

성견의 1면 골결손부에서 법랑기질 유도체가 치주조직 치유에 미치는 영향

오제익 · 최성호 · 이승원 · 조규성 · 김종관 · 채중규

연세대학교 치과대학 치주과학교실
치주조직 재생 연구소

I. 서론

치주질환은 치료하지 않고 방치할 경우 치조골의 파괴와 치주인대의 소실로 치아의 동요도가 증가되어 치아의 상실까지 야기하게 되는데, 이러한 치주질환에 대한 치료는 치주질환의 진행을 정지시킬 뿐만 아니라, 나아가서는 이미 파괴, 소실된 치주조직의 구조적, 기능적 재생을 이루는 것을 궁극적 목표로 한다.

이러한 치주조직의 재생을 위해 여러 재료를 이용한 다양한 술식이 동물실험 및 임상실험을 통해 연구되고 있으며, 또한 임상에 적용되고 있다.

1976년 Melcher¹⁾는 치주창상의 치유는 어떤 조직으로부터 유래된 세포가 먼저 창상부위에 도달하느냐에 따라 치유형태가 결정된다고 발표하였으며, Nyman^{2, 3)}은 치주인대에서 유래하는 세포만이 신부착을 형성할 수 있는 세포임을 보고하였고, Gottlow⁴⁾는 차단막을 이용해서 치은상피세포의 근단이동을 차단하고, 결합조직세포가 치근면과 접촉하는 것을 막아서 치주인대세포에 의한 치주조직의 재생을 유도하는 이른바 치주조직 유도재술을 발표하였다.

이러한 차단막중 비흡수성막은 4-6 주후 이

를 제거하는 2차수술이 필요하므로, 최근에는 흡수성막에 대한 관심이 높아지고 있다.

흡수성막으로 사용되는 재료로는 collagen, polylactic acid, polyglactin910, glycolide & lactide copolymer, calcium sulfate 등이 있는데, 여러 연구에서 이들 흡수성막을 차단막으로 사용할 경우, 비흡수성막과 유사한 결과를 얻었다고 보고했다⁵⁻¹⁴⁾.

치주조직의 재생을 위해 흔히 이용되는 또 하나의 술식은 골이식술이다. 골이식술에 이용되는 재료로는 자가골 이식재, 동종골 이식재 및 합성골 이식재가 있는데 이 중 자가골 이식은 그 사용이 제한적이며, 동종골 이식재로는 주로 탈회냉동건조 동종골(Decalcified Freeze-Dried Bone Allograft; DFDBA)이 이용되는데 이것은 1965년 Urist¹⁵⁾가 DFDBA를 동물에 이식한 후 상당량의 신생골이 형성되었음을 보고한 후, 여러 연구에서 인체의 치조골 결손부위에 DFDBA를 이식하여 신생골 형성과 신부착을 유도하였음을 보고하였다¹⁶⁻¹⁹⁾.

합성골 이식재료는 replamineform hydroxyapatite, calcium carbonate, bioactive glass, HTR(Hard Tissue Replacement)polymer 등이 있으며, 여러 연구에서 합성골이식재를 치조골 결손부에 이식했을 때 신생골 형성이

증진됨을 보고하였다²⁰⁻²³⁾.

치주조직의 재생을 위해 전술한 바와 같이 여러 가지 차단막과 골이식술이 사용되었지만, 이들은 조직재생에 있어서 단순히 물리적인 유도방법일 뿐, 진정한 치주조직재생에 필요한 세포과정인 증식, 이주, 기질합성 등을 촉진하지는 않았다. 이러한 세포과정의 촉진을 위해 성장인자가 치주조직 재생치료에 도입되게 되었다.

Oates²⁴⁾은 치주조직재생을 위해서는 치주인대세포의 이주와 증식이 필요하다고 했으며, platelet-derived growth factor(PDGF)는 in vitro에서 치주인대세포의 분열을 유도하며, transforming growth factor- β (TGF- β)는 치주인대세포에서 PDGF의 역할을 조절한다고 하였다. Matsuda²⁵⁾은 recombinant human PDGF-BB와 insulin-like growth factor-I(IGF-I)이 치주인대 섬유아세포의 증식과 화학주성을 자극시킨다고 하였으며 rhPDGF-AB는 치주인대 섬유아세포에 의해 교원질합성을 자극했다고 보고하였다. Lynch²⁶⁻²⁸⁾은 성견의 수평골상실부위에 PDGF와 IGF-I을 동반처리할 경우 상피의 근단이동이 줄었고, 백악질이 생성되었으며, 모든 방향으로 신생골이 형성되었다고 보고하였다. bone morphogenetic protein(BMP)은 TGF- β 와 유사한 구조를 가진 단백질로서 최근에 많은 관심을 불러일으키고 있는데, Sigurdsson²⁹⁾은 성견에서 recombinant Human BMP-2를 처리한 군에서 대조군에 비해 신생골, 신생백악질의 형성이 우수함을 보고하였다.

이러한 성장인자들이 치주조직재생에 우수한 효과가 있다고 보고되고 있지만, 이들 성장인자들은 치주조직에 국한되어 생성된 것이 아니고 전신적으로 생성된 autocrine factor들이다. 만약 치아 및 치주조직의 발생과정과 관련된 autocrine factor를 추출해 낼 수 있다면, 이것은 치주조직재생에 있어서 치주조직의 발생시기에서의 치주조직 생성과정과 같

은 재생효과를 촉진할 수 있을 것이라 기대된다.

치아발생과정중 치근의 발생과정을 보면^{30, 31)}, 외측 법랑상피(outer enamel epithelium)와 내측 법랑상피(inner enamel epithelium)가 치아기(dental organ)의 치경륜(cervical loop)으로부터 증식되어 Hertwig 상피근초(Hertwig's Epithelial Root Sheath: HERS)를 형성하고 이 HERS의 내측 상피세포들이 치아유두(dental papilla)를 더욱더 둘러싸게 되면서 이들은 어떤 물질을 분비해서 치아유두의 가장 자리에 있는 세포들이 조상아세포로 분화하도록 유도한다³²⁾. 이 조상아세포들이 치근의 상아질을 형성하게 된다. HERS는 치근형성을 시작하게 하고 난후 끊어져서 치아주위에서 천공이 있는 망상조직을 형성하게 되어 주위의 치아낭세포(dental follicular cell)들이 이사이로 통과해서 새로 형성된 치근면에 부착하도록 한다³³⁾. 여기서 이 치아낭세포들은 백악아세포로 분화해서 유기기질을 침착시켜서 백악질을 형성하게 된다³⁴⁻³⁸⁾. 이와 같이 치근의 상아질과 백악질이 형성되기 위해서는 HERS의 상피세포가 각각의 간엽세포가 들어있는 치아유두와 치아낭에 영향을 주어서 분화를 유도해야만 한다³⁹⁻⁴⁴⁾. 이러한 상피-간엽 상호작용(epithelial-mesenchymal interaction)은 상피세포들이 cytokine을 분비해서, 이와 관련된 수용체가 cytokine과 결합하여 세포내 신호를 전달함으로써 간엽세포의 분화를 유도하게 되는 것이다⁴⁴⁻⁴⁷⁾.

