백서 두개골 결손부에 수종의 합성골 이식후 치유양상

이은주 · 정현주

전남대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서론

상실된 치조골 회복을 위해 자가골에서부터 합성골에 이르기까지 다양한 이식재가 이용되며[1, 2] 성공률이 다양하게 보고되고있다. 자가골과 동종골 이식은 가장 널리 이용되지만[3-7] 자가골이식은 채취량의 한계, 이식골편의 흡수등의 단점이, 동종골의 경우 불확실한 면역반응, 질환감염의 가능성, 골편흡수의 문제점이 보고된 바 있다[8]. 따라서 생물학적 적합성을 가지며 새로 형성된 신생골로 점차적으로 대치될 수 있는 골유도[9, 10] 또는 골전도능[8]을 갖는 골대체재의 개발을 위한 연구가 시행되고있다.

골질의 주 무기질성분인 인산칼슘계 생체재료로는 hydroxyapatite(HA)와 tricalcium phosphate(TCP)가 포함되며 이들의 효용성에 대한 많은 연구들이 이루어졌다[11-23]. 비흡수성 HA는 입자내 소공(pore)의 존재유무에 따라 무공성과 유공성 HA로 나뉜다. 무공성 HA는 강도가 강하며 불활성 물질로서 HA입자가 결합조직에 의해 피낭화된다고 보고되었다[14]. 유공성 HA는 replamineform과정에 의해 형성되며 섬유조직과 혈관의 성장증식 그리고 골원(osteon) 형성을 지지하는 충분한 크기(190-230㎛)의 소공이 서로 연결되는 내부구조[11, 13]를 갖는다. 이것은 일반적으로 골형성 능력은 없지만 숙주골 인접부위에서 골전도능을 보이며 생물학적 친화성이 좋다고 알려졌고[18, 20, 23] HA 소공내에서 신생골의 형성과 입자의 흡수가 보고되기도 하였다[21].

또한 흡수성 HA로서 이종골에서 단백질을 완전하게 제거하여 이식한 경우 골형성능이 보고되었으며[24], Salama 등[25]은 이러한 이식재가 훌륭한 골대체재라고 하였다. 우골유도(bovin derived) HA는 흡수성의 골무기질로서 모든 단백질이 제거되었기 때문에 생체적 합성을 보이며[26] 비흡수성 HA와 다르게 생리적 흡수(physiologic resorption)와 개조(remodeling)에 따른 골치유를 보여줌으로써 좀더 나은 결과를 나타낸다고 보고되었다[27].

탄산칼슘 이식재는 천연산호에서 채취한 것으로 150㎛ 정도의 소공과 45%이상의 유공성을 보인다. 동물연구에서 효소분해과정에 의해 이식재가 점진적으로 흡수되었고 신생골에 의해 대치되었고[28-30] 임상연구에서도 치주결손부위의 회복에 상당한 효과를 보이고 있다[28, 31].

이러한 골대체재들은 임상에서 널리 사용되고 있지만 치주질환으로 인한 치조골 결손부

위에 이식시 이식재의 흡수가 치유과정중에 어느 정도 일어나는지, natural HA가 합성 HA에 비해 잇점이 있는지, 그리고 인산칼슘과 탄산칼슘 이식재간 차이점이 치유과정에 존재하는지에 대해 알려진 바가 적다.

따라서 본 연구의 목적은 임상적으로 사용되고 있는 탄산칼슘 이식재, 골의 무기질인 우골유도 HA, 합성 HA인 비흡수성 유공성 HA를 이식한 후 신생골 형성을 비교하고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 실험동물 및 재료

생후 8-9주된 체중 250gm 의 수컷 Sprague-Dawley rats 16마리를 사용하였다. 골결손부 이식재로는 비흡수성 유공성 HA(Interpore 200®, Interpore International, 미국), 흡수성 우골유도 HA(Bio-oss®, Gestlich Pharma, 스위스) 및 탄산칼슘 이식재(Biocoral®450, Inoteb, 프랑스)를 사용하였다(표 1).

2. 실험 방법

(1) 수술 : 골결손부 형성 및 이식재 삽입

실험동물에 xylazine(럼푼®, 한국 바이엘) 0.2ml와 염산 케타민(케타라®, 유한양행) 0.8ml를 혼합하여 체중 100gm당 0.1cc씩 복강내 주사하여 마취를 시행하였다. 백서의 두개부위 털을 제거하고 0.12% 클로로헥시딘 용액으로 소독하고 두개정 정중부에 절개 후 판막을 거상한 다음, 양 측두골과 전두골 부위에 2.5mm 직경의 구형 바를 이용하여 4개의 골결손부를 형성하였다. 각 결손부에 이식재를 삽입하고 술부는 5-0 흡수성 봉합사(Vicry Ethicon, 영국)로 봉합 하였다. 수술부위는 이식재를 넣지않은 부위를 대조군, 비흡수성 유공성 HA, 흡수성 우골유도 HA 및 탄산칼슘 이식재를 이식한 부위를 실험군으로 구분하였다.

2. 조직학적 관찰

이식재 삽입후 3일, 1, 2, 4주에 실험동물을 4마리씩 희생하여 조직표본을 얻었다. 4개의 결손부를 모두 포함하는 골시편을 절취하여 10% formalin 용액에 2-3일간 고정하고 5% formic acid 용액에 3주간 탈회한 후 다시 10% formalin 용액에 재고정하였으며 30-100% 에탄올로 단계적으로 탈수한 다음 Epon 812®(Poly-Bed 812-resin, Polyscience, Inc. 미국)에 포매하였다.

Ultramicrotome(Maruto Co., 일본)을 이용하여 2㎛두께의 수평절편을 제작한 후 toluidine blue로 염색하였으며 광학 현미경(Olympus Vanox-S, 일본)하에서 신생골 형성, 입자의 흡수, 주위결합조직의 반응, 파골 및 조골세포의 출현여부를 관찰하였다.

