

성견 1면 골결손부에서 rhBMP-2/ACS가 치주조직 치유에 미치는 영향

전혜영 · 조규성 · 김종관 · 채중규

연세대학교 치과대학 치주과학 교실
연세대학교 치과대학 치주조직재생연구소

I. 서론

치주치료의 궁극적인 목적은 치주질환에 의하여 상실된 치주조직의 구조적인 재생과 기능회복에 있다. 치주조직의 재생은 감염성, 염증성 질환에 이환된 치근면에 신생 백악질의 침착, 신생골의 형성과 함께 새로운 치주인대 섬유의 기능적인 삽입, 배열, 그리고 치은조직의 구조화가 필요하다. 이러한 치주조직의 재생을 위하여 여러해동인 자가골 및 다양한 생체 재료를 이용한 골 이식술¹⁻⁵⁾과 차단막을 이용한 조직유도재생술⁶⁻⁹⁾이 이용되고 있으며 그 외에 실험적으로 성장인자¹⁰⁻¹²⁾를 적용시키는 방법이 활발히 연구되어져 오고 있다.

골 이식술에는 자가골 이식, 동종골 이식, 이종골 이식, 골 대체물이 사용되고 있다. 이중 자가골 이식은 수년간 치조골 결손 부위 사용시 임상적으로 성공적인 결과를 나타내었으나, 이차적인 수술 부위의 필요성, 대량 공급의 어려움, 골 유착 유발, 치근 흡수등의 제한점이 있다⁴⁾. 따라서, 이를 대신할 대체물질에 대한 연구가 이루어졌으나 흡수시기, 재료자체의 염증반응, 숙주의 거부 반응, 질병전이 등의 가능성이 제시되었다¹³⁾.

한편, 치주조직유도재생술은 1976년 Melcher가 치주 조직의 재생과 새로운 부착은 건강한 치주인대로부터의 미분화 간엽세포에 의한다는 개념을 발표한

후¹⁴⁾ 이 개념에 의거하여 여러 종류의 차단막이 사용되어졌다. 이러한 차단막은 치은 상피로부터 유래되는 세포를 배제시켜 선택적 세포들만 치근면에 모일 수 있도록 함으로써, 이전의 전통적인 치주치료의 많은 한계를 극복할 수 있는 가능성을 제시해주고 있지만 이는 재생에 필요한 세포과정을 촉진시키지는 않았으며 골 결손의 형태, 치유기간, 차단막의 종류, 판막의 위치, 치은 퇴축, 구강위생상태, 전신적 건강, 술자의 기술등의 여러 요소에 의해 결과에 많은 차이를 보이고 있다^{15,16)}.

최근에는 분자생물학의 발전으로 조직의 치유에 국소적으로 관여하는 성장 인자라는 여러 매개물질들을 알아냄으로써 조직재생에 응용하게 되었다⁷⁾. 이러한 성장 인자는 세포의 증식, 분화, 이주와 기질 합성에 영향을 미침으로써 세포의 성장, 형성 기능을 조절하는 역할을 한다. 조직내에 원래 존재하는 매개물질에 외부에서 성장인자를 주입함으로써 매개물질의 역할을 촉진하여 조직재생을 증가시키는 연구가 실험실에서 많이 이루어졌으며 이를 바탕으로 치주조직과 골재생에 중요한 역할을 한다고 생각되는 여러 성장인자들에 대한 연구가 시도되어 왔다^{11,12)}.

Lynch등은 개의 치주 질환 병소에 platelet derived growth factor(PDGF)와 insulin like growth factor(IGF)를 혼합하여 사용했을 때 치주조직이 재

생됨을 보고하였고¹¹⁾, Becker등은 PDGF를 사용한 군과 탈회동결건조골을 사용한 군을 비교한 결과 탈회동결건조골을 사용한 군에 비해 성장인자를 사용한 군에서 유의차 있는 골조직의 재생이 촉진되었다고 하였으며¹⁰⁾, Joyce등은 transforming growth factor- β (TGF- β)가 장골의 파절부위에서 교원질 유전자의 형질을 증가시키고 골과 연골의 형성에 관여하여 직접적으로 골형성을 유도하는 역할을 한다고 보고하였다¹⁸⁾.

이러한 성장 인자 중 골조직의 재생과 연관이 있는 것으로 알려진 bone morphogenetic protein(BMP)은 Urist가 피질골의 탈회과정에서 화학적 골 유도 작용을 하는 화학적 성분을 발견함으로써 처음 명명되었고¹⁹⁾, 이 물질이 간엽조직 세포를 조골 세포로 분화시켜 신생골을 형성한다고 보고되었다^{20,21)}.

BMP(BMP-2~BMP-9)는 TGF- β super family의 일부분으로, Wang에 의해 소의 골에서 30kDa의 단백질군이 식별되고, BMP-1에서 BMP-9까지 분리되었다²²⁾. 그 후 Wozney는 최초로 재조합 BMP를 만들어 냈으며²³⁾, 그 생화학적, 생물학적 특성과 아미노산 배열을 알아내었고 지금까지 20종류 이상의 BMP가 알려져 있다. 실험실 연구에서 BMP는 간엽조직 세포를 조골세포와 연골모세포로 분화시키고, 어떤 종류의 세포에 대해서는 세포분열 촉진 및 화학 주성도 가진다고 하였으며, recombinant human BMP(rhBMP)는 native BMP 단백질의 골 유도능력을 함유하여²⁴⁾ 동물실험에서 골 손상부의 치유를 촉진시킨다고 보고되었다²⁵⁻²⁷⁾.

BMP중 rhBMP-2는 설치류에서 연골성 골화에 의한 이소성 골형성을 유도하였고, 농도가 증가함에 따라 골형성 속도가 증가하였으며, 고농도 주입시 연골 성골화와 막성골화 모두에 영향을 주어 골을 형성하였다^{23,24)}.

한편, 이러한 성장인자의 경우 적용초기에 생체내로 빠르게 흡수되어 조직 재생 효과가 감소되며, 아주 미세한 양으로 인해 다루기 힘든 단점이 있다. 따라서, 이러한 물질들을 임상에서 다루기 쉽고 적용 후 우수한 조직 재생을 얻기 위해서는 어떤 형태의 운반체가 필요하다. 운반체의 이용은 결손부에서

BMP의 송달, 유지, 점진적 유리를 위해 필수적이며 다양한 생체 재료가 BMP의 운반체로 연구되어 왔다²⁸⁻³¹⁾.

본 실험에서 사용한 absorbable collagen sponge (ACS)는 사람의 골전구세포의 분화에 방해없이 세포의 증식을 유발한다고 알려져 있다³²⁾. Nevins등은 상악동의 기저막을 거상하고 BMP를 함유한 collagen을 적용시 새로운 골이 형성되었고 collagen에 의한 면역반응이나 독성 반응은 없었다고 보고하였다³³⁾.

Sigurdsson등은 개의 치조골연상 치주결손모형에 ACS를 운반체로 사용하여 rhBMP-2를 매식한 후 임상적으로 유의한 백악질과 골재생을 보고하였고³⁴⁾, Boyne등은 12명의 환자에게 상악동저 골증강시 rhBMP-2와 ACS를 사용했을 때 대조군에 비해 유의차 있는 골 형성을 관찰할 수 있었으며, rhBMP-2/ACS는 임상적으로 다루기 쉽고 어떤 부작용도 없었다고 보고하였다³⁵⁾.

그러나, 아직까지 임상에서 흔히 접할 수 있는 1면 골결손부에 사용된 조절된 실험은 없었으며 또한 골조직의 재생에 반해 신생 백악질과 치주인대 재생에 대한 연구는 부족한 실정이다.

이에 저자는 외과적으로 형성된 성견의 1면 골결손부에 rhBMP-2/ACS를 사용하여 치료한 후 8주후에 조직학적, 계측학적으로 관찰, 평가하여 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

(1) 실험 동물

본 연구에서 생후 1년 이상된 체중 20kg 내외의 잡종 성견 4마리를 성별에 관계없이 사용하였으며, 실험 시작 전 실험동물의 영구치는 완전히 봉출되어 있었고 치주조직은 염증이 없는 건강한 상태였다. 실험동물은 연세 임상의학연구센터에 의한 관리에 따랐으며 실험부위로는 양측 상악 제 3 전치의 근심면을 사용하였다.

(2) 실험 재료

실험 재료로는 rhBMP-2*(0.20mg/ml), buffer** (5mM sodium glutamate, 2.5% glycine, 0.5% sucrose, 0.01% Tween 80, pH 4.5), absorbable collagen sponge*** (ACS, Helistat®, 1"×2" sterile sponge)를 사용하였다.

2. 연구 방법

(1) 실험군 설정

4×4mm(깊이, 근원심폭경)의 1면 골결손부 형성 후 치은박리소파술과 buffer/ACS를 이식한 부위를 대조군으로, rhBMP-2/ACS를 이식한 부위를 실험군으로 하였다.

