대한척추외과학회지 제 12 권 제 1 호
Journal of Korean Spine Surg.
Vol. 12, No. 1, pp 1~11, 2005

가토 요추 후외방 유합술을 이용한 $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$계 결정화 유리 다공체의 골유합 연구

이재협[#] · 박건우 · 송광섭 · 류현승[§] · 서준혁[§] · 김 환[§] · 홍국선[§] · 장봉순 · 이춘기

서울대학교 의과대학 정형외과학교실, 가천의과대학교 정형외과학교실[#],
서울대학교 공과대학 재료공학부[§]

Evaluation of Osteosynthesis in $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$ Glass-ceramics by Posterolateral Fusion of Rabbit Lumbar vertebrae

Jae Hyup Lee, M.D.[#], Kun-Woo Park, M.D., Kwang Sup Song, M.D., Hyun-Seung Ryu, Ph.D.[§], Jun-Hyuk Seo, M.E.[§], Kug Sun Hong, Ph.D.[§], Hwan Kim, Ph.D.[§], Bong-Soon Chang, M.D., Choon-Ki Lee, M.D.

Department of Orthopedic Surgery, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea
Department of Orthopedic Surgery, Gachon Medical School, Incheon, Korea[#]
School of Materials Science & Engineering, Seoul National University, Seoul, Korea[§]

– Abstract –

Study Design: A comparative in vivo study between ceramics with different compositions.
Objectives: To compare the biodegradation and osteoconduction properties of $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$ glass-ceramics and Cerabone®-AW.
Summary of Literature Review: Bioglass ceramics can be used as bone graft substitutes. However, no study has been undertaken to investigate the possibility of $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$ glass-ceramics as a bone graft substitute.
Materials and Methods: Porous CSPB2 implants (44.07% CaO, 40.28% SiO_2, 8.1% P_2O_5 and 5.0% B_2O_3), porous CSPB3 implants (43.76% CaO, 43.41% SiO_2, 4.05% P_2O_5 and 7.5% B_2O_3) and porous Cerabone®-AW were prepared by the polymer sponge method. Single-level posterolateral spinal fusions were performed on sixty New Zealand white male rabbits. The animals were divided into four groups (9 of autograft, 17 per 3 kind of porous implant group) according to the implant material used: autograft, CSPB2, CSPB3 and Cerabone®-AW. Radiographs were performed every two weeks. All animals were sacrificed 12 weeks after surgery. Manual palpation and uniaxial tensile strength were determined. The proportion of the area occupied by the ceramics in the final compared to the initial radiographs was calculated. Decalcified and undecalcified histological sections were evaluated by light microscopy.
Results: Fifty one rabbits were evaluated. The union rates were 100 (9 out of 9), 80 (8 out of 8), 81.1 (9 out of 11) and 90.9% (10 out of 11) in the autograft, Cerabone®-AW, CSPB2 and CSPB3 groups, respectively. The proportion of the area occupied by Cerabone®-AW (90.8%±14.0) was significantly higher than for CSPB2 (73.1%±11.5) and CSPB3 (73.5%±10.0)($p=0.0011$). The mean values of the tensile strengths of Cerabone®-AW (214.±57.3N), CSPB2 (214.±57.3 N) and CSPB3 (217±70.1 N) were not significantly different ($p>0.05$).
Conclusion: CSPB2 and CSPB3 had similar tensile strengths and fusion rates of the fusion masses as those of Cerabone®-AW; however, they degraded more rapidly than Cerabone®-AW. These findings suggest that CSPB2 and CSPB3 grafts can be used as a more ideal new bone graft substitutes than Cerabone®-AW.

Key Words: $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$ glass-ceramics, A-W glass-ceramics, Biodegradation, Osteoconductivity, Bone graft substitute

Address reprint requests to
Choon-Ki Lee, M.D.
Department of Orthopaedic Surgery, Seoul National University College of Medicine,
28 Yongon-dong, Chongno-gu, Seoul 110-774, Korea
Tel: 82-2-2072-2360, Fax: 82-2-764-2718, E-mail: choonki@plaza.snu.ac.kr

* 본 논문의 요지는 2003년도 대한척추외과학회 추계학술대회에서 발표되었음.
* 본 논문은 산업자원부 차세대 신기술개발사업의 지원(#N11-A08-1402-08-1-3)을 받아 이루어졌음.

서 론

자가골을 대체할 골이식재를 찾기 위해 지난 수십 년간 광범위한 연구가 진행되어 왔다. 골이식재의 역할은 초기에 골 결손부를 채우고 최종적으로 자가골로 대체되는 것인데[1] 이러한 기대를 충족시키기 위해서 골이식재는 생체활성과 골전도능이 있고 생체분해성이 있어야(biodegradable) 한다.

Hench 등은 1971년에 Na_2O-CaO-SiO_2-P_2O_5계로 이루어진 유리가 생체골과 강한 화합적 결합을 하는 것을 최초로 밝혀냈으며[2-4], CaO-SiO_2-P_2O_5계나 CaO-SiO_2계 유리에서도 생체골과 직접 결합하는 현상이 확인되어 이러한 유리들을 일반적으로 생체활성 유리(bioactive glass)라고 부른다. 실제 생체골의 무기성분인 수산화아파타이트(hydroxyapatite, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, HA)를 포함한 칼슘(Ca)과 인(P)으로 이루어진 인산칼슘계 세라믹스(calcium phosphate-based ceramics)도 생체골과 직접 결합하는 생체활성 물질이며 다공체로 제조될 경우 골전도성이 매우 뛰어난 재료로 알려져 있다. 그러나 생체활성이 생체활성 유리에 비해 떨어지며 기계적 강도가 금속이나 알루미나, 지르코니아에 비해 떨어져 이 재료도 완전한 인공골 재료로 쓰이지 못하고 부분적으로 기계적 응력이 걸리지 않는 골결손 부위에 골충진제로 쓰이거나 금속이식체 표면 코팅에 사용되고 있다. 생체활성 유리와 수산화아파타이트 세라믹스의 장점을 살린 재료로 등장한 것이 바로 아파타이트-월라스토나이트계 결정화 유리(Apatite-wollastonite glass-ceramics, A-W 결정화 유리) 이다. 1982년 Kokubo에 의해 개발된 A-W 결정화 유리(Cerabone®-AW)는 현재까지 개발된 생체활성 세라믹스 중에서 기계적 강도가 가장 우수한 재료이다[5]. 이 A-W 결정화 유리는 조성이 CaO-SiO_2-P_2O_5이고 월라스토나이트($CaSiO_3$), 아파타이트, 유리의 3상으로 되어 있으며 굽힘강도가 215 MPa, 파괴인성이 2.0 MPa・$m^{1/2}$로 어느 정도 기계적 강도가 요구되는 인공골로 적용될 수 있다. 그러나 이 조성의 결정화 유리는 체내에서 흡수가 거의 되지 않기 때문에 계면에서 골 결합은 가능하나 골이 성장할 유효 공간이 확보되지 않기 때문에 더 이상 골결합이 진행되지 않는다. 따라서 생체 용해성의 개선이 필요하다. 최근에는 이들 생체활성 세라믹스의 완전한 골대체를 위하여 기존 생체활성 세라믹스의 생체용해성을 증진시키는 연구가 활발히 이루어지고 있다. 생체 내에서 흡수가 거의 이루어지지 않는 수산화아파타이트(HA)와 생체 내에서 흡수가 매우 빨리 일어나는 삼인산칼슘($Ca_3(PO_4)_2$, TCP)을 복합화하는 것이 대표적인 예이다. 생체흡수성과 골전도능을 모두 가진 골이식재를 개발하기 위해 저자들은 생체활성의 필수성분인 CaO와 SiO_2를 기본 조성으로 하고 약간의 B_2O_3를 포함하는 CaO-SiO_2-B_2O_3계 결정화 유리를 제조하여 B_2O_3의 조성비에 따른 생체활성과 기계적 강도의 변화를 연구한 바 있다[6,7]. 이 연구에서, B_2O_3의 조성비가 4.2 mol%를 CS5B, 8.4 mol%를 CS10B라 한 후 기계적 강도와 in vitro법으로 의사체액(simulated body fluid)을 이용하여 생체활성을 측정한 결과 CS10B가 Cerabone®-AW보다 우수한 기계적 강도를 보였고, B_2O_3의 비율이 높을수록 생체활성이 뛰어나다는 것을 확인하였다[7]. 또한, 가토 요추 후외방 유합술을 이용하여 본 연구에서와 마찬가지로 생체분해성과 골 유합능에 대해 수산화아파타이트와 삼인산 칼슘을 대조군으로 하여 CS10B를 비교한 결과, CS10B가 수산화아파타이트와 유사한 정도의 인장강도를 지니면서 수산화아파타이트나 삼인산 칼슘보다 생체 분해성이 뛰어나 새로운 골대체재로서의 가능성을 확인하였다[6]. 그러나, CS10B의 생체 분해 속도가 너무 빨라 조성의 개선을 통하여 분해속도는 늦추면서 골유합력은 향상시킬 필요가 대두되었다. 따라서 본 연구에서는, 골전도능은 뛰어나나 생체분해성이 떨어지는 Cerabone® A-W결정화 유리의 조성(CaO-SiO_2-P_2O_5)과 생체분해성이 높으면서 골유합능도 있는 CaO-SiO_2-B_2O_3계 결정화 유리의 혼합 조성을 CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3의 4 성분계로 폴리머 스폰지법을 이용하여 제조하고 유합률과 인장강도 및 생체분해성을 평가하고자 한다.

