

rhBMP-2를 이용한 조직공학: 치과 임플란트에서의 골 재건

울프 비케소* · 올리버 하니쉬** · 마이클 데니쉬 마이어* · 조규성*** · 김종관***

*템플대학 치과대학 치주과, 미국

**아헨대학 메디칼센터 보철과, 독일, 템플대학 방문교수

***연세대학교 치과대학 치주과, 치주조직재생연구소, 한국

I. 서론

치과 임플란트의 외과적 식립은 일차적으로 보철 디자인, 이차적으로 치조골의 형태와 질에 의해 좌우된다. 치조용선이 변형되어 있는 경우, 보철적으로 적합한 치과 임플란트 식립이 어려워지는 경우가 흔히 있을 수도 있다. 그래서, 보철수복에 적절하도록 치과 임플란트를 식립하기 위해 치조용선의 재건이나 증강이 필요할 때도 있다. 여기에서는 임플란트 치과학에서 골 재건에 대해 광범위하게 평가하고 시행된 기술들에 대한 문제들을 검토하고자 한다. 그 중 두개안면, 치조, 임플란트 주위 결손에 대해 rhBMP-2(recombinant human bone morphogenetic protein-2)를 적용한 실험과 초기 임상연구에 관한 토론에 초점을 맞출 것이다.

II. 현재의 기술

골격 재건의 최상의 치료 혹은 gold standard인 자가골 이식은 골형성능이라는 이점이 있지만 골 재형성으로 인해 조직 부피와 형태에 바람직하지 못한 변화를 일으킬 수 있을 뿐 아니라 그 공여부가 한정적이라는 점 때문에 그 적용이 제한된다(Weikel과 Habal 1977, Marx와 Morales 1988). 보통 골전도성 생체재료라 여겨지는 탈회 혹은 비탈회 동결건조 동

종골이나 이종골 광물질 등의 동종골, 이종골은 두개안면 골격 재건에 아주 적합한 것으로 생각된다. 요약하면, 생체재료의 골전도성은 골재생 조직으로부터 결손부로 골이 성장해 들어올 수 있도록 유도하며, 여기에는 주로 재료의 형태, 다공성, 생체활성도 등이 영향을 미친다.

동종골의 효용성과 안전성에 대한 많은 연구들이 행해졌다(Glowacki 1992, Malinin 1992, Mellonig 1996). 동결건조 탈회 동종골은 치조골 재생을 뒷바침하는 것 같다(Pinholt 등 1990, Simion 등 1994, Brugnami 등 1999). 그러나 그런 골 이식물의 임상적 적절함, 골전도성, 재생능을 의심하게 되는 증거들이 계속 나오고 있다. 간단히 말해서, 실험동물과 임상증례의 장골, 두개골, 치조골을 포함하는 여러 모형에서 동결건조 탈회 동종골을 평가한 조직학적 연구들은 이런 재료들의 단기적 혹은 장기적 효과의 증거를 거의 제공하지 못하고 있다(Aspenberg 등 1988, Pinholt 등 1994, Becker 등 1994, Caplanis 등 1997, 1998a,b, Kim 등 1998a,b).

이종골 무기질은 골에 합체되지만 매우 느린 속도로 흡수되므로 새로 형성되는 골과 그 임상적 적절함에 영향을 미친다(Skoglund 등 1997, Berglundh와 Lindhe 1997, Young 등 1999, Merckx 등 1999). 게다가 많은 사람들이 동종 혹은 이종 재료가 어떤 선택적 치료에 대해 적합하지 않다고 생각한다. 따라서

면역반응 유발 가능성, 질환 전염의 가능성, 불확실한 결과로 인하여 동종, 이종골의 수용과 효용성은 제한을 받고 있다.

골전도성을 가진 것으로 보이는 도재나 중합체로 만든 골 이식재의 골 재건 시의 사용이 제시되어 왔다. 칼슘을 기본으로 한 도재(calcium-based ceramics), 생체활성 유리(bioactive glass), 합성중합체(synthetic polymer) 등 다양한 흡수성 혹은 비흡수성 생체재료는 치조골 재건에 사용할 수 있도록 시판되고 있다. 도재나 중합체로 만들어진 골 이식재 선택 시 임상가는 이 재료들의 기계적, 생물학적 특성을 신중하게 고려해야 한다. 이식물질의 초기 흡수로 인해 신생골 형성에 방해가 되어서는 안된다. 또한, 지연흡수로 인해 골유지에 나쁜 영향을 주어서도 안 될 것이다. 동종, 이종 혹은 도재, 중합체 등 어떤 매식용 생체재료라도 창상공간을 폐쇄하고 생체의 골 형성능을 지연 혹은 말살시켜 골형성을 방해하는 일은 없으며 장기적으로도 하중을 견디는 능력이나 치과 임플란트 골유착 등 골의 기계적 특성을 저하시키지도 않는다는 것이 중요한 것 같다.

Karring과 다른 연구자들이 치유기간동안 조직을 분리시켜주는 수동적 차단막을 이용해서 치조골 재생과 치주 부착의 재생능을 연구해 왔다(Karring 등 1993, Buser 등 1994).

이 술식은 조직유도재생술(Guided tissue regeneration; GTR) 혹은 골유도재생술(Guided bone regeneration; GBR)이라 불려왔다. 이 연구가 조직공학의 기본적인 학설 중 하나로 대표된다: 특별한 조직으로부터의 재생을 허용하도록 공간을 제공, 유지하고 반흔 형성을 막는 것이다. 많은 생체재료의 개발과 수술 방법의 개발로 GTR/GBR은 오늘날 널리 받아들여지고 있다. 그러나 일반적으로 공간유지가 가능한 결손부에만 임상적으로 적용되며 창상의 안정성 유지의 어려움 때문에 많은 사용이 제한되고 있다(Buser 등 1994). 게다가, 창상폐쇄의 부적합, 기계적 실패 등으로 차단막이 노출되면 수술이 잘된 결손부에서도 재생력은 떨어진다(Lekholm 등 1993, Trombelli 등 1997).

III. BMP 조직공학의 원칙

1. 역사적 조망(Historical Perspectives)

Levander(1938)는 BMP의 존재를 가장 먼저 시사한 사람 중 하나다. 그는 생 골편을 피하나 근육 내 매식했을 때 신생골이 형성됨을 증명하였다. 그는 또한 골형성이, 골막의 존재 혹은 골내나 골 표면 세포와 관계없이 형성됨을 설명하였다. 대신에 그는 매식된 골편 주위의 간엽조직 유래 세포가 신생골을 형성함을 발견했다. Levander는, 따라서 매식된 골 재료가 신생골 형성을 촉진할 수 있기 위해서는 용해성 자극제를 포함해야만 한다고 제안했다. Lacroix(1954)는 후에, 토끼 장골 연골판의 알콜성 추출물이 골형성을 촉진함을 보여준 Levander의 발견을 확인했다. 이 현상은 “Osteogenin”이라 불리는 연골 내 물질(들) 때문이라 여겨졌다.

Urist는 이 연구를 계속 실행해서 1956년에 토끼와 쥐의 근육내에 무처리 탈회 골 기질을 매식한 후 얻은 표본에서 신생연골과 신생골이 형성됨을 보고하였다. 또한, 자신이 후에 BMP(Bone Morphogenetic Protein)라 명명한 골유도 물질이 이 관찰결과의 원인이 된다는 가설을 세웠다. 그는 그 후 단백질 추출물이 탈회골로부터 분리 가능하며 이 단백질이 신생골 형성의 원인이 됨을 밝혔다(Urist 등 1982, Mizutani와 Urist 1982).

BMP 연구에 있어 중요한 발달은 전기영동법을 이용하여 소 골에서 30kD의 단백질군을 식별해 낸 것이었다(Wang 등 1988). Wozney 등(1988)은 최초로 재조합 BMP(BMP 1~BMP 4)를 만들어 냈으며 그 생화학적, 생물학적 특성과 아미노산 배열을 알아냈다. BMP-5에서 BMP-8까지의 BMP가 분리되었고 그 특성도 파악됐다. 현재 20종류 이상의 BMP가 알려져 있다.

2. rhBMP-2와 골유도능력(rhBMP-2 and Osteoinduction)

어떤 재료의 골유도능 평가에는 원래 골이 존재하

는 곳과 멀리 떨어진 전위(ectopic site)에서의 골형성 여부가 포함된다. 전통적으로, BMP 추출물의 골형성능은 생쥐의 근육 내 매식하거나 쥐의 피하 매식으로 평가해 왔다(Urist 1965, Sampath와 Reddi 1981). BMP는, 매식부위에서 단백질을 함유할 수 있고 신생골이 형성될 수 있는 물리적 공간을 제공할 수 있는 매개체와 혼합한다. rhBMP-2에 의한 골유도는 일련의 복합적 과정으로 이루어진다. 이 과정은 미분화 간엽 세포(undifferentiated mesenchymal cell)에 의한 rhBMP-2의 여과와 연골모세포(chondroblast)로의 분화로 이루어진다. 연골모세포는 연골조직이 제거될 때까지 증식과 광물화(endochondral ossification)를 계속한다. 골형성은 연골 제거 시 혹은 고농도의 rhBMP가 사용될 때는 더 일찍 관찰되는 것 같다. 이 일련의 과정은 연골성 광물화를 통해 골유도가 일어남을 암시한다. 그러나, 골형성은 고농도 rhBMP-2 매식 시 빠르게는 5일 후부터도 관찰될 수 있으며 이는 중간의 연골 단계 없이 간엽에서 직접 골형성이 일어남을 암시한다(Li 등 1996). 즉, 충분히 높은 농도의 rhBMP-2는 막성 골화(intramembranous ossification)를 통해 골형성을 유도할 수 있는 것 같다.

