

백서에서 난소절제가 티타늄 임플란트의 골 유착에 미치는 영향

김병민 · 성일용** · 박봉수* · 신상훈 · 김종렬

부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, 구강해부학교실*

울산대학교 의과대학 울산대학교병원 구강악안면외과학교실**

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2003;29:397-406)

THE EFFECTS OF OVARIECTOMY ON TITANIUM IMPLANT OSSEOINTEGRATION IN RAT'S TIBIA

Byung-Min Kim, Iel-Yong Sung**, Bong-Soo Park*, Sang-Hoon Shin, Jong-Ryoul Kim

Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Dept. of Oral Anatomy College of Dentistry, Pusan National University*

*Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery**, College of Medicine, Ulsan University*

The purpose of this study was to observe the titanium implant osseointegration in the osteoporosis-induced animal model. Seventy rats, 11 weeks of age, were divided into two groups : an ovariectomized group and a control group. Titanium screw implants (diameter, 2.0mm; length, 3.5mm) were placed into left tibias of 70 rats, 35 in the control group and 35 in the experimental group. The rats were sacrificed at different time interval (1, 2, 3, 4, 6, 8, and 12 weeks after implantation) for histopathologic observation, histomorphometric analysis and immunohistochemistry with fibronectin and CD34 antibody.

The results obtained from this study were as follows:

1. Histopathologically findings, newly formed bone was seen at 3 weeks and became lamellar bone at 8 weeks, and mature trabecular bone was seen at 12 weeks control group. In experimental group, thickness of regenerated bone increased till 8 weeks gradually and mature trabecular bone was seen at 12 weeks.
2. By histomorphometric analysis, marrow bone density and contact ratio of marrow bone to implant decreased significantly from 8 to 12 weeks in experimental group compared to control group and also total bone to implant contact ratio decreased significantly from 8 to 12 weeks in experimental group.
3. Fibronectin immunoreactivity was strong at 3 weeks control group and reduced after 8 weeks gradually. But it was continuously strong from 3 to 8 weeks in experimental group.
4. CD34 immunoreactivity was very strong in the newly formed osteoblasts from 3 to 8 weeks control group. But it reacted minimally later. While in experimental group, it reacted continuously strong from 3 to 12 weeks.

The results of this study suggest that osteoporosis is not an absolute contraindication to dental implantation if sufficient period suggested after fixture installation till second stage surgery.

Key words : Ovariectomy. Osteoporosis. Osseointegration

I. 서 론

골유착성 임플란트는 근래에 와서는 완전 무치악은 물론 부분

무치악의 수복에 있어서 높은 성공률을 보이는 일반적인 보철술식의 하나로 자리 잡아 가고 있다. 인공치아 임플란트를 이용한 치료 시 장기간에 걸쳐 높은 성공률을 얻기 위해서는 임플란트를 식립하였을 때 골조직과 임플란트가 연조직의 개재 없이 직접 접촉하는 골유착(osseointegration)이 일어나야 하며 기능시에도 골의 재형성 과정을 거치면서 계속 유지되어야 한다.

노인 인구의 증가와 함께 임플란트 시술을 받는 환자들은 특히 고령자가 많아 골의 양과 질에 영향을 주는 전신 질환을 가지거나 만성 질환을 치료하기 위해 골대사에 영향을 주는 약물을 복용하는 경우가 있어 임상적으로 잠재적인 문제점을 야기할 수

김 병 민

부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실
607-050 부산광역시 동래구 수안동 289-4 김병민치과의원

Byung-Min Kim

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Pusan National University
220-2 Suan-Dong Dongrae-Gu Pusan Metropolitan City, Pusan. 607-050. Korea
TEL : +82-51-556-8534 FAX : +82-51-556-8535

E-mail : lsw1392@yahoo.co.kr

있다고 알려져 있다^{1,3)}.

골다공증은 정상인에 비해 단위 부피당 골질량이 현저히 감소된 상태로 골의 구성성분의 양적 감소를 주된 병변으로 하는 대사성 골질환으로 그 기전은 골 형성과 골흡수의 불균형에 의한 것이다⁴⁾. 특히 폐경후 골다공증은 골밀도와 골질량의 감소를 일으키는 골격성 질환이고 폐경후 에스트로겐의 결핍이 골의 화학적 조성의 변화 없이 골질량을 감소시키므로 골대사에 주로 영향을 미친다고 알려져 있다. 골다공성 골에서 골대사의 장애는 티타늄 임플란트 주위의 골치유능력을 감소시킬 수 있다.

골다공증이 다른 골에서처럼 상악과 하악에 영향을 미칠 수 있다는 가정하에서는 골대사의 장애로 인하여 임플란트 주위를 둘러싸는 골의 치유능력의 저하를 예상할 수 있으나 골다공증을 가진 환자에서 티타늄 임플란트 적용에 관한 임상적 판단기준과 금기증에 관한 자료는 부족하다⁵⁾.

이에 본 연구에서는 이러한 골의 대사작용에 관여하는 난소를 제거하여 에스트로겐 결핍을 유도하여 인위적 골다공증을 유발시킨 백서에서 나사형 티타늄 임플란트를 경골에 식립한 후 난소기능 부전에 따른 임플란트 주위 골유착 과정을 광학 현미경으로 관찰하였으며, 골밀도와 골과 임플란트 사이의 접촉률을 조직 형태계측학적으로 분석하였고, 또한 골형성 시기 중에 발견되는 fibronectin, CD34의 분포를 면역조직화학염색법으로 관찰하여 골다공증을 가진 환자에서의 임플란트 시술시 골유착 정도를 파악하여 임상적용시 지견을 얻고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

실험동물은 일정 기간 동일 조건하에서 사육한 11주령군 200-220 g내외의 자성 백서 70마리를 사용하였으며, 이것을 정상 대조군 35마리와 난소를 절제한 실험군 35마리로 나누었다. 연구재료는 순 티타늄으로 주문 제작한 직경 2.0mm 길이 3.5mm의 나사형 임플란트를 사용하였다.