연구대상 및 방법

1. Cerabone® A-W 유리 및 CaO-SiO-P_2O_5-B_2O_3 결정화 유리의 제조

유리를 형성하기 위한 원료는 99.9% 이상 순도의 SiO_2, $CaCO_3$, $CaHPO_4・2H_2O$, H_3PO_4, MgO, CaF_2를 사용하여 CaO 44.9 wt%, SiO_2 34.2 wt%, P_2O_5 16.3 wt%, MgO 4.6 wt%, CaF_2 0.5 wt% 조성의 200 g을 batch 하였다. Batch 된 시료를 무수메탄올을 용매로 24 시간 동안 ball mill 한 후 건조하였다. 건조된 시료를 백금 도가니에 충진하여 1500~1600℃에서 2 시간 용융시킨 뒤 물이 담긴 수조에 부어 급랭시켜 유리를 제조하였고 이렇게 제조된 유리를 spex milling을 이용하여 15시간 동안 분쇄하여 약 1~2 ㎛의 유리 분말을 제조한 후 Cerabone® A-W 형 유리를 직접 제조하였다.

또한, 고순도의 $CaCO_3$ (high purity chemical, 99.99%, Japan), SiO_2 (high purity chemical, 99,9%, Japan), B_2O_3 (high purity chemical, 99.9%, Japan)를 사용하였으며, CaO-SiO_2-B_2O_3의 조성 중에 몰비로 45.7% CaO, 45.7%

SiO_2, 8.6%의 B_2O_3를 함유하는 조성을 선택하여 CS10B로 명명하고 유리분말을 만든 후 다공체를 제조하였다. CSPB2는 Cerabone®-AW와 CS10B를 1:1 함유한 조성으로, CaO 44.07 wt%, SiO_2 40.28 wt%, P_2O_5 8.1 wt%, B_2O_3 5 wt%, MgO 2.3 wt%, CaF_2 0.25 wt% 로 구성된다. CSPB3는 Cerabone®-AW와 CS10B를 1:3 함유한 조성으로, CaO 43.76 wt%, SiO_2 43.41 wt%, P_2O_5 4.05 wt%, B_2O_3 7.5 wt%, MgO 1.15 wt%, CaF_2 0.13 wt%로 구성된다.

Cerabone® A-W, CSPB2 그리고 CSPB3를 1450℃에서 2시간 유지하여 용융시키고 급랭하여 유리분말을 제조한 후 스폰지형 다공체 제조를 위한 스폰지 함침용 슬러리는 polyvinyl alcohol (PVA)과 유리분말을 혼합하여 제조하였다. 제조된 슬러리는 적당한 크기(4×5 cm^2)의 스폰지 4개를 한번에 10 g을 사용하여 3회 함침 시키고 내부와 외부가 고르게 함침 되도록 한 다음 함침액이 건조되기 전에 에어 건을 사용하여 막힌 기공을 가능한 한 뚫어주었다. 이런 방법으로 만들어진 성형체를 공기 중에 건조시키고 600℃에서 스폰지를 태운 후 소결하여 스폰지형 다공체를 제조하였다.

2. 생체 이식

1) 이식 대상 및 실험군

실험동물로는 무게 3.0~3.5 kg인 뉴질랜드 수컷가토 60마리를 대상으로 하였다. 실험에 들어가기까지 최소 2주 이상의 적응기를 두며 상기 기간 동안에 건강상태를 관찰하여 건강한 동물만 실험에 사용하였다. 총 60마리의 가토를 4개 군으로 나누어 자가골 이식군 9마리, Cerabone® A-W 삽입군 17마리, CSPB2 삽입군 17마리, CSPB3 삽입군 17마리로 배정하였다. 동 연구소 내 동물사육실에서 사육하였고, 사료로서는 고형 압축사료를, 식수로는 수돗물을 사용하였으며 기타 사육 조건은 모든 가토에서 동일하게 유지하였다.

2) 이식 방법

케타라®(ketamine hydrochloride 50 mg/ml, 유한양행, 대한민국)와 럼푼®(xylazine hydrochloride 23.32 mg/ml, 바이엘코리아, 대한민국)으로 전신 마취를 하고, 후배부의 털을 깎은 후, 10% betadine 용액으로 소독하여 무균조작하에서 수술을 시행하였다. 양측 제 5-6요추체의 후관절을 중심으로 극돌기를 따라 약 4 cm의 종절개를 가하고, 근막이 노출된 이후에는 서로 다른 절개를 통한 후외방 도달법으로 양측 제 5,6요추의 횡돌기를 노출시켰다[8,9]. Ø 4.0 mm의 절삭 도구(burr)로 노출된 횡돌기들의 후방 피질골을 제거하고, 항생제를 포함한 생리 식염수로 세척하여 골 파편을 제거하였다. 양측에 각각 약 3 cc의 세라믹스를 상하 횡돌기가 연결되도록 이식한 후 근막과 피부를 층층히 봉합하였다. 수술 직후 항생제로 세파졸린 0.25 g을 근육 주사한 후 고정 없이 사육장내에서 자유롭게 활동하게 하였고 술 후 3일간 세파졸린 0.25 g을 근육 주사하였다.

