

백서두개골 결손부에서 BMP전달체의 골재생효과분석

정성원, 정지희, 채경준, 정의원, 김창성, 조규성, 채중규, 김종관, 최성호*

연세대학교 치과대학 치주과학교실, 치주조직재생연구소

I. 서론

치주질환과 같은 원인으로 인하여 치주조직의 자생적인 회복을 이룰 수 없는 경우, 다양한 골대체용 생체재료가 사용되고 있다. 하지만 이들은 양호한 생체적합성 및 골 전도성에도 불구하고 골유도능이 결여되어 만족할만한 골형성을 얻지는 못하고 있다. 이에 골유도능을 지닌 골형성단백질(Bone Morphogenetic Protein : BMP)을 이용하여 원하고자 하는 골 형성을 얻어내는데 많은 관심이 집중되고 있다¹⁾.

1971년 Urist²⁾에 의해 탈회된 골편을 쥐의 피하조직에 이식한 경우 이식편 주위로 이소성 골 형성이 일어나는 것을 관찰하고 골내에는 골 형성에 기여하는 특정 단백질이 있다고 하였으며 이를 골 형성 단백질(Bone Morphogenetic protein; BMP)이라고 명명하였다. 1980년 BMP가 4M Guanidine HCl에 의해 골 조직으로부터 추출 가능하다는 사실이 Takaoka³⁾에 의해 보고되면서 BMP를 정제하기 위한 다각적인 시도가 이루어져, 다양한 정제분리법에 의해 BMP의

추출이 가능하게 되었다. 정제된 BMP는 생화학적 특성에 의해 Osteogenin, Osteogenic protein, Osteoinducing factor 등으로 명명되었으나, 1988년 Wozney⁴⁾ 등에 의해 BMP의 유전자 구조가 밝혀지게 되면서 다양하게 불리던 골형성인자는 BMP로 단일화되어 불리고 있다. 현재까지 BMP-1에서 -15까지 15종류의 BMP가 밝혀져 있으며, BMP-1을 제외한 이들 BMP는 아미노산의 배열에 있어 TGF- β 와 30~40%의 상동성을 보이며, 7개의 cystein 잔기를 지니는 동량 이량체를 이루고 있어 TGF-super-family의 일원으로 분류된다⁵⁾. BMP의 주된 기능으로 잘 알려진 이소성 골형성과정은 기시기, 촉진기, 유지기로 구분되며, 이는 미분화간엽세포의 화학주성적 이동 및 증식, 조연골세포로의 분화, 연골세포의 비대화, 혈관의 침습, 연골기질의 석회화, 골형성 및 골 개조, 조혈골수를 지닌 소골형성단계로 진행된다. BMP는 주로 이소성 골형성과정의 기시기에 작용하는 것으로 여겨지고 있다⁶⁾. 골로부터 순수 BMP를 얻기 위해서는 번거로운 생화학적 처리와 다

*교신저자 : 최성호, 서울특별시 서대문구 신촌동 134 연세대학교 치과대학 치주과학교실, (120-752)

(전자우편 : shchoi726@yumc.yonsei.ac.kr)

* 이 논문은 2005년도 정부(과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구임(R13-2003-013-02001-0).

량의 골조직이 요구된다.

이는 BMP가 주로 파질골 내에 교원질과 견고히 결합되어 있으며, 골 1kg당 1 μ g 정도로, 다른 골 유래 성장인자인 TGF- β (460 μ g/kg), IGF-I(85 μ g/kg), IGF-II(1260 μ g/kg) 등에 비해 극미량으로 존재하기 때문이다. 유전공학적인 방법으로 순수 BMP의 대량 생산을 꾀하고 있으나, 아직 여러 단계의 어려움에 의해 현실화되지 못하고 있다. 우수한 골형성을 얻기 위해서는 적절 농도의 BMP를 이식부위로 전달할 수 있어야한다. 그러나, rh-BMP(recombinant human Bone Morphogenetic Protein)는 수용성 물질이므로 적용부위에 적절히 전달되지 않으면 그 효과가 감소되므로⁷⁾, BMP의 효과를 극대화하기 위해서는 적절한 양과 농도, 적용시간 등이 중요하다고 하였다⁸⁾. BMP를 전달체에 적용시킨 후 골형성을 위한 최소한의 농도를 알아보기 위한 실험이 1~800 μ g 범위에서 비글견, 백서, 양, 설치류 등에서 연구되었다⁹⁻¹²⁾. 고도로 정제된 BMP 및 rh-BMP는 체내에서 쉽게 확산되어 소실됨에 따라, BMP가 표적세포에 적절히 작용할 수 있도록 BMP를 서서히 그리고 지속적으로 방출시킬 수 있는 매개체가 요구된다. 이를 전달체(carrier)라 하며, 전달체(carrier)는 BMP와 결합이 잘되고, 생체친화성 또한 양호해야 한다. 전달체는 골형성이 이루어지면서 흡수되어 소실되거나 골과 일체화를 이룰 수 있는 것이 필수적이다. 이 상적인 전달체를 찾기 위해 bone matrix¹³⁾, Absorbable Collagen Sponge(ACS)^{13,14)}, fibrin sealant synthetic polymers {poly(glycolic acid-co lactic) acid}¹⁵⁾, β -Tricalcium Phosphate(β -TCP)^{11,16)} 등을 통한 연구들이 진행되었다. 일반적으로 ACS는 공간이 유지되는 결손부에서는 매우 효과적인 전달체이나, 공간을 유지하는 능력이 부족하여 압력에 의한 공간유지가 와해되는 결과가 초래될 수 있으며, β -TCP는 압력에 의해 쉽게 와해되지 않는 공간유지능력을 보였으나, 흡수가 지연되어 신생골 형성을 방해하는 결과를 초래하였다. 최근에는 Fibrin-Fibronectin Sealing System(FFSS)과 FFSS/ β -TCP를 BMP의 전달체로 사용한 효과적인 골재생

