

3급 치근분지부 골결손에서 transforming growth factor-β가 치주조직의 재생에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

김영준

전남대학교 치과대학 치주과학 교실 및 치의학 연구소

I. 서론

치주치료의 목표는 치주질환에 의해 상실된 치주조직의 재생과 기능회복에 있으며 치조골 결손부를 수복하기 위한 여러 치료법들이 제시되었다¹⁻³⁾.

치조골에 대한 처치는 Goldman에 의해 골결손의 분류 및 그에 따른 처치법이 보고된⁴⁾ 이후 자연치유에 의존하는 방법, 수복되기 쉬운 형태로 골 외형을 수정하는 정형술, 골조직이나 기타 다른 재료를 이식하여 수복하는 방법들이 제안되었다⁴⁻⁶⁾. 그러나 자연치유에 의존하는 방법이나 골 정형술은 만족할 만한 치조골 재생을 얻을 수 없었다. 따라서 치조골 재생을 증진시킬 수 있는 방법이 필요하게 되었고 골유도를 목적으로 자가골, 동종골, 그리고 합성골 이식 등 여러 가지 재질에 의한 골이식술이 행해지게 되었다. 그러나 골이식술을 통해 어느 정도의 임상개선이 있었다는 보고들이 있지만^{7, 8)} 치유중 이식재의 탈락 및 이식재의 존재에 의한 치주조직의 치유 지연 등 치주질환에 이환된 치근면에서 치조골 재생을 얻는데 어려움이 있다^{9, 10)}.

생체친화성이 있는 차폐막을 사용하여 상피의 하방증식을 물리적으로 차단시켜 파괴된 치주조직의 신부착을 얻으려는 조직유도재생술도 광범위하게

이용되고 있는데 치주질환에 이환된 치근면의 백악질 재생과 결합조직 부착 증진 등 치주조직의 신부착에 유효한 방법으로 여겨지고 있지만, 3급 분지부 치주병소나 결손부위가 큰 경우 조직유도재생술의 효과는 제한되어 있다¹¹⁻¹³⁾.

한편 최근에는 치주질환의 발병과 진행 혹은 치유시 성장인자들의 역할에 대한 관심이 집중되고 있다^{14, 15)}. 치주조직의 창상치유과정에서 치주인대유래 세포의 증식, 분화의 조절을 담당하는 세포성장인자들 중 혈소판 유래의 성장인자, transforming growth factor, 골형성 단백질(bone morphogenic protein, BMP)등이 현재 많이 연구되고 있다^{14, 16, 17)}. 그 중에서 transforming growth factor-β(TGF-β)는 여러 종류의 세포들의 증식과 분화에 관여하는 다기능 펩타이드로서 특히 골조직에서 그 생성량이 많은 것으로 보고되고 있다¹⁸⁾.

TGF는 TGF-α와 TGF-β로 분류되며 이들은 구조적, 기능적으로 무관하다. TGF-α는 약 5,600 Dalton의 분자량을 가진 50-amino acid single chain protein 이며¹⁹⁾, 상피성장인자(Epithelial growth factor; EGF)와 42% 동질성을 가지고 EGF 수용기에 경쟁적으로 작용하며 상피세포와 내피세포를 자극한다^{20, 21)}. TGF-β는 TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3의 3가지 형태로

* 이 논문은 1999년도 전남대병원 임상연구소 지원에 의한 결과임.

교신저자: 김영준, 광주광역시 동구 학1동 5번지 전남대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호: 501-757

구분되며 골과 혈소판이 주요 발생기원으로, 상피세포의 증식을 억제하고 간엽세포의 증식²²⁾과 섬유아세포의 화학주성과 증식을 자극하며 세포외기질의 생성을 유도²³⁾한다고 알려져 있다.

생체내 골대사에서의 TGF- β 효과는 다양하게 보고되고 있는데, TGF- β 가 골조직 세포의 복제, 발생, 형태분화에 자극을 주어서 골아세포의 수, 기질 침착율, 교원 혹은 비교원성 단백질 합성을 증가시킨다는 보고들^{24,25)}이 있는 반면, 골아세포의 alkaline phosphatase 활성을 감소시키고 교원단백질과 골 조직의 다른 단백질의 합성을 감소시킨다는 보고들^{26,27)}도 있다.

이와같이 생리적 골 대사과정에서 TGF- β 가 작용하는 역할에 대해서는 아직까지 정확하게 규명되지는 못하였지만, TGF- β 는 혈소판에 많이 함유되어 있고 또 골조직에도 많이 존재하고 있기 때문에 창상치유시 TGF- β 가 일정한 역할을 할 것으로 제안^{28,29)}되고 있다. 또한 치주조직의 손상이 있는 경우에 TGF- β 가 세포유주인자와 세포성장인자로서 작용하여 치주인대세포가 교원섬유와 치조골, 백악질을 형성하는 세포로 분화하는데 조절하는 기능이 있을 것으로 추측³⁰⁻³²⁾되고 있다.

지금까지의 연구결과로 볼때 치주조직의 재생에 있어서 TGF- β 의 응용의 가능성이 시사되며 임상적으로는 국소부위에서 결합조직과 골조직의 수복촉진 작용에 대해서 주목되고 있다³⁰⁻³⁵⁾. 그러나 지금까지의 연구들은 배양한 인간의 두개관 골아세포 혹은 치주인대 세포등을 이용한 생체밖 실험이거나 쥐와 같은 작은 동물의 장골이나 두개관등의 폐쇄창을 이용한 것이 대부분³³⁻³⁵⁾으로 악골의 감염된 치근면에 인접한 치조골 결손부에서의 치주조직 재생에 TGF- β 의 영향을 평가한 연구는 없었다.

이에 본 연구의 목적은 성견에 실험적인 3급 분지부 병소를 제작하고 병소부위에 TGF- β 가 침적된 동결탈회동결건조골을 이식하여 치주조직의 치유 및 재생과정을 조직학적으로 평가하여 TGF- β 가 치주조직 특히 치조골과 치주인대의 재생에 어떤 영향을 주는지를 평가하고자 시행하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험부위

연구치가 완전히 맹출된 생후 12-16 개월된 잡종성견 8마리를 실험동물로 선정하였으며 실험 부위로써 인간의 치아와 유사한 크기를 갖는 하악 제 3, 4소구치를 선택하였다.

