흰 쥐 모델에서 지연재식 시 dexamethasone과 OP-1의 표면처리가 치주조직 재생 및 항흡수 작용에 미치는 효과

권오택 · 금기연 · 이승종
연세대학교 치과대학 치과보존학교실

ABSTRACT

THE EFFECT OF PERIODONTAL REGENERATION AND ANTI-RESORPTION OF DEXAMETHASONE AND OP-1 FOLLOWING DELAYED REPLANTATION IN RAT MODEL

O-Taek Kwon, Kee-Yeon Kum, Seung-Jong Lee
Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University

The purpose of this study was to observe the effect of dexamethasone and osteogenic protein-1(BMP-7) on bone, cementum and periodontal tissue regeneration. A total of 60 Sprague-Dawley white female mice were selected and beta-APN was used for five days to extract the maxillary first molar atraumatically. After the extraction of the teeth, the mesiobuccal root canal was filled with Caviton^{R}. The teeth were etched with citric acid for 1min and coated with one of four different experimental solutions: DEX(500nM/ml), DEX(1000nM/ml), OP-1(100㎍/ml), and OP-1(500㎍/ml) for three minutes depending on the group. All teeth were then replanted under microscope. All replantation procedures were done within 30 minutes. Teeth that were replanted after 30 minutes of bench dry only was used as positive control. All animals were sacrificed at 3 weeks following replantation, and histologic observtion was done.

The results were as follows:

1. Active root resorption rate was decreased by the order of OP-1(500㎍/ml), DEX(1000nM/ml), OP-1(100㎍/ml), and DEX(500nM/ml). There was statistically less root resorption in OP-1(500㎍/ml) and DEX(1000nM/ml) group($P<0.05$).
2. The group with higher concentration of dexamethasone(1000nM/ml) had statistically more bone union compared to positive control group($P<0.05$),but there were no significant differences among four experimental groups.
3. OP-1(500㎍/ml) and DEX(1000nM/ml) groups showed less degree of inflammation compared to the OP-1(100㎍/ml), DEX(500nM/ml),and positive control group ($P<0.05$).

In conclusion, the group with higher concentration of OP-1 had the best results on root resorption, bone ankylosis and anti-inflammatory effects compared to the other experimental groups, but a long-term study is also necessary to evaluate the exact pharmacological effects of the drugs in the future.

Key words : Inflammatory root resorption, Ankylosis, Inflammation, Dexamethasone, OP-1

※본 논문은 1999년도 연세대학교 학술연구비의 지원을 받아 이루어진 연구임.

Ⅰ. 서 론

치아 재식은 통법의 근관 치료가 실패하고 해부학적인 문제로 인하여 정상적인 치근단 수술을 시행하기 어렵거나 안면외상 등에 의해 치아가 완전 탈구되었을 때 시행하는 술식이다. 그러나 이 술식은 치조 골과 백악질 사이의 치주인대의 손상 없이 치아를 발거하거나 재식하기가 불가능하기 때문에 표면흡수, 염증성 치근흡수 및 골성 유합이 빈번히 나타난다. 일반적으로 표면흡수는 파치 세포의 흡수 능력이 떨어지면서 점차 섬유아 유사세포(fibroblast-like cell) 들이 늘어나고 이들 세포들에 의해 백악질이 분비면서 치유가 일어난다고 알려져 있지만[1], 백악질과 intermediate cementum 이 소실되면 상아세관은 세균과 독소산물의 통로로 작용하여 치주인대에 염증반응이 일어나고 치근과 치조골이 파괴되는 염증성 치근흡수(inflammatory root resorption)가 야기되는데 대부분 근관 치료에 의해 흡수가 중단될 수 있지만 경우에 따라서는 근관 치료 후에도 약 40주간 염증성 흡수가 지속될 수 있다고 보고되고 있다[2,3].

탈구 후 재식 기간이 길었거나 탈구된 치아의 저장방법이 부적절하여 치주인대 세포의 생활력이 많이 소실되었을 경우에는 치주인대의 재생 없이 골과 치근 사이의 유착성 융합이 일어나게 되고 점진적으로 치근은 층판골로 대치되게 된다. 이를 대치성 치근흡수(replacement root resorption) 혹은 골성 유합(ankylosis)이라고 하는데 재식 후 약 3개월부터 치근단 $\frac{1}{3}$에서 흔히 관찰되며 대부분의 경우 1년 이내에 일어난다고 알려져 있다[4]. 대치성 치근흡수를 예방하기 위해서는 가능한 치주인대의 손상을 최소화하고 15~20분 이내에 재식해야 하며, 치아의 건조를 막기 위해 적절한 보관용액의 선택도 매우 중요하다[5].

치주인대의 괴사가 예측되는 경우에 전통적으로 치근표면을 NaF, SnF_2, tetracycline, citric acid, hypochloric acid, calcium hydroxide, bisphosphonates, formalin, alcohol, indomethacin 등으로 처치 후 재식하는 방법들이 시도되었으나 각 약제에 대한 장기간의 치근흡수 방지 효과에 대해서는 연구자마다 다른 이견을 보였으며[6], 치아와 발치와 사이에 silicone grease나 methyl methacrylate, absorbable surgical sponge, venous tissue, fascia 등을 위치시키는 방법 역시 만족할 만한 결과를 보여주지 못하였다[7].

최근 dexamethasone(이하 DEX)은 치주인대의 손상으로 야기되는 초기 염증성 반응에서 골 흡수의 활동성과 파치 세포의 생존력을 억제하고 조백아 세포(cementoblast)에 의한 치유가 가능하도록 유도하며, 국소적인 치근면 도포 후에도 치주조직의 치유가 우수한 것으로 보고되고 있다[8-10].

Bone morphogenic protein(이하 BMP)은 1965년 Urist[11]에 의해 그 존재가 처음 알려진 이래 골화를 유도하는 신호전달 체계가 있음이 밝혀졌고[12] 현재까지 BMP-1에서 BMP-13까지 13종류가 보고되고 있으며[13], 최근 C-proteinase임이 밝혀진 BMP-1을 제외한 나머지 BMP는 transforming growth factor(TGF)-beta super family의 일원으로 분류되고 있다[14].

