

## RP titanium cap과 rhBMP-2를 이용하여 형성된 신생골의 미세전산화단층촬영을 이용한 평가

한만승 · 정승곤 · 김방신 · 양지웅 · 국민석 · 박홍주 · 유선열 · 오희균

전남대학교 치의학전문대학원 구강악안면외과학교실, 2단계 Brain Korea 21 (BK21), 전남대학교 치의학연구소

**Abstract** (J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2010;36:466-72)

### Evaluation of bone formation by recombinant human BMP-2 and rapid prototype titanium cap in rabbit calvaria using micro computed tomography

Man-Seung Han, Seunggon Jung, Bang-Sin Kim, Ji-Woong Yang,  
Min-Suk Kook, Hong-Ju Park, Sun-Youl Ryu, Hee-Kyun Oh

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, 2nd stage of Brain Korea 21 (BK21), School of Dentistry, Chonnam National University,  
Dental Science Research Institute, Chonnam National University, Gwangju, Korea

**Introduction:** This study examined the effect of recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP)-2 and  $\beta$ -tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) on new bone formation in a rabbit calvarium using a rapid prototype titanium cap (RP Ti cap).

**Materials and Methods:** Eight New Zealand white rabbits were used in this study. Hemispherical RP Ti caps (10 mm in diameter) were implanted subperiosteally on the rabbit calvaria.  $\beta$ -TCP was filled in the RP Ti cap in the control group, and rhBMP-2 soaked  $\beta$ -TCP was used in experimental group. The rabbits were sacrificed 2 and 4 weeks after the operation. The volume and pattern of newly formed bone was analyzed by micro computed tomography (CT).

**Results:** Macroscopically, there were no abnormal findings in any of the animals. The micro CT images revealed new bone from the calvaria that expanded gradually toward the top of the titanium cap, particularly along the inner surface of the titanium cap in the experimental group at 4 weeks after grafting. There was no significant difference in new bone volume ratio between the control and experimental groups at 2 weeks after grafting. There was a statistically significant difference in the new bone volume ratio between the experimental ( $14.1 \pm 1.8\%$ ) and control ( $7.2 \pm 1.5\%$ ) groups at 4 weeks after grafting ( $P < 0.01$ ).

**Conclusion:** The RP Ti cap can effectively guide new bone formation and rhBMP-2 can induce the new bone formation.

**Key words:** Titanium cap, Bone morphogenetic protein 2, Micro computed tomography

[paper submitted 2010. 7. 29 / revised 2010. 11. 17 / accepted 2010. 12. 14]

## 1. 서 론

치과용 임플란트의 대중화와 더불어 치조골의 결손부에서 골증대를 위한 여러 가지 노력을 하고 있으며, 이와 더불어 골재생 시 골을 좀 더 효과적이며 빠르고 원하는 모양으로 형성하기 위한 노력이 이루어지고 있다. 치조골 결손부에 대한 골증대가 필요한 경우, 골이식을 이용한 골유도 재생술(guided bone regeneration, GBR), 중첩골이식술

(onlay bone graft) 및 상악동저거상술(sinus elevation with bone graft) 등을 이용하며, 또한 치조골확장술(ridge expansion osteotomy)과 수직치조골신장술(vertical alveolar distraction osteogenesis) 등의 술식을 사용하고 있다.

골유도재생술은 골이식 시 골이식 부위로의 상피세포 또는 결체조직 등이 침투하지 못하도록 차단하여 골형성을 도모하는 방법으로, 다양한 골이식재와 함께 흡수성 및 비흡수성막을 차폐막으로 흔히 사용하고 있다<sup>1,2</sup>. Titanium cap도 차폐막으로 골증대술에서 사용할 수 있으며<sup>3</sup>, 골증대술 시 titanium barrier 차폐막의 효용성에 대한 많은 연구도 보고되고 있다<sup>4,5</sup>. 그러나 기존 연구에서 이용한 titanium barrier는 절삭 등에 의한 방법으로 제작되어 실제 임상에 적용할 때 다양한 치조골 결손부의 형태를 반영하여 제작하기에는 많은 어려움이 있다. 그러나 titanium을 이용하여 cap을 제작할 때 rapid prototype (RP) 기법을 이용하면 원하

### 오 희 균

500-757 광주광역시 북구 용봉로 77

전남대학교 치의학전문대학원 구강악안면외과학교실

### Hee-Kyun Oh

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry,  
Chonnam National University

77 Yongbong-ro, Buk-gu, Gwangju, 500-757, Korea

TEL: +82-62-530-5618 FAX: +82-62-530-5619

E-mail: hkoh@chomam.ac.kr

는 형태로 cap을 제작할 수 있는 장점이 있다.

