

## 자가치아골이식재의 결정구조 분석: X선 회절 분석

김경욱<sup>1</sup> · 여인성<sup>2</sup> · 김수관<sup>3</sup> · 엄인웅<sup>4</sup> · 김영균<sup>5</sup><sup>1</sup>단국대학교 치과대학 구강악안면외과, <sup>2</sup>서울대학교 치의학대학원 보철과, <sup>3</sup>조선대학교 치의학전문대학원 구강악안면외과,<sup>4</sup>한국치아은행 연구개발팀, <sup>5</sup>서울대학교 치의학대학원, 분당서울대학교병원 치과 구강악안면외과**Abstract** (J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg 2011;37:225-8)

## Analysis of crystalline structure of autogenous tooth bone graft material: X-Ray diffraction analysis

Gyung-Wook Kim<sup>1</sup>, In-Sung Yeo<sup>2</sup>, Su-Gwan Kim<sup>3</sup>, In-Woong Um<sup>4</sup>, Young-Kyun Kim<sup>5</sup><sup>1</sup>Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Dankook University, Cheonan,<sup>2</sup>Department of Prosthodontics, School of Dentistry and Dental Research Institute, Seoul National University, Seoul,<sup>3</sup>Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Chosun University, Gwangju,<sup>4</sup>CTO, R&D Director, Korea Tooth Bank, Seoul, <sup>5</sup>Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Section of Dentistry, Seoul National University Bundang Hospital, School of Dentistry, Seoul National University, Seongnam, Korea

This study evaluated the mineral crystalline structure of an autogenous tooth bone graft material. The crystalline structures of the autogenous tooth bone graft material enamel (AutoBT E+), dentin (AutoBT D+), xenograft (BioOss), alloplastic material (MBCP), allograft (ICB) and autogenous mandibular cortical bone were compared using XRD. The XRD pattern of AutoBT dentin and ICB was similar to that of autogenous bone.

**Key words:** Autogenous tooth bone, Crystalline structure, XRD

[paper submitted 2011. 3. 3 / revised 2011. 5. 17 / accepted 2011. 6. 7]

## I. 서 론

저자 등은 1993년도부터 사람의 치아를 이용한 골이식재 개발과 실험적 연구를 진행하였으며 2008년 발치된 치아를 분말로 처리하여 환자 자신에게 이식하는 자가치아골 이식재를 개발하였다<sup>1-3</sup>. 자가치아골이식재의 무기질은 4가지 단계(HA, TCP, OCP, ACP)의 calcium phosphate를 가지고 있으며 주사전자현미경적 관찰에서 HA 결정구조와 상아세관 주변의 콜라겐 섬유들이 확인되었다<sup>4</sup>. 단기간 임상연구를 시행한 결과 이식 후 창상이 벌어져도 골이식재가 감염에 이환되지 않고 양호한 이차치유가 이루어진다고 보고되었다<sup>5</sup>.

저자 등은 사람에서 발치된 치아들의 치관과 치근을 분리하여 범랑질과 상아질 분말로 처리한 골이식재료들과

임상에서 많이 사용되고 있는 동종골, 이종골 및 합성골에 대한 X선 회절분석(X-ray diffraction, XRD)을 통해 자가골의 구조와 유사성 여부를 평가하기 위해 본 연구를 시행하게 되었다.

## II. 연구 대상 및 방법

악교정 수술 중 채취된 하악골의 협측 피질골편을 대조군으로 하였으며 자가치아골이식재 범랑질(AutoBT E+, Korea Tooth Bank Co., Seoul, Korea), 상아질(AutoBT D+, Korea Tooth Bank Co., Seoul, Korea), 동종골(irradiated cancellous bone, ICB, Rocky Mountain Tissue Bank, Colorado, USA), 이종골(BioOss, Geistlich Biomaterials, Wolhusen Schweiz), 합성골(MBCP, Biomatlante, Vigneux de Bretagne, FRANCE)의 결정구조를 비교하였다. 각 시료들을 각각 열처리 전과 700°C에서 2시간 동안 열처리한 후 광물 결정상을 조사하였다. 열처리 전 시편들의 결정상을 조사하기 위하여 이들 시료를 액체질소로 급냉시킨 후 바로 분쇄하여 분말상으로 만들었다. 열처리 후의 시편은 냉각 후 분말형 시료를 제조하였다. 시편을 분쇄하여 가루로 만들어 분석용 홀더에 놓은 후 X-선 회절분석기(D8 Advance, Bruker

**김영균**

경기도 성남시 분당구 구미동 300

분당서울대학교병원치과 구강악안면외과

**Young-Kyun Kim**

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Section of Dentistry

300, Gumi-dong, Bundang-gu, Seongnam, 463-707, Korea

TEL: +82-31-787-7541 FAX: +82-31-787-4068

E-mail: kyk0505@snubh.org

AXS GmbH, Karlsruhe, Germany)를 사용하여  $2\theta$ 를  $10-90^\circ$ 까지 측정하였다.

