탈회 동결 건조골과 탈단백 우골의 백서 치조골 천공결손에 대한 치유 효과

신중호 · 권영혁 · 박준봉 · 허익

경희대학교 치과대학 치주과학교실

Ⅰ. 서론

치주질환은 접합상피의 근단측 증식과 이동을 야기하고 치주낭을 형성한다. 치주낭이 깊어지면 여러 단계의 면역과정과 복잡한 병리 기전을 통하여 치조골이 파괴되어, 구강조직의 기능과 심미성을 상실하게 된다. 이를 치료하는 방법은 크게 세가지로 나누어 볼 수 있다. 첫째는 깊이 4mm 이하인 치주낭이 존재시 치주수술을 하지 않은 상태로 지속적이고 반복적인 치석제거술 및 치근활택술을 시행함으로써, 치주질환이 진행되는 것을 방지하거나 치주낭 깊이를 감소시키는 것이다. 둘째는 깊이 4mm 이상인 치주낭이 존재할 경우에 절제형 수술을 통하여 치주낭 깊이를 감소시키고 치조골의 형태를 수정하는 것으로 가장 빈번하게 이용되고 예견성이 높은 방법이다. 셋째는 깊이 4mm이상인 치주낭이 존재할 때 여러 가지 골이식재를 이용하여 골이식술을 시행함으로써 치주질환의 결과로 파괴된 치조골을 재생시키는 방법이다. 과거의 외과적 치주치료는 치주낭을 제거함으로써 치주질환의 진행을 방지하거나 환자 스스로 치태제거를 쉽게 할 수 있도록 하는 데 목표를 두었으며, 단순판막술을 통하여서도 약 1.5mm의 부착획득과 1.1mm의 골첨가를 얻을 수 있음이 보고되었다.[1] 그러나, 절제형 치주수술은 조직을 절제함으로써 치아의 지각과민과 식편압입과 같은 기능적 문제 뿐 아니라 비심미적인 결과를 야기함으로써 결정적인 한계를 드러내었다. 따라서, 치조골 재생량을 증가시키고 골형태를 개선하여 기능적이면서도 심미적인 욕구를 만족시켜 줄 수 있는 방법으로 골이식술이 개발되었으며, Ramfjord와 Nissle(1974)[2]이 변형 위드만 판막술을 발표한 이래로 단순 판막술과 골이식술을 결합한 형태의 치료술식들이 많이 보고되었다.[3-10]

골이식술에 사용되는 골이식재는 크게 네 가지 범주로 분류할 수 있다. 자가골이란 동일한 개체에서 한 부위 또는 다른 여러 부위로부터 채취한 피질골, 해면골, 골수 등을 말하며 공여부의 위치에 따라 구강내와 구강외 유래로 나눌 수 있다. 여러 연구들에서 자가골 이식에 대한 성공적인 결과가 보고되었고[3,11-14] 조직거부반응이 없이 예견성이 높지만, 골채취를 위하여 부가적인 공여부 수술을 필요로 하고 채취할 수 있는 양의 한계가 있으며, 치근흡수와 골성강직을 야기시키는 단점이 있다. 합성골은 불활성의 골대체물로 생체 친화성이 있고, 재료채취를 위한 부가적인 손상도 없으며, 무한정의 양을 안정적으로 공급할 수 있고, 교차감염의

우려가 없다는 장점이 있지만, 성장인자나 골형성 촉진인자 등 골재생을 촉진하는 요소를 함유하고 있지 않으며 생체에서 채취하지 않았다는 것이 단점이다. 또한, 합성골의 효과와 더불어 부정적인 결과에 대하여 보고들이 있었다.[15,16] 서로 다른 동일종으로부터 채취하는 골이식재를 동종골이라 하고, 종이 다른 개체로부터 채취하는 골이식재를 이종골이라 한다. 대표적인 동종골에는 동결 건조골과 탈회 동결 건조골이 있고, 이종골로는 탈단백 우골이 있다.

동결 건조골의 효과에 대하여는 많은 긍정적인 보고들이 있었으나[8-10,17], Urist와 Strates(1970)[18], Mellonig등(1981)[19]은 동결 건조골을 탈회하여 이식재의 골형태형성 단백질을 노출시킴으로써 골형성 능력을 증진시킬 수 있다고 하였다. 탈회 동결 건조골은 치과임상에서 가장 많이 사용되는 재료로서 성공적인 결과들이 많이 보고되었다[1,19-26]. 최근의 연구들은 탈회 동결 건조골과 골형태형성 단백질을 함유하고 있어서 골형성을 유도할 수 있다고 보고하였고,[27,28] 한편으로는 탈회 동결 건조골의 골형성 유도효과에 대하여 의문을 제기하는 연구결과들도 보고되어[29-33] 논란이 되고 있다. 이에 동종골과 유사한 효과를 가지는 이종골인 탈단백 우골의 사용이 증가되었고, 긍정적인 연구결과가 많이 보고되었다[34-40]. 탈단백 우골의 흡수성에 관하여도 많은 보고들이 있었는데 Slotte과 Lundgren(1988)[41]은 쥐의 두개골에 탈단백 우골을 이식하고 조직검사를 하였을 때, 초기 광화에 있어서 탈단백 우골은 오히려 치유를 방해하였으며 탈단백 우골의 흡수 양상을 알기 위해서는 보다 장기적인 연구가 필요하다고 하였다. Skoglund등(1997)[42]은 6명의 사람을 대상으로 9개월에서 44개월까지 연구하였을 때 조직내에는 탈단백 우골 입자가 잔존되었고 흡수상은 보이지 않았다고 하였고, Schlegel과 Donath(1999)[43]는 6년간의 연구에서 탈단백 우골이 조직내에서 흡수되지 않고 잔존하였으며, 따라서 탈단백 우골을 이용하여 형태를 수정한 경우에 그 형태를 오래 유지할 수 있다고 하였다. 최근의 연구에 따르면 극소량의 흡수가 일어날 뿐 장기간에 걸쳐 조직내에 유지되는 것으로 보고되었다. 탈단백 우골은 골유도 효과는 거의 없고, 골전도 효과를 가지는 것으로 보고되었으나, 최근에 들어서서 제한적이나마 부정적인 결과들이 보고되었다. Carmagnola등(2000)[44]은 비글견을 이용한 실험에서 탈단백 우골과 피브린 밀봉재를 이용하여 치조제 증대술을 시행하고 3개월 후에 임플란트를 식립하여 3개월간 치유 후에 4개월간 기능하도록 하였다. 이상을 자연치유된 치조제에 식립된 임플란트와 조직학적으로 비교 연구하여 탈단백 우골을 이용하여 치조제 증대술을 시행한 경우, 탈단백 우골 입자는 숙주골과 유합이 일어나지 않았으며, 임플란트와 골유착을 보이지 않았다고 결론을 내렸다. Schwartz 등(2000)[45]은 탈단백 우골의 삼차원적인 구조와 탈단백 우골이 함유하고 있는 골형성 유도 인자가 골형성에 미치는 영향과 탈단백 우골의 골유도 능력을 실험하였다. 연구결과 탈단백 우골은 비활성의 탈회 동결 건조골보다도 골형성 능력이 떨어졌으며, 골형성에 관여하는 미량의 단백질만을 함유하고 탈단백 우골 입자의 삼차원적 구조만으로는 골형성에 기여하지 못하였다. 활성형의 탈회 동결 건조골에서 가장 많은 골형성이 관찰되었고 탈단백 우골에서 추출된 골형성 인자를 비활성형의 탈회 동결 건조골과 함께 사용한 경우에는 활성형의 탈회 동결 건조골과 유사한 정도의 골형성을 보였다. 따라서 탈단백 우골은 특정한 형태의 결손부에만 사용할 것과 탈회 동결 건조골과 함께 사용할 때 상승효과가 있음을 시사하였다.