골이식에 사용하는 재료는 자가골(autogenous bone), 동종골(allograft), 이종골(xenograft) 및 합성골(alloplast) 등이 있으며, 골형성을 촉진하기 위한 생물학적 인자로서 platelet rich plasma (PRP) 또는 bone morphogenetic protein (BMP) 등을 이용하기도 한다<sup>13</sup>. 골이식 시 이용하는 합성골은 hydroxyapatite (HA) 및  $\beta$ -tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) 등이 있으며,  $\beta$ -TCP는 합성 생체물로 구강악안면영역의 골재생 및 증대를 위한 기질로 많이 사용한다. Ogose 등<sup>14</sup>은 다공성의  $\beta$ -TCP는 우수한 골전도성(osteoconductivity)과 임상적 효능을 나타내는 생체분해성 재료(biodegradable material)라고 하였다. 1965년 Urist<sup>15</sup>는 골형성을 촉진하기 위한 연구 과정에서 BMP를 발견하였으며, BMP가 골의 결손부를 재건하고 임플란트 매식 시 주변의 골형성을 촉진하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 이후 골치유를 촉진하기 위하여  $\beta$ -TCP에 recombinant human BMP-2 (rhBMP-2)를 첨가하여 골유도능(osteoinductive capacity)을 촉진하려는 노력을 하고 있다<sup>16-21</sup>.

골증대술을 시행하였을 경우, 신생골을 평가하는 방법의 하나인 micro computed tomography (micro CT)은 2차원 및 3차원적으로 골의 양과 형태를 비침습적으로 평가할 수 있다. Micro CT는 골의 양에 대한 3차원적인 형태학적 골계측과 골소주의 형태 및 골량을 측정하는데 유용하다<sup>22-24</sup>.

지금까지 RP 기법으로 제작한 mold를 이용한 골형성과 관련된 보고는 거의 없었다. 따라서 RP 기법으로 제작한 titanium cap이 골형성에 미치는 영향에 대하여 알아볼 필요가 있다. 본 연구는 토끼의 두개골에서 RP titanium cap (RP Ti cap)을 이용한  $\beta$ -TCP와 rhBMP-2 이식이 신생골 형성에 미치는 영향을 알아보려고 시행하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

본 연구에서는 체중 2.5 kg 내외의 성숙한 웅성 뉴질랜드산 흰토끼 8 마리를 사용하였다. 수용자는 토끼의 두개골을 사용하였으며, 골이식제를 주위조직으로부터 차폐하기 위하여 높이 5 mm, 직경 10 mm, 두께 1 mm의 titanium cap을 이용하였다.(Fig. 1)

RP Ti cap은 Solidworks (Dassault Systemes S.A, Concord, USA)를 이용하여 titanium cap의 모양을 디자인하고 MCP realizer II SLM system (MCP HEK GmbH, Lubeck, Germany)을 이용하여 selective laser melting (SLM) 방식인 full-melting과 powder-in-bed 방식으로 titanium cap을 제작하였다.

대조군에서 골이식제는 합성골인  $\beta$ -TCP (Cerasorb, Curasan Co., Frankfurt, Germany)를 사용하였으며, 실험군은  $\beta$ -TCP와 rhBMP-2 (Cowellmedi Co., Busan, Korea)를 이용하였다.



Fig. 1. Rapid prototype titanium cap is 5 mm in height, 10 mm in diameter and 1 mm in thickness with rough surface.

### 2. 연구방법

Xylazine (Rompun, Bayer Co., Seoul, Korea)과 tiletamine 및 zolazepam의 혼합액(Zoletil, Yuhan Co., Seoul, Korea)을 각각 10 mg/kg와 50 mg/kg 용량으로 토끼 대퇴근 부위에 근육주사하여 마취하였다. 시술 부위인 토끼의 두부에 시야 확보와 무균적 수술환경을 위하여 전기면도기 및 1회용 면도기를 이용하여 절개 부위의 털을 제모하고 1:100,000 에피네프린 함유 2% 리도카인으로 국소마취한 후 포타딘으로 소독하였다.

No.15 blade를 이용하여 토끼 두개골의 시상 봉합선을 따라 정중부에 절개를 가하고 골막기자를 이용하여 골막을 거상하고 박리하여 RP Ti cap이 위치할 수 있을 정도로 토끼의 두개골을 충분히 노출하였다. RP Ti cap을 고정할 목적으로 trephine bur (내경: 10 mm)를 이용하여 두개골 시상 봉합선 양측에 각각 1개씩의 원형의 홈을 파고, 골수로부터 출혈을 유도하기 위하여 round bur를 이용하여 원형의 홈 내부에 작은 hole을 형성하였다.

출혈을 유발한 후에 대조군(n=8)에서는 RP Ti cap 내에  $\beta$ -TCP를, 실험군(n=8)에서는 rhBMP-2를 적신  $\beta$ -TCP를 위치시키고, RP Ti cap을 원형의 홈에 움직이지 않도록 고정하였다.

