스트렙토조토신 유도 당뇨백서의 골조직 재생에 흡수성 차폐막이 미치는 영향

양병근[1] · 이학철[1] · 이지영[1] · 손강배[1] · 설양조[1] · 이상철[1] · 계승범[2] · 정종평[1] · 한수부[1]

[1]서울대학교 치과대학 치주과학교실
[2]성균관대학교 의과대학 삼성의료원 치과진료부 치주과

I. 서론

당뇨병은 인슐린 생성장애나 인슐린이 작용하는 장기의 기능이상으로 인해 당분대사는 물론 지방이나 단백질, 전해질등의 대사에 장애를 일으키는 만성 대사성 질환이다[1,2]. 전 세계 인구의 약 2% 정도가 당뇨병에 이환 되어 있다고 보고 되어 있으며[3] 우리나라에서도 연간 당뇨병 발생율이 2.5%에 이르고 있어 사회경제적으로 중요한 국민보건의 문제로 떠오르고 있다[4,5].

당뇨병은 인슐린 의존성 제1형 당뇨병과 인슐린비의존성인 제2형 당뇨병으로 그 발생원인에 따라 분류된다. 제1형은 증상의 발현이 매우 빠르고 인슐린 생성이 거의 되지 않으며, 전체 당뇨병환자의 10%에서 20%정도를 차지하고 주로 20세 이하의 연령과 청소년에 많이 발병되며 제2당뇨병은 가장 보편적인 당뇨병의 형태로 40대 이후에 많고 증상의 발현이 느리고 만성적이다[6].

당뇨병은 혈당조절이 잘 이루어지지 않을 경우에 여러 가지 전신적인 합병증을 일으키고 구강내에서도 특이한 합병증을 일으키게 된다[7,8].

당뇨병과 치주질환과의 관계에 대해서는 상반된 보고가 있으나[9], 대체로 당뇨병이 치주질환을 악화시키거나, 치료를 어렵게 하는 것으로 알려져 있다 [10,11]. 장기간 당뇨병을 앓은 환자들은 정상인이나 또는 단기간 당뇨병이 진행된 환자들보다 치조골파괴가 더 심하고 치주낭의 깊이도 증가한다. 따라서 심한 치주조직의 파괴는 장기간 계속된 당뇨병의 심각한 합병증이라 할 수 있다[10,12,13].

그리고, 당뇨병 환자들 중에서도 혈당조절이 되는 정도에 따라 치주질환의 진행정도가 다른 것으로 알려져 있다. Taylor 등[14]은 인슐린 비의존성 당뇨병환자에서 2년간 조사결과 혈당조절이 잘 되지 않은 환자들이 혈당조절이 잘 되는 환자들보다 더 심한 치주조직의 파괴를 보인다 하였다. 이 연구에서는 특히 조사 초기에 심한 치주질환을 가지고 있는 경우 2년의 연구기간 동안 혈당조절이 잘 되지 않았다. 따라서 당뇨병 환자에 있어서 심한 치주질환은 혈당조절의 위험인자로 작용할 수 있다고 주장하였다.

반면에 혈당조절이 잘 되지 않고 있음에도 불구하고 치주질환 유병율의 차이를 보이지 않는 경우도 있어 치주질환이 당뇨병과 상관관계에 있다는 가설을 일반화 할 수는 없다는 보고도 있다[15 - 17].

위의 역학조사에서 고혈당과 치주질환과는 관계가 확실시 되고 있으나 당뇨병이 치주조직의 악화를 일으키는 정확한 기전은 완전히 밝혀지지 않은 상태이다.

당뇨병 환자들은 혈당조절의 상태에 따라 치주치료에 대한 반응의 차이를 보일 수 있다. 당뇨병환자들은 치주치료후 일정기간 경과후에 치주조직의 건강상태가 정상인과 별다른 차이를 보이지 않는다는 보고가 있는 반면[18,19] Cohen 등[20]은 3년에 걸친 치주조직의 상태를 연구한 결과 당뇨병 환자에서 치태나 기타 치면침착물이 적었음에도 불구하고 치은염증과 부착상실이 더 심하다고 보고하였다.

정확한 과학적 근거는 없으나 당뇨병환자에서 치주질환에 대한 치료가 인슐린 요구량을 감소시키고 대사조절을 개선한다는 사실은 일반적으로 받아들여진다[21,22].

Grossi 등[21]은 인슐린 비의존성 당뇨병 환자들을 네 집단으로 나누고 치석제거, 치근활택술 및 치주낭세척 등을 시행하였다. 이중 세 집단에서 2주 동안 전신적으로 독시사이클린을 투여한 후에 1년 동안 당 대사에 대하여 조사하였다. 그 결과 독시사이클린을 투여한 군에서 3개월째 HbAlc(glycosylated α - hemoglobin)의 감소를 보였다.

Collin 등[22]의 조사에서 심한 치주질환을 가진 당뇨병 환자에서 2, 3년 전과 비교한 HbAlc 농도는 평균 8.7%에서 9.2%로 증가하였고 경미한 치주염이 있거나 건강한 치주조직을 가진 당뇨병 환자에서는 8.8 %에서 7.9%로 감소하였으며 이러한 농도변화의 차이는 통계적인 유의성이 있다고 하였다.

이러한 결과는 치주질환에 대한 치료가 혈당대사를 개선시킬 수 있음을 보여주며 이것은 감염이 인슐린 저항을 증가시키기 때문인 것으로 생각된다[14,21,23]

당뇨병에서 치주조직의 파괴가 증가하는 것은 조직이나 치은열구액의 조직파괴효소와 염증매개 물질의 농도와도 관련이 있다[24 - 27].

당뇨병시 치은조직과 치은열구액에서 교원질 분해효소의 활성도가 증가하여 조직의 파괴가 증가하며[24] PGE_2와 IL - 1ß 등과 같은 염증매개물질이 증가하는데, 특히 PGE_2는 결합조직의 파괴와 골 흡수에 중요한 요소로 작용한다고 알려져 있다[25].

당뇨병 환자에게서 창상치유가 지연되는 것에 대한 정확한 기전은 밝혀져 있지 않으나 섬유아세포에 의한 교원질 합성의 감소와 교원질 분해효소 생성의 증가가 창상치유의 기전에 중요한 역할을 하는 것 같다. 창상인접부위에 존재하는 교원질의 포도당화(glycosylation)에 의해 창상부위의 용해도가 감소하고 재형성(remodelling)의 장애를 초래하며 증가된 교원질 분해효소는 교차결합(cross - linking)정도가 낮은 새로이 합성된 교원질을 분해 합으로써 창상치유를 지연시킨다[26,27].

이처럼 당뇨병환자들은 감염의 가능성이 증가하고 창상의 치유가 지연되기 때문에 혈당조절이 되지 않는 경우 일반적으로 치주수술의 금기증으로 되어있다. 따라서 당뇨병환자에 대한 치주조직 재생수술에 대한 조직학적인 관찰은 매우 드물다. 그러나 최근에 당뇨병 환자가 급격하게 증가하고 있고 그들에 대한 치주수술이나 임프란트수술을 할 필요가 점점 증가하게 되었고 혈당조절만 잘 이루어지면 치주수술이나 임프란트수술이 성공적으로 이루어지고 있다. 그러나 성공적인 수술이 이루어졌다 할지라도 치유과정중에 혈당조절이 실패할 가능성도 배제할 수 없다. 따라서 흡수성 차폐막을 이용한 골 형성에 당뇨병이 미치는 조직학적인 변화를 관찰하고자 이 연구를 시행하였다.

