

골수내천공을 동반한 골유도재생술시 법랑기질유도체의 효과

이영중¹ · 박준봉¹ · 권영혁¹ · 허 의¹ · 조규성²

경희대학교 치과대학 치주과학교실¹

연세대학교 치과대학 치주과학교실²

1. 서론

치주질환 또는 여러가지 원인으로 발생한 치아상실은 수직적 혹은 수평적 치조골 흡수를 야기한다⁴⁾. 이러한 치조골 흡수는 보철 치료시 심미적 문제를 초래함은 물론 임플란트 식립시 골량의 부족으로 시술상의 어려움을 유발시킨다^{5,6)}. Dahlin (1989)⁷⁾이 보고한 차폐막을 이용한 골유도재생술은 골결손을 해결하기 위한 대표적인 치료방법 중 하나이며, 여러 가지 골유도재생술식들에 응용되고 있다. 그리고 효과적인 골재생을 위하여 골수내천공, 골이식재의 사용, 성장인자의 적용등 다양한 술식들이 골유도재생술과 함께 사용되고 있다.

차폐막의 사용은 Nyman등(1982)⁸⁾ 및 Gottlow 등 (1986)⁹⁾이 재생술식에 Millipore® filter를 사용하여 상피의 하방증식을 차단하고, 선택적인 세포증식을 유도하여 성공적인 결과를 보고한 이래 수많은 선행들의 연구가 진행되었다. 현재 임상에서 사용되고 있는 차폐막은 비흡수성과 흡수성이 있는데, 비흡수성은 조직유도능력이 좋지만, 반드시 제거하기 위하여 부가적으로 2차 수술을 시행해야 하며 조기 노출

시 감염의 우려가 높은 단점이 있다. 이에 최근에는 2차 수술이 필요없고 차폐막의 노출이 거의 일어나지 않는¹⁰⁾ 흡수성 차폐막이 널리 사용되고 있다. 차폐막 흡수의 적절한 시기에 대하여 여러 가지 논란이 있지만, 치주분야의 조직유도재생술에서는 유도하고자 하는 세포의 집락과 신생조직으로의 성숙을 위해서 3-6주가 중요한 시기이므로 이 기간내에는 차폐막의 흡수가 일어나지 않아야 하고, 골유도재생술을 위해서는 분화된 골세포의 석회화 과정의 기본적인 소요기간인 최소 8주간 차폐막이 조직내에서 그 기능을 유지하여야 한다^{11,12)}. Owens와 Yukna(2001)¹³⁾는 생체내 삽입된 수종의 흡수성 차폐막의 흡수양상을 조직학적으로 평가하였는데 무세포성 동결 건조 피부가 가장 오랫동안 형태를 유지하고 있었고, 다른 흡수성 차폐막의 경우 2개월이 경과하였을 때 상당량의 흡수가 일어났다고 보고하였다.

골유도재생시 골수내천공은 많은 임상가들에 의해 추천되고 있다^{4,16)}. Majzoub등(1999)¹⁷⁾은 골수내천공이 초기 골형성 및 재생을 촉진시키며 골수내천공을 시행하지 않은 경우에 비하여 골밀도 또한 증가시키는 경향을 보인다고 하였다. 그 이유로는 골

* 이 연구는 2000년도 보건복지부 보건의료기술 연구개발 사업의 지원에 의해 이루어진 것임(00-PJ1-PG1-CH10-0002).

교신저자: 박준봉, 서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호: 130-702,

E-mail : jbpark@khu.ac.kr

수내천공이 신생혈관 생성을 촉진시키며 골수내 성장인자 및 골형태형성단백질을 노출시키고 지역축진현상(regional acc-eleratory phenomenon)을 유도하기 때문이라고 하였다.

Simion 등(1992)¹⁸⁾은 골유도재생술시 차폐막에 의하여 확보된 공간의 합몰을 방지하기 위하여 골이식재를 함께 사용하였다. 골유도재생술에 사용되는 골이식재는 크게 네 가지, 즉 자가골, 동종골, 이종골, 합성골로 분류할 수 있다. 자가골은 골이식재 중 가장 이상적인 재료이며 골전도나 골유도를 할 수 있는 전구골모세포(osteoprogenitor cell)를 함유하고 있기 때문에 다른 골이식재와 비교할 때 표준(gold standard)이 된다¹⁹⁻²²⁾. 자가골 이식재는 조직거부반응이 없고 술후 예견성이 높지만, 골채취를 위하여 부가적인 공여부 수술이 필요로 하고 채취할 수 있는 양의 한계가 있다는 단점이 있다. 합성골 이식재는 불활성의 골대체물로 생체 친화성이 있고, 재료채취를 위한 부가적인 수술이 없으며 무한정의 양을 안정적으로 공급할 수 있고, 교차감염의 우려가 없다는 장점이²³⁻²⁵⁾ 있지만, 성장인자나 골형성 촉진인자 등 골재생을 촉진하는 요소를 함유하고 있지 않다는 단점이 있다. 동일종으로부터 채취하는 골이식재를 동종골이라 하고, 종이 다른 개체로부터 채취하는 골이식재를 이종골이라 하는데, 대표적인 동종골에는 탈회 동결 건조골이 있고 이종골의 대표적인 예는 탈단백 우골이 있다. 탈회 동결 건조골의 골유도능력 유무에 관해서는 효과가 있다는 보고^{28,29)}와 그렇지 않다는데 동의하는 보고³⁰⁻³²⁾가 있어 아직 논란이 되고 있다. 이에 동종골과 유사한 효과를 가지는 이종골의 사용이 증가되었고, 긍정적인 연구 결과들이 많이 보고 되었다³³⁻³⁷⁾. 탈단백 우골은 골유도 효과는 거의 없고, 골전도 효과를 가지는 것으로 보고^{38,39)} 되고 있고, 최근에 들어서서는 제한적이나마 부정적인 결과도 보고⁴⁰⁾ 되었다. Schwartz 등(2000)⁴¹⁾은 탈단백 우골이 함유하고 있는 골형성 유도인자가 골형성에 미치는 영향과 탈단백 우골의 골유도 능력을 실험하였는데 실험결과 탈단백 우골에서 추출된 골형성인자를 비활성형의 탈회 동결 건조골과 함께 사용하는 경우에는 활성형의 탈회 동결 건조골과 유사한 정도의 골형성을 보였다.