이 보고되었다¹⁷⁾. 전달체에 따른 골형성에 대한 연구는 주로 1) 백서두개부에 임계크기결손부를 형성 후 골재생 관찰^{7,17-22)} 2) 성견실험에서 치조골결손부를 형성하여 치주조직과 치조골의 재생 관찰^{9,14)} 3) 백서에서 이소성 골형성과정 관찰²³⁾ 등이 이루어졌다. 본 연구는 지금까지 BMP와 관련된 논문들을 바탕으로 BMP의 전달체를 상호 비교해보고, 효과적인 BMP 전달체를 찾아보고자 한다.

II. 연구방법

1. 문헌고찰과 검색결과

본 연구에서는 연세대학교 치주과학교실에서 연구된 논문 중 1998~2007년 사이의 BMP 전달체에 관계된 논문을 검색하였고, 연구결과를 참고하기 위해 Medline에서 1998~2007년 사이에서 “Bone Morphogenetic Protein”, “carrier”, “defect model”을 검색하여 논문을 찾고, 아래와 같은 조건을 포함시 연구에 사용하였다.

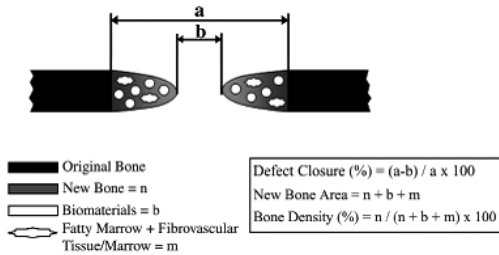
1) 포함 기준

- (1) 표준화된 결손부 모델에서 실험이 진행된 것
- (2) 전달체에 BMP를 적용시킨 것
- (3) 조직계측학적 실험결과를 가진 것

검색결과 연세대학교에서 연구된 논문 중 총 11편의 논문^{7,9,14,17-24)}이 검색되었다. 이 중 백서두개골 결손부모델에서 BMP전달체의 효과를 고찰한 것이 7편이었다. 나머지 4편은 각각 성견에서 진행한 연구가 2편, 세포에서 실험한 것이 1편, 그리고 이소성골 형성과 관련된 논문이 1편 있었다. 이 중 2편의 논문이 BMP-2, 나머지 5편은 BMP-4를 전달체에 적용시켰다. Medline 검색시 총 49편의 논문이 있었고, 이 중에서 표준화된 골결손부 모델에 BMP와 전달체를 사용한 9편의 논문이 검색되었다. 백서두개골 결손부 모델에서 진행된 것이 총 8편이었고, 성견의 골결손부 모델에서 진행된 것이 1편이었다. 백서 결

손부 모델과 관련된 8편 중, 6편의 논문은 연세대학교 치주과학고실에서 발표된 논문이었다. 나머지 2편의 논문은 백서두개골 결손부 모델에서 BMP의 효과를 보았으나, 조직계측학적인 결과가 없어 참고만 하기로 하였다. BMP 전달체의 효과를 상호비교하기 위해, 연구결과가 많고, 표준화된 골결손부 모델을 사용한 백서와 관계된 7편의 논문^{7,17-22)}을 채택하였다.

2. 백서두개골 결손부에서의 자료분석



1) 두개골 결손부의 폐쇄량(defect closure, %)
mm : 결손부 경계부에서 자라 들어온 신생골까지의 거리

% : 결손부 총길이에서 자라 들어온 신생골의 길이를 뺀 것을 결손부 총길이로 나눈 후 100을 곱한 값

2) 두개골 결손부의 신생골형성량
(new bone formation, mm²)

이식된 전달체내에서 생성된 신생골과 지방골수, 섬유혈관성조직을 합한 부위

3) 골밀도(bone density, %)

신생골 부위를 신생골과 지방골수, 섬유혈관성조직을 합한 부위로 나눈 후 100을 곱한 값

연구결과는 다음과 같이 나누어 정리하였다.

