

부신 제거 백서에 티타늄 임플란트 매식후 주위 골형성에 관한 연구

최갑림 · 김종렬 · 박봉수* · 성일용

부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, 구강해부학교실*

Abstract

The Study of Bone Formation around Titanium Implants Placed in Adrenalectomized Rat's Tibia

Kab-Lim Choi, Jong-Ryoul Kim, Bong-Soo Park*, Iel-Yong Sung

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Department of Oral Anatomy,
College of Dentistry, Pusan National University*

The use of dental implants has increased tremendously in recent years and is expected to increase even more in the future. The successful outcome of any implant procedure is surely dependent on interrelationship of the various components of an equation that includes biocompatibility of implant material, macroscopic and microscopic nature of the implant surface, the status of implant bed, surgical technique, undisturbed healing phase and subsequent prosthetic design and long-term loading phase. The purpose of this study was to clarify the effects of adrenalectomy on the osseointegration of pure titanium implants. Seventy rats, 11 weeks of age, were divided into two groups : an adrenalectomized group and a control group. Titanium screw implant(diameter, 2.0mm; length, 3.5mm) was placed into left tibia of 70 rats, 35 in control group and 35 in the experimental group. The rats were sacrificed at different time interval (1, 2, 3, 4, 6, 8, and 12 weeks after implantation) for histopathologic observation, histomorphometric analysis and immunohistochemistry with fibronectin and CD44 antibody.

The results obtained from this study were as follows:

1. Histopathologically, findings, newly formed bone was seen at 3 weeks control group and became lamellar bone at 12 weeks. At 6 weeks, lipocytes were observed in bone marrow space. Thickness of regenerated trabecular bone increased till 6 weeks after then, that decreased gradually.
2. By histomorphometric analysis, marrow bone density and contact ratio of marrow bone to implant decreased significantly from 8 to 12 weeks in experimental group compared to control group and also total bone to implant contact ratio decreased significantly from 4 to 12 weeks in experimental group compared to control group.
3. Fibronectin immunoreactivity was very strong at 3 and 4 weeks control group. And after that reduced gradually. But it was continuously strong from 1 to 12 weeks experimental group.
4. CD44 immunoreactivity was very strong in the newly formed osteoblasts at 3 and 4 weeks control group. But it reacted minimally later. However, it reacted continuously strong from 3 to 12 weeks experimental group.

From these results, bone to implant contact ratio decreased gradually from 4 weeks in adrenalectomized group compared to control group. CD44 and fibronectin immunoreactivities were strong at all times in adrenalectomized rats. Therefore, it could be stated that immature bone remained continuously for a long time and not readily proceeded into mature status.

Key words : adrenalectomy, implant, immunohistochemistry

I. 서 론

인공치아 임플란트를 이용한 치료시 장기간에 걸친 높은 성공률을 얻기 위해서는 임플란트를 식립하였을 때 골조직과 임플란트가 연조직의 개재 없이 직접 접촉하는 골유착(osseointegration)이 일어나야 하며 기능시에도 골의 재형성 과정을 거치면서 계속 유지되어야 한다. 임플란트 식립 초기에는 임플란트 주위에 형성된 피낭 형태의 결합조직이 자연치아의 치주인대와 같은 역할을 하는 것으로 여겼다.¹⁾ Brånemark 등²⁾은 성견을 이용한 동물실험에서 나사형 티타늄 임플란트를 식립한 결과 골과 임플란트의 직접적인 결합현상을 발견하여 직접 접촉(direct contact)의 개념을 1969년에 첫 보고하였고, 1977년 Brånemark 등³⁾은 10년간의 임상 보고를 발표하면서 골과 임플란트 사이에 일어난 단단한 결합 상태를 골유착이라고 명명하였다. 이후 이러한 골유착 개념을 보다 명확히 정의하기 위해, Albrektsson 등⁴⁾은 골유착이란 광학현미경 수준에서 연조직의 개재없이 임플란트와 골조직간의 직접적인 접촉이라고 정의하였고, 최근에는 다시 이를 개정하여 골유착이란 잘 분화되고 적절히 재형성된 생체조직과 긴밀한 형태를 가지고 잘 조정된 인공적 구조간에 거부기전이 일어나지 않고 지속적으로 정상적인 임상적 기능을 수행할 수 있도록 소위 공생적 방식으로 구조적 및 기능적 공존이 지속되는 것이라고 새로이 정의되었다⁵⁾.

최근에는 치료범위와 환자요구가 늘어나면서 이에 따르는 실패와 문제점들이 많이 지적되고 있는 데 임플란트 시술을 받는 환자들에는 고령자가 많으며 골량과 골질에 영향을 주는 전신질환을 가지거나 만성질환으로 인해 골대사에 영향을 줄 수 있는 약물복용을 하고 있는 경우도 있다. 전신질환 가운데 조직치유에 영향을 주는 부신피질 호르몬에 대해 많은 실험적 연구가 계속되고 있으며 부신피질호르몬 대사장애로 인한 골다공증, 골성장 장애, 치조골 소실 등이 보고되고 있다. 실제로 부신피질 자극호르몬을 분비하는 뇌하수체 전엽의 질환이나 부신피질의 질환으로 인한 일차성 부신피질호르몬 분비 이상 이외에도 관절염, 천식, 피부염, 면역질환 등 비내분성 질환으로 인해 스테로이드 약물에 과다 노출되는 경우가 많으므로 이러한 이차로 생긴 의인성 스테로이드 호르몬 과다 혹은 결핍 질환도 간과할 수 없는 실정이다. 근간까지도 치과 임플란트가 식립되는 수혜부 골질에 대한 전신적인 질환의 영향에 대한 연구는 드물었으며, 그 중 치과 임플란트 식립시 골조직에 비가역적인 영향을 주는 전신 질환으로 만성 신부전 및 항경련제를 장기간 복용시 나타나는 골연화증과 폐경기 이후 호르몬 변화와 항응고제 복용 및 부신 기능 이상 환자에서 장기간의 스테로이드를 복용시 나타날 수 있는 골다공증 및 당뇨병 등의 질환이 많이 관찰된다.⁶⁾ 부신 기능부전 환자에서는 임플란트 시술 자

체에 대한 스트레스와, 임플란트가 식립되는 수혜부 골조직에 대한 반응이 다양하게 나타날 수 있는 데, 부신피질호르몬은 장내의 칼슘 흡수를 억제하고 소변으로 칼슘배설은 증가시킴으로써 체내의 칼슘 균형이 깨어지고 이차적으로 부갑상선 호르몬이 증가되어 골흡수가 증가되는 인체반응이 있고, 부신피질 호르몬은 또한 성호르몬의 감소를 가져와 골흡수의 증가를 촉진시키며, Insulin like growth factor-1 (IGF-1)이나 Prostaglandin E2 (PGE2) 등의 국소 인자의 분비를 감소시킴으로써 골모세포의 활동을 억제한다는 보고도 있다.⁷⁾

이에 본 연구에서는 여러 대사작용에 관여하는 부신을 제거한 백서에 나사형 티타늄 임플란트를 경골에 식립한 후 부신 기능 부전에 따른 임플란트 주위 골조직 형성과정을 광학현미경으로 관찰하였으며, 골밀도와 골과 임플란트 사이의 접촉률을 조직형태측정학적으로 분석하였고, 동시에 골형성 시기중에 발현되는 fibronectin과 CD44의 분포를 면역조직화학염색법으로 관찰하여 부신 기능 부전 환자에서의 임플란트 시술시 골대사과정을 파악하여 임상적용시 지견을 얻고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

실험동물은 일정 기간 동일 조건하에서 사육한 11주령군 200~220g 내외의 백서 70마리를 사용하였다. 이것을 정상 대조군 35마리와 부신을 제거한 실험군 35마리로 나누었다. 실험재료는 순 티타늄으로 주문 제작하였으며, 폭 2.0mm 길이 3.5mm의 나사형 임플란트를 이용하였다

2. 연구방법

1) 부신제거

11주된 백서의 대퇴부에 Xylazine hydrochloride(Rompun, Bayer사, 한국) 10mg/kg, Ketamine chloride (Ketalar, 유한양행, 한국) 100mg/kg을 혼합하여 근육주사하여 전신마취한 후 복부를 제모하고 베타딘 용액을 도포하여 소독하였다. 수술용 가위를 이용하여 복부에 5cm의 수직절개를 가한 후 복부를 노출시키고, 양측 신장의 후상방에 존재하는 부신을 조심스럽게 완전제거하고 통법에 따라 봉합하였다. 그후 생리식염수 1cc를 배면음경정맥에 주입하여 전해질을 주입하여 전해질을 보충하고 젠타마이신 3mg/kg을 근주하였다.

