

# 키토산 차단막의 유도골재생 효과

문진석 · 박영주 · 박준우 · 이용찬 · 조병욱 · 안병근

한림대학교 의과대학 구강악안면외과학교실

**Abstract** (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2002;28:256-263)

## THE EFFECT ON GUIDED BONE REGENERATION OF THE CHITOSAN MEMBRANE

Jin-Suk Moon, Young-Ju Park, Jun-Woo Park, Yong-Chan Lee, Byoung-Ouck Cho, Byoung-Keun Ahn  
*Department of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Medicine, Hallym University*

Using the rat's skull, the study on the biodegradability and guided bone regeneration of the chitosan membrane was performed.

The results are as follows:

1. The biodegradability of the chitosan membrane could not be confirmed, but after 12 weeks, this membrane did not yet break into small pieces and there was no specific local tissue reaction.
2. It was not certain whether the pore size of this membrane was affected on osteoblastic activity.
3. After 6 weeks, the bony defect area of rat's skull was not completely filled, but on high magnification it showed that the osteoclasts and the osteoblasts were observed in the regenerating area.

In conclusion, the chitosan membrane developed in this study was fit for guided bone regeneration.

**Key words** : Chitosan membrane, Guided bone regeneration

### I. 서 론

치주 질환으로 인해서 골이 파괴되었거나, 임플란트 매식시 골이 부족한 경우 임상적으로 골조직이 필요한데, 골 조직의 파괴로 골 손실이 일어나면 이 부위는 여러 종류의 조직들로 채워지게 된다. 채워진 여러 조직들 중 덜 분화된 상피조직, 섬유 결합조직들은 고도로 분화된 골조직들 보다 훨씬 빨리 성장하여 결손부가 골조직으로 채워지는 것을 방해한다. 따라서 골 결손 부위에 차단막을 위치시켜 상부의 치은 결합조직을 결손부와 격리시키면 골결손부가 혈병으로만 채워지고 혈병 내의 골 형성세포들이 증식하여 원하는 골조직만으로 결손부가 채워질 수 있다. 즉 창상이 치유되기 위해서는 조직 내 여러 종류의 세포들이 창상부위로 이주하는데 이주하는 속도가 세포마다 각각 다르다

는 점에 착안하여, 창상치유에 적절치 못한 세포들이 창상으로 이주하는 것을 기계적으로 차단하고 창상에 이로운 세포들로만 증식되게 해서 원하는 골조직 만으로의 재생을 유도할 수 있는 새로운 개념의 골유도재생술 이라는 치료술이 개발되어 치주조직의 새로운 부착과 손실된 골조직의 회복 및 치과 임플란트 치료에 사용되고 있다<sup>1,2)</sup>.

이러한 기능의 차단막은 골 결손부 위에 안정성 있게 위치하여야 하며 또한 상부 결합조직세포들의 증식을 방지할 수 있는 기능적인 면을 보유하여야 한다. 또한 외부 자극으로부터 혈병을 보호하고 골 결손부의 공간을 적절히 유지할 수 있을 만큼 적당히 견고하고 결손부 주위 조직과의 결합성도 뛰어날 뿐만 아니라 임상적으로 사용도 편리하여야 한다<sup>3)</sup>.

이러한 차단막의 기본 조건을 완전치는 않으나 충족시킬 수 있는 재료에 대한 연구가 활발하며 현재 expanded polytetrafluoroethylene(e-PTFE), Millipore filters, dura mater, collagen membrane, polylactic acid(PLA)와 polyglycolic acid(PGA) 등이 소개되고 있으며 이중 e-PTFE에 관한 연구가 가장 활발히 진행되어 임상적으로 널리 쓰이고 있다.

차단막은 비흡수성과 흡수성 2종류로 구분되는데 Gore-Tex Augmentation Material (GTAM, W.L. Gore and Associates Inc., U.S.A)

#### 문진석

150-719, 서울 영등포구 영등포동 94-200

한림대학교 한강성심병원치과 구강악안면외과학교실

Jin-Suk Moon

Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Medicine, Hallym University

94-200, Youngdeungpo-dong, Youngdeungpo-gu, 150-719, Korea

Tel: 82-2-2604-7792

E-mail: mjs5601@hanmail.net

은 비흡수성으로 구강 재건 수술에서 골 결손부 치료를 위해 특별히 개발된 막으로 e-PTFE로 만들어져 있는데 이 e-PTFE 차단막은 화학적, 생물학적으로 불활성이기 때문에 어떠한 불리한 조직반응도 일으키지 않아서 차단막으로 사용하기에 적합한 재료로 알려져 있는데 가장 큰 단점은 골 재생이 완료된 후 차단막을 제거하기 위하여 이차 수술을 하여야 한다는 점이다<sup>4</sup>.

흡수성 차단막으로는 최근에는 유산, 글리콜산 중합체, 또는 이들의 혼합물 (lactide/glycolide copolymer)과 콜라겐이 주성분으로 된 흡수성 차단막이 개발되어 사용되고 있으며<sup>5,6</sup> 흡수성 물질의 최종 대사 산물은 인체에 무해하나 최종 대사가 되기 전에 재료의 기계적인 견고성이 떨어져 작은 조각들로 분쇄되며 이러한 중간 부산물의 화학적인 성질과 물리적인 성질 때문에 국소적인 조직반응이나 전신적인 반응을 일으킬 수 있다<sup>7</sup>. 키토산은 자연계에 존재하는 키틴을 화학적 또는 효소처리에 의해서 탈아세틸화하여 제조하는 고분자 물질인데 키틴은 게, 새우등 갑각류의 껍데기를 이루는 성분중의 하나이며 이의 곤충의 외골격, 균류의 세포막에 존재하는 분자량 100만 이상의 자연계에 존재하는 아미노다당류이다.

