

# 무기인산염이 골재생에 미치는 효과에 대한 조직계측학적인 연구

이영석<sup>1</sup>, 박준봉<sup>1\*</sup>, 권영혁<sup>1</sup>, 허 익<sup>1</sup>, 정종혁<sup>1</sup>, 주성숙<sup>2</sup>

1. 경희대학교 치의학전문대학원 치주과학교실, 구강생물학연구소
2. 경희대학교 치의학전문대학원 구강해부학교실

## I. 서론

치조골 소실이 심한 경우 임플란트 식립을 가능하게 하거나 심미 보철 치료의 보다 좋은 결과를 얻기 위하여 시행되는 상실된 치조골재생술은 임상치의학 분야의 중요한 과제가 되었다. 골형성을 증가시키기 위한 술식들로는 성장인자를 이용한 골 형성<sup>1,2)</sup>, 골 이식재를 이용한 골유도 및 전도<sup>1,3)</sup>, 인위적인 골절에 의한 골신장술<sup>4,5)</sup>, 그리고 차폐막을 이용하는 골유도 재생술<sup>6,7)</sup> 등이 있다. 골재건을 위한 여러 가지 술식 중 골이식술 및 골유도재생술이 예견성이 높고 임상적용이 용이하여 일반적인 치료방법이 되었다.

골유도 재생술에 사용되는 차폐막이 갖추어야 할 조건은 인체에 조직 친화성이 있어야 하며 치은 결합조직의 세포유입을 차단할 수 있는 세포차단성이 있어야 하고 골재생에 관여하는 세포가 이주, 증식할 수 있는 재생공간을 확보하고 유지할 수 있는 물리적 성질이 갖추어야 한다<sup>10,13-15)</sup>. 현재 임상에서 사용되고 있는 차폐막은 비흡수성과 흡수성이 있으며, 술 후 예견성이 높고 조직유도 능력이 우수한 비

흡수성 차폐막이 널리 사용되고 있다. 골 결손부에 차폐막을 적용한 동물실험<sup>16)</sup>과 인체실험<sup>17)</sup>을 통하여 차폐막의 사용이 골 재생에 효과가 있음이 밝혀짐에 따라 골재생을 목적으로 한 골유도 재생술 이론이 발표되었다. 차폐막을 이용한 골 결손부에서의 골조직 재생에 관한 초기 연구는 Dahlin 등<sup>7)</sup>에 의하여 이루어졌으며, 실험동물의 인공적 골결손부에 차폐막의 사용 여부에 따라서 골 재생 정도가 크게 차이는 것을 발견하였다. 현재 임상적으로 치근단 골결손부, 치조제 증대술 그리고 임플란트와 관련된 여러 가지 형태의 골 결손부 등에 널리 이용되고 있다.

최근까지 신생골 형성을 위해 골 결손부 내부에 이식재나 골대체 물질의 충전이 시도되었고 현재에도 이상적 재료를 개발하기 위한 꾸준한 연구가 지속되고 있다. 아울러 골의 재생을 촉진할 수 있는 성장 인자를 포함한 여러 가지 물질 등이 연구되고 있다. 이러한 물질의 효과를 유지 발휘할 수 있도록 전달체의 개발 또한 꾸준히 연구되고 있다.

최근 시험관적 실험을 통하여 무기 인산염이 골아세포의 골형성 지표자로 알려진 osteopontin과 os-

\* 교신저자 : 박준봉, 서울시 강동구 상일동 149번지 경희대학교 동서신의학병원 치과병원, 134-837 (전자우편 : jbpark@khu.ac.kr)

\* 본 연구는 보건복지부 보건의료기술 진흥사업(03-PJH-PG1-CH08-0001)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

teocalcin의 발현을 증가시켜 골화능력 존재의 사실이 알려졌다<sup>18)</sup>. 또한 bisphosphonate가 파골기전을 억제하여 골다공증 치료에 응용하는 단계에 이르렀으며 동일 계열 무기 인산염의 임상응용 가능성이 더 높게 되었다. 백묘를 이용한 예비 동물실험에서 정 등<sup>19)</sup>은 무기인산염이 골재생 과정에 미치는 영향을 평가하기 위하여 웅성백묘 두개관에 일정 크기의 피질골을 제거한 후, 그 상방에 1%, 2%의 무기인산염에 침적한 탈단백우골을 채운 티타늄강화차폐막을 이용하여 골유도재생술을 시행하여 2%의 무기인산염에서 골재생을 확인하였다. 그러나 아직까지 가장 효과적인 농도를 밝히지 못하였으며 많은 선행들이 어떤 전달체가 체내에서 골재생 능력이 있는지에 대한 연구들이 진행되고 있는 실정이다<sup>20-27)</sup>.