XRD graph에서 각각의 골이식재들의 domain size를 캘리퍼로 측정하였다. 측정된 peak의 정점과 기저부의 중간 부분에서 너비를 측정하였는데 셰라 방정식(Scherrer's equation)을 사용하여 계산하였다<sup>6</sup>.(Fig. 1)

### III. 결 과

자가치아골이식재 상아질과 동종골의 XRD pattern이 자가골과 가장 유사한 양상을 보였으며, 자가치아골이식재 법랑질, 이종골, 합성골은 약간 다른 양상을 보였다.(Fig. 2) 각 골이식재 시료들의 domain size를 측정한 결과는 Table 1에 나타나 있다. 자가치아골이식재 상아질과 동종골(ICB)이 자가골과 비교적 유사한 크기를 보였다.

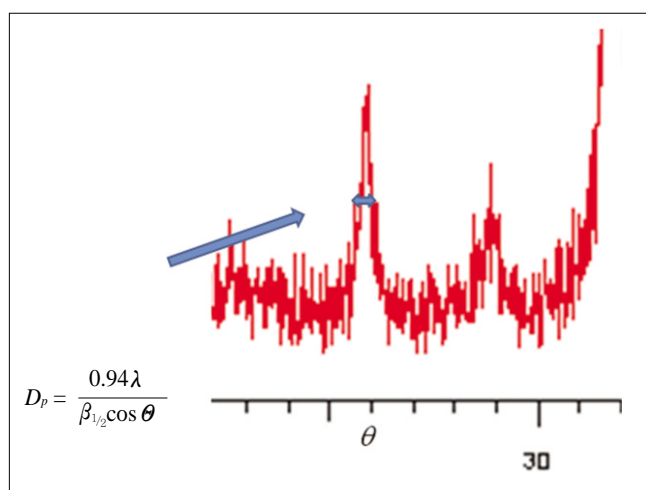


Fig. 1. Measurement of domain size. Arrow: width

### IV. 고 찰

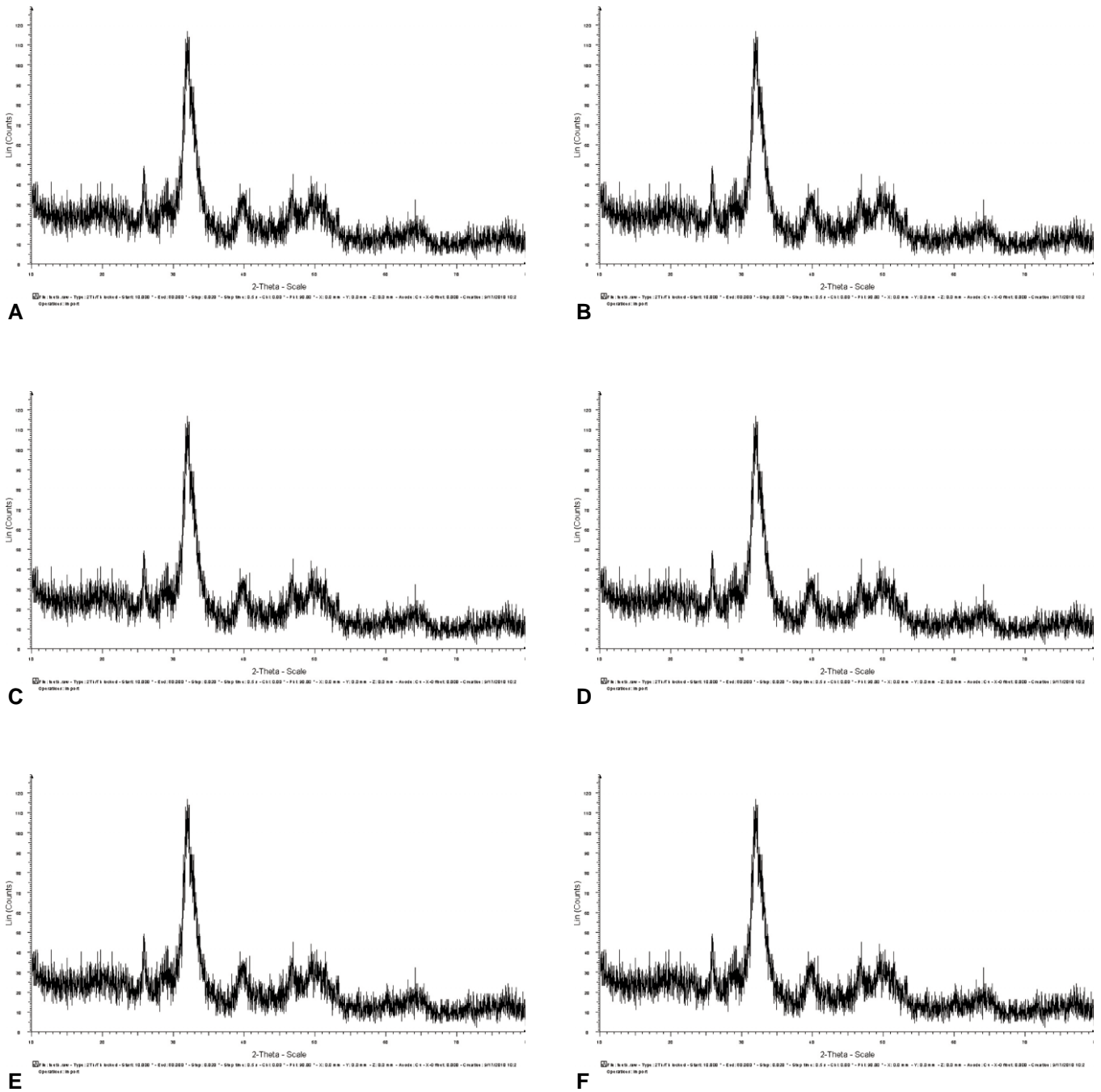
자가치아골이식재는 2008년 개발되어 최근 임상에서 활발히 사용되고 있는 재료이다. 치관과 치근 부분의 유기질과 무기질 함량이 차이가 있어 골이식 후 상이한 치유기전을 보이는 것으로 알려져 있다<sup>3,4</sup>. ICB (irradiated cancellous bone, Rocky Mountain Tissue Bank, USA)는 방사선 처리한 동종 해면골수골로서 골유도 및 골전도성 치유를 보이는 이식재료이다. BioOss (Geistlich Biomaterials, Wolhusen Schweiz)는 임상에서 많이 사용되는 대표적인 이종골이식재로서 특수 처리과정을 통해 유기성분을 제거하였고 우수한 골전도성 치유를 보이는 것으로 알려져 있다. MBCP (Micro-macro Biphasic Calcium Phosphate, Biomatlante, France)는 HA와  $\beta$ -TCP를 혼합한 합성골로서 골전도성 치유를 보이는 이식재료이다<sup>7</sup>.

X선 회절분석(XRD)은 분말형 시편의 방사선 회절패턴을 분석하여 고체의 결정구조를 조사하는 방법이다. 재료들의 화학식은 같아도 결정구조가 다를 수 있으며 회절분석을 통하여 결정구조와 결정의 크기를 추정할 수 있다. 결정 크기를 추정하기 위해 셰라 방정식(Scherrer equation)을 이용하게 된다. Hydroxyapatite, beta-TCP 등 각각의 형태에 대해 peak가 나타나는  $2\theta$ 의 값이 일정하다. JCPDS라는 database가 있으며 각각의 광물질에 대한 peak위치 및 상대적인 peak의 크기가 database로 되어있다. 따라서 각종 골이식재의 XRD측정 후 data base를 참고하여 어떤 구조를 가지는 물질이 있다는 것을 알 수 있다. XRD peak의 너비가 넓을수록 저결정성(low crystallinity)이며 좁을수록 고결정성(high crystallinity)을 나타낸다<sup>6,8-10</sup>.