2. 연구방법

1) 난소 절제

11주된 백서의 대퇴부에 Xylazine hydrochloride(Rompun®, Bayer사, 한국) 10 mg/kg, Ketamine chloride (Ketalar®, 유한양행, 한국) 100 mg/kg을 혼합하여 근육주사하여 전신마취한 후 복부 제모를 시행하고 베타딘 용액을 도포하여 소독한후, 수술용 가위를 이용하여 복부에 5 cm의 수직절개를 가하여 복부를 노출시키고, 양측 신장의 하방에 존재하는 난소를 조심스럽게 완전제거하고 통법에 따라 봉합하였다. 그리고 겐타마이신 3 mg/kg을 근주하였다.

2) 임플란트 매식

난소를 절제하고 1주가 경과된 백서 35마리의 좌측 경골부에

다음의 수술 술식을 사용하여 순티타늄으로 주문 제작된 나사형 임플란트를 매식하였다. Xylazine hydrochloride 10 mg/kg, Ketamine chloride 100 mg/kg을 혼합하여 대퇴부에 근육주사하여 전신마취한 후 슬관절부를 포함하여 좌측 경골부 피부에 제모하고 베타딘용액을 도포하여 소독하였다. 좌측 경골 외측부에 절개를 가한 다음 박리자를 이용하여 골막까지 박리한 후 골을 노출시켰다. 노출된 경골 근심측 5 mm 부분의 경골 외측 최대 폭경부 중앙에, 생리식염수를 적하하면서 치과용 회전 엔진으로 저속회전시켰다. 직경 1.6 mm twist drill을 이용하여 피질골에 구멍을 뚫어, 직경 1.6 mm의 구멍을 정확히 형성하고, 형성한 구멍을 생리식염수로 충분히 세정하고 골편등을 제거한 후 임플란트를 피질골에 심고, 골수강에 도달할 때까지 매입하였다. 창상은 통법에 따라 봉합하고 겐타마이신 3 mg/kg을 근주하였다. 대조군 35마리도 동일한 방법으로 임플란트를 매식하였다.

3) 실험 기간

각 사육장마다 3-4마리씩 사육하였고 실험동물용 고형사료와 생리식염수를 자유 습식하도록 하였다. 실험동물은 매식 후 1주, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주 및 12주간 사육하여 희생시킨 후 표본을 제작하였다.

4) 표본 제작

상기의 외과적 수술시행 후 1주, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주 및 12주 경과한 백서의 대퇴부에 Xylazine hydrochloride 10 mg/kg, Ketamine chloride 100 mg/kg을 혼합하여 대퇴부에 근육주사하여 전신마취한 후 심장관류법으로 조직을 고정하기 위하여 흉곽부에 Y 절개를 가하여 흉곽을 열어 심장을 노출시킨 후 좌심실로 연동성 관류 펌프와 연결된 20 게이지 바늘을 삽입하여 지혈검자로 고정하고 펌프를 작동한 후 우심방의 벽을 절개하여 체순환된 피를 배출시키고 Phosphate buffered saline (PBS)를 사용하여 20분간 체내 혈액을 세척해 내었다. 그 후 pH 7.2인 4% paraformaldehyde 고정액을 30분간 관류 펌프로써 주입하였다. 관류고정 직후 대퇴골의 슬관절부와 비골을 포함하여 경골을 절단해서, 티타늄 임플란트의 중심축 방향으로 경조직 절단기(Struers Minitom, Denmark)를 사용하여 양분하였다. 그후 동일한 고정액에 6시간 동안 고정시킨 후 증류수 1750ml에 250 g의 EDTA와 25 g의 NaOH를 녹인 탈회액에 7주간 탈회시켰다. 그 후 조직을 조직캡슐에 넣어 흐르는 물에 12시간 동안 수세한 다음, 통상적인 방법에 따라 alcohol과 xylene으로 탈수와 투명화를 한 후 paraffin에 포매하고 6 μm 두께의 시상연속절편을 만들었다.

5) 병리조직학적 관찰

골형성 정도 관찰은 hematoxylin-eosin(H-E) 염색표본을 광학현미경(Olympus BH60, Japan)으로 하였다.

6) 조직형태계측학적 분석

H-E 염색된 표본을 각군당 5개씩 70개를, 광학현미경(Olympus BX50, Japan)을 통하여 CCD color 비디오 카메라(Hitachi, Japan)로

찍고 컴퓨터를 이용한 화상처리장치(Image-Pro Plus 2.0, Media Cybernetics, USA)를 이용하여 다음과 같은 방법으로 골수부 골 밀도, 골수부 골-임플란트 접촉률, 전체 골-임플란트 접촉률을 측정하였다.

(1) 골수부 골밀도(Marrow bone density: MBD) 측정

골수부에서 임플란트 경계부로부터 1 mm까지의 범위를 지정하고 석회화된 골의 양을 색상 분석을 이용하여 측정하였으며, 지정된 범위내 전체 골수 면적에 대한 석회화된 골의 면적을 백분율로 표시하였다.

(2) 골수부 골-임플란트 접촉률(Marrow bone to implant contact ratio: MBIC) 측정

망상골에서 임플란트 나사선의 전체 길이에 대한 임플란트에 직접 접촉되어 있는 골조직의 표면경계 길이의 비를 백분율로 표시하였다.

(3) 전체 골-임플란트 접촉률(Total bone to implant contact ratio: TBIC) 측정

치밀골과 망상골 모두를 포함한 임플란트 나사선의 전체 길이에 대한 임플란트에 직접 접촉되어 있는 골조직의 표면경계 길이의 비를 백분율로 표시하였다.

7) 통계학적 분석

상기 조직형태학적으로 계측된 자료를 각 주당 실험군과 대조군을 student t-test를 이용하여 유의차 검증을 실시하여 P<0.05를 유의차가 있다고 판정하였다.