이번 연구는 웅성백묘 두개관에 피질골을 제거하고 그 상방에 티타늄 강화 차폐막과 교원질, 그리고 무기 인산염을 이용하여 골유도재생술을 시행하고 새로 형성된 골을 조직계측학적으로 분석함으로써 무기인산염의 농도에 따라 골재생에 미치는 영향을 알아보고자 시행하였다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

차폐막으로는 티타늄강화차폐막(TR-9W, W.L. Gore & Associate. Inc, USA)을 사용하였다. 25×20mm크기의 티타늄강화차폐막을 내면이 가로 8mm, 세로 5mm, 높이 4mm인 직육면체로 만들어 필요한 공간을 확보할 수 있도록 하였다. 차폐막 내부에는 전달체로서 교원질(Colla Tape<sup>®</sup>, Sulzer Dental Inc. NJ, U.S.A)을 충진하였다. 무기 인산염으로는 Poly P75(Sodium polyphosphate, Sigma, St. Louis, MO, U.S.A)를 사용하였다.

티타늄강화차폐막 만을 사용한 군을 대조군(TG)으로, 1% 무기인산염에 침적한 교원질과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험 1군(TG + Col + P1), 2%의 무기인산염에 침적한 교원질과 티타늄강화차폐막

을 사용한 군을 실험 2군(TG + Col + P2), 4% 무기인산염에 침적한 교원질과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험 3군(TG + Col + P4)으로 분류하였다.

### 2. 연구대상

생후 6주된 평균체중 2.0kg의 웅성백묘(Newzealand white rabbit)를 각 군마다 2마리씩 8마리 사용하였으며 실험기간동안 고형사료(축협사료, 축산업협동조합, 한국)를 공급하였고 분리된 실내 사육실에서 사육하였다.

### 3. 연구방법

#### 1) 시술과정

실험동물에 0.2ml/kg의 졸레틸(Virbac, France)과 ketamine을 1:1로 혼합하여 0.5-1ml를 근육 주사하여 전신마취하고, 수술부위는 리도케인 2%(1:100,000 에피네프린, 광명, 한국)로 국소마취 하였다. 두개면 수술부위의 모발을 제거한 후 #15 수술도를 이용하여 시상방향으로 절개, 전층판막을 거상하였다. 시상 봉합선을 중심으로 좌우측으로 2mm 떨어진 부위에 차폐막 크기에 맞추어 라운드 카바이드 버(HP long #6)로 주수 하에 4mm × 8mm넓이로 두개관에 약 1-2mm깊이로 피질골을 제거하였다. 골내 출혈 확인 후 미리 직육면체 모양으로 구부린 티타늄 강화 차폐막 내부에 1, 2, 4% 농도의 무기인산염에 20분 동안 침적한 교원질 스폰지를 채우고 차폐막을 핀으로 고정하였다. 흡수성 봉합사(4-0 chromic gut, Ailee, U.S.A)를 이용하여 골막과 표피를 함께 봉합하였다.

#### 2) 술후 처치

세균감염을 방지하기 위하여 수술 당일과 술후 3일까지 Gentamycin(동화약품, 한국) 0.5ml 1%, Ketoprofen(유니 바이오테크, 한국) 0.2ml를 근육 주사 하였다.

### 3) 조직준비 및 분석

실험동물들은 수술 후 4, 8주에 각각 과량의 줄레틸을 근육주사하고 정맥을 통한 이산화탄소로 질식사시킨 후 두피를 거상하고 차폐막과 하방 두개골을 포함하는 조직시편을 절제하여 채득하였다.

시편을 4% paraformaldehyde 용액에 1주일간 고정한 후 비탈회조직표본 제작법에 따라 70% 알코올에 1일간 담가둔 다음, Villanueva bone stain 용액에 3일간 침적시키고 통법에 따라 에탄올에 단계별로 탈수시켰다. Methyl methacrylate monomer(MMA monomer, Junsei, Japan)를 침투시킨 시편을 MMA monomer, MMA polymer(Wako, Japan)와 benzoyl peroxide를 혼합하여 만든 레진으로 포매하였다. 시편은 경조직절단기(Maruto Co., Japan)를 이용하여 500 $\mu$ m 두께로 절단한 후, 경조직 연마기(Maruto Co., Japan)로 80 $\mu$ m의 절편을 얻어 광학현미경으로 조직학적 소견을 관찰하였다. 조직계측학적 분석을 위하여 Artixscan 4000ft(Microtek Co., U.S.A)를 이용하여 조직 슬라이드를 스캔한 후 컴퓨터에 연결된 TDI Scope Eye 프로그램(Techsan int Co., Korea)을 이용하여 시행하였다.