- (1) BMP의 종류에 따른 효과
- (2) BMP의 농도에 따른 효과
- (3) 전달체 종류에 따른 효과

III. 결과

1. BMP의 종류에 따른 효과

Hyun 등¹⁹⁾의 연구에 따르면 30마리의 백서를 대상으로 하여 8mm 원형결손부를 형성 후, 각 10마리씩 3군으로 나누어 0.025mg/ml rhBMP-2/ACS, rhBMP-4/ACS, rhBMP-7/ACS를 적용하였다. 2, 8주에 걸쳐 희생하였는데, 2주나 8주에서 BMP의 종류에 따른 결손부의 폐쇄(defect closure), 신생골형성량(new bone area), 골밀도(bone density)는 통계적으로 유의할만큼 크진 않았고, 다만 각 BMP군에서 2, 8주간의 시간에 따른 결과엔 차이가 있었다.

2. BMP의 농도에 따른 효과

Pang 등²¹⁾은 140마리의 백서를 각각 1) rhBMP-4/ACS(0.25mg/ml), 2) rhBMP-4/ACS(0.5mg/ml), 3) rhBMP-4/ β -TCP(0.25mg/ml), 4) rhBMP-4/ β -TCP(0.5mg/ml), 5) ACS, 6) β -TCP, 7) sham surgery control군으로 나누어 20마리씩 실험하였다. 2, 8주 희생 후 실험결과를 보았는데, 제시된 BMP의 농도에 따른 골재생에는 차이가 없었다.

3. BMP의 전달체에 따른 효과

1) rhBMP-4에서 전달체에 따른 효과

Han 등¹⁷⁾의 실험에선 30마리의 백서두개골 결손부가 실험대상이었는데, 이 중 FFSS(fibrin-fibronectin sealing system)군보다 rhBMP-4/FFSS 군에서 결손부의 폐쇄량 및 골밀도가 높음을 확인할 수 있었다.

Ahn 등¹⁸⁾은 총 100마리의 백서를 실험하여 rhBMP-4의 전달체로 ACS와 β -TCP를 사용하였다. 실제로 2주보다 8주에서 전체적인 골재생이 많았으며, 전달체로 ACS를 사용한 경우 β -TCP에 비해 골재생이 통계적으로 유의할만큼 많았다.

Jung 등²⁰⁾은 전달체로 β -TCP를 사용하여, β -TCP의 크기에 따라 차이가 있는지 알아보았다. β

-TCP의 크기는 50~150 μ m 혹은 150~500 μ m 크기가 사용되었는데, 실제적으로 β -TCP의 크기에 따라 골형성에 차이는 없다고 하였다.

2) rhBMP-2에서 전달체에 따른 효과

Hong 등⁷⁾은 FFSS와, FFSS/ β -TCP를 rhBMP-2의 전달체로 사용했는데, 이는 FFSS의 접착성 성질을 사용하여 β -TCP와 섞어서 일정한 형태로 만들기 쉽

다는 점에 착안한 것이다. 결론적으로 rhBMP-2/FFSS/ β -TCP를 사용한 군이 다른 군에서 가장 많은 골재생이 있었다. Lee 등²²⁾은 rhBMP-2의 전달체로 MBCP를 사용하였고, rhBMP-2/MBCP군이 단순히 MBCP만을 사용한 군보다 각 2주, 8주에서 효과적인 골형성을 보였다.

일반적으로 아무것도 처치하지 않은 군(sham surgery)에서 결손부폐쇄량은 Hong 등⁷⁾의 연구에선

Table 1. Published articles relating to effect of BMP/Carriers on formation in rat calvarial defects