제조합 기술은 많은 BMP들의 생물학적 활성 측정을 가능케 했다. BMP-2, 4, 5, 6, 7은 쥐의 전위 모형(ectopic model)에서 비슷한 수준의 골유도를 보이는 골유도성 물질임을 많은 연구들이 보여주었다(Sampath 등 1992, Gitelman 등 1994). 예외적으로 BMP-5는 비슷한 정도의 골형성을 유도하기 위해 상당히 더 높은 농도로 사용되어야 하는 것 같다. 대부분의 BMP들이 동물 모형에서 연골 혹은 골의 형성을 유도한다고 하지만 모든 BMP가 그런 양상을 보이는 것은 아니다. 예를 들어, GDF6와 GDF7(BMP12와 BMP13)은 힘줄, 인대와 비슷한 치밀 결합 조직형성을 유도함이 관찰되었다(Wolfman 등 1997).

BMP 골유도와 연관된 세포과정이 실험실 연구에서 시험되어 왔다. 이 연구들에서는 간엽세포가 성숙 후 기원 세포이든 발생기 기원 세포이든 간에 그 간엽세포를 rhBMP-2로 처리함으로써 간엽세포가 연골모세포나 골모세포로 분화됨을 지적했다

(Sampath 등 1992, Thies 등 1992). BMP가 주로 분화 인자로 작용하긴 하나, 어떤 종류의 세포에 대해서는 세포분열 촉진 및 화학주성도 가지고 있음을 많은 연구에서 밝혀냈다. BMP의 유사분열 촉진은 주로 두개세포(calvarial cells) 배양 시 증명되었다. BMP에 의한 골모세포의 화학주성은 BMP 매식 부위로 골모세포를 불러들이는 것을 돕는다.

3. 성장 인자와의 상승 작용(Synergy with Growth Factors)

BMP와 성장 인자와의 상승작용에 대한 증거는 골재형성 과정과 골절 치유 모형에서 관찰될 수 있을 것이다. 예를 들어, 골의 흡수, 재형성, 회복 과정 중에 그 과정을 지속시키고 완결시키는 tumor necrosis factor- β (TNF- β)와 다른 성장 인자들과 함께 BMP가 유리되면 골형성 과정이 시작되는 것으로 보인다(Urist 등 1967). Si 등(1998)은 transforming growth factor- β (TGF- β)와 rhBMP-2의 혼합 시 rhBMP-2 단독 사용 시보다 쥐에서의 전위(ectopic) 골형성을 더 증진시킴을 밝혀냈다.

Wozney(1992)는 BMP-2 매식 시 연골과 골의 형성이 동시에 일어날 수 있음을 보고했으며 이는 BMP-2가 골형성 단계 중 여러 단계에 효과적일 수 있음을 암시하는 것이다. 많은 BMP들이 그 주요 아미노산 배열에 유사성을 가짐을 생각해 볼 때, BMP가 발생기와 태아기 후에 협동적으로 작용함을 추측해 볼 수 있다. 그러나, 몇 가지 BMP들이 골에서 분리되었다 할지라도 어떤 BMP간의 조합이 약리학적 상승작용에 관여하는지는 아직 불확실하다.

4. rhBMP-2의 생산(Production of rhBMP-2)

위에서 논의되었듯이, BMP는 골에서 자연 발생되는 물질이다. BMP는 간엽세포와 같은 원시 중립 간세포(primitive, uncommitted stem cell)가 골형성에 기여하는 연골모세포나 골모세포 등과 같은 특별한 세포로 분화되는 것을 촉진시키는 인자로 작용한다는 특성을 가진다. BMP 연구에서 초기에 해결할 수

없었던 문제는 충분한 양의 BMP를 얻을 수 없다는 것이었다. 사체의 뼈로부터 얻어지는 BMP는 골 중량에 비해 매우 적은 양이었으나(골 1kg 당 0.1 μ g의 BMP) 이제 곧 약리학의 발달로 인해 대량의 재조합 BMP(recombinant BMP)를 생산할 수 있게 될 것이다.

rhBMP-2 등의 재조합 BMP는 유전공학을 이용해 제조된다. 그 과정은 원하는 단백질을 표시할 유전자의 복제(cloning)로부터 시작된다. 단백질 합성기에 복제된 messenger ribonucleic acid(mRNA) 식별로 유전자를 분리한다. 일단 mRNA가 분리되고 나면 역전사 효소(reverse transcriptase)로 알려진 효소를 이용해 DNA를 역전사하는 것이 가능하다. 이렇게 역전사된 것이 바로 단백질 합성 시 이용될 상보적 DNA(complementary DNA; cDNA)이다(Figure 1).

5. rhBMP-2의 안전성과 효용 가치(Safety and Efficacy of rhBMP-2)

생물학적 활성을 지닌 어떤 제제든 그 적용을 고려할 때는 항상 그 제제가 종양 발생을 유도하거나 촉진하지 않는지에 대해 관심을 가져야 한다. 몇 가지 골육종을 포함한 여러 세포 유형에 대한 rhBMP-2의 효과가 널리 시험되었으며 세포성장에도 영향을 밝히지 못했다. rhBMP-2에 노출된, 인간의 초기 종양세포를 이용한 연구에서도 의미있는 어떤작용을 발견할 수 없었으며 오히려 rhBMP-2는 종양세포 증식을 억제하거나 아무런 영향도 미치지 않았다(Soda 등 1998). 종양세포의 성장을 촉진하지 않는다는 이런 결과들을 통해 rhBMP-2가 성장인자라기보다는 분화인자임을 알 수 있다.

현재 rhBMP-2의 임상적 적용방법에는 흡수성 교원질 해면 운반체(absorbable collagen sponge carrier; ACS)에 rhBMP-2를 적서 rhBMP-2/ACS 형태로 매식하는 방법이 있다. 환자에서 rhBMP-2/ACS의 안전성과 효용을 검사한 일련의 연구들이 있다(Boyne 등 1997, Howell 등 1997). 어떤 연구에서도 rhBMP-2/ACS의 외과적 매식 후 부작용을 발견하지 못했다.

IV. 치조/임프란트 주위와 두개안면 적용에 대한 rhBMP-2의 임상전 연구

1. 임상전 모형의 역할(Role of Preclinical Models)

골재건 치료 효과의 안전성에 대한 지속적 연구를 위해 임상 적용과 도입 전에 생물학적 잠재성, 효용, 안전성을 평가하는 임상전 연구가 필요하다. 어떤 치료방법을 평가할 때는 먼저 특색화가 잘 된 설치류를 이용한 선별모형(screening model)에서 생물학적 잠재력과 안전성을 평가한다(Wang 등 1990, Zellin 등 1995). 생물학적 잠재력을 가지며 안전하다고 보여지는 치료에 대해서는 개과 동물이나 인간 외 영장류 등 중형동물에서의 임계크기결손 모형(critical-size defect model)을 임상전 모형으로 선택하여 임상적 잠재력과 효용을 평가한다. 임계크기결손이란 부가적 처치 없이 재건수술만 했을 때는 자발적으로 재생될 수 없는 결손을 말한다(Schmitz와 Hollinger 1986). 또한 임계크기결손은 외과적으로 매식된 재료에 의해 유도되는 임상적으로 타당한 재생을 허용해야 한다(Wikesjö 등 1999a). 우리는 치주 재건 치료에 대한 임계크기의 치조골연상 치주결손(critical-size supraalveolar periodontal defect model)을 개발하고 그 특성을 규정했다(Wikesjö 등 1994). 이 모형은 치주재건에 대한 어떤 치료방법의 효과 유무를 알아내는 “리트머스 시험”이 될 수 있는 것 같다(Wikesjö 등 1999a). 그 후 우리는 치조골연상 치주결손 모형을 변형시켜 치조골 재생과 치과 임프란트 골유착을 연구하고 임계크기의 치조골연상 임프란트 주위 결손모형(critical-size supraalveolar peri-implant defect model)(Figure 2)의 특성을 규정했다(Caplanis 등 1997, Wikesjö 등 1999a).

어떤 치료가 생물학적 잠재력과 안전성을 가지고 있다는 것과 특정 중형 동물 모형에서 그 효과가 임상적 타당성을 지닌다는 것이 확립되고 나면 그런 성공적인 치료 방법은 임상 모형 상에서 시험되게 될 것이다. 그 임계크기에 관계없이 성공적으로 치료하기 어렵다고 생각되는 임상적 결손을 중형동물

에서 만들고 여러 치료법들을 적용하여 그 효과를 평가한다. 두개안면 골격에서의 rhBMP-2의 사용을 평가하기 위한 임상모형의 예로는 하악 분절 결손(Toriumi 등 1992, Boyne 1996), 구개열 결손(Mayer 등 1996, Boyne 등 1998), 치아 맹출(Steinberg 등 1999), 임플란트 식립을 위한 상악동하 증강술(Nevins 등 1996, Hanisch 등 1997a), 치조융선 결손(Cochran 등 1999, Barboza 등 1999), 임플란트 주위염 결손(Hanisch 등 1997b) 등이 있다. 앞으로 임계 크기모형과 임상 모형에서 rhBMP-2의 효과를 평가한 연구들을 소개할 것이다.

2. rhBMP-2 송달 체계(rhBMP-2 Delivery Systems)

운반체의 이용은 결손부에서 BMP의 송달, 유지, 점진적 유리를 위해 필수적인 것 같다. 성공적인 운반체는 혈관과 세포 내로 침윤되어 BMP가 분화 인자로 작용하도록 해야 한다. 이상적인 운반체는 재생 가능해야 하며, 면역 반응을 유발해서는 안되며 결손부 내로 적용이 용이해야 하고 공간을 제공하여 형성될 골의 외형을 유지할 수 있도록 해야 한다. 또한, 골유도가 시작되어 확실히 골형성이 이루어지고 나면 완전히 흡수되어야 한다.

다양한 생체재료가 BMP 운반체로 시험되어 왔다. 여기에는 소의 교원질(Hanisch 등 1997a,b, Cochran 등 1999, Wikesjö 등 1999b), 탈회골기질(Gerhart 등 1993, Giannobile 등 1998), 수산화인회석(Ripamonti 등 1992, Gerr 등 1993), calciumphosphate(Oda 등 1997), tricalciumphosphate(Urist 등 1987), 수산화인회석-교원질 복합체(Watanabe 등 1990, Asahina 등 1997), α -hydroxy acids 중합체(Miyamoto 등 1993, Miki 등 1994, Sigurdsson 등 1995, Mayer 등 1996), 티타늄(Kawai 등 1993, Wang 등 1993, 1994, Jin 등 1994, Herr 등 1996) 등이 있다.