치주조직 재생에 있어서 골이식재의 효과는 아직 논란의 대상으로 주로 임상증례를 통해 연구되고 발표되었으며, 조건화된 임상연구나 조직학적 연구들은 아직 부족한 실정이다. 조직

재생효과를 평가하기 위하여 다양한 실험대상과 실험모형들이 개발되었으며, Polson과 Caton(1982)[46]은 원숭이에 재식술을 이용하였고, Garant등(1983)[47]은 백서에 치아재식술을 이용하였으며, Yaffe등(1987)[48]은 개에 열개형의 골결손을 이용한 실험모형을 사용하였다. Caton등(1994)[49]과 Selvig(1994)[50]는 여러형태의 실험모형을 제시하였다. Slotte과 Lundgren(1999)[41]은 쥐의 두개골에 결손부를 형성하였고, King등(1997, 1998a, 1998b, 1999)[51)-54)]은 백서에 치주 천공결손을 이용하여 성장인자와 차폐막의 효과를 고찰하였다.

이상에서 보듯이 사람을 비롯하여 원숭이, 개, 토끼, 백서 등이 주로 실험연구 대상으로 이용되었다. 특히 사람을 대상으로 하는 연구에는 많은 제약이 따르고, 지속적인 재내원을 하도록 하는 일도 어려운 점 중에 하나이다. 원숭이나 개등도 비용이 많이 들고 관리가 어려운 단점이 있다. 또한, 결손부 모형으로 장골 및 두개골 천공결손이나 치아 재식모형, 열개형 골결손 등이 이용되었으나, 최근에는 치아 주위 조직에 미치는 재생효과를 관찰하고 결손부의 표준화가 가능하며 감염의 기회가 상대적으로 적은 치조골 천공결손을 이용한 연구결과가 보고되고 있다.

따라서 본 연구에서는 최근 사용이 증가하고 있는 탈단백 우골과 탈회 동결 건조골을 실험 소요 기간이 짧고 저렴하며 쉽게 구할 수 있고 관리하기가 용이한 백서의 치조골 천공결손에 이식하여 재생능력을 평가하고자 한다.

II. 연구재료 및 방법

1. 실험모형

12 마리의 완전히 자란 500-540g의 웅성 백서 좌측 하악골 협측에 결손부를 형성하였다. 실험 동물은 6개군에 각 2 마리씩으로 나누었다. 2개군은 대조군으로 결손부만 형성하였고, 2개군은 실험 I 군으로 결손부에 탈단백 우골[Deproteinized bovine bone mineral(Bio-Oss®, Geistlich Pharma, Wolhusen, Switzerland) 0.25-1mm, 해면골]을 이식하였다. 나머지 2개군은 결손부에 탈회 동결 건조골[Demineralized freeze-dried bone allograft(Dembone®, Pacific Coast Tissue Bank, Los Angeles, United State) 250-500 ㎛]를 이식하였다. 대조군, 실험 I 군, 실험 II 군을 절반은 수술 10일 후에 나머지 절반은 35일 후에 희생하여 조직절편을 제작하고 광학현미경으로 검경하였다.

2. 외과적 술식

백서를 1cc 주사기를 이용하여 40mg/ml의 pentobarbital sodium solution을 6.4mg/100g으로 복강내 마취를 시행한 다음 수술대에 앙와위로 철끈을 이용하여 사지를 고정하고 교정용 철사로 상악절치에 걸어 머리를 고정시켰다. 이 후, 필요에 따라 추가적으로 마취제를 투여하였고 총 마취제의 투여량은 1ml를 넘지 않도록 하였다.

수술부위의 수염과 모발은 제거하고 표피를 노출시켰다. 구외측으로 하악골 좌측 협면에 절개를 하였으며, 절개 위치는 구각부에서 약 2mm 후방에서부터 약 1.5cm 크기로 하였다. 표피를 하방의 근육들로부터 하악각쪽으로 넓게 박리하여 분리하였다. 교근을 주변 인접근육들로부터 박리한 뒤, 하악골 부착부에서 절단하고 하방의 골막에 절개를 하여 하악골을 노출시켰다. 골결손부는 저속의 tapered fissure bur(직경:1mm)로 형성하였다. 골결손의 전후경계는 제 1 대구치의 전방에서 상행지 전방까지로 하였고, 상하경계는 치은부착부 직하방에서 치근측 1.5-2mm까지로 하였다(결손부 크기 1.5mmx4mm). 결손부의 깊이는 약 1.5-2mm로 치근을 일부 포함하는 정도로 하였다. 골삭제를 조심스럽게 해가면서 치주인대로부터

의 출혈지점을 감지하고 큐렛이나 탐침을 이용하여 치근을 확인하였다. 결손부내를 깨끗이 하고 탈단백 우골, 탈회 동결 건조골을 각각 이식한 후, 흡수성 봉합사로 골막과 표피를 각각 봉합하였다.

3. 조직 절편의 제작

실험 동물은 실험 시작 10일, 35일 후에 2.5% Glutaraldehyde(0.1M phosphate buffer, pH 7.2)를 이용하여 심장 관류고정을 시행하여 각각 희생하였다. 좌측 하악골을 적출하고 10% neutral buffered formalin에 3일간 추가 고정하였다. hydrochloric acid(Calci-Clear Rapid™, Atlanta Georgia, United Kingdom)로 2주간 탈회를 시행하였다. 통법에 따라 조직을 파라핀에 포매하여 종단면으로 7 ㎛ 두께의 조직 절편을 만들어 Hematoxylin-Eosin 중염색을 시행한 후 광학 현미경으로 검경하였다.

Ⅲ. 연구성적

1. 대조군 10일 조직소견

40배 검경시에 골결손부는 골양조직으로 채워져 있었고, 골양조직 내로 두드러진 혈관의 형성이 관찰되었다(Figure 1a). 골양조직은 100배 검경 하에서 부위에 따라서 염색의 정도에 차이를 나타내었으며(Figure 1b), 이것은 400배 검경으로 신생 골조직과 치밀 결합조직으로 확인되었다. 신생골은 발육선을 나타내었으며, 치밀 결합조직내에 산재하였다. 화살촉은 신생골과 치밀 결합조직의 경계를 표시하였다(Figure 1c). 따라서 골결손부 내는 대부분의 치밀 결합조직과 일부 신생 골조직으로 채워져 있음을 보여 주었다.

2. 대조군 35일 조직소견

10일군과는 달리 골결손부 내의 골양조직이 보다 치밀하였고 진하게 염색되었으며, 신생혈관이 발달되고(Figure2a), 신생골의 형성이 크게 증가되었다. 신생골은 다수의 골소강을 보였으며, 골소강내는 골세포로 채워져 있었다(Figure 2b).

3. 실험Ⅰ군 10일 조직소견

골결손부 내에서 흐리게 염색된 탈단백 우골 입자가 관찰되고 골양조직으로 여겨지는 조직소견은 보이지 않았다(Figure 3a, 3b). 100배 검경 하에서 탈단백 우골 입자들이 소성 결합조직으로 둘러싸인 것이 관찰되었고(Figure3c), 결손부 내의 결합조직은 염증세포의 침윤상을 보였다. 골양조직이나 신생 골조직의 형성은 일어나지 않았다(Figure3c, 3d).

