

# Minipig에서 외과적으로 형성한 일벽성 치주 결손부에 이식한 macroporous biphasic calcium phosphate (MBCP®)와 fluorohydroxyapatite(Algipore®)의 조직학적 평가

이중석, 채경준, 정의원, 김창성, 조규성, 채중규, 김종관, 최성호\*

연세대학교 치과대학 치주과학교실, 구강과학연구소

## I. 서론

골결손부에 적용되는 골이식재는 응고된 혈액의 안정화를 이루고 골형성에 관여하는 세포들이 분화되고 증식할 수 있는 골격을 형성해준다<sup>1)</sup>. 이러한 골이식재는 자가골, 동종골 이종골, 합성골로 분류할 수 있으며, 골결손부의 수복을 위한 가장 이상적인 이식재는 자가골이라 할 수 있다. 그러나 결손부가 큰 경우 자가골의 채득이 매우 제한적이며 수술 부위가 늘어나는 단점이 있다. 이를 극복하기 위해 많은 합성골이 개발되어, hydroxyapatite, calcium phosphate, calcium carbonate, calcium sulfate 등의 이식재들은 임상적으로 널리 사용되고 있다<sup>2-4)</sup>.

Ellegaard 등은 골결손부에서의 골이식재의 역할을 골형성(osteogenesis), 골유도(osteoinduction), 골전도(osteoconduction)로 설명하였다<sup>5,6)</sup>. 골형성이란 골아세포(osteoblast)를 포함하는 이식재가 직접 골을 형성하는 것을 의미하며, 골유도란 주위의 미분화세포들이 골아세포로 분화하게 하여 골을 형성하게 하는 것을 의미한다. 마지막으로 골전도는

골아세포의 분화나 증식에 관여하지 않고 골이 형성되는 공간을 유지하는 것을 의미한다.

현재까지 개발된 합성골은 모두 골전도 개념의 역할을 하는 것으로, 주위 골조직에서 기원한 골형성 세포들의 골격(scaffold)을 형성해준다. Hydroxyapatite는 화학적으로 골구성 성분과 비슷한 조성을 갖는 충전물(filler)로서, 골구조와 비슷한 골격을 형성하여 골형성을 촉진시킬 것으로 기대된다. 그러나 hydroxyapatite 자체가 흡수되지 않기 때문에 밀도가 매우 떨어지는 골이 형성된다. 이에 반해 tricalcium phosphate는 혈병을 안정화하는 골격을 제공하며, 골형성과 흡수가 동시에 일어나 형성된 골질은 비교적 우수하다. 그러나 흡수 속도가 빠르기 때문에 적절한 부피의 골을 재생하는 데에는 한계가 있었다<sup>7,8)</sup>. 최근의 연구에서는 hydroxyapatite의 공간유지 능력과 tricalcium phosphate의 신생골 형성능력을 동시에 얻기 위해 두 골이식재를 혼합(MBCP®)하여, 골형성면에서 뛰어난 결과를 보여주었다<sup>7-10)</sup>.

화학적으로 골구조와 유사하게 합성한 이식재 이외에도, 키토산과 같이 자연에서 볼 수 있는 물질들

\* 교신저자 : 최성호, 서울특별시 서대문구 신촌동 134 연세대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호 : 120-752 (전자우편 : shchoi726@yumc.yonsei.ac.kr)

\* 본 연구는 2005년도 연세대학교 치과대학 교내연구비에 의해 수행되었음

을 추출하여 골이식재를 만들기도 한다<sup>11-14)</sup>. 해조류에서 추출한 calcium carbonate를 변형시킨 fluorohydroxyapatite(Algipore<sup>®</sup>)는 10 $\mu$ m의 pore가 벌집 모양으로 연결되어 있는 양상을 가진다<sup>15,16)</sup>. 이러한 다공성 구조로 혈병을 안정적으로 유지하고, 골생성이 일어날 수 있도록 공간을 유지해준다. 최근의 동물 실험과 임상 연구에서 fluorohydroxyapatite는 상악동내에 매식되어 성공적인 결과를 보여주었다<sup>15-18)</sup>.

치과 영역에서, 골이식재는 상악동 이식술 외에도 치주 결손부, 임플란트 주위 골재생유도술, 구강암이나 외상 후의 재건술에 사용된다. 이 중에서도 구강 내 환경과 완전한 밀폐가 어려운 치주 결손부에서 사용된 대부분의 골이식재는 제한적인 결과를 보여준다<sup>19-26)</sup>. Caton 등에 의하면 치주 결손부에 골이식재를 적용한 경우 긴접합상피로 치유되는 것을 보고하였다<sup>27)</sup>. 외부 환경에 밀폐된 상악동 모델에서 성공적인 골형성 능력을 보여준 골이식재료는 치주 조직이 상실된 결손부위에 적용할 경우 조직학적으로 다른 치유 양상을 나타낼 수 있을 것이다.

본 연구는 minipig 하악 소구치 주위에 외과적으로 형성한 일벽성 치주 결손부에 적용한 macro-porous biphasic calcium phosphate와 fluorohydroxyapatite가 치주 조직 치유, 특히 골형성에 미치는 효과를 조직학적으로 평가해보고자 한다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 실험 동물

생후 18개월 이상(18개월 ~ 24개월)의 체중 35kg 내외의 수컷 minipig (Prestige World Genetics, Korea) 4마리를 사용하였다. 실험 시작 전 전신적 질환과 치주 조직의 염증은 없는 상태였다. 실험 동물의 선택과 관리, 외과적 수술 방법은 연세대학교 의과대학 실험동물위원회의 방침 및 법규를 준수하여 시행하였다. 실험 후 일주일의 실험 부위의 보호를 위하여 유동식(Prescription Diet Canine i/d,

Hill's Pet Nutrition, Inc. USA)을 섭취하게 하였다.