대조군의 RP Ti cap 내에는 약 0.25 cc 가량의  $\beta$ -TCP를 이식하였다. 클린벤치 내에서 rhBMP-2를 phosphate buffered saline (PBS)와 1 mg/mL의 농도로 혼합하고  $\beta$ -TCP와 15분간 정치시킨 후 실험군에 이식하였다. 수술 부위를 생리식염수로 세척한 후, 4-0 Vicryl로 골막을, 3-0 Mersilk를 이용하여 피부를 층별로 봉합하였다. 봉합 후 시술 부위를 포타딘으로 소독하였으며, tobramycin (Tobrex, Alcon Inc., Couvreur, Belgium) 연고를 도포하여 감염을 방지하였다. 술후 3일간 감염방지 및 동통감소를 목적으로 예방적 항생제(fortimicin)와 소염제(diclofenac)를 하루 2회씩 근육주사하였다.

### 3. 육안적 검사

술후 2주, 4주에 pentothal sodium을 과량 주사하여 각 군 당 2마리의 실험동물을 희생시키고, 이식 부위를 포함하여 두개골을 채취하여 육안적 소견을 관찰하였다.

### 4. Micro CT를 이용한 형태계측학적 분석

RP Ti cap을 포함한 이식 부위 주변으로 정상골이 포함되도록 시편을 채취하여, 10% 중성 포르말린에 2일간 고정하고, SkyScan1172 high-resolution micro CT (Skyscan N.V., Kontich, Belgium)를 이용하여 micro CT 영상을 얻었다. 촬영하는데 사용한 source voltage는 50 kV, source current는 198 uA로 설정하였다. Image pixel size는 11.0 um로, 촬영할 때의 시편의 회전 각도는 0.5°로 설정하였으며 aluminum 0.5 mm filter를 이용하여 영상을 촬영하였다.

영상의 재구성프로그램(CTrecon, Skyscan N.V., Kontich, Belgium)을 이용하여 영상을 재구성하여 관찰하였으며, 재구성된 영상을 분석프로그램(CTAn, Skyscan N.V., Kontich, Belgium)을 이용하여 조직 부피(tissue volume, TV)에 대한 골 부피(bone volume, BV) 비율을 구하였다.(Fig. 2)

신생골 부피(new bone volume, NBV)를 구하기 위하여 영상에서 명암 차이를 이용하였으며, 두개골 상방에 형성된 골 부피율(BV ratio)와  $\beta$ -TCP의 부피율(TCP volum ratio)을 구하였고 이 차이를 신생골 부피율로 구하였다. 신생골의 부피율(NBV ratio)을 계산할 때 조직 부피율(TV ratio)은 같은 값을 유지하였다.

$$\text{Bone volume (BV) ratio (\%)} = \text{BV/TV} \times 100$$

$$\text{lower grey threshold} = 40, \text{ upper grey threshold} = 110$$

$$\text{TCP volume (TCPV) ratio (\%)} = \text{TCPV/TV}$$

$$\text{lower grey threshold} = 55, \text{ upper grey threshold} = 110$$

$$\begin{aligned} \text{New bone volume (NBV) ratio (\%)} &= \text{BV ratio} - \text{TCPV ratio} \\ &= \text{BV/TV} - \text{TCPV/TV} \end{aligned}$$

### 5. 통계학적 분석

각 군간의 신생골 부피의 차이를 비교하기 위하여 SPSS 12.0 version (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 ANOVA 분석을 시행하였으며 실험 군 간의 유의성 여부를 평가하기 위하여 Bonferroni 방법을 이용하여 사후검정을 시행하였다.

## Ⅲ. 연구 결과

### 1. 육안적 소견

육안적으로 관찰한 결과 모든 군에서 감염 또는 염증소견이나 수술 부위의 이개 등의 이상소견은 관찰되지 않았다. 술후 2주 및 4주째에 모든 동물에서 반원모양의 신생골이 형성되었으며 내부의  $\beta$ -TCP는 완전히 흡수되지 않았음을 관찰할 수 있었다.

### 2. 영상소견

Micro CT로 조직을 관찰한 결과 모든 실험동물에서 술후 2주 및 4주에  $\beta$ -TCP는 흡수되지 않고 titanium cap 내에 존재하고 있었고,  $\beta$ -TCP 사이의 빈 공간으로 신생골이 형성되고 있었으며, 신생골은 미약하지만 골소주 양상을 나타냈다.

Micro CT 영상에서 두개골과 신생골은 비슷한 정도의 밝기를 나타냈었으나,  $\beta$ -TCP에 비하여 상대적으로 어둡게 관찰되었다.  $\beta$ -TCP는 확연한 밝은 색을 나타내어 주변의 골조직 및 연조직과 구분되었다.