4. 실험Ⅰ군 35일 조직소견

35일군은 10일군과 달리 신생골의 두드러진 형성을 나타내었다(Figure 4a). 탈단백 우골 입자는 신생 골조직에 의해 기존골에 연결되거나 서로 결합된 소견을 보였고, 소실되지는 않았으며 신생 골조직 사이사이로 신생 모세혈관과 치밀 결합조직이 채워져 있었다. 신생골 내에서 골세포를 포함하는 다수의 골소강이 관찰되었으며(Figure 4b), 탈단백 우골 입자간의 경계를 확인할 수 있었다. 경계 부위는 신생골로 연결되었고 입자와 신생골 사이에는 틈이 존재하지 않고 융합되어 있었다(Figure 4c, 4d).

5. 실험Ⅱ군 10일 조직소견

골결손부 내에 진하게 염색된 탈회 동결 건조골 입자가 결체조직으로 둘러싸여 있었다(Figure5a). 절단된 치주인대 면에서는 치주인

대 세포들이 방사상으로 증식되었고 골결손부 내의 소성 결합조직과 혼화되는 양상을 보였다(Figure 5b). 절단된 치근면의 변연에는 진하게 염색되는 띠 모양의 신생 백악질 소견이 관찰되었다(Figure 5c). 탈회 동결 건조골 입자를 400배 검경시에 입자 내에 골소주가 특징적인 선조를 보였으며, 결합조직으로 둘러싸이고 신생골의 형성은 나타나지 않았다(Figure 5d).

6. 실험 II군 35일 조직소견

10일군에 비하여 신생골의 형성이 크게 증가하였으며 치밀 결합조직과 신생 모세혈관의 분포가 두드러졌다. 신생골은 다수의 골소강을 포함하며, 골소강 내에는 골세포가 존재하였다(Figure 6a, 6b). 탈회 동결 건조골 입자는 아직 소실되지 않고 남아 있으나(Figure 6b, 6c), 실험 I 군에 비하여 불분명한 입자간 경계를 보였다(Figure 6c, 6d).

IV. 총괄 및 고찰

치주치료의 궁극적 목적은 치주조직의 재생이며, 이는 골, 백악질, 치주인대로 구성되는 신부착기구의 재생을 뜻한다. 치주낭을 제거하거나 감소시킬 목적으로 시행되었던 변형위드만 판막술 또는 골재생을 목표로 했던 골이식술 등 초기의 치주판막수술로는 치주치료의 궁극적인 목표인 치주조직의 완전한 재생을 얻을 수 없음이 많은 연구결과들을 통해 보고되었다. 즉, 사람과 동물을 대상으로 한 많은 연구들에서 골이식술 후에 치주조직의 치유는 신부착보다는 긴 접합상피로 일어났다고 보고하였다.[55] 따라서, 조직재생을 위하여 상피의 근단측 증식을 배제하고 다른 조직의 세포 - 치주인대, 백악질, 치조골 - 의 증식을 유도하여 골과 치주인대의 재생 가능성을 증가시키고자 하는 조직유도재생술이 발전하게 되었다.[56,57]

신부착기구의 재생을 얻기 위하여 골이식재를 이식하거나 차폐막을 결손부에 적용하여 선별적인 세포의 재집락을 이루는 방법을 사용하여 왔으며, 다양한 조직학적 연구들이 조직유도재생술의 결과로 치주부착기구의 재생이 일어났음을 보고하였다.[58-60] 그러나, 최근에는 골이식을 이용한 조직유도재생술의 성공적인 연구보고들에도 불구하고, 차폐막의 노출이나 이차수술의 필요성, 치료비용 증가, 임상적 결과가 부분적인 조직재생을 얻는 데 그쳤다는 이유로 그 적응증이 매우 제한을 받게 되었다.

Murphy(1995)[61]는 62명, 102부위에 조직유도재생술을 시행하여 약 87%에서 막의 노출을 보였다고 보고하였다. Anderegg(1995)[62]는 막을 덮는 판막의 두께가 1mm 이하인 경우에 술 후 6개월에 평균 2.1mm의 치은 퇴축을 보였다고 보고하였다. Kramer(1992)[63]는 상악전치부의 치은이 얇고 깊은 골연하 결손이 있는 부위에서 조직유도재생술을 시행할 경우 치간유두의 상실과 막의 노출 등으로 치은 퇴축이 심하게 일어나 비심미적인 결과를 초래한다고 지적하였다.

또한, 단순판막술이나 골이식술 시에 얻어지는 치주조직의 재생을 방해한다고 여겨왔던 상피의 하방증식이 오히려 치근의 흡수를 예방하는 데에 기여할 수 있음이 밝혀졌으며, Magnusson등(1983)[64]과 Beaumont등(1984)[65]은 동물실험을 통해 긴상피접합이 결합조직의 부착기구 보다 치주질환에 대하여 통계학적으로 유사한 저항능력을 가지고 있었다고 보고하였다.

골이식재를 사용하는 골이식술은 골재생량을 증가시키기 위한 목적으로 이루어졌으며, 최근에 와서 조직유도재생술의 술 후 합병증과 고가의 재료 사용에 따른 환자의 경제적 부담 증가 등으로 조직유도재생술의 적응증이 적어짐에 따라 골이식술의 적용범위와 빈도가 크게 증가하였다.

토끼, 개, 원숭이, 사람 등 골이식재의 재생능력을 평가하기 위하여 사용되는 여러 실험 대

상은 구입이 어렵고, 관리하기가 까다로우며, 실험에 장기간이 소요되는 단점이 있으나, 본 실험에서는 보다 쉽게 구할 수 있고 관리가 용이하며 상대적으로 저렴한 백서를 이용함으로써 실험에 필요한 기간을 단축할 수 있었다. 또한 치조골 천공결손 모형을 사용하여 결손부의 위치와 크기를 균일하게 할 수 있었고, 구외절개로 세균에 의한 감염을 방지할 수 있었으며, 세포의 미세구조 및 운동역학 연구가 가능한 장점이 있었다. 결과적으로 백서의 치조골 천공결손 모형으로 탈회 동결 건조골과 탈단백 우골의 골재생 효과를 성공적으로 평가해 볼 수 있었다. 치조골 천공결손부의 크기는 본 연구에 사용된 백서가 가질 수 있는 가장 큰 크기였으며, 이식된 골이식재의 입자 크기에 비하여 작은 경향이 있었다. 그러나, 골이식재를 수용하기에는 충분한 크기였으며, 실험 과정 중에서도 문제가 되지 않았다.

본 실험에서 사용한 탈회 동결 건조골은 사람의 대표적인 동종골로 최근의 연구들은 탈회 동결 건조골이 골형태형성 단백질을 함유하고 있어 골형성을 유도할 수 있다고 보고하였고,[27),28)] 한편으로는 탈회 동결 건조골의 골형성 유도효과에 대하여 의문을 제기하는 연구결과들도 보고되어[29),30)] 논란의 대상이 되고 있다. 그러나, 많은 연구들에서 탈회 동결 건조골을 이식하여 성공적인 결과가 보고되었다.[23-26)]

탈단백 우골은 대표적인 사람의 이종골로서 수차례에 걸쳐 성공적인 연구 결과가 보고된 바 있으며 골형성전도 효과가 있음이 보고되었다.[66-68)] 최근의 연구에 따르면, 탈단백 우골은 조직 내에서 극소량의 흡수가 일어날 뿐 장기간에 걸쳐 조직 내에 유지되는 것으로 보고되었다. 본 연구에서는 Slotte과 Lundgren(1988)[56)]의 실험결과와 유사한 연구성적을 보여주고 있는데, 10일 실험 I 군에서 탈단백 우골 입자는 섬유성 결합조직에 의해 둘러싸여 있었고 신생 골조직의 형성은 나타나지 않았다. 또한 35일 실험 I 군에서 탈단백 우골의 입자는 소실되지 않았으며, 흡수상도 관찰할 수 없었다. 탈단백 우골의 흡수와 관련하여서는 대동물을 대상으로 하는 장기간의 실험이 필요할 것으로 사료된다. 본 연구에서 탈회 동결 건조골과 달리 탈단백 우골은 골이식 초기에 염증 반응을 나타내었다. 또한, 대조군의 골양조직 형성과 신생골의 형성을 비교해 볼 때 초기 실험군에서 탈회 동결 건조골과 탈단백 우골 모두 조직의 치유를 방해하였다고 볼 수 있다. 그러나, 35일 군에서 신생골의 형성과 골의 성숙도 등을 통해 볼 때 자연치유된 대조군과 비교해 단기간 내에 유사한 정도의 골재생을 일으킴으로써 골전도 효과가 있다고 판단된다. 탈회 동결 건조골 입자와 탈단백 우골 입자는 신생골에 의해 긴밀하게 연결되고 주변으로 신생 모세혈관의 형성이 두드러졌다.

