

백서 두개골 결손부의 골 대체물 이식과 홍화씨 섭취 후의 치유영상

유경태 · 최광수 · 윤기연 · 김은철* · 유형근 · 신형식

원광대학교 치과대학 치주과학교실
원광대학교 치과대학 구강병리학교실*

I. 서론

치은연상 및 치은연하 치태 또는 여러 종류의 혐기성 세균의 작용에 의해 발생하는 염증성 치주질환의 진행 정지와 치주질환에 의해 파괴된 치조골, 백악질 및 치주인대의 재생이 치주치료의 궁극적인 목적이다¹⁾.

치주질환이 진행됨에 따라 발생하는 치조골 결손부 재생을 위해 사용되고 있는 술식으로는 질환에 이환된 연조직과 하부 치조골을 절제하고 성형하여 생체의 자가 재생능력을 기대하는 방법과 골조직이나 골 대체물을 이식하는 방법²⁾, 치주인대세포의 다양한 분화능력을 이용한 이상적인 치유형태인 조직 유도 재생술이 있으며, 교원질 섬유가 매입된 무세포성 백악질의 생성 및 새로운 치조골의 형성을 유도한다는 법랑기질 단백질(enamel matrix protein)에 관한 연구^{3,4)}와 치주조직 재생 관련 세포의 증식과 분화를 유도하여 치주조직의 치유과정을 조절하는 것으로 알려진 성장인자의 연구^{5,6)}, 여러 생약제제에 대한 연구⁷⁻¹²⁾등도 이루어지고 있다.

골 이식술에 사용되는 골 이식재를 공급원에 따라 분류하면 자가골, 동종골, 이종골, 합성골 등으로 구분할 수 있으며, 이 중 자가골 이식은 골 채취를 위한 부가적인 수술의 필요성과 채취 골의 양적 제한성, 이식편 흡수 등의 단점이 있으며^{13,14)}, 동종골 이식의

경우 불확실한 면역반응, 저장의 문제, 골편 흡수 등의 제한점이 있어서^{15,16)}, 이를 해결하기 위해 합성재료를 이용한 골 이식 대체물과 이종골에 관한 많은 연구와 실험들이 진행되고 있다.

여러 가지 흡수성 및 비흡수성 합성골이 개발되어 임상에 이용되고 있으며, 골질의 주 무기질 성분인 인산칼슘계 생체재료로는 hydroxyapatite(HA)¹⁷⁾와 tricalcium phosphate(TCP)^{18,19)}가 포함되며, 최근에는 천연산호에서 추출된 생체재료와²⁰⁻²⁵⁾ 골조직과 결합할 수 있는 무정형의 생체활성 요업체인 생체유리 이식재^{26,27)} 등이 합성골에 포함된다.

탄산칼슘 이식재는 porites 종의 천연 바다 산호를 가공한 생체재료이며, 생체 흡수성의 다공성 이식재로서 250 μ m 크기의 소공을 가진 구조인데 이러한 소공 구조는 혈관분포를 용이하게 하고 골 성장을 유도하게 된다. 화학적으로는 98% 이상이 탄산칼슘(calcium carbonate)으로 되어 있고, 매우 적은 아미노산 만을 포함하고 있어 특정 단백질에 의한 면역반응이 감소하며, 골에서와 비슷한 strontium과 fluoride 등의 미량원소들이 존재한다. 이들 미량원소들은 석회화 과정과 골세포의 효소반응 활성화에 중요한 역할을 하게 된다²⁸⁾. Guillemine 등^{21,22)}은 동물실험에서 인위적으로 형성한 골 결손부위에 천연산호를 이식한 경우 효소분해 과정에 의해 이식재가 점진적으로 흡수되면서 신생골에 의해 대체된다고 보

고하였으며, Lekovic 등²³⁾은 임상 연구에서도 치조골 결손부위에 천연산호를 이식한 경우 치주낭 깊이의 감소와 골 결손부 충전 등의 효과가 있다고 보고하였다.

최근에는 단백질이 제거된 이중골이 흡수성 HA로 골형성에 기여할 수 있다고 보고되었으며, 교차항원성도 해결되어 안전한 골 대체물로 이용할 수 있게 되었다²⁹⁾. 탈단백화 시킨 우골에서 유래된 HA는 인간의 해면골과 유사한 구조의 무기질로서 합성 HA에 비해 생체 적합적이며, 조기 치유가 촉진되면서 점진적인 흡수를 통해 생리적인 골 개조를 야기한다고 보고되었다³⁰⁻³³⁾. Wetzel 등³⁴⁾은 동물실험에서 우골에서 유래된 흡수성 무정형 다공성 HA를 이용했을 경우 신생 층판골 형성이 유도된다고 하였으며, Klinge 등³²⁾은 토끼의 두개골 결손부에 우골유도 HA와 합성 HA를 이식했을 경우 우골유도 HA에서 더욱 성숙하고 많은 신생골 형성이 나타난다고 보고하였다.

상기와 같은 골 대체물을 이용한 골 이식술 외에도 손상된 치주조직을 재생시키기 위해 많은 새로운 재료와 방법들이 개발되어져 왔으며, 최근에는 몇몇 생약제제가 항균작용을 나타내며, 치주조직 재생능력을 증가시킨다는 보고가 있어 이에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다. 옥수수 불검화 추출물과 황련, 후박 및 대조 추출물⁷⁾, 홍화씨⁸⁻¹²⁾ 등이 대표적인 생약제제로서 연구되어지고 있다.