골유도재생술이란 국소적으로 골이 결손된 부위에 골 형성을 유도하는 술식으로써 1950년대 초부터 시도되다가 임상적인 실효를 거두기 시작한 것은 1980년대에 Nyman 등[28]이 비흡수성 차폐막을 이용한 조직유도재생술의 원리를 보고하면서 부터이다. 이 같은 골유도재생에 중요한 것은 골 결손부위와 차폐막 사이에

적절한 공간을 확보해 주는 것이다[29].

현재까지 비흡수성차폐막을 이용한 치주조직재생이나 골조직재생은 치주치료나 임프란트 시술시 많이 이용되어왔고 그 효과도 어느정도는 입증된 상태이다.

그러나 비흡수성 차폐막은 2차 수술을 해야하는 문제가 있어 최근에는 흡수성차폐막이 조직유도재생에 도입되었고 많은 연구가 진행 중에 있다.

흡수성 차폐막은 세포에 대한 독성이 거의 없는 편이고 조직내에서 분해되는 과정은 단순한 효소에 의한 분해과정만은 아니고 거대세포과 같은 세포매개에 의한 분해가 일어난다[30]. 그리고 비흡수성 차폐막에 비해 염증반응이나[31] 면역반응을 일으킬 수 있는 등[32,33] 여러 가지 문제점을 가지고 있으나 2차 수술을 하지않아 조직의 외상을 줄일 수 있고 항생제나 기타 골재생을 촉진할 수 있는 여러 가지 성분들을 함유하여 적정농도로 서서히 유리하게 할 수 있는 장점도 있어 앞으로 계속 사용이 증가할 것으로 보인다.

이 연구에서 스트렙토조토신(streptozotocin) 유도 당뇨백서에서 당뇨병이 흡수성 차폐막을 이용한 골조직재생에 어떠한 영향을 미치는지 조직학적으로 관찰하고 당뇨백서군과 대조군에서 새로이 형성된 골조직량의 차이를 밝히고자 한다.

II 연구재료 및 방법

1. 연구재료

체중 250 - 300 gm의 백서 50 마리를 무작위로 추출하여 네 군으로 나누었다. 정상백서에 골결손을 형성한 군을 제1군으로 하였고, 정상백서에 골결손부를 형성하고 차폐막을 이식한 군을 제2군, 당뇨병 백서에 골결손을 형성한 군을 제3군, 당뇨병백서에 골결손부를 형성하고 차폐막을 이식한 군을 제4군으로 하였다. 전체 50마리중 30마리에 인위적으로 당뇨병을 유발하기 위하여 스트렙토조토신을 투여하였다. 3일후 혈당치가 200ml/dl 이하인 3마리와 수술도중 또는 실험기간중에 죽은 8마리를 실험에서 제외하였고 나머지 39마리를 제1군에 8마리, 제2군에 7마리, 제3군에 11마리, 제4군에 12마리로 분류하였다.

2. 당뇨병 유발

백서 50마리 중 전체 30마리에 당뇨병을 유발하기 위해서 스트렙토조토신(100mg/kg of body weight)을 복강주사 하였다. 나머지 총 20마리에는 생리식염수를 복강내 주사하여 정상백서로 분류하였다.

3일후 전체 50마리의 백서를 Accutrend Glucose (Boehringer Manheim GmbH.Germany)를 이용하여 혈당측정 후 혈당 300ml/dl 이상을 당뇨병으로 정의하고 200ml/dl 이하를 정상으로 구분하였다.

3. 동물수술

각 군의 백서는 케타라와 럼푼을 1:1로 혼합하여 복강주사하여 전신마취한 후 두부의 털을 깍고 백서의 머리를 두부고정기로 고정하였다. 10% 포타딘으로 수술부위를 소독한 후 2% 리도케인으로 침윤마취 하였다. 두부의 전두골 전방부에서 후두골 후방부까지 정중부를 따라 절개하고 두개골을 노출시켜 두개골 중앙부위에 뇌막에 손상을 주지않고 Trephine bur(31 Implant Innovations Inc, USA)를 이용하여 직경 7mm의 원형 골결손부를 형성하였다. 제1군은 대조실험군으로써 정상백서에 차폐막을 덮지 않았으며, 제2군은 정상백서에 차폐막을 덮었고, 제3군은 당뇨백서에 차페막을 덮지 않았고, 제4군은 당뇨백서에 차폐막을 덮었다. 그 후 내면의 골막을 흡수성 봉합사인 장선(cat-gut)으로 봉합하였고, 피부는 3-0 봉합사(black silk)로 봉합하였다. 이때 사용한 차폐막은 흡수성 차폐막인 Biomesh(Samyang corp. Seoul. Korea)를 사용하였다. Biomesh는 폴리글라이콜릭산으로 제작된 망사에 글라이콜라이드와 락타이드의 공중합체로 제작한 부직포를 접합시키는 방법으로 제작된 것인데, 이 부직포는 폴리락트산과 PLA-PGA의 혼합물에 sodium citrate를 첨가시켜 제작한 후 다시 sodium citrate를 녹여내서 미세공이 형성되도록 한 것이다. 바깥쪽 층에는 큰 미세공이 형성되어 있고, 조직면을 향하는 안쪽층에는 작은 미세공이 형성되어 있다. 이는 조직의 융합과 차단효과를 동시에 만족시킬 수 있도록 고안된 것이다.

4. 조직학적 검사

수술당일부터 2주후, 4주후에 혈당을 측정한 후 실험동물을 에테르로 마취하여 희생시킨 후 광학현미경 검사와 영상처리시스템(image processing system)을 이용한 조직계측학적 분석을 시행하였다.

전체 시편을 10% 포르말린에 고정한 후 질산에 넣어 탈회과정을 거치고 흐르는 물에 1일간 수세하였다. 그후 조직내부에 함유된 수분을 제거하기 위해 수분과 친화력이 있는 알콜을 이용하여 단계적으로 수분을 제거하는 탈수과정을 시행하였다. 탈수과정을 통해 조직내부로 침투된 알콜을 유기용매인 clearing agent로 대체시키는 투명화 과정을 거쳤는데 이때 사용한 clearing agent로 자일렌을 사용하였다. 이 과정은 조직이 경화되어 파라핀의 침투가 용이하게 될 뿐 아니라, 현미경 관찰시 명확한 상을 얻기 위하여 시행하였다. 파라핀 포매를 하여 7-10 ㎛ 두께의 조직편을 제작한 후 슬라이드 글라스 위에 부착시키는 신전(flattening)과정을 거친후 35℃ 항온기에서 24시간 이상 건조시켰다. 그후 단계적으로 탈파라핀 과정과 수세를 마친 후 Masson-trichrome 염색과 Hematoxylin-Eosin 염색을 하여 광학현미경(Olympus BH-2, Olympus Ltd., Japan)하에서 조직소견을 관찰하였다.

그리고 광학현미경에서 40배 배율로 확대된 조직표본상을 비디오 카메라를 통해 컴퓨터 모니터상에 재현한 후 Global Lab Image Analysis System(Data Translation Inc, Malboro, MA, USA)을 이용하여 신생골의 면적을 계측하였다.

