

백서 두개골 결손부에서 Ca-P 피복된 이종골의 골재생 효과

성선주¹ · 정현주^{1,2} · 박홍주² · 김옥수^{1,2} · 김영준^{1,2}

¹전남대학교 치과대학 치주과학교실

²치의학연구소

I. 서론

탈단백 우골분말 (deproteinated bovine bone powder, DBBP)은 송아지뼈에서 얻은 이식재이며, 거의 모든 유기질이 제거된 수산화인회석 및 carbonate로 구성되고, 인체의 골조직 중 해면골과 유사한 구조를 가진다³⁾. DBBP는 최근 낭종이나 외상 등으로 인한 골결손부 및 치주낭의 처치에 널리 이용되고 있다^{4,6)}. 또한 임플란트 매식을 위한 상악동 골이식술에도 자주 이용되는데, DBBP 단독으로 쓰이거나, 장골이나 하악 정중부의 골 또는 혈소판농축 혈장(platelet rich plasma, PRP)과 혼합하여 쓰이기도 한다⁷⁻¹¹⁾.

골결손부 치료를 위한 이식재는 단순한 골전도보다는 신생골의 형성을 유도하는 것이 더 이상적이라 할 수 있다. 그러나 탈단백 우골분말은 이종이식재로서 골형성인자(bone morphogenetic protein, BMP) 등의 단백질 성분이 존재하는 경우, 숙주 면역에 의한 이식거부반응을 보일 수 있으므로 골유도를 일으킬 수 있는 단백질 성분이 모두 제거되기 때문에 골전도에 의한 치유를 보이게 된다²⁾. DBBP는 이식 후 골과 접촉하지 않는 부위에서 이식재의 일부가 골보

다 섬유성 조직에 의해 둘러 쌓이게 된다³⁾. 이러한 DBBP의 단점인 단순한 골전도성에 의한 치유의 한계를 개선하고자 하는 다양한 시도가 있어왔다^{4,5,14-16)}. 그 예로 DBBP와 PRP를 이용하는 것으로서 혈소판에 존재하는 platelet derived growth factor (PDGF)나 transforming growth factor(TGF)를 이용하여 골형성능을 증가시키고 골재생 기간은 단축시키고자 하는 것이다^{4,5,17-19)}. 또한 DBBP 단독으로 이용되기 보다는 자가골과 함께 이용하는 경우가 많은데, 이는 자가골 내에 포함되어 있는 골형성단백과 살아있는 골형성 관련된 세포들을 이용해서 DBBP의 골전도성을 보완하고자 하는 목적으로 이용되어 왔다⁹⁻¹¹⁾.

DBBP는 대부분 hydroxyapatite (HA)로 구성되어 있으며, Benke 등³⁾은 약 7%의 carbonate를 포함하고 있다고 보고하였다.⁶⁾ Piattelli 등¹¹⁾은 20명의 상악동 재건술 환자에게 시행한 조직검사에서 DBBP는 4년 후에도 서서히 흡수된다고 하였다. Wheeler 등¹⁰⁾은 DBBP를 상악동에 이식하고 6년 후 조직검사를 시행한 연구에서 40%정도의 DBBP가 이식부에서 잔존한다고 보고하였다. 또한 Yildirim 등⁹⁾과 Piattelli 등¹¹⁾ 다른 연구들에서도 장기간의 추적조사결과 DBBP가

생체내에서 불활성으로 잔존하며, 신생골과 잘 연결되어 있음을 보여주었다.

