대한치주과학회지 : Vol. 37, No. 1, 2007

무기인산염과 탈단백우골의 혼합사용이 골재생에 미치는 효과

나성윤, 권영혁*, 박준봉, 허 익, 정종혁

경희대학교 치의학전문대학원 치주과학교실, 구강생물학연구소

I. 서론

오늘날 임플란트 치료는 치아 결손부의 구강건강 및 저작기능 회복을 위한 획기적인 치과 치료법으로 각광받고 있으며 점차 보편화된 치과치료의 일부분이 되었다. 또한 임플란트 치료에 대한 수요 증가와 더불어 심미성에 대한 요구 증가가 커짐에 따라 치조골 결손부의 부족한 골량 및 골부피를 증대시키는 것이 임플란트 식립의 필수적인 고려사항이 되었다. 특히 외상이나 치주질환으로 인해 광범위하게 상실된 치조골은 임플란트의 식립을 더욱 어렵게 하며, 부족한 골결손 부위의 새로운 골재생이 치료결과를 좌우하는 경우가 대부분이기 때문이다.

치조제 결손부의 골형성을 증가시킬 목적으로 여러 다양한 방법들이 시도되어왔다. 골이식재를 이용한 골전도[1,2], 차폐막을 이용한 골유도재생술[3,4], 성장인자를 이용한 골유도[2,5-7], 의도된 골절에 의한 골신장술[8,9]이 있다. 또한 최근 각광받고 있는 성장인자들 중 인슐린유사성장인자(IGF), 변형성장인자(TGF-β), 그리고 골형태형성단백질-2(BMP-2) 등은 골아세포의 분화를 유도하고 증식을 조절하여 골형성과 재생에 관여하는 것으로 밝혀졌다[10,11]. 하지만 성장인자들의 골유도 효과가 비록 인정된다 할지라도 체내에서의 불활성화, 고가의 비용 등이 단점으로 지적되고 있어 임상 적용이 쉽지는 않을 것으로 보인다. 이에 조작이 쉽고, 생물학적 안정성을 가지며, 저비용의 새로운 골유도 물질에 대한 연구가 필요한 상태이다. 그 중 골유도재생술은 골 결손을 해결하기 위한 대표적인 치료방법 중 하나이며 Nyman 등[12]에 의해 체계적으로 연구된 조직유도재생술식에 기초한 것으로 차폐막을 이용하여 상방 연조직세포의 골 결손부로의 이주를 차단하고 선택적으로 하부 잔존골로부터 골세포의 분화 및 증식을 유도하여 골조직을 재생시키는 술식이다[13]. 골유도재생술에 의한 골재생과정은 발치와의 치유과정과 유사하며[14], 골형성의 예견성에 있어 우수한 결과를 보여주었다[15-20].

골유도재생술에 사용되는 차폐막은 생체적합성, 세포차단성, 창상고정력, 그리고 재생공간의 유지능력이 있어야 한다[13,21-24]. 특히 차폐막 하방에 재생

* 교신저자 : 권영혁, 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 치과대학 치주과학교실, 130-702 (전자우편 : kyhyuk@khu.ac.kr)

* 본 연구는 보건복지부 보건의료기술 진흥사업(03-PJI-PG1-CH08-0001)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

되는 골의 양을 결정하는 가장 중요한 요소는 차폐막에 의해 형성된 공간의 크기가 안정적으로 유지되는가에 달려있다[25,26]. 차폐막 하방의 재생 공간 확보 및 유지를 위하여 이전의 ePTFE막에 티타늄으로 기계적 강도를 보강한 티타늄강화차폐막(titanium-reinforced expanded polytetrafluoroethylene; TR-ePTFE)이 많이 사용되었다[27-29].

Simion 등[30]은 티타늄강화형차폐막을 사용하여 수직적인 치조제 증대술을 시행하여 3-4㎜의 수직골을 재생할 수 있음을 보고하였고, Jovanovic 등[27]은 5마리의 성견 연구에서 부가적인 골이식재를 배제한 채 티타늄강화차폐막만을 사용하여 6개월의 치유기간 후 수직적으로 4㎜ 정도의 골재생을 보고하면서 이전의 ePTFE막과 비교 시 더 많은 양의 골을 형성할 수 있다고 하였다. 골유도재생술시 차폐막의 재생공간유지 및 골재생 과정을 촉진하기 위해 자가골, 탈회동결건조골, 동결건조골, 탈단백우골 및 합성골등의 골이식재가 이용되고 있다[31-40]. 대표적인 이종골 이식재인 탈단백우골은 사람과 같은 칼슘/인 비율을 갖는 천연 인회석결정체로 이루어져 있고 비교적 낮은 온도인 300℃에서 화학적 과정을 거쳐 골의 유기질 성분을 제거하기 때문에 합성골과 달리 골 본래의 다공성 구조를 그대로 유지하여 인간의 골과 매우 유사한 화학적 조성과 형태 및 초미세구조를 보인다. Weibrich 등은 탈단백우골이 다른 골이식재에 비해 5배 이상의 높은 표면적을 보이며 수많은 결정체 공간과 미세터널을 갖기 때문에 혈관과 골의 성장을 증가시켜 골유착을 일으키는 것으로 보고하였다. 또한 탈단백우골은 염증반응이 없는 생체친화성이 있으며, 골형성의 비계로 작용하는 골전도성이 있는 것으로 알려져 있다.

탈단백우골이 골조직의 재생을 증가시키지 못한다는 보고들도 있고, 오히려 골재생을 방해한다는 부정적인 보고들도 있다. Slotte과 Lundgren은 쥐의 두개골에 탈단백우골을 이식한 결과, 탈단백우골이 초기 골형성을 방해한다고 하였으며 인 등도 토끼 두개관에 천공형 티타늄막을 이용한 수직적 골유도재생술에서 탈단백우골이 골재생을 촉진시키지 않으며, 오히려 골아세포로 분화될 세포의 증식을 방해하는 것으로 추측하였다.

무기인산염(Inorganic polyphosphate, PolyP)은 (NaPO3)n의 분자식을 갖는 인체에 무해한 물질로서, 수십 또는 수백개의 orthophosphate (Pi) residues가 고에너지의 phosphoanhydride 결합을 형성하고 있는 중합체이다. 무기인산염은 생물과 무생물의 도처에 존재하며 특히 인체의 세포 및 조직에서 다량 발견된다.

