

백서에서 수종의 골대체재료 매식후 치유과정에 관한 실험적 연구

김영균 · 김수관* · 이준길* · 이미향* · 조재오**

대진의료재단 분당제생치과병원 구강악안면외과

조선대학교 치과대학 구강악안면외과학교실*, 구강생물학연구소*, 경희대학교 치과대학 구강병리학교실**

Abstract

AN EXPERIMENTAL STUDY ON THE HEALING PROCESS AFTER THE IMPLANTATION OF VARIOUS BONE SUBSTITUTES IN THE RATS

Young-Kyun Kim, Su-Gwan Kim*, Jun-Gil Lee*, Mi-Hyang Lee*, Jae-O Cho**

Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, JaeSeng Dental Hospital, Daejin Medical Center,

Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Oral Biology Research Institute, College of Dentistry, Chosun University,*

*Dept. of Oral Pathology, College of Dentistry, Kyung-Hee University***

The purpose of this study is to evaluate the tissue response in applying of various bone substitutes included toothash-plaster mixture, resorbable hydroxylapatite (HA) and demineralized freeze-dried bone and to show the clinical usefulness of toothash-plaster mixture for the repair of craniomaxillofacial bone defect.

For this experiment, 100 Sprague-Dawley rats weighing 200gm or more were used. There were four experimental groups: group I, toothash-plaster mixture; group II, demineralized freeze-dried bone; group III, resorbable HA; and group IV, control group.

A full thickness, round bone defect measuring 10mm in diameter was created in the midcranium, and the substitutes cited above were embedded in the experimental rats based on their group assignment. Blood clot was filled in the rats assigned to the control group.

Experimental rats were sacrificed on the 1st, 3rd, 5th, 8th, 12th and 24th week after implantation and stained with the hematoxylin-eosin, Masson's Trichrome, using Van Gieson's stain method, and were examined under light microscope.

The results were as follows:

1. In all the groups, prominent inflammatory reaction and the infiltration of multinucleated giant cells were noted during the early stage. Gradual healing decreased this reaction.
2. Among the rats in the experimental group II, which were given demineralized freeze-dried bone implants, active formation of new bone trabeculae manifested. Chondroid tissues appeared, and it was suggested that the defect was filled with newly formed bone by virtue of osteoinductive activity. On the 12th week after the experiments, most of the defect was filled with newly formed bone trabeculae.
3. In experimental groups I and III, it was noted that HA manifested a healing process similar to that characterized by the toothash-plaster mixture, but inflammatory reaction was more prominent in experimental group I. Active osteoblasts were observed along the periphery of osteoid tissues, while newly formed bone trabeculae appeared adjacent to the implanted materials three weeks later. Formation increased to the extent that newly formed bone trabeculae fused directly with the host bone. Increase in new bone ingrowth into the filling materials was revealed by both experimental groups.
4. In the control group, new bone formation adjacent to the host bone was observed, but most of the defect was filled with mature connective tissue 24 weeks after the experiments.

Key words : Toothash-plaster mixture, Bone defect, Sprague-Dawley rat

I. 서 론

김 수 관

501-825, 광주광역시 동구 서석동 421

조선대학교 치과대학병원 구강악안면외과

Su-Gwan Kim

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Chosun University,

421, Seosuk-Dong, Dong-Gu, Kwangju, 501-825, Korea

Tel: 82-62-220-3815 Fax: 82-62-224-9172

구강악안면 영역에서의 외상이나 종양, 감염 등으로 인한 커다란 골 결손의 상태는 자연적으로 치유되는데 많은 제한이 있으며, 이러한 골 결손부의 안정이나 치유를 증진시키기 위하여 골 이식술이 종종 필요하다. 골 이식술에 사용되는 재료로는 자가골, 동종골, 이종골 등이 있으며, 최근에는 다양한 인공 골 대체 물질이 연구, 개발되어 사용되고 있다¹⁻³⁾. 골 이식재료들은 이상

적으로 골형성 유도, 숙주와의 생체 적합성, 채취 및 조작의 용이성, 비용의 절감 등의 요구 조건을 충족시킬 수 있어야 하지만, 현재 사용되고 있는 골 이식 재료들은 각각 어느 정도의 제한성을 지니고 있다. 골 결손부 재건을 위하여 선택되는 이식 재료들 중 자가골을 이식하는 것이 가장 이상적인 것으로 받아들여지고 있지만⁴⁵⁾, 자가골 이식은 채취를 위한 부가적인 수술창의 형성이나 시간의 소요, 공여부와 관련된 합병증의 발생, 채취량의 제한성 등의 문제점이 존재함으로써 이를 보완하기 위하여 이종골, 동종골 및 대체물 등이 다양하게 연구, 개발되고 있다^{46,9)}.

동종골이나 이종골은 이들이 지니고 있는 항원성이 가장 큰 단점이지만, 이들의 항원성을 제거하고 생체 조직 적합성을 얻기 위하여 단순 냉동 건조, 탈회, 방사선 조사, 압열 멸균 등의 다양한 방법으로 처리, 보관되고 있다. 그러나 이러한 처리 과정에도 불구하고 여전히 이식골의 이물 반응 및 이식 면역 반응, 혈관 재형성 능력, 신생골 형성 능력, 완전한 소독 방법의 제한 등 생체 재료로서의 조직 적합성 등이 완전히 판명되어 있지 않아 아직까지는 조직학적인 결과에 근거하여, 제한적으로만 임상 적용되고 있다^{9,10)}. 최근에는 골이식을 위한 생체 적합성 및 안전성을 부여해 줄 인공 골 대체물에 대한 관심이 증가하여, 많은 연구가 활발히 이루어지고 있으며, vitalium, tantalum, aluminum gold 등의 금속류, methylmethacrylate, poly-tetrafluoroethylene (Teflon), proplast 등의 합성 수지류, hydroxylapatite, tricalcium phosphate 등의 도재류 등이 소개되어 있다¹⁵⁾. 심미성 회복을 목적으로 하는 골 결손부의 재건에 이용되는 골 이식은 이식물의 임상적 융합도 중요하지만, 이식 후 유동성이 없이 안정되게 유지되는 것도 매우 중요한 요구 조건이 된다. 따라서 숙주골의 흡수나 이식골의 유동성이 보완된 인공 골 대체물들은 심미 성형술에 아주 유용하게 사용될 수 있다^{16,20)}. 최근 많은 관심의 대상이 되고 있는 ceramic 계통의 hydroxylapatite 제제는 골이나 치아의 주요 골격 구조를 이루는 구성물로서 생체 적합성이 크고, 골전도(osteoconduction) 능력은 우수하지만, 가공상의 문제와 가격이 비싸다는 단점을 지니고 있고, 또한 분말형을 단독 매식한 경우 유동성에 의해 골 결손부의 수복 상태를 안정되게 유지할 수가 없다^{16,17,20,21)}. 따라서 유지력을 증가시키고, 재료를 쉽게 획득할 수 있으며, 비용을 절감하기 위한 방법으로, 치아 회분과 치과용 연석고를 혼합 사용함으로써 또 하나의 인공골 대체물로 개발하기 위한 시도가 이루어지게 되었으며^{22,29)}, 윤 등²⁹⁾이 제시한 방법에 의해 치아로부터 얻은 치아 회분말과 치과용 연석고를, 김 등²⁹⁾의 실험 연구에서 가장 적절하다고 보고된 바 있는 무게비 2 : 1의 방법으로 혼합, 제작한 매식재에 관한 다양한 연구가 진행되어 왔다^{24,30,31)}.