2) 임플란트 매식

부신을 제거하고 1주가 경과된 백서 35마리의 좌측 경골

부에 다음의 수술 술식을 사용하여 순티타늄으로 주문 제작된 나사형 임플란트를 매식하였다. Xylazine hydrochloride 10mg/kg, Ketamine chloride 100mg/kg을 혼합하여 대퇴부에 근육주사하여 전신마취한 후 슬관절부를 포함하여 좌측 경골부 피부에 제모하고 베타딘용액을 도포하여 소독하였다. 좌측 경골 외측부에 절개를 가한 다음 박리자를 이용하여 골막까지 박리한 후 골을 노출시켰다. 노출된 경골 근심측 5mm 부분의 경골 외측 최대 폭경부 중앙에, 생리식염수를 적하하면서 치과용 회전 엔진으로 저속회전시켰다. 직경 1.6mm twist drill을 이용하여 피질골에 구멍을 뚫어, 직경 1.6mm의 구멍을 정확히 형성하고, 형성한 구멍을 생리 식염수로 충분히 세정하고 골편등을 제거한 후 임플란트를 피질골에 심고, 골수강에 도달할 때까지 매입하였다. 창상은 통법에 따라 봉합하고 겐타마이신 3mg/kg을 근주하였다. 대조군 35마리도 동일한 방법으로 임플란트를 매식하였다.

3) 실험 기간

각 사육장마다 3~4마리씩 사육하였고 실험동물용 고형 사료와 생리식염수를 자유 습식 하도록 하였다. 실험동물은 매식 후 1주, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주 및 12주간 사육하여 희생시킨 후 표본을 제작하였다.

4) 표본 제작

상기의 외과적 수술시행 후 1주, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주 및 12주 경과한 백서의 대퇴부에 Xylazine hydrochloride 10mg/kg, Ketamine chloride 100mg/kg을 혼합하여 대퇴부에 근육주사하여 전신마취한 후 심장관류법으로 조직을 고정하기 위하여 흉곽부에 Y 절개를 가하여 흉곽을 열어 심장을 노출시킨 후 좌심실로 연동성 관류 펌프와 연결된 20 gauge바늘을 삽입하여 지혈경자로 고정하고 펌프를 작동한후 우심방의 벽을 절개하여 체순환된 피를 배출시키고 Phosphate buffered saline(PBS)를 사용하여 20분간 체내 혈액을 세척해 내었다. 그 후 pH 7.2인 4% paraformaldehyde 고정액을 30분간 관류 펌프로써 주입하였다. 관류고정 직후 대퇴골의 슬관절부와 비골을 포함하여 경골을 절단해서, 티타늄 임플란트의 중심축 방향으로 경조직 절단기(Struers Minitom, Denmark)를 사용하여 양분하였다. 그후 동일한 고정액에 6시간 동안 고정시킨 후 증류수 1750ml에 250g의 EDTA와 25g의 NaOH를 녹인 탈회액에 7주간 탈회시켰다. 그 후 조직을 조직캡슐에 넣어 흐르는 물에 12시간 동안 수세한 다음, 통상적인 방법에 따라 alcohol과 xylene으로 탈수와 투명화를 한 후 paraffin에 포매하고 6 m 두께의 시상연속절편을 만들었다.

5) 병리조직학적 관찰

골형성 정도를 관찰하기 위해 hematoxylin-eosin(H-E) 염색으로 표본 처리후 광학현미경(Olympus BH60, Japan)으로 검경하였다.

6) 조직형태측정학적 분석

H-E 염색된 표본을 각군당 5개씩 70개를, 광학현미경(Olympus BX50, Japan)을 통하여 CCD color 비디오 카메라(Hitachi, Japan)로 찍고 컴퓨터를 이용한 화상처리 장치(Image-Pro Plus 2.0, Media Cybernetics, USA)를 이용하여 아래의 방법으로 골수부 골밀도, 골수부 골-임플란트 접촉률, 전체 골-임플란트 접촉률을 측정하였다.

- (1) 골수부 골밀도(Marrow bone density: MBD) 측정
골수부에서 임플란트 경계부로부터 1mm까지의 범위를 지정하고 석회화된 골의 양을 색상 분석을 이용하여 측정하였으며, 지정된 범위내 전체 골수 면적에 대한 석회화된 골의 면적을 백분율로 표시하였다.
- (2) 골수부 골-임플란트 접촉률(Marrow bone to implant contact ratio: MBIC) 측정
망상골에서 임플란트 나사선의 전체 길이에 대한 임플란트에 직접 접촉되어 있는 골조직의 표면경계 길이의 비를 백분율로 표시하였다.
- (3) 전체 골-임플란트 접촉률(Total bone to implant contact ratio: TBIC) 측정
치밀골과 망상골 모두를 포함한 임플란트 나사선의 전체 길이에 대한 임플란트에 직접 접촉되어 있는 골조직의 표면경계 길이의 비를 백분율로 표시하였다.

7) 통계학적 분석

상기 조직형태학적으로 측정된 자료를 각 주당 실험군과 대조군을 Student T-test를 이용하여 유의차 검정을 실시하여 P<0.05를 유의차가 있다고 판정하였다.

8) 면역조직화학염색

상기 제작되어진 6µm 두께의 조직 절편을 xylene에서 파라핀을 제거하고 graded alcohol을 거쳐 물로 수세한 후 1mg/ml 농도의 hyaluronidase type V(Sigma, U.S.A.)가 혼합된 pH 7.2인 phosphate-buffered saline(PBS)에 4시간 수화시켰다. 내인성 peroxidase를 제거하기 위해 무수 메틸알콜에 0.3% hydrogen peroxidase를 첨가시켜 20분간 처리한 다음 PBS에서 10분간 3회 세척하고 fibronectin의 발현을 알기 위해서 5% normal goat serum을 30분간 적용하였고, CD44의 발현을 알기 위해서 5% normal horse serum을 30분간 적용하였다. 그 후 조직절편을 세척하지 않고 부드럽게 번지게 한 후 1:400으로 희석된 fibronectin의 1차 항체인 rabbit anti-human

fibronectin (DAKO, U.S.A.)과 1:500으로 희석된 CD44의 1차 항체인 mouse anti-rat CD44 (PHARMINGEN, U.S.A.)를 4℃에서 16시간 각각 적용하였다. 그 후 PBS로 10분간씩 3회 세척한 후 fibronectin의 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG와 CD44의 2차 항체인 biotinylated horse anti-mouse IgG(Vector Lab., U.S.A.)를 각각 1:100으로 희석하여 실온에서 각각 1시간 동안 적용한 후 조직절편을 PBS로 10분간 3회 세척한 후, pH 7.6인 0.05M Tris-HCl buffer와 0.05% diaminobenzine (DAB) 및 0.01% hydrogen peroxidase 혼합용액에 3분 동안 실온에서 발색반응을 시켰다. 그 후 Tris buffer, PBS 및 증류수에서 각각 10분 동안 순서대로 세척한 후, Harris hematoxyline으로 대조염색을 하고 Permount(Polysciences, U.S.A.)로 봉입하였다. 조직표본의 항체반응은 항체 적용과정을 생략하거나, 용액적용과정을 생략하여 비교확인 해보았다.