Leyhausen 등은 무기인산염이 다양한 인체 세포 등에서 발견되며 그 중 bone forming osteoblasts에서 가장 많은 농도로 관찰된다고 하였고 또한 bone mineralization의 조절자로 작용하는 것으로 추측 된다고 하였다. Schroeder 등은 무기인산염이 인체 내 세포내외에 모두 분포하며, 분포하는 장소에 따라 기능이 다르다고 하였으며 골의 대사과정에서 무기질 침착에 관여한다고 하였다.

이러한 연구들을 바탕으로 이번 연구는 웅성백묘 두개관에 피질골을 제거하고 그 상방에 티타늄강화차폐막(TR-ePTFE)을 이용한 골유도재생술을 시행하면서 각기 다른 농도의 무기인산염과 전달체로서 탈단백우골을 혼합 이식하여 새로 형성된 골을 조직학적으로 분석함으로써 무기인산염과 탈단백우골의 혼합사용이 골재생에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시행하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

차폐막으로는 티타늄강화차폐막(TR-9W, W.L. Gore & Associate. inc, U.S.A)을 사용하였다. 25×20㎜크기의 티타늄강화차폐막을 내면이 가로, 세로 각각 8㎜, 5㎜, 내면 높이 5㎜인 직육면체로 만들어 ethylene oxide로 소독한 후 골유도재생술에 사용하여 필요한 공간을 확보할 수 있도록 하였으며 차폐막을 핀으로 고정하기위해 collar의 길이를 3㎜ 이상이 되도록 하였다. 또한 차폐막 하방에 적용한

Table 1. 대조군과 실험군

	티타늄 강화차폐막	탈단백우골	4% 무기인산염	8% 무기인산염	16% 무기인산염
대조군	○	○			
실험군 I	○	○	○		
실험군 II	○	○		○	
실험군 III	○	○			○

골이식재로는 0.25-1㎜의 입자크기를 갖는 소의 망상골로 만든 탈단백우골(Bio-Oss® spongiosa, Geistlich AG, Wolhusen, Switzerland)을 사용하였으며 무기인산염은 Poly P75(Sodium polyphosphate, Sigma, St. Louis, MO, U.S.A)를 사용하였다.

티타늄차폐막(TG)과 탈단백우골(DBB)을 사용한 군을 대조군, 4% 무기인산염(4% polyP)에 침적한 탈단백우골과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험군I, 8%의 무기인산염(8% polyP)에 침적한 탈단백우골과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험군II, 그리고 16%의 무기인산염(16% polyP)에 침적한 탈단백우골과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험군III으로 분류하였다(Table 1).

2. 연구대상

생후 6주된 평균체중 2kg의 웅성백묘(Newzealand white rabbit)를 각 군마다 2마리씩 총 8마리를 사용하였으며 실험기간동안 고형사료(축협사료, 축산업협동조합, 한국)를 공급하였고 분리된 실내 사육실에서 사육하였다.

3. 연구방법

1) 시술과정

실험동물에 졸레틸(Virbac, France, 0.2㎖/kg) 0.5㎖와 케타민(Ketamin, 유한양행) 0.1㎖를 1:1로 섞은 후 1㎖를 근육주사하여 전신마취하고, 수술부위는 리도케인 2%(1:100,000 에피네프린, 광명, 한국) 0.5㎖로 국소마취 하였다. 두개면 수술부위의 모발을 제거한 후 #15 수술도를 이용하여 시상방향으로 절개, 전층판막을 거상하였다. 시상면 봉합부위를 기준으로 좌우로 약 2㎜ 떨어진 부위에 라운드 카바이드 버(HP long #6)로 주수 하에 각각 약 1-2㎜ 깊이, 시상방향으로 8㎜ 좌우방향으로 5㎜ 넓이로 피질골을 제거하였다.

골내 출혈을 확인 후 미리 제작하여 소독한 가로, 세로 각각 8㎜, 5㎜, 내면 높이 5㎜인 직육면체로 구부린 티타늄강화차폐막 내부에 탈단백우골만을 채우거나 4%, 8%, 16% 농도 각각의 무기인산염에 침적한 탈단백우골을 채운 후 출혈이 되는 부위에 위치시켰다. 3㎜이상 형성된 티타늄강화차폐막의 collar부위를 핀으로 고정하였다. 무기인산염에 침적한 경우에는 20분간 침적 후 5분간 건조시켜서 사용하였다. 흡수성 봉합사(4-0 chromic cat gut, Ailee, U.S.A)를 이용하여 골막과 표피를 함께 봉합하였다.

2) 술 후 처치

세균감염을 방지하기 위하여 수술 당일과 술 후 3일까지 gentamycin(동화약품, 한국) 0.5㎖와 1% Ketoprofen(유니온베트, 한국) 0.2㎖를 근육주사 하였다.

3) 조직준비 및 분석

실험동물들은 술 후 4, 8주에 각각 과량의 졸레틸을 근육주사하고 이산화탄소로 질식사 시킨 후 두피를 거상하고 차폐막과 하방 두개골을 포함하는 조직시편을 채득하였다. 조직학적 관찰을 위해 비탈회골의 표본을 제작하고자 시편을 4% paraformaldehyde 용액에 고정하고, 70% 알코올에 1일간 담가둔 다음, Villanueva bone stain용액에 3일간 침적시키고 통법에 따라 에탄올에 단계별로 탈수시켰다.

Methyl methacrylate monomer(MMA monomer, Junsei, Japan)를 침투시킨 시편을 MMA monomer, MMA polymer(Wako, Japan)와 benzoyl peroxide를 혼합하여 만든 레진으로 포매하였다. 시편은 경조직절단기(Maruto Co., Japan)를 이용하여 500㎛ 두께로 절단한 후, 경조직 연마기(Maruto Co., Japan)로 80㎛의 절편을 얻어 조직학적 검사를 위하여 Artixscan 4000ft(Microtek Co., U.S.A)를 이용하여 시편을 스캔한 후 분석하였다. 그리고 TDI Scope Eye 프로그램(Techsan int Co., Korea)을 이용하여 조직계측학적 분석을 시행하였다.