#### 2) 실험 재료

##### ① Macroporous biphasic calcium phosphate (MBCP<sup>®</sup>)

실험 재료로 사용된 골이식재 macroporous biphasic calcium phosphate(MBCP<sup>®</sup>, Biomatlante, France)는 입자 크기가 250 $\mu$ m~1000 $\mu$ m이며, hydroxyapatite와  $\beta$ -tricalcium phosphate가 60:40 질량비로 혼합된 재료이다. 250 $\mu$ m~500 $\mu$ m의 macropore와 10 $\mu$ m의 micropore를 동시에 갖는 구조이다

##### ② Fluorohydroxyapatite(Algipore<sup>®</sup>)

본 실험에 함께 사용된 골이식재 fluorohydroxyapatite(Frios<sup>®</sup> Algipore<sup>®</sup>, Friadent, Germany)는 Corallina offinalis라는 해조류를 가공하여 calcium carbonate를 fluorohydroxyapatite로 변환시킨 것이다. 가공전의 해조류의 미세 구조를 유지하고 있으며, 주사전자현미경으로 관찰 시 직경 10 $\mu$ m의 pore를 가지며 50~100 $\mu$ m의 격벽으로 둘러싸인 벌집 형태의 미세구조를 가지고 있다. 격벽에는 공간과 공간을 연결해주는 1~3 $\mu$ m의 microperforation이 관찰된다.

## 2. 실험방법

#### 1) 실험군 설정

하악 제 2소구치의 원심면과 제 4소구치의 근심면에 외과적으로 형성된 1벽성 치주 골내결손부에 MBCP<sup>®</sup>를 이식한 군을 제1 실험군으로 설정하였으며, Algipore<sup>®</sup>를 이식한 군을 제2 실험군으로 하였다. 결손부에 치은박리수술만 시행하여 봉합한 부위를 대조군으로 설정하였다.

#### 2) 치조골 결손부 형성 및 외과적 처치

모든 외과적 술식은 전신 마취 하에서 시행되었다. Atropin(0.04 mg/kg; Kwangmyung Pharmaceutical Ind. Co. Ltd., Seoul, Korea)을 혈관 주사(IV)하고, xylazine(Rompun, Bayer Korea Co., Seoul,

Korea)과 ketamin(Ketara, Yuhan Co., Seoul, Korea)을 근육 주사하여 마취전처치 하였으며, 흡입 마취(Gerolan, Choongwae Pharmaceutical Co., Seoul, Korea)를 시행하였다. 수술부위에는 lido-caine(2% 염산리도카인-에피네프린, 1.8mm, Yuhan Co., Seoul, Korea)으로 침윤마취를 시행하였다.

하악 좌우 제1,3 소구치를 발거하고 8주간 자연 치유되기를 기다렸다. 발치 후 8주째에 협설측 판막을 형성, 거상한 후 제2 소구치의 원심면과 제4 소구치의 근심면에 CEJ에서부터 4mm깊이 및 4mm거리 골내낭을 외과적으로 형성하였다(Figure 1). 소구치 사이 거리가 짧은 개체에서는 제2 소구치와 제4 소구치의 근심면에 골내낭을 형성하였다. 세심한 치근 활택술 후 4mm하방의 골내낭 기저부의 치근 표면에 참고 표시(reference point)를  $\frac{1}{4}$  round bur로 형성하였다. 각 결손 부위에 MBCP®와 Algipore®를 이식하고, 나머지 한 곳에는 아무것도 처리하지 않는다(Figure 1). 그 후 판막을 당겨서 위치시킨 후 흡수성 봉합사(Vicryl 5.0 Polyglactin 910, Ethicon, Johnson & Johnson)로 봉합해준다. 수술 직후에 항생제를 근육 주사로 투약한 후, 수술 부위의 보호를 위하여 육안적 창상 치유가 완료될 때까지 유동식을 섭취하도록 한다.

### 3) 조직학적 관찰

실험 후 8주째에 실험 동물을 sodium pento-barbital을 혈관내 주사하여 희생시킨 후, 실험 부위의 치아를 포함한 block section을 시행하여 생리 식염수로 깨끗이 씻은 후 10% buffered formalin에 10일 이상 고정하였다. 다시 생리 식염수로 깨끗이

씻어낸 후 5% nitric acid로 2주간 탈회시켜 parafin에 포매하였다. 치수의 위치를 기준으로 치아의 중심부라 여겨지는 부분에서 4 $\mu$ m두께로 근원심 방향의 조직 슬라이드를 제작하였으며, 80 $\mu$ m간격으로 네 부위에서 각각 네 장의 슬라이드를 제작하였다.

제작된 조직 슬라이드는 Hematoxylin-Eosin 염색한 후 광학 현미경(Olympus Multiview microscope BH2, Japan)으로 관찰하였다. 골내낭 내의 기존골과 이식재의 반응과 흡수상태, 염증세포의 침윤, 치주 조직의 조직학적 반응을 관찰하였다.

## III. 결과

### 1. 임상적 관찰

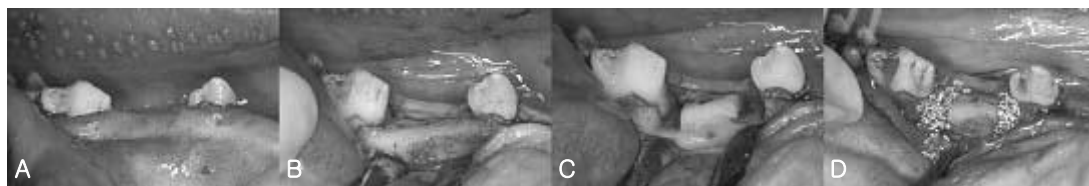
한 마리를 제외한 모든 군(대조군, 제1 실험군, 제2 실험군)의 개체에서 염증 증상없이 건강한 색조와 치은 모양이 관찰되었다. 치은은 치근단측으로 약간 퇴축된 것이 관찰되었다.