본 연구에서 탈회 동결 건조골과 탈단백 우골 이식의 결과는 초기 치유반응을 보여 주는 것으로 골이식재로서의 소기의 성과를 보여준다. 그러나, 보다 장기적인 결과를 얻기 위하여서는 향후 대동물을 대상으로 하는 실험이 필요할 것으로 사료된다. 본 연구에 사용된 520g 내외의 백서는 노화쥐에 속하는 것으로 개체의 자가치유능력이 떨어짐에도 불구하고 성공적인 재생을 보인 것을 미루어 보아 실험 모형은 초기 골이식재를 평가하는데 적절하였다고 사료되며 치주질환을 갖는 환자들이 대부분 자가치유능력 및 면역이 부적절한 점을 감안할 때 의미를 지닌다고 할 수 있다. 향후의 연구에서는 이식재의 크기를 조금 더 작게 설정할 필요가 있으며, 치근면 및 치주인대와 골이식재의 관계를 규명하기 위하여서는 면역항체검사 등의 분자생물학적 수준의 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

V. 결론

웅성 백서 12마리의 좌측 하악골 협측에 치

조골 천공결손을 형성하고 실험Ⅰ군 : 탈단백우 골 [Deproteinized bovine bone mineral(Bio - Oss®, Geistlich Pharma, Wol - husen, Switzerland) 0.25 - 1mm, 해면골]과 실험Ⅱ군 : 탈회 동결 건조골 [Demineralized freeze - dried bone allograft(Dembone², Pacific Coast Tissue Bank, Los Angeles, United State) 250 - 500㎛]을 각각 이식하고, 아무것도 이식하지 않은 군을 대조군으로 하여 수술 후 10일과 35일째에 대조군, 실험Ⅰ군, 실험Ⅱ군을 희생하여 조직학적 검사를 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조군에서는 10일 후에 상당량의 신생골과 골양조직 치밀 결합조직이 형성되었다. 실험Ⅰ,Ⅱ군은 모두 골이식재의 입자가 소성 결합조직으로 피개되었고, 신생 골조직의 형성은 관찰되지 않았다.
2. 골이식재를 이식하고 35일 후에 실험Ⅰ군과 실험Ⅱ군은 입자들간에 신생골에 의해 서로 연결되거나, 기존골에 연결되면서 신생골을 형성하였다. 신생골과 기존골, 골이식재 사이에는 틈새가 없이 긴밀한 접촉이 이루어졌다.
3. 대조군에서 신생골의 형성은 10일과 35일 후에 공히 관찰되었고 35일군이 10일군보다 두드러졌다.
4. 실험군은 대조군과 유사한 정도의 골형성을 보였으며 우세하지는 못하였다.

Ⅵ. 참고 문헌

1. Laurell, L., Gottlow, J., Zybutz, M., and Persson, R.: Treatment of intrabony defects by different surgical procedures. A literature review. J. Periodontol., 69 : 303 - 313, 1998.
2. Ramfjord, S.P. and Nissle, R.R.: The modified Widman flap. J. Periodontol., 45 : 601 - 607, 1974.
3. Renvert, S., Garrett, S., Schallhorn, R., Egelberg, J.: Healing after treatment of intraosseous defects. III. Effect of osseous grafting and citric acid conditioning. J. Clin. Periodontol., 12 : 441 - 455, 1985.
4. Schallhorn, R. G.: Present status of osseous grafting procedures. J. Periodontol., 48 : 570 - 576, 1977.
5. Yuktanandana, I.: Bone graft in the treatment of intrabony periodontal pocket in dogs: a histological investigation. J. Periodontol., 30 : 17 - 26, 1959.
6. Nabers, C. L., Reed, O.M., and Hamner, J.E.: Gross and histologic evaluation of an autogenous bone graft 57 months postoperatively. J. Periodontol., 43 : 702 - 704, 1972.
7. Froum, S.J., Thaler, R., Scopp, I.W., and Stahl, S.S.: Osseous autografts. I. Clinical responses to bone blend or hip marrow grafts. J. Periodontol., 46 : 515 - 520, 1975.
8. Mellonig, J.T., Bowers, G.M., Bright, R.W., and Lawrence, J.J.: Clinical evaluation of freeze - dried bone allografts on periodontal osseous defects. J. Periodontol., 47 : 125 - 131, 1976.
9. Sanders, J.J., Sepe, W.W., Bowers, G.N., Koch, R.W., Williams, J.E., Lekas, J.S., Mellonig, J.T., Pelleu, G.B.Jr., and Gambill, V.: Clinical evaluation of freeze - dried bone allografts in periodontal osseous defects. Part III. Composite freeze - dried bone allografts with and without autogenous bone grafts. J. Periodontol., 54 : 1 - 8, 1983.
10. Sepe, W.W., Bowers, G.M.,

Lawrence, J.J., Friedlaender, G.E., Koch, R.W.: Clinical evaluation of freeze - dried bone allografts in periodontal osseous defects. Part II. J. Periodontol., 49 : 9 - 14, 1978.

11. Hiatt, W.H. and Schallhorn, R.G.: Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. J. Periodontol., 44 : 194 - 208, 1973.
12. Dragoo, M. R. and Sullivan, H. C.: A clinical and histological evaluation of autogenous iliac bone grafts in human. J. Periodontol., 44 : 599 - 613, 1973.
13. Schallhorn, R.G.: The use of auto - genous hip marrow biopsy implants for bony crater defects. J. Periodotol., 39 : 145 - 147, 1968.
14. Rogenberg, M.M.: Free osseous tissue autograft as a predictable proce - dure. J. Periodontol., 42 : 195 - 209, 1971.
15. Froum, S.J., Kushner, L., Scopp, I.W., and Stahl, S.S.: Human clinical and histologic responses to durapatite ceramic implants in intraosseous lesions: case reports. J. Periodontol., 53 : 719 - 725, 1982.
16. Moskow, B. S. and Lubarr, A.: Histological assessment of human peri - odontal defect after durapatite ceramic implant: Report of a case. J. Periodontol., 54 : 455 - 462, 1983.
17. Mabry, T.W., Yukna, R.A., and Sepe W.W.: Freeze - dried bone allo - grafts combined with tetracycline in the treatment of juvenile periodontitis. J. Periodontol., 56 : 74 - 81, 1985.
18. Urist, M.R. and Strates, B. : Bone formation in implants of partially and wholly demineralized bone matrix. J. Clin. Orthopedics, 71 : 271 - 278, 1970.
19. Mellonig, J., Bowers, G., and Bully, R.: Comparison of bone graft materials. I. New bone formation with autografts and allografts determined by strontium - 85. J. Periodontol., 52 : 291 - 296, 1981.
20. Mellonig, J.: Decalcified freeze dried bone allografts as an implant material in human periodontal defects. Int. J. Periodont. Rest. Dent., 12 : 525 - 539, 1984.
21. Quintero, G., Mellonig, J. T., Gam - bill, V.M., and Pelleu, G.M.: A six - month clinical evaluation of decalcified freeze - dried bone allograft in periodontal osseous defects. J. Periodontol., 53 : 726 - 730, 1982.
22. Bowers, G.M., Chadroff, B., Carnevale, R., Mellonig, J., Corio, R., Emerson, J., Stevens, M., and Romberg, E.: Histologic evaluation of new attach - ment apparatus formation in humans. Part III. J. Periodontol., 60 : 683 - 693, 1989.
23. Blank, B.S. and Levy, A.R. : Com - bined treatment of a large periodontal defect using GTR and DFDBA. Int. J. Periodont. Res. Dent., 19 : 481 - 487, 1999.
24. Persson, G.R., Falk, H., and Laurell, L.: A retrospective radiographic outcome assessment study of intra - bony defects treated by osseous surgery or by bone graft procedures. J. Clin. Periodontol., 27 : 104 - 108, 2000.
25. Kassolis, J.D. and Bowers, G.M.: Supracrestal bone regeneration: a pilot study. Int. J. Periodont. Res. Dent., 19 :