4. 조직계측학적 분석 방법

1) 신생골 형성율

(New bone formation ; %)

신생골 형성율은 차폐막에 의하여 형성된 공간의 면적에 대한 새로이 형성된 신생골 면적 총합의 백분율로 계산한다(Figure 1).

$$\frac{\text{Total areas of newly formed bone (mm}^2\text{)}}{\text{Area of space created by the membrane (mm}^2\text{)}} \times 100$$

2) 골이식재 잔존율

(Residual graft material ; %)

골이식재 잔존율은 차폐막에 의하여 형성된 공간의 면적에 대한 골이식재 면적 총합의 백분율로 계산한다(Figure 1).

$$\frac{\text{Total areas of graft materials (mm}^2\text{)}}{\text{Area of space created by the membrane (mm}^2\text{)}} \times 100$$

5. 통계학적 분석

실험기간 동안 대조군 및 실험군들의 신생골 형성율과 골이식재 잔존율에 대한 기간별 비교는 Mann Whitney U test를 이용하였으며, 실험 4주, 8주 각 기간에서 대조군 및 실험군들 간의 신생골 형성율과 골이식재 잔존율 비교에는 Kruskal-Wallis test를 사용하였다.

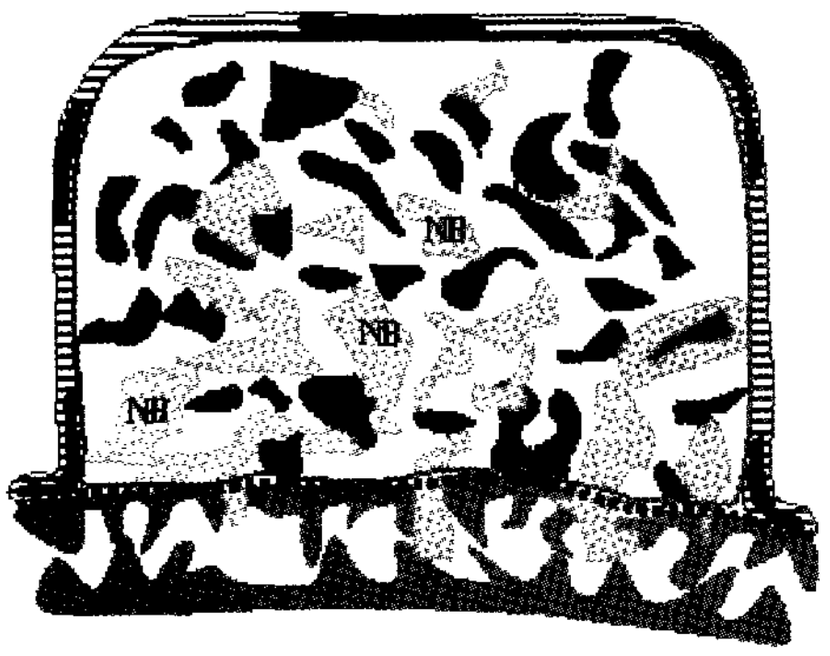

Figure 1. A schematic diagram used in histomorphologic analysis.
Dotted line below delineates the bone surface. The upper space created by the membrane contains graft matiera l(GF) and newly formed bone(NB).

III. 연구 성적

1. 조직학적 소견

1) 대조군 I

(1) 수술 4주

탈단백우골이 차폐막 하방 공간의 대부분을 차지하고 있으며 주위는 소성결합조직으로 둘러싸여져 있었다. 또한 기존골의 표면 부위에서도 뚜렷한 변화는 보이지 않았다(Figure 2).

(2) 수술 8주

4주군에 비해 기존골 표면위에서 약간의 신생골 형성을 관찰할 수 있었으며 탈단백우골은 흡수되지 않고 유지되었고 탈단백우골 주위로 치밀한 결합조직이 관찰되었다(Figure 3).

2) 실험군 I

(1) 수술 4주

차폐막 하방 대부분의 공간은 탈단백우골을 둘러싼 소성결합조직으로 채워져 있으며 기존골 부위로부터 소량의 미약한 신생골 형성을 관찰할 수가 있었다(Figure 4).

Figure 2. (TG+DBB 4weeks)
DBB particles was surrounded by connective tissues.

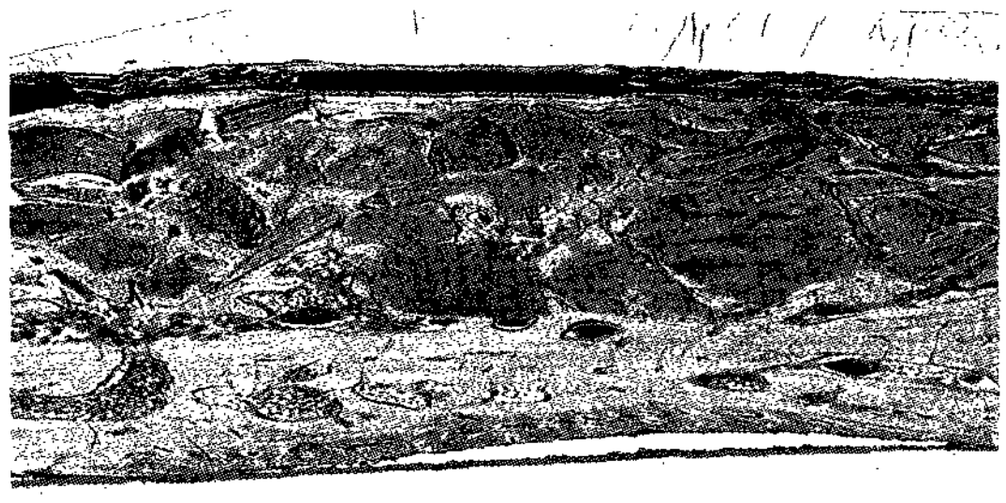

Figure 3. (TG+DBB 8weeks)
A little new bone formation was detected in the bottom of the residual bone.

Figure 4. (TG+DBB+4% polyP 4weeks)
DBB particles was surrounded by connective tissues.
A little newly formed tissue was detected in the bottom of the residual bone.