2. 연구방법

1) 동종탈회동결건조골의 제조

다른 실험후 희생된 성견의 대퇴골과 경골에서 원위골단부, 근위골단부, 골막과 골수 및 연조직을 제거하고, 골분쇄기와 mortar & pestle을 이용하여 골을 잘게 부순 뒤 체를 이용하여 70-500 μ m의 골편을 얻었다. 이를 실온에서 클로로포름과 메탄올의 1:1 혼합용액에 1시간동안 처리하여 지방을 제거한 후 증류수에 세척하였고 골편 gm당 50ml의 0.5N 염산 용액에 담가 4시간마다 용액을 교환하여 12시간 탈회시키고 산에 용해되는 단백을 제거하였다. 이렇게 얻어진 탈회골을 증류수에 세척한 후 동결건조기(Neocool[®], Yamato, Japan)를 이용하여 24시간 동결건조하여 동종탈회동결건조골을 제작하였다.

2) 실험군 설정 및 외과적 처치

실험동물의 죽근정맥에 염산케타민(케다라[®], 유한양행) 2mg/kg을 주사하여 전신마취시키고 기관내 삽관한 후 Halothane-O₂를 주입하여 전신마취를 유지하였다. 실험부위인 하악 제 3, 4소구치와 제 1대구치 부위에는 2% 염산리도카인(광명리도카인[®], 광명약품)으로 침윤마취를 시행하였다. 치조골 결손부 형성을 위해 하악 제 2소구치의 근심에서 제 2대구치의 근심까지 열구내 절개를 시행한 후 골막을 포함한 전층판막을 거상하였다. 하악 제 3, 4소구치의 치근분지부 치조골을 치과용 바(bur)를 사용하여 폭 3.5mm, 길이 6mm의 관통형 치조골 결손부를 형성한 후 하였으며 결손부의 자연 치유를 방해하고 실험적 치주염을 유도하기 위해 솜을 넣은 후 봉합하

고 3주간 방치하였다.

외과적 골결손부를 형성한 3주 후 실험동물을 다시 전신마취시킨 후 하악 소구치부 관막을 거상하고 솜을 제거하였다. 노출된 치근은 큐렛으로 활택하게 하여 백악질을 제거하였으며 병소의 기저부에 해당하는 치근에 0.5mm의 구형 바(round bur)로 홈을 형성하여 기준점으로 삼았다. 실험부위는 처치방법에 따라 4군으로 분류하였는데 제 I군은 치주관막술만 한 군을, 제 II군은 동종탈회동결건조골 이식을 병행한 군을, 제 III군은 TGF- β 4ng/10 μ l의 농도를 침적한 동종탈회동결건조골 이식한 군을, 제 IV군은 TGF- β 20ng/10 μ l의 농도를 침적한 동종탈회동결건조골 이식한 군으로 하였다.

제 III, IV군에 사용된 동결건조된 TGF- β (Sigma Co. U.S.A.)는 해동시킨후 2mg/ml의 bovine serum albumin이 포함된 5mM의 HCl을 이용하여 활성화시킨 후 인산완충용액(pH 7.4)으로 원하는 농도(4ng/10 μ l, 20ng/10 μ l)로 조정하여 사용하였다. TGF- β 의 운반체(carrier)로써는 동종탈회동결건조골을 이용하였다.

술후 7일간 감염방지를 위하여 엠피실린(엠실린®, 종근당) 500 mg을 매일 근육 주사하였으며 술후 1주에 봉합사를 제거하였다. 술후 2주간은 유동식을, 이후에는 일반사료를 공급하였으며 술후 1주부터 0.1% 클로르헥시딘 겔(K-Y gel®, Johnson & Johnson, U.S.A.)을 사용하여 주 2회 칫솔질을 시행하였다.

3) 조직학적 관찰

TGF- β 가 침적된 동종탈회동결건조골에 의한 치주조직의 재생에 미치는 효과를 알아보기 위하여 모두 8마리의 성견을 술후 8주에 희생시켰다. 조직학적 관찰을 위해 실험부위가 포함된 악골을 적출하여 70% ethyl alcohol에 1주일간 고정된 후 통법에 따라 20 μ m 두께의 협설측 방향의 비탈회 절편을 제작하였으며, 일부 조직편들은 10% formalin에 1주일간 고정하고 5% nitric acid로 4주간 탈회하고 paraffin 포매 후 통상적인 방법으로 근원심 방향으로 4 μ m 두께의 탈회절편을 제작하여 Hematoxylin-Eosin 염색

을 시행한 후 광학 현미경으로 관찰하였다.

4) 조직계측학적 관찰

각 군에서 실험부위당 10개의 조직표본을 선택하여 치조정과 reference notch를 참고점으로 하여 1) 치조정-홈간 거리, 2) 치조정-접합상피 근단부간 거리, 3) 치근면에 도달한 접합상피의 길이, 4) 재생된 백악질의 길이 그리고 5) 치근면에 재생된 결합조직의 거리를 측정하였다.

5) 통계처리

이상의 모든 항목에 대해 평균값 및 표준편차를 구했으며 각 군간의 비교분석은 SAS program을 이용하여 one-way ANOVA와 Duncan 다중비교 검증으로 처리하였다.

III 결과

1. 육안적 소견

술후 1주째부터 치은퇴축이 나타나기 시작하였으며 치은 변연의 염증소견이 보였다. 치은퇴축은 치은관막술만 시행한 제 I군이 가장 심하였으며 제 II, III, IV군에서도 제 I군에 비하여 적으나 치은퇴축 소견이 보였다.

1주째 소견에서는 모든 군의 일부 치은 변연에서 염증소견이 나타났으나 시간이 경과함에 따라 감소하였다.

2. 광학 현미경적 소견

1) 제 I군 : 치주관막술군

상피가 홈 부근까지 하방 이동되었으며 신생 백악질의 형성은 홈의 내면부위에 한정되어 형성되어 있었으며 백악아세포(cementocyte)도 관찰되었다. 치주인대 섬유는 홈 내부에서는 치근면에 직각으로 배열되어 있었고 홈 상방에서는 평행하게 배열되어 있었다. 신생골은 홈 내면 혹은 약간 상방까지 형성되어 있었고 분지부 중앙부위보다는 치근면 인접부위

에서 신생골이 많이 형성되어 함요형을 나타내었다. 형성된 골 상부에는 결합조직이 치밀하게 덮혀 있었다(Figure 1).

2) 제 II군 : 동종탈회동결건조골 이식군

제 I군에서와 같이 상피가 치근면을 따라서 하방으로 근단이동이 관찰되었으며 그 하방에 결합조직성 섬유들이 관찰되었다. 이식된 동결건조탈회골은 대부분 흡수되어 관찰되지 않았고 흡 상방으로 수지상으로 증식된 신생골이 관찰되었으며 신생골 주위로 조골세포들이 배열되어 있었다. 백악질은 흡 상방 치근면을 따라서 재생되었으나 그 두께는 불규칙하였으며 치주인대 섬유는 치근면에 직각으로 배열되어 있었다(Figure 2).

