

성견 하악의 치주-치근단 실험적 복합병소에서 골조직 재생에 관한 연구

김정혜 · 백승호* · 윤수한*

성균관대학교 의과대학 치과학교실, 서울대학교 치과대학 치과보존학교실*

ABSTRACT

BONE REGENERATION OF THE EXPERIMENTAL ENDODONTIC-PERIODONTIC COMBINED DEFECTS IN THE MANDIBLES OF THE DOGS

Jeong-Hye Kim, D.D.S., M.S.D., Seung-Ho Baek, D.D.S., M.S.D., Ph.D.*,

Soo-Han Yoon, D.D.S., M.S.D., Ph.D.*

*Dept. of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Seoul National University**

Dept. of Dentistry, College of Medicine, Sungkyungwan University

The endodontic-periodontic combined lesions have been difficult to get correct diagnosis and predictable treatment. This study was to make the experimental endodontic-periodontic combined defects in dogs for the study of the periodontal regeneration and to evaluate the efficacy of the enamel matrix protein and e-PTFE membrane in the experimental endodontic-periodontic combined defects.

5 mongrel dogs were used. The pulp chambers were opened and the plaque was inserted into the chambers to induce the periapical lesions on the mandibular second, third and fourth premolars of the dogs. 1 month later, the root canal treatments were done with gutta percha and ZOE sealer. On the day of surgery, the periapical defects were standardized by trephine bur. The buccal dehiscence defects were made by the dental bur and bone chisels. The apicoectomy with retrofilling was done. The prepared roots were randomly selected for test and control groups. In the experimental groups, the enamel matrix derivative and e-PTFE membrane were used. Nothing was placed on the control group. Fluorescent labelling was used to evaluate the bone formation. After 4 and 12 weeks, the dogs were sacrificed and undecalcified sections were prepared and stained with toluidine blue. Those histologic sections were examined by fluorescent microscopy and light microscopy.

The results were as follows.

1. In the control group, new bone was formed in the periapical defects and scarcely in the buccal dehiscence defects. New cementum was not detected at 4 and 12 weeks.
2. In the experimental groups, new bone, new cementum and periodontal ligament were found in the periapical and buccal dehiscence defects. The relative amount and the quality of the new bone, new cementum and periodontal ligament tissue that had formed on the experimental groups were superior to those of the control group.
3. The current observation implicated that e-PTFE membrane and enamel matrix protein could be the effective tools for the guided tissue regeneration of the endo-perio combined defects.

Key Words : guided tissue regeneration, e-PTFE membrane, enamel matrix protein, endo-perio combined defects, bone formation

이 연구는 삼성생명과학연구소 연구비(C-98-056)의 보조로 이루어졌음.

I. 서 론

치주-치근단 병소는 그 증상이 다양할 뿐 아니라 정확한 진단이 어렵고 만족할 만한 예후를 임상적으로 판단하기가 상당히 힘든 병소이다. 따라서 성공적인 치료 결과를 얻기 위해서는 정확한 원인규명 및 진단, 그리고 치료계획이 요구된다. Simon 등¹⁾은 치주-치근단 병소를 원인과 진단, 치료방법에 따라 5가지로 분류하고 있다. 일차적 치주질환, 여기에 이차적으로 치주조직에 이환된 경우, 일차적 치주질환, 이차적 치주질환의 이환 및 각각 독립적으로 발생한 진성 혼합 병소로 나누고 있으며, 이러한 질환들의 치료로서는 치주조직에 대한 근관치료와 치주조직에 대한 처치가 요구된다. 결국 치수와 치주조직과의 관계에서 세균의 침입과 상주를 막아 치주-치근단 병소의 치유를 도모하는 것이다. Skoglund와 Persson²⁾은 협착치조골이 완전히 상실된 치아에서 치근단 절제술 후에 치근단병소의 치유가 불확실하거나 성공하지 못한 경우가 전체 증례의 63%에 달한다고 보고하였다. 이는 변연골의 파괴가 치근단절제술의 예후를 더욱 나쁘게 하기 때문이다. 치근단 병소를 가지고 있으면서 치주조직 파괴로 인해 구강과 연결되는 누공 등의 병소가 있는 경우, 치아의 발치가 더욱 선호되고 있는 이유가 바로 여기에 있다. 특히 치근단과 변연골의 결손부가 연결된 병소에서는 치근단절제술이 금기증으로 받아 들여졌는데, 이는 치근단 병소의 제거 후 외부환경으로부터 치주조직을 통한 세균들의 침입을 막기 어렵기 때문인 것으로 아직까지도 발치가 선호되어오고 있다. 그러나 최근 외과적 치근단절제술이 활발하게 진행되면서 차폐막을 이용한 치근단 부위의 골조직 재생을 유도하는 술식이 치주-치근단병소의 새로운 치료방법의 하나로서 대두되고 있으나 이에 관한 연구는 임상적인 증례를 포함하여 거의 보고된 바 없다³⁾.

조직재생유도술(Guided Tissue Regeneration)에 관한 개념은 1976년 Melcher⁴⁾가 치아주위에 존재하는 4가지 다른 결체조직, 즉 치은상피조직, 치은결체조직, 치조골조직, 치주인대조직등이 치유부위로 이동되는 순서에 따라 가장 먼저 이주된 세포의 표현형에 의해 조직의 재생형태가 결정된다고 주장하면서 대두되기 시작하였다. 이를 근거로 Nyman 등⁵⁾은 millipore filter를 이용한 실험에서 차폐막을 이용하여 치은상피조직과 치은결체조직이 손상된 치조골부위로 증식하여 들어가는 것을 차단함으로써 골조직세포가 다시 재생됨을 보고하여 조직유도재생술의 가능성을 증명하였다. 그 후 많은 연구들이 치주영역에서 진행되어 손상된 치주조직의 재생을 보고한 바 임상적인 치료에 성공적으로 사용되고 있다⁶⁻¹¹⁾. 치아보존영역에서의 차폐막 사용 예를 살펴보면, Diggins 등¹²⁾은 치근단 천공시에, Pecora 등¹³⁾은 치근단병소의 크기가 큰 경우의 회복시에, Rankow와 Krasner³⁾는 일반적인 치근단절제술에서 사용한 다양한 임

상증례를 발표한 바 있다.

조직재생유도술이 연구되던 초기에는 비흡수성차폐막으로서 millipore filter와 함께 생체 적합성이 우수한 e-PTFE(expanded polytetrafluoroethylene membrane)이 사용되어 왔으나, 최근에는 이차 수술이 요구되고 감염의 기회가 높은 비흡수성차폐막의 단점을 보완하기 위해, polylactic acid(Guidor, Resolute), polyglactin 910(Vicryl), collagen, calcium sulfate등과 같은 흡수성막이 개발되어 사용되어지고 있다^{14,15)}. 또한 polypeptide growth factor, polypeptide differentiation factor, differentiation protein등을 실험적으로 사용하여 치아의 지지조직을 재생하는데 다양한 방법들이 연구되고 있다¹⁶⁻²³⁾.

