

성견 1면 치조골 결손부에서 특수제조된 Calcium Sulfate Paste가 치주조직 치유에 미치는 영향

김 종 관

연세대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서론

치주질환으로 인한 치주조직의 소실을 회복하기 위하여 여러 가지 재생술식이 사용되고 있다^{1,2,3)}. 재생술식은 기존 치주술식의 결정적 단점인 긴부착상피의 형성을 억제하고 치아에 신생결합조직의 부착과 더 나가서는 치주조직의 재생을 이루는 것을 목적으로 하여 개발됐으며 이런 원리하에 치주조직유도재생술(Guided Tissue Regeneration)이 개발된 이후 여러 가지 차단막(Barrier Membrane)이 이용되고 있으며 이것은 치주임상에 좋은 성과를 보이고 있다^{4,5)}. 차단막은 흡수성과 비흡수성인 재료로 나뉘는데 각기 장단점이 있다. 또한, 차단막은 골이식술을 병행하여 사용하는 경우도 있으나 이것의 결과에 대해서는 논란이 많아서 아직 그 효과를 확실히 단정 짓기는 어렵다⁶⁾.

차단막은 흡수성이건 비흡수성이건 고가이며 사용하기에 고도의 기술이 필요하여 그 적용중에 많은 제한을 받을 수밖에 없다.

골이식재와 골형성단백(BMP)나 성장인자(Growth factor)등도 좋은 역할을 하는 것으로 알려졌다^{7,8,9)}. 자가골이나 골합성물질 등 어느 것이라도 신생골 형성에 일정역할을 하는 것으로 밝혀졌지만

긴부착상피로 치유가 되어서 언제라도 치주낭의 재발의 우려가 있는 것이다³⁾. 차단막이나 이식골들의 단점을 보완하며 실제 치료하기 쉬운 재생물질로 본 교실에서는 Calcium Sulfate의 치조골재생능력에 대하여 연구, 그 결과를 발표를 한 바 있다^{10,11)}.

실제 Calcium Sulfate의 치과 임상에서의 사용은 약 30-40년 전부터 사용되어왔으며, Peltier¹²⁾, Calhoun¹³⁾, Bell¹⁴⁾ 등의 연구에 의하여 생체적합성이 우수하며, 3-6주 사이에 흡수되어 신생골 형성에 일익을 담당한다고 발표된바 있다.

그러나, Shaffer와 App¹⁵⁾ 등의 연구결과 Calcium Sulfate가 골조직 형성에 직접 관여하지는 않는다고 보고된 이래 얼마간 치주영역에서의 사용이 중단되었었다. 1988년 Yamazaki¹⁶⁾가 쥐의 대퇴근에서 Bone Morphogenetic Protein(BMP)의 Carrier(운반체)로서 Calcium Sulfate의 효능을 발표한 이래 Sottosanti는 Demineralized Freeze Dried Bone(탈회 냉동건조골 DFDB)와 함께 이식하면 치은상피의 치근면으로의 이주와 결합조직의 유입을 막을 수 있으며, DFDB의 골유도작용도 촉진시킬 수 있다고 발표한바 있으며, 치주임상에 사용하고 있다^{17,18,19)}.

이것은 BMP의 골유도작용과 Calcium Sulfate의 공간확보와 창상의 안정에 기여하는 작용을 임상에 응

본 논문은 1997년도 한국학술진흥재단의 대학교수 해외파견 연구지원에 의하여 연구되었음.

용한 것이라고 볼 수 있을 것이다.

현재 미국을 중심으로 Calcium Sulfate의 순도를 높이고 인체사용시 생체적 적합성을 높이고 안정성 있게 제조된 Medical Grade Calcium Sulfate가 치주 임상에서 사용되고 있으며, 치은섬유아세포에 부착에도 다른 재료보다 유효하다는 보고도 있다⁹⁾.

본 교실에서는 이점을 확인하려고 1, 2, 3면 골내낭에서 Medical Grade Calcium Sulfate와 DFDB 혼합 이식과 Calcium Sulfate Barrier를 혼합 또는 각각 사용하여 상피이주억제 효과를 제외한 우수한 치조골 형성과 백악질 형성등 치주조직재생등을 확인한 바 있으며^{10,11)}, 사람에서도 Medical Grade Calcium Sulfate와 DFDB 혼합이식결과 골내낭의 치주낭 깊이, 부착수준을 제외한 치조골 탐침결과 치조골의 재생을 확인할 수 있었다.

그러나, Calcium Sulfate가 물과 혼합되면서 발생하는 경화열로 인한 조직의 변화를 야기할 수 있고 경화즉시 Calcium Sulfate가 매우 깨어지기 쉬운 성질을 갖고 있어 치주수술후 수술야에서 그 형태를 유지하여 수술야를 보호하며, 공간확보를 유지하기가 어렵다.

이런 이유로 임상에서 치주낭깊이 감소, 부착상실 감소, 동물실험에서 긴부착상피 이주 억제 효과가 만족스럽게 나타나지 않는 것이다.

이에 Calcium Sulfate를 Paste상태로 만들어 수술 후 수술야에서 오랫동안 형태를 유지하여 긴부착상피의 근단이주를 억제하고 장기간 공간확보를 할 수 있다면 재생 치주술식에 차단막과 골이식물질의 역할을 동시에 할 수 있을 것으로 생각되어 특수 제작된 Paste형의 Calcium Sulfate를 성견 치주 1면 골내낭에 적용하여 체내에서의 흡수성과 생체적합성 그리고 치주재생 효과를 관찰하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

생후 1년 이상된 체중 15kg내외의 성견으로 성별 관계없이 4마리를 사용하였으며 실험 시작된 치주조

직에 염증이 없는 건강한 상태였다.

실험재료는 일본 GC에서 실험용으로 특수 제작된 paste형태의 Calcium sulfate를 사용하였으며, 성분은 Calcium Sulfate 51%, Zincoxide 30%, Polyvinylacetate 13%, Poly-t-Butylacrylate 5%, Butylacetate 1%, Polyethylene glycol 등 이었다.

2. 연구방법

(1) 실험군 설정

치은박리 수술만(Gingival Flap Surgery, GFS) 시행한 부위를 대조군으로, Paste형의 Calcium Sulfate를 이식한 부위를 실험군으로(CS) 설정하였다. 즉, 4마리를 성견의 P2의 근심면 및 원심면 그리고 P4의 근심면 및 원심면을 각각 대조군으로 하였고, P2의 다른 근심면 및 원심면 그리고 P4의 다른 근심면과 원심면을 각각 실험군으로 하였다.

(2) 치조골 결손부 형성 및 외과적 처치

실험대상 성견을 Pentobarbital IV 마취하에 수술 부위에 치과용 침윤 마취한 후 수술기간중에 lactated ringers를 혈관주사 (IV) 하였다.

하악 좌우 2 소구치를 발거하고 2달간 자연 치유되기를 기다렸다(Figure 1-a).

그 후 협, 설 측 판막을 형성, 저장 한후 제 2 소구치의 근심 및 원심 CEJ에서부터 4mm깊이 및 4mm 거리 골내낭을 외과적으로 형성하였다. 세심한 치근 활택술 후 4mm하방의 골내낭 기저부의 치근표면에 참고 표시 (reference notch)를 $\frac{1}{4}$ round bur로 하였다(Figure 1-b).

첫 번 실험동물의 제 4소구치의 근심면을 대조군으로하여 치근활택술을 포함한 치주수술만을 하였고 제 2소구치의 원심면에는 치근활택술 후 paste형의 Calcium Sulfate를 1-2mm 두께로 골내낭 전체를 피개하였다(Figure 1-c).

그 후 판막을 원위치로 하고 봉합하였다(Figure 1-d). 술후 항생제(IM)* 투여하고 soft diet과 매일 2% chlorhexidine액으로 양치하였다.