(2) 치조골 결손부 형성 및 외과적 처치

실험 동물은 sodium pentobarbital(Entobar®# 30mg/kg)을 족근정맥에 주사하여 전신마취 시키고 실험치아 부위를 2% Lidocaine HCl로 침윤마취 후에 상하악 제 1, 2 전치를 발치하였다. 24주의 치유 기간이 경과한 후, 같은 방법으로 전신마취 및 침윤마취 시키고 협설로 치은판막을 형성하여, 상하악 제 3 전치의 근심면에 근원심 폭경 4mm, 치조정에서 깊이가 4mm 되도록 1면 골결손부를 형성하였다(사진부도 1). 형성된 치조골 결손부의 기저부위 치근쪽에 1/4 round bur로 notch를 형성하여 참고점으로 삼았다. 설정된 각 실험군별로 이식 및 치료가 끝난 후 (사진부도 2), 치은 판막을 Gore-Tex## 봉합사로 봉합하였다. 1주후 봉합사를 제거하였고, 수술후 처음 2주간 항생제###를 투여하고, 0.12% Chlorhexidine+ 으로 구강 청결을 유지시켰다. 실험 동물을 술후 8주

후에 희생시키고 실험부위를 적출하였다.

(3) 조직학적 관찰

적출한 조직을 10% 중성 formalin에 고정시키고 nitric acid로 1주간 탈회시킨 후, 통법에 따라 paraffin에 포매하여, 3μm 두께, 60μm의 간격으로 근원심 방향의 연속절편을 한 block당 3개씩 만들어 Hematoxyline-eosin 염색한 후 광학현미경으로 검경하였고, PC-based image analysis system++으로 분석하였다.

조직학적 관찰사항은 다음과 같다.

- 1) 치은 상피의 치근단 이동정도
- 2) 결합조직의 회복량과 주행 방향
- 3) 신생 백악질 형성량
- 4) 치조골 결손 부위 내의 신생골 형성 정도(신생골 높이, 형성량, 골밀도)
- 5) 치근 흡수와 골 유착의 유무와 정도
- 6) 염증세포의 침윤 상태
- 7) ACS의 흡수 정도

(4) 조직 계측학적 관찰

치조정(AC)과, reference notch(N)를 참고점으로 삼았고, 치근면의 치조정에서 reference notch까지의 거리를 결손부 깊이(DH)로 정하였다. 치조정에서 접합상피 최하단까지를 접합상피 치근단 이동량(EG)으로 하였으며, 접합상피 하단에서 신생 백악질 상단까지를 결합조직 유착(CTA)으로, reference notch에서 신생 백악질 형성 상단까지를 백악질 형성량(NC)으로, reference notch에서 신생골 형성 상단까지를 신생골 형성 높이(NBH)로, 형성한 골결손부 내에서 재생된 신생골 단면적을 신생골 형성량

*rhBMP-2, Genetics Institute, Inc, Cambridge, MA., USA.

MFR 00906 buffer, Genetics Institute, Inc, Cambridge, MA., USA.

***Helistat®, Integra Life Science, USA.

#Entobar®, Hanlim Pharm. Co., Seoul, Korea

##Gore-Tex Suture, W.L. Gore & Associates, Inc., Flagstaff, AZ., USA.

###Ampicillin, Jong-geun Dang Pharmaceutical Company, Seoul, Korea

+ Hexamedin®, Chlorhexidine-digluconate 0.1%, 250ml, 부광약품, Seoul, Korea

++ Image-Pro Plus, Media Cybernetics, Silver Spring, MD., USA.

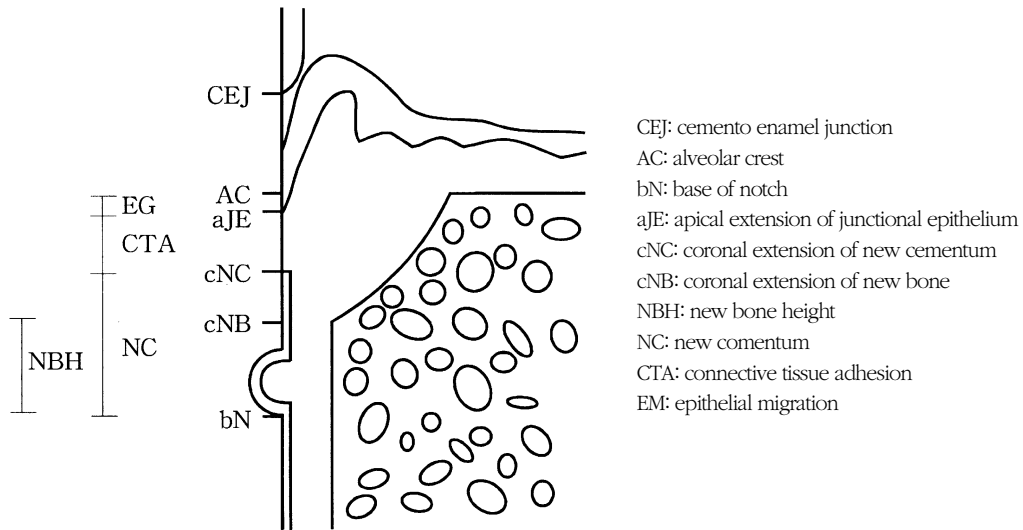


Figure 1. A schematic diagram depicting the landmarks and the parameters used in histomorphometric analysis

(NBA)으로, 신생골 단면적에서 광화된 부위의 비율을 골밀도(NBD)로 나타내었다(Figure 1). 초기 결손부 깊이는 수술시 4mm로 형성하였고, 계측학적 측정 결과 양쪽군에서 유의차가 없었다.

(5) 통계학적 처리

각 측정 지수는 대조군에 대한 실험군을 비교하기 위하여 Wilcoxon signed rank test 방법을 이용하였으며, 치근흡수와 골 유착은 하나 이상 나타난 치아의 빈도수를 기록하였다.

III. 연구성적

1. 조직학적 관찰

(1) 대조군

접합상피의 치근단 방향 증식이 관찰되며, 결합조직 유착에 의한 치유가 많았고, 결합조직의 섬유방향은 대부분 치근에 평행하거나 불규칙하게 배열되어 있었다(사진부도 3, 4). 신생 백악질은 결손부 하방에서 다양한 정도로 덮여 있었으며, 그 양은 미약하였다(사진부도 6). 치조골 재생 높이는 실험군에 비해 적었으나 통계학적 유의차는 없었다. 그러나, 치

조골 재생이 치근면을 따라 좁게 형성되어 있었으므로 제한된 치조골 재생량을 보여주었다(사진부도 3). 치근면 흡수는 일부 치아에서 미란 형태로 나타났으며, 흡수 부위는 신생 백악질로 덮인 부위보다 상아질로 덮인 부위에서 더 많이 관찰되었다(사진부도 5). 치근 유착이나 흡수되지 않은 ACS는 관찰되지 않았으며, 염증세포의 침윤은 미약하였다.

(2) 실험군

접합상피의 치근단 이동량은 대조군과 유사하였고, 결합조직 유착은 대조군에 비해 유의성 있게 적었으며, 결합조직 섬유는 치근에 사선 방향이나 수직으로 배열된 상태였다(사진부도 7, 8, 9). 백악질은 치아마다 다양하게 형성되어 있었고 형성된 신생 백악질은 원래 존재하던 백악질에 비해 두께가 얇았다(사진부도 10). 신생골 형성 높이는 대조군과 비슷하였으나 신생골 형성량은 유의성 있게 많이 형성되었고, 골 소주 주위에 조골양세포가 존재하였으며, 골 양기질의 형성이 관찰되었다(사진부도 7, 11, 12). 치근면 흡수는 그 빈도와 양이 대조군보다 적었으며 미란 형태로 관찰되었다(사진부도 9). 또한 골 유착은 광범위한 골 재생을 보이는 한 개의 치아에서 관찰되었다(사진부도 10). 남아 있는 ACS는 보이지 않

았으며 염증세포의 침윤도 미약하였다.

2. 조직 계측학적 관찰

(1) 접합상피 치근단 이동량(AC-aJE)

접합상피 치근단 이동량은 대조군에서 $0.9 \pm 1.5\text{mm}$ (결손부 깊이의 21.4%), 실험군에서 $1.2 \pm 1.4\text{mm}$ (결손부 깊이의 29.3%)로 나타났으나, 대조군과 실험군의 유의성 있는 차이는 없었다(Table 1).

(2) 결합조직 유착(aJE-cNC)

결합조직 유착은 대조군에서 $2.4 \pm 1.3\text{mm}$ (결손부 깊이의 57.2%), 실험군에서 $1.2 \pm 1.1\text{mm}$ (결손부 깊이의 29.3%)로서 대조군에서 유의성 있게 많은 유착을 보였다($P < 0.05$)(Table 1).

