

테트라사이클린 함유 차폐막을 이용한 골조직 유도 재생에 관한 연구

최광수¹ · 김탁¹ · 영대승¹ · 김은철² · 유형근¹ · 신형식¹

¹원광대학교 치과대학 치주과학교실

²원광대학교 치과대학 구강병리학교실

I. 서론

골 이식이나 골 유도 재생술에 의한 골 재생은 치과임상에서 관심이 많은 분야로 특히 구강외과 영역이나 치주과 영역에서 결손된 골을 재생시키기 위한 많은 연구가 진행되어 왔다¹⁻⁴. 한편, 치주조직의 진정한 재생이라 함은 골조직 뿐만 아니라 상아질 표면에 부착된 신생 무세포성 백악질, 신생 백악질속으로 매입하는 교원질 섬유 및 이로부터 기능적으로 기시되는 신생 치주인대, 치주인대에 부착되는 신생 치조골을 포함하여 소실된 지지조직의 재형성을 일컫는 치주치료 후의 치유를 의미한다. 차폐막을 이용한 조직유도재생술식은 치주질환으로 파괴된 치주조직을 효과적으로 재생시키기 위한 목적으로 연구되어 왔다. Melcher^{5,6}는 치주수술 후의 치유의 형태는 치근면에 부착되는 세포들에 의해 결정된다는 가설을 제시하였는데, 이 가설을 기초로 하여 우리가 원하는 세포들이 치주수술 후에 치근면에서 증식되도록 하려는 조직유도재생술식이 연구되어 왔다⁷. 일반적으로 치주수술 후에는 치유과정에서 각 조직들마다 성장하는 속도에 차이가 있기 때문에 성장속도가 느린 조직들을 원활하게 성장할 수 있는 조건을 만들어 주는 것이 필요하다. 즉, 치주 결손부를

Millipore filter를 사용하여 상피세포로부터 격리시켜, 재생속도가 느린 조직들도 충분히 성장할 수 있도록 하는 치료방법이 효과적인 것으로 알려져 왔다⁸⁻¹².

골조직을 포함한 조직 유도재생술에 쓰이는 차폐막에 대한 일반적 요구사항은 적절한 기계적인 안정성, 이상적인 다공성, 생체분해성 등이 있다^{13,14}. 이런 목적으로 연구되고 있는 생체분해성 차폐막의 소재들은 type 1 collagen^{15,16}, atelocollagen 또는 cargin과 같은 교원질¹⁷⁻¹⁹과 polyglactin 910²⁰과 polylactide-polyglycolide 공중합체²¹, polyurethane²² 그리고 polylactic acid²³ 등의 생흡수성 합성고분자들이다. 생체분해성 차폐막들은 효과면에서 계속적인 수정보완이 요구되고 있는데, 앞으로는 차폐막 자체에 항균 효과나 조직성장을 촉진하는 물질을 함유시킨 개량된 차폐막이 많이 나타날 것으로 예상된다.

기존에 임상적으로 이용되고 있는 비흡수성, 혹은 흡수성 차폐막은 유도되는 하부조직의 공간을 유지하는 물리적 성질만을 지니고 있고, 직접적으로 조직을 유도하거나 세포의 증식과 성숙을 촉진하지는 않고 있다. 또한 막 자체는 노출의 경우나 세균의 감염 시 병원균의 감염과 균집에 좋은 매개체가 되고 있어, 이를 막기 위해 차폐막의 물리적 성질을 유지하면서 조직의 유도촉진, 감염의 저항을 얻을 수 있는

교신저자: 신형식, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 치과대학 치주과학교실, 우편 번호 570-711

첨가물질에 대한 연구가 필요할 것이다.

조직유도 재생술을 위한 차폐막은 치은연하에 위치해 차단 기능을 주목적으로 고안되었으나, 차폐막에 테트라사이클린을 포함한 일부약물을 첨가해 치주인대 및 치조골을 성장을 도모할 수 있다고 하였다²⁴⁻²⁷. 치주 결손부에 테트라사이클린을 국소적으로 투여함으로써, 그들의 교원질 분해 억제효과와 조골모세포에 대한 화학주성 효과를 가짐으로 골형성을 도모할 뿐만 아니라 골흡수를 억제할 수 있는 것이다.

조직유도 재생술에 있어 차폐막은 치주조직의 성공적인 수복을 위해 4-6 주 동안 차단 기능을 수행해야만 한다^{28,29}. 또, 세포의 부착과 충분한 영양 공급을 위해 차폐막의 표층과 하방층 모두 구조적으로 다공성을 지녀야 한다³⁰. Poly-L-lactic acid(PLLA)는 적당한 생체 분해 비율과 기계적 안정성을 가지고 있어 본 연구에서는 polyglycolic acid(PGA) mesh와 PLLA 용액의 3가지 성분을 in-air drying phase inversion technique으로 제조된 차폐막^{31,32}을 이용하였다. 테트라사이클린을 방출하는 PLLA 차폐막에 대한 지금까지의 연구는 테트라사이클린의 적정 방출 농도를 규명하고, 차폐막의 흡수 양상을 관찰하고, 세포부착 수준과 골재생이 약물 비 함유 차폐막에 비해 우수하다는 것을 세포 및 소동물을 대상으로 보고된 바 있다³³⁻³⁵. 그러나 신생 골양을 정확히 측정 비교한 보고는 없었으며, 또한 테트라사이클린을 함유한 차폐막을 이용한 골재생 유도 방법을 임상적으로 적용해 보기 위해서는 아직도 많은 추가적인 실험과 검증이 요구되고 있다. 이에 본 연구에서는 성견을 대상으로 테트라사이클린 함유 차폐막과 약물비함유 차폐막을 경골에 위치시켜 이에 대한 조직 반응과 골조각 유도재생의 정도를 비교해 보고자 한다.

II. 연구재료 및 방법

1. 차폐막 제작

테트라사이클린이 함유된 것과 약물이 함유되지 않은 PLLA 차폐막을 이화여자대학교 약리학 교실에

의뢰하여 제조하였다. 요약하면, PLLA 차폐막은 정등³¹이 기술한 방법을 따랐으며, PGA(Samyang Group R & D center, Taejeon, Korea)첨유를 이용해 PGA 망을 편직했다. 1 g의 PLLA(Purac Biochem BV, Holland)를 6 ml의methylene에 용해시킨 다음 3 ml의 ethylacetate를 첨가하였다. 중합체 무게당 10% 비율의 테트라사이클린(Sigma Chemical Co., USA)을 확산을 통해 PLLA 용액에 함유시켰다. PLLA 용액을 PGA 망에 뿌린 다음 24시간 동안 25℃에서 공기 건조를 통해 용매를 증발시켰다. 여분의 용매를 제거하기 위해 다시 24시간 동안 진공 상태에서 건조하였다.

2. 실험동물

실험동물로는 생후 1년 6개월 이상이고 체중 18-22 kg의 웅성 성견(beagle 견) 세 마리를 사용하였다. 실험기간 동안 고행사료(도그라인, 대한사료공업, 한국)와 분리된 사육실에서 동일한 조건으로 사육하였다.

3. 골결손부 형성 및 차폐막 적용

Ketamine hydrochloride(케타라®, 유한양행, 한국) 5-10 mg/kg와 xylazine hydrochloride(Rompun®, Bayer Korea Ltd, 한국) 0.2-1 mg/kg를 근주로 전신마취시킨 후, 앞다리에 절개 부위를 포함하여 충분히 면도하고 외과적 소독제인 potadine과 hibitane으로 소독하고 2% 염산 리도케인(1:100,000 epinephrine, 유한양행, 한국)으로 침윤마취한 후, 피부와 골막을 절개하고 박리하여 경골을 노출시켰다. 1/2 round bur를 이용하여 충분한 생리 식염수 세척하에 가로 7 mm, 세로 10 mm, 깊이 5 mm의 사각형 골결손부를 한쪽 다리에 두 개씩 형성하였다. 경골 골결손부 형성후 한쪽 결손부에는 실험군으로 테트라사이클린이 함유된 차폐막을, 다른 한 쪽에는 대조군으로서 약물이 함유되지 않은 차폐막을 골결손부에 잘 적합시키고 membrane nail(FRIOS, FRIATEC AG, Germany)을 이용하여 골에 고정하였다. 흡수성 봉

합사를 이용하여 차폐막을 골막으로 완전히 피개하여 봉합하고 피부를 수술용 silk로 다시 봉합하였다.

