험용 차폐막은 수술 전날 24시간동안 산화에틸렌가스로 소독하였다. 실험군으로는 PDGF - BB 함유 차폐막을, 대조군으로는 PDGF - BB가 함유되지 않은 차폐막을 상, 하악 좌우측 견치와 제 3 소구치중 임의로 선

택하여 결손부에 각각 피개하였다. 차폐막은 결손부 보다 2 - 3mm 측방 및 치근방향으로 연장되게 크기를 조절하였으며, 치유 기간 중 차폐막의 움직임이나 탈락을 막기 위해 막의 치근단부 좌, 우측에 각각 1개씩의 핀(Frios® Friatec AG, Mannheim, Germany)으로 고정한 후 판막을 치관부로 약간 당겨서 흡수성 봉합사인 4 - 0 chromic cat - gut(Ethicon Ltd., England)을 이용하여 수직누상봉합을 하였다. 수술 후 7일간 600,000U 페니실린 G 프로케인 항생제(Pfizer Co, New York, U.S.A.)를 근주하였고 매일 0.1% 클로르헥시딘액(부광약품, 서울, 한국)을 사용하여 구강위생을 유지하게 하였으며 유동식을 섭취하게 하였다.

수술 후 2주동안 Tetracycline HCl을 근주하였고, 차폐막 매식 수술 3주 후에 2% 염화 자일라진주사액(Rompun®, 한국 바이엘, 서울, 한국)을 정맥주사 하여 전신마취 시킨 후 경동맥을 통해 10% 중성 포르말린 완충용액을 주입하여 조직을 관류고정시킨 후 희생시키고 3주간 10% 중성 포르말린 완충용액이 담긴 용기 속에 보관하였다.

(3) 조직학적 관찰

고정된 조직을 Donath와 Breuner[36]가 기술한 방법에 따라 비탈회표본을 제작하였다. 먼저 치근의 정중부를 중심으로 협설측 방향으로 좌우를 다이아몬드로 처리된 띠모양의 톱(Exakt cutting - grinding system, Exakt - Apparateb, Hamburg, Germany)을 이용, 분리하여 시편의 두께가 2 - 3mm되게 절단하였다. 통법에 따라 탈수(50, 70, 90, 95, 100%의 에탄올과 자일렌을 이용, 이 중 100%의 에탄올에는 3일간, 나머지는 2일간을 4℃에서 교반시킴)시킨 후 메틸메타아크릴레이트(Osteobed® bone embedding solution, Polyscience, Inc. Warrington, PA. U.S.A.)를 이용하여 포매하였다. 포매는 3단계로 나누어 실시하였는데, 1단계는 유리병에다 포매액만 넣고, 2단계는 포매액에다 촉매제(benzoyl peroxidase)를 1.0w/v%만큼 섞은 용액으로 하였다. 1, 2단계의 포매는 2일에 한 번씩 액을 교환해주면서 4℃냉장실에서 교반하면서 실시하였다. 3단계는 촉매제를 2.5w/v%만큼 섞은 포매액에 담구어 실온에서 하루동안 둔 후 다음날 35℃의 진공오븐(35℃, 25psi)에서 1일간 두었다가 이 후 55℃에서 4일간 두어 완전히 경화시켰다. 1, 2와 3단계의 포매과정은 플라스틱 주사기를 이용하여 진공을 형성한 상태에서 실시하였다. 중합이 완료된 시편이 든 유리병은 - 70℃의 냉동실에 20분간 두었다가 종이타월로 싼 다음, 망치를 이용하여 깨뜨려 포매가 완성된 플록을 얻었다. 블록을 적당한 부위까지 연마한 다음 그 반대편도 처음 면과 평형하게 갈아내었다. 이렇게 만든 블록을 플라스틱 슬라이드에 시아노아크릴레이트로 접착시키고 압력을 가한 상태로 24시간 두었다. 블록이 붙은 슬라이드를 Exakt - micro grinding