	Group	Newbone area(mm ²)		defect closure(%)		bone density(%)	
		2weeks	8weeks	2weeks	8weeks	2weeks	8weeks
Pang et al 2004 JOP 2005	sham surgery			13.9 \pm 3.6	15.6 \pm 7.3	89.6 \pm 12.3	92.6 \pm 4.9
	ACS control			22.6 \pm 9.3	26.9 \pm 10.4	12.8 \pm 3.0	86.3 \pm 11.9
	β -TCP alone			20.8 \pm 7.2	25.3 \pm 10.8	27.9 \pm 10.5	36.9 \pm 9.4
	rhBMP-4/ACS(0.025mg/ml)			96.9 \pm 7.1	99.6 \pm 1.2	50.2 \pm 12.2	91.1 \pm 6.8
	rhBMP-4/ACS(0.05mg/ml)			100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	50.6 \pm 19.8	90.9 \pm 9.1
	rhBMP-4/ β -TCP(0.025mg/ml)			98.4 \pm 5.0	95.1 \pm 10.1	59.3 \pm 14.1	65.5 \pm 11.8
	rhBMP-4/ β -TCP(0.05mg/ml)			93.2 \pm 12.6	100.0 \pm 0.0	57.0 \pm 12.7	73.0 \pm 12.9
Hyun et al 2005 JOP 2005	rhBMP-2/ACS	3.1 \pm 1.1	4.2 \pm 1.2	98.0 \pm 0.0	99.4 \pm 0.0	54.4 \pm 11.3	82.0 \pm 4.3
	rhBMP-4/ACS	3.2 \pm 1.6	4.3 \pm 0.6	85.9 \pm 0.1	97.8 \pm 0.0	53.9 \pm 10.7	80.7 \pm 3.5
	rhBMP-7/ACS	3.2 \pm 0.6	4.3 \pm 1.1	93.1 \pm 0.2	98.2 \pm 0.0	60.7 \pm 11.1	81.2 \pm 5.9
Hong et al 2006 Biomaterials 2006	sham surgery	0.2 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1	11.7 \pm 2.9	13.7 \pm 4.6		
	FFSS	0.4 \pm 0.2	2.3 \pm 0.7	38.1 \pm 26.4	68.9 \pm 30.0		
	FFSS/ β -TCP	1.4 \pm 1.2	2.1 \pm 0.3	55.9 \pm 25.4	86.2 \pm 10.5		
	rhBMP-2/FFSS	2.6 \pm 0.6	3.4 \pm 0.5	89.4 \pm 11.7	95.4 \pm 8.1		
	rhBMP-2/FFSS/ β -TCP	2.8 \pm 1.4	5.3 \pm 2.1	91.4 \pm 8.7	96.9 \pm 2.5		
Han et al 2005 JOP 2005	sham surgery	0.2 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1	12.1 \pm 3.9	13.5 \pm 4.6	97.8 \pm 3.2	94.0 \pm 3.3
	FFSS control	0.4 \pm 0.3	2.3 \pm 0.7	39.6 \pm 26.9	66.8 \pm 30.8	6.7 \pm 3.0	47.1 \pm 9.2
	rhBMP-4/FFSS	2.1 \pm 0.5	3.4 \pm 0.5	93.1 \pm 15.3	94.0 \pm 13.4	39.1 \pm 10.6	72.5 \pm 6.3
Jung et al 2006 JOP 2006	sham surgery	0.2 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	14.1 \pm 5.2	15.1 \pm 8.0		
	β -TCP(50-150 μ m)	0.7 \pm 0.2	0.8 \pm 0.4	12.3 \pm 4.1	19.6 \pm 15.9		
	β -TCP(150-500 μ m)	0.9 \pm 0.3	1.0 \pm 0.3	18.3 \pm 12.3	31.9 \pm 11.5		
	rhBMP-4/ β -TCP(50-150 μ m)	4.1 \pm 1.4	4.5 \pm 0.7	91.4 \pm 16.0	94.5 \pm 0.7	61.2 \pm 10.2	70.3 \pm 15.9
	rhBMP-4/ β -TCP(150-500 μ m)	4.6 \pm 0.6	4.7 \pm 0.7	96.0 \pm 4.6	100 \pm 0.0	63.9 \pm 6.0	67.1 \pm 4.9
Lee et al 2007 KAP 2007	MBCP	1.1 \pm 0.6	3.0 \pm 0.9				
	rhBMP-2/MBCP	3.0 \pm 0.9	5.5 \pm 2.2				

2주에서 11.7%, 8주에선 13.7%였고, Han 등¹⁷⁾의 실험에선 2주시 12.1%, 8주시 13.5%로 비슷한 결과를 보였다. BMP를 처치하지 않고 ACS만을 이식한 군에선 2주시 22.6%, 8주시 26.9%를 보였다²¹⁾. BMP의 전달체에 따라 2주시, 최소 85.9%¹⁹⁾에서 최대 98.0%¹⁹⁾였고, 8주에선 최소 94.0%¹⁷⁾에서 최대 100%²⁰⁾의 결과를 보였다. 신생골형성량은 sham surgery시 2주에서 0.2mm³, 8주에서 0.3~0.4mm³⁷⁾,^{17,20)} 정도였고 각각 전달체에 따라, 2주 때 최소 2.1mm³¹⁷⁾에서 최대 4.6mm³²⁰⁾를 보였다. 8주에선 최소 3.4mm³⁷⁾, 최대 5.5mm³²²⁾였다. 골밀도는 sham surgery시 2주에서 89.6~97.8%였고, 8주에서 92.6~94.0%였다. 전달체에 따라 2주시 최소 39.1%¹⁷⁾에서 최대 63.9%²⁰⁾였다. 8주에선 최소 65.5%²¹⁾에서 최대 91.1%²¹⁾였다. 대부분의 연구가 결손부폐쇄량, 골밀도, 신생골형성량을 측정하였는데, Hyun, Hong, Han, Jung 등의 논문에선 신생골형성량과 결손부폐쇄량이 측정되었고 Pang, Hyun, Han, Jung의 논문에선 골밀도가 측정되었다. Lee의 연구에선 신생골형성량만을 측정하였다. 실험결과는 각각 신생골형성량, 결손부폐쇄량, 골밀도를 나누어 결과를 정리하였다(Table 1).