3) 제 III군 : 4ng/10 μ l 농도의 TGF- β 를 침적한 동종탈회동결건조골 이식한 군

상피의 하방이동은 제 I, II군에 비하여 치관측으로 억제되었고 골형성은 흡상방 치관측으로 진행되어 골결손부의 2/3 이상을 채우고 있었으나 분지부를 완전히 폐쇄시키지는 못하였다. 이식된 동결건조탈회골은 흡수되어 관찰되지 않았다. 백악질은 흡부위에서 상피접합부 하방까지 형성되었으며 치주인대 섬유는 치근장축에 직각으로 배열되어 있었다(Figure 3).

4) 제 IV군 : 20ng/10 μ l 의 농도의 TGF- β 를 침적한 동종탈회동결건조골 이식한 군

상피의 하방이동은 제 III군에서와 같이 치관측으로 억제되었고 골형성도 흡 상방으로 치관측 1/2 ~ 2/3 이상을 채우고 있었으나 분지부를 완전히 폐쇄시키지는 못하였다. 흡 상방으로 크고 불규칙한 수지상으로 증식된 신생골이 관찰되었으며 신생골 주위로 조골세포들이 배열되어 있었다. 이식된 동결건조탈회골은 흡수되어 관찰되지 않았으며 백악질은 흡 부위에서 치관측으로 형성되었으나 그 두께는 불규칙하였다. 치주인대 섬유는 치근장축에 직각으로 배열되어 있었다(Figure 4).

3. 조직계측학적 소견(Table 1, Figure 5)

치근면의 접합상피 부착대는 8주후 1.41-1.70mm로 4군간에 차이가 없었으나 제 II군에서 가장 많은 상피 부착대를 보였다. 결합조직성 부착대는 1.24-1.33mm로 Group I이 가장 높은 부착대를 보였으나 4군간의 차이는 없었다. 치조골 재생에 의한 부착대는 1.00-2.40mm였으며 제 III, IV군이 제 I, II군에 비하여 유의하게 많은 골재생을 보였다(p<0.05, Table 1). 골결손부내 치주조직 부착증진율은 38.9-61.0%로 제 III군이 가장 많은 치주조직 부착증진율을 보였다. 치조골 수복율은 25-64%로 제 III군이 가장 높은

Table 1. Linear histometrics in bucco-lingual sections for treatment modalities at 8 weeks (n=10)

	Junctional Epithelium	New Attachment			% of Attachment Gain
		Connective tissue	Alveolar bone		
Group I	1.59±0.52	1.33± 0.27	1.00± 0.23	}*	38.9± 5.86
Group II	1.70±0.32	1.28± 0.32	1.26± 0.26		42.4± 7.32
Group III	1.36±0.39	1.26± 0.34	2.40± 0.48		61.0± 5.91
Group IV	1.41±0.36	1.24± 0.12	2.00± 0.15		54.2± 3.33

Values are mean ± standard deviation(mm)

Asterisk means statistically significant difference among 3 group by one-way ANOVA and Duncan's multiple range test(*; P<0.05), distance from furcation roof to coronal end of JE

% of Attachment gain = 1- distance from furcation roof to the notch X 100

Group I : Surgical debridement only

Group II : DFDBA grafting

Group III: DFDBA/TGF- β (4ng/10 μ l) Implant

Group IV: DFDBA/TGF- β (20ng/10 μ l) Implant

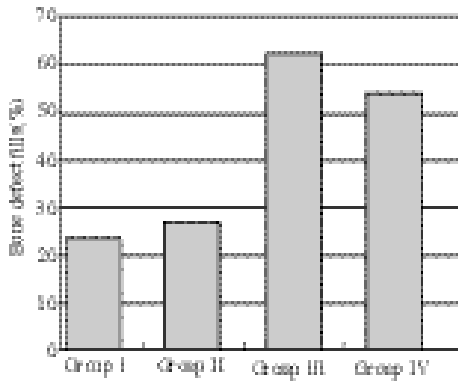


Figure 5. Bone fills(%) of Class III furcation defect

수복율을 보였으며 제 III, IV군이 제 I, II군에 비하여 유의하게 높았다.

IV. 고찰

치주질환의 치료에 있어서 질환의 병인을 제거하여 염증의 진행을 막고 상실된 치주조직의 재생을 위한 여러 외과적 치료 술식들이 시행되어 왔으나 대부분의 경우 치료부위가 긴 접합상피에 의해 치유되어 신부착을 얻는데 실패하였다³⁶⁾. 따라서 골결손부를 포함한 만성 치주염의 치료시 치조골의 재생과 치주조직의 신부착을 얻기 위하여 많은 재료들과 술식에 대한 연구가 이루어져 왔다³⁷⁻³⁹⁾.

조직재생술을 이용한 구치부의 3급 분지부 치료시 Pontoriero등³⁹⁾은 극히 일부 경우에서만 성공을 보이고 대부분의 경우 만족스러운 결과를 얻을 수 없었다고 하였으며 Gottlow등¹²⁾도 신부착은 증진되었으나 골개선은 나타나지 않았다고 보고하였다. 이와 같이 3급 분지부 병소는 신부착을 얻을 수 있는 조직유도재생술을 이용하여도 치조골 재생량은 제한되어 있다. 이와같이 3급 분지부 병소는 신부착을 얻을 수 있는 조직유도재생술을 이용하여도 치조골 재생량은 제한되어 있다.

한편 직접 혹은 간접적으로 골형성에 작용하는 조절인자로 알려진 것으로는 호르몬, 성장 분화 인자(growth and differential factor)등이 있다^{40,41)}. 최근에는 여러 성장인자 중 TGF-β에 대한 관심이 높아지

고 있으며 그 역할에 대하여 활발히 연구되고 있다. TGF-β는 분자량이 25,000 Da이며 가장 흔한 근원은 골과 혈소판으로써, 여러 세포에 광범위한 작용을 가지고 있는데 기질 전구세포, 연골세포, 골모세포, 파골세포등의 증식과 분화에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다^{22,23)}.