3) 희생 및 평가

술 후 제 12주에 모든 실험동물을 공기 색전법(air embolization)으로 희생하여 제 5-6요추체 전부와 양측 유합체(fusion mass)를 파손되지 않도록 주의하여 채취하였다. 각 군당 1례는 비탈석회화 광학 현미경 검사를 시행하기 위해 이식체를 포함한 경골 조직을 포르말린 용액에 고정하였고, 나머지 시편은 생역학적 검사를 위해 근육과 인대, 디스크 조직을 완전히 제거하여 시편에 의한 횡돌기간 유합체만 연결되게 조직처리를 하였다.

a. 육안적 관찰 및 촉진

12주에 희생 후 유합체에서 다공체와 골과의 결합 양상 및 유합 여부를 도수촉진 하였다.

b. 단순 방사선 검사 및 방사선형태학적 검사

수술 직후 및 술 후 매 2주마다 흉요천추부의 후전방 단순 방사선 검사를 동일한 조건(튜브와 카세트거리 60 cm, 45 kV, 2.5 mA, 12 milleseconds)으로 시행하여 다공체의 용해와 신생골 생성 및 골유합 정도를 관찰하였다. 특히 생체분해성을 평가하기 위해 단순 방사선 사진을 스캔한 후 수술 직후 각 다공체가 차지하는 면적과 12주 추시 단순 방사선 검사시에 다공체가 차지하는 면적을 Image-Pro® Plus (Media Cybernetics, USA) 프로그램을 이용하여 방사선형태학적으로 계산하여 그 비율을 계산하였다(Fig. 1).

c. 인장 검사

다공체에 의한 유합체의 골결합력을 평가하고자 유합여부에 상관없이 각 군에서 체취한 시편을 생리 식염수에 적신 거즈에 싸서 영하 70℃에서 급속 냉동하여 보관하였다. 이후 상온에서 약 4시간에 걸쳐 서서히 해동 후 유합체를 제외하고는 척추체간 연결 구조물이 없도록 전, 후 종인대와 극돌기간 인대, 황색 인대, 후관절막 및 추간판을 완전히 절단하였다. 유합체를 둘러싸고 있는 섬유막도 가능한 한 완전히 제거하였다. 시상면 방향으로 상, 하 척추체의 중심을 통과하도록 볼트 나사못을 삽입한 후 미리 제작된 고정 기구를 각 추체에서 동일한 간격으로 설치하였다. 척추체를 핀 고정부의 중심에 위치시키고 고정 기구를 쇠사슬에 연결하여 가능한 한 전후방에 고르게 인장력이 작용하여 회전 응력(rotational

stress)이 가해지지 않도록 하였다. 이 쇠사슬을 Instron Instron 8500, Instron corporation, USA)에 연결하여 유합체의 종축 방향으로 인장 검사를 시행하는데, 저항이 급격히 줄어드는 시점의 부하(Kgf)를 파단점(break point)으로 정하였다.

d. 조직학적 검사

탈석회화 광학 현미경 검사를 위해서는 5% 질산 용액에 4일간 담가 탈석회화하고 파라핀에 포매하여 block을 만들었다. 이 block을 유합체와 평행하게 종단으로 유합체와 횡돌기를 포함하도록 4㎛ 두께로 절단하여 Hematoxylin and Eosin (H & E)으로 염색한 후 광학 현미경하에서 골과 이식체 사이의 골유합 정도와 양상 및 유합체 표면의 변화를 관찰하였다. 또한 유합체 내의 각 부위별로 이식체, 신생골, 연부 조직 등으로 구분하여 골성장의 정도를 판독하였다. 비탈석회화 광학 현미경 검사를 위해서는 탈수 과정 후 methylmethacrylate로 포매(embedding)하였으며 다이아몬드 톱을 사용, 마찬가지로 골-이식체 접합면에 수직으로 절단하고 H & E 염색을 하여 슬라이드를 제작하였다.

e. 통계적 분석

도수 촉진에 의한 유합률은 Fisher's exact test로 분석하였고, 삽입한 다공체 면적에 대한 방사선 사진의 형태학적 분석과 인장검사 결과는 Kruskall-Wallis 검정에 의한 비모수적 방법을 통한 분석을 하였으며, $p<0.05$인 경우 통계적 의의가 있다고 판정하였다.

결 과

1. 육안적 관찰 및 촉진

총 60마리 중 사망하거나 감염소견을 보인 가토를 제외하고 총 51마리에 대해 평가하였다. Cerabone® A-W를 이식한 군은 다공체가 거의 녹지 않고 다공구조도 유지하고 있었으며 처음 이식한 다공체 사이로 결합이 이루어졌으며, CSPB2나 CSPB3도 다공체가 기공을 유지하면서 유합체가 단단하게 형성되었다. 자가골을 이식한 군은 이식골이 위-아래 횡돌기 및 척추체와 완전히 유합되었고, 재형성 과정을 거쳐 하나의 뼈를 형성하였다.

유합체 주위의 전, 후 종인대와 극돌기간 인대, 황색인대, 후관절막 및 추간판을 완전히 절단하고 유합체를 둘러싸고 있는 섬유막도 가능한 한 완전히 제거한 상태에서 위,아래 횡돌기 사이에 움직임을 도수 촉진한 결과, 자가골 이식군은 9마리 중 9마리(100%)에서 유합되었고, Cerabone® A-W를 이식한 군에서는 10마리 중 8마리(80%)에서 유합되었으며, CSPB2를 이식한 군은 11마리 중 9마리(81.8%)에서 유합되었고, CSPB3를 이식한 군은 11마리 중 10마리(90.9%)에서 유합되어 이식한 4

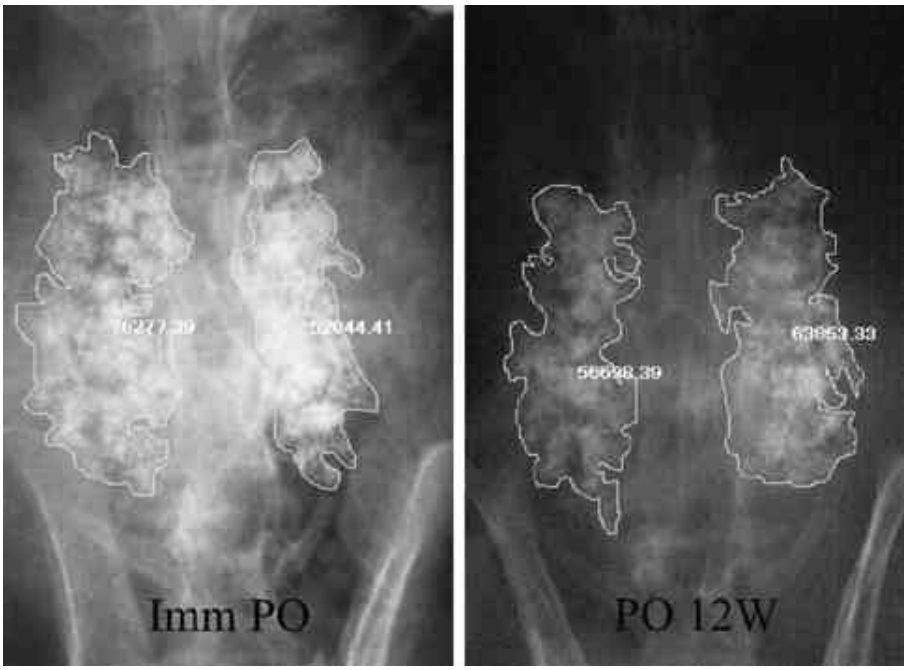

Fig. 1. The calculation process using Image-Pro® Plus (Media Cybernetics, USA). Left: Immediate postoperative radiograph, Right: postoperative 12 weeks radiograph.