2주째의 대조군과 실험군에서는  $\beta$ -TCP가 흡수되지 않고 남아 있음을 보였으며 미약한 신생골이 두개골 상방에서부터 형성되는 것을 관찰할 수 있었으나 RP Ti cap의 내측 벽을 따라 상방까지 성장하지 않음을 관찰할 수 있었

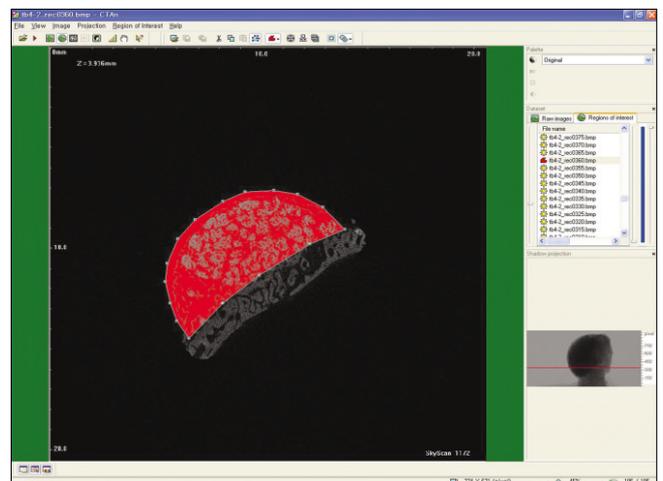
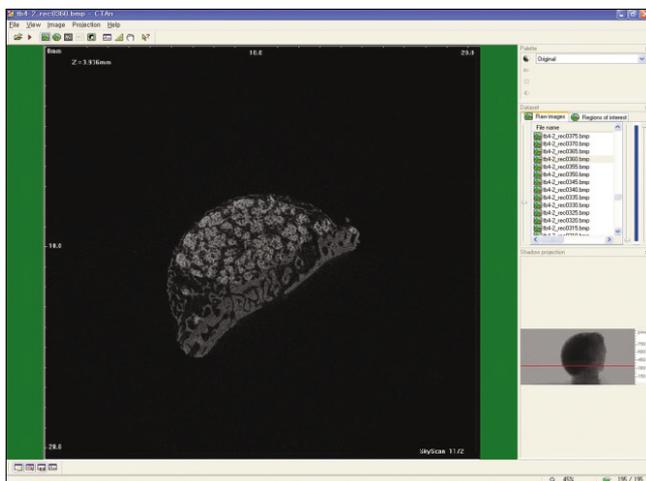


Fig. 2. Progress in calculation of new bone formation.

다.(Figs. 3, 4)

넷째 주에 희생한 대조군의 영상에서  $\beta$ -TCP는 흡수되지 않고 남아 있었으며 약간의 골형성과 미약한 골소주 양상을 관찰할 수 있었고 신생골은 RP Ti cap의 상방까지는 도달하지 못하는 양상을 나타냈다.(Fig. 5) 그러나 실험군에

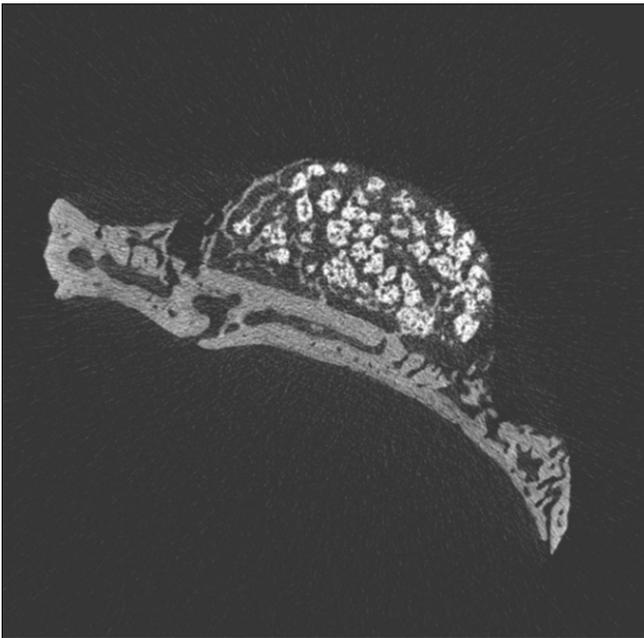
서는  $\beta$ -TCP를 감싸면서 두개골 하방에서부터 RP Ti cap의 내측벽을 따라 cap의 상방까지 신생골이 형성됨을 관찰할 수 있었으며 cap 내부의 공간은 골소주 양상을 보인 신생골로 채워져 있었다.(Fig. 6)



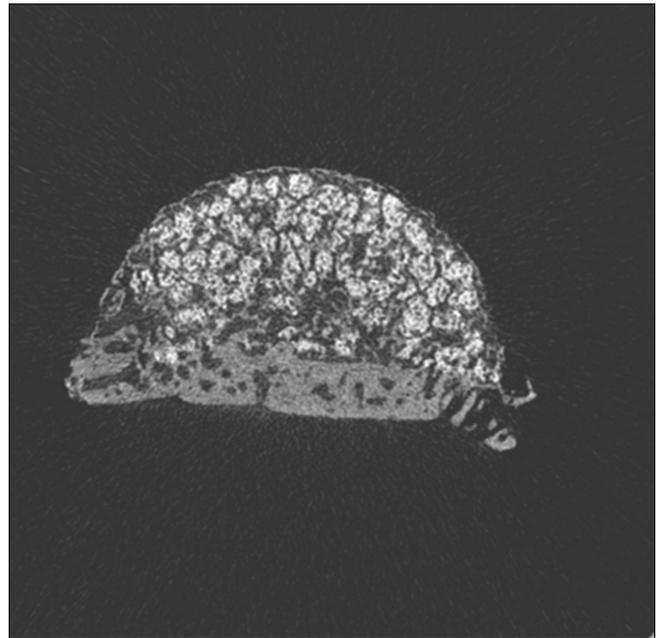
**Fig. 3.** Micro CT images of 2 weeks after grafting in control group.  
(CT: computed tomography)