5. 통계분석

각 군별 신생골의 양을 영상처리 시스템을 이용하여 면적으로 계산한 후에, Analysis of variance를 통해 분석하였다. 사후 검증은 Tukey의 방법을 이용하였다. 통계학적 유의성은 $P<0.05$, $P<0.1$ 수준으로 검사하였다.

III. 연구성적

수술당일 스트렙도조토신을 투여한 백서 30

마리들 중 3마리는 200ml/dl 이하의 정상혈당치를 보여 실험에서 제외하였다. 나머지 백서들은 혈당 350ml/dl 이상이었다. 두개골 수술후 2주에서 4주까지 치유기간중에 당뇨백서들은 당뇨병의 전형적인 임상적인 증상들, 다식증, 다뇨증, 다갈증 상태를 보여주었다. 2주째에는 외형적인 형태에 당뇨병 백서와 정상 백서간에 큰 차이를 보여주지 않았으나, 4주째에는 당뇨백서들은 체중이 정상백서에 비해 반이상 감소하였고 정상백서들은 건강해 보였다.

1. 광학현미경 소견

1) 제1군

2주소견은 경막(dura mater)상방부위와 골결손부위에 소량의 신생골의 형성이 관찰되었다. 대부분의 결손부위는 섬유성 결체조직으로 채워져 있었고, 혈관의 생성과 염증세포의 침윤을 관찰할 수 있었다(Figure 1 - 1, 1 - 2 and 9).

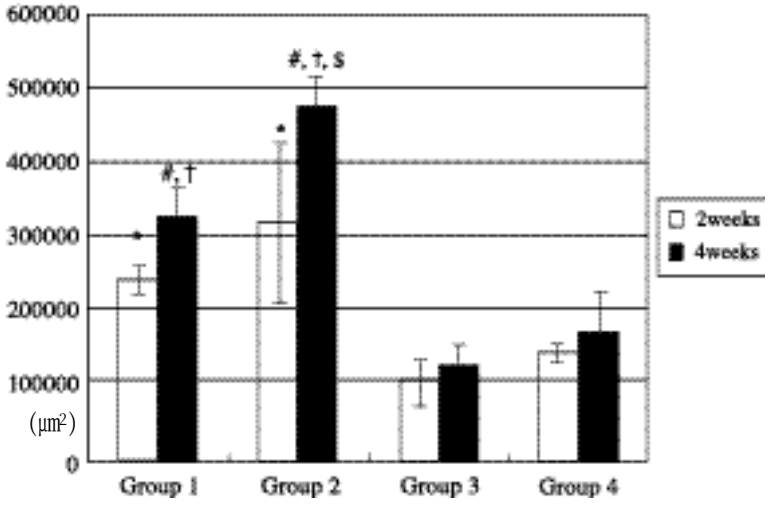
4주 소견은 2주소견에 비해 상당량의 신생골이 관찰되었고 골의 성숙도도 진행된 모습을 보여 주었다(Figure 5 - 1, 5 - 2 and 13).

2) 제2군

2주 소견은 차폐막의 상태가 잘 유지되고 있었고 경막 상방부위와 차폐막의 하방부위에 신생골의 형성이 약간 증가하였다. 차폐막주위로 염증세포의 침윤이 보였고 약간의 이물반응을 보였고, 혈관의 형성이 관찰되었으며 대부분의

Table 1. Histomorphometric analysis of bone regeneration area at each group(㎛²)

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
2wks	240,907±24,652*	318,268±109,166*	101,580±30,916	145,250±16,168
4wks	325,103±52,298#*	474,583±30,842#†	125,388±27,041	170,958±55,969



Group 1: normal rat without membrane Group 2 : normal rat with membrane
Group 3: diabetic rat without membrane Group 4: diabetic rat with membrane
*There was significant differences between group 1, 2 and group 3, 4 at 2 weeks($p<0.05$).
#There was significant differences between group 1, 2 and group 3, 4 at 4 weeks($p<0.05$).
†There was significant differences between 2 weeks and 4 weeks in group 1 and 2($P<0.05$).
$There was a significant difference between group 1 and group 2 at 4 weeks($p<0.1$)

골결손부위는 결체조직으로 채워져 있었다(Figure 2 - 1, 2 - 2 and 10).

4주 소견은 차폐막이 부분적으로 흡수된 양상을 보였으며 흡수된 부위로 조직들이 자라들어가는 상태를 볼 수 있었다. 골결손 인접부위에서 신생골이 연결되면서 결손부의 중앙을 향해 자라는 양상을 보였으며 골막이 거상되었던 부위와 뇌막상부에서도 신생골의 형성되는 것을 보여주었다. 제1군보다는 신생골의 형성이 많이 관찰되었다. 차폐막 주위로 염증세포의 침윤을 보였고 2주소견보다는 덜한 이물반응을 보여 주었다(Figure 6 - 1, 6 - 2 and 14).

3) 제3군

2주소견은 정생백서들보다 신생골 형성이 아주 적게 관찰 되었으며 염증세포의 침윤이 보이고 골결손 부위에는 대부분 결체조직으로 채워져 있었다(Figure 3 - 1, 3 - 2 and 11).

4주소견은 제1,2 군보다 골의 성숙된 정도도 감소하였고 2주소견에 비해 골형성의 증가량이 미미 하였다(Figure 7 - 1, 7 - 2 and 15).

4) 제4군

2주소견은 차폐막이 잘 유지되고 있었고, 골결손 부위에서 제1,2군에 비해서는 골형성이 많이 감소했으나 제3군보다 차폐막하방에서 신생골의 더 많이 형성되는 모습을 보였고 경막상부에서 신생골의 형성은 아주 소량이 관찰되었다, 차폐막주위로 염증세포의 침윤과 혈관의 형성이 보였다(Figure 4 - 1,4 - 2 and 12).

4주소견은 차폐막이 부분적으로 흡수되는 양상을 보였고 2주 소견에 비해 신생골의 양의 증가된 정도가 미미하였고, 제3군에 비해서는 비교적 골생성양이 증가하였다. 차폐막주위로 염증의 침윤을 보였으며 약간의 이물반응을 보였다(Figure 8 - 1, 8 - 2 and 16).

2. 조직계측학적 분석

각 실험군당 신생골의 생성양은 2주에서 정상백서에 차폐막을 이식한 군이 평균 318,268(±109,166)㎛²로 가장 많았고, 그 다음으로 정상백서에 차폐막을 사용하지 않은 군 240,907(±24,652)㎛², 당뇨백서에 차폐막 이식군 145,250(±16,168)㎛², 당뇨백서에 차폐막을 사용하지 않은 군 101,580(±30,916)㎛² 순으로 감소하였다(Table 1).

4주에서도 2주와 같은 유형의 골형성양을 보였고 2주 보다는 전반적으로 골형성이 증가하였다. 그러나 당뇨군에서는 4주후에도 골형성의 증가가 많지 않았다. 정상백서에서 차폐막을 이식한 군이 474,583(±30,842)㎛²로 가장 많았고, 그 다음으로 정상백서에 차폐막을 사용하지 않은 군 325,103(±52,298)㎛², 당뇨백서에 차폐막을 이식한 군 170,958(±55,969)㎛², 당뇨백서에 차폐막을 사용하지 않은 군 125,388(±27,041)㎛²순으로 감소하였다(Table 1).