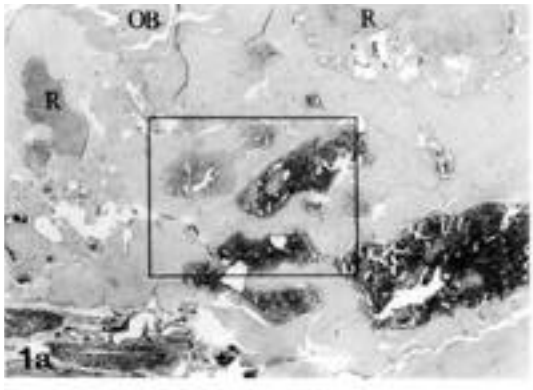
131 - 139, 1999.
26. Brugnami, F. and Mellonig, J.T.: Treatment of a large periapical lesion with loss of labial cortical plate using GTR: A case report. Int. J. Periodont. Res. Dent.19 : 243 - 249, 1999.
27. Shigeyama, Y., D'Errico J.A., Stone, R., and Somerman, M.J.: Com - mercially prepared allograft material has biological activity in vitro. J. Periodontol., 66 : 478 - 487, 1995.
28. Reddi, A.H.: Regulation of cartilage and bone differentiation by bone mor - phogenetic proteins. Curr. Opin. Cell Biol., 4 : 850 - 855, 1992.
29. Becker, W., Becker,B.E., and Caffesse, R.: A comparison of deminer - alized freeze - dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. J. Periodontol., 65 : 1128 - 1133, 1994.
30. Becker, W., Urist, M.R., Tucker L.M., Becker, B.E., and Ochsenbein, C.: Inadequate induced bone formation in athymic mice. A Preliminary report. J. Periodontol., 66 : 822 - 828, 1995.
31. Egelberg, J.: Regeneration and repair of perioontal tissues. J. Periodon - tal Res., 22 : 233 - 242, 1987.
32. Nade, S. and Burwell, R.G.: Decal - cified bone as a substrate for osteogen - esis. J. Bone Joint Surg., 59 : 189 - 196, 1977.
33. Cummine, J. and Nade, S. : Osteo - genesis after bone and bone marrow transplantation. I. Studies with combined myeloosseous grafts in the guinea pig. Acta. Orthop. Scand., 48 : 15 - 24, 1977.
34. Hockers, T., Abensur, D., Valenti - ni, P., Legrand, R., and Hammerle, C.H.: The combined use of bioresorbable membranes and xenografts or autografts in the treatment of bone. Clin. Oral Implants Res., 10 : 487 - 498, 1999.
35. Piattelli, M., Favero, G.A., Scarano, A., Orsini, G., and Piattelli, A.: Bone reactions to anorganic bovine bone(Bio - Oss) used in sinus augmentation proce - dures: a histologic long - term report of 20 cases in humans. Int. J. Oral Maxillo - fac. Implants, 14 : 835 - 840, 1999.
36. Lundgren, D. and Slotte, C.: Reconstruction of anatomically compli - cated periodontal defects using a biore - sorbable GTR barrier supported by bone mineral. A 6 - month follow - up study of 6 cases. J. Clin. Periodontol., 26 : 56 - 62, 1999.
37. Valentini, P., Abensur, D., Densari, D., Graziani, J.N., and Hammerle, C.: Histological evaluation of Bio - Oss in a 2 - stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. Clin. Oral Implants Res., 9 : 59 - 64, 1998.
38. Valentini, P. and Abensur, D.: Maxillary sinus floor elevation for implant placement with demineralized freeze - dried bone and bovine bone(Bio - Oss): a clinical study of 20 patients. Int. J. Periodont. Res. Dent., 17 : 232 - 241, 1997.
39. Zitzmann, N.U., Naef, R., and Scharer, P.: Resorbable versus nonre - sorbable membranes in combination with Bio - Oss for guided bone regeneration. Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 12 : 844 - 852, 1997.

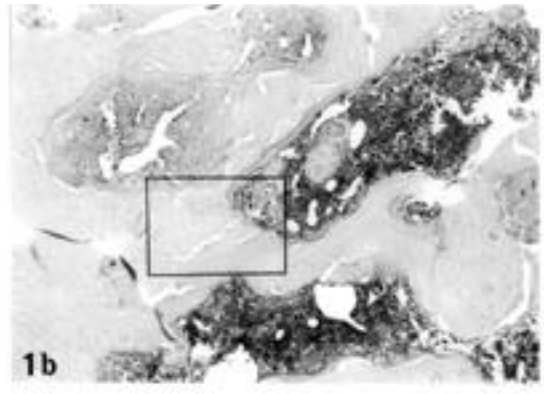
40. Schmitt, .JM., Buck, D.C., Joh, S.P., Lynch, S.E., and Hollinger, J.O.: Comparison of porous bone mineral and biologically active glass in critical - sized defects. J. Periodontol., 68 : 1043 - 1053, 1997.
41. Slotte, C. and Lundgren, D.: Augmentation of calvarial tissue using non - permeable silicone domes and bovine bone mineral. An experimental study in the rat. Clin. Oral Implants Res., 10 : 468 - 476, 1999.
42. Skoglund, A., Hising, P., and Young, C.: A clinical and histologic examination in humans of the osseous response to implanted natural bone mineral. Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 12 : 194 - 199, 1997.
43. Schlegel, A.K. and Donath, K.: BIO - OSS - - a resorbable bone substitute? J. Long Term Eff. Med. Implants, 8 : 201 - 209, 1998.
44. Carmagnola, D., Berglundh, T., Araújo, M., Albrektsson, T., and Lindhe, J.: Bone healing around implants placed in a jaw defect augmented with Bio - Oss ®. An experimental study in dogs. J. Clin. Periodontol., 27 : 799 - 805, 2000.
45. Schwartz, Z., Weesner, T., van Dijk, S., Cochran, D.L., Mellonig, J.T., Lohmann, C.H., Carnes, D.L., Goldstein, M., Dean, D.D., and Boyan, B.D.: Ability of deproteinized cancellous bovine bone to induce new bone formation. J. Periodontol., 71: 1258 - 1269, 2000.
46. Polson, A.M. and Caton, J.: Factors influencing periodontal repair and regeneration. J. Periodontol., 53 : 617 - 625, 1982.
47. Garant, P.R., Paik, K.S., and Cho, M.I.: The distribution of plasma cells in naturally occurring periodontitis lesions