이에 저자 등은 치아 회분과 석고 혼합 매식재의 이식후 골 치유 양상 및 정도가 다른 골 이식재의 이식후 소견과 차이가 있을 것이라는 추정하에 선행들이 연구를 기초로 하여, 동종골 이식 재료의 대표인 탈회 냉동 건조골과 인공골 대체물 중 선호되는 수산화인회석, 그리고 치아 회분과 석고 혼합 매식재를 동일 조건하에서 형성된 골 결손부에 각각 매식한 후 골 치유양상 및 정도, 염증반응 유무 등을 비교, 검색함으로써, 기존의 골이식재들과 비교했을 때, 치아 회분과 석고 혼합 매식재도 임상에서 양호

하게 적용될 수 있는 골 대체물임을 검증하고자 본 실험을 계획하게 되었다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 실험 동물

동일한 조건 하에서 일정 기간 사육한 태생 6주 이상이며, 체중 200gm 내외의 Sprague-Dawley계 백서 100마리를 실험 대상으로 하였다.

2) 실험군 및 매식 재료

실험 1군은 치아 회분과 석고 혼합 매식재(toothash-plaster mixture)를, 실험 2군은 탈회 냉동 건조골(demineralized freeze-dried bone)을, 실험 3군은 흡수성 수산화인회석(resorbable hydroxylapatite)을 각각 매식하였으며, 실험 4군은 대조군으로 하였다. 치아 회분과 석고 혼합 매식재는 사람에서 발거된 상태가 양호한 치아들을 생리 식염수로 세척한 후, 950°C 휘니스에서 30분간 회화하여 약제 분말기를 이용하여 100mesh의 미세한 입자 크기로 제작한 치아 회분말과 치과에서 빈번히 사용되고 있는 plaster of Paris를 무게비 2 : 1로 혼합한 후 ethylene oxide gas로 멸균 처리하여 보관한 매식물이며, 탈회 냉동 건조골은 tutoplast (Biodinamics Inc.)를 이용하였고, 수산화인회석은 Osteogen (Impladent Ltd.)을 이용하였다. 대조군은 골 결손부를 형성한 후 어떠한 매식 재료도 이식하지 않고 혈병으로만 채웠다.

2. 실험 방법

1) 실험 방법

백서는 ether를 흡입시켜 전신마취시킨 후 술부인 두정부를 제모 및 소독하였다. 2% lidocaine HCl (1 : 10만 epinephrine)을 지혈 목적으로 술부에 주사한 후, 두개골 정중부를 절개하여 골막을 노출시켰다. 골막 절개 후 노출된 두개골의 정중양부에 #1/4 round bur를 이용하여 직경 10mm 크기의 원형 전층 골 결손을 야기시킨 후, 미리 준비한 매식 재료를 각각 이식하고, 골막을 포함하여 피관을 층별로 견고히 봉합하였다.

술후 감염 방지를 위하여 3일간 Gentamicin 0.05ml/kg를 하루 1회 근육 주사하였다.

2) 실험 동물의 희생

실험 후 1주, 3주, 5주, 8주, 12주 및 24주째 ether를 과도 흡입시켜 희생한 후 두부를 절단하여 formalin 용액에 고정하여 보관하였다. 24주군 각 10마리, 12주군 각 5마리, 8주군 및 5주군은 각 3마리, 3주군 및 1주군은 각 2마리씩 배정하였다.

3) 실험 결과 관찰 방법

매식된 경계부를 포함하여 조직편을 채취한 후, 일정 기간 고

정하고, 탈회 및 포매 과정을 거쳐 6-8 μ m 두께의 절편 형성 후 Hematoxylin-eosin, Masson's trichrome stain 및 Van Gieson's stain 을 시행한 후, 광학 현미경으로 매식체의 흡수 정도, 신생골의 형성 정도 및 양상, 염증 반응 유무 등의 치유과정을 병리 조직학적으로 관찰하였다.

III. 실험 결과

1. 실험 1주 소견 (Fig. 1)

1) 실험 1군 (치아 회분과 석고 혼합 매식제)

매식체 주위에 다양한 형태의 결합조직 침윤이 보이며, 염증성 삼출물의 저류 소견이 관찰되었다. 만성 염증세포 및 다핵 거대세포의 침윤이 광범위하게 나타나며 과립체 주위에 핵 용해 또는 핵 종창 소견을 보이는 방추상 세포가 소량 침윤하고 있었다. 기존골 변연부에서 다양한 신생 골주의 증식 양상 및 파골세포의 침윤상이 관찰되었다.

2) 실험 2군 (탈회 냉동 건조골)

매식체 변연부에서 다양한 결합 조직에 의한 피복 양상이 보이며, 일부에서는 매식체에 접하여 섬유 소성 망상구조가 형성되어 있었고, 전반적으로 많은 수의 염증세포 침윤이 보이며 매식체에 근접하여 다핵 거대세포의 다양한 침윤을 볼 수 있었으며, 일부에서는 매식체와 접하여 신생골주의 생성이 활발히 진행되고 있었다.

3) 실험 3군 (흡수성 수산화인회석)

매식체 주위에 다양한 결합조직의 침윤이 관찰되며, 그 치밀도는 증가하는 양상이 관찰되었다. 매식체 변연부에서는 골양 조직의 형성 소견이 보였으며, 다핵 거대 세포의 침윤이 다양하게 관찰되었다. 기존골 변연부에서 기존골과 유합하는 다양한 골양 조직의 증식 양상이 관찰되었다.

4) 대조군

기존골의 변연부에서는 골양조직의 형성이 소량 보이기 시작하나 대부분의 결손부에서 많은 혈병 및 모세혈관이 관찰되었다.

2. 실험 3주 소견 (Fig. 2)

1) 실험 1군

매식체 변연부의 염증성 삼출액이 소실되어 결합조직에 의해 대체되었으나 여전히 만성 및 급성 염증세포의 다양한 침윤소견이 매식체 주위에서 관찰되었으며, 결합조직의 섬유아세포 증식 및 치밀도는 더욱 증가되었다.

기존골에 유합하는 신생골주의 증식 및 골 활성화 소견을 보이며, 일부에서는 골양조직이 매식체와 유합하는 형태의 소견도 보였다. 또한 매식체를 피복하는 피복하는 결합조직에서 다핵

거대세포의 침윤 소견을 볼 수 있었다.

2) 실험 2군

매식체는 다량의 신생골주에 의해 대체되었으며, 결합 조직의 치밀도는 증가하였다. 기존골에 유합된 형태의 다양한 골주가 골 결손부 내부로 침윤적 증식 소견을 나타내었고 신생골주 내부에 매식체가 함입되는 형태도 보였다. 골 결손부 내부의 신생골주 변연부와 기존골에 연결된 신생골주 변연부에서 다양한 형태의 연골양 조직의 증식 소견을 보였으며, 전반적인 염증세포의 수는 감소 양상을 나타냈다.