이중 BMP-7(OP-1)은 신생 골과 신생 백악질 형성을 촉진하여 치주 재생을 증진시키며 골성 유착 없이 치주조직을 재생시킬 수 있음이 보고되었다[15]. 그러나 지금까지 보고된 연구들은 주로 치주 영역에서 치아를 발거하지 않은 상태에서 OP-1을 도포한 후 조직학적으로 관찰한 실험이 대부분이었고, 재식을 위해 치아를 발거한 상태에서 OP-1과 DEX의 효과에 대한 연구보고는 매우 미흡하다.

따라서 본 연구는 백서의 상악 제1대구치를 발거하여 DEX와 OP-1을 농도를 달리하여 치근면에 도포하고 재식한 후 치주조직의 재생 및 치근흡수 억제 효과를 조직학적으로 평가하고자 하였다.

Ⅱ. 연구재료 및 방법

1. 실험 동물의 전 처치

생후 4주된 체중 100gm 내외의 암컷 Sprague-Dawley계 흰쥐 60마리를 이용하였으며, 용이한 발치를 위해 0.4% β-aminopropriontrile(β-APN, Chemical Co., Sigma, USA)을 함유한 purina 분말을 발치 전 5일간 공급하였다. Ketamine(0.1mL/100gm) 마취 하에 상악 제1대구치를 날카로운 탐침으로 peritomy를 시행한 후 주위조직에 최소한의 외상을 가하면서 발치하였다. 이 때 발치와의 출혈은 면봉으로 조절하였고 발치 후 현미경 하에서 5개 치근의 건전성 여부를 확인하고 가장 굵고 긴 근심 협측근을 실험에 사용하였다.

2. 근관 처치

감염 근관의 영향을 배제하기 위하여 현미경 하에서 소독된 #330 bur를 사용하여 치수강을 개방하고 근심 협측근의 치수를 #40 H-file로 제거한 후 NaOCl 용액과 saline을 번갈아 가며 세척 건조하고 endodontic vertical condenser를 이용하여 치관 부위에서 치근쪽으로 Caviton (Dentzply, Switzerland)을 가압충전 하였다.

3. 실험군 처리

가. 치주인대 처치 및 양성대조군

근관충전 후 citric acid에 1분 동안 담가두었다가 saline

으로 세척한 후 일정시간 자연 건조시키고 실험약제에 3분 동안 담근 다음 재식 하였다. 발치에서 재식까지 약 30분이 소요되도록 조절하였으며, 근관치료 후 30분간 자연건조시키고 아무런 처치를 하지 않고 재식한 실험군을 양성 대조군으로 정하였다.

나. 음성대조군

치아 및 치주인대와 치조골의 손상을 최소화하기 위해서 beta-APN을 5일 동안 섭취시킨 다음 특별히 고안한 발치 감자를 사용해서 최소한의 외상으로 발거 후 즉시 재식 하였으며 3주 후에 희생하고 비발치 표본과 조직학적으로 비교하였다.

다. Dexamethasone(500nM/ml, 1000nM/ml)군

기본 용액인 dexamethasone (Sigma Chemical Co, USA) 20mM 에서 2㎕를 취하여 100% 에탄올 1998㎕와 혼합하여 10㎛M/2000㎕의 stock solution을 제조하였다. 제조된 stock solution에서 50㎕를 취하여 에탄올 950㎕를 혼합하여 DEX 500nM/ml를 얻었다. 또한 DEX 1000nM/ml를 얻기 위해 stock solution에서 100㎕를 취한 후 에탄올 900㎕와 혼합하였다.

라. OP-1(100㎍/ml, 500㎍/ml)군

OP-1은 용매인 Tri-Fluoro-Acetic acid(TFA, $C_2HF_3O_2$: Sigma Chemical Co. USA)와 혼합하여 제조하였다. 10ml의 solvent를 만들기 위해서 TFA 10㎕를 취하여 에탄올 9.99ml를 혼합하였다. 실험군에 사용될 OP-1 100㎍/ml를 만들기 위해서는 solvent 1000ml에 OP-1 100㎍을 첨가하였다. 또한 OP-1 50㎍에 solvent 100㎕를 혼합하여 500㎍/ml를 제조하였다.

Table 1. Experimental treatment solutions for replantation.

Group	Experimental Solutions	No.
Positive control	30 minutes bench dry and replantation	8
Group 1	DEX (500nM/ml)	9
Group 2	DEX (1000nM/ml)	8
Group 3	OP-1 (100㎍/ml)	9
Group 4	OP-1 (500㎍/ml)	8

Numbers indicate actual number of successfully processed teeth

4. 실험동물의 희생 및 표본제작

모든 실험 군은 재식 3주 후에 Ketamine(0.1mL/100gm, Korea) 마취하에 실험동물의 가슴을 절개하고 심장을 노출시킨 후 하대정맥과 동맥을 겸자를 이용하여 결찰하고 양쪽 목 정맥을 절개하였다. 좌심실에 23G 주사기를 삽입시키고 0.9% 생리식염수로 동물의 피를 흘려버린 뒤 10% formalin 40ml를 심장을 통해 관류 고정한 후 상악 턱뼈를 적출하였다. 적출한 상악 턱뼈는 5% nitric acid에 5일간 탈회한 후 상악 제1대구치를 시상면에서 근원심 방향으로 절단하고 치근과 치근 첨이 잘 연결된 조직을 선택하여 0.1M sodium cacodylate buffer로 세척하고 50%에서 100% ethanol로 단계적으로 탈수시킨 다음 xylene으로 침착시킨 후 paraffin에 포매하였다. 광학현미경 관찰을 위해 microtome을 이용하여 4um 두께로 박절한 표본을 제작하고 hematoxylin-eosin로 염색하였다.

5. 조직학적인 관찰

가. 치주인대 및 치근면의 치유정도

섬유아 세포의 배열, 신생 백악질의 생성정도, 표면흡수의 치유정도 등을 조직표본상에서 관찰하였다.

나. 치근의 흡수정도 평가

상악 제1대구치의 근심근의 원심측면을 Image-Pro System(Version3.0 Media Cybernetics, Maryland, USA)사용하여 아래의 변수를 분석측정하였다.