8) 면역조직화학염색

상기 제작된 6 μ m 두께의 파라핀 조직 절편을 xylene에서 파라핀을 제거하고 graded alcohol을 거쳐 흐르는 물로 수세한 후 1 mg/ml 농도의 hyaluronidase type V(Sigma, U.S.A.)가 혼합된 pH 7.2 인 phosphate buffered saline(PBS)에 4시간 둔다음 내인성 peroxidase를 제거하기 위해 무수 메칠알콜에 0.3% hydrogen peroxide를 첨가시켜 20분간 처리한 다음 PBS에서 10분간 3회 세척하고 fibronectin의 분포를 알기 위해서 5% normal goat serum을 30분간 적용하였고, CD34의 분포를 알기 위해서는 5% normal horse serum을 30분간 적용하였다. 그런 후 조직절편을 세척하지 않고 부드럽게 blotting한 후 1:800으로 희석된 1차 항체인 rabbit anti-human fibronectin (DAKO, U.S.A.)과 mouse anti-human CD34 (Serotec, U.S.A.)를 4 $^{\circ}$ C에서 16시간 적용하였다. 그 후 PBS로 10분간 3회 세척한 후 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vector Lab., U.S.A.)와 biotinylated horse anti-mouse IgG(Vector Lab., U.S.A.)를 각각 1:100으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 적용하였다. 그 후 조직절편을 PBS로 10분씩 3회 수세하고 30분전에 미리 만들어 실온에 방치해 놓은 ABC(avidin-biotin horseradish peroxidase complex) 용액 (A:10 μ l, B:10 μ l in 1ml PBS, Vector Lab., U.S.A.)에 조직절편을 실온에서 1시간 동안 적용시켰다. 그 후 조직절편을 PBS로 10분

간 3회 세척한 후, pH 7.6인 0.05M Tris-HCl buffer와 0.05% diaminobenzidine (DAB) 및 0.01% hydrogen peroxidase 혼합용액에 3분 동안 실온에서 발색시켰다. 그리고 나서 Tris buffer, PBS 그리고 증류수에서 각각 10분 동안 순서대로 세척한 후, Harris hematoxyline으로 대조염색을 하고 Permount (Polysciences, U.S.A.)로 봉입하였다.

III. 연구 성적

1. 병리조직학적 소견

(1) 대조군

1) 술 후 1주군에서 임플란트 주위로 나사상 모양의 부분적인 골 재생이 관찰되었고, 이러한 골조직은 H-E 염색에 미약한 반응을 보이는 망상의 골양조직이었다. 임플란트와 재생된 골 사이에 직접 접촉하는 부분은 관찰되지 않았고 일부 요철 모양의 골조직 내에서 골수조직이 발견되었다(Fig. 1).

2) 술 후 2주군에서는 임플란트와 골이 접하는 계면 부위에 요철상의 재생되는 골을 볼 수 있었으며 이들은 미성숙된 양상을 나타내고 있었다. 많은 골소주들이 골수강내에 관찰되었다(Fig. 2).

3) 술 후 3주군에서는 2주군에 비해 임플란트와 골의 계면 사이에 재생된 골조직의 두께가 2주군에 비해서 약간 감소된 양상을 보였으며, 골수강 내에서 관찰되는 골소주들이 2주군에 비해 현저하게 감소된 것을 알 수 있었다. 부분적으로 H-E염색에 강하게 반응하는 성숙골을 관찰할 수 있었다(Fig. 3).

4) 술 후 4주군에서는 임플란트 주위로 재생된 골의 성숙을 나타내고 있었으며 3주군에 비해 성숙된 골의 두께가 두꺼워진 양상을 보였다. 골수강 내에는 변성을 일으키는 골소주들을 관찰할 수 있었고 임플란트와 골조직 사이의 계면에는 골조직이 없는 부위도 관찰되었다(Fig. 4).

5) 술 후 6주군에서는 임플란트 주위로 형성된 요철모양의 성숙한 골조직을 관찰할 수 있었으며 일부 골조직이 형성되지 않은 부위도 보였다. 골수강 내의 골소주들은 퇴축하는 양상을 나타냈다(Fig. 5).

6) 술 후 8주군에서는 6주에 비해 잘 형성된 두꺼워진 요철 모양의 성숙골을 관찰할 수 있었으며 신생골의 층판구조가 명확해지는 양상을 보였다. 골수강 내에서는 지방세포들을 관찰할 수 있었다(Fig. 6).

7) 술 후 12주군에서는 8주군에 비해 아주 잘 발달된 층판골 양상의 신생골을 관찰할 수 있었고 이들이 임플란트 주위로 나사상을 형성하고 있음을 관찰하였다(Fig. 7).

(2) 실험군

1) 매식 후 1주군

임플란트 계면 부위에 요철상을 보이는 두꺼운 골기질과 골기질 내에 막내성골형성의 양상을 보이는 많은 골소주를 관찰할 수 있었다(Fig. 8).

2) 매식 후 2주군

임플란트 계면 부위에 무기질화가 일어나지 않은 두꺼운 골기질 상태를 관찰할 수 있었으며, 요철상의 재생 부위에 연이어 있는 골수조직 공간에 1주군 보다 더욱 발달한 막내성골형성의 조직상을 관찰할 수 있었다(Fig. 9).

3) 매식 후 3주군

임플란트 계면 부위에는 드문드문 무기질화가 일어난 얇은 골조직의 양상을 관찰할 수 있었으며, 1주군과 2주군에서 관찰된 막내성골형성의 골소주들은 관찰되지 않았다(Fig. 10).

4) 매식 후 4주군

임플란트 계면 부위에는 3주군 보다 두꺼워진 재생되고 있는 골조직의 양상을 관찰할 수 있었으며, 재생되고 있는 골조직의 무기질화는 미약한 상태였다(Fig. 11).

5) 매식 후 6주군

임플란트 계면 부위에는 4주군 보다 약간 두꺼워진 재생된 골조직의 양상을 관찰할 수 있었으며, 재생되고 있는 골조직의 많은 부분에서 무기질화가 되어 있었다. 그리고 골수조직에 이전까지 관찰이 되지 않았던 지방세포들이 많이 관찰되었다(Fig. 12).

6) 매식 후 8주군

임플란트 계면 부위에는 6주군 보다 약간 두꺼워진 재생된 골조직의 양상을 관찰할 수 있었으며, 무기질화의 정도는 6주군과 비슷하였다(Fig. 13).

7) 매식 후 12주군

임플란트 계면 부위에는 8주군에 비해 상당히 두꺼워지고 무기질화의 정도가 거의 성숙골과 유사한 골조직을 관찰할 수 있었다(Fig. 14).