봉합사는 7일후 제거하였으며 2% chlorhexidine#

양치액을 술후 육안적 창상치유가 완료 될 때까지 하였다(Figure 1-e). 8주간 관찰하였다. 두 번째 실험 동물은 제 2소구치 원심면을 대조군으로 제 4소구치의 근심면을 실험군으로 하였으며, 3번째 동물은 첫 번째 동물과 같이 제 4소구치 근심을 대조군, 제 2소구치 원심면을 실험군으로 하였으며 4번째 동물은 두번째 동물과 같이 제2소구치원심면을 대조군으로 제4소구치근심면을 실험군으로하여 같은 방법의 실험을 진행하였다.

(3) 조직학적 관찰

실험동물을 Sodium pentobarbital를 IV하여 8주후 희생시킨 후 실험부위의 치아를 포함한 Block section하여 생리식염수로 깨끗이 씻은 후 10% buffered formation에 10일간 고정하였다. 그후 물로 씻은 후 5% formic acid로 2주간 탈회시킨 후 paraffin에 포매한 후 5 μ m 두께로 근원심 방향으로 약 70 μ m 간격으로 Serial section하여 매 12-15번째 section을 선택하여 1 block당 4개씩 만들어 Hematoxylin-Eosin 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

관찰사항은 접합상피의 근단이동, 염증세포의 침윤, 이식재의 흡수상태, 신생백악질과 신생골의 형성, 신생골과 백악질 사이의 치주인대조직 상태 등이었다.

(4) 조직계측학적 분석

백악법랑경계(CEJ)와 치은변연(GM) 및 reference notch(N)를 참고점으로 잡고 CEJ와 접합상피(J epithelium)의 근단측 최하단 까지의 길이를 접합상피의 길이로 하였으며 접합상피 하단에서 신생백악질의 뚜렷한 형성없이 결합조직섬유가 치근에 부착되어 있는 부분의 길이를 결합조직유착로(CT adhesion), 그리고 reference notch로부터 결합조직유착부위 까지의 신생백악질의 형성으로 생각되는 부위의 길이를 측정하였고(Cementum Reg),

reference notch에서 부터 신생골 형성 상단까지의 길이를 신생골 형성(Bone Reg)로 하여 계측하였다.

계측된 길이를 각 군별로 3개의 대조군과 4개의 실험군 Block의 평균값을 산정하여 백분율로 환산하여 대조군(GFS)과 실험군(CS)을 비교하였다.

2. 연구결과

(1) Control(GFS)

① 육안관찰

건강한 치은상태를 보였다. 그러나, 약간 치은이 치근단쪽으로 이동되어있었다(Figure 1-e). 한마리가 실험도중 사망으로 인하여 실험에서 제외하였다.

② 조직학적 관찰

전체적으로 염증세포의 침윤을 볼수 없고 약간의 치조골 재생이 관찰된다(Figure 2-A, 2-a).

상피는 0.41 ± 0.01 mm를 보였으며, 치근단측으로 많이 이동하지는 않는 것으로 보였으며, 상피주변에 치태나 염증증상을 보이지 않았다(Figure 2-b)(Table I).

즉, 긴부착상피를 보이지 않은 채 약간의 결합조직 부착이 관찰되었으며 0.28 ± 0.02 mm 이 결합조직은 치아장축과 평행하게 배열되었으며, 매우 성글게 분포되어있는 교원섬유와 치은섬유아세포의 배열을 볼수 있다(Figure 2-c).

결합조직 부착부위에 연결되어 신생백악질이 발견된다(Figure 2-c)(3.80 ± 0.06 mm). 백악질은 치관측부위에는 무세포성, 무섬유성백악질로 치근장축에 따라 얇게 띠모양으로 형성되어있는 것으로 보이며, 신생백악질 외부에는 cementoblast가 일렬로 배열되어있음이 관찰된다(Figure 2-d).

신생골은 1.43 ± 0.03 mm 형성되었다(2-a). 32.37%의 신생골 형성을 보였다.

신생골과 치근면사이의 치주인대는 많은 교원섬유와 신생혈관 그리고 치주인대세포들이 관찰된다. (Figure 2-d)

* Tetracycline HCl 종근당제약

Hexamedin 2% 부광약품

그러나, 치아 쪽에는 신생백악질 형성과 함께 많은 cementoblast가 배열되었고(Figure 2-d, 2-k), 신생치조골쪽에는 sharpey's fiber와 함께 배열된 osteoblast가 관찰된다(Figure 2-e, Figure 2-j).

그 중간에는 치주인대세포가 교원섬유와 같이 치아에 장축에 평행하게 배열되었으며, 기타 불규칙하게 배열되었다. (Figure 2-d, 2-e)

그러나, Notch하방의 치주인대 세포와 교원섬유들은 치아와 치조골에 수직으로 배열되어있어서 각각 치아와 치조골사이를 향하고 있다(Figure 2-f, 2-g).

또한, Notch 하방의 치주인대 교원섬유를 각각 치조골과 백악질에 매입되어있는 sharpey's fiber가 관찰되었다. (Figure 2-g) 또한, 결합조직으로 둘러싸인 치조골 표면에는 많은 다핵의 osteoclast가 발견되었다(Figure 2-h, 2-i).

치근의 ankylosis나 흡수는 관찰되지 않았다(2-A).

(2) 실험군(CS)

① 육안적관찰

염증증상없이 건강한 색조와 volume의 치은모양이 관찰된다(Figure 1-e).

약간의 치근단축으로 치은이 위치가 내려가 있음이 관찰되었다. 일부 한국적으로 염증세포의 집단 침윤이 아직 덜 흡수된 Calcium Sulfate 부근에 집중

되어 있었다.

② 조직학적 소견

대조군에 비하여 치조골의 형성이 많이 관찰 ($2.04 \pm 0.09\text{mm}$)되어 40.94%의 신생골형성이 관찰되었다(Figure 3-A)(Table I).

또한 상피의 근단 이주도 $0.47 \pm 0.01\text{mm}$ 을 보였으며, 치은상피주위에 치태도 없고, 염증세포의 분포도 많이 관찰되지는 않았다(Figure 3-a). 접합상피부근에는 결합조직에는 혈관이 발달되어있었다(Figure 3-c).

그러나, 치은결합조직의 Calcium Sulfate이식물의 일부가 비흡수 된체로 남아 있었으며, 또한 Calcium Sulfate 일부 부위 부근에 많은 염증세포가 침윤되어 있었으며, (4동물 중 2동물) (Figure 3-A) 그러나, 이 염증은 매우 국소적으로 제한되어있고 기타부위는 건강한 조직으로 관찰되었다.

결합조직부착($0.18 \pm 0.01\text{mm}$)로 매우 적은양 존재하였으며 이곳 결합조직은 교원섬유가 치아장축에 평행하게 배열되었고 치아에 직접 부착되었었으며(3-a), 이 결합조직에 연결되어 신생백악질이 형성되었다($4.49 \pm 0.06\text{mm}$).

이 신생백악질은 치관쪽에서는 매우 얇게 형성되었으며 역시 무세포성, 무섬유성을 이루다 치근단쪽으로 갈수록 세포가 포함되었고 Notch부위에는 많

Table I. Histomorphometric analysis of periodontal repair in 1-wall intrabony defects following surgical implantation calcium sulfate paste (CS paste) and gingival flap surgery(GFS)

| | GFS (N=3) | CS (N=4) |
|---------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Defect Height | 4.48 ± 0.07 | 5.13 ± 0.04 |
| J epithelium | 0.41 ± 0.01 (9.05 ± 0.24) | 0.47 ± 0.01 (9.01 ± 0.20) |
| CT adhesion | 0.28 ± 0.02 (6.15 ± 0.28) | 0.18 ± 0.01 (3.41 ± 0.14) |
| Cementum Reg. | 3.80 ± 0.06 (84.80 ± 0.33) | 4.49 ± 0.06 (87.57 ± 0.15) |
| Bone Reg. | 1.43 ± 0.03 (32.37 ± 1.22) | 2.04 ± 0.09 (40.94 ± 2.30) |

mean(mm) ± S.D., (); mean(%) ± S.D.

은 세포가 포함되었다(Figure 3-b, 3-f, 3-g, 3-k).