IV. 고안

치주 질환에 의해 파괴된 조직을 재생시키기 위하여 골이식재를 적용하는 방법, 차단막을 이용하는 방법 등 여러 가지가 연구되고 있다. 골이식재를 적용하는 방법이나, 차단막을 이용하는 방법은 모두 결손부위의 양상에 따라, 골재생에 한계가 생긴다. 자생적인 골재생이 불가능한 경우에 있어 BMP는 골이식재와 달리 골유도능을 지닌다는 사실에서, 임상화에 성공할 경우 골이식을 대신할 이식체로서 새로운 장을 열어줄 것으로 기대되고 있다. BMP-1은 골형성능력과는 상관없는 matrix metalloproteinase 유전자로 분류되고, 그 외에는 BMP-2에서 BMP-15까지 cloning되어 있다²⁵⁾. 그 중 BMP-2, -4, -7 유전자는 골형성 능력이 탁월하고 임상 적용가능성

이 높아 수많은 연구가 진행되었다^{26,27)}. 일반적으로 BMP를 활성화시켜 골형성을 유도하는 이소성 골형성과정에서는 BMP가 미분화 간엽계세포를 먼저 조연골세포로 분화시킨 후 조골세포의 분화를 유도하는 것으로 특정 지어졌으나, 최근 BMP의 활성을 극대화시키기 위한 수단으로 이용되는 전달체의 성상 및 물리화학적 특성에 따라 그 성격이 달라질 수 있음이 보고되고 있다²⁸⁾. 일반적으로 BMP는 이식부의 미분화간엽계 세포에 작용하여 골형성세포로의 분화를 유도하는 것으로 설명되고 있다²⁹⁾. BMP가 반응 세포들에 작용하기 위해 필요한 시간은 약 5시간이 최적이나, 최소 1시간이 요구되며, BMP에 반응된 섬유아세포양 미분화세포의 조연골세포로의 분화는 5일 이내에 이루어지는 것으로 되어 있다³⁰⁾. BMP에 의한 이소성 골형성은 용량 의존적으로 국소부에 많은 양의 BMP가 작용할수록 보다 신속하고 현저한 골형성을 이루게 되며, BMP의 중간 특이성은 없는 것으로 간주되고 있다³¹⁾. BMP의 생리활성을 보다 극대화시키기 위해서는 적절한 전달체와의 복합이 요구된다. 전달체는 생체적합성이 양호해야 함은 물론 미분화 간엽계세포가 골형성세포로 분화 증식을 유도할 수 있도록 BMP를 서서히 지속적으로 방출시켜야 하며, 분화 증식된 세포들에 대한 뼈대 역할을 담당할 수 있어야 하며, 가공 및 성형이 용이해야 한다³²⁾. 현재까지 검토되고 있는 전달체는 ACS(Absorbable Collagen Sponge), demineralized bone matrix¹³⁾, hydroxyapatite, β -TCP(Beta tricalcium phosphate), polyglycolic polymer²⁹⁾, polylactic acid), MBCP(Macroporous biphasic calcium phosphate)²²⁾, FFSS(Fibrin-fibronectin sealing systems)⁷⁾ 같은 물질의 단독 또는 복합적 응용을 들 수 있다.

일반적으로 ACS(Absorbable Collagen Sponge)는 환상의 섬유막과 이들을 연결하는 기는 섬유로 구성되어 있다. 전달체로서의 ACS는 세포접착성이 우수하며, 성형이 용이하며 BMP에 의한 골형성을 임의적으로 조절하기 쉽다. 하지만 재료자체의 성질로 말미암아 공간유지능력이 부족한 단점이 있다. β -TCP는 삼투성이 있는 micropore가 세포의 내부성

장을 활성화시키고, 하부입자들을 촘촘하게 결합시키는 다공성을 가진 osteoconductive한 골대체제이다. β -TCP의 크기는 50~150 μ m, 150~500 μ m, 500~1000 μ m 등으로 다양하다. β -TCP는 입자가 크므로 대식세포의 식작용을 받지 않으면서 모세혈관과 신생골의 생성을 유도할 수 있으며 대체로 3개월에서 24개월의 흡수기간을 거치게 된다. β -TCP는 micropore 안에 BMP를 유지하고 천천히 유리시킬 수 있다. β -TCP는 골이 성장할 수 있는 형태를 유지할 수 있지만, 일정한 형태의 모양을 만드는 성형성은 떨어지는 편이다. MBCP(Macroporous biphasic calcium phosphate)는 구조적으로 사람의 골과 거의 유사하게 70%의 다공성을 가지며, Hydroxyapatite와 β -TCP가 6:4의 비율로 섞여 있어서, Hydroxyapatite가 천천히 흡수되면서 뼈대를 제공하고 β -TCP가 빠르게 흡수되어 골이 생성될 수 있는 공간을 형성할 수 있다. FFSS는 혈액응고과정의 마지막 단계를 모방하여 환자의 응고과정에 관여하여 fibrin clot을 형성한다. FFSS는 상처회복, 지혈, 조직접착 등에 사용된다. Fibrin clot은 골형성세포의 성장, 부착, 이주, 분화 등에 도움을 준다. 임상적으로 fibrin matrix는 신생골형성을 위한 공간을 유지할 수 있다³³⁾. 대부분의 연구에서 채택한 백서두개골 결손부 모델은 8mm의 원형 결손부 모델을 형성한 것인데, 이는 임계크기로서 자발적인 골형성이 일어나기 힘든 크기이고, 양측의 피질골과 사이의 망상골로 이루어져 있어, 생역학적으로 사람의 악골과 비슷한 장점이 있다. 연구논문에서 측정된 신생골형성량은 이식된 전달체내에서 생성된 신생골과 지방골수, 섬유혈관성조직을 합한 부위이다. 신생골형성량은 아무것도 치치하지 않았을 경우, 2주에서 0.2mm², 8주에서 0.3~0.4mm²^{7,17,20)} 정도였고, 2주 때 BMP와 FFSS를 적용하였을 경우 최소 2.1mm²였고, BMP와 ACS를 적용한 경우 3.2mm², BMP에 β -TCP를 사용한 경우 최대 4.6mm²²⁰⁾를 보였다. 8주시엔 BMP에 FFSS를 적용한 경우 최소 3.4mm²⁷⁾였고, 최대가 BMP에 MBCP를 적용시 5.5mm²²²⁾였다. Lee²²⁾의 연구에서 가장 많은 신생골부위가 형성되었는데, 이는 연구에