2. 조직형태계측학적 분석(Histomorphometric Analysis)

대조군에서는 골수부 골밀도, 골수부 골과 임플란트 사이 접촉률, 전체 골과 임플란트 사이 접촉률 등이 함께 경시적으로 증가하였다. 실험군에서는 골밀도는 6주군까지는 점차적으로 증가하다가 그 이후로는 감소하였으며, 골수부 골과 임플란트사이의

접촉률 및 전체 골과 임플란트사이의 접촉률은 6주군까지는 점차 증가하다가 8주군에서는 감소되는 양상을 나타내었다. 대조군과 실험군의 비교에서 골밀도에 있어서는 8주군과 12주군이 대조군과 실험군사이의 유의할 만한 감소가 있었고, 골수부 골과 임플란트사이 접촉률, 전체 골과 임플란트사이 접촉률에서는 3, 4, 8, 그리고 12주군에서 대조군과 실험군간에 유의할 만한 차이를 나타내었다(Table 1, 2, 3).

1) 골수부 골밀도(Marrow bone density: MBD)

Table 1. Marrow bone density(%)

	Control group	Ovariectomy group	P-value
1 week	3.07±1.14	3.27±0.32	0.00**
2 weeks	4.23±2.70	8.69±1.02	0.04*
3 weeks	15.99±5.84	16.90±3.46	0.42
4 weeks	21.15±3.47	22.90±3.54	0.16
6 weeks	26.75±3.21	28.71±4.54	0.58
8 weeks	30.86±3.81	17.25±2.89	0.00**
12 weeks	55.29±3.18	13.49±1.41	0.00**

Mean±SD (* : P<0.05, ** : P<0.01)

2) 골수부 골-임플란트 접촉률(Marrow bone-implant contact: MBIC)

Table 2. Marrow bone to implant contact ratio(%)

	Control group	Ovariectomy group	P-value
3 weeks	60.32±3.22	38.81±9.33	0.00**
4 weeks	67.99±2.61	47.59±4.29	0.00**
6 weeks	73.24±3.52	65.54±3.17	0.01*
8 weeks	80.57±4.19	62.01±2.20	0.00**
12 weeks	87.48±4.11	61.05±2.55	0.00**

Mean±SD(* : P<0.05, ** : P<0.01)

3) 전체 골-임플란트 접촉률(Total bone-implant contact: TBIC)

Table 3. Total bone to implant contact ratio(%)

	Control group	Ovariectomy group	P-value
3 weeks	46.14±2.58	36.32±4.70	0.00**
4 weeks	65.34±2.70	52.16±3.11	0.00**
6 weeks	70.76±1.68	66.46±6.71	0.20
8 weeks	79.73±1.42	61.45±3.45	0.00**
12 weeks	86.16±3.11	56.92±5.78	0.00**

Mean±SD(* : P<0.05, ** : P<0.01)

Table 4. Fibronectin expression on regenerating bone after implantation on the tibia of the normal rat

periods after implantation	regenerating bone matrix	osteoblast	bone marrow
3 weeks	++/+++	+++	++/+++
4 weeks	++	++/+++	++
6 weeks	+ / ++	++	++
8 weeks	- / +	+ / ++	+ / ++
12 weeks	- / +	+	+

+++ : strong positive, ++ : moderate positive, + : weak positive, - : no reaction

Table 6. CD34 expression on regenerating bone after implantation on the tibia of the normal rat

periods after implantation	regenerating bone matrix	osteoblast	bone marrow
3 weeks	++/-	+++	++
4 weeks	++/+-	+++	+++
6 weeks	+/-	+++ / ++	++
8 weeks	+/-	+++	+++ / ++
12 weeks	+/-	++	++ / +

+++ : strong positive, ++ : moderate positive, + : weak positive, - : no reaction

3. 면역조직화학 염색소견

1) Fibronectin 면역항체를 이용한 면역조직화학염색소견

Fibronectin 항체 발현 정도는 임플란트와 접촉하는 부위의 재생된 골기질, 골모세포, 망상골 기질의 세부위에서 관찰하였는데, 대조군에서는 3주군에서 가장 강한 발현을 나타내고 있었고 6주군까지는 발현이 강하게 지속된 반면 8주군부터는 낮은 발현 정도를 보이고 있었다. 실험군에서는 3주군부터 12주군까지 발현이 강하게 지속되고 있었다(Table 4, 5).

2) CD34 항체를 이용한 면역조직화학염색소견

대조군의 골모세포에서는 3주군에서 8주군까지 강한 발현을 나타내었고 실험군의 골모세포에서는 12주군까지 지속적인 발현을 나타내었고, 골수부에서는 실험군이 대조군에 비하여 약한 발현을 보였다(Table 6, 7).

IV. 총괄 및 고찰

최근 임플란트가 노인 환자에서의 사용이 증가하면서 높은 성공률을 얻기 위하여 골의 양과 질에 영향을 미치는 다양한 조건들에 관심을 가져왔다. 골다공증은 주로 노인들에게 발생하며 이는 전골량에 비해서 골조직양의 감소로 인한 골 양부족을 초

Table 5. Fibronectin expression on regenerating bone after implantation on the tibia of the ovariectomized rat

periods after implantation	regenerating bone matrix	osteoblast	bone marrow
3 weeks	++/+++	+++	+ / ++
4 weeks	++/+++	++/+++	++
6 weeks	++/+++	+++	+++
8 weeks	++	++/+++	++
12 weeks	++	++/+++	++/+++

+++ : strong positive, ++ : moderate positive, + : weak positive, - : no reaction

Table 7. CD34 expression on regenerating bone after implantation on the tibia of the ovariectomized rat

periods after implantation	regenerating bone matrix	osteoblast	bone marrow
3 weeks	++/-	++	++/-
4 weeks	++/+-	++/+	+/-
6 weeks	++/+-	+++ / ++	+++ / ++
8 weeks	+/-	++	++
12 weeks	+/-	++	++/-

+++ : strong positive, ++ : moderate positive, + : weak positive, - : no reaction

래하여 임상적으로 잠재적인 문제점을 일으킬 수 있다. 그러나 골다공증이 임플란트에 있어서 금기증 혹은 위험인자라는 데에는 논란의 여지가 많다. Martin 등⁶⁾은 난소를 제거한 개를 이용한 연구에 근거하여 폐경기 혹은 난소를 제거한 여성에서 porous-surfaced 임플란트의 고정에 감소할 수 있다고 하고 임플란트의 저항성이 골다공증의 정도에 따라 영향을 받는다고 주장하였다.