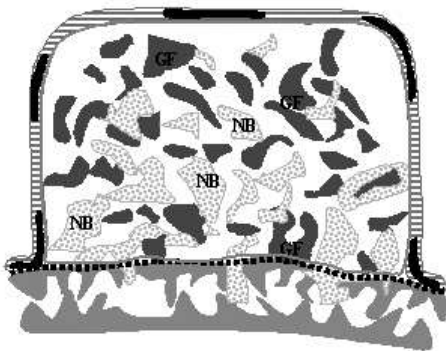


Figure 1. A schematic diagram used in histomorphologic analysis.

Dotted line below delineates the bone surface. The upper space created by the membrane contains graft material(GF) and newly formed bone(NB).

### 4. 조직계측학적 계측 방법

하방의 모식도처럼 신생골의 면적을 계측하였다. 신생골 형성률은 아래의 공식을 적용하여 계산하였다.

$$\text{New bone formation (\%)} = \frac{\text{Area of new bone formation (mm}^2\text{)}}{\text{Area of space created by the membrane (mm}^2\text{)}} \times 100$$

### 5. 통계학적 분석

각 기간에서 실험군들 간의 비교와 각 실험군의 기간별 비교는 One way ANOVA를 통해 유의차 검증을 하였고, 통계분석에 사용한 프로그램은 SPSS 13.0 for window였다.

## III. 연구 성적

### 1. 조직학적 소견

#### 1) 대조군 4주 소견(TG-4w)

핀 고정을 한 차폐막은 형성된 공간 유지가 잘되었으며 소량의 신생골 형성이 기존골 표면 위에서 관찰되었으나, 막에 의해 형성된 공간은 대부분 소성결합조직으로 채워져 있었다(Figure 2).

#### 2) 대조군 8주 소견(TG-8w)

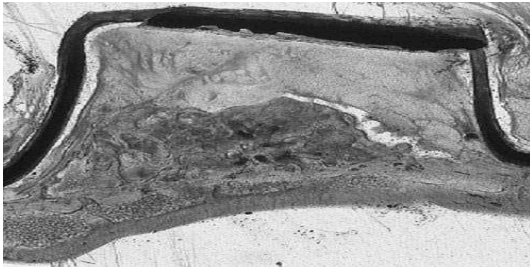
4주에 비하여 기존골 표면으로부터 좀 더 많은 양의 소주골 형성을 관찰할 수 있으나, 형성된 소주골 상방으로 대부분 결합조직이 채워져 있었다(Figure 3).

#### 3) 실험 1 군 4주 소견(TG+Col+P1-4w)

차폐막 하방으로 결합조직이 관찰되며 신생골의 형성은 매우 미약하였다. 대조군에 비해 신생골 형성량은 육안적으로도 적었다(Figure 4).

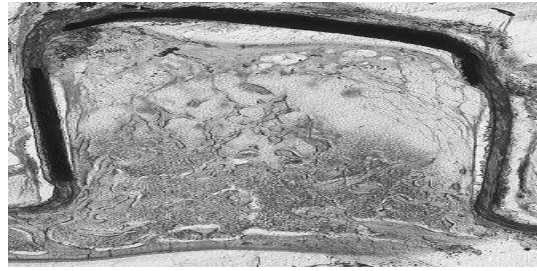
#### 4) 실험 1 군 8주 소견(TG+Col+P1-8w)

실험1군 4주째에 비해 신생골 형성이 증가되는 양



**Figure 2. The control group of 4 weeks (TG -4w)**

A proper space was provided by the fixed TR-ePTFE with pin and a small amount of new bone regeneration was observed on the surface of the residual bone. The space was filled with the loose connective tissues.



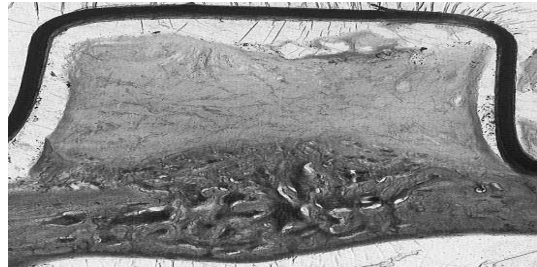
**Figure 3. The control group of 8 weeks (TG -8w)**

A relatively large amount of the trabecular bone was observed on the surface of the residuof the 4 weeks group. The connective tissues were filled over the trabecular bone.



**Figure 4. Experimental group I of 4 week (TG+Col+P1-4w)**

The connective tissues were observed under the TR-ePTFE and the new bone regeneration was negligible. The observed new bone regeneration by naked eyes was small, compared with that of the control group.