서 사용된 MBCP의 형태와 관련이 있다. Lee²²⁾의 실험에선 높이 3mm, 원형지름이 8mm인 MBCP block을 사용하여, 다른 실험에서와 다르게 전달체의 공간유지 능력이 확실한 상태였기 때문에 사료된다. 결손부폐쇄량은 2주시 BMP에 ACS를 적용시킨 경우 85.9~98.0%¹⁹⁾을 보였고, BMP와 FFSS를 적용시 89.4%⁷⁾, BMP에 β -TCP를 적용시 96.0%²⁰⁾였다. 8주에선 FFSS를 BMP의 전달체로 사용시 최소 94.0%¹⁷⁾에서 최대 β -TCP를 사용시 100%²⁰⁾의 결과를 보였다. 골밀도는 2주시 BMP에 FFSS를 적용시에 39.1%¹⁷⁾, BMP에 ACS를 적용시 50.2%²¹⁾~60.7%¹⁹⁾, BMP와 β -TCP를 적용한 경우 57.0%²¹⁾~63.9%²⁰⁾였다. 8주시엔 BMP의 전달체로 β -TCP를 적용시 65.5%²¹⁾~73.0%²¹⁾였고, ACS를 적용시 80.7%¹⁹⁾~91.1%²¹⁾, FFSS를 적용시 72.5%¹⁷⁾였다. 골밀도는 신생골부위를 신생골과 지방골수, 섬유혈관성조직을 합한 부위로 나눈 후 100을 곱한 값으로, 골밀도의 경우 전달체로 ACS를 사용한 경우가 β -TCP를 사용한 경우보다 일반적으로 높은 수치가 나왔는데, 이는 ACS가 일찍 흡수되어 신생골로 대체되기 때문에 사료된다. 하지만, ACS는 결손부 형태에 따라 초기 골치유시 연조직의 압력에 의해 공간이 붕괴되는 경우엔 결과가 좋지 못할 수 있고, 반대로 β -TCP는 흡수가 ACS에 비해 늦고, 일정한 공간을 잘 형성할 수 있어 결손부의 형태에 따라 결과는 바뀌어질 수 있을 것으로 사료된다. 실제적으로 이소성 골형성실험에서 BMP의 전달체로 ACS와 β -TCP를 비교한 경우엔, ACS를 적용한 군에선 연조직에 의한 압력으로 ACS가 충분한 공간을 형성치 못하여 2주시보다 많은 양의 골이 8주에서 형성되지 않았지만, 공간이 유지되는 β -TCP의 경우에는 2주보다 8주시 형성된 골의 양이 많았다²³⁾. FFSS는 조작성이 우수한 장점이 있었지만, 다른 전달체와 비교시 신생골형성량, 결손부폐쇄량, 골밀도의 결과가 떨어짐을 확인할 수 있었다. 이에, FFSS의 물성을 개선하고자, β -TCP를 첨가하였을 경우 결손부폐쇄량 및 신생골형성량이 증가하였다⁷⁾. 연구 결과를 종합하였을 경우 전달체로 사용된 ACS, β -TCP, FFSS, FFSS/ β -TCP,

MBCP는 모두 BMP의 전달체로 가능하나, 전달체가 가져야 할 골형태의 재형성이라는 목적에 맞게 재형성, 생체친화성, 성형능력, 공간유지 능력 등이 완전히 갖추어진 전달체는 없었다. 이에 추가적으로 전달체에 관한 연구가 필요하리라 사료된다. 다만 FFSS에 β -TCP를 첨가하여 강도를 보강할 수 있었던 것은 많은 점을 시사한다. 즉 치주질환 등에 의해 국소적인 파괴가 이루어져 수복이 필요하거나, 임플란트를 위한 추가적인 지지골의 재형성이 필요한 경우에 ACS를 적절히 성형시킨 후, 생체친화성이 좋고 성형능력이 좋은 고품 생체재료와 혼합하여 이용함으로써 원하는 강도 및 형태의 골형성을 유도하는 것도 고려해볼직하다.