우리는 치조골연상 치주결손모형에서 rhBMP-2의 몇 가지 운반체를 평가해 왔다(Sigurdsson 등 1996). 운반체에는 동종 동결건조 탈회골기질(decalcified bone matrix; DBM)과 자가 혈액, 소의 탈유기화 골

기질(Bio-Oss, Osteohealth)과 자가 혈액, 흡수성 I형 소 교원질 해면(absorbable collagen sponge; ACS, Integra Life Sciences), 자가 혈액과 DL-poly-lactic acid 과립(PLA; Drilac, THM Biomedical), 50:50 polyglactic acid-polyglycolic acid(PLGA) 공중합체 미세절편(BEP, Genetics Institute)과 수성 글리세롤 내 6% carboxymethyl cellulose 등이 있다. 요약하여, 6마리 beagle dog에서 대측성(contralateral) 악결손을 무작위로 선정하여 각 결손부에 rhBMP-2/DBM, rhBMP-2/ACS, rhBMP-2/Bio-Oss, rhBMP-2/PLA, rhBMP-2/BEP, DBM 단독으로(대조군) 매식했다. 8주의 치유 기간 후에 매식부의 블록 절편을 조직학적으로 평가하여 양적, 질적으로 분석했다.

rhBMP-2 복합체 매식 후 치료결과는 운반체에 따라 달라진다. Bio-Oss 매개체는 임상적으로 다루기 쉽지만 그 절편이 8주 후까지 대부분 흡수되지 않고 남아 확실히 골형성을 억제한다(Figure 3). 골 생성은 오히려 Bio-Oss가 매식된 바깥쪽에서 달걀 껍질처럼 관찰되었다. 흡수되지 않은 Bio-Oss 기질이 골질을 저하시키고 매식 부위의 부피를 예측할 수 없다는 점으로 인해 운반체로는 적당하지가 않다.

PLA와 PLGA 두 가지 중합체는 임상적으로 다루기가 어렵다. PLGA 매개체는 수용 가능한 골질을 보이지만 골의 양은 다양하며 이는 아마 이 재료가 공간을 잘 유지하지 못하기 때문인 듯 하다. PLA 매개체는 골의 질과 양 두 가지 면에서 모두 양호하지 못하다(Figure 4). PLA 매식 후에는 골소주 형성이 거의 없어 쉽게 흡수된다. 거품형 대식세포가 매식 부위에 집중적으로 축적되어 PLA는 분절화(fragmentation)되고 결국 생체분해된다. 이런 특성으로 인해 이들 중합체는 BMP 운반체로나 골 형성을 지지해주는 용도로 바람직하지 못하다.

DBM/혈액 운반체 조합은 임상적으로 다루기 쉽다. 형태 부여가 쉽고 그 형태가 잘 유지된다. 그러나 조직학적 평가 시 골형성이 과도해서 원래의 매식부위 바깥으로까지 확장되는 것이 보였다(Figure 5). 신생골의 질은 인접한 고유의 골과 비슷하다. 따라서 DBM 매개체는 Bio-Oss, PLGA, PLA보다 더 많은 장점을 가진다. 그러나 충분한 양을 공급하기 어렵

고 감염원을 전파할 수 있다는 점 때문에 그 임상적 적용은 제한될 수 있다.

결국 ACS는 이 모형에서 이상적인 매개체의 요구 조건을 충족시킬 수 없다. 임상적으로 다루기는 쉽지만 공간 유지 능력이 부족하여 골형성 시 제한 요소가 된다.

평가된 어떤 운반체도 모든 면에서 만족스럽지는 못하며 운반체에 대한 요구 조건이 적응증별로 다를 수 있으므로 더 나은 운반체를 찾고자 하는 연구가 계속되어야 한다. 한 예로 정형외과적 적용 시에는 골형성 지지능에 더해 기계적 안정성을 초기에 획득하는 재료가 좋다. 두개안면 복합체에 적용 시에는 조작 가능한 재료가 좋다. 비흡수성이거나, 그 흡수 양상이 골형성이나 유지에 부정적 영향을 미침으로써 하중에 견디는 능력이나 치과 임플란트 골유착 등 골의 생체역학적 특성을 저하시킬 수 있는 재료들은 좋은 운반체라 할 수 없다.

3. 치조용선 결손(Alveolar Ridge Defects)

치조용선 결함 때문에 보철적으로 적합한 임플란트 식립이 제한되는 경우가 종종 있다. 이 때는 임플란트 식립 전이나 식립 시에 치조용선 증강술을 시행해야 한다. 이 section에서는 치조용선 결손부에 rhBMP-2를 외과적으로 매식했을 때의 효과에 대해 평가한 임상전 연구를 소개하고자 한다.

Barboza 등(1999)은 성견 잡종에서 하악 제 4소구치를 발치하여 양측성으로 만성 3급의 치조용선 결손을 만들었다. 그 중 한 쪽에는 rhBMP-2/ACS를 다른 한 쪽에는 rhBMP-2/ACS와 수산화인회석 과립과의 복합체(HA; Osteograft/LD; rhBMP-2 0.2mg/ml)를 외과적으로 매식했다. 매식 12주 후 개를 안락사시키고 블록 생검하여 조직학적으로 관찰했다. rhBMP-2/ACS 매식부에서는 제한된 치조용선 증강이 보였다($0.6 \pm 0.7\text{mm}$). 반대로 rhBMP-2/ACS/HA 매식부에서는 임상적으로 적절한 정도로 치조용선이 증강되었다($5.5 \pm 1.6\text{mm}$). 하지만, rhBMP-2/ACS/HA 매식부에는 골소주가 매우 적었고 대부분의 HA 절편들이 섬유성 결합조직으로 둘러싸여 있었다. HA

절편과 관련된 골 대사 활성은 보이지 않았다. 이 결과를 통해 3급 치조용선 결손에서 rhBMP-2/ACS만으로는 치은-치조점막 판막에 눌러 효과가 별로 없음을 알 수 있다. rhBMP-2에 HA를 섞으면 임상적으로 적절한 정도로 치조용선 결손이 증강되지만 생성된 골의 질은 치과 임플란트를 식립할 정도가 되지 못한다(Figure 6).

Jovanovic 등(1999)은 GBR을 위한 차단막을 사용한 경우와 사용하지 않은 경우, rhBMP-2의 외과적 식립 후 치조용선 결손부에서의 골형성을 비교했다. 7마리의 개(Hound dog)에서 하악 치조용선에 $15 \pm 10\text{mm}$ 의 안장 형태 결손을 외과적으로 만들고(한 1/4 부위당 2개씩) 무작위로 선정하여 실험군으로 rhBMP-2/ACS 매식, rhBMP-2/ACS 매식과 함께 GBR 시행(rhBMP-2/GBR; rhBMP-2 0.2mg/ml)하고, 대조군으로 ACS만 매식한 경우, GBR 시행한 경우, 수술만 한 경우로 나누어 처치했다. GBR에는 ePTFE 막(WL Gore & Associates)을 이용했다. 수술 12주 후 개를 안락사시키고 결손부를 조직학적으로 평가했다. rhBMP-2/GBR이나 GBR을 시행한 16부위 중 7부위에서 창상 치유 실패라는 술 후 합병증이 있었다(Figure 7). 조직학적 평가 시 rhBMP-2/ACS나 rhBMP-2/GBR 시행 부위에서는 평균 101%의 골 충전율을 보였고, 창상 치유 실패가 일어나지 않은 GBR 시행 부위에서는 92%의 골 충전율을 보였다. 대조군에서는 평균 60%였다. 골소주 밀도는 rhBMP-2/ACS 나 GBR 시행 또는 대조부위에서 50-57% 범위였다. rhBMP-2/GBR 시술부의 골 밀도는 34%였는데 이는 큰 간극이 있었기 때문이다. 이상의 결과로부터, rhBMP-2/ACS는 공간 유지가 가능한 치조 용선 결손부 치료에 효과적이며 GBR 후 나타날 수 있는 창상 실패의 가능성도 배제할 수 있는 치료임을 알 수 있다. rhBMP-2와 GBR의 병용은 추가적인 가치가 없다.

우리는 rhBMP-2를 매식하고 임플란트를 식립한 후 치조용선 증강과 골유착을 평가했다(Sigurdsson 등 1999). 5마리의 beagle dog에서 양측성으로 임계 크기인 5-6mm의 치조골연상 치조 결손을 만들고 rhBMP-2/DBM/혈액 혼합(rhBMP-2 0.2mg/ml)을 매

식했다. 술 후 8주 째와 16주 째에 비배복형 10mm 치과 임프란트(Straumann/ITI)를 새로 형성된 치조용선 상에 식립했다(Figure 8). 술 후 24주에 개를 안락사시켰다. rhBMP-2로 유도된 골과 임프란트 계면의 90% 정도를 검사했다. 8주와 16주의 치유기 후에 유도된 골과 기존의 고유골에서 비슷한 정도의 골-임프란트 접촉면(55% 정도)을 보였다. 유도된 골과 기존의 고유골 사이에 유의성있는 골 밀도 차이는 없었다. 이 연구는 rhBMP-2를 동종 동결건조 DBM/자가 혈액 운반체와 함께 이용 시 치조용선 결손 증상에 임상적으로 유용하며 치과 임프란트 조기 식립도 가능함을 보여주었다.

위의 관찰로부터 rhBMP-2로 골형성을 유도할 때는 공간 유지가 매우 중요함을 알 수 있다. 공간 유지가 안되는 치조골연상 결손, 3급 치조용선 결손부에는 공간 유지를 위해 rhBMP-2와 다른 재료와의 혼합이 필요하다. 반대로, 안장형 결손, 골연하 임프란트 주위 결손처럼 공간 유지가 쉬운 치조용선 결손부에서는 rhBMP-2를 운반체와 혼합하는 것이 생체역학적 관점에서 더 좋지 못하다. rhBMP-2에 기존의 GBR 술식을 함께하는 것도 더 나은 결과를 얻는 데 도움이 안된다. GBR은 창상 실패 위험성을 증가시키고 rhBMP-2의 재생능을 저하시킨다(Linde와 Hedner 1995, Jovanovic 등 1999, Cochran 등 1999).