TGF-β가 치주조직에 미치는 영향에 관한 보고들은 치주인대세포의 증식과 분화에 대하여 인간의 치은 섬유아세포와 비교한 것이나 면역담당 세포와 상피조직에 대한 영향등이 있는데 여러 가지 세포에 대한 작용이 농도에 의존하여 증가한다거나 혹은 고농도에서는 오히려 억제효과가 나타난다는 보고가 있다. Suzuki등³²⁾은 인간의 치주인대세포에 TGF-β를 적용하면 농도 의존적으로 세포증식을 촉진시킨다고 하였으나 Matsuda등⁴²⁾은 백서의 치주인대세포에 0.1-10ng/ml의 TGF-β를 적용하면 오히려 세포분열능력이 저하된다고 하여 아직까지 치주인대세포의 유주와 증식에 대한 TGF-β의 작용에 대한 논란이 있다. 이와 같이 TGF-β의 작용이 상반된 결과가 나오는 이유는 TGF-β의 작용농도와 환경조건, 개체차이등에 의한 것으로 생각된다.

동물실험시 TGF-β의 투여량은 백서의 두개골 결손부에 4ng/10μl을 도포시 골재생이 촉진⁴³⁾되었다고 하였으나, 토끼의 구강내 골 결손부에 비교적 고농도인 20ng/10μl을 투여시 오히려 골재생이 억제^{24,44)}되었다고 하는 등 아직 골이나 치주조직 재생을 위한 TGF-β의 적정한 농도도 설정이 되어 있지 못한 실정이다. 또 지금까지의 연구들^{24,42-44)}은 쥐나 토끼와 같은 작은 동물의 두개골이나 장골을 이용하였으며 주로 재생된 조직의 세포 기원이나 폐쇄된 환경하에서 상방으로 조직이 재생할 수 있는지를 알아보는 방법들로, TGF-β를 악골내에 적용하거나 구강내에 노출된 환경하에서 고농도와 저농도의 TGF-β를 적용시 이 성장인자가 치주조직의 재생에 어떠한 효과를 미치는지를 규명한 연구는 드물다.

이에 본 연구는 성견의 3급 분지부 결손을 만들고 여러 문헌을 참고하여 골재생을 촉진시키는 농도와 억제시키는 농도라고 보고된 4ng/10μl, 20ng/10μl의 두가지 농도의 TGF-β를 동종탈회동결건조골에

침적시킨 후 성견의 하악 3급 치근 분지부 병소에 이식하였을 때 각 농도의 TGF- β 가 치주조직 특히 치조골 재생에 대한 효과를 알아보고자 하였다.

TGF- β 를 투여하는 방법으로는 국소적으로 cotton pellets에 적셔서 1분간 투여하는 방법⁴⁵⁾이나, 주사기를 이용한 전신적 투여방법^{46,47)}이 이용되고 있다. 그러나 이러한 방법에서는 조직성장인자의 농도를 규격화시키기가 어렵고, 전신적 투여시 여러 가지 문제점들이 지적되고 있다. 또한 조직성장인자의 방출을 규격화시키기 위한 여러 가지 방법들이 소개되고 있으나 아직까지는 만족스러운 결과를 얻지 못하고 있다.

본 연구에서는 조직성장인자의 운반체(carrier)로써 Sidurdsson등⁴⁸⁾이 사용한 방법을 이용하였는데 동종탈회동결건조골을 이용하는 경우 그 자체가 치주조직 재생을 위한 공간을 확보하는 능력이 있으며 또한 운반체(carrier)로써의 역할을 충분히 수행하는 등 여러 가지 장점이 있어 이 방법을 사용하여도 무리가 없다고 생각되었다.

본 실험에서 신생골 재생량은 치주관막술만 시행한 제 I군은 1.0mm, 부가적으로 골이식을 병행한 제 II군은 1.26mm, 4ng/10 μ l, 20ng/10 μ l의 TGF- β 를 침적한 동종탈회동결건조골을 이식한 제 III, IV군은 각각 2.4mm, 2.0mm로 제 III, IV군이 제 I, II군에 비하여 유의하게 많은 신생골 형성을 보였다(p<0.05). 치조골의 수복을 역시 TGF- β 를 동종탈회동결건조골에 침적시켜 이식한 제 III, IV군들이 제 I, II군들에 비하여 유의한 차이를 가지며 높은 치조골 수복율을 보였다(p<0.05). 이는 TGF- β 는 골아세포의 증식 및 골아세포의 제 I형 교원질합성과 다른 비교원성 골기질등을 발현시켜 골 신생 및 형성을 촉진시킨다는 보고^{44,49)}와 TGF- β 를 치주조직에 적용시 치조골 침착 증가, 백악질 형성 증진등이 나타난다는 Sugishita등³⁰⁾의 보고로 미루어 볼 때, 치근 분지부 병소에 적용된 TGF- β 가 치주인대 및 골아세포를 자극하여 치주조직의 재생이 얻어진 것으로 생각된다. 치은결체조직의 재생은 1.24-1.33mm로 4군 모두 유의한 차이는 없었으나 제 I군에서 가장 넓은 결합조직대가 관찰되었다. 이는 제 III, IV군에서는 TGF- β 에 의한 치

은섬유아세포의 직접적인 영향이라기 보다는 치조골 및 치주인대세포에 대한 TGF- β 의 영향으로 많은 치조골 재생이 나타나 상대적으로 결합조직성 부착대가 적었던 것으로 생각된다. 접합상피대는 각 군간에 유의한 차이는 없었으나 제 II군에서 상피대가 더 큰 경향을 보였는데 이는 이식재의 탈락에 의한 상피의 하방증식 가능성을 시사한다. 또한 제 III, IV군이 제 I, II군에 비하여 비교적 상피의 하방증식이 낮았는데 이는 TGF- β 가 빠르시기에 치주인대 유래의 세포를 자극하여 치관측으로 치주인대 세포의 유주, 증식에 관여했기 때문으로 생각된다.

본 실험에서 백악질 재생은 제 I, II군에서는 홈 주위에 한정되어 재생되었으나 제 III, IV군에서는 홈 상방 치관측으로 재생되어 상피하방까지 형성되어 많은 재생을 보여주었다. 그러나 제 III, IV군에서 백악질 재생이 증진된 것은 TGF- β 가 직접 백악아세포의 분화를 자극하였기 때문이라기 보다는 치주인대 유래 세포 자극에 의하여 백악질 형성이 증진된 것으로 추측된다³¹⁾.