골다공증이 치조골의 질과 양에 영향을 미칠 수 있다는 것에도 논쟁의 여지가 많은데 Krook 등⁷⁾은 잔존하는 치조능의 감소와 골밀도의 감소를 주장하였고 특히 하악 무치악 환자에서 체내 칼슘과 국소적인 골량 감소사이에서는 상당한 연관관계가 있다고 하였으나 von Wowern 등⁸⁾은 골의 무기질 밀도가 골다공증 환자에서 진단을 내리는 중요한 잣대이기는 하나 악골과 팔 혹은 요추의 골의 무기질밀도 사이에는 상관관계가 없으며 골량 감소의 평가는 임플란트를 시행 받는 악골자체의 평가가 중요하다고 하였다.

여성에서 폐경기 후 흔히 나타나는 골다공증은 골 흡수와 골형성의 균형이 맞지 않는 골 대체 과정의 이상을 특징으로 하는 질환으로서 여성호르몬의 결핍에 의해 골 흡수가 증가하고 골조직으로 칼슘의 흡수가 감소됨으로써 발생되는데 칼슘의 평형은 체내에 들어오고 빠져나가는 양으로 조절되며 칼슘의 저장고인 골격계에 칼슘의 양이 부족하거나 과도한 양이 빠져나갈 때 negative balance로서 골량은 감소하게 되고 골다공증에 의한 골절이

쉽게 일어난다⁹⁾.

에스트로겐에는 여러 종류가 있는데 그 중에서 에스트로겐의 작용을 나타내는 것으로는 17 β -estradiol(E2), estrone (E1), 및 estriol (E3) 등이 있으며, 대부분의 E2는 난소에서 유리되며 난소의 절제는 대부분의 E2 유리를 감소시키고 전체적인 에스트로겐 결핍을 초래하게 된다. 에스트로겐의 기능은 다양하여, 사춘기 때에는 골격의 빠른 성장을 유도하고 나중에는 장골의 말단을 닫히게 하여 성장을 멈추게 하는데 사춘기와 청장년기 초기에 에스트로겐이 결핍되면 골조직이 정상보다 적은 골격을 형성하게 된다. 연령이 증가하면 에스트로겐은 골 흡수에 대해 부갑상선호르몬과 상반된 작용을 한다¹⁰⁾. 폐경으로 인한 에스트로겐의 결핍시 부갑상선호르몬의 영향에 대한 골의 민감성을 증가시켜 골소실을 가속화시키는데, 부갑상선호르몬의 정상적인 기능을 변화시켜 간접적으로 골 흡수에 영향을 미치고, 신장에서 칼시트리올의 형성과 칼시토닌의 분비를 촉진시켜, 체내에서 칼슘을 저류 시키게 하는 효과를 가지고 있다. 그러므로 에스트로겐의 결핍은 골 흡수를 증가시키고 칼슘의 흡수를 감소시킨다고 알려져 있다. 1988년 Noda¹¹⁾는 백서의 골모양 세포에서, 골 기질의 성분인 오스테오칼신 생성시 유전자적 조절기전에 대해 연구하였고, 1995년 Turner 등¹²⁾은 난소절제 백서의 경골 골간에서, 생체내의 에스트로겐의 골 형성과 유전자 발현에 대한 상관관계를 연구한 결과, 에스트로겐 결핍시 골성장이 저하되며, 골막 세포에서 골 기질 단백질 유전자의 발현이 차단됨을 관찰하였다. 1990년 Kribbs 등¹³⁾은 골다공증을 가진 실험군이 대조군에 비해 상당수 치아 상실과 치조골의 높이가 감소되었음을 관찰하였고 전신적 골다공증이 악골의 높이에 영향을 주는 한 요소임을 보고하였다. 1997년 Johnson 등¹⁴⁾은 난소 절제된 양을 대상으로 관찰한 결과, 에스트로겐의 결핍이 치조골 소실에 영향을 주는 전신적 인자가 될 수 있음을 보고하였다.

폐경기후의 골소실을 연구하기 위해서 난소절제한 백서를 많이 이용하고 있는데 Kalu¹⁵⁾는 12개월 정도의 백서(aged rat model)가 난소절제시 폐경기후 골소실의 특징을 가장 잘 나타내는 동물 모델이기는 하지만 비용문제, 적합성의 제한 그리고 난소절제후 골에 반응이 나타날 때까지는 상당한 기간이 소요된다고 하고 약 3개월 정도 된 백서(mature rat model)를 이용시 난소절제후 적어도 1달이내에 골소실을 나타내므로 난소호르몬결핍에 의한 골소실의 연구에 어린백서가 많이 이용된다고 하였다.

본 연구에서는 난소를 절제하여 1주일째 골다공증을 유도한 백서에서 티타늄 임플란트를 매식하고 골형성의 정도를 정량적으로 비교 분석하기 위해 화상처리 장치를 통한 조직형태측정 분석을 시행하여 골 밀도 및 골과 임플란트간의 접촉 정도를 관찰하였는데 그 결과 난소절제를 시행한 실험군에서 유의성있게 골밀도의 감소가 관찰되었으며 특히 실험군에서는 6주군까지는 골밀도가 점차적으로 증가하는 양상을 보이다 그후로 감소하는 양상이 관찰되었는데 이는 골다공증으로 인한 골밀도의 감소가 본격적으로 발생하고 있는 양상으로 생각된다. 또한 골과 임플란트의 접촉률은 골수부에서와 전체 접촉률도 실험군에서는 6주가 지나면서 유의성이 있게 감소하는 경향을 나타내었다.

본연구의 결과 실험군에서 골형성과 치유가 지연되고 있음을 유추할 수 있으나 실험군의 8주군부터는 임플란트계면 부위가 점차 두꺼워지고 12주군에서는 거의 성숙골의 양상을 나타내는 것으로 보아 골다공증 환자에서의 임플란트 시술시 골다공증에 대한 치료는 물론 임플란트 이식후 장기적인 관찰과 함께 적절한 교합력을 부여하는 것이 필요하리라 생각된다.