조직재생을 유도하는 또다른 방법으로는 치아발생시에 일어나는 과정을 모방하는 것이라고 할 수 있다. 법랑질 형성 치성기관인 Hertwig's epithelial root sheath의 세포들이 치근의 형성시에 enamel matrix protein을 방출하여 acellular cementum을 형성하는데 관여하는 것으로 최근 많은 연구에서 밝혀지고 있다²⁴⁻²⁶⁾. 더욱이 관심을 끄는 이유는 치근에 근접한 이들 세포들이 acellular cementum을 형성하는데 관여할 뿐 아니라, 이와 연계된 치주인대와 치조골의 형성에도 관계하고 있는 것이다^{27,28)}. 따라서 조직재생유도술과 함께 enamel matrix protein을 보조적으로 사용한다면 이미 세균에 이환된 치근면 위에 백악질형성세포 등의 재부착을 유도하여 정상적인 extracellular matrix를 형성할 것으로 기대되고 있다. Enamel matrix의 주 단백질은 amelogenin으로 알려져 있으며, 이들은 전체 matrix의 약 90%를 차지한다. 나머지 10%는 proline-rich non-amelogenin, tuftlin, tuft protein, serum proteins과 타액단백질 등으로 구성되어있다. Amelogenin은 다양한 크기로 존재하며, 이들은 supramolecular aggregate를 이룬다. 이들은 소수성이며 새로 형성된 법랑질 결정을 안정화시키고, 법랑질결정의 크기에 영향을 미친다²⁹⁾. 산성 추출물에서 정제된 enamel matrix derivative(EMD)는 산성 pH에서 vehicle로 사용되는 PGA(Propylene glycol alginate)에 용해되어 점도가 높은 용액으로 되며, 중성 pH와 체온에서 점도가 감소하여 침전되므로, 치근에 도포할 경우 2주정도 불용성의 구상복합체로 남아있게 된다³⁰⁾. 본 연구에서 사용된 enamel matrix protein은 돼지에서 발생중인 embryonal enamel에서 추출된 것으로 멸균된 lyophilized form이며 PGA vehicle에 의해 용해된다.

본 연구에서는 손상된 조직의 유도재생에 관한 연구를 위해 치주-치근단 복합병소를 실험적으로 형성하고, 이러한 복합병소에서 e-PTFE 차폐막과 enamel matrix protein의 조직재생유도 효과를 평가하여 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 사육조건

체중 15kg내외의 5마리 성견을 실험동물로 사용하였으며, 하악 양측 소구치를 실험부위로 사용하였다. 이들 치아는 완전히 맹출되고, 치근단 형성이 완성된 상태의 건강한 치아를 사용하였다. 실험 전체 기간동안에는 고행사료를 주었으며, 실험 12시간 전부터 금식을 시키고, 수술 후 1주일간 실험동물은 고행사료를 물에 불려 부드럽게 섭취하도록 하였으며, 음수는 자유로이 하도록 하였다. 실험동물은 실험기간 동안 각각 다른 우리에서 사육되었으며, 시간당 12 - 15회 공기를 환기시켜 주었으며, 12시간씩 조명을 차단하여 주었다.

2. 실험재료 및 실험군 설정

외과적으로 표준열개병소와 치근단병소를 형성하고 치은판막을 봉합한 군을 대조군으로, 결손부위를 형성한 후 e-PTFE 차폐막(Gore Associates, Co. USA)으로 결손부위를 피개하고 치은판막을 봉합한 군을 실험 제 1군으로 하고, 결손부의 형성 후 O-phosphoric acid로 처리한 후 enamel matrix protein(Emdogain, Biora AB, Sweden)을 주입하고 치은판막을 봉합한 군을 실험 제 2군으로 하였다. 실험동물 마취는 2.65% Thiopental sodium(10 - 15mg/kg, Pentotal sodium, 중외제약)을 정맥 주사하여 마취유도를 실시하였다. 동물이 쓰러지면 100% 산소를 사용하여 3분 정도 마스크 환기를 실시하였으며 흡입마취를 실시하기 위해 cuffed endotracheal tube(ID 6.0 - 6.5mm)를 사용하여 기관내 삽관을 시행하였다. O₂(1l/min), N₂O(1l/min), halothane(1 - 1.5%)으로 마취를 유지하였으며 vecuronium(0.1mg/kg, Norcuron, 한국 오가논)을 사용하여 근이완시켰다. 심전도를 부착하여 심박수를 측정하고 요측피정맥(cephalic vein)에 정맥로를 개설하여 수액 및 근이완제 주입로로 사용하였다. 적정환기량을 유지하기 위해 capnography를 이용하여 호기말 이산화탄소분압(PETCO₂)이 37 - 43mmHg가 되도록 분당 호흡량을 설정하였다.

3. 실험 방법

(1) 치근단 병소의 형성

실험일에는 위와 같은 방법으로 삼입마취하고, 최초 실험일에 치수를 개방하고 인접 치에 부착되어있는 치태를 제거하여 치수강 내로 삼입하고, cotton pellet과 ZOE로 밀봉하였다(Fig. 1). 1개월 후 치근단방사선 사진을 촬영하여

치근단에 병소가 형성되었는지 확인한 후(Fig. 2), 통상의 방법에 따라 gutta percha와 zoe sealer를 사용하여 근관 충전을 시행하였다(Fig. 3).

(2) 치조골의 결손부 형성 및 재건 수술

1주일 후 실험견을 삼입마취로 전신마취한 후 염산 리도카인(1:100000 에피네프린, 1.7ml, 3 카트리지, 유한양행) 침윤마취하에서 치은판막을 박리후 거상하였다. 가능한 실제의 열개(Dehiscence)와 유사하게 형성하고자 치출과 저속의 핸드피스(500rpm)를 사용하여 3mm 넓이의 표준 열개결손부위를 형성하고 치근표면에 부착된 치주인대와 백악질을 제거하였다. 치근단 부위는 고속 핸드피스를 사용하여 절제해 내고 초음파기구를 사용하여 근첨공을 super EBA로 retrofilling 하였다. 실험 치아는 임의로 선택하여, 한 측의 실험군에는 e-PTFE(WL Gore, USA)를 결손부위보다 2 - 3mm이상 넓게 피개되도록 위치시켰으며, 나머지 실험군에는 37% O-phosphoric acid(pH 1.0, Dentsply, USA)로 15초간 도포한 후 멸균식염수로 충분히 세척하고^{31,32}, enamel matrix protein(Emdogain, Biora AB, Sweden)을 실험 병소 내에 주입하고 조심스럽게 치은판막을 Goretex 봉합사로 봉합하였다(Fig. 4). 대조군에는 표준 열개병소와 치근단 병소를 형성한 뒤, 어떠한 처치도 하지 않고 치은 판막을 봉합하였다. 실험 8주 후에 반대편측도 같은 방법으로 실험을 진행하여 골형성상태를 실험 4주(Fig. 5)와 12주(Fig. 6)의 두 가지로 평가하였다.

형광현미경을 이용한 골형성을 평가하기 위하여 옥시테트라사이클린(30mg/kg, Sigma, Germany)은 실험 2주, 6주에, 칼세인(30mg/kg, Dojindo Lab, Japan)은 실험 4주, 10주, 그리고 아리자린 레드(30mg/kg, Sigma, USA)는 실험 8주와 실험 11주에 각각 교대로 정맥주사하였다.

4. 조직학적 관찰

실험 12주후에 삼입마취로 전신마취 시킨 후 경동맥을 통해 10% 중성 포르말린 완충용액을 주입하여 조직을 관류 고정시킨 후 희생시키고 치아를 포함한 실험부위를 적출한 다음, 방사선 사진을 촬영하였다. 방사선 사진을 이용하여 치아장축에 평행하도록 협설측방향으로 치근단을 포함하여 절단하였다. 절단된 실험표본은 10% 포르말린으로 고정하고, 통법에 따라 에탄올로 탈수시킨 후 레진(Technovit 7200, Kulzer, Germany)으로 포매하고, Donath와 Breuner³³, Donath³⁴에 의해 기술된 Exact grinding system(Kulzer, Germany)으로 20 μ m까지 단계적으로 연마하였다. 형광현미경하에서 100배 배율로 확대하여 video camera(Pixera, Japan)를 통해 컴퓨터 모니터상에서 재현한 후 Image Tool(University of Texas, San Antonio,

USA)을 이용하여 관찰하고, Toluidine blue로 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

III. 연구결과

조직재생을 유도하는 실험군과 대조군에서 골형성 상태에 관한 차이를 관찰할 수 있었다. 각 군에 따른 조직학적인 차이를 살펴보면 다음과 같다.