**Figure 5. Experimental group I of 8 week (TG+Col+P1-8w)**

The new bone regeneration was increased relative to the case of the experimental group I of 4 weeks but it is small compared with that of the control group. However, it was observed that the filled connective tissues were dense.

상을 보이지만, 대조군에 비해서 골형성이 적었으며 결합조직이 치밀하게 채워져 있는 것이 관찰되었다 (Figure 5).

#### 5) 실험 2 군 4주 소견(TG+Col+P2-4w)

실험1군 4주제에 비해 소주골 형성이 미세하게 증가되는 양상을 보이며, 결합조직은 차폐막 내부의 반 정도만 채워져 있는 것이 관찰되었다(Figure 6).

#### 6) 실험 2 군 8주 소견(TG+Col+P2-8w)

실험1군 8주제에 비해 소주골 형성이 좀 더 증가

하는 것을 볼 수 있었으며 차폐막 하방 부위의 대부분 공간은 결합조직으로 채워져 있었다(Figure 7).

#### 7) 실험 3 군 4주 소견(TG+Col+P4-4w)

대조군 및 다른 실험군들에 비하여 신생골의 형성이 약간 적게 나타났으며 결합조직은 차폐막 하방 부위를 대부분 채우고 있었다(Figure 8).

#### 8) 실험 3 군 8주 소견(TG+Col+P4-8w)

4주군에 비하여 신생골의 형성이 뚜렷이 증가된 것을 볼 수 있었다(Figure 9).

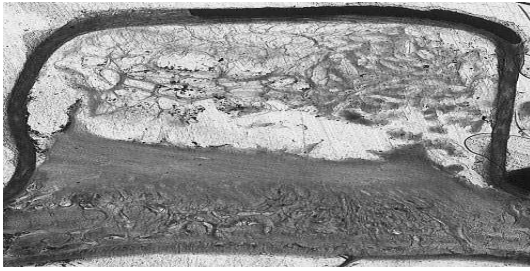


Figure 6. Experimental group II of 4 weeks (TG+Col+P2-4w)

The trabecular bone regeneration was increased small relative to the case of the experimental group I of 4 weeks and the connective tissues were filled half in the TR-ePTFE.



Figure 7. Experimental group II of 8 weeks (TG+Col+P2-8w)

The trabecular bone regeneration was more increased compared with the one of the experimental group I of 8 weeks and the connective tissues were almost filled under the TR-ePTFE.

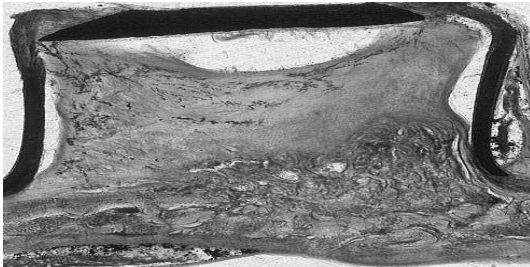


Figure 8. Experimental group III of 4 weeks (TG+Col+P4-4w)

The new bone regeneration bone was decreased small compared with the cases of the control groups and the experimental groups but the connective tissues were almost filled under the TR-ePTFE.



Figure 9. Experimental group III of 8 weeks (TG+Col+P4-8w)

The increment of the new bone regeneration was shown clearly compared with the case of the experimental group III of 4 weeks.

## 2. 조직계측학적 분석

대조군 및 각각의 실험군에서 신생골 형성은 4주군에 비하여 8주군에서 통계학적으로 유의하게 증가

되었다. 4주군에서 각 군 간의 골형성량에서 유의한 차이를 보이지 않았으나 8주군에서 대조군의 골형성량에 비하여 실험 2군 및 실험 3군에 골형성량이 통계학적 유의하게 증가하였고 또한 실험 1군의 골

Table 1. New bone formation (%)

	4 w (mean $\pm$ S.D.)	8 w* (mean $\pm$ S.D.)
Control	6.02 $\pm$ 0.63	10.54 $\pm$ 1.16
TG+Col+P1	5.99 $\pm$ 0.52	10.06 $\pm$ 0.79
TG+Col+P2	6.00 $\pm$ 0.73	13.06 $\pm$ 0.81
TG+Col+P4	5.80 $\pm$ 0.95	15.71 $\pm$ 2.08

\* p < 0.05 : statistically significant

형성량에 비하여 실험 2군 및 실험 3군에서 골형 성량이 통계학적으로 유의하게 증가하였다.