따라서 탈단백 우골과 탈회동결 건조골과 함께 사용할 때 골형성의 상승효과가 있음을 시사하였다.

많은 연구보고와 신물질의 개발에도 불구하고 이상적이라 할 수 있는 골이식재는 없었다. 골조직의 재건 과정에 생물학적 매개체를 이용하여 생체조직을 신속하고 본래의 외형으로 재현하고자 하는 연구들이 시도되어 왔다. 그 중에서 골형태형성 단백질⁴²⁻⁴⁴⁾과 혈소판 유래 성장인자^{45,46)}가 대표적으로 연구대상이 되었다.

최근에는 치주조직 재생을 위한 새로운 시도로 범랑기질유도체가 이용되고 있다⁴⁷⁾. 현재까지 밝혀진 범랑기질 단백질의 기능은 무세포성 백악질의 재생^{47,49)}, 치주인대 세포의 분화 및 증식 촉진^{50,51)}, 신생골 형성⁵²⁾, 골아세포의 증식과 세포 분화 증진⁵⁴⁾ 등이 보고된 바 있다. 특히 Boyan 등(2000)⁵³⁾은 근육내 탈회 동결 건조골과 범랑기질유도체를 병용하였을 경우 골유도능의 증가로 신생골 형성이 많았음을 주장한 바 있다. 그러나 아직 골유도재생술에서 골이식재와 범랑기질유도체의 혼합체 적용시 그 효과에 대한 검증이 명확하지 않다.

따라서 이번 연구에서는 웅성백묘 두개관에 골수내천공을 동반한 골유도재생술시 골이식재와 범랑기질유도체를 함께 적용하였을 때 골재생과정에 미치는 효과를 조직학적으로 평가하고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

골이식재료로는 0.25-1mm 크기의 탈단백 우골(Bio-Oss®, Osteohealth, Switzerland)과 250-500µm 크기의 탈회 동결 건조골(Dembone®, Pacific Coast Tissue Bank, USA)을 사용하였고, 차폐막으로는 인체에서 얻은 무세포성의 동결 건조 피부(Surederm®, Hans, 한국)를 사용하였다. 성장인자로는 범랑기질유도체(Erndogain®, Biora, Sweden)를 실험재료로 하였다.

2. 실험동물

이번 실험에서는 생후 6주된 평균체중 2Kg 내외의

웅성백묘(Newzealand white rabbit) 8마리를 사용하였다. 실험기간동안 고행사료(축협사료, 축산업협동조합, 한국)를 공급하였으며, 동물 개체별로 분리된 실내 사육실에서 사육하였다.

3. 실험방법

1) 시술과정

졸레틸 (Virbac, France, 0.2ml/Kg) 0.5ml를 근육하에 전신마취하고, 수술부위는 리도케인 2%(1:1,000,000 에피네프린) 0.5ml로 국소마취하였다. 두개면 수술부위의 모발을 제거한 후 #15 수술도를 이용하여 시상방향으로 절개, 전충판막을 거상하였다. 주수하에 직경 6.5mm trephine bur로 두개관에 약 2mm깊이로 원형결손부 2개씩 형성하였다. Trephine bur로 형성한 원형결손부 안에 round carbide bur (HP long #6)로 주수하에 직경 2mm정도로 여러개의 골수내천공을 시행하였다. 2개의 원형결손부 중 하나는 대조군으로 탈회동결 건조골과 탈탄백 우골을 1:1로 혼합하여 골수내천공부위에 이식한 후, 흡수성 차폐막으로 덮고 골막과 표피를 흡수성 봉합사로 각각 봉합하였다. 다른 하나의 원형결손부는 실험군으로 골이식재를 이식하기 전에 골수내천공부위에 범랑기질유도체를 적용한 후, 대조군과 동일하게 시술하였다.

2) 슬후 처치

세균감염을 방지하기 위하여 수술당일과 슬 후 1, 2일에 Gentamycin (동화약품, 한국) 1 ml를 근육하였다.

3) 조직준비 및 분석

실험동물들은 슬 후 1, 2, 3, 8주에 각각 과량의 졸레틸을 근육하여 희생시킨 후 수술부위와 일부의 두개관을 포함하여 조직절편을 획득하였다. 10% 중성 포르말린용액에 1주간 고정된 후, 10% 염산(Calciclear Rapid™, Atlanta Georgia, United Kingdom)으로 2주간 탈회하였다. 통법에 따라 파라핀에 포매하여 종단면으로 8µm 두께의 조직절편을 만들어

Hematoxylin-Eosin 중염색 시행 후, 광학현미경으로 검경하였다.

