

토끼 두개골 결손부에서 전기 방사된 나노실크-수산화인회석 복합체를 이용한 골재생 효과에 대한 연구

계준영¹ · 김성곤¹ · 김민근¹ · 권광준¹ · 박영욱¹ · 김좌영² · 이민정³ · 박영환³

¹강릉원주대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, ²한림대학교 성심병원 구강악안면외과, ³서울대학교 바이오시스템 소재 학부

Abstract

Electrospun Silk Nano-Fiber Combined with Nano-Hydroxyapatite Graft for the Rabbit Calvarial Model

Jun-Young Kye¹, Seong-Gon Kim¹, Min-Keun Kim¹, Kwang-Jun Kwon¹, Young-Wook Park¹, Jwa-Young Kim², Min-Jung Lee³, Young-Hwan Park³

¹Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, Korea

²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Sacred Heart Hospital, Hallym University, Seoul, Korea

³Department of Biosystems and Biomaterials Science and Engineering, Seoul National University, Seoul, Korea

Purpose: The objective of the present study was to determine the capability of electrospun silk fibroin as a biomaterial template for bone formation when mixed with nano-hydroxyapatite *in vivo*.

Materials and Methods: Ten New Zealand white rabbits were used for this study and bilateral round shaped defects were formed in the parietal bone (diameter: 8.0 mm). The electrospun silk fibroin was coated by nano-hydroxyapatite and grafted into the right parietal bone (experimental group). The left side (control group) did not receive a graft. The animals were sacrificed at 6 weeks and 12 weeks, humanly. The micro-computerized tomogram (μ CT) was taken for each specimen. Subsequently, they were undergone decalcification and stained for the histological analysis.

Results: The average value of all measured variables was higher in the experimental group than in the control at 6 weeks after the operation. BMC in the experimental group at 6 weeks after operation was 48.94 ± 19.25 and that in the control was 26.17 ± 16.40 ($P = 0.027$). BMD in the experimental group at 6 weeks after operation was 324.59 ± 165.24 and that in the control was 173.03 ± 120.30 ($P = 0.044$). TMC in the experimental group at 6 weeks after operation was 19.50 ± 6.00 and that in the control was 10.52 ± 6.20 ($P = 0.011$). TMD in the experimental group at 6 weeks after operation was 508.88 ± 297.57 and that in the control was 273.54 ± 175.91 ($P = 0.06$). Gross image of both groups showed higher calcification area at 12 weeks than them in 6 weeks. The average value of μ CT analysis was higher at 12 weeks than that in 6 weeks in both groups. BMC in the experimental group at 12 weeks after operation was 51.21 ± 8.81 and that in the control was 33.47 ± 11.13 ($P = 0.010$). BMD in the experimental group at 12 weeks after operation was 323.39 ± 21.54 and that in the control was 197.75 ± 76.23 ($P = 0.012$). TMC in the experimental group at 12 weeks after operation was 21.44 ± 5.30 and that in the control was 13.31 ± 4.17 ($P = 0.008$). TMD in the experimental group at 12 weeks after operation was 524.47 ± 19.37 and that in the control was 299.60 ± 136.20 ($P = 0.016$).

Conclusion: The rabbit calvarial defect could be successfully repaired by electrospun silk nano-fiber combined with nano-hydroxyapatite.

Key words: Silk fibroin, Hydroxyapatite, Calvaria

*본 논문(특허)은 농촌진흥청 바이오그린21 사업(과제번호: PJ007170201006)의 지원에 의해 이루어진 것임.

서 론

치과 진료 영역에서 임플란트가 주요 치료 중 하나로 자리 잡게 되면서 골 결손부에 대한 치료 방법 및 이식 재료에 대한 연구 또한 활발히 이루어져 왔다. 이러한 골 결손부 치료를 위한 골 이식재의 종류로는 자가골, 동종골, 이종골, 골 대체물 등이 있다. 이러한 골 이식재료들이 갖추어야 할 기본 조건으로는 즉시 사용이 가능하고 면역반응을 일으키지 않고 빠른 골 생성 및 재혈관화를 촉진시키고 또한 골의 지지와 연속성을 유지하는 등이 있다. 일반적으로 자가골이 가장 좋은 예후를 보이며 제1의 선택으로 고려되지만, 채취할 수 있는 골량의 한계성, 추가적인 공여부의 수술에 따른 수술 시간 증가 및 불편감 증가 등의 단점이 있다. 이러한 단점을 극복하고자 여러 방법으로 처리된 동종골이나 합성 골 대체물에 대한 많은 연구들이 시행되어 왔다.