#### IV. 고안

이번 실험에서는 웅성백묘 두개관에 일정한 크기로 피질골을 제거한 후, 미리 직육면체 모양으로 구부린 티타늄강화차폐막 내부에 무기인산염에 침적한 교원질 스폰지를 채운 후 골유도재생술을 시행하였다. 실험동물들을 술 후 4, 8주에 희생시켜 시기별로 무기인산염의 농도에 따라 골 재생에 영향을 미치는지 조직학적 및 조직계측학적으로 비교 분석하여 시간 의존형 및 농도 의존형으로 골의 형성량이 증가하였으나 예상보다는 골형성량이 많지 않았다.

Schenk 등<sup>32)</sup>은 비글견을 이용한 실험을 통해 골 재생 및 형성과정을 시기에 따라 일차 해면골이 형성되는 첫 번째 단계, 일차 해면골이 해면골과 치밀골로 변환되는 두 번째 단계, 그리고 형성된 골이 개조되는 세 번째 단계의 세 단계로 분류하였는데 첫 번째 단계는 약 8주경에 이루어지지만 두 번째 단계는 16주에도 완전히 이루어지지 않는다고 하였다. 이를 근거로 이번 실험에서는 골재생과 형성과정을 8주까지 비교, 관찰하였다.

골유도재생술을 시행한 부위는 웅성백묘의 두개관을 이용하였는데 두개관은 형태학적으로나 발생학적으로 막성골이라는 점에서 안면의 막성골들과 유사성을 가지며 해부학적으로 두개관은 중간에 해면골이 개재되어 있는 두 개의 피질골판으로 이루어져 있다는 점에서 하악골과 유사하고 생리학적으로 두개관내의 피질골은 퇴축된 하악골과 닮았다고 할 수 있다<sup>33)</sup>. 이러한 이유로 두개관을 이 실험에서 수술 부위로 사용하였다. 이번 실험에서 1-2mm 깊이로 피질골을 제거한 것은 골수로부터 유래된 혈액공급 및 골형성인자의 작용을 촉진하기 위하여<sup>34)</sup> 시행하였다. 또한 주변이 골로 둘러싸인 외동형의 골결손부는 주위 골로부터 활발한 골재생이 이루어져 골형성 촉진 물질의 효과를 구분하기 어렵게 하기 때문에<sup>35)</sup> 이번 실험에서는 기존 골의 외방으로 골형성을 유도

하는 실험모델을 이용함으로써 골재생에 미치는 효과를 살펴보려고 하였다.

이번 실험에서 실험기간 동안 티타늄 강화차폐막에 의하여 형성되는 재생공간의 유지는 다른 연구결과<sup>36-40)</sup>와 동일하게 전 기간 동안 잘 이루어졌으며 염증반응이 없었던 것으로 볼 때 조직친화성도 우수한 것으로 나타났다.

전달체로 사용된 교원질 스폰지는 교원질이 주성분이며 통기성이 좋으며 물질의 90% 이상이 액체로 채울 수 있는 다공성 구조로 되어있어 물질 함유량을 충분히 유지할 수 있는 장점이 있다. 기본재료는 소의 아킬레스건에서 추출한 성분을 함유한 제 1형 교원질이며, 창상에 적용하여도 독성과 발열반응이 없으며 삽입 후 10~14일에 흡수가 시작되면서 함유 물질의 효과를 지속하게 한다.

차폐막의 고정은 골재생을 유도하는 중요한 요인으로서 차폐막의 미세동요를 방지하기 위하여 고정용 핀을 사용하였다<sup>36)</sup>. 고정용 핀을 사용하여 기저골의 표면을 따라 형성될 수 있는 연조직의 침투를 방지하였다. 차폐막을 사용하지 않은 골 결손부는 상부 치은결합조직의 빠른 증식 및 유입으로 인하여 골세포의 이동이 차단됨에 따라서 단순한 결합조직으로 채워지는 반면, 차폐막을 사용한 골 결손부는 상부 치은 결합조직의 유입이 차단함으로써 하부에서 골조직의 재생을 유도하였다. 아울러 차폐막의 다른 기능은 골 결손부내의 혈병을 보호하고 상부 연조직으로 부터의 외력을 차단함으로써 골조직의 재생을 촉진한다고 하였다<sup>37)</sup>.