① 전체 치근면의 길이 : 치근단에서 furcation의 가장 깊은 부위까지를 전체길이로 하여 측정하였다.
② 활동성 흡수길이(%) : 주로 염증성 흡수로서 치근 두께의 1/2이상이 급격히 흡수되거나 파치 세포가 명확히 관찰되어 급속하게 흡수되는 면의 길이를 측정하여 전체 치근길이에 대한 %로 나타내었다.
③ 골 유합면 길이(%) : 골과의 유합된 치근면 길이를 측정하여 전체 치근길이에 대한 %로 나타내었다.

6. 실험자료의 분석

양성대조군 및 각 실험군의 근심 협측근의 원심면의 치근길이에 대한 활동성 치근흡수 및 골성 유합 정도를 비교하기 위해서 비모수 검정법인 Kruskal-Wallis 검정법을 사용하였으며 각 군에 대한 비교는 Tukey의 다중비교를 실시하였다.

Ⅲ. 연구성적

1. 조직학적 관찰소견

가. 즉시 재식군

발치 후 즉시 재식한 군의 경우 치근단 부위에 백악질이 많이 생성된 것을 관찰할 수 있었으며, 섬유아 세포들을 규칙적으로 치근면에 대해 사선 방향으로 배열되어 있었다. 염증세포는 거의 없었고 약간의 표면흡수만 관찰되었다.

나. 양성 대조군

광범위한 흡수양상을 볼 수 있었고 치근면을 따라 파치 세포가 존재하는 부위가 많이 발견되었다. 치근면은 물론 치근단에도 염증세포가 많이 관찰되었다.

다. DEX(500nM/ml) 군

한쪽 부분에서는 활동성의 염증성 흡수가 나타나고 다른 부분에서는 치주조직의 재형성 및 ankylosis가 나타났다. 섬유아 세포들의 배열은 불규칙하였고 파치 세포가 존재하는 곳은 치근의 흡수뿐만 아니라 치조골도 흡수되는 경향을 보였다.

라. DEX (1000nM/ml) 군

다량의 골 생성이 관찰되었으며, 대부분 치근과의 골 유합이 발생하였다. 골유합은 치근이 흡수되지 않은 상태에서 백악질과 직접적으로 부착되는 경우가 많았으며 조골세포는 골에 의해서 갇혀져 있는 양상을 보이고 있었다. 염증세포가 거의 관찰되지 않았다.

마. OP-1 (100㎍/ml) 군

양성 대조군에 비해 적지만 상당량의 치근흡수를 관찰할 수 있었다. 파치세포가 존재하는 곳은 만(Bay-like)과 같은 흡수양상을 볼 수 있었으며 섬유아 세포들의 배열은 불규칙하고 치근단 뿐만 아니라 치근면에서도 염증세포가 존재하였다.

바. OP-1 (500㎍/ml) 군

골 생성은 물론 새로운 백악질의 형성이 관찰되었다. 고농도의 DEX보다는 적었으나 골성 유합이 나타난 곳은 많았고, osteoid matrix 주위로 커다란 조골아 세포들이 왕성하게 활동하고 있었다. 표면흡수는 백악질에 의해 치유되고 있었으나 섬유아 세포들의 배열은 불규칙하였다.

2. 치근표면상의 흡수길이 측정

가. 활동성 치근흡수 길이 측정

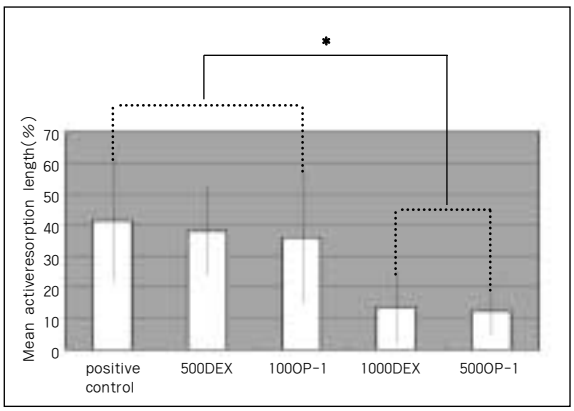

Fig. 1. Mean active resorption length (%) among experimental groups. * Statistically different at p〈0.05.

나. 골 유합의 길이 측정

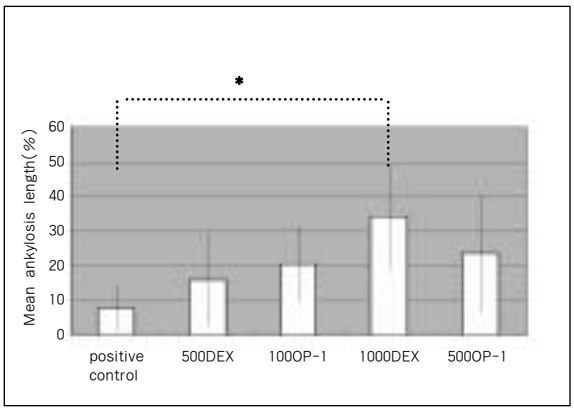

Fig. 2. Mean ankylosis length (%) among experimental groups. * Statistically different at p〈0.05.

다. 염증 정도(severity)의 측정

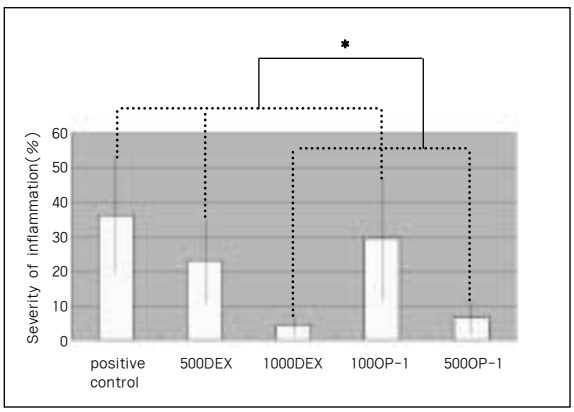

Fig 3. Mean inflammation severity (%) among experimental groups. * Statistically different at p〈0.05.

Ⅴ. 총괄 및 고찰

치아재식 후 치수 및 치주조직의 치유를 평가하기 위한 적절한 동물실험 모델의 개발은 현재까지 해결되지 않은 과제이다.