그 중 합성 골이식재 중 대표적인 것으로는 수산화인회석 (hydroxyapatite, HA)을 꼽을 수 있다. Hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) (이하 HA)는 인간의 신체 중 경조직을 구성하는 주요 무기질로서, 우수한 생체 적합성이 특징으로 매식부에 광물 저장기(mineral reservoir)로 작용하여 오래전부터 뼈에 대한 대체 이식재로 사용되어왔다. 하지만, HA는 임상적으로 적용 시 때때로 섬유조직에 의한 피낭화가 일어나고 생리적 하중을 받는 상태에서 인접골과의 접촉면으로부터 괴리되는 문제점을 가지고 있다.¹⁻⁵⁾ HA는 합성 세라믹의 하나로 골전도 성질을 가지고 있으며, 생체 친화적이고, 천천히 흡수되고 숙주골로 대체되어, 지금까지 골 이식에 많이 사용되어 왔다.⁶⁻⁸⁾ 이식재는 powder, coating, bulk bodies, fibers 등 다양한 형태로 제작이 가능하지만, 이 중 fiber 형태가 세포 생착 및 세포 활성화도(bio activity)에 가장 유리한 구조라고 알려져 있고 최근 관심을 받고 있는 나노 섬유 형태의 더욱 더 좋은 세포 활성도를 제공한다고 보고되고 있다.⁹⁾

실크는 거미나 누에고치로부터 생산된 단백질 복합체로 구성되어 있다.^{10,11)} 실크 단백질은 4가지 서로 다른 요소들로 구성된 반복적인 단백질 배열이 2차적인 구조를 이룬다.¹²⁾ 실크 파이버로인은 인대, 건, 골, 연골 등의 회복을 위한 scaffold로서 조직공학분야에서 사용되어 왔다. 비록 실크는 염증반응과 면역반응을 일으키기도 하지만 외층의 Sericin이라 불리는 당단백질을 제거할 경우 안전하게 사용할 수 있다.¹³⁾ Scaffold는 치유 장소로 유도성 세포를 이주시키고 새로 형성된 조직의 구조를 이루도록 해준다.¹⁴⁾ 실크 파이버로인을 기반으로 한 scaffold는 좋은 생체친화성, 느린 생체 분해성, 뛰어난 기계적 성질을 가지고 있다.¹⁵⁻¹⁷⁾ 또한 유기용매에 불용성이다.¹⁵⁾ 이처럼 실크 파이버로인은 훌륭한 scaffold의 조건을 가지므로 hydroxyapatite와 복합 이식으로 사용할 경우, 골 결손부의 골 재생을 위한 좋은 이

식재로 사용될 수 있을 것이다.

본 연구의 목적은 가토의 두개골에 골 결손부를 형성하고 실크 파이버로인-수산화인회석 복합체를 이식한 후 얻어진 골편을 microfocus computerized tomography (μ -CT) 분석을 시행하여 이 복합체가 골 결손부의 신생골 형성을 얼마나 증진시키는지에 대해 알아보려고 한다.

연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

1) 전기방사된 나노 실크-수산화인회석 복합체 제작
전기방사된 나노 실크-수산화인회석 복합체는 서울대학교 바이오시스템 소재 학부에서 제작되어 본 실험에 제공되었다(Fig. 1-A,B). 전기방사는 고분자 용액을 모세관 팁이 달린 주사기에 담아 양극 전하나 음극 전하를 가하고 집적관에 반대 전하를 가하여 형성된 전기장에 의해 섬유를 제조하는 방법으로 나노섬유를 제조할 수 있는 가장 유용한 방법 중 하나로 이를 통해 제조된 섬유의 직경은 수 - 수백 nm로 매우 큰 비표면적을 갖기 때문에 생체조직 배양을 위한 scaffold 등 많은 분야에 응용이 되고 있다.