홍화씨(safflower seeds)는 골절과 골다공증 등의 골질환에 효과가 있다고 전래되어오고 있는 한약제로서 지방이 다량 함유되어 있으며, 특히 linoleic acid 등의 불포화 지방산의 함량이 높아 혈중 cholesterol 수치를 감소시켜 죽상동맥경화증에 유의한 효능이 있다고 알려져 있으며³⁵⁾, 이와 최(1998)³⁶⁾는 홍화씨에 들어 있는 유기 백금 성분은 금속의 백금에 비해 독성이 없고, 항암작용이 뛰어나며 골절부위에 백혈구의 이주를 촉진시켜 창상 부위의 치유를 촉진시킬 것이라고 하였다. 두 등⁸⁾과 강 등⁹⁾은 홍화씨 추출물에 대한 실험실적 연구에서 치주인대세포와 조골유사세포의 활성화도에 유의성 있는 증가를 보이고 석회화 결절 형성과 골 재생에 유의성 있는 효과를

나타낸다고 보고하였으며, 김 등¹¹⁾과 윤 등¹²⁾은 홍화씨 경구투여가 동물실험을 통해 인위적인 백서의 늑골 골절 손상 치유와 인위적으로 형성된 두개골 결손부의 신생골 형성과 성숙을 촉진시켜 골의 형성과 재생 및 치유 초기 과정에 우수한 효과가 있음을 보고하였다.

상기와 같은 연구 결과를 바탕으로 본 연구에서는 인위적으로 형성한 백서의 두개골 골 결손부에 임상에서 많이 활용하고 있는 골 이식 대체물인 탄산칼슘 이식재와 우골유도 HA 이식재를 사용한 군과, 골절과 골다공증 등 각종 골질환에 민간요법의 약제로 널리 사용되고 있는 홍화씨를 경구투여 한 군을, 이식재를 포함하지 않는 대조군과 비교하여 각각의 결손부 치유와 골 재생능력을 알아보고자 시행하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 체중 250g 내외의 생후 3개월된 Sprague-Dawley계 백서 24마리(대한실험동물, 한국)를 사용하였으며, 대조군, 우골유도 HA 이식재군(Bio-Oss[®], Osteohealth Co., New York, USA), 탄산칼슘 이식재군(Biocoral 450[®], Inotek, France), 홍화씨 섭취군으로 각각 나누었다.

홍화씨는 1998년도 경북 김천시 소재 빛내농산에서 재배, 생산된 시료를 구입하여 사용하였으며, 홍화씨 투여군은 각 마리당 3g/일 홍화씨 혼합식으로 사육하였으며, 다른 군은 정상 식이로 사육하였다.

2. 실험방법

(1) 두개골 결손부 형성

실험동물을 Ketamine HCl(Ketalar, Yuhan Co., Seoul, Korea) 1.5-2mg을 근육 주사하여 전신마취를 시행하였으며, 통법에 따라 술부의 두부 세포와 포타딘을 이용한 소독을 실시하였다. 백서 두개골 정중부에 절개를 가한 후 골막을 박리하여 판막을 거상한 다음, 8mm trephine bur(3i, FL, USA)를 이용하여

모든 군을 8mm의 크기로 골 결손부를 형성하였다. 우골유도 HA 이식군과 탄산칼슘 이식군의 각 결손부에 이식재를 삽입하였으며, 대조군과 홍화씨 섭취군은 이식재 삽입 없이 술부를 5-0 흡수성 봉합사(Vicryl, Ethicon, England)로 이상적인 치유를 유도하기 위해 층별 봉합을 시행하고, kanamycin sulfate(Kanamycin, Scientific Feed Co., Seoul, Korea)를 근육 주사하였다.

(2) 조직학적 검사

조직검사를 위하여 무작위적인 방법으로 실험 후 4주, 8주로 나누어 각 군당 3마리씩 실험동물을 희생한 후 주위조직을 포함하여 결손부를 채취하고, 10% 중성 포르말린 용액에 2일간 고정하였다. 각각의 표본은 formic acid-sodium citrate 방법으로 탈석회화를 시행한 후, paraffin으로 포매하고, 4 μ m 두께로 조직 절편을 준비하였다. 절편은 Hematoxyline-Eosin 염색과 Goldner's Masson Trichrome 염색을 실시하였으며, 광학현미경을 통하여 수술부위의 염증세포 침윤, 신생모세혈관 증식, 섬유화, 파골 및 골모세포 활성화, 신생골 형성을 음성(-), 경미(\pm), 약양성(+), 중양성(++), 강양성(+++)까지 5단계로 구분하여 검정하였다.

III. 연구결과

1. 조직학적 소견

(1) 대조군

4주군에서는 결손부 변연에 신생골 형성이 미약하게 보이거나, 결손부 내부에서는 신생골이 관찰되지 않았고 신생혈관으로 구성된 성숙된 섬유조직으로 결손부가 채워져 있었다. 결손부에는 약간의 출혈과 염증 소견이 관찰되었고 주변의 골막이 잘 보존되었으며 파골세포의 출현도 거의 없었다(Table 1, 2, 사진부도 1-1).

8주군에서도 주위의 파골세포는 거의 관찰되지 않았으며 결손부에 조골세포의 활성화나 신생골 형성은 4주군과 마찬가지로 미약하였고, 반면 4주군에 비

해 증가된 신생 혈관형성을 보여주고 있다. 결손부는 전체적으로 Goldner's Masson trichrome 염색에서 녹색의 충실한 섬유조직으로 채워져 있었다(Table 1, 2, 사진부도 1-2).