이러한 상피-간엽 상호작용에는 법랑기질 단백질(enamel matrix protein)과 같은 cytokine이 작용할 것이라는 가정하에, 1997년 Hammarström⁴⁸⁾은 법랑기질 단백질의 주성분인 amelogenin이 치근형성과정에서 나타나는 것을 면역조직화학적방법에 의해 관찰하였고, 또한 Hammarström⁴⁹⁾은 돼지의 법랑기질을 원숭이의 치근면에 실험적으로 형성한 열개형 골결손부에 적용시 치근면에 단단히 부착

된 무세포성 백악질이 형성되었다고 보고했다. 그러나 치주조직재생조건이 아주 열악한 1면 골결손부에서의 법랑기질 유도체(Enamel Matrix Derivative; EMD)의 효과에 대한 연구는 아직 미미한 실정이다. 이에 본 연구에서는 EMD가 치주조직재생에 어떠한 효과를 나타내는지 알아보기 위하여, 치주조직재생이 일어나기 힘든 1면 골결손부를 성견에 실험적으로 형성해서 EMD를 적용한 후 이것이 치주조직재생에 미치는 효과를 술후 8주후에 조직학적으로 비교 관찰한 결과 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 연구재료 및 연구방법

1. 연구재료

(1) 실험동물

본 연구에 사용된 실험동물은 생후 1년 이상된 체중 15 kg 내외의 beagle dog으로 성별에 관계없이 4마리를 사용하였으며, 실험시작 전 치주조직은 염증이 없는 건강한 상태였다.

(2) 실험재료

실험재료로는 법랑기질 유도체(Enamel Matrix Derivative ; EMD, EMDOGAIN)R*를 사용하였으며, 매개물질로는 Propylene Glycol Alginate Vehicle Solution을 사용하였다.

2. 연구방법

(1) 실험군설정

치은박리수술만을 시행한 부위를 대조군으로, EMD를 이식한 부위를 실험군으로 설정하였다.

(2) 치조골 결손부 형성 및 외과적 처치

Entobar^{R**} 30 mg/kg을 성견의 족근에 정맥 주사해서 전신마취시킨 후 하악 제 1 소구치와 제 3 소구치 부위를 2% lidocaine HCl로 침윤마취시키고 하악 제 1, 제 3 소구치를 발치하였다. 2 개월의 치유기간이 경과후, 같은 방법으로 전신마취 및 침윤마취를 시키고, 협설로 치은판막을 박리하여 하악 제 2 소구치의 원심면, 제 4 소구치의 근심면에 근원심폭 4mm, 깊이 4mm의 1면 골내낭을 형성하였다(사진부도 1). 형성된 치조골 결손부 기저부 위 치근면에 1/4 round bur를 이용해서 Notch를 형성하여 기준점으로 삼았다. 대조군에는 치은박리수술만을 시행하고 실험군에는 치은박리수술 시행후 인산으로 15초간 노출된 치근면을 etching하고 생리식염수로 충분히 세척하였다. EMD분말과 Propylene Glycol Alginate Vehicle Solution을 섞어서 EMD분말이 vehicle solution에 용해된 후, 이때 형성된 gel을 소독된 주사기로 서서히 흡입하고 주사기의 바늘을 끝이 무딘 것으로 교환해서 EMD를 노출된 치근면에 주입하고 치은판막을 이식물이 노출되지 않도록 재위치시키고 3-0 봉합사로 봉합하였다. 1주후 봉합사를 제거하였고, 수술후 처음 2주 동안 매일 Tetracycline^{***} 100ml를 근육주사하고 2% chlorhexidine 용액으로 치유기간동안 매일 치태조절을 해주었다.수술후 8주째에 실험동물을 희생시키고, 실험부위를 적출하였다.

(3) 조직학적 관찰

적출한 조직을 10% formalin에 10일간 고정시키고, formic acid로 2주간 탈회시킨후 통법에 따라 paraffin에 포매하고, 근원심방향으로 80 μ m 간격으로 연속절편을 시행하여 5 μ m 두

*: EMDOGAIN^R, BIORA AB Co., Malmö Sweden

** : Entobar^R, sodium pentobarbital 100 mg/2ml, 한림제약, Seoul, Korea

***: Tetracycline , 한국 Pfizer Co., Seoul, Korea

게로 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색한 후 광학현미경으로 검경하였다 .

조직학적 관찰사항은 다음과 같다.

- 1) 접합상피의 근단이동
- 2) 결합조직내 염증세포의 침윤상태
- 3) 신생골과 신생백악질 형성정도
- 4) 치주인대재생 및 결합조직섬유의 배열 상태
- 5) 치근흡수 및 골유착

(4) 조직계측학적 분석

조직절편에서 다음 수치들을 측정하였다(그림 1).

- 1) 결손부의 높이(DH): reference notch 기저부에서 백악법랑경계(CEJ)까지의 거리
- 2) 접합상피 길이(JE): 치근면을 따라 부착된 접합상피의 최하단에서 백악법랑 경계(CEJ)까지의 거리

- 3) 결합조직 치유량(CTA): 접합상피와 신생백악질사이의 결합조직으로 부착된 부위의 거리

- 4) 신생백악질 형성량(NC): reference notch기저부에서 신생백악질 최상단까지의 거리

- 5) 신생골 형성량(NB): reference notch기저부에서 신생골 최상단까지의 거리

(5) 통계학적 분석

근원심 방향으로 80 μ m 간격으로 연속절편을 시행하여 5 μ m 두께로 절편을 만들어 한 block당 3개의 절편을 선택하여 각각의 거리를 측정하여 평균치를 내고 각 군별로 평균치를 통계처리하였다. 대조군과 실험군 간의 유의차를 비교하기 위해 Mann-Whitney U-test를 시행하였다.

III. 연구 성적

1. 조직학적 관찰

(1) 대조군

접합상피는 두드러진 근단이동을 보인 부위가 있기도 하고 약간은 억제된 양상을 보인 부위도 있는 등 일관되지 않게 나타났으며, 신생골과 신생백악질 사이의 치주인대 섬유는 대부분 불규칙하거나 치근에 평행하게 배열된 양상을 보였고, 결합조직내 염증세포의 침윤은 없거나 미약하였다. Notch 상방으로 약간의 신생백악질이 치면을 따라 얇게 생성되어 있었으며, 기존치조골 상방으로 신생골이 약간 생성되어 있었는데 치관쪽으로 갈수록 얇아지는 양상을 보였다. 치주인대강은 비교적 생리적인 넓이를 유지하고 있었고, 골유착은 관찰되지 않았으며 치근흡수는 한 치아에서 관찰되었다(사진부도 2, 3, 4).