세균감염을 방지하기 위하여 술후 첫 2주 동안 매일 Kanamycin(Scientific Feed Co., Korea)을 근육 주사하였으며, 봉합사는 1주일 후에 제거하였다. 수술 후 4주, 5주, 6주 째 케타라와 럼프를 과량으로 근주하여 마취시킨 후 희생시켰으며, 실험부위를 적출하여 0.1 M phosphate buffer에 혼합된 2.5% glutaraldehyde 고정액에 고정하였다.

4. 조직소견관찰 및 조직계측학적 측정

조직검사를 위하여 적출한 조직을 고정한 후 각각의 표본은 formalic acid-sodium citrate 방법으로 탈석회화를 시행한 다음, epoxy로 포매하였고, 4 μ m 두께로 조직절편을 만들어, Multiple 염색³⁶⁾ (Polysciences, Inc., USA)을 실시하고 광학현미경(Olympus BH-2, Olympus Co., Tokyo, Japan)을 통하여 수술부위의 염증세포 침윤, 결손부 내로 결합조직의 침입, 차폐막의 조직 적합성, 차폐막의 흡수 정도, 신생골 형성, 골성숙 정도를 (-음성)에서 \pm (경미), +(약양성), ++(중양성), +++(강양성)까지 5단계로 구분하여 검정하였다. 조직학적 계측은 염색한 조직표본의 현미경 화상을 Image Pro II 영상분석장치(Media Cybernetics, USA)를 이용하여 신생골의 면적계측 변량을 5부위 이상 측정하였다.

5. 통계분석

조직계측에 대한 통계학적 유의성은 SPSS WIN Version 8.0 프로그램을 사용하여 일원분산분석법(one way ANOVA)과 t-test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 분석하였다.

III. 연구결과

1. 차폐막 적용에 따른 조직반응

실험군, 대조군 모두 각 시술 부위는 특이한 이물반응은 없었으나, 드물게 미약한 염증소견이 관찰되

었다. 차폐막은 주위조직과 융화를 이루면서 전체적인 차폐막의 구조는 대부분 hemispherical dome 형과 연속성이 유지되고 있었고, 결손부 내로 차폐막을 관통하는 결합조직의 침입은 관찰되지 않았다(Table 1, Photo. 1-4). 결손부내의 하부 골면에서 망상골의 형태로 골소주들이 자라고 있고, 시간이 경과함에 따라 차폐막의 직하부에 까지 골소주의 성장이 관찰되었고, 골소주의 성장은 시간이 지날수록 치밀도가 높아지는 것이 관찰되었다(Table 2, Photo 1-4).

2. 차폐막의 골재생력

모든 차폐막에서 특이한 이물반응 없이 주위조직과 잘 융화되어 있었고, 차폐막의 구조는 최초로 성형된 형태가 유지되어 있었다. 4주 째 실험군과 대조군 모두 일부에서 아직 조직화되지 않은 혈병이 남아있기도 하지만 활발한 신생골 형성이 이루어지고 있으며, 시간이 지날수록 dome형의 천정부위에까지 신생 골소주들이 도달함이 확인되었다. 특히 실험군의 경우, 재생된 신생골의 외형이 최초로 성형된 차폐막의 hemispherical dome형의 구조에 의해 유도, 조형되어 재생되고 있음을 알 수 있다(Photo. 5-8).

테트라사이클린 함유의 hemispherical dome 형 PLLA 차폐막에서도 일부 조직화되지 않은 부분이 있지만, 약물 비함유의 dome형 차폐막에서의 경우에서처럼 성형된 dome형의 구조가 잘 유도된 신생골이 확인되고 있는데, 약물 비함유의 차폐막에서 보다 훨씬 치밀한 골형성 및 골유도가 관찰된다(Table 2, 3, Photo. 9-12).

조직계측학적 측정결과, 각 PLLA에 의한 재생된 골의 면적은 대조군에서 4주, 5주 6 째 각각 622.34 ± 22.30 , 809.48 ± 38.03 , $868.07 \pm 98.77 \mu\text{m}^2$ 였고, 테트라사이클린 함유 PLLA 차폐막에서는 각각 705.91 ± 39.83 , 869.17 ± 101.65 , $982.40 \pm 122.22 \mu\text{m}^2$ 를 보였다. 두 군 모두에서 4주 째에 비해 5주, 6주 째 생성된 신생골의 양은 유의할 정도로 증가하였으며, 6주 째의 경우 실험군은 대조군에 비해 유의한 신생골의 증가를 보였다(Table 3).

Dome형의 차폐막에서 조형된 반원형의 면적에

대한 재생된 골의 면적 비율은 대조군에서 4주, 5주 6 주 각각 53.24 ± 5.70 , 66.52 ± 6.95 , $72.50 \pm 4.58\%$ 였고, 테트라사이클린 함유 PLLA 차폐막에서는 각각 61.60 ± 7.13 , 71.30 ± 7.18 , $86.30 \pm 2.03\%$ 를 보였다. 결손부 면적에 대한 신생골의 면적 비율에 있어서도 실험군 6 주의 경우, 4주 주 및 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다(Table 3, Figure 1). 테트라사이클린 함유된 차폐막에서 재생된 골의 면적이나 치밀도가 약물 비함유군에서 보다 높음을 알 수 있었다.

IV. 총괄 및 고찰

모든 골은 조직학적으로 차이가 없으나 태생기의 골발생은 연골내 골화, 막내골화, 봉합선골화의 세 가지 방법으로 이루어진다. 상하악골은 막내골화에 의해 형성되는 반면, 사지골의 경우 연내골화에 의해 이루어진다. 본 연구에서는 경골을 대상으로 하였는데, 이러한 사지골은 악골과 달리 연골내 골화에 의해 골이 형성된다. 그러나, 골대사와 무관하게 연골내 골화와 막내골화 사이에는 생화학적, 형태적, 기능적 차이가 없다. 더구나 성인 골격에서 골의 회복 동안에는 막내골 재생과 연골내골 재생이 태생기와 같은 과정을 밟지 않는다. 또한 세포와 가용성(예, BMP) 및 불용성(예, 교원질) 요소들이 두 가지 골에서 다르다거나 태생기의 조직 사이에서 일시적인 재생에 차이가 있다는 증거는 없다. 그러므로 본 연구

에서 골형성 정도를 악골에 견주어 생각해 보는 것도 큰 무리가 없을 것이다.