III. 실험성적

이번 연구에서 골유도 및 골재생 양상을 골수내천공 내면과 상방의 골이식재 이식부위 2부분으로 나누어 관찰, 분석하였다.

1. 대조군 1주 조직소견

골수내천공 내면 하방에서는 소수의 골모세포가 관찰되었고(Figure 1-1, Figure 1-1a), 골이식재 주위에는 소성결합조직이 관찰되었다(Figure 1-2, Figure 1-2a). 신생혈관은 관찰되지 않았다.

2. 대조군 2주 조직소견

골수내천공 내면을 따라 골모세포층이 관찰되었고, 골모세포층 상방으로 신생혈관이 관찰되었다(Figure 2-1, Figure 2-1a). 일부 골이식재 주위에서 주위의 결합조직보다 진하게 염색된 골양조직이 관찰되었고, 그 내부에는 유사골모세포가 있었다(Figure 2-2). 골이식재 주위의 결합조직내에서 소수의 신생혈관이 관찰되었다(Figure 2-2a).

3. 대조군 3주 조직소견

골수내천공 내면에는 신생 교직골이 관찰되었고(Figure 3-1), 400배 검경하에서 신생 교직골내부에는 골세포가, 상부에는 골모세포가 확인되었다(Figure 3-1a). 골이식재는 결합조직으로 둘러싸여 있고, 대부분의 골이식재 주변에서 골양조직이 관찰되었다(Figure 3-1b). 신생혈관은 증가되었다.

4. 대조군 8주 조직소견

골수내천공부위는 신생골의 형성에 따라 경계가 모호하였으며, 골이식재는 치밀결합조직으로 둘러

싸여 있고, 폴리식재 주위에 일부 신생골 형성이 관찰되었다(Figure 4-1, Figure 4-1a).

5. 실험군 1주 조직소견

골수내천공 내면에 골양조직이 관찰되었고, 골양조직 상방에는 층판모양의 골모세포층이 있었다(Figure 5-1, Figure 5-1a). 폴리식재 주위에는 소성결합조직이 보였으며 드물게 신생혈관이 관찰되었다(Figure 5-2, Figure 5-2a).

6. 실험군 2주 조직소견

골수내천공 내면에는 교직골, 골양조직, 골모세포가 순서대로 층을 이루며 관찰되었고(Figure 6-1, Figure 6-1a), 일부 폴리식재 주변에는 골양조직과 유사골모세포들이 보였고, 신생혈관은 증가되었다(Figure 6-2).

7. 실험군 3주 조직소견

신생골, 교직골, 골양조직이 혼재되어 골수내천공 내면의 많은 부분을 채우고 있었다(Figure 7-1, Figure 7-1a). 대부분의 폴리식재 주변에는 골양조직과 골모세포가 관찰되었다(Figure 7-2, Figure 7-2a).

8. 실험군 8주 조직소견

골수내천공 부위는 신생골 형성에 형성에 따라 경계가 모호하였으며 폴리식재는 골양조직, 교직골, 신생골과 연결 혼합된 양상으로 관찰되었다(Figure 8-1, Figure 8-1a).

IV. 총괄 및 고찰

세포실험모델을 이용하여 골모세포에 법랑기질유도체를 가한 경우에 세포수와 골모세포의 인산분해효소 활성도가 증가하였음이 증명되었다⁵⁴⁾. 이번 실험에서는 생체실험모델을 이용하여 골유도재생술시

법랑기질유도체가 골모세포와 골재생과정에 미치는 효과에 대하여 살펴보았다. 법랑기질유도체를 첨가한 실험군에서 긍정적인 효과를 보였으며, 대조군에 비하여 골형성 및 재생속도가 빨랐고, 골형성량도 많은 경향을 나타내었다. 이번 실험에서 골유도재생술을 시행한 부위는 응성백묘 두개관으로 하였는데, 두개관은 형태학적으로나 발생학적으로 막성골이라는 점에서 안면의 막성골들과 유사성을 갖는다. 또한 해부학적으로 두개관은 중간에 해면골이 개재되어 있는 두 개의 피질골판으로 이루어져 있다는 점에서 하악골과 유사하며, 생리학적으로 두개관내의 피질골은 퇴축된 하악골과 닮았다. 이러한 이유에서 두개관을 이번 실험에서 골유도재생술을 위한 수술 부위로 사용하였다.

골유도재생술은 다양한 원인으로 인해 소실된 치조골을 이상적인 형태로 재건하기 위한 술식이며, 효과적인 골재생을 위하여 여러 술식이 함께 응용되어 사용되고 있다. Nyman(1982)⁸⁾, Gottlow등(1986)⁹⁾에 의해 보고된 조직유도재생술은 치주낭 내벽의 신부착을 얻는 것이 주목적이었다. 그러나 동물실험²⁶⁾과 인체실험²⁷⁾을 통하여 골의 재생도 가능성이 밝혀짐에 따라 골재생을 목적으로 한 골유도재생이론이 대두되었다. 골결손부의 골조직 재생에 관한 초기 연구는 Dahlin등(1989)⁷⁾에 의해 이루어졌다. 그들은 외과적 골결손부를 만든 동물실험에서 차폐막의 사용여부에 따라서 치유의 차이점이 있음을 발견하였다. 차폐막을 사용하지 않은 골결손부는 상부 치은결합조직의 빠른 유입으로 인하여 골세포의 이동이 차단됨에 따라서 단순한 결합조직으로 채워지는 반면, 차폐막을 사용한 골결손부는 상부 치은결합조직의 초기 유입이 차단됨으로써 하부에서 재생된 골조직을 얻을 수 있다고 하였다. 또한 차폐막은 골결손부내의 혈병을 보호하고 상부 연조직으로부터의 외력을 차단함으로써 창상을 고정하여 골조직의 재생을 촉진한다고 보고하였다. 골유도재생술시 차폐막의 공간을 유지하는 능력은 차폐막의 중요한 요건 중의 하나인데, 흡수성 차폐막의 경우 젖은 상태에서 견고성이 소실되는 경우가 많아 차폐막에 의해 형성된 공간을 유지하지 못하게 되고, 이는 임상적 결과