**Fig. 4.** Micro CT images of 2 weeks after grafting in experimental group.  
(CT: computed tomography)



**Fig. 5.** Micro CT images of 4 weeks after grafting in control group.  
(CT: computed tomography)



**Fig. 6.** Micro CT images of 4 weeks after grafting in experimental group.  
(CT: computed tomography)

### 3. Micro CT를 이용한 형태계측학적 소견

골 부피율(BV, %),  $\beta$ -TCP의 부피율(TCPV, %) 및 신생골의 부피율(NBV, %)을 구하여 분석한 결과 대조군의 술후 2주째의 신생골의 부피율(6.9±1.6%)보다 4주째의 신생골의 부피율(7.2±1.5%)이 약간 증가하였으나 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다. 반면 실험군에서는 술후 2주째에 신생골 부피율(8.5±1.4%)보다 4주째의 신생골 부피율(14.1±1.8%)이 통계학적으로 유의성 있게 증가하였다.(Table 1, Fig. 7,  $P<0.01$ )

술후 2주째에 실험군과 대조군은 신생골 부피율에 있어서 유의한 차이를 보이지는 않았으나, 술후 4주째에 실험군의 신생골 부피율은 대조군에 비해 크게 증가하였으며 이는 통계학적으로 유의한 차이를 보였다.(Table 1, Fig. 7,  $P<0.01$ )

## IV. 고 찰

무치악 부위 또는 치조골이 결손된 부위에서 제한적으로 사용하던 치과용 임플란트는 골이식술의 발전에 따라 적응증이 점점 확대되고 있으며, 임플란트를 이용한 무치악 부위의 성공적인 수복을 위해서는 임플란트의 표면을 노출되지 않도록 골로 완전히 덮는 것이 필요하다<sup>1</sup>. 골증대술의 필요성이 증가함에 따라 골재생을 좀 더 효과적으로 시

행하고, 빠르게 재생시키며 임플란트 매식에 적합한 모양으로 형성하기 위한 노력이 이루어지고 있다. 본 연구에서는 임플란트를 위한 골증대술 시 이용할 수 있는 BMP의 초기 신생골 형성능력을 평가하기 위하여 RP Ti cap 내에  $\beta$ -TCP와 rhBMP-2를 이식하였다.

골유도재생술은 골결손 부위에서 골을 재생하는 방법으로 골표면과 치유과정에서 원치 않는 조직들을 격리한다<sup>1</sup>. 골유도재생술에서 다양한 골이식재와 함께 흡수성 및 비흡수성 barrier를 이용하고 있다. 토끼의 두개골에 RP Ti cap을 차폐막으로 이용한 본 실험에서는, micro CT로 신생골 형성을 관찰하였다. 최근 골증대술 시 titanium barrier가 차폐막으로서 갖는 효용성에 대하여 많은 연구에서 보고되고 있다<sup>4,12</sup>. Yamada 등<sup>4</sup>은 titanium cap을 이용한 골유도재생술식에서 cap은 결합조직으로부터의 압력에 의한 붕괴에 저항할 수 있는 물리적 강도를 유지시키며 또한 주변 섬유성 조직의 침투를 폐쇄하는 능력을 유지한다고 하였다. 본 연구에서 육안적 및 micro CT 영상으로 시편을 관찰하였을 때 RP Ti cap의 형태에 따라 반원형의 형태가 그대로 유지됨을 관찰할 수 있었으며 RP Ti cap은 외력에 의해 변형되거나 붕괴되지 않았고 위치의 변화도 없었다. Lundgren 등<sup>3</sup>은 차폐막으로서 titanium barrier를 이용하여 골 이외의 조직을 차단하여 골이식술을 시행할 수 있다고 하였으며, Yamada 등<sup>4</sup>은 흡수성 또는 비흡수성 막이 아닌 titanium cap을 차폐막으로 이용하여 출혈만을 유발 시 골재생이 일어남을 확인하였고, van Steenberghe 등<sup>5</sup>은 차폐막을 이용하여 많은 양의 골을 재생할 수 있다고 하였다. 본 연구에서는 round bur를 이용하여 토끼의 두개골에서 출혈을 유도하였으며 micro CT 영상에서 출혈이 있던 두개골 부위에서부터 상방의  $\beta$ -TCP 내로 골의 재생이 진행되는 양상을 관찰할 수 있었고, 4주군에서는 RP Ti cap의 내부를 따라 골이 형성되는 것 또한 관찰할 수 있었다. RP Ti cap은 외부의 조직이 침투하는 것을 효과적으로 차단하고 적절한 형태를 유지하며 또한 골형성에 도움이 되는 것을 알 수 있었다.