(2) 실험군(EMD 이식군)

접합상피의 근단이동은 억제된 양상을 보였



DH: Defect Height JE: Junctional Epithelium
CTA: Connective Tissue Attachment
NC: New Cementum NB: New Bone

그림 1 Histometric parameters and landmarks

표 1 Histometric analysis(unit: mm)

	Control		Experiment		P value
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	
DH	4.77	0.71	4.54	0.53	0.5653
JE	0.94	0.80	0.57	0.42	0.4062
CTA	1.36	0.98	0.38*	0.43	0.0127
NC	2.49	1.06	3.59*	0.74	0.0409
NB	1.92	0.98	2.32	0.59	0.2248

*: Statistically significant difference compared to control group, $P < 0.05$ DH: Defect Height, JE: Junctional Epithelium CTA: Connective Tissue Attachment, NC: New Cementum, NB: New Bone

고, 신생골과 신생백악질 사이의 치주인대섬유는 대부분 불규칙하거나 치근에 수직으로 배열되어 있었으며, 결합조직내 염증세포의 침윤은 없거나 미약하였다. Notch 상방으로 많은 양의 신생백악질이 notch의 굴곡 및 치근면을 따라 접합상피 하방 근처까지 형성되어 있었는데, 기존백악질과 연속되는 notch 기저부의 신생백악질은 두꺼운 양상을 보였고 상단으로 갈수록 얇아졌다. 신생치조골은 기존치조골 상방으로 신생백악질을 따라서 많은 양이 형성되어 있었으며 치관쪽으로 갈수록 얇아지는 양상을 보였다. 신생골은 기존골보다 더 많은 골세포를 함유하고 있어서 골형성이 활발히 일어났음을 짐작할 수 있었다. 골유착은 관찰되지 않았으며, 두 치아에서 치근흡수가 관찰되었다(사진부도 5, 6, 7, 8).

2. 조직계측학적 관찰

(1) 대조군

접합상피의 길이는 $0.94 \pm 0.80\text{mm}$ 인데, 이것은 결손부높이의 21%를 차지했으며, 결합조직 치유는 $1.36 \pm 0.98\text{mm}$ 로 결손부높이의 28%였고, 신생백악질 형성은 $2.49 \pm 1.06\text{mm}$ 로 결손부높이의 51%였으며 신생골 형성은 $1.92 \pm 0.97\text{mm}$ 로 결손부높이의 39%를 차지했다(표 1, 그림 2).

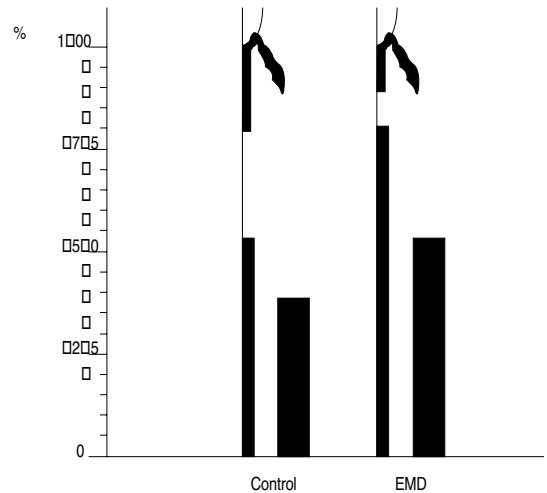


그림 2 Histometric results expressed as a percent(%) of the defect height.

(2) 실험군(EMD 이식군)

접합상피의 길이는 $0.57 \pm 0.42\text{mm}$ 로 결손부높이의 12%였고, 결합조직 치유는 $0.38 \pm 0.43\text{mm}$ 로 결손부높이의 8%였으며, 신생백악질 형성은 $3.59 \pm 0.74\text{mm}$ 로 결손부높이의 80%로 나타났으며, 신생골 형성은 $2.32 \pm 0.59\text{mm}$ 로 결손부높이의 52%를 차지했다(표 1, 그림 2).

두 군의 계측거리를 통계학적으로 비교해보면, 접합상피길이와 신생골형성량은 두 군간에 유의성있는 차이가 없었고, 결합조직치유량과 신생백악질형성량은 대조군과 실험군사

이에 유의성있는 차이가 있었다 ($P<0.05$).

IV. 총괄 및 고찰

치주치료의 궁극적인 목표는 치주질환에 의해 파괴된 치조골, 백악질, 치주인대를 빠르고 완전하게 재생하여 원래의 형태와 기능을 회복시켜 주는 것이다. 이러한 목적을 달성하기 위해 여러 외과적 술식이 시행되었는데, 이들 술식이 질환부위의 세균을 제거하고 염증상태를 해결할 수는 있었지만, 치조골 재생과 치주조직 재생에는 큰 개선이 없이 긴 접합상피의 형성으로 치유되었다. 치주조직의 재생을 위해 많은 연구가 진행되던 중, 1976년 Melcher¹⁾가 치주조직 세포중에서 치주인대세포가 치주조직재생에 중요한 역할을 한다고 보고하였고, Nyman등^{2, 3)}은 치주조직 치유에 관여하는 4가지 조직중 치주인대로부터 유래하는 세포만이 신생백악질과 신생부착을 유도함을 관찰하였으며, Gottlow등⁴⁾은 차단막을 이용해서 치은상피와 결합조직으로부터의 세포 유입을 차단하고 치주인대로부터의 세포에 의해 파괴되었던 치주조직의 재생을 유도했다고 보고했다. 그후 Becker등⁵⁰⁾, Pontoriero등⁵¹⁾, Caffesse등⁵²⁾은 expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE)막을 이용한 연구에서 치근이개부병소와 수직골결손부에 우수한 효과를 보였다고 보고하였다. 그러나 이들 비흡수성막은 2차수술로 제거해야하는 불편함이 있어서 최근에는 일정기간이 지나서 치주조직재생이 이루어지면 흡수되는 흡수성막에 대한 관심이 높아지고 있다. 흡수성막을 이용한 여러 연구에서 흡수성막이 상피의 근단이동을 효과적으로 억제시키고 치주조직치유에도 우수한 효과가 있다고 보고했으며^{5-12, 53)}, 또한 Yukna등²³⁾, Caffesse등⁷⁾은 흡수성막을 차단막으로 사용시 ePTFE와 유사한 결과를 얻었다고 보고했다.