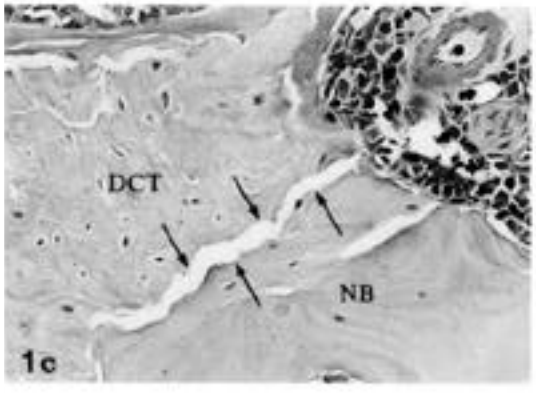
in rats: A light and electron microscopic study. J. Periodontol., 54 : 227 - 235, 1983.
48. Yaffe, A. and Shoshan, S.: Re - attachment of periodontal ligament by collagen in experimentally - induced alveolar bone dehiscence in dogs. Arch. Oral Biol., 32 ; 69 - 73, 1987.
49. Caton, J.: Non - human primate models for testing the efficacy and safety of periodontal regeneration procedure. J. Periodontol., 65 : 1143 - 1150, 1994.
50. Selvig, K.A.: Discussion : Animal models in reconstructive therapy. J. Periodontol., 65 : 1169 - 1172, 1994.
51. King, G.N, King, N., Cruchley, A.T., Wozney, J.M., and Hughes, F.J.: Recombinant human bone morphogenetic protein - 2 promotes wound healing in rat periodontal fenestration defects. J. Dent. Res., 76 : 1460 - 1470, 1997.
52. King, G.N., King, N., and Hughes, F.J.: Effect of two delivery systems for recombinant human bone morphogenetic protein - 2 on periodontal regeneration in vivo. J. Periodontal. Res., 33 : 226 - 236, 1998a.
53. King, G.N., King, N., and Hughes, F.J.: The effect of root surface demineralization on bone morphogenetic protein - 2 - induced healing of rat periodontal fenestration defects. J. Periodontol., 69: 561 - 570, 1998b.
54. King, G.N. and Hughes, F.J.: Effects of occlusal loading on ankylosis, bone, and cementum formation during bone morphogenetic protein - 2 - stimulated periodontal regeneration in vivo. J. Periodontol., 70 : 1125 - 1135, 1999.
55. Caton, J., Nyman, S., and Zander, H. : Histometric evaluation of periodontal surgery II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. J. Clin. Periodontol., 7 : 224 - 231, 1980.
56. McHugh, W. D.: The effect of exclusion from healing periodontal pockets. J. Periodontol., 59 : 750 - 757, 1988.
57. Aukhil, I. and Iglhaut, J.: Periodontal ligament cell kinetics following experimentalregenerative procedures. J. Clin. Periodontol., 15 : 374 - 382, 1988.
58. Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T., and Rylander, H.: New attachment following surgical treatment of human periodontal desease. J. Clin. Periodontol., 9 : 290 - 296, 1982.
59. Gottlow, J., Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T., and Wennström, J.: New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. J. Clin. Periodontol., 13 : 604 - 616, 1986.
60. Cortellini, P.,Pini Prato, G., and Tonetti, Periodontal regeneration of human infrabony defects. II. Reentry procedures and bone measures. J. Periodontol., 64 : 261 - 268, 1993.
61. Murphy, K.G.:Postoperative healing complications associated with Gore - Tex periodontal material. Part I. Incidence and characterization. Int. J. Periodont. Rest. Dent., 15 : 363 - 375, 1995.
62. Andetegg, C.R., Metxler, D. G., and Nicoll, B.K.:Gingiva thickness in guided tissue regeneration and associated recession at facial furcation defects. J. Periodontol., 66 :

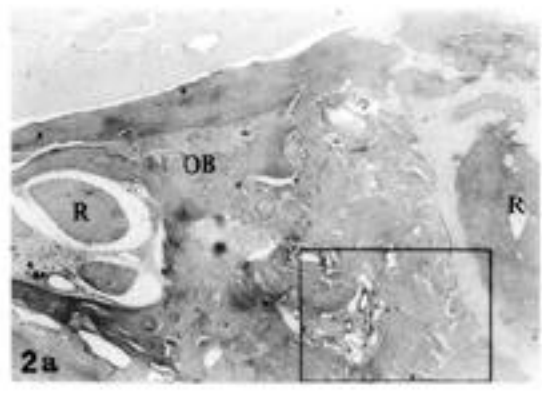
397 - 402, 1995.
63. Kramer, G.M.: Surgical alternatives in regenerative therapy of the periodontium. Int. J. Periodont. Rest. Dent., 12 : 11 - 31, 1992.
64. Magnusson, I., Runstad, L., Nyman, S. and Lindhe, J.: A long junctional epithelium - A locus minoris resistentiae in plaque infection? J. Clin. Periodontol., 10 : 333 - 340, 1983.
65. Beaumont, R.H., O'Leary, T.J. and Kafrawy, A.H.: Relative resistance of long junc - tional epithelial adhesions and connective tissue attachments to plaque - induced inflam - mation. J. Periodontol., 55 : 213 - 223, 1984.
66. Hammerle, C.H., Chiantella, G.C., Karring, T., and Lang, N.P.: The effect of a depro - teinized bovine bone mineral on bone regeneration around titanium dental implants. Clin. Oral Implants Res., 9 : 151 - 162, 1998.
67. Lorenzoni, M., Pertl, C., Keil, C., and Wegscheider, W.A.: Treatment of peri - implant defects with guided bone regeneration: a comparative clinical study with various mem - branes and bone grafts. Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 13 : 639 - 646, 1998.
68. Berglundh, T. and Lindhe, J.: Healing around implants placed in bone defects treated with Bio - Oss. An experimental study in the dog. Clin. Oral Implants Res., 8 : 117 - 124, 1997.

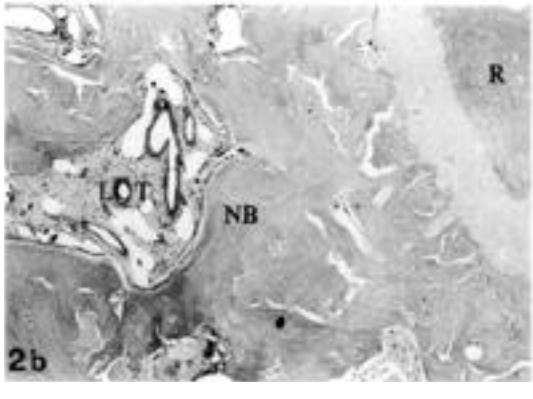
사진부도 (I)



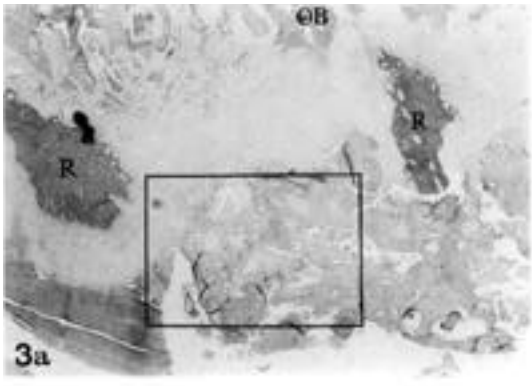




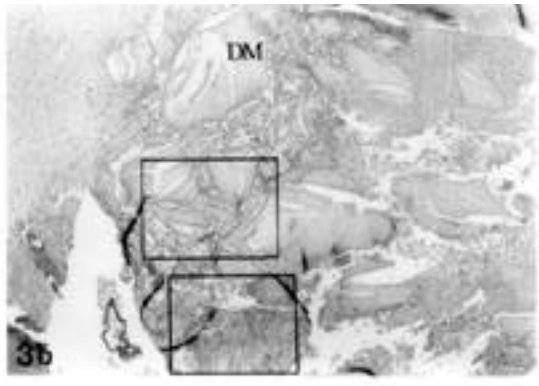




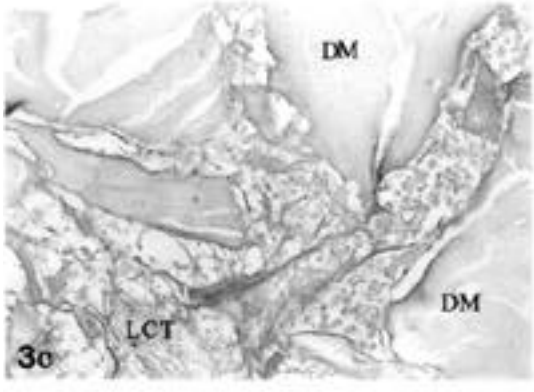
사진부도 (Ⅱ)