Ⅲ. 연구 성적

1. 병리조직학적 소견

1) 대조군

(1) 매식후 1주군

부분적으로 임플란트 나사상 모양의 골재생이 시작되고 있음을 확인하였다. 이 시기에 재생되는 골조직 대부분은 eosin에 아주 약한 반응을 보이는 미성숙골이었으며, 재생되고 있는 요철모양의 골조직내에는 골수조직이 군데군데 관찰되었다. 요철모양을 보이지 않은 재생부위에서는 많은 골소주들이 관찰되었다(Fig. 1).

(2) 매식후 2주군

임플란트의 계면부위의 재생되는 골조직의 형태가 요철상을 보이고 있었으며, 아직 미성숙골 상태였고, 골수강내에는 골개조에 관계하는 많은 골소주들이 관찰되었다(Fig. 2).

(3) 매식후 3주군

임플란트의 계면의 재생 골조직의 두께가 2주군에 비해서 얇아지고 있었으며, 대신 골수강 내에는 2주군에 비해서 골소주들의 많은 감소를 보여주는 조직 소견을 관찰할 수 있었다. 부분적으로 eosin에 짙게 염색이 되는 성숙골의 형태가 관찰 되었으며, 군데군데 재생 골조직이 없는 부위가 관찰되었다(Fig. 3).

(4) 매식후 4주군

임플란트 계면에 재생된 골조직이 거의 성숙골의 조직소

견을 보였다. 그리고 3주군에 비해 재생된 임플란트 계면의 재생 골조직의 두께가 훨씬 두꺼운 소견을 보였으며 반면에, 골수강 내에는 퇴축과정에 있는 골소주들이 약간 산재하고 있었다. 임플란트 계면의 일부부분에는 재생된 골조직이 없는 부위도 있었다(Fig. 4).

(5) 매식후 6주군

요철모양의 재생된 골조직이 성숙골의 조직소견을 보이고 있었으며, 군데군데 임플란트 계면부위에 골조직이 형성 안된 부위들도 관찰되었다. 이 시기의 골수강 내에는 약간의 골소주들이 퇴축하는 모습을 보였다(Fig. 5).

(6) 매식후 8주군

아주 잘 형성된 성숙골 형태의 요철모양의 골조직을 관찰할 수 있었고, 6주군에 비해 임플란트 계면에 형성된 재생된 골조직의 두께가 상당히 증가된 모습을 보였으며, 골수강 내에서도 잘 형성된 성숙골을 관찰할 수 있었다(Fig. 6).

(7) 매식후 12주군

잘 발달된 재생된 성숙골 즉 층판골 형태로 임플란트 계면과 골수강 부위 모두에 차 있었으며, 8주군에 비해 두꺼워진 요철 모양의 골조직을 확인할 수 있었다(Fig. 7).

2) 실험군

(1) 매식후 1주군

요철모양의 재생된 골조직 모양의 양상이 발견되기 시작했으며 요철 모양의 재생되고 있는 골조직 내부 또는 인접 부위에 많은 골소주들을 관찰할 수 있었고, 재생되는 골소주는 미성숙골의 조직소견을 보였다(Fig. 8).

(2) 매식후 2주군

미성숙골 상태의 요철 모양의 재생된 골과 골수강 내에 군데군데 골소주들이 관찰되었다(Fig. 9).

(3) 매식후 3주군

아주 얇은 재생된 골조직에서 성숙골의 양상과 임플란트 계면부위에 골형성이 안된 부위를 군데군데 관찰할 수 있었다. 골수강내에 골소주는 거의 관찰할 수 없었다(그림10).

(4) 매식후 4주군

3주군에 비해 두꺼워진 요철 모양의 재생된 성숙골의 골조직 소견을 관찰할 수 있었으며, 임플란트 계면부위에 군데군데 골형성이 안된 부위를 관찰할 수 있었다. 골수강내에 골소주는 관찰되지 않았으며, 재생된 골조직의 두께는 대조군에 비해서는 매우 얇은 양상을 관찰할 수 있었다(Fig. 11).

(5) 매식후 6주군

4주군에 비해 재생된 골조직의 두께는 증가하였으며, 골수조직에서 지방세포들이 나타나기 시작했다. 임플란트 계면부위에 가끔 골형성이 안된 부위를 관찰할 수 있었다 (Fig. 12).

(6) 매식후 8주군

6주군에 비해 오히려 아주 얇아진 계면부의 요철모양의 골재생성 부분을 관찰 할 수 있었으며, 임플란트 계면부위에 간혹 골형성이 안된 부위를 관찰할 수 있었다. 그리고 골수조직에 6주군에 비해 더욱 증가된 지방세포들을 관찰 할 수 있었다(Fig. 13).

(7) 매식후 12주군

8주군에 비해 재생된 요철 모양의 골조직이 두꺼워졌으나, 대조군에 비해서는 상당히 얇은 두께의 골조직상을 확인할 수 있었다. 골수조직에는 증가된 지방세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 14).

2. 조직형태계측학적 분석

조직형태계측 결과를 Table 1, 2, 3에 표시하였다. 대조군에서는 골밀도, 골수부골과 임플란트 사이 접촉률, 전체 골과 임플란트 사이 접촉률 등이 함께 경시적으로 증가하였다. 실험군에서 골밀도는 6주군까지는 점차적으로 증가하다가 그 이후로는 감소하였으며, 골수부골과 임플란트 사이의 접촉률 및 전체골과 임플란트 사이의 접촉률에 대해서는 8주군까지는 점차 증가하다가 12주군에서는 감소되는 양상을 나타내었다. 대조군과 실험군의 비교에서 골밀도에 있어서는 8주군과 12주군이 대조군과 실험군 사이에 유의할 만한 감소가 있었고, 골수부골과 임플란트 사이 접촉률에서는 12주군에서 대조군과 실험군간에 유의차(p< 0.01)를 보였으며 전체 골과 임플란트 사이 접촉률에서는 6, 8, 12주군에서 유의성 있는 차이를 나타내었다.

3. 면역조직화학염색소견

1) Fibronectin 항체를 이용한 면역조직화학염색소견

Table 1. Marrow bone density (%)

	Control group	Adrenalectomized group
1 Week	7.18±1.55	6.75±0.66
2 Weeks	10.16±1.35	9.35±1.96
3 Weeks	13.00±2.83	15.30±1.82
4 Weeks	17.10±4.07	18.92±2.44
6 Weeks	21.48±3.07	19.79±1.20
8 Weeks	28.29±4.22	16.05±2.02**
12 Weeks	60.80±4.49	14.78±1.80**

Mean SD: *, P<0.05; **, P<0.01

Table 2. Marrow bone to implant contact ratio (%)

	Control group	Adrenalectomized group
3 Weeks	60.11±3.38	59.68±3.37
4 Weeks	67.82±2.88	68.22±1.98
6 Weeks	72.80±3.56	70.41±1.67
8 Weeks	80.20±4.21	74.39±3.38*
12 Weeks	86.88±4.24	65.17±2.79**

Mean SD: *, P<0.05; **, P<0.01

Table 3. Total bone to implant contact ratio (%)

	Control group	Adrenalectomized group
3 Weeks	46.08±2.62	49.38±1.94
4 Weeks	64.90±2.81	60.40±2.75*
6 Weeks	70.30±1.75	64.89±1.79**
8 Weeks	79.30±1.35	70.18±2.48**
12 Weeks	85.54±3.17	63.13±3.28**

Mean SD: *, P<0.05; **, P<0.01

Table 4. Fibronectin expression on regenerating bone after implantation on the tibia of the rat(Control group)

weeks after implantation	regenerating bone matrix	osteoblast	bone marrow matrix
1week	++	++	++
2weeks	+++	++/+++	++
3weeks	+++	+++	+++
4weeks	++	++/+++	++
6weeks	+/+++	++	++
8weeks	-/+	+/+++	+/+++
12weeks	-/+	+	+