군의 유합률의 차이에 통계적 의의는 없었다($p>0.05$) (Table 1).

2. 단순 방사선 검사 및 방사선형태학적 검사

자가골 이식군에서는 술 후 6주 경부터 이식한 자가골 편 사이에 방사선 투과성 공백의 음영이 증가하기 시작하여 12주에는 비교적 균일한 밀도를 보이는 골성 유합체의 음영을 형성하였다. 그러나 이식시 피질골이 혼합되어 있던 부위에서는 그 강도가 점차 낮아지기는 하여도 12주까지 피질골 음영이 잔존해 있었다(Fig. 2). Cerabone® A-W를 이식한 군은 시간에 따른 방사선학적 차이는 거의 없었고, 다공체의 방사선 비투과성도 이식 직후와 술 후 12주를 비교하면 거의 차이가 없었다. 유합 술 후 12주까지 다공체의 경계부 음영에 별 변화가 없이 유합이 이루어 졌다. 유합체 내의 다공체들 사이에 방사선 투과성 영역이 12주가 되면서 비투과성 영역으로 바뀌는 것으로 골성 유합의 소견을 시사하였다(Fig. 3). CSPB2를 이식한 군도 Cerabone® A-W와 마찬가지로 시간에 따라 다공체의 비투과성에 큰 차이는 없었다. 그러나, 전체적으로 12주가 되면서 초기에 삽입한 면적에 비해서 유합체의 면적이 다소 줄어든 양상이었다. 유합은 만족스럽게 이루어 졌으며, 유합체 내에서 다공체 사이에 방사선 비투과성 영역이 있는 것으로 보아 골결합이 이루어 진 것으로 사료된다(Fig. 4). CSPB3를 이식한 군은 CSPB2를 이식한 군과 방사선학적으로 큰 차이가 없었다(Fig. 5). 이식한 세라믹스의 투과성은 이식 초기나 12주째나 비슷한 정도의 비투과성을 보였고, 유합체의 면적은 삽입초기에 비해 12주째 다소 감소한 양상이었다. 삽입 초기에 일부 떨어져 있던 다공체들은 시간이 경과하면서 점차 사라지는 양상을 보여 어느 정도 흡수되는 것을 시사하였다. 유합체 내의 다공체는 주위 정상조직과 접하는 부위에서 경계부 음영이 모호해지는 소견이 관찰되었으며, 다공체들 사이에도 방사선 비투과성 영역이 관찰되는 것으로 유합을 시사하는 소견으로 사료된다. 이식한 다공체 자체의 비투과성은 삽입초기

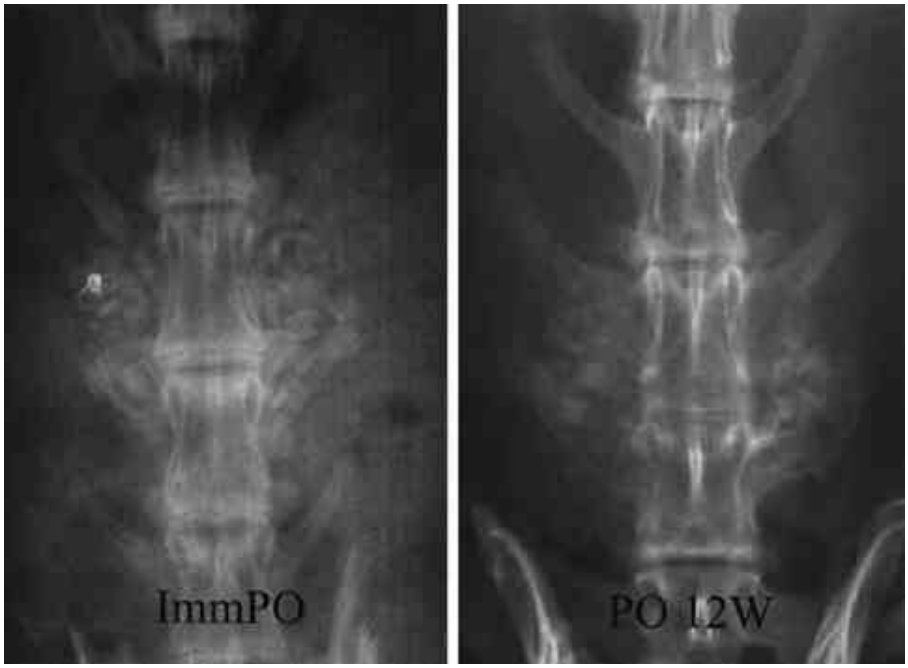

Fig. 2. Posteroanterior radiographs of a rabbit in the autograft group. At 12 weeks, homogeneous fusion masses were formed.

Table 1. Summary of fusion rate, radiomorphometric of lumbar intertransverse process fusions, and ultimate tensile strength.

	Fusion rate (%)	Proportion of area occupied by ceramics in final X-ray (%)	mean tensile strength (N)
Cerabone-AW	80	90.8±14.0[a]	214.±57.3
CSPB2	81.8	73.1±11.5[aa]	217±66.1
CSPB3	90.9	73.5±10.0[aa]	217±70.1

[a] & [aa] Indicate statistically different data by Kruskall-Wallis test, $p<0.05$

와 비교하여 큰 차이가 없었다(Fig. 4,5).

수술 직후 각 다공체가 차지하는 면적에 대한 12주 추시 단순 방사선 검사시의 다공체 면적비는, Cerabone® A-W군은 90.8%±14.0, CSPB-2군은 73.1%±11.5, 그리고 CSPB-3군은 73.5%±10.0으로, Kruskall-Wallis 검정에 의한 비모수적 방법을 통한 통계 분석에서, CSPB2군과 CSPB3B 군이 Cerabone® A-W군에 비해 유의하게 면적비가 낮았다(p=0.0011)(Table 1).

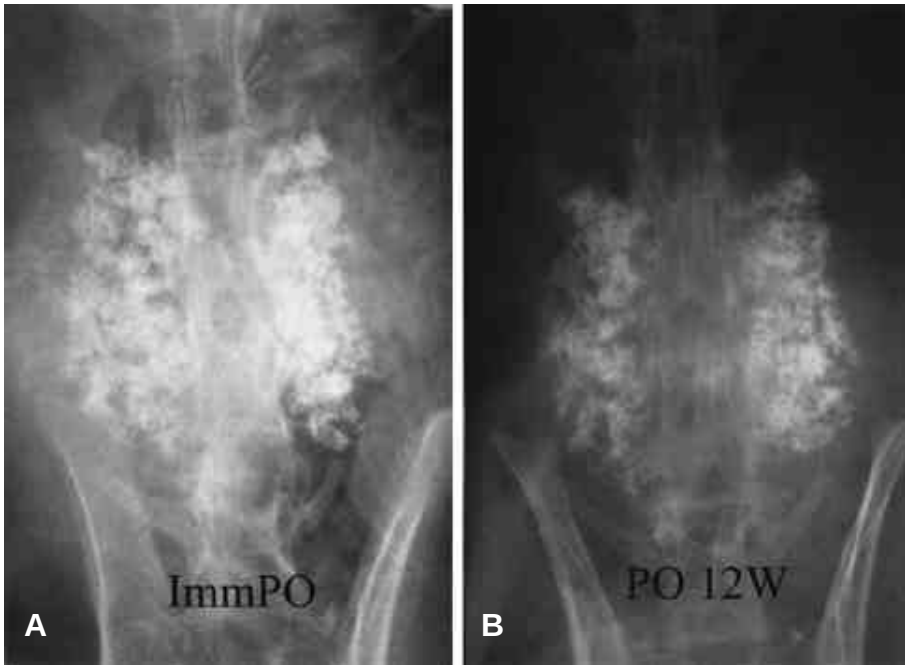

Fig. 3. Posteroanterior radiographs of a rabbit in the Cerabone® A-W group. At 12 weeks, fusion masses seemed to be formed, but the porous structure of the graft was maintained. The proportion of the area occupied by Cerabone® A-W in final radiograph over the area occupied by ceramics in the initial radiograph was almost the same. (**A**) Immediate postoperative, (**B**) postoperative 12 weeks.