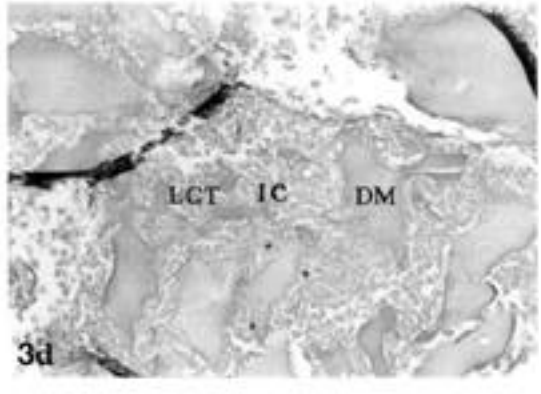
3a



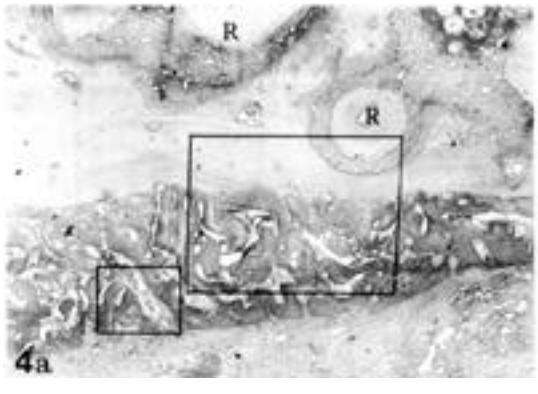
3b



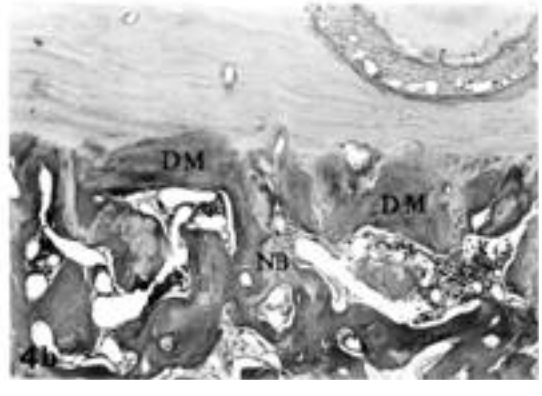
3c



3d

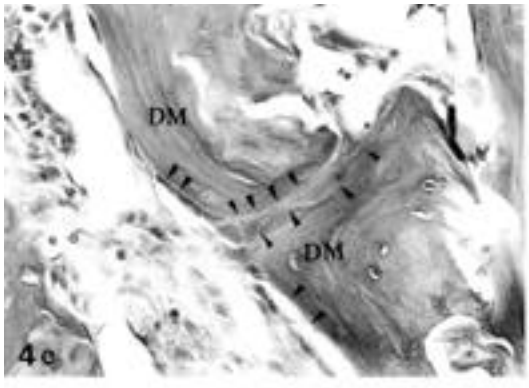


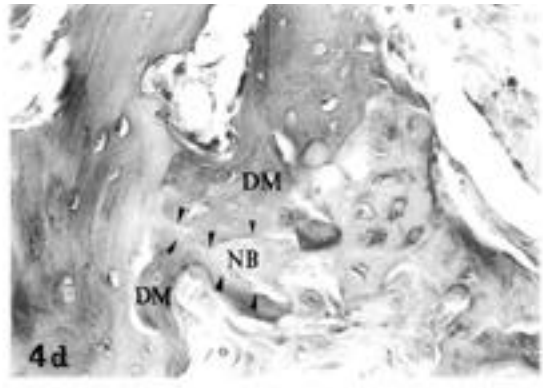
4a

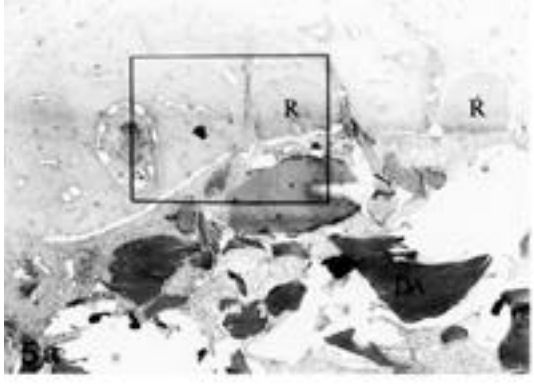


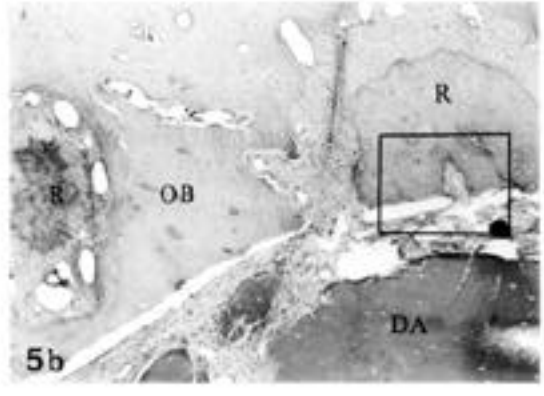
4b

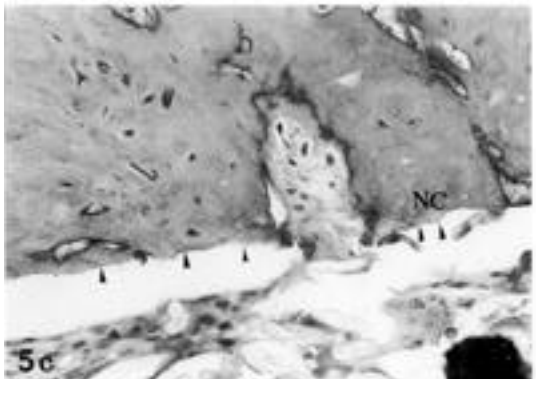
사진부도 (Ⅲ)