골 형성 속도와 양을 증가시키기 위한 방법으로는 대략 4가지의 방법이 소개되고 있다: 적절한 성장인자들을 이용한 골유도³⁷⁾; 신생골 형성을 위한 비계로 골이식체를 이용하는 골전도³⁷⁾; 수술적으로 골을 두 조각으로 분리시킨 후 견인력으로 사이를 벌려주는 골 신장술³⁸⁾; 마지막으로 차폐막으로 공간을 유지해 하방에 신생골이 차도록하는 조직유도재생술³⁹⁾. 생화학적으로 골형성을 유도하는 방법은 아직 실험단계이며, 골 신장술은 악골내 국소적 골결손부에는 적용할 수 없는 어려움이 있으므로, 임상에서는 일반적으로 골조직유도재생술과 골이식술을 많이 사용하고 있다. 특히 임플란트 주위 골결손부 충전에는 골조직 유도재생술이 가장 예견성이 높다고 하였다. 골형성에는 두 종류가 있는데, 자율성 골형성은 일반적으로 0세부터 12세까지의 소아에게 보이고, 이 연령의 경우 골이식 없이 창상부와 인접한 골막, 골내막에서 거의 완전한 골의 재생을 기대할 수 있다. 12세 이후는 급속하게 그 능력은 감소하고 예지성 낮은 것으로 알려져 있다. 최근 골 신장술을 이용한 성인 대상 증례 보고들은, 성인에 있어 감소한 자율성 골형성을 조금씩 이용하려고 하는 것으로 앞으로 기대되는 방법이다. 한편 이식성 골형성은 현재 임상에서 널리 쓰이는 골이식의 경우를 말하는 것이다. 그러나 골이식은 골을 접촉시키는 것은 아니며, 이식

Table 1. Histologic finding of tissue responses to the application of PLLA barrier membrane on artificial bone defects of beagle dog

Tissue responses	Group		Control			Experimental		
	Week	4	5	6	4	5	6	
Foreign body reaction		±	-	-	-	-	-	
Inflammatory cell infiltration		±	+	+	+	±	±	
Invasion of connective tissue into defect		-	-	-	-	-	-	
Tissue integration of membrane		++	++	+++	++	++	+++	
Membrane resorption		-	-	±	-	-	±	

-; negative, ±; rare, +; mild, ++; moderate, +++; severe.

Control; application of drug-unloaded membrane on artificial defect.

Experimental; application of tetracycline-loaded membrane on artificial defect.

Table 2. Histologic finding of bone remodeling according to the application of PLLA barrier membrane on artificial bone defects of beagle dog

Tissue responses	Group		Control			Experimental		
	Week	4	5	6	4	5	6	
Trabecular bone growth		±	+	++	+	++	+++	
Bone induction		±	+	+	+	++	+++	
Bone conduction		±	+	+	+	++	+++	

-; negative, ±; rare, +; mild, ++; moderate, +++; severe.

Control; application of drug-unloaded membrane on artificial defect.

Experimental; application of tetracycline-loaded membrane on artificial defect.

골의 세포성분 능력을 얼마나 이식부위에 주고 활성화할 수 있는가에 이식의 성과는 좌우된다. 간엽세포는 골형성과 골재형성에 큰 역할을 한다. 그러나 사람의 골수내 간엽계 간세포를 연령별로 보면 신생아 이후 그 양이 급격히 떨어진다. 그러므로 골형성 능력이 연령에 의해 크게 차이를 보일 것이다⁴⁰⁾. 본 연구에서는 대상 동물의 연령을 같게 해 그 차이를 최대한 줄였다.

골재형성(bone remodeling)시에 골양조직은 하루 약 2-3 μm 씩 형성되며, 약 10일 후 20 μm 의 두께가 되면 골양조직은 골아세포 무리의 보호아래 하루 1-2 μm 씩 광물화한다고 한다⁴¹⁾. 이러한 수치는 수년의 조직 형태학적 연구 끝에 얻어진 것으로서 골의 치유

과정에서도 유사할 것으로 사료된다. 외상 이후의 골 형성은 결손부의 크기에 의존한다. 피질골에서는 동심원상의 층판골로 회복될 수 있으려면 200 μm 이하의 원형 골 결손부여야 한다고 한다⁴²⁾. 200-500 μm 의 결손부에서는 결손부를 연결하는 미성숙골의 골소주 가교가 형성된 후, 골소주 사이의 공간을 층판골로 채워 골재생이 일어난다. 그러나 500 μm 나 그 이상의 결손부는 골에 의한 직접적인 가교형성은 이루어지지 않고, 결손부는 중심부에 결합조직이 존재하는 양상을 보여준다. 본 연구의 인공적 골결손부는 이 보다 큰 7 mm이며, 차폐막을 이용하였다는 것과 피질골과 망상골이 결손부에 모두 포함되었다는 차이가 있으나 얻어진 신생골의 양을 보면, 재형성이

Table 3. Histomorphometry of the new bone formation in artificial bone defect of beagle dog after the application of PLLA barrier membrane(Mean \pm S.D.)

Week	Area(μm^2)	Control group	Experimental group
4	New bone area	622.34 \pm 22.30	705.91 \pm 39.83
	N/D area (%)	53.24 \pm 5.70	61.60 \pm 7.13
5	New bone area	809.48 \pm 38.03*	869.17 \pm 101.65*
	N/D area (%)	66.52 \pm 6.95*	71.30 \pm 7.18
6	New bone area	868.07 \pm 98.77*	982.40 \pm 122.22*#
	N/D area (%)	72.50 \pm 4.58*	86.30 \pm 2.03*#

*; Significant difference compared to 4 weeks group(P<0.05).

#; Significant difference compared to control group(P<0.05).

N/D area;(new bone area/defect area) \times 100

Control; application of drug-unloaded membrane on artificial defect.

Experimental; application of tetracycline-loaded membrane on artificial defect.

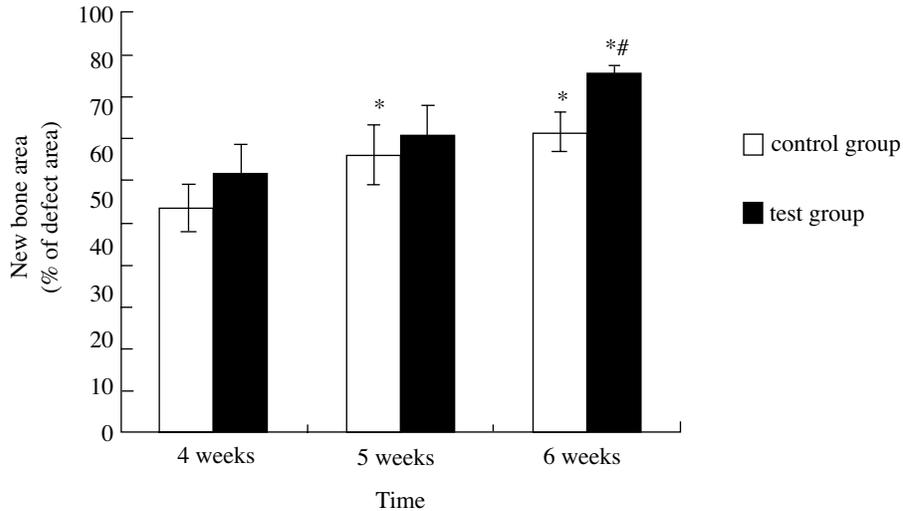


Figure 1. Effects of PLLA barrier membrane on new bone formation. New bone area was represented as % of defect area, and vertical bars represent standard errors of each independent values(Mean±S.D.).

*; Significant difference compared to 4 weeks group(P<0,05).

#; Significant difference compared to control group(P<0,05).

나 자연적 치유에 의해 얻어질 양에 비해 대조군, 실험군 모두 확연히 많은 양의 골이 신생되었음을 알 수 있다. 이는 신생골 형성에 관여하는 골조직 관련 세포만이 창상부에 참여하도록 주위조직으로부터 결손부를 적절히 격리시켜 주었고, 뿐만 아니라 실험군의 경우 약물의 골유도능력도 기여하였으리라 생각할 수 있다.

골조직유도재생술은 결손을 가진 숙주의 골량을 증가시킬 수 있는 성공적인 방법으로 이미 치과임상에서 널리 인정된 술식이다. 조직유도재생술의 생물학적 근간은 1980년 대 초 상실된 치주조직의 재생을 얻고자 하는 연구의 결과로 Nyman 등^{43,44}에 의해 소개되었다. 조직유도재생술은 곧바로 골조직을 포함한 다른 영역으로 응용되어, 특히 부족한 골량을 가진 부위에 인공치아를 매식코자 할 때, 골증대술에 조직유도재생술이 많이 이용되고 있다⁴⁵. 일반적으로 신생 골은 생역학적 안정과 혈관재생이 허락되는 곳, 즉 압력과 인장력이 배제된 곳에서만 형성된다. 그러나 결손부 크기가 증가함에 따라 결손부의 경계부에서는 제한적으로 생역학적 안정지대가 형성되

나 중심부는 골형성을 방해하는 생역학적 힘에 노출되어있다. 큰 결손부의 골형성은 결손부 경계부에 제한되고, 큰 결손부의 중심부에는 완전한 골치유를 방해하는 견고한 막과 같은 섬유성 결합조직이 존재한다⁴⁶. 최근에는 생역학적 힘으로부터 결손부 내의 섬세한 조직을 보호해줄 수 있는 다소 견고한 차폐막을 이용하는 방법이 각광을 받고있다.