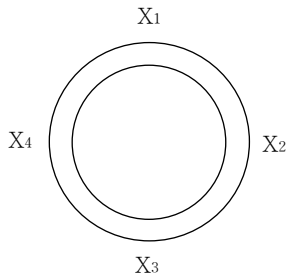
3. 정량적 분석

결손부 측벽 기저부의 신생골형성양을 2회

표 1 Characteristics of bone substitutes

Trade Name	Material	Property	Particle size
Interpore®	hydroxyapatite	porous non-resorbable	450㎛
Bio-oss®	hydroxyapatite	porous resorbable	600㎛
Biocoral®	calcium carbonate	porous resorbable	300-450㎛

측정하고 다음의 수식에 의하여 결손부내 신생골 형성양을 정량화하였다.



$$\text{신생골 형성양} = \frac{(x_1+x_2+x_3+x_4/d)}{4} \times 100$$

d=결손부 반경, x=골결손부 중심부를 향해 성장한 신생골

Ⅲ. 결과

1. 조직학적 소견

(1) 대조군(그림 1-4, 표 2)

3일 소견에서는 골결손부의 경계가 명확하고 다수의 염증세포의 침윤이 관찰되었으며 숙주골과 인접하고 있는 결손부 주변부에서는 섬세한 섬유소 그물망이 방향성이 없이 형성되면서 그물망내 많은 혈구세포가 산재되어 있었다(그림 1).

1주에는 골결손부 대부분은 소성결합조직으로 채워져 있고 숙주골변연에 골흡수와 함께 변연부로부터 두께가 가는 교직골(woven bone)이 형성되어있었고 주변에는 방추형모양의 섬유아세포가 산재되어 있었다(그림 2A, B).

2주에는 1주에 비해 신생골형성양이 증가되었으며 신생골은 숙주골 주변에 한정되어있지만 치밀해지고 골내 많은 혈관이 관찰되며 일부에서는 일차골원 형성이 시작되고 있었다(그림 3A). 신생골 소주골내에는 많은 조골세포가 관찰되었으며 주변부의 소주골은 더욱 성숙해진 반면 중심부로 향하는 신생골 형성은 아주 미약하며 중심부에는 세포성이 적은 소성 결합조직에 의해 채워져 있었다(그림 3B).

4주에는 주변부 소주골의 형태가 2주에 비해 더욱 치밀해지고 좀더 성숙된 골과 미성숙된 골이 혼합된 양상을 보였고 이전의 미성숙 골소주와 골소주간 결합조직이 비교적 성숙된 형태의 골로 대치되었으며 대치된 골의 일부에는 판상구조의 형태가 관찰되었다. 성숙골과 미성숙골 사이에는 성장선이 관찰된 반면 중심부에서는 여전히 소성결합조직이 주로 점유되고 있었다(그림 4).

(2) 비흡수성 유공성 HA 이식군(그림 5-8, 표 2)

3일 소견은 다른 실험군과 유사하였으며(그림 5) 1주에는 신생골 형성정도는 흡수성 우골유도 HA이식군과 유사하였으며 입자사이의 공간은 결합조직으로 채워져있었다. 많은 방추형의 세포들이 입자주변에 밀집되어있었다(그림 6A, B).

2주에는 주변부 신생골은 1주에 비해 굵은 소주골이 서로 연결되어 보다 넓은 골소주 형태를 보이며 중심부에서는 크고 불규칙한 입자가 관찰되며 많은 섬유아세포와 교원섬유가 관찰되었다(그림 7).

4주에는 2주보다 더욱 치밀해진 신생골이 관찰되며 중심부 입자에서는 2주에 비해 더 깊게 소공내로 향하는 섬유아세포와 치밀한 결합조직이 관찰되었다. 주변부 신생골은 일차골원의 형태를 갖추고 비교적 성숙해졌고 중심부입자에서는 2주에서보다 더 깊게 소공내로 향하는 결합조직이 관찰되며 입자들이 치밀해진 결합조직에 의해 싸여 있었으며 조골세포는 관찰되지 않았다(그림 8A-C).

(3) 흡수성 우골유도 HA이식군(그림 9-12, 표 2)

3일 소견에서는 이식재가 조직처리과정에서

탈회되어 불규칙한 공간으로 관찰되었다(그림 9).

1주에는 일부 골결손부 주변부는 숙주골에서 중심부를 향하는 미성숙한 골이 서로 연결되어 미약한 소주골 형태를 보이며 입자의 소공내에 침투된 섬유아세포와 결합조직이 관찰되었다. 또한 입자주위로는 일정한 방향성을 갖는 많은 방추형의 세포들이 밀집되어 있었다(그림 10A). 일부 입자주위에서는 다핵거대세포가 관찰되었다(그림 10B).

2주후에는 골결손 주변부에서는 폭이 넓은 신생소주골이 더 많이 서로 연결되어 있었으며 일부 입자사이로 골소주가 성장하고 있으며 신생골의 성숙도는 부위에 따라 달랐다(그림 11A). 형성된 신생골 내에는 많은 골세포와 혈관이 관찰되었으며 다핵거대세포는 거의 관찰되지 않았으며 형성된 신생골 주변과 인접한 입자주변에서 조골세포가 관찰되었다(그림 11B).

4주후에는 주변부 일부 입자는 염색성이 증가된 신생골에 의해 완전히 둘러싸였으며 내부에는 일정한 방향의 섬유아세포와 교원섬유로 구성된 결합조직과 조골세포가 관찰되었다(그림 12A). 일부 입자사이가 골양조직에 의해 연결된 부위가 관찰되었다(그림 12B).

(5) 탄산칼슘 이식군(그림 13-16, 표 2)

3일 소견에서는 이식재가 조직처리과정에서 탈회되어 불규칙한 공간으로 관찰되었으며 이식재의 소공내로 섬유소 그물망이 유입되어 있었다(그림 13).

1주에는 대조군에 비해 좀더 많은 신생골 형성이 관찰되었다. 골결손부 중심부는 대부분 세포성이 풍부한 결합조직으로 채워져 있었고 골결손부 주변부에는 숙주골로부터 신생골이 성장하여 골소주를 이루고 있었다(그림 14A, B). 결손부 중심부 입자주변에는 다핵거대세포의 출현이 관찰되었다(그림 14C). 2주후에 1주에 비하여 비교적 굵은 미성숙 골소주를 보이며 신생골표면은 조골세포에 의해서 이장되어있었고 골소주내에는 많은 골세포가 함유되어 있었다. 대조군에 비해 많은 신생골이 형성되었지만 성숙도는 더 낮으며 중심부의 입자주변에는 많은 다핵거대세포와 함께 조골세포가 관찰되며 입자사이로 일정한 방향성을 갖는 섬유아세포와 교원섬유가 관찰되었다. 일부 입자내로 골양조직이 관찰되며 그 주변으로 조골세포가 관찰되었다(그림 15A, B).