4주째 관찰 시, 한 마리에서 MBCP®를 이식한 제2 소구치의 결손부에서 치은의 발적과 부종이 발견되었으며, 1에서 2정도의 치아동요도를 보이고 있었다. 동일 개체의 Algipore®를 이식한 제2 소구치의 결손부는 치은의 심한 부종과 함께 치주 농양이 형성되어 실험에서 제외시켰다.

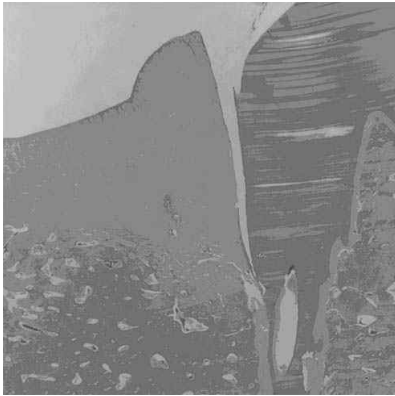
### 2. 조직학적 관찰

#### 1) 대조군(치은박리수술)

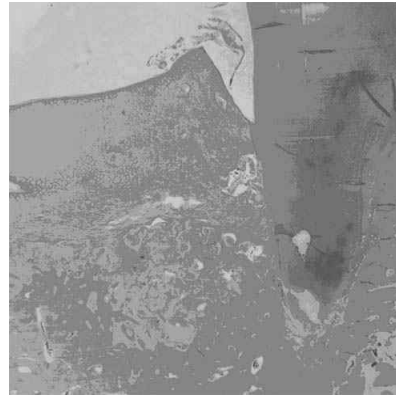
결손부 내의 신생골 형성은 거의 관찰되지 않았으며, 치조골 주위에서 조골 세포나 파골 세포는 제한



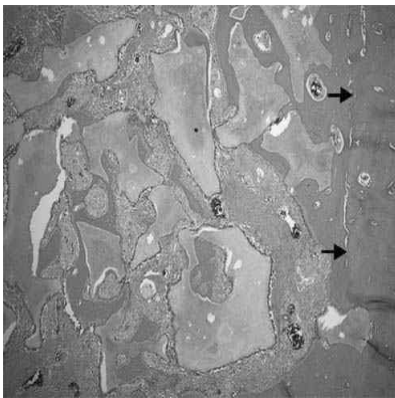
**Figure 1.** Clinical photographs of surgical procedures. A: 8 weeks after extraction. B: After flap elevation. C: After defect induction. D: Application of bone graft materials. Algipore in distal defect of 2nd premolar and MBCP in mesial defect of 4th premolar.



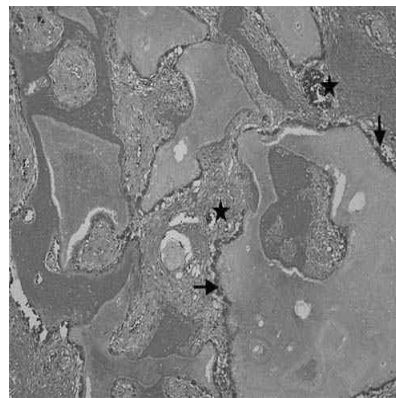
**Figure 2.** Histological view of control group (X10, H-E)



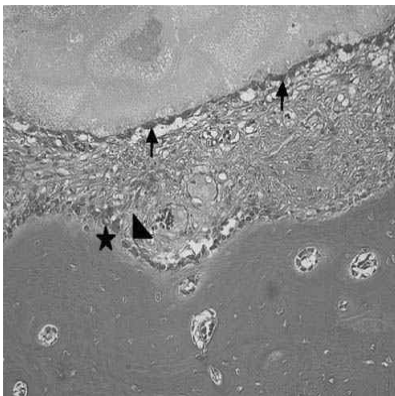
**Figure 3.** Histological view of MBCP group (X10, H-E)



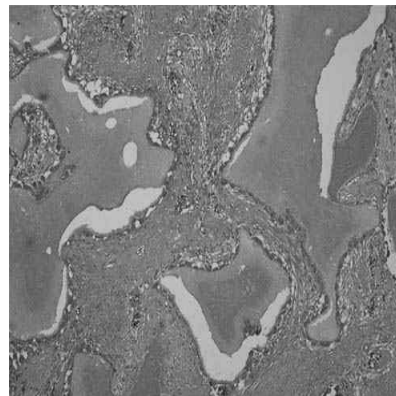
**Figure 4.** New bone formation and reversal line(arrows) were observed in defect received MBCP. (X 50, H-E)



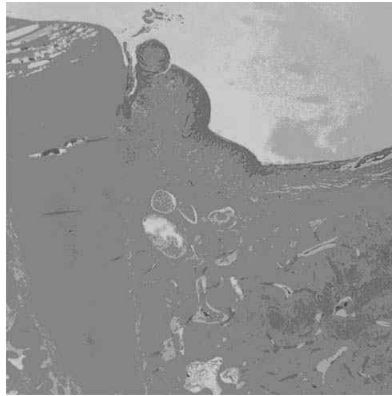
**Figure 5.** Woven bone and connective tissue which included osteoclasts(arrows), osteoblasts and vessels (pentagrams) were observed around MBCP graft material. (X 100, H-E)