3) 실험 3군

매식체 변연부를 피복하는 결합조직의 증식 양상을 보이며, 만성 염증세포의 분포는 매식체 주위에서 소량 볼 수 있었다. 매식체 변연부에서 매식체 내부로 침윤적 결합조직의 성장 소견을 보이며, 매식체 주위에 다양한 다핵 거대세포가 관찰되었다. 주위 기존골에 유합 또는 유리 형태의 다수 골양조직의 증식을 보이며, 골양 조직 변연부의 골아세포의 활성화도는 증가 양상을 나타내었으며 때로는 파골세포의 침윤 소견을 관찰할 수 있었다.

4) 대조군

결손부는 대부분이 다량의 혈병과 결합조직으로 채워져 있는 소견을 관찰할 수 있었다.

3. 실험 5주 소견 (Fig. 3)

1) 실험 1군

매식체 주위의 결합조직의 치밀도는 증가되었으며, 만성 및 급성 염증세포의 침윤 소견이 일부 관찰되고 있으나, 정도는 현저히 감소되었다. 기존골에 유합된 형태의 신생골주 내부에 매식체의 유합 상태가 관찰되었다.

2) 실험 2군

신생골주의 수는 증가되었으며, 골세포와 골소강의 형태가 뚜렷이 관찰되고, 결합 조직의 치밀도는 더욱 증가하였다. 기존골 변연부에서 골 결손부 내부로의 골의 침윤적 성장 소견이 증가하였으며, 만성 염증세포의 미만성 침윤은 일부 관찰되나 그 수는 현저히 감소하였다. 신생골주 변연부에 소량의 다핵 거대세포가 여전히 잔존하고 있었다. 골 결손부에 거대 골주의 증식 소견도 증가되었다.

3) 실험 3군

매식체 주위 결합 조직의 피복 양상은 실험 2군과 유사하였으며, 매식체 내부로 침윤적 성장 양상을 나타내었다. 매식체 변연부에 다양한 형태의 다핵 거대세포가 침윤하고 있었으며, 변연부에 유합된 기존골의 경계는 치밀도는 의해 구별할 수 있었으며 매식체와 유합한 또는 매식체를 함입하는 형태의 신생골 형성이 기존골과 근접하는 신생골주 변연부에서 관찰되었다. 만성

염증세포는 소량이 미만성으로 매식체 주위에 산재되어 있었다.

4) 대조군

결손부 내부의 결합조직의 치밀도는 증가되었으며, 신생 모세혈관 증식 및 골양 조직의 증식이 변연부로부터 관찰되었다.

4. 실험 8주 소견 (Fig. 4)

1) 실험 1군

매식체 주위 결합조직의 치밀도는 증가하였으며 매식체 내부로의 침윤적 성장 소견도 관찰되었다. 만성 염증세포의 침윤은 현저히 감소되었다. 기존골 변연부의 신생골주는 치밀도가 증가되어 인접 골주와 유합되었으며, 매식체와 직접 유합하는 골 형성 소견도 관찰되었다. 다핵 거대세포의 분포도 부위에 따라 소량 나타났다.

2) 실험 2군

골 결손부에서 다양한 형태의 신생골주의 증가 양상이 보이며, 골세포 형태가 뚜렷이 관찰되었다. 신생골주에 접하여 연골양조직 형성 소견이 보였으며, 결합조직의 치밀도는 증가하였고, 신생 모세혈관 증식 및 충혈상도 관찰되었다. 전반적으로 만성 염증세포의 분포는 현저한 감소 양상을 보였다.

3) 실험 3군

매식체 주위의 결합조직 치밀도는 증가하였으며, 신생골주가 형성되어 매식체와 직접 유합하는 형태의 골주가 다양하게 분포하고 있었으며, 매식체 내부로의 결합 조직 침윤 소견은 5주와 유사하였다. 만성 염증세포 및 다핵 거대세포의 수는 현저히 감소되었고, 골의 치밀도는 매우 증가되었다.

4) 대조군

기존골의 변연부에서 신생골주의 형성이 관찰되며, 결손부 내부의 결합조직의 치밀도도 증가되었다.

5. 실험 12주 소견 (Fig. 5)

1) 실험 1군

매식체 주위의 결합조직 치밀도는 더욱 증가하였고, 만성 염증세포의 침윤은 관찰되지 않았다. 기존골에서 결손부로 성장하는 신생골은 현저히 증가되었으며, 다양하게 매식체와 신생골이 직접 유합하거나 매식체를 함입하는 소견이 관찰되었다.

2) 실험 2군

골 결손부의 신생골주들은 유합하여 거대 골주를 형성하고 있었으며, 골세포 및 골소강의 형태도 명확하게 관찰되었다. 기존골에서 결손부 내부로 성장하는 신생 골주의 성숙도는 증가되었으며, 골주 변연부의 골 활성화 정도도 증가하는 양상을 보였다. 결합조직의 성숙도는 증가되었고 다핵 거대세포는 소실되어 거

의 관찰되지 않았다.

3) 실험 3군

매식체 주위의 결합조직 치밀도는 증가되었고 기존골에 연결된 신생골의 치밀도도 현저히 증가되었으며 매식체 과립 내부로 침윤하는 양상도 관찰되었다. 골 결손부 내부에서도 일부 매식체와 직접 유합하는 골 형성 소견이 관찰되었다.

4) 대조군

기존골의 변연부에서 신생골주의 형성이 보이지만 결손부 내부의 대부분은 성숙한 결합조직으로 채워져 있는 소견이 관찰되었다.

6. 실험 24주 소견 (Fig. 6)

1) 실험 1군

매식체 주위의 치밀한 결합조직에 의한 피복 양상 정도는 12주와 유사하였으나 골 결손부 내부의 많은 부분에서 다량의 매식체가 신생골주와 직접 유합하여 신생골 내부에 잔존하고 있었으며, 직접 유합된 골양조직에서는 골아세포 및 골수강의 형성 소견이 명확히 관찰되었다. 또한 매식체 내부로 골이 증식되어 들어가는 소견이 보이며, 일부에서는 결합조직에 유합된 형태의 매식체 변연부에 다양한 다핵 거대세포의 침윤을 볼 수 있었다.

2) 실험 2군

결손부 내부의 매식체들은 다양한 크기의 신생골주를 형성하며 채워져 있었으며, 골주 변연부는 성숙 결합조직에 의한 피복 양상을 보이며, 다양한 모세혈관의 증식 및 충혈상이 나타났다. 골주 내부의 골소강 및 골세포의 형성은 정상 조직과 유사했으나, 골주 변연부의 골아세포의 증식 소견을 미약하였다. 소수의 다핵 거대세포의 침윤이 골주 변연부에서 발견되었다.

3) 실험 3군

매식체는 성숙 결합조직에 의한 피복 양상을 보이며, 일부 매식체에서는 매식체 변연부에서부터 내부로의 결합조직의 침윤적 증식 양상을 보였다. 또한 매식체에 접하여 신생골 형성이 활발하며, 매식체를 함입하는 양상도 관찰되었고 부분적으로 매식체 변연부에서 다핵 거대세포의 침윤이 관찰되었다.

4) 대조군

결손부는 불규칙한 성숙 결합조직의 증식에 의해 채워져 있었으며, 일부분에서는 불규칙한 골양조직의 피가 다양하게 나타나 석회화 양상을 보이고 있었으나, 골아세포 및 골세포의 형태는 구별할 수 없었다. 성숙 결합조직 내부에서는 다양한 모세혈관 증식 및 충혈상을 보이며 소량의 염증세포 침윤이 관찰되었다.