4주후에 중심부를 제외한 모든 부위는 잘 발달된 골소주로 치유되었다. 소주골 사이에는 혈관성이 풍부한 결합조직으로 채워져 있었고 신생골 주변과 소주골사이에는 조골세포에 의해 치밀하게 둘러싸여 있었다(그림 16A). 중심부의입자가 흡수되면서 신생골에 의해 대치되었으며 신생골내에는 많은 골세포가 관찰되었다(그림 16B).

2. 신생골 형성의 정량적 분석

이식재를 넣지 않은 부위에서는 숙주골 주

표 2 Healing process in control and Experimental site

	Control site	Experimental site		
		E_1	E_2	E_3
1 week				I, II
2 weeks	V			III_1
4 weeks	VI	V, VI, VII	III_2, IV_2	IV_1

I : presence of multinucleated giant cell surrounded particle
II : initial resorption of the particle
III1 : osteoid tissue formation in the particles
III2 : new bone formation between the two particles
IV1 : new bone formation in the particles
IV2 : the particle surrounded by new bone
V : formation of the primary osteon
VI : formation of the reversal line
VII : fibrous encapsulation of the particle

표 3 The amount of new bone formation(%)

C	E_1	E_2	E_3	
1week	10.5±0.1	13.3±0.2	20.9±0.1	21.1±0.2
2weeks	29.3±0.1	33.7±0.3	35.3±0.3	40.9±0.2
4weeks	52.7±0.3	55.5±0.2	59.5±0.2	71.8±02

Values are mean±S.D
E_1:porous synthetic HA site
E_2:natural bovine derived HA site
E_3:calcium carbonate site

변에 한정되어 가장 적게 골이 형성된 반면 가장 성숙한 골이 관찰되었다. 신생골 형성양의 정도는 1주에는 탄산칼슘과 흡수성 우골유도 HA 이식군에서 가장 많은 골이 형성되었고 2주에는 탄산칼슘 이식군, HA이식군, 대조군순이였고 4주후에는 탄산칼슘 이식군이 다른군에 비해 가장 많은 골이 형성되었다(표 3).

Ⅳ. 총괄 및 고찰

치주처치의 궁극적인 목적은 치주질환의 진행을 정지시키고 치주질환으로 파괴된 치조골, 백악질, 그리고 치주인대를 재생시키는데 있다. 치주질환이 진행됨에 따른 치조골 결손부를 재생시키기 위해 많은 술식들이 이용되고 있으며 좀더 빠르고 적절한 골의 회복을 위해 골이식술이 널리 이용되고 있다.

자가골과 동종골을 이용한 골이식시 발생하는 문제점들 때문에 골대체재의 개발이 주관심사가 되고 있다. 이상적인 골대체재는 생물학적 적합성을 가져야하며 새로 형성된 골로 점차적으로 대치되고 또한 골유도[9, 10] 또는 골전도능[8]을 가져야 한다. 골유도는 이식재가 미분화세포로부터 연골세포나 조골세포로 분화되게하는 치유양상이며 골전도는 골대체재가 혈관이나 골유도전구세포 성장을 위한 비계(scaffold)로서 역할을 하는 것이다. 합성골의 효과에 대한 연구가 이루어지고 있으며 이중 인산칼슘 생체재료인 hydroxyapatite (HA)와 tricalcium phosphate(TCP)는 가장 널리 연구되고 있고 이들을 이용한 임상연구에서 치주낭감소, 부착증진이 보고되었다[16]. Frame등[14]은 무공성 HA가 결합조직에 의해 피낭화됨을, Carranza등[21]은 유공성 HA소공내에서 신생골의 관찰과 입자주변에서 다핵거대세포와 함께 입자의 흡수를 보고하였다.

단백질이 제거된 이종골의 경우 흡수성 HA로 골형성에 기여할 수 있다고 보고되었다[24]. 문제가 될 수 있는 교차항원성도 해결되어 이종골을 안전한 골대체재로 이용할 수 있게 되었다. 우골에서 유도된 HA는 합성 HA에 비해 조기치유가 촉진되며 생체적합성이 훌륭하며 점진적인 흡수를 통해 생리적 골개조를 야기한다고 보고되었다[27].

한편 Porites종인 천연산호에서 유래된 유공성 탄산칼슘 이식재는 98% calcium carbonate와 1%이상의 fluoride, strontium, magnesium 등의 성분이 포함되며 0.005%이하의 중금속이 포함되어있으며 소공이 서로 연결된 구조로서 혈관과 골이 이러한 소공을 통해 자라들어옴으로써 입자가 점차 흡수되어 신생골로 대치된다고 동물과 임상실험을 통해 보고되었다[28, 31].

앞에서 언급한 골대체재들은 임상에서 널리 사용되고 있지만 이들 모두를 직접 비교한 연구가 드물어 백서 두개골에 인위적으로 형성된 골결손부에 탄산칼슘, 흡수성 우골유도 HA, 비흡수성 유공성 HA를 이식한 후 신생골 형성과정과 이식재에 대한 골조직의 반응을 평가하고자 시행하였다.

본 실험에서의 치유양상은 명백하게 시간에 따라서 입자의 흡수, 입자내 골형성, 그리고 주위결합조직의 반응에 있어서 차이가 보였다. 탄산칼슘 이식군에서는 실험1주와 2주째 입자주위로 많은 다핵거대세포가 관찰되었으며 4주째에는 감소되었다. 이식4주째에는 입

자가 흡수되면서 신생골로 대치되는 소견이 관찰되었다. Klein등[32]에 의하면 파골세포와 거대세포의 구분은 조직효소방법을 통해서만 구분이 가능하다고 하였다. 따라서 여기에서는 단지 거대세포로 언급하고자 한다. 이식재의 흡수는 골형성에 선행되는 단계로서 이식재의 융화(integration)를 위해 필요하다. 생리적 골개조동안 파골세포는 탐식세포에 의해 대치되며 기질침착을 위해 골표면에 dense granular cement를 침착하게된다. Gross등[33]은 석회화전에 ceramic interface에서 관찰된 ground substace와 유사한 물질이 나중에 석회화됨을 보고하였다. 이러한 bonding 부위가 기질침착과 분화를 위한 시발점으로 작용하게 된다. 본 실험에서는 거대세포가 가장 많이 관찰된 탄산칼슘 이식군에서 입자가 흡수되면서 많은 신생골이 형성된 반면 비흡수성 유공성 HA이식군에서는 흡수소견이 관찰되지 않았으며 흡수성 우골유도 HA군에서는 명확하지는 않지만 입자의 크기가 감소되는 경향을 보였다. 이것은 탐식세포와 관련된 입자의 흡수가 신생골 형성에 영향을 주었을 것으로 사료된다. 그러나 이 실험의 제한점은 여러 이식재들간에 입자크기가 다양했으며 같은 이식재들도 입자크기가 균일하지 않았기 때문에 흡수정도를 입자크기로 비교하기가 어려워서 현미경상 입자주변의 상태로만 비교하였다.