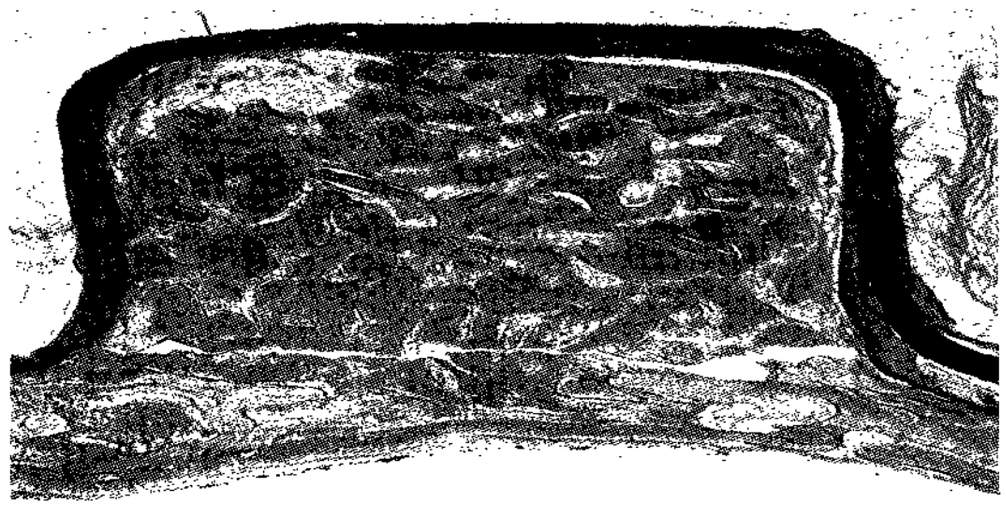

Figure 5. (TG+DBB+4% polyP 8weeks)
Trabecular bone formation near the residual bone.

Figure 6. (TG+DBB+8% polyP 4weeks)
DBB particles was surrounded by connective tissues.
A little newly formed tissue was detected in the bottom of the residual bone.

Figure 7. (TG+DBB+8% polyP 8weeks)
Trabecular bone formation near the residual bone.
DBB particles were connected with trabecular bone from the residual bone surface.

(2) 수술 8주

4주군에 비해 탈단백우골 주위로 신생골의 형성이 증가되어 전반적으로 분포되어 있는 양상을 보였으며 탈단백우골의 흡수양상은 보이지 않았다. 또한 기존골 표면으로부터 신생골 형성이 더욱 뚜렷하였다(Figure 5).

3) 실험군 II

(1) 수술 4주

기존골과의 경계부위에서 소량의 신생골이 발견되었으며 차폐막 하방의 대부분의 공간은 전반적으로는 탈단백우골의 사이를 결합조직들이 채우고 있는

Figure 8. (TG+DBB+16% polyP 4weeks)
DBB particles was surrounded by connective tissues.

Figure 9. (TG+DBB+16% polyP 8weeks)
A little new bone formation was detected in the bottom of the residual bone.

양상이었다(Figure 6).

(2) 수술 8주

4주군에 비해 소주골의 형성이 현저히 두드러지고 탈단백우골을 둘러싸는 양상을 보이며 막 하방의 공간에 골고루 넓게 분포하고 있었다. 또한 골아세포가 뚜렷이 증가되어 전반적으로 분포되어 있는 양상을 보였으며 신생골이 서로 융합 개조되는 양상을 보였다(Figure 7).

4) 실험군 III

(1) 수술 4주

다른 실험군들과 마찬가지로 막 하방의 공간은 탈단백우골과 소성결합조직이 대부분을 차지하고 있으며 기존골의 경계부에서만 소량의 신생골이 관찰되었다(Figure 8).

(2) 수술 8주

차폐막하방의 탈단백우골은 흡수되지 않고 남아 있었으며 소량의 신생골이 골이식재를 둘러싸는 양상을 보였고 탈단백우골의 대부분이 결합조직으로 둘러싸여 있었다. 또한 기존골 표면에서 관찰된 소