IV. 총괄 및 고안

골이식(bone transplant)은 골절부의 비유합부 및 골격 결손부의 수복 및 물리적인 안정성을 얻고자 오래 전부터 시행되어 왔으며, 골 이식에 사용되는 재료로는 자가골, 동종골, 이종골 및 인공 골 대체물 등이 다양하게 개발, 연구되어 임상적으로 적용되어 왔다. 이들 골 이식재 중 자가골이 면역학적 수용성, 신생혈관의 증식, 숙주와의 친화성, 정상 골조직을 형성하려는 재생의 관점에서 다른 골 이식재들보다 우수하여 이상적인 골이식재로 받아들여져 왔다^{6,9)}.

골이식은 골이식재의 종류에 따라 많은 영향을 받을 수 있는데, 이식골의 혈관계 상태, 공여부와 수여부의 면역학적인 관계, 그리고 크기, 모양과 같은 이식 재료의 물성 및 이식골의 처리, 보관 및 제작 등과 관련된 술식 등에 의해 골 수복의 양상에 차이를 보일 수 있다. 골이식은 이식골의 매식 순간부터 숙주골과 융합(incorporation)하고 재형성(remodeling)될 때까지의 생역학적인 과정을 기초로 하여 고려될 수 있다¹⁾.

조직학적으로 자가골 이식의 수복에 관한 설명은 Axhausen과 Barth에 의해 언급되어 졌으며¹⁾, 이들은 골이식은 괴사과정을 수행한다고 하였으며, Axhausen은 생활력이 있는 살아 있는 골과 골막이 새로운 골 형성에 기여한다고 하였으며, Barth는 이식골은 괴사되고 단지 이식골에 인접해 있는 수여부의 세포만이 새로운 골 형성에 기여하며, 숙주세포가 새로운 골을 형성할 수 있도록 골격 역할만을 한다고 하였다¹⁾. 혈관공급이 풍부한 숙주조직과 이식골이 긴밀한 접촉을 하고 있을 때 괴사 골은 혈관증식에 따라 새로운 조직으로 대체되며 성공적으로 골수복(repair)이 이루어진다고 하였다. Axhausen은 혈관의 증식에 의해 노화된 괴사골을 흡수되고, 살아 있는 새로운 골은 부착성 성장을 한다는 의미로 이행성 골대체(creeping substitution)라는 표현을 사용하였으며, 이는 이식된 골의 역동적인, 광범위한 골의 재형성 또는 치유과정을 설명하고 있다¹⁾.

골 이식재가 어떤 종류이든 골이식후 수복은 괴사골이나 신생골의 혼합 또는 이식 재료에 대한 숙주 조직의 결합과정으로서, 골이 수복되어 가는 기전은 자가골과 동종골, 이종골 등 이식재의 종류에 따라 차이가 존재한다. 보통 glass, ceramic plastic과 같은 비생물학적인 재료(nonbiologic material)나 압열멸균 등으로 처리된 비활성 생물학적 재료(nonviable biologic material) 등은 골전도(osteoconduction)의 과정을 거쳐 치유되는데, 이는 수여부의 기준골로부터 이식재 내부로 모세혈관과 골형성 능력세포(osteoprogenitor cell)들이 증식해 들어감으로서 골로 대체되는 과정이라 할 수 있다. 골유도(osteoinduction)과정은 이식골 자체의 골기질과 접촉하는 미분화 간엽세포의 분화에 의해 골이 형성되는 과정으로 골 형성 유도물질인 골형성 단백질을 함유하고 있는 탈회 냉동 건조골이 이 기전을 통해 골치유를 보여주는 대표적인 이식재이다^{1,9)}.

1889년 Senn²⁰⁾이 탈회한 동종골 이식에 성공한 이후 장골 결손 부위에 많이 사용되어 왔으며, Miller는 탈회한 동종골이 신선 자가골보다 우수하다고 하였으며, 동종골 이식편은 처리과정에 따

라 다양한 치료 결과를 보이는데, 탈회골의 신생골 형성 능력이 비탈회골보다 훨씬 뛰어났다고 보고하였다. 탈회골은 연골내 골화 과정과 유사하며, 연골이 형성된 다음에 골기질이 석회화된다³³⁾. 일반적으로 탈회과정은 골 형성유도 단백질을 제거하지 않는 것으로 알려져 있고 탈회하지 않은 골은 이 단백질을 보유하고 있으나 골 내부기질이 이 단백질의 작용을 억제하는 것으로 알려져 있다. 따라서 골형성 단백질은 보존하면서, 항원성의 제거를 위하여 탈회 냉동 건조 방법으로 제작된 human bone은 골유도의 기전을 통해 자가골 이식과 유사한 골 치유반응을 보임으로써 동종 이식이나 이종 이식시 가장 양호한 임상 결과를 기대할 수 있는 우수한 골 이식재라 기대할 수 있다^{34,35)}. 그러나 이러한 탈회 및 냉동 건조가 이식물의 항원성을 완전히 제거해주는 지에 대한 확실한 검증은 없으며, 이물 반응, 완전한 소독 방법 등의 생체 재료로서의 조직 적합성이 완전히 판명되어 있지 않아 조직학적인 결과에 근거하여 사용되고 있는 실정이다.

따라서 자가골이나 동종골, 이종골의 이식 방법이 다양한 제약요소를 지니고 있어 그 단점들을 극복하고 인공 골대체물에 의한 골 결손부의 이식방법이 많은 관심의 대상이 되고 있으며, 다양한 인공 골대체물들이 개발되고 있다. 그 중 수산화인회석(hydroxylapatite) 제재에 대한 많은 연구가 진행되어 왔다. 수산화인회석의 골 수복기전에 대해서는 확실히 규명되어 있지는 않으나, 일반적으로 매식재 자체가 골형성을 유발하지는 않으며, 신생골 형성을 전도하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 수산화인회석 제재는 합성에 의한 것이든 천연자원에서 가공해서 얻은 것이든 가공의 어려움과 가격이 비싸다는 단점이 존재함으로써 이를 해결하고자 수산화인회석의 성분을 얻을 수 있는 치아 회분말이나 골 회분말에 대한 실험적 연구가 이루어지기 시작하였다.

치아 회분말 제작 방법은 면역 거부반응을 억제하고자 윤 등²⁵⁾이 제시한 방법대로 950°C의 휘니스에서 고온 처리한 후 약제 분말기로 미세한 분말을 제작하면 주성분이 수산화인회석인 매식재를 생산할 수 있게 된다. 치아 회분말에 대한 실험적 검증은 윤 등²⁵⁾과 김 등^{22,24,30,31)}이 수년간 시행한 연구에서 이루어졌으며, 임상에서 충분히 사용할 수 있는 가능성이 제시된 바 있다. 그러나 분말형의 수산화인회석이나 치아 회분말의 단독 매식은 유동성에 의해 정위치에 유지시킬 수 없다는 어려움이 있어 유지력을 증강시키고자 방법들이 시도되어 왔다. 따라서 매식할 분말을 고정시켜줄 수 있다는 가정하에 윤 등²⁵⁾은 치과용 도재의 복합 매식에 대하여 보고하였고, Talib 등²⁹⁾은 수산화인회석을 calcium sulfate와 혼합 매식하면 매식 분말의 유지력이 현저히 증가하면서, 주변골로부터 골의 침투력이 상당히 증가한다고 보고하였다. 김 등^{22,24)}은 수산화인회석과 β -whitlockite가 주성분인 치아 회분말과 calcium sulfate hemihydrate가 주성분인 치과용 연석고의 혼합 매식술에 관한 실험적 및 임상적 연구를 시행하여 생체 적합성 및 골전도 능력을 검증한 바 있다. Robert 등²⁸⁾은 calcium sulfate hemihydrate와 dextran bead를 혼합 매식한 경우 치유가 우수하였다는 결과를 보고하였다.