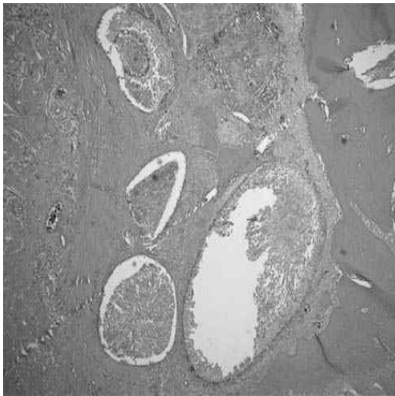
**Figure 6.** Osteoclasts(arrows) in a row were observed in contact with MBCP graft material. Osteoid layer(pentagram) and osteoblasts (arrow head) were observed around newly formed woven bone. (X 200, H-E)



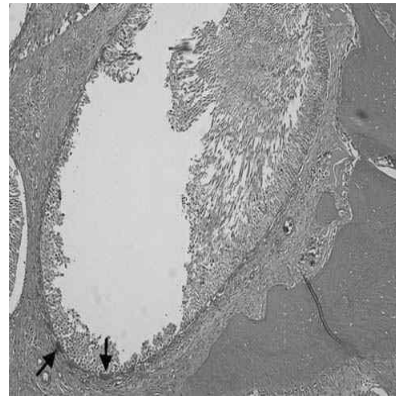
**Figure 7.** MBCP graft materials far from parental bone. Osteoclasts were observed around graft material. (X 100, H-E)



**Figure 8.** Histological view of Algipore group (X10, H-E)



**Figure 9.** Algipore materials encapsulated with connective tissue and limited new bone formation were observed. (X 50, H-E)



**Figure 10.** Osteoclasts (arrow) in a row were observed in contact with Algipore material. (X 100, H-E)

적으로 발견되었으나 극히 부분적인 골에 국한되어 배열되어 있었다. 제1 실험군과 제2 실험군에서 발견되던 치아 장축을 따라 상부에 침윤되었던 염증 세포의 수는 다소 적은 양이 관찰되었다.

## 2) 제1 실험군(MBCP® 이식)

외과적으로 형성한 결손부내의 치조골 상방으로, 흡수되고 있는 MBCP® 입자와 입자 주위에 새로 형성된 미성숙 신생골이 관찰된다. 결손부의 바닥과 신생골 사이의 경계가 명확히 관찰되며, 이식재 주위는 신생골과 결합조직으로 둘러싸여 있다(Figure 3,4). 바닥과 인접한 MBCP® 입자는 신생골과 직접적으로 접촉한 상태로 둘러싸여 있으며, 이 부위의 이식재 주위에는 파골세포나 조골세포 등은 관찰되

지 않는다(Figure 4). 그 상방에서 관찰되는 이식재 주위에는 다수의 미분화 세포들과 혈관이 존재하는 성긴 결합조직이 관찰되며, 약간의 신생골이 이식재 주위와 결합 조직내에서 관찰된다(Figure 5). 결합 조직층과 직접적으로 접촉되어있는 MBCP® 이식재 옆에는 파골세포로 추정되는 거대다핵세포들이 일렬로 배열되어 있으며, 신생골의 말단 부위는 덜 붉게 염색된 층(osteoid)이 존재하며 그 옆으로 조골세포들이 일렬로 배열되어 있다(Figure 5,6). 결손부 상부의 MBCP® 이식재는 다량의 파골세포들이 일렬로 배열되어 있으며, 주위에 신생골 형성의 흔적은 찾을 수 없었다(Figure 7).

## 3) 제2 실험군(Algipore® 이식)

관찰된 실험 부위 내의 이식재는 치조골 상방의 결합 조직 내에 둘러싸여 위치하며, 제한적인 신생골의 형성이 발견되었다(Figure 8). 이식재 입자 사이에서 매우 적은 양의 신생골이 발견되었으나, 신생골 주위에서는 조골 세포나 파골 세포 등은 관찰되지 않았다(Figure 9). 주사전자현미경에서 관찰되던 벌집 모양의 미세 구조가 조직 슬라이드에서 관찰되며 micropore 내에는 혈병과 결합 조직으로 채워져 있는 것이 관찰되었다. 또한 이식재 주위와 내부에서 다수의 파골 세포들이 관찰되었으며, 주위에서 발견된 파골 세포들은 일렬로 배열되어 이식재의 외부를 둘러싸고 있는 모양이었다(Figure 10). 이식재와 인접한 결손부의 바닥부위에서 일렬로 정렬된 조골 세포들이 부분적으로 관찰되었다. 이 부위의 신생골 말단 부위는 덜 붉게 염색된 osteoid층이 관찰되며 이 주위를 조골 세포들이 둘러싸고 있었다.

#### IV. 고안

치주 질환에 의해 수직적으로 파괴된 부위에 골이식재를 적용하는 것은 여러 치료 방법 중에 하나로, 오랜 시간 동안 임상적으로 이용되었다. 이러한 골이식재는 치주 결손 이외에도 구강악안면 재건술이나 치과 임플란트 영역에서도 널리 쓰이며, 그 종류를 자가골, 동종골, 이종골, 합성골로 분류할 수 있다. 자가골은 모든 영역에서 가장 이상적인 치료 방법으로 알려져 있으나, 구강악안면 영역이나 결손부가 큰 임플란트 치료 영역에서는 채취량의 한계와 채취 부위의 부가적인 수술이라는 단점을 갖기도 한다. 또한 최근의 동물 실험과 임상 연구에서는 자가골 이식시 치근 흡수나 치근 강직 등의 부작용도 보고된 바 있다<sup>28-30)</sup>.