2) 실험 동물
실험동물로는 동일 조건에서 사육된 약 12주령의 New Zealand산 백색 가토 10마리(평균 무게 2.3 ± 0.3 kg)를 사용하였다.

2. 연구 방법

1) 실험 동물 마취
실험동물을 수술 30분 전 Ketamine hydrochloride (100 mg/ml; Ketara; 유한양행, 한국) 0.4 ml와 Xylazine hydrochloride (10 mg/kg 체중; Rompun; 바이엘코리아, 한국) 0.3 ml를 근주하여 마취를 유도하였다

2) 수술 방법
실험동물의 수술 부위인 두 개부 피부를 제모하고 10% Povidone-Iodine 용액으로 소독한 다음, 수술 중 지혈을 목적으로 1 : 100,000 에피네프린이 함유된 2% 염산리도카인으로 수술 부위를 국소마취 하였다. 두개골 정중부를 따라 약 4 cm 가량의 절개선을 형성하고 피하조직을 박리하고 골막과 함께 양측으로 거상하여 양쪽 안와상연까지 골막 손상 없이 골막을 박리하였다. 정중 봉합선을 피하여 뇌경막 손상을 주지 않도록 조심하면서 노출된 두개골에 low speed handpiece에 trephine bur를 이용하여 지름 8 mm의 원형 골 결손부 2개를 형성하였다. 대조군(좌측의 골 결

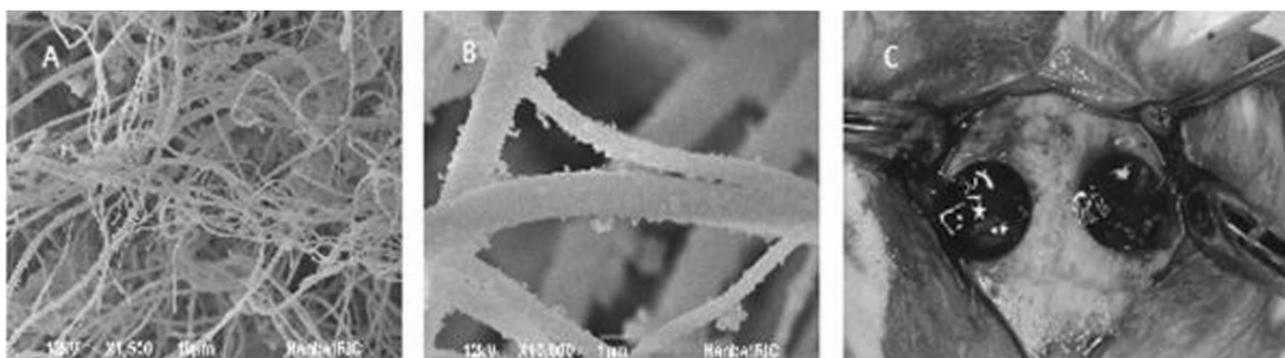


Fig. 1. A, B: Scanning electron microscopic image of silk fibroin powder with nano-hydroxyapatite (A, magnification x1,500; B, magnification x10,000). C: A combination of silk fibroin powder with nano-hydroxyapatite was grafted into the right side (asterisk), and the left side was unfilled.

손부)에는 아무것도 채우지 않고 실험군(우측의 골 결손부)에는 실크 복합체를 이식하였다(Fig. 1-C). 그리고 이식재가 움직이지 않도록 조심스럽게 골막을 당겨 채워치 시킨 후 3-0 black silk를 이용하여 봉합하였다. 그리고 감염방지를 위해 항생제 겐타마이신(1 mg/kg 체중; 국제약품, 한국)을 하루 세 번씩 3일간 근주하였다.