Spector[34], Frank등[35]에 따르면 입자크기는 골치유에 중요한 결정요소라고 했으며 입자크기와 관련되는 요소에는 입자간 공간, 표면적 등을 들 수 있다. Shapoff등[36]은 FDBA에 대한 연구에서 100-300㎛과 1000-2000㎛ 의 입자크기를 비교한 결과 작은 입자사용시 골형성이 향상된다고 하였는데, 입자가 작을수록 표면적의 증가와 함께 파골활성이 증가하면서 골유도가 강화되고 또한 표면적이 클수록 기질의 성장과 분화를 유도함으로써 조기치유에 유리하다고 하였다. 또한 입자간 공간의 수가 증가하면 골형성이 촉진되게 된다. 신생혈관의 성장을 위해서 필요한 최소의 입자간 공간 크기는 100㎛이상이며[35] 입자의 크기가 380㎛인 경우 이런 최소한의 공간을 허용할 수 있게 된다. 본 연구에 사용된 탄산칼슘, 흡수성 우골유도 HA, 비흡수성 유공성 HA는 입자크기가 각각 300-450㎛, 600㎛, 450㎛이었다. 탄산칼슘 이식군에서는 이식4주에 입자의 일부가 흡수되면서 신생골에 의해 대치되는 소견이 관찰되었다. 따라서 탄산칼슘 이식재의 조기 흡수양상에는 입자크기의 영향이 있으리라고 생각된다. 향후에는 입자의 크기에 따른 영향을 최소화하기위해 입자크기에 대한 배려가 요구된다.

이번 실험에 사용된 우골유도 HA는 해면골과 유사한 구조의 무기질로서, Klinge등[27]은 토끼의 두개골 결손부에서 우골유도 HA와 합성 HA의 이식후 4주정도에 입자 주변에서 조골세포를 확인했으며 우골유도 HA에서 더욱 성숙하고 많은 신생골 형성을 보고한 바 있었다. 이번 실험에서도 우골유도 HA이식군에서는 2주에 주변부 입자사이로 신생골이 성장했으며 4주에는 일부 주변부 입자 주위로 완전히 신생골이 형성되는 소견이 관찰되었다. 따라서 우골유도HA가 비흡수성 HA에 비해 입자의 크기는 컸지만 망상구조를 가져 골전도성이 나은 것으로 관찰되었다. 반면 비흡수성 HA이식군에서는 입자주위로 별다른 반응이 관찰되지 않았다.

Yukna[31]는 유공성의 천연 탄산칼슘 이식재는 생리적으로 흡수성 HA인 tricalcium phosphate와 유사하지만 화학적으로 다르다고 하였다. 즉 다른 동종골이나 합성골의 경우 골형성을 위한 일련의 과정으로 HA가 carbonate로 되는 표면전환이 필요하지만 탄산칼슘의 경우 이러한 전환단계의 필요성이 제거되기 때문에 골형성과정이 신속히 진행되게된다. 이러한 기전과 관련하여 본 연구에서 탄산칼슘 이식군에서 가장 나은 결과를

보인 것으로 추정된다.

지금까지 대부분의 연구에서 HA는 흡수되지 않고 단지 결합조직에 의해 피낭화된 반면 Carranza등[21]의 연구에서는 HA소공내 신생골이 형성되며 거대세포에 의해 흡수됨이 보고되었다. 또한 Saffar등[37]은 이식에서 흡수까지 과정을 연구한 실험에서 첫단계는 치밀한 결합조직에 의한 입자포매이고 다음은 세포와 혈관의 입자내 침투가 좀더 진행된 단계라 하였으며 실험과 모델에 따라서 이러한 섬유성 결합조직이 장기간 잔존하며 느리게 성숙할 수 있다고 설명하였다. 본 연구에서 우골유도 HA에서는 소공내는 아니지만 입자간 공간내로 신생골이 함입되었다. 반면 비흡수성 HA이식군에서는 4주후에도 입자들이 치밀한 결합조직에의해 둘러싸여있었다. 우골유도 HA에서 좀더 나은 골전도성이 관찰되었지만 이들에 대한 결론을 내리기 전에 긴 실험기간이 필요할 것으로 사료된다. 대조군에서는 가장 적게 골이 형성되었지만 결손부 주변의 신생골은 가장 성숙한 형태였으며 처음에 형성된 신생골이 성숙한 후 새로운 골이 싸여가는 이행성 골대체(creeping substitution)현상이 관찰되었다. 반면에 탄산칼슘과 흡수성 우골유도 HA는 흡수 및 골대체가 되어 골성숙과정이 느리게 나타났다.

본 실험은 백서에서 피질골로 이루어진 두개골내에 골결손을 만들었으므로 골수강이 제한되어있었다. Uchida등[38]은 백서, 토끼의 두개골에서 HA를 매식했으나 소공내 신생골은 거의 관찰하지 못하였는데, 이러한 양상은 골수강이 거의 없는 두개골에 이식하였기 때문이라고 하였다. 4주소견에서 우골 유도 HA군이 비흡수성 유공성 HA군에 비해 더 나은 골전도성이 관찰되었지만 신생골 형성양에는 별다른 차이가 관찰되지 않았다. 이것은 실험모델의 선택과 관련하여 신생골형성양에 영향을 주었던 것으로 보인다.