이러한 자가골의 한계를 극복하기 위해 최근에는 이종골과 합성골의 연구와 개발이 활발하게 진행되고 있다. 일반적으로 골전도성만을 갖는 합성골은 아직까지 자가골에 비해 골재생능력이 떨어지는 것으로 알려져 있으나, 최근의 상악동 거상 모델 연구에서는 자가골을 이식한 경우와 거의 유사한 결과를

보여주고 있다<sup>31,32)</sup>. 또한 최근의 성장인자에 관한 연구들을 통해 합성골의 골전도성과 함께 골재생능력의 보완 가능성을 보고하고 있다<sup>33)</sup>.

치주 결손부에 이식된 골이식재는 치주 치유가 일어나는 동안 미분화 세포들이 이주하고 분화, 증진할 수 있는 공간을 유지해주는 역할을 할 것이다. 즉, 치주 치유가 일어나는 동안 결손부를 안정적으로 유지해줄 수 있는 골이식재를 통해 더 좋은 치주 조직 치유를 기대할 수 있을 것으로 생각된다. 이에 본 연구는 상용화되어 사용되고 있는 골이식재중, MBCP<sup>®</sup>와 Algipore<sup>®</sup>를 적용하여 조직학적으로 치유양상을 관찰하여 평가해보고자 하였다.

본 연구에서는, 골이식재의 치주 결손 치유에 대한 효과를 비교하기 위하여 minipig의 일벽성 치주 결손 모델을 사용하였다. 이전의 연구들에서 여러 가지 치주 재생 치료와 재료에 대한 평가를 위해 성견 1벽성 치주 결손 모델을 사용하였으며<sup>11-13,34-36)</sup>, 치주 결손의 치유는 결손 부위를 둘러싼 잔존 골벽의 수에 따라 결정된다고 알려져 있다<sup>34)</sup>. 결손부의 치유는 남아있는 벽에 의해 유지되는 혈병의 공간에서 일어나며, 남아있는 골벽에서 기인한 세포들에 의해 일어나기 때문이다. 본 연구에서 사용된 일벽성 결손 모델은 숙주의 골벽에서 기인하는 치주 재생 결정 인자들을 최소화하여, 재생 술식이나 재료의 특성을 평가할 수 있었다.

본 연구 모델에 이식된 MBCP<sup>®</sup>는 대조군에 비해 비교적 더 많은 신생골 형성이 관찰되었으며, 이식재 사이에 형성된 신생골은 조골 세포들로 둘러싸여 진행되고 있는 상태를 알 수 있었다. 기존골에 인접한 부분의 이식재는 신생골에 직접 접촉 상태로 주위에는 파골 세포나 조골 세포는 관찰되지 않는 것으로 보아 신생골 형성 과정이 마무리되고 있는 것으로 생각된다. 기존골과 약간 떨어진 위치의 MBCP<sup>®</sup> 이식재는 다수의 혈관과 신생골이 관찰되는 결합 조직층으로 둘러싸여 있다. 이 부위의 이식재는 파골 세포로 둘러싸여 흡수가 진행되고 있으며 신생골 주위의 osteoid와 조골 세포의 존재로 보아 신생골 형성이 활발하게 이루어지고 있음을 예상할

수 있다. 장기적으로 이 결손부를 관찰한다면 현재 신생골 형성이 진행중인 결합 조직층도 신생골로 채워질 것으로 예상된다.

이전의 골결손부와 치주 조직 결손부에서 biphasic calcium phosphate(BCP)를 이식한 연구들에서도 이식재 주위의 신생골 형성과 신부착에 대해 보고한 바 있다. 성견 모델의 동물 실험과 임상 실험에서 장골 결손부에 BCP를 이식하여 조골세포를 포함한 신생골 형성을 보고하였다<sup>8,37)</sup>. Daculsi 등<sup>8)</sup>은 이식재 입자 주위에서 피질골의 형성을 관찰하였으며 입자의 미세다공성 내부에서 소주골(trabecular bone)의 형성을 관찰하였다. 몇몇 연구에서는 BCP를 치주 조직 결손부에 적용하여 신생골 형성과 신부착을 증진시키는 결과를 보고하였다<sup>9, 38-40)</sup>. Nery 등<sup>9)</sup>은 치주 결손부에 HA와 TCP의 비율이 다양한 BCP를 적용하여, HA가 높은 비율일수록 골전도성과 신부착 형성을 증진시키는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 사용된 MBCP<sup>®</sup>의 비율은 60:40 (HA:TCP)로서, 이전의 연구와 유사한 결과를 얻을 수 있었다.

이에 반하여 본 연구에서 치주 결손 부위에 이식된 Aligipore<sup>®</sup>는 제한적인 신생골 형성을 보였으며 이식재는 결합 조직으로 둘러싸여 있는 양상을 보였다. 조골 세포는 기존골의 끝부위에서 부분적으로 관찰되었으며, 이식재와 인접한 부위에서는 발견되지 않았다. 본 연구의 결과와는 달리, 이전의 연구에서 상악동내에 사용된 Aligipore<sup>®</sup>를 조직학적으로 관찰 하였을 때 이식재 사이와 미세격자 내부에 신생골이 형성되는 것을 관찰할 수 있었다<sup>15-17)</sup>. 상악동 증강술에 사용된 Aligipore<sup>®</sup>이식재 임상 연구에서 7개월 후 조직학적 관찰시, 23%의 신생골과 33%의 골수, 44%의 잔존 이식재를 보고하였다<sup>16)</sup>. 상악동이라는 폐쇄된 공간에서 Aligipore<sup>®</sup>는 혈병을 안정적으로 유지해 주는 골격으로서의 역할은 가능했지만, 구강내 환경과 인접해 있는 치주 결손부에서는 혈병과 공간을 안정적으로 유지하지 못하였기 때문에 이러한 결과를 초래한 것으로 생각된다.