생체내의 어느 일정 부위를 차폐막과 같은 물질을 사용하여 기계적으로 고립시키면 고립된 부위가 의도된 조직 유형에 의하여 치유되도록 유도할 수 있다. 이와 같은 목적 하에 개발된 차폐막이 수종 있으나 임상적 결과의 다양성이 계속 보고되고 있다. 현재 차폐막으로 많이 사용되는 재료로는 Millipore filter와 비슷한 성질을 갖는 expanded polytetrafluoroethylene(e-PTFE)막을 들 수 있다. e-PTFE막은 1980년대 후반부터 동물실험 및 임상연구를 통하여 현재 효과를 인정받고 있는 소재인데, 조직에 대한 차폐능력이 뛰어나고, 신체 내에서 완전히 불활성 물질로 남아있기 때문에 생체안정도와 생체친화성이 좋은 물질이다^{47,48}. e-PTFE막은 빠른 속도로 증식

하는 상피 세포를 물리적으로 막아주는 차폐 역할을 함으로서 하부에서 느리게 증식하는 골 형성과 관련된 세포들이 성장 증식할 수 있는 시간적, 공간적 여유를 부여하여 결손 부위의 골 형성 및 재부착을 유도할 목적으로 사용되어 왔다. 그러나 이 e-PTFE는 활성도가 없는 물질이어서 그 역할이 끝난 이후에도 조직 내에 남아 감염의 기회를 줄 수 있기 때문에 반드시 제거를 위한 추가적인 수술이 필요하다. 따라서 최근에는 부가적인 제거 수술이 필요없이 생체 내에서 흡수될 수 있는 생체분해성 차폐막(biodegradable barrier membrane)에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다^{49,50}. 골조직 유도에 있어 실패한 원인들을 분석해 보면 차폐막의 원인으로, 생체 친화성, 밀폐성, 공간확보, 조직 적합성, 조작의 용이성 등이 있다. 막의 질은 또다른 주요한 인자이다. 이상적으로 막이 더단단할수록 막 아래 공간이 더 안정하게 유지된다⁵¹. 생체분해성 막의 경우 분해 과정이 막을 약화시키고 덮여진 연조직의 압력이 막 붕괴의 원인이 되어, 이런 이유로 생분해 막들은 골형성을 위해 더 좋지 않은 것으로 보인다. 그러나 한편으로는 견고성이 증가하면 매식된 생체물질의 이물 반응을 증대시킨다고 하였다⁵². 본 연구에 이용한 테트라사이클린 함유 PLLA 차폐막은 이미 물리적 성질의 평가와 약물 방출의 정도, 세포배양 및 동물실험을 통한 생체친화성과 분해양상이 보고되었고, 백서의 두개골에서 골조직 유도재생능이 평가된 바 있다⁵¹. 본 연구에서도 차폐막은 대조군, 실험군 모두 특이한 이물반응이나 결손부 내로의 결합조직 침입은 관찰되지 않았으며, 차폐막도 주위조직과 잘 융화를 이루고 있었다. 본 실험에서 제작된 차폐막의 두께는 대략 150 μm 정도였는데 이는 e-PTFE 막과 비슷한 정도의 두께이며, dome 형태의 차폐막 구조를 실험기간인 6 주 동안 유지하고 있었다. 이는 성장을 바라는 조직이 충분히 성장할 수 있을 때까지 차폐효과를 가지고 있는 것이다.

치주치료에 있어서 광범위하게 사용되고 있는 항생제인 테트라사이클린은 전신적 혹은 국소적으로 사용할 수 있으며, 국소유연형 치주염을 포함한 난치성 치주염을 치료하는데 특히 효과적이다. 테트라사이클린은 항균효과 이외에도 국소적으로는 치근면

에 적용 시 치근면을 탈회시켜 교원질 다발을 노출 시킴으로서 상아질 표면에 섬유아세포가 부착하는 것을 촉진시키기도 하고⁵³, 또한 치근면에 있는 제거되지 않은 독소를 중화시키기도 한다. 전신적 테트라사이클린의 투여는 적은 용량에서도 교원질 분해효소와 숙주조직에서 생산되는 다른 교원질 분해효소의 활성을 직접적으로 억제하고, 그 결과 감소된 교원질 파괴를 보여준다^{54,55}. 또한 다형핵백혈구로부터 사람의 내인성 교원질 분해효소를 감소시키며, 실험적으로 유도된 치주질환과 연관된 골소실을 억제하고 골의 재생을 증가시킴으로서 신생골의 형성을 돕는다고 보고된 바 있는^{56,57}, 치주치료에 있어 유용하게 사용되는 약물이다. 따라서 이러한 약물을 차폐막에 함유시켜 치주조직 재생 유도에 효과가 있음이 최근에 여러 연구들에 의해 보고되기도 하였다^{33,58}.

차폐막을 단독으로 사용하는 경우, 차폐막 상단부와 치아 사이의 완전한 밀착이 어려우므로 상피세포의 하방 증식을 완전히 차단할 수 없으며, 제3급 치근 분지부 병소나 광범위한 골결손부에서는 치주재생 및 골 재생에 한계가 있는 것으로 밝혀졌다⁵⁹. 조직 유도재생술이나 골조직 유도재생술과 같은 시술에 있어 약물을 이용하면 조직재생에 있어 그 효율이 더욱 증진될 것으로 예측된다. 이러한 목적으로 과거에 경구투여 혹은 주사투여하여 약물 효능만을 검색한 보고가 있었다^{56,58}. 최근까지 이러한 약제는 경구로 투여함으로 골결손부까지 도달하는데 약물 손실이 따르며 또한 전신적인 부작용도 따른다. 따라서 국소 조직 내로의 효과적인 약물 송달기법이 요구되는데 본 연구에서는 PLLA 차폐막에 테트라사이클린을 함유시켜 시행해 보았다. 테트라사이클린을 국소도포 시 fibronectin과 섬유아세포의 부착을 증진시키는 반면 상피세포의 부착에 대해서는 억제 효과가 보고되었으며⁵³, 이는 상피세포의 근단축 이동으로 인해 결합조직의 신부착이 방해받는다 는 사실에 미루어 보아 중요한 의미를 갖는다. 이 외에도 교원질분해효소 억제효과 및 섬유아세포 부착 촉진 효과가 있으며, 치주인대세포에 대한 화학주성을 나타낸다고 하여⁶¹ 치주처치의 부가적 효과를 기대하

는 유망한 약물이다. 차폐막이 연조직에 의해서 완전히 피개되기 어렵거나, 차폐막이 완전히 피개되었더라도 치은퇴축에 의해 차폐막이 노출될 경우, 노출된 부위로 결합조직 세포들이 이동하여 차폐막을 피개할 수 있다면 치주조직 재생효과가 감소되는 것을 막을 수 있다. 따라서 차폐막 표면으로 세포의 접착과 이동은 필수적이라 할 수 있겠다. 김 등⁶²⁾은 테트라사이클린 함유 차폐막이 약물 비함유 차폐막에 비해 세포접착도가 컸다고 하였다. 이는 아마도 테트라사이클린은 고농도(200 $\mu\text{g}/\text{ml}$)가 아니면 위해작용 없이 섬유아세포의 부착을 촉진시키는 작용에 의한 것일 것이다.