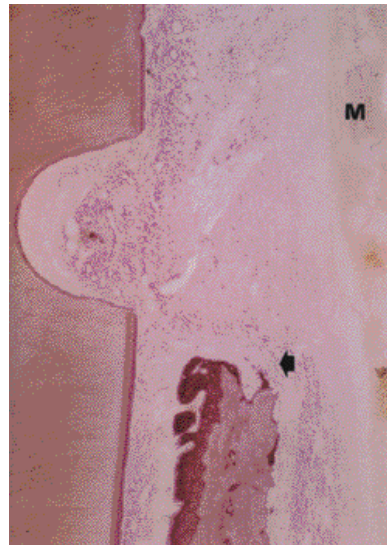

Figure 1. Drug - unloaded membrane specimen at 3 weeks. Alveolar bone resorption was observed below the apical end of the notch(large arrow), and new bone formation was not observed. Membrane(M) was in the process of

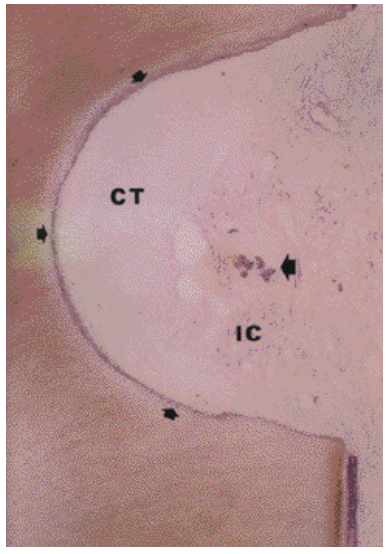

Figure 2. Drug - unloaded membrane specimen at 3 weeks.
The reference notch area was filled with connective tissue(CT) and inflammatory cells(IC). Small mineralized nodule was formed(large arrow). And newly formed cementum(small arrow) was very thin and discontinuous(Multiple staining : Original

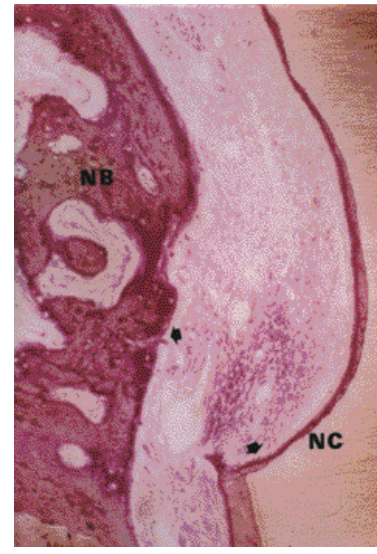

Figure 4. PDGF - BB loaded membrane specimen at 3 weeks.
The periodontal ligament fibers were seen between newly formed bone and cementum. The fibers were locally attached to bone and cementum(large arrow)(Multiple staining : Original magnification × 100)

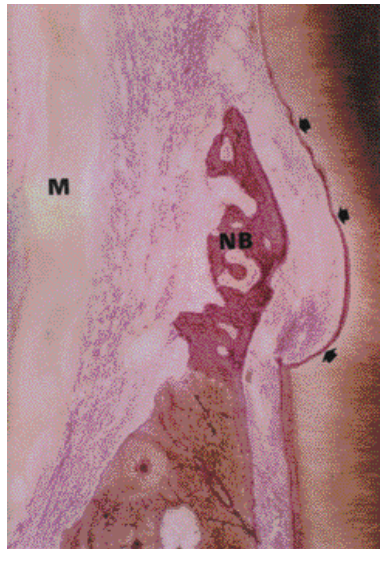

Figure 3. PDGF - BB loaded membrane specimen at 3 weeks.
New bone(NB) filled the entire reference notch. A thin and continuous layer of newly formed cementum(small arrow) was observed. The membrane(M) maintained its structure(Multiple

system (Exakt - Apparateb, Hamburg, Germany)으로 연마하여 슬라이드면과 블록의 반대면이 완전히 평행이 되게 하였다. 또 다른 플라스틱 슬라이드를 Exakt - precision adhesive system을 이용하여 블록이 붙은 슬라이드와 평행하게 시아노아크릴레이트로 고정하여 블록을 사이에 두고 고정된 평행한 두 개의 슬라이드를 얻었다. 먼저 고정한 슬라이드를 Exakt - cutting and grinding system의 진공장치에다 연결하여 단단히 고정시킨 후 두께가 약 100㎛정도가 되게 절단하였다. 절단된 표본은 Exakt - micro grinding system에다 800, 1200, 2500, 4000사포를 차례로 이용하여 연마하여 최종적으로 두께 20㎛의 매끈하고 얇은 표본이 얻어지게 하였다. 연마 후 toluidine blue와 multiple 염색법으로 염색하고 광학 현미경(Olympus BH - 2, Olympus Co, Tokyo, Japan)으로 조직 소견을 관찰하였다.