Andreason[2,4]은 vervet monkey를 이용한 치아 재식모델을 통하여 치주인대에 가하는 손상정도와 근관치료 여부에 따라 발생하는 치근흡수 유형을 조절할 수 있었다고 보고하였으나, 원숭이의 경우는 구입이나 사육비용이 너무 높고 치아 주위조직이 너무 견고하여 발치과정이 힘들다는 단점이 있다.

반면에 쥐와 같은 작은 동물들은 사육비용이 저렴해서 충분한 수의 동물을 이용할 수 있고 개체간의 유전적인 일관성도 성견과 원숭이에 비해 더 우수하여 일관성 있는 실험결과를 기대할 수 있으며, 손상 받은 조직의 치유능력이 우수하여 전체 치유과정을 단기간에 관찰할 수 있다는 장점을 가지고 있어 재식 연구를 위한 모델로 각광을 받고 있다.

일반적으로 치아 재식을 위한 발치 도중에 치아나 주위조직에 가해지는 외상을 최소로 해야 하는 것은 주지의 사실이다. 그러나 본 연구에 사용된 흰쥐의 상악 제1대구치는 치근이 5개이기 때문에 무리하게 힘을 주면 치근이 파절 될 수 있으며 3개월 이상 자란 쥐는 골의 견고성이 증가하여 발치가 더욱더 어려워진다.

Cho 등[16,17]은 흰쥐 재식 모델에서 이 문제를 해결하기 위하여 β-ANP을 사용하였는데 β-ANP은 치주인대 섬유의 amine oxidase를 억제시켜 콜라겐의 α-사슬 상에서 lysyl-derived aldehyde group의 형성을 저지함으로써 콜라겐 분자의 교차 결합이 차단되어 인장력이 감소돼 발치가 용이해진다고 보고하였으며, Barrington[18]은 β-APN 식이를 중지한 3일 후부터 치주인대가 다시 정상으로 회복되고 섬유 또는 세포에 비가역적인 변화를 초래하지 않는다고 하였으며, 인장력 또한 교차결합이 다시 형성하면서 원 상태로 회복된다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 40일 된 백서의 암컷을 대상으로 β-APN이 포함된 식이를 통하여 치조골이나 주위 연조직에 가해지는 자극을 최소로 줄이면서 발치를 할 수 있었고 β-APN 사용으로 인한 조직반응을 알아보기 위해 설정한 음성 대조군 역시 정상 쥐의 조직 표본과 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

치아재식 모델에서 발치과정에 의한 술자에 의한 자극을 줄이는 것 또한 일관성있는 실험 결과를 얻기 위하여 매우 중요하다. Birkedal-Hansen[19]은 Wistar 쥐의 제1대구치를 elevator로 탈구만 시켜도 압력을 받는 부위에 표면흡수가 발생하며, 염증성 흡수는 elevator가 위치한 제1 및 제2 대구치 사이에 호발한다고 하였다. Andreason[20]은 원숭이를 이용한 재식 실험에서 발치에 소요된 시간과 발치 시에 가해지는 힘의 양도 흡수정도에 영향을 미친다고 하였는데, 발치시간이 길어질수록 치근흡수 양상도 증가하였으며 힘을 많이 받는 corner 부위가 움푹 파이거나 편평한 부위보다 증가된 치근 흡수를 보였다고 하였다.

본 실험에서는 발치 시 주위조직에 최소의 자극이 가해지도록 특수 고안된 발치감자를 사용하였으며 단번에 발거되지 않고 약간의 주저가 있었던 치아는 실험 군에서 모두 제외시켰다.

치아재식 모델에서 고려해야 할 또 하나의 중요한 요소 가운데 재식치의 치수의 처리 문제가 있다. Kwon 등[21]은 흰쥐의 상악 제1대구치의 치근단 공을 paraffin wax으로 밀봉하고 재식한 후 만족할 결과를 보였다고 보고하였으나 예비실험 결과 염증세포가 치근단 공을 넘어서 치근면을 따라 coronal 부위로 광범위하게 퍼져나가는 표본을 여러 개 관찰할 수 있었다. 즉 괴사된 치수를 근관 내에 남겨놓은 상태에서 불완전한 밀봉제로 단순히 치근단 공을 막는 것은 실험 결과에 많은 오차를 야기할 수 있는 여지가 남을 수 있다. 따라서 본 연구에서는 근관내의 치수를 제거하기 위하여 현미경 하에서 발거된 상악 제1대구치를 소독된 고속용 bur로 치수강을 개방하고 근심협측 근관을 #40-H file 과 NaOCl을 사용하여 치수를 제거한 후 생물학적으로 독성이 없으면서 밀봉 효과가 뛰어난 것으로 보고된 Caviton을 이용하여 근관 내를 완전히 밀봉하고 다시 한번 역 충천을 시행하였다. 3주 후 조직학적으로 관찰한 예비실험 결과 치근단공 주위에 약간의 염증세포가 존재하였으나 계속해서 치근면을 따라 치관부 쪽으로 번지는 염증은 존재하지 않아 이 실험 방법을 선택하였다.

치아 재식 실험에서 고려해야 할 요인가운데 재식 시간도 또한 예후에 영향을 미칠 수 있다. 쥐의 상악 제1대구치는 치근 수가 5개이고 재식 방향이 발치와와수직 방향이 아니기 때문에 상당한 숙련자가 아니면 재식 시간이 길어질 수밖에 없다. 따라서 현미경 하에서 예비실험을 통하여 충분히 숙달되도록 노력하였으며, 실험과정에서는 발거 직후 발치와는 면봉으로 압력을 주어 완전히 지혈시킨 다음 5개의 발치와를 확인하면서 근심 협측근을 기준으로 재식 하였으며, 재식 시 약간의 주저(hesitation)가 있었던 표본은 실험에서 모두 제외시켰다.

실험치의 치주인대를 제거하는 방법에 따라서 치주인대의 치유 및 치근흡수의 양상도 큰 차이가 존재할 수 있다. 치주인대를 제거하는 방법은 5가지가 보고되고 있는데 치근 활택술이나 bur를 이용한 기계적인 제거방법[22], 자연 건조법[23], 근관을 통하여 열을 적용시켜 치주인대의 괴사를 유도하는 방법[24], 액체질소와 같은 cold를 치아에 적용시키는 방법[25], citric acid[26]나 NaOCl[27]과 같은 약제를 사용하여 치주인대를 제거하는 방법이 있다. Hanes 등[28]은 치근 표면에 citric acid를 처리하면 표면의 collagen을 노출시켜 attachment fibronection과 같은 부착요소가 쉽게 안착되

고, 섬유아세포의 이동(migration)이나 collagen 합성 등을 촉진시킬 수 있다고 보고하였다[29-32].