1. 형광현미경 관찰조건

1) 대조군:

1개월군에서는 협측열개병소에서 신생골조직은 관찰되지 않았으며, 치근단 병소에서는 실험 3주에 골의 절단면에서부터 신생골의 형성이 관찰되었으며, 골소주는 매우 성글게 분포되어 있었다. 설측면은 기존의 cortical bone에 신생골조직이 침착되었고, 일반적인 골조직 소견을 관찰할 수 있었다(Fig. 7). 3개월군에서는 실험 2주부터 신생골의 침착이 관찰되었고, 실험 4주까지는 활발한 골성장을 보인다. 6주 이후에서 remodelling이 일어났으며, 부분적인 골의 흡수가 관찰되었다. 실험 8주에서 10주사이에는 다시 골의 성장이 관찰되었으나, 그 양은 6주까지의 단위 시간당 성장양보다는 작았으며, 10주에서 11주사이에는 신생골의 형성은 거의 관찰되지 않았다(Fig. 11). 협측열개병소의 일부표본에서는 신생골의 성장이 관찰되지 않았으며, 신생골 형성이 관찰된 표본에서는 CEJ부터 치근단까지의 길이(열개병소의 전체길이)와 비교해 볼 때 42%의 골성장을 보였다. 또한 치근단 병소의 협측면은 결체조직이 형성된 골조직의 중심부로 깊숙이 들어가, 골조직의 함몰현상이 관찰되었다. 설측에 위치하고 있던 cortical bone은 특별한 이상 소견은 관찰되지 않았으며 정상적인 remodelling을 보였다(Fig. 9).

2) 실험 제1군(e-PTFE membrane):

1개월군에서 치근단병소는 실험 2주와 3주에 신생골이 치밀하게 형성되었으며, 모든 표본에서 신생골의 형성양은 실험 2주까지의 성장양보다 실험 2주에서 3주까지의 성장양이 더 많았다. 설측의 골조직은 대조군과 유사한 골조직 소견을 보였다(Fig. 13). 3개월군에서는 협측과 치근단 하방에서 신생골의 형성이 치밀하게 진행되었다. 실험 6주까지 활발한 골성장이 관찰되었으며 8주, 10주, 11주까지도 지속적인 신생골의 성장이 관찰되었다(Fig. 15). 실험 6주까지 성장된 골은 치밀골로의 재형성이 관찰되었다. 신생백악질의 침착이 관찰되었으며 일부에서는 골유착현상도 관찰되었다(Fig. 18). 내부에서는 기존의 bone marrow와 잘 연결이 된 재구성이 관찰되었다. 협측열개병소에서의 골성

장은 실험 1개월군에서도 관찰되었으며, 실험 3개월군에서는 치밀골로 재형성된 골조직이 관찰되었고, 치근쪽에서 새로운 골조직의 형성이 실험 10주와 11주에도 계속적으로 진행되었다. 협측열개병소에서 성장된 신생골의 높이는 열개병소의 전체길이의 75%에 해당되었다. 설측의 골조직은 일반적인 골조직의 소견을 보였다.

3) 실험 제2군(Enamel matrix protein):

1개월군에서는 절단면에서부터 골결손부로 신생골이 침착되어가는 모습이 관찰되었다. 실험 2주까지 상당히 많은 양의 골조직이 형성됨이 관찰되었고, 실험 3주에서도 지속적인 골의 성장이 관찰되었다. 골소주는 매우 치밀하게 분포되어 있으며, 협측열개병소에서도 신생골의 형성이 관찰되었다. 설측에 위치한 골조직은 타군에서 보이는 것과 유사한 골의 침착과 remodelling을 보였다(Fig. 21). 3개월군에서는 4주까지 많은 양의 골이 지속적으로 성장하였으며 4주에서 6주사이에 부분적인 골의 흡수가 일어났고, 8주 이후에는 골성장속도는 떨어지나 협측으로 지속적인 골의 침착이 실험 11주까지도 관찰되었다(Fig. 26). 협측열개병소에서는 치밀골로 재형성된 골조직이 관찰되었으며, 열개병소의 전체길이의 67%를 차지하였다(Fig. 23). 설측면에 골형성은 일반적인 골조직의 침착이 관찰되었다.

2. 광학현미경 관찰조건

대조군의 1개월군에서는 골소주가 성글게 분포되었으며 치근단에서는 염증세포의 침윤이 관찰되었고, 신생백악질의 침착은 관찰되지 않았다(Fig. 8). 3개월군에서는 치밀골로 재형성된 골조직이 관찰되었으나, 골소주의 분포는 매우 성글었으며, 함몰된 골조직의 재형성이 관찰되었다(Fig. 10). 신생백악질의 침착은 관찰되지 않았다(Fig. 12). 실험 제1군(ePTFE군)에서는 실험 1개월군에서 치밀하게 분포된 골소주의 형성이 관찰되었으며(Fig. 14), 협측열개병소에서 신생백악질의 침착이 관찰되었으며, 일부 표본에서는 골유착도 관찰되었다(Fig. 17). 실험 3개월군에서는 치밀골의 소견이 관찰되었으며(Fig. 16), 치근면에서 일부 흡수소견이 보였으며 흡수된 치근상방에 신생백악질인 cellular cementum이 관찰되었다(Fig. 20). 흡수소견이 없는 치근면에는 acellular cementum과 cellular cementum이 모두 관찰되었다(Fig. 19). 형성된 치주인대는 collagen fiber가 기능적으로 분포되어 있었으며, 신생골과 연결된 Sharpey's fiber도 관찰되었다. 실험 제2군(Enamel matrix protein군)에서는 실험 1개월에 골소주의 치밀한 분포가 관찰되었으며(Fig. 22), 치근단 부위에서 신생백악질이 가늘게 관찰되었고(Fig. 25). 실험 3개월군에서는 치밀골의 소견이 관찰되었으며, 내부에서는 bone marrow를

형성하며, 기존의 bone marrow와 조화되는 모습을 보이며, 골의 성숙화가 진행되었다(Fig. 24). 협측에서 신생백악질의 침착이 관찰되었다(Fig. 27). 치근이 흡수된 부위에서는 acellular cementum과 cellular cementum이 동시에 관찰되었다(Fig. 28).

IV. 고 찰

본 연구에서는 치주-치근단 복합병소의 실험적 병소를 형성하고, 이를 이용하여 최근 조직재생유도술에서 사용되고 있는 e-PTFE 차폐막과 enamel matrix protein의 효과를 알아보고자 하였다.

적절한 실험 조건하에서 일어나는 골조직의 재생은 5가지의 실험변수에 의해 크게 영향을 받는다. 즉, 실험동물의 종, 실험동물의 연령, 실험병소의 해부학적 위치, 병소의 크기, 그리고 골막의 상태 등에 의해 크게 영향을 받는다. 본 연구에서는 사람의 하악과 높이, 두께, 그리고 길이가 유사한 성견을 사용하였으며, 치근단병소의 치치를 위해 치아가 완전히 맹출되고 치근단형성이 완성된 성견을 사용하였다^{35,36}. 병소의 크기는 Boyne등³⁷이 지적한대로 골조직재생술의 모델에서 매우 중요한 요소의 하나이다. 이는 연조직과 경조직 사이의 거리가 형성될 조직을 결정하게 되기 때문이다. 만약 연조직이 먼저 형성되면, 이 연조직은 차단막으로 작용하여 더 이상의 경조직형성을 방해하게 된다. Kaban과 Glowacki³⁸는 백서의 하악체에 4mm의 관통된 병소를 형성하고 골조직의 재생을 관찰하였다. 이들 병소는 16주와 24주에도 골조직으로 형성되지 않음을 보고하였다. Hjorting-Hansen과 Andreasen³⁵은 성견 하악의 무치악 부위에 5mm, 6mm, 그리고 8mm의 병소를 형성하였다. 16주후에 8mm 병소는 연조직으로 채워진 것을 보고하였다.