치주조직의 재생을 위해 이러한 차단막외에

골이식술이 이용되었다. 여기에 이용되는 재료로는 자가골이식재, 동종골이식재 및 합성골이식재가 있는데 이중 자가골이식은 골형성효과는 우수하지만 공여부의 이차적인 수술 및 다량공급의 어려움이 있어서 제한적인 경우에만 이용이 가능하다. 동종골이식재인 탈회냉동건조동종골은 Sepe등¹⁹⁾, Pearson등¹⁷⁾, Quintero등¹⁸⁾의 연구에서 치조골 결손부위에 이식시 신생골형성과 신부착을 유도하였다고 보고되었다. 합성골이식재에 대한 연구도 많이 보고되었는데, Finn등²⁰⁾은 동물실험에서 replamineform hydroxyapatite가 이식후 서서히 골조직으로 대체된다고 보고했으며, Issahakian등²¹⁾은 porous resorbable calcium carbonate를 치조골결손부에 이식했을때 치주낭 감소와 골형성 증진을 보고하였다. Schepers등²²⁾은 bioactive glass를 인체 치조골결손부에 이식시 임상적, 방사선학적으로 결손부치유에 효과적이라고 보고했으며, Yukna²³⁾는 HTR polymer를 인체의 2급분지부병소에 적용시 임상적으로 우수한 치유결과를 보였다고 보고했다. 그러나, 이러한 차단막과 골이식술에 의한 치주치료는 치주치유에 관여하는 세포의 이주에 물리적인 유도방법으로 작용할 뿐, 직접 세포들의 증식, 이주, 기질합성을 촉진할 수는 없었다. 진정한 치주조직의 재생을 위해서는 치주인대세포와 조골세포의 이주능력, 이들 세포들의 증식,기질합성이 필요하며, 이러한 세포과정을 촉진시키기 위해서는 성장인자가 필요하다. 성장인자의 화학주성 효과는 치주병소 기저부에 존재하는 골조직과 치주인대에 영향을 주어서 이들 세포를 치관쪽으로 이주시키는 작용을 한다^{24, 54, 55)}. 또한 성장인자는 치주병소부위로 이주한 치주인대세포들의 증식을 촉진한다²⁵⁾. Blom등⁵⁶⁾은 insulin-like growth factor-I이 높은 결합력을 가진 수용체에 결합함으로써 치주인대 섬유아세포의 DNA합성을 자극했다고 보고했으며 Postlethwaite등⁵⁷⁾은 transforming

growth factor- β 가 섬유아세포의 화학주성을 유발했다고 보고했다. 성장인자들은 치주인대 세포와 조골세포에 작용해서 이들의 이주, 증식을 촉진함으로써 치주조직재생에 우수한 효과를 보이지만, 이들은 치주조직에서 유래되어 생성된 것이 아니고 전신적으로 생성된 autocrine factor들이므로 치주조직의 치유과정에서 형성되는 조직의 완전한 재생을 이룰수는 없고 단지 촉진해줄수만 있을 것이다. 그러므로 보다 완전한 치주조직의 재생을 위해서는 치아 및 치주조직 자체의 발생과정에서 이들 세포의 형성과 증식에 관여하는 autocrine factor가 필요하다. 이러한 autocrine factor의 추출을 위해서는 치아 및 치주조직의 발생과정에 대한 보다 정확하고 깊은 연구가 필요하다. Hertwig 상피근초 (Hertwig's Epithelial Root Sheath : HERS)가 치근의 상아질을 형성한 후 끊어지는 것은 전구백악아세포가 치근면에 강하게 이주하고, 이들이 백악아세포로 분화하는 동안 상아질면과 내측 상피세포사이를 관통하기 때문인 것으로 주장되고 있다⁵⁸⁾. 이와 같이 HERS의 상피세포들은 치아유두(dental papilla)와 치아낭(dental follicle)에 영향을 주어서 이들 내부에 존재하는 간엽세포들이 각각 조상아세포와 백악아세포로 분화하도록 유도하여 치근의 상아질과 백악질을 형성하도록 유도한다³⁶⁻³⁸⁾. 이러한 상피-간엽 상호작용 (epithelial-mesenchymal interaction)에는 화학유인물질 (chemoattractant substance)이 관여하는데, 이들은 세포외 기질(extracellular matrix)이나 내측 기저막(inner basement membrane)에서 분비되어 이와 관련된 수용체와 결합하고 세포 내에서 신호체가 되어서 간엽세포의 분화를 유도하게 된다⁴⁴⁻⁴⁷⁾. 이러한 화학유인물질에 대한 연구에서 Inoue등⁵⁹⁾은 탈회상아기질이 연골형성을 유도했다고 보고했으며, Cho등⁵⁸⁾은 화학유인물질이 초기 상아질형성과정에서 분비되어 전구백악아세포(precementoblast)의

분화와 이주를 야기한다고 주장하였다. 법랑기질 단백질(enamel matrix protein)이 백악질형성과정에서 이러한 화학유인물질로 작용할 것으로 추측되던중 1997년 Hammarström⁴⁸⁾은 치아낭의 간엽세포가 법랑기질에 노출되면 무세포성 경조직이 법랑질 표면에 형성되는 것을 관찰했고, 법랑기질의 주성분인 amelogenin이 치근형성과정에서 나타나는 것을 관찰했다. Gestrelus등⁶⁰⁾은 법랑기질 유도체(Enamel Matrix Derivative; EMD)를 Propylene glycol alginate에 용해시켜서 적용시킨 첫주동안 섬유아세포양세포의 재군집을 촉진하는 것을 관찰했다. 또한, Gestrelus등⁶¹⁾은 EMD가 in vitro에서 치주인대세포의 증식을 돕고, 치주인대세포에 의한 단백질합성량을 증가시킴으로써 조직재생부위에서 세포의 positive matrix로 작용한다고 주장하였다. Hammarström등⁴⁹⁾은 원숭이의 협측 열개형 골결손부에 EMD를 적용시 치근상아질면에 단단히 부착된 무세포성 백악질의 형성을 관찰했고, 신생골도 형성되었다고 보고했다. Heijl⁶²⁾은 인체의 하악전치 순측 열개형 결손부에 EMD를 적용후 4개월후 조직학적으로 관찰한 결과 신생 무세포성 백악질과 신생골이 형성되었다고 보고했다.