이번 치주 결손 연구 모델에서는 MBCP<sup>®</sup>가 Aligipore<sup>®</sup>

에 비해 치주 결손부에서 신생골 형성을 더 증진시킨 것으로 관찰되었다. 최근 연구에 의하면 골형성을 증진시키기 위해 이식재는 미세다공성(microporous) 표면과 거시다공성(macroporous) 구조가 필요하다고 보고하고 있다<sup>41,42)</sup>. Gauthier 등<sup>43)</sup>은 골이식재 입자의 거시다공성 구조가 골재생에 긍정적인 효과를 낸다고 주장하였으며, Yuan 등<sup>44)</sup>은 거시다공성 구조와 함께, 그 내부의 미세다공성 구조가 골형성 과정에 영향을 미치는 성장 인자들의 흡착과 함입을 증가시켜 국소적으로 골재생을 증진시킨다고 보고하였다. 이와 관련하여 Daculsi 등<sup>7,8)</sup>은 체내에서 BCP가 분해되면서 체액으로 방출된 이온이 국소적으로 고농도 현상을 유발하여 이식재 표면에 생물학적 아파타이트층이 침전되어 조골세포의 부착을 증진시킨다고 설명하였다. 상기의 연구 결과에서 제안된 MBCP<sup>®</sup>의 구조적인 장점으로 인하여 Aligipore<sup>®</sup>에 비하여 효과적인 골재생을 유도할 수 있었을 것으로 사료된다.

본 실험에서 사용된 치주 결손 모델의 경우는 구강외의 다른 부위와 비교해서 재생 효과가 좋지 못하다. 이러한 점은 세균이 많은 구강내 환경과의 연관성으로 인한 것으로 사료되며 이에 따라 철저한 구강 위생 관리가 선행되지 않으면 신부착을 기대하기 힘들 것이다. 이전의 연구에서 치주 결손부에 적용한 자가골 이식은 다른 부위에 비해 좋은 효과를 보여주지 못하였으며<sup>35)</sup>, 동물 실험과 임상 연구에서 자가골 이식시 치근 흡수나 치근 강직 등의 부작용을 보고한 바 있다<sup>28-30)</sup>. Caton 등<sup>27)</sup>은 8마리의 원숭이 모델에서 치주관막수술, FDBA 이식,  $\beta$ -TCP 이식, 치주소파술 및 유지치료, 네 가지 군으로 나누어 조직학적으로 평가하였다. 결과적으로 네 가지 군에서 모두 긴접합상피로 치유되었으며 신부착은 일어나지 않았다. 이러한 연구 결과에 바탕하여 최근의 연구들은 골전도성의 골이식재를 성장 인자의 운반체로서 사용하여 성공적인 결과를 보고하고 있다. 본 실험에서 사용된 MBCP<sup>®</sup>와 같은 골전도성이 안정적인 골이식재는 치주 결손부에서 성장 인자의 운반체로도 사용될 수 있을 것이라 기대된다.

본 실험 모델의 결과에서 MBCP<sup>®</sup>는 상대적으로 우수한 골재생 능력을 관찰할 수 있었다. 그러나 연구에서 사용된 minipig 모델의 경우 성견과 달리 치근의 길이가 매우 길고 얇으며, 만곡이 심하여 전 치아에 걸친 슬라이드 제작이 어려웠기 때문에 조직계측학적 분석은 어려웠다. 또한 실험 동물의 특성상 철저한 구강 위생을 관리해 주기가 매우 어려웠고 치근의 변이가 심하여 치주 결손 모델에 치근 이개부가 노출된 경우도 포함되었기 때문에 신부착의 관점에서 골이식재를 평가하기 어려웠다. 그러므로 치주 재생 효과를 관찰하기 위해서는 조직계측학적 분석이 가능한 모델의 개발이 필요하리라 사료된다.

## V. 결론

치주 질환에 의해 파괴된 치주 결손부에 적용하는 골이식재는 조직재생유도인자나 재생술식의 공간을 유지해주고 숙주의 세포들이 유입되어 재생을 도모할 수 있는 골격을 형성해주기 위해 사용된다. 본 연구는 minipig 일백성 치주 결손 모델에서 macro-porous biphasic calcium phosphate(MBCP<sup>®</sup>)와 fluorohydroxyapatite(Algipore<sup>®</sup>)를 평가하기 위해 신생골 형성과 이식재의 반응을 조직학적으로 평가하였으며, 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 치은박리소파술만 시행한 대조군에서는 매우 제한적인 신생골 형성이 관찰되었다.
2. Macroporous biphasic calcium phosphate (MBCP<sup>®</sup>)가 이식된 치주 결손 모델에서 상대적으로 많은 신생골 형성을 관찰할 수 있었으며, 신생골과 이식재, 결합 조직이 혼재되어 있는 양상이 관찰되었다.
3. Macroporous biphasic calcium phosphate (MBCP<sup>®</sup>) 입자와 신생골 주위의 결합 조직에서 다수의 조골 세포와 파골 세포, 혈관이 관찰되었으며, 이는 신생골 형성이 진행중인 것으로 사료된다.
4. Fluorohydroxyapatite(Algipore<sup>®</sup>) 가 이식된

치주 결손 모델에서 제한적인 신생골 형성과 결합 조직에 둘러싸인 이식재 입자를 관찰할 수 있었다.

5. 이식된 fluorohydroxyapatite(Algipore<sup>®</sup>) 입자 주위에서 파골 세포의 배열을 관찰할 수 있었으나 조골 세포는 제한적으로 관찰되었다.