(2) 우골유도 HA 이식군(Bio-Oss® 이식군)

4주군에서는 결손부 주변의 육아조직 내에 HA crystal 내부가 빈 공간으로 남아 있으며, HA crystal 주위 및 결손부 주변의 조골세포 활성화와 신생골 형성은 미약하였고, 경도의 염증세포 침윤이 보였으며 이식부가 섬유성 결체조직으로 이루어져 있으나 대조군에 비해 섬유조직 형성은 MT 염색상 적게 관찰되었고 출혈 및 혈관형성은 약간 많았다(Table 1, 2, 사진부도 2-1).

8주군에서도 대조군과는 달리 출혈소견은 크게 감소한 반면 염증세포 침윤이 잔존하였고, 결손부 주변 HA crystal 주위의 신생골 형성과 조골세포 활성화는 4주군에 비해 약간은 증가하였으나 경미하였고, HA crystal 내부에서도 골 기질로 대체되었으며, 결손부는 전 실험군 중 손상부가 가장 치밀한 섬유조직으로 대체되었다(Table 1, 2, 사진부도 2-2).

(3) 탄산칼슘 이식군(Biocoral 450®)

4주군에서는 결손부 주변의 육아조직 내에 HA crystal 내부는 빈 공간으로 남아 있고 경도의 염증세포 침윤과 과다한 출혈양상 및 미약한 조골세포 활성화와 신생골 형성이 보였으며, 이식부는 섬유성 결체조직으로 이루어져 있으나 대조군에 비해 섬유조직 형성은 MT 염색상 적게 관찰되었으며 파골세포 출현은 거의 없었다(Table 1, 2, 사진부도 3-1).

8주군에서는 4주군의 양상과 거의 비슷하지만 HA crystal 주위의 출혈양상과 염증세포 침윤은 감소되었으며, crystal 주위의 조골세포 활성화와 신생골형성은 4주군에 비해 증가한 상태이지만 우골유도 HA 이식재군과 비교시 적게 나타나 골 전도성이 적었으며, HA crystal 입자 주위의 섬유조직도 적게 나타났다(Table 1, 2, 사진부도 3-2).

(4) 홍화씨 섭취군

Table 1. Histologic finding of inflammatory response according to experimental materials

	Control		Bio-Oss®		Biocoral®		SSF	
	4weeks	8weeks	4weeks	8weeks	4weeks	8weeks	4weeks	8weeks
\Inflammatory cell	+	—	+	±	+	±	±	—
Angiogenesis	±	+	+	+	±	+	±	+
Fibrosis in defect	±	+	±	++	—	±	+	+++

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

SSF; Group of safflower seeds feeding.

Table 2. Histologic finding of bone remodeling according to experimental materials

	Control		Bio-Oss®		Biocoral®		SSF	
	4weeks	8weeks	4weeks	8weeks	4weeks	8weeks	4weeks	8weeks
Osteoclastic activity	±	—	±	—	±	—	±	—
Osteoblastic activity	±	±	±	+	±	±	±	±
Osteoconduction around bone defect	±	±	±	+	±	±	±	±

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

SSF; Group of safflower seeds feeding.

4주군에서는 대조군 및 탄산칼슘 이식재군과 유사하게 골 결손부 주위에서 조골세포 활성이나 신생골 형성이 미약하게 보였으며, 결손부를 둘러싼 섬유조직이 성숙되면서 염증반응과 파골세포 활성은 없었다(Table 1, 2, 사진부도 4-1).

8주군에서도 다른 실험군과 유사하게 결손부가 치밀한 섬유성 결체조직으로 대체되었으나 증가된 신생혈관을 볼 수 있었으며, 모든 실험군중 섬유결체조직의 형성이 가장 많았으며, 염증 및 출혈, 파골세포 침윤은 모두 사라졌다(Table 1, 2, 사진부도 4-2)

IV. 총괄 및 고찰

치주질환에 의해 소실된 치주조직, 특히 치조골을 재생시키기 위한 많은 술식들이 사용되고 있으며, 그 중 좀더 빠르고 적절한 골의 회복과 재생을 위해 다양한 골 이식 대체물을 이용한 골 이식술이 가장 많이 사용되고 있으며, 성공률 또한 다양하게 보고되고 있다.

골 이식술에 사용되는 골 이식재를 공급원에 따라 분류하면, 자가골 이식 autograft)과 동종골 이식

(allograft), 이종골 이식(heterograft), 합성골 이식(synthetic graft) 등으로 구분될 수 있다. 자가골은 골 전도성과 골유도성을 가지고 있는 가장 이상적인 골 이식재이나, 골 채취를 위한 부가적인 수술의 필요성과 채취 가능한 골의 제한성 등의 단점이 있으며^{13,14}, 동종골의 경우 골유도능을 가진 골형성단백(bone morphogenic protein)의 존재에 의한 골 재생 효과를 기대하고 있지만 불확실한 면역반응, 저장의 문제 그리고 질환 감염의 가능성, 골편의 흡수 등의 제한점에 대해 보고된 바 있다^{15,16}. 따라서 생물학적 적합성을 가지며 새로이 형성될 신생골로 점차적으로 대체될 수 있는 골유도 또는 골전도능을 갖는 합성의 골 이식 대체물과 다양한 종류의 이종골에 대한 연구가 진행되어왔다.