Rifkin 등⁶³⁾은 테트라사이클린이 병원성 세균에 대한 항생 효과를 발휘하기 위해서는 4-8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 정도의 농도가 요구되며, 골흡수를 억제하기 위해서는 5-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 정도의 농도가 요구된다고 하였다. Markman 등⁶⁴⁾은 Sprague-Dawley rat을 대상으로 테트라사이클린 함유 cellulose 차폐막을 위치시켰을 때 첫날 약 218 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 최대농도의 테트라사이클린이 방출되어 그 후 약 12일 동안 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 테트라사이클린이 지속적으로 방출되었다고 하였다. 본 연구에 이용한 차폐막은 박등의 연구^{31,33)}에 의하면, 약 한 달간 유효한 농도의 테트라사이클린이 지속적으로 방출되어 장시간 동안의 항생효과와 골흡수 억제 효과가 생체 실험을 통해 입증된 바 있다. 또, 김 등³⁴⁾의 약물 농도에 따른 세포 독성 실험에서 테트라사이클린이 15% 이상일 때 세포독성이 있는 것으로 나타났으며, 이들 실험 결과에 근거하여 본 연구에서 골조직 유도 재생 실험 시 테트라사이클린 10% 함유 차폐막을 이용하였다.

골재생 유도물질의 효과를 측정하기 위해서는 자연적으로 절대 치유가 불가능한 결손 임계치수(critical size defect, CSD) 만큼의 인위적인 손상을 주어야 정확한 평가를 얻을 수 있을 것으로 예측된다. 보통 백서의 CSD를 4-8 mm로 보고하였는데⁶⁵⁾, 동물의 연령, 손상 부위, 내인성 요인에 의해 차이가 나므로 CSD를 정확히 결정하기는 어렵다. 본 실험에서는 성견을 대상으로 하였는데 모든 군의 결손부 크기를 10×7×5 mm³(길이×폭×깊이)로 설정하여 CSD가

작은 감이 있으나, 실험기간을 자연적 완전 치유가 불가능한 4-6주로 하여 골조직 유도 재생효과를 평가하였다. 보다 객관적인 평가를 위해 광학 현미경에서 조직 소견을 관찰하였고 이와 병행하여 탈회표본에 Multiple 염색을 한 후 조직계측을 통해 결손부에 형성된 신생골의 양을 정량하였다. 테트라사이클린 함유 차폐막이 약물 비함유 차폐막에 비해차폐막 하방 신생골이 보다 두텁게 일어났는데, 이는 수술 후에 발생하는 감염과 염증이 줄어서인지 아니면 테트라사이클린의 다른 성장 촉진효과에 기인된 것인지는 분명치 않다.

국소적으로 차폐막을 통해 적용된 테트라사이클린은 지속적으로 방출되어 항생 및 골유도 효과가 오랜 기간동안 유지될 것이며 전신적 투여에 따른 부작용을 해소하고, 치주질환 치료에 그 활용성을 기대해 볼 수 있다. 앞으로 계통발생학적으로 더 진화된 동물의 치주조직을 대상으로 장기적인 골조직 및 치주조직의 유도 재생에 관한연구가 계속되어야 할 것이다.

V. 결론

약물 함유 차폐막의 골조직 유도 재생효과를 알아보고자 본 연구에서는 poly-L-lactic acid와 polyglycolic acid로 제작한 다공성 생체분해성 차폐막에 치주재생에 효과가 있는 테트라사이클린을 함유시킨 것과 약물을 함유하지 않은 차폐막을 각각 성견 경골 결손부에 위치시켜 차폐막 적용에 따른 조직반응과 골조직 유도 재생효과를 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 모든 군의 신생 골양은 시간이 경과할수록 증가하였으며, 결손부의 가장자리에서부터 골성장이 일어났다.
2. 모든 군의 차폐막은 주위조직과 용화를 이루면서 전체적인 차폐막의 구조는 대부분 초기 형태와 연속성이 유지되고 있었고, 결손부 내로 차폐막을 관통하는 결합조직의 침입은 관찰되지 않았다.

3. 결손부내의 하부 골면에서 망상골의 형태로 골소주들이 자라고 있고, 시간이 경과함에 따라 차폐막의 직하부에 까지 골소주의 성장이 관찰되었고, 골소주의 성장은 시간이 지날수록 치밀도가 높아지는 것이 관찰되었다.
4. 조직계측학적 측정결과, 두 군 모두에서 4주째에 비해 5주, 6주째 생성된 신생골의 양은 유의할 정도로 증가하였으며, 6주째의 경우 실험군은 대조군에 비해 유의한 신생골의 증가를 보였으며(p<0.05), 결손부 면적에 대한 재생된 골의 면적 비율에 있어서도 실험군 6주째의 경우, 4주째 및 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다(p<0.05).

이상과 같은 결과로 테트라사이클린 함유 생체분해성 차폐막은 골 결손부에 대한 골조직 유도시 우수한 효과가 나타났으며, 치주조직 재생유도를 위한 차폐막으로 이용될 가능성이 있다고 생각한다.

VI. 참고문헌

1. Drury GI, Yukna RA. Histologic evaluation of combining tetracycline and allogeneic freeze-dried bone on bone regeneration in experimental defects in baboons. *J Periodontol* 1991;62(11):652-8.
2. Bowen JA, Mellonig JT, Gray JL, Towle HT. Comparison of decalcified freeze-dried bone allograft and porous particulate hydroxyapatite in human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1989;60(12):647-54.
3. Werbitt MJ, Goldberg PV. The immediate implant: bone preservation and bone regeneration. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1992;12(3):206-17.
4. Wilson TG Jr. Guided tissue regeneration around dental implants in immediate and recent extraction sites: initial observations. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1992;12(3):185-93.
5. Melcher AH, Dreyer CJ. Protection of the blood clot in healing circumscribed bone defects. *J Boneand Joint Surg* 1962;44B:424-430.
6. Melcher AH. Repair of wounds in the periodontium of the rat. Influence of periodontal ligation on osteogenesis. *Arch Oral Biol* 1970;15(12):1183-204
7. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J Clin Periodontol* 1982;9(3):257-65.
8. Claffey N, Motsinger S, Ambruster J, Egelberg J. Placement of a porous membrane underneath the mucoperiosteal flap and its effect on periodontal wound healing in dogs. *J Clin Periodontol* 1989;16(1):12-6.
9. Froum SJ, Gomez C. Periodontal regeneration. *Curr Opin Periodontol* 1993;:111-28. Review.
10. Karring T, Nyman S, Gottlow J, Laurell L. Development of the biological concept of guided tissue regeneration--animal and human studies. *Periodontol 2000* 1993 ;1:26-35. Review.
11. Linde A, Alberius P, Dahlin C, Bjurstram K, Sundin Y. Osteopromotion: a soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. *J Periodontol* 1993;64(11 Suppl):1116-28. Review.
12. Minabe M. A critical review of the biologic rationale for guided tissue regeneration. *J Periodontol* 1991;62(3):171-9.
13. Quteish D, Singrao S, Dolby AE. Light and electron microscopic evaluation of biocompatibility, resorption and penetration characteristics of human collagen graft material. *J Clin Periodontol* 1991;18(5):305-11.
14. Greenstein G, Caton JG. Biodegradable barriers and guided tissue regeneration. *Periodontol 2000* 1993;1(1):36-45.
15. Hyder PR, Dowell P, Singh G, Dolby AE. Freeze-dried, cross-linked bovine type I colla-