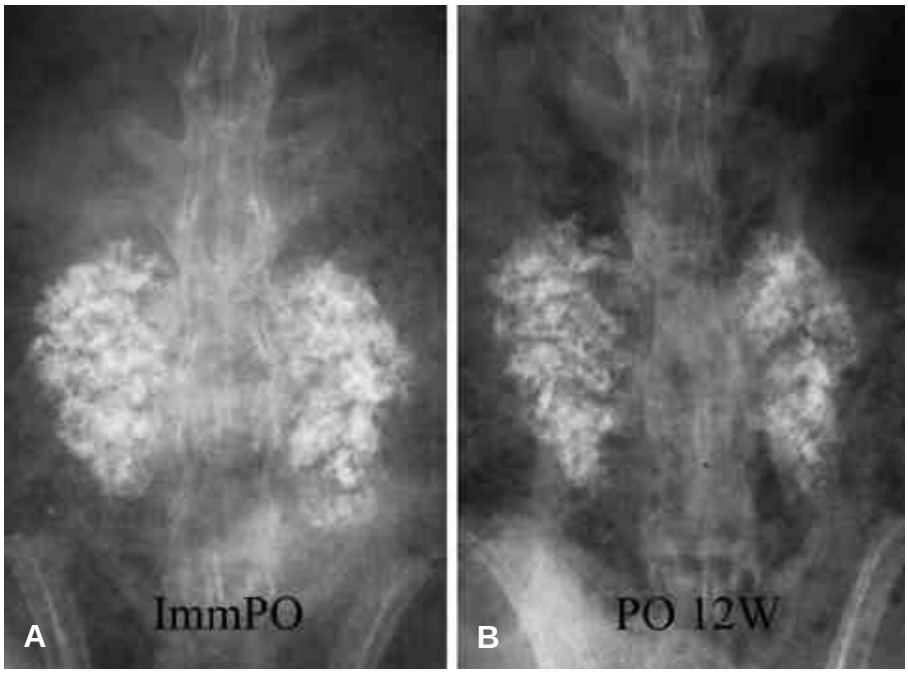

Fig. 4. Posteroanterior radiographs of a rabbit in the CSPB2 group. (**A**) Immediate postoperative, (**B**) postoperative 12 weeks.

3. 인장검사

인장검사 결과, Cerabone® A-W**다공체는** 214.±57.3N, CSPB-2 **다공체는** 217±66.1N, CSPB-3 **다공체는** 217±70.1N**이었다. 세 군의 인장력은** CS10B **폴리머 스폰지에 비해 높았으나 유의한 차이는 없었다.** Kruskall-Wallis **검정에 의한 비모수적 방법을 통한 통계 분석에서 이들 군 사이에통계적으로 유의한 차이를보이지않았다**(Table 1).

4. 조직학적 검사

조직학적 관찰 소견은 방사선검사 결과와 일치하였다. Cerabone® A-W**와** CSPB2, CSPB3**를 이식한 군 모두에서 만족할 만한 골전도 양상을 확인하였다.** Cerabone® A-W**를 이식한 군은, 저배율 소견 상 다공체의 기공구조가 전체적으로 잘 유지되고 있으며, 기공 벽의 두께도 삽입전과 비교해서 차이가 없었고 골과 접한 다공체의 표면은 원래의 모양을 잘 유지하고 있었다. 골조직이 다공체의 주변부로부터 기공으로 자라 들어와 기공내에 공간을 채웠고,** Cerabone® A-W**의 주변부에도 골과 결합을 이루었다. 또한, 고배율에서** Cerabone® A-W **다공체의 기공면에 접한 골조직은 섬유성 조직이나 염증 소견 없이 세라믹 표면과 직접 결합하는 양상이었고, 기공을 채운 골조직의 성숙화와 재형성이 관찰되었다**(Fig. 6). CSPB2**를 이식한 군은, 저배율 소견 상** Cerabone® A-W **를 이식한 군과 유사하게 다공체의 기공구조가 전체적으로 잘 유지되고 있었고, 세라믹의 표면을 따라 주위로부터 골조직이 자라 들어와서 기공 속까지 골조직의 성장을 관찰할 수 있었다. 기공 벽의 두께는 삽입전과 비교해서 큰 차이가 없었고 골과 접한 다공체의 표면은 원래의 모양을 잘 유지하고 있었다. 세라믹의 음영이** Cerabone® A-W**의 경우 짙은 검정이었는데 비해** CSPB2**는 주변부의 음영이 다소 옅어져서 골과 접하는 부위에 가까울수록 갈색을 나타냈다. 또한, 고배율에서** CSPB2 **다공체의 기공면에 접한 골조직은** Cerabone® A-W**에서와 마찬가지로 섬유성 조직이나 염증 소견없이 세라믹 표면과 직접 결합하는 양상이었고, 기공을 채운 골조직에서 골세포가 동심원 배열을 하면서 성숙화와 재형성이 일어나는 것이 관찰되었다**(Fig. 7). CSPB3**를 이식한 군은 세라믹 시편의 음영이 더욱 감소하였고, 염색에 의해 분홍색 계통의 부분과 녹색 계통의 부분이 경계 지어지면서 분홍색 계통의 세라믹 시편이 세락믹의 주변부에 있는 관계로 골조직과 결합이 이루어졌다. 저배율 소견 상 다공체의 기공구조가** Cerabone® A-W**에 비해 다소 흐트러지면서 기공 사이의 벽이 서로 교통하는 부분이 관찰되었으며 이는 벽이 흡수되는 것을 시사하였다. 골과의 결합은** Cerabone® A-W, CSPB2**와 유사한 상태로 세라믹의 표면을 따라 주위로부터 골조직이 자라 들어와서 기공 속까지 골조직의 성장을 관찰할 수 있었다. 골과 접한 다공체의 표면은 원래의 모양에 비해 경계부의 예리한 부분이 녹아있고 기공의 모양도 원형부분에 요철이 생기면서 요부에 골조직이 결합한 양상이었다. 고**