키틴과 키토산은 상처치유 촉진 효과가 있는 글루코사민과 구조가 유사하여 의학분야에서는 새로운 소재로 더욱 관심을 갖기 시작하였고 생체 재료로써 이용하기 위한 검토가 시작되었다. 키틴과 비교할 때 키토산은 유리 아미노기에 의해서 단백질, 콜레스테롤 등과 같은 여러 물질을 잘 흡착시키는 특징이 있고 친수성이 있어 혈액이나 조직액과 같은 생리적인 매개체와 접촉하면 팽창하여 탄력성을 보유하는 특성이 있으며 생체 흡수성이 있어 생체 내에서는 확실하게 흡수된다<sup>8</sup>. 이에 본 연구는 생체 친화성과 생물학적 기능성이 있는 키토산을 이용하여 제작된 차단막을 가지고 차단막의 생분해도와 유도골 재생을 동물 실험을 통하여 관찰함으로써 흡수성 차단막의 장점을 가지고 있는지를 알아보려고 하였다.

## II. 연구 재료 및 방법

### 1. 재 료

본 연구를 위하여 제작된 분자량 7만의 키토산 차단막(株) 리젠 바이오텍, 한국)은 뒤뜰립 현상이 없고 사용이 간편하며 전자현미경으로 관찰하면 약 15 ~ 20마이크론 정도의 기공이 자연적으로 형성되어 있는 것을 사용하였는데 (Fig. 1, 2), 실험용 동물로 웅서를 실험군 100마리, 대조군 15마리 총 115마리를 사용하였다 (Table 1).

### 2. 연구 방법

1) 웅서 두개골에 직경 8mm의 원형 골결손부를 형성한 후 (Fig. 3) 아래와 같은 차단막으로 피개한 실험군과 피개하지 않은 대조군을 12주 후에 생분해도를 관찰하였다.

가) 피개 실험군은 차단막 (분자량 7만)에 따라 다음과 같이 4개의 군으로 나누어서 사용하였다 (각 피개 실험군당 웅서 5마리씩, 대조군 5마리 총 25마리).

- (1) 15~20 마이크론의 기공으로 된 130 마이크론 두께의 차단막
- (2) 15~20 마이크론의 기공으로 된 100 마이크론 두께의 차단막
- (3) 15~20 마이크론의 기공으로 된 30 마이크론 두께의 차단막
- (4) 약 50~100 마이크론 정도의 기공을 형성한 100 마이크론 두께의 차단막

나) 키토산 분자량을 7만, 4만, 5천으로 달리한 차단막을 사용하였다.

2) 키토산 분자량 7만, 4만, 5천의 입자를 직접 골결손부에 충전한 후 1, 2, 3, 8, 12주 후에 희생시킨 다음 입자의 생분해도를 관찰하였다 (각 실험군당 웅서 25마리씩, 대조군 5마리)

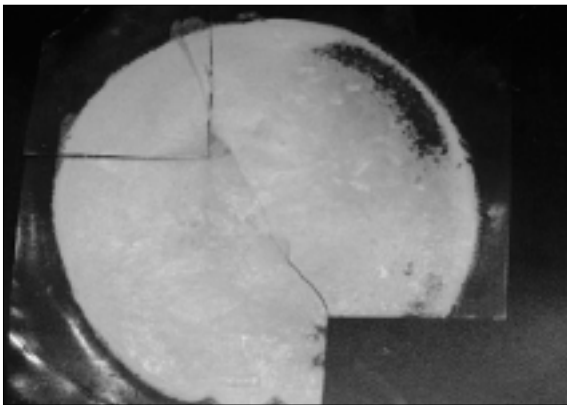


Fig. 1. The chitosan membrane covered by the cellulose.

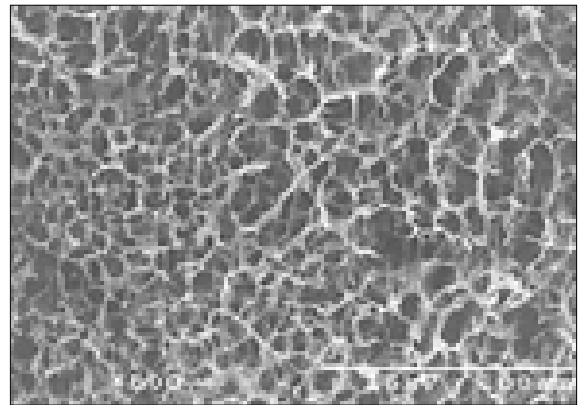


Fig. 2. The pore size of chitosan membrane manufactured with the proportion of acid soluble chitosan and water soluble chitosan (6:4) is about 15 to 20  $\mu\text{m}$ .

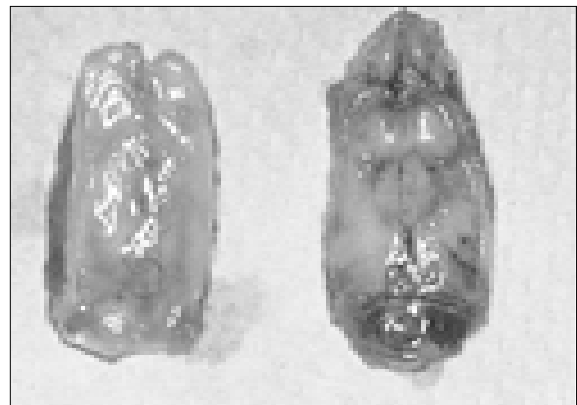
**Table 4.**

연구	기간		실험군				대조군
			1군	2군	3군	4군	
1) 차단막의 생분해도	12주후 관찰	분자량	7만	7만	7만	7만	5
		기공( $\mu$ )	15~20	15~20	15~20	50~100	
		두께( $\mu$ )	130	100	30	100	
		응서	5	5	5	5	
2) 입자의 생분해도	1주후 관찰 2주후 관찰 3주후 관찰 8주후 관찰 12주후 관찰	분자량	7만	4만	5천	5	
		응서 (마리)	5	5	5		
		응서 (마리)	5	5	5		
		응서 (마리)	5	5	5		
		응서 (마리)	5	5	5		
		응서 (마리)	5	5	5		
3) 차단막의 유도골재생 효과	6주후 관찰		1)의 2군			5	
		응서 (마리)	5				

☞  $\mu$ : 마이크로



**Fig. 3.** The exposure of rat's skull.



**Fig. 4.** The internal and external surfaces of the skull specimen taken from the rat.

총 80마리).