신생치조골과 치근사이의 치주인대에는 많은 교원섬유의 세포가 치아에 평행하게 배열되었으며 일부는 불규칙하게 배열되었으나 치조골쪽 교원섬유는 치아에 배열되어있는 sharpey's fiber형태로 관찰되지만, cementoblast도 관찰되나 백악질에 매입된 섬유는 매우 가늘고 섬유의 주행 방향을 명확히 구분하기가 어렵다(Figure 3-i, 3-j, 3-k, 3-m).

고로 Intrinsic fiber와 Extrinsic fiber의 구분도 어렵고 또한 석회화 여부도 구분하기 어려웠다. 신생골 부위에 아직 흡수가 덜된 Calcium Sulfate가 발견되어 있으나 생체적합성이 좋은 것으로 관찰되었다(3-f, 3-g, 3-i).

III. 총괄 및 고찰

현재 치주조직재생이 실험적으로 형성된 1, 2, 3면 골내낭에서의 연구와 3급 분지부 병소 즉 수평골 소실 부위에서의 재생이 연구되고 있다²¹⁻²⁶⁾. 치주조직 재생을 위한 여러 가지 방법 중 차단막의 사용이 효과적인 방법으로 알려져 있으며 2차 제거수술의 불편 때문에 흡수되는 성질의 차단막의 개발이 진행되고있으며 현재까지 여러 가지의 흡수성 차단막이 개발되어 임상 응용되고 있다⁹⁾.

본 연구소에서 지난 수년에 걸친 연구결과로 Calcium Sulfate가 1, 2, 3wall 골내낭에서 치주조직 재생에 효과가 있음을 발표한 바 있다^{10,11)}.

그러나, Calcium Sulfate는 경화직후 매우 단단하고 깨지기 쉬운 성질을 갖고있어서 체내에서 깨져버림으로서 수술부위에 오랫동안 유지되기가 힘들어서 임상적으로 사용하기에 한계점을 노출시키고 있다.

이런 단점을 보강하기 위하여 Calcium Sulfate에 수가지 재료를 첨가하여 Paste형태로 만들고 Paste상태가 실온에서 그리고, 체내에서 상당시간 유지되므로 수술부위를 보호하고 수술부위의 Space making에도 효과적으로 작용하기 위하여 특수제조 하였다.

구성성분으로는 Calcium Sulfate이외에 Zinc oxide, Polyvinyl-acetate, Polybutylacrylate, Polyethylene

glycol, Butylacetate 등을 함유하였다

본 실험결과 calcium sulfate paste 사용 실험군이 대조군과 같이 접합상피의 근단이주를 억제하는데 효과적이었다. 즉, 본 실험에서는 대조군, 실험군에서 각각 접합상피의 근단이동은 $0.41 \pm 0.01\text{mm}$, $0.47 \pm 0.01\text{mm}$ 로서 긴부착상피를 형성하지 않았다.

본 연구가 1wall 골내낭이었음에도 대조군, 실험군 모두 상피의 근단이주가 억제 되었다는 것은 실험동물의 특성의 차이에서 오는 것인지, 또는 동물 실험시 특별한 조작 때문인지는 확실하지 않으나 본 연구에서는 수술부위의 wound stability가 특별히 강조되었기 때문에 상피의 근단억제가 가능했다고 볼 수 있다.

이것으로 보아 상피근단 이동억제는 이식물질이나 GTR에 의한 물리적 억제도 중요하지만 Blood fibrin clot의 형성과 그 보호가 중요하다는 Wikesjö 이론이 타당한 것으로 생각된다^{25,26)}.

결합조직 부착은 대조군 $0.28 \pm 0.02\text{mm}$, 실험군 $0.18 \pm 0.01\text{mm}$ 로 나타났다. 대조군에 비하여 실험군에서 적게 나타났으나 이전의 다른 실험에 비하여 현저히 감소한 것으로 나타났다.

창상부위의 이식물질이나, 차단막의 효과보다 이것 또한 wound의 Stability가 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다^{25,26)}.

백악질의 형성은 대조군, 실험군 각각 $3.80 \pm 0.01\text{mm}$, $4.49 \pm 0.06\text{mm}$ 으로 실험군, 대조군 모두 많은 양이 형성되었으나 Notch부위를 제외하고는 거의 무섬유성, 무 세포성 백악질로 얇은 띠모양으로 상아질표면에 길게 형성되었었으며 그 외부에 cementoblast가 길게 배열되어있었다. 그러나, 중간부위부터 신생백악질에서는 극소수의 cementoblast가 발견되었다²²⁾.

신생백악질은 신생골보다 더 많이 치관쪽까지 형성되었으며 이것은 Sigurdsson등, 문등의 연구결과와 일치한다^{6, 22)}.

한편 실험군에서 Notch부위에 상당한 두께를 가진 신생백악질이 형성되어있었으며 그 내부에 cementocyte가 존재하였으나 대조군에서는 신생 백악질내의 cementocyte의 수가 극소수만 존재하였다

그런, Araujo가 다음과 같이 주창하였다.

- ① Organization of collagen fiber adjacent and perpendicular to the root surface(phase I)
- ② Assembly of the collagen fibers and deposition of matrix(phase II)
- ③ Addition of cells and collagen fibers organized parallel to the root surface(phase III)

이 과정 중 본 연구결과와 나타난 결과는 phase II 및 phase III에 해당되는 matrix 형성이 가는 띠모양으로 Dentin에 부착되어있으며 notch부위를 갈수록 백악질이 두꺼워지고 cementocyte가 존재하였으며 교원섬유 등이 치근표면에 평행하게 배열되어 있음이 관찰되었다.

대조군. 실험군 모두 이전의 연구에 비하여 다량의 신생백악질 형성이 되어있었으며 그 이유에 대한 보다 확실한 연구가 필요하다고 하겠다.

신생골의 형성은 대조군 실험군 각각 $1.43 \pm 0.03\text{mm}$, $2.04 \pm 0.09\text{mm}$ 로서 각각 $84.80\% \pm 0.33$, $87.57\% \pm 0.15$ 의 신생골 형성이 관찰되었다.

실험군의 Calcium Sulfate가 많은 신생골 형성을 보였으나 대조군의 표본제작시 한개 sample의 실패로 통계학적인 차이를 산출할 수 없었다. 그러나, 모든 표본에서 Calcium Sulfate Paste 사용군이 많은 치조골 형성을 보였다.

Calcium Sulfate 자체는 이전의 실험에 비하여 완전히 흡수되지 않은 상태로 결합조직이나 치조골내에서 존재하였으며 결합조직내 교원섬유나 섬유아세포로 보이는 세포에 의하여 둘러싸여있어 재료자체가 생체친화성이 있음이 관찰되었으나 Calcium Sulfate 외부에 Osteoid가 보이지 않아 재료자체의 Osteoinduction을 확인할 수는 없었다^{27,28)}. 그러나, Araujo의 연구에 치조골 형성은 다음의 3가지 단계를 거친다고 하였다. 즉,

- ① Organization of a fibrous connective tissue,
- ② Differentiation of this tissue into woven bone
- ③ Maturation of the woven bone into lamellar bone and bone marrow.

이런 단계를 본 연구에 적용한다면 아직 덜 흡수된

Calcium Sulfate가 흡수되면서 woven bone으로 대체될 수 있을 것으로 생각된다.

또한, 일부 잔존 Calcium Sulfate 주위에 많은 염증세포가 침윤되어있어서 Calcium Sulfate Paste로 제조과정중 사용된 Polybutylacrylate나 Polyethylene glycol등의 생체친화성에 대한 연구가 필요한 것으로 생각되며 Calcium Sulfate 자체의 PH도 고려되어야 할 것으로 생각된다²⁹⁾. 또한 타재료와 같이 사용시의 좋은 효과도 있으므로 기타 치조골 대체물과도 혼합사용이 고려된다고 하겠다^{30,31)}.

이런 Calcium Sulfate 제조상의 문제점을 생각하더라도 그 외의 신생치조골, 백악질 부위나 접합상피 부위에는 많은 염증세포의 침윤에 발견할 수 없어 이 재료를 좀더 개발하면 Calcium Sulfate Paste 형태의 재료는 1면 골내낭에서 치조골 및 백악질재생에 긍정적인 역할을 할 것으로 생각된다.