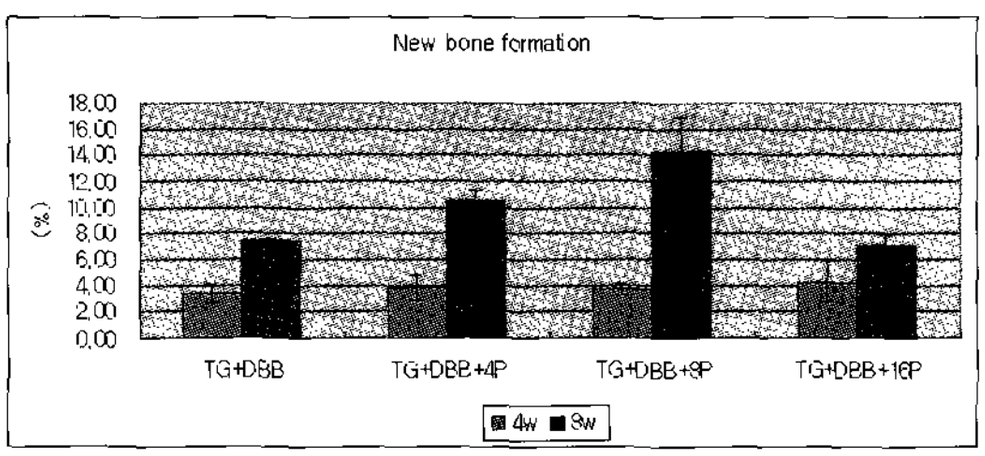

Figure 10. Mean new bone formation by the period

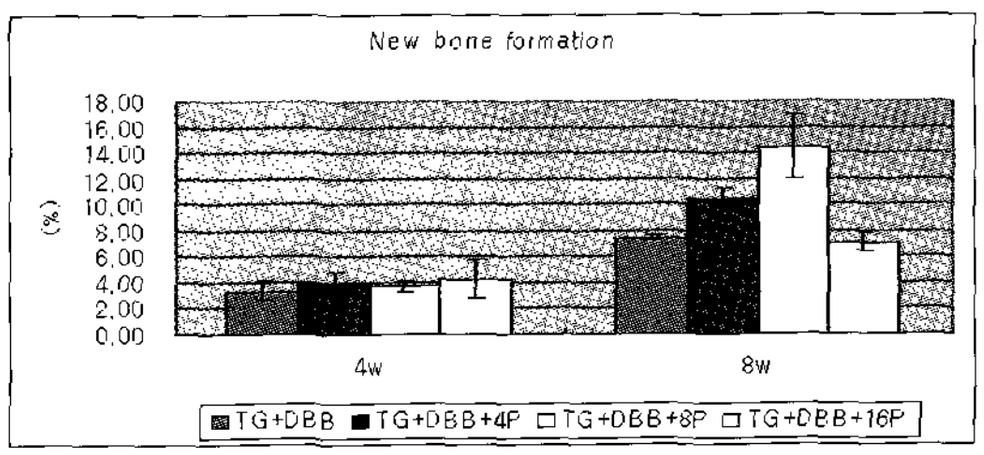

Figure 11. Mean new bone formation by polyP concentration

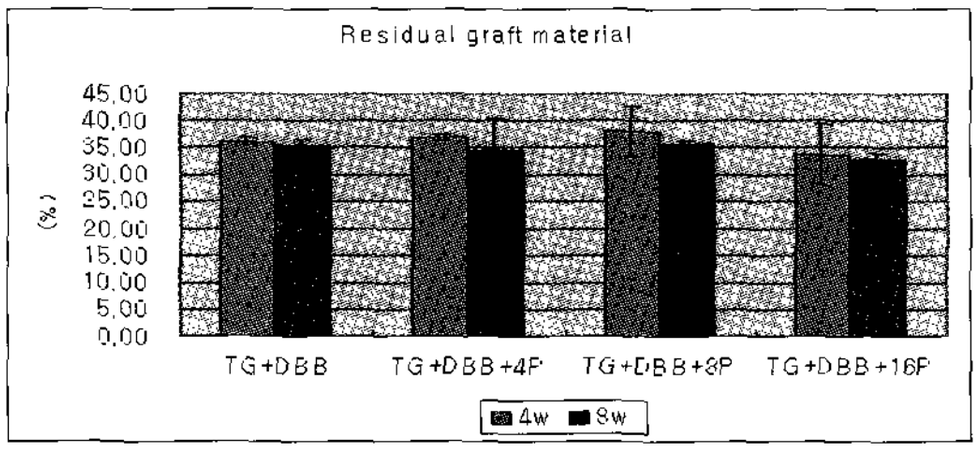

Figure 12. Mean residual graft material rate by period

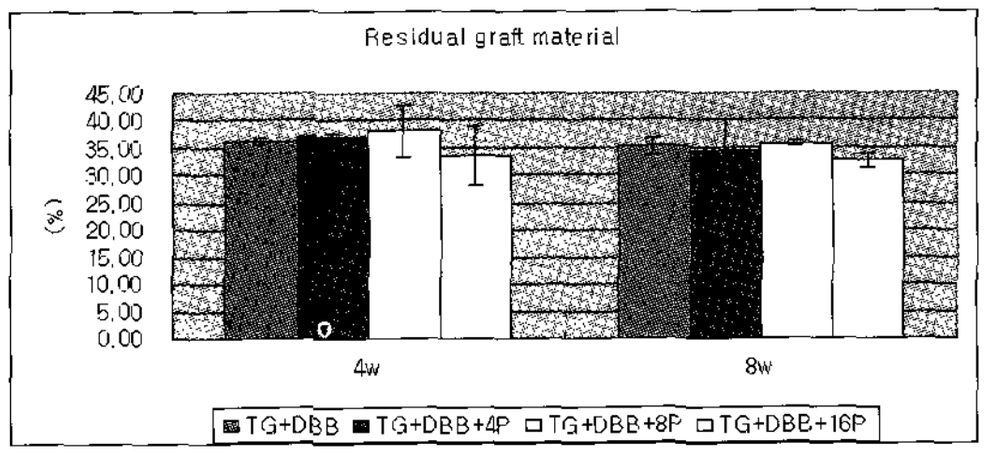

Figure 13. Mean residual graft material rate by polyP concentration

량의 신생골 형성이 더욱 뚜렷해졌다(Figure 9).

2. 조직계측학적 분석

1) 실험기간에 따른 골 형성

4주군에 비해 8주군의 대조군과 실험군I, II, III 모두에서 통계학적으로 유의성 있는 증가를 보였다(Figure 10).

2) 무기인산염 농도에 따른 실험기간별 골 형성

8주군에서 실험군II, 실험군 I, 실험군 II 순으로 신생골 형성이 증가하였으며 통계학적으로 유의성이 있었다(Figure 11).

3) 실험기간에 따른 골이식재 잔존율

4주군에 비해 8주군에서 모든 군은 골이식재 흡수가 없었으며 유의성 있는 차이를 보이지도 않았다(Figure 12).

4) 무기인산염 농도에 따른 골이식재 잔존율

무기인산염 농도와 관계없이 실험군 모두에서 골이식재는 잔존하였으며 통계학적 유의성 차이를 나타내지 않았다(Figure 13).

Ⅳ. 고안

이번 실험에서는 웅성 백묘 두개관에 일정한 크기로 피질골을 제거한 후 각기 다른 농도의 무기인산염에 침적한 탈단백우골을 채운 티타늄강화차폐막을 이용하여 골유도재생술을 시행한 후 실험동물들을 4, 8주에 희생시켜 무기인삼염과 탈단백우골의 혼합사용이 골재생에 미치는 영향을 관찰하였다.

Schenk 등은 비글견을 이용한 실험을 통해 골재생 및 형성과정을 시기에 따라 일차 해면골이 형성되는 첫 번째 단계, 일차 해면골이 해면골과 치밀골로 변환되는 두 번째 단계, 그리고 형성된 골이 개조되는 세 번째 단계의 세 단계로 분류하였는데 첫 번째 단계는 약 8주경에 이루어지지만 두 번째 단계는 16주에도 완전히 이루어지지 않는다고 하였다. 이를 근거로 이번 실험에서는 골재생과 형성과정을 8주까지 비교, 관찰하였다.

이번 실험에서 골유도재생술을 시행한 부위는 웅성백묘의 두개관을 이용하였는데 두개관은 형태학적으로나 발생학적으로 막성골이라는 점에서 안면의 막성골들과 유사성을 가지며 해부학적으로 두개관은 중간에 해면골이 개재되어 있는 두 개의 피질골판으로 이루어져 있다는 점에서 하악골과 유사하고 생리학적으로 두개관내의 피질골은 퇴축된 하악골과 닮았다고 할 수 있다. 또한 두개관의 시상면 봉합부위를 피하여 실험하였는데 그 이유는 봉합부위가 골재생이 가장 활발히 일어나는 곳이어서 무기인산염과 전달체의 효과를 비교 관찰하기에는 부적절하다고 판단하였고 술 후 감염 및 노출의 위험성을 배제하

Table 2. New bone formation and residual graft material.