본 연구의 minipig 일백성 치주 결손에서의 제한적인 결과로부터 macroporous biphasic calcium phosphate 와 fluorohydroxyapatite 모두 이식재 주위에 신생골 형성을 관찰하여 효과적인 골전도성 이식재로서의 가능성을 관찰할 수 있었으며, macroporous biphasic calcium phosphate가 fluorohydroxyapatite 에 비해 조직학적으로 더 우수한 신생골 형성을 보여 치주 재생 치료 영역에서의 임상적 사용 가능성을 보여주었다. 이를 확인하기 위하여 장기간의 연구와 조직계측학적 모델의 개발이 필요하리라 사료된다.

## VI. 참고문헌

1. Taba M, Jr., Jin Q, Sugai JV, Giannobile WV. Current concepts in periodontal bioengineering. Orthod Craniofac Res 2005; 8:292-302.
2. Kim CK, Chai JK, Cho KS et al. Periodontal repair in intrabony defects treated with a calcium sulfate implant and calcium sulfate barrier. J Periodontol 1998;69:1317-24.
3. Kim CK, Choi EJ, Cho KS, Chai JK, Wikesjo UM. Periodontal repair in intrabony defects treated with a calcium carbonate implant and guided tissue regeneration. J Periodontol 1996;67:1301-6.
4. Kim CK, Kim HY, Chai JK et al. Effect of a calcium sulfate implant with calcium sulfate barrier on periodontal healing in



- 3-wall intrabony defects in dogs. *J Periodontol* 1998;69:982–8.
5. Ellegaard B, Karring T, Listgarten M, Loe H. New attachment after treatment of interradicular lesions. *J Periodontol* 1973;44:209–17.
6. Ellegaard B, Karring T, Loe H. The fate of vital and devitalized bone grafts in the healing of interradicular lesions. *J Periodontol Res* 1975;10:88–97.
7. Daculsi G, LeGeros RZ, Nery E, Lynch K, Kerebel B. Transformation of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: ultrastructural and physicochemical characterization. *J Biomed Mater Res* 1989;23:883–94.
8. Daculsi G, Passuti N, Martin S et al. Macroporous calcium phosphate ceramic for long bone surgery in humans and dogs. Clinical and histological study. *J Biomed Mater Res* 1990;24:379–96.
9. Nery EB, LeGeros RZ, Lynch KL, Lee K. Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/beta TCP in periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1992;63:729–35.
10. Klein CP, Driessen AA, de Groot K, van den Hooff A. Biodegradation behavior of various calcium phosphate materials in bone tissue. *J Biomed Mater Res* 1983;17:769–84.
11. Park JS, Choi SH, Moon IS et al. Eight-week histological analysis on the effect of chitosan on surgically created one-wall intrabony defects in beagle dogs. *J Clin Periodontol* 2003;30:443–53.
12. Yeo YJ, Jeon DW, Kim CS et al. Effects of chitosan nonwoven membrane on periodontal healing of surgically created one-wall intrabony defects in beagle dogs. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2005;72:86–93.
13. Kim HY, Kim CS, Jhon GJ et al. The effect of safflower seed extract on periodontal healing of 1-wall intrabony defects in beagle dogs. *J Periodontol* 2002;73:1457–66.
14. Pang EK, Paik JW, Kim SK et al. Effects of chitosan on human periodontal ligament fibroblasts in vitro and on bone formation in rat calvarial defects. *J Periodontol* 2005;76:1526–33.
15. Ewers R. Maxilla sinus grafting with marine algae derived bone forming material: a clinical report of long-term results. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63:1712–23.
16. Schopper C, Moser D, Sabbas A et al. The fluorohydroxyapatite (FHA) FRIOS Aligpore is a suitable biomaterial for the reconstruction of severely atrophic human maxillae. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:743–9.
17. Klongnoi B, Rupprecht S, Kessler P et al. Lack of beneficial effects of platelet-rich plasma on sinus augmentation using a fluorohydroxyapatite or autogenous bone: an explorative study. *J Clin Periodontol* 2006;33:500–9.
18. Simunek A, Cierny M, Kopecka D et al. The sinus lift with phycogenic bone substitute. A histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res* 2005;16:342–8.
19. Altieri ET, Reeve CM, Sheridan PJ. Lyophilized bone allografts in periodontal intraosseous defects. *J Periodontol* 1979;50:510–9.
20. Ellegaard B, Karring T, Davies R, Loe H. New attachment after treatment of intrabony defects in monkeys. *J Periodontol* 1974;45:368–77.