에 좋지 않은 영향을 줄 수 있다⁵⁷⁾. 이를 방지하기 위하여 골유도재생술시 차폐막에 의해 형성된 공간에 골이식재를 이식하여 공간을 채워줌으로써 공간확보를 유지할 수 있다.

이번 실험에서는 용성백묘 두개관에 골수내천공을 시행한 후 골이식재와 차폐막을 사용하여 골유도재생술을 시행하였다. 골수내천공은 골수내 각종 성장인자와 세포를 노출시키고 원활한 혈액공급을 목적^{16,19)}으로 시행하였고, 골이식재는 골재생량을 증가시키고, 차폐막의 합물을 방지하기 위하여²⁰⁾ 사용하였다. 이번 실험에 사용된 골이식재는 동종골인 탈회 동결 건조골과 이종골인 탈단백 우골을 1:1로 혼합하여 사용하였다. 두가지 골이식재 모두 성공적인 연구결과와 더불어 부정적인 연구결과들도 보고되고^{28-30,37-40)}있어 골형성능에 대한 논란이 있지만 이번 실험에서는 탈단백 우골과 탈회 동결 건조골을 함께 사용할 때 골형성의 상승효과가 있음을 시사한 Schwartz등(2000)⁴¹⁾의 연구결과를 토대로 하여 사용하였다. 차폐막은 골유도재생술시 필요한 최소 기간인 8주동안 차폐막의 기능을 유지하였다고 보고¹³⁾된 무세포성 동결 건조 피부를 사용하였다.

골유도재생술시 성장인자의 적용이 골형성 및 재생에 미치는 효과에 대한 연구 중에서 골형태형성단백질, 혈소판 유래 성장인자등에 대한 연구는 많이 보고되고⁴²⁻⁴⁶⁾ 있지만 법랑기질단백질에 대한 연구보고는 드물다. 이번 실험에서는 골수내천공과 골이식재를 함께 이용한 골유도재생술시에 법랑기질유도체 적용유무에 따른 골재생정도를 비교평가 하였다. 현재 임상에서 사용되고 있는 법랑기질유도체는 배아기 상태의 돼지 치배에서 추출하며⁵³⁾, 돼지의 법랑기질단백질과 사람의 법랑기질단백질은 서로 유사하다고 알려져 있다^{47,48)}. 여러 임상실험 및 면역반응 실험에서 그 안전성이 입증되어 있는데, Zetterström등(1997)⁵⁰⁾은 법랑기질유도체 사용전과 사용후 4주에 법랑기질유도체에 대한 면역반응 결과 IgG, IgE, IgA, IgM의 변화가 없었고, 법랑기질유도체를 여러 번 사용한 환자에게서도 항체의 증가가 발견되지 않았다고 보고하였다. 법랑기질유도체는 90%의 Amelogenins과 Tuftelin, Tuft protein, Ameloblastin,

Amelin등의 proline-rich non-amelogenins 10%로 구성되어 있고⁵⁶⁾, 그 효과로는 치주인대 세포의 분화 및 증식, 교원질 생성, 골모세포의분화 및 증식, 석회화 과정 촉진 등이 알려져 있다^{54,57)}. Heijl (1997)⁵⁸⁾는 조직유도재생술시 법랑기질유도체에 대한 효과를 평가하였는데 무세포성 외인성 섬유 백악질이 형성되어 상아질 표면에 강하게 부착하였고, 결손부위의 73%가 신생 백악질로 대체되었으며, 치조골도 재생되었음을 보고하였다. 골의 재생에 있어 석회화 과정은 필수 불가결한 과정이다. 석회화 과정이란 신체의 특정부위나 기질 위에 칼슘인산염이 침착되는 것을 말하는데 법랑기질유도체의 90%를 차지하는 Amelogenin는 치아의 발생과정에서 수산화인회석 결정(Hydroxyapatite crystal)형성에 바탕이 되는 기질이다. 골을 이루고 있는 칼슘과 인 역시 수산화인회석 결정을 이루고 있기 때문에 법랑기질유도체가 골모세포의 분화 및 증식을 촉진시킬 뿐 아니라 골의 석회화 과정에서 중요한 기질로서의 역할이 가능하리라 생각된다.