(3) 희생 및 표본 제작

실험 6주, 12주 경과 후 각각 5마리씩 나누어 2% 염산리도카인 2 ml, 생리식염수 10 ml를 섞어 심장에 주사하여 토끼를 희생시켰다. 희생시킨 후 결손 부위 노출 후 결손부를 포함한 두개골 전체를 채취하였다. 채취된 표본은 10% 중성 포르말린에 고정하였고 이후 μ -CT를 촬영하였다.

(4) Microscopic Computerized Tomography

각 조직은 먼저 Explored Locus SP μ -CT scanner (GE Medical Systems, Ontario, Canada)를 이용하여 촬영되었다. CT scanner 내부에 있는 turntable에 조직을 고정한 후 수평과 수직으로 움직여 위치를 조정하였다. 이후 표본은 0.05 mm두께의 절편으로 단층 촬영되었다. 촬영된 이미지는 Microview software (GE Medical Systems)를

이용하여 삼차원으로 재구성되었다. 수술시 형성한 결손부가 지름 8 mm의 원형이므로 관심영역(ROI, region of interest)은 초기 결손부 크기와 형태에 맞게 고려되었다.

각각의 조직 표본의 관심영역은 골 무기질 함량(BMC, bone mineral content)와 골밀도(BMD, bone mineral density)이며 조직 내 무기질 함량(TMC, tissue mineral content)과 조직 내 무기질 밀도(TMD, tissue mineral density) 또한 소프트웨어를 통해 분석되었다.

(5) 통계적 분석

대조군과 실험군들간의 측정값 차이의 통계학적 유의성 검사를 위해 paired t test를 이용하였다. 통계학적 유의성 수준은 $P < 0.05$ 로 정하였다.

연구 결과

μ -CT 분석 결과는 Table 1에 나와 있다. 수술 후 6주, 12주경의 두 시기 모두에서 두 그룹간 모든 측정값의 현저한 차이를 보였으며 특히, 12주경에서의 분석학적 결과의 차이가 컸다($P < 0.05$). μ -CT상 결과에서 6주경 실험군의 평균 골 내 무기질 함량(BMC)은 48.94 mg이며 대조군의

Table 1. Microscopic computerized tomography analysis

	6 weeks			12 weeks		
	Control (Unfilled)	Experimental (Silk + HA)	P value	Control (Unfilled)	Experimental (Silk + HA)	P value
BMC (mg)	26.17 ± 16.40	48.94 ± 19.25	0.027	33.47 ± 11.13	51.21 ± 8.81	0.010
BMD (mg/mm ³)	173.03 ± 120.30	324.59 ± 165.24	0.044	197.75 ± 76.23	323.39 ± 21.54	0.012
TMC (mg)	10.52 ± 6.20	19.50 ± 6.00	0.011	13.31 ± 4.17	21.44 ± 5.30	0.008
TMD (mg/mm ³)	273.54 ± 175.91	508.88 ± 297.57	0.060	299.60 ± 136.20	524.47 ± 19.37	0.016

BMC, bone mineral content; BMD, bone mineral density; TMC, tissue mineral content; TMD, tissue mineral density; NS, not significant.

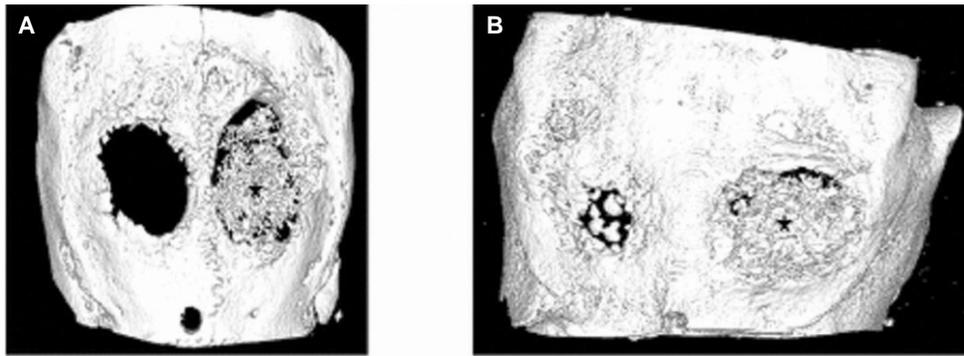


Fig. 2. Microscopic computerized tomography. A: The defect size was smaller in the experimental group (asterisk) than in the control group at 6 weeks. B: Most bony defects were filled by new bone at 12 weeks. The relative size of the defects was small in the experimental group (asterisk).