따라서 본 실험에서도 발거된 치아의 치근면에 1분 정도 citric acid를 처리함으로써 상기의 목적을 기대하였고 OP-1 이나 dexamethasone 같은 실험용액의 침투나 저류도 쉽게 일어날 수 있도록 하여 치주조직의 재생을 촉진시킬 목적으로 사용하였다. 그러나 산에 의한 치근탈회 후 치주조직 재형성에 도움을 줄 수 있는 적절한 산의 종류나 pH를 규명하기 위한 실험은 추 후 보강되어야 할 것으로 사료된다.

DEX는 치아 재식 후 파치 세포에 의한 골 흡수를 감소시키기 위해 주로 사용되며 그 작용 기전을 살펴보면 직접적인 수용체 조절(receptor mediate)에 의한 방법[33]과 파치 세포들에 대한 세포독성(cytotoxicity)에 의해 이들 세포 수를 감소시키는 방법으로, 후자의 경우는 파치 세포들에 대한 calcitonin 수용체를 향상시켜서 골을 흡수하는 기능을 갖고 있는 호르몬의 전체 농도를 낮추는 방법에 의해 골 흡수를 억제 시키는 방법이다[34].

V. Sae-Lim 등[10]은 DEX를 사용하여 재식치의 치주치유능력을 관찰한 실험에서 전신적으로 DEX를 사용한 실험군에서 좋지않은 결과로 나온 이유를 두 가지 가설로 설명하였다. 첫째는 전신적으로 볼 때는 높은 농도나 해당 염증 조직에 작용하여 충분한 치료효과를 얻을 수 있는 local 농도로는 부족하다는 것이고, 또 한 가지는 DEX를 전신적으로 투여하게 되면 소장의 calcium 흡수가 감소되어 pituitary hormone의 생산을 증가시켜 국지적인 효과를 가리게(mask)되고 전체적으로 골 흡수 능력이 증가되기 때문이라고 설명하였다.

본 실험에서는 DEX를 재식치의 치근면에 두 가지 농도로 달리하여 국소적으로 도포하고 관찰하였는데 고 농도로 갈수록 염증 반응이 감소하였고 새로운 골의 생성이 늘어났으며, 치아와의 유착도 증가되어 첫 번째 가설과 일치하는 결과를 보여주었다.

Bone morphogenic protein(BMP)은 1965년 처음 소개된 이후 치의학에서는 주로 치주 영역에서 많이 연구되어 왔으며 약 16~18kDa의 subunit를 가지는 dimeric molecule임이 밝혀졌다[11]. BMP는 세 개의 하부군(subgroup)으로 나뉘어 지는데 첫 번째 군인 BMP-2와 BMP-4는 서로간에 86%정도가 동일한 아미노산 구조를 가지며, 두 번째 subgroup인 BMP-5, BMP-6, BMP-7은 71~80%의 동질성을 공유하고, 세 번째 subgroup인 BMP-3는 가장 독특하며 BMP-2와 45%의 동질성을 가진다. 지금까지 밝혀진 BMP의 기능을 살펴보면 BMP-3는 배아의 골격형성 및 골격의 항상성을 유지하고, BMP-2, 3, 4, 6은 태아 발달 중에 기관을 형성하며, BMP-7은 CNS 발달에 관여하고, BMP-2,4는 치배, 조상아 세포층, palatal shelves 등의 조직형성에 영향을 주는 것으로 밝혀졌다[12].

치아와 치아 주위조직에 관한 BMP의 연구에서는 BMP-7(OP-1)이 신생 골과 신생 백악질 형성을 촉진하고 골성 유착 없이 치주 재생을 증진시킬 수 있음이 보고되었으며[35,36] 건전한 치주인대 조직에 BMP를 적용할 경우 초기에 골 형성을 보이다가 기능 운동이 가해지면서 정상적인 치주인대를 유지할 수 있다고 보고되었다[37]. 1996년 Ripamonti 등[38]은 원숭이 제1대구치에 class Ⅲ furcation defect를 만들고 BMP를 적용한 실험에서 60일 경과 후 새로운 백악질과 치주인대의 재형성 및 기능적으로 periodontal Sharpey's fiber가 새로운 백악질에 삽입됨을 발견하였다고 보고하였으며, 1994년 Ripamonti 등[39]은 BMP들이 치주인대의 항상성 유지에 큰 기여를 한다고 보고하였다.

그러나 지금까지 보고된 많은 논문들이 주로 치아를 발거하지 않은 상태에서 치주조직에 상처를 주고 BMP를 바른 다음 치주 조직의 치유능력을 관찰한 실험이었다. 그러므로 본 실험에서는 치아 발거 후 치근 표면의 치주인대 세포들을 30분 정도 공기 중에 건조시킨 다음 BMP를 도포하면 재식 후에도 위와 같은 치유능력을 나타낼 수 있는가를 알아보고자 BMP-7(OP-1)을 농도를 달리하여(100㎍/ml, 500㎍/ml) 치근 표면에 도포하고 3주 후 조직학적으로 관찰하였다.

양성 대조군과 비교 시 농도 증가에 따라 골 부피가 증가하였고 치근흡수도 현저히 줄어들었으며, 치주조직의 재형성과 기능적인 Sharpey 섬유의 삽입도 관찰이 가능하였으나 농도가 높아지면서 골성 유합이 많이 관찰되었다. OP-1 처리 후 관찰된 골 유합의 전반적인 특징은 치근이 흡수되면서 골 유합이 발생하는 것이 아니라 기존의 백악질 위에 직접 유합되는 경우가 많았는데 고농도의 DEX 군에서도 이와 비슷한 특징을 나타내었다.

Andreason[40]은 이들 골 유합이 일어나는 유형을 두 가지로 언급하였는데, solid plate가 intact한 백악질과 결합하는 형태나 solid plate가 흡수된 백악질이나 상아질과 융합하는 방식을 취할 것이라고 추측하였을 뿐 골 유합의 정확한 기전(pathogenesis)이나 장기간의 예후에 대해서는 설명하지 못 하였다.