III. 연구 결과

PDGF - BB를 함유하지 않은 차폐막의 실험 3주 후 소견에서 신생골의 형성은 보이지 않았고, 기준홈 하방으로 치조골이 약간 흡수된 소견을 보였다. 기준홈안에는 염증세포의 침윤과 함께 소성 결합조직으로 차 있었으며 중앙 부위에 소량의 경조직의 형성이 관찰되었다. 또한 신생 백악질이 매우 얇게 불연속적으로 형성되어 있었으며 차폐막은 그 형태를 유지하고 있었다(Figure 1, 2).

PDGF - BB를 함유한 차폐막에서는 실험 3주 후에 기준홈 안으로 신생골이 형성된 소견과 함께, 연속적이며 얇은 신생 백악질의 형성이 관찰되었다. 치주인대세포가 신생골과 신생 백악질 사이에서 관찰되었고 일부는 신생골과 신생백악질에 부착된 양상을 보였다(Figure 3, 4).

IV. 총괄 및 고안

효과적인 조직의 치유를 위해서는 창상주변의 세포들이 증식하여 창상내로 이주하고, 창상내에서 세포외기질을 분비하는 과정이 이루어져야 한다. 이 과정의 결과로 창상으로 인한 조직내 공간이 새로운 세포와 기질로 채워지게 된다. 그러나 조직의 재생을 위해서는 창상내의 세포가 원래 그 공간에 존재하던 세포와 같아야 하며, 같은 방식으로 기시하여야 한다. 또한 이들 세포에 의해 형성되는 세포외기질도 창상이전에 있던 구조물과 같은 세포에서 기시하고 같은 형태를 가져야 한다. 치주조직의 결손부에 대한 재생을 위해 많은 차폐막이 개발되어 왔고 현재 임상에 효과적으로 사용되고 있다. 차폐막이 갖추어야 할 물리적인 성질에 대한 조건을 살펴보면, 차폐막은 막 자체가 조직과 융합되어 세포들을 분리시킬 수 있어야 하며, 일정기간 붕괴되지 않고 공간확보가 가능해야 하며, 조작의 용이성과 함께 문제가 발생하였을 때 쉽게 제거가 가능해야 한다[37]. 생체분해성 합성고분자들은 분해기간, 물리적 성질, 약물방출속도등을 조절하기가 비교적 용이한 특성이 있고 Polylactic acid를 소재로 하여 복잡하고 정교한 구조를 갖도록 제작된 차폐막[18,19], PLA와 PGA를 공중합시켜 물리적 성질과 분해속도등을 조절한 Vicryl mesh(polyglactin 910)[20]등이 있다. 이 연구에서 사용한 차폐막은 PGA를 용융 방사하여 만든 편직물에 PLA를 피막시킨 후 진공건조하여 제작한 것으로 두께가 150㎛ 정도로 ePTFE 차폐막과 비슷하였다. 이 차폐막은 이전 연구에서 flurbiprofen과 tetracycline을 함유하여 백서의 두개골에 적용하였을 때 골조직재생유도능력에 효과가 있었고, 조직반응을 보기위해 백서의 피하조직에 매식한 경우 1,2주에는 심한 염증반응이 나타났지만 4주 이후에는 염증양상이 감소하였고 이 양상이 ePTFE막과 유사함을 보인 바있다[38].

성장인자는 신체내에서 세포의 분열과 이주, 대사 활동을 증진하는 기능을 가진, 자연적으로 발생하는 단백질의 일부를 총칭하는 용어이다. 성장인자가 치주조직의 치유에만 관여한다면, 성장인자는 섬유성 결합조직이나 상피조직같이 창상 폐쇄에 필요한 조직에만 영향을 주면 된다. 그러나 치주조직의 재생을 위해서는 연조직 뿐만이 아니라 경조직의 형성도 자극해야 한다.