골 결손부 이식에 사용되는 합성의 골 이식 대체물은 완전한 생체 친화성이 있어야 하고, 재생되는 신생골에 의해 생리적으로 일부 또는 전부가 대체되어야 하며, 또한 세포 독성이 없어야 하고 골유도 또는 골전도 기능을 가진 물질이어야 한다. 합성의 골 이식 대체물로 개발된 재료에는 경석고, 공막, 콜라겐 등이 있었으나, 이러한 물질들은 불확실한 골전도와

골유도 능력으로 인하여 임상응용 단계까지 이르지 못하였으며, 최근에는 골질의 주 무기질 성분인 인산칼슘계 생체재료로 hydroxyapatite¹⁷⁾와 tricalcium phosphate^{18,19)}가 있으며, 천연산호에서 추출된 생체재료²⁰⁻²⁵⁾와 골조직과 결합할 수 있는 무정형의 생체활성 요업재인 생체유리 이식재^{26,27)}등이 개발되었다. 이러한 합성의 골 이식 대체물은 우수한 조직 친화성과 골전도 능력을 가지고 있으나 골유도 능력은 인정되지 않으며 일반적으로 기질(matrix) 기능을 통하여 조골 과정이 신속히 진행되어 골성 강직이 초래되는 경우가 문제로 나타나기도 했다²⁷⁾. 따라서 대부분의 대체물질은 치주질환 및 기타 골 결손부에서 미약한 골전도성과 충전재(filler)에 불과한 것으로, 즉 신부착을 증진시키는 능력이 적고 입자들은 주로 결합조직에 둘러싸이게 되는 형태로 치유되는 것을 기대하며 시술하고 있는 실정이다.

본 연구에서 사용된 탄산칼슘 이식재(Biocoral 450[®])는 생체흡수성의 다공성 이식재로서 250 μ m 정도의 소공을 가진 구조로서, 이러한 소공구조는 혈관 분포를 용이하게 하고 골성장을 유도하게 된다²⁸⁾. Yukna²⁰⁾는 유공성 천연 탄산칼슘 이식재가 생리적으로는 흡수성 TCP와 유사하지만 화학적으로는 달라서 다른 합성골이나 동종골의 경우 골 형성을 위한 일련의 과정으로 HA가 carbonate로의 표면전환이 필요하지만, 98% 이상이 탄산칼슘으로 구성되어 있는 탄산칼슘 이식재는 이런 전환단계가 필요 없기 때문에 골형성 과정이 신속히 진행된다고 하였다. Guillemine 등^{21,22)}은 동물실험에서 인위적으로 형성한 골 결손부에 천연산호를 이식한 경우 효소분해 과정에 의해 이식재가 점진적으로 흡수되면서 신생골에 의해 대체된다고 보고하였으나, 본 연구에서의 탄산칼슘 이식군에서는 실험 4주와 8주째 약간의 골전도 현상과 결합조직에 의해 둘러싸인 HA crystal 입자를 볼 수 있어 Baldock 등¹⁸⁾과 Uchida 등³⁸⁾의 연구에서와 비슷한 양상을 보여주었다.

한편, 교차항원성을 해결하기 위해 탈단백화를 시행한 이중골인 우골유도 HA 이식재는(Bio-Oss[®]) 인간의 해면골과 유사한 구조의 무기질로, 합성 HA에 비해 초기 치유되며 생체 적합성이고 점진적으로 흡

수되어 신생골로 대체된다는 많은 연구들이 있다²⁹⁻³⁴⁾. Klinge 등³²⁾은 토끼의 두개골 결손부에 우골유도 HA와 합성 HA를 이식했을 경우 우골유도 HA에서 더욱 성숙하고 많은 신생골 형성이 나타난다고 보고하였으며, 본 연구 결과에서도 탄산칼슘 이식군에 비해 우골유도 HA 이식군에서 실험 4주와 8주째에 더 많은 골전도 현상이 관찰되었다.

골 대체물을 이용한 골 이식술 이외에도, 최근 몇몇 생약제제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 연구에서 사용된 홍화씨(safflower seeds)는 골절과 골다공증 등의 골 질환에 효과가 있다고 전래되어왔으며, 민간요법으로 액상추출물과 분말형태로 많이 사용하고 있는 한약재로서, 항암작용과 높은 함량의 linoleic acid 등의 불포화 지방산에 의한 죽상동맥경화증에 유의한 효능 그리고 adenosine diphosphate에 의한 혈소판 응집억제를 통한 항응고효과와 항염효과 등에 유의한 효능이 있다고 알려져 왔다⁸⁻¹²⁾. 실험실적 연구에서 강 등⁹⁾과 이 등¹⁰⁾은 홍화씨 추출물의 수층과 부탄올층에서 치주인대세포와 조골모유사세포의 세포활성도 증가와 ALP 합성능의 증가에 대해 보고하였으며, 김 등¹¹⁾과 윤 등¹²⁾은 홍화씨 경구투여가 동물실험을 통해 인위적인 백서의 늑골 골절 손상 치유와 인위적으로 형성된 두개골 결손부의 신생골 형성과 성숙을 촉진시켜 골의 형성과 재생 및 치유 초기 과정에 우수한 효과가 있음을 보고하였다. 또한 김 등³⁹⁾은 백서의 두개골 결손부에 홍화씨 추출물을 국소투여(local delivery) 했을 경우 대조군에 비해 초기 염증 반응 감소 및 골 재형성에 효과가 있음을 보고하였으나, 아직 홍화씨의 어떤 성분이 초기 염증 반응 감소와 골 재형성에 효과가 있는지는 명확히 밝혀지지 않고 있다. 본 연구에서는 홍화씨를 경구투여하는 방법을 택해 실험하였으며, 그 결과 대조군 및 다른 실험군에 비해 섬유결체조직의 형성이 가장 많았으며, 염증 및 출혈 소견과 파골세포 침윤은 거의 발견되지 않았다.