- gen: analysis of properties. *J Periodontol* 1992;63(3):182-6.
16. Pitaru S, Tal H, Soldinger M, Azar-Avidan O, Noff M. Collagen membranes prevent the apical migration of epithelium during periodontal wound healing. *J Periodontal Res* 1987;22(4):331-3.
 17. Blumenthal NM. A clinical comparison of collagen membranes with e-PTFE membranes in the treatment of human mandibular buccal class II furcation defects. *J Periodontol* 1993;64(10):925-33.
 18. Choi SY, Nilveus RE, Minutello RD, Zimmerman GJ, Wikesjo UM. Effect of a collagen matrix on healing in periodontal fenestration defects in dogs. *J Periodontol* 1993;64(9):878-82.
 19. Van Swol RL, Ellinger R, Pfeifer J, Barton NE, Blumenthal N. Collagen membrane barrier therapy to guide regeneration in Class II furcations in humans. *J Periodontol* 1993;64(7):622-9.
 20. Gager AH, Schultz AJ. Treatment of periodontal defects with an absorbable membrane (polyglactin 910) with and without osseous grafting: case reports. *J Periodontol* 1991;62(4):276-83.
 21. Uddhakanok S, Solt CW, Mitchell JC, Foreman DW, Alger FA. Histologic evaluation of periodontal attachment apparatus following the insertion of a biodegradable copolymer barrier in humans. *J Periodontol* 1993;64(3):202-10.
 22. Warrer K, Karring T, Nyman S, Gogolewski S. Guided tissue regeneration using biodegradable membranes of polylactic acid or polyurethane. *J Clin Periodontol* 1992 ;19:633-40
 23. Brekke JH, Olson RA, Scully JR, Osbon DB. Influence of polylactic acid mesh on the incidence of localized osteitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983;56(3):240-5.
 24. Aoyagi M, Sasaki T, Ramamurthy NS, Golub LM. Tetracycline/ flurbiprofen combination therapy modulates bone remodeling in ovariectomized rats: preliminary observations. *Bone* 1996;19(6):629-35.
 25. Drury GI, Yukna RA. Histologic evaluation of combining tetracycline and allogeneic freeze-dried bone on bone regeneration in experimental defects in baboons. *J Periodontol* 1991;62(11):652-8.
 26. Yukna RA, Sepe WW. Clinical evaluation of localized periodontosis defects treated with freeze-dried bone allografts combined with local and systemic tetracyclines. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1982;2(5):8-21.
 27. Mabry TW, Yukna RA, Sepe WW. Freeze-dried bone allografts combined with tetracycline in the treatment of juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1985;56(2):74-81.
 28. Becker W, Becker BE, Prichard JF, Caffesse R, Rosenberg E, Gian-Grasso J. Root isolation for new attachment procedures. A surgical and suturing method: three case reports. *J Periodontol* 1987;58(12):819-26.
 29. Payne JM, Cobb CM, Rapley JW, Killoy WJ, Spencer P. Migration of human gingival fibroblasts over guided tissue regeneration barrier materials. *J Periodontol* 1996;67(3):236-44.
 30. Bragger U, Hammerle CH, Mombelli A, Burgin W, Lang NP. Remodelling of periodontal tissues adjacent to sites treated according to the principles of guided tissue regeneration(GTR). *J Clin Periodontol* 1992;19:615-24.
 31. Chung CP, Kim DK, Park YJ, Nam KH, Lee SJ. Biological effects of drug-loaded biodegradable membranes for guided bone regeneration. *J Periodontal Res* 1997;32:172-5.
 32. Park YJ, Ku Y, Chung CP, Lee SJ. Controlled release of platelet-derived growth factor from porous poly(L-lactide) membranes for guided

- tissue regeneration. *J Control Release* 1998;51:201-11.
33. Park YJ, Lee YM, Park SN, Lee JY, Ku Y, Chung CP, Lee SJ. Enhanced guided bone regeneration by controlled tetracycline release from poly(L-lactide) barrier membranes. *J Biomed Mater Res* 2000;51(3):391-7.
 34. 김동균, 이승진, 정종평. 약물함유 생체분해성 차폐막의 유도조직재생에 관한 연구. 대한치주과학회지 1995;25(2):192-209.
 35. 김동균, 구영, 이용무, 정종평. 수종의 생분해성 차폐막의 생체분해도 및 조직재생 유도능력에 관한 연구. 대한치주과학회지 1997;27(1):151-163.
 36. Barr RJ, Herten RJ, Graham JH. Rapid method for Tzanck preparations. *JAMA* 1977 14;237(11):1119-20.
 37. Reddi AH, Wientroub S, Muthukumar N. Biologic principles of bone induction. *Orthop Clin North Am* 1987;18(2):207-12.
 38. Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. *Clin Orthop* 1989;239:263-85.
 39. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg* 1988;81(5):672-6.
 40. Bab I, Passi-Even L, Gazit D, Sekeles E, Ashton BA, Peylan-Ramu N, Ziv I, Ulmansky M. Osteogenesis in in vivo diffusion chamber cultures of human marrow cells. *Bone Miner* 1988;4(4):373-86.
 41. Delmas PD, Malaval L. The proteins of bone. In: Mundy GR(ed). *Physiology and Pharmacology of Bone*. New York: Springer, 1993:673.
 42. Schenk RK, Willenegger HR. Histology of primary bone healing: modifications and limits of recovery of gaps in relation to extent of the defect. *Unfallheilkunde* 1977;80(5):155-60.
 43. Karring T, Nyman S, Lindhe J. Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. *J Clin Periodontol* 1980;7(2):96-105.
 44. Nyman S, Lindhe J, Karring T. Reattachment-new attachment. In: Lindhe J, ed. *Textbook of clinical periodontology*. 2nd edn. Copenhagen: Munksgaard, 1989:450-473.
 45. Jovanovic SA, Spiekermann H, Richter EJ. Bone regeneration around titanium dental implants in dehiscenced defect sites: a clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992;7(2):233-45.
 46. Hammerle CH, Schmid J, Olah AJ, Lang NP. Osseous healing of experimentally created defects in the calvaria of rabbits using guided bone regeneration. A pilot study. *Clin Oral Implants Res* 1992;3(3):144-7.
 47. Becker W, Becker BE, McGuire MK. Localized ridge augmentation using absorbable pins and e-PTFE barrier membranes: a new surgical technique. Case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1994;14(1):48-61.
 48. Caffesse RG, Dominguez LE, Nasjleti CE, Castelli WA, Morrison EC, Smith BA. Furcation defects in dogs treated by guided tissue regeneration (GTR). *J Periodontol* 1990;61(1):45-50.
 49. Galgut P, Pitrola R, Waite I, Doyle C, Smith R. Histological evaluation of biodegradable and non-degradable membranes placed transcutaneously in rats. *J Clin Periodontol* 1991;18(8):581-6.
 50. Gottlow J. Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results. *J Periodontol* 1993;64(11 Suppl):1157-65. Review.
 51. Dahlin C, Andersson L, Linde A. Bone augmentation at fenestrated implants by an osteopromotive membrane technique. A controlled clinical study. *Clin Oral Implants Res* 1991;2(4):159-65.
 52. Hench LL. Biomaterials. *Science* 1980,