3) 동일한 실험방법으로 차단막의 유도골 재생 효과에 대하여 15 ~ 20 마이크로미터의 기공과 100 마이크로미터의 두께와 분자량 7만으로 된 차단막을 피개한 실험군과 피개하지 않은 대조군을 6주 후 관찰하였다 (피개 실험군, 대조군당 응서 5마리씩 총 10마리).

4) 광학현미경 관찰

전술한 실험군의 시편을 10% 포르말린에 고정한 후 5% 질산에서 탈회하고 파라핀 포매 후 4 마이크로미터의 두께로 관상면을 절단하였다. 절단된 조직편 중 결손부의 중앙부를 포함한 조직편을 선택하여 (Fig. 4), hematoxylin-eosin (HE) 염색과 Masson-Trichrome 염색을 하여 광학현미경하에서 검경하였다.

### III. 결 과

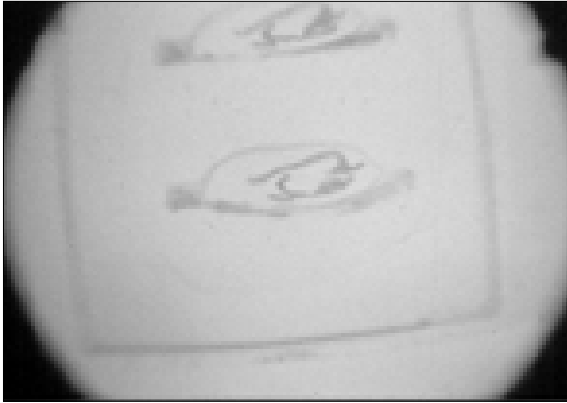
#### 1. 차단막의 생분해도

가) 차단막의 두께와 인위적인 기공의 크기에 의한 변화에 따른 생분해율의 차이점을 발견할 수 없었다. 즉, 12주가 지나도 실험에 사용한 4종류의 차단막은 분해되지 않고 모두 남아 있었다 (Fig. 5).

나) 분자량 7만의 키토산을 4만과 5천의 2종류의 저분자로 나누는 것은 가능하였으나 차단막이 필요로 하는 물성치를 지닌 차단막을 제조할 수 없었다.

## 2. 키토산 입자의 생분해도

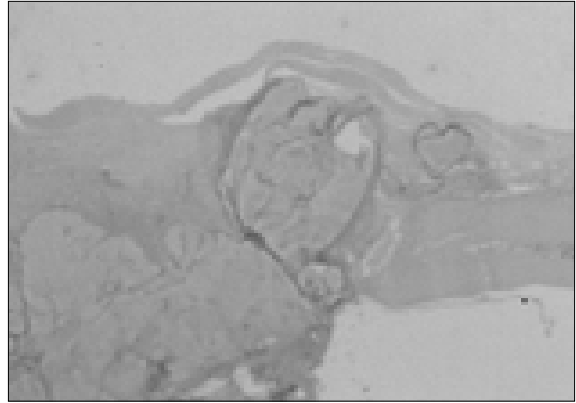
본 연구에 사용한 분자량 7만, 4만, 5천의 산성 용해성 키토산은 부피적 (voluminous)으로 골전도를 유도하지만 12주 후에도 일부 키토산 입자들은 잔존해 있었다 (Fig. 6).



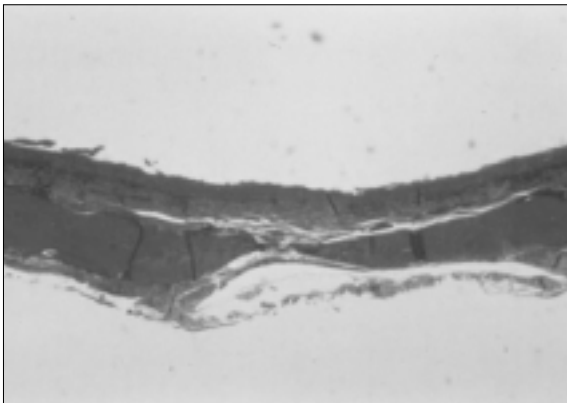
**Fig. 5.** The chitosan membrane was still left after 12 weeks.

## 3. 유도골 재생 효과

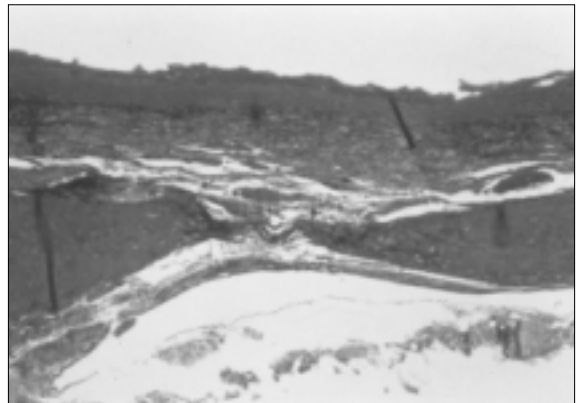
실험 6주 후 결과에서 응서 두개골의 골결손부를 완전히 채우지는 않았으나 정중부 위까지 골이 잘 생성되었으며 (Fig. 7, 8) 고배율에서 관찰해 보면 골이 더 재생되어야 할 부위에서 파골세포



**Fig. 6.** The particles of chitosan were still left after 12 weeks.



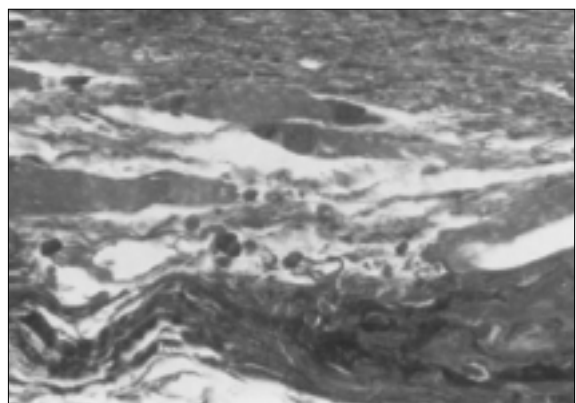
**Fig. 7.** The well formed bone to central area (6 weeks, x40, Masson-Trichrome).