4. 치조 임프란트 주위 결손(Alveolar Peri-implant Defects)

원인 인자의 존재 뿐 아니라, 임프란트 주위 결손의 크기와 형태가 재생 술식의 결과에 상당한 영향을 미친다. 아마도 임프란트 주위 결손에서 예상되는 결과는 치주 결손에서와 같을 것이다. 3벽성 골연하 치주 결손은 1벽성이나 2벽성 혹은 치조골연상 치주 결손보다 더 잘 재생되는 특성이 있다. 이처럼 치주 결손과 비슷한 면도 있지만 임프란트 주위 결손은 치조골보다 재생잠재력이 더 적은 것 같고, 치주 결손부보다 더 잘 이환되는 것 같다(Wikesjö 등 1999a).

우리는 5마리의 beagle dog에 만들어진 임계 크기

의 치조골연상 임프란트 주위 결손 모형에서 rhBMP-2가 골형성에 어떤 영향을 미치는지 평가했다(Sigurdsson 등 1997). 10mm 길이의 골 내 치과 임프란트를 감소된 무치악 하악 용선에 5mm까지만 식립하고 5mm는 치조골연상 부위에 노출되도록 했다. 그런 다음 rhBMP-2/ACS(rhBMP-2 0.4mg/ml)와 buffer/ACS를 대측성으로 임프란트 주위 결손부에 매식했다. 4개월의 치유 기간이 주어졌다. rhBMP-2를 넣은 임프란트 주위 결손부에서는 대조군(0.5±0.3mm)에 비해 노출된 임프란트 표면을 따라 상당량의 골 형성 증가(4.2±1.0mm)를 보였다. 그러나 골-임프란트 접촉은 기존의 고유 치조골 부위와 비교했을 때 rhBMP-2로 처치한 결손부에서 더 적었다.

Cochran 등(1999)은 환상형 골연하 임프란트 주위 결손에 rhBMP-2만 매식하거나 거기에 추가로 GBR을 시행했을 때 골형성을 시험했다. 6마리의 여우사냥개에서 무치악인 하악에 골 내 치과 임프란트 주변으로 골 내 결손(4mm)을 만들었다. rhBMP-2/ACS(rhBMP-2 0.2mg/ml)나 buffer/ACS를 결손부에 매식했다. 그 중 절반에는 ePTFE 차단막을 이용한 GBR을 추가로 시술했다. GBR 여부에 관계없이 매개체만으로 처치한 결손부를 대조군으로 했다. 술 후 4주와 12주 째에 개를 희생했다. rhBMP-2 매식 부위에서는 제한적이기는 하나 골 충전(47% 대 34%), 골-임프란트 접촉(32% 대 16%), 골 면적(8% 대 5%) 등이 대조군에 비해 증가했다. 4주 째에는 GBR 시행 부위에서만 신생골 형성이 관찰되었다. 그러나 12주 째에는 골 면적과 골-임프란트 접촉 등에서 GBR 시행 부위와 시행하지 않은 부위 사이에 유의한 차이가 없었다. GBR 대조군은 GBR 비시행 대조군과 비교 시 골 면적과 골-임프란트 접촉면 등에서 차이가 없었다.

이상의 결과로 보아 rhBMP-2는 치조골연상 및 골 내 임프란트 주위 결손부에서 임상적으로 타당한 정도로 골형성을 자극하는 것 같다. 그러나, 결손 재건은 불완전하며 그 정도 또한 다양하여 임상 적용 전에 더 많은 개발이 필요하리라 여겨진다. 주목할 만한 것은, GBR은 rhBMP-2 처치 부위에서 확실히 창상 성숙을 지연시킨다는 것이며 rhBMP-2를 처치하

지 않은 대조군에서 덜 효과적인 것 같다는 것이다.

5. 임플란트 주위염에 의한 결손(Peri-implantitis Defects)

Hanish 등(1997b)은 인간 외 영장류를 이용한 임상모형상에서 임플란트 주위염 결손부에 rhBMP-2/ACS를 매식하였을 때 골 충전과 치과 임플란트의 골유착이 다시 일어남을 관찰했다. 4마리의 어른 붉은털원숭이에서 상, 하악 구치부에 식립한 지 11개월 이상된, HA 코팅된 치과 임플란트에 그 주변을 결찰하여 임플란트 주위염 병소를 만들었다. 유도된 임플란트 주위염 병소는 인간에서의 진행된 임플란트 주위염이나 복합, 환상형, 수직-수평 결손 형태에서와 그 미생물 조성이 비슷했다(Hanisch 등 1997a). 외과적으로 결손부의 피사 조직을 제거하고 임플란트 표면을 깨끗하게 만든 후 rhBMP-2/ACS를 매식하고 창상 봉합했다. 상하악 각각 1/4부위별로 대측성으로 대조군을 선정하여 buffer/ACS를 매식했다. rhBMP-2 처치부에서의 수직적 골재생은 대조군에 비해 3배나 많았다. rhBMP-2 처치한 결손은 확실히 골유착이 다시 이루어졌으나 그 백분율은 기존의 고유골에서의 골유착 백분율보다는 분명히 낮았다.

이상의 결과로 보아, 임플란트 주위 결손의 재건과, 별로 복잡하지 않은 치조 결손부 재건에 rhBMP-2의 외과적 매식은 임상적으로 유용하다(Figure 9).

6. 상악동하 증강술(Subantral Augmentation)

상악동하 증강에 이용할 골 유도제 연구 시에는 모형 선택이 중요한 것 같다. 임상전 모형과 실제 인간의 상악동하 공간과의 형태학적 차이-상악동 벽의 근접도, 상악동과 치조융선 관계 등-로 인해 임상전 모형에서의 관찰 내용을 그대로 임상적으로 적용할 수는 없다.

우리는 인간 외 영장류 모형을 이용하여 rhBMP-2 매식 후 상악동하 공간에서의 골형성과 치과 임플란트 골유착을 평가했다(Hanisch 1997a). 원숭이(Cynomolgus monkey)의 골형성 속도가 인간과 유

사하여 임상전 모형으로 선택하였다(Simmons 1967, Schenk 1991). 원숭이 4마리에서 양측성으로 상악동하 증강술을 시행하고 한 쪽에는 rhBMP-2/ACS(rhBMP-2 0.4mg/ml), 다른 쪽에는 buffer/ACS를 상악동하 공간에 외과적으로 매식하였다. 3달의 치유 기간 후 증강된 상악동하 공간과 상악동 전방 고유골(대조군)에 치과 임플란트를 식립하였다. 3달의 치유 기간 후 조직학적으로 분석했을 때 대조군에 비해 rhBMP-2 처치 부위에서 더 높은 골 높이를 보였다($6.0 \pm 0.3\text{mm}$ 대 $2.6 \pm 0.3\text{mm}$). 골 밀도와 골-임플란트 접촉은 rhBMP-2 증강부위, 대조군 부위, 기존의 고유골 모두 비슷했다. 이 연구를 통해, rhBMP-2의 외과적 매식 후 상악동하 공간에는 상당한 수직적 골 획득이 이루어져 치과 임플란트 매식 및 골유착을 가능하게 한다는 것을 알 수 있었다(Figure 10).

비슷한 종류의 연구로, Nevins 등(1996)은 스위스 자넨(Alpine-Saenen) 염소 6마리에서 rhBMP-2가 상악동 부위의 골 성장을 자극함을 증명하였다. 양측성으로 상악동저 거상술을 하고 한 쪽에는 rhBMP-2/ACS(rhBMP-2 1.7mg 함유), 다른 한 쪽에는 buffer/ACS(대조군)를 매식했다. 술 후 4, 8, 12주에 각각 동물을 희생했다. 3개월 후의 CT에서 대조군은 방사선불투과성이 변하지 않거나 감소한 데 비해 rhBMP-2 매식부에서는 방사선불투과성이 증가한 것으로 보였다. 조직학적 관찰 시 대조군에 비해 유의성있는 양의 신생골이 보였으며 정상적인 골형성 과정을 보였다. 임상적으로는 독성, 면역 반응 등 rhBMP-2/ACS 매식에 대해 어떤 심각한 부작용도 관찰되지 않았다. 이 탐험적 연구는 상악동 증강술 시 골 형성을 자극하는 데 rhBMP-2가 안전하게 사용될 수 있음을 암시한다.

7. 선천적, 외상성 골결손(Congenital and Traumatic Bone Gap Defects)

Torium 등(1994)은 rhBMP-2가 3cm의 임계크기 하악분절 결손(segmental defects)에서 골 재건을 유도할 수 있을 것이라 보고했다. 개과 동물에 그런 결손을 만들고 하악에 강철 재건판으로 고정한 후 3부류

로 나누어 각각 비활성 동종 탈회골기질 운반체(allogenic decalcified bone matrix carrier)에 rhBMP-2, 비활성 골 기질 단독(대조군), 똑같은 술식을 아무 재료도 매식하지 않고 시행했다. 술 후 3, 6개월에 방사선 사진, 조직학적, 생체 역학적 검사로 턱 절편을 평가했다. rhBMP-2 매식한 동물에서 2.5개월 후에 재건 판을 제거할 수 있었고, 이 때 견고하고 딱딱한 골이 결손부를 가로질러 형성되어 있었다. 대조군에서는 섬유성 반흔 조직으로 채워져 있었다. 이 연구는 하악절편 결손 재건 시에 rhBMP-2가 임상적으로 적합한 잠재력을 가져 안정된 저작 기능을 제공함을 보여 준다.

Boyne(1996)은 인간 외 영장류를 이용, 하악에 큰 분절 결손을 만들어 골 재건에 대한 rhBMP-2의 용량별 효과를 평가했다. 2.2cm의 전측 골 절단술 후 orthopaedic mesh로 절편을 제자리에 유지시켰다. 그 중 한 쪽에는 rhBMP-2/ACS를 0.2mg/ml로 다른 쪽에는 0.8mg/ml로 매식했다. 치밀골로 봤을 때 저농도, 고농도 모두에서 완전한 재생이 일어났다. 조직 형태학적 분석 시 석회화 골 기질도 저-고농도 사이에 유의한 차이가 없었다.