- 23;208(4446):826-31. Review.
53. Somerman MJ, Foster RA, Vorsteg GM, Progebin K, Wynn RL. Effects of minocycline on fibroblast attachment and spreading. *J Periodontol Res* 1988;23(2):154-9.
 54. Golub LM, Ciancio S, Ramamamurthy NS, Leung M, McNamara TF. Low-dose doxycycline therapy: effect on gingival and crevicular fluid collagenase activity in humans. *J Periodontol Res* 1990;25(6):321-30.
 55. Golub LM, Goodson JM, Lee HM, Vidal AM, McNamara TF, Ramamurthy NS. Tetracyclines inhibit tissue collagenases. Effects of ingested low-dose and local delivery systems. *J Periodontol* 1985;56(11 Suppl):93-7.
 56. Goodson JM. Antimicrobial strategies for treatment of periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1994;5:142-68. Review.
 57. Sasaki T, Ramamurthy NS, Golub LM. Tetracycline administration increases collagen synthesis in osteoblasts of streptozotocin-induced diabetic rats: a quantitative autoradiographic study. *Calcif Tissue Int* 1992;50(5):411-9.
 58. Vest TM, Greenwell H, Drisko C, Wittwer JW, Bichara J, Yancey J, Goldsmith J, Rebitski G. The effect of postsurgical antibiotics and a bioabsorbable membrane on regenerative healing in Class II furcation defects. *J Periodontol* 1999;70(8):878-87.
 59. Hardwick R, Hayes BK, Flynn C. Devices for dentoalveolar regeneration: an up-to-date literature review. *J Periodontol* 1995;66(6):495-505. Review.
 60. Bichara J, Greenwell H, Drisko C, Wittwer JW, Vest TM, Yancey J, Goldsmith J, Rebitski G. The effect of postsurgical naproxen and a bioabsorbable membrane on osseous healing in intra-bony defects. *J Periodontol* 1999;70(8):869-77.
 61. Terranova VP, Franzetti LC, Hic S, DiFlorio RM, Lyall RM, Wikesjo UM, Baker PJ, Christersson LA, Genco RJ. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J Periodontol Res* 1986;21(4):330-7.
 62. 김원경, 최상묵, 한수부, 권영혁, 정종평, 이승진. 약물함유 생체분해성 차폐막의 세포 활성화도 및 골조직 유도재생 효과. *대한치주과학회지* 1997;27(1):129-150.
 63. Rifkin BR, Vernillo AT, Golub LM. Blocking periodontal disease progression by inhibiting tissue-destructive enzymes: a potential therapeutic role for tetracyclines and their chemically-modified analogs. *J Periodontol* 1993;64(8 Suppl):819-27. Review.
 64. Markman C, Fracalanza SE, Novaes AB Jr, Novaes AB. Slow release of tetracycline hydrochloride from a cellulose membrane used in guided tissue regeneration. *J Periodontol* 1995;66(11):978-83.
 65. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulo-facial nonunions. *Clin Orthop.* 1986;(205):299-308.

사진부도 설명

- Photo. 1. Microphotography of artificial defect at 4 weeks after defect formation and installation of drug-unloaded membrane($\times 20$, Multiple staining). The membrane(M) is intact and mild inflammatory infiltration was seen inside the defect, New bone was seen as red color.
- Photo. 2. Microphotography of artificial defect at 4 weeks after defect formation and installation of drug-unloaded membrane(M)($\times 40$, Multiple staining). New bone(NB) grows from the margin of the defect(OB; old bone) to center.
- Photo. 3. Microphotography of artificial defect at 4 weeks after defect formation and installation of tetracycline-loaded membrane($\times 20$, Multiple staining). The membrane(M) is intact and the new bone was more actively formed comparing to the drug-unloaded membrane group. Osteoinductive appearance was seen under the membrane.
- Photo. 4. Microphotography of artificial defect at 4 weeks after defect formation and installation of tetracycline-loaded membrane($\times 40$, Multiple staining). The membrane(M) is intact and the new bone(NB) was more actively formed comparing to the drug-unloaded membrane group. Osteoinductive red colored immature bone grows to the membrane, OB; old bone.
- Photo. 5. Microphotography of artificial defect at 5 weeks after defect formation and installation of drug-unloaded membrane($\times 20$, Multiple staining). The membrane(M) is still intact and the new bone was more dense than at 4 weeks of drug-unloaded membrane group.
- Photo. 6. Microphotography of artificial defect at 5 weeks after defect formation and installation of drug-unloaded membrane(M)($\times 40$, Multiple staining). NB; new bone, OB; old bone.
- Photo. 7. Microphotography of artificial defect at 5 weeks after defect formation and installation of tetracycline-loaded membrane($\times 20$, Multiple staining). The membrane(M) is intact and the new bone was more densely formed closing to the membrane comparing to the drug-unloaded membrane group.
- Photo. 8. Microphotography of artificial defect at 5 weeks after defect formation and installation of tetracycline-loaded membrane(M)($\times 40$, Multiple staining). New bone(NB) reached to the center of defect and more densely formed closing to the membrane comparing to the drug-unloaded membrane group. Osteoinductive appearance was more active than drug-unloaded membrane group. OB; old bone.
- Photo. 9. Microphotography of artificial defect at 6 weeks after defect formation and installation of drug-unloaded membrane($\times 20$, Multiple staining). The membrane(M) is still intact and the new bone was more dense than at 4 weeks and 5 weeks of drug-unloaded membrane group.
- Photo. 10. Microphotography of artificial defect at 6 weeks after defect formation and installation of drug-unloaded membrane($\times 40$, Multiple staining). The membrane(M) is still intact, NB; new bone, OB; old bone.
- Photo. 11. Microphotography of artificial defect at 6 weeks after defect formation and installation of tetracycline-loaded membrane($\times 20$, Multiple staining). The membrane(M) is intact and the new bone

was more densely formed closing to the membrane comparing to the drug-unloaded membrane group.

Photo. 12. Microphotography of artificial defect at 6 weeks after defect formation and installation of tetracycline-loaded membrane ($\times 40$, Multiple staining). New bone(NB) was more densely formed closing to the membrane(M) comparing to the drug-unloaded membrane group. OB; old bone.

사진부도 (I)