	New bone formation(%)		Residual graft material(%)	
	4weeks (mean±S.D.)	8weeks* (mean±S.D.)	4weeks (mean±S.D.)	8weeks (mean±S.D.)
Control (TG+DBB)	3.36±0.72	7.33±0.20	36.13±0.66	35.24±1.51
Test I (TG+DBB+4%polyP)	3.84±0.94	10.49±0.77*	36.98±0.65	34.68±5.54
Test II (TG+DBB+8%polyP)	3.73±0.39	14.38±2.48*	38.16±4.60	35.65±0.53
Test III (TG+DBB+16%polyP)	4.29±1.53	7.06±0.79*	33.75±5.53	32.76±1.41

* Statistically significant difference compared to control group($P<0.05$)

고자 했기 때문이다.

이번 실험에서 1-2㎜ 깊이로 피질골을 제거한 것은 골수로부터 유래된 혈액공급 및 골형성인자의 작용을 촉진하기 위하여 시행하였다. 또한 주변이 골로 둘러싸인 와동형의 골결손부는 주위 골로부터 활발한 골재생으로 인해 골이식재의 골형성 효과를 구분하기 어렵게 하기 때문에 이번 실험에서는 기존 골의 외방성으로 골형성을 유도하는 골결손부를 만들어 다른 골재생에 관여하는 요소들을 배제한 상태에서 골재생에 미치는 효과를 살펴보려고 하였다.

차폐막의 고정은 골재생을 유도하는 중요한 요인[30]이기에 이번 실험에선 차폐막의 미세동요를 방지하기 위하여 고정용 핀을 사용하였다. 실험기간 동안 티타늄강화차폐막에 의하여 형성되는 재생공간의 유지는 다른 연구 결과[26,27,30]와 동일하게 전 기간 동안 잘 이루어졌으며 염증반응이 없었던 것으로 볼 때 조직친화성도 좋은 것으로 나타났다.

차폐막 하방의 골이식재로 사용한 탈단백우골의 효과에 대해서는 상반된 연구들이 보고되고 있는데 Klinge 등은 토끼의 두개골에 탈단백 우골이나 비흡수성의 치밀한 수산화인회석을 넣은 경우와 이식재를 넣지 않은 대조군을 비교하여 시간경과에 따라 골재생 정도는 비슷하지만, 초기에는 탈단백 우골이 골재생을 촉진시키는 것으로 관찰되었고, 조직 및 방사선학적으로 탈단백 우골의 흡수소견을 보인다고 보고하였다. 또한 Hämmerle 등은 임플란트의 골결손부위에 탈단백우골을 비흡수성차폐막과 함께 사용한 결과 탈단백우골과 신생골의 접촉도는 80%이상으로 탈단백우골의 우수한 골전도성을 보고였으며 Artzi 등은 티타늄 그물막과 탈단백 우골을 이용한 수직적 치조제 증대술을 시행하여 9개월 후, 82.1%의 골증대 결과를 얻었고, 그물막 하방에 0.5-1㎜의 치밀한 결합조직을 관찰하였다. 즉 기저골과 가까울수록 신생골 형성이 증가하고 층판골이 우세한 반면, 기저골에서 멀어질수록 신생골의 양이 감소하고 교직골이 우세하고 이식재와 결합조직이 대부분을 차지하는 양상을 보인다. 또한 발치창이나 상악동 증대술에서도 같은 양상을 보고하였다.

반면, Carmagnola 등은 개의 하악과 사람의 발치창에 탈단백우골을 이식한 각각의 실험에서 실험군의 신생골 형성이 골이식재를 사용하지 않은 대조군에 비하여 현저히 적으며 중심부의 이식재는 결합조직에 둘러싸여 있음을 보고 하였다. Stavropoulos 등도 쥐의 하악지에 반구형태의 테프론막과 탈단백우골을 함께 위치시키고 1년 후 희생시켜 조직 검사 시 차폐막만 위치시킨 경우에는 88%의 골형성을 보인 반면 탈단백우골을 함께 적용시킨 경우에는 23%의 골형성을 보였다고 하였다. 또한 결합조직이 탈단백우골을 둘러싸고 있고 이식재의 흡수소견은 없으며 결합조직이 골로 전환되는 소견도 관찰되지 않으며 이식재가 오히려 골형성을 방해한다고 주장하였다. 인 등의 연구에서도 탈단백우골은 골재생을 촉진시키지 않으며 오히려 골아세포로 분화될 세포의 증식을 방해한다고 하였으며, 이번 실험에서 탈단백우골은 무기인산염의 전달체로서의 역할로만 사용되었으며 골형성을 증가시키지 못하는 것으로 나타났다.

순수한 골전도성 만으로는 신생골 형성 및 물리적 강도가 자가골에 비해 미치지 못하다고 알려져 있다. 따라서 골전도 물질은 골유도 물질과 병용 시에 보다 큰 골재생의 효과를 기대 할 수가 있다. 골유도는 골형성의 잠재력을 갖는 세포들(osteoprogenitor cells)을 골아세포로 분화시키는 과정으로 성장인자들 및 골형태형성단백질, 특히 골형태형성단백질-2가 골유도를 촉진하는 것으로 보고되고 있다[6,7].

하지만 골형태형성단백질-2는 유전자 재조합으로 만들어 고가이며, 대장균에서 추출하므로 면역반응과 질병전파에 대한 우려가 있고, 용량의존성이 있어서 원하지 않는 방향으로의 이소골 형성을 야기할 수 있고, 흡수가 빨리 일어나며, 체내에서 20-30분 후에 불활성화 되는 단점이 있다[6].

이번 실험에서는 음식첨가물로써 사용이 허가된 인체에 무해한 화학물질인 무기인산염의 골유도 및 골재생 효과를 관찰하였다. 무기인산염은 지구상에 광범위하게 존재하며 수십에서 수백 개의 ortho-phosphate residue가 연결된 중합체로 골의 대사과정에서 무기질 침착에 관여하는 것으로 알려져 있다.