+++ , strong positive reaction;

++ , moderate positive reaction;

+ , weak positive reaction;

- , no reaction

Table 5. Fibronectin expression on regenerating bone after implantation on the tibia of the rat(Adrenalectomized group)

weeks after implantation	regenerating bone matrix	osteoblast	bone marrow matrix
1week	++/+++	+++	++
2weeks	++	+++	++
3weeks	++	++/+++	++
4weeks	++/+++	+++	++
6weeks	++	++/+++	++
8weeks	++	+++	++
12weeks	++	+++	++

+++ , strong positive reaction;

++ , moderate positive reaction

Table 6. CD44 expression on osteocytes of the regenerating bone tissues after implantation on the tibia of the rat

	Control group	Adrenalectomized group
3weeks	+++	+++
4weeks	+++	+++
6weeks	++/+	+++ / ++
8weeks	++/+	+++
12weeks	++/+	+++

+++ , strong positive reaction:

++ , moderate positive reaction:

+ , weak positive reaction

Fibronectin 항체 발현 정도는 임플란트와 접촉하는 부위의 재생된 골기질(regenerating bone matrix), 골모세포, 망상골 기질의 세부위에서 관찰하였는데, 대조군에서는 3주군에서 가장 강한 발현을 나타내고 있었고 6주군까지는 발현이 강하게 지속된 반면 8주군부터는 낮은 발현빈도를 보이고 있었다. 실험군에서는 4주군에서 가장 강한 발현을 나타내고 있었고 12주군까지 발현이 강하게 지속되고 있었다(Table 4, 5)(Fig 15~ 18).

2) CD44 항체를 이용한 면역조직화학염색조건

골세포에서의 CD44 발현을 관찰하였는데 대조군에서는 4주군에 가장 강한 발현을 나타내다가 점점 시간이 경과함에 따라 상대적으로 감소되었고 실험군에서는 12주군까지 강한 발현이 지속되었다(Table 6)(Fig. 19~22).

IV. 총괄 및 고찰

1965년 Brånemark에 의해 골유착성 임플란트의 개념이 소개된 이래로 임플란트를 이용하여 상실된 치아를 수복해주는 술식이 널리 사용되고 있으며, 성공률도 높게 보고되고 있다. 임플란트의 성공은 식립한 임플란트 재료와 형태 및 표면 상태, 외과적 술식과 매식부의 골밀도 및 골유착 상태에 영향을 주는 전신적인 요소 등 다양한 인자에 의해 영향을 받는다⁶⁾.

임플란트 매식 수술 자체가 골조직에 외과적 손상을 주는 것이고, 매식체 주위의 골조직 재생을 위해서는 골모세포, 골세포 및 파골세포의 활동이 활발하여야 하며 이러한 세포들을 위한 영양공급이 원활하고 적절한 자극 즉 전기적 자극, 기질 유도작용, 세포간 유도작용 등이 있어야 한다. Roberts⁸⁾는 임플란트 매식후 치밀골에서 계면이 형성되어 나가는 과정을 가골과 세망 섬유성 골조직이 형성되는 안정기와 파골세포에 의해 골조직 흡수와 층판골을 형성하는 강화기를 거쳐, 새로운 2차 골원이 임플란트 계면에 수직으로 형성되고 광범위한 골개형이 나타나는 지속기의 3단계로 이루어지며, 이 단계를 거치면서 하중을 견딜 수 있는 강한 골조직으로 바뀌어지는데 이 기간은 가토에서는 약 6주,

성견에서는 약 12주, 사람에서는 약 18주 정도가 된다고 하였다.

본 연구에서 백서 경골에 식립한 임플란트의 조직학적 소견상 대조군 4주군에서 임플란트 계면에 재생된 골조직이 거의 성숙골의 조직소견을 보였으며 실험군에서는 6주군까지는 골조직의 두께가 증가하였으나, 그 이후로는 재생된 골조직이 얇아지는 경향을 보였다. 조직형태계측학적으로 분석한 결과에서는 대조군에서 골밀도, 골수부골과 임플란트 사이의 접촉률, 전체 골과 임플란트 사이의 접촉률이 경시적으로 증가한 반면 실험군은, 대조군에 비해 6주군, 8주군부터는 유의성 있는 낮은 수치를 보였다.

한편, 임플란트 시술시 특별한 전신질환이 골조직의 치유에 직접적인 영향을 줄 수 있는데 이러한 예로는 고령자나 골조직의 치유에 비가역적인 영향을 줄 수 있는 만성 신부전 및 phenytoin⁹⁾, phenobarbital, primidone 같은 항경련제를 장기간 복용한 환자에서의 골연화증과 폐경기 이후와 항응고제를 장기간 복용하는 환자 및 부신 기능 이상이나 류마치스 관절염, 전신성 홍반성 낭창, 만성 활동성 간염과 같은 스테로이드 장기 복용에 따른 골다공증 및 당뇨병과 같은 전신 질환을 앓고 있는 유병자들을 들 수 있다. 골다공증은 중년 여성에서 폐경기후 증후군이다. 폐경기후에 4-7년간 골침착률에 비해 골흡수율의 급속한 증가를 보이는 데, 에스트로젠 부족이 이러한 과정에서 중요한 역할을 한다고 믿어진다¹⁰⁾. 코티코스테로이드는 부신 기능 부전의 대체제로 사용되며, 류마치스 관절염, 전신성 홍반성 낭창, 천포창, 만성 활동성 간염과 같은 비내분비성 질환의 치료제이다. 골다공증과 압박 골절이 코티코스테로이드의 잘 알려진 합병증이며, 골소주형성의 정도가 높은 골이 더욱 영향을 받기가 쉽다. 이것에 대한 기전은 코티코스테로이드에 의한 조골세포 작용에 대한 직접적인 영향과 장에서의 칼슘 흡수의 억제에 의한 간접적인 영향이라고 믿어진다. 이러한 억제는 부갑상선 호르몬의 유리를 증가시키고 이것이 파골세포의 활성을 증가시킨다. 부갑상선 호르몬은 세포외액의 칼슘 농도의 유지에 중요 역할을 하며 직접적으로 뼈와 신장에 작용하고 간접적으로는 1.25(OH)₂D 합성을 증가시킴으로써 소장에서 칼슘 흡수를 증가시켜 혈청 칼슘 농도를 증가시킨다. 최종적인 영향은 골의 형성을 감소시키고 흡수를 증가시키게 되어 골다공증을 유발시키게 되는데¹⁰⁾, 이러한 골다공증은 단위부피당 골량의 감소를 일으키는 질환을 말하며, 조직학적으로는 피질골의 두께와 해면골 지주의 크기와 수가 감소되어 골절이 잘 일어나고 골지주판의 비정상적인 천공도 동반된다. 성인은 30~35세에 최대 골량에 이르며 그 이후로는 감소하는데, 특히 폐경기 이후 여성에서 골의 형성과 흡수의 불균형으로 골다공증이 호발된다.