한편 혼합 매식에 있어서 가장 적절한 혼합 비율을 얻고자 노

력한 실험적 연구도 소수 이루어졌는데, 정 등²⁰⁾은 골조직 분말과 수산화인회석 분말의 혼합이 1:1인 비율에서 가장 양호한 치유를 보였다고 하였으며, Talib 등²¹⁾은 수산화인회석 분말과 calcium sulfate를 13:7로 혼합 매식한 실험군에서 신생골 침투가 가장 우수하였으며, 신생골이 매식 분말과 직접 융합되는 소견을 보고하였다. 윤 등²²⁾은 치아 회분말과 치과용 도재를 6:4의 비율로 혼합 매식하면 매식 분말의 유지가 적절히 이루어지면서 물리적 성상 또한 상당히 우수하다고 실험적으로 보고하였다.

최근 김 등²³⁾은 치아 회분말과 치과용 연석고를 다양한 무게비로 매식한 후 병리 조직학적으로 검색한 결과 어떠한 비율이든 병리 조직학적으로 상호간에 큰 차이는 없었으나 치과용 연석고 단독 매식군에 비해서는 현저하게 양호한 골전도 현상을 관찰할 수 있었으며, 그 중 무게비 2:1의 혼합으로 매식한 경우 매식 분말과 신생골과의 직접 골융합이 가장 많이 이루어졌다고 보고하였다.

본 연구에서는 동종골 이식에 있어서 가장 많이 사용되고 있는 탈회 냉동 건조골과 인공골 대체물 중 선호되는 수산화인회석, 그리고 치아 회분과 석고 혼합 매식제를 동일 조건하에서 매식 후 각각을 검색하여, 염증반응의 유무 및 골의 치유과정을 비교하고자 하였다.

탈회 냉동 건조골을 골형성 단백질을 함유하고 있어서 골유도 기전을 통하여 빠른 치유반응을 보이며, 자가골 이식과 거의 동등한 골형성 능력을 보여줄 것이며, 수산화인회석은 우수한 골전도 양상을 보여줄 것으로 예상하고, 본 실험에서 사용한 치아 회분과 석고 혼합 매식제는 골전도 기전과, 골아세포의 분화를 자극하는 calcium ion을 함유하고 있으면서 치아 회분말을 고정시켜 주는 역할을 보유한 석고의 장점을 이용한 것으로 이 혼합 매식제가 골 대체물로서의 임상적으로 과연 유용하게 사용될 수 있는지 살펴보았다.

본 실험에서 실험 1주째 치아 회분과 석고 혼합 매식제 주위에 다양한 형태의 결합조직 침윤 및 다량의 만성 염증 세포 및 다핵 거대세포의 침윤이 나타났으며, 탈회 냉동 건조골이나 흡수성 수산화인회석 매식제 주위에서도 다양한 결합조직의 침윤과 다량의 다핵 거대세포의 침윤이 관찰되었다. 실험 3주째 탈회 냉동 건조골은 이미 다량의 신생골주에 의해 대체되고 있음을 보여주었고, 수산화인회석 이식군은 매식체 주위의 결합조직의 증식양상 및 기존골로부터의 골양조직의 증식이 보였다. 치아 회분과 석고 혼합 매식제군은 매식체 변연부의 결합조직의 치밀도는 증가되었으나 여전히 만성 염증세포의 침윤 소견이 관찰되었다. 실험 5주째 탈회 냉동 건조골 이식군에서는 거대골주의 증식 소견이 관찰되었으며, 치아 회분과 석고 혼합 매식제군의 염증세포 침윤 정도는 현저히 감소하였으며, 수산화인회석 매식군과 유사한 정도의 신생골주 형성 정도는 다소 떨어지나 치아 회분과 석고 혼합 매식제의 이식군과 수산화인회석 이식군에서의 골형성 정도 및 치밀도는 유사하게 증가하였음을 보여주었다. 그러나 이들 실험군에서는 여전히 소량의 다핵 거대세포가 계속 관찰되었으며, 혈병으로만 채운 대조군에서는 실험 8주 이후에도 기존골 변연부에 약간의 신생골의 형성을 보일 뿐 대부분 성

숙 결합조직으로 채워져 있음이 관찰되었다. 이상과 같이 모든 실험군에서, 이식 후 초기에 염증반응 및 다핵 거대세포의 침윤이 관찰되었는데 이것은 대부분의 매식 재료 매식후 초기에 일시적으로 나타나는 이물반응으로 사료되었으며, 점차 시간이 경과하면서 거의 소멸되었고, 초기의 염증 및 이물반응이 실험 1군에서 가장 심하게 나타났던 것은 치아 회분 제작과정 중의 오류로 인하여 회화된 유기물의 잔존에 의한 것이 아닌가 생각되며, 더욱 표준화된 제작과정과 잔존 유기물의 완전 제거 유무를 확인하는 과정이 필요하다고 생각된다. 또한 다핵 거대세포는 모든 실험군에서 24주까지 관찰되었는데 병리조직학적인 골 치유양상을 검토한 결과 이물반응이라기 보다는 매식된 생체재료를 흡수하는 일련의 과정이라고 추정되었다. 탈회 냉동 건조골 및 수산화인회석과 비교시, 치아 회분과 석고 혼합 매식제는 이식 후 초기 염증 반응이 가장 심하지만, 초기의 감염 조절이 잘 이루어진다면 골전도에 의하여 매식재 변연부에서부터 골아세포 활성도가 증가하면서, 매식재 사이로 직접 융합 성장하는 신생골주의 증식상을 명확히 관찰할 수 있을 것이며, 실험에서 보여준 신생골 형성정도는 탈회 냉동 건조골보다는 다소 낮은 정도이나 수산화인회석과 비교하여 유사한 정도를 보였고, 12주 이후에는 양호한 치유를 보였으며, 24주후에는 골 결손부 내부의 많은 부분에서 다량의 매식체가 신생골주와 직접 융합하여 신생골 내부에 잔존하고 있으며, 직접 융합된 골양조직에서는 골아세포 및 골소강의 형성이 명확하게 관찰되었고, 매식체 내부로 골이 증식되어 가는 등의 결손부 중심부까지 많은 신생골주에 의해 수복되는 것이 관찰되었다. 따라서 치아 회분과 석고 혼합 매식제도 생체 적합성 및 친화성을 지닌 유용한 골 대체물임을 확인할 수 있었으며, 주위 환경으로부터 쉽게 구입할 수 있으며, 제작 방법도 간단하여 추후 임상적으로 사용 가치가 있는 재료로 판단되었으며, 향후 세포독성에 관한 연구로서 인체에 매식후 장기간의 추적조사가 시행되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