Wesselink 등[41]은 치아재식 후 기능적인 저작력과 골 유합의 상관관계를 언급하였는데, 골 유합은 치유과정의 일부분의 과정일 뿐 기능적인 저작력에 의하여 골 유합은 급격히 소실된다고 언급하였다. Gaston 등[37]은 Wister rat의 치주조직에 상처(periodontal defect)를 만든 다음 정상 교합군과 상대악 치아를 발거하여 저 기능(hypofunction)의 저작력이 주어지도록 한 대조군을 10일 뒤와 35일 뒤에 조직학 적으로 관찰한 결과 초기에는 양쪽 모두에서 일시적(transient)으로 골 융합이 증가하였으나, 35일 후에는 정

상 교합군에서 transient ankylosis가 사라졌다고 보고하였다.

그는 초기 치유시의 기능적인 저작력은 치유에 큰 도움을 주지 못하나 어느 정도의 골이 재형성 된 다음에는 저작력이 골 융합 방지에 큰 도움을 준다고 언급하였다. 여기서 언급한 transient ankylosis는 앞에서 언급한 백악질 위로 직접 부착된 골 유합이거나 혹은 초기에 급속하게 생성되는 골과 비슷한 종류의 백악질일 수도 있을 것이다. 전자의 경우라면 실험기간을 6주로 늘려 조직학적으로 관찰해보면 골 유합이 많이 감소된 것으로 보일 것이고, 만일 기능적인 교합력에 대한 효과를 비교하기 위해서는 추 후 실험방법을 한쪽 부위는 상대악 치아를 발거하거나 실험 치아를 침잠(sub-merging)하여 장기간으로 관찰해 보면 가능하리라 생각된다.

본 연구를 종합하면 통계학적인 유의차는 없었으나 OP-1에 비해서는 DEX로 처치한 군에서 더 많은 골 유합이 나타났으며, 고농도의 OP-1으로 처치한 군에서는 골 유합 없이 치주재생이 일어나는 부위가 많이 관찰되었다.

그러나 차후에는 DEX나 OP-1이 치주조직내의 어느 세포에 어떠한 기전으로 작용하는지 분자생물학적인 방법을 통하여 규명하고 이를 토대로 치주인대의 손상 후 야기되는 골성 유합을 줄이는 효과적인 치료 약제나 방법을 개발하는 연구가 계속적으로 이루어져야 할 것으로 사료되며, 6주 이상의 재식기간 후 각 약제의 조직학적 반응을 평가하기 위한 실험도 추가되어야 할 것으로 사료된다.

Ⅵ. 결 론

태생 40일 된 Spray-Dolwey 계 흰 쥐의 상악 제1대구치를 발거하고 30분간 자연건조 시킨 뒤 MB 치근을 Caviton으로 근관충전하고 MB 치근표면에 DEX와 OP-1을 농도를 달리하여 도포한 후 재식하고 3주 후 골 및 백악질의 재형성과 치주재생 및 치근 흡수 방지효과를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 활동성 치근 흡수의 정도는 OP-1 (500㎍/ml), DEX(1000nM/ml), OP-1(100㎍/ml), DEX(500nM/ml) 순서로 증가하였으며, 고농도의 OP-1 및 고농도의 DEX 군에서 유의성 있게 낮은 치근 흡수가 관찰되었다 ($P<0.05$).
2. 골성 유합의 정도는 고농도의 DEX(1000nM/ml)군만이 양성 대조군에 비해 유의성 있게 높게 관찰되었을 뿐 ($P<0.05$), 나머지 실험군 사이에는 통계학적인 유의차는 없었다.
3. 염증의 정도(severity)는 고농도의 DEX 및 OP-1 군이 저농도의 OP-1 군, DEX 군 및 양성 대조군에 비해 유의성 있게 낮게 관찰되었다($P<0.05$).

이상의 결과를 토대로, 고농도의 OP-1(500㎍/ml)이 조직학적인 관찰에서 치근흡수, 골성 유합 및 염증정도에서 가장 우수한 결과를 보여주었고, 치주 재생 능력면에서도 가장 뛰어난 것으로 나타났으나 추후에는 6주 이상의 장기관찰 후 각 약제의 조직학적 반응도를 평가하기 위한 실험이 추가되어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Lindskog S. et al.: The role of necrotic periodontal membrane in cementum resorption and ankylosis. Endo Dent Traumatol, 1985:1; 96-101.
2. Andreason JO: Analysis of topography of surface and inflammatory root resorption after replantation of mature permanent incisors in monkeys. Swed Dent J, 1980:4;135-143.
3. Andreasen J.O: Relationship between cell damage in the periodontal ligament after replantaion and subsequent development of root resorption. Acta Odontol Scand, 1981:39;15-25.
4. Andreasen J.O: Analysis of pathogenesis and topography of replacement root resorption(ankylosis) after replantation of mature permanent incisors in monkeys. Swed dent J, 1980:4;231-240.
5. Andreason JO: The effect of extra-alveolar period and storage media upon periodontal and pulpal healing after replantation of mature permanent incisors in monkeys. Int. J. Oral. Surg, 1981:10;43-53.
6. Andreason JO, Andreason FM: Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth, 3rd edi, Copenhagen and St Louis, Munksgaard and Mosby, p13-180, 1994.
7. Teranova VP, Young F: Healing regeneration and repair: prospectus for new dental treatment. Adv Dent Res, 1989:3;69-79.
8. Mcculloch CAG, Tenenbaum HC: Dexamethasone Induce Proliferation and Terminal Differentiation of Osteogenic Cells in Tissue Culture. The Anatomical Record, 1986: 215;397-402.
9. Tobias J, Chambers JT: Glucocorticoids impair bone resorption activity and viability of osteoclasts disaggregated from neonatal rat long bone. Endocrinology, 1989:125:1290-5.
10. Sae-Lim V, Metzger Z, Trope M: Local dexamethasone improves periodontal healing of replanted dogs' teeth. Endod Dent Traumatol, 1998:14; 232-236.
11. Urist MR: Bone formation of autoinduction. Science, 1965:150;893-899.
12. Aldinger G, Herr G, Kussewetter W: Bone morphogenic protein: a review. Int. Orthop, 1991:15;169-177.
13. Reddi AH: Bone and cartilage differentiation. Can. Opin. Gen. Dev, 1994:4;737-744.
14. Ripamonti U, Reddi AH: Initition of bone regeneration in adult baboons by osteogenin, a bone morphologic protein. Matrix, 1992:12;369-380.
15. Dhaarmini Rajshankar, Christopher AG: Osteogenic inhibition by rat periodontal ligament cells:modulation of bone morphogenic protein-7 activity in vivo. Cell Tissue Res, 1998:294;475-483.
16. Cho MI, Garant PR: The effect of beta-amionproprionitrile on the periodontal ligament: I.ultrastructure of