HA는 결합조직 및 미세혈관의 성장 그리고 신생골의 침착을 용이하게 하기 위해서 미세한 다공성 구조가 요구되며, 적당한 소공의 직경은 190-230 μ m으로 보고되고 있다. White와 Shore⁴⁰⁾는 소공의 크

기에 따른 치유양상을 비교 연구한 결과 15-50 μ m인 경우에는 섬유조직 및 혈관의 성장을 유도하며, 150 μ m 이상일 때에는 신생골의 성장을 유도한다고 보고 하여 골 성장을 위해서는 어느 정도의 크기를 가져야 하는 것으로 사료된다. 다공성 HA를 이용한 여러 연구에서 결손부에 이식한 2주 후에 소공내로 결합 조직이 채워지고 점차적으로 신생골로 대체되며, 섬유조직, 혈관, 신생골이 소공 내부 및 골 이식 대체물 주위에서 볼 수 있으며 석회화 됨을 보고하였다. 또한 치주영역에서 현저한 치주낭의 감소 및 부착수준의 향상을 보고하였다²¹⁻²³⁾.

본 연구에서는 탄산칼슘 이식군과 우골유도 HA 이식군의 4주와 8주군 모두에서 소공 내로 섬유조직, 혈관들이 침윤되는 소견은 미약했으며, 신생골이 형성되는 양상이나 이식재가 신생골에 의해 완전히 둘러싸이는 소견은 관찰되지 않았다. 실험 8주에서도 치밀한 섬유결체조직으로 둘러싸인 구조를 보이며, 주위 숙주골에서 골전도(osteoconduction) 현상이 관찰되어 골유도를 자극 한다기 보다는 대부분 치밀한 결합조직에 싸이는 단순한 충전물질로서 작용한다고 알려져 있는 다른 연구와 일치한다.^{18,38)} 우골유도 HA 이식군이 탄산칼슘 이식군에 비해 더 나은 골전도 현상과 많은 결체조직이 관찰되었지만 신생골 형성에는 별다른 차이가 관찰되지 않았다. 홍화씨 셉취군 또한 대조군 및 다른 실험군과 비교시 골전도 현상이 미약하였으며, 단지 다른 군에 비해 더욱 치밀한 결체조직이 골 결손부를 대체하고 있었다.

이와 같이, 다른 연구에 비해 본 연구에서 낮은 골전도 현상이 나타난 연구결과는 백서의 두개골이 다른 골에 비해 골 형성이 잘 되지 않는 특징을 생각할 수 있다. Uchida 등³⁹⁾은 백서, 토끼의 두개골에서 HA를 매식했으나 소공 내 신생골은 거의 관찰하지 못하였는데, 이러한 양상은 골수강이 거의 없는 두개골에 이식하였기 때문이라고 하였다. 낮은 골전도 현상의 또 다른 원인으로는 골 결손부 크기를 들 수 있다. 각각 2.5mm와 5mm의 작은 골 결손부를 형성한 이와 정⁴¹⁾, 윤 등¹²⁾의 연구에서는 골 이식 대체물 이식과 홍화씨 셉취에 의해 높은 골전도 현상을 보였지만, 8mm의 골 결손부를 형성한 본 연구에서는

낮은 골전도 현상을 보여 결손부 크기가 치유에 영향을 미치는 것으로 보아 임상에서의 적용시 고려할 사항으로 생각 할 수 있다.

골 결손부 내부도 대조군의 경우 섬유성 결체조직만이 관찰된 반면 홍화씨 셉취군도 큰 차이가 없었으나, 실험군 및 대조군의 두개골 골 결손부내로 혈관과 섬유조직의 침윤 및 성장이 관찰되었다. 이런 섬유조직의 유입이나 성숙이 대조군에 비해 홍화씨 셉취군에서 현저한 차이가 나타나는 것은 다른 연구 결과에서도 볼 수 있듯이^{11,12)}, 홍화씨가 섬유모세포에서 섬유조직이 형성되는 초기 기전에 영향을 주기 때문으로 여겨지며, 너무 큰 결손부 형성으로 인해 8주군에서는 골유도 및 골전도가 미약했던 것으로 생각된다.

결론적으로, 백서 두개골에 골 결손부를 형성했을 때 우골유도 HA가 탄산칼슘 이식재 보다 골전도에 보다 나은 효과를 얻었으며, 홍화씨 경구투여는 결손부 초기 치유시 결체조직 형성에 효과적이어서, 치주조직 골 결손부의 골 이식술시 우골유도 HA 이식과 함께 홍화씨 경구투여가 골의 치유와 재생에 우수한 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대되며, 임상에서의 응용에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결론

본 실험에서는 인위적으로 형성한 백서의 두개골 골 결손부에 임상에서 많이 사용되고 있는 골 이식 대체물인 우골유도 HA 이식재와 탄산칼슘 이식재의 이식, 그리고 골절과 골다공증 등 각종 골질환에 민간요법의 약재로 사용되고 있는 홍화씨를 경구투여한 군을 이식재를 포함하지 않는 대조군과 비교하여 각각의 결손부 치유와 골 재생능력을 알아보고자 연구를 시행한 후 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조군은 4주과 8주 모두 결손부 변연에서 조골세포 활성화나 신생골 형성이 미약하였으며, 4주에 비해 8주에서 더욱 증가된 신생 모세혈관 증식을 포함한 충실한 섬유조직으로 대체되

었다.