신생골과 치근사이에 있는 치주인대는 많은 세포와 신생혈관 그리고 교원섬유로 구성되어 있다. 그러나, 기존의 old 치주인대에 비하여 교원섬유가 성글게 구성되어있으면서 치아와 신생골에 거의 평행하게 주행하고 일부 세포나 교원섬유는 불규칙하게 주행하고 있다. 반면, old 치주인대 space에는 많은 교원섬유가 긴밀히 배열되었으며 교원섬유와 많은 세포들이 치근과 치조골 사이에 oblique내지 perpendicular하게 배열되어있다. 이것은 치아의 교합 기능에 따라 세포와 교원섬유가 적응하며 기능적 배열을 하는 것으로 생각된다.

Peltier와 Orn³²⁾는 성견에서 Calcium Sulfate와 allogenic bone을 사용하여 치유에 효과를 보았다고 보고하였으며 Peltiers¹²⁾는 인간에서 같은 실험을 하여 2개월 내에 신생골의 형성이 증가되지 않는다고 보고한 바 있다.

Bell¹⁴⁾은 성견에서 이식 33일에 Calcium Sulfate가 완전 흡수된다고 보고한바 있으며 Kim^{10,11)} 등의 실험에서도 성견 1, 2, 3 골내낭에서 이식후 8주에 흡수된다고 보고한 바 있다. 특히 Kim¹⁰⁾ 등은 3면 골내낭에서 50%정도 치조골 재생을 보고한바 있는데 치조골 재생 자체만 본다면 본 연구와 일치하였다. 그러나, Calcium sulfate 자체의 흡수 속도에서는 본 연구와

차이가 있었다. 즉, Calcium Sulfate 자체는 생체조직에서 8주에 완전히 흡수되었으나 여러 첨가물을 가했을 때는 8주에 완전히 흡수되지 않는 것으로 보아 Calcium Sulfate의 흡수속도는 첨가물에 따라 조절이 가능한 것으로 생각된다. 또한 Calcium Sulfate 첨가 시 치근의 흡수나 융합도 발견되지 않은 점은 채³⁹⁾ 등의 연구와 일치하여 Calcium Sulfate가 치근의 흡수를 억제하는 것으로 생각된다.

다만 어떤 골대체물이나 유도체 그것이 allogenic 이건 Xenogenic, alloplastic이건 wound부위에서 흡수되지 않으면서 완전 폐쇄하여 채우고 있는 상태에서는 자연적인 Osteogenic Potential을 지연 시킬 뿐 아니라 흡수되지 않고 오래 존재한다면 치조골의 mechanical properties에도 나쁜 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다^{3,6,18)}.

본 연구에서 치조골의 신생에 Calcium Sulfate 가 미치는 영향을 정확히 알수 없으나 창상을 치은결합 조직으로부터 일정기간 보호하며 그후에는 서서히 흡수되므로 치조골 형성의 Sequence에 합당하게 흡수속도가 일치될때에는 신생골 형성에 긍정적인 영향을 미치는 것으로도 생각할 수 있다.

본 연구 결과 Calcium Sulfate는 제조여하에 따라 흡수속도를 조절할 수 있으며, 치조골의 생성순서에 맞춰 흡수속도를 조절할 수 있으면 치조골이나 백악질 재생 등 치주조직재생에 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

IV. 결론

치주조직의 재생을 연구하기 위하여 4마리의 성견에 인위적으로 4mm넓이, 4mm깊이의 1wall 골내낭을 형성한 후 아무재료없이 치주박리소파수술만 한 군을 대조군으로(GFS)하고 특수제조된 Calcium Sulfate Paste를 적용한 후 봉합한 것을 실험군(CS)으로 하여 시술후 8주간 치유시킨 후 실험동물들을 희생하고 실험부위를 적출하여 조직학적 관찰 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 대조, 실험군 모두 부착상피 길이는 각각 $0.41 \pm 0.01\text{mm}$, $0.47 \pm 0.01\text{mm}$ 로써 긴 부착상피는

관찰되지 않았다.

- 2) 결합조직부착은 각각 $0.28 \pm 0.02\text{mm}$, $0.18 \pm 0.01\text{mm}$ 로써 GCF군이 $6.15\% \pm 0.28$, CS군이 $3.41\% \pm 0.14$ 로 GCF군이 많은 양의 결합조직 부착을 보였다.
- 3) 신생백악질 형성은 GCF, CS군 각각 $3.80 \pm 0.06\text{mm}$, $4.49 \pm 0.06\text{mm}$ 로 관찰되었으며, 각각 $84.80\% \pm 0.33$, $87.57\% \pm 0.15$ 로 많은 양의 신생 백악질 형성을 보였다.
- 4) 신생골 형성은 GCF, CS군 각각 $1.43\text{mm} \pm 0.03$, 2.04 ± 0.09 로써 32.37%, 40.94%의 신생골 형성을 보였다.
- 5) CS군의 결합조직에서 일부 미흡수 Calcium Sulfate 주위에 염증세포의 침윤이 관찰되었다.
- 6) 일부 미흡수 Calcium Sulfate가 결합조직내에 또는 치조골주위나, 치조골로 둘러싸여 있음이 관찰되었다.

이상의 결과로 볼 때 새로운 Calcium Sulfate Paste는 신생골 및 백악질 형성에 보조적인 역할을 할수 있으며, 또한 첨가 재료에 따라 Calcium Sulfate 자체의 흡수속도도 조절 될 수 있을 것으로 생각된다. 조직의 생체적합성을 좀더 연구하여 조직내에서 적당한 시간내에 흡수될 수 있도록 고안하면 좋은 재료로 개발할 수 있으리라 생각된다.

V. 참고문헌

1. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. J Periodontol 47:256-260, 1976.
2. Karring T, Nyman S, Gottlow J, Laurell L. Development of the biological concept of guided tissue regeneration - animal and human studies. Periodontol 2000 1:26-35, 1993.
3. Haney JM, Nilvé RE, McMillan PJ, Wikesjö UME. Periodontal repair in dogs: Expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes support wound stabilization and enhance

- bone regeneration. *J Periodontol* 64:883-890, 1993.
4. Araújo, M. G., Berglundh, T. & Lindhe, J. GTR treatment of degree III furcation defects with two different resorbable barriers. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 25:253-259, 1998.
5. Lindhe, J. Pontoriero, R., Berglundh, T. & Araújo, M. The effect of flap amnagement and bioresorbable occlusive devices in GTR treatment of degree III furcation defects. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 22:276-283, 1995.
6. Moon I-S, Chai J-K, Cho K-S, Wikesjö UME, 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.
7. Becker W, Lynch SE, Lekholm U, Becker BE, Caffesse R, Donath K, Sanchez R. A comparison of ePTFE membranes 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* 63:929-940, 1992.
8. Wikesjö UME, Razi SS, Sigurdsson TJ, Tatakis DN, Lee MB, Ongpipattanakul B, Nguyen T, Hardwick R. Periodontal repair in dogs: Effect of recombinant human transforming growth factor beta1 on guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 25:475-481, 1997.
9. Park JB, Matsuura M, Han KY, Norderyd O, Ling WL, Henco DJ, Cho MI. Periodontal Regeneration in Class III furcation defects of beagle deegs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. *J Periodontol* 66:462-477, 1995.
10. Kim C-K, Chai J-K, Cho K-S, Chai S-H. Effect of calcium sulfate on the healing of periodontal intrabony defects. *International dental Journal* 48(suppl1):330-337, 1998.
11. Kim C-K, Kim H-Y, Chai J-K, Cho K-S, Moon I-K, Choi S-H, Sottosanti JS, Wikesjö UME. Effect of calcium sulfate implant with calcium sulfate barrier on periodontal healing in 3-wall intrabony defects in dogs. *J Periodontol* 69(9):982-988, 1998.
12. Peltier LF. The use of plaster of Paris to fill large defects in bone. *Am J Surg* 97:311-315, 1959.
13. Calhoun NR, Greene GW JR, Blackledge GT. Effects of plaster of Paris implants on osteogenesis in the mandible of dogs. *J Dent Res* 42:1244, 1963.
14. Bell WH. Resorption characteristics of bone and bone substitutes. *Oral Surg* 17:650-657, 1964.
15. Shaffer CD, App GR. The use of plaster of Paris in treating infrabony periodontal defects in humans. *J Periodontol* 42:685-689, 1971.
16. Yamazaki A, Oida S, Akimoto Yi. Response of mouse femoral muscle to an implant of a composete of bone morphogenetic protein and plaster of paris. *Clin Orthop*. 234:240-249, 1998.
17. Sottosanti JS. Aesthetic extractions with calcium sulfate and the principles of guided tissue regeneration. *Pract Periodont Aesthetic Dent* 5:61-69, 1993.
18. Sottosanti J. Calcium sulfate: A biodegradable and biocompatible barrier for guided tissue regeneration. *Compend Contin. Educ Dent* 13(3):226-234, 1992.
19. Sottosanti JS. Calcium sulfate is a safe, resorbable barrier adjunct to implant surgical