Mayer등(1996)은 개의 상악열(Maxillary cleft) 결손에서 rhBMP-2와 자가골을 평가했다. 외과적으로 결손을 만들고 4달 후 rhBMP-2/PLGA/자가 혈액(rhBMP-2 0.2mg/ml), PLGA/자가 혈액, 자가골 매식 및 수술만 한 대조군으로 나누었다. 치유 기간은 2개월과 4개월이었다. 술 후 2개월에 자가골 매식 부위에서는 다른 치료들에 비해 골형성이 더 증가된 양상을 보였다. 그러나 4개월에는 각기 다른 치료들간에 차이가 없었으며 다만 PLGA 대조군에서 다른 치료군에 비해 더 적은 골형성을 보였다. 아무 처치 없이 수술만 한 대조군에서도 상당한 재생이 있었기 때문에 저자는 인간 외 영장류 임상 모형이 구개열에서의 치료법 평가에 더 타당한 것 같다고 결론내렸다.

Boyne등(1988)은 구개열 결손의 재건시 rhBMP-2와 자가 미립자 골수 해면골(particulate marrow cancellous bone; PMCB)을 비교했다. 성장기의 붉은털 원숭이(Rhesus Monkey)에서 상악열을 본 뜬 임계

크기 결손을 외과적으로 만들었다. 3달 후 결손부에 rhBMP-2/ACS(rhBMP-2 0.4mg/ml), buffer/ACS, PMCB를 각각 매식했다. 재건술 후 3달째에 동물을 안락사시켰다. rhBMP-2 매식부에서는 PMCB 매식부보다 더 잘 석회화된 골 기질이 관찰되었으며 실험 상태에 따른 유의성있는 차이는 없었다. Buffer/ACS 매식부에서는 최소량의 새로운 골형성이 관찰되었다. 이 실험을 통해 rhBMP-2를 자가골 이식과 함께하는 것이 구개열 결손 재건에 효과적임을 알 수 있다.

임상전 모형에서 두개안면 골격의 선천적 혹은 외상성 결손부에 대한 rhBMP-2 적용 시 그 결과가 성공적이라는 것은 rhBMP-2가 이런 경우에서 현재 가장 좋다고 여겨지는 자가골 이식을 대체할 수 있는 실험 가능한 대안이 될 수 있음을 암시한다.

V. 치조 적용 시 rhBMP-2를 이용한 임상적 연구들

1. 현재의 조망(Current Perspective)

현재 2가지 재조합 BMP 분자가 임상적 시도로 시험되고 있다; rhBMP-2(Genetics Institute, Sofamor-Danek Group, Yamanouchi Pharmaceutical)와 rhOP-1(Creative BioMolecules, Stryker Biotech). 초기 연구의 목적은 rhBMP-2 매식의 안전성 확립, 이 매식술의 임상적 조작성 평가, 가장 적절한 평가 기술을 결정하여 임상적으로 보다 널리 적용될 수 있게 하는 것이다.

2. 상악동 골 증강술(Bone augmentation of the Maxillary Sinus)

상악동저의 골 증강에 대한 rhBMP-2/ACS(rhBMP-2 0.4mg/ml) 사용을 평가한 한 최근 논문이 있다(Boyne등 1999). 12명의 환자에서 행해진 비무작위, open-label 연구의 목적은 rhBMP-2의 국소적, 전신적 안전성을 평가하고 rhBMP-2/ACS 혼합의 조작성을 검사하며 상악동 내 유도된 골을 가장 정확하게

평가할 수 있는 방사선학적 방법을 결정하는 것이었다.

이 연구에서 rhBMP-2/ACS 혼합은 임상적으로 다루기 쉬우며 어떤 부작용도 없다고 보고했다. 환자에서 rhBMP-2, 소와 인간의 교원질에 대한 항체를 평가했다. rhBMP-2나 인간의 교원질에 대한 항체는 검출되지 않았다. 한 환자에서 소의 교원질에 대한 항체가 낮은 역가로 검출되었다. 술 후 16주 후에 12명의 환자 모두 상악동 내에 방사선학적으로 밀도 높은 골이 채워져 있는 것이 보였다. rhBMP-2를 이용한 상악동 증강술 후에 그 부위에 치과 임플란트를 식립했다. Core biopsy하여 매식 부위를 조직학적으로 평가할 수 있었다. 생검은 16주의 치유 기간이 지나고 각기 다른 시점에서 골 내 임플란트가 매식될 때 행해졌다. 극성 광학 현미경(polarized light microscopy) 관찰 시 미성숙 층판골 부분에서 활발한 골 재형성이 관찰되었다. 더 늦게 얻어진 시편일수록 대체로 더 많은 층판골이 보였으며 더 많은 골모세포와 골수 성분들이 보였다. 어떤 치료에서도 잔존 ACS는 없었다.

3. 치조용선 보존(Alveolar Ridge Preservation)

두 번째 임상연구에서는 rhBMP-2/ACS 혼합을 발치 후 치조용선 증강이나 보존에 사용했다(Howell 등 1997). 우선은 rhBMP-2/ACS 혼합 후 단기적 안전성과 기술적 용이성 평가 및 골 변화를 측정하는 다양한 도구들을 평가했다. 총 12명의 환자에서 6명에는 발치 부위의 치조용선 보존을 위해 rhBMP-2/ACS를 사용하고 6명에서는 용선 증강 술식에 rhBMP-2/ACS를 이용했다. rhBMP-2 농도는 0.4mg/ml였지만 부위별, 환자별로 사용된 양이 달라 총 rhBMP-2 용량은 환자마다 달랐다. 발치 후 용선 보존술에 rhBMP-2를 사용한 경우 rhBMP-2 용량과 골 높이 사이에는 통계학적으로 유의한 선형 용량-반응 관계가 있었다(Figure 11). 이 연구에서는 방사선학적으로 변화를 평가하는 데 몇 가지 어려움이 있음을 알아냈으며 CT가 골 높이, 폭, 밀도 평가에 가장 믿을 수 있는 방법이라고 결론내렸다.

저자는 rhBMP-2/ACS는 임상적 사용시 기술적 용이성과 안전성을 가지며 인간의 발치와 골 치유에 좋은 효과를 가진다고 결론내렸다. 이처럼 비교적 간단한 술식으로 발치와의 골 치유를 상당히 증진시킬 수 있으며 궁극적으로 골 내 치과 임플란트 식립에 도움이 된다는 것을 생각할 때 이런 발견은 중요한 것이다.

이 연구들은 임상적 시도에 대한 토대를 제공하고 있다. rhBMP-2/ACS의 임상적 사용에 대한 초기 결과는 꽤 유망하며 편리한 사용법과 rhBMP-2/ACS 적용 후 생물학적 변화를 가장 잘 평가할 수 있는 상태에 대한 임상적 연구가 이루어지면 임플란트 치과학에 새로운 시대가 열릴 것이다. rhBMP-2 기술을 이용한 골형성 촉진능은 임상적으로 곧 실현될 것이며 치과계에 큰 반향을 일으킬 것이다.

VI. 결론

임상전 및 임상 연구에 의한 검토를 통하여 rhBMP-2가 두개안면 골격 결손부에서 정상 생리학적 골형성을 유도함을 알게 되었다. 신생골은 주위 인접 고유골과 그 특성이 유사하여 치과 임플란트 식립과 골유착도 허용할 수 있다. 명백히 rhBMP-2의 골형성 능력은 운반체의 선택과 부위에 따라 좌우된다. 흡수성 교원질 해면(Absorbable collagen sponge; ACS)을 이용한 rhBMP-2 매식은 공간 유지가 어려운 곳에서도 그 효과를 나타낸다. 도제 및 중합체로 이루어진 생체 재료는 rhBMP-2의 골형성 유도를 확실히 방해하는 것 같다.

VII. 참고문헌

1. Asahina I, Watanabe M, Sakurai N, Mori M, Enomoto S. Repair of bone defect in primate mandible using a bone morphogenetic protein (BMP)-hydroxyapatite-collagen composite. *J Med Dent Sci* 1997; 44:63-70.
2. Aspenberg P, Lohmander LS, Thorngren KG. Failure of bone induction by bone matrix in

- adult monkeys. *J Bone Joint Surg* 1988; 70:625-627.
3. Barboza EP, Leite Duarte ME, Geolás L, Sorensen RG, Riedel R, Wikesjö UME. Ridge augmentation following implantation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in the dog. *J Periodontol* 1999; in press.
4. Becker W, Becker BE, Caffesse R. A comparison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. *J Periodontol* 1994; 65:1128-1133.
5. Berglundh T, Lindhe J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 1997; 8:117-124.
6. Boyne PJ. Animal studies of the application of rhBMP-2 in maxillofacial reconstruction. *Bone* 1996; 19:83S-92S.
7. Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, Triplett G, Lazaro E, Lilly LC, Alder M, Nummikoski P. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997; 17:11-25.
8. Boyne PJ, Nath R, Nakamura A. Human recombinant BMP-2 in osseous reconstruction of simulated cleft palate defects. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1998; 36:84-90.
9. Brugnami F, Then P, Moroi H, Kabani S, Leone CW. GBR in human extraction sockets and ridge defects prior to implant placement: clinical results and histologic evidence of osteoblastic and osteoclastic activities in DFDBA. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999; 19:259-267.
10. Buser D, Dahlin C, Schenk RK. Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. Berlin: Quintessence Books; 1994.
11. Caplanis N, Sigurdsson TJ, Rohrer MD, Wikesjö UME. Effect of allogeneic, freeze-dried, demineralized bone matrix on guided bone regeneration in supra-alveolar peri-implant defects in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12:634-642.
12. Caplanis N, Lee MB, Zimmerman GJ, Selvig KA, Wikesjö UME. Effect of allogeneic freeze-dried demineralized bone matrix on guided tissue regeneration in dogs. *J Periodontol* 1998a; 69:851-856.
13. Caplanis N, Lee MB, Zimmerman GJ, Selvig KA, Wikesjö UME. Effect of allogeneic freeze-dried demineralized bone matrix on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment in dogs. *J Clin Periodontol* 1998b; 25:801-806.
14. Cochran DL, Schenk R, Buser D, Wozney JM, Jones AA. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulation of bone formation around endosseous dental implants. *J Periodontol* 1999; 70:139-150.
15. Gerhart TN, Kirker-Head CA, Kriz MJ, Holtrop ME, Hennig GE, Hipp J, Schelling SH, Wang E. Healing segmental femoral defects in sheep using recombinant bone morphogenetic protein. *Clin Orthop* 1993; 293:317-326.
16. Giannobile WV, Ryan S, Shih M.-S, Su DL, Kaplan PL, Chan TCK. Recombinant human osteogenic protein-1(OP-1) stimulates periodontal wound healing in Class III furcation defects. *J Periodontol* 1998; 69:129-137.
17. Gitelman SE, Kobrin MS, Ye JQ, Lopez AR, Lee A, Derynck R. Recombinant Vgr-1/BMP-6 expressing tumors induce fibrosis and endochondral bone formation in vivo. *J Cell Biol* 1994; 126:1595-1609.
18. Glowacki J. Tissue response to bone-derived implants. In Habal MB, Reddi AH (eds) *Bone Grafts & Bone Substitutes*. Philadelphia: WB Saunders Company 1992:84-92.
19. Hanisch O, Tatakis DN, Rohrer MD, Wöhrle PS,