Fleisch 등은 인(phosphorous)의 합성물질인 bisphosphonate가 골흡수를 막는 강력한 억제 물질이라고 보고하였고, 또한 원숭이와 쥐를 이용한 동물실험에서 bisphosphonate가 experimental periodontitis를 억제 한다는 보고도 있다. 이 등은 토끼의 대퇴골에 교원질과 탈염골분(demineralized human bone powder)을 매개체로 2% 무기인산염의 효과에 관한 실험을 통해, 무기인산염이 매개체의 골전도능을 향상시키거나 손상된 골조직의 골유도잠재력을 증가시킴으로써 골재생을 촉진한다고 보고하였다. Kawazoe 등은 쥐를 이용한 세포실험을 통해 무기인산염이 골아세포 분화의 표지(Marker)인 osteopontin과 osteocalcin의 발현을 증가시키며 polyphosphatase의 활성을 증가시킴으로써 세포의 골화를 촉진시킨다고 보고하였다. 정 등은 무기인산염의 농도에 따른 골재생 효과의 차이를 알아보고자 1%와 2%로 농도를 달리하여 실험한 결과 2%의 무기인산염 사용 군에서 뚜렷한 골재생이 나타났다고 보고하면서 이것은 무기인산염이 골세포나 골전구 세포들을 골 결손부로의 이주를 유도하여 나타나는 것으로 생각할 수 있으며 이 등의 연구결과와 일치한다고 하였다.

이번 연구는 이전 실험들에 비해 고농도의 무기인산염을 사용하여 골형성에 필요한 세포들의 골 결손부로의 이주를 돕는 골유도 효과를 증진시키고자 시행하였다.

이번 실험결과 8주 관찰에서 실험군 I과 II는 대조군에 비해 보다 많은 양의 신생골이 관찰되었으며 그 분포 또한 막하방 공간에 골고루 퍼져있었다. 하지만 실험군 III의 경우 가장 높은 농도임에도 불구하고 실험군 I과 II에 비해서 오히려 신생골의 양이 적었으며 대조군과 비슷하였다. 이와 같은 결과로 볼 때 일정농도의 무기인산염이 골재생을 증가시키는 것으로 보이지만 적정 농도와 그 정확한 기전에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 다양한 매개체를 통해 무기인산염의 골유도능에 따른 골재생의 효과를 관찰, 연구해야 할 것으로 생각한다.

V. 결론

이번 연구는 무기인산염과 탈단백우골의 혼합사용이 골재생 과정에 미치는 영향을 평가하기 위하여 생후 6주된 평균무게 2kg의 웅성백묘 두개관에 일정한 크기로 피질골을 제거한 후, 그 상방에 4%, 8%, 16%의 무기인산염에 침적한 탈단백우골을 채운 티타늄강화차폐막을 이용하여 골유도재생술을 시행하였다. 티타늄강화차폐막과 탈단백우골을 함께 사용한 군을 대조군, 4% 무기인산염에 침적한 탈단백우골과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험군 I, 8%의 무기인산염에 침적한 탈단백우골과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험군 II, 그리고 16%의 무기인산염에 침적한 탈단백우골과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험군 III으로 분류하였다. 술 후 4, 8주에 각각 희생시켜 차폐막을 포함한 조직절편을 채취하여 통법에 따라 비탈회표본을 제작하고 조직학적 및 조직계측학적으로 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조군과 실험군 모두에서 시간경과에 따라 신생골의 형성이 증가하였다.
2. 4%와 8% 무기인산염을 사용한 군은 시간이 지나면서 대조군에 비해 더 많은 신생골량을 보였으며 8% 무기인산염을 사용한 군에서 가장 많은 신생골의 형성을 관찰하였다.
3. 무기인산염의 농도가 증가할수록 골재생량은 증가하였지만 16%의 경우 대조군과 비교 시 신생골량은 큰 변화가 없었다.
4. 탈단백우골은 실험기간동안 흡수가 일어나지 않았다.

이상의 결과를 통해 적정농도의 무기인산염이 전달매개체의 골전도 및 골유도능을 항진시켜 골재생을 촉진시킬 수 있음을 확인할 수 있었으나 예상 보다는 골형성량이 부족함을 관찰할 수 있었다.

VI. 참고문헌

1. Reddi AH, Weintroub S, Muthukumaran N. Biologic principles of bone induction. Orthop Clin North Am 1987;18:207-212.
2. Burchardt H. The biology of bone graft repair. Clin Orthop Rel Res 1983;174:28-42.
3. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. Plastic Reconst Sur 1988;81: 672-677.
4. Kostopoulos L, Karring T. Augmentation of the rat mandible using guided tissue regeneration. Clin Oral Impl Res 1994;5:75-82.
5. Urist MR. Bone Formation by autoinduction. Science 1965;150:893-899.
6. Linkhart TA, Mohan S, Baylink DJ. Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF-β and BMP. Bone 1996;19:1-12.
7. Bostrom MPG, Asnis P. Transforming growth factor beta in fracture repair. Clin Orthop Rel Res 1998;355:124-131.
8. Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part I. The influence of stability of fixation and soft tissue preservation. Clin Orthop 1989;238:249-281.
9. Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part II. The influence of rate and frequency of distraction. Clin Orthop 1989;239:263-285.
10. Linkhart TA, Mohan S, Baylink DJ. Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF-β and BMP. Bone 1996;19:1-12.
11. Bostrom MPG, Asnis P. Transforming growth factor beta in fracture repair. Clin Orthop Rel Res 1998; 355:124-131.
12. Nyman S, Lindhe J, Karring T. New attachment in the human periodontium by guided tissue regeneration. J Clin Periodontol 1982;9:290-296.
13. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. Plastic Reconst Sur 1988;81:672-677.
14. Sandberg E, Dahlin C, Linde A. Bone regeneration by the osteopromotive technique using bioabsorbable membranes. An experimental study in rats. Int J Oral Maxillofac Surg 1993;51:1106-1114.
15. Becker W, Becker B, Handelsman M, Ochsenbein C, Albrektsson T. Guided tissue regeneration for implant placed into extraction sockets: A study in dogs. J Periodontol 1991;62:703-709.
16. Bragger U, Hammerle CHF, Lang NP. Immediate transmucosal implants using the principle of guided tissue regeneration: A cross-sectional study comparing the clinical outcome 1 year after immediate to standard implant placement. Clin Oral Impl Res 1997;7: 268-276.
17. Buser D, Bragger U, Land NP, Nyman S. Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. Clin Oral Impl Res 1990;1:22-32.
18. Dahlin C, Lekholm U, Becker W, et al. Treatment of fenestration and dehiscence bone defects around oral implants using the guided tissue regeneration technique: A prospective multicenter study. Int J Oral Maxillofac Imp 1995;10:312-318.
19. Hammerle CHF, Olah AJ, Schmid J, et al. The biological effect of deproteinized bovine bone on bone neoformation on the rabbit skull. Clin Oral Impl Res 1997;8:198-207.
20. Lang NP, Hammerle CHF, Bragger U, Lehmann B, Nyman SR. Guided tissue regeneration in jaw bone defects prior to implant placement. Clin Oral Impl Res 1994;5:92-97.