V. 결론

본 실험에서는 백서의 두개골에 인위적으로 형성한 4개의 골결손부에 비흡수성 유공성 HA, 흡수성 우골유도 HA, 탄산칼슘계 이식재를 이식한 세 실험군과 이식재를 포함하지 않은 대조군에서 이식 3일, 1, 2, 4주 후 동물을 희생시켰다. 표본처리과정을 거친다음 광학현미경하에서 입자의 흡수, 입자내부 및 사이의 골형성, 주위결합조직의 반응등을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 대조군은 골형성이 결손부 주변부에 제한적이였고 네개의 군가운데 가장 적은 양의 신생골형성을 보였지만 가장 성숙한 형태를 보였다. 이식2주에 미약하지만 일부에서는 일차골원의 형성이 시작되었고 4주에는 성숙골과 미성숙골의 혼합된 양상이 관찰되었다. 일부에서는 판상구조가 관찰되었으며 성숙골과 미성숙골 사이에는 성장선과 이행성 골형태가 관찰되었다.
2. 비흡수성 유공성 HA군에서는 4주에도 중심부입자가 여전히 방추상모양의 세포가 풍부한 결합조직에 의해 둘러싸여 있었다. 입자 주위로 다핵거대세포와 조골세포는 관찰되지 않았으며 신생골의 형성이 제한적이였지만 일차골원의 형태를 갖춘 비교적 성숙한 골이 결손부 주변에서 관찰되었다.
3. 흡수성 우골유도 HA군에서는 1주후 입자주위로 약간의 다핵거대세포가 관찰되었으며 2주에는 신생골이 주변부입자 사이로 성장하였고 4주에 결손부 주변의 입자가 신생골에 의해 완전히 둘러싸였고 중심부입자 사이에 골양조직이 관찰되었다.
4. 탄산칼슘 이식군은 다른 실험군과 대조군에 비하여 가장 많은 신생골이 형성되

었다. 시간에 따른 각 소견에서 가장 세포성이 높았으며 1주후 입자주위에서 다핵거대세포가 관찰되었으며 2주에는 입자주변에서 다핵거대세포와 함께 조골세포가 관찰되었다. 실험4주에는 입자의 일부가 신생골에 의해 대치되었으며 입자주위로 조골세포가 이장되어 있었다.

이상의 결과에서 골대체재가 이식된 실험군은 대조군에 비해 신생골 형성양이 증가되었으며 흡수성 우골유도 HA는 골전도성이 관찰되었으며 특히 탄산칼슘이식부에서 가장 많은 양의 신생골이 형성되었고 입자가 흡수되면서 신생골로 대치되었으므로 두 이식재 모두 치주질환에 의한 골결손부에서도 유용할 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Schallhorn RG : Present status of osseous grafting procedures. J Periodontol 48 : 570-578, 1977
2. Melloning JT, Bower GM, Cotton WR : Comparison of bone graft materials. J Periodontol 52: 297-302, 1981
3. Rosenberg MM : Free osseous tissue autografts as a predictable procedure. J Periodontol 42 : 195-204, 1971
4. Hiatt WH, Schallhorn RG : Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. J Periodontol 44 : 194-201, 1973
5. Schallhorn RG, Hiatt WH, Boyce W : Iliac transplants in periodontal therapy. J Periodontol 41 : 566-571, 1970
6. Rummelhart JM, Melloning JT, Gray JL, Towel HJ : A comparison of freeze dried bone allograft and demineralized freeze dried bone allograft in human periodontal osseous defects. J Periodontol 60 : 655-663, 1989
7. Becker W, Becker BE, 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
8. Burchardt H : The biology of bone graft repair. Clin Orthop 174 : 28-42, 1983
9. Urist MR : Bone formation by autoinduction. Science 150 : 893-899, 1965
10. Reddi AH, Wientroub S, Muthukumara N : Biologic principles of bone induction. Orthop Clin North Am 30 : 207-212, 1986
11. White RA, Weber JN, White EW : Replamineform: A new process for preparing porous ceramic, metal, and polymer prosthetic materials. Science 176 : 922-926, 1972
12. Levin MP, Getter L, Adrian J, Cutright DE : Healing of periodontal defects with ceramic implants. J Clin Periodontol 1 : 197-205, 1974
13. Holmes RE : Bone regeneration within a coralline hydroxyapatite implants. Plast Reconstr Surg 63 : 626-633, 1979
14. Frame JW, Browne RM, Brady CL. : HA as a bone substitute in the jaws. Biomaterials 2:19-22, 1981
15. Yukna RA, Mayer ET, Brite DV : Longitudinal evaluation of durapatite ceramic as an alloplastic implant in periodontal osseous defects after 3 years. J Periodontol 55 : 633-637, 1984
16. Kenney EB, Lekovic V, Han T,

Carranza FA, Dimitrijevic B : The use of a porous hydroxyapatite implant in periodontal defects. I: Clinical results after six months. J Periodontol 56 : 82-88, 1985
17. Baldock WT, Hutchens LH, McFall WT, Simpson DM : An evaluation of tricalcium phosphate implants in human periodontal osseous defects of two patients. J Periodontol 56: 1-7, 1985
18. Meffert RM, Thomas JR, Hamilton KM, Brownstein CN : Hydroxyapatite as an alloplastic graft in the treatment of human periodontal osseous defects. J Periodontol 56: 63-73, 1985
19. Bowers GM, Vargo JW, Levy B, Emerson JR, Bergquist JJ : Histologic observations following the placement of tricalcium phosphate implants in human intrabony defects. J Periodontol 57 : 286-287, 1986
20. Stahl SS, Froum SJ : Histologic and clinical responses to porous hydroxyapatite implants in human periodontal defects. J Periodontol 58: 689-695, 1987
21. Carranza FA, Kenney EB, 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
22. Kenney EB, Lekovic V, Elbaz JJ, Kovacvic K, Carranza FA, Takei HH : The use of a porous hydroxyapatite implant in periodontal defects. J Periodontol 59: 67-72, 1988
23. Ettel RG, Schaffer EM, Holpuch RC, Bandt CL : Porous hydroxyapatite grafts in chronic subcrestal periodontal defects in rhesus monkeys. J Periodontol 68: 342-351, 1989
24. Urist MR, McLean FC : 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
25. Salama R, Burwell RG, Dickson IR : Combined grafts of bone and marrow. J Bone Joint Surg 55 : 402-417, 1973
26. Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM : Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. Int J Oral Maxillofac Implants 11: 55-66, 1996
27. Klinge B, Alberius P, Isaksson S, Jönsson 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
28. Guillemin G, Meunier A, Dallant P, Cristel P : Comparison of coral resorption and bone apposition with two natural corals of different porosities. J Biomed Mater Res 23 : 765-779, 1989
29. Zaner DJ, Yukna RA : Particle size of periodontal bone grafting materials. J Periodontol 55 : 406-409, 1984
30. 최현수, 이만섭, 박준봉, 허익, 권영혁 : 생체 유리 및 천연산호 이식재가 성견 치조골 결손부의 재생에 미치는 영향. 대한 치주과학회지 26 : 907-920, 1996
31. Yukna RA : Clinical evaluation of coralline calcium carbonate as a bone replacement graft material in human periodontal osseous defects. J Periodontol