**Fig. 8.** The well regenerated bone (6 weeks, x100, Masson-Trichrome).



**Fig. 9.** The osteoclasts and the osteoblasts were observed (6 weeks, x200 Masson-Trichrome).



**Fig. 10.** The osteoclasts and the osteoblasts were observed, suggestive of the continuous osteogenesis (6 weeks, x400, Masson-Trichrome).

포와 조골세포가 관찰되며 아직 골형성 활성이 활발히 진행됨을 알 수 있었다 (Fig. 9, 10).

이상의 결과 본 연구에서 개발된 키토산 차단막은 유도골 재형술로 사용하기에 적당하다는 것을 확인할 수 있었다.

#### IV. 고 찰

Poly-β-(1-4)-N-acetyl-D-glucosamine인 키토신은 셀룰로오스와 같이 자연계상에 널리 분포하는 생체 고분자로서 주로 해양 무척추 동물과 곤충 그리고 균류에 존재한다.

Poly-β-(1-4)-D-glucosamine인 키토산은 키토신의 구조에서 아세틸기를 제거한 화합물로서 키토신의 아세트아미드기 (-NHAc : -NHCOCH<sub>3</sub>)가 아미노기 (-NH<sub>2</sub>)로 바뀐 것이며 이것은 키토신의 단량체 분자중의 아세틸기 (-Ac : COCH<sub>3</sub>)를 없앤 것, 즉 탈아세틸화된 글루코사민의 여러분자가 결합한 고분자가 키토산인데 일반적으로 키토신의 약 80% 이상이 탈아세틸화된 것을 키토산이라고 하며 키토신은 N-아세틸글루코사민이란 당의 여러 분자가 결합(β1→4)하여 이루어진 것인데 키토산은 키토신보다는 쉽게 성형체로 만들 수 있다. 비록, 이 두 다단백당 물질이 중성 pH에서는 물에 녹지 않지만 친수성 기를 붙이거나 해중합 과정을 통하여 수용성으로 만들 수도 있다. N-아세틸글루코사민은 글루코오스의 하이드록시기 (-OH)가 아미노아세틸기 (NHA)로 치환된 글루코오스로 구성된 셀룰로오스와 N-아세틸글루코사민으로 구성된 키토신 그리고 키토신을 탈아세틸화 하여 만드는 키토산의 구조식은 상호 유사하다. 생체 내에서 키토신은 키토신 분해효소나 라이소자임에 의해 분해되어 아세틸글루코사민, 아세틸글루코사민-6-인산을 거쳐 해당계에서 글루코겐으로 전환되기도 하고, 또 TCA회로를 통과하여 탄산가스까지 분해되어 에너지 (ATP)를 생성한다. 또 일부는 단백질에 결합하여 당단백질을 형성한다. 키토신을 분해하는 효소는 키토신 가수분해 효소와 라이소자임이 알려져 있으나 전자는 키토신만을 분해하는데 비해, 후자는 키토신 뿐만 아니라 세균의 세포벽을 구성하는 아세틸글루코사민과 아세틸무라민산 (acetylmuramic acid)의 결합도 절단하고 용균활성을 나타낸다.

키토산 가수분해 효소로 분해되어 생긴 글루코사민은 글루코사민-6-인산을 거쳐 키토산과 같이 대사된다<sup>9)</sup>.

키토산은 구강내 연쇄상구균의 흡착을 방지하는 효과가 있으며<sup>10)</sup> 키토산 올리고머는 pH를 완충하여 충치 예방의 효과를 가지고 있다<sup>11)</sup>. 또한 키토산은 알카라인 포스파타제의 활동을 증가시킴으로써 골형성에 영향을 미치는 것으로 보고되어있다<sup>12)</sup>. 키토산 원형보다는 젤형태의 변형된 키토산이 의학용으로 사용하기에 더 적절한 것으로 보고되어 있는데<sup>13)</sup>. 그 예로 메틸피롤리디논 키토산 (methylpyrrolidinone chitosan)은 다당류 골격에 피롤리딘 환이 불규칙하게 공유결합하여 키토산의 생물학적 중요성과 피롤리딘 부분의 친수성이 결합된 것으로 골유도 작용이 있는 것으로 보고되고 있다<sup>14)</sup>.

이처럼 키토산은 낮은 독성, 생체 분해성, 낮은 항원성등과 같은 생체 친화성과 창상 치유 촉진, 세포 활성 강화, 면역 능력 보

강, 세균 발육 억제 특히 구강내 연쇄상구균의 흡착 방지, 알카라인 포스파타제의 증가 등과 같은 생물학적 기능성과 또한 친수성을 가지고 있기 때문에 조직액과 접촉하면 탄력성을 유지하는 등의 충격 완화의 특성을 가지고 있다.

키토산을 이용하여 차단막을 만드는 방법은 다음과 같이 크게 2가지로 대별될 수 있는데, 첫번째 방법으로는 키토산으로 섬유를 제작하고 이를 직조하여 막을 제작하는 방법 즉, 키토산 실을 먼저 제작하고 이 실을 이용하여 적절한 막을 짜는 방법이 있으며 두번째 방법으로는 키토산을 적절한 용매에 녹인 후 이 용액을 적절한 조건하에서 응고시켜 막을 형성하는 방법이 있다.

첫번째 방법은 차단막을 원하는 형태로 만들기 쉬운 장점이 있는 반면 제조 방법이 복잡하여 제조 단가가 비싸지는 단점이 있다.