Table 1. Histomorphometric analysis

	Control	Experimental	P value
	Median(Range) Mean(SD)	Median(Range) Mean(SD)	
DH(mm)	4,1(0,8) 4,2($\pm 0,3$)	4,0(0,6) 4,1($\pm 0,2$)	0,4609
EM(mm)	0,3(4,6) 0,9($\pm 1,5$)	1,2(4,1) 1,2($\pm 1,4$)	0,4609
CTA(mm)	2,8(3,9) 2,4($\pm 1,3$)	1,0(3,1) 1,2($\pm 1,1$)*	0,0391
NC(mm)	0,8(3,1) 0,9($\pm 1,0$)	1,8(2,4) 1,7($\pm 0,8$)*	0,0234
NBH(mm)	1,8(1,9) 1,9($\pm 0,6$)	2,1(2,5) 2,4($\pm 0,9$)	0,0781
NBA(mm ²)	4,6(5,5) 4,7($\pm 1,7$)	7,6(6,5) 8,0($\pm 2,0$)*	0,0078
NBD(%)	71,0(44,0) 73,0($\pm 8,6$)	63,0(22,0) 66,6($\pm 15,3$)	0,2656

* : Statistically significant difference compared to control group, $P < 0.05$

DH: defect height, EM: epithelial migration, CTA: connective tissue adhesion, NC: new cementum, NBH: new bone height, NBA: new bone area, NBD: new bone density

Table 2. Proportion of teeth with root resorption and ankylosis

	Control	Experimental
Resorption	3/8	2/8
Ankylosis	0/8	1/8

(3) 백악질 형성량(cNC-bN)

백악질 형성량은 대조군에서 $0.9 \pm 1.0\text{mm}$ (결손부 깊이의 21.4%), 실험군에서 $1.7 \pm 0.8\text{mm}$ (결손부 깊이의 41.4%)로서 실험군에서 유의성 있게 많은 형성을 보였다($P < 0.05$)(Table 1).

(4) 신생골 형성 높이(cNB-bN)

신생골 형성 높이는 대조군에서 $1.9 \pm 0.6\text{mm}$ (결손부 깊이의 45.2%), 실험군에서 $2.4 \pm 0.9\text{mm}$ (결손부 깊이의 58.5%)로 나타났으나, 대조군과 실험군의 유의성 있는 차이는 없었다(Table 1).

(5) 신생골 형성량(NBA)

신생골 형성량은 대조군에서 $4.7 \pm 1.7\text{mm}^2$, 실험

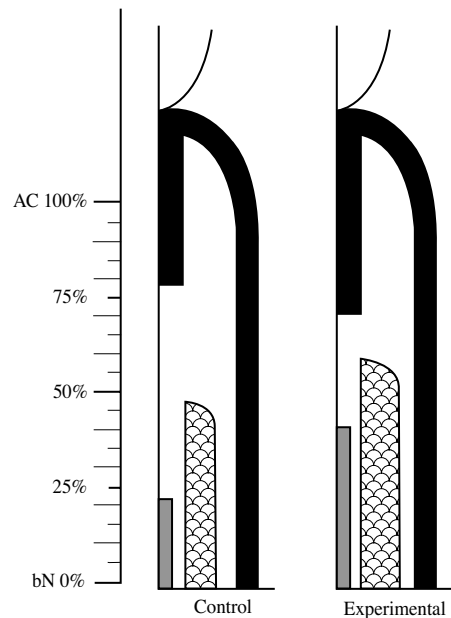


Figure 2. A schematic diagram depicting histomorphometric analysis of control and experimental groups

군에서 $8.0 \pm 2.0 \text{ mm}^2$ 로서 실험군에서 유의성 있게 많은 형성을 보였다($P < 0.05$)(Table 1).

(6) 신생골 밀도(NBD)

신생골 밀도는 대조군에서 $73.0 \pm 8.6\%$, 실험군에서 $66.6 \pm 15.3\%$ 로 나타났으나, 대조군과 실험군의 유의성 있는 차이는 없었다(Table 1).

IV. 총괄 및 고찰

치주치료의 궁극적인 목적은 치주질환에 의하여 상실된 치주조직의 구조적인 재생과 기능회복에 있다. 치주조직의 재생은 감염성, 염증성 질환에 이환된 치근면에 신생 백악질의 침착, 신생골의 형성과 함께 새로운 치주인대 섬유의 기능적인 삽입, 배열, 그리고 치은조직의 구조화가 필요하다. 이러한 치주조직의 재생을 위하여 여러 해 동안 자가골 및 다양한 생체 재료를 이용한 골 이식술¹⁻⁵⁾과 차단막을 이용한 조직유도재생술⁶⁻⁹⁾이 이용되고 있으며 그 외에 실험적으로 성장 인자¹⁰⁻¹²⁾를 적용시키는 방법이 연구되어져 오고 있다.

치주조직 재생에 있어서 골 이식술은 자가골 이식, 동종골 이식, 이종골 이식, 골 대체물이 사용되고 있으며 여러 이식재료를 이용할 때 기대되는 주된 기능은 지정된 부위에서 골을 포함한 주위 치주조직이 정상적인 치유과정에 의해 재생되게 하는 환경을 만들어 주는 것이다³⁶⁾. 이 중 자가골 이식은 치조 결손부에 사용될 때 매우 높은 골 유도 잠재력이 있으나 부가적인 수술부위의 필요와 한정된 이식재의 양, 치근 흡수, 골 유착과 같은 부정적인 요인이 나타날 수 있는 단점이 있다⁴⁾. 따라서, 이를 대신할 대체물질에 대한 연구가 이루어졌으나 어느 재료도 이상적인 골 이식재의 조건을 모두 만족하는 것은 없으며 흡수시기, 재료자체의 염증 반응, 숙주의 거부 반응, 질병전이 등의 가능성이 제시되었다³⁾.

한편, 치주조직유도재생술은 차단막을 이용하여 창상의 안정, 혈괴의 유지, 주위 미분화 세포들이 손상 부위로 이주할 수 있는 공간유지 기능을 함으로써 이전의 전통적인 치주치료의 많은 한계를 극복할

수 있는 가능성을 제시해 주었으나, 광범위하게 분포된 다양한 결손조직의 외형에 정확히 적합하는 것이 어려우며, 구강내로 막이 노출되었을 경우 상치부위의 감염이 발생되고¹⁶⁾, 차단막 자체가 치주인대로부터 유래된 세포의 재집결을 유도하지만 치주조직에 필요한 세포의 증식, 이주, 기질합성 등의 세포과정들을 증진시키지 못하는 제한점이 있다³⁷⁾.

최근에는 분자생물학의 발전으로 조직의 치유에 관여하는 성장인자라는 매개물질을 조직재생에 응용하게 되었다¹⁷⁾. 성장인자는 세포의 증식, 분화, 이주와 기질합성에 영향을 미침으로써 성장을 촉진하고 생활력을 유지하는 생물학적 반응 물질이다^{38,39)}. 성장인자는 1962년 Cohen에 의해 epidermal growth factor(EGF)가 처음 발견된 이래 platelet derived growth factor(PDGF), endothelial growth factor(EGF), nerve growth factor(NGF), transforming growth factor(TGF), insulin like growth factor(IGF), fibroblast growth factor(FGF)와 bone morphogenetic protein(BMP)등의 많은 성장인자가 발견되었으며, 이중 PDGF, FGF, TGF- β , IGF와 BMP가 골과 치주조직의 재생에 영향을 주는 것으로 보고되었다¹²⁾.

Rutherford등은 원숭이의 실험적으로 유발한 치주질환의 골 결손부에서 PDGF와 dexametasone을 혼합 사용한 결과 치주 조직의 재생을 보고하였고⁴⁰⁾, Lynch등은 개의 치주질환 병소에 PDGF와 IGF를 혼합하여 사용했을 때 치주조직이 재생됨을 보고하였으며¹¹⁾, Joyce등은 transforming growth factor- β (TGF- β)가 장골의 파절 부위에서 교원질 유전자의 표현형을 증가시키고 골과 연골의 형성에 관여하여 직접적으로 골형성을 유도하는 역할을 한다고 보고하였다¹⁸⁾.

본 실험에서 사용된 BMP는 1965년 Urist가 피질골의 탈회 과정에서 화학적 골 유도 작용을 함으로써 이소성의 연골 형성과 골 형성을 일으키는 화학적 성분을 발견하여 이것을 BMP라 명명한 이래¹⁹⁾ BMP에 대한 많은 보고가 이루어졌다^{20,25,27,30,34,41,42)}. BMP는 세포의 골 기질에 소량 존재하는 30-38kDa의 단백질로서 BMP-2에서 BMP-9까지는 TGF- β super

family의 일부분과 관련된 단백질로 이루어져 있다⁴³⁾. 1988년 Wang등은 전기 영동법을 이용하여 소의 골에서 단백질군을 식별해내어 BMP-1에서 BMP-9까지 분리하였으며²²⁾, Wozney등은 재조합 BMP(recombinant BMP, BMP-1, BMP-2, BMP-4)를 만들어 내어 그 생화학적, 생물학적 특성과 아미노산 배열을 알아냈다²³⁾. BMP는 조골세포와 조연골세포, 신경세포, 상피세포등을 포함한 다양한 세포의 증식, 분화를 조절하고, 어떤 종류의 세포에 대해서는 세포 분열 및 화학 주성 작용도 가진다.

이러한 BMP중 recombinant human BMP-2(rh BMP-2)는 골조직의 재생에 많이 관여하는 것으로 양⁴⁴⁾, 개²⁵⁾, 쥐⁴⁵⁾의 실험모델에서 골 결손부의 치유를 증진시키는 것으로 보고되었다.

Ishikawa등은 개의 외과적으로 형성한 3면 골 결손부에서 치주조직의 재생이 이루어짐을 보고하였으며⁴⁶⁾, Sigurdsson등은 rhBMP-2를 이용한 치은 판막 수술시 골과 백악질이 재생됨을 보고하였다²⁵⁾. Ripamonti등은 원숭이의 외과적으로 형성한 2급 이개부 병소에 교원질 기질에 존재하는 native BMP를 이식한 결과 치주조직이 재생됨을 보고하였다⁴⁷⁾.