이번 실험결과를 살펴보면 1, 2, 3주 조직소견에서는 골이식재 주위에서 관찰되는 골유도 양상은 실험군과 대조군 사이에서 큰 차이를 보이지 않았고, 골수내천공 내면에서는 법랑기질유도체를 적용한 실험군이 대조군보다 골모세포가 더 빨리 출현하여 골모세포층을 이루었고 골재생 속도 또한 빨랐다. 1, 2, 3주 조직소견에서 골이식재 주위에서 관찰되는 골유도 양상이 차이를 보이지 않은 이유는 골이식재 주위에서 골재생 정도를 관찰하기에는 실험기간이 너무 짧았기 때문이라고 사료된다. Sallum등(2002)⁵⁷⁾은 임플란트 주위에 열개모양의 결손부를 형성하고 법랑기질유도체를 함께 사용하여 골유도재생술을 시행 후 1개월과 3개월에 조직학적으로 평가하였는데, 그 결과 역시 1개월 후 조직소견에서는 차이를 발견할 수 없었고, 3개월 후 조직소견에서만 법랑기질유도체를 첨가한 실험군에서 골재생량이 많은 경향을 보였다. 하지만 이 기간에도 법랑기질유도체가 성장인자로서 전구세포(progenitor cell)나 골모세포에 직접 영향을 줄 수 있는 골수내천공 내면에서는 실험군과 대조군 사이

에 차이를 관찰할 수 있었다. 그리고 이 기간에 골이식재 주변에서 관찰되는 신생혈관의 출현은 실험군에서 더 빨리 관찰되었다. 이는 골유도재생술시 신생혈관의 형성은 신생골 형성을 예견할 수 있는 좋은 지표가 될 수 있다는 Schmid등(1997)⁵⁹⁾의 연구결과를 볼 때 실험군에서 앞으로 골재생이 더 우세하리라 예상할 수 있었다. 8주 조직소견을 살펴보면 골수내천공부위는 그 결손크기가 임계 결손부 크기(critical size defect)보다 작았기 때문에 실험군, 대조군 모두 골수내천공의 경계가 신생골 형성으로 인해 불분명하였다. 임계 결손부 크기란 실험동물이 살아가는 동안 저절로 치유되지 못하는 가장 작은 골결손 크기를 지칭⁶⁰⁾하는 용어이다. 현재까지 진행된 연구들에 의하면 백묘 두개관이 갖는 임계 결손부 크기는 직경 15mm로 추정⁶¹⁾ 되고 있다. 이번 실험에서의 골수내천공 크기는 직경 약 2mm 정도의 골결손이므로 8주 조직소견에서는 골수내천공 부위가 모두 치유되어 그 경계가 불분명하게 관찰되었으리라 사료된다. 대조군의 골이식재는 치밀한 결합조직으로 둘러싸여 있었다. 골이식재 주위에 일부 신생골 형성이 관찰되었지만, 골이식재와 신생골의 경계는 비교적 명확하게 구별되었다. 실험군의 골이식재는 골양조직, 교직골, 신생골과 서로 연결 혼합된 양상으로 관찰되었으며, 골이식재와의 경계는 명확하게 구별할 수 없었고, 새롭게 형성된 골조직량도 대조군보다 많은 경향을 보였다. 흡수성 차폐막으로 사용한 무세포성의 동결 건조 피부는 실험기간 동안 형태를 유지하고 있었고, 일차유합이 어려운 경우에도 사용이 가능한 장점을 가지고 있기 때문에 골유도재생술시 적합한 흡수성 차폐막으로 생각되었다.

이번 연구에서 범랑기질유도체는 골유도재생술시 골재생에 효과적인 성장인자로서 소기의 성과를 보여주었다. 그러나 보다 장기적인 결과를 얻기 위하여서는 향후 대동물을 대상으로 하는 실험이 필요할 것으로 사료되며, 골형태형성단백질, 혈소판유래성장인자와 같은 다른 성장인자와의 비교 평가연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

V. 결론

이번 연구는 골수내천공과 골이식재를 함께 이용한 골유도재생술시 골재생과정에서 범랑기질유도체의 효과를 평가하기 위하여 시행하였다. 생후 6주된 평균무게 2Kg 정도의 웅성백묘 8마리의 두개관에 골수내천공 시행 후, 탈단백 우골과 탈회 동결 건조골을 1:1로 혼합하여 이식하고 흡수성 차폐막을 사용하여 골유도재생술을 시행한 것을 대조군, 골수내천공 상방에 범랑기질유도체를 적용한 후, 대조군과 동일하게 골유도재생술을 시행한 것을 실험군으로하여 1, 2, 3, 8주에 각각 희생시켜 조직학적으로 비교, 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1, 2, 3주 실험군에서 골이식재 주위의 골유도 양상은 같은 기간의 대조군과 큰 차이를 보이지 않았다.
- 신생혈관의 출현속도는 실험군에서 더 빨랐고 그 수도 대조군보다 더 많았다.
- 골수내천공부위의 골재생 속도는 실험군이 더 빨랐다.
- 8주군에서 골이식재 주위의 골형성 정도는 실험군이 더 우세하였다.

이상을 요약하면 범랑기질유도체는 골재생과정에서 골형성 촉진을 확인할 수 있었고 이를 여러 임상술식에 적용 가능하리라 기대된다.