두번째 방법은 일견 간단해 보이지만 차단막의 물성치를 겔 상태에서 굳혀 막으로 만드는 과정 중에 나타나는 여러 가지 바람직하지 못한 물성치를 해결해야 하는 어려움이 있다. 그러나 이러한 어려움이 잘 극복된다면 사용에 간편하고 임상효과도 우수한 차단막을 저렴하게 대량 생산할 수 있는 방법을 개발할 수 있으므로 본 연구에서는 두번째 방법으로 제작된 차단막을 사용하였다. 이 방법으로 차단막 제작시 가장 어려운 점은 차단막을 사용할 때 한 방향으로 말리는 현상이 발생한다는 점이다 (Fig. 11, 12). 이 때문에 골 결손부에 적용시킬 때 어려움이 따르며 또한 시간이 지날수록 위로 불룩하게 솟아오름으로써 창상 관리에 어려움을 준다. 그러나, 본 연구에서 사용된 차단막은 뒤틀리면서 말리는 현상을 방지하기 위하여 키토산 겔을 특수한 용기 내에서 위 아래 양쪽에서 완전히 감싼 상태에서 말리는 방법으로 제작되었다. 또한 기공 (pore)이 없는 용기에서 키토산 차단막이 만들어진 경우에는 자연 건조 후, 키토산이 지니는 전하 때문에 키토산막이 일정한 방향으로 말리는 경향을 나타내는데 이는 키토산의 양전하 때문으로 실험 시 다루기가 매우 힘이 들었고, 생체에 적용 후에도 말리는 양상은 그대로 유지된다.

그러나, 기공이 있는 용기를 이용하여 만든 키토산 차단막의 경우에는 키토산 겔의 위·아래 전하가 서로 같아지게 됨으로서 한쪽으로 말리는 성질이 없어져 키토산 차단막의 최대 단점이었던 차단막의 뒤틀림 현상이 완전히 해결될 수 있다 (Fig. 13, 14).

한편 적절한 조건하에서는 후드 내에서 말리는 과정에서 자연스럽게 차단막에 기공이 형성되므로 기공을 지닌 용기의 사용과 후드에서의 말리는 과정을 적절히 조합하면 약 15에서 20 마이크로미터의 기공이 자연스럽게 생긴다. 이는 완전 불투과성 차단막 보다는 일부 세포를 약간 투과시킬 수 있는 20 마이크로미터의 구멍을 가진 차단막이 더 작은 기공을 가진 차단막과 비교할 때 세포 밀도가 증가되고 조밀하며 분화가 잘된 양상의 골 생성을 관찰할 수 있었다고 보고한 김등<sup>5)</sup>의 연구를 참조하여 볼 때 바람직한 것으로 판단된다.

키토산의 생분해도는 현재 가장 어려운 문제점 중의 하나이며 본 연구에서도 생분해도의 조절을자유자재로 할 수 있는 정도로 완전히 해결했다고 볼 수는 없지만 일련의 연구를 통하여 몇 가지 해결책을 찾아낼 수 있었다. 먼저 키토산의 분해에 영향을 미



Fig. 11. The 1st developed chitosan membrane.

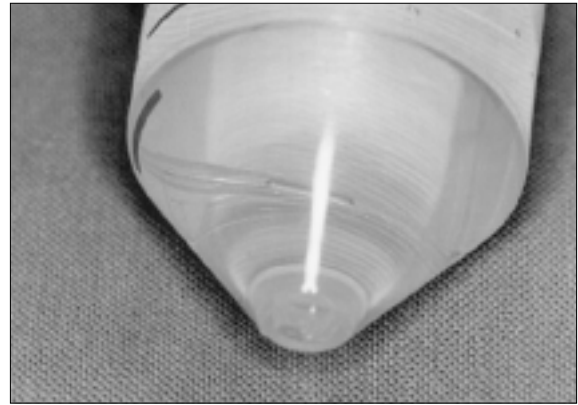


Fig. 12. The rolled chitosan membrane in PBS solution.

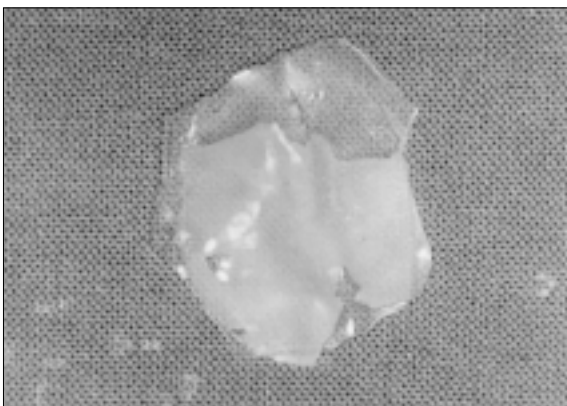


Fig. 13. The newly developed chitosan membrane. The membrane was not rolled, and it was convenient for storage and manipulation.

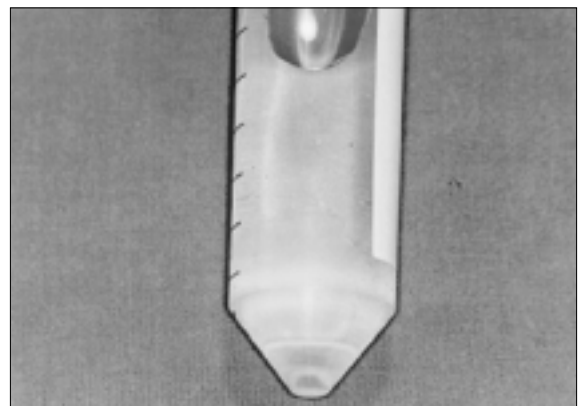


Fig. 14. The chitosan membrane was good to use in PBS solution.