21. Donos N, Kostopoulos L, Karring T. Augmentation of the rat jaw with autogenic cortico-cancellous bone grafts and guided tissue regeneration. Clin Oral Impl Res 2002; 13:192-202.
22. Donos N, Kostopoulos L, Karring T. Augmentation of the mandible with GTR and onlay cortical bone grafting. An experimental study in the rat. Clin Oral Impl Res 2002; 13:175-184.
23. Von Arx T, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Buser D. Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric pilot study in the mandible. Clin Oral Impl Res 2001;12:260-269.
24. Nevins M, Mellonig JT. Enhancement of the damaged edentulous ridge to receive dental implants: A combination of allograft and the GORE-TEX® membrane. Int J Periodont Rest Dent 1992;12:97-111.
25. Becker W, Schenk R, Higuchi K, Lekholm U, Becker BE. Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: A study in dogs. Int J Oral Maxillofac Imp 1995;10: 143-154.
26. Jovanovic SA, Nevins M. Bone formation utilizing titanium-reinforced barrier membranes. Int J Periodont Rest Dent 1995;15:57-69.
27. Jovanovic SA, Schenk RK, Orsini M, Kenney Eb. Supracrestal bone formation around dental implants: An experimental dog study. Int J Oral Maxillofac Implants 1995;10:23-31.
28. Jovanovic SA, Nevins M. Bone formation utilizing titanium-reinforced barrier membranes. Int J Periodont Rest Dent 1995;15:57-69.
29. Leckholm U, Becker W, Dahlin C, et al. The role of early versus late removal of GRAM® membrane on bone formation at oral implants placed into immediate extraction sockets. An experimental study in dogs. Clin Oral Impl Res 1993;4:121-129.
30. Simon M, Trisi P, Piattellli A. Vertical ridge augmentation using a membrane technique associated with osseointegrated implants. Int J Periodont Rest Dent 1994;14:496-511.
31. Jovanovic SA, Spiekermann H, Richter EJ. Bone regeneration around titanium implants in dehiscenced defect sites: A clinical study. Int J Oral Maxillofac Implants 1992;7: 233-245.
32. Donos N, Kostopoulos L, Karring T. Augmentation of the rat jaw with autogenic cortico-cancellous bone grafts and guided tissue regeneration. Clin Oral Impl Res 2002; 13:192-202.
33. Donos N, Kostopoulos L, Karring T. Augmentation of the mandible with GTR and onlay cortical bone grafting. An experimental study in the rat. Clin Oral Impl Res 2002;13:175-184.
34. Von Arx T, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Buser D. Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric pilot study in the mandible. Clin Oral Impl Res 2001;12:260-269.
35. Nevins M, Mellonig JT. Enhancement of the damaged edentulous ridge to receive dental implants: A combination of allograft and the GORE-TEX® membrane. Int J Periodont Rest Dent 1992;12:97-111.
36. Donos N, Kostopoulos L, Karring T. Alveolar ridge augmentation by combining autogenous mandibular bone grafts and non-resorbable membranes. An experimental study in the rat.

Clin Oral Impl Res 2002;13:185-191.
37. Malchiodi L, Scarano A, Quaranta M, Piattelli A. Rigid fixation by means of titanium mesh in edentulous ridge expansion for horizontal ridge augmentation in the maxilla. Int J Oral Maxillofac Implants 1998;13:701-705.
38. Slott C, Lundgren D. Augmentation of calvarial tissue using non-permeable silicone domes and bovine bone mineral. An experimental study in the rat. Clin Oral ImplRes 1999;10:468-476.
39. Piattelli A, Scarano M, Corigliano Piattelli M. Comparison of bone regeneration with the use of mineralized and demineralized freeze-dried bone allografts: A histologic and histochemical study in man. Biomaterials 1996;17:1127 -1131.
40. Nevins M, Mellonig JT, Clem DSC III, Reiser GM, Buser DA. Implants in regenerated bone: long-term survival. Int J Periodont Rest Dent 1998;18:35-45.

– Abstract –

Effect of deproteinized bovine bone mineral soaked in inorganic polyphosphate on bone regeneration

Seong-Yoon Na, Joon-Bong Park, Young-Hyuk Kwon, Yeek Herr, Jong-Hyuk Chung

Department of Periodontology and Institute of Oral Biology, School of Dentistry, Kyung Hee University

This study was performed to evaluate the effect of deproteinized bovine bone mineral soaked in inorganic polyphosphate on bone regeneration in the calvaria of rabbit in the procedure of guided bone regeneration with titanium reinforced expanded polytetrafluoroethylene(TR-ePTFE) membrane. The rabbits were divided into four groups. Control group used TR-ePTFE membrane filled with deproteinized bovine bone mineral, experimental group I used TR-ePTFE membrane and deproteinized bovine bone mineral soaked in 4% inorganic polyphosphate, experimental group II and III used TR-ePTFE membrane and deproteinized bovine bone mineral soaked in 8% or 16% inorganic polyphosphate respectively.

After decortication in the calvaria, GBR procedure was performed on 8 rabbits with only TR-ePTFE membrane or titanium reinforced ePTFE membrane filled with deproteinized bovine bone mineral soaked in inorganic polyphosphate. The animals were sacrificed at 4 weeks, and 8 weeks after the surgery. Non-decalcified specimens were processed for histologic analysis, and new bone formation was assessed by histomorphometric as well as statical analysis.

1. Both control group and experimental group demonstrated increasing of new bone formation until 8weeks.
2. At 8 weeks, experimental group I and group II showed the significant difference compared to control group in new bone formation. Especially experimental group II showed the most increasing of new bone formation.
3. The higher concentration of inorganic polyphosphate filled, the more volume of bone formation promoted, but experimental group III did not reveal significant difference compared to contol group.
4. Deproteinized bovine bone mineral did not resorbed at all until 8 weeks.

These results suggest that inorganic polyphosphate has a promoting effect on bone regeneration, possibly by enhancing osteoconductivity of the carrier and by increasing osteoinductivity of the defected alveolar bone tissue, but not as we respect.

Key words : Inorganic polyphosphate, Bone regeneration, Osteoconductivity, Osteoinductivity