세포의 기질 중 당단백의 하나인 fibronectin은 440 kDa의 고분자로서 세포의 기질과 기저막 및 체액 등 여러 부위에 걸쳐 분포하며, 다른 세포의 기질 성분과 상호 작용하거나 세포의 세포표면 수용기에 부착하여 세포와 세포 사이 혹은 세포와 세포의 기질사이의 상호작용 등 여러 가지 작용을 하며 항상 치유 초기에 많이 발현하는 것으로 알려져 있다. Nordahl 등¹⁶⁾은 성장중인 백서의 골에서 fibronectin의 분포를 관찰하여 fibronectin이 골형성 초기에 세포의 기질의 무기질화에 중요한 역할을 한다고 하였으며, Mousi 등¹⁷⁾은 fibronectin이 TGF- β 와 상호 작용하여 골형성에 중요한 역할을 하며, 또한 integrin $\alpha 5 \beta 1$ 와 선택적으로 결합하여 골모세포의 생존과 분화를 조절하는 기능을 가지고 있다고 주장하였으며 또한 골모세포의 분화 초기에 fibronectin의 세포부착영역에 골모세포가 부착하여 이로 인해 골모세포의 분화가 촉진된다고 하였다. 따라서, fibronectin은 골형성 초기에 강하게 발현하여 골모세포의 성숙 및 분화에 영향을 주어 골의 형성을 촉진시키는 물질이라고 생각되어지며 임플란트 매식 후 인접 골형성 조직에서 fibronectin의 발현 정도를 살펴보는 것도 현재 골형성의 진행 정도를 파악할 수 있는 하나의 지표로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 대조군과 실험군에서 fibronectin의 분포를 관찰한 결과 대조군에서는 fibronectin의 발현이 6주까지는 강하게 발현되다가 8주부터는 낮게 발현 되었으며 실험군에서는 12주군까지는 발현이 강하게 지속 되었다. 이는 정상군에서는 8주경 초기 골형성과정이 마무리 되었음을 의미하고 실험군에서는 12주까지 초기 골형성 반응이 지속되고 있다는 것으로 생각되어지며 실험군에서 골형성 반응이 미비하다고 사료된다.

CD34는 조직간세포, 전구세포등에 선택적으로 발현하며 세포와 세포간의 부착에 중요한 역할을 하고 조혈관련 염색체의 발현을 조절하는 인공적 항원 변환의 시작과 혈관 형성에 관여하며 원시세포들에서 강하게 발현되다 세포가 분화함에 따라 점차 상실된다^{18,19)}. 1999년 Pei²⁰⁾는 조혈 간세포는 자력 재생능력과 적혈구, 백혈구, 혈소판 그리고 임파구 세포를 생산하는 능력을 지니고 인간의 조혈간세포의 인식지표로 CD34를 이용할 수 있으며 CD34분리에서 근략형태의 골수세포들을 관찰할 수 있다고 하였다. 이와 같이 CD34는 원시세포들과 분화가 덜 된 세포들에서 강하게 발현되며 조직이 성숙될 수록 발현 정도가 낮아진다고 생각된다.

본 연구에서 골모세포의 CD34의 발현정도는 대조군은 3주군에서 8주군까지 강한 발현을 보이다 이후 감소하였고 실험군에서는 12주군까지 지속적인 발현을 나타내었다. 골수에서의 CD34 발현은 대조군은 지속적으로 일정한 발현을 보였는데 이는 골수의 치유잠재력에 의한 다른 세포들의 발현도 반영된 것으로 보

이며 실험군에서는 6주군까지는 증가하다 그 이후 점차적으로 감소하였는데 이는 치유과정의 활성도를 보이다 이후 골다공성 변화에 의한 것으로 생각되어진다. 골의 치유나 골의 형성정도를 평가하는 골모세포에서의 발현정도로 보아 골의 치유과정의 표식자로서 CD34도 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

난소를 적출한 백서에서 임플란트 매식 후 골형성 정도를 정량적, 정성적으로 살펴보기 위하여 난소 적출 백서의 경골에 주문 제작된 나사형 순 티타늄 임플란트를 식립하고 1주, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주 및 12주 경과 후 각각 희생하여 병리조직학적, 조직형태측학적 분석 및 fibronectin과 CD34항체를 이용한 면역조직화학적 소견을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 조직학적 소견에서 대조군 3주군에서부터 요철모양으로 형성된 골조직이 나타나고 8주군에 이르러 층판골이 명확하였고 12주군에 골소주가 있는 성숙된 골조직이 나타남을 알 수 있다. 실험군에서는 8주군까지는 점차적으로 형성된 골조직의 양과 두께가 증가하였으며 12주군에서는 골조직의 양과 두께가 상당히 두꺼워지고 거의 성숙골과 유사한 골조직을 관찰할 수 있었다.
2. 조직형태측학적 분석에서 골밀도는 대조군에서 4주이후로는 점차적으로 증가하였고 실험군에선 8주이후로 오히려 감소 하였다. 골수부골과 임플란트사이 접촉률에서는 대조군이 3주이후로 점차적으로 증가 하였으나, 실험군에선 8주이후 12주군내에서 감소를 보였다. 그리고 전체 골조직과 임플란트 사이 접촉률에서도 8주, 12주군에서 실험군이 감소를 보였다.
3. Fibronectin 항체를 이용한 면역조직화학 염색소견에서 대조군에서는 3주군에서 가장 강한 발현을 나타내고 8주군부터는 서서히 감소하였으며 실험군에서는 3주군에서 부터 8주군 까지 발현이 계속 강하게 지속되고 있었다.
4. CD34항체를 이용한 면역조직화학염색소견으로는 형성된 골세포에서 CD34발현은 대조군에서는 3주에서 8주군까지 강한 발현을 보였으며 이후로 약한 발현을 보였다. 하지만 실험군에서는 12주군까지 지속적인 발현을 나타내었다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 난소를 적출한 백서의 경골에 식립한 임플란트의 주위골반응에서 임플란트와 골사이의 접촉률은 정상군과 비교하여 8주군에서부터 줄어 들었고, fibronectin과 CD34항체를 이용한 면역조직화학 소견으로 보아 골형성의 속도가 느리고, 미성숙골이 오래 지속되고 또한 층판골과 골소주가 형성된 골조직으로의 이행도 지연됨을 알 수 있었으나, 시간이 경과할수록 골형성의 정도가 점차 증가되기 때문에 임상에서 골다공증환자에게 임플란트를 시술하는 것은 금기증이 아니라 여겨지며 다만 정상인에 비해 장기적인 치유기간이 필요할 것이라 사료된다.