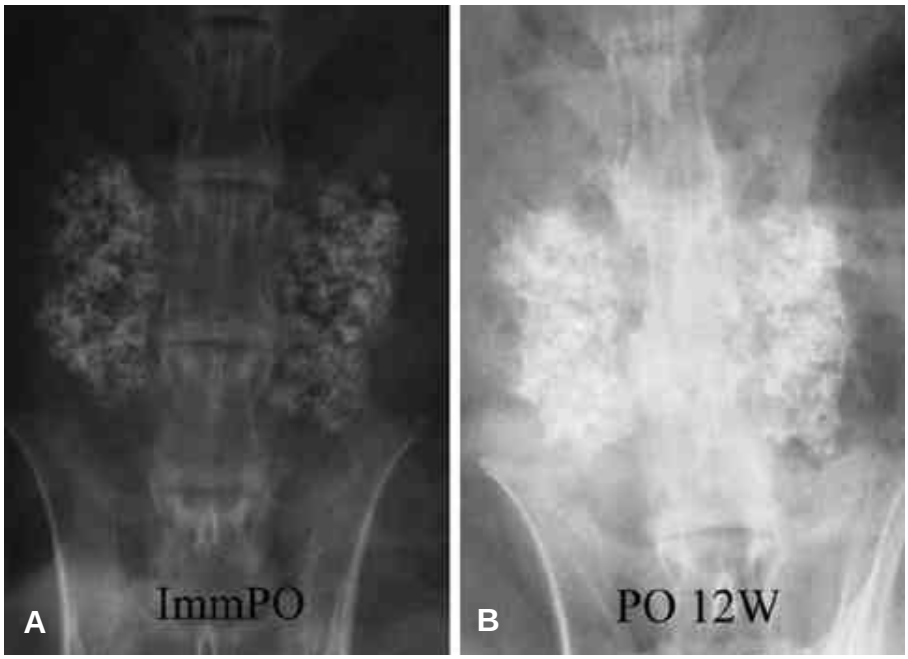

Fig. 5. Posteroanterior radiographs of a rabbit in the CSPB3 group. (**A**) Immediate postoperative, (**B**) postoperative 12 weeks.

배율에서도 기공이 매끄럽지 못하고 요철이 발생하였으며, 세라믹과 골과의 결합은 우수하였고 세라믹과 골 사이에 섬유조직이나 염증반응 등의 소견은 관찰되지 않았다. 또한, 기공 속에 골조직은 골세포가 동심원 배열을 하고 있고, 골기질도 성숙화된 소견을 보이고 있다 (Fig. 8).

고 찰

현재 골이식재로 가장 활발히 연구되는 세라믹스는 합성 아파타이트 인산 칼슘계 화합물과 생체활성 결정화 유리이다. 합성 아파타이트 인산 칼슘 화합물 중 수산화아파타이트는 생체 적합성(biocompatibility)과 생체친화성이 우수하며 뛰어난 골전도성(osteoconductivity)을 가지고 있어[10,11] 가장 널리 연구되고 있으나, 생체분해성이 매우 낮아서 자가골로의 치환이 거의 이루어지지 않고 오랫동안 체내에 남아있다는 단점이 있다. 이를 보완하기 위해 수산화아파타이트보다 분해 속도가 빠르다고 알려져 있는 삼인산칼슘에 대해 많은 연구가 있었지만 다공구조가 쉽게 무너지고 흡수율도 예측하기 힘들어 수산화아파타이트의 단점을 보완할 골이식재로서 사용하기 어렵다는 주장이 있다[12]. 생체분해성이 높아 체내에 남아있지 않고 흡수되는 이식재는 이물질로 작용하지 않고, 새로 형성된 신생골이 남아있는 이식재에 영향을 받지 않고 재형성 될 수 있으며, 재형성된 신생골은 이식재와 혼합되어 있는 신생골보다 더 강한 장점이 있기 때문에[13] 흡수 속도와 재생골 생성 속도가 비슷한 골이식재를 개발하기 위해 많은 연구가 진행되어 왔다. 이에 대해, 본 교실에서는 인산칼슘계 화합물 중 베타 피로인산 칼슘 다공체가 골전도능은 수산화아파타이트 만큼 뛰어나면서 생체분해성은 수산화아파타이트보다 우수하다는 결과를 얻었다[14]. 또한, 저자들은 생체활성 세라믹스 중 CaO-SiO_2-B_2O_3계 결정화 유리 다공체를 개발하여 물성을 측정한 결과 CS10B는 비교적 낮은 온도인 700℃에서 소결되며, 소결시 수축이 25%정도로 소결특성이 뛰어나고, 압축강도가 2813±206.3 MPa, 경도가 687±10.5 Hv, 굽힘강도가 204±4.04 MPa[7]로 대

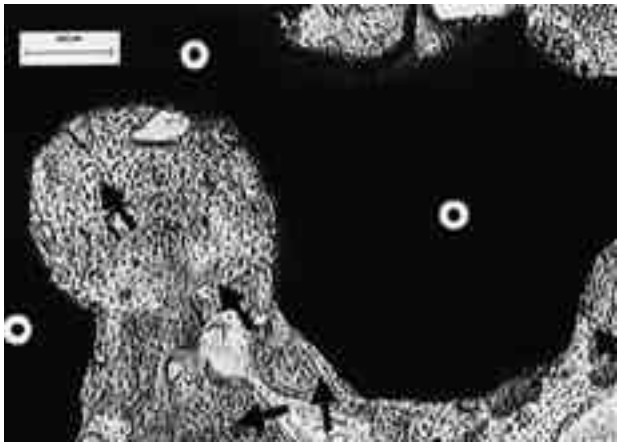

Fig. 6. Histologic results of Cerabone® A-W 12 weeks after surgery. The bone is directly attached to pores, the contours of which are nearly intact (Undecalcified, H&E staining, ×40). White circles indicate the Cerabone® A-W implant, black arrows indicate newly formed bone.

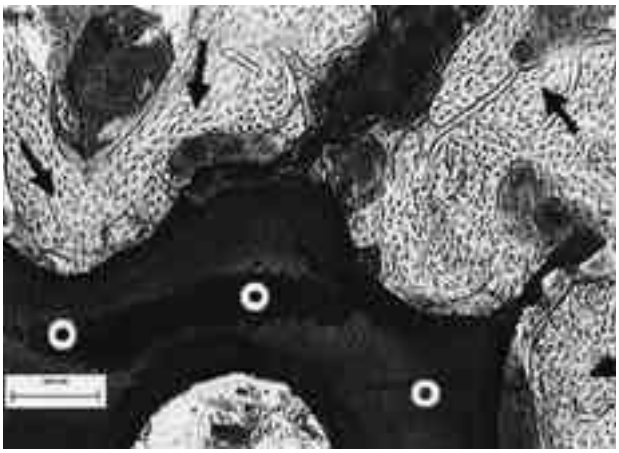

Fig. 7. Histologic results of CSPB2 12 weeks after surgery. The bone is directly attached to pores, the contours of which are nearly intact (Undecalcified, H&E staining, ×40). White circles indicates the CSPB2 implant, black arrows indicate newly formed bone.

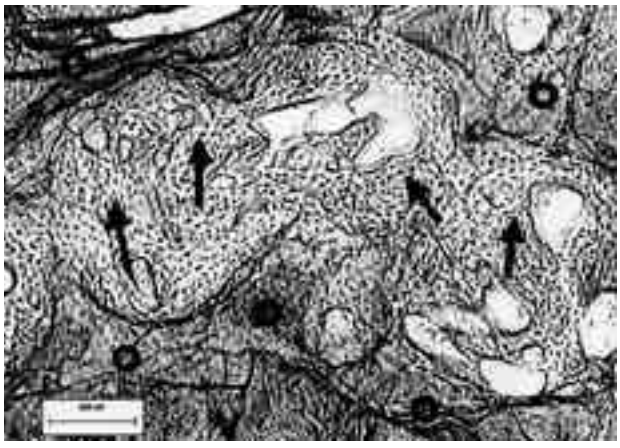

Fig. 8. Histologic results of CSPB3 12 weeks after surgery. The bone is directly attached to pores, the contours of which are nearly intact (Undecalcified, H&E staining, ×40). White circles indicates the CSPB3 implant, black arrows indicate newly formed bone.