VI. 참고문헌

1. Carlsson, G.E., Bergman, B., and Hedegard, B.: Changes in contour of the alveolar process. *Acta. Odontol. Scand.*, 25 : 45-75, 1967.
2. Simon, B.I., Hagen, S.V., Deasy, M.J., Faldu, M., and Resnansky, D.: Changes in alveolar bone height and width following ridge augmentation using bone graft and membranes. *J. Periodontol.*, 71: 1774-1791, 2000.
3. Becker, W., Becker, B., and Caffesse, R.: A com-

- parison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. *J. Periodontol.*, 65:1128-1133, 1994.
4. Yilmaz, S., Efeoglu, E., and Kilic, A.R.: alveolar ridge reconstruction and/or preservation using root form bioglass cones. *J. Clin. Periodontol.*, 25 : 832-839, 1998.
 5. Lekovic, V., Camargo, P.M., Klokkevold, P.R., and Nedic, M.: Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. *J. Periodontol.*, 69 : 1044-1049, 1998.
 6. Lansberg, C.J.: Socket seal surgery combined with immediate implant placement: novel approach for single-tooth replacement, *Int. J. Periodont. Res. Dent.*, 17 : 141-149, 1997.
 7. Dahlin, C., Linde, A., and Gottlow, J. : Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast. Reconstr. Surg.* 5 : 672-683, 1989.
 8. Nyman, S., Karring, T., and Lindhe, J. : The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J. Clin. Periodontol.*, 9 : 257-265, 1982.
 9. Gottlow, J., Nyman, S., Lindhe, F., Karring, T. & Wennstrom, J. : New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *J. Clin. Periodontol.*, 13 : 604-616, 1986.
 10. McGinnis, M., Larsen, P., Miloro, M., and Beck, F. M. : Comparison of resorbable and non-resorbable guided bone regeneration materials: A preliminary study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 13 : 30-35, 1998.
 11. Iglhaut, J., Aukhil, I., Simpson, D. M., Johnston, M. C., and Koch, G. : Progenitor cell kinetics during guided tissue regeneration in experimental periodontal wounds. *J. Periodont. Res.*, 23 : 107-117, 1988.
 12. Karring, T., Nyman, S., Lindhe, J., and Sirirat, M. : Potentials for root resorption during periodontal wound healing. *J. Clin. Periodontol.*, 11 : 41-52, 1984.
 13. Owens, K. W., and Yukna, R. A. : Collagen membrane resorption in dogs: a comparative study. *Implant Dent.*, 10(1) : 49- 58, 2001.
 14. Schmid, J., Hämmerle, C.H.F., Olah, A.J., and Lang, N.P. : Membrane permeability is unnecessary for the guided generation of new bone. An experimental study in rabbit. *Clin. Oral. Implants Res.*, 5 : 125- 130, 1994.
 15. Schmid, J., Hämmerle, C.H.F., and Flückiger, L. : Blood filled spaces with and without filler materials in guided bone regeneration. A comparative experimental study in rabbit using bioresorbable membranes. *Clin. Oral. Implants. Res.*, 8 : 75- 81, 1997.
 16. Melloning, J.T., Bowers, G.W., Bright, R. W., and Lawrence, J.J. : Clinical evaluation of freeze-dried allografts in periodontal osseous defects. *J. periodontol.*, 47 : 125- 131, 1976.
 17. Majzoub, Z., Berengo, M., Giardino, R., and Cordioli, G. : Role of intramarrow penetration in osseous repair : A pilot study in the rabbit calvaria. *J. periodontol.*, 70 : 1510-1510, 1999.
 18. Simion, M., Baldoni, M., and Zaffe, D. : Jawbone enlargement using immediate implant placement associated with a split-crest technique and guided tissue regeneration. *Int. J. Periodont. Res. Dent.* 12(6) : 462-73, 1992.
 19. 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.
 20. 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.

21. Schallhorn, R.G.: The use of autogenous hip marrow biopsy implants for bony crater defects. *J. Periodontol.*, 39 : 145-147, 1968.
22. Rogenberg, M.M.: Free osseous tissue autograft as a predictable procedure. *J. Periodontol.*, 42 : 195-209, 1971.
23. Bell, W.H. : Resorption characteristics of bone and bone substitutes. *Oral Surg.*, 17: 650-657, 1964.
24. Shetty, V., Han, T.J. : Alloplastic materials in reconstructive periodontal surgery. *Dent. Clin. North Am.*, 35(3) : 521-530, 1991.
25. Ouhayoun, J.P., Shabana, A.H.M., Issahakian, S., Patat, J.L., Guillemin, G., Sawaf, M.H., and Forest, N. : Histological evaluation of natural coral skeleton as a grafting material in miniature swine mandible. *J. Mat. Sci. -materials in medicine.* 3 : 222-228, 1992.
26. Niederman, R., Savitt, E. D., Heeley, J. D., and Duckworth, J. E. : Regeneration of furca bone using Gore-Tex periodontal material. *Int. J. Periodont. Res. Dent.* 9(6) : 468-480, 1989.
27. Pontoriero, R., Lindhe, J., Nyman, S., Karring, T., Rosenberg, E., and Sanavi, F. : Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in mandibular molars. A clinical study of degree III involvements. *J. Clin. Periodontol.* 16(3) : 170-174, 1989.
28. Shigeyama, Y., D'Errico J.A., Stone, R., and Somerman, M.J.: Commercially prepared allograft material has biological activity in vitro. *J. Periodontol.*, 66 : 478-487, 1995.
29. Reddi, A.H.: Regulation of cartilage and bone differentiation by bone morphogenetic proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 4 : 850- 855, 1992.
30. Becker, W., Becker,B.E., and Caffesse, R.: A comparison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. *J. Periodontol.*, 65 : 1128-1133, 1994.
31. 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
32. Egelberg, J.: Regeneration and repair of periodontal tissues. *J. Periodontal Res.*, 22 : 233-242, 1987.
33. Hockers, T., Abensur, D., Valentini, 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.
34. Piattelli, M., Favero, G.A., Scarano, A., Orsini, G., and Piattelli, A.: Bone reactions to anorganic bovine bone(Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 14 : 835-840, 1999.
35. Lundgren, D. and Slotte, C.: Reconstruction of anatomically complicated periodontal defects using a bioresorbable GTR barrier supported by bone mineral. A 6-month follow-up study of 6 cases. *J. Clin. Periodontol.*, 26 : 56-62, 1999
36. 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
37. 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.
38. 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.