치과용 임플란트를 매식하기 위한 골증대술이 증가함에 따라 골이식재에 대한 관심이 증가되고 있으며, 골이식에 사용하는 재료는 자가골, 동종골, 이종골 및 합성이식재 등이 있으며 근래에 골형성을 촉진하기 위하여 PRP 및 BMP

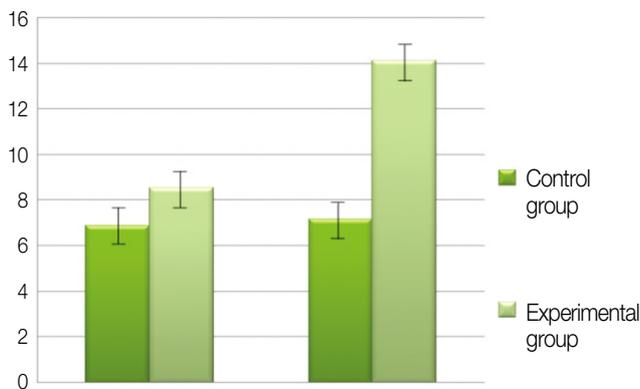


Fig. 7. New bone volume ratio (%) at 2 and 4 weeks after grafting.

Table 1. Volume ratio (%) of mineralized bone,  $\beta$ -TCP and newly generated bone under RP titanium cap (unit: %)

Groups	2 weeks			4 weeks		
	PBV	TCPV	NBV	PBV	TCPV	NBV
Control	26.2	19.3	6.9	23.9	16.7	7.2
Experimental	28.4	19.9	8.5	31.6	17.5	14.1

(\*:  $P<0.01$ , \*\*:  $P<0.01$  (ANOVA), TCP: tricalcium phosphate, RP: rapid prototype, BV: bone volume, TV: tissue volume, PBV: percent bone volume (BV/TV), TCPV: percent  $\beta$ -TCP volume/TV, NBV: new bone volume (PBV-TCPV))

등을 이용하기도 한다<sup>13</sup>. 합성골은 HA 및  $\beta$ -TCP를 가장 많이 사용하고 있으며, 흡수성 세라믹 입자인  $\beta$ -TCP는 합성 생체물로 구강악안면영역에서 골재생 및 증대를 위한 기질로서 많이 사용한다. Ogose 등<sup>14</sup>은 다공성의  $\beta$ -TCP는 우수한 골전도(osteoconductivity)와 임상적 효용을 나타내는 생분해물질이라고 하였다. 또한  $\beta$ -TCP가 갖는 다공성의 구조는 BMP 또는 PRP 등의 scaffold로서의 역할도 수행한다. Urist<sup>15</sup>는 골유도에 대한 기질을 연구하는 과정에서 BMP를 발견하였다. 이 단백질은 transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )군의 일종으로 다양한 조직에서 오랫동안 보존되고, 조직 내에서 또는 조직이 발생하는 동안 배아, 발생, 항상성유지 및 치유를 담당하는 다양한 기능을 갖는 단백질이다. 또한 현재까지의 연구에 의하면 BMP는 골형성 및 골모세포를 유도하는 강력한 inducer이다<sup>16</sup>. 많은 연구자들이 골치유를 촉진하기 위하여  $\beta$ -TCP에 rhBMP-2를 첨가하여 골유도능을 추가하려는 노력을 하고 있다. Matsushita 등<sup>17</sup>은 다양한 농도의 rhBMP-2와 TCP를 이용하여 골형성을 관찰하고 rhBMP-2와  $\beta$ -TCP가 골유도능과 생분해성(biodegradable properties)을 갖는다고 하였다. Alam 등<sup>18</sup>은 토끼의 두개골에 다양한 비율의 HA와 TCP를 이용하여 rhBMP-2가 있는 군과 없는 군을 비교하였을 때 rhBMP-2를 이용한 군에서는 골을 형성하였으나 rhBMP-2가 없는 대조군에서는 섬유성 결체조직이 관찰되었다고 하였다. Jingushi 등<sup>19</sup>은 토끼의 근육 내에 rhBMP-2와  $\beta$ -TCP를 매식하였을 경우 골이 형성됨을 관찰하였다. 본 연구에서  $\beta$ -TCP는 rhBMP-2의 scaffold로서 작용하였으며, RP Ti cap은 차폐막으로서 이용하였다. 기존의 많은 연구에서 4주와 12주째의 골형성을 비교하였으나<sup>4,6,8</sup>, 본 실험에서는 rhBMP-2를 투여하였을 경우 치유단계의 초기에서 영향을 미칠 것 인지를 확인하고자 2주 및 4주로 실험을 시행하였다. 두 번째 주 대조군과 실험군에서 신생골의 형성은 유의한 차이를 보이지 않았으나, 4주째에 실험군은 대조군에 비하여 더 많은 신생골이 형성되었다. 즉, RP Ti cap 내에  $\beta$ -TCP만 이식하였을 경우 시간에 따른 골형성은 차이가 없었으나 rhBMP-2를 이식한 경우, 술후 2주째에 비해 4주째에 신생골 형성이 증가하였다. 이는 rhBMP-2가 골형성을 촉진하는 것을 알 수 있었다. 추후 임상적으로 임플란트 식립 전 titanium 차폐막과  $\beta$ -TCP, rhBMP-2를 이용하여 골증대술을 시행할 경우 좀 더 신속한 골증대를 통하여 치유기간을 단축할 수 있을 것으로 생각한다.