fibroblast and matrix. J Periodont Res, 1984:19:247-260.
17. Cho MI, Garant PR: The effect of beta-amionproprionitrile on the periodontal ligament.:II. Radioautographic study of collagen secretion from fibroblast. The Anatomical Record, 1984:209:41-52.
18. Barrington EP, Meyer J: Recovery of the rat dental organ from experimental lathyrism. Scan J Dent Res, 1967:11-25.
19. Birkedal-Hansen H: External root resorption caused by luxation of rat molars. Scan J Dent Res, 1973:81:47-61.
20. Andreasen JO: A time-related study of periodontal healing and root resorption activity after replantation of mature permanent incisors in monkeys. Acta Odontol Scand, 1980:4:101-110.
21. Kwon SR, Kum KY, Lee SJ: The Morphologic study and anti-resorption effect of fluoride, bisphosphonate on rat model. J. Kor. Conser. Dent, 2000:25(3):338-358.
22. Butcher EO, Vidair RV: Periodontal fiber reattachment in replanted incisors of the monkey. J Dent Res, 1955:34:569-576.
23. Andreason JO, Kristerson L: The effect of limited drying or removal of the periodontal ligament. Acta Odontol Scand, 1981:39:1-13.
24. Atrizadeh F, Kennedy J, Zander H: Ankylosis of theeth following thermal injury. J Periodont Res, 1971:6:159-167.
25. Wesselink PR, Beertsen W, Everts V: Resorption of the mouse incisor after the application of cold to the periodontal attachment-apparatus. Calcif Tissue Int, 1986:39:11-21.
26. Garret SJ, Crigger M, Egelberg J: Effects of citric acid on diseased root surfaces. J Periodont Res, 1978:13:155-163.
27. Hellsing E, Alatli-Kut I, Hammarstrom L: Experimentally induced dentoalveolar ankylosis in rats. Int Endod J, 1993:26:93-98.
28. Hanes PJ, Polson AM, Ladenheim S: Cell and fiber attachment to demineralized dentin from normal root surfaces. J Periodontol, 1985:56:752-765.
29. Klinge B, Nilveus R, Selvig KA: The effect of citric acid on repair after delayed tooth replantation in dogs. Acta Odontol Scand, 1984:42:351-359.
30. Polson AM, Frederic GT, Ladenheim S, Hanes PJ: The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. J Periodontol, 1983:55:443-446.
31. Polson AM, Hanes PJ: Cell and fiber attachment to demineralized dentin. A comparison between normal and periodontitis-affected root surfaces. J Clin Periodontol, 1987:14:357-365.
32. Zervas P, Lambrianidis T, Karabouta-Vulgaropoulou I: The effect of citric acid treatment on periodontal healing after replantation of permanent teeth. Int Endod J, 1991:24:317-325.
33. Denpster DW, Horbert WR: Glucocorticoids inhibit bone resorption by isolated rat osteoclasts by enhancing apoptosis. J Endocrinol, 1997:154:397-408.
34. Wada S, Udagawa N, Akatsu T. Nagata N, Martin TJ, Findlay DM: Regulation by calcitonin and glucocorticoids of calcitonin receptor gene expression in mouse osteoclasts. Endocrinology, 1997:138:521-9.
35. Ripamonti U, Heliotis M, Van den Heever B,and Reddi AH: Bone morphogenetic proteins induce periodontal regeneration in the baboon (papio ursinus). J Perio Res, 1994:29:438-445.
36. Ripamonti U, Reddi AH: Periodontal regeneration: potential role of bone morphogenic proteins. J Perio Res, 1994:29:225-235.
37. Gaston N, King and Francis J: Effects of occlusal loading on ankylosis bone and cementum formation during bone morphogenic protein-2-stimulated periodontal regeneration in vivo. J Perio Res, 1999:70:1125-1135.
38. Ripamonti U, Heliotis M: Induction of cementogenesis by recombinant human osteogenic protein-1 in the babbon. Arches Oral Biol, 1996:41:121-126.
39. Ripamonti U, Reddi AH: Periodontal regeneration: potential role of bone morphogenic proteins. J Periodont Res, 1994:29:438-445,
40. Andreason JO, Hjorting-Hansen E: Replantation of teeth. Ⅰ.Radiographic and clinical study of 110 human teeth replanted after accidental loss. Acta Odonto. Scand, 1966:24:263-286.
41. Wesselink PR, Beertsen W: Repair processes in the periodontium following dentoalveolar ankylosis: the effect of masticatory function. J Clin Periodontol, 1994:21:472-478.

사진부도 설명

Fig. 4-a: A photomicrograph showing periodontium in rat molar of immediately replantation (×40).

Fig. 4-b: The PDL contains numerous fibroblast (FB) oriented obliquely from the alveolar bone to the root surface. Acellular cementum is lining the coronal part of root (×100). Black arrow indicates hypercementosis.

Fig. 5-a: A photomicrograph showing periodontium in rat molar of positive control group(×100). Black arrow indicates inflammation.

Fig. 5-b: Periodontal ligament shows active resorption. There are many inflammatory cells. Black arrow indicates that inflammation cells root surface(×200).

Fig. 6-a: A photomicrograph showing periodontium of DEX (500nM/ml) treated rat molar(×100). Black arrow indicates that inflammatory cells resorb root surface.

Fig. 6-b: Active resorption with many inflammatory cells and cementum repair along the root surface can be observed. The alveolar bone shows multiple Howship's lacunae and osteoclasts(×200).