IV. 총괄 및 고찰

이 연구에서는 정상백서에 비해 당뇨백서에서 ,신생골의 형성과 성숙도가 크게 감소하였다. 그리고 2주에서 4주로 치유기간이 증가해도 골의 증가량이 미미하였다. 이러한 결과는 당뇨병이 골형성과 치유과정에 영향을 미침을 보여준다.

당뇨병이 골형성의 장애를 일으키는 원인들 중 하나는 혈중 칼슘농도 부족 이다[34]. 이것은 당뇨병 환자에서 배설되는 뇨중에 칼슘과 인의 농도가 증가하기 때문이다. 그리고, 당뇨병에서 골과 연골의 주성분인 프로테오글리칸의 수와 응집도가 감소하여 골형성의 감소가 일어날 수도 있다[35].

당뇨병은 호르몬에도 영향을 미쳐 골형성과 창상치유에 관여하는 것으로 알려져 있다[36,37]. 고혈당에서는 부갑상선 호르몬의 분비가 증가하여 파골세포의 활동성이 증가한다. 그 결과

골흡수의 증가와 골형성의 장애를 유발한다[36]. 그리고 인슐린의 농도가 낮으면 성장호르몬의 효과가 감소하여 골형성과 창상의 치유가 지연되는 것으로 알려져 있다[37].

Rosenbloom 등[38]은 6세에서 26세의 제1형 당뇨병환자에서 광자흡수(photon absorption) 측정법을 이용해 골의 농도를 비교한 결과 정상인에 비해 훨씬 더 많은 골 농도의 감소를 보인다고 하였다. 여기서 골농도의 감소는 인슐린 부족에 의한 것이고 인슐린은 골 교원질합성에 관여한다. 인슐린은 칼슘수송에 관여하여 골 교원질 합성효과를 나타내며 이같은 인슐린의 부족은 세포결함이 아닌 대사이상에 의해 골농도의 감소를 유발시킨다.

Goodman 등[39]은 당뇨백서에서 10일간에 걸쳐 골형성, 석화화 및 골 흡수에 관한 측정을 한 결과 당뇨병 진행의 초기에 신생골과 골기질의 합성이 감소함을 보고하였고, 이러한 골형성의 감소는 인슐린 치료에 의해 정상화 될 수 있다고 하였다. 그러나 골 성장이 활발히 진행되고 있는 부위에서는 골의 성숙이나 석회화가 억제되지 않는다 하였다.

그리고 당뇨병은 골 형성을 감소시켜 성장기 중에 골 양의 감소를 야기하고 비정상적인 당대사와 낮은 골대사율로 인해 어린 시기에 골손실을 증가시킨다. 이러한 이유로 제1형 당뇨병을 앓고있는 어린환자들은 제2형 당뇨병을 앓고있는 성인환자들이나 정상인들보다 더 많은 골 손실이 일어난다[40].

이 연구에서는 백서에 스트렙토조토신을 투여하여 당뇨병을 일으켰고 여기에 흡수성 차폐막을 이용하여 골유도재생을 시도하였다. 스트렙토조토신은 Streptomyces achromogenes에 의해 생성되는 알킬화제(alkylating agent)로서 췌장의 β - 세포를 선택적으로 파괴함으로써 인슐린 형성에 장애를 가져온다. 이러한 스트렙토조토신은 실험동물에서 당뇨병을 유발하거나, 인슐린을 분비하는 종양의 치료에 사용되기도 한다[41].

Seifter 등[42]은 스트렙토조토신으로 당뇨병을 일으킨 백서에서 창상 치유 능력이 지연됨을 보고하였는데 그 원인으로 창상 치유 교원질의 양적인 감소와 교차결합의 결함에 두고 있다, 여기에 비타민 A를 투여했을 때 창상의 치유가 개선되었는데 이것은 비타민A가 당뇨백서의 교원직의 결함과 당의 대사를 개선시키기 때문이 아니라 창상치유의 초기과정인 염증반응을 가속화시켜 새로운 혈관의 생성과 섬유세포의 증식을 유도하고 교원질의 형성과 성숙을 촉진하기 때문인 것으로 보았다. 글루코코티코이드가 피부창상의 치유를 억제한다는 것은 잘 알려진 사실이다. 이러한 결과는 이런 호르몬이 창상치유의 초기염증과정에서 항염증작용을 가지고 있기 때문이다. 이때 비타민 A가 창상치유를 지연시키는 글루코코티코이드의 작용을 억제하게 된다[43]. Goodson과 Hunt[44]는 당뇨백서에서 창상을 가한직후 10일간 인슐린 치료를 하였고, 그후 10일간은 인슐린 치료를 하지 않았을 때 창상의 치유가 증진되는 양상을 보여주었다. 반면에 창상을 가한후 10일간은 인슐린 치료를 하지 않았고 그후 10일간을 인슐린 치료를 한 결과 창상의 치유능력이 개선되지 않음을 보였다. 이것은 당뇨백서에서 창상을 가했을 때 초기염증반응이 억제되어 창상치유가 지연되다가 인슐린 치료를 함으로써 정상적인 초기 염증반응을 증진시켜 창상의 치유를 개선한다는 것을 보여준다. 따라서 당뇨백서에서 창상의 치유가 억제되는 원인은 초기염증반응의 장애로 인해 염증세포들이 창상부위로의 이동이 지연되기 때문이다.

한편 Fahey 등의 연구에 의하면 정상백서와 당뇨백서에서 창상을 가한지 1일, 3일째는 다형핵 백혈구의 세포침윤과 IL - 6 농도의 차이가 없었으나 7일째 정상백서에 비해 당뇨백서에서 감소하였다. 이것은 당뇨병에서 염증반응이 감소되어 창상의 치유가 지연되는 것을 보여준다[45].

그리고, 스트렙토조토신 유도 당뇨백서에서

수산 화인회석 임프란트를 매식 후 골 접촉상태를 비교한 결과 당뇨백서에서 임프란트와의 골 접촉율이 30% 감소했으며 주위에 형성된 골조직의 면적과 두께도 50% 정도가 감소하였다는 보고도 있다[46]. 이처럼 당뇨병은 창상의 치유를 느리게 하고 골형성을 억제하며 골농도를 감소시켜 치주치료나, 임플란트 시술시 골결손부위를 회복시키고, 치주조직의 재생을 유도하는데 장애로 작용한다 할 수 있다.

이 연구에서 스트렙토조토신 유도 당뇨백서에서 골조직재생을 유도하기 위하여 흡수성 차폐막을 사용하였다. 그 결과 당뇨백서와 정상백서 모두에서 차폐막 주위로 미세한 염증반응을 보였고 약간의 이물반응을 나타내는 소견을 보였으나 당뇨백서군에서도 정상백서군에서와 같이 차폐막의 골재생유도 효과가 있었다. 특히 당뇨백서에서는 혈당 300ml/dl 이상의 상태에도 불구하고 차폐막이 비교적 잘 유지되고 있었고 골재생유도 효과도 정상백서군에 비해서는 많이 감소했으나 차폐막을 덮지않은 당뇨백서군에 비해서 미미하지만 증가된 양상을 보였다.

지금까지는 치주조직이나 골조직의 재생을 유도하기 위해 주로 비흡수성 차폐막을 사용하였으나 2차 수술의 부담을 줄일 수 있고 국소약물송달의 수단으로도 이용이 가능하기 때문에 최근에 흡수성 차폐막에 대한 사용과 관심이 증가하는 추세에 있다.