한편 tricalcium phosphate(TCP)는 HA에 비해 상대적으로 생체내에서 흡수율이 높고, 생체내에 용해되면서 HA 주변의 Ca와 P 농도를 높이고 결국 골형성 세포에 의해 신생골을 형성하는 과정에서 carbonate로 변환되어 carbonate HA를 형성하여 신생골의 형성에 기여하는 것으로 보고되고 있다⁶⁾. 따라서 골형성능을 높이기 위해 DBBP의 주성분인 HA에 생체 흡수율이 높은 TCP를 적용시키면, 이식 후 TCP의 흡수와 함께 골모세포에 의한 세포의 기질의 형성과 무기질 침착을 수반하는 신생골의 형성에 효과적일 것이라고 기대할 수 있다. Daculsi¹⁶⁾는 biphasic calcium phosphate concept을 제안하였으며 합성골의 조건으로 뼈대가 되는 HA와 함께 이식 직후 골을 형성하기 위해서는 흡수율이 높은 TCP성분이 있어야 한다고 하였다⁶⁾. 이러한 목적으로 최근에 DBBP에 Ca-P를 피복시킨 상품이 출시되고 있는데, 이러한 제품을 생산하게 된 배경으로는 피복된 Ca-P가 음전하를 띄어 체액 내에 존재하는 성장인자들을 끌어들이어 간엽세포를 조골세포로 분화시킴으로써 신생골을 형성하도록 유도하고, 파골세포를 끌어들이어 이식골의 흡수를 일으키는 것 등을 들고 있다.

따라서 기존의 DBBP와 Ca-P를 혼합한 DBBP를 이식했을 때의 골형성능이나 생체내 반응에 대해 비교해 볼 필요가 있다. DBBP의 골형성능을 증진시키기 위해 여러 가지 성장인자나 PRP같은 외부 첨가물을 이용한 연구와 임상적응등이 많이 이루어 졌으나 상대적으로 TCP와 관련된 DBBP의 골재생에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다.

이 연구는 DBBP에 Ca-P를 박막코팅한 것을 백서 두개골 결손부에 이식하여, Ca-P가 DBBP의 골재생 효과에 미치는 영향을 구명하고자 시행되었다.

II. 연구재료 및 방법

체중 250g 내외의 웅성 백서 14마리를 실험동물로 사용하였다. 염산케타민(케타민®, 유한양행, 90mg/kg)과 Xylazine hydrochloride(렘폰®, 바이엘

코리아, 10mg/kg)를 근육주사하여 전신마취를 시행하였다. 백서 두개골부위의 제모 후 포타딘용액으로 소독 하고 정중부를 따라 약 2 cm가량 절개를 하였다. 골막하박리를 통해 양측 측두골을 노출시키고 생리식염수의 관주하 #2 round bur를 이용하여 뇌경막이 손상되지 않도록 직경 8mm의 원형 골결손부를 형성하였다. 좌측과 우측 골결손부에 DBBP (BBP®, (주)오스코텍)를 이식한 것을 대조군, calcium phosphate nano crystal을 박막 피복한 DBBP (CaP-DBBP, BioCera®, (주)오스코텍)를 이식한 것을 실험군으로 하였다. 두 마리의 백서는 형성시킨 골결손부가 임계결손부임을 확인하기 위해 아무것도 이식하지 않고 치유시켰다. 대조군과 실험군 각각 6마리씩의 백서를 실험에 이용하였다. 이식 후 골막은 5-0 흡수성 봉합사를, 피부는 4-0 비흡수성 봉합사를 이용하여 층별봉합하였다.

대조군과 실험군은 1주, 4주 및 8주에 각각 2마리씩, 임계결손부 확인을 위한 백서는 8주에 2마리를 염산케타민(케타민®, 유한양행)을 과량 주사하여 희생시켰다. 대조군과 실험군의 8주군에는 실험 1주 후 tetracycline HCl(10mg/kg, Terramicine®, Pfizer, USA)을, 4주에 calcein blue(10mg/kg, Calcein, Sigma, USA)를, 7주에 alizarin red(10mg/kg, Alizarin Red S, Showa chemicals Inc, Japan)를 복강내 주사하였다.

1주째와 4주째 희생시킨 실험군과 8주째 대조군 1마리는 10% 중성 포르말린에 48시간동안 고정 후, 10% 포르말린과 10% formic acid를 1:1로 섞은 용액에 3주간 탈회시키고 파라핀 포매 후 5 μ m로 박절하여 H & E 염색 및 Masson's trichrome 염색을 하고 광학현미경으로 조직학적인 소견을 관찰하였다.