- procedures. *Dent Implantol Update* 4:69-73, 1993.
20. Payne JM, Cobb CM, Rapley JW, Killoy WJ, Spencer P. Migration of human gingival fibroblast over guided tissue regeneration barrier materials. *J Periodontol* 67:236-244, 1996.
 21. Kim C-K, Cho K-S, Choi S-H, Prewett A, Wikesjö UME. Periodontal repair in dogs: Effect of allogeneic freeze-dried demineralized bone matrix implants on alveolar bone and cementum regeneration. *J Periodontol* 69:26-33, 1997.
 22. Sigurdsson TJ, Hardwick R, Bogle GC, Wikesjö UME. Periodontal repair in dogs: Space provision by reinforced ePTFE membranes enhances bone and cementum regeneration in large supraalveolar defects. *J Periodontol* 65:350-356, 1994.
 23. Haney JM, Zimmerman GJ, Wikesjö UME. Periodontal repair in dogs: Evaluation of the natural disease model. *J Clin Periodontol* 22:208-213, 1995.
 24. Nygaard-Ørby P, Sigurdsson TJ, Zimmerman GJ, Wikesjö UME. Periodontal repair in dogs: Bone and cementum regeneration in supraalveolar periodontal defects. A retrospective study. *J Parodontol Implantol Orale* 15:333-342, 1996.
 25. Wikesjö UME, Nilvé R. Periodontal repair in dogs: Effect of wound stabilization on healing. *J Periodontol* 61:719-724, 1990.
 26. Wikesjö UME, Sigurdsson TJ. Guided tissue regeneration: Is it a reproducible technique? *J Parodontol Implantol Orale* 13:243-257, 1994.
 27. Araújo M., Berglundh T. & Lindhe J. The periodontal tissues in healed degree III furcation defects. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*, 23:253-259, 1998.
 28. Araújo M. G., Berglundh T. & Lindhe J. On the dynamics of periodontal tissue formation defree III furcation defects. An experimental study in dogs. *J Clin Periodol* 24:738-746, 1997.
 29. 이준호, 김소영, 최성호, 채중규, 조규성 Calcium Sulfate제제가 치주인대 세포에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 28(2):235-248, 1998.
 30. 정유선, 김종관. 성견 3면 골내낭에서 calcium sulfate를 calcium carbonate와 혼합이식 및 차단막으로 사용시 치주조직의 치유효과. *연세치대 논문집 Vol.10*, 1995.
 31. 최미령, 조규성, 채중규, 김종관. 성견의 3면 골내낭에 calcium carbonate와 calcium sulfate의 혼합이식이 치주조직 치유에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 24:633-648, 1994.
 32. Peltier LF, Om D. The effect of the addition of plaster of Paris to autogenous and homogeneous bone grafts in dogs. *Surg Forum* 8:571-574, 1958.
 33. 채중규, 김종관, 조규성, 문익상, 김진, 한수부, 최상묵 Healing following treansplantation of periodontitis affected roots with calcium sulfate in the extraction socket. *대한치주과학회지* 26(3):579-589, 1996.

사진 부도 설명

Figure 1-a : Clinical view of the experimental teeth of the dog.

Figure 1-b : Clinical view of surgically created 1wall intrabony defect.

Figure 1-c : Clinical view of the intrabony defects applied the calcium sulfate paste in the 1wall.

Figure 1-d : Clinical view of the the flap after sutured.

Figure 1-e : Clinical view of the 8weeks after surgery (before sacrifice). Note uneventful healing and not much recessed the gingiva.

Figure 2A Photomicrographs of periodontal repair and regeneration of 1-wall defect at 8weeks after GFS.

Low magnification view of a 1wall defect that contains the junctional epithelium(JE), connective tissue adhesion(CTA), a little amount of new bone formation(NB). (original magnification $\times 10$)

Figure 2-a : High magnification view of 1-A.

Note the new bone formation(NB) around the notch(N) and cambium(CA) on the bone surface. (original magnification $\times 40$)

Figure 2-b : Another 1wall defect at 8weeks after GFS that contain junctional epithelium(JE) and a few inflammatory cells(IC) (original magnification $\times 100$)

Figure 2-c : Microphotographic view of PDL space(PDL) that note connective tissue(CTA) attached direct to the root surface(R) and new cementum(NC) and vessel(V) on the root surface. (original magnification $\times 100$)

Figure 2-d : Microphotographic view of the periodontal ligament space (PDL) in coronal portion between new bone(NB) and root surface(R).

Note the sharpey's fiber(SF) and osteoblast(OB) at the bone surface. Periodontal ligament cells(PDC), cementoblast(CB), blood vessel(V), acellular, afibrillar cementum(NC) on the root surface(R) and collagen fiber(CF) run parallel to the root. (original magnification $\times 200$)

Figure 2-e : Microphotographic view of the newly formed bone.

Note the sharpeys fiber(SF), osteoblast(OB), and blood vessel(V) and periodontal ligament cell(PDC). (original magnification $\times 200$)

Figure 2-f : Microphotographic view of the PDL space(PDL) under the notch.

Note the periodontal ligament space(PDL) that contain not many cells, a lot of collagen fiber(CF) which runs oblique to old cementum(OC) on the root surface(R). (original magnification $\times 100$)

Figure 2-g : High magnification of figure 2-f.

Note the sharpey's fiber(SF) embedding perpendicular to the alveolar bone. (original magnification $\times 400$)

Figure 2-h : Osteoclast (OCL)on the surface of the bone. (original magnification $\times 400$)

Figure 2-i : High magnification of the 2-h.

Note multinucleated osteoclasts(OCL). (original magnification $\times 1000$)

Figure 2-j : Sharpey's fiber inserted in the new bone.

Note osteoblast(OB). (original magnification $\times 1000$)

Figure 2-k : New cementum(NC) on the dentin.

Note cementoblasts parallel to the root surface. (original magnification $\times 1000$)

Figure 3-A : microphotographs of the periodontal repair and regeneration of 1wall intrabony defect at 8weeks after calcium sulfate paste apply.

Note the junctional epithelium(JE), new bone(NB) formation (include calcium sulfate), Inflammatory cells(IC) around the unresorbed calcium sulfate(CS). (original magnification $\times 10$)

Figure 3-a : High magnification view of 3-A, (upper portion)

Note the junctional epithelium(JE), intact connective tissue(CT). (original magnification $\times 40$)

Figure 3-b : Photomicrographs of the junctional epithelium(JE) and newly formed cementum(NC) at the dentin(D).

Note narrow zone of new cementum(NC) at the dentin. (original magnification $\times 200$)

Figure 3-c : High magnification of junctional epithelium in the Figure 3-b.

Note newly formed blood vessels(V) beside the junctional epithelium(JE). (original magnification $\times 400$)

Figure 3-d : Microphotographs of the top of newly formed bone(NB).

Note collagen fiber(CF) and blood vessels(V), PDL cell(PDC) in the PDL space.