V. 결론

고도로 정제된 BMP 및 rh-BMP는 체내에서 쉽게 확산되어 소실됨에 따라, BMP가 표적세포에 적절히 작용할 수 있도록 BMP를 서서히 그리고 지속적으로 방출시킬 수 있는 매개체가 요구된다. 이를 전달체(carrier)라 하며, 전달체(carrier)는 BMP와 결합이 잘되고, 생체친화성 또한 양호해야 한다. 본 연구는 연세대학교 치주과학교실에서 발표된 논문과 Pubmed에서 “rat calvarial defect model”, “BMP”를 키워드로 검색시 찾아낸 논문 중 1) 표준화된 백서두개골 결손부 모델에서 실험이 진행된 것, 2) 전달체에 BMP를 적용시킨 것, 3) 조직계측학적 실험결과를 가진 것을 포함 기준으로 삼아 선별해낸 논문을 참고, 분석 후 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. ACS, β -TCP, FFSS, FFSS/ β -TCP, MBCP는 대조군과 비교시 통계학적으로 유의할만큼 골재생이 있었고, 모두 BMP의 전달체로 사용될 수 있다.
2. BMP의 전달체로 ACS를 사용한 경우 골밀도의 결과가 β -TCP, FFSS, FFSS/ β -TCP에 비해 우수했다.
3. BMP의 전달체로 FFSS는 ACS, β -TCP, MBCP

에 비해 골재생능력이 떨어진다. FFSS에 β -TCP를 첨가하여 BMP의 전달체를 사용한 경우는 FFSS에 비해 결손부폐쇄량 및 신생골형성량이 증가하였다.

ACS, β -TCP, FFSS, FFSS/ β -TCP, MBCP는 모두 BMP의 전달체로서, 대조군에 비해 통계적으로 유의할만큼 좋은 결과를 보였다. 그러나 전달체가 가져야 할 골형태의 재형성이라는 목적에 맞게 재형성, 생체친화성, 성형능력, 공간유지 능력 등이 완전히 갖추어진 전달체는 없었고, 이에 추가적인 연구가 필요하리라 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Lindholm TC, Lindholm TS, Marttinen A, Urist MR. Bovine bone morphogenetic protein (bBMP/NCP)-induced repair of skull trephine defects in pigs. Clin Orthop Relat Res 1994(301):263-270.
2. Urist MR, Strates BS. Bone morphogenetic protein. J Dent Res 1971;50(6):1392-1406.
3. Takaoka K, Ono K, Amitani K et al. Solubilization and concentration of a bone-inducing substance from a murine osteosarcoma. Clin Orthop Relat Res 1980 (148):274-280.
4. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. Mol Reprod Dev 1992;32(2):160-167.
5. Rosen V, Thies RS. The BMP proteins in bone formation and repair. Trends Genet 1992;8(3):97-102.
6. Reddi AH, Cunningham NS. Bone induction by osteogenin and bone morphogenetic proteins. Biomaterials 1990;11:33-34.
7. Hong SJ, Kim CS, Han DK et al. The effect of a fibrin-fibronectin/beta-tricalcium phosphate/recombinant human bone mor-

- phogenetic protein-2 system on bone formation in rat calvarial defects. *Biomaterials* 2006;27(20):3810-3816.
8. King GN, Cochran DL. Factors that modulate the effects of bone morphogenetic protein-induced periodontal regeneration: a critical review. *J Periodontol* 2002;73(8):925-936.
9. Wikesjö UM, Guglielmoni P, Promsudthi A et al. Periodontal repair in dogs: effect of rhBMP-2 concentration on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment. *J Clin Periodontol* 1999;26(6):392-400.
10. Kenley R, Marden L, Turek T et al. Osseous regeneration in the rat calvarium using novel delivery systems for recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). *J Biomed Mater Res* 1994;28(10):1139-1147.
11. Gao TJ, Lindholm TS, Kommonen B et al. Enhanced healing of segmental tibial defects in sheep by a composite bone substitute composed of tricalcium phosphate cylinder, bone morphogenetic protein, and type IV collagen. *J Biomed Mater Res* 1996;32(4):505-512.
12. Laffargue P, Hildebrand HF, Raimate M et al. Evaluation of human recombinant bone morphogenetic protein-2-loaded tricalcium phosphate implants in rabbits' bone defects. *Bone* 1999;25(2 Suppl):55S-58S.
13. Sigurdsson TJ, Nygaard L, Tatakis DN et al. Periodontal repair in dogs: evaluation of rhBMP-2 carriers. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996;16(6):524-537.
14. Choi SH, Kim CK, Cho KS et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2/absorbable collagen sponge (rhBMP-2/ACS) on healing in 3-wall intrabony defects in dogs. *J Periodontol* 2002;73(1):63-72.
15. Kawamura M, Urist MR. Human fibrin is a physiologic delivery system for bone morphogenetic protein. *Clin Orthop Relat Res* 1988(235):302-310.
16. Wu CH, Hara K, Ozawa H. Enhanced osteoinduction by intramuscular grafting of BMP-beta-TCP compound pellets into murine models. *Arch Histol Cytol* 1992;55(1):97-112.
17. Han DK, Kim CS, Jung UW et al. Effect of a fibrin-fibronectin sealing system as a carrier for recombinant human bone morphogenetic protein-4 on bone formation in rat calvarial defects. *J Periodontol* 2005;76(12):2216-2222.
18. Ahn SH, Kim CS, Suk HJ et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-4 with carriers in rat calvarial defects. *J Periodontol* 2003;74(6):787-797.
19. Hyun SJ, Han DK, Choi SH et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2, -4, and -7 on bone formation in rat calvarial defects. *J Periodontol* 2005;76(10):1667-1674.
20. Jung UW, Choi SY, Pang EK et al. The effect of varying the particle size of beta tricalcium phosphate carrier of recombinant human bone morphogenetic protein-4 on bone formation in rat calvarial defects. *J Periodontol* 2006;77(5):765-772.
21. Pang EK, Im SU, Kim CS et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-4 dose on bone formation in a rat calvarial defect model. *J Periodontol* 2004;75(10):1364-1370.
22. Lee YJ, Jung SW, Chae GJ, Cho KS, Kim CS The effect of recombinant human bone