한편, 이러한 성장인자의 경우 적용초기에 생체내로 빠르게 흡수되어 조직재생효과가 감소되며 아주 미세한 양으로 인해 다루기 힘든 단점이 있다. 따라서 이러한 물질들을 임상에서 다루기 쉽고 적용 후 우수한 조직 재생을 얻기 위해서는 어떤 형태의 운반체가 필요하다. 운반체의 이용은 결손부에서 BMP의 송달, 유지, 점진적 유리를 위해 필수적이며 다양한 생체 재료가 BMP의 운반체로 시험되어 왔다²⁸⁻³¹⁾. 이상적인 운반체의 조건은 조작이 쉽고, 흡수성이어야 하며, 면역반응을 유발하지 않아야 한다. 또한 치은 판막을 지지하여 공간을 유지하고 간엽조직의 세포 분화와 혈관의 침투를 방해해서는 안된다. 지금까지 보고된 운반체의 종류로는 비흡수성 골 기질⁴⁸⁾, 교원질³¹⁾, hydroxyapatite²⁹⁾, biphasic calcium phosphate²⁸⁾, poly(D,L-lactide-co-glycolide)(PLGA)³¹⁾, polylactic acid granules³¹⁾등이 있다. Ripamonti등은 원숭이에서 porous hydroxy apatite를 운반체로 native BMP를 사용했을 때 빠른 골 형성을 보고하였

고²⁹⁾, Ishigawa등은 polylactic acid-polyglycol acid copolymer를 사용한 경우 생체에서 흡수되고 항원성이 적으며 다루기가 용이하여 BMP의 운반체로 적당하다고 보고하였다⁴⁶⁾.

본 실험에서 사용한 absorbable collagen sponge(ACS)는 소의 type I 교원질로 만든 것으로서, 생체에서 흡수되고 지혈 효과가 있으며 임상에서 조작이 용이한 장점이 있다³¹⁾. 또한, ACS는 사람의 골 전구세포의 분화에 방해없이 세포의 증식을 유발하고 조골세포의 분화를 위한 적절한 환경을 제공한다³²⁾. Nevins등은 상악동의 기저막을 거상하고 BMP를 함유한 collagen을 적용시 새로운 골이 형성되고 collagen에 의한 면역반응이나 독성 반응은 없었다고 보고하였다³³⁾.

rhBMP-2/ACS의 안정성과 효용성에 대한 연구로는 임상 실험으로 Howell등⁴⁹⁾, Boyne등⁵⁰⁾이 보고하였는데, 이들은 모두 rhBMP-2/ACS가 임상에서 조작이 용이하고 혈청이나 혈액 성분의 변화를 일으키지 않으며, rhBMP-2에 대한 항체나 anti-human collagen에 대한 항체는 발견되지 않았고, 한 명의 환자에서 anti-bovine collagen에 대한 항체가 낮은 역가로 발견되었다고 하였다.

본 실험에서는 1면 골 결손부에 rhBMP-2/ACS를 사용한 실험군에서 2.4mm의 신생골 재생 높이를 보였다. 실험군에서 대조군에 비해 좀 더 많은 골 재생을 보였지만 통계학적 유의차는 없었다. 이것은 개의 치조골 연상 골 결손부에 이식한 경우, Wikesjö등²⁶⁾의 3.6mm, Sigurdsson등³¹⁾의 5.1mm, 3면 골 결손부에 이식한 경우의 Ishikawa등⁴⁶⁾의 4.5mm보다는 적은 양이었고, Kinoshita등⁵⁰⁾의 0.68mm보다는 많은 양이었다. 이것은 Wikesjö등²⁶⁾, Sigurdsson등³¹⁾이 1면 골 결손부보다 치주 조직 재생 능력이 떨어지는 치조골 연상 골 결손부를⁵¹⁾ 사용했다는 점을 고려해보면 더 적은 양이라 할 수 있다. 그러나, 앞의 연구에서는 치아가 완전히 매몰되어 기능을 전혀 하지 않았고 이번 실험에서는 치관이 노출되어 기능을 하고 있어 창상의 안정이 더 어려웠다는 점과 또한 구치부에 비해 골 질이 떨어지는 전치부에 사용했다는 점을 고려해 볼 수 있겠다. 반면 대조군은 Wikesjö등

²⁶⁾의 0.0mm, Sigurdsson등²⁵⁾의 0.8mm보다는 많은 골 재생 높이를 보였다. 이는 골 결손부 형태의 차이라고 생각되며 또한 같은 1면 골 결손부 형태를 사용했을 때 치은 박리 소파술만 시행한 서등⁵²⁾의 0.62mm와 비교했을 때도 신생골 재생 높이가 많은 것은 ACS를 사용함으로써 공간 유지와 관막의 안정이 더 잘 이루어졌기 때문이라 사료된다.

신생골 재생 면적은 대조군에서 4.7mm², 실험군에서 8.0mm²로 실험군에서 유의차 있는 증가를 보였다. 이것은 대조군에서는 신생골 재생이 치근을 따라 폭이 좁게 형성되어 있어서 신생골 형성 높이에는 유의차가 없었으나 신생골 재생 면적에서는 차이가 나타난 것으로 생각된다. 재생 면적 역시 Wikesjö등²⁶⁾의 9.4mm², Sigurdsson등²⁵⁾의 8.4mm²보다는 적은 양이었으나 이들의 연구와 결손부 단면적이 다르므로 정확한 비교는 되지 않는다.

신생골 밀도는 재생된 신생골 중 광화된 부위의 비율을 측정한 것으로⁵³⁾, 대조군에서는 73.0%, 실험군에서는 66.6%를 보였다. 대조군에 비해 낮은 골밀도를 보였지만 통계학적 유의차는 없었으며, Sigurdsson등²⁵⁾의 연구에서 ACS를 운반체로 사용한 경우의 45%보다 높은 밀도였다. 위의 연구에서 DBM(demineralized bone matrix), PLGA에서도 유사한 골 밀도를 보였고, Bio-Oss와 Drilac(poly lactic acid)의 경우는 각각 23%와 30%로 낮은 골 밀도를 보였다. 이번 실험은 하악 구치부를 사용한 이전의 연구와 달리 상하악을 함께 사용하였으며 전치부였다는 점에서 골밀도의 차이가 나타날 수 있다. 또한 8주후 소견이므로 좀 더 장기간의 치유 기간이 경과한 후의 골 밀도와 비교 관찰이 필요하다고 사료된다.

백악질 재생은 또한 치주조직에서 중요한 문제이다. 이제까지 여러 논문에서 rhBMP-2의 뚜렷한 골 재생 능력이 있음을 보여주었으나³⁴⁾ 다양한 골결손부에 대한 백악질 재생의 연구는 많지 않으며⁵⁴⁾, 특히 1면 골 결손부에 대한 결과는 아직 보고되지 않았다. 이번 실험에서는 대조군에서 0.9mm, 실험군에서 1.7mm로 유의성 있는 차이가 나타났다. BMP-2에 의해 백악질 재생이 증진된 것은 BMP-2의 표적세

포가 백악모세포나 그 전구세포일 수 있다는 것을 제시한다⁴⁵⁾. 비록, 백악모세포가 조골세포와 형질이 완전히 일치하지는 않으나 osteocalcin, bone sialoprotein, PTH/PTHrP receptors등 유사한 부분을 많이 공유하고 있다^{55,56)}. 이번 실험에서 실험군의 백악질 재생은 결손부 깊이의 41.4%로 Wikesjö등²⁶⁾의 8%에 비해 재생량이 많았으며 Sigurdsson등²⁵⁾의 연구에서 expanded polytetrafluoroethylene(e-PTFE)막을 사용한 경우의 40%, rhBMP-2를 이식한 경우의 40%와 비슷하다. 그러나, 백악질 재생은 차단막을 사용한 경우와 다른 기전으로 형성된다. 즉, 차단막을 사용한 경우는 손상받지 않은 건강한 조직원으로부터 이미 분화된 세포의 성장과 이동으로 재생이 이루어지나 rhBMP-2의 이식은 BMP가 미분화 간엽세포를 분화시킴으로써 백악질을 재생시킨다²³⁾. 이번 실험에서 형성된 백악질은 이미 존재하던 백악질에 비해 얇고 때로는 치근면과 분리되어 있었으며, 일부 조직소견에서는 세포 성분이 존재하였다.