65 : 177-185, 1994
32. Klein CPAT, Driessen AA, de Groot K, van den Hooff A. : Biodegradation behavior of various calcium phosphate materials in bone tissue. J Biomed Mater Res 17:769-772, 1983
33. Gross U, Brandes J, Strunz V, Bab I, Sela J. :The ultrastructure of the interface between a glass ceramic and bone. J Biomed Mater Res 15:291-298, 1981
34. Spector M : Anorganic bovine bone and ceramic analog of bone mineral as implants to facilitate bone regeneration. Clin Plastic Surg 21 : 437-444, 1994
35. Frank RM, Klewansky P, Hemmerle J, Tennenbaum H. : Ultrastructural demonstration of the importance of crystal size of bioceramic powder implanted into human periodontal lesions. J Clin Periodontol 18 : 669-680, 1991
36. Shapoff CA, Bowers GM, Levy B, Melloning JT, Yukna RA : The effect of particle size on the osteogenic activity of composite grafts of allogenic freeze-dried bone and autogenous marrow. J Periodontol 51 : 625-630, 1980
37. Saffar JL, Colombier ML, Detienville R : Bone formation in tricalcium phosphate filled periodontal intrabony lesions. J Periodontol 61 : 209-216, 1990
38. Uchida A, Nade SM, McCartney ER : The use of ceramics for bone replacement. J Bone Joint Surg 66B: 269-274, 1984

사진부도 설명

그림 1 Control group at the 3rd day following surgery(Toluidine blue stain). The defect border was clear. The defect was filled with blood clot and inflammatory cells(×40).

그림 2 The 7th day following surgery. A: The defect was filled with loose connective tissue and woven bone formed in peripheral portion(×40). B: Woven bone was observed together with resorption of the bone in defect border (×100).

그림 3 The 14th day following surgery(×40). A: New bone showed more mature than the 7th day specimen although limited to the peripheral area. Most of the defect was filled with loose connective tissue(×40). B: There were osteoblasts lining new bone and initiation of primary osteon formation(×100).

그림 4 The 28th day following surgery. New bone showed compact pattern although the amount of new bone formation was limited to pheripheral portion. Mature bone was distinguished from immature bone by reversal line(×100).

그림 5 Porous synthetic HA group at the 3rd day following surgery. Many inflammatory cells and irregular particles were observed(×40).

그림 6 The 7th day following surgery. A: Trabecular pattern was observed(×40). B: Fibroblast was lining the particle(×100).

그림 7 The 14th day following surgery. The bone defect was almost filled with fine bone trabeculae growing from adjacent host bone(×40).

그림 8 The 28th day following surgery. A: More matured bone was seen, compared to 14th day specimen(×40). B: The particles were surrounded by dense connective tissue band and localized condensed cells(×100). C: The primary osteon was seen(×100).

그림 9 Natural bovine derived HA group at the 3rd day following surgery. Irregular particle spaces were observed together with clear defect border(×40).

그림 10 The 7th day following surgery. A: Some of the bony spicules were fused with each other adjacent defect border. Immature woven bone was formed centrally from the periphery of the bone defect(×40). B: There were fibroblasts and multinucleated giant cell around the particle. Connective tissue ingrowth into pore of the particle was shown(×200).

그림 11 The 14th day following surgery. A: Some of the trabeculae started to surround the particle adjacent to host bone.(×100) B: The osteoblasts were lining new bone(×100).

그림 12 The 28th day following surgery. A: New bone became mature. Particles adjacent to defect border were completly surrounded by newly formed bone(×100). B: Some of particle were connected to the old bone by osteoid tissue(×100).

그림 13 Calcium carbonate group at the 3rd day following surgery. Blood clot and inflammatory cells were observed, with clear defect border. Irregular fibrous network was formed adjacent to host bone. and around the graft particle (×40).

그림 14 The 7th day following surgery. A: Most of the defect was filled with dense connective tissue and some of the bony spicule was fused with each other adjacent to host bone(×40). B: The osteoblasts were seen on the surface of the newly formed bone trabeculae(×100). C: There were multinucleated giant cells around the particle(×200).