Figure 3-e : Note a thin layer of newly formed cementum(NC) and not densely packed collagen(CF) fiber parallel to the root. (original magnification $\times 100$)

Figure 3-f : High magnification of the figure 3-A, (Middle portion)

Note newly formed bone(NB) including unresorbed calcium sulfate(CS) and PDL space(PDL). (original magnification $\times 100$)

Figure 3-g : High magnification of the figure 3-A, (Lower portion)

Note newly formed bone(NB) around notch(N) area. A thick layer of newly formed cementum(NC) containing cemento cyte(C). Calcium sulfate(CS) encapsulated by collagen fiber(CF). (original magnification $\times 100$)

Figure 3-h : Top of the newly formed bone. Note sharpeys fiber(SF) and osteoblast(OB), dense collagen fiber(CF) running over the newly formed bone(NB). (original magnification $\times 200$)

Figure 3-i : Periodontal ligament space(PDL) between root(R) and newly formed bone (NB).

Note newly formed cementum(NC) at the dentin surface and osteoblast(OB) at the newly formed bone surface. (original magnification $\times 100$)

Figure 3-j : Microphotograph of the upper portion of the periodontal ligament space (PDL) between the root(R) and the newly formed bone(NB).

Note the parallel collagen fiber(CF) and PDL cells(PDC) to the root surface.

Newly formed cementum(NC) and cementoblast(CB), bone(NB) and osteoblast (OB). (original magnification $\times 400$)

Figure 3-k : Periodontal ligament space(PDL) around notch area(N).

Note newly formed cellular cementum(NC) on the notch area, and old cementum (OC) below the notch area.

Figure 3-l : Newly formed bone(NB).

Note sharpey's fiber(SF) and osteoblast(OB). (original magnification $\times 1000$)

Figure 3-m : Newly formed cementum(NC).

Note cementoblasts. (original magnification $\times 1000$)

Figure 3-n : Unresorbed calcium sulfate in the new bone(NB)

Note calcium sulfate encapsulated by connective tissue(CT) and fibroblast like cell(FB), osteocyte(OC). (original magnification $\times 400$).

Figure 3-o : High magnification of 3-n.

Note fibroblast like cells(FB) on the surface of unresorbed calcium sulfate(CS). (original magnification $\times 1000$)

사진부도(1)



Figure 1-a



Figure 1-b

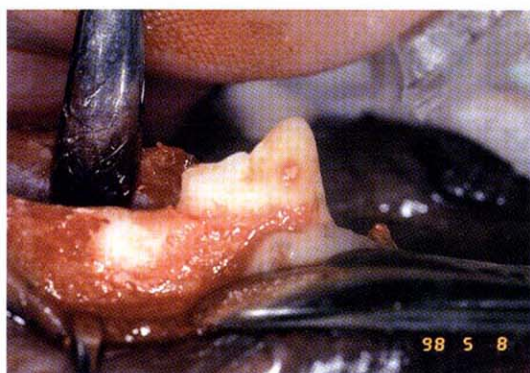


Figure 1-c

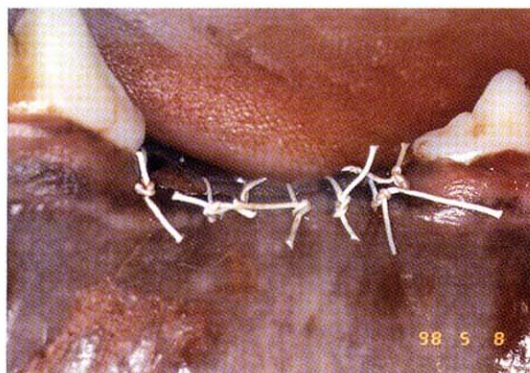


Figure 1-d



Figure 1-e

사진부도(Ⅱ)

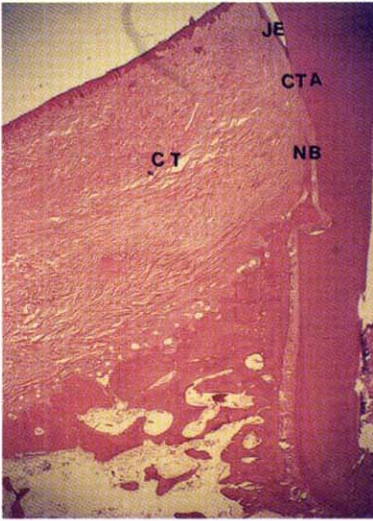


Figure 2-A

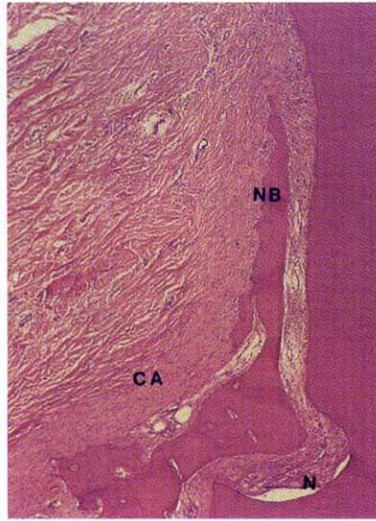


Figure 2-a

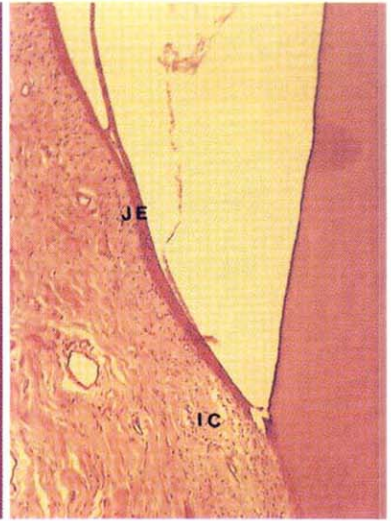


Figure 2-b

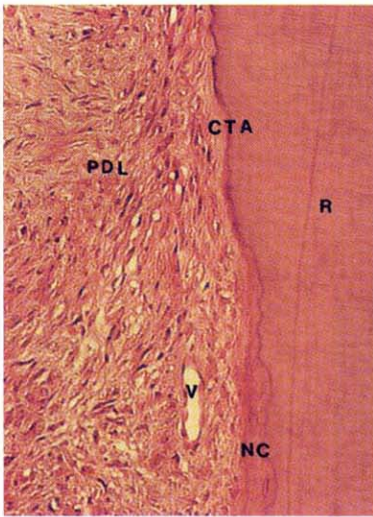


Figure 2-c

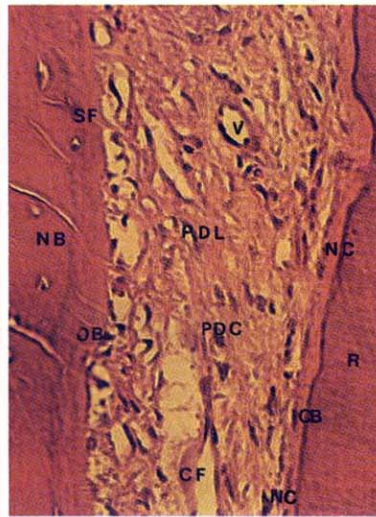


Figure 2-d

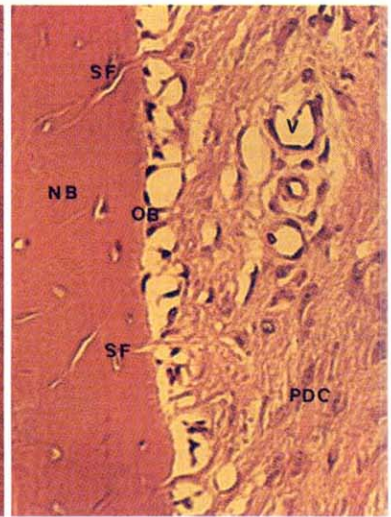


Figure 2-e

사진부도(Ⅲ)