본 연구에서 BioOss와 MBCP의 피크 위치가 유사하지만 BioOss의 피크는 MBCP와 알려진 HA의 XRD pattern에 비해 옆으로 퍼져 있는 양상을 보이고 있다. 즉 저결정성이며 결정의 크기(domain)가 작다는 것을 의미한다<sup>8</sup>. MBCP의 peak는 골이나 치아보다 훨씬 날카롭고 너비가 좁은 양상을 보였고 고결정성을 나타내는 골이식 재료로 판단되었

Table 1. Estimation of domain size form diffraction peak broadening

Diffracton line index	(002)	(210)	(211)	(310)	(222)	(213)	(004)
$2\theta$ at Cu K $\alpha$							
$\lambda=1.54 \text{ \AA}=0.154 \text{ nm}$	25.9	28.95	31.8	39.83	46.73	49.5	53.1
AutoBT D	16 nm	11	8	7	11	10	11
AutoBT E	27	19	19	33	28	40	25
Biooss	21	19	9	11	17	17	20
ICB	17	18	11	11	16	20	21
MBCP	42	42	35	30	43	40	36
Mn bone	16	13	8	8	13	20	21



**Fig. 2.** XRD patterns of a variety of bone graft materials.

A: XRD pattern of autogenous bone, B: XRD pattern of AutoBT dentin, C: ARD pattern of AutoBT enamel, D: XRD pattern of ICB, E: XRD pattern of BioOss, F: XRD pattern of MBCP.(XRD: X-ray diffraction)

다. 자가치아골이식재 법랑질은 상아질에 비해 peak가 좁으면서 매우 날카로운 양상을 보였다. 즉 무기질 함량이 많고 고결정성임을 의미한다. 대조군인 하악골은 피크의 너비가 옆으로 많이 퍼져있는 상태를 보였으며 자가치아골 이식재 상아질과 동종골이 유사한 양상을 보였다. 즉 악골

의 무기질 결정구조는 저결정성임을 의미하며 자가치아골 이식재 상아질과 동종골의 결정 구조가 자가골과 가장 유사한 양상을 보이는 것으로 추정되었다. Domain 크기를 측정한 결과에서도 자가치아골이식재 상아질과 동종골이 대조군인 자가골과 가장 유사한 양상을 보였다.

이전 Kim 등<sup>1</sup>의 연구에서 고온처리한 치아회분말의 주성분이 HA와  $\beta$ -TCP로 구성되어 있음이 보고된 바 있다. 한편 자가치아골이식체는 4가지 단계의 calcium phosphate가 모두 함유되어 있고 XRD pattern은 치관과 치근 부위에서 다른 양상을 보이는 것으로 확인되었다. 즉 상아질과 백악질로 주로 구성된 치근 부위는 저결정성이며, 법랑질 성분이 많은 치관 부위는 고결정성을 의미하였다<sup>34</sup>. 주사전자현미경을 이용한 표면구조 분석 결과 법랑질 부분의 경우 다른 부분에 비하여 표면의 형상이 아주 치밀한 조직을 지녔음을 확인할 수 있었다. 이는 법랑질이 결정성이 높은 97%의 HA 광물로 이루어졌기 때문이다. 상아질은 파단면에서 직경이 약 1-2  $\mu$ m로 긴 관상(tube type)의 기공들이 많이 발견되었는데, 이 기공들은 약 10  $\mu$ m마다 주기적으로 배열되어 있음이 확인되었다. 파단면에서 기공과 기공 사이에는 XRD 관찰에서 얻어진 결과와 같이 결정성이 낮은 HA가 주광물이고 다른 calcium phosphate 계열의 광물질들과 콜라겐 같은 유기물들이 혼재하고 있는 것으로 사료되었다. 백악질 부분도 저결정상의 광물과 콜라겐 유기물이 유무기복합체로 이루어져 있는 것으로 확인되었다<sup>11</sup>.