골증대술 후 골을 평가하는 여러 가지 방법 중, micro CT는 2차원 및 3차원적으로 골의 양과 형태를 평가하는 비침습적인 기술로 신생골의 양을 측정할 수 있다. Quantative bone morphometry는 해면골에서의 골소주 구조를 평가하는 방법<sup>20</sup>으로 기존의 histological sectioning, planar radiography 또는 medical CT 보다 trabecular architecture를 더 우수하게 보여주며<sup>21</sup>, micro CT를 이용한 골량에 대한 형태계측은 3차원적으로 골소주량을 측정하는데 유용하다. Balto

등<sup>24</sup>은 micro CT를 이용한 골량에 대한 형태계측을 시행하여 micro CT와 조직학에서 그 3차원적인 부피의 차이를 비교연구하였다. 본 연구에서 micro CT의 단면을 관찰한 결과 신생골은 두개골 부위에서부터 형성되어 상방으로 성장하는 양상을 보였으며, 특히 RP Ti cap이 위치한 내측벽을 따라 신생골이 형성되었으며, 이는 rhBMP-2를 투여한 실험군에서 더 확실하게 관찰되었다. 또한 micro CT 영상에서 두개골과 신생골은 비슷한 정도의 밝기를 나타내었으며,  $\beta$ -TCP에 비하여 상대적으로 어둡게 관찰되었다.  $\beta$ -TCP를 확인한 밝은 색을 나타내어 주변의 골조직 및 연조직과 확연히 구분되었으며, 신생골 및 두개골은  $\beta$ -TCP와 비교하여 낮은 골밀도를 나타냈다. 이러한 차이를 이용하여  $\beta$ -TCP를 포함한 경조직 부피와  $\beta$ -TCP만의 부피, 그리고 신생골의 부피를 구할 수 있었다.

RP Ti cap은 다양한 형태로 제작할 수 있는 장점이 있어 임플란트 식립에 이상적인 치조골의 형태와 같이 임상적으로 필요한 형태로 제작할 수 있다. 다양한 형태의 cap을 이용한 골증대 가능성에 대하여 추가적인 실험이 필요하며, 또한 rhBMP-2를 이용하여 빠르게 형성된 신생골의 인장강도, 전단강도, 장력 및 골밀도 또한 평가되어야 할 것으로 생각한다.

## V. 결 론

본 연구는 토끼의 두개골에서 RP Ti cap을 이용한  $\beta$ -TCP와 rhBMP-2 이식이 신생골 형성에 미치는 영향을 알아보고자 시행하였었다.

성숙한 토끼 8 마리의 두개골에 RP Ti cap을 위치시키고, 이 cap 내에 대조군에서는  $\beta$ -TCP를 이식하였으며, 실험군에서는  $\beta$ -TCP와 rhBMP-2를 이식하였다. 술후 2주와 4주째에 각각 4마리씩의 실험동물을 희생시켜 이식 부위를 육안적 및 micro CT를 이용한 조직형태계측학적으로 신생골 형성을 평가하였다.

육안적으로 모든 군에서 감염 또는 염증소견이나 수술 부위의 이개 등의 이상소견은 관찰되지 않았다.

Micro CT 소견 결과 술후 2주와 4주째에 대조군과 실험군에서는  $\beta$ -TCP가 흡수되지 않고 남아 있었으며, 술후 4주째에 실험군에서 신생골이  $\beta$ -TCP를 감싸면서 두개골 하방에서부터 RP Ti cap의 내측벽을 따라 상방까지 형성됨을 관찰할 수 있었다.

Micro CT를 이용한 조직형태계측학적 소견에서 술후 2주째에 실험군과 대조군의 신생골 부피율은 유의한 차이를 보이지는 않았으나, 술후 4주째에 실험군의 신생골 부피율( $14.1 \pm 1.8$ %)은 대조군( $7.2 \pm 1.5$ %)에 비해 크게 증가하였다. ( $P < 0.01$ )

이상의 결과에서 RP Ti cap은 신생골의 형성을 유도하는데 효과적으로 사용할 수 있으며, rhBMP-2는 신생골을 효과적으로, 빠르게 유도할 수 있음을 시사한다.