무기 인산염(Inorganic polyphosphate, PolyP)은  $(\text{NaPO}_3)_n$ 의 분자식을 갖는 인체에 무해한 물질로서<sup>20,21)</sup>, 수십 또는 수백개의 orthophosphate(Pi) residues가 고에너지의 phosphoanhydride결합을 형성하고 있는 중합체이다<sup>22)</sup>. 무기 인산염은 미생물 내에서 ATP의 대체물질로서 에너지원으로 작용하고 인산(Pi)의 저장고 역할을 하며 적은 농도의 무기 인산염이 동물세포에서 관찰되기도 하지만 포유동물에서의 무기 인산염의 기능은 잘 알려져 있지 않다<sup>23,24)</sup>. Fleisch 등<sup>25)</sup>은 인(phosphorous)의 합성물질

인 bisphosphonate가 골 흡수를 막는 강력한 억제 물질이라고 보고하였고, Leyhausen 등<sup>26)</sup>은 많은 양의 무기인산염(Inorganic polyphosphate)이 사람의 하악에서 유래되는 골아유사세포(human mandibular-derived osteoblast-like cell)에서 관찰되며 골 광물화의 조절자로 작용한다고 하였다. Shiba 등<sup>27)</sup>은 무기 인산염이 사람의 섬유아세포(human fibroblast cell)의 증식에 관여한다고 하였다. 무기인산염에 대한 연구 중 또한 Kawazoe 등<sup>18)</sup>은 쥐를 이용한 세포실험을 통해 무기인산염이 골아세포 분화의 표지인 osteopontin과 osteocalcin의 발현을 증가시키고 alkaline phosphatase activity도 증가시켰다고 하였으며, 무기인산염이 polyphosphatase의 활성을 증가시킴으로써 세포의 골화를 촉진시킨다고 보고하였다.

이 등은 토끼의 대퇴골에 교원질과 탈염골분(demineralized human bone powder)을 매개체로 2% 무기인산염의 효과에 관한 실험을 통해, 무기인산염이 매개체의 골전도능을 향상시키거나 손상된 골조직의 골유도능을 증가시킴으로써 골재생을 촉진한다고 보고하였다. 이번 실험에서는 무기인산염의 농도에 따른 골재생 효과의 차이를 알아보기 위하여 1%와 2%, 4%로 농도를 달리하여 사용하였으며, 8주군에서 1%의 무기인산염을 사용한 군에서는 별다른 골재생 효과를 관찰할 수 없었으나 2%와 4%의 무기인산염 사용군에서는 뚜렷한 골재생이 나타났다. 하지만 예상했던 것 보다는 적은 양의 골이 형성되었다. 적은 양이지만 골재생 효과가 있는 것은 이 등의 연구결과와 일치하였다. 골형성에 필요한 세포들의 골결손부로의 이주는 골유도에 있어서 중요한 과정이며 무기인산염의 이러한 기능을 고려할 때 무기인산염은 임상에 적용 가능한 뛰어난 골유도 물질중의 하나라고 할 수 있다. 정 등<sup>19)</sup>은 무기인산염이 골재생 과정에 미치는 영향을 평가하기 위하여 웅성백묘 두개골에 일정 크기의 피질골을 제거한 후, 그 상방에 1%, 2%의 무기인산염에 침적한 탈단백우골을 채운 티타늄 강화차폐막을 이용하여 골유도재생술을 시행하여 2%의 무기인산염에서 골재생을 확인하였다.

무기인산염은 골재생을 증가시키는 것으로 보이지만 그 정확한 기전에 대해서는 추가적인 연구가 필요하며, 또한 골유도재생술시 사용되는 티타늄강화차폐막을 고정핀으로 고정함으로써 차폐막의 동요로 인하여 야기될 수 있는 요인들을 제거 하였다. 이러한 상태에서 무기인산염의 농도를 증가시키고 다양한 매개체를 이용하여 골재생에 미치는 효과를 관찰하는 연구가 계속적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

## V. 결론

이번 연구는 무기인산염의 농도에 따라 골재생 과정에 미치는 영향을 평가하기 위하여 생후 6주된 평균무게 2.0kg의 웅성백묘 두개골에 일정한 크기로 피질골을 제거한 후, 그 상방에 1%, 2%, 4%의 무기인산염에 침적한 교원질 스폰지를 채운 티타늄강화차폐막을 이용하여 골재생술을 시행하였다. 티타늄강화차폐막만 사용한 군을 대조군으로, 1% 무기인산염에 침적한 교원질과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험 1군, 2%의 무기인산염에 침적한 교원질과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험 2군, 4% 무기인산염에 침적한 교원질과 티타늄강화차폐막을 사용한 군을 실험 3군으로 분류하였다. 술 후 4, 8주에 각각 희생시켜 차폐막을 포함한 조직절편을 채취하여 통법에 따라 비탈회 표본을 제작하고 조직학적 및 조직계측학적 분석을 하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 교원질은 염증반응이 미약하나 8주째에는 모두 흡수되었다.
2. 대조군을 포함한 모든 실험군에서는 8주째에 가장 많은 골형성을 보였다( $P < 0.005$ ).
3. 무기인산염을 함유한 실험군에서는 농도가 증가할수록 즉, 1% 무기인산염을 침적한 군의 골형성량에 비하여 2% 및 4% 무기인산염을 침적한 군에서 많은 골형성을 보였다.
4. 대조군 및 모든 실험군 중 4% 무기인산염을

침적한 군에서 가장 많은 신생골 형성( $15.71 \pm 2.08\%$ )을 보였다.