참고문헌

1. Mangaroo J, Glasser JH, Roht LH, et al: Prevalence of bone demineralization in the United States. *Bone* 6:135, 1985.
2. Steiger P, Cummings SR, Black DM, et al: Age-related decrements in bone mineral density in women over 65. *J Bone Miner Res* 7:625, 1992.
3. Cummings SR, Kelsey JL, Nevitt MC, et al: Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fracture. *Epidermiol Rev* 7:178, 1985.
4. Jeffcoat MK, Chesnut CH: Systemic osteoporosis and oral bone loss: evidence shows increased risk factors: *J Am Dent Assoc* vol.12 4:49-56, 199.
5. Dao TT, Anderson JD, Zarb GA: Is osteoporosis a risk factor for oss eointegration of dental implants?: *Int J Oral Maxillofac Implants* 8:13 7, 1993.
6. Martin RB, Daul HA, Bargar WL, et al: Effects of estrogen deficiency on the growth tissue into porous titanium implants. *J Bone Joint Surg Am* 70: 540, 1988
7. Krook L, Whalen JP, Lesser GV, et al: Human periodontal disease and osteoporosis. *Cornell Vet* 62:371, 1972
8. von Womern N, Storm TL, Olgaard K: Bone mineral content by absorptionmetry of the mandible compared with that of the forearm and lumbar spine. *Calcif Tissue Int* 42:157, 1988
9. Ernster VL, Huggins GR, Hulka BS, Kelsey JL, Schottenfeld F: Benefits and risks of menopausal estrogen and/or rogestin hormone use. *Prev Med* 17: 201-223, 1988.
10. Lark MW, Stroup GB, Hwang SM, et al : Design and characterization of orally active Arg-Gly-Asp peptidomimetic vitronectin receptor antagonist SB 265123 for prevention of bone loss in osteoporosis. *J Pharmacol Exp Ther* 291(2):612-7, 1999.
11. Noda M : Transcriptional regulation of osteocalcin production by transforming growth factor- β in rat osteoblast-like cells. *Endocrinology* 124(2):612-617, 1988.
12. Turner AS, Mallinckrodt CH, Alvis MR, Bryant HU: Dose-response effects of estradiol implants on bone mineral density in ovariectomized ewes. *Bone* 17(4): 421-427, 1995.
13. Kribbs PJ, Chesnut CH III, Ott SM, Kilcoyne RF: Relationships between mandibular and skeletal bone in an osteoporotic population. *J Prosthet Dent* 62:703-7, 1989.
14. Johnson RB, Gilbert JA, Cooper RC, et al: Alveolar bone loss one year following ovariectomy in sheep. *J Periodontol* 68(9):864-871, 1997.
15. Kalu DN : The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone and Mineral* 15:175-192,1991.
16. Nordahl J, Mengarelli-Widholm S, Hultenby K, Reinholt FP: Ultrastructural immunolocalization of fibronectin in epiphyseal and metaphyseal bone of young rats. *Calcif Tissue Int* 57:442-449, 1995.
17. Moursi AM, Damsky CH, Lull JC, Zimmerman D, Doty SB, Aota S-I, Globus RK: Fibronectin regulates calvarial osteoblast differentiation. *J Cell Sci* 109:1369-1380, 1996.
18. Holyoake TL, Alcorn MJ: CD34+ positive haemopoietic cells: biology and clinical applications. *Blood Rev* 8:113-124, 1994.
19. Wood HB, May G, Healy L, Enver T, Morriss-Kay GM: CD34 expression patterns during early mouse development are related to modes of blood vessel formation and reveal additional sites of hematopoiesis. *Blood* 15: 2300-2311, 1997.
20. Pei X: Who is hematopoietic stem cell: CD34+ or CD34-? *Int J Hematol* 70: 213-215, 1999.

사진부도 설명

- Fig. 1. Microphotograph at 1 week after implantation in control rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 2. Microphotograph at 2 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 3. Microphotograph at 3 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 4. Microphotograph at 4 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 5. Microphotograph at 6 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 6. Microphotograph at 8 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 7. Microphotograph at 12 weeks after implantation in control rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 8. Microphotograph at 1 week after implantation in ovariectomized rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 9. Microphotograph at 2 weeks after implantation in ovariectomized rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 10. Microphotograph at 3 weeks after implantation in ovariectomized rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 11. Microphotograph at 4 weeks after implantation in ovariectomized rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 12. Microphotograph at 6 weeks after implantation in ovariectomized rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 13. Microphotograph at 8 weeks after implantation in ovariectomized rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 14. Microphotograph at 12 weeks after implantation in ovariectomized rat. H-E, $\times 200$.
- Fig. 15. Fibronectin antibody reaction of regenerating bone at 12 weeks after implantation on the tibia of the control rat. The matrices of the regenerating bone tissues and osteoblasts show focally positive immunoreactivity. The bone marrow shows weak positive immunoreactivity. (original magnification $\times 100$)
- Fig. 16. Fibronectin antibody reaction of regenerating bone at 12 weeks after implantation on the tibia of the ovariectomized rat. The matrices of the regenerating bone tissues and osteoblasts, and bone marrow show moderate or strong positive immunoreactivity. (original magnification $\times 100$)
- Fig. 17. CD34 antibody reaction of regenerating bone at 4 weeks after implantation on the tibia of the control rat. The matrices of the regenerating bone tissues show focally positive immunoreactivity or no immunoreactivity. The osteoblasts and bone marrow show strong positive immunoreactivity. Arrows indicate osteoblasts showing a very strong positive immunoreactivity. (original magnification $\times 100$)
- Fig. 18. CD34 antibody reaction of regenerating bone at 4 weeks after implantation on the tibia of the ovariectomized rat. The matrices of the regenerating bone tissues and bone marrow show focally positive immunoreactivity and no immunoreactivity. (original magnification $\times 100$)