치근의 흡수와 유착은 치주 치유 후에 나타날 수 있는 현상⁴⁸⁾으로 이는 치주인대나 백악질이 개재되지 않고 치은섬유나 골이 직접 치근면에 부착되는 경우이다. 그러나 본 실험에서 제 III군과 IV군은 치근의 흡수나 유착없이 재생된 백악질과 골 사이에는 결합조직성 섬유가 관찰되었으며 치아장축에 직각인 기능적 배열을 보였다. 이는 TGF- β 가 치주인대섬유의 분화 및 유주를 촉진시켜 치주인대섬유의 성숙과 백악질 재생을 도모하여 골 유착 및 치근 흡수를 방지하였기 때문으로 생각된다.

TGF- β 는 농도에 따라 두 가지 상반된 작용을 나타내는 것으로 알려져 있는데, 낮은 농도에서는 세포의 증식을 촉진하며, 높은 농도에서는 세포의 증식을 억제⁵⁰⁾한다고 보고되고 있다. 그러나 본 실험의 경우에는 적용된 두 농도 모두에서 많은 양의 치주조직 재생을 보여 적용된 농도에 따른 치주조직 재생에는 커다란 차이를 보이지 않았다. 이는 과거의 실험들은 생체밖 실험⁵⁰⁾이거나 쥐나 토끼와 같은 작은 동물의 악골이나 두개골을 이용^{24,40,41)}하였으며 주로 재생된 조직의 세포 기원이나 폐쇄된 환경하에서의

실험으로, 본 실험에서와 같이 비교적 큰 동물에서 그리고 실제 구강내에 노출된 환경하에서 TGF-β를 적용하였을 때의 결과는 차이가 있을 수 있을 것으로 사료되나 이 부분에 대해서는 더 많은 체계적인 연구가 필요하리라 생각된다.

이번 실험의 경우 TGF-β를 침적시킨 동종탈회동결건조골을 이식하였을 때 치조골을 포함한 치주조직의 재생은 유의하게 많이 얻어졌으나 치근 분지부의 완전한 폐쇄는 얻지 못하였다. 그러나 골조직 재생이 어려운 3급 분지부 병소에서 개체 차이는 있었지만, TGF-β에 의한 치조골 재생 및 치주조직의 신부착은 상당히 높은 수준으로 얻어졌다.

이상의 실험결과는 심하게 파괴된 치주조직에 TGF-β가 침적된 이식재를 삽입하면 치조골 재생이 촉진되고 접합상피의 하방성장이 억제되어 치주조직의 신부착이 증진될 가능성을 보여주었다. 그러나 이번 실험은 8주간의 비교적 짧은 관찰기간으로, 보다 많은 표본에서 장기간의 치유효과를 보는 것이 필요하리라 생각된다. 또한 TGF-β의 다양한 운반체(carrier)에 대한 평가와 임상에서 사용시 가장 효과적인 농도를 결정하는 연구가 필요하리라 생각된다.

V. 결론

이 연구는 transforming growth factor-β(TGF-β)가 골형성을 촉진시킨다는 연구보고에 근거하여 치주 질환에 의해 파괴된 치주조직에 TGF-β를 적용하였을 때 치조골을 포함한 치주조직의 재생에 미치는 영향을 알아보고자 시행하였다.

성견의 하악 제 3, 4 소구치에 3급 분지부 골결손을 외과적으로 만들고 실험적 치주염을 유발시킨 후 치은판막술만 시행한 군을 제 I군으로, 동종탈회동결건조골을 이식한 군을 제 II군으로, TGF-β 4ng/10μl의 농도를 침적한 동종탈회동결건조골 이식한 군을 제 III군으로, TGF-β 20ng/10μl의 농도를 침적한 동종탈회동결건조골 이식한 군을 제 IV군으로 나누고 술 후 8주에 치주조직의 재생 양상을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 접합상피의 부착대는 1.36-1.70mm로 제 III군이 가장 적은 접합상피 부착대를 보였으며 제 II군이 가장 많은 부착대를 보였으나 4군 모두 유의한 차이는 보이지 않았다.
2. 결합조직 부착대는 1.24-1.33mm로 제 I군이 가장 많은 부착대를 보였으나 4군 모두 유의한 차이는 보이지 않았다.
3. 치조골 재생양은 1.00-2.40mm로 제 III군이 가장 많았으며 제 III, IV군이 제 I, II군에 비하여 유의하게 많았다.
4. 치주조직의 신부착 정도는 38.9-61.0%로 제 III군이 가장 높았으며 제 III, IV군이 제 I, II군에 비하여 유의하게 높았다.

이상의 결과는 3급 분지부 골 결손을 동반하는 치주병소에 TGF-β를 침적한 동종탈회동결건조골을 이식하면 치조골 재생의 증진과 함께 치주조직의 신부착을 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Carranza FA: A technique for treating infrabony pockets so as to obtain reattachment, Dental Clin North Am 75-83, 1960.
2. Elllegaard B, Karring T, Loe H: New periodontal attachment procedure based on retardation of epithelial migration, J Clin Periodontol 1:75-88, 1974.
3. Carraaro JJ, Sznajder N, Alonso CA: Intraoral cancellous bone autografts in the treatment of infrabony pockets, J Clin Periodontol 3: 104-109, 1976.
4. Goldman HM, Cohen DW: The infrabony pocket. Classification and treatment, J Periodontol 29:272-291, 1958.
5. Prichard JF: The diagnosis and treatment of periodontal disease, pp358-369 Saunder Philadelphia, 1979.
6. Froum SJ, Thaler R, Scoop IW, Stahl SS: Osseous