- Wozney JM, Wikesjö UME. Bone formation and osseointegration stimulated by rhBMP-2 following subantral augmentation procedures in non-human primates. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997a; 12:785-792.
20. Hanisch O, Tatakis DN, Boskovic MM, Rohrer MD, Wikesjö UME. Bone formation and reosseointegration in peri-implantitis defects following surgical implantation of rhBMP-2. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997b; 12:604-610.
 21. Hanisch O, Cortella CA, Boskovic MM, James RA, Slots J, Wikesjö UME. Experimental peri-implant tissue breakdown around hydroxyapatite-coated implants. *J Periodontol* 1997c; 68:59-66.
 22. Herr G, Wahl D, Küsswetter W. Osteogenic activity of bone morphogenetic protein and hydroxyapatite composite implants. *Ann Chir Gynaecol Suppl* 1993;207:99-107.
 23. Herr G, Hartwig CH, Boll C, Küsswetter W. Ectopic bone formation by composites of BMP and metal implants in rats. *Acta Orthop Scand* 1996; 67:606-610.
 24. Howell TH, Fiorellini J, Jones A, Alder M, Nummikoski P, Lazaro M, Lilly L, Cochran D. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997; 17:124-139.
 25. Jin Y, Wang X, Liu B, White FH. Early histologic response to titanium implants complexed with bovine bone morphogenetic protein. *J Prosthet Dent* 1994; 71:289-294.
 26. Jovanovic SA, Hunt DR, Bernard GW, Spiekermann H, Wozney JM, Wikesjö UME. Bone reconstruction following implantation of rhBMP-2 with guided bone regeneration membranes in canine alveolar ridge defects. *Clin Oral Implants Res* 1999; submitted.
 27. Karring T, Nyman S, Gottlow J, Laurell L. Development of the biological concept of guided tissue regeneration - animal and human studies. *Periodontol* 2000 1993; 1:26-35.
 28. Kawai T, Mieki A, Ohno Y, Umemura M, Kataoka H, Kurita S, Koie M, Jinde T, Hasegawa J, Urist MR. Osteoinductive activity of composites of bone morphogenetic protein and pure titanium. *Clin Orthop* 1993; 290:296-305.
 29. Kim C-K, Cho K-S, Choi S-H, Prewett A, Wikesjö UME. Periodontal repair in dogs: Effect of allogeneic freeze-dried demineralized bone matrix implants on alveolar bone and cementum regeneration. *J Periodontol* 1998a; 69:26-33.
 30. Kim C-K, Kim H-Y, Chai J-K, Cho K-S, Moon I-S, Choi S-H, Sottosanti JS, Wikesjö UME. Effect of a calcium sulfate implant with calcium sulfate barrier on periodontal healing in 3-wall intrabony defects in dogs. *J Periodontol* 1998b; 69:982-988.
 31. Lacroix P. Recent investigations on the growth of bone. *Nature* 1945; 156:576.
 32. Lekholm U, Becker W, Dahlin C, Becker BE, Donath K, Morrison E. The role of early versus late removal of GTAM membranes on bone formation at oral implants placed into immediate extraction sockets. An experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 1993; 4:121-129.
 33. Levander G. A study of bone regeneration. *Surg Gynecol Obstet* 1938; 67:705-714.
 34. Li XJ, Toriumi D, Turek TJ, Seeherman H, Francois C, Desai D, O'Grady K, Wozney JM. Healing of a canine critical sized mandibular defect with an rhBMP-2/collagen implant involves de novo bone formation without chondrogenesis. *J Bone Min Res* 1996; 11:Abstract #T319 (page S379).
 35. Linde A, Hedner E. Recombinant bone morphogenetic protein-2 enhances bone healing, guided by osteopromotive e-PTFE membranes: an

- experimental study in rats. *Calcif Tissue Int* 1995; 56:549-553.
36. Malinin TI. Acquisition and banking of bone allografts. In Habal MB, Reddi AH (eds) *Bone Grafts & Bone Substitutes*. Philadelphia: WB Saunders Company 1992:206-225.
 37. Marx RE, Morales MJ. Morbidity from bone harvest in major jaw reconstruction: a randomized trial comparing the lateral anterior and posterior approaches to the ilium. *J Oral Maxillofac Surg* 1988; 46:196-203.
 38. Mayer M, Hollinger J, Ron E, Wozney J. Maxillary alveolar cleft repair in dogs using recombinant human bone morphogenetic protein-2 and a polymer carrier. *Plast Reconstr Surg* 1996; 98:247-259.
 39. Mellonig JT. Bone allografts in periodontal therapy. *Clin Orthop* 1996; 324:116-125.
 40. Merckx MA, Maltha JC, Freihofer HP, Kuijpers-Jagtman AM. Incorporation of three types of bone block implants in the facial skeleton. *Biomaterials* 1999; 20:639-645.
 41. Miki T, Harada K, Imai Y, Enomoto S. Effect of freeze-dried poly-L-lactic acid discs mixed with bone morphogenetic protein on the healing of rat skull defects. *J Oral Maxillofac Surg* 1994; 52:387-391.
 42. Miyamoto S, Takaoka K, Okada T, Yoshikawa H, Hashimoto J, Suzuki S, Ono K. Polylactic acid-polyethylene glycol block copolymer. A new biodegradable synthetic carrier for bone morphogenetic protein. *Clin Orthop* 1993; 294:333-343.
 43. Mizutani H, Urist MR. The nature of bone morphogenetic protein(BMP) fractions derived from bovine bone matrix gelatin. *Clin Orthop* 1982; 171:213-223.
 44. Nevins M, Kirker-Head C, Nevins M, Wozney JM, Palmer R, Graham D. Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996; 16:8-19.
 45. Oda S, Kinoshita A, Higuchi T, Shizuya T, Ishikawa I. Ectopic bone formation by biphasic calcium phosphate(BCP) combined with recombinant human bone morphogenetic protein-2(rhBMP-2). *J Med Dent Sci* 1997; 44:53-62.
 46. Ouhayoun J-P. Bone grafts and biomaterials used as bone grafts substitutes. In Lang NP, Karring T, Lindhe J(eds) *Proceedings of the 2nd European Workshop on Periodontology: Chemicals in Periodontics*. Berlin: Quintessence Books 1997:313-358.
 47. Pinholt EM, Bang G, Haanaes HR. Alveolar ridge augmentation by osteoinduction in rats. *Scand J Dent Res* 1990; 98:434-441.
 48. Pinholt EM, Haanaes HR, Donath K, Bang G. Titanium implant insertion into dog alveolar ridges augmented by allogenic materials. *Clin Oral Implants Res* 1994; 5:213-219.
 49. Ripamonti U, Ma SS, van den Heever B, Reddi AH. Osteogenin, a bone morphogenetic protein, adsorbed on porous hydroxyapatite substrata, induces rapid bone differentiation in calvarial defects of adult primates. *Plast Reconstr Surg* 1992; 90:382-393.
 50. Sampath TK, Reddi AH. Dissociative extraction and reconstitution of extracellular matrix components involved in local bone differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:7599-7603.
 51. Sampath TK, Maliakal JC, Hauschka PV, Jones WK, Sasak H, Tucker RF, White KH, Coughlin JE, Tucker MM, Pang RH, et al. Recombinant human osteogenic protein-1 (hOP-1) induces new bone formation in vivo with a specific activity comparable with natural bovine osteogenic protein and stimulates osteoblast proliferation