본 연구에서는 이 법랑기질 유도체를 beagle dog의 1면 골결손부에 적용하여 치주조직재생에 미치는 영향을 연구하였다. 통상적으로 치주수술후 신생골과 신생백악질의 윤곽은 6-8주가 지나야 나타나게 되는데⁶³⁾, 본 연구에서는 8주후 신생백악질 형성이 실험군에서 대조군에 비해 월등하게 높게 나타났다. 반면, 신생골 형성에서는 실험군이 대조군에 비해 많은 양이 형성되었지만 유의성있는 차이는 없었다. 이처럼 EMD를 이식한 부위에서 신생골에 비해 신생백악질 형성이 더 두드러지게 나타난 것은 EMD가 조직치유과정에서 백악아세포의 분화를 집중적으로 촉진시켜서 백악질의 형성을 유도하기 때문인

것으로 사료된다. 이것은 차단막이나 골이식술, 혹은 성장인자를 이용한 다른 조직유도재생연구에서 신생골과 신생백악질의 양이 비슷하게 개선된 효과를 보이는 것과는 대조적이다^{18, 26, 27, 51, 64-69}). Heijl⁷⁰⁾의 임상연구에서 치은박리수술만을 시행한 대조군에서는 방사선학적 골수준의 변화가 없는 반면, EMD 적용 부위의 방사선학적 골수준은 3년간 계속 증가하였다고 보고하였으며, Zetterström⁷¹⁾도 유사한 결과를 보고했다. 본 연구의 조직학적 관찰에서 신생골이 신생백악질 표면을 따라 치관쪽으로 성장하는 것을 관찰할 수 있었는데, 이것으로 보아 신생백악질이 신생골과 치주인대섬유의 생성을 더욱 촉진할 것으로 보이며, 이러한 결과를 관찰하기 위해서는 8주 이상의 관찰이 필요할 것으로 보인다.

차단막을 이용한 조직유도재생술에서 창상 부위로 이주하는 치주인대세포는 창상부위 하방의 제한된 영역에 있는 치주인대에서 유래하는데, 이것이 창상부위에 군집하기 위해서는 지속적인 분열에 의해 기저부에서부터 서서히 채워지게 된다⁷²⁾. 반면, EMD를 창상 부위에 이식하면 결손부위를 채운 EMD가 치주재생에 관여하는 세포의 이주에 매개체 역할을 하므로⁶¹⁾ 여러 방향에서 세포가 이주하게 되어 보다 짧은 기간내에 창상부위에 군집할 수 있을 것이라 사료된다.

EMD를 조직에 이식하기 위해 본 연구에서 사용된 매개물질은 Propylene Glycol Alginate였다. Hammarström⁴⁹⁾은 EMD 적용시 매개물질로 Propylene glycol alginate, hydroxyethyl cellulose, dextran 을 사용해본 결과, Propylene glycol alginate를 매개물질로 사용할 경우, 많은 양의 신생백악질과 신생골 형성을 유도한 반면, hydroxyethyl cellulose, dextran을 매개물질로 사용하면 신생백악질 및 신생골 형성효과가 미약했다고 보고하였으며, Gestrelus⁶⁰⁾도 Propylene glycol alginate가 흡수성인 EMD의 용해를 위해 가

장 적합한 매개물질이라고 보고했다. 그러나 이것은 점도가 낮아서 수직골결손부나 1, 2급 분지부병소에서 적용에는 적합할 것으로 보이지만, 본 연구에서 적용한 1면 골결손부에서는 재료의 유지와 안정성에 어려움이 있었다. EMD를 1면 골결손부, 열개형 골결손부, 수평골결손부 등 치주조직재생이 어려운 부위에 다양하게 적용하기 위해서는 좀더 점도가 높은 매개물질이 필요할 것으로 보이며, Becker⁷³⁾이 성장인자와 함께 사용한 차단막이나, Wikesjö⁴⁾등이 실험한 polylactic acid를 EMD와 병행해서 사용하여 치주조직 치유에 미치는 효과를 관찰한 연구도 필요할 것이라 생각된다.

본 연구에서는 EMD이식이 치주조직치유에 미치는 효과를 주로 재생된 치주조직의 양상과 계측학적 분석을 위주로 하였는데 EMD의 효과를 좀더 면밀히 분석하기 위해서는 치유 기간에 따라 재생된 조직의 양상과 그때 주로 관여하는 세포들의 종류에 대한 관찰이 더 필요할것 같다. 또한 기존의 치주조직재생술식인 차단막, 골이식술, 성장인자 도포가 치주치유에 미치는 효과와 직접적인 비교를 하기 위해 동일 개체내에서의 비교연구도 필요할 것이라 사료된다.

V. 결론

본 연구는 치주조직재생이 일어나기 힘든 1면 골결손부를 성견에 실험적으로 형성한 후, 범랑기질 유도체(Enamel Matrix Derivative ; EMD)를 적용했을 때 접합상피, 치은결합조직, 백악질, 치조골 등 치주조직의 재생과 치유에 미치는 효과를 평가하기 위해 실시하였다. 이를 위해 성견의 하악 제 1, 3소구치를 발치하고 2개월이 경과한 후, 하악 제 2소구치의 원심면, 제 4소구치의 근심면에 근원심 폭 4mm, 깊이 4mm의 1면 골결손부를 형성한 후 치은박리수술만을 시행한 부위를 대조

군으로, EMD를 이식한 부위를 실험군으로 설정하여 수술 후 8주후의 치유결과를 치조골 결손부 최하방의 치근면에 형성한 Notch를 기준으로 접합상피, 결합조직, 신생백악질, 신생골의 재생을 조직학적으로 비교 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 접합상피의 길이는 대조군에서 $0.94 \pm 0.80\text{mm}$, 실험군에서 $0.57 \pm 0.42\text{mm}$ 로 나타났다으며, 두 군간에 유의성있는 차이는 없었다.
2. 결합조직 치유량은 대조군에서 $1.36 \pm 0.98\text{mm}$, 실험군에서 $0.38 \pm 0.43\text{mm}$ 로 나타났다으며, 두 군간에 유의성있는 차이가 있었다($P < 0.05$).
3. 신생백악질형성량은 대조군에서 $2.49 \pm 1.06\text{mm}$, 실험군에서 $3.59 \pm 0.74\text{mm}$ 로 나타났다으며, 두 군간에 유의성있는 차이가 있었다($P < 0.05$).
4. 신생골형성량은 대조군에서 $1.92 \pm 0.97\text{mm}$, 실험군에서 $2.32 \pm 0.59\text{mm}$ 로 나타났다으며, 두 군간에 유의성있는 차이는 없었다.

이상의 결과로 볼때, 1면 골결손부에서 EMD 이식은 신생백악질형성에 우수한 효과를 보였으며, 접합상피의 근단이동억제와 신생골형성에도 약간 증진된 효과가 있었지만, 유의성있는 차이는 없었다.

VI. 참고문헌

1. Melcher, A. H.: On the repair potential periodontal tissues, J. Periodontol., 47:256, 1976.
2. Nyman, S., et al.: The regenerative potential of the periodontal ligament, J. Clin. Periodontol., 9:257, 1982.
3. Nyman, S., et al.: New attachment

following surgical treatment of human periodontal disease, J. Clin. Periodontol., 9:290, 1982.