평균 골 내 무기질 함량은 26.17 mg이었다($P = 0.027$). 또한 6주경 실험군의 평균 골 내 무기질 밀도(BMD)는 324.59 mg/mm^3 이며 대조군에서 173.03 mg/mm^3 이었다($P = 0.044$). 평균 조직 내 무기질 함량(TMC)은 19.5068 mg 이며 대조군의 평균 조직 내 무기질 함량은 10.52 mg 이었다($P = 0.010$). 또한 6주경 실험군의 평균 조직 내 무기질 밀도(TMD)는 508.88 mg/mm^3 이며 대조군에서 273.55 mg/mm^3 이었다($P = 0.06$). 6주경 결과에서 평균 조직 내 무기질 밀도를 제외한 다른 측정값들은 통계학적으로 유의한 차이를 보였다($P < 0.05$).

그리고 12주경 실험군의 평균 골 내 무기질 함량(BMC)은 51.21 mg 이며 대조군의 평균 골 내 무기질 함량은 33.47 mg 이었다($P=0.010$). 또한 12주경 실험군의 평균 골 내 무기질 밀도(BMD)는 323.39 mg/mm^3 이며 대조군에서 197.75 mg/mm^3 이었다($P = 0.012$). 평균 조직 내 무기질 함량(TMC)은 21.45 mg 이며 대조군의 평균 조직 내 무기질 함량은 13.31 mg 이었다($P = 0.008$). 또한 12주경 실험군의 평균 조직 내 무기질 밀도(TMD)는 524.47 mg/mm^3 이며 대조군에서 299.60 mg/mm^3 이었다($P = 0.016$). 12주경 결과에서 모든 측정값들은 통계학적으로 유의성을 보였다($P < 0.05$). 또한 실험군에서 보다 많은 신생골 형성으로 인해 잔존하는 골 결손부의 크기는 대조군보다 작았다(Fig. 2).

고 찰

본 연구에서 골 결손부의 회복을 위한 scaffold로써 실크 파이브로인 파우더와 수산화인회석을 사용하였다. 사용된 재료인 수산화인회석과 실크 파이브로인은 각각 골재생에 대한 효과가 있는 것으로 기존 논문에서 이미 밝혀졌으므로 본 실험에서는 나노실크가 수산화인회석을 위한 scaffold로

써의 역할에 적합여부에 대한 가능성을 알아보는데 중점을 두었다. 실크 파이브로인은 누에고치로부터 생산되며 조직 scaffold로 널리 사용되어 왔다.¹²⁻¹⁵ 실크 파이브로인의 장점은 값이 저렴하며 생체 친화성이 좋고, 분해속도가 느리며 가공에 대한 성형성이 좋다.^{18,19} 이러한 장점들은 결합 조직의 재생에 있어서는 매우 중요하다. 그러나 느린 분해속도의 경우는 골 재생에 있어서는 역효과를 일으킬지도 모른다. 또한 염증반응을 일으키기도 한다.^{20,21} 성공적인 골 재생을 위해서는 분해속도와 염증 반응의 조절이 필수적이다. 골 이식재료써의 실크의 한계를 극복하기 위해 실크 구조를 수정해왔다. 실크 파이브로인 필름에 RGD 펩타이드를 화학적으로 결합시켰을 때, *in vitro*상 골 형성이 현저하게 개선되었다.^{22,23} 실크 파이브로인에 BMP-2와 nano-hydroxyapatite의 첨가는 골 형성을 현저히 증가시킬 수 있다.¹⁴ Stem cell을 얹은 실크 파이브로인 필름 scaffold와 함께 이식한 경우 신생 골 형성을 보였다.²⁴ 비록 실크 파이브로인이 alkaline phosphatase의 작용을 유도하지만, 구조상 다른 수정 없이는 신생골을 유도할 만한 충분한 골형성 능력을 가지지는 않는다.²⁵