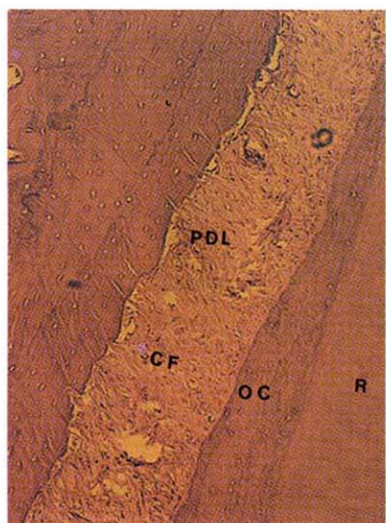


Figure 2-f

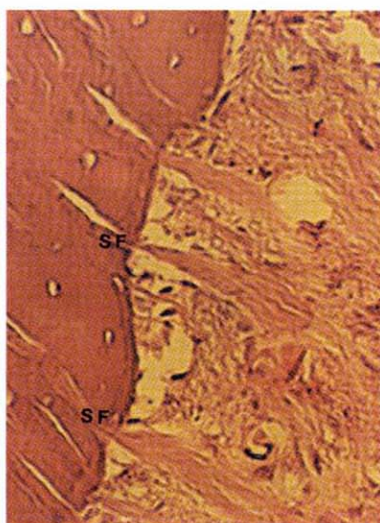


Figure 2-g

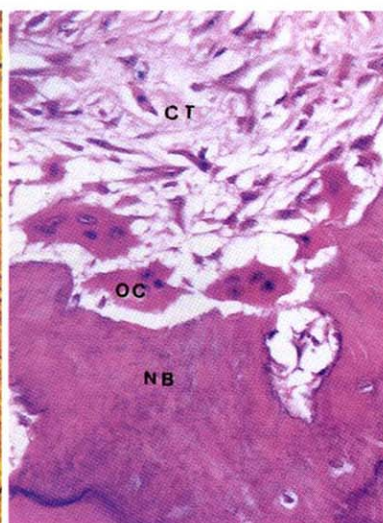


Figure 2-h

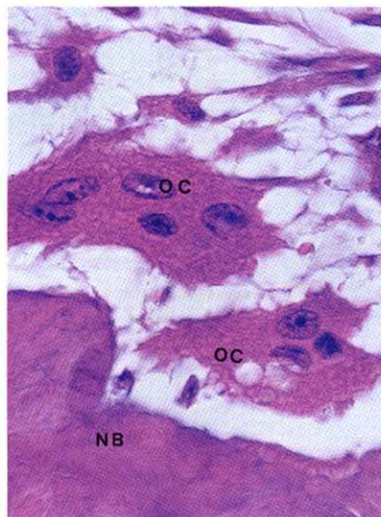


Figure 2-i

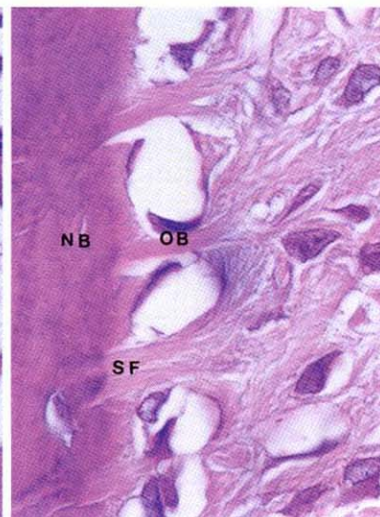


Figure 2-j

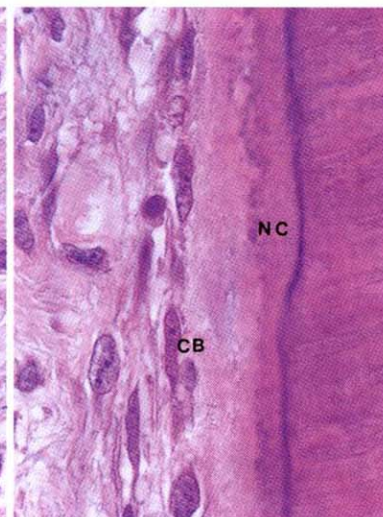


Figure 2-k

사진부도(Ⅳ)

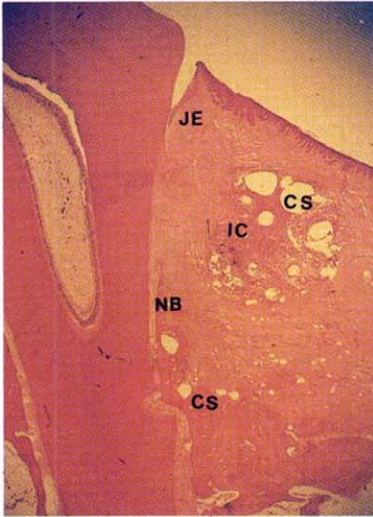


Figure 3-A

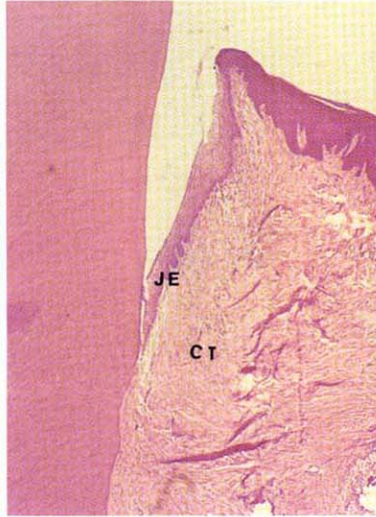


Figure 3-a

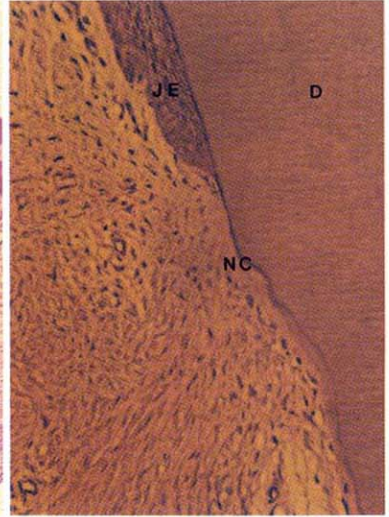


Figure 3-b

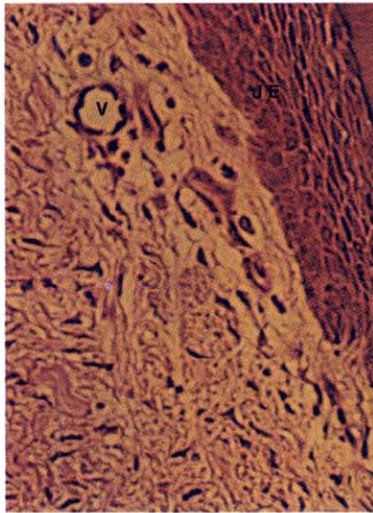


Figure 3-c

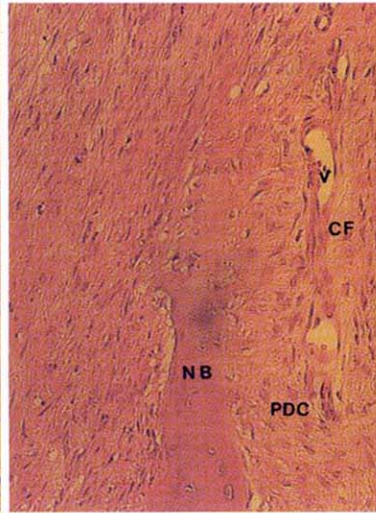


Figure 3-d

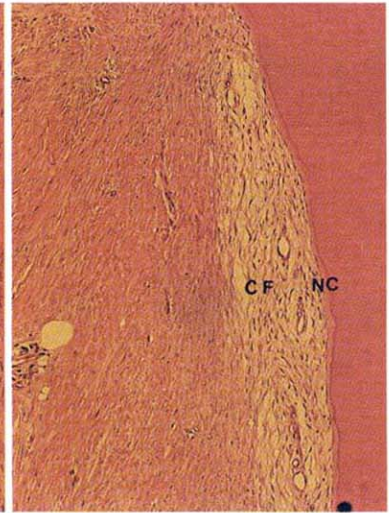


Figure 3-e

사진부도(V)