흡수성 차폐막과 비흡수성 차폐막을 비교연구한 결과 조직유도 재생에 차이가 없다는 보고가 있는 반면[47-49], 폴리락트산을 이용한 흡수성차폐막이 비흡수성인 밀리포어보다 조직재생이 더 우수하다는 연구도 있다[50].

그러나 아직은 비흡수성 차폐막이 조직과의 이물반응을 덜 일으켜 비교적 우수한 조직재생능력을 보이는 것으로 알려져 있다[51,52].

흡수성 차폐막은 흡수되면서 국소적인 염증반응을 보일 수 있고, 조직의 재생되는 시기와 차폐막이 흡수되는 시기가 적절해야 이와같은 염증반응을 최소화 할 수 있고 바람직한 조직의 재생을 유도할 수 있다[53]. 또한 매식된 차폐막에 대한 교차면역반응을 보일 수 있어[32,33] 여전히 비흡수성 차폐막에 비하여 문제점으로 보이나 2차 수술을 하지 않아 조직의 외상을 줄일 수 있고 항생제나 기타 골재생을 촉진할 수 있는 여러 가지 성분들을 함유시켜 국소약물송달수단으로도 사용이 가능한 장점이 있다. 김 등[54]은 흡수성 차폐막에 여러 가지 약물을 함유시켜 실험한 결과 대조군에 비하여 좋은 결과를 보고 하였고 특히, 혈소판 유래성장인자 - BB가 함유된 차폐막은 골결손부에서 조직차단의 역할 뿐만 아니라 초기회복기간동안 혈소판 유래성장인자 - BB의 활성을 유지하면서 유효농도로 방출되어 골조직 유도 재생효과를 증진시켰다고 보고하였다. 따라서 앞으로 이러한 방향으로 흡수성차폐막에 대한 연구가 증가할 것으로 보인다.

일반적으로 당뇨병환자에서 혈당조적이 잘 되고 있는 경우 수술의 적응증으로 보나 혈당조절이 잘 이루어지지 않는 경우는 수술을 가능한 금하고 있다. 따라서 고혈당인 상태에서 치주조직 재생수술이나 임프란트 수술후의 조직관찰에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 그러나 혈당조절이 이루어진 후에 수술을 했다 하더라도 수술후 치유과정에 혈당조절이 실패할 가능성도 있어 이 경우 조직의 반응을 알아보고자 이 연구를 시행하였다.

결론적으로 당뇨병은 골재생을 억제하고 치유를 지연시키지만, 당뇨백서 두개골 결손부에 흡수성 차폐막을 사용한 골조직의 재생은 차폐막을 사용하지 않은 경우보다 미미하나마 증가된 결과를 보였고, 조직의 치유에 흡수성 차폐막이 해로운 영향을 미치는 증거는 없었다. 향후, 임상적으로는 조절이 되어지는 당뇨병환자를 대상으로하여 비흡수성차폐막을 이용한 조직재생유도에 대한 연구가 더 필요하고, 나아가서 흡수성 차폐막에 테트라싸이클린 같은 항생물질등을 함유시켜 당뇨병 환자의 조직재생유

도에 적용하는 연구와 개발이 필요하리라 여겨진다.

V. 결론

당뇨병에서 흡수성차폐막의 골재생능력을 평가하기 위하여 스트렙토조토신 유도 당뇨백서를 이용하여 실험을 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 차폐막의 사용여부에 상관없이 정상백서군에 비해 당뇨백서군에서 신생골형성양이 유의성있게 적었다($p<0.05$).
2. 정상백서군에서는 4주에서 차폐막을 사용한 경우가 차폐막을 사용하지 않은 경우보다 유의성있게 신생골이 증가하였다($p<0.1$)
3. 당뇨백서군에서는 차폐막을 사용한 경우가 차폐막을 사용하지 않는 경우보다 신생골의 형성이 더 많았지만, 유의성이 있지는 않았다.
4. 4 주후 신생골의 형성은 2 주후 신생골의 형성에 비해 정상백서군에서는 두 그룹 모두 유의성있게 증가하였으나($p<0.05$), 당뇨백서군에서는 두 그룹 모두 유의성 있는 증가가 없었다.

VI. 참고문헌

1. Khan, C, R. : Insulin resistance. A common feature of diabetes mellitus. N. Eng. J. Med. 1986; 315:252.
2. Ervasti T, Knutilla M, Pohjamo L & Haukipuro K : Relation between control of diabets and gingival bleeding. J Periodontol. 1985;56;154 - 157.
3. Reiner, A. : Oral complications of diabetes. Dent Ann. 1997; 36:46.
4. Hun - ki Min : The clinical char - icterristics of Korean diabetic patients. Korean Diabetics 1992; 16: 163 - 173.
5. Chan - soo Shin et al. The preva - lence of diabetics in yeon - cheon area of gyeong gi do. Korean diabetics 1996; 20: 264 - 270.
6. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 1997; 20: 1183 - 1197.
7. Loe H. periodontal disease : The sixth complication of diabetes mellitus, Diabetes Care 1993: 16;329 - 334.
8. Galili D, Mordechi F, Garfunkel AA, Oral and dental complications associated with diabetes and their treatment. Compendium Continuing Educ Dent 1984; 15: 496 - 508.
9. De Pommereu, V., Dargent - Pare,c., Robert, J.J, and Brion,M : Periodontal status in insuln - depent diabetic adoles - cents. J. Clni. Periodonotol., 1992;19: 628 - 632.
10. Emrich,L,J., Schlossman,M., and Genco,R, J.: Periodontal disease in non - insulin - dependent diabetes mellitus.J. Periodontol., 1991;62:123 - 130
11. Rylander, H., Ranberg,P., Blohme,G., and Lindhe, J.: Prevalence of periodontal disease in young diabetics. J. Clin. Periodontol., 1987; 14: 38 - 43.
12. Thorstensson H, Hugosen A, Periodontal disease experience in adult long duration insulin - dependent diabet - ics. J Clin Periodontol 1993; 20: 352 - 358.
13. Shlossman M, Knowler WC, Pettitt