- morphogenetic protein-2/macroporous bi-phasic calcium phosphate block system on bone formation in rat calvarial defects. *대한치주과학회지* 2007;37(2(Suppl.)):397-408.
23. Kim CS, Kim JI, Kim J et al. Ectopic bone formation associated with recombinant human bone morphogenetic proteins-2 using absorbable collagen sponge and beta tricalcium phosphate as carriers. *Biomaterials* 2005;26(15):2501-2507.
 24. Kim CS, Choi SH, Choi BK et al. The effect of recombinant human bone morphogenetic protein-4 on the osteoblastic differentiation of mouse calvarial cells affected by *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol* 2002;73(10):1126-1132.
 25. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res* 1986(205):299-308.
 26. Groeneveld EH, Burger EH. Bone morphogenetic proteins in human bone regeneration. *Eur J Endocrinol* 2000;142(1):9-21.
 27. Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors* 2004;22(4):233-241.
 28. Kuboki Y, Saito T, Murata M et al. Two distinctive BMP-carriers induce zonal chondrogenesis and membranous ossification, respectively; geometrical factors of matrices for cell-differentiation. *Connect Tissue Res* 1995;32(1-4):219-226.
 29. Miyamoto S, Takaoka K, Ono K. Bone induction in monkeys by bone morphogenetic protein. A trans-filter technique. *J Bone Joint Surg Br* 1993;75(1):107-110.
 30. Scott CK, Hightower JA. The matrix of endochondral bone differs from the matrix of intramembranous bone. *Calcif Tissue Int* 1991;49(5):349-354.
 31. Sampath TK, Reddi AH. Importance of geometry of the extracellular matrix in endochondral bone differentiation. *J Cell Biol* 1984;98(6):2192-2197.
 32. Sampath TK, Muthukumaran N, Reddi AH. Isolation of osteogenin, an extracellular matrix-associated, bone-inductive protein, by heparin affinity chromatography. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84(20):7109-7113.
 33. Pini Prato GP, Cortellini P, Clauser C. Fibrin and fibronectin sealing system in a guided tissue regeneration procedure. A case report. *J Periodontol* 1988;59(10):679-683.

The Analysis of Bone regenerative effect with carriers of bone morphogenetic protein in rat calvarial defects

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

Department of periodontology, Research institute for periodontal Regeneration,
College of Dentistry, Yonsei University

Bone morphogenetic proteins have been shown to possess significant osteoinductive potential, but in order to take advantage of this effect for tissue engineering, carrier systems are essential. Successful carrier systems must enable vascular and cellular invasion, allowing BMP to act as a differentiation factor. The carrier should be reproducible, non-immunogenic, moldable, and space-providing, to define the contours of the resulting bone. The purpose of this study was to review available literature, in comparing various carriers of BMP on rat calvarial defect model. The following conclusions were deduced.

1. Bone regeneration of ACS/BMP, β -TCP/BMP, FFSS/BMP, FFSS/ β -TCP/BMP, MBCP/BMP group were significantly greater than the control groups.
2. Bone density in the ACS/BMP group was greater than that in β -TCP, FFSS, FFSS/ β -TCP carrier group.
3. Bone regeneration in FFSS/BMP group was less than in ACS/BMP, β -TCP/BMP, MBCP/BMP group. However, New bone area of FFSS/ β -TCP/BMP carrier group were more greater than that of FFSS/BMP group.

ACS, β -TCP, FFSS, FFSS/ β -TCP, MBCP were used for carrier of BMP. However, an ideal carrier which was reproducible, non-immunogenic, moldable, and space-providing did not exist. Therefore, further investigation are required in developing a new carrier system.

Key words : Bone morphogenetic protein, carrier, rat calvarial defect model