치는 요소를 찾아내어 이를 변화시키면 생분해율을 조절할 수 있을 것으로 판단되었다. 상술한 바와 같이 키토산은 라이소자임에 의해 다당질이 해중합되면서 분해되는 것으로 알려져 있다. 이때 생분해율은 잔류 아세틸기량에 의해 결정되며 최근의 연구에 의하면 라이소자임에 의해 발현되는 촉매 작용 하에서의 해중합 정도는 분자량 사이의 관계, 탈아세틸화 정도, 가수분해율에 의해 제한되는 것으로 밝혀지고 있다. 따라서, 본 연구에서는 우선 차단막 자체의 두께에 의해 흡수가 영향을 받는지와 키토산의 분자량을 작게 하여 제작한 차단막의 생분해도를 알아보려 하였다.

또한 키토산 입자 자체의 생분해도를 같은 방법의 동물실험을 통하여 알아보려 하였으나 유감스럽게도 이러한 연구 모두에서 생분해도를 결정적으로 조절할 수 있는 인자를 찾아내는데는 실패하였다. 그러나 수용성 키토산을 현재의 키토산과 적절히 혼합하여 차단막을 제작하였더니 생분해율에 변화가 있다는 점을 알아낼 수 있었으며 또한 키토산 차단막 제작시 **tripolyphosphate (TPP)**로 처리하면 생분해율에 변화가 온다는 것을 알 수 있었다. 최종적으로 중요한 점은 과연 차단막이 인체 내에서 언제 완전

히 생분해 되는것이 가장 바람직한 것인가를 결정하는 것이라 할 수 있다. 어떠한 재료로 만든 것이든 인체 내에서는 이물질로 작용함으로 인간의 피질골의 개형주기 (**remodelling cycle**)에 맞추어 17주 후에는 인체에 아무런 영향이 없이 완전히 분해되는 것이 가장 이상적이라 할 수 있지만 아직 그 어떤 차단막도 이 시기에 맞추어 생분해 되는 것은 없다.

또한 비록 이론적으로는 약 4개월 후에 완전히 생분해 되는것이 바람직하다고는 하지만 본 연구결과에서는 키토산 차단막을 12주 후에 제거할 때 주변 조직의 염증 상태 등을 관찰할 수 없었음으로 조금 더 인체 내에 존재한다고 해서 인체에 나쁜 영향을 주지는 않을 것으로 사료되었으며 또한, 저분자량의 키토산으로는 적절한 키토산 차단막을 제작할 수 없음으로서 생분해도에 대한 비교가 불가능하였다. 차단막을 이용한 유도골 재생술은 임플란트를 사용하여 치료하면 심리적으로나, 생리적으로 잇점이 있음에도 불구하고 가용골의 양이 부족하여 치료할 수 없었던 환자들에게 임플란트 치료를 가능하게 하는 믿을 만한 치료 술식이다<sup>15-17</sup>. 임상적으로 부족한 치조골의 양을 새로 재생된 골로 증강하거나, 임플란트 식립 후 골의 천공이나 열개 등을 교정

하고, 발치 후 즉시 임플란트를 식립할 수 있게 된 것 등이 바로 유도골 재생의 개념에 기반을 둔 것이다<sup>18,20</sup>. 유도골 재생의 개념은 Nyman 등<sup>21</sup>과 Gottlow 등<sup>22</sup>이 정립한 조직유도재생 개념에 근거하여 Dahlin 등<sup>11</sup>이 차단막을 사용하여 다른 세포를 배제하고, 골세포만 증식시키면 골의 재생도 가능하다는 것을 보고하면서 정립되기 시작하였다.

유도골 재생은 궁극적으로 골 결손부가 스스로 치유할 수 있는 자생력을 발휘할 수 있는 환경 즉 기계적 방어막으로 격리 공간을 제공해 주는 것이다<sup>23</sup>. 이러한 차단막이 갖추어야 할 물리적 특성에 대하여는 잘 알려진 바와 같이 생체친화성, 상피세포들의 이주를 막을 수 있는 차단성, 다루기의 용이성, 공간을 유지하는데 적절한 견고성과 주위 조직과 잘 붙을 수 있는 결합성 등이 있다. 세포 차단막의 의미와 영양 물질의 공급이라는 측면에서 차단막의 투과성과 골 형성의 상관 관계에 관하여 많은 연구가 있었는데, Hurley 등<sup>24</sup>은 무공의 실리콘 고무 차단막과 소구경의 초산 셀룰로오스 차단막을 사용하여 척추 융합 실험을 한 결과 무공 차단막 하방에는 골 형성이 거의 없었으나 소구경 차단막 하에서는 골 형성이 일어났다고 하였다.

그러나 Schmid 등<sup>24</sup>은 차단막의 투과성이 필수적인지를 알아보기 위하여 가토의 두개골에 결손부를 형성하고 비교 시험한 결과 골 결손부 상부에 새로운 골이 형성될 수 있는 안정된 공간만 있으면 신생골을 충분히 형성할 수 있으므로 재생술에 사용되는 차단막의 물리적 특성으로 투과성이 꼭 필요한 것은 아니라고 하였다. 또한 김등<sup>25</sup>은 가토를 이용한 실험 연구에서 차단막의 재질에 따른 골형성능의 차이는 없으나, 기공의 크기에 따른 골 형성의 차이는 초기 (14일)에는 나타났으나 시간이 지날수록 (42일) 별 차이가 없다고 하였다. 본 연구에서 제작된 차단막은 약 15에서 20 마이크론 정도의 기공이 있으나 골 생성에 특이한 역할을 하는지는 확인할 수 없었다.

공간 확보의 측면과 함께 혈병을 보호하며 창상을 보호하기 위하여 차단막은 이차적인 피판의 역할을 할 수 있어야 한다<sup>26,27</sup>. e-PTFE막은 2개의 각기 다른 미세공으로 이루어진 부분으로 구성되어 있는데 변연부는 기공의 크기가 20에서 30 마이크론 (결절간 거리)으로 이 기공을 통해 결체조직 세포가 증식해 들어올 수 있어서 e-PTFE막이 결손부 주위에 안정하게 위치할 수 있게 하고, 중심부 기공의 크기는 5에서 10마이크론 (결절간 거리)으로 외부로부터 세포들이 관통할 수 없는 세포 차단적인 형태로 되어있다<sup>28</sup>.