본 연구에서는 부신을 적출한 백서에서 임플란트 식립후 임플란트와 수혜부 골과의 반응에 대해서 살펴보았는데 부

신은 피질과 수질로 구성되어 있으며, 피질에서는 3가지의 스테로이드 즉 glucocorticoid와 mineralocorticoid인 알도스테론과 소량의 gonadocorticoid인 성호르몬을 분비한다. glucocorticoid는 cortisol, cortisone, corticosterone, 및 11-deoxycorticosterone의 4가지이며 cortisol이 약 95%를 차지하며 gluconeogenesis를 촉진하고 알레르기 반응과 염증 반응을 억제한다. mineralocorticoid인 알도스테론은 소변에서 sodium retention과 potassium의 소실을 조절한다. gonadocorticoid는 주로 약한 남성 호르몬인 안드로젠과 여성 호르몬인 소량의 에스트로젠으로 구성된다. 부신수질은 피질과는 달리 생명 유지에 필수적이지는 않다. 부신수질에는 chromaffin이라는 분비 세포가 있어 epinephrine과 norepinephrine을 분비하며 교감신경 기능을 나타낸다. cortisone은 과량에서 골에 필요한 이화-동화작용의 균형 변화로 인해 신생골 형성이 감소된다. 이러한 cortisone의 분비를 증가시키는 스트레스에는 외상, 감염, 열과 한냉, 약물 중독, 외과적 수술, 근육피로, 신경자극 등이 있으며 신체에 영향을 주어 비특이적인 조직변화를 가져온다¹¹⁾. 부신피질호르몬이 장에서 선택적으로 칼슘 흡수를 감소시키는 칼슘 균형 연구와 방사성 칼슘 기술을 이용하여 이미 잘 밝혀져 있는 사실이다. 칼슘 흡수의 감소는 부신피질호르몬 사용 2주내에 발생되며 부신피질호르몬의 용량에 비례하여 감소된다. 부신피질호르몬 사용 환자의 혈중 25-(OH)D는 대체로 정상이거나 약간 감소되어 있을 뿐이며 1.25(OH)₂D는 정상, 증가, 감소 등 다양하게 보고되고 있는데 이는 환자군에 따른 다양한 칼슘, VitaminD의 섭취에 기인한다고 생각되어진다. 지금까지 부신피질호르몬에 의해 장내의 칼슘 흡수가 감소되는 기전은 밝혀지지 않았으며 여러 가지 가능성이 시사되고 있을 뿐이다. 부신피질호르몬을 복용하는 환자에서 소변의 칼슘 배설량은 현저히 증가되어 있으며, 특히 부신피질호르몬에 의한 골다공증이 발생한 환자에서 증가는 더 현저하다. 이에 대한 기전 역시 불분명하다. 일반적으로 혈액의 칼슘 농도는 갑상선 호르몬인 calcitonin과 부갑상선 호르몬에 의해 조절된다. 만약 혈액의 칼슘 농도가 떨어지면, 갑상선이 억제되어 calcitonin의 유리가 감소되고 파골세포의 억제가 감소되어 골에서 칼슘의 분비가 촉진된다. 또 부갑상선 기능이 촉진되어 부갑상선 호르몬의 분비가 증가하면 파골세포에 의해 골에서 칼슘이 유리되고 위장관계에서 칼슘의 흡수가 증가되며 소변에서 칼슘의 소실이 억제되어 혈중 칼슘 농도가 증가한다. 이렇게 되면, negative feedback기전에 의해 반대로 갑상선 기능은 촉진되고 부갑상선 기능은 억제되어 calcitonin의 분비가 증가하고 파골 세포가 억제되어 골로부터 칼슘의 유리를 감소시킨다. 부신피질호르몬을 복용하는 환자에서 부갑상선 호르몬이 흔히 증가되어 있는 것이 관찰되는 데 이는 부신피질호르몬에 의해 장내의 칼슘 흡수가 감소되고 소변

으로 칼슘배설이 증가됨으로써 혈중 칼슘농도가 감소되고 이로 인해 이차적으로 부갑상선호르몬이 증가된다고 생각된다. 본 연구에서는 부신을 제거한 백서에서 부갑상선 호르몬의 이차적 항진증으로 기인되어 골흡수가 일어났음을 추정할 수 있다. 한편, 부신피질호르몬의 장기 사용 환자들의 골조직 검사를 비롯한 생체내 연구에서 골흡수가 현저히 증가되어 있음이 관찰된다. 그러나 생체외 연구에서의 부신피질호르몬의 작용은 파골세포의 활동을 억제 또는 증가하는 등 혼동스런 반응을 보인다. 따라서 생체내에서 관찰되는 골흡수의 증가는 부신피질호르몬의 파골세포에 대한 직접적인 작용이라기보다는 주로 부갑상선호르몬 증가에 의한 것으로 여겨진다. 부신피질호르몬에 의해 골형성이 감소되는 기전은 두가지로 설명된다. 첫째 기전으로는 골모세포에 부신피질호르몬 수용체가 존재하고, 부신피질호르몬으로 골모세포의 증식 및 콜라겐 형성이 억제되는 것으로 미루어 부신피질호르몬이 직접 골모세포의 활성을 억제함을 알 수 있다. 부신피질호르몬이 여러 국소인자들의 분비에도 관여하는 것으로 알려지고 있다. 즉 골모세포의 활성을 증가시키는 작용이 있는 것으로 밝혀진 IGF-1이나 PGE의 분비를 감소시킴으로써 골형성의 감소에 일조를 할 것으로 생각된다. 골흡수를 증가시키는 IL-1의 분비도 억제되지만 이는 부신피질호르몬성 골다공증의 발생과는 무관한 것으로 짐작된다. 둘째 원인으로는 부신피질호르몬을 과다 사용할 때 성호르몬 기능이 현저히 감소되는데 이는 뇌하수체의 성선자극 호르몬분비를 억제할뿐만 아니라 직접 성선에 작용하여 성호르몬의 생성을 억제하기 때문이다. 또한 장기간의 부신피질호르몬의 사용에 의한 ACTH 억제에 따른 부신의 퇴화로 부신에서 형성되는 androgen과 estrone도 감소된다. 성선기능의 저하시 골흡수의 증가로 골다공증의 발생이 증가됨은 이미 잘 알려진 사실이다⁷⁾. 스테로이드에 의해 유도되는 골다공증은 코티코스테로이드 치료의 잘 알려진 복합병이다¹²⁾. 그러나, 티타늄 임플란트의 골유착에 있어서의 스테로이드 투여의 효과는 명확히 밝혀지지 않고있다. 과거에 rat¹³⁻¹⁶⁾, guinea pig¹⁷⁾ 및 rabbit¹⁸⁻²⁰⁾를 사용하여 스테로이드에 의해 유도된 골다공증의 동물 모델이 만들어져 왔다.

또한 본 연구에서는 골형성 초기와 말기에 중요한 발현을 하는 fibronectin과 CD44의 분포를 분석하였는데, 일반적으로 골의 대사는 골모세포의 작용에 의한 골형성과 파골세포에 의한 골흡수라는 상반된 2가지 요소로 이루어지며, 정상적인 상태에서는 평형을 이루고 있으나 대사성 골질환의 경우에는 평형이 깨져 골형성 및 골흡수의 변화가 초래된다. 이러한 골형성과정은 유기기질에 비유기기질인 무기물이 침착되는 질서 정연한 반응으로 무기질은 칼슘과 인으로써 이들 이온의 혈장과 세포외액 농도에 따라 골의 무기질화의 속도에 영향을 준다. 골의 재형성에는 다양한 교원질