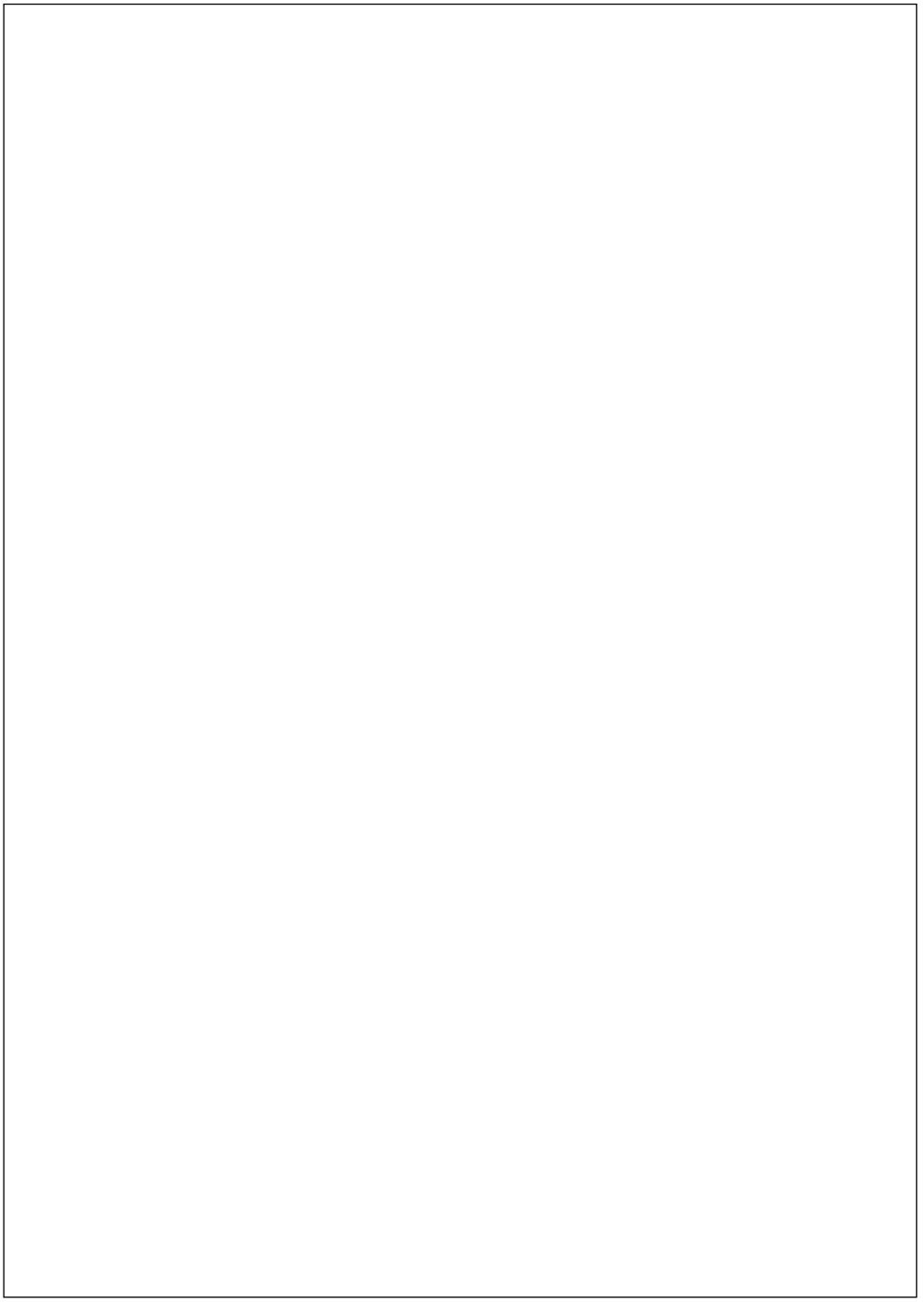
그림 15 The 14th day following surgery. A: New bone became more mature compared to the 7th day specimen(×40). B: The osteoid tissue was seen in the particle surrounded by multinucleated giant cell and osteoblast(×100).

그림 16 The 28th day following surgery. A: The defect space was filled with well developed trabecular bone. Particles were resorbed and replaced with new bone(×100). B: Magnification view. There were osteoblasts lining new bone which replaced particle.(×100)

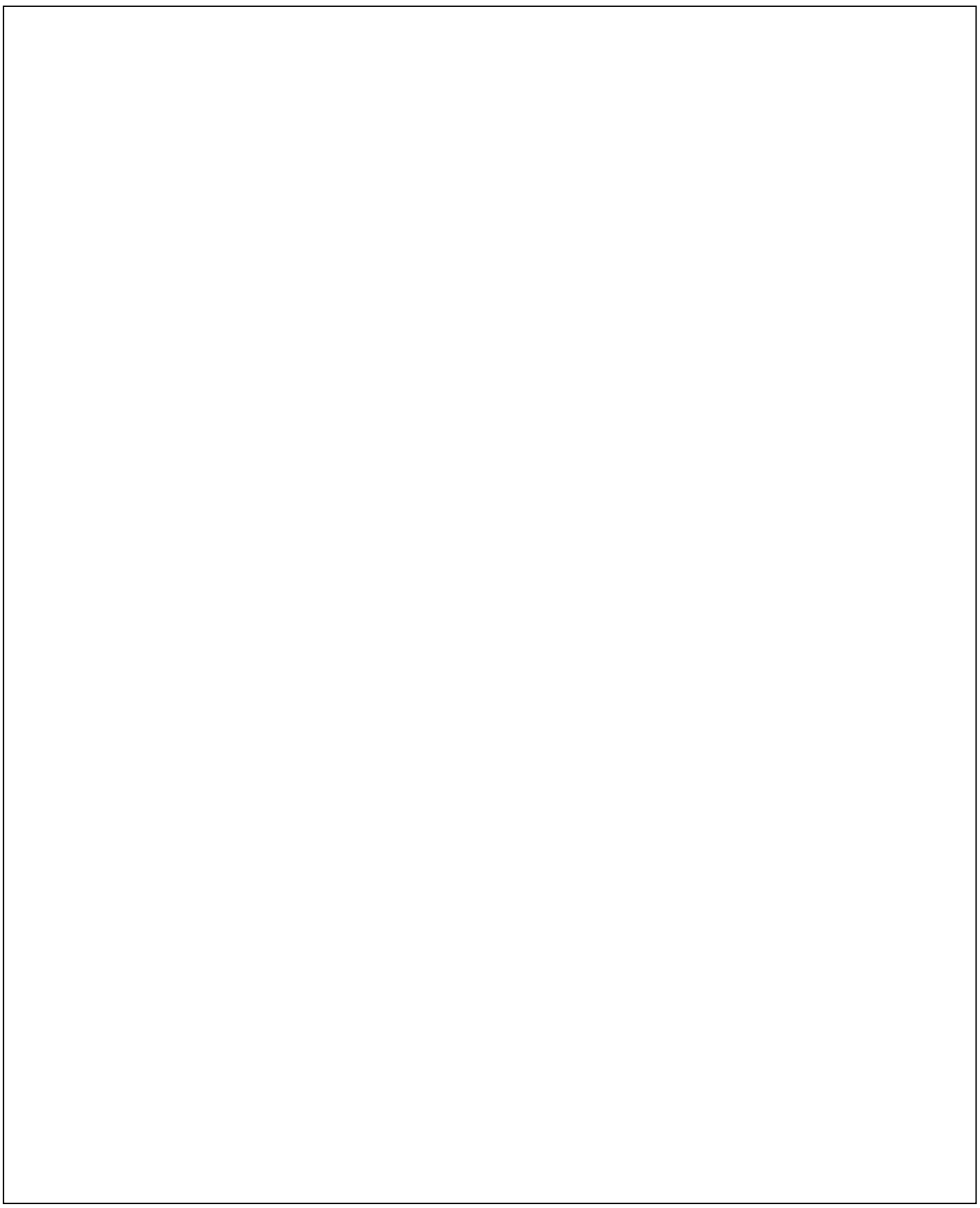
Abbreviations

Hb: Host old bone	Nb: New bone	P: Implanted Particle
Po: Primary osteon	Ct: Connective tissue	Gc: Multinucleated giant cell
Ob: Osteoblast	Ot: Osteoid tissue	Rl: Reversal line