부분의 아파타이트보다 기계적 강도가 우수하다는 것을 확인하였고, CS10B의 생체분해성과 골유합능을 가토 요추 후외방 유합술을 이용하여 수산화아파타이트, 삼인산칼슘과 비교한 결과, CS10B로 생성한 골유합체는 수산화아파타이트에 의한 골유합체와 유사한 정도의 인장강도를 지니면서 수산화아파타이트나 삼인산칼슘보다 생체 분해성이 유의하게 뛰어나 기존의 인산 칼슘계 세라믹스의 단점을 보완할 수 있는 새로운 인공골 재료로서의 가능성을 확인한 바 있다[6]. 그러나, CS10B는 생체 분해속도가 골생성 속도에 비해 빨라서 골전도능은 우수하나 일부에서 골유합이 이루어지기 전에 삽입한 세라믹이 분해됨으로써 유합을 저해하는 양상도 함께 나타나 생체 분해속도를 다소 낮출 필요가 있다. 이런 상황에서 생체활성 세라믹 중 임상적으로 사용되고 있고 높은 골전도능과 함께 생체용해성이 매우 낮다고 알려져 있는 Cerabone® A-W가 $CaO-SiO_2-B_2O_3$계 결정화 유리의 단점을 보완할 재료라고 생각되어 Cerabone® A-W와 CS10B의 혼합 조성을 4 성분계로 제조한 후 골전도능을 더욱 향성시키고 분해속도를 하향 조절하고자 하였다.

본 연구에서는 대조군으로 자가골 이식군과 생체활성 결정화 유리인 Cerabone® A-W 삽입군을 선정하였고, 골유합이 이루어 졌는지를 판정하는 기준을, 도수촉진으로 유합체에 움직임이 전혀 없을 경우 완전유합으로 판정하였다. 또한, 단순 방사선 촬영 상 위, 아래 횡돌기로 골소주 형성의 정도로 골유합을 판정하였다. 도수 촉진상 자가골 이식군은 100%, Cerabone® A-W군이 80%, CSPB2 군이 81.8%, 그리고 CSPB3 군이 90.9%의 유합률을 보여 CSPB2와 CSPB3 군이 Cerabone® A-W군에 비해 다소 향상된 양상을 보였으나 네 군 사이에 유의한 차이는 없었다. 본 연구에서 단순 방사선 사진 상 유합 여부에 대해서는 분석하지 않았다. 그 이유는, 골 유합 여부를 단순 방사선 사진으로 판정할 경우 자가골 이식 후 척추 유합 여부는 약 70%의 정확도를 가진다고 알려져 있으며[15], 인산 칼슘계 골이식재를 삽입한 후는 유합 여부를 판정하기가 더 어렵다고 알려져 있기 때문이다[16,17].

본 연구에서 이식재의 생체분해 정도를 판정하기 위해 수술 직후 다공체가 차지하는 면적에 대해 12주 추시 후 다공체가 차지하는 면적의 비율을 단순 방사선 사진에서 이차원적으로 Image-Pro® Plus (Media Cybernetics, USA) 프로그램을 이용하여 조직형태학적으로 분석 하였다. 삽입한 이식재의 분해정도를 정확히 평가하기 위해서는 삼차원적 분석이 정확하지만, 이차원상에서 차이가 날 경우 삼차원상에서는 더 큰 차이가 나기 때문에, 이차원적으로 면적의 차이를 삼차원적으로 부피의 차이로 유추하는데 큰 무리가 없을 것으로 사료된다. 생체 용해성의 경우, in vitro상에서 의사체액에 침적시 90일 까지 CSPB2, CSPB3 모두 계속 무게감소가 일어났으며, $CaO-SiO_2-B_2O_3$계 결정화 유리의 분율이 높은 조성의 결정화 유리가 의사체액에서 용출이 많이 일어남을 관찰하였다. 본 연구결과, Cerabone® A-W (9.2% 흡수)에 비해 CSPB2 (26.9% 흡수)과 CSPB3 (26.5% 흡수)이 유의하게 흡수율이 높았다. 이 결과는 이전에 결과인 수산화아파타이트(11.3% 흡수)[9]에 비해서도 높은 흡수율이다.

방사선학적, 육안 및 조직학적 검사가 유합체의 부피 및 성상을 평가하는 것이라면 최대 인장 강도는 유합체의 질을 평가하는 것이다. 이식체의 인장 강도는 육안 검사와 도수 촉진 검사 및 조직학적 검사와 상관되는 결과를 보였다. 즉, 도수 촉진 상 유합률은 네 종류의 이식군에서 유의한 차이는 없었으며, 인장강도도 세 종류의 세라믹에서 거의 차이가 없었다. 그러나, 이 값은 이전의 수산화아파타이트(191.4±33.5 N)나 CS10B(182.7±19.9 N)보다는 향상된 수치로 골과의 결합력이 증가하였다는 것을 반영한다.

이상의 결과로, $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$계 다공체인 CSPB2와 CSPB3가 Cerabone® A-W에 비해 골전도능이나 유합률이 비슷하면서도 생체 흡수성이 뛰어나다는 것을 확인하였다. 그러나, 이상적인 인공골의 조건은 일단 골유합이 확실히 이루어지고 그 후 삽입한 인공골이 완전히 흡수되어 유합체가 자가골로 완전히 치환되고 재형성되는 것이다. 이런 점에서 세라믹 인공골은 한계점이 노출된다. 즉, 골유합이 확실히 이루어지기 위해서는 세라믹 자체의 골전도능이 뛰어나야 하고 또한 골유합이 이루어지는 동안 다공 구조를 유지하여 한다. 반면에, 완전한 흡수가 일어나려면 세라믹 자체가 체액이나 혈액과 반응하여 용해되면서 흡수되어야 한다. 결국, 세라믹 인공골은 골유합이 이루어지는 동안 다공구조를 유지하다 골유합이 어느정도 이루어진 후에 용해가 되어야 하는데 체액이나 혈액에 주로 노출되는 시기는 세라믹 삽입 초기부터 골유합이 이루어지는 동안이고, 골유합이 이루어진 후에는 세라믹과 결합된 골에서의 대사 과정에 의해 세라믹이 용해되기 때문에 용해 정도가 미미하다. 따라서 세라믹 인공골의 개발 방향은, 비록 생체용해성이 다소 떨어지더라도 인공골의 가장 중요한 기능인 골유합을 확실히 얻을 수 있는 생체용해성 세라믹을 개발하는 것이다. 이런 점에서 새로 개발한 $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$계 다공체인 CSPB2와 CSPB3가 저자들이 이전에 발표한 $CaO-SiO_2-B_2O_3$계 다공체에 비해 골유합을 향상시켰고, 기존의 Cerabone® A-W에 비해 생체흡수성을 향상시켰기 때문에 좀 더 이상적인 인공골이라고 사료된다. 그러나, CSPB2와 CSPB3도 B_2O_3의 비율을 조절함으로써 생체 흡수성을 좀 더 향상시킬 수 있다

고 생각되며, 이에 대해서는 추후 연구 및 장기적인 추시가 필요하다.