2. 우골유도 HA 이식재군은 4주에서 HA crystal 주위 및 결손부 변연의 조골세포 활성화와 신생골 형성은 미약하였고, 8주에서는 4주에 비해 crystal 주위의 신생골 형성과 조골세포 활성화는 약간 증가한 상태이고 crystal 내부도 또한 골 기질로 대체되어 골 형성이 가장 뛰어났으며, 전 실험군 중 손상부가 가장 치밀한 섬유조직으로 대체되었다.
3. 탄산칼슘 이식재군은 4주에서 경도의 염증세포 침윤과 과다한 출혈양상 및 미약한 조골세포 활성화와 신생골 형성이 보였으며, 대조군에 비해 섬유조직 형성은 적었다. 8주에서는 4주에 비해 조골세포 활성화나 신생골 형성은 미약하게 증가하였으나, 우골유도 HA 이식군 보다는 신생골 형성이 적었다.
4. 홍화씨 섭취군은 4주, 8주에서 대조군 및 탄산칼슘 이식재군과 유사하게 골 결손부 주위에서 조골세포 활성화나 신생골 형성이 미약하게 나타났으며, 8주에서는 전 실험군중 증가된 신생 모세혈관을 포함한 가장 많은 섬유결체조직의 형성이 나타났다.

이상과 같은 결과에서 우골유도 HA 이식군이 골 형성에 보다 나은 효과를 나타냈으며, 홍화씨 경구투여는 결손부 초기 치유시 염증감소와 결체조직 형성에 효과적이어서 치주조직 골 결손부 치료시 우골유도 HA 이식과 함께 홍화씨 경구투여가 골의 치유와 재생에 효과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

VI. 참고문헌

1. Caton J.G., Greenstein G. : Factors related to periodontal regeneration, *Periodontol* 2000 1: 9-15, 1993.
2. Listgarten M.A., Rosenberg M.M. : Histological study of repair following new attachment procedures in human periodontal lesions, *J Periodontol* 50: 333-344, 1979.
3. Hammarstrom L. : Enamel matrix, cementum development and regeneration, *J Clin Periodontol* 24: 658-668, 1997.
4. Heijl L. : Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report, *J Clin Periodontol* 24: 693-696, 1997.
5. Lynch S.E., de Castilla G.R., Williams R.C., Kiristy C.P., Howell T.H., Reddy M.S., Antoniadis H.N. : The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing, *J Periodontol* 62: 458-467, 1991.
6. Sigurdsson T.J., Tatakis D.N., Lee M.B., Wikesjo U.M. : Periodontal regenerative potential of space-providing expanded polytetrafluoroethylene membranes and recombinant human bone morphogenetic proteins, *J Periodontol* 66: 511-521, 1995.
7. 신승윤, 이용무, 구 영, 배기환, 정종평. : 후박 및 홍화종자 추출혼합물이 치주인대세포 및 골아세포의 활성화 및 백서의 두개골 재생에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 28: 545-557, 1998.
8. 두진수, 강정구, 유형근, 신형식. : 생약제제가 세포활성도에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 27: 459-468, 1997.
9. 강정구, 유형근, 신형식. : 홍화씨 추출물이 치주인대세포와 조골유사세포의 골 광물화 작용에 미치는 효과. *대한치주과학회지* 28: 475-489, 1998.
10. 이광수, 홍성우, 유경태, 유형근, 김윤철, 신형식. : 홍화씨 성분 분리 추출물이 치주인대세포와 조골모유사세포의 광물화에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 28: 745-754, 1998.
11. 김준환, 전선민, 안미영, 구세광, 이재현, 최명숙, 문광덕. : 토종 홍화씨의 급여가 실험동물의 늑골 골절 회복중 골조직에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지* 27: 698-704, 1998.
12. 윤동환, 이승철, 김명은, 김은철, 유형근, 김윤철, 신형식. : 홍화씨 추출물이 조골모유사세포 활성화

- 및 골재생에 미치는 영향. 대한치주과학회지 28: 769-784, 1998.
13. Rosenberg M.M. : Free osseous tissue autografts as a predictable procedure. J Periodontol 42: 195-209, 1971.
14. Hiatt W.H., Schallhorn R.G. : Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesion. J Periodontol 44: 194-208, 1973.
15. Rummelhart J.M., Mellonig J.T., Gray J.L., Towel H.J. : A comparison of freeze-dried bone allograft and demineralized freeze-dried bone allograft in human periodontal osseous defects. J Periodontol 60: 655-663, 1989.
16. Becker W., Becker B.E., Caffesse R. : A comparison of demineralized freeze dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. J Periodontol 65: 1128-1133, 1994.
17. Carranza F.A., Kenney E.B., Lekovic V., Talamante E., Valencia J., Dimitrijevic B. : Histologic study of healing of human periodontal defects after placement of porous hydroxyapatite implants. J Periodontol 58: 682-688, 1987.
18. Baldock W.T., Hutchens L.H., McFall W.T., Simpson D.M. : An evaluation of tricalcium phosphate implants in human periodontal osseous defects of two patients. J Periodontol 56: 1-7, 1985.
19. Bowers G.M., Vargo J.W., Levy B., Emerson J.R., Bergquist J.J. : Histologic observations following the placement of tricalcium phosphate implants in human intrabony defects. J Periodontol 57: 286-287, 1986
20. Yukna R.A. : Clinical evaluation of coralline calcium carbonate as a bone replacement graft material in human periodontal osseous defects. J Periodontol 65: 177-185, 1994
21. Guillemin G., Patat J.L., Fournie J. and Chetail M. : The use of coral as a bone graft substitute. J Biomed Mater Res 21: 557-567, 1987
22. Guillemin G., Meunier A., Dallant P. and Cristel P., Pouliquen J.C., Sedel L. : Comparison of coral resorption and bone apposition with two natural corals of different porosities. J Biomed Mater Res 23: 765-779, 1989
23. Lekovic V., Ouheyoun J.P., Carranza F.A., Nedic M., Bou Abboud N. and Kenney E.B. : Histological and histometric evaluation of three graft materials in experimental osseous defects. J periodontol 63: 1009-1010, 1992
24. Issahakian S., Ouheyoun J.P. : Clinical and histological evaluation of a new filling materials : natural coral. J Parodontol 8: 251-259, 1989
25. 김정민, 손성희, 한수부. : Coralline Based Porous Hydroxyapatite와 Coralline Based Calcium Carbonate의 이식 후 치조골내 결손부에 대한 임상적 평가. 대한치주과학회지 24: 120-130, 1994
26. Froum S.J., Weinberg M.A. and Tarnow D. : Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. J Periodontol 69: 698-709, 1998
27. 이인경, 이기영, 한수부, 고재승, 조정식. : 생체요업재료와 차폐막의 복합사용 후 골연하 결손부의 재생효과. 대한치주과학회지 26: 47-67, 1996
28. Zaner D.J., Yukna R.A. : Particle size of periodontal bone grafting materials. J Periodontol 55: 406-409, 1984
29. Urist M.R., McLean F.C. : Osteogenic potential and new bone formation by induction in transplants to the anterior chamber of the eye. J Bone Joint Surg 34: 443-476, 1952
30. Salama R., Burwell R.D., Dickson I.R. : Recombined grafts of bone and marrow. The beneficial effect upon osteogenesis of impregnating xenograft (heterograft) bone with autologous red marrow. J Bone Joint Surg 55: 402-417,