- and differentiation in vitro. *J Biol Chem* 1992; 267:20352-20362.
52. Schenk RK. Zur Problematik der Knochenersatzstoffe: Histophysiology des Knochenbaus und der Substitution von Knochenerstoffen. In Huggler AH, Kuner EH (eds) *Aktueller Stand beim Knochenersatz. Hefte der Unfallheilkunde*. Berlin: Springer 1991:23-35.
 53. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulo-facial nonunions. *Clin Orthop* 1986; 205:299-308.
 54. Si X, Jin Y, Yang L. Induction of new bone by ceramic bovine bone with recombinant human bone morphogenetic protein 2 and transforming growth factor beta. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1998; 27:310-314.
 55. Sigurdsson TJ, Lee MB, Kubota K, Turek TJ, Wozney JM, Wikesjö UME. Periodontal repair in dogs: Recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration. *J Periodontol* 1995; 66:131-138.
 56. Sigurdsson TJ, Nygaard L, Tatakis DN, Fu E, Turek TJ, Jin L, Wozney JM, Wikesjö UME. Periodontal repair in dogs: Evaluation of rhBMP-2 carriers. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996; 16:525-537.
 57. Sigurdsson TJ, Fu E, Tatakis DN, Rohrer MD, Wikesjö UME. Bone morphogenetic protein-2 enhances peri-implant bone regeneration and osseointegration. *Clin Oral Implants Res* 1997; 8:367-374.
 58. Sigurdsson TJ, Nguyen S, Wikesjö UME. Alveolar ridge augmentation and staged dental implant placement following implantation of a rhBMP-2/DBM/blood construct in dogs. *Clin Oral Implants Res* 1999; in press.
 59. Simmons DJ. Comparative physiology of bone. In Bourne GH(ed) *The Biochemistry and Physiology of Bone*. London: 4th Academic Press 1976:445-516.
 60. Simion M, Dahlin C, Trisi O, Piatelli A. Qualitative and quantitative comparative study on different filling materials used in guided tissue regeneration: a controlled clinical study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1994; 14:198-215.
 61. Skoglund A, Hising P, Young C. A clinical and histologic examination in humans of the osseous response to implanted natural bone mineral. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12:194-199.
 62. Soda H, Raymond E, Sharma S, Lawrence R, Cerna C, Gomez L, Timony GA, von Hoff DD, Izbicka E. Antiproliferative effects of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on human tumor colony-forming units. *Anticancer Drugs* 1998; 9:327-331.
 63. Steinberg B, Chiego DJ Jr, Huizinga PJ, Wozney JM, Wikesjö UME. Effect of a recombinant human bone morphogenetic protein-2 implant on tooth eruption in the cat model. *J Craniofac Surg* 1999; in press.
 64. Thies RS, Bauduy M, Ashton BA, Kurtzberg L, Wozney JM, Rosen V. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 induces osteoblastic differentiation in W-20-17 stromal cells. *Endocrinology* 1992; 130:1318-1324.
 65. Toriumi DM, Kotler HS, Luxenberg DP, Holtrop ME, Wang EA. Mandibular reconstruction with a recombinant bone-inducing factor. Functional, histologic, and biomechanical evaluation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991; 117:1101-1112.
 66. Trombelli L, Kim C-K, Zimmerman GJ, Wikesjö UME. Retrospective analysis of factors related to clinical outcome of guided tissue regeneration procedures in intrabony defects. *J Clin Periodontol* 1997; 24:366-371.
 67. Urist MR. Bone: formation by autoinduction.

- Science* 1965; 150:893-899.
68. Urist MR, Silverman BF, Buring K, Dubuc FL, Rosenberg JM. The bone induction principle. *Clin Orthop* 1967; 53:243-283.
 69. Urist MR, Lietze A, Mizutani H, Takagi K, Triffitt JT, Amstutz J, DeLange R, Termine J, Finerman GA. A bovine low molecular weight bone morphogenetic protein(BMP) fraction. *Clin Orthop* 1982; 162:219-232.
 70. Urist MR, Nilsson O, Rasmussen J, Hirota W, Lovell T, Schmalzreid T, Finerman GA. Bone regeneration under the influence of a bone morphogenetic protein(BMP) beta tricalcium phosphate(TCP) composite in skull trephine defects in dogs. *Clin Orthop* 1987; 214:295-304.
 71. Watanabe M, Harada K, Asahina I, et al. Implantation of hydroxyapatite granules mixed with atelocollagen and bone morphogenetic protein in rat skull defect. In Yamamuro T, Hench LL, Wilson J(eds) *Handbook of Bioactive Ceramics, Calcium Phosphate and Hydroxyapatite Ceramics*, Boca Raton: CRC Press 1990:223-228.
 72. Wang EA, Rosen V, Cordes P, Hewick RM, Kriz MJ, Luxenberg DP, Sibley BS, Wozney JM. Purification and characterization of other distinct bone-inducing factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:9484-9488.
 73. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T, Israel DI, Hewick RM, Kerns KM, LaPan P, Luxenburg DP, McQuaid D, Moutsatos IK, Nove J, Wozney JM. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:2220-2224.
 74. Wang X, Liu B, Jin Y, Xi Y. The effect of bone morphogenetic protein on osseointegration of titanium implants. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51:647-651.
 75. Wang X, Jin Y, Liu B, Zhou S, Yang Y, Xi Y, White FH. Tissue reactions titanium implants containing bovine bone morphogenetic protein: a scanning electron microscopic investigation. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1994; 23:115-119.
 76. Weikel AM, Habal MB. Meralgia paresthetica: A complication of iliac bone procurement. *Plast Reconstr Surg* 1977; 60:572-574.
 77. Wikesjö UME, Kean CJC, Zimmerman GJ. Periodontal repair in dogs: Supraalveolar defect models for evaluation of safety and efficacy of periodontal reconstructive therapy. *J Periodontol* 1994; 65:1151-1157.
 78. Wikesjö UME, Hanisch O, Sigurdsson TJ, Caplanis N. Application of rhBMP-2 to alveolar and periodontal defects. In Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds) *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Chicago: Quintessence Publishing Company 1999a:269-286.
 79. Wikesjö UME, Guglielmoni PG, Promsudthi A, Cho K-S, Trombelli L, Selvig KA, Jin L, Wozney JM. Periodontal repair in dogs: Effect of rhBMP-2 concentration on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment. *J Clin Periodontol* 1999b; 26:392-400.
 80. Wolfman NM, Hattersley G, Cox K, Celeste AJ, Nelson R, Yamaji N, Dube JL, DiBlasio-Smith E, Nove J, Song JJ, Wozney JM, Rosen V. Ectopic induction of tendon and ligament in rats by growth and differentiation factors 5, 6, and 7, members of the TGF-beta gene family. *J Clin Invest* 1997; 100:321-330.
 81. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM, Wang EA. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 1988; 242: 1528-1534.
 82. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Mol Reprod Dev* 1992;

32:160-167.

83. Young C, Sandstedt P, Skoglund A. A comparative study of anorganic xenogenic bone and autogenous bone implants for bone regeneration in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; 14:72-76.

84. Zellin G, Gritli-Linde A, Linde A. Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-degradable membranes. An experimental study in rats. *Biomaterials* 1995; 16:601-609.

사진부도 설명

- Figure 1. Summary of processes involved in the production of rhBMP-2.
- Figure 2. The critical-size supraalveolar peri-implant defect model in the *Beagle* dog.
- Figure 3. Intrasurgery view of a critical-size supraalveolar periodontal defect treated with rhBMP-2/Bio-Oss (A). Photomicrograph from 8 weeks postsurgery. The Bio-Oss particles are poorly resorbed and relatively little new alveolar bone formation can be seen in the region of the Bio-Oss material (B).
- Figure 4. Intrasurgery view of a critical-size supraalveolar periodontal defect treated with a rhBMP-2/DL-Polylactic Acid (DL-PLA) (A). Photomicrograph from 8 weeks postsurgery. Note the relative lack of newly formed bone adjacent to the teeth. Numerous foamy macrophages are associated with the fragmenting PLA bio-material (B).
- Figure 5. Intrasurgery view of a critical-size supraalveolar periodontal defect treated with rhBMP-2 in an allogeneic, freeze-dried demineralized bone matrix (DBM) carrier (A). Photomicrograph from 8 weeks postsurgery. New alveolar bone is observed interposed between few residual DBM particles (B).
- Figure 6. Photomicrograph from 8 weeks postsurgery following placement of rhBMP-2/HA onlay in Class III alveolar ridge defects. Poor quality and quantity of newly formed alveolar bone is apparent within the defect area. Illustration courtesy of Dr. Eliane Porto Barboza.
- Figure 7. Clinical view of an exposed ePTFE membrane following treatment of a large saddle-type alveolar ridge defect with rhBMP-2/ACS and GBR (A). Photomicrograph showing exposure of the membrane with inflammation and necrosis underneath (B). Illustrations courtesy of Dr. Sascha J. Jovanovic.
- Figure 8. Intrasurgery view of a rhBMP-2/DBM onlay in the edentulous posterior mandible (A). Postsurgery view at 8 weeks showing the extent of the ridge augmentation (B). Implant placement into the newly formed ridge at 8 weeks postsurgery. Note a significant vertical and horizontal gain of alveolar bone (C). Photomicrograph from 12 weeks following implant placement. The implant is mainly implanted into rhBMP-2 induced bone. Only the most apical aspect contacts old resident bone (D). Illustrations courtesy of Dr. Thorarinn J. Sigurdsson.
- Figure 9. Clinical view following surgical exposure and debridement of peri-implant lesions (A). Four months following the placement of rhBMP-2/ACS into the peri-implant defects in A. Note the substantial fill of the circumferential defects (B). Photomicrograph from 4 months following implantation of rhBMP-2/ACS into the peri-implant defects in A. Note extensive new bone formation coronal to the base of the defect (indicated by the arrows) approaching the top surface of the implant. Also note evidence of re-osseointegration with the previously pathologically exposed implant surface (C).
- Figure 10. Presurgery CT scan of the maxillary sinuses in a *Cynomolgus* monkey. T and C delineates sites to be treated with rhBMP-2/ACS or ACS alone, respectively (A). Postsurgery (3 months) CT scan following sinus augmentation using a lateral wall approach. Bone formation is increased in the rhBMP-2/ACS implanted site compared to the site receiving ACS alone (B).
- Figure 11. Graph showing the relationship between rhBMP-2 dose in rhBMP-2/ACS constructs and gain in bone height. This clinical study involved the use of rhBMP-2/ACS for ridge preservation following tooth extraction.