저자 등은 골 결손부에 골화작용을 촉진할 수 있는 골대체 재료의 임상에서의 이용 가능성을 규명하기 위하여 백서 두개부에 골 결손부를 형성하고 실험 재료로 제1군 치아 회분과 석고 혼합 매식제, 제2군 탈회 냉동 건조골, 그리고 제3군 흡수성 수산화인회석을 각각 매식하였고, 제4군으로는 대조군으로 골 결손부를 형성한 후 매식제를 이식하지 않았다. 실험 1주, 3주, 5주, 8주, 12주 그리고 24주 경과후에 백서를 희생시켜 조직을 채취한 후 Hematoxylin-eosin 2중 염색과 결합 조직의 관찰을 위한 Van Gieson씨 염색, Masson's trichrome 염색을 시행한 후 검경하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 모든 실험군에서 초기의 염증 반응 및 다핵 거대 세포의 침윤이 관찰되었으나 시간이 경과하면서 점차 소실되었고, 초기 염증은 실험 1군인 치아 회분과 석고 혼합 매식제군에서 가장 현저하게 나타났다.
2. 실험 2군인 탈회 냉동 건조골 이식군은 초기부터 신생골주

의 생성이 아주 활발히 이루어졌으며, 연골양조직의 출현이 관찰되어 골유도에 의한 연골내 골화가 이루어짐을 추정할 수 있었다. 실험 12주후에는 결손부의 상당부가 신생골에 의해 채워지는 것이 확인되었다.

3. 실험 1군인 치아 회분과 석고 혼합 매식재 이식군과 실험 3주군인 흡수성 수산화인회석 이식군은 전반적으로 유사한 치유과정을 보였으나 초기의 염증반응은 실험 1군에서 더욱 현저하였으며, 실험 3주째부터 골양조직 변연부위의 골아세포 활성도가 증가하면서 매식체과 직접 유합하는 신생골주의 증식상을 관찰할 수 있었으며, 실험 12주후에는 기존골에서 결손부로 성장하는 신생골주가 현저하게 증가되었다.
4. 대조군은 기존골 변연부에서부터 신생골주의 형성이 이루어지기는 하지만 실험 24주까지도 결손부의 대부분은 성숙한 골조직에 의해 채워져 있었다.

이상의 결과를 통하여, 치아 회분과 석고 혼합 매식재는 이식 후 초기 염증반응은 심하지만, 골전도 기전에 의하여 매식체 변연부에서부터 골아세포 활성도가 증가하면서, 매식체 사이로 직접 유합, 성장하는 신생골주의 증식상이 명확히 관찰되며, 그 양상은 탈회 냉동 건조골 이식에 의한 양상에는 다소 못 미치는 소견이나, 흡수성 수산화인회석의 이식후 치유정도와의 거의 유사한 상태를 보임으로써, 치아 회분과 석고 혼합 매식재도 생체 조직 적합성을 보임으로서 임상적으로 골이식을 위한 유용한 골대체재료로 사용 가능함을 제시하고자 한다.

참고문헌

1. Burchardt H : Biology of bone trasplantation. Orthopedic Clinics of North America. 18:187, 1987.
2. Kruger GO : Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery. 6th ed. St. Louis. CV Mosby Co. 1984. p.296-332.
3. Urist MR : Bone formation by autoinduction. Science. 150:893-899, 1965.
4. Enneking WF, Morris JL : Human autologous cortical bone trasplants. Clin Orthop. 87:28, 1972.
5. Levin MP, Getler L, Cutright DE, et al : Biodegradable ceramic in periodontal defects. J Oral Surg 38:344-368, 1974.
6. Dragoo MR, Sullivan HC : A clinical and histological evaluation of autogenous iliac bone graft in humans. J Perio 44:599-613, 1973.
7. Laurie SWS, Kaban LB, Mulliken JB, et al. : Donor site morbidity after
8. Mulliken JB, Glowacki J : Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. J Plasti Reconstr Surg 65:553-560, 1980. harvesting rib and iliac bone. J Plasti Reconstr Surg 73:933-938, 1984.
9. Younger AM, Chapman MW : Morbidity at bone graft donor site. J Orthop Trauma 3:192-195, 1989.
10. Petri WH : Evaluation of antibiotic supplemented bone allograft in a rabbit model. J Oral Maxillofac Surg 49:392, 1991.
11. Petri WH, Schaberg SJ : The effects of antibiotic supplemented bone allografts on contaminated partially avulsive fractures of the canine ulna. J Oral Maxillofac Surg 42:699, 1984.

12. Langer F, Czitrarn A, Dritzter KP, et al : The immunogenicity of fresh and frozen allogeneic bones. J Bone Joint Surg 57:216, 1975.
13. Urist MR, Iwata H : A chemicosterilized antigen extracted autodigest alloimplants for bone banks. Arch Surg 220:46, 1975.
14. Kaban LB, Mulliken JB, Glowacki J : Treatment of jaw defects with demineralized bone implants. J Oral Maxillofac Surg 40:623, 1982.
15. Mckee JC, Bailey BJ : Calcium sulfate as a mandibular implant. Otolaryngology 92:277-286, 1984.
16. Deeb ME : Hydroxyapatite granules and blocks as an extracranial augmenting material in Rhesus Monkeys. J Oral Maxillofac Surg 46:33-40, 1988.
17. Deeb ME, Holesmes RE : Tissue response to facial contour augmentation with dense and porous hydroxyapatite in Rhesus Monkeys. J Oral Maxillofac Surg 47:1282-1289, 1989.
18. Manson PN : Frontal cranioplasty: risk factors and choice of cranial vault reconstructive material. J Plast Reconstr Surg 77:888-900, 1986.
19. Steinhauer E, Hardt N : Secondary reconstruction of cranial defects. J Oral Maxillofac Surg 5:192, 1977.
20. Waite PD, Matukas VJ : Zygomatic augmentation with hydroxyapatite: A preliminary report. J Oral Maxillofac Surg 44:349, 1986.
21. Lieblisch SE : Changes in bone strength after augmentation with hydroxyapatite or hydroxyapatite/bone. J Oral Maxillofac Surg 45:1055-1057, 1987.
22. 김영균, 여환호 : 성경에서 치아회분말의 하악골체부 매식시 치유과정에 관한 실험적 연구. 대한악안면성형재건의과학회지 15:129, 1993.
23. 김영균, 여환호 : 치아회분말 및 치과용연석고의 혼합매식술에 관한 실험적 연구. 대한악안면성형재건의과학회지 16:22, 1994.
24. 김영균, 여환호 : 치아회분말과 치과용 연석고의 혼합매식술 : 임상적 적용. 대한악안면성형재건의과학회지 16:130-136, 1994.
25. 윤창근, 조영학 : 치아회분과 도재복합 매식체에 관한 광학현미경 및 주사전자현미경적 연구. 대한치과보철학회지 22:33, 1984.
26. Beeson WH : Plaster of paris as an alloplastic implant in the frontal sinus. Arch Otolaryngol 107:664, 1981.
27. Bell WH : Resorption characteristics of bone and plaster. J Dent Res 39:727, 1960.
28. Snyders RV Jr, Eppley BL, Krukowski M, et al : Enhancement of repair in experimental calvarial bone defects using calcium sulfate and dextran beads. J Oral Maxillofac Surg 51:517-524, 1993.
29. Hurzeler MB, Quinones CR, Kirsch A, et al : Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and dental implants in monkeys. Part III. Evaluation of autogenous bone combined with porous hydroxyapatite. Clin Oral Implants Res 8:401-411, 1997.
30. 김영균, 여환호 : 백서에서 치아회분말과 치과용 연석고의 혼합매식술에 관한 실험적 연구: 혼합비율에 따른 비교. 대한악안면성형재건의과학회지 18:26-32, 1996.
31. 김영균, 여환호 등 : 치아회분과 석고를 혼합하여 제작한 block의 inlay매식후 치유과정에 관한 실험적 연구. 대한악안면성형재건의과학회지 18:253-260, 1996.
32. Senn N : On the healing of aseptic bone cavities by implantation of antiseptic decalcified bone. Am J Med Sci 98:219, 1889.
33. Reddi AH, Huggins CB : Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats. Pro Natl Acad Sci 69:1601, 1972.
34. Narang R, Ruben MP, Harris MH, et al : Improved healing of experimental defects in the canine mandible by grafts of decalcified allogeneic bone. Oral Surg 30:142, 1970.
35. Narang R, Wells H : Bone induction in experimental periodontal bony defects in dogs with decalcified allogeneic bone matrix graft: A preliminary study. Oral Surg 33:306, 1972.
36. 정기돈, 김태규, 양동규 : 가토에서 골조직분말과 Hydroxylapatite분말의 혼합비에 따른 골결손부위 재생에 관하여. 대한구강악안면임프란트학회지 1:59, 1995.