PDGF는 혈청내에 존재하는 섬유아세포의 성장촉진효과에의해 처음 관찰되었으며[39], 이후 PDGF가 혈소판에서 기시한다는 것과 혈청내 간엽세포들에 대한 유사분열촉진효과가 있다는 것등이 알려졌다[40]. PDGF는 섬유아세포에 대한 분열촉진인자로서, 분열촉진의 일부분은 IGF - 1같은 autocrine factor의 합성촉진을 통하여 이루어지고, 섬유아세포의 fibronectin, hyaluronic acid, collagenase생성을 강화하기도한다[41]. 또한 PDGF는 혈액순환내에서는 발

견되지 않고 정맥주사하였을 때의 반감기는 2분이내이다[42]. 따라서 PDGF는 국소적으로 형성되어 국소적으로 작용하는 성장인자이다.

McGill등[43]은 동물실험에서 PDGF를 흡수성 hydroxyapatite에 첨가하였을 때 신생골 형성이 유의성 있게 증가하였다고 하였으며, 골유도를 증가시키기 위해서 적절한 운반체(carrier)가 필요하다고 하였다. 이후 PDGF적용을 위한 운반체로는 polyethylene glycol[44], methyl-cellulose gel[32,45], collagen marix[46], poly-orthoester membrane[47], porous polysulfone[48]등이 이용되었다. 그리고 Park등[49]은 운반체를 이용할 경우 손상된 공간내로 세포의 이동이 방해받아서 세포증식과 새로운 기질침착이 어렵고, 운반체의 제거에 대식세포에 의한 면역반응이 유발되며, 운반체의 유지기간이 짧아서 약물의 단시간의 효과밖에 기대할 수 없다고 하여 구연산으로 탈회한 치근면에 성장인자를 직접 바르는 방법을 제시하기도 하였다.

이 연구는 PLA와 PGA로 제작한 생분해성 차폐막에 PDGF를 함유시키고, 인위적으로 형성된 실험동물의 치조골 결손부에 피개시켜 초기에 일어나는 치주조직의 재생능력을 평가하고자 하였다. Matsuda등[33]은 백서의 섬유아세포에 대한 화학주성 및 유사분열유도능에 대한 성장인자의 효과에 대한 실험에서 PDGF-BB는 0.1-1ng/ml의 농도에서도 유사분열능력을 가지고, 화학주성은 0.01ng/ml의 저농도에서도 나타난다고 하였으며, Lee등[50]은 200ng/cm^{2}의 PDGF-BB를 생분해성 차폐막에 함입하여 약물 방출 실험을 한 결과 1일째 0.75ng이 방출되었고 이후 0.1ng씩 지속적으로 방출되었으며 이는 표면에 노출된 PDGF-BB가 먼저 방출되고 내부의 약물이 순차적으로 용출된 것으로 생각된다고 하였다. 이 연구에서는 이를 바탕으로 200ng/cm^{2}의 약물이 함유된 차폐막을 이용하여 차폐막분해에 따른 약물의 서방출효과를 기대하였다. 즉 이번 연구에 사용된 차폐막은 상피세포의 하방증식을 억제하는 효과도 있지만 PDGF의 운반체로서의 기능에 중점을 두었다고 할 수 있다.

실험 3주 후에 PDGF-BB를 함유한 차폐막에서는 기준홈 안으로 신생골이 형성된 소견과 함께, 연속적이며 얇은 신생 백악질의 형성이 관찰되었으나 PDGF-BB를 함유하지 않은 차폐막의 실험 3주 후 소견에서는 신생골의 형성은 보이지 않았고, 오히려 기준홈 하방으로 치조골이 약간 흡수된 소견을 보였다. 이 치조골 흡수는 저속으로 회전하는 절삭용 바를 이용한 결손부 형성시에 받은 외상 때문에 골의 괴사가 생기고 술후 치유에 영향을 미쳐 치조골 높이의 감소로 나타난 것으로 생각된다. 이에 비해 PDGF-BB를 함유한 차폐막에서 관찰되는 신생골과 신생백악질의 형성은 차폐막에 의한 상피세포 하방증식의 억제와 더불어 지속적인 성장인자의 방출에 의한 치주조직재생효과의 결과인 것으로 생각된다.