새로 형성된 백악질과 골 사이에는 결합 조직 섬유가 관찰되었는데, 실험군에서는 일부 기능적인 배열을 보였으나 나머지 조직 소견에서는 치근면에 평행하거나 불규칙한 배열을 보였다. Ripamonti등⁴⁷⁾과 Kuboki등⁵⁷⁾은 원숭이의 이개부 병소에서 BMP에 의한 치주인대섬유의 부착효과를 보고한 반면, Rutherford등은 BMP-7을 이용한 실험실 연구에서 BMP가 치주인대섬유의 섬유모세포의 대사를 증진시키는 기능을 하는지는 명확한 증거가 없었으며, BMP가 치주인대의 조섬유세포 분열에는 효과가 없음을 보고하였다⁵⁸⁾. MacNeil 등은 BMP에 의해 형성된 신생 백악질이 치주인대섬유의 조섬유세포에 신호를 보내어 치주인대공간을 유지함으로써 치주인대섬유의 성숙과 백악질 재생을 도모하고 골 유착을 방지한다고 하였다⁵⁹⁾. Sigurdsson등은 rhBMP-2를 이식한 군이 백악법랑경계 근처에서 잦은 골 유착을 보인다고 하였으나 이것은 실험종류보다는 실험모델에 의한 영향 때문인 것으로 설명하고 있으며²⁵⁾, Giannobile등⁴¹⁾, Ishikawa등⁴⁶⁾은 골 유착이 대조군과 비교하여 유의차가 없었고, 이번 실험에서도 골 유착은 광범위한 골 재생을 보인 한 개의 실험군에서만

관찰되었다. 한편, King등은 쥐의 천궁형 골결손부에서 rhBMP-2를 이식한 후 10일 후에는 골 유착이 관찰되었으나 38일 후에는 관찰되지 않았고 이것은 치유 기간동안 개조 현상에 의한 것이라고 보고하였다⁴⁵⁾.

치근의 흡수는 치주 치유 후에 흔히 나타나는 현상으로³⁴⁾ 초기의 치근 흡수는 치주 재건 수술시 조직의 개조현상에 의해 발생된다고 제시되었다⁶⁰⁾. 치근 흡수는 양쪽 군 모두에서 발견되었으나 실험군에서 더 적은 빈도수와 양을 보였는데, 이는 BMP가 빠른 백악질 재생을 자극함으로써 흡수를 방지하기 때문인 것으로 사료된다⁷⁾. 그러나, 이것은 BMP의 농도와 관련이 있는 듯 하며 고농도(0.20mg/ml)에서 저농도(0.05mg/ml)보다 더 치근 흡수가 많이 발생되는 것 같다²⁶⁾.

이번 실험에서 rhBMP-2의 농도는 0.20mg/ml로 개의 골 결손부를 이용한 여러 실험에서 이용된 농도이다. 농도에 따른 치주 조직의 효과를 검사한 Wikesjö등²⁶⁾의 논문에서는 개의 치조골 연상 골 결손부에서 0.05mg/ml, 0.10mg/ml, 0.20mg/ml를 비교하였는데 농도에 따라 치주 조직의 재생량에 큰 차이는 없었다. 골 재생에 효과적인 BMP 농도는 종에 따라 다르며 phylogenetic tree에서 높이 위치한 종일수록 더 많은 농도가 필요하다⁶¹⁾.

본 연구는 최근 골 재생과 치주조직 재생 효과에 대한 연구가 활발히 진행중인 rhBMP-2의 1면 골결손부에 대한 조직학적 연구로서, 보다 많은 표본에서 장기간의 치유 효과를 보는 것이 필요하다고 생각된다. 또한 다양한 운반체에 대한 평가와 함께 다른 성장 인자와의 병용사용 효과와 임상에서 사용시 가장 효과적인 농도를 결정하는 연구가 앞으로 더 연구되어질 필요가 있다고 사료된다.

V. 결론

본 연구는 성견의 1면 치조골 결손이 있는 경우, rhBMP-2/ACS를 적용했을 때 접합상피, 결합조직, 백악질, 치조골 등 치주조직 재생과 치유에 미치는 영향을 평가하기 위해 실시하였다. 성견의 상하악 제 3

전치의 근심면에 4mm 깊이, 4mm 근원심 폭의 1면 골결손부를 실험적으로 형성한 후 buffer/ACS를 이식한 군을 대조군으로, rhBMP-2/ACS를 이식한 군을 실험군으로 설정하여 실험하고, 술 후 8주에 치유결과를 조직학적으로 비교 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 접합 상피 치근단 이동량은 대조군에서 $0.9 \pm 1.5\text{mm}$, 실험군에서 $1.2 \pm 1.4\text{mm}$ 로 나타났으나, 대조군과 실험군의 유의성 있는 차이는 없었다.
2. 결합 조직 유착은 대조군에서 $2.4 \pm 1.3\text{mm}$, 실험군에서 $1.2 \pm 1.1\text{mm}$ 로서 대조군에서 유의성 있게 많은 유착을 보였다($P < 0.05$).
3. 백악질 형성량은 대조군에서 $0.9 \pm 1.0\text{mm}$, 실험군에서 $1.7 \pm 0.8\text{mm}$ 로서 실험군에서 유의성 있게 많은 형성을 보였다($P < 0.05$).
4. 신생골 형성 높이는 대조군에서 $1.9 \pm 0.6\text{mm}$, 실험군에서 $2.4 \pm 0.9\text{mm}$ 로 나타났으나, 대조군과 실험군의 유의성 있는 차이는 없었다.
5. 신생골 형성량은 대조군에서 $4.7 \pm 1.7\text{mm}^2$, 실험군에서 $8.0 \pm 2.0\text{mm}^2$ 로서 실험군에서 유의성 있게 많은 형성을 보였다($P < 0.05$).
6. 신생골 밀도는 대조군에서 $73.0 \pm 8.6\%$, 실험군에서 $66.6 \pm 15.3\%$ 로 나타났으나, 대조군과 실험군의 유의성 있는 차이는 없었다.

이상의 결과에서 볼 때, 성견의 1면 골결손부에 rhBMP-2/ACS를 사용한 경우 상피 억제 효과와 신생골 형성 높이에는 유의성 있는 개선이 없었으나, 신생 백악질과 신생골의 양적 형성을 증가시킬 수 있는 재료라고 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Kim C.K., Cho K.S., Choi S.H., Prewett A., and Wikesjö U.M.E. : Periodontal repair in dogs : Effect of allogenic freeze-dried demineralized bone matrix implants on alveolar bone and cementum regeneration, J. Periodontol., 69 : 26-

- 33, 1998.
2. Kim C.K., Chai J.K., Cho K.S. and Choi S.H. : Effect of calcium sulfate on the healing of periodontal intrabony defects, *Int. Dent. Jour.*, 48(Sup 1) : 330-337, 1998.
3. Kim C.K., Chai J.K., Cho K.S., Moon I.S., Choi S.H., Sottosanti J.S. and Wikesjö U.M.E. : Periodontal repair in intrabony defects treated with a calcium sulfate implant and calcium sulfate barrier, *J. Periodontol.*, 69 : 1317-1324, 1998.
4. Schallhorn R.G. : Postoperative problems associated with iliac transplants, *J. Periodontol.*, 43 : 3-9, 1972.
5. 박원영, 조규성, 채중규, 김종관, 최성호 : 성견 1면 골결손부에서 Bioactive glass가 치주조직 치유에 미치는 영향, *대한 치주과학회지*, 28 : 145-154, 1998.
6. Kim C.K., Choi E.J., Cho K.S., Chai J.K. and Wikesjö U.M.E. : Periodontal repair in intrabony defects treated with a calcium carbonate implant and guided tissue regeneration, *J. Periodontol.*, 67 : 1301-1306, 1996.
7. Kim C.K., Kim H.Y., Choi E.J., Chai J.K., Cho K.S., Moon I.S., Choi S.H., Sottosanti J.S. and Wikesjö U.M.E. : Effect of calcium sulfate implant with calcium sulfate barrier on periodontal healing in 3-wall intrabony defects in dogs, *J. Periodontol.*, 69 : 982-988, 1998.
8. Moon I.S., Chai J.K., Cho K.S., Wikesjö U.M.E. and Kim C.K. : Effects of polyglactin mesh combined with resorbable calcium carbonate or replamineform hydroxyapatite on periodontal repair in dogs, *J. Clin. Periodontol.*, 23 : 945-951, 1996.
9. Trombelli L., Kim C.K., Zimmerman G.J. and Wikesjö U.M.E. : Retrospective analysis of factors related to clinical outcome of guided tissue regeneration procedures in intrabony defects, *J. Clin. periodontol.*, 24 : 366-371, 1997.
10. Becker W., Lynch S.E., Lekholm U., Becker B., Caffesse R., Donath C. and Sanchez R. : A comparison of PTFE membranes alone or in combination with platelet derived growth factor-I, or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants : A study in dogs, *J. Periodontol.*, 63 : 929-940, 1992.
11. Lynch S.E., Williams R.C., Polson A.M., Howell T.H., Reddy M.S., Zappa U.E. and Antoniadis H.N. : A combination of platelet derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration, *J. Clin. Periodontol.*, 16 : 545-548, 1989a.
12. Lynch S.E. and Williams R.C. : A possible role for polypeptide growth factors and differentiation factors in periodontal regeneration, *Am. Acad. Periodontol.*, 1-5, 1990.
13. Yukna R.A. : Synthetic bone grafts in periodontics(review), *Periodontol.* 2000, 1 : 92-99, 1993.
14. Melcher, A.H. : On the repair potential periodontal tissue, *J. Periodontol.*, 47 : 125-131, 1976
15. Selvig, K.A., Kersten, B.G. and Wikesjö U.M.E. : Surgical treatment of intrabony periodontal defects using e-PTFE barrier membranes : Influence of defect configuration on healing response, *J. Periodontol.*, 64 : 730-733, 1993.
16. Simion M., Baldoni M., Rossi P. and Zaffe D.A. : Comparative study of the effectiveness of e-PTFE membranes with and without early exposure during the healing period, *Int. J. Perio. Rest. Dent.*, 14 : 167-180, 1994.
17. Clark R.A.F. and Henson P.M. : The molecular and cellular biology of wound repair, New York : Plenum Press, 1988.
18. Joyce M.E., Robert A.B., Sporn M.B. and Bolander M.E. : Transforming growth factor- β and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur, *J. Cell Bio.*, 110 : 2195-