21. Coverly L, Toto P, Gargiulo A. Osseous coagulum: a histologic evaluation. *J Periodontol* 1975;46:596–602.
22. Caplanis N, Lee MB, Zimmerman GJ, Selvig KA, Wikesjo UM. Effect of allogeneic freeze-dried demineralized bone matrix on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment in dogs. *J Clin Periodontol* 1998;25:801–6.
23. Froum SJ, Kushner L, Scopp IW, Stahl SS. Human clinical and histologic responses to Durapatite implants in intraosseous lesions. Case reports. *J Periodontol* 1982;53:719–25.
24. Sapkos SW. The use of Periograf in periodontal defects. Histologic findings. *J Periodontol* 1986;57:7–13.
25. Dragoo MR, Kaldahl WB. Clinical and histological evaluation of alloplasts and allografts in regenerative periodontal surgery in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1983;3:8–29.
26. Saffar JL, Colombier ML, Detienville R. Bone formation in tricalcium phosphate-filled periodontal intrabony lesions. Histological observations in humans. *J Periodontol* 1990;61:209–16.
27. Caton J, Nyman S, Zander H. Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. *J Clin Periodontol* 1980;7:224–31.
28. Dragoo MR, Sullivan HC. A clinical and histological evaluation of autogenous iliac bone grafts in humans. II. External root resorption. *J Periodontol* 1973;44:614–25.
29. Renvert S, Garrett S, Shallhorn RG, Egelberg J. Healing after treatment of periodontal intraosseous defects. III. Effect of osseous grafting and citric acid conditioning. *J Clin Periodontol* 1985;12:441–55.
30. Shallhorn RG, Hiatt WH. Human allografts of iliac cancellous bone and marrow in periodontal osseous defects. II. Clinical observations. *J Periodontol* 1972;43:67–81.
31. Froum SJ, Tarnow DP, Wallace SS, Rohrer MD, Cho SC. Sinus floor elevation using anorganic bovine bone matrix (OsteoGraf/N) with and without autogenous bone: a clinical, histologic, radiographic, and histomorphometric analysis—Part 2 of an ongoing prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1998;18:528–43.
32. Hallman M, Sennerby L, Lundgren S. A clinical and histologic evaluation of implant integration in the posterior maxilla after sinus floor augmentation with autogenous bone, bovine hydroxyapatite, or a 20:80 mixture. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 2002;17:635–43.
33. Urist MR, Nilsson O, Rasmussen J et al. Bone regeneration under the influence of a bone morphogenetic protein (BMP) beta tricalcium phosphate (TCP) composite in skull trephine defects in dogs. *Clin Orthop Relat Res* 1987;214:295–304.
34. Kim CS, Choi SH, Chai JK et al. Periodontal repair in surgically created intrabony defects in dogs: influence of the number of bone walls on healing response. *J Periodontol* 2004;75:229–35.
35. Kim CS, Choi SH, Cho KS et al. Periodontal healing in one-wall intra-bony defects in dogs following implantation of autogenous bone or a coral-derived biomaterial. *J Clin Periodontol* 2005;32:583–9.
36. Song WS, Kim CS, Choi SH et al. The effects of a bioabsorbable barrier membrane

- containing safflower seed extracts on periodontal healing of 1-wall intrabony defects in beagle dogs. *J Periodontol* 2005;76:22–33.
37. Manjubala I, Sastry TP, Kumar RV. Bone in-growth induced by biphasic calcium phosphate ceramic in femoral defect of dogs. *J Biomater Appl* 2005;19:341–60.
  38. Nery EB, Eslami A, Van Swol RL. Biphasic calcium phosphate ceramic combined with fibrillar collagen with and without citric acid conditioning in the treatment of periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1990;61:166–72.
  39. Hashimoto-Uoshima M, Ishikawa I, Kinoshita A, Weng HT, Oda S. Clinical and histologic observation of replacement of biphasic calcium phosphate by bone tissue in monkeys. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1995;15:205–13.
  40. Ellinger RF, Nery EB, Lynch KL. Histological assessment of periodontal osseous defects following implantation of hydroxyapatite and biphasic calcium phosphate ceramics: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1986;6:22–33.
  41. Habibovic P, Yuan H, van der Valk CM et al. 3D microenvironment as essential element for osteoinduction by biomaterials. *Biomaterials* 2005;26:3565–75.
  42. Yuan H, Yang Z, Li Y et al. Osteoinduction by calcium phosphate biomaterials. *J Mater Sci Mater Med* 1998;9:723–6.
  43. Gauthier O, Bouler JM, Aguado E, Pilet P, Daculsi G. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. *Biomaterials* 1998;19:133–9.
  44. Yuan H, Kurashina K, de Bruijn JD et al. A preliminary study on osteoinduction of two kinds of calcium phosphate ceramics. *Biomaterials* 1999;20:1799–806.

## Histologic evaluation of macroporous biphasic calcium phosphate(MBCP<sup>®</sup>) and fluorohydroxyapatite(Algipore<sup>®</sup>) in surgically created 1-wall periodontal intrabony defects of minipigs

Jung-Seok Lee, Gyung-Joon Chae, Ui-Won Jung, Chang-Sung Kim, Kyoo-Sung Cho,  
Jung-Kiu Chai, Chong-Kwan Kim, Seong-Ho Choi

Department of Periodontology, Oral Science Research Center, College of Dentistry, Yonsei University

Periodontal regenerative therapy and tissue engineering on defects destructed by severe periodontitis need maintaining of space, which provides the environment for cell migration, proliferation and differentiation. Application of bone grafts may offer this environment in periodontal defects. This study evaluated bone graft materials, MBCP<sup>®</sup> and Algipore<sup>®</sup>, in surgically created 1-wall periodontal intrabony defects of minipigs by histological analysis. Critical sized(4mmX4mm), one wall periodontal intrabony defects were surgically produced at the proximal aspect of mandibular premolars in either right and left jaw quadrants in four minipigs. The control group was treated with debridement alone, and experimental group was treated with debridement and MBCP<sup>®</sup> and Algipore<sup>®</sup> application. The healing processes were histologically observed after 8 weeks and the results were as follows. 1. In the control group, limited new bone formation was observed. 2. In MBCP group, more new bone formation was observed compared to other groups. 3. Histologically, dispersed mixture of new bone, biomaterial particles and connective tissue were shown and osteoblasts, osteoclasts and new vessels were present in this area. 4. Defects with Algipore showed limited new bone formation and biomaterial particles capsulated by connective tissue. 5. Histologically, lots of osteoclasts were observed around the biomaterial but relatively small numbers of osteoblasts were shown. Within the limitation to this study protocol, MBCP<sup>®</sup> application in 1-wall intrabony defect enhanced new bone formation rather than Algipore<sup>®</sup> application.

---

**Key words** : periodontal intrabony defect, macroporous biphasic calcium phosphate, fluorohydroxyapatite