1973

31. Jensen S.S., Aaboe M., Pinholt E.M. : Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes, *Int J Oral Maxillofac Implants* 11: 55-66, 1996
32. Klinge B., Alberius P., Isaksson S., Jonsson J. : Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxyapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects, *J Oral Maxillofac Surg* 50: 241-249, 1992
33. Spector M. : Anorganic bovine bone and ceramic analog of bone mineral as implant to facilitate bone regeneration, *Clin Plastic Surg* 21: 437-444, 1994
34. Wetzel A.C., Stich H. and Caffesse R.G. : Bone apposition onto oral implant in the sinus area filled with different grafting materials. A histological study in beagle dogs, *Clin Oral Implant Res* 6: 155-163, 1995
35. 박낙진, 손낙원, 이학인. : 홍화가 cholesterol 식이에 의한 토끼의 죽상동맥경화증에 미치는 조직학적 연구. *Korean J Phys Anthrop* 11: 139-145, 1998
36. 이인우, 최진규. : 홍화씨 건강법. 태일출판사 45-70, 1998
37. Garret S. : Periodontal regeneration around natural teeth, *Ann Periodontol* 1: 621-666, 1996
38. Uchida A., Nade S.M., McCartney E.R. : The use of ceramics for bone replacement, *J Bone Joint Surg* 66: 269-274, 1984
39. 김덕규, 홍성우, 유경태, 서재진, 김홍식, 유형근, 신형식. : 홍화씨 추출물의 국소투여가 백서 두개골 결손부 재생에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 29: 297-310, 1999
40. White E., Shors E.C. : Biomaterial aspect of interpore 200 porous hydroxyapatite, *Dent Res* 62: 148-154, 1983
41. 이은주, 정현주. : 백서 두개골 결손부에 수종의 합성골 이식 후 치유양상. *대한치주과학회지* 28: 87-102, 1998

사진부도설명

- Photo 1-1, Microphotography of bone remodeling in control groups at 4 weeks
(Goldner's Masson-Trichrome stain, $\times 25$).
- Photo 1-2, Microphotography of bone remodeling in control groups at 8 weeks
(Goldner's Masson-Trichrome stain, $\times 25$).
- Photo 2-1, Microphotography of bone remodeling in Bio-Oss[®] groups at 4 weeks
(Goldner's Masson-Trichrome stain, $\times 25$).
- Photo 2-2, Microphotography of bone remodeling in Bio-Oss[®] groups at 8 weeks
(Goldner's Masson-Trichrome stain, $\times 25$).
- Photo 3-1, Microphotography of bone remodeling in Biocoral[®] groups at 4 weeks
(Goldner's Masson-Trichrome stain, $\times 25$).
- Photo 3-2, Microphotography of bone remodeling in Biocoral[®] groups at 8 weeks
(Goldner's Masson-Trichrome stain, $\times 25$).
- Photo 4-1, Microphotography of bone remodeling in safflower seed feeding groups at 4 weeks(Goldner's
Masson-Trichrome stain, $\times 25$).
- Photo 4-2, Microphotography of bone remodeling in safflower seed feeding groups at 8 weeks(Goldner's
Masson-Trichrome stain, $\times 25$).