- 2207, 1990.
19. Urist M.R. : Bone formation by autoinduction, *Science*, 150 : 893-899, 1965.
 20. Mizutani H. and Urist M.R. : The nature of bone morphogenetic protein(BMP) fractions derived from bovine bone, *Clin. Orthop.* 171 : 213-223, 1982.
 21. Urist M.R., Lietze A., Mizutani H., Takagi K., DeLange R., Termine J. and Finerman G.A. : A bovine low molecular weight bone morphogenetic protein(BMP) fraction, *Clin. Orthop.*, 162 : 219-232, 1982.
 22. Wang E.A., Rosen V., Cordes P., Kriz M.J., Luxenberg D.P., Sibley B.S. and Wozney J.M. : Purification and characterization of other distinct bone-inducing factors, *Proc Natl. Acad. Sci. USA.*, 85 : 9484-9488, 1988.
 23. Wozney J.M., Rosen V., Celeste A.J., Mitsock L.M., Whitters M.J., Kriz R.W., Hewick R.M. and Wang E.A. : Novel regulators of bone formation : molecular clones and activities, *Science*, 242 : 1528-1534, 1988.
 24. Wang E.A., Rosen V., Cordes P., Harada T., Hewick R.M., Kerns K.M., LaPan P., Luxenburg D.P., McQuaid D., Moutsatos I.K., Nove J. and Wozney J.M. : Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation, *Proc Natl. Acad. Sci. USA.*, 87 : 2220-2224, 1990.
 25. Sigurdsson T.J., Lee M.B., Kubota K., Turek T.J., Wozney J.M. and Wikesjö U.M.E. : Periodontal repair in dogs : Recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration, *J. Periodontol.*, 66 : 131-138, 1995.
 26. Wikesjö U.M.E., Guglielmoni P., Promsudthi A., Cho K.S., Trombelli L., Selvig K.A., Jin L. and Wozney J.M. : Periodontal repair in dogs : Effect of rhBMP-2 concentration on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment, *J. Clin. Periodontol.*, 26 : 392-400, 1999b.
 27. Wozney J.M. : The potential role of bone morphogenetic proteins in periodontal reconstruction, *J. Periodontol.*, 66 : 506-510, 1995.
 28. Oda S., Kinoshita A., Higuchi T., Shizuya T. and Ishikawa I. : Ectopic bone formation by biphasic calcium phosphate(BCP) combined with recombinant human bone morphogenetic protein-2(rhBMP-2), *J. Med. Den. Sci.*, 44 : 53-62, 1997.
 29. Ripamonti U. : The critical role of geometry of porous hydroxyapatite delivery system in induction of bone by osteogenin, a bone morphogenetic protein, *Matrix*, 12 : 202-212, 1992.
 30. Ripamonti U., Reddi A.H. : Tissue engineering, morphogenesis, and regeneration of the periodontal tissues by bone morphogenetic proteins, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 8 : 154-163, 1997.
 31. Sigurdsson T.J., Nygaard L., Tatakis D.N., Fu E., Turek T.J., Jin L., Wozney J.M. and Wikesjö U.M.E. : Periodontal repair in dogs : Evaluation of rhBMP-2 carriers, *Int. J. Periodont. Rest. Dent.*, 16 : 525-537, 1996.
 32. Takaoka K. : Ectopic bone induction on and in porous hydroxyapatite combined with collagen and bone morphogenetic protein, *Clin. Orthop.*, 234 : 250-254, 1988.
 33. Nevins M., Kirker-Head C., Nevins M., Wozney J.M., Palmer R. and 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. Periodont. Rest. Dent.*, 16 : 8-19, 1996.
 34. Sigurdsson T.J., Tatakis D.N., Lee M.B. and Wikesjö U.M.E. : Periodontal regenerative potential of space-providing expanded polytetrafluoroethylene membranes and recombinant human bone morphogenetic proteins, *J. Periodontol.*, 66 : 511-521, 1995.

35. Boyne P.J., Marx R.E., Nevins M., Triplett G., Lazaro E., Lilly L.C., Alder M. and Nummikoski P. : A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation, *Int. J. Perio. Rest. Dent.*, 17 : 11-25, 1997.
36. 김준성, 조규성, 채중규, 김종관 : Decalcified freeze dried bone이 성견 치주질환 이환 발치와의 치조골 재생에 미치는 영향, *대한 치주과학회지*, 22 : 487, 1992.
37. Aukhil I. and Igihuat I. : Periodontal ligament cell kinetics following experimental regenerative procedure, *J. Clin. Periodontol.*, 15 : 374-382, 1988.
38. Terranova V.P. and Wikesjö U.M.E. : Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells of the periodontium : A review, *J. Periodontol.*, 58 : 371-380, 1987.
39. Terranova V.P. and Wikesjö U.M.E. : Chemotaxis of cells from periodontal tissue to different biologic response modifiers, *Adv. Dent. Res.*, 2 : 215-222, 1988.
40. Rutherford R.B. : Platelet-derived growth factor and dexametasone combined with collagen matrix induced regeneration of the periodontium in monkeys, *J. Clin. Periodontol.*, 16 : 545-548, 1993.
41. Giannobile W.V., Ryan S., Su D.L., Kaplan P.L. and Chan T.C.K. : Recombinant human osteogenic protein-1(OP-1) stimulates periodontal wound healing in Class III furcation defects, *J. Periodontol.*, 69 : 129-137, 1998.
42. Yamashita H., Dijke P.T., Heldin C.H. and Miyazono K. : Bone morphogenetic protein receptors, *Bone*, 19 : 569-574, 1996.
43. Wozney J.M. : Biology and clinical application of rhBMP-2, In Lynch S.E., Genco R.J. and Marx R.E.(eds), *Tissue engineering, Applications in maxillofacial surgery and periodontics*, Chicago : Quintessence Publishing Company 1999a : 103-123.
44. Gerhart T.N., Holtrop M.E., Hennig G.E., Hipp J., Schelling S.H. and Wang E. : Healing segmental femoral defects in sheep using recombinant bone morphogenetic protein, *Clin. Orthop.*, 293 : 317-326, 1993.
45. King G.N., King N., Wozney J.M. and Hughes F.J. : rhBMP-2 promotes wound healing in rat periodontal fenestration defects, *J. Dent. Res.*, 76 : 1460-1470, 1997.
46. Ishikawa I., Kinoshita K., Oda S. and Roongruangphol T. : Regenerative therapy in periodontal disease-Histological observation after implantation of rhBMP-2 in the surgically created periodontal defects in adult dogs, *Dentistry in Japan*, 31 : 141-146, 1994.
47. Ripamonti U., Heliotis M., van den Heever B. and Reddi A.H. : Bone morphogenetic proteins induce periodontal regeneration in the baboon(*Papio ursinus*), *J. Periodontal. Res.* 29 : 439-445, 1994.
48. Sampath T.K. and Reddi A.H. : Dissociative extraction and reconstitution of extracellular matrix components involved in local bone differentiation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 78 : 7599-7603, 1981.
49. Howell T.H., Fiorellini J., Jones A., Alder M., Nummikoski P., Lazaro M., Lilly L. and Cochran D. : A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation, *Int. J. Periodont. Rest. Dent.*, 17 : 124-139, 1997.
50. Kinoshita A., Oda S., Takahashi K., Yokata S. and Ishikawa I. : Periodontal regeneration by application of recombinant human bone morphogenetic protein-2 to horizontal circumferential defects created by experimental periodontitis