8주째 희생동물은 10% 중성 포르말린에 고정하고 일련의 알콜을 이용하여 탈수과정을 거쳐 methylmethacrylate에 포매한 후 diamond saw를 이용하여 300 μ m의 두께까지 절편을 만든 후, 연마하여 최종 10 μ m의 비탈회 박절편을 제작하였다. 이 시편들은 형광현미경을 이용하여 각 시기별 골생성 정도를 평가하였으며, H & E 염색 후 광학현미경으로 관찰하였다.

III. 결과

1. 임계결손부

실험 8주에 변연부에서는 골재생 소견이 미량 관찰되었으며, 결손부에서는 특이할만한 염증소견은 없었고 섬유성 결합조직으로 채워져 있었다(Figure 1).

2. 대조군

1) 1주

이식된 DBBP는 골결손부에 잘 유지되었으며(Figure 2A), 대부분의 이식재 사이사이에는 특이할만한 염증소견은 없었다. 풍부한 신생혈관의 증식을 보이는 결합조직으로 채워져 있었으며 일부 이식재들 주위에는 골모세포와 교원질로 구성된 신생 골기질이 관찰되었다(Figure 2B, C). 변연부의 골조직에서도 교원질로 구성된 신생 골기질의 형성이 관찰되었다(Figure 2D).

2) 4주

이식재는 별다른 염증반응 없이 결손부내에 잘 유지되었다(Figure 3A). 결손부의 많은 부분에서는 혈관이 풍부한 결합조직 소견을 보이고 교원질이 풍부한 소량의 골양조직도 관찰되었다(Figure 3B, C). 변연부의 골조직에서는 역전선(reversal line)과 소량의 신생골이 관찰되고 이를 둘러싸는 골모세포도 관찰할 수 있었다(Figure 3D, E).

3) 8주

이식재 주변으로 많은 신생골 형성을 관찰할 수 있었고(Figure 4A), 형광현미경 소견에서 이식재의 주변에서 불규칙하지만 녹색과 황색의 신생골의 형성이 관찰되었다(Figure 4B).

3. 실험군

1) 1주

이식재는 결손부 내에 잘 유지되어 있었으며

(Figure 5A), 대부분의 이식재 주변으로 신생 혈관의 증식이 관찰되었고 부분적으로 이식재와 인접하여 새롭게 형성된 골양조직을 관찰할 수 있었다(Figure 5B~ E). 결손부의 변연 골조직에서는 골조직을 이장하는 골모세포와 역전선이 관찰되었다(Figure 5F).

2) 4주

이식재는 골 결손부내에 잘 유지되어 있었다(Figure 6A). 이식재 사이는 결합조직으로 채워져 있었으나 부분적으로 이식재를 이장하는 골모세포와 신생골을 관찰할 수 있었다(Figure 6B, C). 변연부 골조직에서는 골수까지 형성된 신생골이 관찰되었다(Figure 6D, E). 인접 이식재는 주변이 신생골로 둘러싸여 있었고, 형성된 신생골에서는 내부 골세포와 주변 골모세포와 파골세포도 관찰되었다(Figure 6F).

3) 8주

이식재 주위에 침착되어 인접부위와 연결된 신생골이 관찰되었다(Figure 7A). 형광현미경 소견에서 이식재를 둘러싸는 일정한 두께의 신생골을 관찰할 수 있었다(Figure 7B).

IV. 고찰

골결손부에 대한 이식재로서 가장 좋은 것은 자가골이다. 그러나 자가골은 이식재를 채취하기 위한 부가적인 수술이 필요하고, 환자에게 신체적 및 정신적인 부담을 안겨줄 뿐 아니라 채취량에도 한계가 있다²⁾. 이러한 이유로 자가골을 대체하기 위한 동종골, 이종골 및 합성골 등의 많은 이식재가 개발되어 왔다^{6,20,22)}. 이종골 이식재의 하나인 DBBP는 우골로부터 얻어지며, 거의 모든 유기질이 제거되고, 무기질 성분만 잔존시킨 것으로서 인체의 골조직과 유사한 구조를 가진다³⁾. DBBP는 유기질 성분이 거의 제거되므로 인체에 이식시 면역반응으로 인한 거부반응을 일으키지 않고, 정상 골과 유사한 골소주가 보존된 다공성 이식재로서 혈관이나 골세포의 침투를 증진시키는 것으로 알려져 있다^{3,23)}.