들이 칼슘과 인의 수용액으로부터 무기질화의 핵을 형성하는 데 촉매 역할을 하며 초기의 무기질화는 교원질들이 특수한 배열에 의해 만들어진 특이한 공간에서부터 침착된다. 골모세포는 유기기질을 생성하고 분비하여 이것이 무기질화 되어 골모세포를 둘러싸게 되고 이로 인해 골모세포는 편평해지고 비활성된 골세포로 변하게 되어 미세소관들에 의해 혈액공급을 받게 된다. 따라서 골의 형성은 유기기질에 무기질이 침착되는 반응으로 요약되는데, 이러한 무기질화는 주로 하버스판 내에서 무기질에 관여하는 기질이 분비된 후 곧 시작하는 1차 무기질화를 이루고, 이어 2차 무기질화가 수주간 지속되는데 이는 무기질인 칼슘과 인의 혈장과 세포외액 농도에 따라 영향을 받는다. 골모세포에 의해 생성되는 세포의 기질중에서 여러 가지 물질이 복합되어 있으며 골의 형성이나 재생에 영향을 미친다^{21,22)}. 세포의 기질은 제1형 교원질이나 fibronectin과 같은 구조적인 성분과 기질을 퇴화시키는 단백분해효소 등으로 구성되어 있다. 골에는 성장인자가 있으며 TGF β I 과 II (transforming growth factor), FGF(fibroblast growth factor), PDGF(platelet derived growth factor), IGF-1&-2 등의 성장인자들도 골아세포의 기능조절에 관여하고 있다. 골모세포에 의해 분비된 세포의 기질의 구성성분이 단독 또는 복합적으로 작용시 골모세포의 분화 및 생존에 영향을 미치는 인자로 작용하여 골형성의 정도를 조절하게 된다³¹⁻³⁴⁾. 이러한 세포의 기질 중 당단백의 하나인 fibronectin은 440 kDa의 고분자로서 세포의 기질과 기저막 및 체액 등 여러 부위에 걸쳐 분포하며, 다른 세포의 기질 성분과 상호 작용하거나 세포의 세포표면 수용기에 부착하여 세포와 세포 사이 혹은 세포와 세포의 기질사이의 상호작용 등 여러 가지 작용을 하며 창상 치유 초기에 많이 발현하는 것으로 알려져 있다. 이러한 fibronectin이 골형성 과정 중 어떠한 역할을 하는지는 정확히 밝혀지지 않았지만 많은 학자들이 골형성 중에 fibronectin의 분포를 연구한 바 있다. Winnard 등²⁵⁾은 골모세포의 분화 중 fibronectin의 분포를 연구하여 fibronectin이 골형성 초기에 간질세포의 분화 및 결합 시에 매우 강하게 발현한다고 하였고, Nordahl 등²⁶⁾은 성장 중인 백서의 골에서 fibronectin의 분포를 관찰하여 fibronectin이 골형성 초기에 세포의 기질의 무기질화에 중요한 역할을 한다고 하였으며, Moursi 등^{27,28)}은 fibronectin이 TGF- β 와 상호 작용하여 골형성에 중요한 역할을 하며, 또한 integrin $\alpha 5\beta 1$ 와 선택적으로 결합하여 골모세포의 생존과 분화를 조절하는 기능을 가지고 있다고 주장하였다. 또한 Globus 등²⁹⁾은 골모세포의 분화 초기에 fibronectin의 세포부착영역에 골모세포가 부착하여 이로 인해 골모세포의 분화가 촉진된다고 하였다. 따라서, fibronectin은 골형성 초기에 강하게 발현하여 골모세포의 성숙 및 분화에 영향을 주어 골의 형성을 촉진시키는 물질

이라고 생각되어지며 임플란트 매식 후 인접 골형성 조직에서 fibronectin의 발현 정도를 살펴보는 것도 현재 골형성의 진행 정도를 파악할 수 있는 하나의 지표로 사용될 수 있을 것으로 사료된다. fibronectin 항체를 이용한 면역조직화학염색소견상 결과를 살펴보면 대조군의 재형성된 골에서는 3주군 이후로, osteoblast에서는 4주군 이후로 fibronectin 발현이 감소하기 시작하였으며, 골수 기질에서는 3주군에서 가장 강한 발현을 나타낸 반면 실험군에서는 재형성된 골과 골모세포, 골수 기질 모두에서 특이할 만한 변화가 관찰되지 않았다. 또한, CD44는 세포의 기질중에서 hyaluronate와 chondroitin sulfate, 제1형 교원질 그리고 fibronectin과 결합하여 다양한 기능을 수행하는 85kDa의 세포표면 당단백으로, 대부분의 대식세포, 상피세포 그리고 얼마간의 신경세포를 포함한 다양한 조직에서 발현되며 특히 활동적으로 분화하는 세포들에서 더욱 많이 발현된다. 이러한 CD44의 기능은 세포내 골격과의 상호 작용, lymphocyte homing, 교원질, laminin 그리고 fibronectin과 같은 단백질과의 결합능, hyaluronan-dependent adhesion, hyaluronan의 파괴, 암전이에의 관계등 다양하다^{30,31)}. 이러한 CD44의 골조직내 분포에 대한 보고로는, 박³²⁾은 흰쥐의 치근과 치주조직 발생시 CD44의 분포에 관한 연구에서 치조골의 발생시 분화하는 골세포의 세포막과 백악질 형성에 관계하는 조백악세포의 세포질 및 세포막에 강한 CD44의 발현을 보인다고 하였고, Huges 등³¹⁾은 사람 골조직에서의 CD44의 분포에 대한 조직면역화학 실험결과에서 골기질내에 갇혀있는 골세포의 세포막과 골세포의 세포질 및 파골세포의 세포막에서는 아주 강한 면역양성반응의 결과를 보였으나, 골모세포에서는 대부분의 결과에서 반응이 없었다고 보고하였고, Nakamura와 Ozawa³³⁾는 백서 경골 골조직의 CD44 면역조직화학실험 결과에서 골모세포에서는 골면에 부착해 있는 약간 등근 골모세포의 세포질 돌기에 국한되어 양성반응을 보인 반면 골세포, 골막세포와 파골세포에 강한 발현을 보인다고 하였으며, Kania 등³⁴⁾은 파골세포의 분화를 연구한 결과 CD44항체가 파골세포의 형성을 제한한다고 보고하면서 CD44가 파골세포의 형성에 중요한 수용기로서 작용한다고 설명하였다. 위의 연구들을 종합하면 CD44는 골의 형성과정 중 골모세포에서 골세포로 변화하는 상태에서 강하게 작용한다고 생각되어 진다. 따라서 임플란트 매식후 골형성 과정 중 이러한 CD44의 발현을 조사하는 것은 골형성이 거의 완성되었다는 지표로 인식할 수 있다. 본 연구에서 CD44 항체를 이용한 면역조직화학염색소견으로 형성된 골세포에서 CD44 발현은 대조군에서는 3, 4주군에서 강한 발현을 보였으며 이후로 약한 발현을 보였다. 하지만, 실험군에서는 3주군에서부터 12주군까지 강한 발현을 나타내었는데 이는 염증 반응 및 조골반응이 지속되는 것으로 추정되며 증판골로의 이행도 지연되

는 것으로 생각된다. 본 연구에서도 전체적으로 골형성 과정 중 fibronectin과 CD44의 분포를 파악하는 것은 재생된 골의 성숙정도를 파악해 볼 수 있는 하나의 지침으로 사용 가능하다고 고려되어지며 특히 임플란트 매식후 주위 골형성 과정에서 골모세포, 골세포와 파골세포를 포함한 골형성 과정의 포괄적인 양상을 관찰할 수 있고 또한 일반적인 조직염색법으로 구분하기 어려웠던 조직내 미세한 반응까지 포착할 수 있다는 점에서 의미가 있으리라 사료된다.