사진부도 ①

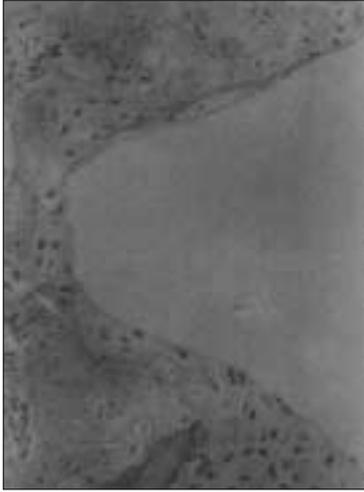


Fig. 1

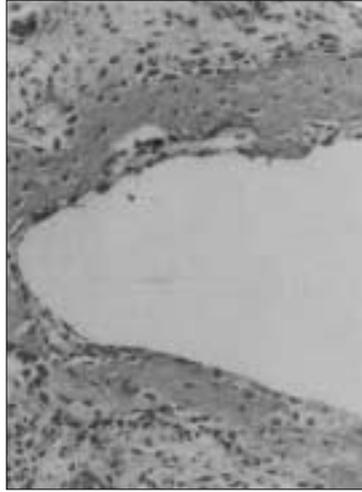


Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

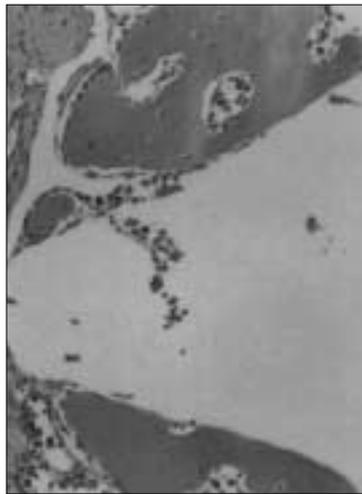


Fig. 5

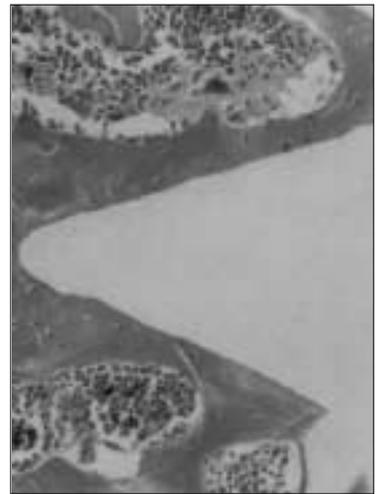


Fig. 6



Fig. 7

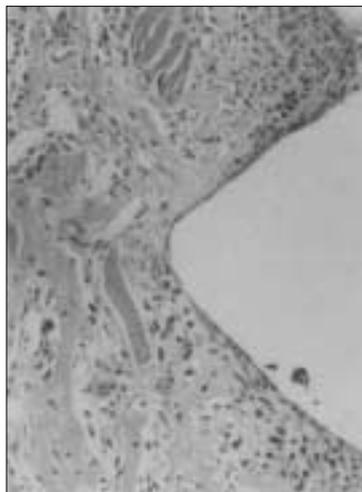


Fig. 8



Fig. 9

사진부도 ②

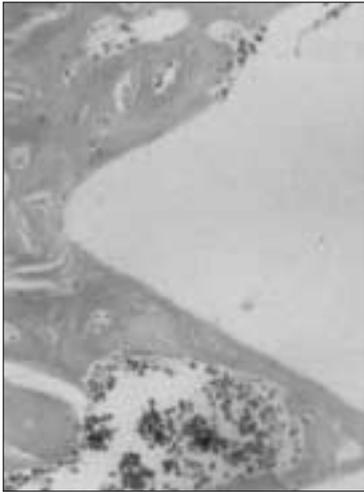


Fig. 10

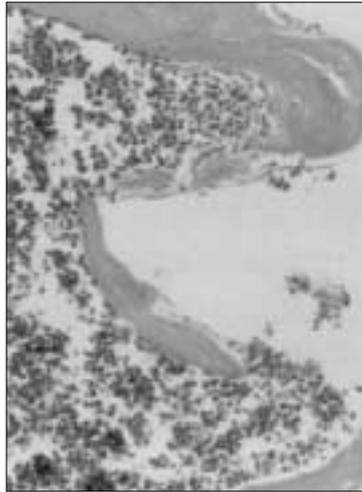


Fig. 11

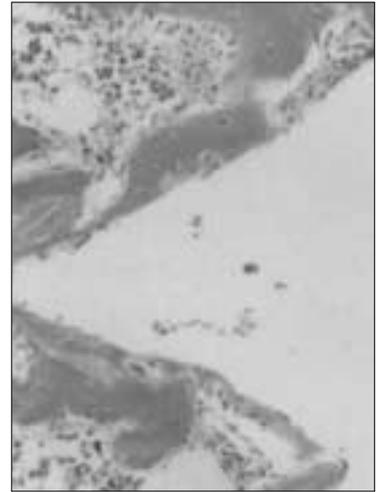


Fig. 12

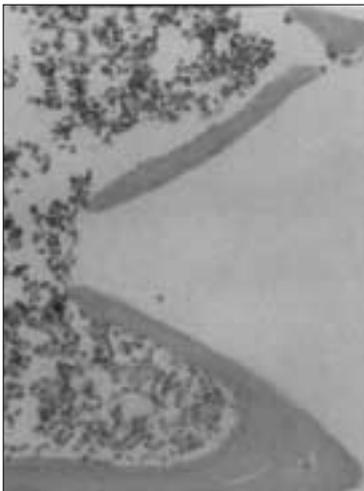


Fig. 13



Fig. 14



Fig. 15

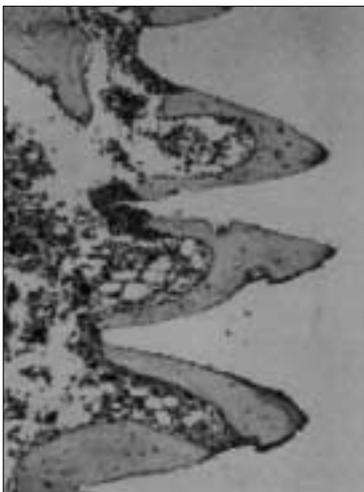


Fig. 16



Fig. 17

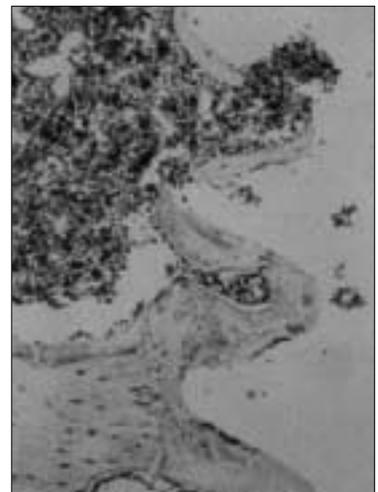


Fig. 18