DJ, Genco RJ. Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. J Am Dent Assoc 1990; 120: 532 - 536.
14. Taylor GW, Burt BA, Becker MP, etal. Severe periodontitis and risk for poor glycemic control in patients with non insulin - dependent diabete mellitus. J Periodontol 1996:67(suppl.);1085 - 1093.
15. Barnett ML, Baker RL, Yancey JM, MacMillan DR, Kotoyan M. Absence of periodontitis in apopulation of insulin dependent diabetes mellitus patients. J Periodontol 1984;54:402 - 405.
16. Hove KA, Stallard RE. Diabetes and periodontal patients. J Periodontol. 1970;41: 713 - 718.
17. Nichols C, Laster LI, Bodak - Gyovai LZ. Diabetes mellitus and periodontal disease. J Periodontol 1978;49:85 - 88.
18. Westfelt E, Rylander H, Blohme G, Jonasson P , Lindhe J. The effect of periodontal therapy in diabetics. Result after 5 years J clin Periodontol 1996: 23;92 - 100
19. Tervonen T, Knuutti M, Pohjamo L, Nurkkala H. Immediate response to nonsurgical periodontal treatment to subject with diabetes mellitus. J Clin Periodontol 1991; 18: 65 - 68
20. Cohen DW, Friedman LA, Shapiro J, Kyle GC & Franklin S: Diabetes mellitus and periodontal disease: two - year lon - gitudinal observations, Part I. J Periodontol, 1970, 41;709 - 712
21. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ. Response to periodontal therapy in dia - betics and smokers J Periodontol 1996;67(suppl.): 1094 - 1102
22. Collin HL, Uusitupa M, Niskanen L. et al.: Periodontal finding in elderly patients with non - insulin dependent diabetes mellitus. J Periodontol 1998;69.962 - 966
23. Sammalkorpi K. Glucose tolerance in acute infections. J Intern Med 1989;225 :15 - 19
24. Sorsa, T., Ingman,T., & Suomalainen, K.: Cellular source and tetracyclin inhibition of gingival crevicu - lar fluid collagenase of patients with labile diabetes mellitus. J Clin Periodontol 1992; 19:146 - 149
25. Salvi GE, Yulda B, Collins JG, et al: Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal dis - ease in insulin dependent diabetes melli - tus patients. J Periodontol. 1997; 68: 127 - 135
26. Lien YH, Stern R , Fu JCC, Siegel RC. Inhibition of collagen fibril formation in vitro and subsequent crosslinking by glucose. Science 1984;225 :1489 - 1491
27. Schneir ML, Ramamurthy NS, Golub LM. Extensive degradation of recently synthesized collagen in gingiva of normal and streptozotocin induced diabetic rats. J Dent Res 1984;63: 23 - 27
28. Nymans S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. J Clin Periodontol, 1982;9;290 - 296
29. Dahlin C, Sennerby L, Leckholm U, Lindhe A, Nyman S. Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: An experimental

study in rabbits. Int J Oral Maxillofac Implants 1989;4;19 - 25 30.
30. Dong - Kyun Kim, Young Ku, Yong - Moo Lee and Chong - Pyoung Chung; Evaluation of biodegradability and tissue regenerative potential of Synthetic biodegradeble membranes. The Journal of Korean Academy of Periodontology.

1997; 27:151 - 163
31. Dahlin C, Lindhe J, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. Plast Reconstr Surg 1988; 81:672 - 676
32. Quteish D, Dolby AE. Immune response to implanted human collagen graft in rats J Periodont Res 1991; 26: 114 - 121
33. Jonsson R, Pitts A, Lue C, Gay S, Mestechy J. Immunoglobulin isotype distribution of locally produced autoantibodies to collagen type I in adult periodontitis. J Clin Periodontol 1991; 18: 703 - 707
34. Malone JI, Lowitt S, Duncan JA, Shah SC, Vargas A, Root AW. Hypercalciuria, hyperphosphaturia, and growth retardation in children with diabetes mellitus. Pediatrics 1986;78;298 - 304
35. Weiss RE, Gorn AH & Nimni ME. Abnormalities in the biosynthesis of cartilage and bone in proteoglycan in experimental diabetes. Diabetes 1981; 30;670 - 677
36. Nagasaki S, Murakami T , Uchikawa T , Ishikawa SE, Saito T Effect of glycemic control on calcium and phosphorus handling and parathyroid hormone level in patients with non insulin pendent diabetes mellitus. Endocrine J 1995;42;377 - 383
37. Milman AE, DeMoor P, Lukens FDW. Relation of purified pituitary growth hormone and insulin in regulation of nitrogen balance. Am J Physicol 1951;166; 354 - 363
38. Rosenbloom AL, Lezotte DC, Weber FT, et al. Diminition of bone mass in childhood diabetes. Diabetes 1977;26:1052 - 1055
39. Goodman, WG & Horri MT. Diminished bone formation in experimental diabetes. Diabetes 1984;33:825 - 831
40. Kraukauer JC, McKenna MC, Bunderer NF, Rao DS, Whitehouse FW, Parfitt AM : Bone loss and bone turnover in diabetes. Diabetes 1995; 44;775 - 782
41. Goodman and Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics, 7th ed. 1985; 1494 - 1495
42. Seifter E, Rettura G, Padawere J, Stratford F, Kambosos D, Levenson SM : Impaired wound healing in streptozotocin diabetes Ann Surg, 1981 ; 194:42 - 50
43. Ehrlich HP, Hunt TK: Effect of cortisone and vitamin A on wound healing. Ann Surg 1968; 167: 32
44. Goodson WH, III, Hunt TK; Wound healing and the diabetic patient. Surg Gynecol Obstet 1979; 146:600
45. Fahey TJ, Sadaty A, Jones WG, Barber A, Smoller B, Shires GT, Diabetes impaires the late inflammatory response to wound healing. J Surg Re 1991: 50; 308 - 313
46. Takeshita F, Iyma S, Ayukawa Y, Kido MA, Mauri K, & Suetsugu T: The effects of diabetes on the interface between hydroxyapatite implants and bone in rat tibia. J Periodontol, 1997; 68: 180 - 185.
47. Caffesse RG, Nasjleti CE, Morrison EC, & Sanchez R : Guided tissue regeneration: Comparison of bioabsorbable and nonbioabsorbable membranes. Histologic and histomet -

ric study in dogs. J Periodontol, 1994; 65:538 - 591
48. Roccuzzo M, Lungo M, Corrente G, & Gandolfo S: Comparative study of a biore - sorbable and a non resorbable membrane in the treatment of human buccal gingival recession. J Periodontol. 1996;67;7 - 14
49. Black BS, Gher ME, Sandifer JB, Fucini SE. & Richardson C: Comparative studty of col - lagen and expanded polytetrafluroethylene membranes in the treatment of human class II furcation defects J periodontol, 1994; 64: 598 - 604
50. Magnusson I, Batich C, & Collins BR : New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradeble membranes. J Periodontol, 1988; 59: 1 - 6
51. Kon S, Ruben MP, Bloom AA, Mardam - Bey W, Boffa J: Regeneration of 209 peri - odontal ligament using resorbable and non resorbable Membranes: Clinical, histological and histometric study in dogs. Int J Perio Restorative Den 1991, 11:59 - 71
52. Ito K, Nanba K, & Murai S : Effects of bioabsorbable and nonresorbable barrier membranes on bone augmentation in rat calvaria. J Periodontol. 1998;69; 1229 - 1237
53. Minabe M, A critical review of the biologic rationale for guided tissue regeneration. J Periodontol 1991; 62:171 - 179
54. Won - kyeong Kim, Sang - Mook Choi, Chong - Pyoung Chung, Seung - Jin Lee. Cellular activity and guided bone regenerative effect of drug loaded biodegradable mem - branes. Journal of dental college, Seoul national university 1996;20:72 - 89

사진부도(I)