본 연구결과를 토대로, 골대사에 영향을 주는 외인성 스테로이드를 장기간 투여받은 사람은 스테로이드 투여로 인한 골다공증에 이환되어 있을 가능성이 많으므로 임플란트 식립시 초기 고정기 약할 수 있고 또한 부신피질 기능의 억제로 인한 성숙골로의 이행이 지연됨으로 인해 장기간의 치유기간을 부여해야 할 필요가 있으며, 스트레스에 대한 적응불능, 창상치유 지연, 감염 이환율 증가 등의 위험이 있으므로 임플란트 시술시 부신피질호르몬의 보충이 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

부신을 적출한 백서에서 임플란트 매식 후 골형성정도를 정량적, 정성적으로 살펴보기 위하여 부신 적출 백서의 경골에 주문 제작된 나사형 순 티타늄 임플란트를 식립하고 1주, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주 및 12주 경과 후 각각 희생하여 병리조직학적, 조직형태측정학적 분석 및 fibronectin과 CD44항체를 이용한 면역조직화학적 소견을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 병리조직학적 소견에서 대조군 3주군에서부터 요철 모양의 재생된 골조직의 성숙골이 나타난 후 12주군에 이르러 증판골의 형태를 보임을 알 수 있었다. 실험군에서는 6주군까지는 재생된 골조직의 두께가 증가하였으나 6주군 이후로는 오히려 골조직이 얇아짐을 관찰할 수 있었다.
2. 조직형태학적 계측에서 골밀도는 8주군과 12주군에서 대조군에 비해 실험군에서 감소하였고 골수부골과 임플란트 사이 접촉률에서는 12주군에서 대조군에 비해 실험군에서 감소를 보였으며, 전체 골조직과 임플란트 사이 접촉률에서도 6, 8, 12주군에서 실험군이 감소하였다.
3. Fibronectin 항체를 이용한 면역조직화학적 소견에서 대조군에서는 2, 3주군에서 가장 강한 발현을 나타내고 그 이후로 서서히 감소하였으며 실험군에서는 1주군에서부터 12주군까지 발현이 계속 강하게 지속되고 있었다.
4. CD44 항체를 이용한 면역조직화학적 소견으로 형성된 골세포에서 CD44 발현은 대조군에서는 3, 4주군에서 강한 발현을 보였으며 이후로 약한 발현을 보였다. 하지

만, 실험군에서는 3주군에서부터 12주군까지 계속 강한 발현을 나타내었다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 부신을 적출한 백서의 경골에 식립한 임플란트의 주위 골반응에서 임플란트와 골사이의 접촉률은 대조군과 비교하여 4주군에서부터 줄어들었고 전 군에 걸쳐 fibronectin과 CD44 항체를 이용한 면역조직화학적 소견이 강한 반응을 보이는 것으로 보아 염증상태가 지속되는 것으로 보여져 미성숙골이 오래 지속되고 또한 증판골로의 이행도 지연됨을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Babbush CA: Endosseous blade-vent implants: A research review. *J Oral Surg* 30:168-175, 1972.
2. Brånemark P-I, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindstrom J, Ohlsson P: Intraosseous anchorage of dental prostheses. *Scan J Plast Reconstr Surg* 3:81-100, 1969.
3. Brånemark P-I, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, Ohmann A: Osseointegrated implant in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10 year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl*:1-132, 1977.
4. Albrektsson T, Brånemark P-I, Hansen HA, Linestroom J: Osseointegrated titanium implants, requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 52:155-170, 1981.
5. Brånemark R, Skalak R, Brånemark PI: Osseointegration and rigid fixation. In Yaremchuk MJ, Gruss JS, Manson PN(eds): *Rigid Fixation of the Craniomaxillofacial Skeleton*. Stoneham, MA, Butterworth-Heinemann Publishing, 1992, pp 163-175.
6. Smith RA, Berger R, Dodson TB: Risk factors associated with dental implants in healthy and medically compromised patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 7:367-372, 1992.
7. 김기수, 손광현: Dexamethaxone이 사람의 정상 골수기질 세포의 증식, 콜라겐 합성 및 Alkaline Phosphatase Activity에 미치는 영향. *대한내분비학회지* 8:59-65, 1993.
8. Roberts WE: Bone tissue interface. *J Dent Educ* 52:804-809, 1988.
9. Symposium (various authors). In Woodbury DM, Penry JK, Schmidt RP(eds): *Antiepileptic Drugs*. New York, Raven Press, 1972.
10. Scott PJ: Consensus viewpoint on the treatment of postmenopausal osteoporosis. The Ad Hoc Group on Osteoporosis. *N Z Med J* 110:397-399, 1997.
11. 조한국, 홍정표: 부신적출후 Prednisolone투여와 기계적자극이 임플란트의 주위조직에 미치는 영향. *치과연구* 43:57-63, 1998.
12. Fujimoto T, Niimi A, Sawai T, Ueda M: Effects of steroid-induced osteoporosis on osseointegration of titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 13:183-189, 1998.
13. Lindgren JU, DeLuca HF: Oral 1,25(OH)₂D: An effective prophylactic treatment for glucocorticoid osteopenia in rats. *Calcif Tissue Int* 35:107-110, 1983.
14. Sjöden GOJ, Lindgren JU, DeLuca HF: The effect of 1 α -hydroxyvitamin D₂ on calcium metabolism in glucocorticoid-treated rats. *Bone* 6:231-234, 1985.
15. Tam CS, Wilson DR, Hitchman AJ, Harrison JE:

- Protective effect on vitamin D2 on bone apposition form inhibitory action of hydrocortison in rats. *Calcif Tissue Int* 33:167-172,1981.
16. Yamazaki I, Shino A, Shimizu Y, Tsukuda R, Shirakawa Y, Kinoshita M: Effect of ipriflavone on glucocorticoid-induced osteoporosis in rats. *Life Sci* 38:951-958,1986.
 17. Turnlund J, Morgan S, Briggs GM: Effect of glucocorticoids and calcium intake on bone density and bone, liver and plasma minerals in guinea pigs. *J Nutr* 109:1175-1188,1979.
 18. Storey E: Cortisone induced bone resorption in the rabbit. *Endocrinology* 68:533-542, 1961.
 19. Thompson JS, Palmieri GMA, Crawford RL: The effect of porcine calcitonin on osteoporosis induced by adrenal cortical steroids. *J Bone Joint Surg* 54:1490-1500, 1971.
 20. Ashcraft MB, Southard KA, Tolley EA: The effect of corticosteroid-induced osteoporosis on orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 102:310-319, 1992.
 21. Canalis E, Pash J, Varghese S: Skeletal growth factors. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 3:155-166, 1993.
 22. Erlebacher A, Filvaroff E, Gitelman S, Derynck R: Toward a molecular understanding of skeletal development. *Cell* 80:371-378, 1995.
 23. Robey P: Bone matrix proteoglycans and glycoproteins. In Bilezikian J, Raisz I, Rodan G(eds): *Principles of Bone Biology*, San Diego, Academic Press, 1996, pp 155-165.
 24. Hynes RO: Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 69:11-25, 1992.
 25. Winnard RG, Gerstenfeld LC, Toma CD, Franceschi RT: Fibronectin gene expression, synthesis, and accumulation during in vitro differentiation of chicken osteoblasts. *J Bone Miner Res* 10:1969-1977, 1995.
 26. Nordahl J, Mengarelli-Widholm S, Hultenby K, Reinholt FP: Ultrastructural immunolocalization of fibronectin in epiphyseal and metaphyseal bone of young rats. *Calcif Tissue Int* 57:442-449, 1995.
 27. Moursi AM, Damsky CH, Lull JC, Zimmerman D, Doty SB, Aota S-I, Globus RK: Fibronectin regulates calvarial osteoblast differentiation. *J Cell Sci* 109:1369-1380, 1996.
 28. Moursi AM, Globus RK, Damsky CH: Interaction between integrin receptors and fibronectin are required for calvarial osteoblast differentiation in vitro. *J Cell Sci* 110:2187-2196, 1997.
 29. Globus RK, Doty SB, Lull JC, Holmuhamedov E, Humphries MJ, Damsky CH: Fibronectin is a survival factor for differentiated osteoblasts. *J Cell Sci* 111:1385-1393, 1998.
 30. Culty M, Miyake K, Kincade PW, Sikorski E, Butcher EC, Underhill C, Sikorski: The hyaluronate receptor is a member of the CD44(H-CAM) family of cell surface glycoproteins. *J Cell Biol* 111:2765-2774, 1990.
 31. Huges DE, Salter DM, Simpson R: CD44 expression in human bone: a novel marker of osteocytic differentiation. *J Bone Miner Res* 9:39-44, 1994.
 32. 박봉수: 흰쥐의 치근과 치주조직 발생시 복합당질과 CD44 분포에 관한 연구. *대한구강해부학회지* 19:51-64, 1995.
 33. Nakamura H, Ozawa H: Immunolocalization of CD44 and the ERM family in bone cells of mouse tibiae. *J Bone Miner Res* 11:1715-1722, 1996.
 34. Kania JR, Kehat Stadler T, Kupfer SR: CD44 antibodies inhibit osteoclast formation. *J Bone Miner Res* 12:1155-1164, 1997.