본 연구에서는 치주-치근단 복합병소를 형성하기 위하여, 협측에 표준열개병소를 형성하고 이를 치근단 부위의 5mm 병소와 연결하였다. 만성 치주염에 의한 병소와 유사한 병소모델을 사용하는 다른 형태의 실험동물모델이 있으나³⁹, 본 연구에서 협측 표준열개병소를 사용한 것은 골조직 재생을 유도하는 서로 다른 종류의 제재들에 의한 효과의 형태적 분석이 빠르게 가능하며, 그 결과가 일정하고 반복적일 수 있기 때문이다^{9,40,41}. 치근의 만곡도의 차이와 치근의 근원심폭경이 제한되어 있으므로 방사선 사진을 사용하여 절단면이 열개의 중앙부가 되도록 하였으나 다소의 어려움이 있었으며, 이를 위해서는 기술적인 숙련과 치아형태에 대한 인지도등이 높게 요구되었다.

치근단절제술 후 치근부위의 조직학적 변화에 대하여 Andreasen과 Rud⁴², Rud등⁴³은 70개의 사람 표본을 가지고 연구하였다. 이들은 3가지의 다른 조직반응을 보고하

였는데, ① 치주인대의 재형성에 의한 창상의 회복, ② scar 조직과 다양한 양상의 염증정도를 가진 연조직에 의한 창상 회복, ③ scar조직없이 중등도이상의 염증성조직에 의한 창상회복으로 분류하고 있다. Pecora등¹³은 치근단병소에서 차폐막을 사용한 경우 재생골의 양과 질이 향상되었음을 보고하였다. 이러한 재생유도술은 관통된 병소, 치근단병소의 크기가 큰 경우, 치주-치근단 복합병소에서 효과적으로 사용될 수 있다고 하였다. 그러나 치주-치근단 복합병소에서는 재생유도술의 예후가 가장 좋지 않은 것으로 되어있는데, 이는 병소가 구강과 연결되어 있으므로 세균에 의한 감염의 기회가 많기 때문이다. 조직재생유도술을 사용한 경우 Pecora등¹³이 보고한 바대로 차폐막을 사용한 경우 45%의 경우에서 방사선학적 투과성이 크게 감소되었으며, 임상적으로도 골조직 재생의 양과 질이 더욱 증가된 것으로 나타났다. 본 연구에서도 e-PTFE 차폐막을 사용한 군과 enamel matrix protein을 사용한 군에서 대조군에 비해 신생골의 형성이 치밀하게 진행되었으며, 협측열개병소에서는 신생골의 양도 더 많이 나타났다. 조직학적으로 골조직재생을 살펴보면 상아질과 새로이 형성된 경조직사이의 간격(artifactual splits)이 나타나는 경우가 많이 보고되고 있다^{14,44,45}. 그러나 본 연구에서는 Emdogain을 사용한 군에서 상아질 표면에 전반적으로 acellular cementum이 형성되었고, resorption되는 치근위에서도 cementogenesis 초기에 나타나는 acellular cementum이 많이 형성되는 것을 관찰할 수 있었다. 이에 비해 e-PTFE 차폐막을 사용한 군에서는 acellular cementum이 치근면 바로 상방에 관찰되었으나, resorption되는 면에서는 주로 cellular cementum이 관찰되었다. 이는 Heijl⁴⁶이 보고한 바와 같이 enamel matrix protein사용시 사람의 협측열개병소에서 상아질에 acellular extrinsic fiber cementum이 단단히 부착되어 형성된 것과 같은 연구 결과이다. 기능적으로 배열되어 있는 collagen fiber와 함께 새로이 형성된 치주인대와 이와 연관된 치조골이 또한 관찰되었다.

초기 cementogenesis와 치근상아질 형성은 밀접하게 연관이 되어있다. 일반적으로 Hertwig's epithelial root sheath(HERS)는 dental papilla의 mesenchymal cell을 유도하여 HERS가 분해되어 치근표면으로부터 벗어나기 전 mantle dentin을 형성하는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 새로 형성된 상아질에 노출된 dental follicle의 mesenchymal cell은 cementogenesis를 유도하는 것으로 받아들여지고 있다^{1,24,25,47}. Cementogenesis동안 Slavkin⁴⁸은 epithelial root sheath에서 나오는 enamel-related protein이 acellular cementum의 형성에 관여하는 것으로 발표하였다. Slavkin등^{49,50}은 enamel matrix에 존재하는 단백질과 면역학적으로 연관이 있는 단백질이 acellular cementum에 포함되어 있다고 보고하였다.

Hammarström^{51,52)}은 발생중인 사람의 치아에서 cemento-genesis가 시작되는 부위에 amelogenin이 발견됨을 보고 하였으며, dental follicle세포들이 enamel matrix에 노출 되면 백악질과 유사한 조직이 형성됨을 보고하였다. Bosshardt와 Schroeder⁵³⁾는 전자현미경을 통한 면역조직 화학검사를 통해 발생중인 사람과 돼지의 치근단 부위에 있는 상아질 표면에서 enamel matrix protein이 축적되어 있음을 보고하였다.

한 가지 주목할 만한 점은 Luder와 Zappa⁵⁴⁾의 연구에서 지적된 바와 마찬가지로 GTR을 이용하여 재생된 백악질의 부착은 힘에 저항할 수 있는 결합으로서의 자연치아의 cemento-dentinal junction과 달리 치아를 지지하는데 부적절한 것으로 보고있다. 이는 재생된 백악질의 fiber fringe는 밀도가 낮고, 배열이 더 불규칙적인 것으로 더욱이 AEFC를 형성하는 섬유아세포나 중지된 resorption lacunae에서 발견되는 mononuclear cell 과도 일치하지 않고 오히려 cellular intrinsic fiber cementum(CIFC)의 형성과 관련된 cementoblast와 유사한 것으로 발견되기 때문이다. Enamel matrix protein을 사용한 경우 치아발생 초기에 형성되는 AEFC를 유도 형성하여 상아질에 단단히 부착을 한다면 치조골의 repair가 아니라 진정한 의미의 regeneration을 이룰 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 아직은 Bosshardt와 Schroeder⁵³⁾가 지적한 바대로 치아발생 시 cementoblast의 기원이나 분화 그리고 세포역할에 대해 아직도 명확히 밝혀진 바가 없으므로 백악질에 대한 기본적인 연구가 더욱 진행되어야 할 것이며, 이와 더불어 regeneration에 대한 연구가 함께 진행되어야 할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 조직재생유도술을 통해 성견에서 치주-치근단 병소의 골조직 재생의 양과 질이 대조군에 비하여 증가됨을 알 수 있었으며, 특히 두 실험군 모두에서 모든 치주 조직, 즉 백악질, 치주인대 그리고 치조골의 재생이 가능함을 알 수 있었다. 이는 형성된 치주-치근단 실험적 복합병소가 조직재생유도 효과를 실험하는 데 사용되는 실험모델이 될 가능성을 보이는 것으로 생각되며, 이를 위하여 개체수와 각 실험군의 수를 증가시킨 추가적 실험이 수반되어야 할 것이라고 생각한다.