Kohavi 등<sup>29</sup>은 e-PTFE막을 치조골 결손부에 완전히 접촉시켜 공간을 없애면 신생골이 거의 형성되지 않는다고 하였다. 이는 골형성 세포들이 증식하여 골을 형성하여야 하는데 그 공간이 없기 때문인 것으로 이해된다. 또한 조직 피판 위에 가해지는 기계적인 자극이 혈병에 가해지지 않고 차단막에 가해지도록 견고하게 제작되어야 한다<sup>30</sup>. 창상이 치유되는 초기에 10에서 20 마이크론으로 미세하게 움직이는 것만으로도 간엽세포들이 조골세포 대신 섬유아세포로 분화될 수 있다. Simion 등<sup>31</sup>은 PLA/PGA 차단막과 e-PTFE 차단막의 골재생 능력을 비교해 본 결과 e-PTFE 차단막이 보다 왕성한 골 재생 능력을 보였으며 이는 PLA/PGA

차단막이 e-PTFE 차단막에 비해 견고함에서 열등하여 골 치유기간 동안 차단막이 외부 압력을 견디내지 못하고 함몰하였기 때문이라고 하였다. 따라서 흡수성 차단막을 사용할 때에는 함몰에 저항하면서 공간을 확보할 수 있도록 자가골 이식이나 골 대체물 이식 등을 한 후 차단막을 그 위에 설치하는 방법들이 주로 사용되고 있다. 본 연구에 사용된 키토산 차단막은 견고하지 못한 물리적 특성을 가지고 있다. 그러나 본 연구에서 조성한 골 결손부의 크기가 키토산 차단막의 함몰을 야기할 만큼 크지 않기 때문에 신생골 형성이 잘 이루어진 것으로 생각되어 진다. 흡수성 재료가 생분해되는 경로는 효소에 의한 분해와 가수 분해에 의한 분해로 나눌 수 있는데 대부분의 재료는 효소에 의해 흡수되며 폴리글리콜산과 같은 합성품은 생체내에 있는 수분환경하에서 가수 분해에 의해 흡수된다. Bostman<sup>7</sup>은 흡수성 물질의 중간 분해 산물인 polyglycolide가 골 흡수를 유발한다고 보고하였다. 따라서 흡수성 물질로 차단막을 제작 시에는 최종 대사 산물 뿐만이 아니라 중간 부산물에 대해서도 충분한 연구가 있어야 할 것으로 사료된다. 생체는 외부 물질이 체내로 들어오면 면역 체계에 의해 일정한 반응을 보이는데 현재 사용되는 흡수성 차단막의 경우 일반적으로 항원체로 작용할 가능성이 거의 없다고 보아도 무방하다. 그러나 몇 종류의 잔존 단량체인 일부 중합체 구조가 일부 환자에서 지연성 과민반응을 일으킨다는 보고도 있다<sup>32</sup>.

키토산의 경우에 키토산 가수분해 효소에 의해 분해되며 이로 인해 생긴 글루코사민은 글루코사민-6-인산을 거쳐 해당계에서 글리코겐으로 전환되기도 하고, 또 TCA 회로를 통과하여 탄산가스로서까지 분해되어 에너지를 생성하며 일부는 단백질에 결합하여 당단백질을 형성한다. 따라서 본 연구에서 사용된 키토산은 인체내에 항원이나 독성이 거의 없는 것으로 알려져 있으며 그 중간산물 역시 골흡수를 유발하지 않는 것으로 알려졌다. 이러한 키토산의 특성을 이용하여 국내에서 이등<sup>33</sup>, 박등<sup>34</sup>, 김등<sup>25</sup>은 키토산 피복 티타늄 임플란트를 가토에 식립하여 방사선학적, 조직학적, 생역학적인 연구 등을 시행하고 키토산이 골재생 측면에서의 생체재료로 사용하기에 적합하다고 보고하였다.

본 연구에서는 키토산으로 제작한 차단막으로 응서 두개골의 골결손부를 피개하고 6주 경과 후 광학현미경으로 조직을 관찰한 결과 응서 두개골의 골결손부를 완전히 채우지는 않았으나 정중부위까지 골이 잘 생성되었으며, 고배율에서 관찰해보면 골이 더 재생되어야할 부위에서 파골세포와 조골세포가 관찰되며 아직 골형성 활성이 활발히 진행됨을 알 수 있었다.

이상의 결과에서 본 연구에서 개발된 키토산 차단막은 유도골 재생술로 사용하기에 적합하다는 것을 확인할 수 있었다.

## V. 결 론

키토산 차단막을 사용하여 차단막의 생분해도와 유도골 재생에 관한 연구를 시행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 이 연구에서 차단막의 생분해율은 확인할 수 없었으나 12주 경과 후에도 작은 조각들로 분쇄되거나 특이한 국소적 조

직 반응을 일으키지 않았다.

2. 이 연구에서 차단막 기공의 크기가 골 형성에 영향을 미쳤는지에 관하여는 확인할 수 없었다.
  3. 6주 경과후 광학현미경으로 조직을 관찰한 결과 응서 두개골의 골결손부를 완전히 채우지는 않았으나 정중부위까지 골이 잘 생성되었으며, 고배율에서 관찰해보면 골이 더 채워져야 할 부위에서 파골세포와 조골세포가 관찰되며 아직 골형성 활성이 활발히 진행됨을 알 수 있었다.
- 이상의 결과에서 본 연구에서 개발된 키토산 차단막은 유도골 재생술로 사용하기에 적합하다는 것을 확인할 수 있었다.