저자연락처

우편번호 607-011
 부산시 동래구 명륜1동 530-1
 대동병원 치과/구강악안면외과
 최 갑 립

원고 접수일 2000년 3월 16일
 게재 확정일 2000년 4월 5일

Reprint requests

Kab-Lim Choi
 Dept. of Dentistry/OMFS, Dae Dong Hospital.
 530-1, Myongryun 1 Dong, Dongrae-Gu, Pusan, 687-011, Korea
 Tel. 82-51-553-1233 Fax. 82-51-553-7575

Paper received 16 March 2000
 Paper accepted 5 April 2000

Legends for Figures

- Fig. 1. Micrograph at 1 week after implantation in control rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 2. Micrograph at 2 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 3. Micrograph at 3 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 4. Micrograph at 4 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 5. Micrograph at 6 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 6. Micrograph at 8 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 7. Micrograph at 12 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 8. Micrograph at 1 week after implantation in adrenalectomized rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 9. Micrograph at 2 weeks after implantation in adrenalectomized rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 10. Micrograph at 3 weeks after implantation in adrenalectomized rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 11. Micrograph at 4 weeks after implantation in adrenalectomized rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 12. Micrograph at 6 weeks after implantation in adrenalectomized rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 13. Micrograph at 8 weeks after implantation in adrenalectomized rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 14. Micrograph at 12 weeks after implantation in adrenalectomized rat. H-E, $\times 100$.
- Fig. 15. Fibronectin antibody reaction of regenerating bone at 2 weeks after implantation on the tibia of the control rat. The matrices of the regenerating bone tissues and bone marrow, and osteoblasts show a very strong positive immunoreactivity. Arrows indicate osteoblasts showing a very strong positive immunoreactivity. $\times 100$.
- Fig. 16. Fibronectin antibody reaction of regenerating bone at 8 weeks after implantation on the tibia of the control rat. The matrices of the regenerating bone tissues and bone marrow, and osteoblasts show focally weak or moderate positive immunoreactivity. $\times 100$.
- Fig. 17. Fibronectin antibody reaction of regenerating bone at 2 weeks after implantation on the tibia of the adrenalectomized rat. The matrices of the regenerating bone tissues and bone marrow show moderate positive immunoreactivity. Arrows indicate osteoblasts showing strong positive immunoreactivity. $\times 100$.
- Fig. 18. Fibronectin antibody reaction of regenerating bone at 8 weeks after implantation on the tibia of the adrenalectomized rat. The matrices of the regenerating bone tissues and bone marrow show moderate positive immunoreactivity. Arrows indicate osteoblasts showing strong positive immunoreactivity. $\times 100$.
- Fig. 19. CD44 antibody reaction of regenerating bone at 4 weeks after implantation on the tibia of the control rat. The osteocytes show a very strong positive immunoreactivity. Arrows indicate cell membranes and cytoplasm of osteocytes showing a very strong positive immunoreactivity. $\times 200$.
- Fig. 20. CD44 antibody reaction of regenerating bone at 8 weeks after implantation on the tibia of the control rat. The cell membranes of osteocytes show moderate or weak positive immunoreactivity. $\times 200$.
- Fig. 21. CD44 antibody reaction of regenerating bone at 4 weeks after implantation on the tibia of the adrenalectomized rat. The cell membranes and cytoplasm of osteocytes show a very strong positive immunoreactivity. $\times 200$.
- Fig. 22. CD44 antibody reaction of regenerating bone at 8 weeks after implantation on the tibia of the adrenalectomized rat. The cell membranes of osteocytes show strong or moderate positive immunoreactivity. $\times 200$.

사진부도 ①



Fig. 1

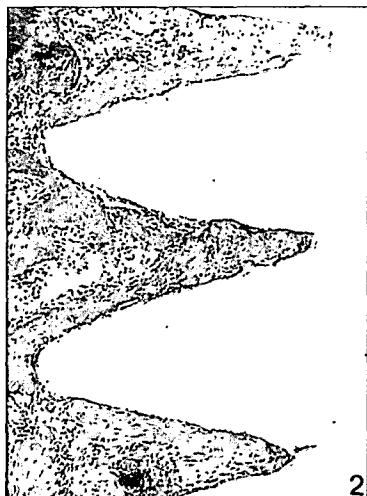


Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4



Fig. 5



Fig. 6



Fig. 7



Fig. 8



Fig. 9

사진부도 ②



Fig. 10

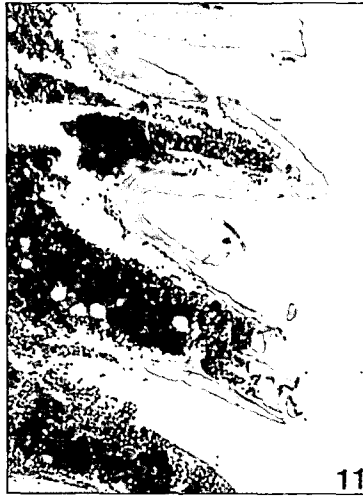


Fig. 11



Fig. 12

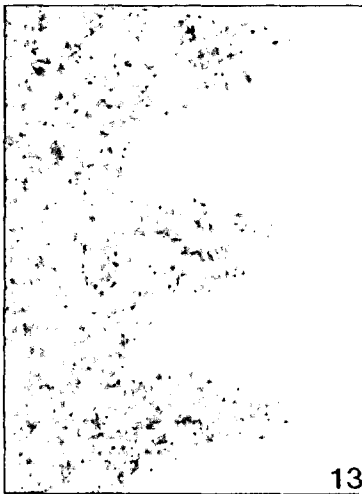


Fig. 13



Fig. 14

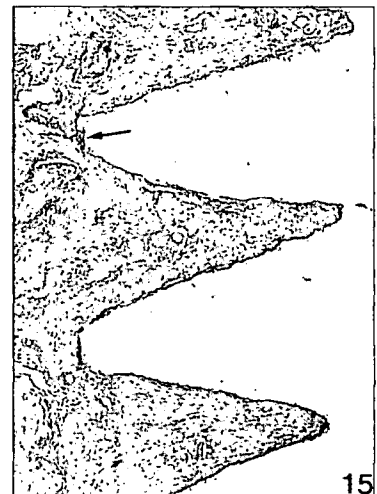


Fig. 15

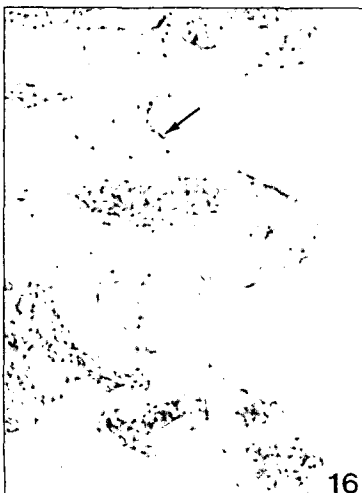


Fig. 16



Fig. 17



Fig. 18

사진부도 ③



Fig. 19



Fig. 20

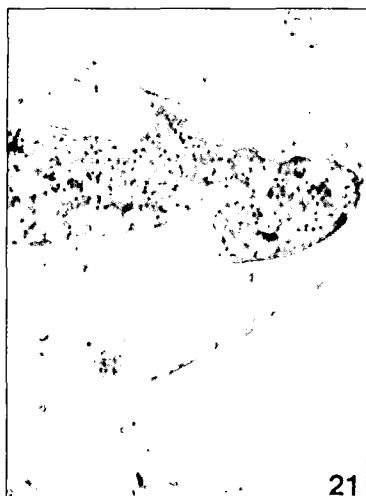


Fig. 21



Fig. 22