V. 결 론

손상된 치주-치근단 복합병소조직의 골조직유도재생에 관한 연구를 위해, 5마리 성견의 하악골에서 복합병소를 실험적으로 형성한 후, e-PTFE 차폐막과 Enamel Matrix Derivative(Emdogain)를 사용하여 골형성을 형광현미경과 광학현미경 하에서 조직학적으로 비교 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조군에서는 실험 4주에 치근단병소에서 미약한 신생골만을 보였고 대부분 결체조직으로 차 있었으며, 실험 12주에 골의 성숙화가 관찰되었으나, 골소주는 성글게 분포되어 있었다. 협측열개 병소의 신생골 형성은 적었다.
2. e-PTFE군에서는 실험 4주에 치근단병소에서 활발한 신생골의 형성을 보였으며, 실험 12주에는 골소주가 잘 발달되고 양적으로도 증가한 신생골의 형성을 보였으며, 신생 백악질의 형성도 관찰되었다. 실험 4주부터 협측열개 병소에 신생골의 형성이 관찰되었다.
3. Enamel Matrix Derivative(Emdogain)사용군에서는 실험 4주에 치근단병소에서 활발한 신생골의 형성을 보였으며, 실험 12주에는 골소주가 발달되고 골의 성숙화가 관찰되었다. 협측열개 병소에서도 신생골과 신생백악질의 형성이 관찰되었다.
4. 치주-치근단 병소의 골조직 재생의 양과 질이 대조군에 비하여 e-PTFE차폐막을 사용한 군과 Enamel matrix derivative(Emdogain)를 사용한 군에서 모두 증가됨을 알 수 있었다.

참고 문헌

1. Simon JH, Glick DH, Frank AL. The relationship of endodontic-periodontic lesions. *J Periodontol* 43(3):202-208, 1972.
2. Skoglund A, Persson G. A follow-up study of apicoectomized teeth with total loss of the buccal plate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 59:78-81, 1985.
3. Rankow H, Krasner P. Endodontic applications of guided tissue regeneration in endodontic surgery. *J of Endodontics* 22:34-43, 1996.
4. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissue. *J Periodontol* 47:256-260, 1976.
5. Nyman S, Karring T, Lindhe J, Platen S. Healing following implantation of periodontics affected roots into gingival connective tissue. *J Clinical Periodontics* 7(5):394-401, 1980.
6. Becker W, Becker B, Berg L, Prichard J, Caffesse R, Rosenberg E. New attachment after treatment with root isolation procedures: Report for treated Class III and Class II furcations and vertical osseous defects. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 8(3):8-23, 1988.
7. Gottlow J, Laurell, Rylander H, Lungden, Rodolfsson, Nyman S. Treatment of infrabony defects in monkeys with bioresorbable and nonresorbable guided tissue regeneration devices(Abstract 823). *J Dent Res* 72, 1993(special issue).
8. Karring T, Nyman S, Lindhe J. Healing following implantation of periodontitis affected root into bone tissue. *J Clin Periodontol* 7(2):96-105, 1980.
9. Nyman S, Lindhe J, Karring T. Healing following surgical treatment and root demineralization in monkeys with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 8:249-258, 1981.
10. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament: An experimental study in monkey. *J Clin Periodontol* 9(3):257-265, 1982.
11. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attach-

- ment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 9(2):290-296, 1982.
12. Diggins L, Clay J, Himel V, Dean JW. A combined endodontic retrofill & periodontal GTR technique for the repair of molar endodontic furcation perforation: A case report. *Quintess Int* 25:109-114, 1994.
 13. Pecora G, Kim S, Celletti R, Davarpanah M. The guided tissue regeneration principle in endodontic surgery: one-year postoperative results of large periapical lesions. *International Endodontic Journal* 28:41-46, 1995.
 14. Pontoriero R, Nyman S, Ericsson I, Lindhe J. Guided tissue regeneration in surgically-produced furcation defects. An experimental study in the beagle dog. *J Clin Periodontol* 19:159-163, 1992.
 15. Uchin R. Use of a bioresorbable guided tissue membrane as an adjunct to bony regeneration in cases requiring endodontic surgical intervention. *J of Endodontics* 22(2):94-96, 1996.
 16. Canalis E. Growth factors and their potential clinical value. *J Clin Endocrinol Metab* 75:1-4, 1992.
 17. Cho MI, Lin WL, Genco RJ. Platelet-derived growth factor-modulated guided tissue regenerative therapy. *J Periodontol* 66(6):522-530, 1995.
 18. Dennison DK, Vallone DR, Pinero GJ, Rittman B, Caffesse RG. Differential effect of TGF and PDGF on proliferation of periodontal ligament and gingival fibroblasts. *J Periodontol* 65:641-648, 1994.
 19. Lynch SX, Ruiz de Castilla G, Williams RC, Kiritsy C, Howell H, Reddy M, Antoniadis H. The effect of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodontol* 62:458-467, 1991.
 20. Lynch SX, Buser D, Hernandez R, Weber HP, Stich H, Fox C, Williams R. Effects of the platelet-derived growth factor / Insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. *J Periodontol* 62:710-716, 1991.
 21. Mailhot JM, Sharaway MM, Galal M, Oldham AM, Russell CM. Porous polysulfone coated with platelet-derived growth factor-BB stimulates proliferation of human periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontol* 67:981-985, 1996.
 22. Park JB, Matsuura M, Han KY, Norderyd O, Lin W, Genco R, Cho M. Periodontal regeneration in Class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. *J Periodontol* 66:462-477, 1995.
 23. Rutherford RB, Niekrash CE, Kennedy JE, Charette MF. Platelet-derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys. *J Periodont Res* 27:285-290, 1992.
 24. Armitage GC. Cementum. In: Bhaskar, S. N. (ed) *Orban's Oral Histology and embryology*, 10th edition, pp 175-195, St Louis: Mosby Co., 1986.
 25. Bosshardt DD, Schroeder HE. Cementogenesis reviewed. A comparison between human premolars and rodent molars. *The Anatomical Record* 245:267-292, 1996.
 26. Selvig KA. Electron microscopy of Hertwig's epithelial root sheath and of early dentin formation in the mouse incisor. *Acta Odontologica Scandinavica* 21:175-186, 1963.
 27. Hoffman RL. Formation of periodontal tissues around subcutaneously transplanted hamster molars. *J Dent Res* 36:781-798, 1960.
 28. Ten Cate AR, Mills C, Solomon G. The development of the periodontium. A transplantation and autoradiographic study. *Anatomical Records* 170:365-380, 1971.
 29. Brookes SJ, Robinson C, Kirkham J, Bonass WA. Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. *Archives of Oral Biology* 40:1-14, 1995.
 30. Gestrelus S, Andersson C, Johansson A-C, Persson E, Brodin A, Rydhag L, Hammarström L. Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. *J Clin Periodontol* 24:678-684, 1997.
 31. Blom L, JPS, Blom L, Lindskog SF. Smear removal and collagen exposure after non-surgical root planing followed by etching with an EDTA gel preparation. *J Periodontol* 67:841-845, 1996.
 32. Polson AM, Proye MP. Effect of root surface alteration on periodontal healing (II). Citric acid treatment of the denuded root. *J Clin Periodontol* 9:441-454, 1982.
 33. Donath K, Breuner GA. A method for the study of undecalcified bone and teeth with attached soft tissue. The Saegge-Schliff technique. *J Oral Pathol* 11:318, 1982.
 34. Donath K. Preparation of histologic sections by the cutting-grinding technique for hard tissue and other material not suitable by routine methods. Equipment and methodical performance. Nordersted, Germany: Exact-Kulzer, 1990.
 35. Hjorting-Hansen E, Andreasen J. Incomplete bone healing of experimental cavities in dog mandibles. *Br J Oral Surg* 9:33-40, 1971.
 36. Schmitz J, Hollinger J. The critical size defect as an experimental model for craniomandibular nonunions. *Clin Orthop* 205:299-307, 1986.
 37. Boyne P, Lyon H, Miller C. The effects of osseous implant materials on regeneration of alveolar cortex. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 14:369-378, 1961.
 38. Kaban L, Glowadei J. Induced osteogenesis in the repair of experimental mandibles defects in rats. *J Dent Res* 60:1356-1364, 1981.
 39. Caton JG, Zander HA. Primate model for testing periodontal treatment procedures: I. Histologic investigation of localized periodontal pockets produced by orthodontic elastics. *J Periodontol* 46:71-74, 1995.
 40. Listgarten MA. Electron microscopic study of the junction between surgically denuded root surfaces and regenerated periodontal tissues. *J Periodont Res* 7:68-90, 1972.
 41. Skillen WG, Lundquist GR. An experimental study of periodontal membrane reattachment in healthy & pathological tissues. *J Am Dent Asso* 24:175-184, 1937.
 42. Andreasen JO, Rud J. Modes of healing histologically after endodontic surgery in 70 cases. *Int J Oral Surgery* 1:148-160, 1972.
 43. Rud J, Andreasen JO, Jensen JE. A multivariate analysis of the influence of various factors upon healing after endodontic surgery. *Int J Oral Surgery* 1:258-271, 1972.
 44. Caffesse RG, Nasjleti CE, Plotzke AE, Anderson GB, Morrison EC. Guided tissue regeneration and bone grafts in the treatment of furcation defects. *J Periodontol* 64:1145-1153, 1993.
 45. Robert PM, Frank RM. Periodontal guided tissue regeneration with a new resorbable polylactic acid membrane. *J Periodontol* 65:414-422, 1994.
 46. Heijl L. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. *J Clin Periodontol* 24:693-696, 1997.
 47. Ten Cate AR. Formation of supporting bone in association with periodontal ligament organization in the mouse. *Archives of Oral Biology* 20:137-138, 1975.