- autograft. Clinical response to bone blend or bone marrow grafts. *J Periodntol* 46:515-521, 1975.
7. Mellonig JT, Bowers GM, Bright RW, Lawlence JJ: Clinical evaluation of freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects. *J Periodontol* 47:125-131, 1976.
 8. Blumental NM: The effect of supracrestal tricalcium phosphate ceramic-microfibrillar collagen grafting on postsurgical soft tissue levels. *J Periodontol* 59: 18-21, 1988.
 9. Ganeles J, Listgarten MA, Evian CI: Ultrastructure of durapatite periodontal tissue interface in human infrabony defects. *J Periodontol* 57: 133-140, 1986.
 10. Bye FL, Krause ME, Regezi JA, Caffesse RG: Histologic evaluation of periodontal implants in biologically closed model. *J Periodontol* 58: 110-114, 1987.
 11. Caffese RG, Smith BA, Nasjleti CE, Lopatin DE: Cell proliferation after flap surgery. *J Periodontol* 58: 661-667, 1987
 12. Gotlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wenstrom J: New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case report. *J Clin Periodontol* 13: 604-616, 1986.
 13. Pitaru S, Tal H, Soldinger M, Noff M: Collagen membranes prevent apical migration of epithelium and support new connective tissue attachment during periodontal wound healing in dogs. *J Periodontal Res* 24: 247-253, 1989.
 14. Terranova VP, Wikesjo UME: Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells of the periodontium. *J Periodontol* 58:371-380, 1987.
 15. Dennison DK, Vallone DR, Pinero GJ, Ritterman B, Caffesse RG: Differential effect of TGF- β and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts. *J Periodontol* 65: 641-648, 1994.
 16. Canalis E, McCarthy T, Centrella M: The regulation of bone formation by local growth factors. *On bone and mineral research* 6 Elsevier Publishers, Amsterdam, 1989.
 17. Canalis E, McCarthy T, Centrella M: The role of growth factors in skeletal remodeling. *Endocrin Metabol Clin N Am* 18:903, 1989.
 18. Seyedin SM, Thomas TC, Thomson AY, Piez KA: Purification and characterization of two cartilage-inducing factors from bovine demineralized bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:2267-2271, 1985.
 19. Derynck R, Jarrett JA, Chen EY: Human TGF- β cDNA sequence and expression in tumor cell lines. *Nature* 316:701-705,1985.
 20. Burgess AW: Epithelial growth factor and transforming growth factor- α . 401-424, 1981.
 21. Derynck R, Jarrett JA, Chen EY, Goeddel DV: The murine transforming growth factor-beta precursor. *J Biol Chem* 261:4377-4379, 1986.
 22. Assoian RK, Komoriya A, Meyers CA, Miller DM, Sporn MB: Transforming growth factor beta in human platelets *J Biol Chem* 258:7155-7160, 1983.
 23. Keski-Oja J, Leof EB, Eyons RM, Coffey RJ, Moses HL: Transforming growth factor and control of neoplastic cell growth. *J Cell Biochem* 33:95-107,1987.
 24. Noda M, Camilliere JJ: In vivo stimulation of bone formation by transforming growth factor-type β . *Endocrinology* 124:2991-2994, 1989.
 25. Hock JM, Canalis E, Centrella M: Transforming growth factor beta stimulates bone matrix opposition and bone cell replication in cultured fetal rat calvariae. *Endocrinology* 126:421-426, 1990.
 26. Guenther HL, Cecchini MG, Elford PR, Fleisch H: Effects of transforming growth factor type beta

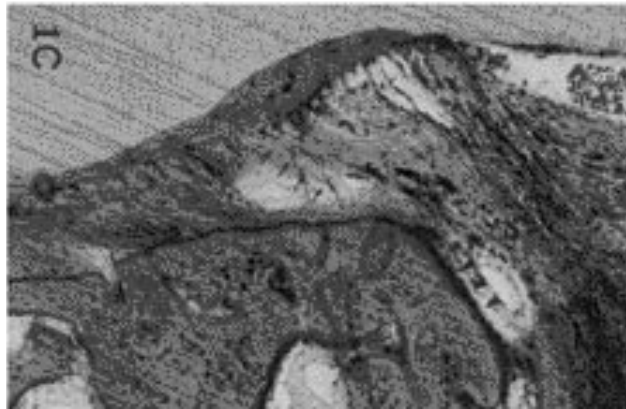
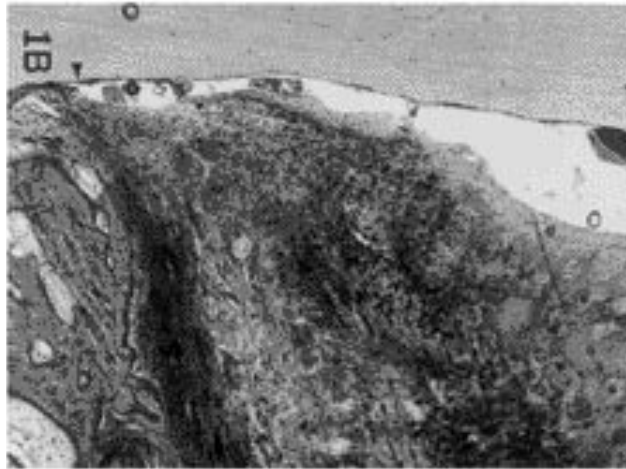
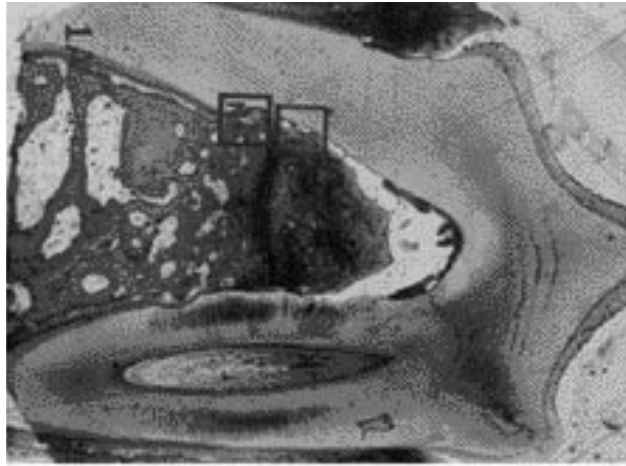
- upon bone cell population grown either in monolayer or semisolid medium. *J Bone Min Res* 3:269-278, 1988.
27. Ibbotson KJ, Orcht CM, Anglin AM: Effects of transforming growth factors $\beta 1$ and $\beta 2$ on a mouse clonal osteoblast like cell line MC3T3-E1. *J Bone Min Res* 4:37-45, 1989.
 28. Mustoe TA, Pearce GF, Thomason A, Gramates P, Sporn MB, Deuel TF: Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor beta. *Science* 237:1333-1336, 1987.
 29. Sporn MB, ROberts AN, Shull JH, Smith JM, Ward JM, Sodeck J: Polypeptide transforming growth factors isolated from bovine source and sued for wound healing in vivo. *Science* 219:1329-1337, 1983.
 30. 杉下彰男, 田園 洋, 遠蘇弘康, 松江美代子, 松江一郎: TGF- β および歯周組織再生治療への應用. *日歯周誌(春季特別号)* 36: 70, 1994.
 31. Sugishita A, Matsuda M: Regulatory effect of transforming growth factor-type β in an experimental wound healing of periodontium. *Jpn Sco Periodontol* 38:137-153, 1996.
 32. 鈴木英之: TGF- β およびEGFの培養歯根膜細胞と歯肉繊維芽細胞とへの影響-1. 細胞増殖とalkaline phosphatase 活性. *日大歯學* 66:395-404, 1992.
 33. Joyce ME, Roberts AB, Sporn MB, Bolander ME: Transforming growth factor- β and initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur. *J Cell Biol* 110:2195-2207, 1990.
 34. Robey PG, Young MF, Flanders KC, Roche NS, Kondaiiah P: Osteoblasts synthesize and response to transforming growth factor-type β in vitro. *J Cell Biol* 105:456-463, 1987.
 35. Ohshima M, Taguchi M, Ogoshi T, Fujikawa K, Ito K, Otsuka K: Stimulation of human periodontal ligament fibroblast collagenase prduction by a gingival epithelial cell-derived factor. *J Periodont Res* 30:220-228, 1995.
 36. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H: New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 9:290-296, 1982.
 37. Magnusson I, Batich C, Collins R: New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membranes. *J Periodontol* 59:1-6, 1988.
 38. Minabe M: A critical review of the biologic rationale for guided tissue regeneration. *J Periodontol* 62: 171-179, 1991.
 39. Pontoriero R, Nyman S, Lindhe J, Rosenberg E, Sanavi F: Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in man. *J Clin Periodontol* 14:618-620, 1987.
 40. Kahn AJ, Partridge NC: New concepts in bone remodeling. An expanding role for the osteoblast. *Am J Otolaryngol* 8:258-282, 1987.
 41. Nijweide PJ, Burger EH, Feyen JHM: Cell of bones. Proliferation, Differentiation, and Hormonal Regulation. *Physiol Rev* 66:855-886, 1986.
 42. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI, Genco RJ: Mitogenic, chemotactic and synthetic response of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. *J Periodontol*, 63:515-525, 1992.
 43. Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J, Masakowski VR, Griffin GL, Senior RM, Deuel TF: Platelet-derived growth factor and transforming growth factor-type β enhance tissue repair activities by unique mechani *J Cell Biol* 109:429-440, 1989.
 44. Pfeilschifter J, Seyedin SM, Mundy GR: Transforming growth factor-type β inhibits bone resorption in fetal rat long bone cultures *J Clin Invest*.82: 680-685, 1988.
 45. Wang HL, Pappert TD, Castelli WA, Chiego DJ,