4. Gottlow, J., Nyman, S. & Lindhe, J.: New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration, J. Clin. Periodontol., 13:604, 1986.
5. Becker, W., et al.: A prospective multi-center study evaluating periodontal regeneration for Class II furcation invasions and intrabony defects after treatment with a bioabsorbable barrier membrane: 1-year results, J. Periodontol., 67:641, 1996.
6. Blumenthal, N. M.: The use of collagen membranes to guided tissue regeneration of new connective tissue attachment in dogs, J. Periodontol., 59:830, 1988.
7. Caffesse, R. G., et al.: Guided tissue regeneration: Comparison of bioabsorbable and non-bioabsorbable membranes. Histologic and histometric study in dogs, J. Periodontol., 65:583, 1994.
8. Fleisher, N., Waal, H. D. & Bloom, A.: Regeneration of lost attachment apparatus in the dog using vicryl absorbable mesh(polyglactin 910), Int. J. Periodontics Restorative Dent., 8:45, 1988.
9. Laurell, I., et al.: Clinical use of bioresorbable matrix barrier in guided tissue regeneration therapy: Case series, J. Periodontol., 65:967, 1994.
10. Pitaru, S., et al.: Collagen membrane prevent the apical migration of epithelium during periodontal wound healing, J. Periodont. Res., 22:331, 1987.
11. Pitaru, S., et al.: Partial regeneration of

- periodontal tissue using collagen barriers. Initial observations in the canine, *J. Periodontol.*, 59:380, 1988.
12. Pitaru, S., Solinger, M. & Noff, M.: Collagen membrane prevent apical migration of epithelium and support new connective tissue attachment during periodontal wound healing in dogs, *J.Periodont. Res.*, 24:247, 1989.
13. Sottosanti, J. S.: Calcium sulfate: A biodegradable and biocompatible barrier for guided tissue regeneration, *Compend.Cont.Ed.*, 13:226, 1992.
14. Yukna, C. N. & Yukna, R. A.: Multi-center evaluation of bioabsorbable collagen membrane for guided tissue regeneration in human Class II furcations, *J. Periodontol.*, 67:650, 1996.
15. Urist, M. R.: Bone formation by autoinduction, *Science*, 150:893, 1965.
16. Libin, B. M., Ward, H. L. & Fishman, L.: Decalcified, lyophilized bone allografts for use in human periodontal defects, *J. Periodontol.*, 46:51, 1975.
17. Pearson, G. E., Rosen, S. & Deporter, D. A.: Preliminary observations in the usefulness of a decalcified freeze-dried cancellous bone allograft material in periodontal surgery, *J. Periodontol.*, 52:55, 1981.
18. Quintero, G. & Mellonig, J. T.: A six-months clinical evaluation of decalcified freeze-dried bone allograft in periodontal osseous defect, *J.Perodontol.*, 53:726, 1982.
19. Sepe, W. W., et al.: Clinical evaluation of freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects-Part II, *J.Periodontol.*, 9:14, 1978.
20. Finn, R. A.: Interpositional grafting with autogenous bone and coralline hydroxylapatite, *J. Maxillofac. Surg.*, 8:217, 1980.
21. Issahakian, S., et al.: Evaluation of new biomaterial in periodontal defects, Natural coral, *J. Dent. Res.*, 68:274, 1989.
22. Schepers, E. J. G., et al.: Bioactive glass particles of narrow size range: A new material for the repair of bone defects, *Implant Dent.*, 2:151, 1993.
23. Yukna, R. A.: Clinival evaluation of HTR polymer bone replacement grafts in human mandibular Class II molar furcations, *J. Periodontol.*, 65:342, 1994.
24. Oates, T. W., Rouse, C. A. & Cochran, D. L.: Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro, *J. Periodontol.*, 64:142, 1993.
25. Matsuda, N., et al.: Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro, *J. Periodontol.*, 63:515, 1992.
26. Lynch, S. E., Colvin, R. B. & Antoniades, H. N.: Growth factors in wound healing: Single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds, *J. Clin. Invest.*, 84:640, 1989.
27. Lynch, S. E., et al: A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration, *J. Clin. Periodontol.*, 16:545, 1989.
28. Lynch, S. E., et al: The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound

- healing, J. Periodontol., 62:458, 1991.
29. Sigurdsson, T., et al.: Periodontal repair in dogs: recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration, J. Periodontol., 66:131, 1994.
30. Avery, J. K.: Oral development and histology, 2nd ed.: 94, Thieme Medical Publishers, New York, 1994.
31. Ten Cate A. R.: Oral histology: development, structure, and function, 4th ed.: 58, Mosby-Year Book, St. Louis, 1994.
32. Owens, P. D. A.: A light microscopic study of the development of the roots of premolar teeth in dogs, Arch. Oral Biol., 19:525, 1974.
33. Owens, P. D. A.: Ultrastructure of Hertwig's epithelial root sheath during early root development in premolar teeth in dogs, Arch. Oral Biol., 23:91, 1978.
34. Cho, M. I. & Garant, P. R.: Radiographic study of [^3H] Mannose utilization during cementoblast differentiation, formation of acellular cementum, and development of periodontal ligament principal fibers, Anat. Rec., 223:209, 1989.
35. Cho, M. I., Lin, W. L. & Garant, P. R.: Occurrence of epidermal growth factor-binding sites during differentiation of cementoblasts and periodontal ligament fibroblasts of the young rat: A light and electron microscopic radioautographic study, Anat. Rec., 231:14, 1991.
36. Freeman, E. & Ten Cate, A. R.: Development of the periodontium: An electron microscopic study, J. Periodontol., 42:387, 1971.
37. Owens, P. D. A.: A light and electron microscopic study of the early stages of root surface formation in molar teeth in the rat, Arch. Oral Biol., 24:901, 1979.
38. Slavkin, H. C.: Towards a cellular and molecular understanding of periodontics: cementogenesis revisited, J. Periodontol., 47:249, 1976.
39. D'Souza, R. N., et al.: Temporal and spatial patterns of transforming growth factor- β 1 expression in developing rat molars, Arch. Oral Biol., 35:957, 1990.
40. Kollar, E. J. & Baird, G. R.: The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in embryonic mouse tooth germs, J. Embryol. Exp. Morph., 21:131, 1969.
41. Kollar, E. J. & Baird, G. R.: Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs, I. Reorganization of the dental epithelium during tooth-germ reconstruction, J. Embryol. Exp. Morph., 24:159, 1970.
42. Kollar, E. J. & Baird, G. R.: Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs, II. The inductive role of the dental papilla, J. Embryol. Exp. Morph., 24:173, 1970.
43. Mina, M. & Kollar, E. J.: The induction of odontogenesis in non-dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium, Arch. Oral Biol., 32:123, 1987.
44. Vaahtokari, A., Vainio, S. & Thesleff, I.: Associations between transforming growth factor β 1 RNA expression and epithelial-mesenchymal interactions during tooth