이상의 결론을 토대로 4%의 무기인산염을 포함한 티타늄 강화차폐막의 기술은 소실된 골조직 재생을 위한 임상 응용에 효과가 있을 것으로 생각된다.

## VI. 참고문헌

1. Reddi AH, Weintraub S, Muthukumaran N. Biologic principles of bone induction. *Orthop Clin North Am* 1987;18:207-212.
2. Urist MR. Bone Formation by autoinduction. *Science* 1965;150:893-899.
3. Burchardt H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop Rel Res* 1983;174:28-42.
4. Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part I. The influence of stability of fixation and soft tissue preservation. *Clin Orthop* 1989;238:249-281.
5. Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part II. The influence of rate and frequency of distraction. *Clin Orthop* 1989;239:263-285.
6. Kostopoulos L, Karring T. Augmentation of the rat mandible using guided tissue regeneration. *Clin Oral Impl Res* 1994;5:75-82.
7. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plastic Reconst Sur* 1988;81:672-677.
8. Dahlin C, Alberius P, Lindhe A. Osteopromotion for cranioplasty: An experimental study in rats using a membrane technique. *J Neurosurg* 1991;74:487-497.
9. Dahlin C, Andersson L, Lindhe A. Bone augmentation at fenestrated implants by an osteopromotive membrane technique: A controlled clinical study. *Clin Oral Impl Res* 1991;2:159-165.
10. Dahlin C, Sennerby L, Leckholm U, Lindhe A, Nyman S. Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: An experimental study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1989;4:19-25.
11. Dahlin C, Gottlow J, Lindhe A, Nyman S. Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique: An experimental study in monkeys. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1990;24:13-19.
12. Becker W, Dahlin C, Becker BE. The use of e-PTFE barrier membranes for bone pro-motion around titanium implants placed into extraction socket: A prospective multicenter study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994;9:31-40.
13. Siebert J, Nyman S. Localized ridge augmentation in dogs: A pilot study in using membranes and hydroxyapatite. *J Periodontol* 1990;61:157-165.
14. Becker W, Becker B, Handlesman M, et al. Bone formation at dehiscenced dental implant sites treated with implant augmentation material: A pilot study in dogs. *Int J Periodont Rest Dent* 1990;10:93-101.
15. Werrner K, Gotfredsen K, Hjrting-Hansen E, Karring T. Guided tissue regeneration of dental implants placed into extraction sockets: An experimental study in monkeys. *Clin Oral Impl Res* 1991;2:166-171.
16. Niederman R, Savitt ED, Heeley JD, Duckworth JE. Regeneration of furca bone using Gore-Tex periodontal material. *Int J Periodont Res Dent* 1989;9:468-480.



17. Pontoriero R, Lindhe J, Nyman S, et al. Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in mandibular molars. A clinical study of degree III involvements. *J Clin Periodontol* 1988;16:170-174.
18. Kawazoe Y, Shiba T, Nakamura R, et al. Induction of calcification in MC3 T3-E1 cells by inorganic polyphosphate. *J Dent Res* 2004;83:613-618.
19. 정종혁, 권영혁, 박준봉, 허익. 무기인산염이 골유도재생에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 2005; 35:491-510.
20. The United States Department of Agriculture. Meat and poultry products: phosphates and sodium hydroxide. *Fed Regist* 1982;47:10779.
21. Lanigan RS. Final report on the safety assessment of sodium metaphosphate, sodium trimetaphosphate, and sodium hexametaphosphate. *Int J Toxicol* 2001; 20:75-89.
22. Kornberg A. Inorganic polyphosphate toward making a forgotten polymer unforgettable. *J Bacteriol* 1995;177:491-496.
23. Kumble KD, Kornberg A. Inorganic polyphosphate in mammalian cells and tissues. *J Biol Chem* 1995;270:5818-5822.
24. Gabel NW, Thomas V. Evidence for the occurrence and distribution of inorganic polyphosphate in vertebrae tissues. *J Neurochem* 1971;18:1229-1242.
25. Fleisch H. Mechanisms of action of the bisphosphonates. *Medicina(B Aires)* 1997;57: 65-75.
26. Leyhausen G, Lorenz B, Zhu H, et al. Inorganic polyphosphate in human osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res* 1998;13: 803-812.
27. Shiba T, Nishimura D, Kawazoe Y, et al. Modulation of mitogenic activity of fibroblast growth factors by inorganic polyphosphate. *J Bio Chem* 2003;278:26788 -26792.
28. Jovanovic SA, Spiekermann H, Richter EJ. Bone regeneration around titanium implants in dehiscenced defect sites: A clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992;7:233-245.
29. Becker W, Becker B, Handelsman M, Ochsenbein C, Albrektsson T. Guided tissue regeneration for implant placed into extraction sockets: A study in dogs. *J Periodontol* 1991;62:703-709.
30. Bragger U, Hammerle CHF, Lang NP. Immediate transmucosal implants using the principle of guided tissue regeneration: A cross-sectional study comparing the clinical outcome 1 year after immediate to standard implant placement. *Clin Oral Impl Res* 1997;7:268-276.
31. Buser D, Bragger U, Land NP, Nyman S. Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. *Clin Oral Impl Res* 1990;1:22-32.
32. Schenk RK, Hardwick WR, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects. A histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994;9:13-29.
33. 이근혁, 권영혁, 박준봉, 허익. 골유도재생술시 그물형 티타늄막의 천공수가 골형성에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 2004;34:411-424.
34. Majzoub Z, Berengo M, Giardino R, Cordili G. Role of intra marrow penetration in osseous repair: A pilot study in the rabbit calvaria. *J Periodontol* 1999;70:1501-1510.
35. Lundgren D, Lundgren AK, Sennerby L, Nyman S. Augmentation of intra-membranous bone beyond the skeletal envelope using an occlusive titanium barrier.