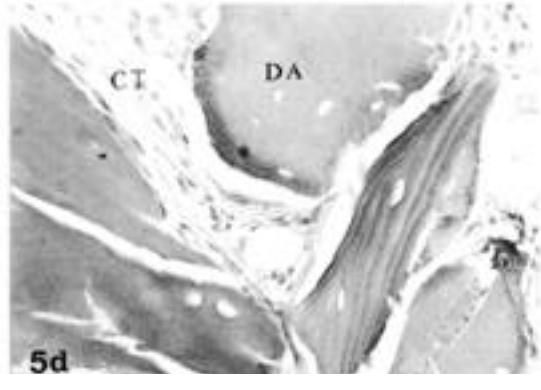




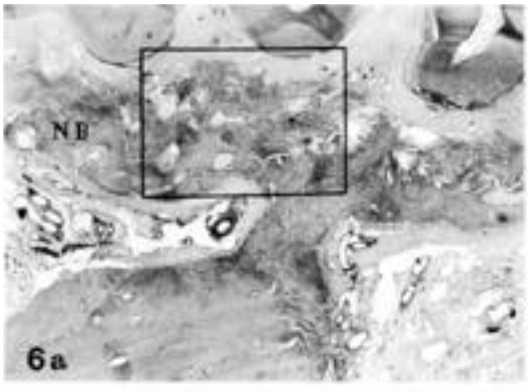


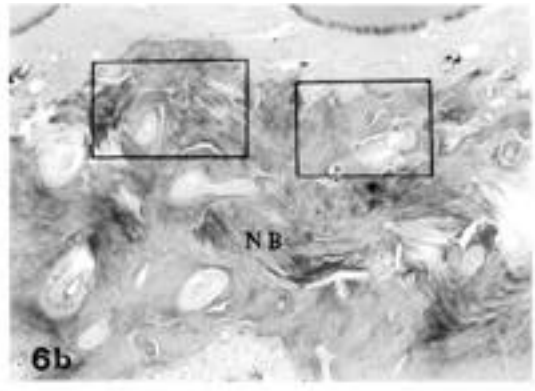


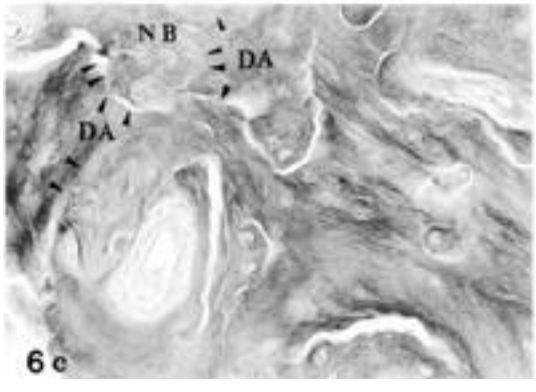


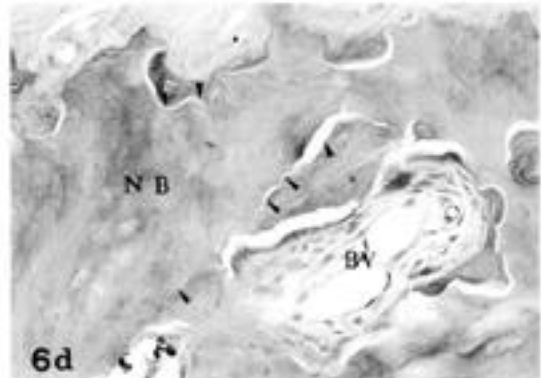


사진부도 (Ⅳ)









사진부도 설명

Figure 1 : Non - grafted(10 days after surgery)

1a : Periodontal fenestration defect was filled with osteoid and blood vessels. X 40. H - E stain.

1b : Note the discrepancy of stain between left and right sidein marked area. X 100. H - E stain.

1c : Marked left side showed dense connective tissue, right side showed new bone.(Arrows indicated border between dense connective tissue and new bone tis - sue.) X 400. H - E stain.

Figure 2 : Non - grafted(35 days after surgery)

2a : Bone tissue increased and matured than at 10 days after surgery.X 40. H - E stain.

2b : Remarkable new bone formation showed in the defect. X 100. H - E stain.

Figure 3 : Deproteinized bovine bone mineral grafted(10 days after surgery)

3a : DBBM granules filled the defect. There was no new bone tissue.X 40. H - E stain.

3b : Loose connective tissue around the granules of DBBM was observed. See the marked area through high magnfication. X 100. H - E stain.

3c, 3d : Fibrous encapsulation showed around the granules of DBBM. And inflammatory cells infiltrated into the defect. No bone formation showed in the defect. X 400. H - E stain.

Figure 4 : Deproteinized bovine bone mineral grafted(35 days after surgery)

4a : Increased new bone formation and dense connective tissue were showed in the defect. Blood vessels infiltrated into the defect.X 40. H - E stain.

4b : DBBM granules remained in the defect and were combined with new bone and each other and joined host bone. X 100. H - E stain.

4c, 4d : Arrow heads showed the border between DBBM granules and new bone. X 400. H - E stain.

Figure 5 : Demineralized freeze - dried bone allograft grafted(10 days after surgery)

5a : DFDBA granules filled the defect and loose connective tissue showed around the granules. No bone formation showed in the defect. X 40. H - E stain.

5b : Periodontal ligament cells grew up and radiated from cut ligamental space in every direction. The fibers intermingled with adjacent tissue. X 100. H - E stain.

5c : Under high magnification, band - like new cementum formed on cut root surface. Arrow heads indicated the new cementum. X 400. H - E stain.

5d : DFDBA granule showed unique striae and fibrous connective tissue encapsulated the DFDBA granules. No new bone formation was observed. X 400. H - E stain.

Figure 6 : Demineralized freeze - dried bone allograft grafted(35 days after surgery)

6a, 6b : Increased bone formation showed in the defect. Remarkable new bone, DFDBA granules, dense connective tissue and blood vessels filled the defect. X 40, X100.

H - E stain.

6c, 6d : DFDBA granules remained in the defect and showed the indistinct border between granules and new bone. Granules had very closed contact each other without gap. Arrow heads indicated the border between the new bone and DFDBA. X 400. H - E stain.

사진부도 약자 풀이

R : Root of tooth
OB : Old bone
NB : New bone
DCT : Dense connective tissue
LCT : Loose connective tissue
DM : Deproteinized bovine bone mineral
DA : Demineralized freeze - dried bone allograft
IC : Inflammatory cells
NC : New cementum
BV : Blood vessels

- Abaract -

Healing Effects of Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft and Deproteinized Bovine Bone Mineral on Periodontal Fenestration Defect in Rats

Joong-ho Shin, Young-Hyuk Kwon, Joon-Bong Park, Yeek Herr

Department of Periodontology, College of Dentistry, Graduate school, Kyung Hee University

The present study was performed to compare effects of demineralized freeze-dried bone allograft(DFDBA) with deproteinized bovine bone mineral(DBBM) on periodontal fenestration defect in rats. Twelve adult male rats weighing 500 to 540 grams were used in this study. Periodontal fenestration defects were surgically created with tapered fissure bur(ϕ1mm) at the left side of buccal surface of the mandible. The defect size was from anterior border of the first molar to anterior of the ascending ramus mesiodistally and from just below the alveolar crest to apically 1.5-2mm area apicocoronally with 2mm in depth. Rats were divided into control group, test group I and II. Four defects were assigned to the test group I grafted with DBBM and other 4 defects were assigned to the test group II grafted with DFDBA. The rest of defects were the negative control group. At 10 days and 35 days after surgery, 12 rats were sacrificed through intracardiac perfusion and specimens were obtained prepared with Hematoxylin-Eosin stain for light microscopic evaluation.

The results of this study were as follows :

1. In the control group, new bone, osteoid, dense connective tissue were observed in the defects at 10 days. new bone formation was not found but loose connective tissue was formed in the defect and fibrous encapsulation of graft materials was shown in two test groups at 10 days.
2. In all groups, new bone formation was shown in the defect at 35 days. And in the control group, bone formation increased at 35 days than at 10 days.
3. In the test group I and II at 35 days, graft materials were combined with new bone and joined host bone. There was very close contact between new bone, graft materials, and host bone with no gaps.
4. In the test group I and II, new bone formation was similar to that in the control group but not exeeded.

In conclusion, in the test group I new bone formation was similar to that in the test group II at 35 days, but there was infiltration of inflammatory cells at 10 days. DFDBA and DBBM were considered as the biocompatible graft materials and effective in the regeneration of new bone.