이 연구는 PDGF-BB가 함유된 생분해성 차폐막의 치주조직재생 효과를 평가하기 위해 단기간의 실험을 하였기 때문에 이전에 보고된 여러 동물실험의 결과와 비교하는 것은 한계가 있다. 조직소견에서 관찰된 염증세포의 소멸여부, 3주 이후의 치주조직재생과 관련하여 차폐막 분해속도의 적정한 유지 문제등이 검증되어야 할 것이다. 그러나 이 연구의 한계내에서 PDGF-BB가 함유된 생분해성 차폐막은 신생치조골 및 신생 백악질의 형성에 효과가 있음을 알 수 있었다. 향후 장기적인 실험을 통하여 차폐막의 시간에 따른 분해속도와 성장인자가 어느 기간까지 지속적으로 방출되는지에 대한 연구가 필요할 것이며, 임상적용에 용이한 차폐막의 제작에 대한 연구도 이루어져야 할 것으로 생각된다.

V. 참고문헌

1. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissue. J Periodontol

1976;47:256 - 260.
2. Karring T, Nyman S, Lindhe J. Healing following implantation of peri - odontitis affected roots into bone tissue. J Clin Periodontol 1980;7:96 - 105
3. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experi - mental study in the monkey. J Clin Periodontol 1982;9:257 - 265
4. Nyman S, Karring T, Lindhe J. Healing following implantation of peri - odontitis affected roots into gingival connective tissue. J Clin Periodontol 1980;7:394 - 401
5. Stahl S, Slavkin H, Yamada L. Speculations after gingival repair. J Periodontol 1972;43:395 - 402
6. Caton J, Nyman S, Zander H. Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue levels after four regenerative procedures. J Clin Periodontol 1980;7:224 - 231
7. Wirthlin MR. The current status of new attachment therapy. J Periodontol 1982;52:529 - 544
8. Magnusson I, Nyman S, Karring T, Egelberg J. Connective tissue attach - ment formation following exclusion of gingival connective tissue and epithelium during healing. J Periodont Res 1985;20:201 - 208
9. Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennstrom J. New attach - ment formation in the human periodon - tium by guided tissue regeneration. Case reports. J Clin Periodontol 1986;13:604 - 616
10. Pontoriero R, Lindhe J, Nyman S, Karring T, Rosenberg E, Sanavi F. Guided tissue regeneration in degree II furcation - involved mandibular molar. A clinical study. J Clin Periodontol 1988;15:247 - 254
11. Caffesse RG, Smith BA, Duff B, Morrison EC, Memill D, Becker W. Class II furcations treated by guided tissue regeneration in humans : Case reports. J Periodontol 1990;61:510 - 514
12. Wikesj UME, Nilveus RE, Selvig KA. Significance of early healing events on periodontal repair. A review. J Periodontol 1992;63:158 - 165
13. Pitaru S, Tal H, Soldinger M, Azar - Avidam O, Noff M. Collagen membrane prevents the apical migration of epithe - lium during periodontal wound healing. J Periodont Res 1987;22:331 - 333
14. Blumenthal NM. The use of collagen membranes to guide regeneration of new connective tissue attachment in dogs. J Periodontol 1988;59:830 - 836
15. Chung KM, Salkin LM, Stein MD, Freedman AL. Clinical evaluation of a biodegradable collagen membrane in guided tissue regeneration. J Periodontol 1990;61:732 - 736
16. Galgut PN. Oxidized cellulose mesh used as a biodegradable barrier mem - brane in the technique of guided tissue regeneration. A case report. J Periodontol 1990;61:766 - 768
17. Card SJ, Caffesse RG, Smith B, Nasjleti C. New attachment following the use of a resorbable membrane in treat - ing periodontitis in beagle dogs. Int J Periodont Res Dent 1989;9:59 - 69
18. Gottlow J, Nyman S, Laurell L, et al.