### 참고문헌

1. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S : Healing of bone defects by guided tissue regeneration, *Plast Reconstr Surg*, 81 : 672, 1988.
2. Linde A, Thoren C, Dahlin C & Sanberg E, Creation of new bone by an osteopromotive monkeys, *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 24:13, 1990.
3. Melloning JT & Triplett RG, Guided tissue and endosseous dental implants, *Int J Periodontol*, 13:109, 1993.
4. Boyce B : Physical characteristics of expanded polytetrafluoroethylene grafts. In: Stanley JC (ed). *Biologic & Synthetic Vascular Prothesis*. Philadelphia: Grue & Stratton, 33, 1982.
5. Schulz AJ & Grager AH, Guided tissue regeneration using on absorbable membrane (poly glactin 910) and osseous grafting, *Int J Periodont*, 10: 8, 1990.
6. Balshi TJ, Hernandez OD, Culter RH, Hertzog CF, Treatment of osseous defects using vicryl mesh (poly glactin 910) and the Braenemark implant, A case report, *Int J Oral Max-Fac Implants*, 6:87, 1991.
7. Bostman OM : Intense granulomatous inflammatory lesions associated with absorbable internal fixation devices made of polyglycolide in ankle fractures, *Clin Orthop*, 278 : 193, 1992.
8. Malette WG, Quigley HG, Gaines RD, Johanson ND & Rainer WG, Chitosan: A new HemoStatics, *Ann Thoracic Surg*, 36: 55-58, 1984.
9. 김세권(편역), 키토산·키토산 : 기초와 약리, 이화문화출판, 22, 2000.
10. Sano H, Matsukuba T, Itoh H & Takaesu Y, Inhibition of adsorption of oral streptococci to saliva treated hydroxyapatite by chitin derivatives, *J Dental Res*, 66: G141-G149, 1987.
11. Shibasaki K, Matsukubo T, Sugihara N, Tashiro E, Tanabe Y & Takaesu Y, Caries preventing effect of low molecular weight chitosan in rats, *Kokubyo Gakkai Zasshi*, 38:G572-G573, 1988.
12. Namita K, Miyajima N, Higo M & Nakayama Y, Phamaceutical containing chitin, chitosan and their derivatives for treatment of bone diseases, *Jpn Kokai Tokyo Koho Jp* 63, 156, 726, 1988.
13. Muzzarelli RAA, Carboxymethylated chitins and chitosans, *Carbohydr Polymers*, 8 : G1-G21, 1988.
14. Muzzarelli RAA, Biagini G, Bellardini M, Simonelli L, Castaldini C & Fratto G, Osteoconduction exerted by methylpyrrolidinone chitosan used in dental surgery, *Biomaterials*, 14(1); 1993.
15. Lazzara, R, Immediate implant placement into extraction sites: surgical and restorative advantages, *Int J Periodontics Restorative Dent* 9(5): 333-344, 1989.
16. Nyman S, Lang NP, Buser D & Bragger U, Bone regeneration adjacent to titanium dental implants using guided tissue regeneration. A report of 2 cases, *Int J Oral Maxillofac Implants*, 5: 9-14, 1990.
17. Buser D, Bragger U, Lang NP, Nyman S : Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration, *Clin Oral Implants Research*, 1(1):22-32, 1990.
18. Isidor F, Karring T, Nyman S : New attachment following reconstructive periodontal surgery, *J Clin Periodontol*, 20 : 201-208, 1985.
19. Magnusson I, Nyman S & Karring T, Connective tissue attachment following exclusion of gingival connective tissue and epithelium during healing, *J Periodont Res*, 20 : 201-208, 1985.
20. Magnusson I, Batich C & Collins B, New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membrane, *J Periodontol*, 59 : 1-6, 1988.
21. Nyman S, Gottlow J & Karring T, The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey, *J Clin Periodontol*, 9 : 257-265, 1982.
22. Gottlow J, Nyman S, Karring T & Linde J, New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration, *J Clin Periodontol*, 11 : 494-503, 1984.
23. Hurley LA, Stinchfield FE, Bassett CL, Lyon WH : The role of soft tissues in osteogenesis, *J Bone Joint Surg*, 41A : 1243, 1959.
24. Schmid J, Hammerle CHF, Olah AJ & Lang NP, Membrane permeability is unnecessary for guided generation of new bone, *Clin Oral Impl Res*, 5:125-130, 1994.
25. 김관식, 조병욱, 이용찬 : 가토경골 골결손부에서 Nylon membrane 과 Teflon membrane의 골유도 재생효과, *대한구강악안면외과 학회지* 26(2): 146-153, 2000.
26. Selvig K, Nilveus R, Fitzmorris L, Kersten B & Khorsandi S, Scanning electron microscopic observation of cell population and bacterial contamination of membranes used for guided periodontal tissue regeneration in humans, *J Periodontol*, 61:515-520, 1990.
27. Wikesjo U & Nilveus R, Periodontal repair in dogs: Effect of wound stabilization on healing, *J Periodontol*, 61:719-724, 1990.
28. Haney JM, Nilveus RE, McMillan P, Wikesjo UME : Periodontal repair in dogs: 3-PTFE barrier membranes support wound stabilization and enhance bone regeneration, *J Periodontol* 64:12, 1993.
29. Kohavi D, Pollack SR, Brighton G & Balkin B, Surgically modelled reduced ridge in the beagle dog, *Clin Oral Impl Res*, 2 : 145, 1991.
30. Melcher A & Dreyer C, Protection of the blood clot in healing circumscribed bone defects, *J Bone Joint Surg*, 44B: 424-430, 1962.
31. Simion M, Scarano A, Gionso L & Piatelli A, Guided bone regeneration using resorbable and nonresorbable membranes: A comparative histological study in human, *Int J Oral Maxillofac Implants*, 11: 735-742, 1996.
32. Rae T, Cell biochemistry in relation to the inflammatory response to foreign materials, In : Williams DF(ed). *Fundamental aspects of biocompatibility*, 11. Boca Raton, FL: CRC press, 8, 1981.
33. 박연천, 안병근, 박영주, 이용찬, 조병욱 : Confocal laser scanning microscopy study on interface bone and titanium implant coated chitosan, *대한구강악안면외과 학회지*, 24(4): 440-447, 1998.
34. 이용찬, 이유현, 조병욱 : Chitosan coated dental implants: a new concept, *대한치과 의사 협회지* 36(6): 394-396, 1998.