DBBP는 최근 상악동 골이식술이나 발치와 및 낭

중, 치주낭 등으로 인한 골결손부에 널리 이용되고 있다^{1,4,6,13}). 그러나 단백질 성분이 모두 제거된 DBBP는 골전도에 의한 치유를 보인다²⁴). 따라서 DBBP의 단독 사용시 골과 가까운 부위는 새로운 신생골이 기존의 골로부터 형성되며 DBBP에 의해 유지된 공간으로 신생골이 형성되지만 연조직과 가까이 위치한 DBBP 주변은 신생골 대신 섬유성 결합조직으로 치유되는 경향을 보인다고 하였다¹). DBBP를 상악동 거상술에 이용하는 경우 장골에서 채취한 자가입자골수망상골(autogenous particulate marrow cancellous bone)이나 하악 정중부에서 채취한 골과 함께 이식하거나, PRP와 함께 쓰이는 경우가 많다⁷⁻¹⁰). 이는 DBBP의 골전도 효과와 자가골에 포함된 골형성단백이나 풍부한 골모세포를 이용하여 골유도 및 골재생을 도모하여 직접적인 골형성을 유도하기 위함이다³). 본 연구에서도 이식된 DBBP는 결합조직에 의해 둘러싸여 있었으며, 기존의 골에서 중앙부로 골양물질의 형성이 관찰되어 DBBP가 골전도에 의한 골치유를 유도함을 알 수 있었다.

이러한 DBBP의 골전도에 의한 골재생 효과를 개선시키고자 하는 많은 연구가 진행되었다. 대부분 DBBP에 TGF- β 등 성장인자나 골형성인자와 함께 이식하는 방법이 주로 보고되고 있다^{4,5,14,15,17,18}). 혈소판 농축혈장과 함께 이식하는 경우는 성장인자를 이용하는 또 다른 방법으로서 경제적이며 혈소판에 포함된 TGF- β 나 PDGF에 의해 치유를 촉진시키는 경제적인 방법이다^{17,18}). TGF- β 는 골이나 혈소판에서 기원하며 상피세포 증식을 억제하고, 간엽세포의 증식을 자극하며, 세포의 기질의 생성을 유도하는 것으로 알려져 있으며, PDGF는 혈소판, 단핵세포, 대식세포, 섬유아세포, 내피세포, 및 골기질로부터 유리되며 창상치유과정에서 주된 역할을 하는 세포들을 자극시키는 것으로 알려져 있다¹⁷). 이러한 성장인자의 이용은 치료비용을 높이고 단백질 성분에 의한 면역 반응을 일으킬 수 있으며, 혈소판 농축혈장의 이용은 추가적인 채혈이 필요하다는 단점이 있다. 또한 PDGF나 TGF- β 는 골세포나 골기질 등에서 분비되는 성장인자로서 손상된 골부위에서 나타나는 물질이다. 따라서 골이식제로서 DBBP 단독으로 사용하기

위해서는 DBBP의 골전도효과를 개선시키기 위해 HA와 TCP의 조성을 변화시키는 방법을 생각해 볼 수 있다.

Daculsi¹⁶)는 합성골 등에 적용할 수 있는 biphasic calcium phosphate concept에서 HA는 불용성으로서 안정적이며 골형성을 위한 뼈대 역할을 하게 되고, Ca-P는 가용성으로 직접 흡수되어 골형성에 직접적인 작용을 할 수 있으므로, 이 두 성분이 함께 공존하는 것이 좋다고 하였다. DBBP는 단백질 성분이 모두 제거된 무기질로서, 약 7% 정도의 calcium carbonate를 함유하는 HA로 대부분 구성되어 있다고 보고되었다³).