- morphogenesis, *Development*, 113:985, 1991.
45. Singer, S. J.: Intercellular communications and cell-cell adhesion, *Science*, 255:1671, 1991.
 46. Thesleff, I. & Harmerinta, K.: Tissue interactions in tooth development, *Differentiation*, 18:75, 1981.
 47. Thesleff, I., Partanen, A. M. & Vaniso, S.: Epithelial-mesenchymal interactions in both morphogenesis: the roles of extracellular matrix, growth factors, and cell surface receptors, *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.*, 11:229, 1991.
 48. Hammarström, L.: Enamel matrix, cementum development and regeneration, *J. Clin. Periodontol.*, 24:658, 1997.
 49. Hammarström, L., Heijl, L. & Gestrelus, S.: Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins, *J. Clin. Periodontol.*, 24:669, 1997.
 50. Becker, W., et al.: New attachment after treatment with root isolation procedures: Report for treated Class III and Class II furcations and vertical osseous defects, *Int. J. Periodont. Rest. Dent.*, 8:9, 1988.
 51. Pontoriero, R., et al.: Guided tissue regeneration in degree II furcation-involved mandibular molars. A clinical study, *J. Clin. Periodontol.*, 15:247, 1988.
 52. Caffesse, R. G., et al.: Class II furcations treated by guided tissue regeneration in humans: Case reports, *J. Periodontol.*, 61:510, 1990.
 53. 최성호 등: 성견 열개형 수평결손부에서 Calcium Sulfate 차단막이 치주조직 치유에 미치는 영향, *대한치주과학회지*, 27:249, 1997.
 54. Terranova, V. P., et al.: A biochemical approach to periodontol regeneration. AFSCM: Assays for specific cell migration, *J. Periodontol.*, 58:247, 1987.
 55. Terranova, V. P., et al.: Biochemically mediated periodontal regeneration, *J. Periodont. Res.*, 22:248, 1987.
 56. Blom, S., Holmstrup, P. & Dabelsteen, E.: The effect of Insulin-like growth factor-I and human growth hormone on periodontal ligament fibroblast morphology, growth pattern, DNA synthesis, and receptor binding, *J. Periodontol.*, 63:960, 1992.
 57. Postlethwaite, A. E., et al.: Stimulation of the chemotactic migration of human fibroblasts by transforming growth factor- β , *J. Exp. Med.*, 65:251, 1987.
 58. Cho, M. I. & Garant, P. R.: Ultrastructural evidence of directed cell migration during initial cementoblast differentiation in root formation, *J. Periodont. Res.*, 23:268, 1988.
 59. Inoue, T., Deporter, D. E. & Melcher, A. H.: Induction of chondrogenesis in muscle, skin, bone marrow, and periodontal ligament by demineralized dentin and bone matrix in vivo and in vitro, *J. Dent. Res.*, 65:12, 1986.
 60. Gestrelus, S., et al.: Formulation of enamel matrix derivative for surface coating, Kinetics and cell colonization, *J. Clin. Periodontol.*, 24:678, 1997.
 61. Gestrelus, S., et al.: In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative, *J. Clin. Periodontol.*, 24:685, 1997.
 62. Heijl, L.: Periodontal regeneration with

- enamel matrix derivative in one human experimental defect, A case report, J. Clin. Periodontol., 24:693, 1997.
63. Polson, A. M. & Caton, J.: Factors influencing periodontal repair and regeneration, J. Periodontol., 53:617, 1982.
 64. Caffesse, R. G., et al.: New attachment achieved by guided tissue regeneration in beagle dogs, J. Periodontol., 9:819, 1987.
 65. Mellonig, J. T., et al.: Clinical evaluation of freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects, J. Periodontol., 47:125, 1976.
 66. Pontoriero, R., et al.: Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in man, J. Clin. Periodontol., 14:618, 1987.
 67. Schallhorn, R. G. & McClain, P. K.: Combined osseous composite grafting, root conditioning, and guided tissue regeneration, Int. J. Periodont. Rest. Dent., 8:9, 1988.
 68. 김종관 등: DFDBA와 ePTFE 차단막 혼합사용이 치주골내낭 치유에 미치는 영향, 대한치주과학회지, 26:567, 1996.
 69. 손효상, 조규성: 성견의 열개형 골 결손 부에서 PDGF-BB와 IGF-I이 치주조직 치유에 미치는 영향, 대한치주과학회지, 26:799, 1996.
 70. Heijl, L., et al.: Enamel matrix derivative(EMDOGAIN^R) in the treatment of intrabony periodontal defects, J. Clin. Periodontol., 24:705, 1997.
 71. Zetterström, O., et al.: Clinical safety of enamel matrix derivative(EMDOGAIN^R) in the treatment of periodontal defects, J. Clin. Periodontol., 24:697, 1997.
 72. Aukhil, I. & Iglhaut, J.: Periodontal ligament cell kinetics following experimental regeneration procedures, J. Clin. Periodontol., 15:374, 1988.
 73. Becker, W., et al.: A comparison of ePTFE membrane alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants, J. Periodontol., 63:929, 1992.
 74. Wikesjö U. M. E. & Nilvus, R.: Periodontal repair in dogs: Effect of wound stabilization on healing, J. Periodontol., 61:719, 1990.

사진부도 설명

그림 1 하악 제 2,4 소구치에 1면 골내낭을 형성한 상태.

그림 2 대조군의 소견(H-E, $\times 10$)

신생골 형성이 미약하고, 주로 결합조직에 의해 치유되어 있다.

그림 3 대조군의 소견(H-E, $\times 40$)

신생백악질이 치근면을 따라 신생골 약간 상방까지 얇게 형성되어 있다.

그림 4 대조군의 소견(H-E, $\times 100$)

신생백악질이 치근면에 불완전하게 부착되어 있고, 신생골과 신생백악질 사이의 치주 인대섬유가 불규칙하거나, 치근에 평행하게 배열되어 있다.

그림 5 실험군의 소견(H-E, $\times 10$)

상피의 근단이동이 미약하고 많은 신생골 형성이 관찰된다.

그림 6 실험군의 소견(H-E, $\times 40$)

신생백악질이 치근면을 따라 상방으로 형성되어 있다.

그림 7 실험군의 소견(H-E, $\times 100$)

신생백악질이 치근면에 단단히 부착되어 있고, 신생골내에 많은 골세포가 관찰되고, 신생골과 신생백악질 사이의 치주인대 섬유가 치근면에 수직으로 배열되어 있다.

그림 8 실험군의 소견(H-E, $\times 400$)

신생백악질을 따라 백악아세포가 관찰된다.