Clinical result of GTR - therapy using a bioabsorbable device(Guidor). J Dent Res 1992;71:298(abstr no. 1536)
19. Magnusson I, Stenberg WV, Batich C, Egelberg J. Connective tissue repair in circumferential periodontal defects in dogs following use of a biodegrable membrane. J Clin Periodontol 1990;17:243 - 248
20. Fleisher N, Waal HD, Bloom A. Regeneration of lost attachment appara - tus in the dog using vicryl absorbable mesh (Polyglactin 910). Int J Periodont Res Den 1988;8(2):45 - 54
21. Mattonson J, Mcley LL, Jabro MH. Treatment of intrabony defects with collagen membrane barrier. Case reports. J Periodontol 1995;66:635 - 645
22. Choi SY, Rolf R, Nilveus RE, Minutello RD, Grenith J. Effect of a col - lagen matrix on healing in periodontal furcation defects in dogs. J Periodontol 1993;64:878 - 882
23. Garrett S, Loss B, Chamberlin D, Egelberg J. Treatment of intraosseous periodontal defects with a combined adjunctive therapy of citric acid condi - tioning, bone grafting and collageneous membranes. J Clin Periodontol 1988;15:383 - 389
24. Magnusson I, Batich C, Collins BR. New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membranes. J Periodontol 1988;59:1 - 6
25. Caffesse RG, Nasjleti CE, Morrison EC, Sanchez R. Guided tissue regenera - tion: Comparison of bioabsorbable and nonbioabsorbable membranes. Histologic and histometric study in dogs. J Periodontol 1994; 65:583 - 591
26. 류인철, 구영, 정종평, 한수부, 최상묵. Poly (alpha - hydroxy acids) 제제 생분해성 차폐막의 치주조직 재생유도능력에 관한 조직학적 장기관찰. 대한치주과학회지 1997;27:633 - 645
27. Graves DT, Cochran DL. Mesenchymal cell growth factors. Crit Rev Oral Biol Med 1990;1:17 - 36
28. Graves DT, Cochran DL. Periodontal regeneration with polypep - tide growth factors. Curr Opin Periodontol 1994:178 - 186
29. Antoniades HN, Hunkapiller MW. Human platelet - derived growth factor(PDGF): Amino terminal amino acid sequence. Science 1983;220:963 - 965
30. Hammacher A, Hellman U, Johnson A. A major part of PDGF purified from human platelets is a heterodimer of one A and one B chain. J Biol Chem 1988;263:16493 - 16498
31. Kazalauskas A, Bowen - Pope D, Seifert R. Different effects of homo - and heterodimers of platelet - derived growth factor A and B chains on human and mouse fibroblasts. EMBO J 1988;7:3727 - 3735
32. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, Howel TH, Reddy MS, Zappa UE, Antoniades HN. A combination of platelet - derived and insulin - like growth factors enhanced periodontal regenera - tion. J Clin Periodontol 1989;16:545 - 548
33. Matsuda N, Lin WL, Kumar M, Cho MI, Genco RJ. Mitogenic, chemotactic,

and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. J Periodontol 1992;63:515 - 525

34. Oates TW, Rouse CA, Cochran DL. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. J Periodontol 1993;64:142 - 148