결 론

본 연구를 통하여 $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$계 결정화유리의 생체분해성과 골유합능을 가토 요추 후외방 유합술을 이용하여 Cerabone® A-W와 비교하였다. $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$계로 생성한 골유합체는 Cerabone® A-W에 의한 골유합체와 유사한 정도의 인장강도를 지니면서 Cerabone® A-W보다 생체 분해성이 유의하게 뛰어나 기존의 인산 칼슘계 세라믹과 Cerabone® A-W의 단점을 보완할 수 있는 새로운 인공골 재료로서의 가능성을 확인하였다.

참고문헌

1) **Klein CP, Driessen AA, de Groot K, Van Den Hooff A**: *Biodegradation behavior of various calcium phosphate materials in bone tissue. J Biomed Mat Res 1983;17:769-784.*
2) **Hench LL, Wilson JW**: *Surface-active Biomaterial. Science 1984; 226:630.*
3) **Hench LL, Paschall HA**: *Histo-chemical responses at a biomaterials interface. J Biomed Mater Res 1974;5:49-64.*
4) **Hench LL: Bioceramics**: *From concept to clinic. J Am Ceram Soc 1991; 81:1497-1510.*
5) **Kokubo T, Ito S, Sakka S, Yamamuro T**: *Formation of a high-strength bioactive glass-ceramic in the system $MgO-CaO-SiO_2-P_2O_5$. J Mater Sci 1986; 21:536-540.*
6) **Lee JH, Ha JH, Lee DH, et al.**: *Evaluation of biodegradation and osteosynthesis in $CaO-SiO_2-B_2O_3$ glass-ceramics by posterolateral fusion of rabbit lumbar vertebrae. J Kor Orthop Assoc 2003; 38:347-353.*
7) **Ryu HS, Seo JH, Kim H, et al.**: *Preparation of $CaO-SiO_2-B_2O_3$ glass-ceramics and evaluation of bioactivity using in-vitro test. J Kor Ceramic Soc 2002; 39:490-497.*
8) **Boden SD, Schimandle JH, Hutton WC**: *An experimental lumbar intertransverse process spinal fusion model. Radiographic, histologic, and biomechanical healing characteristics. Spine 1995; 20:412-420.*
9) **Glazer PA, Heilmann MR, Lotz JC, Bradford DS**: *Use of electromagnetic fields in a spinal fusion: A rabbit model. Spine 1997; 22:2351-2365.*
10) **Holmes RE, Bucholz RW, Mooney V**: *Porous hydroxyapatite as a bone graft substitute in diaphyseal defects: a histometric study. J Orthop Res 1987; 5:114-121.*
11) **Uchida A, Nada SM, McCartney ER, Ching W**: *The use of ceramics for bone replacement. A comparative study of three different porous ceramics. J Bone Joint Surg 1984; 66-B:269-275.*
12) **Eggli PS, Muller W, Schenk RK**: *Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different pore size ranges implanted in the cancellous bone of rabbits. Clin Orthop 1988; 232: 127-138.*
13) **Blokhuis TJ, Termaat MF, den Boer FC, Patka P, Bakker FC, Haarman HJ**: *Properties of calcium phosphate ceramics in relation to their in vivo behavior. J Trauma 2000; 48(1):179-186.*
14) **Lee JH, Lee DH, Ryu HS, et al.**: *Porous beta-calcium pyrophosphate as a bone graft substitute in a canine bone defect model. Key Eng Mat 2003; 240-242:399-402.*
15) **Boden SD**: *Overview of the biology of lumbar spine fusion and principles for selecting a bone graft substitute. Spine 2002; 27:S26-S31.*
16) **Boden SD, Martin Jr GJ, Morone M, Ugbo JL, Titus L, Hutton WC**: *The use of coralline hydroxyapatite with bone marrow, autogenous bone graft, or osteoinductive bone protein extract for posterolateral lumbar spine fusion. Spine 1999; 24:320-327.*
17) **Bozic KJ, Glazer PA, Zurakowski D, Simon BJ, Lipson SJ, Hayes WC**: *In vivo evaluation of coralline hydroxyapatite and direct current electrical stimulation in lumbar spinal fusion. Spine 1999; 24:2127-2133.*

국 문 초 록

연구계획: 서로 다른 조성을 가진 세라믹스에 대한 비교 생체 실험.

연구목적: 생체활성 세라믹이 골이식재로 사용될 수 있다고 알려져 있지만, $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$계 결정화 유리에 대한 연구는 드물다. 이에 $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$계 결정화 유리 다공체를 제조하여 조성에 따른 생체 분해성과 골유합 양상을 Cerabone®-AW와 비교함으로써 골이식재로서의 가능성을 확인하고자 한다.

대상 및 방법: 5.0 mol%의 B_2O_3를 함유하는 $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$계 결정화 유리를 CSPB2라 하고, 7.5 mol%의 B_2O_3를 함유하는 $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$계 결정화 유리를 CSPB3라 한 후 다공체를 제조하였다. 총 60마리의 뉴질랜드 수컷 백색가토를 대상으로 Autograft에 9마리, Cerabone®-AW, CSPB2, CSPB3에 각각 17마리씩 배정하고 후외방 도달법으로 양측 제 5-6 요추의 횡돌기를 노출시킨 후 양측에 각각 3 cc씩 총 6 cc를 이식하였다. 술 후 2주마다 후전방 단순 방사선 검사를 시행하였고 술 후 제 12주에 모든 실험 동물을 희생하였다. 도수 촉진검사 및 인장 검사를 시행하였고, 수술 직후에 대한 최종 추시시 유합체의 면적비를 분석하였으며 비탈석회화와 탈석회화 조직검사를 시행하였다.

결과: 60마리 중 51마리에 대해 평가하였다. Cerabone®-AW 군의 인장강도는 214±57.3N이었고 10례 중 8례(80%)가 유합되었고, CSPB2군의 인장강도는 217±66.1N이었고 11례 중 9례(81.8%)가 유합되었으며, CSPB3군의 인장강도는 217±70.1N이고 11례 중 10례(91.9%)가 유합되었고, 자가골을 이식한 군은 9례 중 9례(100%) 모두 유합되었다. 삽입 직후 이식체의 면적에 대한 12주 추시시 유합체의 면적은 Cerabone®-AW가 90.8±14.0%, CSPB2가 73.1±11.5%, CSPB3가 73.5±10.0%로 Cerabone®-AW에 비해 CSPB2와 CSPB3가 통계적으로 유의하게 유합체의 면적이 감소하였다($p=0.0011$). 조직학적 소견상, 세 종류의 다공체는 골과 직접 결합하는 양상을 보였다.

결론: CSPB2와 CSPB3는 골과 직접 결합하면서 Cerabone®-AW와 유사한 골유합률과 결합강도를 보이며 Cerabone®-AW에 비해 생체흡수성이 유의하게 높아 Cerabone®-AW의 단점을 보완할 수 있는 새로운 인공골 재료로서의 가능성을 확인하였다.

색인단어: $CaO-SiO_2-P_2O_5-B_2O_3$계 결정화 유리, A-W 결정화 유리, 생체분해성, 골유합능, 골이식재

※ **통신저자 :** 이 춘 기
서울특별시 종로구 연건동 28
서울대학교 의과대학 정형외과학교실
Tel: 82-2-2072-2360 Fax: 82-2-764-2718 E-mail: choonki@plaza.snu.ac.kr