48. Slavkin HC. Towards a cellular and molecular understanding of periodontics: cementogenesis revisited. *J Periodontol* 47:249-255, 1976.
49. Slavkin HC, Bessem C, Fincham AG, Bringas JPR, Snead M, Zeichner-David M. Human and mouse cementum proteins are immunologically related to enamel proteins. *Biochemica and Biophysica Acta* 991:12-18, 1989.
50. Slavkin HC, Bringas P, Bessem C, Santos V, Nakamura M, Hsu MY, Snead ML, Zeichner-David M, Fincham AG. Hertwig's epithelial root sheath differentiation and initial cementum and bone formation during long-term organ culture of mouse mandibular first molars using serumless, chemically-defined medium. *J Perio Res* 24:28-40, 1989.
51. Hammarström L. Enamel matrix and cementum development, repair and regeneration. *J Clin Periodontol* 24:654-668, 1997.
52. Hammarström L, Heijl L, Gestrelus S. Periodontal regeneration in buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol* 24:669-677, 1997.
53. Bosshardt DD, Schroeder HE. Cementogenesis reviewed. A comparison between human premolars and rodent molars. *The Anatomical Record* 245:267-292, 1996.
54. Luder HU, Zappa U. Nature and Attachment of cementum formed under guided conditions in human teeth. An electron microscopic study. *J Periodontol* 69:889-898, 1998.

EXPLANATION OF FIGURES

- Fig 1. Radiographic view after pulp chamber opening of the mandibular premolars
- Fig 2. Radiographic view of the periapical lesions of the mandibular premolars
- Fig 3. Radiographic view of the canal filling of the mandibular premolars
- Fig 4. Radiographic view after surgery on the mandibular premolars
- Fig 5. Radiographic view of the mandibular premolars at 4 weeks after surgery
- Fig 6. Radiographic view of the mandibular premolars at 12 weeks after surgery
- Fig 7. Control 1 month, Fluorescent microscopic view
- Fig 8. Control 1 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain
- Fig 9. Control 3 month, Fluorescent microscopic view
- Fig 10. Control 3 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain
- Fig 11. Control 3 month, Fluorescent microscopic view. Buccal alveolar crest
- Fig 12. Control 3 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain. Buccal alveolar crest
- Fig 13. e-PTFE membrane 1 month, Fluorescent microscopic view
- Fig 14. e-PTFE membrane 1 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain
- Fig 15. e-PTFE membrane 3 month, Fluorescent microscopic view.
- Fig 16. e-PTFE membrane 3 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain
- Fig 17. e-PTFE membrane 1 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain. Bony ankylosis
- Fig 18. e-PTFE membrane 3 month, Fluorescent microscopic view. Buccal alveolar crest and cementum formation
- Fig 19. e-PTFE membrane 3 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain. New cementum, periodontal ligament and bone formation on the buccal side of the root
- Fig 20. e-PTFE membrane 1 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain. Cellular cementum formation on the resorption side of the buccal root surface
- Fig 21. Enamel matrix derivative 1 month, Fluorescent microscopic view
- Fig 22. Enamel matrix derivative 1 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain
- Fig 23. Enamel matrix derivative 3 month, Fluorescent microscopic view
- Fig 24. Enamel matrix derivative 3 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain
- Fig 25. Enamel matrix derivative 1 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain. New cementum and bone formation on the buccal root apex
- Fig 26. Enamel matrix derivative 3 month, Fluorescent microscopic view. Buccal alveolar crest
- Fig 27. Enamel matrix derivative 3 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain. New acellular cementum, periodontal ligament and bone formation on the buccal side of the root
- Fig 28. Enamel matrix derivative 3 month, Light microscopic view. Toluidine blue stain. New acellular and cellular cementum formation on the resorption side of the buccal root surface

사진부도 ①



Fig. 1.

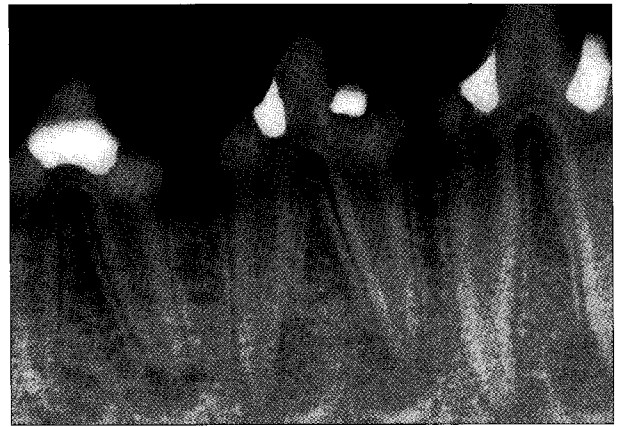


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.

사진부도 ②

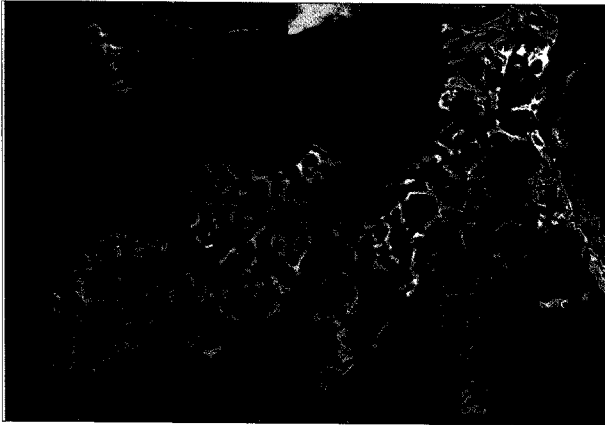


Fig. 7.

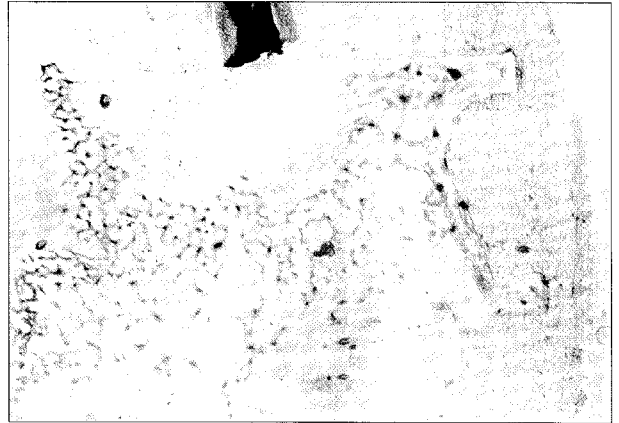


Fig. 8.