사진부도 1

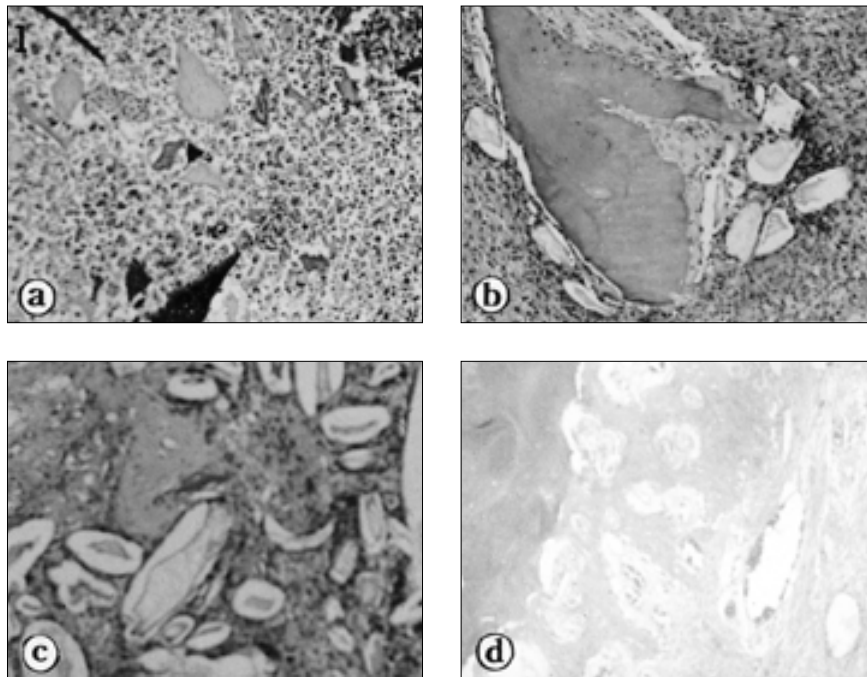


Fig. 1. 1-week after implantation.

- a. Toothhash-plaster mixture,
- c. Resorbable HA,

- b. Demineralized freeze-dried bone
- d. Control group (H-E stain, X100)

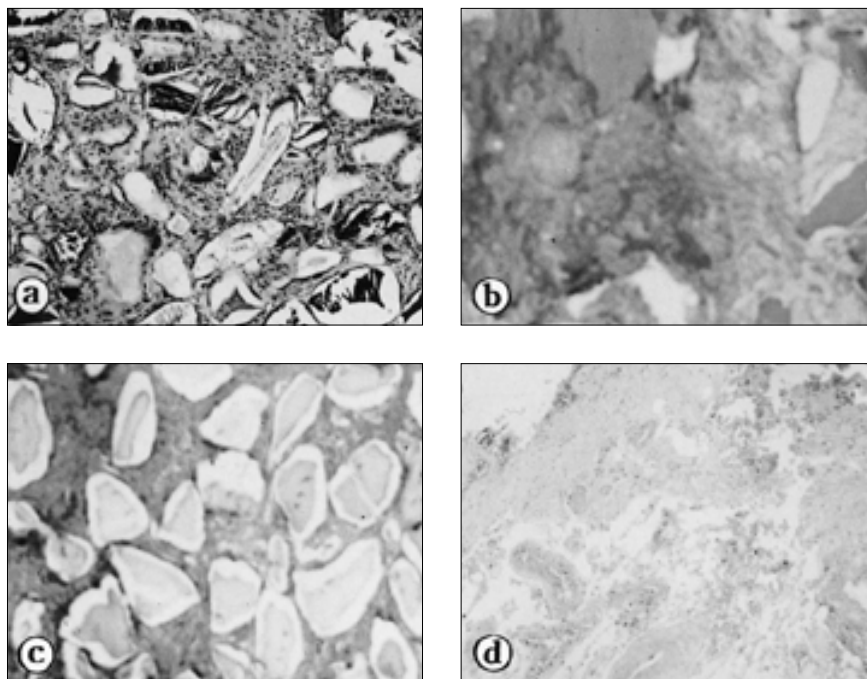


Fig. 2. 3-week after implantation.

- a. Toothhash-plaster mixture,
- c. Resorbable HA,

- b. Demineralized freeze-dried bone,
- d. Control group (H-E stain, X100)

사진부도 2

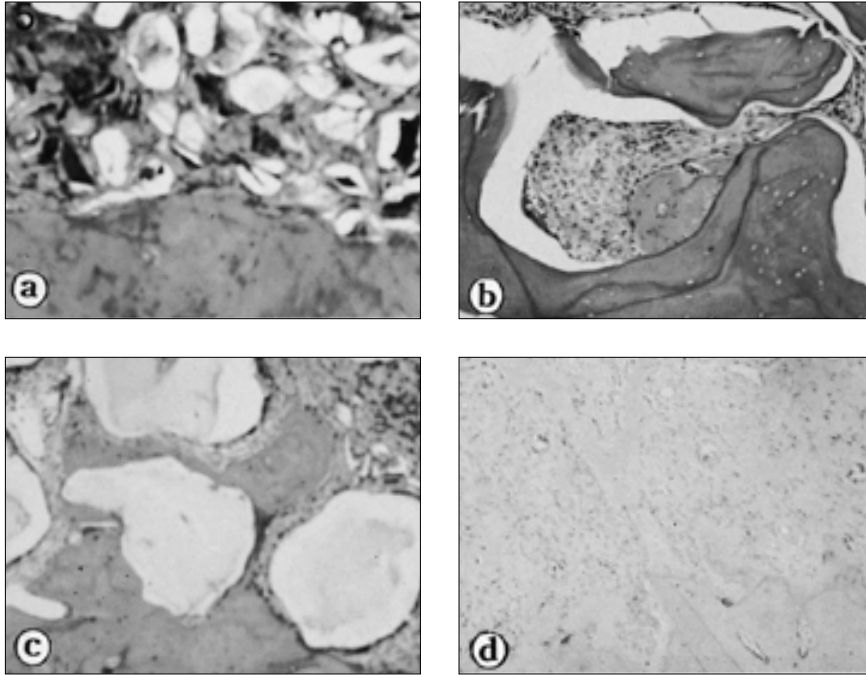


Fig. 3. 5-week after implantation
a. Toothash-plaster mixture,
c. Resorbable HA,

b. Demineralized freeze-dried bone,
d. Control group (H-E stain, X100)