사진부도(1)

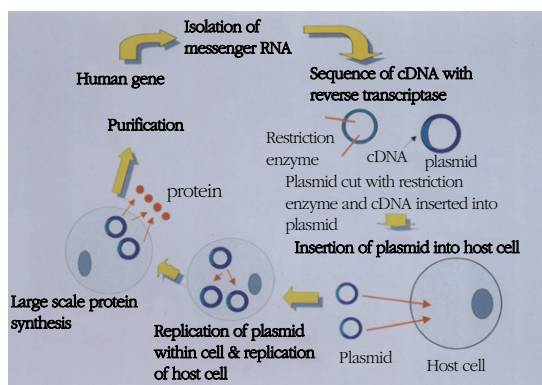


Figure 1



Figure 2

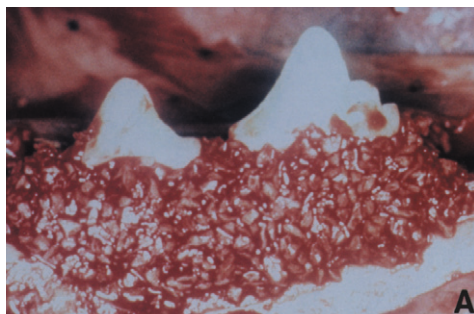


Figure 3

사진부도(Ⅱ)

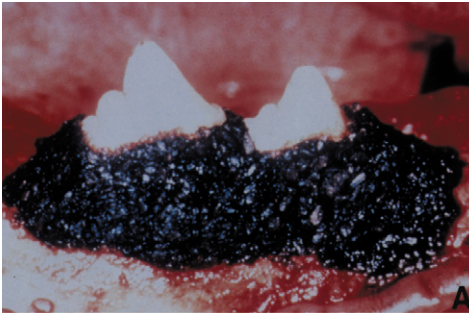


Figure 4

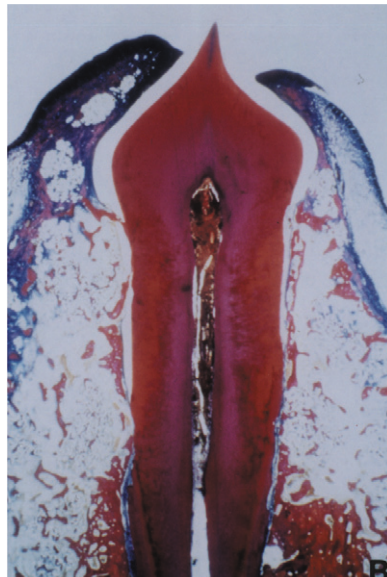


Figure 5

사진부도(Ⅲ)

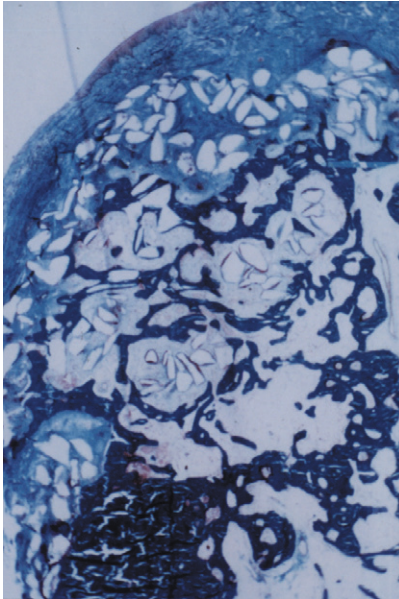


Figure 6

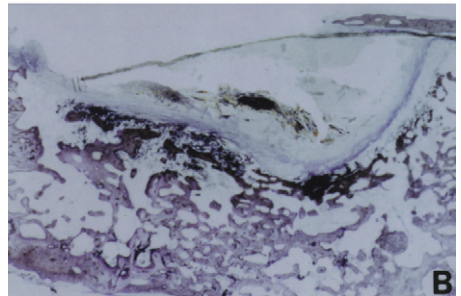
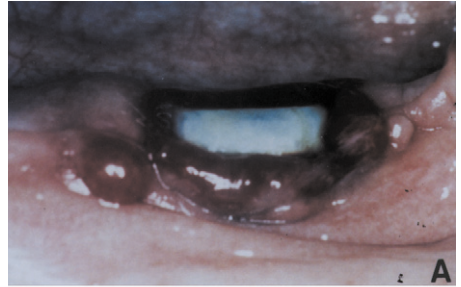


Figure 7

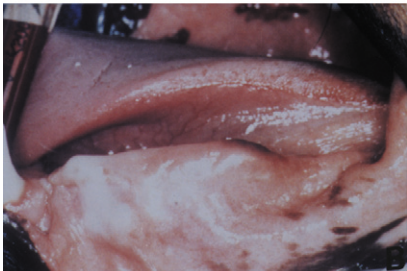
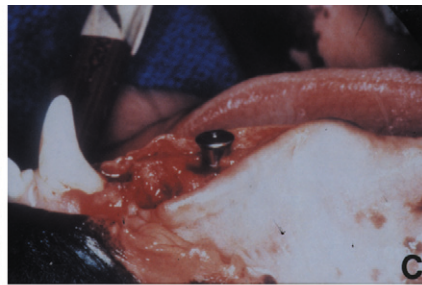
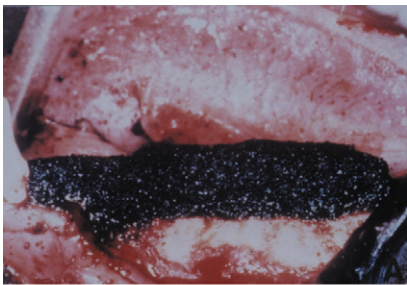


Figure 8

사진부도(Ⅳ)

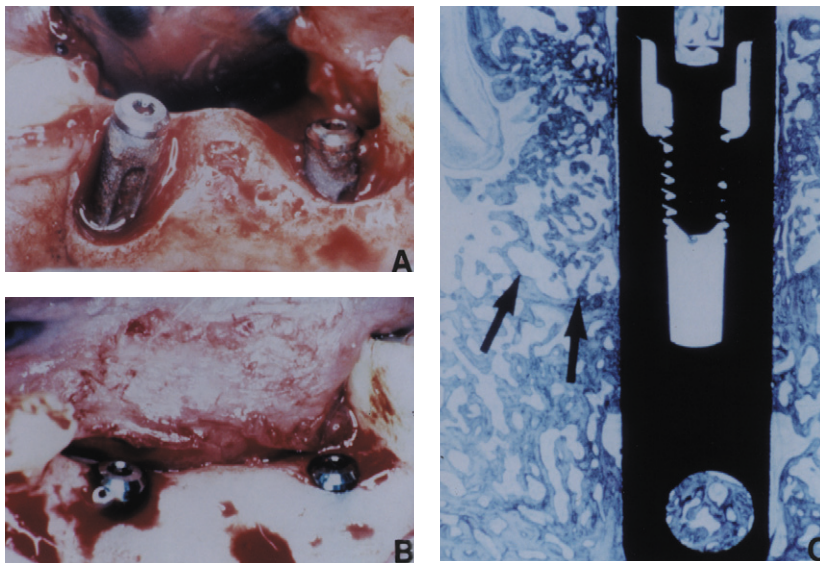


Figure 9

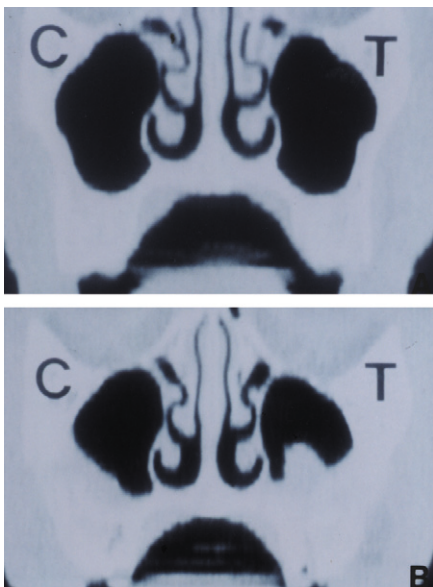


Figure 10

Effect of rhBMP-2 Dose on Mean Change in Alveolar Bone Height

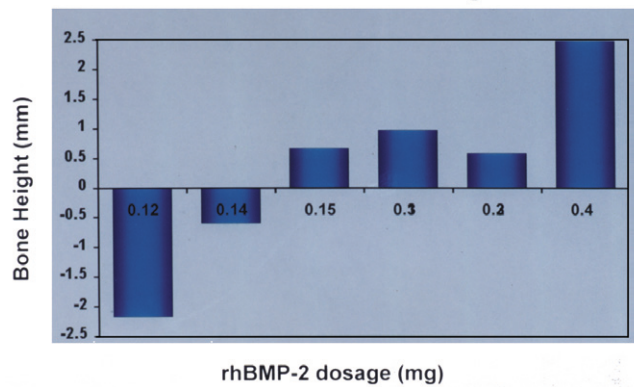


Figure 11

Tissue Engineering with rhBMP-2: Bone Reconstruction in Implant Dentistry

Ulf ME Wikesjö*, Oliver Hanisch**, Michael J Danesh-Meyer***, Kyoo-Sung Cho****, Chong-Kwan Kim****

*Professor and Vice Chairman

Temple University School of Dentistry, Department of Periodontology

Director, Postgraduate Specialty Program in Periodontology

Director, Laboratory for Applied Periodontal and Craniofacial Regeneration

Diplomate, American Board of Periodontology

**Assistant Professor

University of Aachen Medical Center, Department of Prosthodontics

Visiting Assistant Professor

Temple University School of Dentistry, Department of Periodontology

Research Fellow, Laboratory for Applied Periodontal & Craniofacial Regeneration

***Assistant Clinical Professor

Temple University School of Dentistry

Department of Periodontology and Postgraduate Specialty Program in Periodontology

Associate Scientist, Laboratory for Applied Periodontal and Craniofacial Regeneration

****Professor

Department of Periodontology, College of Dentistry, Research Institute for Periodontal Regeneration, Yonsei University, Seoul, KOREA

The preclinical and clinical studies reviewed herein show that rhBMP-2 induces normal physiologic bone in relevant defects in the craniofacial skeleton. The newly formed bone assumes characteristics of the adjacent resident bone, and allows placement and osseointegration of dental implants. Clearly, the bone inducing capacity of rhBMP-2 is carrier and site dependent. rhBMP-2 in an absorbable collagen sponge carrier induces relevant bone formation in space providing defects. Space providing carriers extends this possibility to non-space providing sites. Notably, some ceramic and polymeric biomaterials may substantially interfere with rhBMP-2 induced osteogenesis.

Key words: Tissue Engineering, rhBMP-2, Bone Reconstruction, Implant Dentistry, absorbable collagen sponge, carrier