사람에서 Bio-Oss[®]를 이용한 상악동 골이식술 후 장, 단기간의 추적조사 후 직접 조직검사를 시행한 연구들이 보고되었다⁷⁻¹¹). 상악동 골이식 후 6~8개월 지난 후 조직검사서 Yildirim 등⁸)은 14.7%의 신생골과 29.7%의 이종이식재로 구성되어 있다고 하였다. Valentini 등⁷)은 Bio-Oss[®] 이식을 시행한 군과 시행하지 않은 군에서 형성된 신생골의 밀도는 각각 28%와 27%였으며, 이식한 군에서 Bio-Oss[®]의 밀도는 28%, 골수가 차지하는 비율 44%로서 이식하지 않은 군의 골수밀도인 73%보다 낮아서, 이식을 시행한 경우 전체적인 골밀도가 증가됨을 보고하였다.

Wheeler 등¹⁰)은 상악동에서 Bio-Oss[®] 이식 후 6년째 추적조사에서 6~45%의 잔존 HA를 보여주었으며, 10년까지 시간경과에 따른 추적조사에서 Sartori 등²⁵)은 Bio-Oss[®]가 점차적으로 흡수되기는 하지만 10년째에도 신생골에 둘러싸여 서서히 흡수가 진행된다고 보고하였다. Carmagnola 등¹³)은 Bio-Oss[®]를 사람의 발치와에 이식한 연구에서 차폐막을 쓴 경우 많은 신생골이 형성되었으며, 차폐막을 이용하지 않은 군에서는 약 40% 정도의 신생골 형성과 함께 결합조직의 미입이 있었으며, 이식하지 않은 군에서는 광화된 골과 골수가 관찰된다고 하였다. Artzi 등⁶)은 porous bovine bone mineral을 사람의 발치와에 이식한 연구에서 이식재는 골전도에 의해 치유되며, 9개월까지도 별다른 흡수없이 유지된다고 하였다. 결국 DBBP에는 이식 후 골로 치환될 수 있는 Ca-P성분이 거의 없다고 알려져 있으며 이로 인하여 이식 초기에 이식재 자체에 대한 골형성보다는 수여부 변

연에서부터 신생골 형성이 이루어지게 된다. Camagnola 등¹³⁾은 DBBP를 발치와에 이식시 변연골 쪽에 인접하여 이식된 DBBP는 신생골에 의해 둘러싸이지만 골에서 먼 중심부는 일부 이식재가 결합조직에 의해 둘러 쌓인다고 하였다. 본 연구에서도 대조군에서 1주째 이식재는 결합조직에 의한 이장을 보였으며, 4주에는 수여부의 변연에서부터 미성숙골의 형성을 관찰할 수 있었다. 또한 Sartori 등²⁵⁾이 제시한 바와 같이 파골세포에 의한 이식재의 흡수는 관찰되지 않았으며 이는 HA의 느린 흡수 및 생체내 안정성에 기인한 것으로 사료된다.

Hong 등²⁶⁾은 poorly crystalline calcium phosphate apatite crystal (PCA)로 피복된 배양접시에서 골모세포가 적절한 분화와 함께 alkaline phosphatase, osteocalcin, osteopontin 및 osteonectin 등의 활성도를 보인다고 하였으며, 골세포의 활성을 유도할 수 없는 이식재의 피복용으로 이용할 수 있을 것이라고 제안하였다. Brugge 등²⁷⁾도 무정형의 Ca-P 피복된 것이 백서 골수세포의 분화를 촉진한다고 하였다. 임 등¹⁷⁾은 성견의 치근이개부 병소에 DBBP와 Ca-P가 피복된 DBBP를 이식한 비교연구에서 Ca-P가 피복된 DBBP가 그렇지 않은 군에 비해 더 이른 시기에 신생골이 형성된다고 하였다. 조 등¹⁹⁾은 성견의 치근이개부 병소에서 Ca-P 피복된 DBBP가 DBBP보다 더 많은 신생골을 형성한다고 하였다.