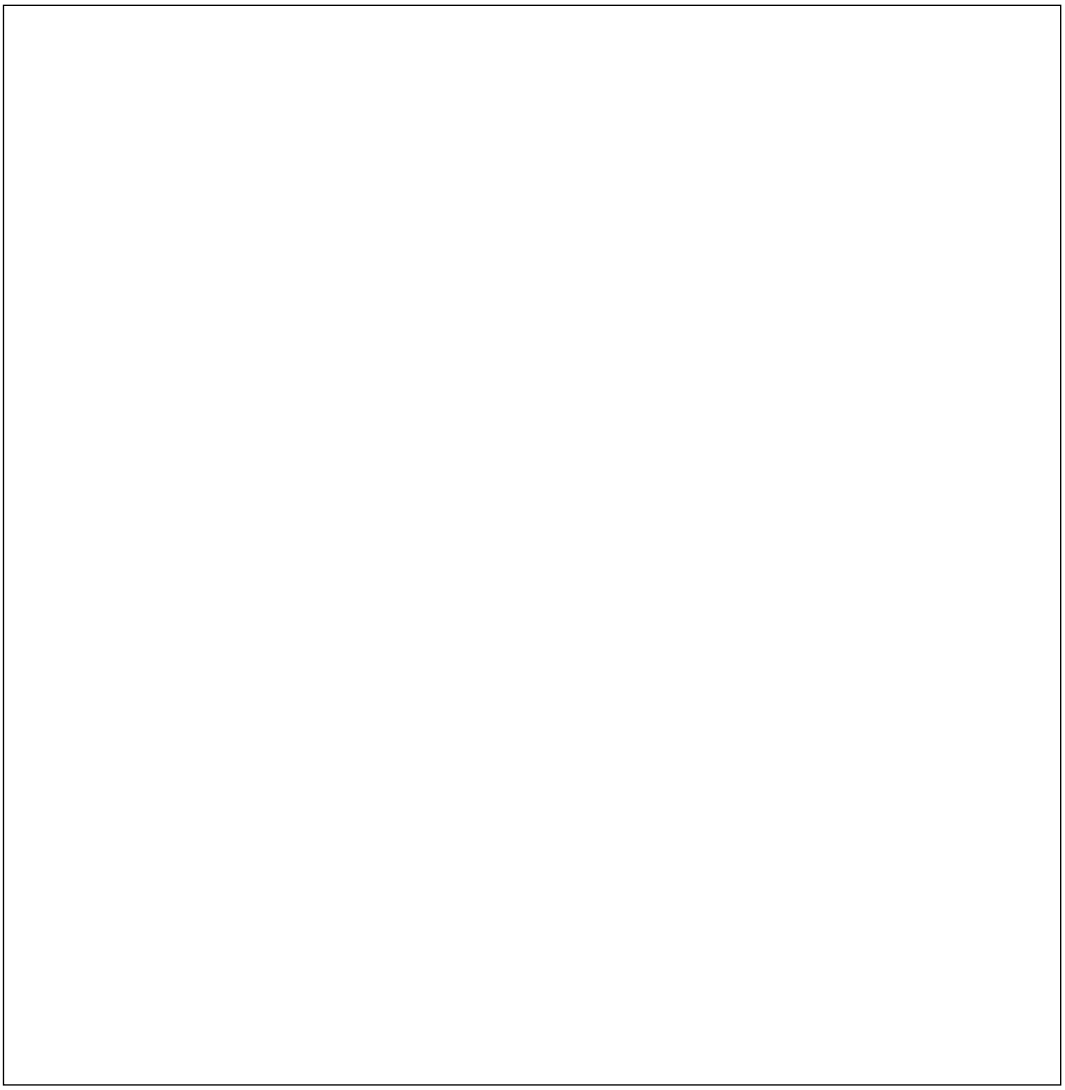
사진부도 (I)



사진부도(Ⅱ)



사진부도(Ⅲ)



-Abstract-

Histologic Study on Healing after Implantation of several Bone Substitutes in Rat Calvarial Defects

Eun-Ju Lee, Hyun-Ju Chung
Dept. of Periodontology, College of Dentistry, Chon-nam National University

The purpose of this study was to assess and compare the osseous responses to implanted particles of porous synthetic HA(Interpore 200®, Interpore International, U.S.A.), resorbable natural bovine derived HA(Bio-oss®, Gestlich Pharma, Switzerland) and calcium carbonate(Biocoral 450®, Inoteb, France) in bone defects.

Four calvarial defects of 2.5mm diameter were created in each of 16 Sprague-Dawley rats. The experimental materials were subsequently implanted in three defects, leaving the fourth defect for control purpose. Four animals were each sacrificed at 3 days, 1week, 2weeks and 4 weeks after surgery. The tissue response was evaluated under light microscope.

Overall, histologic responses showed that all the particles were well tolerated and caused no aberrent tissue responses. There were difference in the amount of newly formed bone at the experimental sites and control site.

There was more new bone formation associated with calcium carbonate site. In addition, the calcium carbonate site displayed multinucleated giant cells surrounding calcium carbonate particles after the 1st week, and osteoid tissue within the particle after the 2nd week. After 4 weeks, calcium carbonate particles were resorbed and replaced with new bone. The healing of the natural bovine derived HA site was similar to that of porous synthetic HA, except that new bone growth between the two particles have progressed more in the former site after the 2nd week. In the natural bovine derived HA site, the particle was surrounded by newly formed bone after the 4th week. After 4 weeks, the control site showed more mature bone than other sites.

In conclusion, the grafted sites were better in new bone formation than non-grafted sites. In particular the calcium carbonate site showed the ability of osteoinduction and natural bovine derived HA showed osteoconduction in rat calvarial defects. This suggest that calcium carbonate and natural bovine derived HA could enhance the regenerative potential in periodontal defects.