- Shyr Y, Smith BA: The effect of platelet-derived growth factor on cellular response of the periodontium: an autoradiographic study on dogs. *J Periodontol* 65:429-436, 1994.
46. Varga J, Rosenbloom J, Jimenez SA: Transforming growth factor β causes a persistent increase in steady-state amounts of type I and type III collagen and fibronectin mRNA in normal human dermal fibroblasts. *Biochem J* 247:597-604, 1987.
47. Roberts AB, Sporn MB, Assoian RK, Smith JM, Rochee NS, Wakefield LM, Hein UI, Liotta LA, Falanga V, Kehrl JK, Fauci AS: Transforming growth factor-type β : rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*. 83:4167-4171, 1986.
48. Sigurdsson TJ, Nygaard L, Takakis DN, Fu E, Turek TJ, Jin L, Wozney JM, Wikesjo UME: Periodontal repair in dogs: Evaluation of rhBMP-2 carriers. *Int J Periodont Rest Dent* 16:525-537, 1996.
49. Oreffo ROC, Mundy GR, Seyedin SM, Bonewald LF: Activation of the bone-derived latent TGF beta complex by isolated osteoclast. *Biochem Biophys Res Commun* 158:817-823, 1989.
50. Thompson NL, Flanders KC, Smith JM, Ellingsworth LR, Roberts AB, Sporn MB: Expression of transforming growth factor-type β 1 in specific cell and tissues of adult and neonatal mice. *J Cell Biology* 108:661-669, 1989.

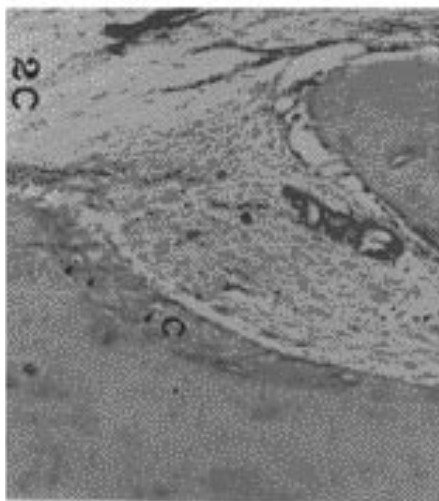
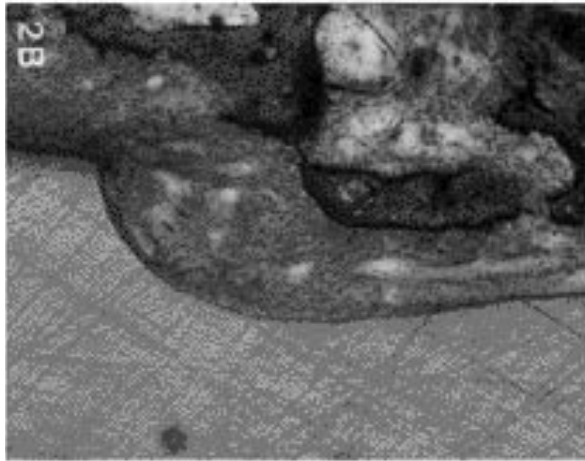
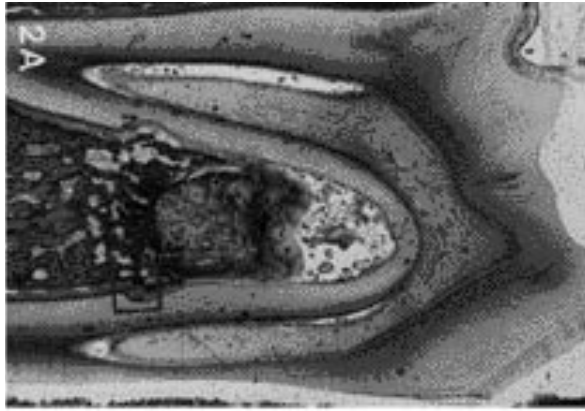
사진부도 설명

- Figure 1. Group I at the eight week. Dense collagenous connective tissue is covering over the newly formed bone crest, which is covered to the notch area. Epithelial migration is extended to the notch(N, arrow head). Periodontal ligament fibers are arranged perpendicular to the root surface(arrows). Cementum was formed along the notch wall of defected dentin(A 10×, B 40×, C 100×).
- Figure 2. Group II at the eight week. New bone crest is located coronally to the notch area(N) and the central portion of the crest is still lower than the site adjacent to periodontal space. The dense collagenous connective tissue is covering over newly formed bone crest. Newly formed cementum(C) is observed along root surface above the notch and cementocytes(arrow heads) are observed(A 10×, B 40×, C 100×).
- Figure 3. Group III at the eight week. Apical extension of epithelium is limited to slightly below the cementoenamel junction(arrow head). New bone crest with osteoid deposition is located coronally to the notch. New cementum(C) and new periodontal ligament(arrows) is formed coronally along the root surface subjacent to the gingival connective tissue attachment(A 10×, B 40×, C 100×).
- Figure 4. Group IV at the eight week. New bone is coronally observed along the root surface. New cementum(C) is observed along the root surface above the notch and cementocytes(arrow heads) are observed(A 10×, B 40×, C 100×).