- in beagle dogs, *J. periodontol.*, 68 : 103-109, 1997.
51. Wikesjö U.M.E., Kean C.J.C. and Zimmerman G.J. : Periodontal repair in dogs: Supraalveolar defect models for evaluation of safety and efficacy of periodontal reconstructive therapy, *J. Periodontol.*, 65 : 1151-1157, 1994.
 52. 서혜연, 최성호, 문익상, 조규성, 김종관, 채중규 : 성견의 1면 골내낭에서 calcium sulfate 이식이 치주조직 치유에 미치는 영향, *대한 치주과학회지*, 27 : 363-371, 1997
 53. Araujo M.G., Berglundh T., Albrektsson T. and Lindhe J. : Bone formation in furcation defects, An experimental study in the dog, *J. Clin. Periodontol.*, 26 : 643-652, 1999.
 54. Ripamonti U., Heliotis M., Rueger D.C. and Sampath T.K. : Induction of cementogenesis by recombinant human osteogenic protein-1(hop-1/bmp-7) in the baboon, *Arch. Oral Biol.*, 41 : 121-126, 1996.
 55. Macneil R.L., Sheng N., Strayhorn C., Fisher L.W. and Somerman M.J. : Bone sialoprotein is localized to the root surface during cementogenesis, *J. Bone. Min. Res.*, 9 : 1597-1606, 1994.
 56. Tenorio D., Cruchley A. and Hughes F.J. : Immunocytochemical investigation of the rat cementoblast phenotype, *J. Periodontal. Res.* 28 : 411-419, 1993a.
 57. Kuboki Y., Sasaki M., Saito A., Takita H. and Kato H. : Regeneration of periodontal ligament and cementum by BMP-applied tissue engineering, *Eur J. Oral Sci.*, 106(suppl 1) : 197-203, 1998.
 58. Rutherford R.B., Charette M. and Rueger D. : Role of osteogenic(bone morphogenetic) protein and platelet-derived growth factor in periodontal wound healing : Molecular pathogenesis of periodontal disease, Washington. DC., American society for microbiology press, 427-437, 1994.
 59. Macneil R.L. and Somerman M.J. : Molecular factors regulating development and regeneration of cementum, *J. Periodontal. Res.* 28 : 550-559, 1993.
 60. Wikesjö U.M.E., Crigger M., Nilveus R.E. and Selvig K.A. : Early healing events at the dentin-connective tissue interface. Light and transmission electron microscopy observation, *J. Periodontol.*, 62 : 5-14, 1991.
 61. Wikesjö U.M.E., Hanisch O., Sigurdsson T.J. and Caplanis N. : Application of rhBMP-2 to alveolar and periodontal defects, In Lynch S.E., Genco R.J. and Marx R.E.(eds), *Tissue engineering, Applications in maxillofacial surgery and periodontics*, Chicago : Quintessence Publishing Company 1999a : 269-286.

사진부도 설명

사진부도 1. 상악 제 3 전치 근심면에 4mm 깊이와 4mm 근원심 폭경으로 형성한 1면 골결손부.

사진부도 2. 형성한 골결손부에 rhBMP/ACS와 buffer/ACS 이식.

사진부도 3. 대조군의 소견(HE × 10)

접합상피의 치근단 방향 증식과 결합조직 유착이 보이며, 신생골 형성이 관찰된다.

사진부도 4. 대조군의 소견(HE × 40)

접합상피의 치근단 방향 증식이 관찰되고 결합조직이 치근면에 평행하게 주행한다.

사진부도 5. 대조군의 소견(HE × 40)

치근면이 미란 형태로 흡수되어 있고, 신생골이 형성되어 있다.

사진부도 6. 대조군의 소견(HE × 40)

reference notch 상방으로 소량의 백악질이 형성되어 있다.

사진부도 7. 실험군의 소견(HE × 10)

형성한 골 결손부내에 다량의 신생골이 재생된 소견을 보인다.

사진부도 8. 실험군의 소견(HE × 40)

접합 상피의 치근단 이동은 적다.

사진부도 9. 실험군의 소견(HE × 40)

결합 조직이 사선 방향으로 주행하며 치근면에 흡수 소견이 있다.

사진부도 10. 실험군의 소견(HE × 40)

결손부 상방에 골 유착 소견과 신생 백악질이 관찰된다.

사진부도 11. 실험군의 소견(HE × 100)

신생골 소견으로서 광화된 골과 골소주가 관찰된다.

사진부도 12. 실험군의 소견(HE × 200)

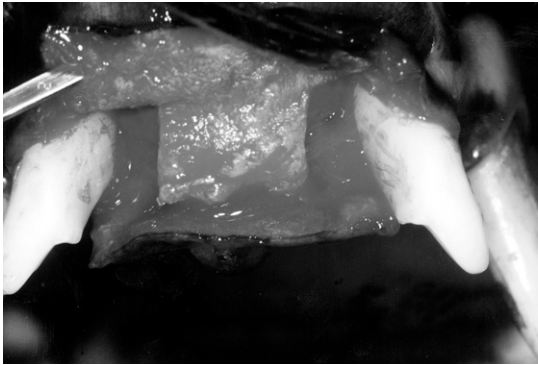
신생골은 층판 구조를 보이며 조골양 세포가 관찰된다.

사진부도 약자풀이

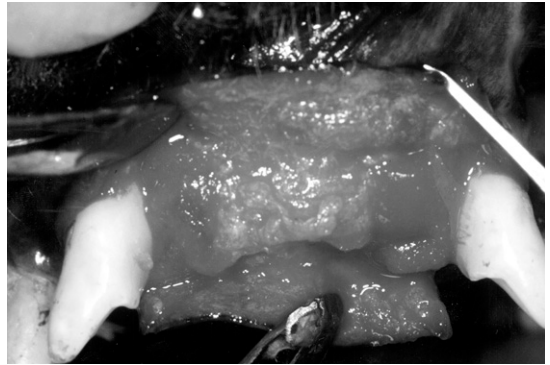
aJE : 접합상피 하단, CT : 결합조직, PDL : 치주인대, NC : 신생 백악질, NB : 신생골, RR : 치근 흡수,

A : 골 유착, bN : reference notch

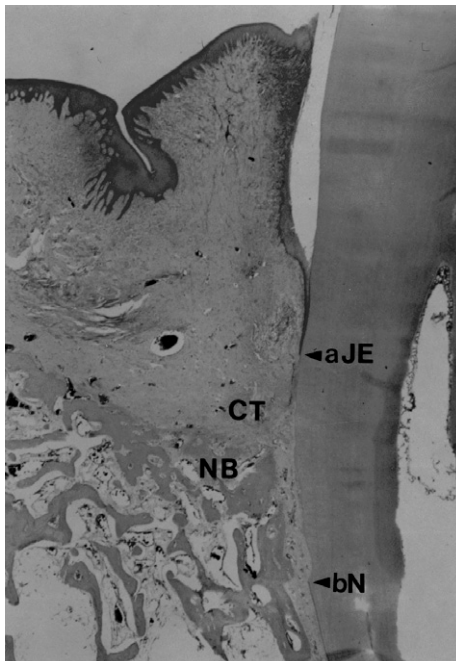
사진부도(1)



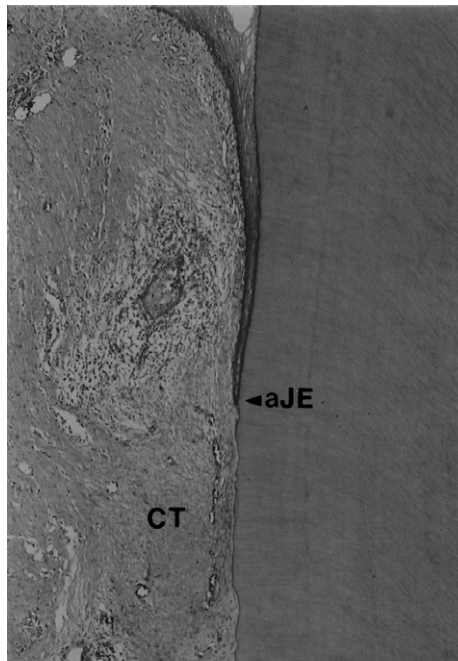
사진부도 1. 골결손부 형성



사진부도 2. rhBMP-2/ACS 이식

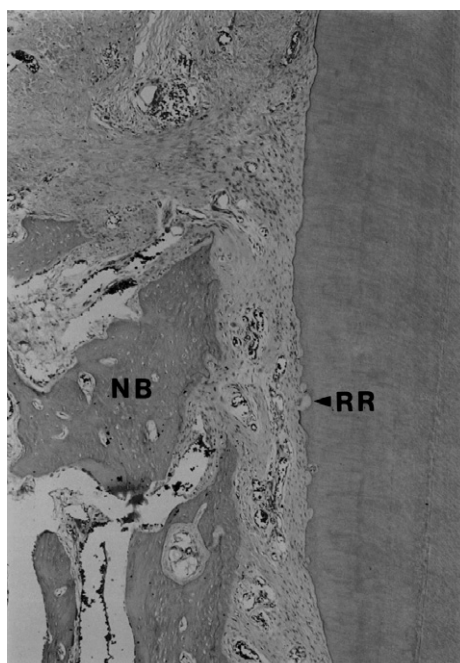


사진부도 3. 대조군 소견(H-E×10)

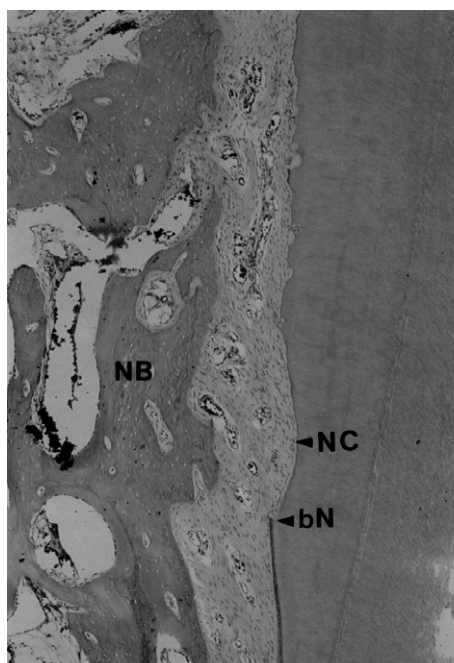


사진부도 4. 대조군 소견(H-E×40)