실크 파이브로인은 고분자 물질이며 *in vivo*상 각종 효소에 의해 분해된다.²⁶ 실크 분해시기에 대한 연구 보고는 다양하며, 신장 강도를 완전히 소실되는데 2년이 걸린다.²⁷ 실크는 분해되는 동안, 림프구와 다핵거세포 매개 면역반응을 일으킨다.^{20,21} 생체 내 분해 과정은 고분자 물질을 작은 조각으로 만드는 과정이다.²⁶ 본 연구에서 사용한 실크 파이브로인 조각은 조직학적 검사 결과 6주 내 완전히 분해되는 것을 보였다. 고분자 형태의 실크와 달리 면역반응 또한 최소로 나타났다. 따라서 잠재적 면역반응 및 골유도 능력에 대한 측면에서, 본 연구에서 사용한 실크 파이브로인 파우더는 고분자 형태의 실크보다 골 재생을 위한 scaffold로서 더 적절하다. 그러나 파우더 형태이기 때문에 와동 형태의

결손부에 사용하기에는 제한적이다. 골 재생을 위한 scaffold가 가져야 할 이상적인 생체 분해성은 여전히 논쟁의 여지가 있다. 너무 빠른 분해는 신생골 형성을 유도하지 못할 것이며 반면에 너무 느린 분해는 이식재가 차지한 공간에서의 골 형성을 억제시키기 때문이다.

본 연구의 조직 시편에 대한 μ -CT 분석 결과에서 6주경 실험군의 BMC, BMD, TMC 측정값들은 대조군보다 현저히 높게 나타났다($P < 0.05$, Table 1). TMD 측정값 또한 대조군과 실험군에서 높은 결과를 나타냈으나 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$). 반면에 12주경 실험군의 BMC, BMD, TMC, TMD 측정값들 모두는 대조군보다 현저히 높게 나타났으며 통계학적으로 유의한 차이도 6주경에 비해서 더 현저하게 나타났다($P < 0.05$, Table 1). 또한 실험군에서 더 많은 신생골 형성으로 인해 잔존하는 골 결손부의 크기는 대조군보다 작았다(Fig. 2).

실크 파이버로인의 생체분해성은 실크 파이버로인 조각의 길이(분자량)에 의해 결정된다.²⁶⁾ 그러나, 생체 분해성과 골 유도 능력과의 상관관계는 여전히 불분명하다. 이와 관련한 추가적인 연구가 필요할 것이다.

지금까지의 골이식 실험의 평가는 주로 조직절편을 이용하여 이루어졌다. 하지만 조직절편을 만드는 것은 시간이 많이 걸리며, 정밀한 기술이 필요하고, 조직의 한 단면만을 평가할 수 있다는 단점이 있다. 즉, 삼차원적인 주변골 평가는 불가능하다. 그래서 새로운 평가방법으로 μ -CT를 이용하는 방법이 소개되었다.²⁸⁾ μ -CT를 이용하는 방법은 비파괴적일 뿐만 아니라, 삼차원적 분석을 가능하게 하고, 원하는 평면으로 재구성할 수 있다. 또한 조직절편을 만드는데 걸리는 시간을 절약할 수 있으며, 기존의 medical CT에 비해 약 100배 정도의 해상도를 가질 수 있다. 따라서 μ -CT는 현재 의학 분야와 치의학 분야에서 많이 이용되고 있다.²⁹⁻³⁶⁾

본 실험에서의 μ -CT 분석 결과, 대조군보다 실험군에서의 보다 많은 신생골 형성을 확인할 수 있었다. μ -CT 분석을 이용한 기존의 연구들의 안정성 및 신뢰성으로 보았을 때, 실크 파이버로인은 골 결손부를 위한 골이식재료로써 유용할 것으로 사료된다.