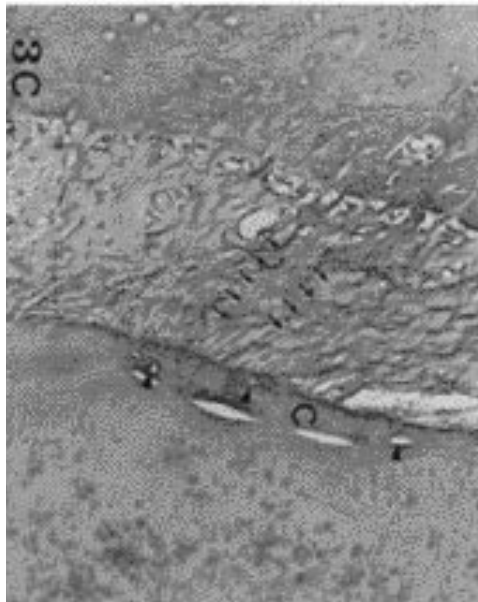
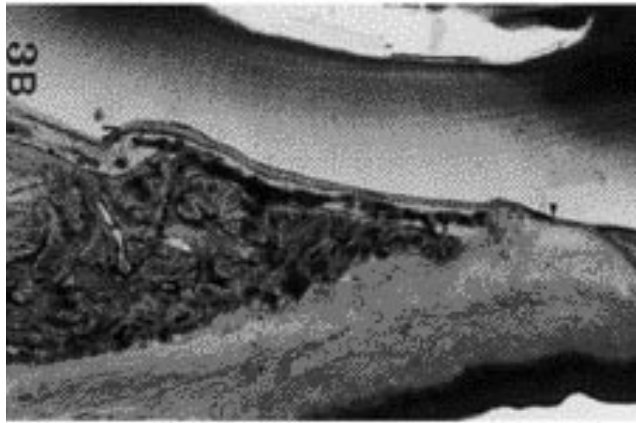
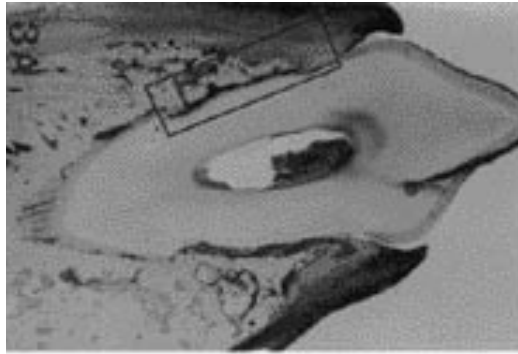
사진부도 (1)



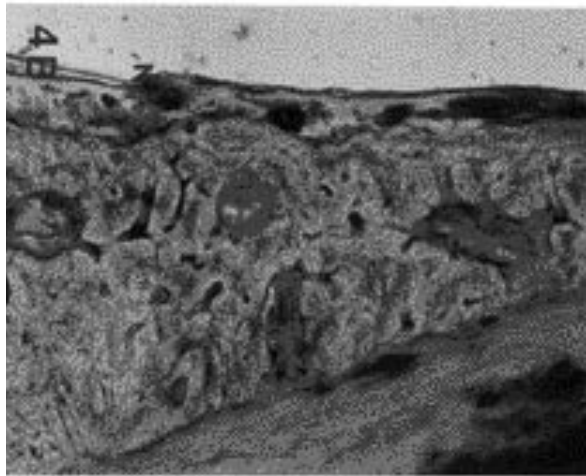
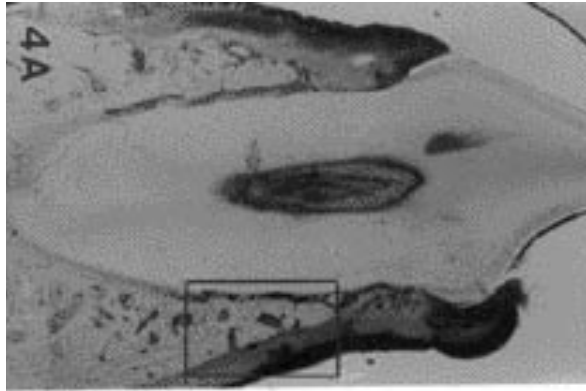
사진부도 (II)



사진부도 (III)



사진부도 (IV)



Experimental Study on the Effect of Transforming Growth Factor- β to Periodontal Regeneration in Class III Furcation Defects

Young Joon Kim

Department of Periodontology, College of Dentistry
and Dental Science Research Institute, Chonnam National University

Transforming growth factor- β (TGF- β) is a polypeptide biologic mediator considered to play a role in promoting bone formation in bony defect area.

The purpose of this study was to examine the effect of TGF- β to the periodontal regeneration of class III furcation defect in dogs.

Class III furcation defects were surgically created on the third and the fourth premolars bilaterally in the mandibles of eight mongrel dogs. Experimental periodontitis were induced by placing small cotton pellets into the created defects for 3 weeks. Experimental sites were divided into 4 groups according to the treatment modalities: Group I- Surgical debridement only; Group II-allogenic demineralized freeze dried bone grafting; Group III-allogenic demineralized freeze dried bone soaked in TGF- β (4ng/10 μ l) grafting; Group IV- allogenic demineralized freeze dried bone soaked in TGF- β (20ng/10 μ l) grafting.

The animals were sacrificed in the 8th week after periodontal surgery and the decalcified and undecalcified specimens were prepared for histological and histometric examination.

Although no significant differences was seen in the length of epithelial growth and connective attachment, group III showed the least apical migration among treatment groups. The amount of bone repair was significantly greater in group III, IV compared to group I and group II. New attachment formation was significantly greater in group III and group IV compared to group I and group II.

These results suggest the allogenic demineralized freeze dried bone with TGF- β in class III furcation defect has the potentiality of promoting alveolar bone formation and periodontal regeneration.