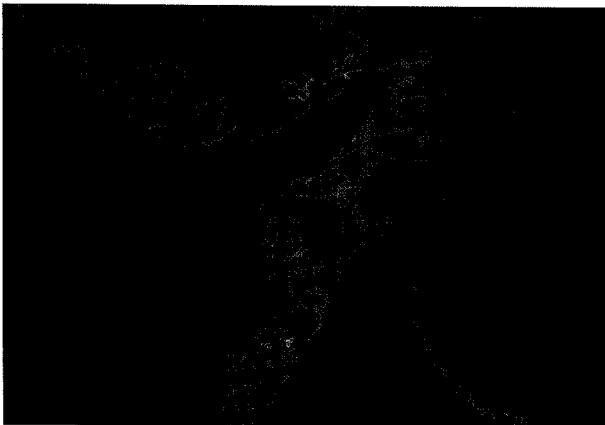


Fig. 9.

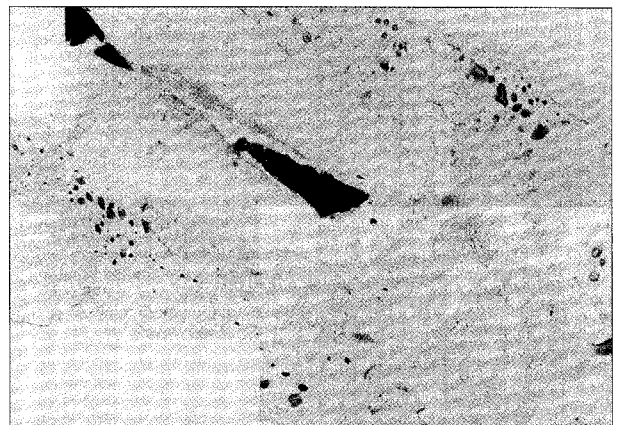


Fig. 10.

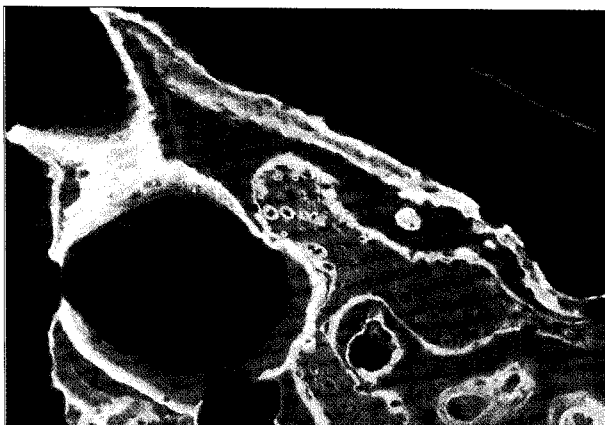


Fig. 11.

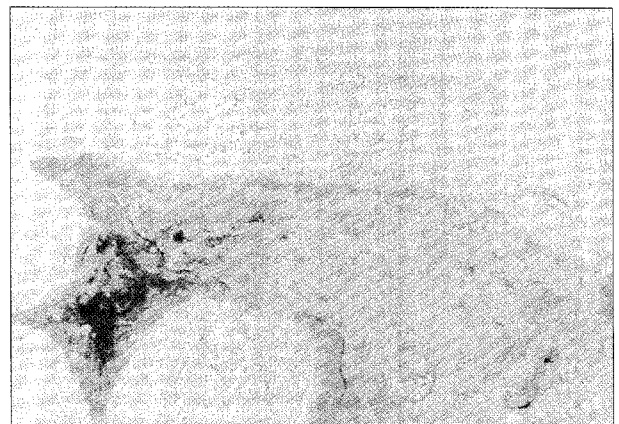


Fig. 12.

사진부도 ③

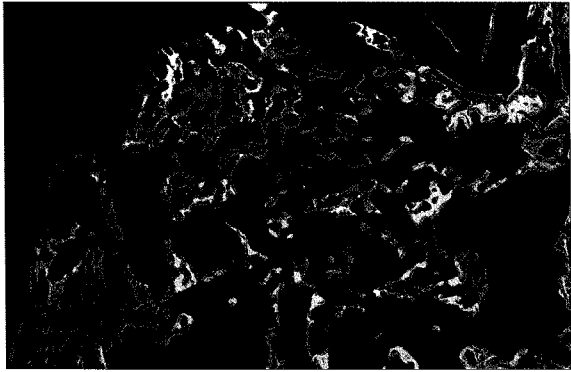


Fig. 13.

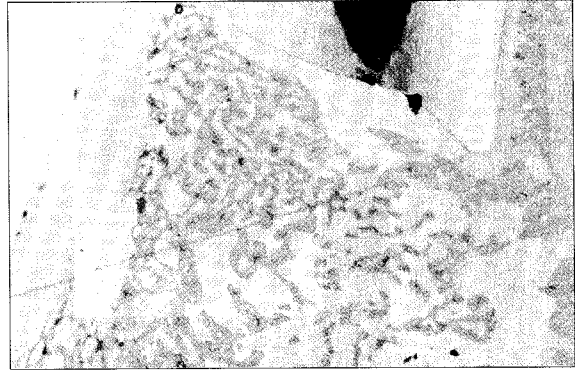


Fig. 14.



Fig. 15.

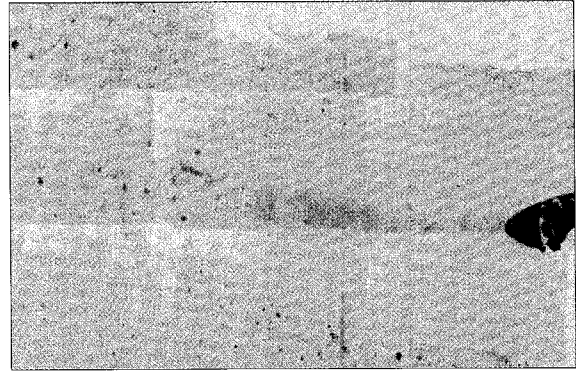


Fig. 16.

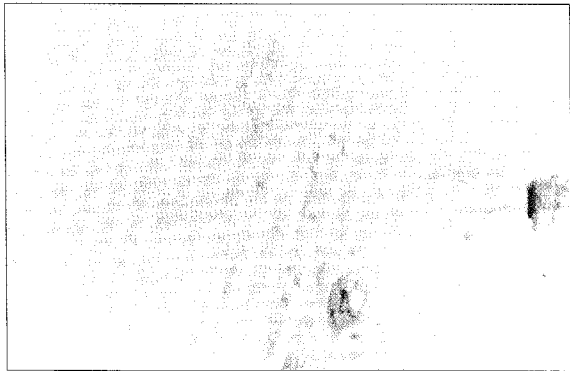


Fig. 17.

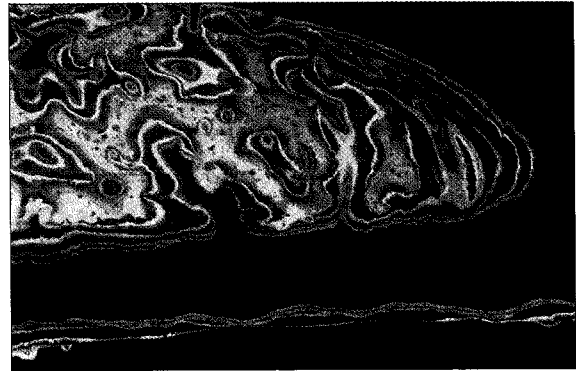


Fig. 18.