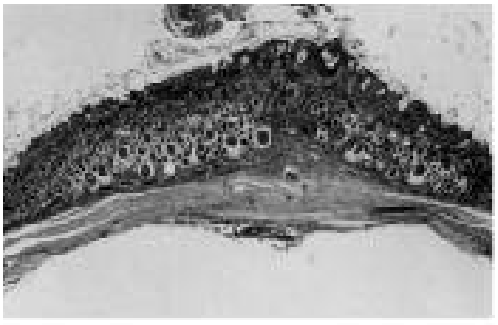


Figure 1 - 1

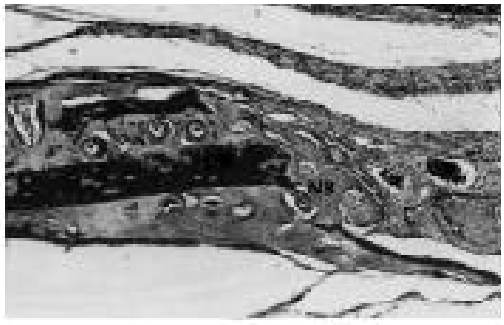


Figure 1 - 2

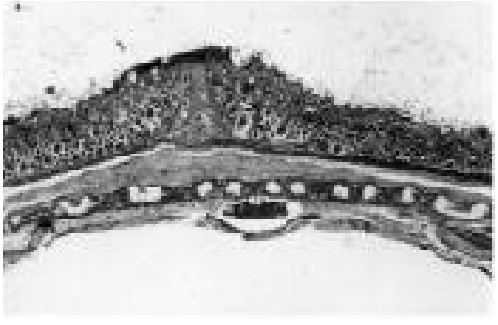


Figure 2 - 1

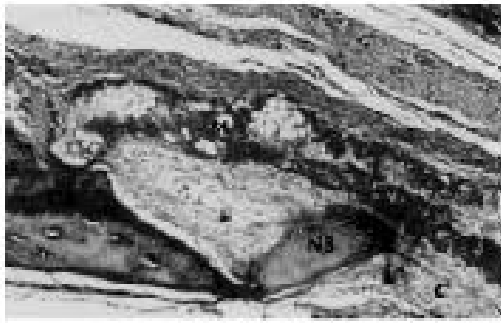


Figure 2 - 2

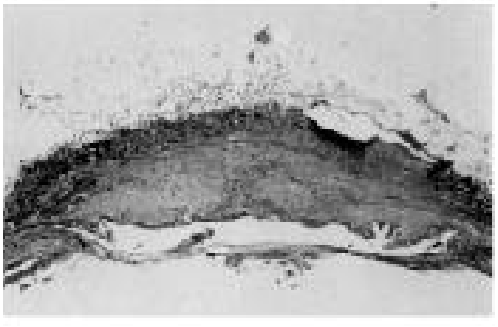


Figure 3 - 1

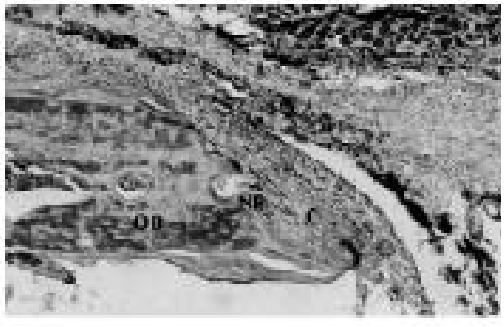


Figure 3 - 2

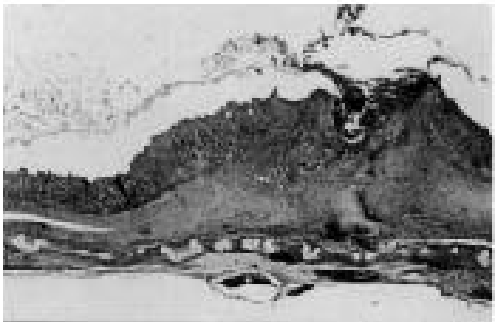


Figure 4 - 1

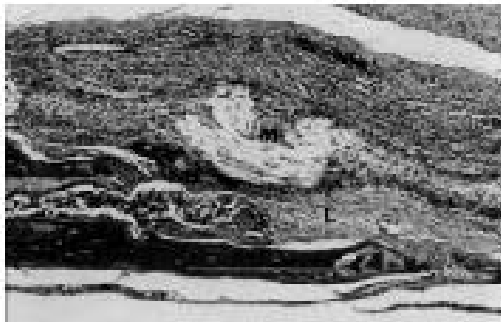


Figure 4 - 2

사진부도(II)

Figure 5 - 1

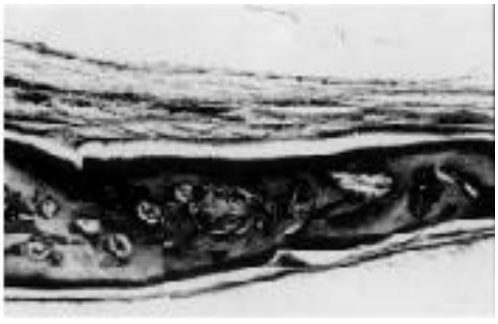


Figure 5 - 2

Figure 6 - 1

Figure 6 - 2

Figure 7 - 1

Figure 7 - 2

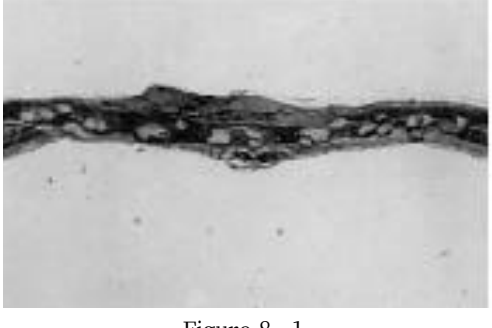


Figure 8 - 1

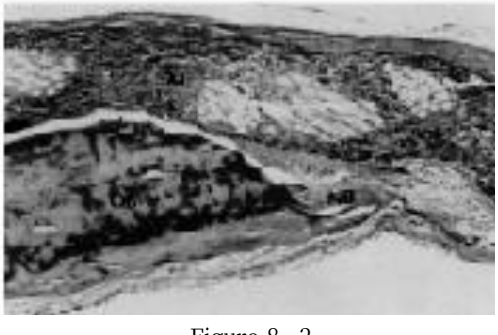


Figure 8 - 2

사진부도(III)