자가치아골이식체의 치관과 치근의 유무기질 조성이 다르기 때문에 골이식체로 처리한 후 이식할 때 각기 다른 치유기전을 보일 것으로 예상된다. 골조직에 존재하는 아파타이트는 세라믹/고분자 나노복합체의 형태를 이루고 있다<sup>12</sup>. 사람의 골조직에 존재하는 아파타이트는 저결정성이면서 입자 크기가 수십 나노미터 수준이다. 반면 높은 온도에서 소결과정을 거치면서 제작된 수산화아파타이트는 고결정성이 되며 소결과정 중 grain growth가 발생하여 골조직에 존재하는 아파타이트보다 수십 배 더 큰 크기를 갖게 된다<sup>13</sup>. 결정도가 높고 입자 크기가 클 경우에는 체내에서 생분해가 거의 불가능하고 골전도 능력이 매우 낮으며 파골세포에 의해 분해될 수 없다. 저결정성 탄소아파타이트(low crystalline carbonic apatite)일 경우 가장 우수한 골전도 효과를 보인다<sup>13</sup>. 본 연구에서 다양한 골이식체들을 대상으로 XRD 분석을 시행한 결과 자가치아골이식체 상아질이 저결정성 아파타이트로 구성되어 있음을 확인하였다. 치아의 대부분을 차지하는 상아질과 백악질부분을 골이식체로 사용할 경우 골조직의 주요 광물인 저결정성 아파타이트이기 때문에 이식 후 우수한 골전도에 의한 골치유 및 골개조를 보일 것으로 예상된다. 본 연구의 한계는 XRD pattern의 피크를 캘리퍼로 측정하는 과정에서 많은 오차가 있을 수 있으며, data의 질이 좋지 않아 noise가 많고 noise에 의하여 peak가 넓게 보여져서 입자의 크기가 작게 측정되었을 가능성이 있다는 점이다. 따라서 정량적인 분석을 정확히 할 수 없었던 한계점이 있지만 아직까지 정교하게 domain size를 측정할 수 있는 방법은 잘 알려져 있지 않다. 그러나 수작업으로 측정한 결과에서 자가치아골이식체 상아질과 동종골(ICB)이 자가골과 비교적 유사한 크기를 보였다는 점은 나름대로 의미가 있다고 생각된다.

## V. 결 론

자가골과 가장 유사한 결정구조를 보인 재료는 자가치아골이식체 상아질과 동종골이었다. 자가치아골이식체 법랑질과 MBCP의 domain size가 비교적 크면서 고결정성을 띠는 것으로 관찰되었다. 이종골 BioOss는 자가치아골이식, MBCP에 비해 저결정성을 띠는 것으로 나타났다.

자가치아골이식체는 주로 상아질과 백악질로 구성되어 있다. 즉 인체 골조직과 유사한 저결정성 아파타이트로 구성되어 있으며 치관과 치근 부위에 따른 골치유 양상이 상이할 것으로 예상된다.

## References

- Kim YK, Yeo HH, Ryu CH, Lee HB, Byun UR, Cho JO. An experimental study on the tissue reaction of toothash implanted in mandible body of the mature dog. J Korean Assoc Maxillofac Plast Reconstr Surg 1993;15:129-36.
- Kim YK, Yeo HH, Yang IS, Seo JH, Cho JO. Implantation of toothash combined with plaster of paris: experimental study. J Korean Assoc Maxillofac Plast Reconstr Surg 1994;16:122-9.
- Kim YK, Kim SG, Byeon JH, Lee HJ, Um IU, Lim SC, et al. Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2010;109:496-503.
- Kim YK, Lee HJ, Kim SG, Um IW, Lim SC, Kim SY. Analysis of inorganic component and SEM analysis of autogenous teeth bone graft material and histomorphometric analysis after graft. J Korean Acad Implant Dent 2009;28:1-9.
- Kim YK, Lee JY. The evaluation of postoperative safety of autogenous teeth bone graft. J Korean Acad Implant Dent 2009;28:29-35.
- Klug HP, Alexander LE. X-ray diffraction procedures for polycrystalline and amorphous materials. 2nd ed. New York: Wiley-Interscience; 1974.
- Kim YK, Kim SG, Lee BG. Bone graft and implant: vol 1. Bone biology and bone graft material. Seoul: Narae Pub Co.; 2007: 171-224.
- Tadic D, Epple M. A thorough physicochemical characterisation of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone. Biomaterials 2004;25:987-94.
- Kirik SD, Solovyov LA, Blokhin AI, Yakimov IS. Structures of. Acta Crystallogr B 2000;56:419-25.
- Balasundaram G, Sato M, Webster TJ. Using hydroxyapatite nanoparticles and decreased crystallinity to promote osteoblast adhesion similar to functionalizing with RGD. Biomaterials 2006;27:2798-805.
- Kim YK, Kim SG, Jin SC, Son JS, Kim SY, Um IW. Analysis of the Inorganic Component of Autogenous Tooth Bone Graft Material. J Nanosci Nanotechnol 2011 accepted.
- Glimcher MJ. Molecular biology of mineralized tissues with particular reference to bone. Rev Mod Phys 1959;31:359-93.
- Lee SH. Low Crystalline hydroxyl carbonate apatite. J Korean Dental Assoc 2006;44:524-33.