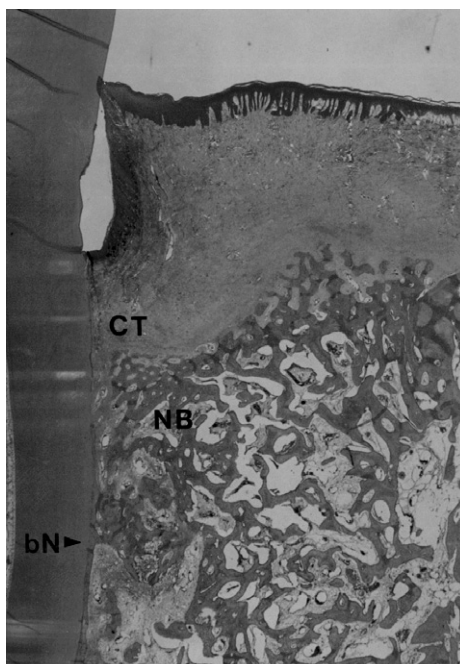
사진부도(Ⅱ)



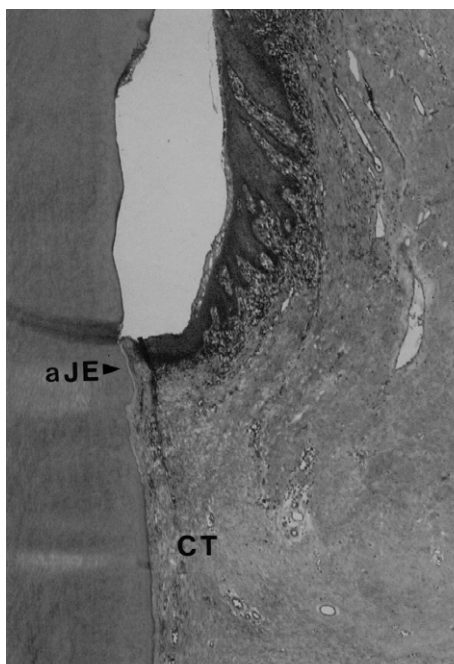
사진부도 5. 대조군 소견(H-E×40)



사진부도 6. 대조군 소견(H-E×40)

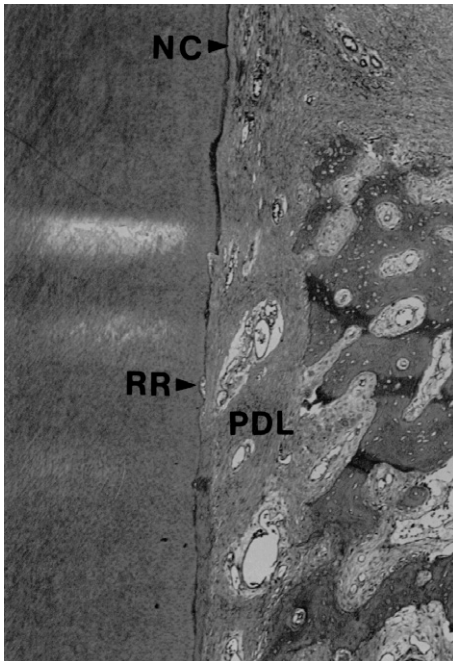


사진부도 7. 실험군 소견(H-E×10)

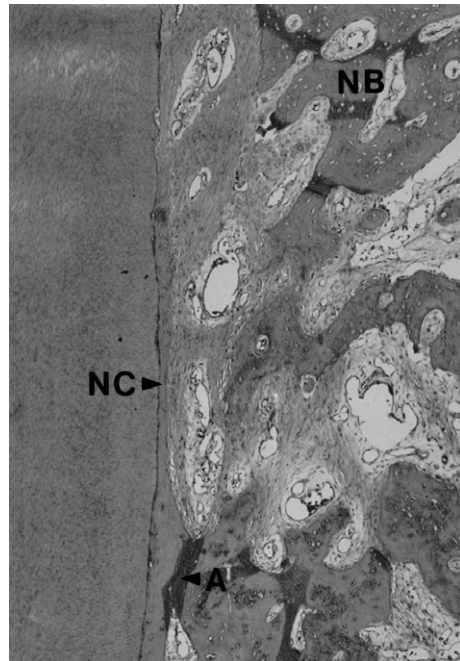


사진부도 8. 실험군 소견(H-E×40)

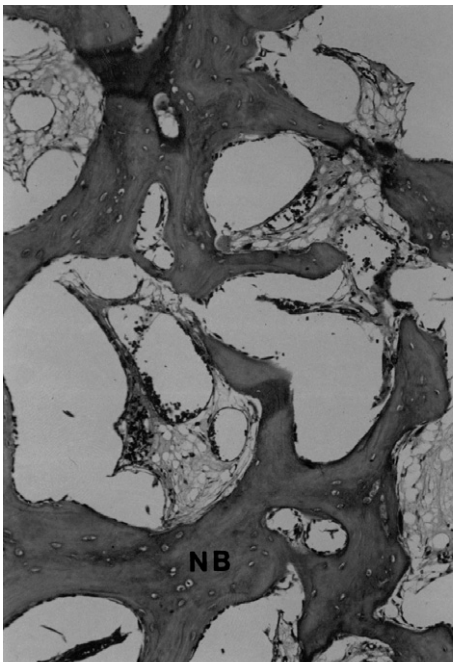
사진부도(Ⅲ)



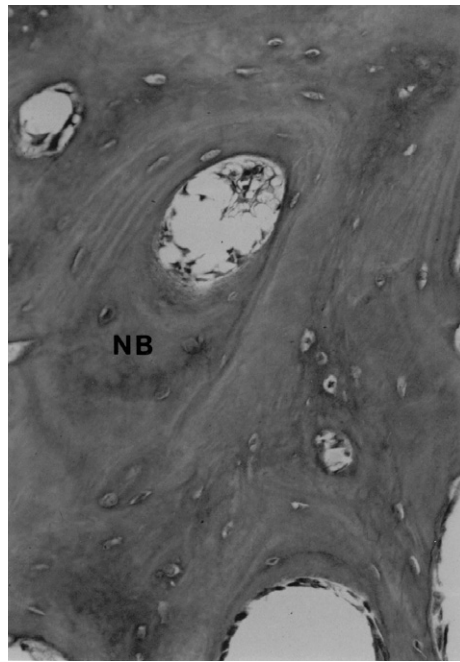
사진부도 9. 실험군 소견(H-E×40)



사진부도 10. 실험군 소견(H-E×40)



사진부도 11. 실험군 소견(H-E×100)



사진부도 12. 실험군 소견(H-E×200)

The Effects of rhBMP-2/ACS on the Periodontal Healing of 1-Wall Intrabony Defects in Dogs

Hye-Young Jun, Kyoo-Sung Cho, Chong-Kwan Kim, Jung-Kiu Chai
Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University
Research Institute for Periodontal Regeneration

The ultimate goal of periodontal therapy is the regeneration of periodontal tissue and repair of function. For more than a decade there have been many efforts to develop materials and bioactive molecule(such as growth factor and differentiation factors) to promote periodontal wound healing. Among the bioactive molecules, bone morphogenetic protein(BMP) was studied for periodontal wound healing. Since Urist demonstrated that demineralized bone matrix could induce the formation of cartilage and bone in ectopic site, many studies on BMP have been reported. Among those BMPs, it was reported that rhBMP-2 enhanced the healing of bone defects in animal studies and clinical studies. However, its efficacy in periodontal regeneration, especially 1-wall intrabony defects is still unknown. The purpose of this study was to examine the effect of rhBMP-2/ACS on the epithelial migration, gingival connective tissue adhesion, cementum formation, alveolar bone regeneration in intrabony defects of dogs. Four millimeter deep and four millimeter wide 1-wall defects were surgically created in the mesial aspects of the 3rd incisors. The test group received rhBMP-2/ACS with a flap procedure and the control underwent buffer/ACS with a flap procedure. Histologic analysis after 8 weeks of healing revealed the following results:

1. The length of epithelial growth(the distance from alveolar crest to the apical end of JE) was 0.9 ± 1.5 mm in the control group and 1.2 ± 1.4 mm in the test group. There was no statistically significant difference between the two groups.
2. The length of connective tissue adhesion was 2.4 ± 1.3 mm in the control group and 1.2 ± 1.1 mm in the test group. The control group showed significantly enhanced adhesion($P < 0.05$).
3. The length of new cementum was 0.9 ± 1.0 mm in the control group and 1.7 ± 0.8 mm in the test group. The test group showed significantly enhanced cementum regeneration($P < 0.05$).
4. The length of new bone height was 1.9 ± 0.6 mm in the control group and 2.4 ± 0.9 mm in the test group. There was no statistically significant difference between the two groups.
5. The new bone area was 4.7 ± 1.7 mm² in the control group and 8.0 ± 2.0 mm² in the test group. The test group showed significantly enhanced bone formed area($P < 0.05$).
6. The new bone density was $73.0 \pm 8.6\%$ in the control group and $66.6 \pm 15.3\%$ in the test group. There was no statistically significant difference between the two groups.

These results suggest that the use of rhBMP-2 in 1-wall intrabony defects has significant effect on new cementum and new bone formation area, but doesn't have any significant effect on the prevention of junctional epithelium migration and new bone formation height.

Key words : periodontal regeneration, growth factor, rhBMP-2/ACS, 1-wall intrabony defect