사진부도(1)

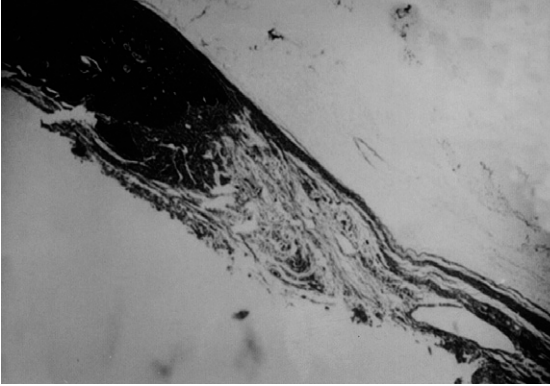


Photo 1-1

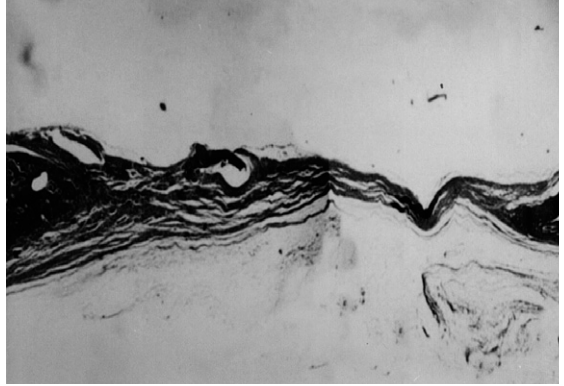


Photo 1-2

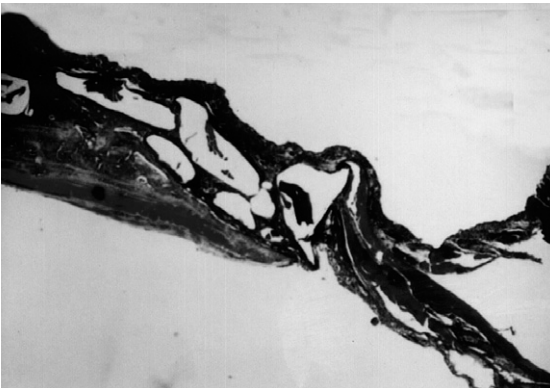


Photo 2-1

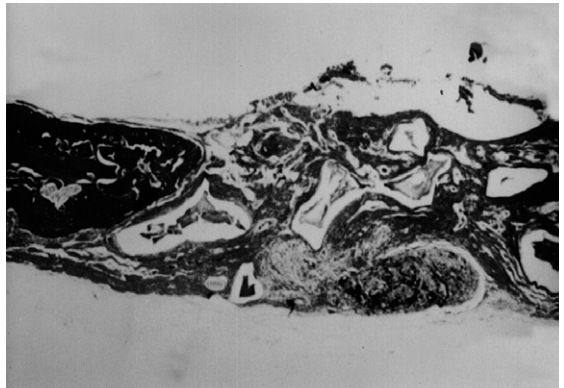


Photo 2-2

사진부도(Ⅱ)



Photo 3-1



Photo 3-2

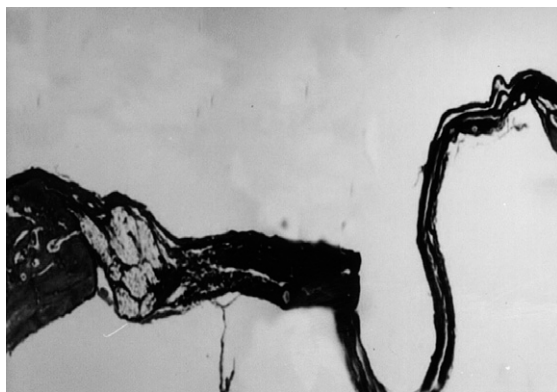


Photo 4-1

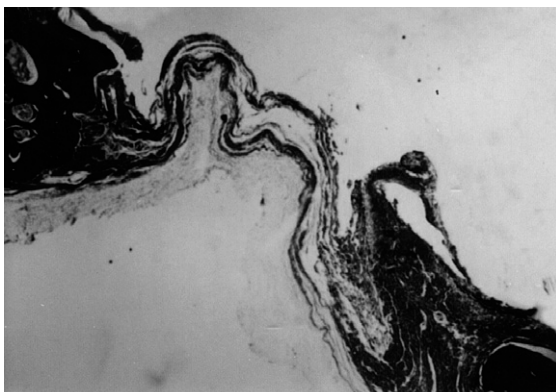


Photo 4-2

Healing after Implantation of Bone Substitutes and Safflower Seeds Feeding in Rat Calvarial Defects

Kyung-Tae You, Kwang-Soo Choi, Gi-Yon Yun, Eun-Chul Kim*, Hyung-Keun You, Hyung-Shik Shin

Department of Periodontology, College of Dentistry, Wonkwang University

Department of Oral Pathology, College of Dentistry, Wonkwang University*

Many synthetic bone materials have been studied for their potential of regenerative effects in periodontal tissue. Safflower seeds have been traditionally used as a drug for the treatment of fracture and blood stasis in oriental medicines. The purpose of this study was to assess and compare the osseous responses in rat calvarial defects between bone substitutes such as calcium carbonate and bovine-derived hydroxyapatite and feeding of safflower seeds. The calvarial defects were made with 8 mm trephine bur in 24 Sprague-Dawley rats. Two graft materials were implanted in each experimental groups, whereas the control and safflower seed feeding groups were sutured without any other treatment. And then the rats of safflower seed feeding group were supplied with 3 g/day of safflower seeds. Each group was sacrificed at 4 weeks and 8 weeks. To study a histopathology related to bone healing and regeneration, Goldner's Masson Trichrome stain was done at each weeks. The tissue response was evaluated under light microscope. There were more osteoblastic activity, new bone formation, dense bony connective tissues in bovine-derived hydroxyapatite group compared to other groups at 8 weeks. The osseous defect area of safflower seed feeding group was filled with prominent fibrous tissues, where less inflammatory infiltration and new capillary proliferation. In the early phase of bone healing, safflower seed feeding reduces the inflammatory response and promotes the proliferation of connective tissue. These results suggest that natural bovine-derived HA and safflower seed feeding could enhance the regenerative potential in periodontal defects.