이번 연구에서는 Ca-P를 DBBP에 피복된 것을 이식한 실험군에서 이식 1주 후 이식재 주변의 많은 신생혈관의 증식과 골양물질이 부분적으로 침착됨이 관찰되었다. 4주에는 이식재로부터 골양물질의 침착과 함께 그 주변으로 부분적인 세포의 이장을 관찰할 수 있었다. 골결손부의 변연골에서도 골수관을 가지는 신생골의 형성이 관찰되었다. 이는 생체내 흡수율이 높은 Ca-P에 골관련 세포가 부착된 후 골양물질을 분비한 결과라고 사료된다. 또한 실험군에서 4주째 이식재 주변에서 파골세포도 관찰할 수 있었다. Daculsi¹⁶⁾는 HA와 Ca-P가 함께 공존하는 경우 Ca-P가 생체내로 흡수되면서 그 부위의 Ca과 P의 농도를 높게 되고, carbonate hydroxyapatite로 변환되어, 골형성을 위한 조건을 형성한다고 하였다. 본

연구에서도 실험군은 이식재의 일부에서 파골세포가 보이는 등 Daculsi¹⁶⁾의 결과와 유사한 소견을 보였으며, 이는 DBBP에 피복된 Ca-P의 효과로 보인다. 본 연구에서는 DBBP에 Ca-P를 박막 피복된 것을 이용하였는데, 향후 Ca-P의 함량에 따른 DBBP의 골재생 효과에 대한 연구가 더 필요하다.

V. 결론

본 연구는 Ca-P가 DBBP의 골재생 효과에 미치는 영향을 구명하고자 Ca-P를 코팅하지 않은 DBBP(대조군)과 Ca-P를 박막 코팅한 DBBP(실험군)을 백서 두개골에 8mm 원형 결손부를 형성하여 이식하였다. 1주, 4주 그리고 8주후 실험동물을 희생하고 조직학적으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

1. 임계 골결손부는 섬유성 결합조직으로 치유되었다.
2. 대조군은 1주에 부분적으로 이식재 주변에서 골모세포가 나타나고, 4주에 소량의 골양조직이 관찰되었으며, 8주에 이식재 주변에 신생골 형성이 관찰되었다.
3. 실험군은 1주에 이식재 주변으로 소량의 골양조직이 관찰되었고, 4주에는 이식재를 이장한 골모세포와 신생골 침착이 관찰되었다. 8주에는 이식재의 주변부에서 일정한 두께를 갖는 많은 양의 신생골 형성이 관찰되었다.

이상의 결과는, Ca-P가 피복된 DBBP가 피복되지 않은 DBBP에 비해 더 빠르고 많은 양의 신생골을 형성하며, 이는 Ca-P가 골 결손부에서 신생골 형성에 기여함을 시사하였다.

VI. 참고 문헌

1. Scoop IW, Morgan FH, Dooner JJ, Fredrics HJ, Heyman RA : Bovine bone(Boplant) implants for infrabony lesion(Clinical trials in humans). Periodontics 1966;4:169-178.

2. Thaller SR, Hoyt J, Borjeson K, Dart A, Tesluk H : Reconstruction of calvarial defects with anorganic bovine bone mineral (Bio-Oss®) in a rabbit model. *J Craniofac Surg* 1993;4:79-84.
3. Benke D, Olah A, Mohler H : Protein-chemical analysis of Bio-Oss® bone substitute and evidence on its carbonate content. *Biomaterials*. 2001;22:1005-12.
4. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB : Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of defects in humans. *J Periodontal Res* 2002;37:300-306.
5. Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Kenney EB : Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a recent study. *J Periodontol* 2002;73:198-205.
6. Artzi Z, Tal H, Dayan D : Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets: 2. Histological observation at 9 months. *J Periodontol* 2001;72:152-159.
7. Valentini P, Abensur D, Densari D, Graziani JN, Hammerle CHF : Histological evaluation of Bio-Oss® in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. *Clin Oral Impl Res* 1998;9:59-64.
8. Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S, Edelhoff D : Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss® in combination with venous blood. *Clin Oral Impl Res* 2000;11:217-229.
9. Yildirim M, Spiekermann H, Handt S, Edelhoff D : Maxillary sinus augmentation with the xenogenic Bio-Oss® and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: A histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Impl* 2001;16:23-33.
10. Wheeler S, Holmes RE, Calhoun CJ : Six-year clinical and histologic study of sinus-lift grafts. *Int J Oral Maxillofac Impl* 1996;11:26-34.
11. Piattelli M, Favero GA, Scarano A, Orsini G, Piattelli A : Bone reaction 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 Impl* 1999;14:835-840.
12. Berglundh T, Lindhe J : Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss®: an experimental study. *Clin Oral Impl Res* 1997;8:117-124.
13. Carmagnola D, Adriaens P, Berglundh T : Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss®. *Clin Oral Impl Res* 2003;14:137-143.
14. Jiang D, Dziak R, Lynch SE, Stephan EB : Modification of an osteoconductive anorganic bovine bone mineral matrix with growth factors. *J Periodontol* 1999;70:834-9.
15. Blom EJ, Klein-Nulend J, Wolke JGC, van Wassen MAJ, Driessens FCM, Burger EH : Transforming growth factor- β 1 incorporation in a calcium phosphate bone cement: material properties and release characteristics. *Biomed Mater Res* 2002;59:265-272.
16. Daculsi G : Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute. *Biomaterials* 1998;19:1473-8.
17. 임성빈, 이광수, 박영채, 유형근, 신형식 : 성견2급 치근이개부 병변 치료시 이종골 이식 및 혈소판 농축 혈장의 골재생에 관한 연구. *대한치주과학회지* 2000;30:257-275.
18. Kim ES, Park EJ, Choung PH : Platelet concentration and its effect on bone formation in calvarial