Figure 9

Figure 10

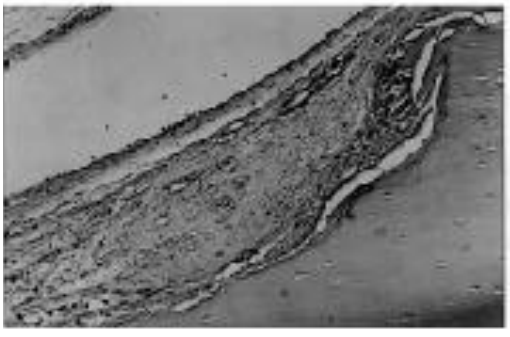


Figure 11

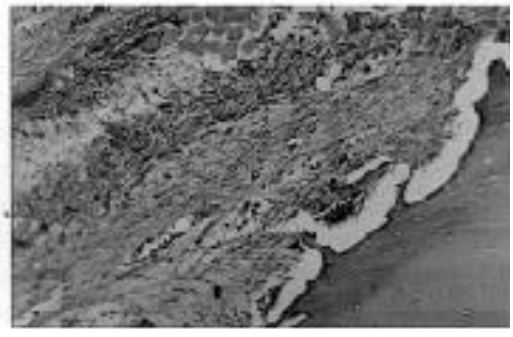


Figure 12

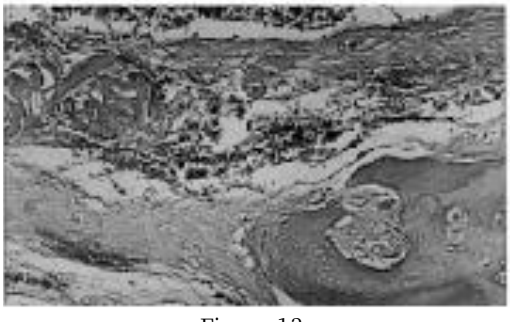


Figure 13

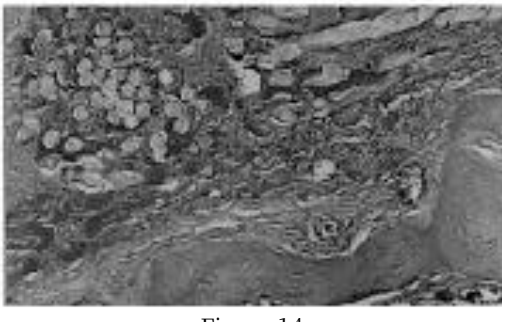


Figure 14

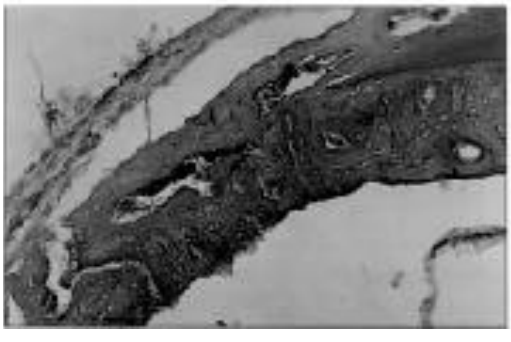


Figure 15

Figure 16

사진부도 설명

Figure 1 - 1. Light microscopic view of group 1 at 2 weeks(Masson - trichrome staining, x20).

Figure 1 - 2. Higher magnification of figure 1 - 1(Masson - trichrome staining, x 100)
New bone(NB) formation was observed at the bone defect margin and fibrous connective tissue(C) containing inflammatory cells and blood vessels(V) were prominent. OB; old bone

Figure 2 - 1. Light microscopic view of group 2 at 2 weeks (Masson - trichrome staining, x 20)

Figure 2 - 2. Higher magnification of figure 2 - 1(Masson - trichrome staining, x 100).
New bone(NB) formation was observed beneath the membrane(M) and fibrous connective tissue(C) containing inflammatory cells and blood vessels(V) were prominent.

Figure 3 - 1. Light microscopic view of group 3 at 2 weeks(Masson - trichrome staining x 20)

Figure 3 - 2. Higher magnification of figure 3 - 1(Masson - trichrome staining, x 100).
New bone(NB) formation was minimal at the bone defect margin and fibrous connective tissue(C) was observed.

Figure 4 - 1. Light microscopic view of group 4 at 2 weeks(Masson - trichrome staining, x 20).

Figure 4 - 2. Higher magnification of figure 4 - 1 (Masson - trichrome staining, x 100).
New bone(NB)formation was minimal at the bone defect margin and fibrous connective tissue(C) containing inflammatory cells and blood vessels(V) was observed.

Figure 5 - 1. Light microscopic view of group 1 at 4 weeks(Masson - trichrome staining, x 20).

Figure 5 - 2. Higher magnification of figure 5 - 1(Masson - trichrome staining, x 100)
New bone(NB) growth progressed from the defect margin toward the center of the defects.

Figure 6 - 1. Light microscopic view of group 2 at 4 weeks(Masson - trichrome staining, x 20).

Figure 6 - 2. Higher magnification of figure 6 - 1(left side, Masson - trichrome staining, x 100).
Remarkable new bone(NB) formation was observed beneath the membrane(M). The membrane was partially resorbed and connective tissue(C) was interposed in between membrane remnants.

Figure 7 - 1. Light microscopic view of group 3 at 4 weeks(Masson - trichrome staining, x 20).

Figure 7 - 2. Higher magnification of figure 7 - 1(Masson - trichrome staining, x 100).

New bone(NB) formation was moderate at the bone defect margin and fibrous connective tissue(C) containing inflammatory cells and blood vessels(V) were prominent.

Figure 8 - 1. Light microscopic view of group 4 at 4 weeks(Masson - trichrome staining, x 20).

Figure 8 - 2. Higher magnification of figure 8 - 1(Masson - trichrome staining, x 100)

New bone(NB) formation was minimal at the bone defect margin and fibrous connective tissue(C) containing inflammatory cells and blood vessels(V) were prominent. Partially resorbed membrane(M) was observed.

Figure 9. Light microscopic view of group 1 at 2 weeks(Hematoxylin - Eosin staining, x 200).

Figure 10. Light microscopic view of group 2 at 2 weeks(Hematoxylin - Eosin staining, x 200).

Figure 11. Light microscopic view of group 3 at 2 weeks(Hematoxylin - Eosin staining x 200)

Figure 12. Light microscopic view of group 4 at 2 weeks(Hematoxylin - Eosin staining, x 200).

Figure 13. Light microscopic view of group 1 at 4 weeks (Hematoxyline - Eosin staining, x 200).

Figure 14. Light microscopic view of group 2 at 4 weeks (Hematoxylin - Eosin staining, x 200).

Figure 15. Light microscopic view of group 3 at 4 weeks (Hematoxylin - Eosin staining, x 200).

Figure 16. Light microscopic view of group 4 at 4 weeks (Hematoxylin - Eosin staining, x 200).

- Abstract -

The Effect of Bioresorbable Membrane on the Bone Regeneration of Streptozotocin Induced Diabetic Rats

Byung - Kun Yang[1], Hak - Churl Lee[1], Ji - Young Lee[1], Kang - Bae Son[1], Yang - Jo Seol[1],
Sang - Cheol Lee[1], Seung - Beom Kye[2], Chong - Pyoung Chung[1], Soo - Boo Han[1]

[1]Department of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National University
[2]Department of Periodontics, The Institute of Oral Health Science, Samsung Medical Center,
School of Medicine, Sungkyunkwan University

The purpose of this study is to evaluate the effects of bioresorbable membranes in guided bone regeneration of streptozotocin induced diabetic rats. 50 Sprague - Dawley rats were randomly categorized into 4 groups: Group 1 & 2 had 10 normal rats each and group 3 & 4 included 15 strepto - zotocin induced diabetic rats each. Defect measuring 7mm in diameter was formed on every rat calvarium. No membrane was used in groups 1 & 3 and membranes were used in groups 2 & 4. The rates were sac - rificed at 2 and 4 weeks after defect for - mation. Routine histological specimens were prepared. Masson - trichrome and HE stain were done before light microscopy. Guided regenerative potential was evaluated by measuring the amount of new bone forma - tion in the calvarial defect by histomor - phometry. Following results were obtained.

1. New bone formation in the diabetic groups was significantly less that than in the normal groups regardless of membrane use($p < 0.05$).
2. In the comparison of new bone for - mation in the normal groups, membrane group showed significantly more bone formation($p < 0.1$).
3. When the amount of new bone for - mation was compared in the diabetic groups, more bone was formed in the membrane groups but the difference was not statistically significant.
4. In the normal groups the amount of new bone formation was significantly greater at 4 weeks compared to that at 2 weeks($p < 0.05$) but amount of bone regeneration at 4 weeks was not sig - nificantly greater than that at 2 weeks in both diabetic groups.

Key words : diabetes mellitus ; biore - sorbable membrane ; bone regeneration; new bone formation.