39. Schlegel, A.K. and Donath, K: BIO-OSS: a resorbable bone substitute? *J. Long Term Eff Med. Implants*, 8 : 201-209, 1998.
40. 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.
41. 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.
42. Doll, B.A., Towle, H.J., Hollinger, J.O., Reddi, A.H., and Mellonig, J.T. : The osteogenic potential of two composite graft systems using osteogenin. *J. Periodontol.* 61 : 745-750, 1990.
43. Sigurdsson, T.J., Lee, M.B., Kubota, K., Turek, T.J., Wozney, J. M., and Wikesjö, M.E. : Periodontal repair in dogs : Recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration. *J. Periodontol.* 66 : 131-138, 1995.
44. Giannobile, W.V., Ryan, S., Shin, M., Su, D.L., Kaplan, P.L., and Chan, T.C. : Recombinant human osteogenic protein-1 stimulates periodontal wound healing in class III furcation defects. *J. periodontol.* 69 : 129-137, 1998.
45. Lynch, S.E., Buser, D., and Hernandez : Effects of the platelet-derived growth factor/ insulin-like growth factor-1 combination bone regeneration around titanium dental implants. : Result of a pilot study in beagle dogs. *J. periodontol.* 62 : 710-716, 1991.
46. Park, J. B., Matsuura, M., Han, K.Y., Norderyd, O., Lin, W., Genco, R.J., and Cho, M. : Periodontal regeneration in furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. *J. Periodontol.* 66 : 462-477, 1995.
47. Hammarström, L. : Enamel matrix, cementum developing and regeneration. *J. Clin. Periodontol.*, 24: 658-668, 1997.
48. Gestrelus, S., Andersson, C., and Johansson, A.C. : Formulation of enamel matrix derivative for surface coating: Kinetics and cell colonization. *J. Clin. Periodontol.* 24 : 678-684, 1997.
49. Hammarström, L., Heijl, L., and Gestrelus, S. : Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J. Clin. Periodontol.*, 24 : 669-677, 1997.
50. Gestrelus, S., Andersson, C., Lidström, D., Hammarström, L., and Somerman, M. : In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *J. Clin. Periodontol.*, 24 : 685-692, 1997.
51. Lungstadaas, S.P., Lundberg, E., Ekdahl, H., Andersson, C., and Gestrelus, S : Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. *J. Clin. Periodontol.*, 28 : 181-188, 2001.
52. Sculean, A., Chiamtella, G.C., Windisch, P., and Donos, N. : Clinical and histologic evaluation of human intrabony defects treated with enamel matrix protein derivative (Emdogain) *Int. J. Periodont. Res. Dent.*, 20 : 375-381. 2000.
53. Boyan, B.D., Weesner, T.C., Lohmann, C.H., Andreacchio, D., Carnes, D.L., Dean, D.D., Cochran, D.L., and Schwartz, Z. : Porcine fetal enamel matrix derivative enhances bone formation induced by demineralized freeze dried bone allograft in vivo. *J. Periodontol.* 71 : 1278-1286, 2000.
54. Schwartz, Z., Carnes, D.L., Pulliam, R., Lohmann, C.H., Sylvia, V.L., Liu, Y., Dean, D.D., Cochran, D.L., and Boyan, B.D. : Porcine fetal enamel

- matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre-osteoblastic 2T9 cells, inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast-like MG63 cells, and increases proliferation and differentiation of normal human osteoblast NHOst cells. *J. Periodontol.* 71 : 1287-1296, 2000.
55. Zitzmann, N. U., Naef, R., and Schärer, P. : Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 12 : 844-852, 1997.
56. Zetterström, O., Andersson, C., Eriksson, L., Fredriksson, A., Friskopp, J., Heden, G., Jasson, B., Lundgren, T., Nilveus, R., Olsson, A., Penvert, S., Salonen, L., Sjöström, L., Winell, A., Östgren, A., and Gestrelus, S. : Clinical safety of enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) in the treatment of periodontal defects. *J. Clin. Periodontol.* 24: 697-704, 1997.
57. Casati, M. Z., Sallum, E.A., Caffesse, R.G., and Sallum, A.W. : Enamel matrix derivative and bone healing after guided bone regeneration in dehiscence type defects around implants. A histomorphometric study in dogs. *J. Periodontol.* 73 : 789-796, 2002.
58. Heijl, L. : Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. *J. Clin. Periodontol.* 24 : 693-694, 1997.
59. Schmid, J., Wallkamm, B., Hämmerle, C.H.F., Gogolewski, S., and Lang, N.P. : The significance of angiogenesis in guided bone regeneration. A case report of a rabbit experiment. *Clin. Oral Implants Res.* 8 : 244-248, 1997.
60. Schmitz, J. P., Hollinger, J. O. : The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin. Orthop.* 205 : 299-308, 1986.
61. Frame, J. W. : A convenient animal model for testing bone substitute materials. *J. Oral Surg.* 38(3) : 176-180, 1980.