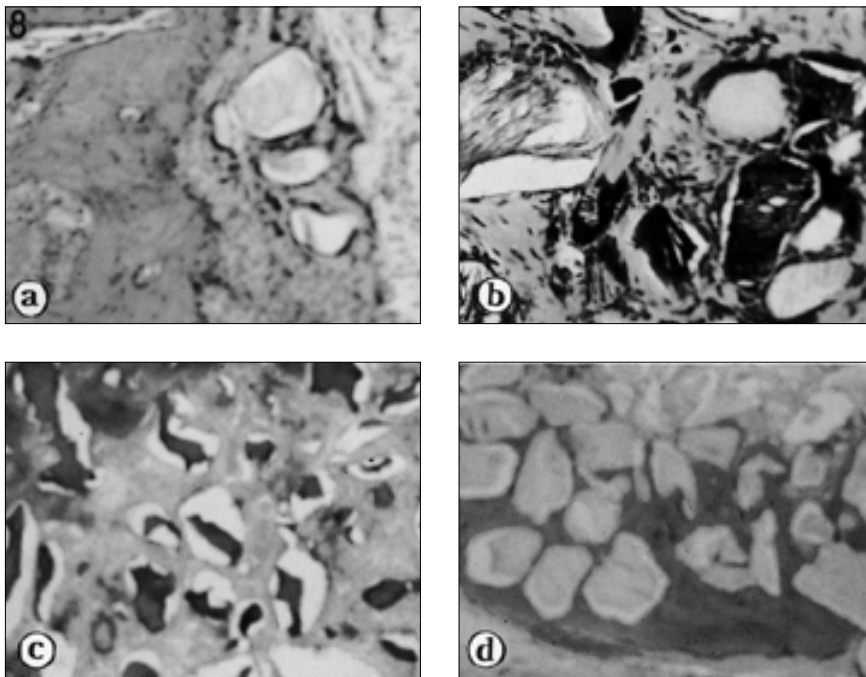


Fig. 4. 8-week after implantation

a. Toothash-plaster mixture (H-E stain, X100), b. Demineralized freeze-dried bone (X200),
c. Resorbable HA (X40), d. Control group (X40)

사진부도 3

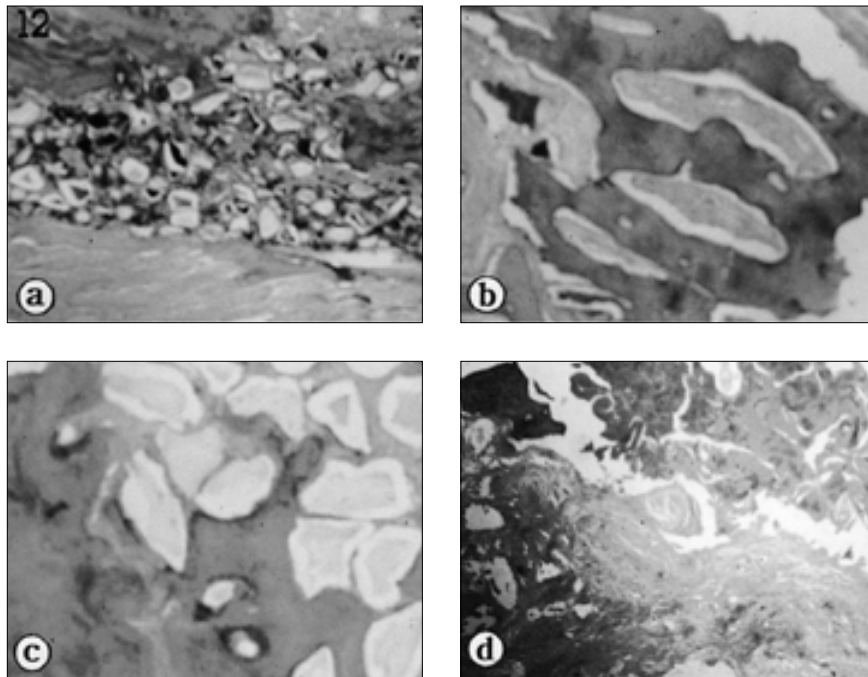


Fig. 5. 12-week after implantation
a. Toothhash-plaster mixture (H-E stain, X20), b. Demineralized freeze-dried bone (X40)
c. Resorbable HA (X40), d. Control group (X20)

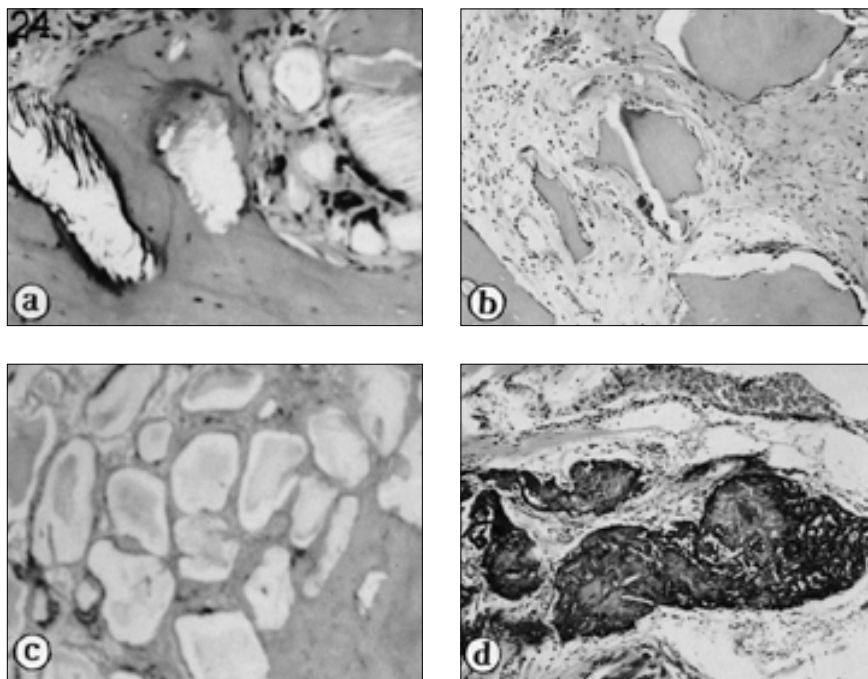


Fig. 6. 24-week after implantation
a. Toothhash-plaster mixture (H-E stain, X200), b. Demineralized freeze-dried bone (X100)
c. Resorbable HA (X40), d. Control group (X100)