결 론

골 결손부로의 전기 방사된 나노실크-수산화인회석 복합체의 이식은 이식을 시행하지 않은 대조군과 비교해서 골 결손부의 성공적인 회복을 보여준다. 실크는 값이 싸며 비교적 쉽게 처리하여 이용 가능한 재료로 수산화인회석과의 복합 이식은 다양한 골 결손부의 재건을 위한 새로운 골 이식재료로서의 가능성을 보여주었다. 그러나 본 연구에서는 얻은 결과는 토끼 실험상에서 이루어진 것이므로 인간에게 바

로 적용시킬 수 없으므로 추가적인 연구가 필요할 것이다. 또한 μ -CT는 비파괴적이고 빠르고 신생골의 삼차원적 관찰이 가능하다는 점에서 앞으로 골이식술 이후 관찰에 중요한 방법이 될 것으로 생각된다.

References

1. Wagner JR : A 3 1/2-year clinical evaluation of resorbable hydroxylapatite osteogen (HA Resorb) used for sinus lift augmentations in conjunction with the insertion of endosseous implants. *J Oral Implantol* 17 : 152, 1991.
2. Wagner JR : A clinical and histological case study using resorbable hydroxyapatite for the repair of osseous defects prior to endosseous implant surgery. *J Oral Implantol* 15 : 186, 1989.
3. Costantino PD, Friedman CD : Synthetic bone graft substitutes. *Otolaryngol Clin North Am* 27 : 1037, 1994.
4. Prokic B, Carranza FA, Kenny EB *et al* : Comparative clinical study of porous hydroxyapatite and decalcified freeze-dried bone in human periodontal defects. *J Periodontol* 61 : 399, 1990.
5. Papay FA, Morales L, Ahmed OF *et al* : Comparison of ossification of demineralized bone, hydroxyapatite, Gelfoam, and bone wax in cranial defect repair. *J Craniofac Surg* 7 : 347, 1996.
6. Bucholz RW, Carlton A, Holmes RE : Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitute. *Orthop Clin North Am* 18 : 323, 1987.
7. Radin SR, Ducheyne P : Effect of bioactive ceramic composition and structure on *in vitro* behavior. III : porous versus dense ceramics. *J Biomed Mater Res* 28 : 1303, 1994.
8. Redey SA, Razzouk S, Rey C *et al* : Osteoclast adhesion and activity on synthetic hydroxyapatite, carbonated hydroxyapatite, and natural calcium carbonate : relationship to surface energies. *J Biomed Mater Res* 45 : 140, 1999.
9. Laurencin CT, Ambrosio AMA, Borden MD *et al* : Tissue engineering : orthopedic applications. *Annu Rev Biomed Eng* 01 : 19, 1999.
10. Kaplan DL, Fossey S, Viney C *et al* : Self-organization (assembly) in biosynthesis of silk fibers—a hierarchical problem. In : Aksay IA, Baer E, Sarikaya M, Tirrell DA, editors. Hierarchically structured materials. *Mater Res Symp Proc* 255 : 19, 1992.
11. Bai J, Ma T, Chu W *et al* : Regenerated spider silk as a new biomaterial for MEMS. *Biomed Microdevices* 8 : 317, 2006.
12. Craig CL, Riekel C : Comparative architecture of silks, fibrous proteins, and their encoding genes in insects and spiders. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 135 : 721, 2003.
13. Lorena M, Robert F : Silk implants for the healing of critical size bone defect. *Bone* 37 : 688, 2005.
14. Hirano Y, Mooney DJ : Peptide and protein presenting materials for tissue engineering. *Adv Mater* 16 : 17, 2004.
15. Dal Pra I, Freddi G, Minic J *et al* : De novo engineering of reticular connective tissue *in vivo* by silk fibroin nonwoven materials. *Biomaterials* 26 : 1987, 2005.
16. Horan RL, Antle K, Collette AL *et al* : *In vitro* degradation of silk fibroin. *Biomaterials* 26 : 3385, 2005.
17. Gosline JM, Demont ME, Denny MW : The structure and properties of spider silk. *Endeavour* 10 : 37, 1986.