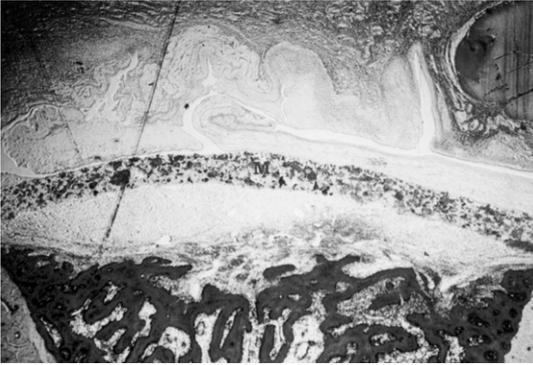


Photo 1

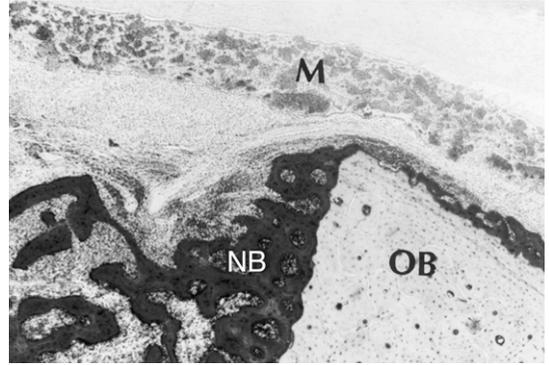


Photo 2

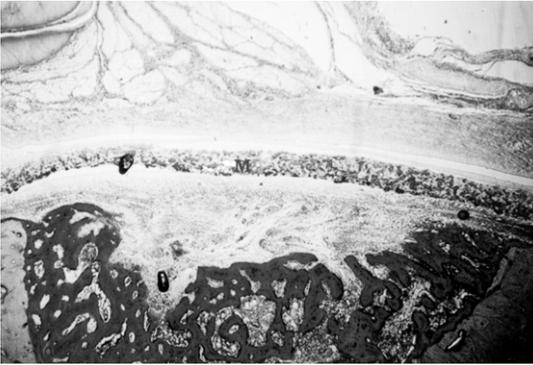


Photo 3

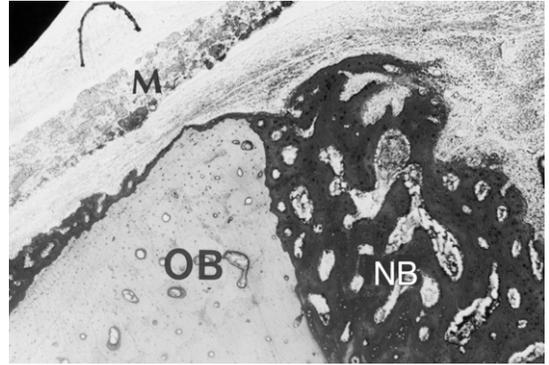


Photo 4

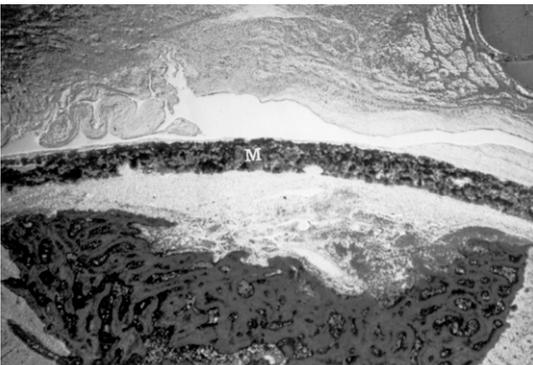


Photo 5

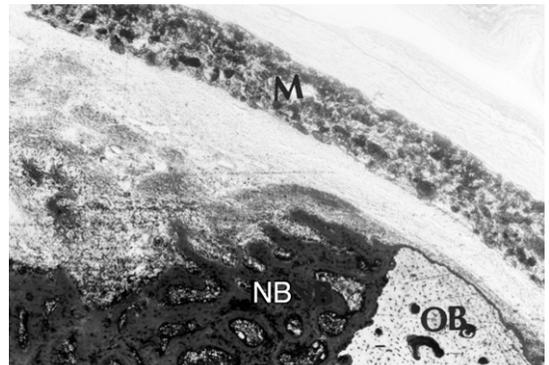


Photo 6

사진부도 (II)

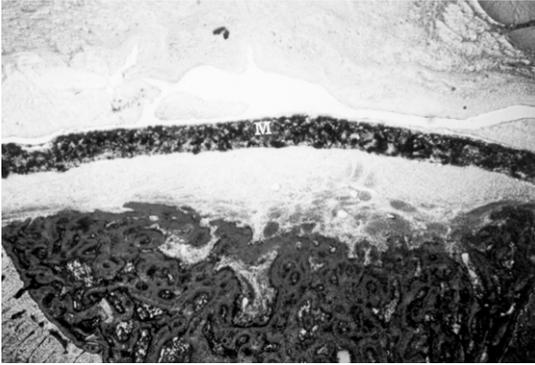


Photo 7

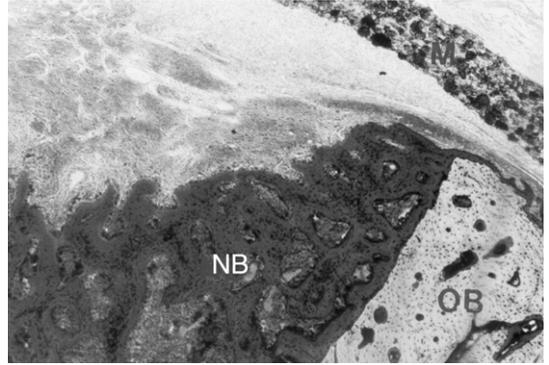


Photo 8

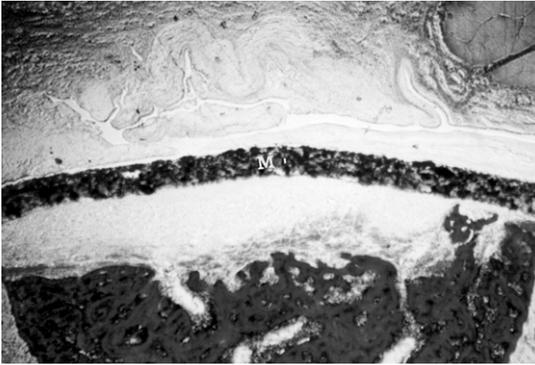


Photo 9

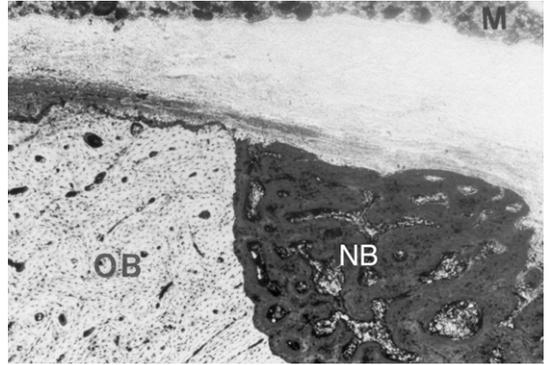


Photo 10

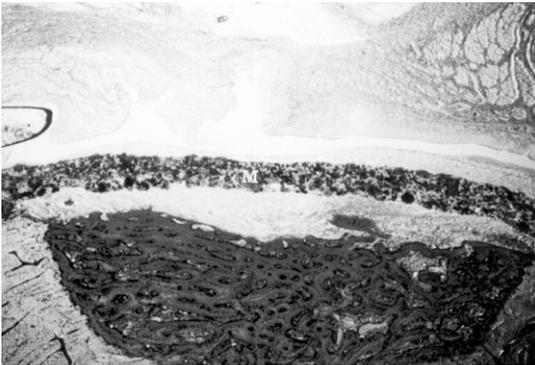


Photo 11

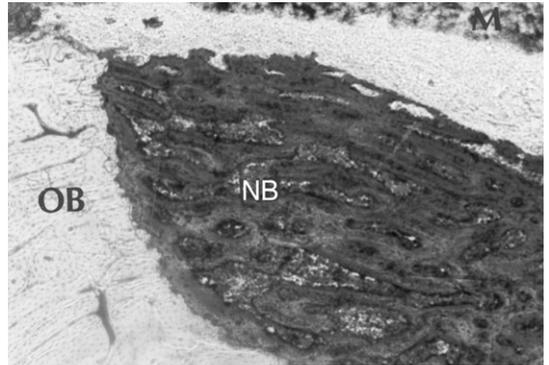


Photo 12

Effects of Tetracycline-loaded Poly(L-lactide) Barrier Membranes on Guided Bone Regeneration in Beagle Dog

Kwang-Soo Choi¹, Tak Kim¹, Dae-Seung Yang¹, Eun-Cheol Kim², Hyung-Keun You¹, Hyung-Shik Shin¹

¹ Department of Periodontology, School of Dentistry, Wonkwang University

² Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Wonkwang University

Application of membranes for guided tissue regeneration(GTR) have been confined to the subgingival barrier functions; however, many studies have provided evidence that some drugs, including tetracycline, initially can promote the growth of periodontal ligament or alveolar bone in periodontal therapy. Osseous regeneration in periodontal defects is increased by local administration of tetracycline due to its anti-collagenolytic effect, which enhances bone-forming ability via osteoblast cell chemotaxis and reduced bone resorption. The aim of this study was to evaluate effects of tetracycline loaded poly-L-lactide(PLLA) barrier membranes for guided bone regenerative potential. Tetracycline was incorporated into the PLLA membrane with the ratio 10% to PLLA by weight. Ability to guided bone regeneration of the membranes were tested by measuring new bone in the tibial defects($7 \times 10 \times 5 \text{ mm}^3$) of the beagle dog for 4, 5, and 6 weeks. In control, drug-unloaded PLLA membranes were used in same size of defect. In histologic finding of the defect area, a few inflammatory cells were observed in both groups. These membrane were not perforated by connective tissue and maintained their mechanical integrity for the barrier function for 4-6 weeks. New bone formation was greater in defects covered by tetracycline-loaded membrane than in defects covered by drug- unloaded membranes. In bone regeneration guiding potential test, tetracycline-loaded membrane was more effective than drug- unloaded membranes($p < 0.05$). These results suggest that tetracycline-loaded PLLA membranes potentially enhance guided bone regenerative efficacy and might be a useful barrier for GTR in periodontal treatment.

Key Words ; tetracycline-loaded PLLA membrane, guided bone regeneration, beagle dog