- Clin Oral Impl Res 1995;6:67–72.
36. Simon M, Trisi P, Piattelli A. Vertical ridge augmentation using a membrane technique associated with osseointegrated implants. *Int J Periodont Rest Dent* 1994;14:496–511.
  37. Jovanovic SA, Schenk RK, Orsini M, Kenney Eb. Supracrestal bone formation around dental implants: An experimental dog study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1995;10:23–31.
  38. Jovanovic SA, Nevins M. Bone formation utilizing titanium–reinforced barrier membranes. *Int J Periodont Rest Dent* 1995;15:57–69.
  39. Tinti C, Parma–Benfenati S, Pollizzi G. Vertical ridge augmentation: What is the limit? *Int J Periodont Rest Dent* 1996;16: 220–229.
  40. Tinti C, Vincenzi GP. Expanded polytetra–fluoroethylene titanium–reinforced membrane for regeneration of mucogingival recession defects: A 12–cases report. *J Periodontol* 1994; 65:1088–1094.

# Histomorphometric study on effect of the polyphosphate for bone regeneration

Young–Seok Lee<sup>1</sup>, Joon–Bong Park<sup>1</sup>, Young–Hyuk Kwon<sup>1</sup>, Yeek Herr<sup>1</sup>,  
Jong–Hyuk Chung<sup>1</sup>, Seong–Suk Jue<sup>2</sup>

1. Department of Periodontology and Institute of Oral Biology, School of Dentistry, Kyung Hee University
2. Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Kyung Hee University

In this study, author examined the effect of the concentration of the inorganic polyphosphate on the process of the bone regeneration by using the 6 weeks old rabbit with the weight of 2.0kg in average. we performed the experiment by using TR–ePTFE membrane filled with collagen immersed with 1%, 2%, and 4% of inorganic polyphosphate, respectively, after removing the proper sized cortical bones from the calvaria of rabbit. The experimental results were compared with the one of the following four groups:

The control group for membrane only, experimental group I for membrane filled with collagen immersed with 1% of inorganic polyphosphate, experimental group II for membrane filled with collagen immerse with 2% of inorganic polyphosphate, experimental group III for membrane filled with collagen immersed with 4% of inorganic polyphosphate.

The fragments of the tissue with membrane were obtained from each group of the sacrificed rabbits for 4 or 8 weeks sustained after surgery, were then prestained and coated. New bone formation was assessed by histomorphometric and statistical analysis. We may draw the conclusions from these experiments as following:

1. Collagen was an excellent carrier with a minimal inflammatory reaction and sustaining the form.
2. The sample of the 8th week group has shown the best bone regeneration compared with the cases of all groups including the control group.
3. The samples of collagen immersed with 2% and 4% of inorganic polyphosphate have shown more bone regeneration relative to the sample of the 1% inorganic polyphosphate.
4. The new bone regeneration was shown actively in the group for membrane filled with collagen immersed with 4% of inorganic polyphosphate.

With above results, it is strongly suggested the use of inorganic polyphosphate with vehicle under TR–ePTFE membrane.

---

**Key words :** Polyphosphate, Bone regeneration, TR–ePTFE membrane, Collagen