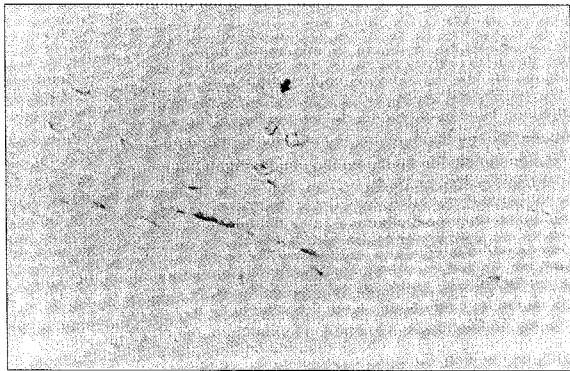


Fig. 19.

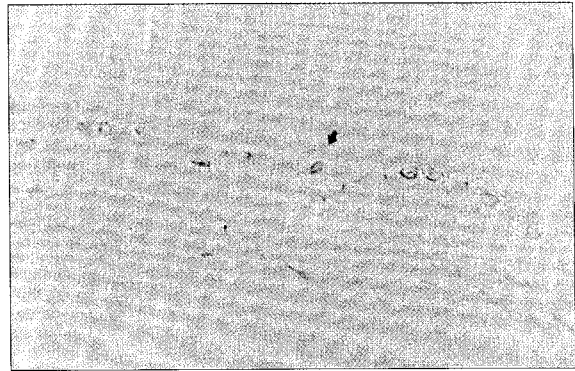


Fig. 20.

사진부도 ④

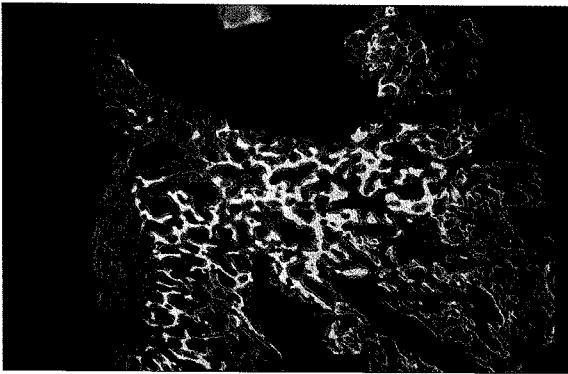


Fig. 21.

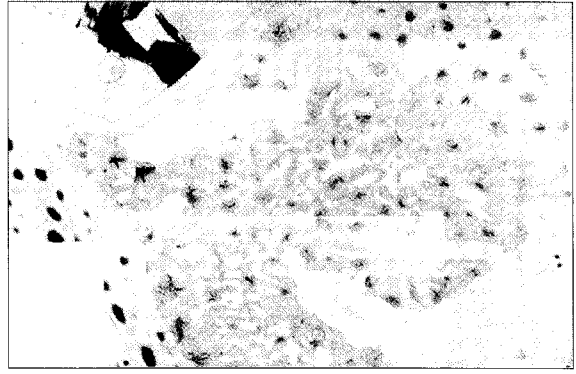


Fig. 22.

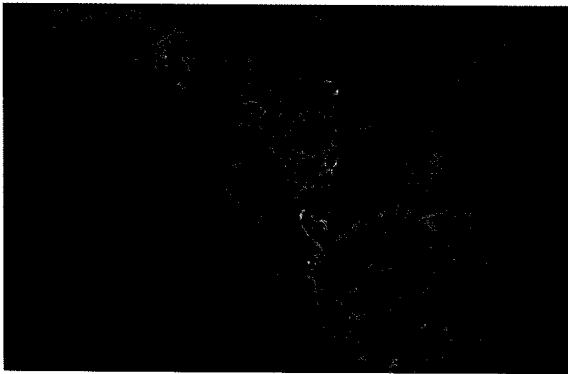


Fig. 23.

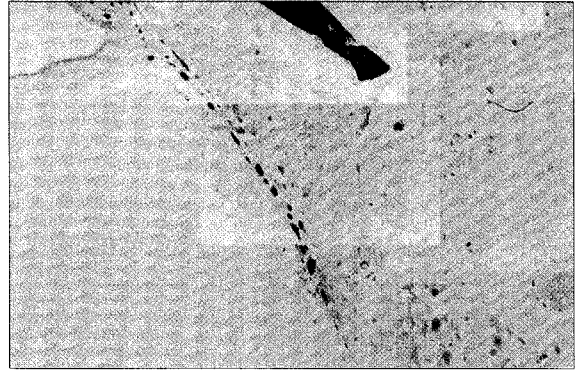


Fig. 24.

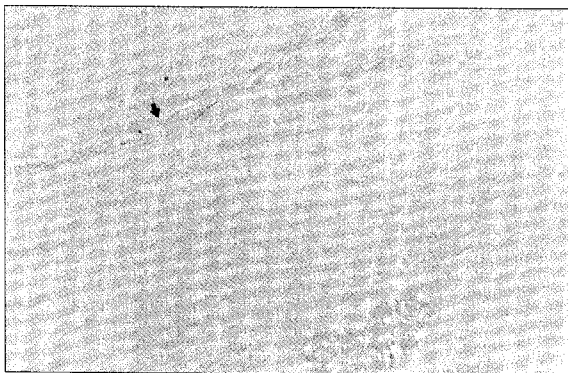


Fig. 25.

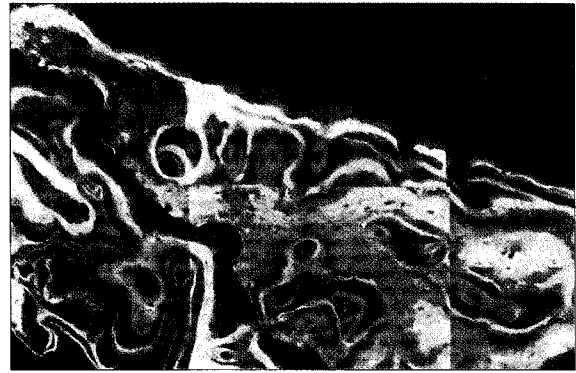


Fig. 26.

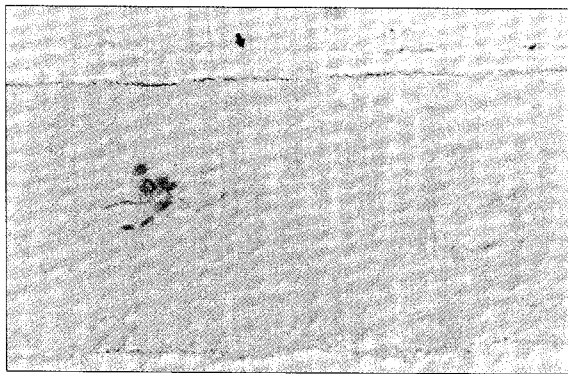


Fig. 27.

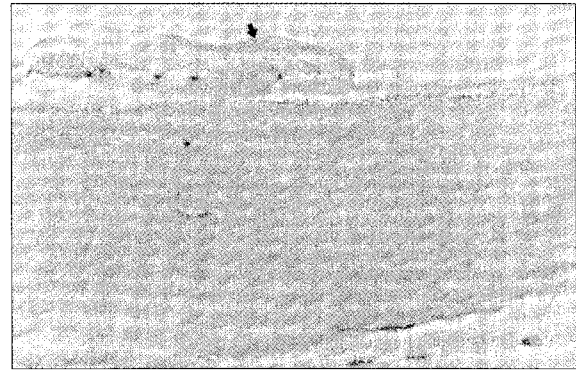


Fig. 28.