- defects: an experimental study in rabbits. *J Prosthet Dent* 2001;86:428-33.
19. 조진상, 김종여, 정진형, 임성빈 : 성견 치근 이개 부 병소에서 이종골 이식 의 치주조직 재생에 미치는 영향에 대한 비교 연구. *대한치주과학회지* 2000;30:277-286.
 20. Heughebaert M, LeGeros RZ, Gineslre M, Guilhem A : Hydroxyapatite(HA) ceramics implanted in non-bone forming site. Physicochemical characterization. *J Biomed Mat Res* 1988;22:257-68.
 21. Daculsi G, LeGeros RZ, Heugheart M, Barbieux : Formation of carbonate apatite crystals after implantation of calcium phosphate ceramics. *Calcif Tissue Int* 1990;46:20-27.
 22. Ouhayoun JP : Bone grafts and biomaterials used as bone graft substitutes. *Proceedings of the 2nd European workshop on periodontology* 1996;313-358.
 23. Peetz M : Characterization of xenogenic bone material. In:Boyne PJ editor. *Osseous reconstruction of the maxilla and mandible* Quintessence 1997;87-93.
 24. Wetzel AC, Stich H, Caffesse RG : Bone apposition onto oral implants in the sinus area filled with different grafting materials. A histological study in beagle dogs. *Clin Oral Implant Res* 1995;6:155-163.
 25. Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro Cornaglia A, Tesei P, Cattaneo V : Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone(Bio-Oss®). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:369-372.
 26. Hong JY, Kim YJ, Lee HW, Lee WK, Ko JS, Kim HM : Osteoblastic cell response to thin film of poorly crystalline calcium phosphate apatite formed at low temperatures. *Biomaterials* 2003;24:2977-2984.
 27. Brugge PJT, Wolke JGC, Jansen JA : Effect of calcium phosphate coating composition and crystalline on the response of osteogenic cells in vitro. *Clin Oral Impl Res* 2003;14:472-480.