사진부도 설명

- Figure 1-1. Control group at 1 week (x100, H&E stain) Figure of intramarrow penetration area
- Figure 1-1a. Higher magnification of the area "a" shown in Figure 1-1(x400, H&E stain) Arrow indicated osteoblast of intramarrow penetration inside.
- Figure 1-2. Control group at 1 week (x100, H&E stain) Figure of bone graft materials.
- Figure 1-2a. Higher magnification of the area "a" shown in Figure 1-2(x400, H&E stain) Loose connective tissue around bone graft materials.
- Figure 2-1. Control group at 2 weeks (x40, H&E stain) Figure of intramarrow penetration area and bone graft materials.
- Figure 2-1a. Higher magnification of the area "a" shown in Figure 2-1(x400, H&E stain) Arrow indicated osteoblast layer of intramarrow penetration inside.
- Figure 2-1b. Higher magnification of the area "b" shown in Figure 2-1(x400, H&E stain) Osteoid tissue and osteoblast around bone graft materials.
- Figure 2-1c. Higher magnification of the area "c" shown in Figure 2-1(x400, H&E stain) Proliferation of new blood capillary around bone graft materials.
- Figure 3-1. Control group at 3 weeks (x100, H&E stain) Figure of intramarrow penetration area and bone graft materials.
- Figure 3-1a. Higher magnification of the area "a" shown in Figure 3-1(x400, H&E stain) New bone, osteoid tissue and osteoblast of intramarrow penetration inside.
- Figure 3-1b. Higher magnification of the area "b" shown in Figure 3-1(x400, H&E stain) Osteoid tissue and osteoblast around bone graft materials.
- Figure 4-1. Control group at 8 weeks (x100, H&E stain) Figure of bone graft materials, new bone and dense connective tissue.
- Figure 4-1a. Higher magnification of the area "a" shown in Figure 4-1(x400, H&E stain) Arrow indicated new bone and osteoblast like cell around bone graft materials. It was possible to distinguish bone graft materials from new bone.
- Figure 5-1. Test group at 1 week (x100, H&E stain) Figure of intramarrow penetration area.
- Figure 5-1a. Higher magnification of the area "a" shown in Figure 5-1(x400, H&E stain) Arrow indicated osteoblast layer and osteoid tissue of intramarrow penetration inside.
- Figure 5-2. Test group at 1 week (x100, H&E stain) Figure of bone graft materials.
- Figure 5-2a. Higher magnification of the area "a" shown in Figure 5-2(x400, H&E stain) Arrow indicated newly formed blood capillary.
- Figure 6-1. Test group at 2 weeks (x40, H&E stain) Figure of intramarrow penetration area.
- Figure 6-1a. Higher magnification of the area "a" shown in Figure 6-1(x400, H&E stain) Osteoblast layer, osteoid tissue and woven bone of intramarrow penetration inside.
- Figure 6-2. Test group at 2 weeks (x400, H&E stain) Figure of bone graft materials. Arrow indicated osteoblast like cell and osteoid tissue around bone graft materials.
- Figure 7-1. Test group at 3 weeks (x100, H&E stain) Figure of intramarrow penetration area.

- Figure 7-1a. Higher magnification of the area "a" shown in Figure 7-1($\times 400$, H&E stain) Osteoblast layer and new bone of intramarrow penetration inside.
- Figure 7-2. Test group at 3 weeks ($\times 100$, H&E stain) Figure of bone graft materials, Arrow indicated newly formed blood capillary.
- Figure 7-2a. Higher magnification of the area "a" shown in Figure 7-2($\times 400$, H&E stain) Osteoblast like cell and osteoid tissue around bone graft materials.
- Figure 8-1. Test group at 8 weeks ($\times 100$, H&E stain) Figure of bone graft materials, new bone and dense connective tissue.
- Figure 8-1a Higher magnification of the area "a" shown in Figure 8-1($\times 400$, H&E stain) It was impossible to distinguish bone graft materials from new bone, woven bone and osteoid tissue.

사진부도 (1)

사진부도 (II)

사진부도 (Ⅲ)

사진부도 (Ⅳ)

사진부도 (V)

Effect of Enamel Matrix Derivative on Guided Bone Regeneration with Intramarrow Penetration

Young-Jong Lee¹, Joon-Bong Park¹, Young-Hyuk Kwon¹, Yeek Herr¹, Kyoo-Sung Cho²

Department of Periodontology, Kyung Hee University, Seoul, Korea¹

Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea²

The purpose of this study was to investigate effect of enamel matrix derivative on guided bone regeneration with intramarrow penetration in rabbits. Eight adult male rabbits (mean BW 2Kg) were used in this study. Intramarrow penetration defects were surgically created with round carbide bur(HP long #6) on calvaria of rabbits. Defects were assigned to the control group grafted with mixture of the same quantity of demineralized freeze-dried bone allograft and deproteinized bovine bone mineral. Then, guided bone regeneration was carried out using resorbable membrane and suture. Enamel matrix derivative applied to defects was assigned to the test group. And treated as same manners as the control group. At 1, 2, 3 and 8 weeks after the surgery, animals were sacrificed, specimens were obtained and stained with Hematoxylin-Eosin for light microscopic evaluation.

The results of this study were as follows :

1. At 1, 2 and 3 weeks, no differences were observed between the control group and the test group in the aspect of bone formation around bone graft.
2. Proliferation of blood capillary was faster in the test group than in the control group.
3. Bone regeneration in intramarrow penetration was faster in the test group than in the control group.
4. At 8 weeks, new osteoid tissue formation around bone graft was more prominent in the test group than in the control group.

From the above results, enamel matrix derivative might be considered as the osteopromotion material and effective in the guided bone regeneration with intramarrow penetration.