18. Stitzel J, Liu J, Lee SJ *et al* : Controlled fabrication of a biological vascular substitute. *Biomaterials* 27 : 1008, 2006.
19. Murugan R, Ramakrishna S : Development of nanocomposites for bone grafting. *Compos Sci Technol* 65 : 2385, 2005.
20. Rossitch E Jr, Bullard DE, Oakes WJ : Delayed foreign-body reaction to silk sutures in pediatric neurosurgical patients. *Childs Nerv Syst* 3 : 375, 1987.
21. Soong HK, Kenyon KR : Adverse reactions to virgin silk sutures in cataract surgery. *Ophthalmology* 91 : 479, 1984.
22. Zhao J, Zhang Z, Wang S *et al* : Apatite-coated silk fibroin scaffolds to healing mandibular border defects in canines. *Bone* 45 : 517, 2009.
23. Li C : Electrospun silk-BMP-2 scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 27 : 3115, 2006.
24. Wang X, Kim HJ, Xu P *et al* : Biomaterial coating by stepwise deposition of silk fibroin. *Langmuir* 21 : 11335, 2005.
25. Cai K, Yao K, Lin S *et al* : Poly(D, L-lactic acid) surfaces modified by silk fibroin : effects on the culture of osteoblast *in vitro*. *Biomaterials* 23 : 1153, 2002.
26. Cao Y, Wang B : Biodegradation of silk biomaterials. *Int J Mol Sci* 10 : 1514, 2009.
27. Postlethwait RW : Tissue reaction to surgical sutures. In: Dumphy JE, van Winkle W, editors. *Repair and regeneration*. New York, McGraw-Hill, 1969. p. 263.
28. Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt AM *et al* : The direct examination of three-dimensional bone architectures *in vitro* by computed tomography. *J Bone Miner Res* 4 : 3, 1989.
29. Kapadia RD, Stroup GB, Badger AM *et al* : Applications of micro-CT and MR microscopy to study pre-clinical models of osteoporosis and osteoarthritis. *Technol Health Care* 6 : 361, 1998.
30. Verna C, Bosch G, Dalstra M *et al* : Healing patterns in calvarial bone defects following guided bone regeneration in rats. A micro-CT scan analysis. *J Clin Periodontol* 29 : 865, 2002.
31. Patel V, Issever AS, Burghardt A *et al* : Micro-CT evaluation of normal and osteoarthritic bone structure in human knee specimens. *J Orthop Res* 21 : 6, 2003.
32. Balto K, Muller R, Garrington DC *et al* : Quantification of periapical bone destruction in mice by micro-computed tomography. *J Dent Res* 79 : 35, 2000.
33. Giesen EB, van Eijden TM : The three-dimensional cancellous bone architecture of the human mandibular condyle. *J Dent Res* 79 : 957, 2000.
34. Van Oosterwyck H, Vander SJ, Van der PG *et al* : The use of microfocus computerized tomography(micro-CT) as a new technique to characterized bone tissue around oral implants. *J Oral Implantol* 26 : 5, 2000.
35. Sennerby L, Wennerberg A, Pasop F : A new microtomographic technique for non-invasive evaluation of the bone structure around implants. *Clin Oral Implants Res* 12 : 91, 2001.
36. Bergmans L, Van Cleynenbreugel J, Wevers M *et al* : A methodology for quantitative evaluation of root canal instrumentation using microcomputed tomography. *Int Endod J* 34 : 390, 2001.

저자 연락처

우편번호 210-702
강원도 강릉시 지변동 123번지
강릉원주대학교 치과대학 구강악안면외과학교실
계 준 영

원고 접수일 2010년 04월 15일
게재 확정일 2010년 05월 24일

Reprint Requests

Jun-Young Kye
Department of Oral and Maxillofacial Surgery,
College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University
123 Jibyun-Dong Gangneung Gangwon 210-702 Korea
Tel: +82-33-640-3140 Fax: +82-33-640-3113
E-mail: kye-19@hanmail.net

Paper received 15 April 2010
Paper accepted 24 May 2010