사진부도 설명

- Figure 1. Heading of critical size defect. The defect of calvarial bone is healed with fibrous tissue at 8 week(original magnification, x20).
- Figure 2. Control group, 1 week. **A**, DBBP are maintained in the defect without any noticeable inflammation (H & E, original magnification, x40). **B**, DBBP are enclosed with connective tissue without any lining with cells, and new bone formation could be seen adjacent to host bone (H & E, original magnification, x100). **C**, Newly formed osteoid is constituted of collagen materials (Masson's trichrome stain, original magnification, x100). **D**, There are connective tissues with the lining of osteoblasts at the marginal bone(H & E, original magnification, x400).
- Figure 3. Control group at 4 week. **A**, DBBP are maintained without inflammation in the bone defect (H & E, original magnification, x40). **B**, DBBP were surrounded with fibrous connective tissue with osteoid formation (H & E, original magnification, x100). **C**, Newly formed collagen materials surround DBBP (Masson's trichrome stain, original magnification, x100). **D, E**, Many blood vessels and new bone formation adjacent to marginal bone lining with osteoblast can be observed (H & E, original magnification, x100, x400).
- Figure 4. Control group at 8 week. **A**, DBBP can be seen in the defect of calvaria with new bone formation between the grafted materials and at the periphery of grafted materials (H & E, original magnification, x40). **B**, Fluorescent microscopic image with labelling of tetracyclin, calcein blue and alizarin red (blue filter, original magnification, x40).
- Figure 5. Experimental group at 1 week. **A**, CaP coated DBBP particles are well maintained in the defect area (H & E, original magnification, x40). **B, C**, The lining cells at the periphery of CaP coated DBBP and osteoid formation adjacent to the marginal bone and between grafted materials are observed (H & E, original magnification, x100). **D, E**, The osteoid is composed with collagen materials (Masson's trichrome stain, original magnification, x100). **F**, Newly formed woven bone with reversal line from the marginal bone can be observed (H & E, original magnification, x400).
- Figure 6. Experimental group at 4 week. **A**, Ca-P coated DBBPs remain well without any inflammation (H & E,original magnification, x40). **B**, The newly formed osteoid at the periphery of CaP coated DBBP with the lining of osteoblast like cells (H & E, original magnification, x100). **C**, CaP coated DBBP enclosed with collagen materials (Masson's trichrome stain, original magnification, x100). **D, E**, New bone formation with marrow space adjacent to marginal bone is observed which contained osteocyte with the lining of osteoblast (H & E, original magnification, x100, x 400). **F**, Newly formed osteoid material with osteoblast lining adjacent to the grafted materials and many newly formed vessels in the defect can be observed (H & E, original magnification, x 400).
- Figure 7. Experimental group at 8 week. **A**, The grafted materials are observed with new bone formation at the periphery of grafted materials (H & E, original magnification, x40). **B**, Fluorescent microscopic images with labelling of tetracyclin, calcein blue and alizarin red (blue filter, original magnification, x40).

사진부도 (1)

사진부도 (II)

사진부도 (Ⅲ)

사진부도 (IV)

The effect of the Ca-P coated DBBP on osseous regeneration in the rat calvarial bone defect

Sun-Ju Sung¹, Hyun-Ju Chung^{1,2}, Hong-Ju Park², Ok-Su Kim^{1,2}, Young-Jun Kim^{1,2}

¹Department of Periodontology, College of Dentistry

²Dental Science Research Institute, Chonnam National University

Purpose : This study was aimed to evaluate the effect of the deproteinated bovine bone powder (DBBP) coated with calcium phosphate (Ca-P) on osseous regeneration in the calvarial bone defect of rat.

Materials and Methods : The DBBP (Control group, n=6) and the Ca-P coated DBBP (Experimental group, n=6) were grafted in the critical sized calvarial bone defect (8 mm) of rat weighing 250 g. The animals were sacrificed at 1, 4 week. The biopsy specimens were decalcified with 5% formaldehyde and embedded in paraffin. The rats were sacrificed at 8 week received tetracycline (1 week), calcein blue (4 week), and alizarin red (7 week), and the biopsy specimens were taken. The specimens were embedded in methylmethacrylate and ground to 10 μ m thin sections were made. All of the specimens were stained with H & E and Masson's trichrome and examined under light microscope. The specimens at 8 week were examined under fluorescent microscope.

Results : In the Control group, the grafted DBBP was surrounded with connective tissue, and osteoblasts were observed partially around the grafted particles at 1 week. At 4 week, some osteoid was observed and, new bone formation was observed at the periphery of grafted materials at 8 week. In the Experimental group, some osteoid was seen at the periphery of the grafted Ca-P coated DBBP at 1 week, and osteoblast and newly formed bone were observed around the grafted materials. At 8 week, newly formed bone was observed at the periphery of the grafted materials.

Conclusion : These results suggest that Ca-P coated DBBP group was more and faster than DBBP group in new bone formation and Ca-P could contribute to enhance bone formation in the critical sized calvarial bone defect of rat.