## References

1. Dahlin C. Scientific background of guided bone regeneration. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK, eds. Guided bone regeneration in implant dentistry. Chicago: Quintessence Publishing Co. Inc.; 1994:31-48.
2. Kostopoulos L, Karring T. Augmentation of the rat mandible using guided tissue regeneration. Clin Oral Implants Res 1994; 5:75-82.
3. Lundgren D, Lundgren AK, Sennerby L, Nyman S. Augmentation of intramembraneous bone beyond the skeletal envelope using an occlusive titanium barrier. An experimental study in the rabbit. Clin Oral Implants Res 1995;6:67-72.
4. Yamada Y, Nanba K, Ito K. Effects of occlusiveness of a titanium cap on bone generation beyond the skeletal envelope in the rabbit calvarium. Clin Oral Implants Res 2003;14:455-63.
5. van Steenberghe D, Johansson C, Quirynen M, Molly L, Albrektsson T, *et al.* Bone augmentation by means of a stiff occlusive titanium barrier. Clin Oral Implants Res 2003;14:63-71.
6. Nishida T, Yamada Y, Murai M, Shimizu Y, Oshikawa M, Ito K. Effects of bioactive glass on bone augmentation within a titanium cap in rabbit parietal bone. J Periodontol 2006;77:983-9.
7. Min S, Sato S, Murai M, Okuno K, Fujisaki Y, Yamada Y, *et al.* Effects of marrow penetration on bone augmentation within a titanium cap in rabbit calvarium. J Periodontol 2007;78:1978-84.
8. Tamura T, Fukase Y, Goke E, Yamada Y, Sato S, Nishiyama M, *et al.* Three-dimensional evaluation for augmented bone using guided bone regeneration. J Periodontol Res 2005;40:269-76.
9. Yamada Y, Tamura T, Hariu K, Asano Y, Sato S, Ito K. Angiogenesis in newly augmented bone observed in rabbit calvarium using a titanium cap. Clin Oral Implants Res 2008;19: 1003-9.
10. Min S, Sato S, Saito M, Ebihara H, Arai Y, Ito K. Micro-computerized tomography analysis: dynamics of bone augmentation within a titanium cap in rabbit calvarium. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008;106:892-5.
11. Molly L, Quirynen M, Michiels K, van Steenberghe D. Comparison between jaw bone augmentation by means of a stiff occlusive titanium membrane or an autologous hip graft: a retrospective clinical assessment. Clin Oral Implants Res 2006;17: 481-7.
12. Schmid J, Wallkamm B, Hämmerle CH, Gogolewski S, Lang NP. The significance of angiogenesis in guided bone regeneration. A case report of a rabbit experiment. Clin Oral Implants Res 1997;8:244-8.
13. Tamura K, Sato S, Kishida M, Asano S, Murai M, Ito K. The use of porous beta-tricalcium phosphate blocks with platelet-rich plasma as an onlay bone graft biomaterial. J Periodontol 2007; 78:315-21.
14. Ogose A, Hotta T, Hatano H, Kawashima H, Tokunaga K, Endo N, *et al.* Histological examination of beta-tricalcium phosphate graft in human femur. J Biomed Mater Res 2002;63:601-4.
15. Urist MR. Bone formation by autoinduction. Science 1965;150: 893-9.
16. Asahina I, Sampath TK, Hauschka PV. Human osteogenic protein-1 induces chondroblastic, osteoblastic, and/or adipocytic differentiation of clonal murine target cells. Exp Cell Res 1996;222: 38-47.
17. Matsushita N, Terai H, Okada T, Nozaki K, Inoue H, Miyamoto S, *et al.* A new bone-inducing biodegradable porous beta-tricalcium phosphate. J Biomed Mater Res A 2004;70:450-8.
18. Alam I, Asahina I, Ohmamiuda K, Enomoto S. Comparative study of biphasic calcium phosphate ceramics impregnated with rhBMP-2 as bone substitutes. J Biomed Mater Res 2001;54:129-38.
19. Jingushi S, Urabe K, Okazaki K, Hirata G, Sakai A, Ikenoue T, *et al.* Intramuscular bone induction by human recombinant bone morphogenetic protein-2 with beta-tricalcium phosphate as a carrier: *in vivo* bone banking for muscle-pedicle autograft. J Orthop Sci 2002;7:490-4.
20. Laffargue P, Hildebrand HF, Raimate M, Frayssinet P, Amoureux JP, Marchandise X. Evaluation of human recombinant bone morphogenetic protein-2-loaded tricalcium phosphate implants in rabbits' bone defects. Bone 1999;25(2 Suppl):55S-58S.
21. Urist MR, Nilsson O, Rasmussen J, Hirota W, Lovell T, Schmalzreid T, *et al.* Bone regeneration under the influence of a bone morphogenetic protein (BMP) beta tricalcium phosphate (TCP) composite in skull trephine defects in dogs. Clin Orthop Relat Res 1987;(214):295-304.
22. Müller R, van Campenhout H, van Damme B, van Der Perre G, Dequeker J, Hildebrand T, *et al.* Morphometric analysis of human bone biopsies: a quantitative structural comparison of histological sections and micro-computed tomography. Bone 1998;23: 59-66.
23. Fajardo RJ, Müller R. Three-dimensional analysis of nonhuman primate trabecular architecture using micro-computed tomography. Am J Phys Anthropol 2001;115:327-36.
24. Balto K, Müller R, Carrington DC, Dobeck J, Stashenko P. Quantification of periapical bone destruction in mice by micro-computed tomography. J Dent Res 2000;79:35-40.