Fig. 7-a: A photomicrograph showing periodontium in rat molar of 1000nM/ml DEX group(×100). Black arrow indicate active replacement resorption cab be observed.

Fig. 7-b: Active replacement resorption can be observed(×200).

Fig. 8-a: A photomicrograph showing periodontium in rat molar of OP-1(100㎍/ml) group(×100).

Fig. 8-b: Active root resorption can be observed. Multiple osteoclasts(black arrow)are located at root surface forming large resorption cavities. Also note the osteoclastic activity in the alveolar bone at this level(×200).

Fig. 9-a: A photomicrograph showing periodontium of OP-1 (500ug/ml) treated rat molar (×100).

Fig. 9-b: Hyaline-like material (black arrow) is deposited on the cementum of root surface. Large fibroblasts like cells are incorporated in the hyaline- like material(×200).

사진부도 ①

Fig. 4a

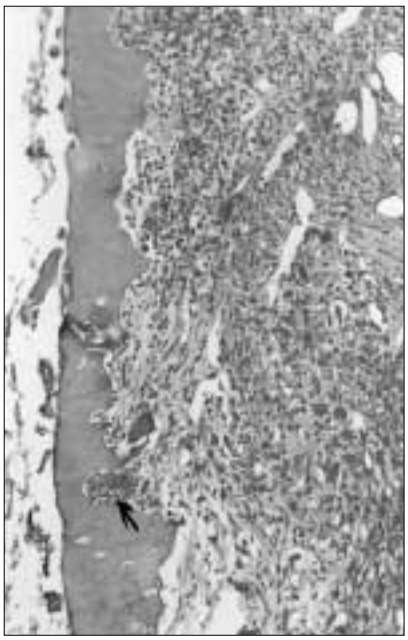

Fig. 5a

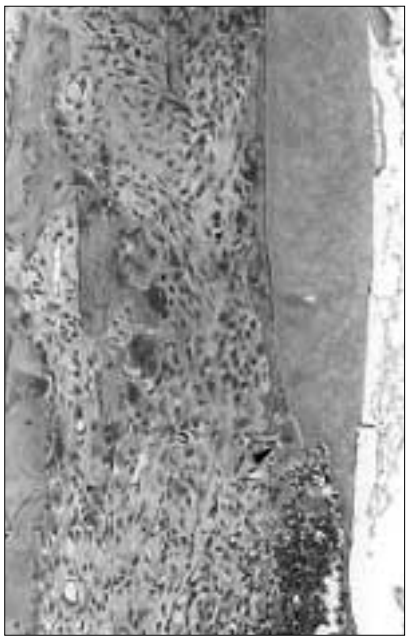

Fig. 6a

Fig. 4b

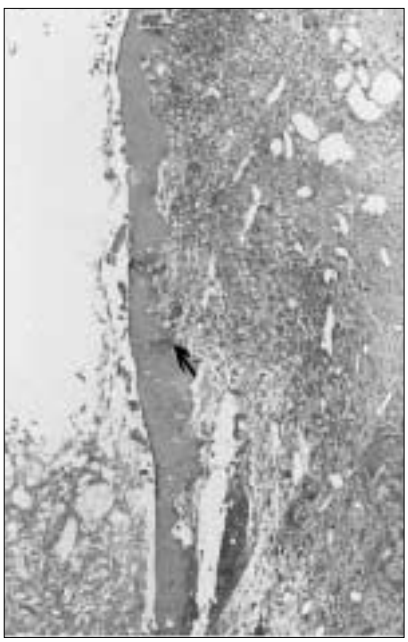

Fig. 5b

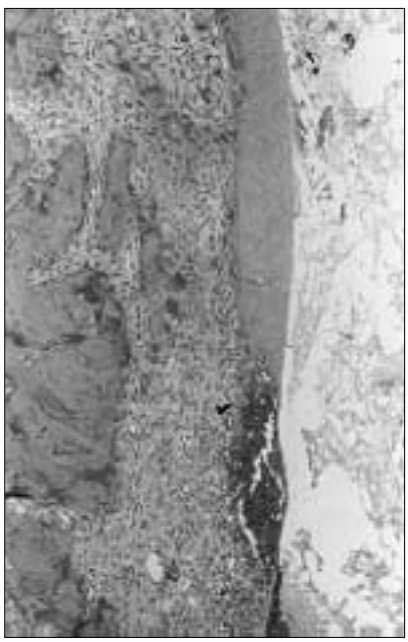

Fig. 6b

사진부도 ②

Fig. 7a

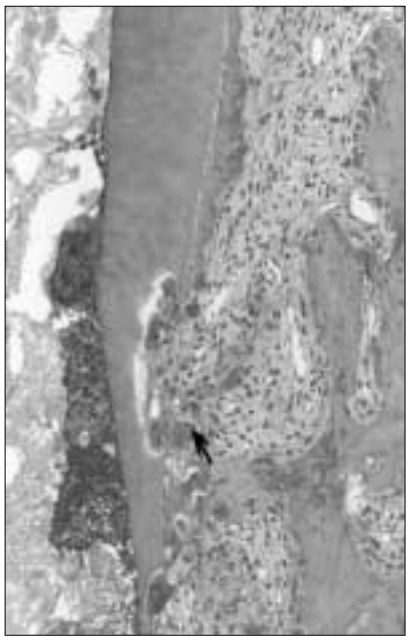

Fig. 8a

Fig. 9a

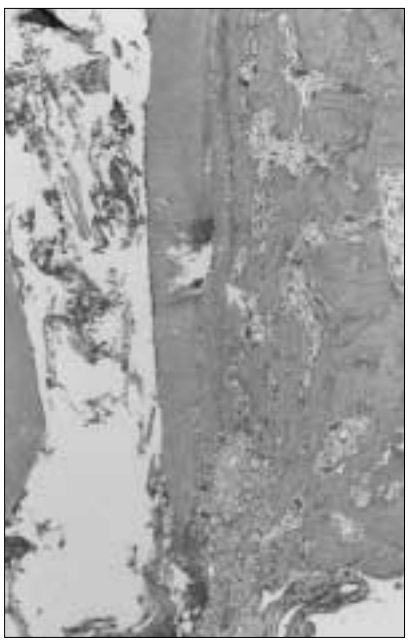

Fig. 7b

Fig. 8b

Fig. 9b