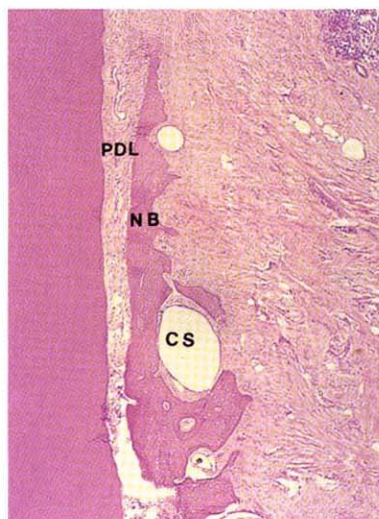


Figure 3-f

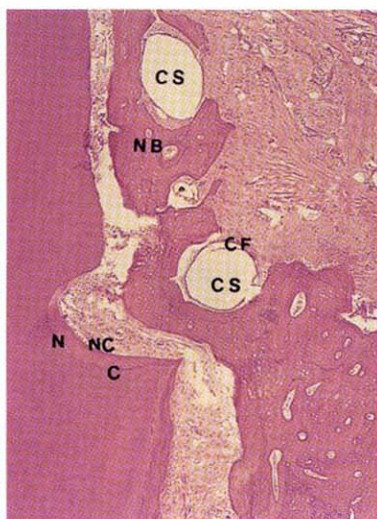


Figure 3-g



Figure 3-h

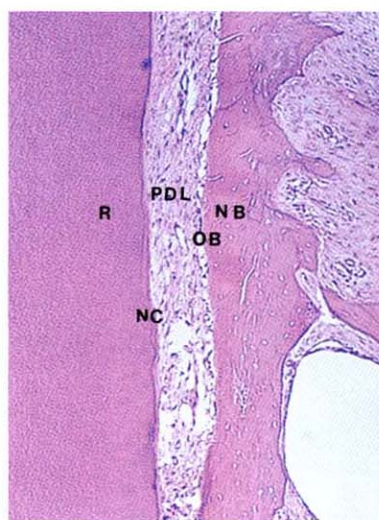


Figure 3-i

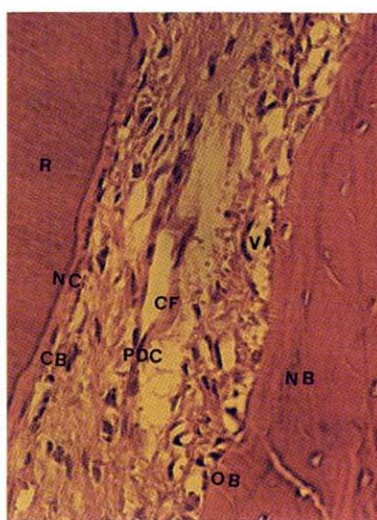


Figure 3-j

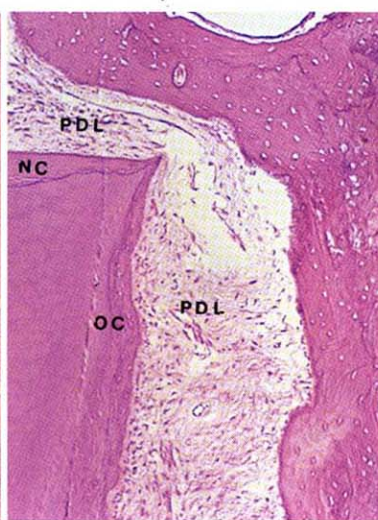


Figure 3-k

사진부도(VI)

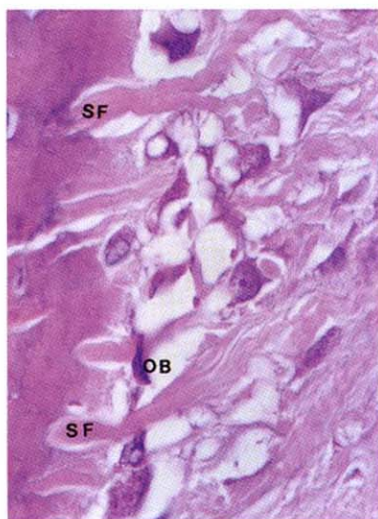


Figure 3-l

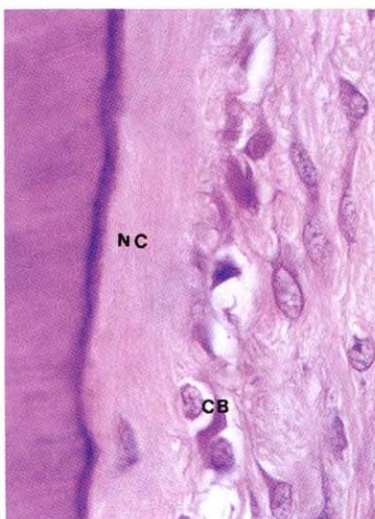


Figure 3-m

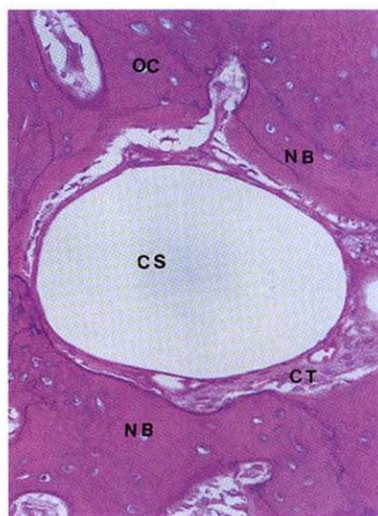


Figure 3-n

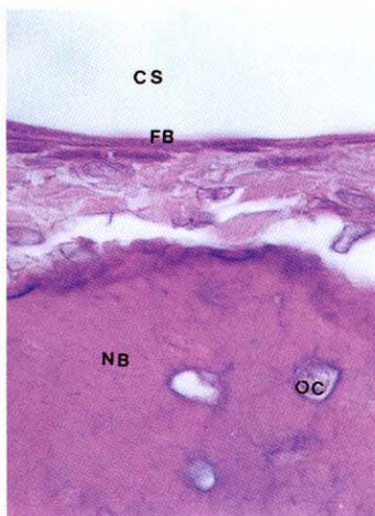


Figure 3-o

Periodontal repair in dogs: effect of the modified calcium sulfate paste on the 1-wall intrabony defects

Chong-Kwan Kim

Department of Periodontology, College of Dentistry

Yonsei University Seoul, KOREA

The purpose of this study was to evaluate the effect of modified calcium sulfate paste on periodontal regeneration. 1-wall intrabony defect(mesio-distal width: 4mm, depth: 4mm) was surgically created on the distal side of P2 and mesial side of P4 in four dogs.

The control group(GFS) was treated with conventional flap operation alone, and the experimental group(CS) was treated with conventional flap operation with modified calcium sulfate paste application. Both control and experimental groups were sacrificed after 8weeks of healing period. The results of histological and histometric observations were as follows.

1. The length of the junctional epithelium was 0.41 ± 0.01 mm in the control groups, 0.47 ± 0.01 mm in the experimental group.
2. The connective tissue attachment was 0.28 ± 0.02 mm($6.15 \pm 0.28\%$) in the control group, 0.18 ± 0.01 mm($3.41 \pm 0.14\%$) in the experimental group. The control group showed more connective tissue attachment.
3. The new cementum formation was 3.80 ± 0.06 mm($84.80 \pm 0.33\%$) in the control group, 4.49 ± 0.06 mm($87.57 \pm 0.15\%$) in the experimental group. Both groups showed a lot of new cementum formation.
4. The new bone formation was 1.43 ± 0.03 mm(32.37%) in the control group, 2.04 ± 0.09 mm(40.94%) in the experimental group.
5. The inflammatory cells were observed partially around resorbed calcium sulfate in the connective tissue of the experimental group.
6. Partially resorbed calcium sulfate were found within the connective tissue, around alveolar bone, and in the newly formed alveolar bone,

On the basis of these results, newly formed calcium sulfate paste enhanced new bone formation and new cementum formation.

The resorption rate of calcium sulfate seems to be controlled by the add-in compounds. Thus research about biocompatibility and adequate resorptionrate is required to develop a improved material.

key words; calcium Sulfate periodontal Regeneration 1-wall intrabony defect, New bone formation