35. Cho MI, Lin WL, Genco RJ. Platelet - derived growth factor - modu -

lated guided tissue regeneration therapy. J Periodontol 1995;66:522 - 530
36. Donath K, Breuner GA. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. J Oral Pathol 1982;11:318 - 326
37. Scantlebury T. 1982 - 1992 : A decade of technology development for guided tissue regeneration. J Periodontol 1993(supplement);64:1129 - 1137
38. 김동균, 이승진, 정종평. 약물함유 생체분해성 차폐막의 유도조직재생에 관한 연구. 대한치주과학회지 1995;25:192 - 209
39. Balk SD, Whitfield JF, Youdale T, Brown AC. Role of calcium, serum, plasma and folic acid in the control of proliferation of normal and rous sarcoma - virus infected chicken fibroblast. Proc Natl Acad Sci USA 1973;70:657 - 679
40. Ross R, Glomset J, Kariya B, Harker L. A platelet - dependent serum factor that stimulate the proliferation of external smooth muscle cells in vitro. Proc Natl Acad Sci USA 1974;71:1207 - 1210
41. Scher CD, Shepard RC, Antonlades HN, Stiles CD. Platelet - derived growth factor and the regulation of the mammalian fibroblast cell cycle. Biochim Biophys Acta 1979;560:217 - 241
42. Bowen - Pope DF. Malpass TW, Foster DM, Ross R. Platelet - derived growth factor in vivo: levels, activity and rate of clearance. Blood 1984;64:458 - 469
43. McGill JJ, Strates BS, McGuire MH. Stimulation of osteogenesis by PDGF and TGF absorbed on mycrocrystals of hydroxyappatite. J Bone Min Res 1990;6(suppl.1):503
44. Ross R, Greenhalgh DG, Sprugel KH, Murry MJ. PDGF and FGF stimulate wound healing in the genetically diabetic mouse. Am J Patho 1990;6:1235 - 1246
45. Lynch SE, Buser D, Hernandez RA, Weber HP, Stich H, Fax H, William RC. Effects of the platelet - derived growth factor/Insulin - like growth factor - 1 combination on bone regeneration around titanium dntal implants: Results of a pilot study in beagle dogs. J Periodontol 1991;62:710 - 716
46. Rutherford RB, Ryon ME, Kennedy JE, Tucker MM, Charette MF. Platelet - derived growth factor and dexzmethasone combination with a collagen matrix induced regenera - tion of the periodontium in monkeys. J Clin Periodontol 1993;20:537 - 544
47. Tones K, Busch D, Solheim E, Bary G. Guided tissue regeneration and local delivery of insulin - like growth factor I by bioerodable polyorthoester membranes in rat calvarial defects. Int J Oral Max Impt 1996;11:498 - 505
48. Mailhot JM, Sharawy MM, Galal M, Oldham AM, Russel CM. Porous polysulfone coated with PDGF - BB stimulates proliferation of human gingival fibroblasts. J Periodontol 1996;67:981 - 985
49. Park JB, Matsuura M, Han KY, Norderyd O, Lin WL, Genco RJ, Cho MI. Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet - derived growth factor. J Periodontol 1995;66:462 - 477
50. Lee SJ, Park YJ, Ha SJ, Pai CM, Chung CP. Porous poly(L - lactide) membranes for

guided tissue regeneration and drug delivery. Proceed Intern Symp Control Rel Bioact Mat 1996;23:232 - 233

- Abstract -

The Effect of PDGF - Loaded Biodegradable Membrane on Early Healing Stage in Guided Tissue Regeneration

In - Chul Rhyu*, Kyoo - Hyun Bae*, Yang - Jo Seol*, Young - Ku*, Soo - Boo Han*, Sang - Mook Choi*, Chong - Pyoung Chung*, Seung - Jin Lee**

*Deptartment of periodontology, College of dentistry, Seoul National University

**College of Pharmacy, Ewha Woman's University

The ultimate objective of periodontal treatment is to stop disease progression and to regenerate destroyed periodontal tissues and thereby regain normal function. Growth factors are naturally found polype - tides which stimulate many cellular activi - ties pertaining to wound healing by acting as signal molecule in controlling cell move - ment, proliferation, and matrix production. Platelet derived growth factor (PDGF) is 28,000 - 35,000 Da molecular weight dimeric protein with 2 long positively charged polypeptide chains connected by sulfide bonds. The purpose of this study is to evaluate histologically the initial guided tissue regeneration in a periodontal defect of a beagle dog treated with a biodegradable membrane formed with polylactic acid (poly - L - lactic acid) and polyglycolic acid loaded with 200ng/cm^2 platelet derived

growth factor. 2 beagle dogs were used in the experiment. 5mm×6mm alveolar bone defect was formed in upper and lower canines and third premolars and a reference notch was placed. PDGF - BB non - containing membrane was used as control. Each defect was randomly assigned to the test group or the control group. The dogs were sacrificed 3 weeks after membrane placement. Toluidine blue and multiple staining was done for histological analysis. In the 3 week specimen in the control group, no new bone formation could be seen. Small amount of bone resorption below the notch could be seen. In the notch, loose connective tissue with infiltration of inflammatory cells could be seen. Also thin discontinuous new cementum could be seen and the membrane still retained its structure. Where PDGF - BB containing membrane was used, new bone formation could be seen in the notch at 3 weeks and also continuous thin cementum could be seen. PDL cells were observed between new bone and new cementum and some were attached to bone and cementum. These results suggest that new bone and cementum formation seen when PDGF - BB loaded membrane was used was due to inhibition of downgrowth of epithelial cells and also due to continuous release of the growth factor. Further study on the resorption characteristics of the membrane and the release characteristics of the PDGF - BB is necessary. Also, development of a membrane easier to use clinically is necessary.

Key words : Guided tissue regeneration, Polyglycolic acid/Polylactic acid, Biodegradable membrane, PDGF - BB