사진부도 약자풀이

bN: reference notch 기저부

CT: 결합조직

NB: 신생골 NC: 신생백악질

cNC: 신생백악질 상단

JE: 접합상피

PL: 치주인대

CB: 백악아세포

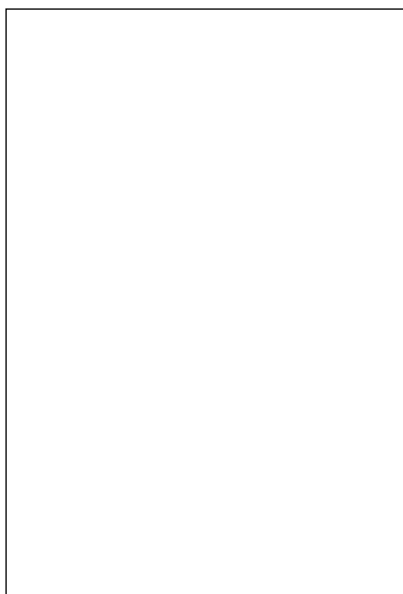
사진부도 I



사진부도 1



사진부도 2 대조군의 소견(H-E, $\times 10$)



사진부도 3 대조군의 소견(H-E, $\times 40$)



사진부도4 대조군의 소견(H-E, $\times 100$)

사진부도 Ⅱ

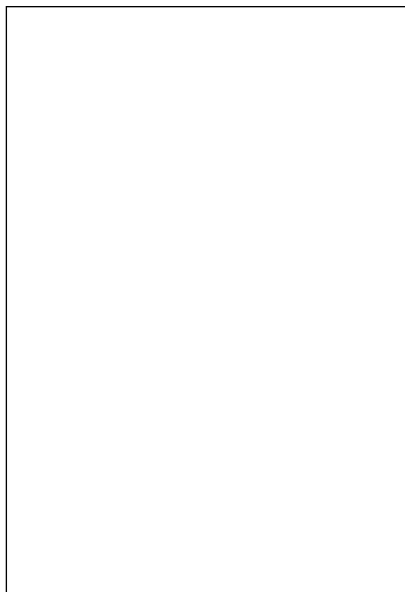


그림 5 실험군의 소견(H-E, ×10)

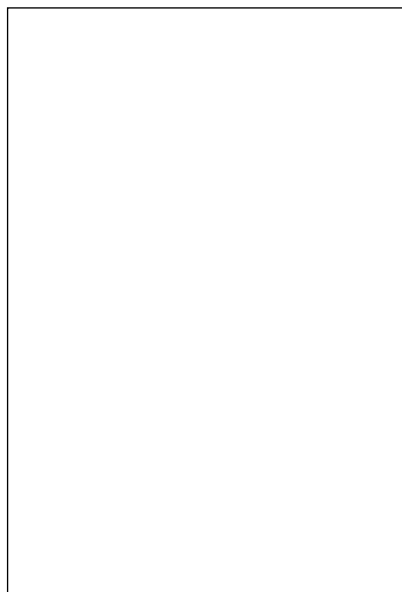
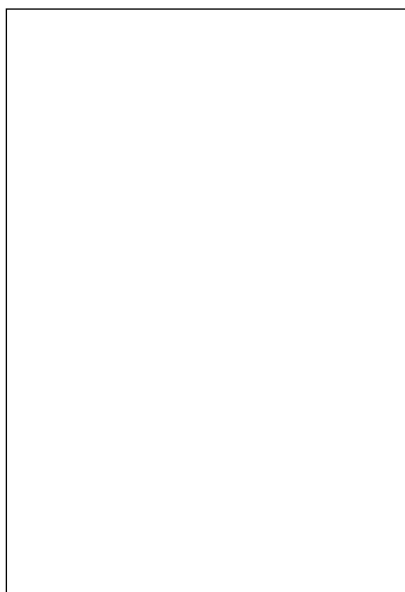


그림 6 실험군의 소견(H-E, ×40)



사진부도 7 실험군의 소견(H-E, ×100)

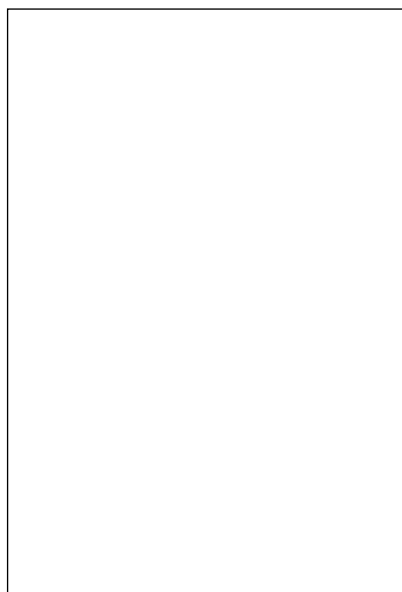


그림 8 실험군의 소견(H-E, ×400)

The effects of enamel matrix derivative on the healing of 1-wall intrabony defects in beagle dogs

Je-Ik Oh, Seong-Ho Choi, Seung-Won Lee, Kyoo-Sung Cho,

Chong-Kwan Kim, Jung-Kiu Chai

Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University

Research Institute for Periodontal Regeneration

Guided tissue regeneration, bone graft procedures, and application of growth factors have been used to regenerate lost periodontal tissues. Recently, enamel matrix derivative has been introduced into periodontal regeneration procedures in expectation of promoting new bone and cementum formation.

The purpose of this study was to evaluate the effect of enamel matrix derivative in 1-wall intrabony defects in beagle dogs. For this purpose, each dog was anesthetized using intravenous anesthesia and mandibular 1st, 3rd premolars were extracted. 2 months later, the 1-wall intrabony defects (mesio-distal width: 4mm, depth: 4mm) were created on the distal side of 2nd premolars and mesial side of 4th premolars. The control group was treated with debridement alone, and experimental group was treated with debridement and enamel matrix derivative application. The healing processes were histologically and histometrically observed after 8 weeks and the results were as follows :

1. The length of junctional epithelium was 0.94 ± 0.80 mm in the control group, 0.57 ± 0.42 mm in the experimental group, with no statistically significant difference between groups.
2. The connective tissue attachment was 1.36 ± 0.98 mm in the control group, 0.38 ± 0.43 mm in the experimental group, with statistically significant difference between groups ($P < 0.05$).
3. The new cementum formation was 2.49 ± 1.06 mm in the control group, 3.59 ± 0.74 mm in the experimental group, with statistically significant difference between groups ($P < 0.05$).
4. The new bone formation was 1.92 ± 0.97 mm in the control group, 2.32 ± 0.59 mm in the experimental group, with no statistically significant difference between groups.

Within the limitation to this study protocol, enamel matrix derivative application in 1-wall intrabony defect enhanced new cementum formation. Although there was no statistically significant difference, enamel matrix derivative also seems to be effective in inhibition of apical migration of junctional epithelium and new bone formation.

Key words: periodontal tissue regeneration, enamel matrix derivative, 1-wall intrabony defect.